(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 111279024 B
(45)授权公告日 2024.07.19

(21)申请号 201780094151.X
(22)申请日 2017.08.21
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 111279024 A
(43)申请公布日 2020.06.12
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2020.02.20
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/CN2017/098299 2017.08.21
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2019/036842 EN 2019.02.28
(73)专利权人 天演药业公司
地址 开曼群岛开曼大开曼
(72)发明人 P·P·罗 Y·李 杜方勇
(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
专利代理师 封新琴
(51)Int.Cl.
C40B 40/08(2006.01)
C40B 50/04(2006.01)
(56)对比文件
EP 0440146 A2,1991.08.07
EP 1457559 A1,2004.09.15
审查员 周韵品

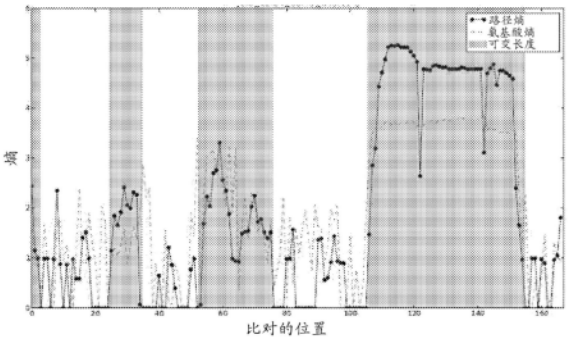
权利要求书10页 说明书119页
序列表83页 附图4页

(54)发明名称

动态人重链抗体文库

(57)摘要

本文提供含有多核苷酸的文库,其中所述多核苷酸中的一者编码具有特定高变区HVR-H1和HVR-H2的抗体重链。本文进一步提供含有编码多种独特抗体的多核苷酸的文库,其中各抗体包含重链可变区和轻链可变区。也提供与所述文库相关的抗体、多肽文库、载体文库、细胞、非人动物、抗体重链、制备抗体文库的方法、试剂盒和产生双特异性抗体的方法。



CN 111279024 B

1.一种包含多核苷酸的文库,其中所述多核苷酸编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H1由根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列组成:

式I:X_1TFX_2X_3YX_4IHWV(SEQ ID NO:198),其中X_1是F或Y,X_2是S或T,X_3是D、G、N或S,并且X_4是A、G或W;

式II:YSIX_1SGX_2X_3WX_4WI(SEQ ID NO:199),其中X_1是S或T,X_2是H或Y,X_3是H或Y,并且X_4是A、D、G、N、S或T;和

式III:SLSTX$_1$GVX_2VX_3WI(SEQ ID NO:200),其中X_1是G或S,X_2是A或G,并且X_3是A、G、S或T;并且

其中所述HVR-H2由根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列组成:

式IV:LAX_1IX_2WX_3X_4DKX_5YSX_6SLKSRL(SEQ ID NO:201),其中X是L或R,X_2是D或Y,X_3是A、D、S或Y,X_4是D或G,X_5是R、S或Y,并且X_6是P或T;

式V:IGX_1IX_2X_3SGSTYYSPSLKSRV(SEQ ID NO:202),其中X_1是A、D、E、S或Y,X_2是S或Y,并且X_3是H或Y;

式VI:IGX_1IYX_2SGX_3TX_4YNPSLKSRV(SEQ ID NO:203),其中X_1是D、E、R、S或Y,X_2是H或Y,X_3是N或S,并且X_4是N或Y;

式VII:VSX_1ISGX_2GX_3X_4TYYADSVKGRF(SEQ ID NO:204),其中X_1是A、G、S、V或Y,X_2是A、D、S或Y,X_3是D、G或S,并且X_4是S或T;

式VIII:IGX_1INPNX_2GX_3TX_4YAQKFQGRV(SEQ ID NO:205),其中X_1是I、R或W,X_2是F或R,X_3是D、G或S,并且X_4是K或N;

式IX:IGX_1IX_2PSX_3GX_4TX_5YAQKFQGRV(SEQ ID NO:206),其中X_1是I、R或W,X_2是S或Y,X_3是G或S,X_4是D、G或S,并且X_5是K或N;和

式X:VGRIX_1SKX_2X_3GX_4TTX_5YAAX_6VKGRF(SEQ ID NO:207),其中X_1是K或R,X_2是A或T,X_3是D或Y,X_4是G或Y,X_5是D或E,并且X_6是P或S,且

其中所述文库还包含编码抗体轻链可变区的多核苷酸。

2.如权利要求1所述的文库,其中所述HVR-H2由根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列组成:

式XI:IGX_1IX_2X_3SGSTYYSPSLKSRV(SEQ ID NO:208),其中X_1是A、D或E,X_2是S或Y,并且X_3是H或Y;

式XII:IGX_1IYX_2SGX_3TX_4YNPSLKSRV(SEQ ID NO:209),其中X_1是D、E或S,X_2是H或Y,X_3是N或S,并且X_4是N或Y;和

式XIII:VGRIX_1SKX_2X_3GX_4TTEYAAX_5VKGRF(SEQ ID NO:210),其中X_1是K或R,X_2是A或T,X_3是D或Y,X_4是G或Y,X_5是P或S。

3.如权利要求1所述的文库,其中所述多核苷酸中的每一者编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的重链,并且其中所述HVR-H1由选自由SEQ ID NO:1-52和137-158组成的组的氨基酸序列组成。

4.如权利要求1所述的文库,其中所述多核苷酸中的每一者编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的重链,并且其中所述HVR-H1由选自由SEQ ID NO:1-52组成的组的氨基酸序列组成。

5.如权利要求1所述的文库,其中所述多核苷酸中的每一者编码包含HVR-H1、HVR-H2和

HVR-H3的重链,并且其中所述HVR-H2由选自由SEQ ID NO:53-136和159-164组成的组的氨基酸序列组成。

6.如权利要求1所述的文库,其中所述多核苷酸中的每一者编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的重链,并且其中所述HVR-H2由选自由SEQ ID NO:53-136组成的组的氨基酸序列组成。

7.如权利要求1所述的文库,其中所述多核苷酸含有HVR-H1序列和HVR-H2序列的小于$6.5*10^4$种独特组合。

8.如权利要求7所述的文库,其中所述多核苷酸含有HVR-H1序列和HVR-H2序列的小于6700种独特组合。

9.如权利要求8所述的文库,其中所述多核苷酸含有HVR-H1序列和HVR-H2序列的小于或等于6660种独特组合。

10.如权利要求1所述的文库,其中所述重链可变区包含含有选自由SEQ ID NO:1-52和137-158组成的组的氨基酸序列的HVR-H1,并且所述抗体的HVR-H2由选自由SEQ ID NO:53-136和159-164组成的组的氨基酸序列组成。

11.如权利要求1所述的文库,其中所述重链可变区包含含有选自由SEQ ID NO:1-52组成的组的氨基酸序列的HVR-H1,并且所述抗体的HVR-H2由选自由SEQ ID NO:53-136组成的组的氨基酸序列组成。

12.如权利要求1所述的文库,其中所述重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3中的三者,其中所述HVR-H1和所述HVR-H2选自由以下组成的组:由式II氨基酸序列组成的HVR-H1和由式IX氨基酸序列组成的HVR-H2;由式II氨基酸序列组成的HVR-H1和由式VII氨基酸序列组成的HVR-H2;由式I氨基酸序列组成的HVR-H1和由式VII氨基酸序列组成的HVR-H2;由式I氨基酸序列组成的HVR-H1和由式IX氨基酸序列组成的HVR-H2;由式II氨基酸序列组成的HVR-H1和由式IV氨基酸序列组成的HVR-H2;由式II氨基酸序列组成的HVR-H1和由式V氨基酸序列组成的HVR-H2;由式II氨基酸序列组成的HVR-H1和由式VI氨基酸序列组成的HVR-H2;由式I氨基酸序列组成的HVR-H1和由式VI氨基酸序列组成的HVR-H2;由式III氨基酸序列组成的HVR-H1和由式VI氨基酸序列组成的HVR-H2;由式III氨基酸序列组成的HVR-H1和由式VII氨基酸序列组成的HVR-H2;由式II氨基酸序列组成的HVR-H1和由式VIII氨基酸序列组成的HVR-H2;由式I氨基酸序列组成的HVR-H1和由式V氨基酸序列组成的HVR-H2;由式III氨基酸序列组成的HVR-H1和由式V氨基酸序列组成的HVR-H2;以及由式I氨基酸序列组成的HVR-H1和由式VIII氨基酸序列组成的HVR-H2。

13.如权利要求1所述的文库,其中所述重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3中的三者,其中所述HVR-H1和所述HVR-H2选自由以下组成的组:由氨基酸序列SEQ ID NO:157组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:63组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:1组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:122组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:138组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:63组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:154组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:63组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:158组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:161组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:158组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:63组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:145组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:128组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:22组成

的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:61组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:31组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:63组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:153组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:63组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:155组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:67组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:156组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:100组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:51组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:162组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:138组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:123组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:139组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:110组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:8组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:126组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:13组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:129组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:31组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:124组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:25组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:130组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:150组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:132组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:158组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:162组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:12组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:82组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:149组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:117组成的HVR-H2;以及由氨基酸序列SEQ ID NO:7组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:134组成的HVR-H2。

14.如权利要求1所述的文库,其中所述重链可变区包含含有选自由SEQ ID NO:223-256组成的组的氨基酸序列的HVR-H3。

15.如权利要求1所述的文库,其中所述重链可变区包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:165的FW-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:166的FW-H2、含有氨基酸序列SEQ ID NO:167的FW-H3和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:168的FW-H4。

16.如权利要求1所述的文库,其中所述重链可变区包含选自由SEQ ID NO:169、171、173、175、177、179、181、183、185、187、189、191、193和195组成的组的序列。

17.如权利要求1所述的文库,其中所述多核苷酸编码全长抗体重链。

18.如权利要求1所述的文库,其中所述抗体轻链可变区包含HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3,其中所述HVR-L1由选自由SEQ ID NO:257-264组成的组的氨基酸序列组成和/或所述HVR-L3由选自由SEQ ID NO:265-274组成的组的氨基酸序列组成。

19.如权利要求1所述的文库,其中编码抗体轻链可变区的所述多核苷酸包括至少一种独特序列。

20.如权利要求1所述的文库,其中编码抗体轻链可变区的所述多核苷酸包括至少280种独特序列。

21.如权利要求1所述的文库,其中编码抗体轻链可变区的所述多核苷酸包括至少10^5种独特序列。

22.一种包含编码多种独特抗体的多核苷酸的文库,其中各抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中所述多种独特抗体中的各抗体的所述重链可变区包含相同序列,并且包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,并且其中所述HVR-H1由根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列组成:

式I:X_1TFX_2X_3YX_4IHWV(SEQ ID NO:198),其中X_1是F或Y,X_2是S或T,X_3是D、G、N或S,并且X_4

是A、G或W;

式II:YSIX$_1$SGX$_2$X$_3$WX$_4$WI(SEQ ID NO:199),其中X$_1$是S或T,X$_2$是H或Y,X$_3$是H或Y,并且X$_4$是A、D、G、N、S或T;和

式III:FSLSTX$_1$GVX$_2$VX$_3$WI(SEQ ID NO:200),其中X$_1$是G或S,X$_2$是A或G,并且X$_3$是A、G、S或T;并且

其中所述HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:

式IV:LAX$_1$IX$_2$WX$_3$X$_4$DKX$_5$YSX$_6$SLKSRL(SEQ ID NO:201),其中X$_1$是L或R,X$_2$是D或Y,X$_3$是A、D、S或Y,X$_4$是D或G,X$_5$是R、S或Y,并且X$_6$是P或T;

式V:IGX$_1$IX$_2$X$_3$SGSTYYSPSLKSRV(SEQ ID NO:202),其中X$_1$是A、D、E、S或Y,X$_2$是S或Y,并且X$_3$是H或Y;

式VI:IGX$_1$IYX$_2$SGX$_3$TX$_4$YNPSLKSRV(SEQ ID NO:203),其中X$_1$是D、E、R、S或Y,X$_2$是H或Y,X$_3$是N或S,并且X$_4$是N或Y;

式VII:VSX$_1$ISGX$_2$GX$_3$X$_4$TYYADSVKGRF(SEQ ID NO:204),其中X$_1$是A、G、S、V或Y,X$_2$是A、D、S或Y,X$_3$是D、G或S,并且X$_4$是S或T;

式VIII:IGX$_1$INPNX$_2$GX$_3$TX$_4$YAQKFQGRV(SEQ ID NO:205),其中X$_1$是I、R或W,X$_2$是F或R,X$_3$是D、G或S,并且X$_4$是K或N;

式IX:IGX$_1$IX$_2$PSX$_3$GX$_4$TX$_5$YAQKFQGRV(SEQ ID NO:206),其中X$_1$是I、R或W,X$_2$是S或Y,X$_3$是G或S,X$_4$是D、G或S,并且X$_5$是K或N;和

式X:VGRIX$_1$SKX$_2$X$_3$GX$_4$TTX$_5$YAAX$_6$VKGRF(SEQ ID NO:207),其中X$_1$是K或R,X$_2$是A或T,X$_3$是D或Y,X$_4$是G10或Y,X$_5$是D或E,并且X$_6$是P或S。

23.如权利要求22所述的文库,其中所述HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:

式XI:IGX$_1$IX$_2$X$_3$SGSTYYSPSLKSRV(SEQ ID NO:208),其中X$_1$是A、D或E,X$_2$是S或Y,并且X$_3$是H或Y;

式XII:IGX$_1$IYX$_2$SGX$_3$TX$_4$YNPSLKSRV(SEQ ID NO:209),其中X$_1$是D、E或S,X$_2$是H或Y,X$_3$是N或S,并且X$_4$是N或Y;和

式XIII:VGRIX$_1$SKX$_2$X$_3$GX$_4$TTEYAAX$_5$VKGRF(SEQ ID NO:210),其中X$_1$是K或R,X$_2$是A或T,X$_3$是D或Y,X$_4$是G或Y,X$_5$是P或S。

24.如权利要求22所述的文库,其中所述重链可变区包含由选自由SEQ ID NO:1-52和137-158组成的组的氨基酸序列组成的HVR-H1。

25.如权利要求22所述的文库,其中所述重链可变区包含由选自由SEQ ID NO:1-52组成的组的氨基酸序列组成的HVR-H1。

26.如权利要求22所述的文库,其中所述重链可变区包含由选自由SEQ ID NO:53-136和159-164组成的组的氨基酸序列组成的HVR-H2。

27.如权利要求22所述的文库,其中所述重链可变区包含由选自由SEQ ID NO:53-136组成的组的氨基酸序列组成的HVR-H2。

28.如权利要求22所述的文库,其中所述重链可变区包含含有选自由SEQ ID NO:1-52和137-158组成的组的氨基酸序列的HVR-H1和含有选自由SEQ ID NO:53-136和159-164组成的组的氨基酸序列的HVR-H2。

29.如权利要求22所述的文库,其中所述重链可变区包含含有选自由SEQ ID NO:1-52组成的组的氨基酸序列的HVR-H1,并且所述抗体的HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:53-136组成的组的氨基酸序列。

30.如权利要求22所述的文库,其中所述重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3中的三者,其中所述HVR-H1和所述HVR-H2选自由以下组成的组:由式II氨基酸序列组成的HVR-H1和由式IX氨基酸序列组成的HVR-H2;由式II氨基酸序列组成的HVR-H1和由式VII氨基酸序列组成的HVR-H2;由式I氨基酸序列组成的HVR-H1和由式VII氨基酸序列组成的HVR-H2;由式I氨基酸序列组成的HVR-H1和由式IX氨基酸序列组成的HVR-H2;由式II氨基酸序列组成的HVR-H1和由式IV氨基酸序列组成的HVR-H2;由式II氨基酸序列组成的HVR-H1和由式V氨基酸序列组成的HVR-H2;由式II氨基酸序列组成的HVR-H1和由式VI氨基酸序列组成的HVR-H2;由式I氨基酸序列组成的HVR-H1和由式VI氨基酸序列组成的HVR-H2;由式III氨基酸序列组成的HVR-H1和由式VI氨基酸序列组成的HVR-H2;由式III氨基酸序列组成的HVR-H1和由式VII氨基酸序列组成的HVR-H2;由式II氨基酸序列组成的HVR-H1和由式VIII氨基酸序列组成的HVR-H2;由式I氨基酸序列组成的HVR-H1和由式V氨基酸序列组成的HVR-H2;由式III氨基酸序列组成的HVR-H1和由式V氨基酸序列组成的HVR-H2;以及由式I氨基酸序列组成的HVR-H1和由式VIII氨基酸序列组成的HVR-H2。

31.如权利要求22所述的文库,其中所述重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3中的三者,其中所述HVR-H1和所述HVR-H2选自由以下组成的组:由氨基酸序列SEQ ID NO:157组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:63组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:1组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:122组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:138组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:63组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:154组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:63组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:158组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:161组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:158组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:63组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:145组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:128组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:22组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:61组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:31组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:63组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:153组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:63组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:155组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:67组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:156组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:100组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:51组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:162组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:138组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:123组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:139组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:110组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:8组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:126组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:13组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:129组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:31组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:124组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:25组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:130组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:150组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:132组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:158组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:162组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:12组成的

HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:82组成的HVR-H2;由氨基酸序列SEQ ID NO:149组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:117组成的HVR-H2;以及由氨基酸序列SEQ ID NO:7组成的HVR-H1和由氨基酸序列SEQ ID NO:134组成的HVR-H2。

32.如权利要求22所述的文库,其中所述重链可变区包含由选自由SEQ ID NO:223-256组成的组的氨基酸序列组成的HVR-H3。

33.如权利要求22所述的文库,其中所述重链可变区包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:165的FW-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:166的FW-H2、含有氨基酸序列SEQ ID NO:167的FW-H3和/或含有氨基酸序列SEQ ID NO:168的FW-H4。

34.如权利要求22所述的文库,其中所述重链可变区包含选自由SEQ ID NO:169、171、173、175、177、179、181、183、185、187、189、191、193和195组成的组的序列。

35.如权利要求22所述的文库,其中所述轻链可变区包含HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3,其中所述HVR-L1由选自由SEQ ID NO:257-264组成的组的氨基酸序列组成和/或所述HVR-L3由选自由SEQ ID NO:265-274组成的组的氨基酸序列组成。

36.如权利要求22所述的文库,其中所述文库中的所述抗体的所述轻链可变区具有至少一种独特序列。

37.如权利要求22所述的文库,其中所述文库中的所述抗体的所述轻链可变区具有至少280种独特序列。

38.如权利要求22所述的文库,其中所述文库中的所述抗体的所述轻链可变区具有至少10^5种独特序列。

39.如权利要求1所述的文库,其中如通过结构测定和/或计算建模所测定,所述抗体重链可变区的所述HVR-H1和所述HVR-H2中的至少一者采用多种构象。

40.如权利要求1所述的文库,其中所述编码所述抗体重链可变区的多核苷酸中的至少一者处于载体中。

41.如权利要求40所述的文库,其中所述载体是表达载体。

42.如权利要求40所述的文库,其中所述载体是展示载体。

43.如权利要求1所述的文库,其中所述编码所述抗体重链可变区的多核苷酸中的至少一者处于细胞中。

44.如权利要求43所述的文库,其中所述细胞是细菌、酵母或哺乳动物细胞。

45.一种噬菌体文库,包括:包含至少一种展示在它的表面上的多肽的噬菌体,其中所述至少一种多肽包含抗原结合结构域,所述抗原结合结构域包含抗体重链可变区,所述抗体重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,并且其中所述HVR-H1由根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列组成:

式I:X_1TFX_2X_3YX_4IHWV(SEQ ID NO:198),其中X_1是F或Y,X_2是S或T,X_3是D、G、N或S,并且X_4是A、G或W;

式II:YSIX_1SGX_2X_3WX_4WI(SEQ ID NO:199),其中X_1是S或T,X_2是H或Y,X_3是H或Y,并且X_4是A、D、G、N、S或T;和

式III:FSLSTX_1GVX_2VX_3WI(SEQ ID NO:200),其中X_1是G或S,X_2是A或G,并且X_3是A、G、S或T;并且

其中所述HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:

式IV:$LAX_1IX_2WX_3X_4DKX_5YSX_6SLKSRL$(SEQ ID NO:201),其中$X_1$是L或R,$X_2$是D或Y,$X_3$是A、D、S或Y,$X_4$是D或G,$X_5$是R、S或Y,并且$X_6$是P或T;

式V:$IGX_1IX_2X_3SGSTYYSPSLKSRV$(SEQ ID NO:202),其中$X_1$是A、D、E、S或Y,$X_2$是S或Y,并且$X_3$是H或Y;

式VI:$IGX_1IYX_2SGX_3TX_4YNPSLKSRV$(SEQ ID NO:203),其中$X_1$是D、E、R、S或Y,$X_2$是H或Y,$X_3$是N或S,并且$X_4$是N或Y;

式VII:$VSX_1ISGX_2GX_3X_4TYYADSVKGRF$(SEQ ID NO:204),其中$X_1$是A、G、S、V或Y,$X_2$是A、D、S或Y,$X_3$是D、G或S,并且$X_4$是S或T;

式VIII:$IGX_1INPNX_2GX_3TX_4YAQKFQGRV$(SEQ ID NO:205),其中$X_1$是I、R或W,$X_2$是F或R,$X_3$是D、G或S,并且$X_4$是K或N;

式IX:$IGX_1IX_2PSX_3GX_4TX_5YAQKFQGRV$(SEQ ID NO:206),其中$X_1$是I、R或W,$X_2$是S或Y,$X_3$是G或S,$X_4$是D、G或S,并且$X_5$是K或N;和

式X:$VGRIX_1SKX_2X_3GX_4TTX_5YAAX_6VKGRF$(SEQ ID NO:207),其中$X_1$是K或R,$X_2$是A或T,$X_3$是D或Y,$X_4$是G或Y,$X_5$是D或E,并且$X_6$是P或S,

其中所述抗原结合结构域还包含抗体轻链可变区。

46.一种包含抗原结合结构域的文库,其中所述抗原结合结构域包含抗体重链可变区,所述抗体重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,并且其中所述HVR-H1由根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列组成:

式I:$X_1TFX_2X_3YX_4IHWV$(SEQ ID NO:198),其中X_1是F或Y,X_2是S或T,X_3是D、G、N或S,并且X_4是A、G或W;

式II:$YSIX_1SGX_2X_3WX_4WI$(SEQ ID NO:199),其中X_1是S或T,X_2是H或Y,X_3是H或Y,并且X_4是A、D、G、N、S或T;和

式III:$FSLSTX_1GVX_2VX_3WI$(SEQ ID NO:200),其中X_1是G或S,X_2是A或G,并且X_3是A、G、S或T;并且

其中所述HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:

式IV:$LAX_1IX_2WX_3X_4DKX_5YSX_6SLKSRL$(SEQ ID NO:201),其中$X_1$是L或R,$X_2$是D或Y,$X_3$是A、D、S或Y,$X_4$是D或G,$X_5$是R、S或Y,并且$X_6$是P或T;

式V:$IGX_1IX_2X_3SGSTYYSPSLKSRV$(SEQ ID NO:202),其中$X_1$是A、D、E、S或Y,$X_2$是S或Y,并且$X_3$是H或Y;

式VI:$IGX_1IYX_2SGX_3TX_4YNPSLKSRV$(SEQ ID NO:203),其中$X_1$是D、E、R、S或Y,$X_2$是H或Y,$X_3$是N或S,并且$X_4$是N或Y;

式VII:$VSX_1ISGX_2GX_3X_4TYYADSVKGRF$(SEQ ID NO:204),其中$X_1$是A、G、S、V或Y,$X_2$是A、D、S或Y,$X_3$是D、G或S,并且$X_4$是S或T;

式VIII:$IGX_1INPNX_2GX_3TX_4YAQKFQGRV$(SEQ ID NO:205),其中$X_1$是I、R或W,$X_2$是F或R,$X_3$是D、G或S,并且$X_4$是K或N;

式IX:$IGX_1IX_2PSX_3GX_4TX_5YAQKFQGRV$(SEQ ID NO:206),其中$X_1$是I、R或W,$X_2$是S或Y,$X_3$是G或S,$X_4$是D、G或S,并且$X_5$是K或N;和

式X:$VGRIX_1SKX_2X_3GX_4TTX_5YAAX_6VKGRF$(SEQ ID NO:207),其中$X_1$是K或R,$X_2$是A或T,$X_3$是D或Y,$X_4$是G或Y,$X_5$是D或E,并且$X_6$是P或S,

其中所述抗原结合结构域还包含抗体轻链可变区。

47.如权利要求46所述的文库,其中所述重链可变区包含由选自由SEQ ID NO:223-256组成的组的氨基酸序列组成的HVR-H3。

48.如权利要求46所述的文库,其中所述抗体轻链可变区包含HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3,其中所述HVR-L1由选自由SEQ ID NO:257-264组成的组的氨基酸序列组成和/或所述HVR-L3由选自由SEQ ID NO:265-274组成的组的氨基酸序列组成。

49.如权利要求46所述的文库,其中所述文库包含噬菌体,并且其中所述抗原结合结构域展示在所述文库的至少一种噬菌体的表面上。

50.一种制备文库的方法,所述方法包括提供以及组装如权利要求1-44中任一项所述的文库的多核苷酸序列。

51.一种制备抗体文库的方法,所述方法包括以下步骤:(a)选择一种、两种或三种包含具有多种构象的序列的重链HVR;和(b)组装多核苷酸序列以产生编码多种抗体重链可变区序列的多核苷酸的文库,其中所述抗体重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H1由根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列组成:

式I:X_1TFX_2X_3YX_4IHWV(SEQ ID NO:198),其中X_1是F或Y,X_2是S或T,X_3是D、G、N或S,并且X_4是A、G或W;

式II:YSIX_1SGX_2X_3WX_4WI(SEQ ID NO:199),其中X_1是S或T,X_2是H或Y,X_3是H或Y,并且X_4是A、D、G、N、S或T;和

式III:FSLSTX$_1$GVX_2VX_3WI(SEQ ID NO:200),其中X_1是G或S,X_2是A或G,并且X_3是A、G、S或T;并且

其中所述HVR-H2由根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列组成:

式IV:LAX_1IX_2WX_3X_4DKX_5YSX_6SLKSRL(SEQ ID NO:201),其中X_1是L或R,X_2是D或Y,X_3是A、D、S或Y,X_4是D或G,X_5是R、S或Y,并且X_6是P或T;

式V:IGX_1IX_2X_3SGSTYYSPSLKSRV(SEQ ID NO:202),其中X_1是A、D、E、S或Y,X_2是S或Y,并且X_3是H或Y;

式VI:IGX_1IYX_2SGX_3TX_4YNPSLKSRV(SEQ ID NO:203),其中X_1是D、E、R、S或Y,X_2是H或Y,X_3是N或S,并且X_4是N或Y;

式VII:VSX_1ISGX_2GX_3X_4TYYADSVKGRF(SEQ ID NO:204),其中X_1是A、G、S、V或Y,X_2是A、D、S或Y,X_3是D、G或S,并且X_4是S或T;

式VIII:IGX_1INPNX_2GX_3TX_4YAQKFQGRV(SEQ ID NO:205),其中X_1是I、R或W,X_2是F或R,X_3是D、G或S,并且X_4是K或N;

式IX:IGX_1IX_2PSX_3GX_4TX_5YAQKFQGRV(SEQ ID NO:206),其中X_1是I、R或W,X_2是S或Y,X_3是G或S,X_4是D、G或S,并且X_5是K或N;和

式X:VGRIX_1SKX_2X_3GX_4TTX_5YAAX_6VKGRF(SEQ ID NO:207),其中X_1是K或R,X_2是A或T,X_3是D或Y,X_4是G10或Y,X_5是D或E,并且X_6是P或S,

其中所述抗体的抗原结合结构域还包含抗体轻链可变区。

52.如权利要求51所述的方法,其中所述抗体重链可变区序列是人抗体序列。

53.一种产生包含两个抗体重链可变区和两个相同轻链可变区的双特异性抗体的方法,所述方法包括:(a)筛选结合第一抗原的第一抗原结合结构域,其中所述第一抗原结合

结构域包含第一抗体重链可变区和第一抗体轻链可变区,其中所述第一抗体重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,并且其中所述HVR-H1由根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列组成:

式I:X_1TFX_2X_3YX_4IHWV(SEQ ID NO:198),其中X_1是F或Y,X_2是S或T,X_3是D、G、N或S,并且X_4是A、G或W;

式II:YSIX_1SGX_2X_3WX_4WI(SEQ ID NO:199),其中X_1是S或T,X_2是H或Y,X_3是H或Y,并且X_4是A、D、G、N、S或T;和

式III:FSLSTX$_1$GVX_2VX_3WI(SEQ ID NO:200),其中X_1是G或S,X_2是A或G,并且X_3是A、G、S或T;并且

其中所述HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:

式IV:LAX_1IX_2WX_3X_4DKX_5YSX_6SLKSRL(SEQ ID NO:201),其中X_1是L或R,X_2是D或Y,X_3是A、D、S或Y,X_4是D或G,X_5是R、S或Y,并且X_6是P或T;

式V:IGX_1IX_2X_3SGSTYYSPSLKSRV(SEQ ID NO:202),其中X_1是A、D、E、S或Y,X_2是S或Y,并且X_3是H或Y;

式VI:IGX_1IYX_2SGX_3TX_4YNPSLKSRV(SEQ ID NO:203),其中X_1是D、E、R、S或Y,X_2是H或Y,X_3是N或S,并且X_4是N或Y;

式VII:VSX_1ISGX_2GX_3X_4TYYADSVKGRF(SEQ ID NO:204),

其中X_1是A、G、S、V或Y,X_2是A、D、S或Y,X_3是D、G或S,并且X_4是S或T;

式VIII:IGX_1INPNX_2GX_3TX_4YAQKFQGRV(SEQ ID NO:205),其中X_1是I、R或W,X_2是F或R,X_3是D、G或S,并且X_4是K或N;

式IX:IGX_1IX_2PSX_3GX_4TX_5YAQKFQGRV(SEQ ID NO:206),其中X_1是I、R或W,X_2是S或Y,X_3是G或S,X_4是D、G或S,并且X_5是K或N;和

式X:VGRIX_1SKX_2X_3GX_4TTX_5YAAX_6VKGRF(SEQ ID NO:207),其中X_1是K或R,X_2是A或T,X_3是D或Y,X_4是G20或Y,X_5是D或E,并且X_6是P或S;

(b)筛选结合第二抗原的第二抗原结合结构域,其中所述第二抗原结合结构域包含第二抗体重链可变区和第二抗体轻链可变区,其中所述第二抗体重链可变区与所述第一抗体重链可变区具有相同序列;和

(c)产生包含所述第一抗原结合结构域和所述第二抗原结合结构域的双特异性抗体。

54.一种试剂盒,所述试剂盒包括如权利要求1-44中任一项所述的多核苷酸的文库。

55.一种包含多核苷酸的文库,其中所述多核苷酸编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H1由选自由SEQ ID NO:1-52组成的组的氨基酸序列组成,和/或其中所述HVR-H2由选自由SEQ ID NO:53-136组成的组的氨基酸序列组成,其中所述文库还包含编码抗体轻链可变区的多核苷酸。

56.如权利要求55所述的文库,其中所述HVR-H1由选自由SEQ IDNO:1、4、5、7、8、9、11、13、16、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、31、33、34、38、40、42、43、45、47、49、50和51组成的组的氨基酸序列组成,和/或其中所述HVR-H2由选自由SEQ ID NO:53、60、63、65、66、67、70、82、89、93、95、105、109、110、117、121、122、123、124、128、129、130、131、132和134组成的组的氨基酸序列组成。

57.如权利要求55所述的文库,其中所述重链可变区包含由选自由SEQ ID NO:223-256

组成的组的氨基酸序列组成的HVR-H3。

动态人重链抗体文库

技术领域

[0001] 本公开涉及含有编码抗体重链(例如动态人抗体的重链)的合成多核苷酸的文库以及与其相关的抗体重链、抗体、细胞、动物、方法和试剂盒。

背景技术

[0002] 单克隆抗体已变得极其适用于包括生物学研究、医学诊断和药物产品的广泛多种领域中。潜在结合特异性的可变性允许获得具有有价值的特异性和效能的抗体。然而,这个可变性使得在巨大数目的抗体之中进行筛选以鉴定一种或多种具有所需性质的抗体是困难的和繁重的。

[0003] 一种鉴定目标抗体的方法是通过抗体文库诸如经克隆B细胞序列的文库、噬菌体展示文库、酵母展示文库等来进行筛选。这些文库允许在代表众多独特抗体序列的许多抗体之中进行筛选,以鉴定具有特定目标性质例如与特定靶标的结合、结合亲和力、选择性等的抗体。然而,当前文库具有特定限制。源于生物来源诸如人B细胞谱系的文库局限于可从所述来源克隆的那些抗体序列。相较于生物源性文库,合成文库可包括非天然存在的序列,但它们也受限于可在特定时间段合成的抗体的数量。此外,极其大型的文库需要更加耗时和更具消耗性的筛选方法;另外,文库中仅有一小部分可实际上被关于目标抗体加以筛选。

[0004] 因此,存在对开发动态抗体文库的需要,所述文库含有一组用于设计和构建在功能上具有潜在更大相关性的动态抗体的具有明确确定的可开发序列概况的稳健动态单元。所述文库不仅将极大改进文库内抗体上的抗体结合位点的多样性,而且也将极大改进筛选具有在给定抗原上的新型和/或构象性表位的抗体的效率。此外,所述文库将使可能鉴定到具有高亲和力和可开发性概况的特定目标抗体的可能性增加。

[0005] 本文引用的所有参考资料,包括专利申请、专利公布和UniProtKB/Swiss-Prot登录号,都以引用的方式整体并入本文,所述引用的程度就好像明确地和个别地指示将各个别参考资料以引用的方式并入一样。

发明内容

[0006] 为满足以上需要和其他需要,本文公开允许获得动态人抗体的抗体序列,诸如重链高变区(HVR)和重链可变区(例如V_H区)。这些序列被设计来允许获得具有高度柔性HVR序列环的抗体,所述抗体能够以高效能结合它们的靶标和/或识别多种适用表位,和/或与在不同物种之间以低序列同一性(约60%序列同一性或更小)共有的表位交叉反应。有利的是,这些抗体序列允许创建小得多,然而含有众多适用抗体的文库,和/或在给定文库大小下产生大得多的多样性。所述文库可用于鉴定对广泛范围的靶标具有特异性,或在一些情况下,与多种目标靶标交叉反应的新目标抗体。此外,在本文中引入和实施一种用于使用新近鉴定的动态单元来捕集精简实体性文库中抗体结合位点的广泛范围的构象柔性以设计和构建动态抗体文库的新型构思和方法。此外,使用所述抗体获得的结果(如下所述)强调能够从这些文库鉴定靶向来自不同物种的具有低序列同一性(例如低于60%至70%)的给

定抗原上的构象性表位和/或进化保守位点的抗体。

[0007] 因此,在一个方面,本文提供一种或多种HVR-H1氨基酸序列和/或一种或多种编码所述一种或多种HVR-H1氨基酸序列的多核苷酸(例如合成多核苷酸),其中所述HVR-H1包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:式(I):X1TFX2X3YX4IHWV(SEQ ID NO:198),其中X1是F或Y,X2是S或T,X3是D、G、N或S,并且X4是A、G或W;式(II):YSIX1SGX2X3WX4WI(SEQ ID NO:199),其中X1是S或T,X2是H或Y,X3是H或Y,并且X4是A、D、G、N、S或T;和式(III):FSLSTX1GVX2VX3WI(SEQ ID NO:200),其中X1是G或S,X2是A或G,并且X3是A、G、S或T。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:1-52和137-158组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:1-52组成的组的氨基酸序列。

[0008] 在另一方面,本文提供一种或多种HVR-H2氨基酸序列和/或一种或多种编码所述一种或多种HVR-H2氨基酸序列的多核苷酸(例如合成多核苷酸),其中所述HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:式(IV):LAX1IX2WX3X4DKX5YSX6SLKSRL(SEQ ID NO:201),其中X1是L或R,X2是D或Y,X3是A、D、S或Y,X4是D或G,X5是R、S或Y,并且X6是P或T;式(V):IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV(SEQ ID NO:202),其中X1是A、D、E、S或Y,X2是S或Y,并且X3是H或Y;式(VI):IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV(SEQ ID NO:203),其中X1是D、E、R、S或Y,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y;式(VII):VSX1ISGX2GX3X4TYYADSVKGRF(SEQ ID NO:204),其中X1是A、G、S、V或Y,X2是A、D、S或Y,X3是D、G或S,并且X4是S或T;式(VIII):IGX1INPNX2GX3TX4YAQKFQGRV(SEQ ID NO:205),其中X1是I、R或W,X2是F或R,X3是D、G或S,并且X4是K或N;式(IX):IGX1IX2PSX3GX4TX5YAQKFQGRV(SEQ ID NO:206),其中X1是I、R或W,X2是S或Y,X3是G或S,X4是D、G或S,并且X5是K或N;和式(X):VGRIX1SKX2X3GX4TTX5YAAX6VKGRF(SEQ ID NO:207),其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,X5是D或E,并且X6是P或S。在一些实施方案中,HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:式(IV);式(VII);式(VIII);式(IX);式(XI):IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV(SEQ ID NO:208),其中X1是A、D或E,X2是S或Y,并且X3是H或Y;式(XII):IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV(SEQ ID NO:209),其中X1是D、E或S,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y;和式(XIII):VGRIX1SKX2X3GX4TTEYAAX5VKGRF(SEQ ID NO:210),其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,X5是P或S。在一些实施方案中,HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:53-136和159-164组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:53-136组成的组的氨基酸序列。

[0009] 在另一方面,本文提供一种或多种HVR-H3氨基酸序列和/或一种或多种编码所述一种或多种HVR-H3氨基酸序列的多核苷酸(例如合成多核苷酸),其中所述HVR-H3包含选自由SEQ ID NO:223-256组成的组的氨基酸序列。

[0010] 在另一方面,本文提供一种或多种HVR-L1氨基酸序列和/或一种或多种编码所述一种或多种HVR-L1氨基酸序列的多核苷酸(例如合成多核苷酸),其中所述HVR-L1包含选自由SEQ ID NO:257-264组成的组的氨基酸序列。

[0011] 在另一方面,本文提供一种或多种HVR-L3氨基酸序列和/或一种或多种编码所述一种或多种HVR-L3氨基酸序列的多核苷酸(例如合成多核苷酸),其中所述HVR-L3包含选自由SEQ ID NO:265-274组成的组的氨基酸序列。

[0012] 在另一方面,本文提供一种编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区

的多核苷酸(例如合成多核苷酸),其中所述HVR-H1包含根据选自由式(I)、式(II)和式(III)组成的组的式的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文提供一种包含多核苷酸(例如合成多核苷酸)的文库,其中所述文库中的所述多核苷酸中的至少一者(例如至少一者、至少两者、至少三者、至少四者、至少五者、至少十者等)编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H1包含根据选自由式(I)、式(II)和式(III)组成的组的式的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文提供一种包含多核苷酸(例如合成多核苷酸)的文库,其中所述文库中的所述多核苷酸中的每一者编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H1包含根据选自由式(I)、式(II)和式(III)组成的组的式的氨基酸序列。

[0013] 在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:1-52和137-158组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:1-52组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:1、4、5、7、8、9、11、13、16、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、31、33、34、38、40、42、43、45、47、49、50和51组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:2、3、14、15、30、32、35、37、39、41、44、46和48组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:6、10、17、29、36和52组成的组的氨基酸序列。

[0014] 在可与任何先前实施方案组合的一些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H3包含选自由SEQ ID NO:223-256组成的组的氨基酸序列。

[0015] 在一些实施方案中,重链可变区还包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:165的FW-H1。在一些实施方案中,重链可变区还包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:166的FW-H2。在一些实施方案中,重链可变区还包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:167的FW-H3。在一些实施方案中,重链可变区还包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:168的FW-H4。在一些实施方案中,重链可变区包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:165的FW-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:166的FW-H2、含有氨基酸序列SEQ ID NO:167的FW-H3和含有氨基酸序列SEQ ID NO:168的FW-H4中的呈任何组合的至少两者(例如至少两者、至少三者或全部四者)。在一些实施方案中,FW-H3序列包含在SEQ ID NO:167的R19处的精氨酸向赖氨酸突变。

[0016] 在另一方面,本文提供一种编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区的多核苷酸(例如合成多核苷酸),其中所述HVR-H2包含根据选自由式(IV)、式(V)、式(VI)、式(VII)、式(VIII)、式(IX)和式(X)组成的组的式的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文提供一种包含多核苷酸(例如合成多核苷酸)的文库,其中所述文库中的所述多核苷酸中的至少一者(例如至少一者、至少两者、至少三者、至少四者、至少五者、至少十者等)编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H2包含根据选自由式(IV)、式(V)、式(VI)、式(VII)、式(VIII)、式(IX)和式(X)组成的组的式的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文提供一种包含多核苷酸(例如合成多核苷酸)的文库,其中所述文库中的所述多核苷酸中的每一者编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H2包含根据选自由式(IV)、式(V)、式(VI)、式(VII)、式(VIII)、式(IX)和式(X)组成的组的式的氨基酸序列。

[0017] 在一些实施方案中,本文提供一种编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区的多核苷酸(例如合成多核苷酸),其中所述HVR-H2包含根据选自由式(IV)、式

(VII)、式(VIII)、式(IX)、式(XI)、式(XII)和式(XIII)组成的组的式的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文提供一种包含多核苷酸(例如合成多核苷酸)的文库,其中所述文库中的所述多核苷酸中的至少一者(例如至少一者、至少两者、至少三者、至少四者、至少五者、至少十者等)编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H2包含根据选自由式(IV)、式(VII)、式(VIII)、式(IX)、式(XI)、式(XII)和式(XIII)组成的组的式的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文提供一种包含多核苷酸(例如合成多核苷酸)的文库,其中所述文库中的所述多核苷酸中的每一者编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H2包含根据选自由式(IV)、式(VII)、式(VIII)、式(IX)、式(XI)、式(XII)和式(XIII)组成的组的式的氨基酸序列。

[0018] 在一些实施方案中,HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:53-136和159-164组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:53-136组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:53、60、63、65、66、67、70、82、89、93、95、105、109、110、117、121、122、123、124、128、129、130、131、132和134组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:55、56、59、61、62、64、68、69、71、73、74、75、76、77、78、79、72、81、83、86、90、91、99、100、103、106、107、108、112、113、116、118、126、135和136组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:54、57、58、80、84、85、87、88、92、94、96、97、98、101、102、104、111、114、115、119、120、125、127和133组成的组的氨基酸序列。

[0019] 在可与任何先前实施方案组合的一些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H3包含选自由SEQ ID NO:223-256组成的组的氨基酸序列。

[0020] 在一些实施方案中,重链可变区还包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:165的FW-H1。在一些实施方案中,重链可变区还包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:166的FW-H2。在一些实施方案中,重链可变区还包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:167的FW-H3。在一些实施方案中,重链可变区还包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:168的FW-H4。在一些实施方案中,重链可变区包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:165的FW-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:166的FW-H2、含有氨基酸序列SEQ ID NO:167的FW-H3和含有氨基酸序列SEQ ID NO:168的FW-H4中的呈任何组合的至少两者(例如至少两者、至少三者或全部四者)。在一些实施方案中,FW-H3序列包含在SEQ ID NO:167的R19处的精氨酸向赖氨酸突变。

[0021] 在另一方面,本文提供一种编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区的多核苷酸(例如合成多核苷酸),其中所述HVR-H1包含根据选自由式(I)、式(II)和式(III)组成的组的式的氨基酸序列,并且其中所述HVR-H2包含根据选自由式(IV)、式(V)、式(VI)、式(VII)、式(VIII)、式(IX)和式(X)组成的组的式的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文提供一种包含多核苷酸(例如合成多核苷酸)的文库,其中所述文库中的所述多核苷酸中的至少一者(例如至少一者、至少两者、至少三者、至少四者、至少五者、至少十者等)编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H1包含根据选自由式(I)、式(II)和式(III)组成的组的式的氨基酸序列,并且其中所述HVR-H2包含根据选自由式(IV)、式(V)、式(VI)、式(VII)、式(VIII)、式(IX)和式(X)组成的组的式的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文提供一种包含多核苷酸(例如合成多核苷酸)的文库,其中所述文库中的所述多核苷酸中的每一者编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所

述HVR-H1包含根据选自由式(I)、式(II)和式(III)组成的组的式的氨基酸序列,并且其中所述HVR-H2包含根据选自由式(IV)、式(V)、式(VI)、式(VII)、式(VIII)、式(IX)和式(X)组成的组的式的氨基酸序列。

[0022] 在一些实施方案中,本文提供一种编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区的多核苷酸(例如合成多核苷酸),其中所述HVR-H1包含根据选自由式(I)、式(II)和式(III)组成的组的式的氨基酸序列,并且其中所述HVR-H2包含根据选自由式(IV)、式(VII)、式(VIII)、式(IX)、式(XI)、式(XII)和式(XIII)组成的组的式的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文提供一种包含多核苷酸(例如合成多核苷酸)的文库,其中所述文库中的所述多核苷酸中的至少一者(例如至少一者、至少两者、至少三者、至少四者、至少五者、至少十者等)编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H1包含根据选自由式(I)、式(II)和式(III)组成的组的式的氨基酸序列,并且其中所述HVR-H2包含根据选自由式(IV)、式(VII)、式(VIII)、式(IX)、式(XI)、式(XII)和式(XIII)组成的组的式的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文提供一种包含多核苷酸(例如合成多核苷酸)的文库,其中所述文库中的所述多核苷酸中的每一者编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H1包含根据选自由式(I)、式(II)和式(III)组成的组的式的氨基酸序列,并且其中所述HVR-H2包含根据选自由式(IV)、式(VII)、式(VIII)、式(IX)、式(XI)、式(XII)和式(XIII)组成的组的式的氨基酸序列。

[0023] 在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:1-52和137-158组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:53-136和159-164组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:1-52和137-158组成的组的氨基酸序列,并且HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:53-136和159-164组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:1-52组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:53-136组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:1-52组成的组的氨基酸序列,并且HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:53-136组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:1、4、5、7、8、9、11、13、16、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、31、33、34、38、40、42、43、45、47、49、50和51组成的组的氨基酸序列,并且HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:53、60、63、65、66、67、70、82、89、93、95、105、109、110、117、121、122、123、124、128、129、130、131、132和134组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:2、3、14、15、30、32、35、37、39、41、44、46和48组成的组的氨基酸序列,并且HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:55、56、59、61、62、64、68、69、71、73、74、75、76、77、78、79、72、81、83、86、90、91、99、100、103、106、107、108、112、113、116、118、126、135和136组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:6、10、17、29、36和52组成的组的氨基酸序列,并且HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:54、57、58、80、84、85、87、88、92、94、96、97、98、101、102、104、111、114、115、119、120、125、127和133组成的组的氨基酸序列。

[0024] 在一些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H1和所述HVR-H2选自由以下组成的组:包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(IX)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的

HVR-H1和包含式(IX)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(IV)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(V)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VI)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VI)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VI)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VIII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(V)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(V)氨基酸序列的HVR-H2;以及包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VIII)氨基酸序列的HVR-H2。在一些实施方案中,HVR-H1和HVR-H2选自由以下组成的组:包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XI)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XI)氨基酸序列的HVR-H2;以及包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XI)氨基酸序列的HVR-H2。在一些实施方案中,HVR-H1和HVR-H2选自由以下组成的组:包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(IV)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(IV)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(X)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(IX)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(X)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VIII)氨基酸序列的HVR-H2;以及包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(X)氨基酸序列的HVR-H2。在一些实施方案中,HVR-H1和HVR-H2选自由以下组成的组:包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XIII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XIII)氨基酸序列的HVR-H2;以及包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XIII)氨基酸序列的HVR-H2。

[0025] 在一些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H1和所述HVR-H2选自由以下组成的组:包含氨基酸序列SEQ ID NO:157的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:1的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:122的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:138的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:154的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:161的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:145的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:128的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:22的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:61的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:31的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:153的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:155的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:67的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:156的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:100的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:51的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:162的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:138的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:123的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:139的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:110的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:8的HVR-H1和包

含氨基酸序列SEQ ID NO:126的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:13的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:129的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:31的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:124的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:25的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:130的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:150的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:132的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:162的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:12的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:82的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:149的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:117的HVR-H2;以及包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:134的HVR-H2。在一些实施方案中,HVR-H1和HVR-H2选自由以下组成的组:包含氨基酸序列SEQ ID NO:26的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:53的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:151的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:53的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:34的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:50的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:162的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:104的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:121的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:116的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:121的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:17的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:25的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:101的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:25的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:114的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:29的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:112的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:152的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:156的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:89的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:157的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:94的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:48的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:58的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:50的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:89的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:50的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:163的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:160的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:87的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:92的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:93的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:97的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:103的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:164的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:137的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:54的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:127的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:85的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:110的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:139的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:109的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:139的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:121的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:8的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:120的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID

NO:140的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:131的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:141的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:116的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:142的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:159的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:143的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:116的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:144的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:121的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:146的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:110的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:147的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:133的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:148的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;以及包含氨基酸序列SEQ ID NO:13的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:118的HVR-H2。

[0026] 在可与任何先前实施方案组合的一些实施方案中,文库中的多核苷酸含有HVR-H1序列和HVR-H2序列的小于约$6.5*10^4$(例如小于约$6.5*10^4$、小于约$5.5*10^4$、小于约$2.5*10^4$、小于约$1*10^4$、小于约6700、小于约6660、小于约5000、小于约2500、小于约1000、小于约690、小于约500、小于约100、小于约50等)种独特组合。在一些实施方案中,文库中的多核苷酸(例如合成多核苷酸)含有HVR-H1序列和HVR-H2序列的约62272种或更少种独特组合。在一些实施方案中,文库中的多核苷酸(例如合成多核苷酸)含有HVR-H1序列和HVR-H2序列的约60928种或更少种独特组合。在一些实施方案中,文库中的多核苷酸(例如合成多核苷酸)含有HVR-H1序列和HVR-H2序列的约54656种或更少种独特组合。在一些实施方案中,文库中的多核苷酸(例如合成多核苷酸)含有HVR-H1序列和HVR-H2序列的约6660种或更少种独特组合。在一些实施方案中,文库中的多核苷酸(例如合成多核苷酸)含有HVR-H1序列和HVR-H2序列的约690种或更少种独特组合。在一些实施方案中,如通过结构测定和/或计算建模所测定,抗体重链可变区的HVR-H1和HVR-H2中的至少一者采用多种构象。

[0027] 在可与任何先前实施方案组合的一些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H3包含选自由SEQ ID NO:223-256组成的组的氨基酸序列。

[0028] 在一些实施方案中,重链可变区还包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:165的FW-H1。在一些实施方案中,重链可变区还包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:166的FW-H2。在一些实施方案中,重链可变区还包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:167的FW-H3。在一些实施方案中,重链可变区还包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:168的FW-H4。在一些实施方案中,重链可变区包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:165的FW-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:166的FW-H2、含有氨基酸序列SEQ ID NO:167的FW-H3和含有氨基酸序列SEQ ID NO:168的FW-H4中的呈任何组合的至少两者(例如至少两者、至少三者或全部四者)。在一些实施方案中,FW-H3序列包含在SEQ ID NO:167的R19处的精氨酸向赖氨酸突变。在一些实施方案中,重链可变区包含选自由SEQ ID NO:169、171、173、175、177、179、181、183、185、187、189、191、193和195组成的组的序列。

[0029] 在一些实施方案中,文库中的多核苷酸编码全长抗体重链。在一些实施方案中,文库还包含一种或多种编码抗体轻链可变区的多核苷酸(例如合成多核苷酸)。在一些实施方案中,抗体轻链可变区包含HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3,其中所述HVR-L1包含选自由SEQ ID NO:257-264组成的组的氨基酸序列和/或所述HVR-L3包含选自由SEQ ID NO:265-274组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,编码抗体轻链可变区的多核苷酸包括至少一种独特序列、至少100种独特序列、至少280种独特序列、至少10^3种独特序列、至少10^4种独特序

列、至少10^5种独特序列、至少10^6种独特序列、至少10^7种独特序列、至少10^8种独特序列、或至少约10^9种独特序列。在一些实施方案中,文库中的一种或多种编码抗体轻链可变区的多核苷酸编码全长抗体轻链。

[0030] 在另一方面,本文提供编码多种独特抗体的多核苷酸(例如合成多核苷酸),其中各抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中所述多种独特抗体中的各抗体的所述重链可变区包含相同序列,并且由任何编码如上所述的重链可变区的多核苷酸编码。在一些实施方案中,本文提供包含编码多种独特抗体的多核苷酸(例如合成多核苷酸)的文库,其中各抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中所述多种独特抗体中的各抗体的所述重链可变区包含相同序列,并且由任何编码如上所述的重链可变区的多核苷酸编码。

[0031] 在一些实施方案中,轻链可变区包含HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3,其中所述HVR-L1包含选自由SEQ ID NO:257-264组成的组的氨基酸序列和/或所述HVR-L3包含选自由SEQ ID NO:265-274组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,文库中抗体的轻链可变区包括至少一种独特序列、至少100种独特序列、至少280种独特序列、至少10^3种独特序列、至少10^4种独特序列、至少10^5种独特序列、至少10^6种独特序列、至少10^7种独特序列、至少10^8种独特序列、或至少约10^9种独特序列。

[0032] 在另一方面,本文提供一种包含任何如上所述的多核苷酸的载体。在一些实施方案中,本文提供一种包含载体的文库,其中所述文库中的所述载体中的至少一者(例如至少一者、至少两者、至少五者、至少10者、至少25者、至少50者、至少100者、至少250者、至少500者、至少690者、至少750者、至少1000者、至少2500者、至少5000者、至少6000者、至少6500者等)包含任何如上所述的多核苷酸。在一些实施方案中,文库中的载体中的至少两者包含如上所述的多核苷酸。在一些实施方案中,文库中的载体中的至少100者包含如上所述的多核苷酸。在一些实施方案中,文库中的载体中的至少500者包含如上所述的多核苷酸。在一些实施方案中,文库中的载体中的至少1000者包含如上所述的多核苷酸。在一些实施方案中,文库中的载体中的至少5000者包含如上所述的多核苷酸。在一些实施方案中,文库中的载体中的至少6500者包含如上所述的多核苷酸。在一些实施方案中,本文提供一种包含载体的文库,其中所述文库中的所述载体中的每一者包含任何如上所述的多核苷酸。在一些实施方案中,载体是表达载体。在一些实施方案中,载体是展示载体。在一些实施方案中,包含载体的文库还包含至少一种(例如至少一种、至少两种、至少五种、至少10种、至少25种、至少50种、至少100种、至少250种、至少500种、至少690种、至少750种、至少1000种、至少2500种、至少5000种、至少6000种、至少6500种等)编码轻链可变区多肽的载体。在一些实施方案中,轻链可变区包含HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3,其中所述HVR-L1包含选自由SEQ ID NO:257-264组成的组的氨基酸序列和/或所述HVR-L3包含选自由SEQ ID NO:265-274组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,文库中的至少一种载体编码包括至少一种独特序列、至少100种独特序列、至少280种独特序列、至少10^3种独特序列、至少10^4种独特序列、至少10^5种独特序列、至少10^6种独特序列、至少10^7种独特序列、至少10^8种独特序列、或至少约10^9种独特序列的轻链可变区。

[0033] 在另一方面,本文提供一种包含任何如上所述的多核苷酸和/或载体的细胞。在一些实施方案中,本文提供一种包含细胞群体的文库,其中所述文库中的所述细胞中的至少一者(例如至少一者、至少两者、至少五者、至少10者、至少100者、至少10^3者、至少10^4者、至

少10^5者、至少10^6者、至少10^7者、至少10^8者、至少10^9者等)包含任何如上所述的多核苷酸和/或载体。在一些实施方案中,文库中的细胞中的至少两者包含如上所述的多核苷酸和/或载体。在一些实施方案中,文库中的细胞中的至少100者包含如上所述的多核苷酸和/或载体。在一些实施方案中,本文提供一种包含细胞群体的文库,其中所述文库中的所述细胞中的每一者包含任何如上所述的多核苷酸和/或载体。在一些实施方案中,细胞是细菌、酵母或哺乳动物细胞(例如非人动物细胞或经分离人细胞)。

[0034] 在另一方面,本文提供一种包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H1包含根据选自由式(I)、式(II)和式(III)组成的组的式的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文提供一种包含抗体重链可变区的文库,其中所述文库中的所述重链可变区中的至少一者(例如至少一者、至少两者、至少三者、至少四者、至少五者、至少十者等)包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H1包含根据选自由式(I)、式(II)和式(III)组成的组的式的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文提供一种包含抗体重链可变区的文库,其中所述文库中的所述重链可变区中的每一者包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H1包含根据选自由式(I)、式(II)和式(III)组成的组的式的氨基酸序列。

[0035] 在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:1-52和137-158组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:1-52组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:1、4、5、7、8、9、11、13、16、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、31、33、34、38、40、42、43、45、47、49、50和51组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:2、3、14、15、30、32、35、37、39、41、44、46和48组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:6、10、17、29、36和52组成的组的氨基酸序列。

[0036] 在可与任何先前实施方案组合的一些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H3包含选自由SEQ ID NO:223-256组成的组的氨基酸序列。

[0037] 在一些实施方案中,重链可变区还包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:165的FW-H1。在一些实施方案中,重链可变区还包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:166的FW-H2。在一些实施方案中,重链可变区还包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:167的FW-H3。在一些实施方案中,重链可变区还包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:168的FW-H4。在一些实施方案中,重链可变区包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:165的FW-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:166的FW-H2、含有氨基酸序列SEQ ID NO:167的FW-H3和含有氨基酸序列SEQ ID NO:168的FW-H4中的呈任何组合的至少两者(例如至少两者、至少三者或全部四者)。在一些实施方案中,FW-H3序列包含在SEQ ID NO:167的R19处的精氨酸向赖氨酸突变。

[0038] 在另一方面,本文提供一种包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H2包含根据选自由式(IV)、式(V)、式(VI)、式(VII)、式(VIII)、式(IX)和式(X)组成的组的式的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文提供一种包含抗体重链可变区的文库,其中所述文库中的所述重链可变区中的至少一者(例如至少一者、至少两者、至少三者、至少四者、至少五者、至少十者等)包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H2包含根据选自由式(IV)、式(V)、式(VI)、式(VII)、式(VIII)、式(IX)和式(X)组成的组的式的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文提供一种包含抗体重链可变区的文库,其中所述文库中的所述重链可变区中的每一者包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H2包含根据选自由式

(IV)、式(V)、式(VI)、式(VII)、式(VIII)、式(IX)和式(X)组成的组的式的氨基酸序列。

[0039] 在一些实施方案中,本文提供一种包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H2包含根据选自由式(IV)、式(VII)、式(VIII)、式(IX)、式(XI)、式(XII)和式(XIII)组成的组的式的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文提供一种包含抗体重链可变区的文库,其中所述文库中的所述重链可变区中的至少一者(例如至少一者、至少两者、至少三者、至少四者、至少五者、至少十者等)包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H2包含根据选自由式(IV)、式(VII)、式(VIII)、式(IX)、式(XI)、式(XII)和式(XIII)组成的组的式的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文提供一种包含抗体重链可变区的文库,其中所述文库中的所述重链可变区中的每一者包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H2包含根据选自由式(IV)、式(VII)、式(VIII)、式(IX)、式(XI)、式(XII)和式(XIII)组成的组的式的氨基酸序列。

[0040] 在一些实施方案中,HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:53-136和159-164组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:53-136组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:53、60、63、65、66、67、70、82、89、93、95、105、109、110、117、121、122、123、124、128、129、130、131、132和134组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:55、56、59、61、62、64、68、69、71、73、74、75、76、77、78、79、72、81、83、86、90、91、99、100、103、106、107、108、112、113、116、118、126、135和136组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:54、57、58、80、84、85、87、88、92、94、96、97、98、101、102、104、111、114、115、119、120、125、127和133组成的组的氨基酸序列。

[0041] 在可与任何先前实施方案组合的一些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H3包含选自由SEQ ID NO:223-256组成的组的氨基酸序列。

[0042] 在一些实施方案中,重链可变区还包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:165的FW-H1。在一些实施方案中,重链可变区还包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:166的FW-H2。在一些实施方案中,重链可变区还包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:167的FW-H3。在一些实施方案中,重链可变区还包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:168的FW-H4。在一些实施方案中,重链可变区包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:165的FW-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:166的FW-H2、含有氨基酸序列SEQ ID NO:167的FW-H3和含有氨基酸序列SEQ ID NO:168的FW-H4中的呈任何组合的至少两者(例如至少两者、至少三者或全部四者)。在一些实施方案中,FW-H3序列包含在SEQ ID NO:167的R19处的精氨酸向赖氨酸突变。

[0043] 在另一方面,本文提供一种包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H1包含根据选自由式(I)、式(II)和式(III)组成的组的式的氨基酸序列,并且其中所述HVR-H2包含根据选自由式(IV)、式(V)、式(VI)、式(VII)、式(VIII)、式(IX)和式(X)组成的组的式的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文提供一种包含抗体重链可变区的文库,其中所述文库中的所述重链可变区中的至少一者(例如至少一者、至少两者、至少三者、至少四者、至少五者、至少十者等)包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H1包含根据选自由式(I)、式(II)和式(III)组成的组的式的氨基酸序列,并且其中所述HVR-H2包含根据选自由式(IV)、式(V)、式(VI)、式(VII)、式(VIII)、式(IX)和式(X)组成的组的式的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文提供一种包含抗体重链可变区的文库,其中所述文库中的

所述重链可变区中的每一者包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H1包含根据选自由式(I)、式(II)和式(III)组成的组的式的氨基酸序列,并且其中所述HVR-H2包含根据选自由式(IV)、式(V)、式(VI)、式(VII)、式(VIII)、式(IX)和式(X)组成的组的式的氨基酸序列。

[0044] 在一些实施方案中,本文提供一种包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H1包含根据选自由式(I)、式(II)和式(III)组成的组的式的氨基酸序列,并且其中所述HVR-H2包含根据选自由式(IV)、式(VII)、式(VIII)、式(IX)、式(XI)、式(XII)和式(XIII)组成的组的式的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文提供一种包含抗体重链可变区的文库,其中所述文库中的所述重链可变区中的至少一者(例如至少一者、至少两者、至少三者、至少四者、至少五者、至少十者等)包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H1包含根据选自由式(I)、式(II)和式(III)组成的组的式的氨基酸序列,并且其中所述HVR-H2包含根据选自由式(IV)、式(VII)、式(VIII)、式(IX)、式(XI)、式(XII)和式(XIII)组成的组的式的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文提供一种包含抗体重链可变区的文库,其中所述文库中的所述重链可变区中的每一者包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H1包含根据选自由式(I)、式(II)和式(III)组成的组的式的氨基酸序列,并且其中所述HVR-H2包含根据选自由式(IV)、式(VII)、式(VIII)、式(IX)、式(XI)、式(XII)和式(XIII)组成的组的式的氨基酸序列。

[0045] 在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:1-52和137-158组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:53-136和159-164组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:1-52和137-158组成的组的氨基酸序列,并且HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:53-136和159-164组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:1-52组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:53-136组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:1-52组成的组的氨基酸序列,并且HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:53-136组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:1、4、5、7、8、9、11、13、16、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、31、33、34、38、40、42、43、45、47、49、50和51组成的组的氨基酸序列,并且HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:53、60、63、65、66、67、70、82、89、93、95、105、109、110、117、121、122、123、124、128、129、130、131、132和134组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:2、3、14、15、30、32、35、37、39、41、44、46和48组成的组的氨基酸序列,并且HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:55、56、59、61、62、64、68、69、71、73、74、75、76、77、78、79、72、81、83、86、90、91、99、100、103、106、107、108、112、113、116、118、126、135和136组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:6、10、17、29、36和52组成的组的氨基酸序列,并且HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:54、57、58、80、84、85、87、88、92、94、96、97、98、101、102、104、111、114、115、119、120、125、127和133组成的组的氨基酸序列。

[0046] 在一些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H1和所述HVR-H2选自由以下组成的组:包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(IX)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的

HVR-H1和包含式(IX)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(IV)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(V)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VI)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VI)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VI)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VIII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(V)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(V)氨基酸序列的HVR-H2;以及包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VIII)氨基酸序列的HVR-H2。在一些实施方案中,HVR-H1和HVR-H2选自由以下组成的组:包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XI)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XI)氨基酸序列的HVR-H2;以及包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XI)氨基酸序列的HVR-H2。在一些实施方案中,HVR-H1和HVR-H2选自由以下组成的组:包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(IV)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(IV)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(X)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(IX)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(X)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VIII)氨基酸序列的HVR-H2;以及包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(X)氨基酸序列的HVR-H2。在一些实施方案中,HVR-H1和HVR-H2选自由以下组成的组:包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XIII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XIII)氨基酸序列的HVR-H2;以及包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XIII)氨基酸序列的HVR-H2。

[0047] 在一些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H1和所述HVR-H2选自由以下组成的组:包含氨基酸序列SEQ ID NO:157的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:1的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:122的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:138的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:154的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:161的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:145的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQID NO:128的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:22的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:61的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:31的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:153的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:155的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:67的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:156的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:100的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:51的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:162的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:138的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:123的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:139的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:110的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:8的HVR-H1和包

含氨基酸序列SEQ ID NO:126的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:13的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:129的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:31的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:124的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:25的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:130的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:150的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:132的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:162的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:12的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:82的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:149的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:117的HVR-H2;以及包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:134的HVR-H2。在一些实施方案中,HVR-H1和HVR-H2选自由以下组成的组:包含氨基酸序列SEQ ID NO:26的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:53的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:151的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:53的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:34的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:50的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:162的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:104的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:121的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:116的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:121的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:17的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:25的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:101的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:25的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:114的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:29的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:112的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:152的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:156的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:89的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:157的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:94的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:48的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:58的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:50的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:89的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:50的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:163的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:160的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:87的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:92的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:93的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:97的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:103的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:164的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:137的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:54的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:127的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:85的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:110的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:139的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:109的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:139的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:121的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:8的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:120的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID

NO:140的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:131的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:141的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:116的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:142的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:159的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:143的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:116的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:144的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:121的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:146的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:110的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:147的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:133的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:148的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;以及包含氨基酸序列SEQ ID NO:13的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:118的HVR-H2。

[0048] 在可与任何先前实施方案组合的一些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H3包含选自由SEQ ID NO:223-256组成的组的氨基酸序列。

[0049] 在一些实施方案中,重链可变区还包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:165的FW-H1。在一些实施方案中,重链可变区还包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:166的FW-H2。在一些实施方案中,重链可变区还包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:167的FW-H3。在一些实施方案中,重链可变区还包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:168的FW-H4。在一些实施方案中,重链可变区包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:165的FW-H1、含有氨基酸序列SEQ ID NO:166的FW-H2、含有氨基酸序列SEQ ID NO:167的FW-H3和含有氨基酸序列SEQ ID NO:168的FW-H4中的呈任何组合的至少两者(例如至少两者、至少三者或全部四者)。在一些实施方案中,FW-H3序列包含在SEQ ID NO:167的R19处的精氨酸向赖氨酸突变。在一些实施方案中,重链可变区包含选自由SEQ ID NO:169、171、173、175、177、179、181、183、185、187、189、191、193和195组成的组的序列。

[0050] 在可与任何先前实施方案组合的一些实施方案中,文库中的重链可变区含有HVR-H1序列和HVR-H2序列的小于约$6.5*10^4$(例如小于约$6.5*10^4$、小于约$5.5*10^4$、小于约$2.5*10^4$、小于约$1*10^4$、小于约6700、小于约6660、小于约5000、小于约2500、小于约1000、小于约690、小于约500、小于约100、小于约50等)种独特组合。在一些实施方案中,文库中的重链可变区含有HVR-H1序列和HVR-H2序列的约62272种或更少种独特组合。在一些实施方案中,文库中的重链可变区含有HVR-H1序列和HVR-H2序列的约60928种或更少种独特组合。在一些实施方案中,文库中的重链可变区含有HVR-H1序列和HVR-H2序列的约54656种或更少种独特组合。在一些实施方案中,文库中的重链可变区含有HVR-H1序列和HVR-H2序列的约6660种或更少种独特组合。在一些实施方案中,文库中的重链可变区含有HVR-H1序列和HVR-H2序列的约690种或更少种独特组合。在一些实施方案中,如通过结构测定和/或计算建模所测定,抗体重链可变区的HVR-H1和HVR-H2中的至少一者采用多种构象。

[0051] 在另一方面,本文提供一种抗体重链可变区和一种抗体轻链可变区,其中所述抗体重链可变区是任何如本文所述的重链可变区。在一些实施方案中,本文提供一种包含抗体重链可变区和抗体轻链可变区的文库,其中所述文库中的所述抗体重链可变区中的至少一者(例如至少一者、至少两者、至少五者、至少10者、至少100者等)是任何如本文所述的重链可变区。在一些实施方案中,本文提供一种包含抗体重链可变区和抗体轻链可变区的文库,其中所述文库中的所述抗体重链可变区中的每一者是任何如本文所述的重链可变区。在一些实施方案中,抗体轻链可变区包含HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3,其中所述HVR-L1包含选

自由SEQ ID NO:257-264组成的组的氨基酸序列和/或所述HVR-L3包含选自由SEQ ID NO:265-274组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,文库中的轻链可变区包括至少一种独特序列、至少100种独特序列、至少280种独特序列、至少10^3种独特序列、至少10^4种独特序列、至少10^5种独特序列、至少10^6种独特序列、至少10^7种独特序列、至少10^8种独特序列、或至少约10^9种独特序列。

[0052] 在另一方面,本文提供一种包含抗体重链可变区的抗原结合结构域,其中所述抗原结合结构域包含任何如本文所述的抗体重链可变区。在一些实施方案中,本文提供一种包含抗原结合结构域的文库,所述抗原结合结构域包含抗体重链可变区,其中所述文库中的所述抗原结合结构域中的至少一者(例如至少一者、至少两者、至少五者、至少10者、至少100者等)包含任何如本文所述的重链可变区。在一些实施方案中,本文提供一种包含抗原结合结构域的文库,所述抗原结合结构域包含抗体重链可变区,其中所述文库中的所述抗原结合结构域中的每一者包含任何如本文所述的重链可变区。在一些实施方案中,抗原结合结构域还包含抗体轻链可变区,所述抗体轻链可变区包含HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3,其中所述HVR-L1包含选自由SEQ ID NO:257-264组成的组的氨基酸序列和/或所述HVR-L3包含选自由SEQ ID NO:265-274组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,文库中的包含轻链可变区的抗原结合结构域包括包含至少一种独特序列、至少100种独特序列、至少280种独特序列、至少10^3种独特序列、至少10^4种独特序列、至少10^5种独特序列、至少10^6种独特序列、至少10^7种独特序列、至少10^8种独特序列、或至少约10^9种独特序列的轻链可变区。

[0053] 在另一方面,本文提供一种包含抗体重链可变区的抗体,其中所述抗体包含任何如本文所述的抗体重链可变区。在一些实施方案中,本文提供一种包含抗体的文库,其中所述文库中的所述抗体中的至少一者(例如至少一者、至少两者、至少五者、至少10者、至少100者等)包含任何如本文所述的抗体重链可变区。在一些实施方案中,本文提供一种包含抗体的文库,其中所述文库中的所述抗体中的每一者包含任何如本文所述的重链可变区。在一些实施方案中,抗体还包含抗体轻链可变区,所述抗体轻链可变区包含HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3,其中所述HVR-L1包含选自由SEQ ID NO:257-264组成的组的氨基酸序列和/或所述HVR-L3包含选自由SEQ ID NO:265-274组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,文库中的包含轻链可变区的抗体包括包含至少一种独特序列、至少100种独特序列、至少280种独特序列、至少10^3种独特序列、至少10^4种独特序列、至少10^5种独特序列、至少10^6种独特序列、至少10^7种独特序列、至少10^8种独特序列、或至少约10^9种独特序列的轻链可变区。

[0054] 在可与任何先前实施方案组合的一些实施方案中,抗体含有HVR-H1序列和HVR-H2序列的小于约$6.5*10^4$种独特组合。在可与任何先前实施方案组合的一些实施方案中,抗体含有HVR-H1序列和HVR-H2序列的小于约$5.5*10^4$种独特组合。在一些实施方案中,抗体含有HVR-H1序列和HVR-H2序列的约62272种或更少种独特组合。在一些实施方案中,抗体含有HVR-H1序列和HVR-H2序列的约60928种或更少种独特组合。在一些实施方案中,抗体含有HVR-H1序列和HVR-H2序列的约54656种或更少种独特组合。在一些实施方案中,抗体含有HVR-H1序列和HVR-H2序列的约6660种或更少种独特组合。在一些实施方案中,抗体含有HVR-H1序列和HVR-H2序列的约690种或更少种独特组合。在一些实施方案中,如通过结构测定和/或计算建模所测定,抗体重链可变区的HVR-H1和HVR-H2中的至少一者采用多种构象。

[0055] 在可与任何先前实施方案组合的一些实施方案中,抗体以在约10^{-7}与约10^{-11}M之间

的平衡解离常数(Kd)结合至少1种靶标。在一些实施方案中,抗体具有在约60℃与约90℃之间的熔解温度(Tm)。

[0056] 在另一方面,本文提供一种包含一种或多种(例如一种或多种、两种或更多种、三种或更多种、四种或更多种、五种或更多种等)本公开的HVR的多肽(例如骨架多肽)。在一些实施方案中,本文提供包含多肽的文库,其中所述文库中的所述多肽中的至少一者(例如至少一者、至少两者、至少五者、至少10者、至少25者、至少50者、至少100者、至少250者、至少500者、至少750者、至少1000者、至少2500者、至少5000者、至少6000者、至少6500者等)包含一种或多种本公开的HVR。在一些实施方案中,本文提供包含多肽的文库,其中所述文库中的所述多肽中的每一者包含一种或多种本公开的HVR。在一些实施方案中,多肽包含含有选自如本文所述的任何HVR-H1序列的氨基酸序列的HVR-H1(例如根据选自由式(I)、式(II)和式(III)组成的组的式;以及SEQ ID NO:1-52和137-158的HVR-H1)。在一些实施方案中,多肽包含含有选自如本文所述的任何HVR-H2的氨基酸序列的HVR-H2(例如根据选自由式(IV)、式(V)、式(VI)、式(VII)、式(VIII)、式(IX)、式(X)、式(XI)、式(XII)和式(XIII)组成的组的式;以及SEQ ID NO:53-136和159-164的HVR-H2)。在一些实施方案中,多肽包含含有选自如本文所述的任何HVR-H3序列(例如SEQ ID NO:223-256)的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,多肽包含含有选自如本文所述的任何HVR-L1序列(例如SEQ ID NO:257-264)的氨基酸序列的HVR-L1。在一些实施方案中,多肽包含含有选自如本文所述的任何HVR-L3序列(例如SEQ ID NO:265-274)的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,多肽包含本文所述的HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1和/或HVR-L3序列中的两者或更多者(例如两者或更多者、三者或更多者、四者或更多者、或全部五者)。在一些实施方案中,本文提供包含编码任何如上所述的多肽的多核苷酸的多核苷酸和文库。

[0057] 在另一方面,本文提供一种在它的表面上包含至少一种多肽的噬菌体,其中所述至少一种多肽包含任何本文所述的抗体重链可变区。在一些实施方案中,至少一种多肽是任何如本文所述的抗原结合结构域。在一些实施方案中,本文提供一种噬菌体文库,其中所述文库中的至少一种(例如至少一种、至少两种、至少五种、至少10种、至少25种、至少50种、至少100种、至少250种、至少500种、至少750种、至少1000种、至少2500种、至少5000种、至少6000种、至少6500种等)噬菌体在它的表面上包含至少一种包含任何本文所述的抗体重链可变区的多肽。在一些实施方案中,文库中的至少一种噬菌体在它的表面上包含至少一种包含任何如本文所述的抗原结合结构域的多肽。在一些实施方案中,本文提供一种包含噬菌体的文库,其中所述文库中的所述噬菌体中的每一者在它的表面上包含至少一种包含任何本文所述的抗体重链可变区的多肽。在一些实施方案中,至少一种多肽是任何如本文所述的抗原结合结构域。

[0058] 在另一方面,本文提供一种包含至少一种编码任何本文所述的抗体重链可变区的多核苷酸(例如任何本文所述的多核苷酸或多核苷酸文库)的非人动物。在一些实施方案中,非人动物包含至少一种编码任何本文所述的抗体的多核苷酸。在一些实施方案中,非人动物是哺乳动物(例如小鼠、大鼠、兔、骆驼或非人灵长类动物)。

[0059] 在另一方面,本文提供制备文库的方法,所述方法包括提供以及组装如本文所述的文库的任何多核苷酸序列。

[0060] 在另一方面,本文提供筛选结合靶标的多肽的方法,所述方法包括使任何本文所

述的包含多肽的文库(例如抗原结合结构域的文库、抗体的文库、噬菌体的文库等)与靶标一起孵育,以及从所述文库选择一种或多种结合所述靶标的多肽。

[0061] 在另一方面,本文提供制备抗体文库的方法,所述方法包括以下步骤:(a)选择一种、两种或三种包含具有多种构象的序列的重链HVR;和(b)组装多核苷酸序列以产生编码多种抗体重链可变区序列的合成多核苷酸的文库。在一些实施方案中,多种抗体重链可变区序列中的至少一者是任何本文所述的重链可变区序列。在一些实施方案中,多种抗体重链可变区序列中的每一者是任何本文所述的重链可变区序列。

[0062] 在另一方面,本文提供制备多肽(例如重链可变区、抗体重链、抗体、骨架多肽等)的方法,所述方法包括培养包含任何如上所述的多核苷酸、多核苷酸文库、载体和/或载体文库的细胞以产生所述多肽。在一些实施方案中,从所培养细胞收集多肽,并且加以进一步纯化。

[0063] 在另一方面,本文提供产生包含两个抗体重链可变区和两个相同轻链可变区的双特异性抗体的方法,所述方法包括:(a)筛选结合第一抗原的第一抗原结合结构域,其中所述第一抗原结合结构域包含第一抗体重链可变区和第一抗体轻链可变区,其中所述第一抗体重链可变区包括任何本文所述的重链可变区;(b)筛选结合第二抗原的第二抗原结合结构域,其中所述第二抗原结合结构域包含第二抗体重链可变区和第二抗体轻链可变区,其中所述第二抗体重链可变区与所述第一抗体重链可变区具有相同序列;和(c)产生包含所述第一抗原结合结构域和所述第二抗原结合结构域的双特异性抗体。

[0064] 在另一方面,本文提供双特异性抗体,所述双特异性抗体包含:(a)包含第一重链可变区和第一轻链可变区的第一结合结构域,其中所述第一结合结构域结合第一靶标;(b)包含第二重链可变区和第二轻链可变区的第二结合结构域,其中所述第二结合结构域结合第二靶标,其中所述第二重链可变区具有与第一重链可变区序列相同的序列;其中所述第一重链可变区和所述第二重链可变区中的每一者包含任何本文所述的重链可变区。在一些实施方案中,双特异性抗体包含第一轻链和第二轻链,其中所述第一轻链包含第一轻链可变区,并且所述第二轻链包含第二轻链可变区,并且所述第一轻链与所述第二轻链两者各自包含κC_L结构域(例如人κC_L结构域)。在一些实施方案中,双特异性抗体包含第一轻链和第二轻链,其中所述第一轻链包含第一轻链可变区,并且所述第二轻链包含第二轻链可变区,并且所述第一轻链与所述第二轻链两者各自包含λC_L结构域(例如人λC_L结构域)。在一些实施方案中,双特异性抗体包含第一轻链和第二轻链,其中所述第一轻链包含第一轻链可变区和κC_L结构域(例如人κC_L结构域),并且所述第二轻链包含第二轻链可变区和λC_L结构域(例如人λC_L结构域)。在一些实施方案中,双特异性抗体包含第一轻链和第二轻链,其中所述第一轻链包含第一轻链可变区和λC_L结构域(例如人λC_L结构域),并且所述第二轻链包含第二轻链可变区和κC_L结构域(例如人κC_L结构域)。

[0065] 在另一方面,本文提供包括任何如本文所述的多核苷酸、多核苷酸文库、载体和/或载体文库(或包含它们的任何细胞或细胞群体)的试剂盒。在一些实施方案中,本文提供包括任何如本文所述的重链可变区、重链可变区文库、抗原结合结构域、抗原结合结构域文库、抗体、抗体文库、多肽(例如骨架多肽)、多肽文库、噬菌体和/或噬菌体文库的试剂盒。

[0066] 应了解,以上以及本文中所述的各种实施方案的一种、一些或全部性质可加以组合以形成本公开的其他实施方案。本公开的这些和其他方面将变得为本领域技术人员显而

易知。本公开的这些和其他实施方案通过随后具体实施方式来进一步描述。

附图说明

[0067] 图1A显示根据V_H结构域的氨基酸的残基编号的熵图。人抗体的113个V_H结构用于计算熵。

[0068] 图1B显示对一示例性抗体重链可变结构域(VH)序列(SEQ ID NO:197)的本文所用的高变区(HVR)的界定与对相同VH序列的互补决定区(CDR)的Kabat界定的比较。

[0069] 图2A显示经确认与抗原TAGT-1至TAGT-12结合的fab的亲和力测量结果。

[0070] 图2B显示经确认与抗原TAGT-1至TAGT-12结合的fab的熔解温度(Tm)测量结果。

具体实施方式

[0071] 本公开提供含有编码抗体重链(例如动态人抗体的重链)的合成(例如非天然存在)多核苷酸的文库。有利的是,本文公开的抗体重链包括被设计来产生高度柔性环以达成更有效底物结合和/或针对多种目标底物的特异性的HVR序列。相比于现有技术,这些HVR序列允许创建具有更广泛表位覆盖范围的较小抗体文库。

[0072] I.一般性技术

[0073] 本文中描述或参考的技术和程序通常由本领域技术人员所充分了解,并且通常由本领域技术人员使用常规方法加以采用,所述方法诸如像以下中描述的广泛利用的方法:Sambrook等,Molecular Cloning:A Laboratory Manual第3版(2001)Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,N.Y.;Current Protocols in Molecular Biology(F.M.Ausubel等人编,(2003));丛书Methods in Enzymology(Academic Press,Inc.);PCR 2:A Practical Approach(M.J.MacPherson,B.D.Hames和G.R.Taylor编(1995));Harlow和Lane编(1988)Antibodies,A Laboratory Manual,and Animal Cell Culture(R.I.Freshney编(1987));Oligonucleotide Synthesis(M.J.Gait编,1984);Methods in Molecular Biology,Humana Press;Cell Biology:A Laboratory Notebook(J.E.Cellis编,1998)Academic Press;Animal Cell Culture(R.I.Freshney编,1987);Introduction to Cell and Tissue Culture(J.P.Mather和P.E.Roberts,1998)Plenum Press;Cell and Tissue Culture:Laboratory Procedures(A.Doyle,J.B.Griffiths和D.G.Newell编,1993-8)J.Wiley and Sons;Handbook of Experimental Immunology(D.M.Weir和C.C.Blackwell编);Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells(J.M.Miller和M.P.Calos编,1987);PCR:The Polymerase Chain Reaction,(Mullis等人编,1994);Current Protocols in Immunology(J.E.Coligan等人编,1991);Short Protocols in Molecular Biology(Wiley and Sons,1999);Immunobiology(C.A.Janeway和P.Travers,1997);Antibodies(P.Finch,1997);Antibodies:A Practical Approach(D.Catty.编,IRL Press,1988-1989);Monoclonal Antibodies:A Practical Approach(P.Shepherd和C.Dean编,Oxford University Press,2000);Using Antibodies:A Laboratory Manual(E.Harlow和D.Lane(Cold Spring Harbor Laboratory Press,1999);The Antibodies(M.Zanetti和J.D.Capra编,Harwood Academic Publishers,1995);以及Cancer:Principles and Practice of Oncology(V.T.DeVita等人编,J.B.Lippincott

Company,1993)。

[0074] II.定义

[0075] 在详细描述本公开之前,应了解本公开不限于毫无疑问可变化的特定组合物或生物系统。也应了解本文所用的术语仅出于描述特定实施方案的目的,并且不意图具有限制性。

[0076] 除非内容另外明确规定,否则如本说明书和随附权利要求中所用,单数形式“一个(种)(a/an)”和“这个(种)(the)”包括复数个(种)指示物。因此,举例来说,提及“一个(种)分子”任选包括两个(种)或更多个(种)所述分子的组合,诸如此类。

[0077] 如本文所用的术语“约”是指相应值的易于为本技术领域中的熟练人士所知的通常误差范围。在本文中提及“约”某一值或参数包括(并且描述)有关那个值或参数本身的实施方案。

[0078] 应了解本文所述的本公开的方面和实施方案包括“包含”方面和实施方案,“由方面和实施方案组成”,以及“基本上由方面和实施方案组成”。

[0079] 术语“抗体”在本文中在最广泛意义上使用,并且明确涵盖单克隆抗体(包括全长单克隆抗体)、多克隆抗体、多特异性抗体(例如双特异性抗体)和抗体片段(例如单链可变片段或scFv),只要它们展现所需生物活性即可。

[0080] 基本4链抗体单元是一种由两个相同轻(L)链和两个相同重(H)链组成的异四聚糖蛋白。V_H和V_L一起配对形成单一抗原结合位点。对于不同类别的抗体的结构和性质,参见例如Basic and Clinical Immunology,第8版,Daniel P.Stites,Abba I.Terr和Tristram G.Parslow(编),Appleton&Lange,Norwalk,CT,1994,第71页和第6章。

[0081] 来自任何脊椎动物物种的L链都可基于它们的恒定结构域的氨基酸序列而被指定为称为κ(kappa)和λ(lambda)的两种明确不同类型中的一者。视免疫球蛋白的重链的恒定结构域(CH)的氨基酸序列而定,免疫球蛋白可被指定为不同类别或同种型。存在免疫球蛋白的五个类别:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,分别具有指定为α(“alpha”)、δ(“delta”)、ε(“epsilon”)、γ(“gamma”)和μ(“mu”)的重链。γ和α类别基于在CH序列和功能方面的相对微小差异而被进一步分为子类(同种型),例如人表达以下子类:IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2。不同类别的免疫球蛋白的亚单位结构和三维构型是熟知的,并且一般地描述于例如Abbas等,Cellular and Molecular Immunology,第4版(W.B.Saunders Co.,2000)中。

[0082] 抗体的“可变区”或“可变结构域”是指所述抗体的重链或轻链的氨基末端结构域。重链的可变结构域可被称为“V_H”。轻链的可变结构域可被称为“V_L”。这些结构域通常是抗体的最可变部分,并且含有抗原结合位点。

[0083] 术语“如按照Kabat的可变结构域残基编号”或“如按照Kabat的氨基酸位置编号”及其变化形式是指Kabat等(上文)中汇编抗体时用于重链可变结构域或轻链可变结构域的编号系统。使用这个编号系统,实际线性氨基酸序列可含有对应于可变结构域的FR或HVR的缩短或向其中的插入的较少或额外氨基酸。举例来说,重链可变结构域可包括在H2的残基52之后的单一氨基酸插入物(根据Kabat的残基52a)和在重链FR残基82之后的插入残基(例如根据Kabat的残基82a、82b和82c等)。对于给定抗体,可通过在具有同源性的区域处将抗体序列与“标准”Kabat编号序列进行比对来确定残基的Kabat编号。

[0084] Kabat编号系统通常在涉及可变结构域中的残基(近似是轻链的残基1-107和重链的残基1-113)时使用(例如Kabat等,Sequences of Immunological Interest.第5版Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,Md.(1991))。“EU编号系统”或“EU索引”通常在涉及免疫球蛋白重链恒定区中的残基时使用(例如Kabat等(上文)中报道的EU索引)。“如按照Kabat的EU索引”是指对人IgG1 EU抗体的残基编号。

[0085] 术语“恒定结构域”是指免疫球蛋白分子的相对于免疫球蛋白的含有抗原结合位点的其他部分即可变结构域具有更保守氨基酸序列的部分。恒定结构域含有重链的C_H1、C_H2和C_H3结构域(总称为CH)和轻链的CHL(或CL)结构域。

[0086] 与抗体片段相对比,术语“全长抗体”(术语“完整”抗体或“完全”抗体在本文中可互换使用)可指呈它的大致上完整形式的抗体。类似地,与抗体重链片段相对比,术语“全长抗体重链”(术语“完整”抗体重链或“完全”抗体重链在本文中可互换使用)可指呈它的大致上完整形式的抗体重链。具体来说,完全抗体包括具有重链和轻链,包括Fc区的那些。恒定结构域可为天然序列恒定结构域(例如人天然序列恒定结构域)或其氨基酸序列变体。在一些情况下,完整抗体可具有一种或多种效应物功能。

[0087] 如本文所用的术语“单克隆抗体”是指从大致上同质抗体群体获得的抗体,即构成所述群体的个别抗体是相同的,例外之处是可少量存在的可能天然存在突变和/或翻译后修饰(例如异构化、酰胺化)。单克隆抗体具有高度特异性,针对单一抗原位点。与通常包括针对不同决定簇(表位)的不同抗体的多克隆抗体制剂相比,各单克隆抗体针对抗原上的单一决定簇。修饰语“单克隆”将抗体的特性指示为从大致上同质抗体群体获得,并且不应解释为需要通过任何特定方法来产生抗体。举例来说,待根据本公开使用的单克隆抗体可通过多种技术制备,所述技术包括例如杂交瘤方法(例如Kohler和Milstein.,Nature,256:495-97(1975);Hongo等,Hybridoma,14(3):253-260(1995);Harlow等,Antibodies:A Laboratory Manual,(Cold Spring Harbor Laboratory Press,第2版1988);Hammerling等,Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681(Elsevier,N.Y.,1981))、重组DNA方法(参见例如美国专利号4,816,567)、噬菌体展示技术(参见例如Clackson等,Nature,352:624-628(1991);Marks等,J.Mol.Biol.222:581-597(1992);Sidhu等,J.Mol.Biol.338(2):299-310(2004);Lee等,J.Mol.Biol.340(5):1073-1093(2004);Fellouse,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 101(34):12467-472(2004);以及Lee等,J.Immunol.Methods 284(1-2):119-132(2004))、以及用于在具有人免疫球蛋白基因座的各部分或全部或编码人免疫球蛋白序列的基因的动物中产生人抗体或人样抗体的技术(参见例如WO 1998/24893;WO 1996/34096;WO 1996/33735;WO 1991/10741;Jakobovits等,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 90:2551(1993);Jakobovits等,Nature 362:255-258(1993);Bruggemann等,Year in Immunol.7:33(1993);美国专利号5,545,807;5,545,806;5,569,825;5,625,126;5,633,425;和5,661,016;Marks等,Bio/Technology 10:779-783(1992);Lonberg等,Nature 368:856-859(1994);Morrison,Nature 368:812-813(1994);Fishwild等,Nature Biotechnol.14:845-851(1996);Neuberger,Nature Biotechnol.14:826(1996);以及Lonberg和Huszar,Intern.Rev.Immunol.13:65-93(1995))。

[0088] 如本文所用,“高变区(HVR)”是指抗体结构域的在序列方面高度可变和/或形成结构确定的环的区域。通常,抗体包含六个HVR;三个在VH中(H1、H2、H3),并且三个在VL中(L1、

L2、L3)。参见例如Xu等,Immunity 13:37-45(2000);Johnson和Wu,Methods in Molecular Biology 248:1-25(Lo编,Human Press,Totowa,N.J.,2003)。各VH和VL由从氨基末端至羧基末端按以下顺序排列的三个HVR和四个框架(FW)区组成:FW1-HVR1-FW2-HVR2-FW3-HVR3-FW4。在整篇本公开中,重链的三个HVR被称为HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3。在整篇本公开中,重链的四个框架区被称为FW-H1、FW-H2、FW-H3和FW-H4。为进行比较,对于图1B中所示的示例性抗体重链可变结构域,使对HVR(如本文所用)的界定与对互补决定区(CDR)的Kabat界定(Yvonne Chen等(1999)"Selection and Analysis of an Optimized Anti-VEGF Antibody:Crystal Structure of an Affinity-matured Fab in Complex with Antigen",J.Mol.Biol.293,865-881)进行对比。

[0089] 如本文所用,"文库"是指一组两种或更多种具有共有类别的实体。举例来说,含有多核苷酸的文库可指一组两种或更多种多核苷酸。术语"文库"在本文中在最广泛意义上使用,并且明确涵盖可或可不加以组合的子文库。

[0090] 如本文所用,"独特"是指某一组的某一成员不同于所述组的其他成员。举例来说,来自编码多种编码抗体的多核苷酸的文库的独特抗体可指具有不为由所述文库编码的其他抗体所共有的特定序列的抗体。实际上,应了解文库的实体性实现形式的"独特"成员可以超过一个拷贝存在。举例来说,文库可含有多种"独特"抗体,其中"独特"抗体分子中的一者或多者以超过一个拷贝存在。

[0091] 如本文所用,"多样性"是指多样化和/或异质性。举例来说,文库中的抗体的多样性可指所述文库中存在多种具有独特序列的抗体。

[0092] 术语"多肽"、"蛋白质"和"肽"在本文中可互换使用,并且可指两个或更多个氨基酸的聚合物。

[0093] 如在本文中可互换使用的"多核苷酸"或"核酸"是指任何长度的核苷酸聚合物,并且包括DNA和RNA。核苷酸可为脱氧核糖核苷酸、核糖核苷酸、经修饰核苷酸或碱基、和/或它们的类似物或可通过DNA或RNA聚合酶或通过合成反应来并入聚合物中的任何底物。多核苷酸可包含经修饰核苷酸诸如甲基化核苷酸和它们的类似物。如果存在,那么可在聚合物的组装之前或之后赋予对核苷酸结构的修饰。核苷酸的序列可间插有非核苷酸组分。多核苷酸可包含在合成之后进行的修饰,诸如与标记的缀合。其他类型的修饰包括例如"帽";用类似物取代一个或多个天然存在的核苷酸;核苷酸间修饰诸如像具有不带电荷键联(例如甲基膦酸酯、磷酸三酯、氨基磷酸酯、氨基甲酸酯等)以及具有带电荷键联(例如硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯等)的那些、含有侧挂部分诸如像蛋白质(例如核酸酶、毒素、抗体、信号肽、多L-赖氨酸等)的那些、具有嵌入剂(例如吖啶、补骨脂素等)的那些、含有螯合剂(例如金属、放射性金属、硼、氧化性金属等)的那些、含有烷基化剂的那些、具有经修饰键联(例如α端基异构核酸等)的那些;以及未修饰形式的多核苷酸。此外,任何通常存在于糖中的羟基都可例如由膦酸酯基团、磷酸酯基团置换,由标准保护基加以保护,或被活化以制备与额外核苷酸的额外键联,或可缀合于固体或半固体载体。5'和3'末端OH可加以磷酸化,或用胺或具有1至20个碳原子的有机封端基团部分加以取代。其他羟基也可加以衍生以获得标准保护基。多核苷酸也可含有核糖或脱氧核糖的通常在本领域中是已知的类似形式,包括例如2'-O-甲基-核糖;2'-O-烯丙基-核糖;2'-氟-核糖或2'-叠氮基-核糖;碳环糖类似物;α-端基异构糖;差向异构糖诸如阿拉伯糖、木糖或来苏糖;吡喃糖;呋喃糖;景天庚酮糖;无环类似物以

及无碱基核苷类似物诸如甲基核糖苷。一个或多个磷酸二酯键联可由替代性连接基团置换。这些替代性连接基团包括但不限于其中磷酸酯由P(O)S(“硫代酸酯”)、P(S)S(“二硫代酸酯”)、(O)NR2(“酰胺化物”)、P(O)R、P(O)OR’、CO或CH2(“甲缩醛”)置换的实施方案,其中各R或R’独立地是H或任选含有醚(-O-)键联、芳基、烯基、环烷基、环烯基或芳烷基的取代或未取代的烷基(1-20个C)。并非所有在多核苷酸中的键联都需要是相同的。先前描述适用于本文提及的所有多核苷酸,包括RNA和DNA。

[0094] 细胞(例如包含合成多核苷酸或合成多核苷酸的文库的细胞或细胞群体)包括可为或已为用于并有多核苷酸插入物的载体的接受者的个别细胞或细胞培养物。宿主细胞包括单一宿主细胞的子代,并且所述子代可由于天然、偶然或故意突变而未必与原始亲本细胞完全相同(在形态方面或在基因组DNA互补方面)。宿主细胞包括在体内用多核苷酸(例如编码本公开的抗体重链可变区的合成多核苷酸)转染的细胞。

[0095] “非人动物”是指不分类为人的任何动物,诸如家养动物、农场动物或动物园动物、运动动物、玩赏动物(诸如狗、马、猫、母牛等)以及研究中使用的动物。研究动物可不加限制地指代线虫、节肢动物、脊椎动物、哺乳动物、蛙、啮齿动物(例如小鼠或大鼠)、鱼(例如斑马鱼或河豚鱼)、鸟(例如鸡)、狗、猫以及非人灵长类动物(例如恒河猴、食蟹猴、黑猩猩等)。在优选实施方案中,动物是产生抗体的动物。

[0096] III.抗体文库以及文库的产生

[0097] 本公开的某些方面涉及例如编码抗体重链可变区(V_H)或轻链可变区(V_L)的多核苷酸的文库。本公开的文库可含有一种或多种编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的重链可变区的多核苷酸,其中所述HVR-H1和所述HVR-H2是任何本文所述的HVR-H1和/或HVR-H2。

[0098] 在一些实施方案中,相比于典型抗体文库,本公开的文库含有较小数目的独特重链HVR序列和/或独特V_H序列。有利的是,所述文库可提供足以鉴定结合许多目标抗原中的一者或多者的抗体的多样性,同时由于文库大小降低,所以也允许达成更高效筛选。在一些实施方案中,本公开的文库包括以下或由以下组成:含有HVR-H1序列和HVR-H2序列的小于约10000、小于约9000、小于约8000或小于约7000种独特组合的多核苷酸。在某些实施方案中,本公开的文库包括以下或由以下组成:含有HVR-H1序列和HVR-H2序列的约6600种或更少种独特组合的多核苷酸。

[0099] 在一些实施方案中,文库含有多种多核苷酸,其中所述多核苷酸中的至少一者编码本公开的抗体重链可变区(例如包含本公开的HVR-H1和HVR-H2)。

[0100] 在一些实施方案中,一种或多种多核苷酸编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H1包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式I)X1TFX2X3YX4IHWV,其中X1是F或Y,X2是S或T,X3是D、G、N或S,并且X4是A、G或W(SEQ ID NO:198);(式II)YSIX1SGX2X3WX4WI,其中X1是S或T,X2是H或Y,X3是H或Y,并且X4是A、D、G、N、S或T(SEQ ID NO:199);和(式III)FSLSTX1GVX2VX3WI,其中X1是G或S,X2是A或G,并且X3是A、G、S或T(SEQ ID NO:200)。在一些实施方案中,一种或多种多核苷酸编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式IV)LAX1IX2WX3X4DKX5YSX6SLKSRL,其中X1是L或R,X2是D或Y,X3是A、D、S或Y,X4是D或G,X5是R、S或Y,并且X6是P或T(SEQ ID NO:201);(式V)IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D、E、S或Y,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:202);(式VI)

IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E、R、S或Y,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:203);(式VII)VSX1ISGX2GX3X4TYYADSVKGRF,其中X1是A、G、S、V或Y,X2是A、D、S或Y,X3是D、G或S,并且X4是S或T(SEQ ID NO:204);(式VIII)IGX1INPNX2GX3TX4YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是F或R,X3是D、G或S,并且X4是K或N(SEQ ID NO:205);(式IX)IGX1IX2PSX3GX4TX5YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是S或Y,X3是G或S,X4是D、G或S,并且X5是K或N(SEQ ID NO:206);和(式X)VGRIX1SKX2X3GX4TTX5YAAX6VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,X5是D或E,并且X6是P或S(SEQ ID NO:207)。在一些实施方案中,HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式XI)IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D或E,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:208);(式XI)IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E或S,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:209);和(式XII)VGRIX1SKX2X3GX4TTEYAAX5VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,并且X5是P或S(SEQ ID NO:210)。在一些实施方案中,一种或多种多核苷酸编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H1包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式I)X1TFX2X3YX4IHWV,其中X1是F或Y,X2是S或T,X3是D、G、N或S,并且X4是A、G或W(SEQ ID NO:198);(式II)YSIX1SGX2X3WX4WI,其中X1是S或T,X2是H或Y,X3是H或Y,并且X4是A、D、G、N、S或T(SEQ ID NO:199);和(式III)FSLSTX1GVX2VX3WI,其中X1是G或S,X2是A或G,并且X3是A、G、S或T(SEQ ID NO:200);并且HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式IV)LAX1IX2WX3X4DKX5YSX6SLKSRL,其中X1是L或R,X2是D或Y,X3是A、D、S或Y,X4是D或G,X5是R、S或Y,并且X6是P或T(SEQ ID NO:201);(式V)IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D、E、S或Y,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:202);(式VI)IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E、R、S或Y,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:203);(式VII)VSX1ISGX2GX3X4TYYADSVKGRF,其中X1是A、G、S、V或Y,X2是A、D、S或Y,X3是D、G或S,并且X4是S或T(SEQ ID NO:204);(式VIII)IGX1INPNX2GX3TX4YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是F或R,X3是D、G或S,并且X4是K或N(SEQ ID NO:205);(式IX)IGX1IX2PSX3GX4TX5YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是S或Y,X3是G或S,X4是D、G或S,并且X5是K或N(SEQ ID NO:206);和(式X)VGRIX1SKX2X3GX4TTX5YAAX6VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,X5是D或E,并且X6是P或S(SEQ ID NO:207)。在一些实施方案中,一种或多种多核苷酸编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H1包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式I)X1TFX2X3YX4IHWV,其中X1是F或Y,X2是S或T,X3是D、G、N或S,并且X4是A、G或W(SEQ ID NO:198);(式II)YSIX1SGX2X3WX4WI,其中X1是S或T,X2是H或Y,X3是H或Y,并且X4是A、D、G、N、S或T(SEQ ID NO:199);和(式III)FSLSTX1GVX2VX3WI,其中X1是G或S,X2是A或G,并且X3是A、G、S或T(SEQ ID NO:200);并且HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式XI)IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D或E,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:208);(式XI)IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E或S,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:209);和(式XII)VGRIX1SKX2X3GX4TTEYAAX5VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,并且X5是P或S(SEQ ID NO:210)。在一些实施方案中,文库的一种或多种多核苷酸处于载体(例如表达载体或展示载体)中。

[0101] 在一些实施方案中,至少2、至少3、至少4、至少5、至少6、至少7、至少8、至少9、至少

10、至少15、至少20、至少25、至少30、至少35、至少40、至少45、至少50、至少55、至少60、至少65、至少70、至少75、至少80、至少85、至少90、至少95、至少100、至少110、至少120、至少130、至少140、至少150、至少160、至少170、至少180、至少190、至少200、至少225、至少250、至少500、至少1000、至少1250、至少1500、至少1750、至少2000、至少2250、至少2500、至少2750、至少3000、至少3250、至少3500、至少3750、至少4000、至少4250、至少4500、至少4750、至少5000、至少5250、至少5500、至少5750、至少6000、至少6250或至少6500种多核苷酸编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H1包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式I)X1TFX2X3YX4IHWV,其中X1是F或Y,X2是S或T,X3是D、G、N或S,并且X4是A、G或W(SEQ ID NO:198);(式II)YSIX1SGX2X3WX4WI,其中X1是S或T,X2是H或Y,X3是H或Y,并且X4是A、D、G、N、S或T(SEQ ID NO:199);和(式III)FSLSTX1GVX2VX3WI,其中X1是G或S,X2是A或G,并且X3是A、G、S或T(SEQ ID NO:200);和/或HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式IV)LAX1IX2WX3X4DKX5YSX6SLKSRL,其中X1是L或R,X2是D或Y,X3是A、D、S或Y,X4是D或G,X5是R、S或Y,并且X6是P或T(SEQ ID NO:201);(式V)IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D、E、S或Y,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:202);(式VI)IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E、R、S或Y,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:203);(式VII)VSX1ISGX2GX3X4TYYADSVKGRF,其中X1是A、G、S、V或Y,X2是A、D、S或Y,X3是D、G或S,并且X4是S或T(SEQ ID NO:204);(式VIII)IGX1INPNX2GX3TX4YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是F或R,X3是D、G或S,并且X4是K或N(SEQ ID NO:205);(式IX)IGX1IX2PSX3GX4TX5YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是S或Y,X3是G或S,X4是D、G或S,并且X5是K或N(SEQ ID NO:206);和(式X)VGRIX1SKX2X3GX4TTX5YAAX6VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,X5是D或E,并且X6是P或S(SEQ ID NO:207);和/或小于约$6.5*10^4$(例如小于约$6.5*10^4$、小于约$5.5*10^4$、小于约$2.5*10^4$、小于约$1*10^4$、小于约6700、小于约6660、小于约5000、小于约2500、小于约1000、小于约690、小于约500、小于约100、小于约50等)、小于或等于62272、小于或等于60928、小于或等于54656、或小于或等于6660种多核苷酸编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H1包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式I)X1TFX2X3YX4IHWV,其中X1是F或Y,X2是S或T,X3是D、G、N或S,并且X4是A、G或W(SEQ ID NO:198);(式II)YSIX1SGX2X3WX4WI,其中X1是S或T,X2是H或Y,X3是H或Y,并且X4是A、D、G、N、S或T(SEQ ID NO:199);和(式III)FSLSTX1GVX2VX3WI,其中X1是G或S,X2是A或G,并且X3是A、G、S或T(SEQ ID NO:200);并且HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式IV)LAX1IX2WX3X4DKX5YSX6SLKSRL,其中X1是L或R,X2是D或Y,X3是A、D、S或Y,X4是D或G,X5是R、S或Y,并且X6是P或T(SEQ ID NO:201);(式V)IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D、E、S或Y,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:202);(式VI)IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E、R、S或Y,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:203);(式VII)VSX1ISGX2GX3X4TYYADSVKGRF,其中X1是A、G、S、V或Y,X2是A、D、S或Y,X3是D、G或S,并且X4是S或T(SEQ ID NO:204);(式VIII)IGX1INPNX2GX3TX4YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是F或R,X3是D、G或S,并且X4是K或N(SEQ ID NO:205);(式IX)IGX1IX2PSX3GX4TX5YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是S或Y,X3是G或S,X4是D、G或S,并且X5是K或N(SEQ ID NO:206);和(式X)VGRIX1SKX2X3GX4TTX5YAAX6VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,X5是D或

E,并且X6是P或S(SEQ ID NO:207)。在一些实施方案中,文库的一种或多种多核苷酸处于载体(例如表达载体或展示载体)中。

[0102] 在一些实施方案中,至少2、至少3、至少4、至少5、至少6、至少7、至少8、至少9、至少10、至少15、至少20、至少25、至少30、至少35、至少40、至少45、至少50、至少55、至少60、至少65、至少70、至少75、至少80、至少85、至少90、至少95、至少100、至少110、至少120、至少130、至少140、至少150、至少160、至少170、至少180、至少190、至少200、至少225、至少250、至少500、至少1000、至少1250、至少1500、至少1750、至少2000、至少2250、至少2500、至少2750、至少3000、至少3250、至少3500、至少3750、至少4000、至少4250、至少4500、至少4750、至少5000、至少5250、至少5500、至少5750、至少6000、至少6250或至少6500种多核苷酸编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H1包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式I)X1TFX2X3YX4IHWV,其中X1是F或Y,X2是S或T,X3是D、G、N或S,并且X4是A、G或W(SEQ ID NO:198);(式II)YSIX1SGX2X3WX4WI,其中X1是S或T,X2是H或Y,X3是H或Y,并且X4是A、D、G、N、S或T(SEQ ID NO:199);和(式III)FSLSTX1GVX2VX3WI,其中X1是G或S,X2是A或G,并且X3是A、G、S或T(SEQ ID NO:200);和/或HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式XI)IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D或E,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:208);(式XI)IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E或S,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:209);和(式XII)VGRIX1SKX2X3GX4TTEYAAX5VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,并且X5是P或S(SEQ ID NO:210);和/或小于约$6.5*10^4$(例如小于约$6.5*10^4$、小于约$5.5*10^4$、小于约$2.5*10^4$、小于约$1*10^4$、小于约6700、小于约6660、小于约5000、小于约2500、小于约1000、小于约690、小于约500、小于约100、小于约50等)、小于或等于62272、小于或等于60928、小于或等于54656、或小于或等于6660种多核苷酸编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H1包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式I)X1TFX2X3YX4IHWV,其中X1是F或Y,X2是S或T,X3是D、G、N或S,并且X4是A、G或W(SEQ ID NO:198);(式II)YSIX1SGX2X3WX4WI,其中X1是S或T,X2是H或Y,X3是H或Y,并且X4是A、D、G、N、S或T(SEQ ID NO:199);和(式III)FSLSTX1GVX2VX3WI,其中X1是G或S,X2是A或G,并且X3是A、G、S或T(SEQ ID NO:200);并且HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式XI)IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D或E,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:208);(式XI)IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E或S,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:209);和(式XII)VGRIX1SKX2X3GX4TTEYAAX5VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,并且X5是P或S(SEQ ID NO:210)。在一些实施方案中,文库的一种或多种多核苷酸处于载体(例如表达载体或展示载体)中。

[0103] 在一些实施方案中,文库中的多核苷酸编码抗体重链可变区,所述抗体重链可变区包含HVR-H1,所述HVR-H1包含根据式X1TFX2X3YX4IHWV的氨基酸序列,其中X1是F或Y,X2是S或T,X3是D、G、N或S,并且X4是A、G或W(SEQ ID NO:198);和HVR-H2,所述HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式IV)LAX1IX2WX3X4DKX5YSX6SLKSRL,其中X1是L或R,X2是D或Y,X3是A、D、S或Y,X4是D或G,X5是R、S或Y,并且X6是P或T(SEQ ID NO:201);(式V)IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D、E、S或Y,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:202);(式VI)IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E、R、S或Y,X2是H或Y,X3是N或S,并且

X4是N或Y(SEQ ID NO:203);(式VII)VSX1ISGX2GX3X4TYYADSVKGRF,其中X1是A、G、S、V或Y,X2是A、D、S或Y,X3是D、G或S,并且X4是S或T(SEQ ID NO:204);(式VIII)IGX1INPNX2GX3TX4YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是F或R,X3是D、G或S,并且X4是K或N(SEQ ID NO:205);(式IX)IGX1IX2PSX3GX4TX5YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是S或Y,X3是G或S,X4是D、G或S,并且X5是K或N(SEQ ID NO:206);和(式X)VGRIX1SKX2X3GX4TTX5YAAX6VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,X5是D或E,并且X6是P或S(SEQ ID NO:207)。

[0104] 在一些实施方案中,文库中的多核苷酸编码抗体重链可变区,所述抗体重链可变区包含HVR-H1,所述HVR-H1包含根据式X1TFX2X3YX4IHWV的氨基酸序列,其中X1是F或Y,X2是S或T,X3是D、G、N或S,并且X4是A、G或W(SEQ ID NO:198);和HVR-H2,所述HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式XI)IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D或E,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:208);(式XI)IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E或S,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:209);和(式XII)VGRIX1SKX2X3GX4TTEYAAX5VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,并且X5是P或S(SEQ ID NO:210)。

[0105] 在一些实施方案中,文库中的多核苷酸编码抗体重链可变区,所述抗体重链可变区包含HVR-H1,所述HVR-H1包含根据式YSIX1SGX2X3WX4WI的氨基酸序列,其中X1是S或T,X2是H或Y,X3是H或Y,并且X4是A、D、G、N、S或T(SEQ ID NO:19);和HVR-H2,所述HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式IV)LAX1IX2WX3X4DKX5YSX6SLKSRL,其中X1是L或R,X2是D或Y,X3是A、D、S或Y,X4是D或G,X5是R、S或Y,并且X6是P或T(SEQ ID NO:201);(式V)IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D、E、S或Y,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:202);(式VI)IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E、R、S或Y,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:203);(式VII)VSX1ISGX2GX3X4TYYADSVKGRF,其中X1是A、G、S、V或Y,X2是A、D、S或Y,X3是D、G或S,并且X4是S或T(SEQ ID NO:204);(式VIII)IGX1INPNX2GX3TX4YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是F或R,X3是D、G或S,并且X4是K或N(SEQ ID NO:205);(式IX)IGX1IX2PSX3GX4TX5YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是S或Y,X3是G或S,X4是D、G或S,并且X5是K或N(SEQ ID NO:206);和(式X)VGRIX1SKX2X3GX4TTX5YAAX6VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,X5是D或E,并且X6是P或S(SEQ ID NO:207)。

[0106] 在一些实施方案中,文库中的多核苷酸编码抗体重链可变区,所述抗体重链可变区包含HVR-H1,所述HVR-H1包含根据式YSIX1SGX2X3WX4WI的氨基酸序列,其中X1是S或T,X2是H或Y,X3是H或Y,并且X4是A、D、G、N、S或T(SEQ ID NO:199);和HVR-H2,所述HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式XI)IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D或E,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:208);(式XI)IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E或S,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:209);和(式XII)VGRIX1SKX2X3GX4TTEYAAX5VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,并且X5是P或S(SEQ ID NO:210)。

[0107] 在一些实施方案中,文库中的多核苷酸编码抗体重链可变区,所述抗体重链可变区包含HVR-H1,所述HVR-H1包含根据式FSLSTX1GVX2VX3WI的氨基酸序列,其中X1是G或S,X2是A或G,并且X3是A、G、S或T(SEQ ID NO:200);和HVR-H2,所述HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式IV)LAX1IX2WX3X4DKX5YSX6SLKSRL,其中X1是L或R,X2是D

或Y,X3是A、D、S或Y,X4是D或G,X5是R、S或Y,并且X6是P或T(SEQ ID NO:201);(式V)IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D、E、S或Y,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:202);(式VI)IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E、R、S或Y,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:203);(式VII)VSX1ISGX2GX3X4TYYADSVKGRF,其中X1是A、G、S、V或Y,X2是A、D、S或Y,X3是D、G或S,并且X4是S或T(SEQ ID NO:204);(式VIII)IGX1INPNX2GX3TX4YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是F或R,X3是D、G或S,并且X4是K或N(SEQ ID NO:205);(式IX)IGX1IX2PSX3GX4TX5YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是S或Y,X3是G或S,X4是D、G或S,并且X5是K或N(SEQ ID NO:206);和(式X)VGRIX1SKX2X3GX4TTX5YAAX6VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,X5是D或E,并且X6是P或S(SEQ ID NO:207)。

[0108] 在一些实施方案中,文库中的多核苷酸编码抗体重链可变区,所述抗体重链可变区包含HVR-H1,所述HVR-H1包含根据式FSLSTX1GVX2VX3WI的氨基酸序列,其中X1是G或S,X2是A或G,并且X3是A、G、S或T(SEQ ID NO:200);和HVR-H2,所述HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式XI)IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D或E,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:208);(式XI)IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E或S,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:209);和(式XII)VGRIX1SKX2X3GX4TTEYAAX5VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,并且X5是P或S(SEQ ID NO:210)。

[0109] 在一些实施方案中,多核苷酸文库编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:1-52和137-158组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,多核苷酸文库编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:1-52组成的组的氨基酸序列。

[0110] 在一些实施方案中,多核苷酸文库编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:53-136和159-164组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,多核苷酸文库编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:53-136组成的组的氨基酸序列。

[0111] 在一些实施方案中,多核苷酸文库编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H1包含选自由式(I)、式(II)和式(III)组成的组的氨基酸序列,或所述HVR-H2包含选自由式(IV)、式(V)、式(VI)、式(VII)、式(VIII)、式(IX)、式(X)、式(XI)、式(XII)和式(XIII)组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,多核苷酸文库编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:1-52组成的组的氨基酸序列,或其中所述HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:53-136组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:1、4、5、7、8、9、11、13、16、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、31、33、34、38、40、42、43、45、47、49、50和51组成的组的氨基酸序列,或其中HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:53、60、63、65、66、67、70、82、89、93、95、105、109、110、117、121、122、123、124、128、129、130、131、132和134组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:2、3、14、15、30、32、35、37、39、41、44、46和48组成的组的氨基酸序列,或其中HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:55、56、59、61、62、64、68、69、71、73、74、75、76、77、78、79、72、81、83、86、90、91、99、100、103、106、107、108、112、113、116、118、126、135和136组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID

NO:6、10、17、29、36和52组成的组的氨基酸序列,或其中HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:54、57、58、80、84、85、87、88、92、94、96、97、98、101、102、104、111、114、115、119、120、125、127和133组成的组的氨基酸序列。

[0112] 在一些实施方案中,多核苷酸文库编码包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的抗体重链可变区,其中所述HVR-H3是本领域中已知的任何HVR-H3。在一些实施方案中,HVR-H3包含选自由SEQ ID NO:223-256组成的组的氨基酸序列。

[0113] 本文所述的重链HVR序列可以任何组合包括在本公开的文库中。在一些实施方案中,重链可变区包含含有选自由SEQ ID NO:1-52和137-158组成的组的氨基酸序列的HVR-H1和含有选自由SEQ ID NO:53-136和159-164组成的组的氨基酸序列的HVR-H2。在一些实施方案中,重链可变区包含含有选自由SEQ ID NO:1-52组成的组的氨基酸序列的HVR-H1和含有选自由SEQ ID NO:53-136组成的组的氨基酸序列的HVR-H2。在一些实施方案中,重链可变区包含含有选自由SEQ ID NO:1-52和137-158组成的组的氨基酸序列的HVR-H1和含有选自由SEQ ID NO:223-256组成的组的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,重链可变区包含含有选自由SEQ IDNO:1-52组成的组的氨基酸序列的HVR-H1和含有选自由SEQ ID NO:223-256组成的组的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,重链可变区包含含有选自由SEQ ID NO:53-136和159-164组成的组的氨基酸序列的HVR-H2和含有选自由SEQ ID NO:223-256组成的组的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,重链可变区包含含有选自由SEQ ID NO:53-136组成的组的氨基酸序列的HVR-H2和含有选自由SEQ ID NO:223-256组成的组的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,重链可变区包含含有选自由SEQ ID NO:1-52和137-158组成的组的氨基酸序列的HVR-H1、含有选自由SEQ ID NO:53-136和159-164组成的组的氨基酸序列的HVR-H2和含有选自由SEQ ID NO:223-256组成的组的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,重链可变区包含含有选自由SEQ ID NO:1-52组成的组的氨基酸序列的HVR-H1、含有选自由SEQ ID NO:53-136组成的组的氨基酸序列的HVR-H2和含有选自由SEQ ID NO:223-256组成的组的氨基酸序列的HVR-H3。

[0114] 在某些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3中的三者,其中所述HVR-H1和所述HVR-H2选自由以下组成的组:包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(IX)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(IX)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(IV)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(V)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VI)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VI)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VI)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VIII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(V)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(V)氨基酸序列的HVR-H2;以及包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VIII)氨基酸序列的HVR-H2。在一些实施方案中,HVR-H1和HVR-H2选自由以下组成的组:包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XI)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式

(XII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XI)氨基酸序列的HVR-H2;以及包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XI)氨基酸序列的HVR-H2。在一些实施方案中,HVR-H1和HVR-H2选自由以下组成的组:包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(IV)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(IV)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(X)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(IX)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(X)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VIII)氨基酸序列的HVR-H2;以及包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(X)氨基酸序列的HVR-H2。在一些实施方案中,HVR-H1和HVR-H2选自由以下组成的组:包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XIII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XIII)氨基酸序列的HVR-H2;以及包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XIII)氨基酸序列的HVR-H2。

[0115] 在某些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3中的三者,其中所述HVR-H1和所述HVR-H2选自由以下组成的组:包含氨基酸序列SEQ ID NO:157的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:1的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:122的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:138的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:154的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:161的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:145的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:128的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:22的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:61的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:31的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:153的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:155的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:67的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:156的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:100的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:51的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:162的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:138的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:123的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:139的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:110的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:8的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:126的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:13的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:129的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:31的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:124的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:25的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:130的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:150的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:132的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:162的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:12的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:82的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:149的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:117的HVR-H2;以及包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:134的HVR-H2。在一些实施方案中,HVR-H1和HVR-H2选自由以下组成的组:包含氨基酸序列SEQ ID NO:26的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:53的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:151的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:53的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID

NO:34的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:50的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:162的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:104的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:121的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:116的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:121的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:17的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:25的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:101的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:25的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:114的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:29的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:112的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:152的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:156的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:89的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:157的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:94的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:48的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:58的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:50的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:89的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:50的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:163的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:160的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:87的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:92的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:93的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:97的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:103的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:164的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:137的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:54的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:127的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:85的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:110的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:139的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:109的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:139的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:121的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:8的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:120的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:140的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:131的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:141的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:116的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:142的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:159的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:143的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:116的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:144的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:121的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:146的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:110的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:147的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:133的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:148的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;以及包含氨基酸序列SEQ ID NO:13的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:118的HVR-H2。

[0116] 在一些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3中的三者,其中所述HVR-H1和所述HVR-H2列于表1中。在一些实施方案中,HVR-H3包含选自由SEQ ID NO:223-

256组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,重链可变区包含选自由SEQ ID NO:169、171、173、175、177、179、181、183、185、187、189、191、193和195组成的组的序列,或与选自SEQ ID NO:169、171、173、175、177、179、181、183、185、187、189、191、193和195的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的序列。

[0117] 在一些实施方案中,重链可变区还包含根据式:(FW-H1)-(HVR-H1)-(FW-H2)-(HVR-H2)-(FW-H3)-(HVR-H3)-(FW-H4)来并置在HVR之间的可变区重链框架序列。在一些实施方案中,框架序列中的一者、两者、三者或四者是以下序列:

[0118] FW-H1是EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG (SEQ ID NO:165)

[0119] FW-H2是RQAPGKGLEW (SEQ ID NO:166)

[0120] FW-H3是TISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO:167)

[0121] FW-H4是WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:168)。

[0122] 在一些实施方案中,重链可变区包含具有在SEQ ID NO:167的R19处的精氨酸向赖氨酸突变的替代性FW-H3序列。在一些实施方案中,框架序列中的一者、两者、三者或四者是具有SEQ ID NO:165的FW-H1、具有SEQ ID NO:166的FW-H2、具有在R19处的精氨酸向赖氨酸突变的具有SEQ ID NO:167的FW-H3、以及具有SEQ ID NO:168的FW-H4。

[0123] 在一些实施方案中,文库含有多种多核苷酸,其中所述多核苷酸中的至少一者编码抗体轻链可变区(例如包含HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3)。在一些实施方案中,抗体轻链可变区包含含有选自由SEQ ID NO:257-264组成的组的氨基酸序列的HVR-L1。在一些实施方案中,抗体轻链可变区包含含有选自由SEQ ID NO:265-274组成的组的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗体轻链可变区包含含有选自由SEQ ID NO:257-264组成的组的氨基酸序列的HVR-L1和含有选自由SEQ ID NO:265-274组成的组的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,文库含有编码抗体轻链可变区的至少一种、至少50种、至少100种、至少250种、至少500种、至少10^3种、至少10^4种、至少10^5种、至少10^6种、至少10^7种、至少10^8种、至少10^9种、至少10^{10}种、至少10^{11}种或至少10^{12}种独特序列的多种多核苷酸。在一些实施方案中,文库含有编码抗体轻链可变区的至少10^3种独特序列的多种多核苷酸。在一些实施方案中,文库含有编码抗体轻链可变区的至少10^5种独特序列的多种多核苷酸。在一些实施方案中,文库含有编码抗体轻链可变区的至少10^9种独特序列的多种多核苷酸。在其他实施方案中,文库含有编码一种抗体轻链可变区的多核苷酸。在一些实施方案中,文库含有编码抗体轻链可变区的1至约10^3种独特序列的多种多核苷酸。在一些实施方案中,抗体轻链可变区是任何见于以代理人案号69540-3000100、69540-2000140和/或69540-2000100提交的专利申请(其公开内容各自以引用的方式整体并入本文)中的抗体轻链可变区。在一些实施方案中,抗体轻链可变区包含任何见于以代理人案号69540-3000100、69540-2000140和/或69540-2000100提交的专利申请(其公开内容各自以引用的方式整体并入本文)中的HVR-L1、HVR-L2和/或HVR-L3序列。

[0124] 在一些实施方案中,文库的一种或多种多核苷酸编码全长抗体重链。在其他实施方案中,文库的一种或多种多核苷酸编码重链Fab片段。在一些实施方案中,文库的一种或多种多核苷酸编码单链可变片段。

[0125] 在一些实施方案中,文库含有编码多种独特抗体的多种多核苷酸。在一些实施方

案中,各抗体包含重链可变区和轻链可变区。在一些实施方案中,多种独特抗体中的各抗体的重链可变区包含相同序列,并且包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3。在一些实施方案中,HVR-H1和HVR-H2中的至少一者或至少两者包含选自以下的氨基酸序列:本公开的HVR-H1序列(例如X1TFX2X3YX4IHWV,其中X1是F或Y,X2是S或T,X3是D、G、N或S,并且X4是A、G或W(SEQ ID NO:198);YSIX1SGX2X3WX4WI,其中X1是S或T,X2是H或Y,X3是H或Y,并且X4是A、D、G、N、S或T(SEQ ID NO:199);和FSLSTX1GVX2VX3WI,其中X1是G或S,X2是A或G,并且X3是A、G、S或T(SEQ ID NO:200);以及SEQ ID NO:1-52和137-158),和本公开的HVR-H2序列(例如LAX1IX2WX3X4DKX5YSX6SLKSRL,其中X1是L或R,X2是D或Y,X3是A、D、S或Y,X4是D或G,X5是R、S或Y,并且X6是P或T(SEQ ID NO:201);IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D、E、S或Y,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:202);IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E、R、S或Y,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:203);VSX1ISGX2GX3X4TYYADSVKGRF,其中X1是A、G、S、V或Y,X2是A、D、S或Y,X3是D、G或S,并且X4是S或T(SEQ ID NO:204);IGX1INPNX2GX3TX4YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是F或R,X3是D、G或S,并且X4是K或N(SEQ ID NO:205);IGX1IX2PSX3GX4TX5YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是S或Y,X3是G或S,X4是D、G或S,并且X5是K或N(SEQ ID NO:206);VGRIX1SKX2X3GX4TTX5YAAX6VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,X5是D或E,并且X6是P或S(SEQ ID NO:207);IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D或E,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:208);IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E或S,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:209);和VGRIX1SKX2X3GX4TTEYAAX5VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,并且X5是P或S(SEQ ID NO:210);以及SEQ ID NO:53-136和159-164)。本文所述的重链HVR序列可以任何组合包括在本公开的文库中,所述文库也包括编码一种或多种轻链可变区的多核苷酸。

[0126] 在一些实施方案中,本公开的文库包括一种或多种编码一种或多种本公开的多核苷酸(例如合成多核苷酸)的载体。

[0127] 本文进一步提供一种例如通过提供以及组装本公开的文库的多核苷酸序列(例如合成多核苷酸)来制备文库的方法。本文进一步提供一种例如通过以下方式来制备文库的方法:选择一种、两种或三种包含具有多种构象的序列的重链HVR(例如一种或两种本公开的重链HVR),以及组装多核苷酸序列以产生编码多种抗体重链可变区序列的多核苷酸(例如合成多核苷酸)的文库。在一些实施方案中,抗体重链可变区序列是人抗体序列。在一些实施方案中,抗体重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,并且所述HVR-H1和/或所述HVR-H2包含选自以下的氨基酸序列:本公开的HVR-H1序列(例如X1TFX2X3YX4IHWV,其中X1是F或Y,X2是S或T,X3是D、G、N或S,并且X4是A、G或W(SEQ ID NO:198);YSIX1SGX2X3WX4WI,其中X1是S或T,X2是H或Y,X3是H或Y,并且X4是A、D、G、N、S或T(SEQ ID NO:199);和FSLSTX1GVX2VX3WI,其中X1是G或S,X2是A或G,并且X3是A、G、S或T(SEQ ID NO:200);以及SEQ ID NO:1-52和137-158),和本公开的HVR-H2序列(例如LAX1IX2WX3X4DKX5YSX6SLKSRL,其中X1是L或R,X2是D或Y,X3是A、D、S或Y,X4是D或G,X5是R、S或Y,并且X6是P或T(SEQ ID NO:201);IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D、E、S或Y,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:202);IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E、R、S或Y,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:203);VSX1ISGX2GX3X4TYYADSVKGRF,其中X1是A、G、S、V或Y,X2是A、D、

S或Y,X3是D、G或S,并且X4是S或T(SEQ ID NO:204);IGX1INPNX2GX3TX4YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是F或R,X3是D、G或S,并且X4是K或N(SEQ ID NO:205);IGX1IX2PSX3GX4TX5YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是S或Y,X3是G或S,X4是D、G或S,并且X5是K或N(SEQ ID NO:206);VGRIX1SKX2X3GX4TTX5YAAX6VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,X5是D或E,并且X6是P或S(SEQ ID NO:207);IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D或E,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:208);IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E或S,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:209);和VGRIX1SKX2X3GX4TTEYAAX5VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,并且X5是P或S(SEQ ID NO:210);以及SEQ ID NO:53-136和159-164)。

[0128] 在一些实施方案中,抗体重链可变区的HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3中的至少一者采用多种构象。在一些实施方案中,多种构象可使用本领域中已知的技术来测定或检测,所述技术包括不限于结构测定(例如X射线晶体照相术或NMR)和/或计算建模。

[0129] 可将编码一组抗体轻链可变区和/或重链可变区的多核苷酸克隆至任何适合载体中以表达一部分或整个轻链或重链序列。在一些实施方案中,克隆至载体中的多核苷酸允许产生融合于病毒外壳蛋白的全部或一部分(即产生融合蛋白),并且展示在粒子或细胞的表面上的一部分或整个轻链或重链序列。若干类型的载体是可用的,并且可用于实施本公开,例如噬菌粒载体。噬菌粒载体通常含有多种组分,包括启动子、信号序列、表型选择基因、复制起点位点以及如为本领域普通技术人员所知的其他必需组分。在一些实施方案中,可将编码一组抗体轻链可变区和/或重链可变区的多核苷酸克隆至载体中以在细菌细胞中表达来达成细菌展示,或在酵母细胞中表达来达成酵母展示。示例性载体描述于美国授予前公布号US20160145604中。在一些实施方案中,载体是展示载体,所述载体从5'至3'包含编码待展示在表面(例如噬菌体、细菌、酵母或哺乳动物细胞的表面)上的氨基酸序列的多核苷酸、限制位点、编码能够展示在所述表面上的表面肽的第二多核苷酸、以及第二限制位点。在一些实施方案中,第二多核苷酸编码噬菌体外壳蛋白、酵母外壁蛋白、细菌外膜蛋白、细胞表面栓系结构域、或衔接物、或其截短形式或衍生物。在某些实施方案中,第二多核苷酸是丝状噬菌体M13的基因III或其截短形式或衍生物。在一些实施方案中,表面肽用于噬菌体展示、酵母展示、细菌展示或哺乳动物展示、或在其之间的穿梭展示。在一些实施方案中,当表达时,氨基酸序列和表面肽以融合蛋白形式展示在表面上。在一些实施方案中,载体还包含在第一限制位点的5'或在第二限制位点的3'的融合标签。

[0130] 本公开的某些方面涉及一种含有本文所述的载体的细胞群体。可使由通过任何本文所述的技术或其他适合技术产生的多核苷酸编码的抗体轻链和/或重链表达,并且加以筛选以鉴定具有所需结构和/或活性的抗体。抗体的表达可例如使用无细胞提取物(例如核糖体展示)、噬菌体展示、原核细胞(例如细菌展示)或真核细胞(例如酵母展示)来进行。在一些实施方案中,细胞是细菌细胞、酵母细胞或哺乳动物细胞。用于转染细菌细胞、酵母细胞或哺乳动物细胞的方法在本领域中是已知的,并且描述于本文引用的参考文献中。以下更详细描述在这些细胞类型中(例如从本公开的文库)表达多肽(例如抗体链)以及筛选目标抗体。

[0131] 或者,多核苷酸可在诸如由Pluckthun和Skerra所述的大肠杆菌(E.coli)表达系统中表达。(Meth.Enzymol.,1989,178:476;Biotechnology,1991,9:273)。可表达突变蛋白

质以达成分泌在培养基中和/或分泌在细菌的细胞质中,如由Better和Horwitz,Meth.Enzymol.,1989,178:476所述。在一些实施方案中,使编码V_H和V_L的单结构域各自连接于编码信号序列诸如ompA、phoA或pelB信号序列的序列的3′末端(Lei等,J.Bacteriol.,1987,169:4379)。这些基因融合物组装在双顺反子构建体中,因此,它们可从单一载体表达,并且分泌至大肠杆菌的周质间隙中,在所述周质间隙中,它们将再折叠,并且可以活性形式加以回收。(Skerra等,Biotechnology,1991,9:273)。举例来说,抗体重链基因可与抗体轻链基因并行表达以产生抗体或抗体片段。

[0132] 在其他实施方案中,使用如例如US20040072740;US20030100023;和US20030036092中所述的分泌信号和脂质化部分,抗体序列在原核生物例如大肠杆菌的膜表面上表达。

[0133] 或者,抗体可通过如例如Jeong等,PNAS,2007,104:8247中所述的锚定周质表达(APEx双杂交表面展示),或通过如例如Mazor等,Nature Biotechnology,2007,25:563中所述的其他锚定方法来表达和筛选。

[0134] 高等真核细胞,诸如哺乳动物细胞,例如骨髓瘤细胞(例如NS/0细胞)、杂交瘤细胞、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞和人胚肾(HEK)细胞,也可用于表达本公开的抗体。通常,在哺乳动物细胞中表达的抗体被设计来分泌至培养基中,或在细胞的表面上表达。抗体或抗体片段可例如以完整抗体分子形式或以个别V_H和V_L片段、Fab片段、单结构域形式或以单链形式(scFv)产生。

[0135] 在其他实施方案中,抗体可使用哺乳动物细胞展示来选择(Ho等,PNAS,2006,103:9637)。在一些实施方案中,如在以上所述以及在以下所例示,可在例如使用噬菌体展示来产生融合于病毒外壳蛋白的全部或一部分(即产生融合蛋白),并且展示在粒子或细胞的表面上的一部分或整个轻链或重链序列之后,对抗体进行选择。

[0136] 本公开的某些方面涉及一种包含本公开的多核苷酸文库的非人动物。举例来说,本公开的非人动物可被修饰,以致它的基因组包括编码本公开的重链可变区的多核苷酸。在一非限制性实例中,产生包括被修饰来表达一种或多种本公开的重链可变区的重链免疫球蛋白基因座的转基因小鼠。在一些实施方案中,转基因动物(例如小鼠)表达由多核苷酸编码的抗体或重链。用于修饰非人动物的一个或多个免疫球蛋白基因座的技术在本领域中是已知的(例如用于产生Xenomouse™的方法)。

[0137] 对源于本公开的文库的抗体的筛选可通过本领域中已知的任何适当手段来进行。举例来说,可通过标准免疫测定和/或亲和色谱法来评估结合活性。关于催化功能例如蛋白水解功能来对本公开的抗体进行的筛选可使用标准测定例如血红蛋白斑块测定来实现。测定抗体对靶标的结合亲和力可使用多种熟知技术来在体外测定,所述技术例如BIACORE™仪器,所述仪器基于表面等离子体共振来测量抗体对给定靶标或抗原的结合速率;或生物层干涉测量术(BLI),如以下使用ForteBio Octet® RED96平台(Pall Life Sciences)所例示。体内测定可使用许多动物模型中的任一者来进行,接着在适当时在人中加以随后测试。也涵盖基于细胞的生物测定。抗体或抗原结合片段可关于功能活性例如拮抗剂或激动剂活性加以进一步选择。本文描述示例性筛选方法。举例来说,在一些实施方案中,通过用人IgG1-Fc标签对抗原加标签以及通过抗hIgG-Fc捕集(AHC)生物传感器来捕集,使用BLI测量fab片段与一种或多种靶标之间的结合亲和力。Fab可在它们的CH1结构域的C末端用His6标签加

标签,在宿主细胞诸如大肠杆菌中过度表达,并且例如使用Ni-NTA树脂加以纯化。亲和力可接着使用AHC传感器(抗人IgG-Fc捕集浸渍和读取生物传感器)来测量,所述AHC传感器被浸渍至含有用动力学缓冲液例如稀释至5-10μg/mL的纯化fab的孔中。

[0138] 在通过与靶标或抗原的结合和/或功能性测定来鉴定结合剂之后,可提取核酸。所提取DNA可接着直接用于转化大肠杆菌宿主细胞,或者,可例如使用PCR以适合引物来扩增编码序列,并且通过任何典型测序方法来测序。可对结合剂的可变结构域DNA进行限制酶消化,接着插入载体中以进行蛋白质表达。

[0139] IV.抗体以及抗体产生

[0140] 本文提供从本文所述的文库鉴定和选择的抗体。本公开的某些方面涉及抗体轻链HVR或重链HVR、包含所述HVR的可变区、和/或编码所述HVR或所述可变区的多核苷酸。在一些实施方案中,HVR和/或可变区是抗体片段、全长抗体、或单链可变片段(scFv)的一部分。

[0141] 在一些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H1包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式I)X1TFX2X3YX4IHWV,其中X1是F或Y,X2是S或T,X3是D、G、N或S,并且X4是A、G或W(SEQ ID NO:198);(式II)YSIX1SGX2X3WX4WI,其中X1是S或T,X2是H或Y,X3是H或Y,并且X4是A、D、G、N、S或T(SEQ ID NO:199);和(式III)FSLSTX1GVX2VX3WI,其中X1是G或S,X2是A或G,并且X3是A、G、S或T(SEQ ID NO:200)。在一些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式IV)LAX1IX2WX3X4DKX5YSX6SLKSRL,其中X1是L或R,X2是D或Y,X3是A、D、S或Y,X4是D或G,X5是R、S或Y,并且X6是P或T(SEQ ID NO:201);(式V)IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D、E、S或Y,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:202);(式VI)IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E、R、S或Y,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:203);(式VII)VSX1ISGX2GX3X4TYYADSVKGRF,其中X1是A、G、S、V或Y,X2是A、D、S或Y,X3是D、G或S,并且X4是S或T(SEQ ID NO:204);(式VIII)IGX1INPNX2GX3TX4YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是F或R,X3是D、G或S,并且X4是K或N(SEQ ID NO:205);(式IX)IGX1IX2PSX3GX4TX5YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是S或Y,X3是G或S,X4是D、G或S,并且X5是K或N(SEQ ID NO:206);和(式X)VGRIX1SKX2X3GX4TTX5YAAX6VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,X5是D或E,并且X6是P或S(SEQ ID NO:207)。在一些实施方案中,HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式XI)IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D或E,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:208);(式XII)IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E或S,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:209);和(式XII)VGRIX1SKX2X3GX4TTEYAAX5VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,并且X5是P或S(SEQ ID NO:210)。在一些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H1包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式I)X1TFX2X3YX4IHWV,其中X1是F或Y,X2是S或T,X3是D、G、N或S,并且X4是A、G或W(SEQ ID NO:198);(式II)YSIX1SGX2X3WX4WI,其中X1是S或T,X2是H或Y,X3是H或Y,并且X4是A、D、G、N、S或T(SEQ ID NO:199);和(式III)FSLSTX1GVX2VX3WI,其中X1是G或S,X2是A或G,并且X3是A、G、S或T(SEQ ID NO:200);并且HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式IV)LAX1IX2WX3X4DKX5YSX6SLKSRL,其中X1是L或R,X2是D或Y,X3是A、D、S或Y,X4是D或G,X5是R、S或Y,并且X6是P或T(SEQ ID NO:201);(式V)IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中

X1是A、D、E、S或Y,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:202);(式VI)IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E、R、S或Y,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:203);(式VII)VSX1ISGX2GX3X4TYYADSVKGRF,其中X1是A、G、S、V或Y,X2是A、D、S或Y,X3是D、G或S,并且X4是S或T(SEQ ID NO:204);(式VIII)IGX1INPNX2GX3TX4YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是F或R,X3是D、G或S,并且X4是K或N(SEQ ID NO:205);(式IX)IGX1IX2PSX3GX4TX5YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是S或Y,X3是G或S,X4是D、G或S,并且X5是K或N(SEQ ID NO:206);和(式X)VGRIX1SKX2X3GX4TTX5YAAX6VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,X5是D或E,并且X6是P或S(SEQ ID NO:207)。在一些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H1包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式I)X1TFX2X3YX4IHWV,其中X1是F或Y,X2是S或T,X3是D、G、N或S,并且X4是A、G或W(SEQ ID NO:198);(式II)YSIX1SGX2X3WX4WI,其中X1是S或T,X2是H或Y,X3是H或Y,并且X4是A、D、G、N、S或T(SEQ ID NO:199);和(式III)FSLSTX1GVX2VX3WI,其中X1是G或S,X2是A或G,并且X3是A、G、S或T(SEQ ID NO:200);并且HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式XI)IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D或E,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:208);(式XII)IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E或S,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:209);和(式XII)VGRIX1SKX2X3GX4TTEYAAX5VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,并且X5是P或S(SEQ ID NO:210)。

[0142] 在一些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1,所述HVR-H1包含根据式X1TFX2X3YX4IHWV的氨基酸序列,其中X1是F或Y,X2是S或T,X3是D、G、N或S,并且X4是A、G或W(SEQ ID NO:198);和HVR-H2,所述HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式IV)LAX1IX2WX3X4DKX5YSX6SLKSRL,其中X1是L或R,X2是D或Y,X3是A、D、S或Y,X4是D或G,X5是R、S或Y,并且X6是P或T(SEQ ID NO:201);(式V)IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D、E、S或Y,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:202);(式VI)IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E、R、S或Y,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:203);(式VII)VSX1ISGX2GX3X4TYYADSVKGRF,其中X1是A、G、S、V或Y,X2是A、D、S或Y,X3是D、G或S,并且X4是S或T(SEQ ID NO:204);(式VIII)IGX1INPNX2GX3TX4YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是F或R,X3是D、G或S,并且X4是K或N(SEQ ID NO:205);(式IX)IGX1IX2PSX3GX4TX5YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是S或Y,X3是G或S,X4是D、G或S,并且X5是K或N(SEQ ID NO:206);和(式X)VGRIX1SKX2X3GX4TTX5YAAX6VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,X5是D或E,并且X6是P或S(SEQ ID NO:207)。

[0143] 在一些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1,所述HVR-H1包含根据式X1TFX2X3YX4IHWV的氨基酸序列,其中X1是F或Y,X2是S或T,X3是D、G、N或S,并且X4是A、G或W(SEQ ID NO:198);和HVR-H2,所述HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式XI)IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D或E,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:208);(式XII)IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E或S,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:209);和(式XII)VGRIX1SKX2X3GX4TTEYAAX5VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,并且X5是P或S(SEQ ID NO:210)。

[0144] 在一些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1,所述HVR-H1包含根据式

YSIX1SGX2X3WX4WI的氨基酸序列,其中X1是S或T,X2是H或Y,X3是H或Y,并且X4是A、D、G、N、S或T(SEQ ID NO:199);和HVR-H2,所述HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式IV)LAX1IX2WX3X4DKX5YSX6SLKSRL,其中X1是L或R,X2是D或Y,X3是A、D、S或Y,X4是D或G,X5是R、S或Y,并且X6是P或T(SEQ ID NO:201);(式V)IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D、E、S或Y,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:202);(式VI)IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E、R、S或Y,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:203);(式VII)VSX1ISGX2GX3X4TYYADSVKGRF,其中X1是A、G、S、V或Y,X2是A、D、S或Y,X3是D、G或S,并且X4是S或T(SEQ ID NO:204);(式VIII)IGX1INPNX2GX3TX4YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是F或R,X3是D、G或S,并且X4是K或N(SEQ ID NO:205);(式IX)IGX1IX2PSX3GX4TX5YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是S或Y,X3是G或S,X4是D、G或S,并且X5是K或N(SEQ ID NO:206);和(式X)VGRIX1SKX2X3GX4TTX5YAAX6VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,X5是D或E,并且X6是P或S(SEQ ID NO:207)。

[0145] 在一些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1,所述HVR-H1包含根据式YSIX1SGX2X3WX4WI的氨基酸序列,其中X1是S或T,X2是H或Y,X3是H或Y,并且X4是A、D、G、N、S或T(SEQ ID NO:199);和HVR-H2,所述HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式XI)IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D或E,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:208);(式XII)IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E或S,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:209);和(式XII)VGRIX1SKX2X3GX4TTEYAAX5VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,并且X5是P或S(SEQ ID NO:210)。

[0146] 在一些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1,所述HVR-H1包含根据式FSLSTX1GVX2VX3WI的氨基酸序列,其中X1是G或S,X2是A或G,并且X3是A、G、S或T(SEQ ID NO:200);和HVR-H2,所述HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式IV)LAX1IX2WX3X4DKX5YSX6SLKSRL,其中X1是L或R,X2是D或Y,X3是A、D、S或Y,X4是D或G,X5是R、S或Y,并且X6是P或T(SEQ ID NO:201);(式V)IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D、E、S或Y,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:202);(式VI)IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E、R、S或Y,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:203);(式VII)VSX1ISGX2GX3X4TYYADSVKGRF,其中X1是A、G、S、V或Y,X2是A、D、S或Y,X3是D、G或S,并且X4是S或T(SEQ ID NO:204);(式VIII)IGX1INPNX2GX3TX4YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是F或R,X3是D、G或S,并且X4是K或N(SEQ ID NO:205);(式IX)IGX1IX2PSX3GX4TX5YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是S或Y,X3是G或S,X4是D、G或S,并且X5是K或N(SEQ ID NO:206);和(式X)VGRIX1SKX2X3GX4TTX5YAAX6VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,X5是D或E,并且X6是P或S(SEQ ID NO:207)。

[0147] 在一些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1,所述HVR-H1包含根据式FSLSTX1GVX2VX3WI的氨基酸序列,其中X1是G或S,X2是A或G,并且X3是A、G、S或T(SEQ ID NO:200);和HVR-H2,所述HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:(式XI)IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D或E,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:208);(式XII)IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E或S,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:209);和(式XII)VGRIX1SKX2X3GX4TTEYAAX5VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,并且X5是P或S(SEQ ID NO:210)。

[0148] 在一些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H1和/或所述HVR-H2包含下表1中所列的氨基酸序列。

[0149] 表1:重链HVR序列

[0150]

SEQ ID NO.	经设计序列
HVR-H1	
1	FTFTDYGIHWV
2	FTFTGYAIHWV
3	FTFTNYGIHWV
4	YTFSDYAIHWV
5	YTFSDYGIHWV
6	YTFSGYAIHWV
7	YTFSGYGIHWV
8	YTFSNYGIHWV
9	YTFSSYGIHWV
10	YTFSGYWIHWV
11	YTFSNYWIHWV
12	FTFSGYWIHWV
13	FTFSNYWIHWV
14	YTFSDYWIHWV
15	YSISSGHHWAWI
16	YSISSGHYWNWI
17	YSISSGHYWSWI
18	YSISSGHYWTWI
19	YSISSGYHWAWI
20	YSISSGYHWDWI
21	YSISSGYHWGWI
22	YSISSGYHWNWI
23	YSISSGYHWSWI
24	YSISSGHHWDWI
25	YSISSGYYWDWI
26	YSISSGYYWNWI
27	YSISSGYYWTWI
28	YSITSGHHWAWI
29	YSITSGHHWDWI
30	YSITSGHHWGWI
31	YSITSGHHWNWI
32	YSITSGHHWSWI
33	YSISSGHHWGWI
34	YSITSGHYWAWI
35	YSITSGHYWDWI
36	YSITSGHYWGWI
37	YSITSGHYWNWI
38	YSITSGHYWSWI
39	YSITSGYHWAWI
40	YSITSGYHWGWI
41	YSISSGHHWNWI
42	YSITSGYHWNWI

[0151]

43	YSITSGYHWSWI
44	YSITSGYYWDWI
45	YSISSGHHWTWI
46	YSISSGHYWDWI
47	FSLSTSGVAVSWI
48	FSLSTGGVAVGWI
49	FSLSTGGVAVSWI
50	FSLSTGGVGVAWI
51	FSLSTGGVGVSWI
52	FSLSTSGVAVAWI
137	FTFSDYAIHWV
138	FTFSDYGIHWV
139	YTFSNYAIHWV
140	YTFSSYAIHWV
141	YTFTDYAIHWV
142	YTFTDYGIHWV
143	YTFTNYAIHWV
144	YTFTNYGIHWV
145	FTFSGYGIHWV
146	FTFSNYAIHWV
147	FTFSSYGIHWV
148	FTFSDYWIHWV
149	FTFTSYWIHWV
150	YSISSGYYWGWI
151	YSITSGYYWNWI
152	YSITSGYYWSWI
153	YSISSGHYWAWI
154	YSISSGHYWGWI
155	FSLSTSGVAVGWI
156	FSLSTSGVGVAWI
157	FSLSTSGVGVGWI
158	FSLSTGGVGVGWI
HVR-H2	
53	LARIDWDDDKRYSPSLKSRL
54	LALIDWDDDKRYSPSLKSRL
55	LALIDWDDDKRYSTSLKSRL
56	LALIDWDDDKYYSPSLKSRL
57	LALIDWADDKYYSPSLKSRL
58	LALIDWAGDKSYSTSLKSRL
59	LARIDWDDDKYYSPSLKSRL
60	LARIDWDDDKYYSTSLKSRL
61	LARIDWDGDKYYSTSLKSRL
62	IGDIYHSGSTYYSPSLKSRV
63	IGEIYHSGSTYYSPSLKSRV
64	IGEIYYSGSTYYSPSLKSRV

[0152]

65	IGSIYHSGNTNYNPSLKSRV
66	IGEIYHSGNTYYNPSLKSRV
67	IGEIYHSGSTYYNPSLKSRV
68	IGEIYYSGSTYYNPSLKSRV
69	IGDIYHSGNTYYNPSLKSRV
70	IGDIYHSGSTYYNPSLKSRV
71	VSAISGYGDTTYYADSVKGRF
72	VSAISGYGGSTYYADSVKGRF
73	VSAISGYGGTTYYADSVKGRF
74	VSGISGAGDTTYYADSVKGRF
75	VSGISGDGDTTYYADSVKGRF
76	VSGISGDGGSTYYADSVKGRF
77	VSGISGYGDTTYYADSVKGRF
78	VSGISGYGGTTYYADSVKGRF
79	VSVISGDGDTTYYADSVKGRF
80	VSVISGYGGSTYYADSVKGRF
81	VSGISGDGSTTYYADSVKGRF
82	VSGISGYGSTTYYADSVKGRF
83	VSVISGSGSTTYYADSVKGRF
84	VSVISGYGSSTYYADSVKGRF
85	VSVISGYGSTTYYADSVKGRF
86	VSAISGYGSTTYYADSVKGRF
87	VSSISGYGDTTYYADSVKGRF
88	VSSISGYGGSTYYADSVKGRF
89	VSSISGYGGTTYYADSVKGRF
90	VSYISGAGDTTYYADSVKGRF
91	VSSISGAGDTTYYADSVKGRF
92	VSYISGAGGTTYYADSVKGRF
93	VSYISGDGDTTYYADSVKGRF
94	VSYISGDGGSTYYADSVKGRF
95	VSYISGDGGTTYYADSVKGRF
96	VSYISGSGDTTYYADSVKGRF
97	VSSISGAGGSTYYADSVKGRF
98	VSYISGYGDTTYYADSVKGRF
99	VSYISGYGGTTYYADSVKGRF
100	VSSISGAGGTTYYADSVKGRF
101	VSSISGDGDTTYYADSVKGRF
102	VSSISGDGGTTYYADSVKGRF
103	VSSISGAGSSTYYADSVKGRF
104	VSSISGAGSTTYYADSVKGRF
105	VSSISGDGSSTYYADSVKGRF
106	VSSISGDGSTTYYADSVKGRF
107	VSSISGYGSSTYYADSVKGRF
108	VSSISGYGSTTYYADSVKGRF
109	IGWINPNRGDTKYAQKFQGRV

[0153]

110	IGWINPNRGDTNYAQKFQGRV
111	IGWINPNRGGTKYAQKFQGRV
112	IGWINPNRGGTNYAQKFQGRV
113	IGWINPNRGSTKYAQKFQGRV
114	IGWINPNRGSTNYAQKFQGRV
115	IGRINPNFGDTNYAQKFQGRV
116	IGWINPNFGDTNYAQKFQGRV
117	IGWINPNFGSTKYAQKFQGRV
118	IGWINPNFGSTNYAQKFQGRV
119	IGIINPNRGDTKYAQKFQGRV
120	IGIINPNRGDTNYAQKFQGRV
121	IGIINPNFGDTNYAQKFQGRV
122	IGWISPSGGGTKYAQKFQGRV
123	IGWISPSGGGTNYAQKFQGRV
124	IGWISPSSGGTKYAQKFQGRV
125	IGWISPSSGGTNYAQKFQGRV
126	IGWIYPSGGGTKYAQKFQGRV
127	IGWIYPSGGGTNYAQKFQGRV
128	IGWISPSGGSTNYAQKFQGRV
129	IGWISPSSGSTKYAQKFQGRV
130	IGWISPSSGSTNYAQKFQGRV
131	IGWISPSGGSTKYAQKFQGRV
132	IGIIYPSGGGTNYAQKFQGRV
133	IGIISPSGGGTKYAQKFQGRV
134	IGIISPSGGGTNYAQKFQGRV
135	IGIIYPSGGSTNYAQKFQGRV
136	VGRIKSKTDGYTTEYAAPVKGRF
159	VSAISGSGSTTYYADSVKGRF
160	VSSISGSGDTTYYADSVKGRF
161	VSSISGSGGSTYYADSVKGRF
162	VSSISGSGGTTYYADSVKGRF
163	VSSISGDGGSTYYADSVKGRF
164	VSSISGSGSTTYYADSVKGRF

[0154] 在一些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H3是本领域中已知的任何HVR-H3。在一些实施方案中,HVR-H3包含选自由SEQ ID NO:223-256组成的组的氨基酸序列。

[0155] 在一些实施方案中,本文提供一种具有包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的重链可变区的抗体重链,其中所述HVR-H1和/或所述HVR-H2是任何本文所述的HVR-H1和/或HVR-H2。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自以下的氨基酸序列:本公开的任何HVR-H1序列(例如X1TFX2X3YX4IHWV,其中X1是F或Y,X2是S或T,X3是D、G、N或S,并且X4是A、G或W(SEQ ID NO:198);YSIX1SGX2X3WX4WI,其中X1是S或T,X2是H或Y,X3是H或Y,并且X4是A、D、G、N、S或T(SEQ ID NO:199);和FSLSTX1GVX2VX3WI,其中X1是G或S,X2是A或G,并且X3是A、G、S或T(SEQ ID NO:200);以及SEQ ID NO:1-52和137-158)。在一些实施方案中,HVR-H2包含选自以下的氨基酸序列:本公开的任何HVR-H2(例如LAX1IX2WX3X4DKX5YSX6SLKSRL,其中X1是L或R,X2是D或Y,X3是A、D、S或Y,X4是D或G,X5是R、S或Y,并且X6是P或T(SEQ ID NO:201);

IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D、E、S或Y,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:202);IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E、R、S或Y,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:203);VSX1ISGX2GX3X4TYYADSVKGRF,其中X1是A、G、S、V或Y,X2是A、D、S或Y,X3是D、G或S,并且X4是S或T(SEQ ID NO:204);IGX1INPNX2GX3TX4YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是F或R,X3是D、G或S,并且X4是K或N(SEQ ID NO:205);IGX1IX2PSX3GX4TX5YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是S或Y,X3是G或S,X4是D、G或S,并且X5是K或N(SEQ ID NO:206);VGRIX1SKX2X3GX4TTX5YAAX6VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,X5是D或E,并且X6是P或S(SEQ ID NO:207);IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D或E,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:208);IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E或S,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:209);和VGRIX1SKX2X3GX4TTEYAAX5VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,并且X5是P或S(SEQ ID NO:210);以及SEQ ID NO:53-136和159-164)。

[0156] 在一些实施方案中,本文提供一种具有包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的重链可变区的抗体重链,其中所述HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:1-52和137-158组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:1-52组成的组的氨基酸序列。

[0157] 在一些实施方案中,本文提供一种具有包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的重链可变区的抗体重链,其中所述HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:53-136和159-164组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:53-136组成的组的氨基酸序列。

[0158] 在一些实施方案中,本文提供一种具有包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的重链可变区的抗体重链,其中所述HVR-H1包含选自由式(I)、式(II)和式(III)组成的组的氨基酸序列,或所述HVR-H2包含选自由式(IV)、式(V)、式(VI)、式(VII)、式(VIII)、式(IX)、式(X)、式(XI)、式(XII)和式(XIII)组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文提供一种具有包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的重链可变区的抗体重链,其中所述HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:1-52组成的组的氨基酸序列,或其中所述HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:53-136组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:1、4、5、7、8、9、11、13、16、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、31、33、34、38、40、42、43、45、47、49、50和51组成的组的氨基酸序列,或其中HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:53、60、63、65、66、67、70、82、89、93、95、105、109、110、117、121、122、123、124、128、129、130、131、132和134组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:2、3、14、15、30、32、35、37、39、41、44、46和48组成的组的氨基酸序列,或其中HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:55、56、59、61、62、64、68、69、71、73、74、75、76、77、78、79、72、81、83、86、90、91、99、100、103、106、107、108、112、113、116、118、126、135和136组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:6、10、17、29、36和52组成的组的氨基酸序列,或其中HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:54、57、58、80、84、85、87、88、92、94、96、97、98、101、102、104、111、114、115、119、120、125、127和133组成的组的氨基酸序列。

[0159] 在一些实施方案中,本文提供一种具有包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的重链可变区的抗体重链,其中所述HVR-H1包含选自SEQ ID NO:1-52和137-158的氨基酸序列,并且所述HVR-H2包含选自SEQ ID NO:53-136和159-164的氨基酸序列。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自SEQ ID NO:1-52的氨基酸序列,并且HVR-H2包含选自SEQ ID NO:53-136的氨基酸

序列。

[0160] 在某些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3中的三者,其中所述HVR-H1和所述HVR-H2选自由以下组成的组:包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(IX)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(IX)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(IV)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(V)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VI)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VI)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VI)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VIII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(V)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(V)氨基酸序列的HVR-H2;以及包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VIII)氨基酸序列的HVR-H2。在一些实施方案中,HVR-H1和HVR-H2选自由以下组成的组:包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XI)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XI)氨基酸序列的HVR-H2;以及包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XI)氨基酸序列的HVR-H2。在一些实施方案中,HVR-H1和HVR-H2选自由以下组成的组:包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(IV)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(IV)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(X)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(IX)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(X)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(VIII)氨基酸序列的HVR-H2;以及包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(X)氨基酸序列的HVR-H2。在一些实施方案中,HVR-H1和HVR-H2选自由以下组成的组:包含式(II)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XIII)氨基酸序列的HVR-H2;包含式(I)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XIII)氨基酸序列的HVR-H2;以及包含式(III)氨基酸序列的HVR-H1和包含式(XIII)氨基酸序列的HVR-H2。

[0161] 本文所述的重链HVR序列可以任何组合包括在本公开的抗体重链或重链可变区中。在一些实施方案中,重链可变区包含含有选自由SEQ ID NO:1-52和137-158组成的组的氨基酸序列的HVR-H1和含有选自由SEQ ID NO:53-136和159-164组成的组的氨基酸序列的HVR-H2。在一些实施方案中,重链可变区包含含有选自由SEQ ID NO:1-52组成的组的氨基酸序列的HVR-H1和含有选自由SEQ ID NO:53-136组成的组的氨基酸序列的HVR-H2。在一些实施方案中,重链可变区包含含有选自由SEQ ID NO:1-52和137-158组成的组的氨基酸序列的HVR-H1和含有选自由SEQ ID NO:223-256组成的组的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,重链可变区包含含有选自由SEQ ID NO:1-52组成的组的氨基酸序列的HVR-H1和含有选自由SEQ ID NO:223-256组成的组的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,重链可变区包含含有选自由SEQ ID NO:53-136和159-164组成的组的氨基酸序列的HVR-H2和含有选自由SEQ ID NO:223-256组成的组的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,重链可

变区包含含有选自由SEQ ID NO:53-136组成的组的氨基酸序列的HVR-H2和含有选自由SEQ ID NO:223-256组成的组的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,重链可变区包含含有选自由SEQ ID NO:1-52和137-158组成的组的氨基酸序列的HVR-H1、含有选自由SEQ ID NO:53-136和159-164组成的组的氨基酸序列的HVR-H2和含有选自由SEQ ID NO:223-256组成的组的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,重链可变区包含含有选自由SEQ ID NO:1-52组成的组的氨基酸序列的HVR-H1、含有选自由SEQ ID NO:53-136组成的组的氨基酸序列的HVR-H2和含有选自由SEQ ID NO:223-256组成的组的氨基酸序列的HVR-H3。

[0162] 在某些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3中的三者,其中所述HVR-H1和所述HVR-H2选自由以下组成的组:包含氨基酸序列SEQ ID NO:157的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:1的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:122的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:138的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:154的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:161的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:145的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:128的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:22的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:61的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:31的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:153的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:155的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:67的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:156的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:100的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:51的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:162的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:138的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:123的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:139的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:110的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:8的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:126的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:13的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:129的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:31的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:124的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:25的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:130的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:150的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:132的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:162的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:12的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:82的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:149的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:117的HVR-H2;以及包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:134的HVR-H2。在一些实施方案中,HVR-H1和HVR-H2选自由以下组成的组:包含氨基酸序列SEQ ID NO:26的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:53的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:151的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:53的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:34的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:50的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:162的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:104的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:121的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:116的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的HVR-H1和包含氨基酸

序列SEQ ID NO:121的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:17的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:25的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:101的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:25的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:114的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:29的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:112的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:152的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:156的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:89的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:157的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:94的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:48的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:58的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:50的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:89的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:50的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:163的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:160的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:87的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:92的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:93的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:97的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:103的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:158的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:164的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:137的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:54的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:127的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:85的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:110的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:139的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:109的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:139的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:121的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:8的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:120的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:140的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:131的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:141的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:116的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:142的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:159的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:143的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:116的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:144的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:121的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:146的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:110的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:147的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:133的HVR-H2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:148的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:63的HVR-H2;以及包含氨基酸序列SEQ ID NO:13的HVR-H1和包含氨基酸序列SEQ ID NO:118的HVR-H2。

[0163] 在一些实施方案中,重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3中的三者,其中所述HVR-H1和所述HVR-H2列于表1中。在一些实施方案中,HVR-H3包含选自由SEQ ID NO:223-256组成的组的氨基酸序列。在一些实施方案中,重链可变区包含选自SEQ ID NO:169、171、173、175、177、179、181、183、185、187、189、191、193和195的序列,或与选自SEQ ID NO:169、171、173、175、177、179、181、183、185、187、189、191、193和195的序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的序列。

[0164] 在一些实施方案中,重链可变区还包含根据式:(FW-H1)-(HVR-H1)-(FW-H2)-(HVR-H2)-(FW-H3)-(HVR-H3)-(FW-H4)来并置在HVR之间的可变区重链框架序列。在一些实施方案中,框架序列中的一者、两者、三者或四者是以下序列:

[0165] FW-H1是EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG(SEQ ID NO:165)

[0166] FW-H2是RQAPGKGLEW(SEQ ID NO:166)

[0167] FW-H3是TISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC(SEQ ID NO:167)

[0168] FW-H4是WGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:168)。

[0169] 在一些实施方案中,重链可变区包含具有在SEQ ID NO:167的R19处的精氨酸向赖氨酸突变的替代性FW-H3序列。在一些实施方案中,框架序列中的一者、两者、三者或四者是具有SEQ ID NO:165的FW-H1、具有SEQ ID NO:166的FW-H2、具有在R19处的精氨酸向赖氨酸突变的具有SEQ ID NO:167的FW-H3、以及具有SEQ ID NO:168的FW-H4。

[0170] 在一些实施方案中,本文进一步提供一种包含重链和轻链的抗体,其中所述重链包括本公开的重链可变区,并且其中所述轻链包括本领域中已知的任何轻链可变区(例如包含HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3)。在一些实施方案中,抗体轻链可变区包含含有选自由SEQ ID NO:257-264组成的组的氨基酸序列的HVR-L1。在一些实施方案中,抗体轻链可变区包含含有选自由SEQ ID NO:265-274组成的组的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗体轻链可变区包含含有选自由SEQ ID NO:257-264组成的组的氨基酸序列的HVR-L1和含有选自由SEQ ID NO:265-274组成的组的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗体轻链包含任何见于以代理人案号69540-3000100、69540-2000140和/或69540-2000100提交的专利申请(其公开内容各自以引用的方式整体并入本文)中的抗体轻链可变区。在一些实施方案中,抗体轻链包含轻链可变区,所述轻链可变区包含任何见于以代理人案号69540-3000100、69540-2000140和/或69540-2000100提交的专利申请(其公开内容各自以引用的方式整体并入本文)中的HVR-L1、HVR-L2和/或HVR-L3序列。

[0171] 已设计和制备能够特异性识别和紧密结合抗原的IgG源性骨架诸如Fab和单链Fv(scFv)以及稳定化Fv或scFv。已探究用于类似应用的替代性蛋白质骨架或非IgG样骨架。可通过采用组合工程改造的方法诸如定点随机诱变与噬菌体展示、酵母展示或其他分子选择技术组合,对具有非Ig构造的若干蛋白质家族诸如蛋白A、纤连蛋白、锚蛋白重复序列、纤维连接蛋白(Adnectin)、亲和体(Affibody)、抗运载蛋白(Anticalin)、DARPin、经工程改造孔尼茨(Kunitz)抑制剂或载脂蛋白、环状肽和多环肽授予新型结合位点。这些新型替代性结合试剂总称为经工程改造蛋白质骨架,所述经工程改造蛋白质骨架说明刚性天然蛋白质结构用于使用此处提出的动态结合基序或单元来修饰针对指定靶标的现有结合位点或建构针对指定靶标的新结合位点的事实。相较于抗体或它们的重组片段,这些蛋白质骨架经常提供实用优势,包括在微生物表达系统中具有升高的稳定性和高生产产率。因为这些新型结合蛋白借助于用以实现紧密靶标结合活性的生物分子工程改造方法获得,所以它们也可经受聚焦在其他所需性质(诸如溶解性、热稳定性、蛋白酶抗性等)的进一步选择流程。因此,对于生物技术和生物医学研究中的许多应用,尤其是对于多特异性结合基序,经工程改造蛋白质骨架已变得具有吸引力。用以产生具有有益性质的这种替代性结合蛋白的尝试以特别着重于生物分子结构和功能以及临床应用方法的治疗使用为目标。

[0172] 在一些实施方案中,本文进一步提供一种或多种包含一种或多种本文所述的HVR

的多肽(例如骨架多肽,包括IgG源性骨架多肽(诸如Fab、单链Fv和稳定化Fv)或非IgG源性骨架多肽(诸如蛋白A、纤连蛋白、锚蛋白重复序列、纤维连接蛋白、亲和体、抗运载蛋白、DARPin、经工程改造孔尼茨抑制剂或载脂蛋白、环状肽和多环肽))。在一些实施方案中,多肽包含含有选自以下的氨基酸序列的HVR-H1:本公开的任何HVR-H1序列(例如X1TFX2X3YX4IHWV,其中X1是F或Y,X2是S或T,X3是D、G、N或S,并且X4是A、G或W(SEQ ID NO:198);YSIX1SGX2X3WX4WI,其中X1是S或T,X2是H或Y,X3是H或Y,并且X4是A、D、G、N、S或T(SEQ ID NO:199);和FSLSTX1GVX2VX3WI,其中X1是G或S,X2是A或G,并且X3是A、G、S或T(SEQ ID NO:200);以及SEQ ID NO:1-52和137-158)。在一些实施方案中,多肽包含含有选自以下的氨基酸序列的HVR-H2:本公开的任何HVR-H2(例如LAX1IX2WX3X4DKX5YSX6SLKSRL,其中X1是L或R,X2是D或Y,X3是A、D、S或Y,X4是D或G,X5是R、S或Y,并且X6是P或T(SEQ ID NO:201);IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D、E、S或Y,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:202);IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E、R、S或Y,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:203);VSX1ISGX2GX3X4TYYADSVKGRF,其中X1是A、G、S、V或Y,X2是A、D、S或Y,X3是D、G或S,并且X4是S或T(SEQ ID NO:204);IGX1INPNX2GX3TX4YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是F或R,X3是D、G或S,并且X4是K或N(SEQ ID NO:205);IGX1IX2PSX3GX4TX5YAQKFQGRV,其中X1是I、R或W,X2是S或Y,X3是G或S,X4是D、G或S,并且X5是K或N(SEQ ID NO:206);VGRIX1SKX2X3GX4TTX5YAAX6VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,X5是D或E,并且X6是P或S(SEQ ID NO:207);IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV,其中X1是A、D或E,X2是S或Y,并且X3是H或Y(SEQ ID NO:208);IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV,其中X1是D、E或S,X2是H或Y,X3是N或S,并且X4是N或Y(SEQ ID NO:209);和VGRIX1SKX2X3GX4TTEYAAX5VKGRF,其中X1是K或R,X2是A或T,X3是D或Y,X4是G或Y,并且X5是P或S(SEQ ID NO:210);以及SEQ ID NO:53-136和159-164)。在一些实施方案中,多肽包含含有选自本公开的任何HVR-H3序列(例如SEQ ID NO:223-256)的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,多肽包含含有选自本公开的任何HVR-L1序列(例如SEQ ID NO:257-264)的氨基酸序列的HVR-L1。在一些实施方案中,多肽包含含有选自本公开的任何HVR-L3序列(例如SEQ ID NO:265-274)的氨基酸序列的HVR-L3。

[0173] 在一些实施方案中,多肽包含本文所述的HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1和/或HVR-L3序列中的两者或更多者(例如两者或更多者、三者或更多者、四者或更多者、或全部五者)。在一些实施方案中,多肽包含本文所述的HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1和/或HVR-L3序列中的两者,其中所述两者是HVR-H1和HVR-H2;HVR-H1和HVR-H3;HVR-H1和HVR-L1;HVR-H1和HVR-L3;HVR-H2和HVR-H3;HVR-H2和HVR-L1;HVR-H2和HVR-L3;HVR-H3和HVR-L1;HVR-H3和HVR-L3;或HVR-L1和HVR-L3。在一些实施方案中,多肽包含本文所述的HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1和/或HVR-L3序列中的三者,其中所述三者是HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3;HVR-H1、HVR-H2和HVR-L1;HVR-H1、HVR-H2和HVR-L3;HVR-H1、HVR-H3和HVR-L1;HVR-H1、HVR-H3和HVR-L3;HVR-H1、HVR-L1和HVR-L3;HVR-H2、HVR-H3和HVR-L1;HVR-H2、HVR-H3和HVR-L3;HVR-H2、HVR-L1和HVR-L3;或HVR-H3、HVR-L1和HVR-L3。在一些实施方案中,多肽包含本文所述的HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1和/或HVR-L3序列中的四者,其中所述四者是HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3和HVR-L1;HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3和HVR-L3;HVR-H1、HVR-H2、HVR-L1和HVR-L3;HVR-H1、HVR-H3、HVR-L1和HVR-L3;或HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1和HVR-L3。在一些

实施方案中,多肽包含本文所述的HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1和/或HVR-L3序列中的五者,其中所述五者是HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1和HVR-L3。

[0174] 在一些实施方案中,本文进一步提供一种包含本公开的轻链可变区和重链可变区的抗体片段或scFv。

[0175] 在一些实施方案中,本公开的抗体或抗体片段以特定结合亲和力结合至少1种靶标(例如靶标蛋白质或表位)或至少两种靶标。举例来说,在一些实施方案中,本公开的抗体或抗体片段以约10^{-7}M或更小、10^{-8}M或更小、10^{-9}M或更小、10^{-10}M或更小、或10^{-11}M或更小的平衡解离常数(Kd)结合至少1种靶标或至少两种靶标。在一些实施方案中,本公开的抗体或抗体片段以在约10^{-7}与约10^{-11}M之间的平衡解离常数(Kd)结合至少1种靶标或至少两种靶标。用于测定结合亲和力的示例性测定在下文描述和例示(参见例如以下实施例4的ForteBio测定)。

[0176] 在一些实施方案中,本公开的抗体或抗体片段具有至少60℃的熔解温度(Tm)。举例来说,在一些实施方案中,本公开的抗体或抗体片段具有在约60℃与约90℃之间,在约65℃与约90℃之间,在约70℃与约90℃之间,在约75℃与约90℃之间,在约80℃与约90℃之间,在约85℃与约90℃之间,或至少约65℃、至少约70℃、至少约72℃、至少约75℃、至少约80℃或至少约85℃的Tm。在一些实施方案中,本公开的抗体或抗体片段具有在约60℃与约90℃之间的Tm。测量抗体或抗体片段的Tm的各种方法在本领域中是已知的。用于测定抗体Tm的示例性测定在下文描述和例示(参见例如以下实施例4的DSF测定)。

[0177] 本公开的抗体可使用例如如美国专利号4,816,567中所述的重组方法和组合物来产生。在一些实施方案中,提供编码本文所述的任何抗体的经分离核酸。所述核酸可编码包含抗体的V_L的氨基酸序列和/或包含抗体的V_H的氨基酸序列(例如抗体的轻链和/或重链)。在一些实施方案中,本文提供一种或多种包含所述核酸的载体(例如表达载体)。在一些实施方案中,提供一种包含所述核酸的宿主细胞。在一个所述实施方案中,宿主细胞包含(例如已用以下转化):(1)包含编码包含抗体的V_L的氨基酸序列和包含抗体的V_H的氨基酸序列的核酸的载体,或(2)包含编码包含抗体的V_L的氨基酸序列的核酸的第一载体和包含编码包含抗体的V_H的氨基酸序列的核酸的第二载体。在一些实施方案中,宿主细胞是真核的,例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或淋巴样细胞(例如Y0、NS0、Sp20细胞)。在一些实施方案中,提供一种制备抗体的方法,其中所述方法包括在适于表达所述抗体的条件下培养如上提供的包含编码所述抗体的核酸的宿主细胞,以及任选从所述宿主细胞(或宿主细胞培养基)回收所述抗体。

[0178] 对于重组产生本公开的抗体,分离编码例如如上所述的抗体的核酸,并且插入一种或多种载体中以用于在宿主细胞中进一步克隆和/或表达。所述核酸可易于使用常规程序(例如通过使用能够特异性结合编码抗体的重链和轻链的基因的寡核苷酸探针)来分离和测序。

[0179] 适于克隆或表达抗体编码载体的宿主细胞包括原核细胞或真核细胞。举例来说,抗体可在细菌中产生,特别是当不需要糖基化和Fc效应物功能时。对于在细菌中表达抗体片段和多肽,参见例如美国专利号5,648,237、5,789,199和5,840,523。(也参见Charlton,Methods in Molecular Biology,第248卷(B.K.C.Lo编,Humana Press,Totowa,NJ,2003),第245-254页,其描述在大肠杆菌中表达抗体片段。)在表达之后,可从于可溶性部分中的细

菌细胞糊状物分离抗体,并且可进一步纯化。

[0180] 除原核生物之外,真核微生物诸如丝状真菌或酵母也是适于抗体编码载体的克隆或表达宿主,包括糖基化路径已被“人源化”,从而导致产生具有部分或完全人糖基化样式的抗体的真菌和酵母菌株。参见Gerngross,Nat.Biotech.22:1409-1414(2004)以及Li等,Nat.Biotech.24:210-215(2006)。

[0181] 适于表达糖基化抗体的宿主细胞也源于多细胞生物体(无脊椎动物和脊椎动物)。无脊椎动物细胞的实例包括植物细胞和昆虫细胞。已鉴定可与昆虫细胞联合使用的众多杆状病毒株,特别是用于转染草地夜蛾(Spodoptera frugiperda)细胞。

[0182] 植物细胞培养物也可用作宿主。参见例如美国专利号5,959,177、6,040,498、6,420,548、7,125,978和6,417,429(所述专利描述用于在转基因植物中产生抗体的PLANTIBODIES™技术)。

[0183] 脊椎动物细胞也可用作宿主。举例来说,适合于悬浮生长的哺乳动物细胞系可为适用的。适用哺乳动物宿主细胞系的其他实例是通过SV40转化的猴肾CV1株系(COS-7);人胚肾株系(293或293细胞,如例如Graham等,J.Gen Virol.36:59(1977)中所述);幼小仓鼠肾细胞(BHK);小鼠塞尔托利细胞(sertoli cell)(TM4细胞,如例如Mather,Biol.Reprod.23:243-251(1980)中所述);猴肾细胞(CV1);非洲绿猴肾细胞(VERO-76);人宫颈癌细胞(HELA);犬肾细胞(MDCK);水牛大鼠肝细胞(BRL 3A);人肺细胞(W138);人肝细胞(Hep G2);小鼠乳腺肿瘤(MMT 060562);TRI细胞,如例如Mather等,Annals N.Y.Acad.Sci.383:44-68(1982)中所述;MRC 5细胞;和FS4细胞。其他适用哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,包括DHFR⁻CHO细胞(Urlaub等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4216(1980));以及骨髓瘤细胞系,诸如YO、NSO和Sp2/0。对于适于产生抗体的某些哺乳动物宿主细胞系的综述,参见例如Yazaki和Wu,Methods in Molecular Biology,第248卷(B.K.C.Lo编,Humana Press,Totowa,NJ),第255-268页(2003)。

[0184] 具有相同/共同/单种重链的双特异性抗体

[0185] 本文进一步提供一种具有本公开的相同重链可变区(例如具有两个具有不同结合特异性的轻链可变区和两个相同重链可变区)的双特异性抗体。在一些实施方案中,双特异性抗体包含两个不同轻链,其中第一轻链包含κC_L结构域(例如人κC_L结构域),并且第二轻链包含λC_L结构域(例如人λC_L结构域)。制备和/或纯化包含κC_L结构域和λC_L结构域的双特异性抗体的方法在本领域中是已知的(参见例如Fischer等(2015),Nat.Commun.6:6113;US20140179547)。举例来说,可构建和表达双特异性抗体(例如克隆至一种或多种表达载体中,并且在一种或多种适合宿主细胞中表达),所述双特异性抗体包含:a)两个相同重链可变区(例如任一本文所述的重链可变区),b)包含第一轻链可变区和κC_L结构域的第一轻链,和c)包含第二轻链可变区和λC_L结构域的第二轻链(例如第二轻链的包含κC_L结构域的恒定区用λC_L结构域进行转换)。以这个方式构建的所得双特异性IgG(例如包含κC_L结构域与λC_L结构域两者)可使用以下步骤来纯化:首先,使用蛋白A或IgG-CH1 Capture Select亲和色谱法来从培养上清液回收总IgG,从而导致消除游离轻链和其他污染物;接着,使用KappaSelect亲和树脂来捕集含有κC_L结构域的IgG,并且具有仅含有λC_L结构域的轻链的单特异性IgG在管柱流穿物中被消除;最后,使用LambdaFabSelect亲和树脂来回收纯净双特

异性κ-λ体,并且与不结合树脂的具有仅含有κC_L结构域的轻链的单特异性IgG分离。或者,双特异性共同重链IgG(例如如上所述)可通过蛋白A来纯化,并且基于在有差异轻链的一种或多种生物物理学性质方面的差异(诸如不同分子量、不同等电点(pI)等),使用对各轻链C_L结构域具有特异性的树脂加以拆分。

[0186] 在一些实施方案中,双特异性抗体包含两个抗体轻链可变区和两个相同重链可变区,其中双特异性抗体包括:结合第一靶标或抗原,并且包含第一抗体轻链可变区和第一重链可变区的第一结合结构域;以及结合第二靶标或抗原,并且包含第二抗体轻链可变区和第二抗体重链可变区的第二结合结构域;其中所述第二抗体重链可变区具有与第一抗体重链可变区序列相同的序列。在一些实施方案中,第一结合结构域和第二结合结构域结合不同靶标生物分子。在某一实施方案中,第一结合结构域和第二结合结构域结合同一生物分子上的不同表位。在一些实施方案中,第一抗体重链可变区是包含第一重链可变区和第一重链恒定区(例如包含CH1、铰链、CH2和CH3)的第一抗体重链的一部分。在一些实施方案中,第二抗体重链可变区是包含第二重链可变区和第二重链恒定区(例如包含CH1、铰链、CH2和CH3)的第二抗体重链的一部分。在一些实施方案中,第一抗体轻链可变区是包含第一轻链可变区和第一轻链恒定区的第一抗体轻链的一部分。在一些实施方案中,第二抗体轻链可变区是包含第二轻链可变区和第二轻链恒定区的第二抗体轻链的一部分。在一些实施方案中,第一抗体重链和第二抗体重链具有与本公开的重链相同的序列。

[0187] 本文进一步提供一种产生具有本公开的相同重链可变区(例如具有两个具有不同结合特异性的轻链可变区和两个相同重链可变区)的双特异性抗体的方法。在一些实施方案中,方法包括(a)选择结合第一抗原,并且包含本公开的第一抗体轻链可变区和第一重链可变区的第一抗原结合结构域;(b)选择结合第二抗原,并且包含本公开的第二抗体轻链可变区和第二重链可变区的第二抗原结合结构域,其中所述第二抗体重链可变区具有与第一抗体重链可变区序列相同的序列;和(c)产生包含含有所述第一抗体轻链可变区的氨基酸序列的轻链可变区、含有所述第二抗体轻链可变区的氨基酸序列的轻链可变区、含有所述第一抗体重链可变区序列的氨基酸序列的重链可变区、以及含有所述第二抗体重链可变区序列的氨基酸序列的重链可变区的双特异性抗体。在一些实施方案中,第一重链可变区由来自本公开的文库的多核苷酸编码。

[0188] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体可具有额外特异性。举例来说,双特异性抗体的一个抗原或靶标结合位点可特异性结合超过一种靶标。

[0189] 用于制备/产生双特异性抗体的方法在本领域中是已知的。对全长双特异性抗体的产生可基于共同表达两对免疫球蛋白重链-轻链,其中两个链具有不同特异性(Millstein等,Nature,305:537-539(1983))。由于免疫球蛋白重链和轻链的随机分配,所以这些杂交瘤(四源杂交瘤)产生10种不同抗体分子的潜在混合物,其中仅一种具有正确双特异性结构。通常通过亲和色谱法步骤进行的对正确分子的纯化是相当麻烦的,并且产物产率低下。类似程序公开于WO 93/08829中以及Traunecker等,EMBO J.,10:3655-3659(1991)中。

[0190] V.试剂盒

[0191] 在另一方面,本文提供一种包括本公开的多核苷酸的文库的试剂盒。在一些实施方案中,试剂盒还包括包装插页,所述包装插页包含关于表达、修饰、筛选或以其他方式使

用文库例如以鉴定目标抗体HVR或可变区的说明书。在一些实施方案中,试剂盒还包括一种或多种例如用于储存、转移、转染或以其他方式使用一种或多种多核苷酸(例如合成多核苷酸)的缓冲液。在一些实施方案中,试剂盒还包括一个或多个用于储存一种或多种多核苷酸的容器。在一些实施方案中,试剂盒还包括一种或多种例如用于用一种或多种多核苷酸来转染宿主细胞的载体。

[0192] 实施例

[0193] 通过参照以下实施例,本公开将得以更充分了解。然而,实施例不应解释为限制本公开的范围。应了解本文所述的实施例和实施方案仅出于说明目的,并且根据其的各种修改或变化将为本领域技术人员所想起,并将包括在本申请的精神和界限以及随附权利要求的范围内。

[0194] 实施例1:鉴定高变区上动态基序的最小集合

[0195] 为在结构水平上了解抗体可变结构域的可变性,开发了用以绘制抗体可变结构域的几何比对,并且此外,用以基于几何比对来计算结构和序列熵的算法。采用这种方法使得通过明确确定的V(D)J重组过程来确定的抗体多样性的经典理论与来自动态单元的构象多样性(由Linus Pauling提出的模板引导的构象选择;参见例如James,L.和Tawfik,D.“Conformational diversity and protein evolution-a60-year-old hypothesis revisited”,Trends Biochem Sci.2003年7月;28(7):361-8)组合联用以允许通过选择和改适抗体结合位点来对几乎无限的表位空间进行取样。作为一实例,这个算法用于分析人抗体可变重链结构域的113个高分辨率晶体结构的结构和序列可变性。计算并绘制可变重链结构域的每个位置的熵(图1A;结构熵用粗线表示,序列熵用点线表示)。通过基于几何比对来计算结构和序列熵所获得的结果用于定位高变(HVR)区,以及用于鉴定这些可变区上的关键位置。为进行比较,鉴定一示例性抗体重链可变结构域序列的HVR(如通过上述方法所界定)和CDR(如由Kabat所界定)(图1B)。

[0196] 引起关注的是,如通过结构比对所评估的可变性通常低于以序列比对所观察到的可变性。尽管如通过结构比对所评估的可变性通常较低,但存在具有显著结构变化的许多位点/区域,从而表明这些可变位点可在抗体功能方面起关键作用。此外,那些高变区中的一些显示伴有多种构象的高柔性。对具有高度可变残基的区域的鉴定给出了抗体可变结构域的保守性和可变性的更全面图景,所述图景可在新抗体设计中加以利用。对动态基序的鉴定使得有可能以降低数目的氨基酸序列涵盖广泛范围的结构多样性。这个抗体设计方法的惊人优势是更加有限数目的动态基序可在可变区中用于涵盖广泛范围的抗体结构多样性,并且在这些抗体中提供可允许结合多种目标抗原的广泛柔性。因此,使用不变残基的单一人种系或种系源性序列构建了动态重链文库,同时有限数目的动态基序(相较于10^6、10^{10}或更多)在高变区HVR_H1和HVR_H2中用于捕集在这两个区域中鉴定的广泛范围的结构可变性。

[0197] 实施例2:构建普通重链文库

[0198] 构建重链文库

[0199] 为开始构建重链文库,基于表2中所示的式来设计可变区HVR-H1的3组简并寡聚物,从而产生112种独特HVR-H1序列。基于表2中所示的式来设计可变区HVR-H2的7组简并寡聚物,从而产生565种独特HVR-H2序列。通过以下方案来使合成的简并寡聚物转变成双链

DNA:使0.75μL 0.2μM模板寡聚物与10μL 5x PrimeSTAR缓冲液、4μL dNTP混合物、1μL 100μM正向引物、1μL 100μM反向引物、0.5μL PrimeSTAR HS DNA聚合酶(2.5U/μL)和33μL水混合。使PCR溶液在96℃下预热5分钟,接着进行14个循环(96℃持续15秒,60℃持续15秒,72℃持续6秒),随后在72℃下延伸3分钟。使用引物对F_1999(CGTTTGTCCTGTGCAGCTTCCGG)(SEQ ID NO:211)和R_1999(CGAGGCCCTTACCCGGGGCCTGACG)(SEQ ID NO:212)来扩增VH_vr1,同时使用引物对F_2003(CCGGGTAAGGGCCTCGAGTGG)(SEQ ID NO:213)和R_2003(GAGCACGTCCGTTCGAATTGTCGCGACTTATAG)(SEQ ID NO:214)来扩增VH_vr2。

[0200] 双链VH_vr1和VH_vr2通过在它们的5'或3'末端的重叠序列来接合在一起。所用方案如下:使20ng VH_vr1和20ng VH_vr2模板与10μL 5x PrimeSTAR缓冲液、4μL dNTP混合物、1μL 100μM F_1999引物、1μL 100μM R_2003引物、0.5μL PrimeSTAR HS DNA聚合酶(2.5U/μL)和水(补足至50μL)混合,并且使混合物在96℃下预热5分钟,接着进行14个循环(96℃持续15秒,60℃持续15秒,72℃持续10秒),随后在72℃下延伸3分钟。这些PCR片段接着通过凝胶电泳(GENEray凝胶提取试剂盒)来纯化,用BspEI和BstBI(Thermo Scientific)消化,并且随后克隆至用相同的两种酶消化的过滤载体FTV014中。通过电穿孔来将连接混合物转化至DH10B细胞中,并且收集超过10倍计算多样性的数目的菌落用于质粒制备。纯化质粒构成文库VH-vr12。

[0201] 表2:HVR-H1和HVR-H2经设计变异序列的式

[0202]

变体组	氨基酸序列式	X_1 残基身份	X_2 残基身份	X_3 残基身份	X_4 残基身份	X_5 残基身份	X_6 残基身份
HVR-H1_A (SEQ ID NO:198)	X1TFX2X3YX4IHWV	F、Y	S、T	D、G、N、S	A、G、W	n/a	n/a
HVR-H1_B (SEQ ID NO:199)	YSIX1SGX2X3WX4WI	S、T	H、Y	H、Y	A、D、G、N、S、T	n/a	n/a
HVR-H1_C (SEQ ID	FSLSTX1GVX2VX3W	G、S	A、G	A、G、	n/a	n/a	n/a

[0203]

NO:200)	I			S、T			
HVR-H2_A (SEQ ID NO:201)	LAX1IX2WX3X4DKX5YSX6SLKSRL	L、R	D、Y	A、D、S、Y	D、G	R、S、Y	P、T
HVR-H2_B (SEQ ID NO:202)	IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV	A、D、E、S、Y	S、Y	H、Y	n/a	n/a	n/a
HVR-H2_C (SEQ ID NO:203)	IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV	D、E、R、S、Y	H、Y	N、S	N、Y	n/a	n/a
HVR-H2_D (SEQ ID NO:204)	VSX1ISGX2GX3X4TYYADSVKGRF	A、G、S、V、Y	A、D、S、Y	D、G、S	S、T	n/a	n/a
HVR-H2_E (SEQ ID NO:205)	IGX1INPNX2GX3TX4YAQKFQGRV	I、R、W	F、R	D、G、S	K、N	n/a	n/a
HVR-H2_F (SEQ ID NO:206)	IGX1IX2PSX3GX4TX5YAQKFQGRV	I、R、W	S、Y	G、S	D、G、S	K、N	n/a
HVR-H2_G (SEQ ID NO:207)	VGRIX1SKX2X3GX4TTX5YAAX6VKGRF	K、R	A、T	D、Y	G、Y	D、E	P、S

[0204] n/a,不适用。

[0205] 设计和合成编码具有接近10^5的序列多样性的VH_vr3的数百种简并寡聚物,并且通过以下方案来转变成双链DNA:使0.75μL 0.2μM模板寡聚物与10μL 5x PrimeSTAR缓冲液、4μL dNTP混合物、1μL 100μM正向引物、1μL 100μM反向引物、0.5μL PrimeSTAR HS DNA聚合酶(2.5U/μL)和33μL水混合。使PCR溶液在96℃下预热5分钟,接着进行14个循环(96℃持续15秒,60℃持续15秒,72℃持续6秒),随后在72℃下延伸3分钟。正向引物是S1089(ACAACTGAACAGCTTAAGAGCTGAGGACACTGCCGTCTATTAT TG)(SEQ ID NO:215),并且反向引物是S1090(GAGGAGACGGTGACTAGTGTTCCTTGACCCCA)(SEQ ID NO:216)。所得合成的DNA接着通过凝胶电泳(GENEray凝胶提取试剂盒)来纯化,用AflII和SpeI(Thermo Scientific)消化,并且随后克隆至用相同的两种限制酶消化的过滤载体FTV012中。通过电穿孔来将连接混合物转化至DH10B细胞中,并且收集超过10倍计算多样性的数目的菌落用于质粒制备。纯化质粒构成文库VH-vr3。

[0206] 为组装全长VH文库,将纯化VH-vr3文库质粒混合物用AflII和SpeI(NEB)消化,并且通过凝胶电泳(GENEray凝胶提取试剂盒)来纯化vr3编码片段,并且克隆至用相同的两种

限制酶消化的VH-vr12文库质粒混合物中。使连接产物脱盐(QIAquick®PCR纯化试剂盒(QIAGEN)),随后进行滚环扩增(RCA)。如下进行RCA:使40ng连接产物与10μL 10x NEBuffer 4、50μL 100μM pd(N)8和水(补足至88.5μL)混合,加热至95℃,持续3分钟,并且持续65个循环进行退火(各循环持续30秒),其中各循环降低1℃。在添加10μL 10mM dNTP混合物、1μL 100x BSA和0.5μL Phi29 DNA聚合酶之后,使经退火反应在30℃下孵育过夜。RCA产物首先用NotI消化,纯化DNA片段(QIAquick®PCR纯化试剂盒),并且用XhoI进一步消化。经消化产物接着用T4 DNA连接酶(Thermo Scientific)加以连接。在通过乙醇沉淀来纯化之后,通过电穿孔来将连接产物转化至DH10B细胞中。纯化质粒构成文库VH-vr123。这些构建体各自共有相同框架区,即FW-H1(SEQ ID NO:165)、FW-H2(SEQ ID NO:166)、FW-H3(SEQ ID NO:167)和FW-H4(SEQ ID NO:168)。

[0207] 将两种重链文库的质粒的以上提及的混合物用PvuI和Acc65I消化,并且连接至也用相同的两种限制酶消化的噬菌粒载体Fad40中。将连接混合物转化至DH10B细胞中,对所得文库进行纯化、定量和储存以组装完全噬菌粒文库。

[0208] 构建VL文库

[0209] 为开始构建轻链文库,分别设计可变区VL_vr1和VL_vr2的18组简并寡聚物和5种确定寡聚物。通过以下方案来使它们转变成双链DNA:使0.75μL 0.2μM模板寡聚物与10μL 5x PrimeSTAR缓冲液、4μL dNTP混合物、1μL 100μM正向引物、1μL 100μM反向引物、0.5μL PrimeSTAR HS DNA聚合酶(2.5U/μL)和33μL水混合。使PCR溶液在96℃下预热5分钟,接着进行14个循环(96℃持续15秒,60℃持续15秒,72℃持续6秒),随后在72℃下延伸3分钟。使用引物对F_2898(TACTTATGTAGGCGATCGGGTCACCATCACCTGC)(SEQ ID NO:217)和R_2898(CGGAGCTTTTCCTGGTTTCTGTTGATAC)(SEQ ID NO:218)来扩增VL_vr1,同时使用引物对F_2013(GAAACCAGGAAAAGCTCCGAAG)(SEQ ID NO:219)和R_2013(CGTCCCGGAACCGGATCCAGAGAAGCGAG)(SEQ ID NO:220)来扩增VL_vr2。

[0210] 双链VL_vr1和VL_vr2通过在它们的5'或3'末端的重叠序列来接合在一起。所用方案如下:使20ng VL_vr1和20ng VL_vr2模板与10μL 5x PrimeSTAR缓冲液、4μL dNTP混合物、1μL 100μM F_2898引物、1μL 100μM R_2013引物、0.5μL PrimeSTAR HS DNA聚合酶(2.5U/μL)和水(补足至50μL)混合,并且使混合物在96℃下预热5分钟,接着进行14个循环(96℃持续15秒,60℃持续15秒,72℃持续10秒),随后在72℃下延伸3分钟。这些PCR片段接着通过凝胶电泳(GENEray凝胶提取试剂盒)来纯化,用PvuI和BamHI(Thermo Scientific)消化,并且随后克隆至用相同的两种酶消化的过滤载体FTV015中。通过电穿孔来将连接混合物转化至DH10B细胞中,并且收集超过10倍计算多样性的数目的菌落用于质粒制备。纯化质粒构成文库VL-vr12。

[0211] 设计、合成22组编码VL_vr3的简并寡聚物,并且通过以下方案来转变成双链DNA:使0.75μL 0.2μM模板寡聚物与10μL 5x PrimeSTAR缓冲液,4μL dNTP混合物,1μL 100μM正向引物F2929(ACCATCAGCAGTCTGCAGCCGGAAGACTTCGCAAC)(SEQ ID NO:221),1μL 100μM反向引物R2929(GATCTCCACCTTGGTACCCTGTCCGAA)(SEQ ID NO:222)、0.5μL PrimeSTAR HS DNA聚合酶(2.5U/μL)和33μL水混合。使PCR溶液在96℃下预热5分钟,接着进行14个循环(96℃持续15秒,60℃持续15秒,72℃持续6秒),随后在72℃下延伸3分钟。编码VL_vr3的双链DNA

接着通过凝胶电泳(GENEray凝胶提取试剂盒)来纯化,用PstI和Acc65I(Thermo Scientific)消化,并且随后克隆至用相同的两种限制酶消化的过滤载体FTV013中。通过电穿孔来将连接混合物转化至DH10B细胞中,并且收集超过10倍计算多样性的数目的菌落用于质粒制备。纯化质粒构成文库VL-vr3。

[0212] 为组装全长VL文库,将纯化VL-vr3文库质粒混合物用PstI和Acc65I(NEB)消化,并且通过凝胶电泳(GENEray凝胶提取试剂盒)来纯化vr3编码片段,并且随后克隆至已用相同的两种限制酶消化的VL-vr12文库质粒混合物中。通过电穿孔来将连接产物转化至DH10B细胞中,并且收集超过10倍计算多样性的数目的菌落用于质粒制备。纯化质粒构成文库VL-vr123。接着使用限制酶PvuI和Acc65I来将来自文库质粒VL-vr123的vr123插入物移动至噬菌粒载体Fad40中。含有Fad40-vr123的文库的大小达到$4*10^7$。

[0213] 构建完全动态文库

[0214] 动态文库由源于VH-vr123文库的重链文库和源于Fad40-vr123文库的轻链文库组成。VH-vr123文库质粒与Fad40-vr123文库质粒两者均用BspEI和SpeI(Thermo Scientific)消化。将源于VH-vr123文库的编码重链的DNA片段克隆至源于Fad40-vr123文库的载体骨架中。使连接产物脱盐(QIAquick® PCR纯化试剂盒(QIAGEN)),随后进行滚环扩增(RCA)。如下进行RCA:使40ng连接产物与10μL 10x NEBuffer 4、50μL 100μM pd(N)8和水(补足至88.5μL)混合,加热至95℃,持续3分钟,并且持续65个循环进行退火(各循环持续30秒),其中各循环降低1℃。在添加10μL 10mM dNTP混合物、1μL 100x BSA和0.5μL Phi29 DNA聚合酶之后,使经退火反应在30℃下孵育过夜。RCA产物首先用NotI消化,纯化DNA片段(QIAquick® PCR纯化试剂盒),并且用Acc65I进一步消化。经消化产物接着用T4 DNA连接酶(Thermo Scientific)加以连接。在通过乙醇沉淀来纯化之后,通过电穿孔来将连接产物转化至ER2738细胞中。从板(2xYT、1%葡萄糖、100μg/mL氨苄青霉素)收集总数$1.4*10^{10}$个菌落以制备DPL6文库。

[0215] 实施例3:筛选普通重链文库以分离目标抗体

[0216] 制备动态文库噬菌粒粒子

[0217] 为制备用于抗原淘选的动态文库噬菌粒粒子,将5.0升具有动态文库的ER2738细胞(描述于以上实施例2中)以0.1的起始OD_{600}接种于含有2xYT、2%葡萄糖、100μg/mL氨苄青霉素和12.5μg/mL四环素的培养基中。使培养物在37℃下在250rpm下振荡下生长,直至它们达到0.6-0.8的OD_{600}。接着用M13KO7辅助噬菌体在37℃下在感染复数(MOI)10下感染细胞30分钟。使受感染ER2738细胞在22℃下在3.2升含有2xYT、100μg/mL氨苄青霉素和50μg/mL卡那霉素的培养基中生长过夜。接着通过在10,000rpm下离心15分钟来收集培养上清液,并且经0.45μm低结合膜过滤器(Corning)过滤。接着使用PEG/NaCl来使噬菌粒粒子从经过滤上清液沉淀,并且再混悬于PBS中。进行另一轮PEG/NaCl沉淀,随后再混悬于PBS中。噬菌体效价通过测量OD_{268}来测定(假定在OD_{268}下的1单位是约$1*10^{13}$个噬菌体粒子/毫升),并且通过空斑测定加以确认。将文库噬菌粒粒子于20%甘油中储备在-80℃下。

[0218] 噬菌体文库淘选

[0219] 将抗原蛋白质在1-30μg/ml的浓度下在4℃下在Maxisorp条带(Thermo Scientific,目录号446469)上涂布过夜。对于各文库,制备多个孔的抗原。首先在室温下用

含5％奶的PBS阻断经涂布孔1-2小时,并且用PBS洗涤。接着,将1,100μL/孔的噬菌粒粒子溶液(通常是于2％奶-PBS中的1-5*10^{12}个噬菌体)添加至4个平行孔中,并且孵育1-2小时。接着用吐温20(Tween 20)的浓度递增(从0.1％至0.3％)的PBS,并且最后用单独PBS将孔洗涤数次。在室温下持续10分钟用100μL0.2M甘氨酸-HCl将结合的噬菌粒粒子从各孔洗脱。立刻用18μL 1M Tris-HCl(pH 9.1)中和洗脱的噬菌体。

[0220] 或者,根据制造商说明书,通过KingFisher(Thermo Scientific),使用Dyna珠粒(M280,链霉亲和素,Invitrogen,目录号60210)进行噬菌粒文库淘选。用PBS洗涤300μL Dyna珠粒,并且与生物素化抗人Fc抗体一起在室温下孵育20分钟。接着在室温下用含5％BSA的PBS阻断珠粒1小时。通过在室温下孵育1小时来捕集Fc融合抗原(70-100pmol)。接着用PBS洗涤珠粒一次,并且与1mL噬菌体文库溶液(通常是于5％BSA-PBS中的5*10^{12}至1*10^{13}个噬菌体粒子)一起孵育1-2小时。接着用PBS/吐温(0.1％至0.3％)和PBS洗涤珠粒数次,并且在室温下持续10分钟用100μL 0.2M甘氨酸-HCl将结合的噬菌体从珠粒洗脱。立刻用18μL 1M Tris-HCl(pH 9.1)中和洗脱的噬菌体。针对各抗原进行总计三或四轮淘选,并且包括超过10倍过量的纯化人Fc以降低背景结合。

[0221] 对于一些测试抗原,2mL抗原(10-30μg/mL)用于在4℃下将免疫管涂布过夜。相应地增加阻断溶液、洗涤溶液和洗脱溶液的体积。

[0222] 经富集噬菌体的扩增

[0223] 洗脱的经富集噬菌体池如下加以进一步扩增:在37℃下用洗脱的噬菌粒粒子感染ER2738细胞30分钟。接着将受感染细胞涂铺在具有2％葡萄糖、100μg/mL氨苄青霉素和12.5μg/mL四环素的2xYT琼脂板上。从各板收集菌落,使所述菌落在100ml的2％葡萄糖、100μg/mL氨苄青霉素和12.5μg/mL四环素中生长,并且用M13KO7辅助噬菌体感染。通过上述方法来纯化和定量经扩增噬菌体。通常,在最后一轮淘选之后的所洗脱噬菌体用于感染ER2738细胞,并且挑选所得ER2738菌落用于上清液ELISA筛选测定。

[0224] 上清液夹心式Elisa测定

[0225] 开发一种灵敏夹心式Elisa测定来测量存在于细菌上清液中的Fab。用多克隆抗人IgG抗体(Fab特异性)(Sigma I5260)涂布微板以捕集存在于细菌上清液中的Fab,接着经HRP标记山羊抗人Fc抗体用于检测捕集的Fab的量。测量各孔的A_{450}以测定Fab结合活性。将主要命中物确定为其ELISA信号是背景的ELISA信号的至少两倍的那些命中物,并且在以下实施例(实施例4)中加以进一步表征。

[0226] 用所构建文库筛选十二种人靶标(TAGT-1、TAGT-2、TAGT-3、TAGT-4、TAGT-5、TAGT-6、TAGT-7、TAGT-8H、TAGT-9、TAGT-10H、TAGT-11和TAGT-12)以及两种对应小鼠靶标(TAGT-8M和TAGT-10M)。在这14种抗原的情况下,鉴定了总计690个具有高亲和力的独特阳性命中物。大多数变体组(表2)可形成结合不同靶标抗原,或在两个物种之间具有交叉反应性(例如结合TAGT-8H和TAGT-8M)的抗体。由经确认结合剂获得的变体组是表2中所示的经设计变体组的子组。大多数经设计变体也见于经确认结合剂(表3)中。(参见表2的经设计式相对于表3的来自阳性命中物的式)。

[0227] 表3:来自阳性命中物的HVR-H1和HVR-H2经设计变异序列的式

[0228]

变体组	氨基酸序列式	X_1 残基身份	X_2 残基身份	X_3 残基身份	X_4 残基身份	X_5 残基身份	X_6 残基身份
HVR-H1_1 (SEQ ID NO:198)	X1TFX2X3YX4IHWV	F、Y	S、T	D、G、N、S	A、G、W	n/a	n/a
HVR-H1_2 (SEQ ID NO:199)	YSIX1SGX2X3WX4WI	S、T	H、Y	H、Y	A、D、G、N、S、T	n/a	n/a
HVR-H1_3 (SEQ ID NO:200)	FSLSTX1GVX2VX3WI	G、S	A、G	A、G、S、T	n/a	n/a	n/a
HVR-H2_1 (SEQ ID NO:201)	LAX1IX2WX3X4DKX5YSX6SLKSRL	L、R	D、Y	A、D、S、Y	D、G	R、S、Y	P、T
HVR-H2_2 (SEQ ID NO:208)	IGX1IX2X3SGSTYYSPSLKSRV	A、D、E	S、Y	H、Y	n/a	n/a	n/a
HVR-H2_3 (SEQ ID NO:209)	IGX1IYX2SGX3TX4YNPSLKSRV	D、E、S	H、Y	N、S	N、Y	n/a	n/a
HVR-H2_4 (SEQ ID NO:204)	VSX1ISGX2GX3X4TYYADSVKGRF	A、G、S、V、Y	A、D、S、Y	D、G、S	S、T	n/a	n/a
HVR-H2_5 (SEQ ID NO:205)	IGX1INPNX2GX3TX4YAQKFQGRV	I、R、W	F、R	D、G、S	K、N	n/a	n/a
HVR-H2_6 (SEQ ID NO:206)	IGX1IX2PSX3GX4TX5YAQKFQGRV	I、R、W	S、Y	G、S	D、G、S	K、N	n/a
HVR-H2_7 (SEQ ID NO:210)	VGRIX1SKX2X3GX4TTEYAAX5VKGRF	K、R	A、T	D、Y	G、Y	P、S	n/a

[0230] n/a,不适用。

[0231] 实施例4:在体外表征抗体

[0232] 在大肠杆菌中过度表达对应于以上在实施例3中鉴定的主要命中物的在它们的CH1结构域的C末端用His6标签加标签的Fab,并且根据制造商说明书,通过Ni-NTA树脂(Thermo Fisher Scientific)来纯化。通过ForteBio Octet RED96系统来测量它们的亲和

力。简要来说,AHC传感器(抗人IgG-Fc捕集浸渍和读取生物传感器)用于捕集抗原Fc-His融合蛋白(Sino Biological#10039-H03H),并且浸渍至含有用动力学缓冲液稀释至5-10μg/mL的纯化Fab的孔中(也参见ForteBio,Anti-human IgG Capture(AHC)Biosensors,Product Insert 41-0072-PD(2008);Yang等(2016),Anal.Biochem.508:78-96)。获得的ForteBio数据用Data Acquisition软件7.1处理,并且将动力学数据相对于1:1朗缪尔(Langmuir)结合模型加以拟合。通过差示扫描荧光测定法(DSF)测定来测量Fab熔解温度。简要来说,使用qPCR机器(实时PCR)来进行温度和荧光监测。用PBS缓冲液从5000x储备物将SYPRO® Orange稀释50倍以达到100x;将16μl各Fab(约0.5mg/ml)添加至96孔微板中的各孔中,并且与4μl 100x SYPRO®Orange混合。LightCycler®480系统用于测量荧光强度。激发波长设置在483nm下,并且发射波长设置在568nm下。在每分钟1.2至1.3℃的增量下使温度从25℃增加至90℃,并且应用在各测量温度下15秒的平衡时间。使用LightCycler®480软件来分析数据。疏水性暴露的中点Tm定义为对应于第一荧光跃迁的一阶导数的最大值的温度。(也参见Lavinder等(2009),J.Am.Chem.Soc.131:3794-3795;Ericsson等(2006),Analytical Biochemistry 357:289-298;Phillips和Hernandez de la Pena(2011),Current Protocols in Mol.Biol.94:10.28.1-10.28.15)。

[0233] 12种人靶标抗原(TAGT-1、TAGT-2、TAGT-3、TAGT-4、TAGT-5、TAGT-6、TAGT-7、TAGT-8H、TAGT-9、TAGT-10H、TAGT-11和TAGT-12)是共有低于26%的序列同一性的无关蛋白质。人抗原TAGT-8H与小鼠抗原TAGT-8M之间的序列同一性是70%,而人抗原TAGT-10H与小鼠抗原TAGT-10M之间的序列同一性是60%。可从动态文库成功鉴定和选择以高亲和力靶向14种不同抗原的多种抗体。大多数结合剂的亲和力在纳体积摩尔浓度范围内,并且一些甚至达到低于纳体积摩尔浓度范围(图2A)。此外,经确认结合剂显示良好稳定性,其中Tm范围显示于图2B中。

[0234] 实施例5:动态重链文库的应用

[0235] 为进一步考查重链文库的稳健性和柔性,通过使重链与不同轻链文库配对来针对以上在实施例4中所述的14种靶标抗原对文库进行筛选,所述不同轻链文库具有从10^7至280,并且一直直至单一轻链(即共同轻链)进行变化的多样性。重链文库与轻链文库两者中的多样性设计的限制通过以下方式来探究:修整它们的相应配对配偶体的实际大小(例如轻链文库具有在10^7至280、20以及直至单一轻链的范围内的多样性),同时探究轻链自身的柔性和/或动态多样性。当产生以及工程改造针对已知和有吸引力的靶标抗原的多样性抗体命中物/先导物时,这些动态轻链文库在与动态重链文库配对方面的能力为文库设计提供了强力合理性。从各测试文库鉴定了具有高亲和力的阳性命中物,并且测量和确认具有亲和力数据(表4)的总计690个独特阳性命中物。考查了它们结合不同靶标的能力,以及它们的表位变化(包括但不限于在两个物种之间在表位识别方面的精细差异,所述表位识别如由与具有约60%的序列同一性的人靶标和鼠靶标的跨物种反应性所示)。在使用HVR-H1_1、HVR-H1_2或HVRH-1_3和HVR-H2_1、HVR-H2_2或HVRH-2_3、HVR-H2_4、HVR-H_5、HVRH-2_6或HVR-H2_7的各组合的情况下,观察到阳性命中物。这些结果指示当将这些动态高变区单元移植在抗体(和/或替代性蛋白质)骨架上或设计至抗体(和/或替代性蛋白质)骨架中时,有效力和潜力来使用这些动态高变区单元制备识别广泛范围的靶标的抗体和蛋白质文库以

获得治疗、诊断和/或研究试剂。当与具有广泛多样性(例如在10^7至280,下降直至单一独特序列的范围内)的轻链文库配对时,在设计和构建抗体(和/或非抗体)骨架时,这些重链高变区单元的动态特性是对用于产生适用于治疗、诊断和/或研究环境中的新型结合试剂的动态抗体设计构思的强力验证。

[0236] 表4:经确认命中物的亲和力数据

[0237]

HVR-H1 和 HVR-H2 使用	命中物标识符	靶标标识符	Kd (M)
HVR-H1_1 和 HVR-H2_6	3757	TAGT-6	1.84E-08
	3762	TAGT-6	3.04E-08
	3780	TAGT-8	1.47E-09
	3865	TAGT-11	9.48E-09
	3869	TAGT-11	2.35E-08
	3898	TAGT-11	1.83E-08
	4030	TAGT-8	4.90E-09
	4033	TAGT-8	8.75E-10

[0238]

4043	TAGT-8	2.69E-09
4050	TAGT-10	1.65E-08
4084	TAGT-8	2.94E-09
4101	TAGT-8	2.12E-09
4103	TAGT-8	3.59E-10
4163	TAGT-8	1.37E-08
4614	TAGT-8	3.53E-10
4615	TAGT-8	2.28E-10
4617	TAGT-8	2.88E-10
4618	TAGT-8	1.08E-09
4620	TAGT-8	3.48E-10
4622	TAGT-8	2.74E-10
4623	TAGT-8	4.85E-10
4624	TAGT-8	1.00E-12
4625	TAGT-8	4.02E-10
4627	TAGT-8	1.82E-10
4630	TAGT-8	2.67E-10
4631	TAGT-8	1.83E-10
4633	TAGT-8	3.22E-10
4634	TAGT-8	2.07E-10
4638	TAGT-8	3.14E-10
4642	TAGT-8	1.89E-10
4644	TAGT-8	2.48E-10
4645	TAGT-8	2.96E-10
4650	TAGT-8	3.57E-10
4651	TAGT-8	3.01E-10
4652	TAGT-8	2.94E-10
4653	TAGT-8	3.27E-10
4654	TAGT-8	2.32E-10
4658	TAGT-8	1.42E-10
4659	TAGT-8	2.12E-10
4661	TAGT-8	1.62E-09
4662	TAGT-8	8.98E-10
4665	TAGT-8	3.69E-10
4666	TAGT-8	1.17E-09
4668	TAGT-8	5.79E-10
4670	TAGT-8	8.21E-10
4673	TAGT-8	3.23E-10
4674	TAGT-8	5.02E-10
4675	TAGT-8	1.00E-12
4676	TAGT-8	1.62E-10
4678	TAGT-8	5.98E-10
4681	TAGT-8	5.43E-10
4683	TAGT-8	8.97E-10
4684	TAGT-8	6.69E-10

[0239]

		4685	TAGT-8	4.78E-10
		4686	TAGT-8	4.78E-10
		4687	TAGT-8	4.08E-10
		4689	TAGT-8	1.63E-10
		4690	TAGT-8	4.67E-10
		4792	TAGT-10	7.39E-09
		5103	TAGT-10	2.67E-09
		5149	TAGT-11	2.91E-09
		5159	TAGT-11	4.09E-09
		5160	TAGT-11	8.07E-09
		5162	TAGT-11	9.87E-09
		5163	TAGT-11	1.71E-08
		5165	TAGT-11	4.06E-09
		5709	TAGT-11	1.93E-08
		5740	TAGT-11	7.26E-09
		5752	TAGT-11	6.33E-09
		5935	TAGT-12	8.78E-09
		5970	TAGT-12	1.35E-08
		5994	TAGT-12	1.58E-08
		5997	TAGT-12	8.51E-09
		6008	TAGT-12	5.10E-08
		6032	TAGT-2	1.63E-08
		6531	TAGT-3	1.08E-08
		7030	TAGT-8	3.47E-08
		7035	TAGT-8	3.04E-09
		7038	TAGT-8	2.33E-08
		7043	TAGT-8	1.34E-08
		7044	TAGT-8	1.12E-09
		7045	TAGT-8	1.11E-09
		7055	TAGT-8	7.57E-10
		7213	TAGT-12	8.87E-09
		7215	TAGT-12	1.61E-08
		7222	TAGT-12	1.26E-09
		7231	TAGT-12	3.38E-09
		7232	TAGT-12	8.06E-09
		7243	TAGT-12	4.95E-09
		7357	TAGT-3	6.14E-08
		BH3002	TAGT-8	2.51E-10
		BH3004	TAGT-8	3.00E-10
		BH3005	TAGT-8	3.46E-10
		BH3006	TAGT-8	1.94E-10
HVR-H1_1 和 HVR-H2_5		4025	TAGT-8	2.89E-09
		4031	TAGT-8	1.06E-09
		4054	TAGT-10	1.58E-08
		4055	TAGT-10	1.07E-08

[0240]

4060	TAGT-10	1.10E-08
4061	TAGT-10	3.42E-08
4065	TAGT-10	4.31E-08
4066	TAGT-10	4.76E-08
4181	TAGT-10	4.27E-08
4182	TAGT-10	4.24E-09
4693	TAGT-10	4.87E-10
4696	TAGT-10	4.58E-10
4697	TAGT-10	6.21E-10
4698	TAGT-10	5.70E-10
4700	TAGT-10	2.62E-10
4701	TAGT-10	5.60E-10
4702	TAGT-10	5.02E-10
4703	TAGT-10	2.85E-10
4704	TAGT-10	6.65E-10
4705	TAGT-10	3.02E-10
4706	TAGT-10	2.50E-10
4707	TAGT-10	4.29E-10
4708	TAGT-10	5.29E-10
4710	TAGT-10	6.26E-10
4714	TAGT-10	4.46E-10
4717	TAGT-10	4.61E-10
4718	TAGT-10	5.32E-10
4722	TAGT-10	7.46E-10
4725	TAGT-10	4.84E-10
4729	TAGT-10	8.80E-10
4731	TAGT-10	4.67E-10
4732	TAGT-10	3.33E-10
4738	TAGT-10	5.34E-10
4741	TAGT-10	1.66E-09
4743	TAGT-10	7.40E-09
4744	TAGT-10	3.73E-10
4748	TAGT-10	3.92E-10
4749	TAGT-10	2.55E-10
4750	TAGT-10	7.86E-10
4752	TAGT-10	3.34E-09
4753	TAGT-10	3.43E-10
4759	TAGT-10	6.59E-10
4766	TAGT-10	4.09E-10
4788	TAGT-10	2.88E-10
4794	TAGT-10	5.56E-10
4798	TAGT-10	4.35E-09
4803	TAGT-10	1.88E-10
4805	TAGT-10	4.26E-10
4808	TAGT-10	8.28E-10

[0241]

	4909	TAGT-10	2.90E-10
	5126	TAGT-8	9.54E-09
	5129	TAGT-8	1.12E-09
	5132	TAGT-8	3.06E-09
	5145	TAGT-8	7.00E-09
	5295	TAGT-9	2.21E-09
	6179	TAGT-10	1.99E-09
	6180	TAGT-10	6.11E-09
	6183	TAGT-10	2.70E-09
	6184	TAGT-10	<1.0E-12
	6185	TAGT-10	1.57E-09
	6187	TAGT-10	2.74E-08
	6188	TAGT-10	8.76E-09
	6189	TAGT-10	2.38E-10
	6190	TAGT-10	2.55E-09
	6191	TAGT-10	6.58E-11
	6193	TAGT-10	3.18E-09
	6194	TAGT-10	2.49E-10
	6195	TAGT-10	4.30E-09
	6196	TAGT-10	<1.0E-12
	6197	TAGT-10	8.56E-09
	6198	TAGT-10	2.85E-09
	6202	TAGT-10	1.03E-09
	6203	TAGT-10	1.05E-08
	6204	TAGT-10	6.46E-09
	6206	TAGT-10	3.44E-09
	6208	TAGT-10	3.50E-09
	6209	TAGT-10	3.35E-09
	6210	TAGT-10	5.17E-10
	6212	TAGT-10	2.25E-09
	6214	TAGT-10	1.51E-09
	6216	TAGT-10	6.58E-10
	6217	TAGT-10	4.99E-09
	6219	TAGT-10	3.15E-09
	6220	TAGT-10	3.45E-09
	6539	TAGT-4	3.45E-09
	7025	TAGT-8	4.87E-08
	7036	TAGT-8	1.59E-08
	7037	TAGT-8	2.10E-08
	7047	TAGT-8	2.15E-08
	7066	TAGT-8	1.80E-08
	7067	TAGT-8	3.41E-08
	7068	TAGT-8	1.11E-08
	7073	TAGT-8	3.19E-09
HVR-H1_3 和	4074	TAGT-6	1.95E-08

[0242]

HVR-H2_4	4131	TAGT-6	<1.0E-12
	4132	TAGT-6	<1.0E-12
	4200	TAGT-6	5.68E-08
	4216	TAGT-6	2.59E-08
	4878	TAGT-12	4.07E-09
	5291	TAGT-1	6.57E-09
	5312	TAGT-6	4.50E-07
	5326	TAGT-6	7.84E-07
	5345	TAGT-6	1.02E-08
	5346	TAGT-6	1.61E-08
	5347	TAGT-6	1.21E-08
	5348	TAGT-6	1.02E-08
	5355	TAGT-6	8.71E-10
	5364	TAGT-6	7.26E-09
	5367	TAGT-6	1.49E-08
	5371	TAGT-6	3.97E-09
	5405	TAGT-6	1.01E-08
	5415	TAGT-6	1.64E-08
	5417	TAGT-6	4.04E-08
	5418	TAGT-6	2.02E-08
	5905	TAGT-12	3.83E-08
	5910	TAGT-12	3.30E-08
	5911	TAGT-12	3.35E-08
	5912	TAGT-12	1.68E-08
	5914	TAGT-12	3.30E-08
	5915	TAGT-12	1.82E-08
	5918	TAGT-12	3.46E-08
	5919	TAGT-12	2.38E-08
	5920	TAGT-12	1.88E-08
	5922	TAGT-12	1.95E-08
	5923	TAGT-12	1.60E-08
	5927	TAGT-12	4.35E-08
	5929	TAGT-12	3.20E-08
	5961	TAGT-12	2.41E-08
	5962	TAGT-12	8.06E-08
	5963	TAGT-12	2.07E-08
	5964	TAGT-12	1.40E-08
	5974	TAGT-12	5.02E-08
	5976	TAGT-12	2.88E-08
	5977	TAGT-12	2.70E-08
	5978	TAGT-12	3.25E-08
	5996	TAGT-12	2.21E-08
	5999	TAGT-12	6.29E-08
	6000	TAGT-12	7.86E-08
	6004	TAGT-12	5.50E-08

[0243]

6543	TAGT-3	6.78E-08
7077	TAGT-6	1.88E-08
7078	TAGT-6	2.52E-08
7079	TAGT-6	2.99E-08
7080	TAGT-6	2.44E-08
7081	TAGT-6	4.31E-08
7087	TAGT-6	6.96E-08
7088	TAGT-6	4.36E-08
7090	TAGT-6	5.55E-08
7100	TAGT-6	3.50E-08
7105	TAGT-6	3.33E-08
7107	TAGT-6	1.22E-07
7109	TAGT-6	3.20E-08
7120	TAGT-6	3.45E-08
7128	TAGT-6	3.97E-08
7131	TAGT-6	3.04E-08
7133	TAGT-6	4.03E-08
7135	TAGT-6	3.17E-08
7190	TAGT-6	1.03E-08
7201	TAGT-6	3.26E-08
7209	TAGT-12	9.36E-09
7210	TAGT-12	9.85E-09
7211	TAGT-12	1.26E-08
7216	TAGT-12	1.88E-08
7218	TAGT-12	1.49E-08
7219	TAGT-12	1.44E-08
7220	TAGT-12	9.12E-09
7225	TAGT-12	9.53E-09
7226	TAGT-12	7.57E-09
7235	TAGT-12	2.18E-08
7237	TAGT-12	2.13E-08
7240	TAGT-12	1.17E-08
7241	TAGT-12	6.43E-09
7242	TAGT-12	1.71E-08
7245	TAGT-12	1.38E-08
7246	TAGT-12	6.22E-09
7247	TAGT-12	8.93E-09
7251	TAGT-12	2.69E-08
7252	TAGT-12	9.56E-09
7253	TAGT-12	1.62E-08
7255	TAGT-12	1.20E-08
7256	TAGT-12	7.08E-09
7257	TAGT-12	1.11E-08
7420	TAGT-9	1.38E-08
7425	TAGT-9	1.77E-08

[0244]

HVR-H1_2 和 HVR-H2_4		
3761	TAGT-6	9.65E-08
3763	TAGT-6	9.30E-09
4029	TAGT-8	1.89E-09
4034	TAGT-8	4.27E-09
4045	TAGT-8	1.10E-09
4073	TAGT-6	<1.0E-12
4075	TAGT-6	<1.0E-12
4076	TAGT-6	7.44E-09
4077	TAGT-6	<1.0E-12
4123	TAGT-6	5.98E-09
4124	TAGT-6	4.43E-09
4125	TAGT-6	<1.0E-12
4126	TAGT-6	7.27E-09
4127	TAGT-6	<1.0E-12
4129	TAGT-6	<1.0E-12
4133	TAGT-6	3.90E-10
4135	TAGT-6	<1.0E-12
4137	TAGT-6	<1.0E-12
4140	TAGT-6	<1.0E-12
4141	TAGT-6	<1.0E-12
4201	TAGT-6	1.41E-08
4217	TAGT-6	9.67E-08
4218	TAGT-6	2.85E-08
4222	TAGT-6	5.55E-08
4816	TAGT-12	5.32E-09
4842	TAGT-12	4.01E-10
4895	TAGT-7	6.20E-09
4903	TAGT-12	1.91E-09
5212	TAGT-1	9.19E-09
5218	TAGT-1	6.04E-09
5225	TAGT-1	3.10E-10
5235	TAGT-1	1.41E-08
5236	TAGT-1	1.49E-08
5272	TAGT-1	2.49E-08
5275	TAGT-1	9.65E-09
5282	TAGT-1	1.07E-08
5298	TAGT-6	3.41E-07
5301	TAGT-6	2.61E-07
5316	TAGT-6	1.14E-08
5317	TAGT-6	3.34E-07
5320	TAGT-6	6.13E-07
5321	TAGT-6	7.16E-07
5328	TAGT-6	3.42E-07
5329	TAGT-6	2.84E-06
5336	TAGT-6	6.04E-07

[0245]

	5341	TAGT-6	2.93E-08
	5349	TAGT-6	6.20E-09
	5351	TAGT-6	7.29E-09
	5357	TAGT-6	7.14E-09
	5360	TAGT-6	2.41E-08
	5363	TAGT-6	9.87E-09
	5369	TAGT-6	2.05E-08
	5399	TAGT-9	3.62E-08
	5403	TAGT-6	8.26E-09
	5408	TAGT-6	2.36E-08
	5409	TAGT-6	1.70E-08
	5411	TAGT-6	1.25E-08
	5416	TAGT-6	1.09E-08
	5420	TAGT-6	1.41E-08
	5431	TAGT-9	1.19E-08
	5437	TAGT-9	1.92E-08
	5694	TAGT-11	9.45E-09
	5716	TAGT-11	8.14E-09
	5732	TAGT-11	5.24E-09
	5906	TAGT-12	1.50E-08
	5926	TAGT-12	3.23E-08
	5933	TAGT-12	3.13E-08
	5983	TAGT-12	2.09E-08
	5992	TAGT-12	1.70E-08
	5993	TAGT-12	1.13E-08
	5995	TAGT-12	1.42E-08
	6473	TAGT-4	2.30E-08
	6555	TAGT-3	4.18E-08
	7097	TAGT-6	2.43E-08
	7183	TAGT-6	1.48E-08
	7262	TAGT-5	2.63E-09
	7264	TAGT-5	3.17E-09
	7312	TAGT-5	3.11E-09
	7315	TAGT-5	5.15E-09
	7426	TAGT-9	1.12E-08
	7427	TAGT-9	5.58E-09
HVR-H1_1 和 HVR-H2_4	3760	TAGT-6	1.26E-08
	4048	TAGT-10	3.24E-09
	4049	TAGT-10	9.37E-09
	4051	TAGT-10	1.80E-08
	4056	TAGT-10	1.09E-08
	4058	TAGT-10	1.13E-08
	4062	TAGT-10	2.11E-08
	4063	TAGT-10	1.90E-08
	4067	TAGT-10	1.97E-08

[0246]

4080	TAGT-6	<1.0E-12
4130	TAGT-6	1.00E-09
4138	TAGT-6	1.60E-08
4139	TAGT-6	1.65E-09
4723	TAGT-10	9.11E-10
4733	TAGT-10	3.05E-10
4734	TAGT-10	5.72E-10
4767	TAGT-10	2.77E-10
4771	TAGT-10	7.23E-10
4797	TAGT-10	5.63E-10
4807	TAGT-10	1.17E-09
4829	TAGT-12	3.36E-09
5194	TAGT-1	1.29E-08
5200	TAGT-1	1.53E-08
5210	TAGT-1	3.41E-09
5297	TAGT-6	1.77E-06
5300	TAGT-6	1.53E-08
5315	TAGT-6	2.10E-06
5353	TAGT-6	1.61E-08
5354	TAGT-6	4.96E-09
5438	TAGT-9	9.30E-09
5510	TAGT-2	2.62E-09
5513	TAGT-2	1.07E-09
5526	TAGT-2	1.54E-09
5528	TAGT-2	4.55E-09
5532	TAGT-2	3.65E-09
5553	TAGT-2	6.83E-09
5554	TAGT-2	2.88E-09
5557	TAGT-2	3.24E-09
5558	TAGT-2	2.43E-09
5561	TAGT-2	1.64E-08
5565	TAGT-2	3.02E-09
5568	TAGT-2	1.14E-09
5600	TAGT-2	5.33E-09
5612	TAGT-2	7.85E-09
5614	TAGT-2	5.29E-09
5622	TAGT-2	3.06E-09
5642	TAGT-2	3.84E-09
5710	TAGT-11	1.01E-08
5739	TAGT-11	1.29E-08
5745	TAGT-11	1.06E-08
5746	TAGT-11	5.00E-09
5754	TAGT-11	9.52E-09
6221	TAGT-10	6.92E-10
6471	TAGT-4	3.05E-08

[0247]

	6536	TAGT-4	2.03E-09
	6537	TAGT-4	1.85E-09
	6540	TAGT-4	8.08E-09
	7204	TAGT-5	2.33E-09
	7212	TAGT-12	1.70E-08
	7260	TAGT-5	2.30E-09
	7271	TAGT-5	3.13E-08
	7276	TAGT-5	1.02E-08
	7311	TAGT-5	9.20E-09
	7317	TAGT-5	2.02E-08
	7323	TAGT-5	3.23E-09
	7365	TAGT-5	1.82E-09
	7366	TAGT-5	3.76E-09
	7369	TAGT-5	2.46E-09
	7371	TAGT-5	2.31E-08
	7373	TAGT-5	5.13E-09
	7374	TAGT-5	1.97E-08
	7378	TAGT-5	5.66E-09
	7411	TAGT-4	3.82E-08
	7415	TAGT-4	9.33E-08
	7418	TAGT-9	3.41E-08
	7419	TAGT-9	1.72E-08
	7429	TAGT-9	2.12E-08
	7431	TAGT-9	3.53E-08
HVR-H1_2 和 HVR-H2_6	4027	TAGT-8	1.55E-09
	4027	TAGT-8M	3.81E-09
	4032	TAGT-8	5.11E-09
	4032	TAGT-8M	4.84E-09
	4038	TAGT-8	2.98E-09
	4204	TAGT-10	6.83E-09
	4204	TAGT-10M	6.89E-09
	4813	TAGT-12	2.45E-10
	4828	TAGT-12	1.10E-09
	4849	TAGT-12	8.40E-10
	4850	TAGT-12	1.23E-09
	4874	TAGT-12	4.19E-09
	4925	TAGT-7	1.32E-08
	4928	TAGT-7	3.26E-08
	5012	TAGT-8	1.76E-09
	5012	TAGT-8M	2.03E-09
	5014	TAGT-8	2.43E-09
	5014	TAGT-8M	3.87E-09
	5016	TAGT-8	3.56E-09
	5016	TAGT-8M	2.84E-09
	5020	TAGT-8	8.78E-10

[0248]

5020	TAGT-8M	7.00E-09
5022	TAGT-8	3.68E-09
5022	TAGT-8M	3.03E-09
5023	TAGT-8	9.46E-10
5023	TAGT-8M	5.77E-09
5024	TAGT-8	4.52E-09
5024	TAGT-8M	3.48E-09
5030	TAGT-8	7.03E-10
5030	TAGT-8M	4.27E-09
5037	TAGT-8	1.06E-09
5037	TAGT-8M	4.36E-09
5039	TAGT-8	4.30E-10
5039	TAGT-8M	2.69E-09
5040	TAGT-8	4.37E-10
5040	TAGT-8M	3.13E-09
5041	TAGT-8	1.68E-09
5041	TAGT-8M	1.67E-09
5045	TAGT-8	1.00E-09
5045	TAGT-8M	3.91E-09
5048	TAGT-8	5.10E-10
5048	TAGT-8M	2.52E-09
5066	TAGT-8	5.23E-09
5066	TAGT-8M	9.99E-09
5070	TAGT-8	1.34E-09
5070	TAGT-8M	6.63E-09
5074	TAGT-8	4.31E-09
5074	TAGT-8M	2.98E-09
5082	TAGT-8	4.79E-09
5082	TAGT-8M	3.23E-09
5113	TAGT-12	6.80E-09
5114	TAGT-12	3.42E-08
5116	TAGT-12	1.46E-08
5119	TAGT-12	7.54E-09
5121	TAGT-12	9.29E-09
5123	TAGT-12	5.67E-09
5125	TAGT-12	2.42E-08
5128	TAGT-12	7.12E-09
5138	TAGT-12	8.55E-09
5273	TAGT-1	1.34E-08
5423	TAGT-9	4.90E-09
5720	TAGT-11	1.93E-08
5924	TAGT-12	5.95E-08
5934	TAGT-12	1.66E-08
6026	TAGT-2	2.95E-09
6526	TAGT-4	1.16E-08

[0249]

	7040	TAGT-8	2.72E-08
	7228	TAGT-12	7.62E-09
	7244	TAGT-12	1.05E-08
	7254	TAGT-12	1.07E-08
	7258	TAGT-12	9.72E-09
	7358	TAGT-3	5.15E-08
	7442	TAGT-9	6.83E-09
	7443	TAGT-9	1.27E-08
HVR-H1_2 和 HVR-H2_1	4052	TAGT-10	9.73E-09
	4059	TAGT-10	3.30E-07
	5094	TAGT-10	4.34E-08
	5095	TAGT-10	1.27E-08
	5097	TAGT-10	1.27E-08
	5099	TAGT-10	4.20E-08
	5109	TAGT-10	2.59E-08
	5215	TAGT-1	6.64E-09
	5271	TAGT-1	1.24E-08
	5274	TAGT-1	2.52E-08
	5299	TAGT-6	1.37E-08
	5432	TAGT-9	4.83E-09
	5491	TAGT-11	1.43E-08
	5744	TAGT-11	1.14E-08
	5936	TAGT-10	1.75E-08
	6475	TAGT-4	7.22E-09
	7207	TAGT-5	4.99E-10
	7272	TAGT-5	3.49E-09
	7313	TAGT-5	5.69E-09
	7388	TAGT-5	2.72E-09
	7389	TAGT-5	4.50E-09
	7395	TAGT-5	1.65E-08
	7421	TAGT-9	2.47E-08
	7440	TAGT-9	6.79E-09
	7513	TAGT-9	8.43E-09
HVR-H1_2 和 HVR-H2_2	4812	TAGT-12	2.89E-09
	4815	TAGT-12	5.91E-09
	4817	TAGT-12	2.06E-09
	4818	TAGT-12	1.02E-09
	4836	TAGT-12	2.49E-09
	4841	TAGT-12	4.50E-10
	4846	TAGT-12	3.19E-09
	4852	TAGT-12	2.26E-09
	4860	TAGT-12	2.44E-09
	4876	TAGT-12	7.75E-09
	4880	TAGT-12	2.77E-09
	4897	TAGT-12	6.83E-10

[0250]

	4901	TAGT-12	3.19E-09
	4904	TAGT-12	5.39E-09
	5115	TAGT-12	1.16E-08
	5220	TAGT-1	5.03E-09
	5404	TAGT-6	3.30E-09
	5421	TAGT-9	1.05E-08
	5422	TAGT-9	5.12E-09
	5584	TAGT-2	1.76E-09
	5658	TAGT-11	2.61E-10
	7273	TAGT-5	6.01E-09
	7316	TAGT-5	2.04E-08
	7394	TAGT-5	8.75E-09
HVR-H1_2 和 HVR-H2_3	4037	TAGT-8	5.53E-09
	4041	TAGT-8	1.54E-09
	4180	TAGT-10	7.39E-08
	4809	TAGT-12	3.69E-10
	4820	TAGT-12	3.96E-09
	4825	TAGT-12	6.05E-09
	4837	TAGT-12	5.36E-09
	4838	TAGT-12	2.52E-09
	4839	TAGT-12	6.16E-09
	4844	TAGT-12	6.95E-10
	4847	TAGT-12	3.64E-10
	4879	TAGT-12	3.13E-09
	4911	TAGT-7	1.50E-08
	5228	TAGT-1	3.06E-08
	5292	TAGT-1	1.57E-08
	5398	TAGT-9	1.97E-08
	7248	TAGT-12	1.28E-08
	7249	TAGT-12	5.36E-09
	7380	TAGT-5	1.24E-08
	7386	TAGT-5	1.32E-08
	7444	TAGT-9	5.53E-09
	7508	TAGT-9	1.36E-08
HVR-H1_1 和 HVR-H2_1	4097	TAGT-8	6.24E-09
	5202	TAGT-1	1.50E-08
	5203	TAGT-1	1.31E-08
	5207	TAGT-1	7.44E-09
	5221	TAGT-1	1.18E-08
	5226	TAGT-1	8.36E-09
	5230	TAGT-1	9.21E-09
	5238	TAGT-1	5.04E-08
	5280	TAGT-1	8.43E-09
	5281	TAGT-1	4.70E-09
	5285	TAGT-1	1.42E-08

[0251]

	5288	TAGT-1	1.08E-08
	5425	TAGT-9	2.15E-08
	7032	TAGT-8	2.08E-08
	7268	TAGT-5	3.76E-09
	7277	TAGT-5	2.56E-09
	7278	TAGT-5	1.53E-08
	7390	TAGT-5	1.44E-09
HVR-H1_2 和 HVR-H2_5	4102	TAGT-8	2.54E-09
	4116	TAGT-10	<1.0E-12
	4827	TAGT-12	1.51E-09
	4834	TAGT-12	9.68E-10
	4851	TAGT-12	3.84E-10
	4863	TAGT-12	6.63E-10
	4875	TAGT-12	1.03E-09
	5217	TAGT-1	1.08E-08
	5921	TAGT-12	8.01E-09
	5930	TAGT-12	5.66E-09
	5932	TAGT-12	1.12E-08
	5968	TAGT-12	1.27E-08
	5980	TAGT-12	1.14E-08
	5990	TAGT-12	1.15E-08
	6010	TAGT-12	2.83E-08
	7310	TAGT-5	1.41E-08
	7379	TAGT-5	5.43E-09
HVR-H1_1 和 HVR-H2_3	4161	TAGT-8	2.98E-08
	4177	TAGT-8	1.48E-08
	4823	TAGT-12	2.62E-09
	5192	TAGT-1	2.16E-08
	5193	TAGT-1	3.69E-08
	5204	TAGT-1	1.48E-08
	5234	TAGT-1	1.28E-08
	5237	TAGT-1	3.28E-09
	5615	TAGT-2	1.22E-08
	5733	TAGT-11	7.15E-09
	5741	TAGT-11	1.91E-08
	7324	TAGT-5	5.68E-09
	7367	TAGT-5	2.04E-08
	7372	TAGT-5	7.27E-10
	7506	TAGT-9	7.73E-09
HVR-H1_3 和 HVR-H2_1	5208	TAGT-1	3.36E-09
	5283	TAGT-1	2.88E-08
	5303	TAGT-6	5.12E-09
	5310	TAGT-6	5.72E-09
	5314	TAGT-6	8.39E-09
	5318	TAGT-6	1.90E-08

[0252]

	5342	TAGT-6	3.89E-08
	5359	TAGT-6	7.10E-10
	5365	TAGT-6	2.56E-09
	5370	TAGT-6	1.91E-09
	5413	TAGT-6	9.93E-10
	7275	TAGT-5	6.85E-09
HVR-H1_1 和 HVR-H2_2	4840	TAGT-12	2.08E-09
	5195	TAGT-1	2.62E-08
	5201	TAGT-1	5.33E-09
	5211	TAGT-1	2.11E-09
	5216	TAGT-1	3.08E-09
	5286	TAGT-1	6.34E-09
	5287	TAGT-1	1.02E-08
	5290	TAGT-1	6.73E-09
	5722	TAGT-11	3.08E-08
	6030	TAGT-2	8.27E-08
	7370	TAGT-5	1.07E-08
	7385	TAGT-5	3.26E-09
HVR-H1_3 和 HVR-H2_2	4036	TAGT-8	3.13E-09
	4096	TAGT-8	2.70E-09
	5323	TAGT-6	1.04E-08
	5387	TAGT-8	1.13E-09
	5756	TAGT-11	3.00E-08
	5985	TAGT-12	3.92E-08
	5986	TAGT-12	4.65E-08
	7163	TAGT-6	1.26E-08
	7375	TAGT-5	6.03E-09
	7391	TAGT-5	1.35E-08
HVR-H1_3 和 HVR-H2_3	4026	TAGT-8	3.08E-09
	4858	TAGT-12	5.86E-09
	6533	TAGT-3	2.62E-08
	7159	TAGT-6	3.79E-08
	7166	TAGT-6	1.24E-08
	7239	TAGT-12	2.40E-08
	7274	TAGT-5	1.63E-08
	7433	TAGT-9	1.67E-08
HVR-H1_3 和 HVR-H2_6	4857	TAGT-12	4.05E-09
	5227	TAGT-1	1.04E-08
	7221	TAGT-12	5.58E-09
	7229	TAGT-12	8.91E-09
HVR-H1_2 和 HVR-H2_7	4220	TAGT-6	5.72E-08
	4861	TAGT-12	5.11E-09
	5284	TAGT-1	1.84E-08
HVR-H1_1 和 HVR-H2_7	4079	TAGT-6	3.15E-08
	7129	TAGT-6	1.90E-08

[0253]

HVR-H1_3和HVR-H2_5	4072	TAGT-6	6.95E-09
HVR-H1_3和HVR-H2_7	5333	TAGT-6	5.02E-09

[0254] 发现了当相同HVR-H1和HVR-H2序列与不同HVR-H3和VL序列配对时,可结合不同靶标抗原的含有这些HVR-H1和HVR-H2序列的命中物。举例来说,命中物标识符4029、7097和5906含有相同HVR-H1和HVR-H2组合(HVR-H1_2和HVR-H2_4),但与不同HVR-H3和VL序列配对,并且结合三种不同靶标抗原(分别是TAGT-8、TAGT-6和TAGT-12)。命中物7040和5924含有相同HVR-H1和HVR-H2组合(HVR-H1_2和HVR-H2_6),但与不同HVR-H3和VL序列配对,并且结合两种不同靶标抗原(分别是TAGT-8和TAGT-12)。

[0255] 以下表5显示在文库分析期间鉴定的HVR-H1和HVR-H2的序列使用和结合的靶标的数目。在不希望受理论束缚下,认为由包含给定高变区的抗体结合的抗原的数目较高可指示那个特定高变区具有高度柔性,而给定高变区的较高区段使用可指示所述高变区(以及周围多肽序列)的稳健折叠。

[0256] 表5:HVR-H1和HVR-H2经设计变体的靶标结合能力

[0257]

变体标识符	**序列使用百分比**	**出自14之中的抗原数目命中**
HVR-H1_1	45.0%	11
HVR-H1_2	33.8%	14
HVR-H1_3	19.1%	8
HVR-H2_1	7.9%	8
HVR-H2_2	6.6%	8
HVR-H2_3	6.8%	11
HVR-H2_4	36.4%	12
HVR-H2_5	16.8%	8
HVR-H2_6	21.8%	13
HVR-H2_7	0.9%	3

[0258] 以下表6显示在文库分析期间鉴定的HVR-H1和HVR-H2组合的序列使用和结合的抗原的数目。

[0259] 表6:HVR-H1和HVR-H2经设计变体组合使用

[0260]

偏好分级	HVR-H1 变体标识符	HVR-H2 变体标识符	序列使用百分比	出自 14 之中的抗原数目命中
等级 1	HVR-H1_2	HVR-H2_6	7.6%	11
等级 1	HVR-H1_2	HVR-H2_4	11.6%	10
等级 1	HVR-H1_1	HVR-H2_4	11.2%	9
等级 1	HVR-H1_1	HVR-H2_6	13.5%	7
等级 1	HVR-H1_2	HVR-H2_1	3.6%	7
等级 1	HVR-H1_2	HVR-H2_2	3.4%	7
等级 1	HVR-H1_2	HVR-H2_3	3.4%	7
等级 1	HVR-H1_1	HVR-H2_3	2.2%	7
等级 1	HVR-H1_3	HVR-H2_3	1.1%	6
等级 1	HVR-H1_3	HVR-H2_4	13.1%	5
等级 1	HVR-H1_2	HVR-H2_5	2.4%	5
等级 1	HVR-H1_1	HVR-H2_2	1.7%	5
等级 1	HVR-H1_3	HVR-H2_2	1.4%	5
等级 1	HVR-H1_1	HVR-H2_5	13.4%	4
等级 2	HVR-H1_1	HVR-H2_1	2.6%	4
等级 2	HVR-H1_3	HVR-H2_1	1.7%	3
等级 2	HVR-H1_2	HVR-H2_7	0.4%	3
等级 2	HVR-H1_3	HVR-H2_6	0.6%	2
等级 3	HVR-H1_1	HVR-H2_7	0.3%	1
等级 3	HVR-H1_3	HVR-H2_5	0.1%	1
等级 3	HVR-H1_3	HVR-H2_7	0.1%	1

[0261] 鉴定了在>1个上述独特抗体命中物中出现的74种HVR-H1序列(SEQ ID NO:1-52和137-158,表1)和90种HVR-H2序列(SEQ ID NO:53-136和159-164,表1)。当与各种HVR-H3和可变轻链结构域组合时,这些HVR能够形成结合多种抗原的抗体。鉴定了在>1个所述独特抗体命中物中出现的额外65种新型HVR-H1和HVR-H2序列组合。以下表7显示在使用这些新HVR序列进行文库分析期间获得的HVR-H1和HVR-H2使用以及结合的抗原的数目。

[0262] 表7:新HVR-H1和HVR-H2序列的使用

[0263]

SEQ ID NO:	命中物的数目	出自14之中的抗原数目命中
1	12	8
5	10	7
16	9	6
8	37	5
22	12	5
21	7	5
31	14	4
12	12	4
4	11	4
7	11	4
26	7	4
19	6	4
23	6	4
47	6	4
18	5	4
24	5	4
28	5	4
9	5	4
38	4	4
49	4	4
25	16	3
50	13	3
51	8	3
27	5	3
11	5	3
40	4	3
43	4	3
20	3	3
33	3	3
42	3	3
45	3	3
13	27	2
34	7	2
35	5	2
41	5	2
3	4	2
15	3	2
30	3	2
44	3	2
46	3	2
32	2	2
37	2	2

[0264]

39	2	2
2	2	2
14	2	2
48	6	1
29	3	1
6	3	1
17	2	1
36	2	1
52	2	1
10	2	1
63	40	7
93	12	5
66	8	5
122	7	5
65	6	5
105	5	5
124	14	4
123	7	4
70	4	4
110	46	3
129	26	3
121	15	3
89	9	3
134	9	3
128	7	3
60	4	3
67	4	3
95	3	3
117	14	2
82	11	2
130	11	2
132	10	2
53	9	2
131	7	2
109	6	2
72	5	2
118	5	2
100	4	2
103	4	2
106	4	2
61	3	2
71	3	2
75	3	2

[0265]

77	3	2
79	3	2
108	3	2
112	3	2
113	3	2
55	2	2
56	2	2
59	2	2
62	2	2
64	2	2
68	2	2
69	2	2
73	2	2
74	2	2
76	2	2
78	2	2
81	2	2
83	2	2
86	2	2
90	2	2
91	2	2
99	2	2
107	2	2
135	2	2
136	2	2
126	29	1
116	10	1
87	5	1
84	4	1
85	4	1
92	4	1
104	4	1
57	3	1
80	3	1
94	3	1
96	3	1
101	3	1
111	3	1
114	3	1
120	3	1
133	3	1
54	2	1
58	2	1
88	2	1

[0266]

97	2	1
98	2	1
102	2	1
115	2	1
119	2	1
125	2	1
127	2	1

[0267] 以下表8显示新HVR-H1和HVR-H2序列的组合的使用和结合的抗原的数目。

[0268] 表8:新HVR-H1和HVR-H2组合使用

[0269]

偏好分级	HVR-H1 SEQ ID NO:	HVR-H2 SEQ ID NO:	命中物的数目	出自14之中的抗原数目命中
等级1	157	63	4	3
等级1	1	122	4	3
等级1	138	63	3	3
等级1	154	63	5	2
等级1	158	161	5	2
等级1	158	63	3	2
等级1	145	128	3	2
等级1	22	61	2	2
等级1	31	63	2	2
等级1	153	63	2	2
等级1	155	67	2	2
等级1	156	100	2	2
等级1	51	162	2	2
等级1	138	123	2	2
等级1	139	110	38	1
等级1	8	126	29	1
等级1	13	129	21	1
等级1	31	124	11	1
等级1	25	130	10	1
等级1	150	132	9	1
等级1	158	162	8	1
等级1	12	82	8	1
等级1	149	117	7	1
等级1	7	134	6	1
等级2	26	53	4	1
等级2	151	53	4	1
等级2	34	63	3	1

[0270]

等级 2	50	162	3	1
等级 2	158	104	3	1
等级 2	5	121	3	1
等级 2	6	116	3	1
等级 2	7	121	3	1
等级 2	17	63	2	1
等级 2	25	101	2	1
等级 2	25	114	2	1
等级 2	29	112	2	1
等级 2	152	63	2	1
等级 2	156	89	2	1
等级 2	157	94	2	1
等级 2	48	58	2	1
等级 2	50	89	2	1
等级 2	50	163	2	1
等级 2	158	160	2	1
等级 2	158	87	2	1
等级 2	158	92	2	1
等级 2	158	93	2	1
等级 2	158	97	2	1
等级 2	158	103	2	1
等级 2	158	164	2	1
等级 2	137	54	2	1
等级 2	3	127	2	1
等级 2	4	85	2	1
等级 2	4	110	2	1
等级 2	139	109	2	1
等级 2	139	121	2	1
等级 2	8	120	2	1
等级 2	140	131	2	1
等级 2	141	116	2	1
等级 2	142	159	2	1
等级 2	143	116	2	1
等级 2	144	121	2	1
等级 2	146	110	2	1
等级 2	147	133	2	1
等级 2	148	63	2	1
等级 2	13	118	2	1

[0271] 表9显示使用所指示的新HVR-H1和HVR-H2序列的独特命中物的亲和力数据。

[0272] 表9:使用新HVR-H1和HVR-H2序列的经确认命中物的亲和力数据

[0273]

HVR SEQ ID NO:	命中物标识符	抗原	Kd (M)
8	4025	TAGT-8	2.89E-09
8	4033	TAGT-8	8.75E-10
8	4614	TAGT-8	3.53E-10
8	4615	TAGT-8	2.28E-10
8	4617	TAGT-8	2.88E-10
8	4622	TAGT-8	2.74E-10
8	4627	TAGT-8	1.82E-10
8	4631	TAGT-8	1.83E-10
8	4633	TAGT-8	3.22E-10
8	4634	TAGT-8	2.07E-10
8	4638	TAGT-8	3.14E-10
8	4642	TAGT-8	1.89E-10
8	4644	TAGT-8	2.48E-10
8	4645	TAGT-8	2.96E-10
8	4650	TAGT-8	3.57E-10
8	4651	TAGT-8	3.01E-10
8	4652	TAGT-8	2.94E-10
8	4654	TAGT-8	2.32E-10
8	4658	TAGT-8	1.42E-10
8	4665	TAGT-8	3.69E-10
8	4673	TAGT-8	3.23E-10
8	4674	TAGT-8	5.02E-10
8	4681	TAGT-8	5.43E-10
8	4689	TAGT-8	1.63E-10
8	4690	TAGT-8	4.67E-10
8	5532	TAGT-2	3.65E-09
8	5558	TAGT-2	2.43E-09
8	5970	TAGT-12	1.35E-08
8	6190	TAGT-10	2.55E-09
8	6203	TAGT-10	1.05E-08
8	7032	TAGT-8	2.08E-08
8	7043	TAGT-8	1.34E-08
8	7367	TAGT-5	2.04E-08
8	BH3002	TAGT-8	2.51E-10
8	BH3004	TAGT-8	3.00E-10
8	BH3005	TAGT-8	3.46E-10
8	BH3006	TAGT-8	1.94E-10
13	4043	TAGT-8	2.69E-09
13	4084	TAGT-8	2.94E-09

[0274]

13	4618	TAGT-8	1.08E-09
13	4620	TAGT-8	3.48E-10
13	4623	TAGT-8	4.85E-10
13	4624	TAGT-8	1.00E-12
13	4625	TAGT-8	4.02E-10
13	4630	TAGT-8	2.67E-10
13	4653	TAGT-8	3.27E-10
13	4659	TAGT-8	2.12E-10
13	4662	TAGT-8	8.98E-10
13	4666	TAGT-8	1.17E-09
13	4668	TAGT-8	5.79E-10
13	4670	TAGT-8	8.21E-10
13	4675	TAGT-8	1.00E-12
13	4676	TAGT-8	1.62E-10
13	4678	TAGT-8	5.98E-10
13	4683	TAGT-8	8.97E-10
13	4684	TAGT-8	6.69E-10
13	4685	TAGT-8	4.78E-10
13	4686	TAGT-8	4.78E-10
13	4687	TAGT-8	4.08E-10
13	5739	TAGT-11	1.29E-08
13	7025	TAGT-8	4.87E-08
13	7035	TAGT-8	3.04E-09
13	7037	TAGT-8	2.10E-08
13	7038	TAGT-8	2.33E-08
25	4201	TAGT-6	1.41E-08
25	4217	TAGT-6	9.67E-08
25	4218	TAGT-6	2.85E-08
25	4813	TAGT-12	2.45E-10
25	5113	TAGT-12	6.80E-09
25	5114	TAGT-12	3.42E-08
25	5116	TAGT-12	1.46E-08
25	5119	TAGT-12	7.54E-09
25	5121	TAGT-12	9.29E-09
25	5123	TAGT-12	5.67E-09
25	5125	TAGT-12	2.42E-08
25	5128	TAGT-12	7.12E-09
25	5138	TAGT-12	8.55E-09
25	5968	TAGT-12	1.27E-08
25	5990	TAGT-12	1.15E-08
25	7442	TAGT-9	6.83E-09
31	4027	TAGT-8	1.55E-09
31	4027	TAGT-8M	3.81E-09
31	5020	TAGT-8	8.78E-10

[0275]

31	5020	TAGT-8M	7.00E-09
31	5023	TAGT-8	9.46E-10
31	5023	TAGT-8M	5.77E-09
31	5030	TAGT-8	7.03E-10
31	5030	TAGT-8M	4.27E-09
31	5037	TAGT-8	1.06E-09
31	5037	TAGT-8M	4.36E-09
31	5039	TAGT-8	4.30E-10
31	5039	TAGT-8M	2.69E-09
31	5040	TAGT-8	4.37E-10
31	5040	TAGT-8M	3.13E-09
31	5045	TAGT-8	1.00E-09
31	5045	TAGT-8M	3.91E-09
31	5048	TAGT-8	5.10E-10
31	5048	TAGT-8M	2.52E-09
31	5066	TAGT-8	5.23E-09
31	5066	TAGT-8M	9.99E-09
31	5070	TAGT-8	1.34E-09
31	5070	TAGT-8M	6.63E-09
31	5658	TAGT-11	2.61E-10
31	5926	TAGT-12	3.23E-08
31	7394	TAGT-5	8.75E-09
50	5929	TAGT-12	3.20E-08
50	5978	TAGT-12	3.25E-08
50	5999	TAGT-12	6.29E-08
50	7077	TAGT-6	1.88E-08
50	7090	TAGT-6	5.55E-08
50	7128	TAGT-6	3.97E-08
50	7209	TAGT-12	9.36E-09
50	7219	TAGT-12	1.44E-08
50	7235	TAGT-12	2.18E-08
50	7240	TAGT-12	1.17E-08
50	7256	TAGT-12	7.08E-09
50	7257	TAGT-12	1.11E-08
50	7375	TAGT-5	6.03E-09
22	4116	TAGT-10	<1.0E-12
22	4129	TAGT-6	<1.0E-12
22	4140	TAGT-6	<1.0E-12
22	4842	TAGT-12	4.01E-10
22	5212	TAGT-1	9.19E-09
22	5218	TAGT-1	6.04E-09
22	5271	TAGT-1	1.24E-08
22	5284	TAGT-1	1.84E-08
22	5301	TAGT-6	2.61E-07

[0276]

22	5336	TAGT-6	6.04E-07
22	5906	TAGT-12	1.50E-08
22	7207	TAGT-5	4.99E-10
1	3757	TAGT-6	1.84E-08
1	3869	TAGT-11	2.35E-08
1	5103	TAGT-10	2.67E-09
1	5163	TAGT-11	1.71E-08
1	5201	TAGT-1	5.33E-09
1	5287	TAGT-1	1.02E-08
1	5315	TAGT-6	2.10E-06
1	5612	TAGT-2	7.85E-09
1	7129	TAGT-6	1.90E-08
1	7317	TAGT-5	2.02E-08
1	7411	TAGT-4	3.82E-08
1	7419	TAGT-9	1.72E-08
12	4048	TAGT-10	3.24E-09
12	4163	TAGT-8	1.37E-08
12	4723	TAGT-10	9.11E-10
12	4733	TAGT-10	3.05E-10
12	4734	TAGT-10	5.72E-10
12	4767	TAGT-10	2.77E-10
12	4771	TAGT-10	7.23E-10
12	4797	TAGT-10	5.63E-10
12	4807	TAGT-10	1.17E-09
12	5200	TAGT-1	1.53E-08
12	7030	TAGT-8	3.47E-08
12	7324	TAGT-5	5.68E-09
4	4054	TAGT-10	1.58E-08
4	5203	TAGT-1	1.31E-08
4	5354	TAGT-6	4.96E-09
4	6179	TAGT-10	1.99E-09
4	6183	TAGT-10	2.70E-09
4	6206	TAGT-10	3.44E-09
4	6217	TAGT-10	4.99E-09
4	7260	TAGT-5	2.30E-09
4	7278	TAGT-5	1.53E-08
4	7371	TAGT-5	2.31E-08
4	7374	TAGT-5	1.97E-08
7	3898	TAGT-11	1.83E-08
7	4065	TAGT-10	4.31E-08
7	4182	TAGT-10	4.24E-09
7	4741	TAGT-10	1.66E-09
7	5149	TAGT-11	2.91E-09
7	5159	TAGT-11	4.09E-09

[0277]

7	5160	TAGT-11	8.07E-09
7	5162	TAGT-11	9.87E-09
7	5165	TAGT-11	4.06E-09
7	5510	TAGT-2	2.62E-09
7	7370	TAGT-5	1.07E-08
5	4060	TAGT-10	1.10E-08
5	4130	TAGT-6	1.00E-09
5	4798	TAGT-10	4.35E-09
5	5204	TAGT-1	1.48E-08
5	5526	TAGT-2	1.54E-09
5	5600	TAGT-2	5.33E-09
5	5733	TAGT-11	7.15E-09
5	6219	TAGT-10	3.15E-09
5	6531	TAGT-3	1.08E-08
5	6539	TAGT-4	3.45E-09
16	4034	TAGT-8	4.27E-09
16	4102	TAGT-8	2.54E-09
16	4903	TAGT-12	1.91E-09
16	5220	TAGT-1	5.03E-09
16	5321	TAGT-6	7.16E-07
16	5720	TAGT-11	1.93E-08
16	6010	TAGT-12	2.83E-08
16	7183	TAGT-6	1.48E-08
51	4074	TAGT-6	1.95E-08
51	5347	TAGT-6	1.21E-08
51	7190	TAGT-6	1.03E-08
51	7237	TAGT-12	2.13E-08
51	7242	TAGT-12	1.71E-08
51	7251	TAGT-12	2.69E-08
51	7253	TAGT-12	1.62E-08
51	7433	TAGT-9	1.67E-08
21	4038	TAGT-8	2.98E-09
21	4127	TAGT-6	<1.0E-12
21	4844	TAGT-12	6.95E-10
21	5235	TAGT-1	1.41E-08
21	5328	TAGT-6	3.42E-07
21	5924	TAGT-12	5.95E-08
21	7395	TAGT-5	1.65E-08
26	4052	TAGT-10	9.73E-09
26	5094	TAGT-10	4.34E-08
26	5097	TAGT-10	1.27E-08
26	5109	TAGT-10	2.59E-08
26	5275	TAGT-1	9.65E-09
26	5399	TAGT-9	3.62E-08

[0278]

26	7040	TAGT-8	2.72E-08
34	4836	TAGT-12	2.49E-09
34	4839	TAGT-12	6.16E-09
34	4852	TAGT-12	2.26E-09
34	4876	TAGT-12	7.75E-09
34	5349	TAGT-6	6.20E-09
34	5351	TAGT-6	7.29E-09
34	5369	TAGT-6	2.05E-08
19	5282	TAGT-1	1.07E-08
19	5298	TAGT-6	3.41E-07
19	5316	TAGT-6	1.14E-08
19	5404	TAGT-6	3.30E-09
19	7386	TAGT-5	1.32E-08
19	7426	TAGT-9	1.12E-08
23	5215	TAGT-1	6.64E-09
23	5272	TAGT-1	2.49E-08
23	5491	TAGT-11	1.43E-08
23	5744	TAGT-11	1.14E-08
23	5933	TAGT-12	3.13E-08
47	4072	TAGT-6	6.95E-09
47	4132	TAGT-6	<1.0E-12
47	4200	TAGT-6	5.68E-08
47	7229	TAGT-12	8.91E-09
47	7275	TAGT-5	6.85E-09
48	5314	TAGT-6	8.39E-09
48	5326	TAGT-6	7.84E-07
48	5342	TAGT-6	3.89E-08
48	5348	TAGT-6	1.02E-08
48	5364	TAGT-6	7.26E-09
48	5413	TAGT-6	9.93E-10
18	4809	TAGT-12	3.69E-10
18	4861	TAGT-12	5.11E-09
18	5363	TAGT-6	9.87E-09
18	6555	TAGT-3	4.18E-08
18	7513	TAGT-9	8.43E-09
24	7097	TAGT-6	2.43E-08
24	7228	TAGT-12	7.62E-09
24	7244	TAGT-12	1.05E-08
24	7388	TAGT-5	2.72E-09
24	7421	TAGT-9	2.47E-08
27	3761	TAGT-6	9.65E-08
27	4135	TAGT-6	<1.0E-12
27	4846	TAGT-12	3.19E-09
27	4874	TAGT-12	4.19E-09

[0279]

27	5236	TAGT-1	1.49E-08
28	4925	TAGT-7	1.32E-08
28	5317	TAGT-6	3.34E-07
28	5341	TAGT-6	2.93E-08
28	5584	TAGT-2	1.76E-09
28	7315	TAGT-5	5.15E-09
35	4849	TAGT-12	8.40E-10
35	4850	TAGT-12	1.23E-09
35	4851	TAGT-12	3.84E-10
35	5694	TAGT-11	9.45E-09
35	5980	TAGT-12	1.14E-08
41	5934	TAGT-12	1.66E-08
41	5983	TAGT-12	2.09E-08
41	5993	TAGT-12	1.13E-08
41	5995	TAGT-12	1.42E-08
41	6475	TAGT-4	7.22E-09
9	5297	TAGT-6	1.77E-06
9	5561	TAGT-2	1.64E-08
9	5568	TAGT-2	1.14E-09
9	7268	TAGT-5	3.76E-09
9	7431	TAGT-9	3.53E-08
11	4051	TAGT-10	1.80E-08
11	4067	TAGT-10	1.97E-08
11	4103	TAGT-8	3.59E-10
11	5300	TAGT-6	1.53E-08
11	7047	TAGT-8	2.15E-08
38	4204	TAGT-10	6.83E-09
38	4204	TAGT-10M	6.89E-09
38	4847	TAGT-12	3.64E-10
38	5398	TAGT-9	1.97E-08
40	4029	TAGT-8	1.89E-09
40	4076	TAGT-6	7.44E-09
40	4126	TAGT-6	7.27E-09
40	7444	TAGT-9	5.53E-09
43	5408	TAGT-6	2.36E-08
43	5992	TAGT-12	1.70E-08
43	7249	TAGT-12	5.36E-09
43	7264	TAGT-5	3.17E-09
49	5756	TAGT-11	3.00E-08
49	6543	TAGT-3	6.78E-08
49	7420	TAGT-9	1.38E-08
3	5614	TAGT-2	5.29E-09
3	5642	TAGT-2	3.84E-09
3	7044	TAGT-8	1.12E-09

[0280]

3	7045	TAGT-8	1.11E-09
15	4077	TAGT-6	<1.0E-12
15	5409	TAGT-6	1.70E-08
15	7380	TAGT-5	1.24E-08
20	4037	TAGT-8	5.53E-09
20	5732	TAGT-11	5.24E-09
20	7258	TAGT-12	9.72E-09
29	5930	TAGT-12	5.66E-09
29	5932	TAGT-12	1.12E-08
29	7254	TAGT-12	1.07E-08
30	5411	TAGT-6	1.25E-08
30	5420	TAGT-6	1.41E-08
30	7272	TAGT-5	3.49E-09
33	4180	TAGT-10	7.39E-08
33	5228	TAGT-1	3.06E-08
42	4141	TAGT-6	<1.0E-12
42	4816	TAGT-12	5.32E-09
42	5274	TAGT-1	2.52E-08
44	4045	TAGT-8	1.10E-09
44	4875	TAGT-12	1.03E-09
44	5921	TAGT-12	8.01E-09
45	5403	TAGT-6	8.26E-09
45	6526	TAGT-4	1.16E-08
45	7379	TAGT-5	5.43E-09
46	4828	TAGT-12	1.10E-09
46	4863	TAGT-12	6.63E-10
46	7427	TAGT-9	5.58E-09
6	4752	TAGT-10	3.34E-09
6	6210	TAGT-10	5.17E-10
6	6212	TAGT-10	2.25E-09
17	4818	TAGT-12	1.02E-09
17	4841	TAGT-12	4.50E-10
32	7248	TAGT-12	1.28E-08
32	7310	TAGT-5	1.41E-08
36	4815	TAGT-12	5.91E-09
36	4825	TAGT-12	6.05E-09
37	5360	TAGT-6	2.41E-08
39	7358	TAGT-3	5.15E-08
39	7389	TAGT-5	4.50E-09
52	5370	TAGT-6	1.91E-09
52	7166	TAGT-6	1.24E-08
2	5438	TAGT-9	9.30E-09
2	7373	TAGT-5	5.13E-09
10	7055	TAGT-8	7.57E-10

[0281]

10	7067	TAGT-8	3.41E-08
14	4062	TAGT-10	2.11E-08
14	5237	TAGT-1	3.28E-09
110	4055	TAGT-10	1.07E-08
110	4061	TAGT-10	3.42E-08
110	4066	TAGT-10	4.76E-08
110	4181	TAGT-10	4.27E-08
110	4693	TAGT-10	4.87E-10
110	4696	TAGT-10	4.58E-10
110	4697	TAGT-10	6.21E-10
110	4698	TAGT-10	5.70E-10
110	4700	TAGT-10	2.62E-10
110	4701	TAGT-10	5.60E-10
110	4702	TAGT-10	5.02E-10
110	4703	TAGT-10	2.85E-10
110	4704	TAGT-10	6.65E-10
110	4705	TAGT-10	3.02E-10
110	4706	TAGT-10	2.50E-10
110	4707	TAGT-10	4.29E-10
110	4708	TAGT-10	5.29E-10
110	4710	TAGT-10	6.26E-10
110	4714	TAGT-10	4.46E-10
110	4717	TAGT-10	4.61E-10
110	4718	TAGT-10	5.32E-10
110	4722	TAGT-10	7.46E-10
110	4725	TAGT-10	4.84E-10
110	4729	TAGT-10	8.80E-10
110	4731	TAGT-10	4.67E-10
110	4732	TAGT-10	3.33E-10
110	4738	TAGT-10	5.34E-10
110	4743	TAGT-10	7.40E-09
110	4744	TAGT-10	3.73E-10
110	4748	TAGT-10	3.92E-10
110	4749	TAGT-10	2.55E-10
110	4750	TAGT-10	7.86E-10
110	4753	TAGT-10	3.43E-10
110	4759	TAGT-10	6.59E-10
110	4766	TAGT-10	4.09E-10
110	4788	TAGT-10	2.88E-10
110	4794	TAGT-10	5.56E-10
110	4803	TAGT-10	1.88E-10
110	4805	TAGT-10	4.26E-10
110	4808	TAGT-10	8.28E-10
110	4909	TAGT-10	2.90E-10

[0282]

110	6010	TAGT-12	2.83E-08
110	6183	TAGT-10	2.70E-09
110	6191	TAGT-10	6.58E-11
110	6206	TAGT-10	3.44E-09
110	7066	TAGT-8	1.80E-08
63	4036	TAGT-8	3.13E-09
63	4096	TAGT-8	2.70E-09
63	4812	TAGT-12	2.89E-09
63	4815	TAGT-12	5.91E-09
63	4817	TAGT-12	2.06E-09
63	4818	TAGT-12	1.02E-09
63	4836	TAGT-12	2.49E-09
63	4840	TAGT-12	2.08E-09
63	4841	TAGT-12	4.50E-10
63	4846	TAGT-12	3.19E-09
63	4852	TAGT-12	2.26E-09
63	4860	TAGT-12	2.44E-09
63	4876	TAGT-12	7.75E-09
63	4880	TAGT-12	2.77E-09
63	4897	TAGT-12	6.83E-10
63	4901	TAGT-12	3.19E-09
63	4904	TAGT-12	5.39E-09
63	5115	TAGT-12	1.16E-08
63	5195	TAGT-1	2.62E-08
63	5216	TAGT-1	3.08E-09
63	5286	TAGT-1	6.34E-09
63	5287	TAGT-1	1.02E-08
63	5290	TAGT-1	6.73E-09
63	5323	TAGT-6	1.04E-08
63	5387	TAGT-8	1.13E-09
63	5404	TAGT-6	3.30E-09
63	5421	TAGT-9	1.05E-08
63	5422	TAGT-9	5.12E-09
63	5658	TAGT-11	2.61E-10
63	5722	TAGT-11	3.08E-08
63	5756	TAGT-11	3.00E-08
63	5985	TAGT-12	3.92E-08
63	5986	TAGT-12	4.65E-08
63	7273	TAGT-5	6.01E-09
63	7316	TAGT-5	2.04E-08
63	7370	TAGT-5	1.07E-08
63	7375	TAGT-5	6.03E-09
63	7385	TAGT-5	3.26E-09
63	7391	TAGT-5	1.35E-08

[0283]

63	7394	TAGT-5	8.75E-09
126	4033	TAGT-8	8.75E-10
126	4614	TAGT-8	3.53E-10
126	4615	TAGT-8	2.28E-10
126	4617	TAGT-8	2.88E-10
126	4622	TAGT-8	2.74E-10
126	4627	TAGT-8	1.82E-10
126	4631	TAGT-8	1.83E-10
126	4633	TAGT-8	3.22E-10
126	4634	TAGT-8	2.07E-10
126	4638	TAGT-8	3.14E-10
126	4642	TAGT-8	1.89E-10
126	4644	TAGT-8	2.48E-10
126	4645	TAGT-8	2.96E-10
126	4650	TAGT-8	3.57E-10
126	4651	TAGT-8	3.01E-10
126	4652	TAGT-8	2.94E-10
126	4654	TAGT-8	2.32E-10
126	4658	TAGT-8	1.42E-10
126	4665	TAGT-8	3.69E-10
126	4673	TAGT-8	3.23E-10
126	4674	TAGT-8	5.02E-10
126	4681	TAGT-8	5.43E-10
126	4689	TAGT-8	1.63E-10
126	4690	TAGT-8	4.67E-10
126	7043	TAGT-8	1.34E-08
126	BH3002	TAGT-8	2.51E-10
126	BH3004	TAGT-8	3.00E-10
126	BH3005	TAGT-8	3.46E-10
126	BH3006	TAGT-8	1.94E-10
129	4038	TAGT-8	2.98E-09
129	4084	TAGT-8	2.94E-09
129	4618	TAGT-8	1.08E-09
129	4620	TAGT-8	3.48E-10
129	4623	TAGT-8	4.85E-10
129	4624	TAGT-8	1.00E-12
129	4625	TAGT-8	4.02E-10
129	4630	TAGT-8	2.67E-10
129	4653	TAGT-8	3.27E-10
129	4659	TAGT-8	2.12E-10
129	4662	TAGT-8	8.98E-10
129	4666	TAGT-8	1.17E-09
129	4668	TAGT-8	5.79E-10
129	4670	TAGT-8	8.21E-10

[0284]

129	4675	TAGT-8	1.00E-12
129	4676	TAGT-8	1.62E-10
129	4678	TAGT-8	5.98E-10
129	4683	TAGT-8	8.97E-10
129	4684	TAGT-8	6.69E-10
129	4685	TAGT-8	4.78E-10
129	4686	TAGT-8	4.78E-10
129	4687	TAGT-8	4.08E-10
129	5970	TAGT-12	1.35E-08
129	7213	TAGT-12	8.87E-09
129	7232	TAGT-12	8.06E-09
129	7357	TAGT-3	6.14E-08
121	4054	TAGT-10	1.58E-08
121	4060	TAGT-10	1.10E-08
121	4065	TAGT-10	4.31E-08
121	4072	TAGT-6	6.95E-09
121	4182	TAGT-10	4.24E-09
121	4741	TAGT-10	1.66E-09
121	4798	TAGT-10	4.35E-09
121	5295	TAGT-9	2.21E-09
121	6185	TAGT-10	1.57E-09
121	6187	TAGT-10	2.74E-08
121	6195	TAGT-10	4.30E-09
121	6197	TAGT-10	8.56E-09
121	6198	TAGT-10	2.85E-09
121	6209	TAGT-10	3.35E-09
121	6219	TAGT-10	3.15E-09
117	4031	TAGT-8	1.06E-09
117	5126	TAGT-8	9.54E-09
117	5129	TAGT-8	1.12E-09
117	5132	TAGT-8	3.06E-09
117	5145	TAGT-8	7.00E-09
117	7067	TAGT-8	3.41E-08
117	7068	TAGT-8	1.11E-08
117	7073	TAGT-8	3.19E-09
124	4027	TAGT-8	1.55E-09
124	4027	TAGT-8M	3.81E-09
124	4043	TAGT-8	2.69E-09
124	5020	TAGT-8	8.78E-10
124	5020	TAGT-8M	7.00E-09
124	5023	TAGT-8	9.46E-10
124	5023	TAGT-8M	5.77E-09
124	5030	TAGT-8	7.03E-10
124	5030	TAGT-8M	4.27E-09

[0285]

124	5037	TAGT-8	1.06E-09
124	5037	TAGT-8M	4.36E-09
124	5039	TAGT-8	4.30E-10
124	5039	TAGT-8M	2.69E-09
124	5040	TAGT-8	4.37E-10
124	5040	TAGT-8M	3.13E-09
124	5045	TAGT-8	1.00E-09
124	5045	TAGT-8M	3.91E-09
124	5048	TAGT-8	5.10E-10
124	5048	TAGT-8M	2.52E-09
124	5066	TAGT-8	5.23E-09
124	5066	TAGT-8M	9.99E-09
124	5070	TAGT-8	1.34E-09
124	5070	TAGT-8M	6.63E-09
124	5994	TAGT-12	1.58E-08
124	7442	TAGT-9	6.83E-09
93	4062	TAGT-10	2.11E-08
93	4132	TAGT-6	<1.0E-12
93	4201	TAGT-6	1.41E-08
93	5300	TAGT-6	1.53E-08
93	5694	TAGT-11	9.45E-09
93	5906	TAGT-12	1.50E-08
93	5926	TAGT-12	3.23E-08
93	7078	TAGT-6	2.52E-08
93	7087	TAGT-6	6.96E-08
93	7120	TAGT-6	3.45E-08
93	7190	TAGT-6	1.03E-08
93	7271	TAGT-5	3.13E-08
82	4048	TAGT-10	3.24E-09
82	4051	TAGT-10	1.80E-08
82	4723	TAGT-10	9.11E-10
82	4733	TAGT-10	3.05E-10
82	4734	TAGT-10	5.72E-10
82	4767	TAGT-10	2.77E-10
82	4771	TAGT-10	7.23E-10
82	4797	TAGT-10	5.63E-10
82	4807	TAGT-10	1.17E-09
82	5346	TAGT-6	1.61E-08
82	6221	TAGT-10	6.92E-10
130	4813	TAGT-12	2.45E-10
130	5113	TAGT-12	6.80E-09
130	5114	TAGT-12	3.42E-08
130	5116	TAGT-12	1.46E-08
130	5119	TAGT-12	7.54E-09

[0286]

130	5121	TAGT-12	9.29E-09
130	5123	TAGT-12	5.67E-09
130	5125	TAGT-12	2.42E-08
130	5128	TAGT-12	7.12E-09
130	5138	TAGT-12	8.55E-09
116	4752	TAGT-10	3.34E-09
116	6194	TAGT-10	2.49E-10
116	6196	TAGT-10	<1.0E-12
116	6202	TAGT-10	1.03E-09
116	6204	TAGT-10	6.46E-09
116	6208	TAGT-10	3.50E-09
116	6210	TAGT-10	5.17E-10
116	6212	TAGT-10	2.25E-09
116	6214	TAGT-10	1.51E-09
116	6217	TAGT-10	4.99E-09
132	4032	TAGT-8	5.11E-09
132	4032	TAGT-8M	4.84E-09
132	4050	TAGT-10	1.65E-08
132	5012	TAGT-8	1.76E-09
132	5012	TAGT-8M	2.03E-09
132	5014	TAGT-8	2.43E-09
132	5014	TAGT-8M	3.87E-09
132	5016	TAGT-8	3.56E-09
132	5016	TAGT-8M	2.84E-09
132	5022	TAGT-8	3.68E-09
132	5022	TAGT-8M	3.03E-09
132	5024	TAGT-8	4.52E-09
132	5024	TAGT-8M	3.48E-09
132	5041	TAGT-8	1.68E-09
132	5041	TAGT-8M	1.67E-09
132	5074	TAGT-8	4.31E-09
132	5074	TAGT-8M	2.98E-09
132	5082	TAGT-8	4.79E-09
132	5082	TAGT-8M	3.23E-09
53	4052	TAGT-10	9.73E-09
53	4059	TAGT-10	3.30E-07
53	5094	TAGT-10	4.34E-08
53	5095	TAGT-10	1.27E-08
53	5097	TAGT-10	1.27E-08
53	5099	TAGT-10	4.20E-08
53	5109	TAGT-10	2.59E-08
53	5280	TAGT-1	8.43E-09
53	5936	TAGT-10	1.75E-08
89	4045	TAGT-8	1.10E-09

[0287]

89	4123	TAGT-6	5.98E-09
89	4125	TAGT-6	<1.0E-12
89	5910	TAGT-12	3.30E-08
89	5920	TAGT-12	1.88E-08
89	5929	TAGT-12	3.20E-08
89	7079	TAGT-6	2.99E-08
89	7133	TAGT-6	4.03E-08
89	7219	TAGT-12	1.44E-08
134	3898	TAGT-11	1.83E-08
134	4925	TAGT-7	1.32E-08
134	5149	TAGT-11	2.91E-09
134	5159	TAGT-11	4.09E-09
134	5160	TAGT-11	8.07E-09
134	5162	TAGT-11	9.87E-09
134	5165	TAGT-11	4.06E-09
134	5752	TAGT-11	6.33E-09
134	7231	TAGT-12	3.38E-09
66	4161	TAGT-8	2.98E-08
66	4180	TAGT-10	7.39E-08
66	4809	TAGT-12	3.69E-10
66	4847	TAGT-12	3.64E-10
66	4879	TAGT-12	3.13E-09
66	6533	TAGT-3	2.62E-08
66	7372	TAGT-5	7.27E-10
66	7386	TAGT-5	1.32E-08
122	3757	TAGT-6	1.84E-08
122	3869	TAGT-11	2.35E-08
122	4163	TAGT-8	1.37E-08
122	4828	TAGT-12	1.10E-09
122	5103	TAGT-10	2.67E-09
122	5163	TAGT-11	1.71E-08
122	5740	TAGT-11	7.26E-09
123	3762	TAGT-6	3.04E-08
123	3780	TAGT-8	1.47E-09
123	3865	TAGT-11	9.48E-09
123	7030	TAGT-8	3.47E-08
123	7035	TAGT-8	3.04E-09
123	7055	TAGT-8	7.57E-10
123	7358	TAGT-3	5.15E-08
128	4101	TAGT-8	2.12E-09
128	4661	TAGT-8	1.62E-09
128	4792	TAGT-10	7.39E-09
128	5997	TAGT-12	8.51E-09
128	7040	TAGT-8	2.72E-08

[0288]

128	7221	TAGT-12	5.58E-09
128	7228	TAGT-12	7.62E-09
131	4103	TAGT-8	3.59E-10
131	7215	TAGT-12	1.61E-08
131	7229	TAGT-12	8.91E-09
131	7243	TAGT-12	4.95E-09
131	7244	TAGT-12	1.05E-08
131	7254	TAGT-12	1.07E-08
131	7258	TAGT-12	9.72E-09
65	4037	TAGT-8	5.53E-09
65	4823	TAGT-12	2.62E-09
65	5292	TAGT-1	1.57E-08
65	5741	TAGT-11	1.91E-08
65	7239	TAGT-12	2.40E-08
65	7433	TAGT-9	1.67E-08
109	6179	TAGT-10	1.99E-09
109	6184	TAGT-10	<1.0E-12
109	6188	TAGT-10	8.76E-09
109	6189	TAGT-10	2.38E-10
109	6216	TAGT-10	6.58E-10
109	6539	TAGT-4	3.45E-09
72	5301	TAGT-6	2.61E-07
72	5326	TAGT-6	7.84E-07
72	5420	TAGT-6	1.41E-08
72	5710	TAGT-11	1.01E-08
72	5746	TAGT-11	5.00E-09
87	4216	TAGT-6	2.59E-08
87	5320	TAGT-6	6.13E-07
87	5408	TAGT-6	2.36E-08
87	7183	TAGT-6	1.48E-08
87	7201	TAGT-6	3.26E-08
105	5218	TAGT-1	6.04E-09
105	5316	TAGT-6	1.14E-08
105	5513	TAGT-2	1.07E-09
105	6543	TAGT-3	6.78E-08
105	7427	TAGT-9	5.58E-09
118	4851	TAGT-12	3.84E-10
118	7025	TAGT-8	4.87E-08
118	7036	TAGT-8	1.59E-08
118	7037	TAGT-8	2.10E-08
118	7047	TAGT-8	2.15E-08
60	5226	TAGT-1	8.36E-09
60	5281	TAGT-1	4.70E-09
60	5425	TAGT-9	2.15E-08

[0289]

60	5744	TAGT-11	1.14E-08
67	4026	TAGT-8	3.08E-09
67	4820	TAGT-12	3.96E-09
67	4839	TAGT-12	6.16E-09
67	7274	TAGT-5	1.63E-08
70	4041	TAGT-8	1.54E-09
70	4844	TAGT-12	6.95E-10
70	7159	TAGT-6	3.79E-08
70	7380	TAGT-5	1.24E-08
84	7204	TAGT-5	2.33E-09
84	7323	TAGT-5	3.23E-09
84	7373	TAGT-5	5.13E-09
84	7378	TAGT-5	5.66E-09
85	7260	TAGT-5	2.30E-09
85	7365	TAGT-5	1.82E-09
85	7369	TAGT-5	2.46E-09
85	7374	TAGT-5	1.97E-08
92	4073	TAGT-6	<1.0E-12
92	5355	TAGT-6	8.71E-10
92	7080	TAGT-6	2.44E-08
92	7081	TAGT-6	4.31E-08
100	5328	TAGT-6	3.42E-07
100	5417	TAGT-6	4.04E-08
100	5974	TAGT-12	5.02E-08
100	5977	TAGT-12	2.70E-08
103	4075	TAGT-6	<1.0E-12
103	5961	TAGT-12	2.41E-08
103	5993	TAGT-12	1.13E-08
103	7255	TAGT-12	1.20E-08
104	5912	TAGT-12	1.68E-08
104	5923	TAGT-12	1.60E-08
104	5978	TAGT-12	3.25E-08
104	7226	TAGT-12	7.57E-09
106	4141	TAGT-6	<1.0E-12
106	4222	TAGT-6	5.55E-08
106	5321	TAGT-6	7.16E-07
106	7317	TAGT-5	2.02E-08
57	5303	TAGT-6	5.12E-09
57	5359	TAGT-6	7.10E-10
57	5365	TAGT-6	2.56E-09
61	5230	TAGT-1	9.21E-09
61	5271	TAGT-1	1.24E-08
61	7207	TAGT-5	4.99E-10
71	5336	TAGT-6	6.04E-07

[0290]

71	5418	TAGT-6	2.02E-08
71	5438	TAGT-9	9.30E-09
75	5194	TAGT-1	1.29E-08
75	5235	TAGT-1	1.41E-08
75	5403	TAGT-6	8.26E-09
77	4063	TAGT-10	1.90E-08
77	4067	TAGT-10	1.97E-08
77	7429	TAGT-9	2.12E-08
79	5353	TAGT-6	1.61E-08
79	7419	TAGT-9	1.72E-08
79	7431	TAGT-9	3.53E-08
80	7276	TAGT-5	1.02E-08
80	7311	TAGT-5	9.20E-09
80	7371	TAGT-5	2.31E-08
94	5371	TAGT-6	3.97E-09
94	7088	TAGT-6	4.36E-08
94	7100	TAGT-6	3.50E-08
95	5236	TAGT-1	1.49E-08
95	5983	TAGT-12	2.09E-08
95	7128	TAGT-6	3.97E-08
96	7077	TAGT-6	1.88E-08
96	7107	TAGT-6	1.22E-07
96	7109	TAGT-6	3.20E-08
10	3761	TAGT-6	9.65E-08
10	4217	TAGT-6	9.67E-08
10	4218	TAGT-6	2.85E-08
108	4034	TAGT-8	4.27E-09
108	5351	TAGT-6	7.29E-09
108	5357	TAGT-6	7.14E-09
111	4827	TAGT-12	1.51E-09
111	4834	TAGT-12	9.68E-10
111	4875	TAGT-12	1.03E-09
112	4025	TAGT-8	2.89E-09
112	5930	TAGT-12	5.66E-09
112	5932	TAGT-12	1.12E-08
113	4116	TAGT-10	<1.0E-12
113	4863	TAGT-12	6.63E-10
113	5980	TAGT-12	1.14E-08
114	5921	TAGT-12	8.01E-09
114	5968	TAGT-12	1.27E-08
114	5990	TAGT-12	1.15E-08
120	6180	TAGT-10	6.11E-09
120	6190	TAGT-10	2.55E-09
120	6203	TAGT-10	1.05E-08

[0291]

133	5935	TAGT-12	8.78E-09
133	6008	TAGT-12	5.10E-08
133	7222	TAGT-12	1.26E-09
54	7277	TAGT-5	2.56E-09
54	7390	TAGT-5	1.44E-09
55	5238	TAGT-1	5.04E-08
55	5370	TAGT-6	1.91E-09
56	5285	TAGT-1	1.42E-08
56	5310	TAGT-6	5.72E-09
58	5314	TAGT-6	8.39E-09
58	5342	TAGT-6	3.89E-08
59	5202	TAGT-1	1.50E-08
59	7032	TAGT-8	2.08E-08
62	5220	TAGT-1	5.03E-09
62	7163	TAGT-6	1.26E-08
64	5211	TAGT-1	2.11E-09
64	5584	TAGT-2	1.76E-09
68	4177	TAGT-8	1.48E-08
68	5234	TAGT-1	1.28E-08
69	4838	TAGT-12	2.52E-09
69	7166	TAGT-6	1.24E-08
73	4878	TAGT-12	4.07E-09
73	5315	TAGT-6	2.10E-06
74	3760	TAGT-6	1.26E-08
76	5297	TAGT-6	1.77E-06
76	5745	TAGT-11	1.06E-08
78	4058	TAGT-10	1.13E-08
78	5291	TAGT-1	6.57E-09
81	5212	TAGT-1	9.19E-09
81	5568	TAGT-2	1.14E-09
83	5411	TAGT-6	1.25E-08
83	5565	TAGT-2	3.02E-09
86	4129	TAGT-6	<1.0E-12
86	6473	TAGT-4	2.30E-08
88	5905	TAGT-12	3.83E-08
88	5919	TAGT-12	2.38E-08
90	4029	TAGT-8	1.89E-09
90	7097	TAGT-6	2.43E-08
91	5272	TAGT-1	2.49E-08
91	7242	TAGT-12	1.71E-08
97	5915	TAGT-12	1.82E-08
97	5964	TAGT-12	1.40E-08
98	4131	TAGT-6	<1.0E-12
98	5347	TAGT-6	1.21E-08

[0292]

99	7090	TAGT-6	5.55E-08
102	6004	TAGT-12	5.50E-08
102	7251	TAGT-12	2.69E-08
107	4133	TAGT-6	3.90E-10
107	7262	TAGT-5	2.63E-09
115	7310	TAGT-5	1.41E-08
115	7379	TAGT-5	5.43E-09
119	6193	TAGT-10	3.18E-09
119	6220	TAGT-10	3.45E-09
125	4030	TAGT-8	4.90E-09
125	7038	TAGT-8	2.33E-08
127	7044	TAGT-8	1.12E-09
127	7045	TAGT-8	1.11E-09
135	4204	TAGT-10	6.83E-09
135	4204	TAGT-10M	6.89E-09
135	5423	TAGT-9	4.90E-09
136	4861	TAGT-12	5.11E-09
136	7129	TAGT-6	1.90E-08
139 和 110	4181	TAGT-10	4.27E-08
139 和 110	4693	TAGT-10	4.87E-10
139 和 110	4696	TAGT-10	4.58E-10
139 和 110	4697	TAGT-10	6.21E-10
139 和 110	4698	TAGT-10	5.70E-10
139 和 110	4700	TAGT-10	2.62E-10
139 和 110	4701	TAGT-10	5.60E-10
139 和 110	4702	TAGT-10	5.02E-10
139 和 110	4703	TAGT-10	2.85E-10
139 和 110	4704	TAGT-10	6.65E-10
139 和 110	4705	TAGT-10	3.02E-10
139 和 110	4706	TAGT-10	2.50E-10
139 和 110	4707	TAGT-10	4.29E-10
139 和 110	4708	TAGT-10	5.29E-10
139 和 110	4710	TAGT-10	6.26E-10
139 和 110	4714	TAGT-10	4.46E-10
139 和 110	4717	TAGT-10	4.61E-10
139 和 110	4718	TAGT-10	5.32E-10
139 和 110	4722	TAGT-10	7.46E-10
139 和 110	4725	TAGT-10	4.84E-10
139 和 110	4729	TAGT-10	8.80E-10
139 和 110	4731	TAGT-10	4.67E-10
139 和 110	4732	TAGT-10	3.33E-10
139 和 110	4738	TAGT-10	5.34E-10
139 和 110	4744	TAGT-10	3.73E-10
139 和 110	4748	TAGT-10	3.92E-10

[0293]

139 和 110	4749	TAGT-10	2.55E-10
139 和 110	4750	TAGT-10	7.86E-10
139 和 110	4753	TAGT-10	3.43E-10
139 和 110	4759	TAGT-10	6.59E-10
139 和 110	4766	TAGT-10	4.09E-10
139 和 110	4788	TAGT-10	2.88E-10
139 和 110	4794	TAGT-10	5.56E-10
139 和 110	4803	TAGT-10	1.88E-10
139 和 110	4805	TAGT-10	4.26E-10
139 和 110	4808	TAGT-10	8.28E-10
139 和 110	4909	TAGT-10	2.90E-10
139 和 110	6191	TAGT-10	6.58E-11
8 和 126	4033	TAGT-8	8.75E-10
8 和 126	4614	TAGT-8	3.53E-10
8 和 126	4615	TAGT-8	2.28E-10
8 和 126	4617	TAGT-8	2.88E-10
8 和 126	4622	TAGT-8	2.74E-10
8 和 126	4627	TAGT-8	1.82E-10
8 和 126	4631	TAGT-8	1.83E-10
8 和 126	4633	TAGT-8	3.22E-10
8 和 126	4634	TAGT-8	2.07E-10
8 和 126	4638	TAGT-8	3.14E-10
8 和 126	4642	TAGT-8	1.89E-10
8 和 126	4644	TAGT-8	2.48E-10
8 和 126	4645	TAGT-8	2.96E-10
8 和 126	4650	TAGT-8	3.57E-10
8 和 126	4651	TAGT-8	3.01E-10
8 和 126	4652	TAGT-8	2.94E-10
8 和 126	4654	TAGT-8	2.32E-10
8 和 126	4658	TAGT-8	1.42E-10
8 和 126	4665	TAGT-8	3.69E-10
8 和 126	4673	TAGT-8	3.23E-10
8 和 126	4674	TAGT-8	5.02E-10
8 和 126	4681	TAGT-8	5.43E-10
8 和 126	4689	TAGT-8	1.63E-10
8 和 126	4690	TAGT-8	4.67E-10
8 和 126	7043	TAGT-8	1.34E-08
8 和 126	BH3002	TAGT-8	2.51E-10
8 和 126	BH3004	TAGT-8	3.00E-10
8 和 126	BH3005	TAGT-8	3.46E-10
8 和 126	BH3006	TAGT-8	1.94E-10
13 和 129	4084	TAGT-8	2.94E-09
13 和 129	4618	TAGT-8	1.08E-09

[0294]

13 和 129	4620	TAGT-8	3.48E-10
13 和 129	4623	TAGT-8	4.85E-10
13 和 129	4624	TAGT-8	1.00E-12
13 和 129	4625	TAGT-8	4.02E-10
13 和 129	4630	TAGT-8	2.67E-10
13 和 129	4653	TAGT-8	3.27E-10
13 和 129	4659	TAGT-8	2.12E-10
13 和 129	4662	TAGT-8	8.98E-10
13 和 129	4666	TAGT-8	1.17E-09
13 和 129	4668	TAGT-8	5.79E-10
13 和 129	4670	TAGT-8	8.21E-10
13 和 129	4675	TAGT-8	1.00E-12
13 和 129	4676	TAGT-8	1.62E-10
13 和 129	4678	TAGT-8	5.98E-10
13 和 129	4683	TAGT-8	8.97E-10
13 和 129	4684	TAGT-8	6.69E-10
13 和 129	4685	TAGT-8	4.78E-10
13 和 129	4686	TAGT-8	4.78E-10
13 和 129	4687	TAGT-8	4.08E-10
31 和 124	4027	TAGT-8	1.55E-09
31 和 124	4027	TAGT-8M	3.81E-09
31 和 124	5020	TAGT-8	8.78E-10
31 和 124	5020	TAGT-8M	7.00E-09
31 和 124	5023	TAGT-8	9.46E-10
31 和 124	5023	TAGT-8M	5.77E-09
31 和 124	5030	TAGT-8	7.03E-10
31 和 124	5030	TAGT-8M	4.27E-09
31 和 124	5037	TAGT-8	1.06E-09
31 和 124	5037	TAGT-8M	4.36E-09
31 和 124	5039	TAGT-8	4.30E-10
31 和 124	5039	TAGT-8M	2.69E-09
31 和 124	5040	TAGT-8	4.37E-10
31 和 124	5040	TAGT-8M	3.13E-09
31 和 124	5045	TAGT-8	1.00E-09
31 和 124	5045	TAGT-8M	3.91E-09
31 和 124	5048	TAGT-8	5.10E-10
31 和 124	5048	TAGT-8M	2.52E-09
31 和 124	5066	TAGT-8	5.23E-09
31 和 124	5066	TAGT-8M	9.99E-09
31 和 124	5070	TAGT-8	1.34E-09
31 和 124	5070	TAGT-8M	6.63E-09
25 和 130	4813	TAGT-12	2.45E-10
25 和 130	5113	TAGT-12	6.80E-09

[0295]

25 和 130	5114	TAGT-12	3.42E-08
25 和 130	5116	TAGT-12	1.46E-08
25 和 130	5119	TAGT-12	7.54E-09
25 和 130	5121	TAGT-12	9.29E-09
25 和 130	5123	TAGT-12	5.67E-09
25 和 130	5125	TAGT-12	2.42E-08
25 和 130	5128	TAGT-12	7.12E-09
25 和 130	5138	TAGT-12	8.55E-09
150 和 132	4032	TAGT-8	5.11E-09
150 和 132	4032	TAGT-8M	4.84E-09
150 和 132	5012	TAGT-8	1.76E-09
150 和 132	5012	TAGT-8M	2.03E-09
150 和 132	5014	TAGT-8	2.43E-09
150 和 132	5014	TAGT-8M	3.87E-09
150 和 132	5016	TAGT-8	3.56E-09
150 和 132	5016	TAGT-8M	2.84E-09
150 和 132	5022	TAGT-8	3.68E-09
150 和 132	5022	TAGT-8M	3.03E-09
150 和 132	5024	TAGT-8	4.52E-09
150 和 132	5024	TAGT-8M	3.48E-09
150 和 132	5041	TAGT-8	1.68E-09
150 和 132	5041	TAGT-8M	1.67E-09
150 和 132	5074	TAGT-8	4.31E-09
150 和 132	5074	TAGT-8M	2.98E-09
150 和 132	5082	TAGT-8	4.79E-09
150 和 132	5082	TAGT-8M	3.23E-09
158 和 162	5962	TAGT-12	8.06E-08
158 和 162	5996	TAGT-12	2.21E-08
158 和 162	6000	TAGT-12	7.86E-08
158 和 162	7210	TAGT-12	9.85E-09
158 和 162	7218	TAGT-12	1.49E-08
158 和 162	7225	TAGT-12	9.53E-09
158 和 162	7241	TAGT-12	6.43E-09
158 和 162	7247	TAGT-12	8.93E-09
12 和 82	4048	TAGT-10	3.24E-09
12 和 82	4723	TAGT-10	9.11E-10
12 和 82	4733	TAGT-10	3.05E-10
12 和 82	4734	TAGT-10	5.72E-10
12 和 82	4767	TAGT-10	2.77E-10
12 和 82	4771	TAGT-10	7.23E-10
12 和 82	4797	TAGT-10	5.63E-10
12 和 82	4807	TAGT-10	1.17E-09
149 和 117	4031	TAGT-8	1.06E-09

[0296]

149 和 117	5126	TAGT-8	9.54E-09
149 和 117	5129	TAGT-8	1.12E-09
149 和 117	5132	TAGT-8	3.06E-09
149 和 117	5145	TAGT-8	7.00E-09
149 和 117	7068	TAGT-8	1.11E-08
149 和 117	7073	TAGT-8	3.19E-09
7 和 134	3898	TAGT-11	1.83E-08
7 和 134	5149	TAGT-11	2.91E-09
7 和 134	5159	TAGT-11	4.09E-09
7 和 134	5160	TAGT-11	8.07E-09
7 和 134	5162	TAGT-11	9.87E-09
7 和 134	5165	TAGT-11	4.06E-09
154 和 63	4812	TAGT-12	2.89E-09
154 和 63	4904	TAGT-12	5.39E-09
154 和 63	5115	TAGT-12	1.16E-08
154 和 63	5421	TAGT-9	1.05E-08
154 和 63	5422	TAGT-9	5.12E-09
158 和 161	5922	TAGT-12	1.95E-08
158 和 161	7135	TAGT-6	3.17E-08
158 和 161	7245	TAGT-12	1.38E-08
158 和 161	7246	TAGT-12	6.22E-09
158 和 161	7252	TAGT-12	9.56E-09
26 和 53	4052	TAGT-10	9.73E-09
26 和 53	5094	TAGT-10	4.34E-08
26 和 53	5097	TAGT-10	1.27E-08
26 和 53	5109	TAGT-10	2.59E-08
151 和 53	4059	TAGT-10	3.30E-07
151 和 53	5095	TAGT-10	1.27E-08
151 和 53	5099	TAGT-10	4.20E-08
151 和 53	5936	TAGT-10	1.75E-08
157 和 63	4036	TAGT-8	3.13E-09
157 和 63	4096	TAGT-8	2.70E-09
157 和 63	5323	TAGT-6	1.04E-08
157 和 63	7391	TAGT-5	1.35E-08
1 和 122	3757	TAGT-6	1.84E-08
1 和 122	3869	TAGT-11	2.35E-08
1 和 122	5103	TAGT-10	2.67E-09
1 和 122	5163	TAGT-11	1.71E-08
34 和 63	4836	TAGT-12	2.49E-09
34 和 63	4852	TAGT-12	2.26E-09
34 和 63	4876	TAGT-12	7.75E-09
50 和 162	7240	TAGT-12	1.17E-08
50 和 162	7256	TAGT-12	7.08E-09

[0297]

50 和 162	7257	TAGT-12	1.11E-08
158 和 63	5387	TAGT-8	1.13E-09
158 和 63	5985	TAGT-12	3.92E-08
158 和 63	5986	TAGT-12	4.65E-08
158 和 104	5912	TAGT-12	1.68E-08
158 和 104	5923	TAGT-12	1.60E-08
158 和 104	7226	TAGT-12	7.57E-09
5 和 121	4060	TAGT-10	1.10E-08
5 和 121	4798	TAGT-10	4.35E-09
5 和 121	6219	TAGT-10	3.15E-09
6 和 116	4752	TAGT-10	3.34E-09
6 和 116	6210	TAGT-10	5.17E-10
6 和 116	6212	TAGT-10	2.25E-09
138 和 63	4840	TAGT-12	2.08E-09
138 和 63	5722	TAGT-11	3.08E-08
138 和 63	7385	TAGT-5	3.26E-09
7 和 121	4065	TAGT-10	4.31E-08
7 和 121	4182	TAGT-10	4.24E-09
7 和 121	4741	TAGT-10	1.66E-09
145 和 128	4101	TAGT-8	2.12E-09
145 和 128	4661	TAGT-8	1.62E-09
145 和 128	4792	TAGT-10	7.39E-09
17 和 63	4818	TAGT-12	1.02E-09
17 和 63	4841	TAGT-12	4.50E-10
22 和 61	5271	TAGT-1	1.24E-08
22 和 61	7207	TAGT-5	4.99E-10
25 和 101	4217	TAGT-6	9.67E-08
25 和 101	4218	TAGT-6	2.85E-08
25 和 114	5968	TAGT-12	1.27E-08
25 和 114	5990	TAGT-12	1.15E-08
29 和 112	5930	TAGT-12	5.66E-09
29 和 112	5932	TAGT-12	1.12E-08
31 和 63	5658	TAGT-11	2.61E-10
31 和 63	7394	TAGT-5	8.75E-09
152 和 63	4897	TAGT-12	6.83E-10
152 和 63	4901	TAGT-12	3.19E-09
153 和 63	4817	TAGT-12	2.06E-09
153 和 63	7316	TAGT-5	2.04E-08
155 和 67	4026	TAGT-8	3.08E-09
155 和 67	7274	TAGT-5	1.63E-08
156 和 89	7079	TAGT-6	2.99E-08
156 和 89	7133	TAGT-6	4.03E-08
156 和 100	5417	TAGT-6	4.04E-08

[0298]

156 和 100	5974	TAGT-12	5.02E-08
157 和 94	7088	TAGT-6	4.36E-08
157 和 94	7100	TAGT-6	3.50E-08
48 和 58	5314	TAGT-6	8.39E-09
48 和 58	5342	TAGT-6	3.89E-08
50 和 89	5929	TAGT-12	3.20E-08
50 和 89	7219	TAGT-12	1.44E-08
50 和 163	5999	TAGT-12	6.29E-08
50 和 163	7235	TAGT-12	2.18E-08
158 和 160	5911	TAGT-12	3.35E-08
158 和 160	7216	TAGT-12	1.88E-08
158 和 87	4216	TAGT-6	2.59E-08
158 和 87	7201	TAGT-6	3.26E-08
158 和 92	7080	TAGT-6	2.44E-08
158 和 92	7081	TAGT-6	4.31E-08
158 和 93	7078	TAGT-6	2.52E-08
158 和 93	7087	TAGT-6	6.96E-08
158 和 97	5915	TAGT-12	1.82E-08
158 和 97	5964	TAGT-12	1.40E-08
158 和 103	5961	TAGT-12	2.41E-08
158 和 103	7255	TAGT-12	1.20E-08
158 和 164	7211	TAGT-12	1.26E-08
158 和 164	7220	TAGT-12	9.12E-09
51 和 162	4074	TAGT-6	1.95E-08
51 和 162	7237	TAGT-12	2.13E-08
137 和 54	7277	TAGT-5	2.56E-09
137 和 54	7390	TAGT-5	1.44E-09
3 和 127	7044	TAGT-8	1.12E-09
3 和 127	7045	TAGT-8	1.11E-09
4 和 85	7260	TAGT-5	2.30E-09
4 和 85	7374	TAGT-5	1.97E-08
4 和 110	6183	TAGT-10	2.70E-09
4 和 110	6206	TAGT-10	3.44E-09
138 和 123	3762	TAGT-6	3.04E-08
138 和 123	3865	TAGT-11	9.48E-09
139 和 109	6184	TAGT-10	<1.0E-12
139 和 109	6216	TAGT-10	6.58E-10
139 和 121	6187	TAGT-10	2.74E-08
139 和 121	6197	TAGT-10	8.56E-09
8 和 120	6190	TAGT-10	2.55E-09
8 和 120	6203	TAGT-10	1.05E-08
140 和 131	7215	TAGT-12	1.61E-08
140 和 131	7243	TAGT-12	4.95E-09

[0299]

141 和 116	6204	TAGT-10	6.46E-09
141 和 116	6214	TAGT-10	1.51E-09
142 和 159	5554	TAGT-2	2.88E-09
142 和 159	5622	TAGT-2	3.06E-09
143 和 116	6194	TAGT-10	2.49E-10
143 和 116	6196	TAGT-10	<1.0E-12
144 和 121	6185	TAGT-10	1.57E-09
144 和 121	6209	TAGT-10	3.35E-09
146 和 110	4055	TAGT-10	1.07E-08
146 和 110	4743	TAGT-10	7.40E-09
147 和 133	5935	TAGT-12	8.78E-09
147 和 133	6008	TAGT-12	5.10E-08
148 和 63	5195	TAGT-1	2.62E-08
148 和 63	5290	TAGT-1	6.73E-09
13 和 118	7025	TAGT-8	4.87E-08
13 和 118	7037	TAGT-8	2.10E-08

[0300] 包含SEQ ID NO:16的HVR-H1用于8个独特命中物中。使用这个相同HVR-H1序列,但其他HVR的序列不同,那8个命中物能够结合5种不同靶标抗原。分别结合TAGT-8、TAGT-12和TAGT-6的示例性命中物标识符4034、6010和7183含有包含SEQ ID NO:16的HVR-H1。

[0301] 包含SEQ ID NO:63的HVR-H2用于40个独特命中物中。使用这个相同HVR-H2序列,但其他HVR的序列不同,那40个命中物能够结合7种不同靶标抗原。分别结合TAGT-8、TAGT-12和TAGT-6的示例性命中物标识符4036、5115和5404含有包含SEQ ID NO:63的HVR-H2。

[0302] 示例性命中物标识符3757和5103含有包括相同HVR-H1和HVR-H2序列(SEQ ID NO:1和122)的相同重链可变区,但当与不同可变轻链结构域组合时,它们结合两种不同靶标抗原(分别是TAGT-6和TAGT-10)。具有这些相同HVR-H1和HVR-H2序列的两种额外命中物可结合另一靶标抗原TAGT-11。

[0303] 含有HVR-H1和HVR-H2序列SEQ ID NO:31和124的示例性命中物标识符4027能够结合来自两个不同物种的相同抗原(TAGT-8H和TAGT-8M)。具有这些相同HVR-H1和HVR-H2序列的若干其他命中物显示物种交叉反应性。

[0304] 用于基于结构和序列可变性来鉴定抗体的经重新界定高变区的动态基序的新型方法已导致设计有限数目的V_H组分,所述V_H组分视所述V_H组分与其配对的V_L区段而定可结合相同靶标或多种不同靶标。本文所述的数据和抗体揭示以整组或子组形式使用的重链文库足够稳健以作为V_H组分用于进行抗体发现。

[0305] 序列

[0306] 除非另外指示,否则所有多肽序列都以N末端至C末端方式呈现。

[0307] 除非另外指示,否则所有多核苷酸序列都以5’至3’方式呈现。

[0308] 经设计HVR-H1序列1:FTFTDYGIHWV(SEQ ID NO:1)

[0309] 经设计HVR-H1序列2:FTFTGYAIHWV(SEQ ID NO:2)

[0310] 经设计HVR-H1序列3:FTFTNYGIHWV(SEQ ID NO:3)

[0311] 经设计HVR-H1序列4:YTFSDYAIHWV(SEQ ID NO:4)

[0312] 经设计HVR-H1序列5:YTFSDYGIHWV(SEQ ID NO:5)

[0313] 经设计HVR-H1序列6:YTFSGYAIHWV(SEQ ID NO:6)

[0314] 经设计HVR-H1序列7:YTFSGYGIHWV(SEQ ID NO:7)

[0315] 经设计HVR-H1序列8:YTFSNYGIHWV(SEQ ID NO:8)

[0316] 经设计HVR-H1序列9:YTFSSYGIHWV(SEQ ID NO:9)

[0317] 经设计HVR-H1序列10:YTFSGYWIHWV(SEQ ID NO:10)

[0318] 经设计HVR-H1序列11:YTFSNYWIHWV(SEQ ID NO:11)

[0319] 经设计HVR-H1序列12:FTFSGYWIHWV(SEQ ID NO:12)

[0320] 经设计HVR-H1序列13:FTFSNYWIHWV(SEQ ID NO:13)

[0321] 经设计HVR-H1序列14:YTFSDYWIHWV(SEQ ID NO:14)

[0322] 经设计HVR-H1序列15:YSISSGHHWAWI(SEQ ID NO:15)

[0323] 经设计HVR-H1序列16:YSISSGHYWNWI(SEQ ID NO:16)

[0324] 经设计HVR-H1序列17:YSISSGHYWSWI(SEQ ID NO:17)

[0325] 经设计HVR-H1序列18:YSISSGHYWTWI(SEQ ID NO:18)

[0326] 经设计HVR-H1序列19:YSISSGYHWAWI(SEQ ID NO:19)

[0327] 经设计HVR-H1序列20:YSISSGYHWDWI(SEQ ID NO:20)

[0328] 经设计HVR-H1序列21:YSISSGYHWGWI(SEQ ID NO:21)

[0329] 经设计HVR-H1序列22:YSISSGYHWNWI(SEQ ID NO:22)

[0330] 经设计HVR-H1序列23:YSISSGYHWSWI(SEQ ID NO:23)

[0331] 经设计HVR-H1序列24:YSISSGHHWDWI(SEQ ID NO:24)

[0332] 经设计HVR-H1序列25:YSISSGYYWDWI(SEQ ID NO:25)

[0333] 经设计HVR-H1序列26:YSISSGYYWNWI(SEQ ID NO:26)

[0334] 经设计HVR-H1序列27:YSISSGYYWTWI(SEQ ID NO:27)

[0335] 经设计HVR-H1序列28:YSITSGHHWAWI(SEQ ID NO:28)

[0336] 经设计HVR-H1序列29:YSITSGHHWDWI(SEQ ID NO:29)

[0337] 经设计HVR-H1序列30:YSITSGHHWGWI(SEQ ID NO:30)

[0338] 经设计HVR-H1序列31:YSITSGHHWNWI(SEQ ID NO:31)

[0339] 经设计HVR-H1序列32:YSITSGHHWSWI(SEQ ID NO:32)

[0340] 经设计HVR-H1序列33:YSISSGHHWGWI(SEQ ID NO:33)

[0341] 经设计HVR-H1序列34:YSITSGHYWAWI(SEQ ID NO:34)

[0342] 经设计HVR-H1序列35:YSITSGHYWDWI(SEQ ID NO:35)

[0343] 经设计HVR-H1序列36:YSITSGHYWGWI(SEQ ID NO:36)

[0344] 经设计HVR-H1序列37:YSITSGHYWNWI(SEQ ID NO:37)

[0345] 经设计HVR-H1序列38:YSITSGHYWSWI(SEQ ID NO:38)

[0346] 经设计HVR-H1序列39:YSITSGYHWAWI(SEQ ID NO:39)

[0347] 经设计HVR-H1序列40:YSITSGYHWGWI(SEQ ID NO:40)

[0348] 经设计HVR-H1序列41:YSISSGHHWNWI(SEQ ID NO:41)

[0349] 经设计HVR-H1序列42:YSITSGYHWNWI(SEQ ID NO:42)

[0350] 经设计HVR-H1序列43:YSITSGYHWSWI(SEQ ID NO:43)

[0351] 经设计HVR-H1序列44:YSITSGYYWDWI(SEQ ID NO:44)

[0352] 经设计HVR-H1序列45:YSISSGHHWTWI(SEQ ID NO:45)

[0353] 经设计HVR-H1序列46:YSISSGHYWDWI(SEQ ID NO:46)

[0354] 经设计HVR-H1序列47:FSLSTSGVAVSWI(SEQ ID NO:47)

[0355] 经设计HVR-H1序列48:FSLSTGGVAVGWI(SEQ ID NO:48)

[0356] 经设计HVR-H1序列49:FSLSTGGVAVSWI(SEQ ID NO:49)

[0357] 经设计HVR-H1序列50:FSLSTGGVGVAWI(SEQ ID NO:50)

[0358] 经设计HVR-H1序列51:FSLSTGGVGVSWI(SEQ ID NO:51)

[0359] 经设计HVR-H1序列52:FSLSTSGVAVAWI(SEQ ID NO:52)

[0360] 经设计HVR-H1序列53:FTFSDYAIHWV(SEQ ID NO:137)

[0361] 经设计HVR-H1序列54:FTFSDYGIHWV(SEQ ID NO:138)

[0362] 经设计HVR-H1序列55:YTFSNYAIHWV(SEQ ID NO:139)

[0363] 经设计HVR-H1序列56:YTFSSYAIHWV(SEQ ID NO:140)

[0364] 经设计HVR-H1序列57:YTFTDYAIHWV(SEQ ID NO:141)

[0365] 经设计HVR-H1序列58:YTFTDYGIHWV(SEQ ID NO:142)

[0366] 经设计HVR-H1序列59:YTFTNYAIHWV(SEQ ID NO:143)

[0367] 经设计HVR-H1序列60:YTFTNYGIHWV(SEQ ID NO:144)

[0368] 经设计HVR-H1序列61:FTFSGYGIHWV(SEQ ID NO:145)

[0369] 经设计HVR-H1序列62:FTFSNYAIHWV(SEQ ID NO:146)

[0370] 经设计HVR-H1序列63:FTFSSYGIHWV(SEQ ID NO:147)

[0371] 经设计HVR-H1序列64:FTFSDYWIHWV(SEQ ID NO:148)

[0372] 经设计HVR-H1序列65:FTFTSYWIHWV(SEQ ID NO:149)

[0373] 经设计HVR-H1序列66:YSISSGYYWGWI(SEQ ID NO:150)

[0374] 经设计HVR-H1序列67:YSITSGYYWNWI(SEQ ID NO:151)

[0375] 经设计HVR-H1序列68:YSITSGYYWSWI(SEQ ID NO:152)

[0376] 经设计HVR-H1序列69:YSISSGHYWAWI(SEQ ID NO:153)

[0377] 经设计HVR-H1序列70:YSISSGHYWGWI(SEQ ID NO:154)

[0378] 经设计HVR-H1序列71:FSLSTSGVAVGWI(SEQ ID NO:155)

[0379] 经设计HVR-H1序列72:FSLSTSGVGVAWI(SEQ ID NO:156)

[0380] 经设计HVR-H1序列73:FSLSTSGVGVGWI(SEQ ID NO:157)

[0381] 经设计HVR-H1序列74:FSLSTGGVGVGWI(SEQ ID NO:158)

[0382] 经设计HVR-H2序列1:LARIDWDDDKRYSPSLKSRL(SEQ ID NO:53)

[0383] 经设计HVR-H2序列2:LALIDWDDDKRYSPSLKSRL(SEQ ID NO:54)

[0384] 经设计HVR-H2序列3:LALIDWDDDKRYSTSLKSRL(SEQ ID NO:55)

[0385] 经设计HVR-H2序列4:LALIDWDDDKYYSPSLKSRL(SEQ ID NO:56)

[0386] 经设计HVR-H2序列5:LALIDWADDKYYSPSLKSRL(SEQ ID NO:57)

[0387] 经设计HVR-H2序列6:LALIDWAGDKSYSTSLKSRL(SEQ ID NO:58)

[0388] 经设计HVR-H2序列7:LARIDWDDDKYYSPSLKSRL(SEQ ID NO:59)

[0389] 经设计HVR-H2序列8:LARIDWDDDKYYSTSLKSRL(SEQ ID NO:60)

[0390] 经设计HVR-H2序列9:LARIDWDGDKYYSTSLKSRL(SEQ ID NO:61)

[0391] 经设计HVR-H2序列10:IGDIYHSGSTYYSPSLKSRV(SEQ ID NO:62)

[0392] 经设计HVR-H2序列11:IGEIYHSGSTYYSPSLKSRV(SEQ ID NO:63)

[0393] 经设计HVR-H2序列12:IGEIYYSGSTYYSPSLKSRV(SEQ ID NO:64)

[0394] 经设计HVR-H2序列13:IGSIYHSGNTNYNPSLKSRV(SEQ ID NO:65)

[0395] 经设计HVR-H2序列14:IGEIYHSGNTYYNPSLKSRV(SEQ ID NO:66)

[0396] 经设计HVR-H2序列15:IGEIYHSGSTYYNPSLKSRV(SEQ ID NO:67)

[0397] 经设计HVR-H2序列16:IGEIYYSGSTYYNPSLKSRV(SEQ ID NO:68)

[0398] 经设计HVR-H2序列17:IGDIYHSGNTYYNPSLKSRV(SEQ ID NO:69)

[0399] 经设计HVR-H2序列18:IGDIYHSGSTYYNPSLKSRV(SEQ ID NO:70)

[0400] 经设计HVR-H2序列19:VSAISGYGDTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:71)

[0401] 经设计HVR-H2序列20:VSAISGYGGSTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:72)

[0402] 经设计HVR-H2序列21:VSAISGYGGTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:73)

[0403] 经设计HVR-H2序列22:VSGISGAGDTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:74)

[0404] 经设计HVR-H2序列23:VSGISGDGDTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:75)

[0405] 经设计HVR-H2序列24:VSGISGDGGSTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:76)

[0406] 经设计HVR-H2序列25:VSGISGYGDTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:77)

[0407] 经设计HVR-H2序列26:VSGISGYGGTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:78)

[0408] 经设计HVR-H2序列27:VSVISGDGDTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:79)

[0409] 经设计HVR-H2序列28:VSVISGYGGSTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:80)

[0410] 经设计HVR-H2序列29:VSGISGDGSTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:81)

[0411] 经设计HVR-H2序列30:VSGISGYGSTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:82)

[0412] 经设计HVR-H2序列31:VSVISGSGSTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:83)

[0413] 经设计HVR-H2序列32:VSVISGYGSSTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:84)

[0414] 经设计HVR-H2序列33:VSVISGYGSTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:85)

[0415] 经设计HVR-H2序列34:VSAISGYGSTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:86)

[0416] 经设计HVR-H2序列35:VSSISGYGDTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:87)

[0417] 经设计HVR-H2序列36:VSSISGYGGSTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:88)

[0418] 经设计HVR-H2序列37:VSSISGYGGTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:89)

[0419] 经设计HVR-H2序列38:VSYISGAGDTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:90)

[0420] 经设计HVR-H2序列39:VSSISGAGDTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:91)

[0421] 经设计HVR-H2序列40:VSYISGAGGTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:92)

[0422] 经设计HVR-H2序列41:VSYISGDGDTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:93)

[0423] 经设计HVR-H2序列42:VSYISGDGGSTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:94)

[0424] 经设计HVR-H2序列43:VSYISGDGGTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:95)

[0425] 经设计HVR-H2序列44:VSYISGSGDTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:96)

[0426] 经设计HVR-H2序列45:VSSISGAGGSTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:97)

[0427] 经设计HVR-H2序列46:VSYISGYGDTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:98)

[0428] 经设计HVR-H2序列47:VSYISGYGGTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:99)

[0429] 经设计HVR-H2序列48:VSSISGAGGTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:100)

[0430] 经设计HVR-H2序列49:VSSISGDGDTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:101)

[0431] 经设计HVR-H2序列50:VSSISGDGGTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:102)

[0432] 经设计HVR-H2序列51:VSSISGAGSSTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:103)

[0433] 经设计HVR-H2序列52:VSSISGAGSTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:104)

[0434] 经设计HVR-H2序列53:VSSISGDGSSTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:105)

[0435] 经设计HVR-H2序列54:VSSISGDGSTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:106)

[0436] 经设计HVR-H2序列55:VSSISGYGSSTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:107)

[0437] 经设计HVR-H2序列56:VSSISGYGSTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:108)

[0438] 经设计HVR-H2序列57:IGWINPNRGDTKYAQKFQGRV(SEQ ID NO:109)

[0439] 经设计HVR-H2序列58:IGWINPNRGDTNYAQKFQGRV(SEQ ID NO:110)

[0440] 经设计HVR-H2序列59:IGWINPNRGGTKYAQKFQGRV(SEQ ID NO:111)

[0441] 经设计HVR-H2序列60:IGWINPNRGGTNYAQKFQGRV(SEQ ID NO:112)

[0442] 经设计HVR-H2序列61:IGWINPNRGSTKYAQKFQGRV(SEQ ID NO:113)

[0443] 经设计HVR-H2序列62:IGWINPNRGSTNYAQKFQGRV(SEQ ID NO:114)

[0444] 经设计HVR-H2序列63:IGRINPNFGDTNYAQKFQGRV(SEQ ID NO:115)

[0445] 经设计HVR-H2序列64:IGWINPNFGDTNYAQKFQGRV(SEQ ID NO:116)

[0446] 经设计HVR-H2序列65:IGWINPNFGSTKYAQKFQGRV(SEQ ID NO:117)

[0447] 经设计HVR-H2序列66:IGWINPNFGSTNYAQKFQGRV(SEQ ID NO:118)

[0448] 经设计HVR-H2序列67:IGIINPNRGDTKYAQKFQGRV(SEQ ID NO:119)

[0449] 经设计HVR-H2序列68:IGIINPNRGDTNYAQKFQGRV(SEQ ID NO:120)

[0450] 经设计HVR-H2序列69:IGIINPNFGDTNYAQKFQGRV(SEQ ID NO:121)

[0451] 经设计HVR-H2序列70:IGWISPSGGGTKYAQKFQGRV(SEQ ID NO:122)

[0452] 经设计HVR-H2序列71:IGWISPSGGGTNYAQKFQGRV(SEQ ID NO:123)

[0453] 经设计HVR-H2序列72:IGWISPSSGGTKYAQKFQGRV(SEQ ID NO:124)

[0454] 经设计HVR-H2序列73:IGWISPSSGGTNYAQKFQGRV(SEQ ID NO:125)

[0455] 经设计HVR-H2序列74:IGWIYPSGGGTKYAQKFQGRV(SEQ ID NO:126)

[0456] 经设计HVR-H2序列75:IGWIYPSGGGTNYAQKFQGRV(SEQ ID NO:127)

[0457] 经设计HVR-H2序列76:IGWISPSGGSTNYAQKFQGRV(SEQ ID NO:128)

[0458] 经设计HVR-H2序列77:IGWISPSSGSTKYAQKFQGRV(SEQ ID NO:129)

[0459] 经设计HVR-H2序列78:IGWISPSSGSTNYAQKFQGRV(SEQ ID NO:130)

[0460] 经设计HVR-H2序列79:IGWISPSGGSTKYAQKFQGRV(SEQ ID NO:131)

[0461] 经设计HVR-H2序列80:IGIIYPSGGGTNYAQKFQGRV(SEQ ID NO:132)

[0462] 经设计HVR-H2序列81:IGIISPSGGGTKYAQKFQGRV(SEQ ID NO:133)

[0463] 经设计HVR-H2序列82:IGIISPSGGGTNYAQKFQGRV(SEQ ID NO134)

[0464] 经设计HVR-H2序列83:IGIIYPSGGSTNYAQKFQGRV(SEQ ID NO:135)

[0465] 经设计HVR-H2序列84:VGRIKSKTDGYTTEYAAPVKGRF(SEQ ID NO:136)

[0466] 经设计HVR-H2序列85:VSAISGSGSTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:159)

[0467] 经设计HVR-H2序列86:VSSISGSGDTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:160)

[0468] 经设计HVR-H2序列87:VSSISGSGGSTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:161)

[0469] 经设计HVR-H2序列88:VSSISGSGGTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:162)

[0470] 经设计HVR-H2序列89:VSSISGDGGSTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:163)

[0471] 经设计HVR-H2序列90:VSSISGSGSTTYYADSVKGRF(SEQ ID NO:164)

[0472] 框架FW-H1序列:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG(SEQ ID NO:165)

[0473] 框架FW-H2序列:RQAPGKGLEW(SEQ ID NO:166)

[0474] 框架FW-H3序列:TISSRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC(SEQ ID NO:167)

[0475] 框架FW-H4序列:WGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:168)

[0476] 命中物标识符4029-VH

[0477] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITSGYHWGWIRQAPGKGLEWVSYISGAGDTTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARDYGDYYGFDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:169)

[0478] 命中物标识符4029-VL

[0479] DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDFYGISFLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYRTPFTFGQGTKVEIKR(SEQ ID NO:170)

[0480] 命中物标识符7097-VH

[0481] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSISSGHHWDWIRQAPGKGLEWVSYISGAGDTTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCAREGSDAVLGDWFAYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:171)

[0482] 命中物标识符7097-VL

[0483] DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYSTPLTFGQGTKVEIKR(SEQ ID NO:172)

[0484] 命中物标识符5906-VH

[0485] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSISSGYHWNWIRQAPGKGLEWVSYISGDGDTTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARDLGGYYGWGRYFDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:173)

[0486] 命中物标识符5906-VL

[0487] DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIKR(SEQ ID NO:174)

[0488] 命中物标识符7040-VH

[0489] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSISSGYYWNWIRQAPGKGLEWIGWISPSGGSTNYAQKFQGRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARDLTAGGFDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:175)

[0490] 命中物标识符7040-VL

[0491] DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYSTPLTFGQGTKVEIKR(SEQ ID NO:176)

[0492] 命中物标识符5924-VH

[0493] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSISSGYHWGWIRQAPGKGLEWIGIISPSSGSTKYAQKFQGRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARGAGVHYALDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:177)

[0494] 命中物标识符5924-VL

[0495] DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIKR(SEQ ID NO:178)

[0496] 命中物标识符4034-VH

[0497] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSISSGHYWNWIRQAPGKGLEWVSSISGYGSTTYYADSVKGR

FTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARERYYGSTDYAFDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:179)

[0498] 命中物标识符4034-VL

[0499] DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSRVSHVFWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCLQGTHFPWTFGQGTKVEIKR(SEQ ID NO:180)

[0500] 命中物标识符6010-VH

[0501] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSISSGHYWNWIRQAPGKGLEWIGWINPNRGDTNYAQKFQGRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARDYYGDFDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:181)

[0502] 命中物标识符6010-VL

[0503] DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHHYGTPLTFGQGTKVEIKR(SEQ ID NO:182)

[0504] 命中物标识符7183-VH

[0505] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSISSGHYWNWIRQAPGKGLEWVSSISGYGDTTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCAREGSDTVLGDWFAYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:183)

[0506] 命中物标识符7183-VL

[0507] DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNRATGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPPTFGQGTKVEIKR(SEQ ID NO:184)

[0508] 命中物标识符4036-VH

[0509] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSTSGVGVGWIRQAPGKGLEWIGEIYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARERYGSYYFDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:185)

[0510] 命中物标识符4036-VL

[0511] DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDFYGKSFLDWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYRIPPTFGQGTKVEIKR(SEQ ID NO:186)

[0512] 命中物标识符5115-VH

[0513] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSISSGHYWGWIRQAPGKGLEWIGEIYHSGSTYYSPSLKSRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARESYYAFDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:187)命中物标识符5115-VL

[0514] DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYTTPLTFGQGTKVEIKR(SEQ ID NO:188)

[0515] 命中物标识符5404-VH

[0516] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSISSGYHWAWIRQAPGKGLEWIGEIYHSGSTYYSPSLKSRVTISR

[0517] DNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARSPYYYGVFDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:189)

[0518] 命中物标识符5404-VL

[0519] DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSRVGSVYWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYTHDPVTFGQGTKVEIKR(SEQ ID NO:190)

[0520] 命中物标识符3757-VH

[0521] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYGIHWVRQAPGKGLEWIGWISPSGGGTKYAQKFQGRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARHSYYGVGDFDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:191)

[0522] 命中物标识符3757-VL

[0523] DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIKR(SEQ ID NO:192)

[0524] 命中物标识符5103-VH

[0525] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYGIHWVRQAPGKGLEWIGWISPSGGGTKYAQKFQGRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARHSYYGVGDFDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:193)

[0526] 命中物标识符5103-VL

[0527] DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIKR(SEQ ID NO:194)

[0528] 命中物标识符4027-VH

[0529] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITSGHHWNWIRQAPGKGLEWIGWISPSSGGTKYAQKFQGRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARGFDGFHYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:195)

[0530] 命中物标识符4027-VL

[0531] DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESVDFYGISFLPWYQQKPGKAPKLLIYDASNRATGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSWPWTFGQGTKVEIKR(SEQ ID NO:196)

[0532] 图1B中的VH

[0533] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYGIHWVRQAPGKGLEWVSGISGAGDTTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARERDYDFDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:197)

[0534] 式(I)

[0535] X_1TFX_2X_3YX_4IHWV,其中X_1是F或Y,X_2是S或T,X_3是D、G、N或S,并且X_4是A、G或W(SEQ ID NO:198)

[0536] 式(II)

[0537] YSIX_1SGX_2X_3WX_4WI,其中X_1是S或T,X_2是H或Y,X_3是H或Y,并且X_4是A、D、G、N、S或T(SEQ ID NO:199)

[0538] 式(III)

[0539] FSLSTX_1GVX_2VX_3WI,其中X_1是G或S,X_2是A或G,并且X_3是A、G、S或T(SEQ ID NO:200)

[0540] 式(IV)

[0541] LAX_1IX_2WX_3X_4DKX_5YSX_6SLKSRL,其中X_1是L或R,X_2是D或Y,X_3是A、D、S或Y,X_4是D或G,X_5是R、S或Y,并且X_6是P或T(SEQ ID NO:201)

[0542] 式(V)

[0543] IGX_1IX_2X_3SGSTYYSPSLKSRV,其中X_1是A、D、E、S或Y,X_2是S或Y,并且X_3是H或Y(SEQ ID NO:202)

[0544] 式(VI)

[0545] IGX_1IYX_2SGX_3TX_4YNPSLKSRV,其中X_1是D、E、R、S或Y,X_2是H或Y,X_3是N或S,并且X_4是N或Y(SEQ ID NO:203)

[0546] 式(VII)

[0547] VSX_1ISGX_2GX_3X_4TYYADSVKGRF,其中X_1是A、G、S、V或Y,X_2是A、D、S或Y,X_3是D、G或S,并且X_4是S或T(SEQ ID NO:204)

[0548] 式(VIII)

[0549] IGX_1INPNX_2GX_3TX_4YAQKFQGRV,其中X_1是I、R或W,X_2是F或R,X_3是D、G或S,并且X_4是K或

N(SEQ ID NO:205)

[0550] 式(IX)

[0551] $IGX_1IX_2PSX_3GX_4TX_5YAQKFQGRV$,其中$X_1$是I、R或W,$X_2$是S或Y,$X_3$是G或S,$X_4$是D、G或S,并且$X_5$是K或N(SEQ ID NO:206)

[0552] 式(X)

[0553] $VGRIX_1SKX_2X_3GX_4TTX_5YAAX_6VKGRF$,其中$X_1$是K或R,$X_2$是A或T,$X_3$是D或Y,$X_4$是G或Y,$X_5$是D或E,并且$X_6$是P或S(SEQ ID NO:207)

[0554] 式(XI)

[0555] $IGX_1IX_2X_3SGSTYYSPSLKSRV$,其中$X_1$是A、D或E,$X_2$是S或Y,并且$X_3$是H或Y(SEQ ID NO:208)

[0556] 式(XII)

[0557] $IGX_1IYX_2SGX_3TX_4YNPSLKSRV$,其中$X_1$是D、E或S,$X_2$是H或Y,$X_3$是N或S,并且$X_4$是N或Y(SEQ ID NO:209)

[0558] 式(XIII)

[0559] $VGRIX_1SKX_2X_3GX_4TTEYAAX_5VKGRF$,其中$X_1$是K或R,$X_2$是A或T,$X_3$是D或Y,$X_4$是G或Y,$X_5$是P或S(SEQ ID NO:210)

[0560] 引物F_1999

[0561] CGTTTGTCCTGTGCAGCTTCCGG(SEQ ID NO:211)

[0562] 引物R_1999

[0563] CGAGGCCCTTACCCGGGGCCTGACG(SEQ ID NO:212)

[0564] 引物F_2003

[0565] CCGGGTAAGGGCCTCGAGTGG(SEQ ID NO:213)

[0566] 引物R_2003

[0567] GAGCACGTCCGTTCGAATTGTCGCGACTTATAG(SEQ ID NO:214)

[0568] 引物S1089

[0569] ACAACTGAACAGCTTAAGAGCTGAGGACACTGCCGTCTAT TATTG(SEQ ID NO:215)

[0570] 引物S1090

[0571] GAGGAGACGGTGACTAGTGTTCCTTGACCCCA(SEQ ID NO:216)

[0572] 引物F_2898

[0573] TACTTATGTAGGCGATCGGGTCACCATCACCTGC(SEQ ID NO:217)

[0574] 引物R_2898

[0575] CGGAGCTTTTCCTGGTTTCTGTTGATAC(SEQ ID NO:218)

[0576] 引物F_2013

[0577] GAAACCAGGAAAAGCTCCGAAG(SEQ ID NO:219)

[0578] 引物R_2013

[0579] CGTCCCGGAACCGGATCCAGAGAAGCGAG(SEQ ID NO:220)

[0580] 引物F2929

[0581] ACCATCAGCAGTCTGCAGCCGGAAGACTTCGCAAC(SEQ ID NO:221)

[0582] 引物R2929

[0583] GATCTCCACCTTGGTACCCTGTCCGAA(SEQ ID NO:222)

[0584] HVR-H3序列1:ARDLGGYYGWGRYFDY(SEQ ID NO:223)

[0585] HVR-H3序列2:ARDLTAGGFDY(SEQ ID NO:224)

[0586] HVR-H3序列3:ARDPGVGGFDV(SEQ ID NO:225)

[0587] HVR-H3序列4:ARDPGYTWYFDV(SEQ ID NO:226)

[0588] HVR-H3序列5:ARDYGDYYGFDY(SEQ ID NO:227)

[0589] HVR-H3序列6:ARDYGYTWYFDV(SEQ ID NO:228)

[0590] HVR-H3序列7:ARDYYGDFDY(SEQ ID NO:229)

[0591] HVR-H3序列8:AREGSDAVLGDWFAY(SEQ ID NO:230)

[0592] HVR-H3序列9:AREGSDTVLGDWFAY(SEQ ID NO:231)

[0593] HVR-H3序列10:ARERYGSYYFDY(SEQ ID NO:232)

[0594] HVR-H3序列11:ARERYYGSTDYAFDY(SEQ ID NO:233)

[0595] HVR-H3序列12:ARESYYAFDY(SEQ ID NO:234)

[0596] HVR-H3序列13:ARGAGVHYALDY(SEQ ID NO:235)

[0597] HVR-H3序列14:ARGFDGFHY(SEQ ID NO:236)

[0598] HVR-H3序列15:ARGFYGGALDV(SEQ ID NO:237)

[0599] HVR-H3序列16:ARGGGGYYFDV(SEQ ID NO:238)

[0600] HVR-H3序列17:ARGGGLGFDY(SEQ ID NO:239)

[0601] HVR-H3序列18:ARGGLGPFDI(SEQ ID NO:240)

[0602] HVR-H3序列19:ARGGSDTVIGDWFAY(SEQ ID NO:241)

[0603] HVR-H3序列20:ARGGVGPFDI(SEQ ID NO:242)

[0604] HVR-H3序列21:ARGGYGGYLDV(SEQ ID NO:243)

[0605] HVR-H3序列22:ARGLSSGYFDY(SEQ ID NO:244)

[0606] HVR-H3序列23:ARGSWYFDV(SEQ ID NO:245)

[0607] HVR-H3序列24:ARGTRGLDY(SEQ ID NO:246)

[0608] HVR-H3序列25:ARGYSDYFDY(SEQ ID NO:247)

[0609] HVR-H3序列26:ARGYYYGRAFDY(SEQ ID NO:248)

[0610] HVR-H3序列27:ARHSYYGVGDFDY(SEQ ID NO:249)

[0611] HVR-H3序列28:ARLFEGFPY(SEQ ID NO:250)

[0612] HVR-H3序列29:ARLYDYFAY(SEQ ID NO:251)

[0613] HVR-H3序列30:ARSGYYALDY(SEQ ID NO:252)

[0614] HVR-H3序列31:ARSPYYYGVFDY(SEQ ID NO:253)

[0615] HVR-H3序列32:ARSYVYFDY(SEQ ID NO:254)

[0616] HVR-H3序列33:ARDGLGLRGVYYYYYGLDV(SEQ ID NO:255)

[0617] HVR-H3序列34:ARVGESGGIESPYYYYGLDV(SEQ ID NO:256)

[0618] HVR-L1序列1:RASESVDFYGISFLP(SEQ ID NO:257)

[0619] HVR-L1序列2:RASQSVDFYGISFLA(SEQ ID NO:258)

[0620] HVR-L1序列3:RASQSVDFYGKSFLD(SEQ ID NO:259)

[0621] HVR-L1序列4:SASSRVGSVY(SEQ ID NO:260)

[0622] HVR-L1序列5:SASSRVSHVF(SEQ ID NO:261)

[0623] HVR-L1序列6:RASQGISSYLA(SEQ ID NO:262)

[0624] HVR-L1序列7:RASQSVSSYLA(SEQ ID NO:263)

[0625] HVR-L1序列8:RASQSISSYLN(SEQ ID NO:264)

[0626] HVR-L3序列1:FCLQGTHFPWT(SEQ ID NO:265)

[0627] HVR-L3序列2:YCQQSYRTPFT(SEQ ID NO:266)

[0628] HVR-L3序列3:YCQQSYSWPWT(SEQ ID NO:267)

[0629] HVR-L3序列4:YCQQYTHDPVT(SEQ ID NO:268)

[0630] HVR-L3序列5:YCQQYYRIPPT(SEQ ID NO:269)

[0631] HVR-L3序列6:YCQHHYGTPLT(SEQ ID NO:270)

[0632] HVR-L3序列7:YCQQSYSTPLT(SEQ ID NO:271)

[0633] HVR-L3序列8:YCQQSYSTPPT(SEQ ID NO:272)

[0634] HVR-L3序列9:YCQQYYSTPLT(SEQ ID NO:273)

[0635] HVR-L3序列10:YCQQYYTTPLT(SEQ ID NO:274)

[0001] 序列表

[0002] <110> 天演药业有限公司(ADAGENE INC.)

[0003] <120> 动态人重链抗体文库

[0004] <130> IP170327

[0005] <160> 274

[0006] <170> PatentIn version 3.3

[0007] <210> 1

[0008] <211> 11

[0009] <212> PRT

[0010] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0011] <220>

[0012] <223> 经设计HVR-H1序列1

[0013] <400> 1

[0014] Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Gly Ile His Trp Val

[0015] 1 5 10

[0016] <210> 2

[0017] <211> 11

[0018] <212> PRT

[0019] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0020] <220>

[0021] <223> 经设计HVR-H1序列2

[0022] <400> 2

[0023] Phe Thr Phe Thr Gly Tyr Ala Ile His Trp Val

[0024] 1 5 10

[0025] <210> 3

[0026] <211> 11

[0027] <212> PRT

[0028] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0029] <220>

[0030] <223> 经设计HVR-H1序列3

[0031] <400> 3

[0032] Phe Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Ile His Trp Val

[0033] 1 5 10

[0034] <210> 4

[0035] <211> 11

[0036] <212> PRT

[0037] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0038] <220>

[0039] <223> 经设计HVR-H1序列4

[0040] <400> 4

[0041] Tyr Thr Phe Ser Asp Tyr Ala Ile His Trp Val

[0042] 1 5 10

[0043] <210> 5

[0044] <211> 11

[0045] <212> PRT

[0046] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0047] <220>

[0048] <223> 经设计HVR-H1序列5

[0049] <400> 5

[0050] Tyr Thr Phe Ser Asp Tyr Gly Ile His Trp Val

[0051] 1 5 10

[0052] <210> 6

[0053] <211> 11

[0054] <212> PRT

[0055] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0056] <220>

[0057] <223> 经设计HVR-H1序列6

[0058] <400> 6

[0059] Tyr Thr Phe Ser Gly Tyr Ala Ile His Trp Val

[0060] 1 5 10

[0061] <210> 7

[0062] <211> 11

[0063] <212> PRT

[0064] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0065] <220>

[0066] <223> 经设计HVR-H1序列7

[0067] <400> 7

[0068] Tyr Thr Phe Ser Gly Tyr Gly Ile His Trp Val

[0069] 1 5 10

[0070] <210> 8

[0071] <211> 11

[0072] <212> PRT

[0073] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0074] <220>

[0075] <223> 经设计HVR-H1序列8

[0076] <400> 8

[0077] Tyr Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Ile His Trp Val

[0078] 1 5 10

[0079] <210> 9

[0080] <211> 11

[0081] <212> PRT

[0082] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0083] <220>

[0084] <223> 经设计HVR-H1序列9

[0085] <400> 9

[0086] Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Ile His Trp Val

[0087] 1 5 10

[0088] <210> 10

[0089] <211> 11

[0090] <212> PRT

[0091] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0092] <220>

[0093] <223> 经设计HVR-H1序列10

[0094] <400> 10

[0095] Tyr Thr Phe Ser Gly Tyr Trp Ile His Trp Val

[0096] 1 5 10

[0097] <210> 11

[0098] <211> 11

[0099] <212> PRT

[0100] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0101] <220>

[0102] <223> 经设计HVR-H1序列11

[0103] <400> 11

[0104] Tyr Thr Phe Ser Asn Tyr Trp Ile His Trp Val

[0105] 1 5 10

[0106] <210> 12

[0107] <211> 11

[0108] <212> PRT

[0109] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0110] <220>

[0111] <223> 经设计HVR-H1序列12

[0112] <400> 12

[0113] Phe Thr Phe Ser Gly Tyr Trp Ile His Trp Val

[0114] 1 5 10

[0115] <210> 13

[0116] <211> 11

[0117] <212> PRT

[0118] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0119] <220>

[0120] <223> 经设计HVR-H1序列13

[0121] <400> 13

[0122] Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Trp Ile His Trp Val

[0123] 1 5 10

[0124] <210> 14

[0125] <211> 11

[0126] <212> PRT

[0127] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0128] <220>

[0129] <223> 经设计HVR-H1序列14

[0130] <400> 14

[0131] Tyr Thr Phe Ser Asp Tyr Trp Ile His Trp Val

[0132] 1 5 10

[0133] <210> 15

[0134] <211> 12

[0135] <212> PRT

[0136] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0137] <220>

[0138] <223> 经设计HVR-H1序列15

[0139] <400> 15

[0140] Tyr Ser Ile Ser Ser Gly His His Trp Ala Trp Ile

[0141] 1 5 10

[0142] <210> 16

[0143] <211> 12

[0144] <212> PRT

[0145] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0146] <220>

[0147] <223> 经设计HVR-H1序列16

[0148] <400> 16

[0149] Tyr Ser Ile Ser Ser Gly His Tyr Trp Asn Trp Ile

[0150] 1 5 10

[0151] <210> 17

[0152] <211> 12

[0153] <212> PRT

[0154] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0155] <220>

[0156] <223> 经设计HVR-H1序列17

[0157] <400> 17

[0158] Tyr Ser Ile Ser Ser Gly His Tyr Trp Ser Trp Ile

[0159] 1 5 10

[0160] <210> 18

[0161] <211> 12

[0162] <212> PRT

[0163] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0164] <220>

[0165] <223> 经设计HVR-H1序列18

[0166] <400> 18

[0167] Tyr Ser Ile Ser Ser Gly His Tyr Trp Thr Trp Ile

[0168] 1 5 10

[0169] <210> 19

[0170] <211> 12

[0171] <212> PRT

[0172] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0173] <220>

[0174] <223> 经设计HVR-H1序列19

[0175] <400> 19

[0176] Tyr Ser Ile Ser Ser Gly Tyr His Trp Ala Trp Ile

[0177] 1 5 10

[0178] <210> 20

[0179] <211> 12

[0180] <212> PRT

[0181] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0182] <220>

[0183] <223> 经设计HVR-H1序列20

[0184] <400> 20

[0185] Tyr Ser Ile Ser Ser Gly Tyr His Trp Asp Trp Ile

[0186] 1 5 10

[0187] <210> 21

[0188] <211> 12

[0189] <212> PRT

[0190] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0191] <220>

[0192] <223> 经设计HVR-H1序列21

[0193] <400> 21

[0194] Tyr Ser Ile Ser Ser Gly Tyr His Trp Gly Trp Ile

[0195] 1 5 10

[0196] <210> 22

[0197] <211> 12

[0198] <212> PRT

[0199] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0200] <220>

[0201] <223> 经设计HVR-H1序列22

[0202] <400> 22

[0203] Tyr Ser Ile Ser Ser Gly Tyr His Trp Asn Trp Ile

[0204] 1 5 10

[0205] <210> 23

[0206] <211> 12

[0207] <212> PRT

[0208] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0209] <220>

[0210] <223> 经设计HVR-H1序列23

[0211] <400> 23

[0212] Tyr Ser Ile Ser Ser Gly Tyr His Trp Ser Trp Ile

[0213] 1 5 10

[0214] <210> 24

[0215] <211> 12

[0216] <212> PRT

[0217] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0218] <220>

[0219] <223> 经设计HVR-H1序列24

[0220] <400> 24

[0221] Tyr Ser Ile Ser Ser Gly His His Trp Asp Trp Ile

[0222] 1 5 10

[0223] <210> 25

[0224] <211> 12

[0225] <212> PRT

[0226] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0227] <220>

[0228] <223> 经设计HVR-H1序列

[0229] <400> 25

[0230] Tyr Ser Ile Ser Ser Gly Tyr Tyr Trp Asp Trp Ile

[0231] 1 5 10

[0232] <210> 26

[0233] <211> 12

[0234] <212> PRT

[0235] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0236] <220>

[0237] <223> 经设计HVR-H1序列26

[0238] <400> 26

[0239] Tyr Ser Ile Ser Ser Gly Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile

[0240] 1 5 10

[0241] <210> 27

[0242] <211> 12

[0243] <212> PRT

[0244] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0245] <220>

[0246] <223> 经设计HVR-H1序列27

[0247] <400> 27

[0248] Tyr Ser Ile Ser Ser Gly Tyr Tyr Trp Thr Trp Ile

[0249] 1 5 10

[0250] <210> 28

[0251] <211> 12

[0252] <212> PRT

[0253] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0254] <220>

[0255] <223> 经设计HVR-H1序列28

[0256] <400> 28

[0257] Tyr Ser Ile Thr Ser Gly His His Trp Ala Trp Ile

[0258] 1 5 10

[0259] <210> 29

[0260] <211> 12

[0261] <212> PRT

[0262] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0263] <220>

[0264] <223> 经设计HVR-H1序列29

[0265] <400> 29

[0266] Tyr Ser Ile Thr Ser Gly His His Trp Asp Trp Ile

[0267] 1 5 10

[0268] <210> 30

[0269] <211> 12

[0270] <212> PRT

[0271] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0272] <220>

[0273] <223> 经设计HVR-H1序列30

[0274] <400> 30

[0275] Tyr Ser Ile Thr Ser Gly His His Trp Gly Trp Ile

[0276] 1 5 10

[0277] <210> 31

[0278] <211> 12

[0279] <212> PRT

[0280] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0281] <220>

[0282] <223> 经设计HVR-H1序列31

[0283] <400> 31

[0284] Tyr Ser Ile Thr Ser Gly His His Trp Asn Trp Ile

[0285] 1 5 10

[0286] <210> 32

[0287] <211> 12

[0288] <212> PRT

[0289] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0290] <220>

[0291] <223> 经设计HVR-H1序列32

[0292] <400> 32

[0293] Tyr Ser Ile Thr Ser Gly His His Trp Ser Trp Ile

[0294] 1 5 10

[0295] <210> 33

[0296] <211> 12

[0297] <212> PRT

[0298] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0299] <220>

[0300] <223> 经设计HVR-H1序列33

[0301] <400> 33

[0302] Tyr Ser Ile Ser Ser Gly His His Trp Gly Trp Ile

[0303] 1 5 10

[0304] <210> 34

[0305] <211> 12

[0306] <212> PRT

[0307] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0308] <220>

[0309] <223> 经设计HVR-H1序列34

[0310] <400> 34

[0311] Tyr Ser Ile Thr Ser Gly His Tyr Trp Ala Trp Ile

[0312] 1 5 10

[0313] <210> 35

[0314] <211> 12

[0315] <212> PRT

[0316] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0317] <220>

[0318] <223> 经设计HVR-H1序列35

[0319] <400> 35

[0320] Tyr Ser Ile Thr Ser Gly His Tyr Trp Asp Trp Ile

[0321] 1 5 10

[0322] <210> 36

[0323] <211> 12

[0324] <212> PRT

[0325] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0326] <220>

[0327] <223> 经设计HVR-H1序列36

[0328] <400> 36

[0329] Tyr Ser Ile Thr Ser Gly His Tyr Trp Gly Trp Ile

[0330] 1 5 10

[0331] <210> 37

[0332] <211> 12

[0333] <212> PRT

[0334] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0335] <220>

[0336] <223> 经设计HVR-H1序列37

[0337] <400> 37

[0338] Tyr Ser Ile Thr Ser Gly His Tyr Trp Asn Trp Ile

[0339] 1 5 10

[0340] <210> 38

[0341] <211> 12

[0342] <212> PRT

[0343] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0344] <220>

[0345] <223> 经设计HVR-H1序列38

[0346] <400> 38

[0347] Tyr Ser Ile Thr Ser Gly His Tyr Trp Ser Trp Ile

[0348] 1 5 10

[0349] <210> 39

[0350] <211> 12

[0351] <212> PRT

[0352] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0353] <220>

[0354] <223> 经设计HVR-H1序列39

[0355] <400> 39

[0356] Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr His Trp Ala Trp Ile

[0357] 1 5 10

[0358] <210> 40

[0359] <211> 12

[0360] <212> PRT

[0361] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0362] <220>

[0363] <223> 经设计HVR-H1序列40

[0364] <400> 40

[0365] Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr His Trp Gly Trp Ile

[0366] 1 5 10

[0367] <210> 41

[0368] <211> 12

[0369] <212> PRT

[0370] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0371] <220>

[0372] <223> 经设计HVR-H1序列41

[0373] <400> 41

[0374] Tyr Ser Ile Ser Ser Gly His His Trp Asn Trp Ile

[0375] 1 5 10

[0376] <210> 42

[0377] <211> 12

[0378] <212> PRT

[0379] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0380] <220>

[0381] <223> 经设计HVR-H1序列42

[0382] <400> 42

[0383] Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr His Trp Asn Trp Ile

[0384] 1 5 10

[0385] <210> 43

[0386] <211> 12

[0387] <212> PRT

[0388] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0389] <220>

[0390] <223> 经设计HVR-H1序列43

[0391] <400> 43

[0392] Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr His Trp Ser Trp Ile

[0393] 1 5 10

[0394] <210> 44

[0395] <211> 12

[0396] <212> PRT

[0397] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0398] <220>

[0399] <223> 经设计HVR-H1序列44

[0400] <400> 44

[0401] Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr Tyr Trp Asp Trp Ile

[0402] 1 5 10

[0403] <210> 45

[0404] <211> 12

[0405] <212> PRT

[0406] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0407] <220>

[0408] <223> 经设计HVR-H1序列45

[0409] <400> 45

[0410] Tyr Ser Ile Ser Ser Gly His His Trp Thr Trp Ile

[0411] 1 5 10

[0412] <210> 46

[0413] <211> 12

[0414] <212> PRT

[0415] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0416] <220>

[0417] <223> 经设计HVR-H1序列46

[0418] <400> 46

[0419] Tyr Ser Ile Ser Ser Gly His Tyr Trp Asp Trp Ile

[0420] 1 5 10

[0421] <210> 47

[0422] <211> 13

[0423] <212> PRT

[0424] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0425] <220>

[0426] <223> 经设计HVR-H1序列47

[0427] <400> 47

[0428] Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Val Ala Val Ser Trp Ile

[0429] 1 5 10

[0430] <210> 48

[0431] <211> 13

[0432] <212> PRT

[0433] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0434] <220>

[0435] <223> 经设计HVR-H1序列48

[0436] <400> 48

[0437] Phe Ser Leu Ser Thr Gly Gly Val Ala Val Gly Trp Ile

[0438] 1 5 10

[0439] <210> 49

[0440] <211> 13

[0441] <212> PRT

[0442] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0443] <220>

[0444] <223> 经设计HVR-H1序列49

[0445] <400> 49

[0446] Phe Ser Leu Ser Thr Gly Gly Val Ala Val Ser Trp Ile

[0447] 1 5 10

[0448] <210> 50

[0449] <211> 13

[0450] <212> PRT

[0451] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0452] <220>

[0453] <223> 经设计HVR-H1序列50

[0454] <400> 50

[0455] Phe Ser Leu Ser Thr Gly Gly Val Gly Val Ala Trp Ile

[0456] 1 5 10

[0457] <210> 51

[0458] <211> 13

[0459] <212> PRT

[0460] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0461] <220>

[0462] <223> 经设计HVR-H1序列51

[0463] <400> 51

[0464] Phe Ser Leu Ser Thr Gly Gly Val Gly Val Ser Trp Ile

[0465] 1 5 10

[0466] <210> 52

[0467] <211> 13

[0468] <212> PRT

[0469] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0470] <220>

[0471] <223> 经设计HVR-H1序列52

[0472] <400> 52

[0473] Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Val Ala Val Ala Trp Ile

[0474] 1 5 10

[0475] <210> 53

[0476] <211> 20

[0477] <212> PRT

[0478] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0479] <220>

[0480] <223> 经设计HVR-H2序列1

[0481] <400> 53

[0482] Leu Ala Arg Ile Asp Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Ser Pro Ser Leu

[0483] 1 5 10 15

[0484] Lys Ser Arg Leu

[0485] 20

[0486] <210> 54

[0487] <211> 20

[0488] <212> PRT

[0489] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0490] <220>

[0491] <223> 经设计HVR-H2序列2

[0492] <400> 54

[0493] Leu Ala Leu Ile Asp Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Ser Pro Ser Leu

[0494] 1 5 10 15

[0495] Lys Ser Arg Leu

[0496] 20

[0497] <210> 55

[0498] <211> 20

[0499] <212> PRT

[0500] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0501] <220>

[0502] <223> 经设计HVR-H2序列3

[0503] <400> 55

[0504] Leu Ala Leu Ile Asp Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Ser Thr Ser Leu

[0505] 1 5 10 15

[0506] Lys Ser Arg Leu

[0507] 20

[0508] <210> 56

[0509] <211> 20

[0510] <212> PRT

[0511] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0512] <220>

[0513] <223> 经设计HVR-H2序列4

[0514] <400> 56

[0515] Leu Ala Leu Ile Asp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Ser Pro Ser Leu

[0516] 1 5 10 15

[0517] Lys Ser Arg Leu

[0518] 20

[0519] <210> 57

[0520] <211> 20

[0521] <212> PRT

[0522] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0523] <220>

[0524] <223> 经设计HVR-H2序列5

[0525] <400> 57

[0526] Leu Ala Leu Ile Asp Trp Ala Asp Asp Lys Tyr Tyr Ser Pro Ser Leu

[0527] 1 5 10 15

[0528] Lys Ser Arg Leu

[0529] 20

[0530] <210> 58

[0531] <211> 20

[0532] <212> PRT

[0533] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0534] <220>

[0535] <223> 经设计HVR-H2序列6

[0536] <400> 58

[0537] Leu Ala Leu Ile Asp Trp Ala Gly Asp Lys Ser Tyr Ser Thr Ser Leu

[0538] 1 5 10 15

[0539] Lys Ser Arg Leu

[0540] 20

[0541] <210> 59

[0542] <211> 20

[0543] <212> PRT

[0544] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0545] <220>

[0546] <223> 经设计HVR-H2序列7

[0547] <400> 59

[0548] Leu Ala Arg Ile Asp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Ser Pro Ser Leu

[0549] 1 5 10 15

[0550] Lys Ser Arg Leu

[0551] 20

[0552] <210> 60

[0553] <211> 20

[0554] <212> PRT

[0555] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0556] <220>

[0557] <223> 经设计HVR-H2序列8

[0558] <400> 60

[0559] Leu Ala Arg Ile Asp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Ser Thr Ser Leu

[0560] 1 5 10 15

[0561] Lys Ser Arg Leu

[0562] 20

[0563] <210> 61

[0564] <211> 20

[0565] <212> PRT

[0566] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0567] <220>

[0568] <223> 经设计HVR-H2序列9

[0569] <400> 61

[0570] Leu Ala Arg Ile Asp Trp Asp Gly Asp Lys Tyr Tyr Ser Thr Ser Leu

[0571] 1 5 10 15

[0572] Lys Ser Arg Leu

[0573] 20

[0574] <210> 62

[0575] <211> 20

[0576] <212> PRT

[0577] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0578] <220>

[0579] <223> 经设计HVR-H2序列10

[0580] <400> 62

[0581] Ile Gly Asp Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ser Pro Ser Leu

[0582] 1 5 10 15

[0583] Lys Ser Arg Val

[0584] 20

[0585] <210> 63
[0586] <211> 20
[0587] <212> PRT
[0588] <213> 人工序列(artificial sequence)
[0589] <220>
[0590] <223> 经设计HVR-H2序列11
[0591] <400> 63
[0592] Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ser Pro Ser Leu
[0593] 1 5 10 15
[0594] Lys Ser Arg Val
[0595] 20
[0596] <210> 64
[0597] <211> 20
[0598] <212> PRT
[0599] <213> 人工序列(artificial sequence)
[0600] <220>
[0601] <223> 经设计HVR-H2序列12
[0602] <400> 64
[0603] Ile Gly Glu Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ser Pro Ser Leu
[0604] 1 5 10 15
[0605] Lys Ser Arg Val
[0606] 20
[0607] <210> 65
[0608] <211> 20
[0609] <212> PRT
[0610] <213> 人工序列(artificial sequence)
[0611] <220>
[0612] <223> 经设计HVR-H2序列13
[0613] <400> 65
[0614] Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
[0615] 1 5 10 15
[0616] Lys Ser Arg Val
[0617] 20
[0618] <210> 66
[0619] <211> 20
[0620] <212> PRT
[0621] <213> 人工序列(artificial sequence)
[0622] <220>
[0623] <223> 经设计HVR-H2序列14

[0624] <400> 66

[0625] Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu

[0626] 1 5 10 15

[0627] Lys Ser Arg Val

[0628] 20

[0629] <210> 67

[0630] <211> 20

[0631] <212> PRT

[0632] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0633] <220>

[0634] <223> 经设计HVR-H2序列15

[0635] <400> 67

[0636] Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu

[0637] 1 5 10 15

[0638] Lys Ser Arg Val

[0639] 20

[0640] <210> 68

[0641] <211> 20

[0642] <212> PRT

[0643] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0644] <220>

[0645] <223> 经设计HVR-H2序列16

[0646] <400> 68

[0647] Ile Gly Glu Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu

[0648] 1 5 10 15

[0649] Lys Ser Arg Val

[0650] 20

[0651] <210> 69

[0652] <211> 20

[0653] <212> PRT

[0654] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0655] <220>

[0656] <223> 经设计HVR-H2序列17

[0657] <400> 69

[0658] Ile Gly Asp Ile Tyr His Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu

[0659] 1 5 10 15

[0660] Lys Ser Arg Val

[0661] 20

[0662] <210> 70

[0663] <211> 20

[0664] <212> PRT

[0665] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0666] <220>

[0667] <223> 经设计HVR-H2序列18

[0668] <400> 70

[0669] Ile Gly Asp Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu

[0670] 1 5 10 15

[0671] Lys Ser Arg Val

[0672] 20

[0673] <210> 71

[0674] <211> 21

[0675] <212> PRT

[0676] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0677] <220>

[0678] <223> 经设计HVR-H2序列19

[0679] <400> 71

[0680] Val Ser Ala Ile Ser Gly Tyr Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[0681] 1 5 10 15

[0682] Val Lys Gly Arg Phe

[0683] 20

[0684] <210> 72

[0685] <211> 21

[0686] <212> PRT

[0687] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0688] <220>

[0689] <223> 经设计HVR-H2序列20

[0690] <400> 72

[0691] Val Ser Ala Ile Ser Gly Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[0692] 1 5 10 15

[0693] Val Lys Gly Arg Phe

[0694] 20

[0695] <210> 73

[0696] <211> 21

[0697] <212> PRT

[0698] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0699] <220>

[0700] <223> 经设计HVR-H2序列21

[0701] <400> 73

[0702] Val Ser Ala Ile Ser Gly Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
[0703] 1 5 10 15
[0704] Val Lys Gly Arg Phe
[0705] 20
[0706] <210> 74
[0707] <211> 21
[0708] <212> PRT
[0709] <213> 人工序列(artificial sequence)
[0710] <220>
[0711] <223> 经设计HVR-H2序列22
[0712] <400> 74
[0713] Val Ser Gly Ile Ser Gly Ala Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
[0714] 1 5 10 15
[0715] Val Lys Gly Arg Phe
[0716] 20
[0717] <210> 75
[0718] <211> 21
[0719] <212> PRT
[0720] <213> 人工序列(artificial sequence)
[0721] <220>
[0722] <223> 经设计HVR-H2序列23
[0723] <400> 75
[0724] Val Ser Gly Ile Ser Gly Asp Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
[0725] 1 5 10 15
[0726] Val Lys Gly Arg Phe
[0727] 20
[0728] <210> 76
[0729] <211> 21
[0730] <212> PRT
[0731] <213> 人工序列(artificial sequence)
[0732] <220>
[0733] <223> 经设计HVR-H2序列24
[0734] <400> 76
[0735] Val Ser Gly Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
[0736] 1 5 10 15
[0737] Val Lys Gly Arg Phe
[0738] 20
[0739] <210> 77
[0740] <211> 21

[0741] <212> PRT

[0742] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0743] <220>

[0744] <223> 经设计HVR-H2序列25

[0745] <400> 77

[0746] Val Ser Gly Ile Ser Gly Tyr Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[0747] 1 5 10 15

[0748] Val Lys Gly Arg Phe

[0749] 20

[0750] <210> 78

[0751] <211> 21

[0752] <212> PRT

[0753] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0754] <220>

[0755] <223> 经设计HVR-H2序列26

[0756] <400> 78

[0757] Val Ser Gly Ile Ser Gly Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[0758] 1 5 10 15

[0759] Val Lys Gly Arg Phe

[0760] 20

[0761] <210> 79

[0762] <211> 21

[0763] <212> PRT

[0764] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0765] <220>

[0766] <223> 经设计HVR-H2序列27

[0767] <400> 79

[0768] Val Ser Val Ile Ser Gly Asp Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[0769] 1 5 10 15

[0770] Val Lys Gly Arg Phe

[0771] 20

[0772] <210> 80

[0773] <211> 21

[0774] <212> PRT

[0775] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0776] <220>

[0777] <223> 经设计HVR-H2序列28

[0778] <400> 80

[0779] Val Ser Val Ile Ser Gly Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[0780] 1 5 10 15

[0781] Val Lys Gly Arg Phe

[0782] 20

[0783] <210> 81

[0784] <211> 21

[0785] <212> PRT

[0786] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0787] <220>

[0788] <223> 经设计HVR-H2序列29

[0789] <400> 81

[0790] Val Ser Gly Ile Ser Gly Asp Gly Ser Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[0791] 1 5 10 15

[0792] Val Lys Gly Arg Phe

[0793] 20

[0794] <210> 82

[0795] <211> 21

[0796] <212> PRT

[0797] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0798] <220>

[0799] <223> 经设计HVR-H2序列30

[0800] <400> 82

[0801] Val Ser Gly Ile Ser Gly Tyr Gly Ser Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[0802] 1 5 10 15

[0803] Val Lys Gly Arg Phe

[0804] 20

[0805] <210> 83

[0806] <211> 21

[0807] <212> PRT

[0808] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0809] <220>

[0810] <223> 经设计HVR-H2序列31

[0811] <400> 83

[0812] Val Ser Val Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[0813] 1 5 10 15

[0814] Val Lys Gly Arg Phe

[0815] 20

[0816] <210> 84

[0817] <211> 21

[0818] <212> PRT

[0819] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0820] <220>

[0821] <223> 经设计HVR-H2序列32

[0822] <400> 84

[0823] Val Ser Val Ile Ser Gly Tyr Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[0824] 1 5 10 15

[0825] Val Lys Gly Arg Phe

[0826] 20

[0827] <210> 85

[0828] <211> 21

[0829] <212> PRT

[0830] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0831] <220>

[0832] <223> 经设计HVR-H2序列33

[0833] <400> 85

[0834] Val Ser Val Ile Ser Gly Tyr Gly Ser Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[0835] 1 5 10 15

[0836] Val Lys Gly Arg Phe

[0837] 20

[0838] <210> 86

[0839] <211> 21

[0840] <212> PRT

[0841] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0842] <220>

[0843] <223> 经设计HVR-H2序列34

[0844] <400> 86

[0845] Val Ser Ala Ile Ser Gly Tyr Gly Ser Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[0846] 1 5 10 15

[0847] Val Lys Gly Arg Phe

[0848] 20

[0849] <210> 87

[0850] <211> 21

[0851] <212> PRT

[0852] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0853] <220>

[0854] <223> 经设计HVR-H2序列35

[0855] <400> 87

[0856] Val Ser Ser Ile Ser Gly Tyr Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[0857] 1 5 10 15

[0858] Val Lys Gly Arg Phe
[0859] 20
[0860] <210> 88
[0861] <211> 21
[0862] <212> PRT
[0863] <213> 人工序列(artificial sequence)
[0864] <220>
[0865] <223> 经设计HVR-H2序列36
[0866] <400> 88
[0867] Val Ser Ser Ile Ser Gly Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
[0868] 1 5 10 15
[0869] Val Lys Gly Arg Phe
[0870] 20
[0871] <210> 89
[0872] <211> 21
[0873] <212> PRT
[0874] <213> 人工序列(artificial sequence)
[0875] <220>
[0876] <223> 经设计HVR-H2序列37
[0877] <400> 89
[0878] Val Ser Ser Ile Ser Gly Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
[0879] 1 5 10 15
[0880] Val Lys Gly Arg Phe
[0881] 20
[0882] <210> 90
[0883] <211> 21
[0884] <212> PRT
[0885] <213> 人工序列(artificial sequence)
[0886] <220>
[0887] <223> 经设计HVR-H2序列38
[0888] <400> 90
[0889] Val Ser Tyr Ile Ser Gly Ala Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
[0890] 1 5 10 15
[0891] Val Lys Gly Arg Phe
[0892] 20
[0893] <210> 91
[0894] <211> 21
[0895] <212> PRT
[0896] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0897] <220>

[0898] <223> 经设计HVR-H2序列39

[0899] <400> 91

[0900] Val Ser Ser Ile Ser Gly Ala Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[0901] 1 5 10 15

[0902] Val Lys Gly Arg Phe

[0903] 20

[0904] <210> 92

[0905] <211> 21

[0906] <212> PRT

[0907] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0908] <220>

[0909] <223> 经设计HVR-H2序列40

[0910] <400> 92

[0911] Val Ser Tyr Ile Ser Gly Ala Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[0912] 1 5 10 15

[0913] Val Lys Gly Arg Phe

[0914] 20

[0915] <210> 93

[0916] <211> 21

[0917] <212> PRT

[0918] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0919] <220>

[0920] <223> 经设计HVR-H2序列41

[0921] <400> 93

[0922] Val Ser Tyr Ile Ser Gly Asp Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[0923] 1 5 10 15

[0924] Val Lys Gly Arg Phe

[0925] 20

[0926] <210> 94

[0927] <211> 21

[0928] <212> PRT

[0929] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0930] <220>

[0931] <223> 经设计HVR-H2序列42

[0932] <400> 94

[0933] Val Ser Tyr Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[0934] 1 5 10 15

[0935] Val Lys Gly Arg Phe

[0936] 20

[0937] <210> 95

[0938] <211> 21

[0939] <212> PRT

[0940] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0941] <220>

[0942] <223> 经设计HVR-H2序列43

[0943] <400> 95

[0944] Val Ser Tyr Ile Ser Gly Asp Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[0945] 1 5 10 15

[0946] Val Lys Gly Arg Phe

[0947] 20

[0948] <210> 96

[0949] <211> 21

[0950] <212> PRT

[0951] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0952] <220>

[0953] <223> 经设计HVR-H2序列44

[0954] <400> 96

[0955] Val Ser Tyr Ile Ser Gly Ser Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[0956] 1 5 10 15

[0957] Val Lys Gly Arg Phe

[0958] 20

[0959] <210> 97

[0960] <211> 21

[0961] <212> PRT

[0962] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0963] <220>

[0964] <223> 经设计HVR-H2序列45

[0965] <400> 97

[0966] Val Ser Ser Ile Ser Gly Ala Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[0967] 1 5 10 15

[0968] Val Lys Gly Arg Phe

[0969] 20

[0970] <210> 98

[0971] <211> 21

[0972] <212> PRT

[0973] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0974] <220>

[0975] <223> 经设计HVR-H2序列46

[0976] <400> 98

[0977] Val Ser Tyr Ile Ser Gly Tyr Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[0978] 1 5 10 15

[0979] Val Lys Gly Arg Phe

[0980] 20

[0981] <210> 99

[0982] <211> 21

[0983] <212> PRT

[0984] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0985] <220>

[0986] <223> 经设计HVR-H2序列47

[0987] <400> 99

[0988] Val Ser Tyr Ile Ser Gly Tyr Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[0989] 1 5 10 15

[0990] Val Lys Gly Arg Phe

[0991] 20

[0992] <210> 100

[0993] <211> 21

[0994] <212> PRT

[0995] <213> 人工序列(artificial sequence)

[0996] <220>

[0997] <223> 经设计HVR-H2序列48

[0998] <400> 100

[0999] Val Ser Ser Ile Ser Gly Ala Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[1000] 1 5 10 15

[1001] Val Lys Gly Arg Phe

[1002] 20

[1003] <210> 101

[1004] <211> 21

[1005] <212> PRT

[1006] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1007] <220>

[1008] <223> 经设计HVR-H2序列49

[1009] <400> 101

[1010] Val Ser Ser Ile Ser Gly Asp Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[1011] 1 5 10 15

[1012] Val Lys Gly Arg Phe

[1013] 20

[1014] <210> 102
[1015] <211> 21
[1016] <212> PRT
[1017] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1018] <220>
[1019] <223> 经设计HVR-H2序列50
[1020] <400> 102
[1021] Val Ser Ser Ile Ser Gly Asp Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
[1022] 1 5 10 15
[1023] Val Lys Gly Arg Phe
[1024] 20
[1025] <210> 103
[1026] <211> 21
[1027] <212> PRT
[1028] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1029] <220>
[1030] <223> 经设计HVR-H2序列51
[1031] <400> 103
[1032] Val Ser Ser Ile Ser Gly Ala Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
[1033] 1 5 10 15
[1034] Val Lys Gly Arg Phe
[1035] 20
[1036] <210> 104
[1037] <211> 21
[1038] <212> PRT
[1039] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1040] <220>
[1041] <223> 经设计HVR-H2序列52
[1042] <400> 104
[1043] Val Ser Ser Ile Ser Gly Ala Gly Ser Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
[1044] 1 5 10 15
[1045] Val Lys Gly Arg Phe
[1046] 20
[1047] <210> 105
[1048] <211> 21
[1049] <212> PRT
[1050] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1051] <220>
[1052] <223> 经设计HVR-H2序列53

[1053] <400> 105

[1054] Val Ser Ser Ile Ser Gly Asp Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[1055] 1 5 10 15

[1056] Val Lys Gly Arg Phe

[1057] 20

[1058] <210> 106

[1059] <211> 21

[1060] <212> PRT

[1061] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1062] <220>

[1063] <223> 经设计HVR-H2序列54

[1064] <400> 106

[1065] Val Ser Ser Ile Ser Gly Asp Gly Ser Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[1066] 1 5 10 15

[1067] Val Lys Gly Arg Phe

[1068] 20

[1069] <210> 107

[1070] <211> 21

[1071] <212> PRT

[1072] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1073] <220>

[1074] <223> 经设计HVR-H2序列55

[1075] <400> 107

[1076] Val Ser Ser Ile Ser Gly Tyr Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[1077] 1 5 10 15

[1078] Val Lys Gly Arg Phe

[1079] 20

[1080] <210> 108

[1081] <211> 21

[1082] <212> PRT

[1083] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1084] <220>

[1085] <223> 经设计HVR-H2序列56

[1086] <400> 108

[1087] Val Ser Ser Ile Ser Gly Tyr Gly Ser Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[1088] 1 5 10 15

[1089] Val Lys Gly Arg Phe

[1090] 20

[1091] <210> 109

[1092] <211> 21
[1093] <212> PRT
[1094] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1095] <220>
[1096] <223> 经设计HVR-H2序列57
[1097] <400> 109
[1098] Ile Gly Trp Ile Asn Pro Asn Arg Gly Asp Thr Lys Tyr Ala Gln Lys
[1099] 1 5 10 15
[1100] Phe Gln Gly Arg Val
[1101] 20
[1102] <210> 110
[1103] <211> 21
[1104] <212> PRT
[1105] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1106] <220>
[1107] <223> 经设计HVR-H2序列58
[1108] <400> 110
[1109] Ile Gly Trp Ile Asn Pro Asn Arg Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys
[1110] 1 5 10 15
[1111] Phe Gln Gly Arg Val
[1112] 20
[1113] <210> 111
[1114] <211> 21
[1115] <212> PRT
[1116] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1117] <220>
[1118] <223> 经设计HVR-H2序列59
[1119] <400> 111
[1120] Ile Gly Trp Ile Asn Pro Asn Arg Gly Gly Thr Lys Tyr Ala Gln Lys
[1121] 1 5 10 15
[1122] Phe Gln Gly Arg Val
[1123] 20
[1124] <210> 112
[1125] <211> 21
[1126] <212> PRT
[1127] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1128] <220>
[1129] <223> 经设计HVR-H2序列60
[1130] <400> 112

[1131] Ile Gly Trp Ile Asn Pro Asn Arg Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys
[1132] 1 5 10 15
[1133] Phe Gln Gly Arg Val
[1134] 20
[1135] <210> 113
[1136] <211> 21
[1137] <212> PRT
[1138] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1139] <220>
[1140] <223> 经设计HVR-H2序列61
[1141] <400> 113
[1142] Ile Gly Trp Ile Asn Pro Asn Arg Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys
[1143] 1 5 10 15
[1144] Phe Gln Gly Arg Val
[1145] 20
[1146] <210> 114
[1147] <211> 21
[1148] <212> PRT
[1149] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1150] <220>
[1151] <223> 经设计HVR-H2序列62
[1152] <400> 114
[1153] Ile Gly Trp Ile Asn Pro Asn Arg Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Gln Lys
[1154] 1 5 10 15
[1155] Phe Gln Gly Arg Val
[1156] 20
[1157] <210> 115
[1158] <211> 21
[1159] <212> PRT
[1160] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1161] <220>
[1162] <223> 经设计HVR-H2序列63
[1163] <400> 115
[1164] Ile Gly Arg Ile Asn Pro Asn Phe Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys
[1165] 1 5 10 15
[1166] Phe Gln Gly Arg Val
[1167] 20
[1168] <210> 116
[1169] <211> 21

[1170] <212> PRT
[1171] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1172] <220>
[1173] <223> 经设计HVR-H2序列64
[1174] <400> 116
[1175] Ile Gly Trp Ile Asn Pro Asn Phe Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys
[1176] 1 5 10 15
[1177] Phe Gln Gly Arg Val
[1178] 20
[1179] <210> 117
[1180] <211> 21
[1181] <212> PRT
[1182] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1183] <220>
[1184] <223> 经设计HVR-H2序列65
[1185] <400> 117
[1186] Ile Gly Trp Ile Asn Pro Asn Phe Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys
[1187] 1 5 10 15
[1188] Phe Gln Gly Arg Val
[1189] 20
[1190] <210> 118
[1191] <211> 21
[1192] <212> PRT
[1193] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1194] <220>
[1195] <223> 经设计HVR-H2序列66
[1196] <400> 118
[1197] Ile Gly Trp Ile Asn Pro Asn Phe Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Gln Lys
[1198] 1 5 10 15
[1199] Phe Gln Gly Arg Val
[1200] 20
[1201] <210> 119
[1202] <211> 21
[1203] <212> PRT
[1204] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1205] <220>
[1206] <223> 经设计HVR-H2序列67
[1207] <400> 119
[1208] Ile Gly Ile Ile Asn Pro Asn Arg Gly Asp Thr Lys Tyr Ala Gln Lys

[1209] 1 5 10 15
[1210] Phe Gln Gly Arg Val
[1211] 20
[1212] <210> 120
[1213] <211> 21
[1214] <212> PRT
[1215] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1216] <220>
[1217] <223> 经设计HVR-H2序列68
[1218] <400> 120
[1219] Ile Gly Ile Ile Asn Pro Asn Arg Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys
[1220] 1 5 10 15
[1221] Phe Gln Gly Arg Val
[1222] 20
[1223] <210> 121
[1224] <211> 21
[1225] <212> PRT
[1226] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1227] <220>
[1228] <223> 经设计HVR-H2序列69
[1229] <400> 121
[1230] Ile Gly Ile Ile Asn Pro Asn Phe Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys
[1231] 1 5 10 15
[1232] Phe Gln Gly Arg Val
[1233] 20
[1234] <210> 122
[1235] <211> 21
[1236] <212> PRT
[1237] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1238] <220>
[1239] <223> 经设计HVR-H2序列70
[1240] <400> 122
[1241] Ile Gly Trp Ile Ser Pro Ser Gly Gly Gly Thr Lys Tyr Ala Gln Lys
[1242] 1 5 10 15
[1243] Phe Gln Gly Arg Val
[1244] 20
[1245] <210> 123
[1246] <211> 21
[1247] <212> PRT

[1248] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1249] <220>
[1250] <223> 经设计HVR-H2序列71
[1251] <400> 123
[1252] Ile Gly Trp Ile Ser Pro Ser Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys
[1253] 1 5 10 15
[1254] Phe Gln Gly Arg Val
[1255] 20
[1256] <210> 124
[1257] <211> 21
[1258] <212> PRT
[1259] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1260] <220>
[1261] <223> 经设计HVR-H2序列72
[1262] <400> 124
[1263] Ile Gly Trp Ile Ser Pro Ser Ser Gly Gly Thr Lys Tyr Ala Gln Lys
[1264] 1 5 10 15
[1265] Phe Gln Gly Arg Val
[1266] 20
[1267] <210> 125
[1268] <211> 21
[1269] <212> PRT
[1270] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1271] <220>
[1272] <223> 经设计HVR-H2序列73
[1273] <400> 125
[1274] Ile Gly Trp Ile Ser Pro Ser Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys
[1275] 1 5 10 15
[1276] Phe Gln Gly Arg Val
[1277] 20
[1278] <210> 126
[1279] <211> 21
[1280] <212> PRT
[1281] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1282] <220>
[1283] <223> 经设计HVR-H2序列74
[1284] <400> 126
[1285] Ile Gly Trp Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Gly Thr Lys Tyr Ala Gln Lys
[1286] 1 5 10 15

[1287] Phe Gln Gly Arg Val
[1288] 20
[1289] <210> 127
[1290] <211> 21
[1291] <212> PRT
[1292] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1293] <220>
[1294] <223> 经设计HVR-H2序列75
[1295] <400> 127
[1296] Ile Gly Trp Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys
[1297] 1 5 10 15
[1298] Phe Gln Gly Arg Val
[1299] 20
[1300] <210> 128
[1301] <211> 21
[1302] <212> PRT
[1303] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1304] <220>
[1305] <223> 经设计HVR-H2序列76
[1306] <400> 128
[1307] Ile Gly Trp Ile Ser Pro Ser Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Gln Lys
[1308] 1 5 10 15
[1309] Phe Gln Gly Arg Val
[1310] 20
[1311] <210> 129
[1312] <211> 21
[1313] <212> PRT
[1314] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1315] <220>
[1316] <223> 经设计HVR-H2序列77
[1317] <400> 129
[1318] Ile Gly Trp Ile Ser Pro Ser Ser Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys
[1319] 1 5 10 15
[1320] Phe Gln Gly Arg Val
[1321] 20
[1322] <210> 130
[1323] <211> 21
[1324] <212> PRT
[1325] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1326] <220>
[1327] <223> 经设计HVR-H2序列78
[1328] <400> 130
[1329] Ile Gly Trp Ile Ser Pro Ser Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Gln Lys
[1330] 1 5 10 15
[1331] Phe Gln Gly Arg Val
[1332] 20
[1333] <210> 131
[1334] <211> 21
[1335] <212> PRT
[1336] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1337] <220>
[1338] <223> 经设计HVR-H2序列79
[1339] <400> 131
[1340] Ile Gly Trp Ile Ser Pro Ser Gly Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys
[1341] 1 5 10 15
[1342] Phe Gln Gly Arg Val
[1343] 20
[1344] <210> 132
[1345] <211> 21
[1346] <212> PRT
[1347] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1348] <220>
[1349] <223> 经设计HVR-H2序列80
[1350] <400> 132
[1351] Ile Gly Ile Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys
[1352] 1 5 10 15
[1353] Phe Gln Gly Arg Val
[1354] 20
[1355] <210> 133
[1356] <211> 21
[1357] <212> PRT
[1358] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1359] <220>
[1360] <223> 经设计HVR-H2序列81
[1361] <400> 133
[1362] Ile Gly Ile Ile Ser Pro Ser Gly Gly Gly Thr Lys Tyr Ala Gln Lys
[1363] 1 5 10 15
[1364] Phe Gln Gly Arg Val

[1365] 20

[1366] <210> 134

[1367] <211> 21

[1368] <212> PRT

[1369] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1370] <220>

[1371] <223> 经设计HVR-H2序列82

[1372] <400> 134

[1373] Ile Gly Ile Ile Ser Pro Ser Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys

[1374] 1 5 10 15

[1375] Phe Gln Gly Arg Val

[1376] 20

[1377] <210> 135

[1378] <211> 21

[1379] <212> PRT

[1380] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1381] <220>

[1382] <223> 经设计HVR-H2序列83

[1383] <400> 135

[1384] Ile Gly Ile Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Gln Lys

[1385] 1 5 10 15

[1386] Phe Gln Gly Arg Val

[1387] 20

[1388] <210> 136

[1389] <211> 23

[1390] <212> PRT

[1391] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1392] <220>

[1393] <223> 经设计HVR-H2序列84

[1394] <400> 136

[1395] Val Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ala

[1396] 1 5 10 15

[1397] Ala Pro Val Lys Gly Arg Phe

[1398] 20

[1399] <210> 137

[1400] <211> 11

[1401] <212> PRT

[1402] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1403] <220>

[1404] <223> 经设计HVR-H1序列53

[1405] <400> 137

[1406] Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Ala Ile His Trp Val

[1407] 1 5 10

[1408] <210> 138

[1409] <211> 11

[1410] <212> PRT

[1411] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1412] <220>

[1413] <223> 经设计HVR-H1序列54

[1414] <400> 138

[1415] Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Gly Ile His Trp Val

[1416] 1 5 10

[1417] <210> 139

[1418] <211> 11

[1419] <212> PRT

[1420] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1421] <220>

[1422] <223> 经设计HVR-H1序列55

[1423] <400> 139

[1424] Tyr Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Ile His Trp Val

[1425] 1 5 10

[1426] <210> 140

[1427] <211> 11

[1428] <212> PRT

[1429] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1430] <220>

[1431] <223> 经设计HVR-H1序列56

[1432] <400> 140

[1433] Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Ile His Trp Val

[1434] 1 5 10

[1435] <210> 141

[1436] <211> 11

[1437] <212> PRT

[1438] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1439] <220>

[1440] <223> 经设计HVR-H1序列57

[1441] <400> 141

[1442] Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Ala Ile His Trp Val

[1443] 1 5 10

[1444] <210> 142

[1445] <211> 11

[1446] <212> PRT

[1447] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1448] <220>

[1449] <223> 经设计HVR-H1序列58

[1450] <400> 142

[1451] Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Gly Ile His Trp Val

[1452] 1 5 10

[1453] <210> 143

[1454] <211> 11

[1455] <212> PRT

[1456] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1457] <220>

[1458] <223> 经设计HVR-H1序列60

[1459] <400> 143

[1460] Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Ile His Trp Val

[1461] 1 5 10

[1462] <210> 144

[1463] <211> 11

[1464] <212> PRT

[1465] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1466] <220>

[1467] <223> 经设计HVR-H1序列61

[1468] <400> 144

[1469] Phe Thr Phe Ser Gly Tyr Gly Ile His Trp Val

[1470] 1 5 10

[1471] <210> 145

[1472] <211> 11

[1473] <212> PRT

[1474] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1475] <220>

[1476] <223> 经设计HVR-H1序列62

[1477] <400> 145

[1478] Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Ile His Trp Val

[1479] 1 5 10

[1480] <210> 146

[1481] <211> 11

[1482] <212> PRT
[1483] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1484] <220>
[1485] <223> 经设计HVR-H1序列63
[1486] <400> 146
[1487] Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Ile His Trp Val
[1488] 1 5 10
[1489] <210> 147
[1490] <211> 11
[1491] <212> PRT
[1492] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1493] <220>
[1494] <223> 经设计HVR-H1序列64
[1495] <400> 147
[1496] Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Trp Ile His Trp Val
[1497] 1 5 10
[1498] <210> 148
[1499] <211> 11
[1500] <212> PRT
[1501] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1502] <220>
[1503] <223> 经设计HVR-H1序列65
[1504] <400> 148
[1505] Phe Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Ile His Trp Val
[1506] 1 5 10
[1507] <210> 149
[1508] <211> 12
[1509] <212> PRT
[1510] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1511] <220>
[1512] <223> 经设计HVR-H1序列66
[1513] <400> 149
[1514] Tyr Ser Ile Ser Ser Gly Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile
[1515] 1 5 10
[1516] <210> 150
[1517] <211> 12
[1518] <212> PRT
[1519] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1520] <220>

[1521] <223> 经设计HVR-H1序列67

[1522] <400> 150

[1523] Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile

[1524] 1 5 10

[1525] <210> 151

[1526] <211> 12

[1527] <212> PRT

[1528] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1529] <220>

[1530] <223> 经设计HVR-H1序列68

[1531] <400> 151

[1532] Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile

[1533] 1 5 10

[1534] <210> 152

[1535] <211> 12

[1536] <212> PRT

[1537] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1538] <220>

[1539] <223> 经设计HVR-H1序列69

[1540] <400> 152

[1541] Tyr Ser Ile Ser Ser Gly His Tyr Trp Ala Trp Ile

[1542] 1 5 10

[1543] <210> 153

[1544] <211> 12

[1545] <212> PRT

[1546] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1547] <220>

[1548] <223> 经设计HVR-H1序列70

[1549] <400> 153

[1550] Tyr Ser Ile Ser Ser Gly His Tyr Trp Gly Trp Ile

[1551] 1 5 10

[1552] <210> 154

[1553] <211> 13

[1554] <212> PRT

[1555] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1556] <220>

[1557] <223> 经设计HVR-H1序列71

[1558] <400> 154

[1559] Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Val Ala Val Gly Trp Ile

[1560] 1 5 10

[1561] <210> 155

[1562] <211> 13

[1563] <212> PRT

[1564] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1565] <220>

[1566] <223> 经设计HVR-H1序列72

[1567] <400> 155

[1568] Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Val Gly Val Ala Trp Ile

[1569] 1 5 10

[1570] <210> 156

[1571] <211> 13

[1572] <212> PRT

[1573] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1574] <220>

[1575] <223> 经设计HVR-H1序列73

[1576] <400> 156

[1577] Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Val Gly Val Gly Trp Ile

[1578] 1 5 10

[1579] <210> 157

[1580] <211> 13

[1581] <212> PRT

[1582] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1583] <220>

[1584] <223> 经设计HVR-H1序列74

[1585] <400> 157

[1586] Phe Ser Leu Ser Thr Gly Gly Val Gly Val Gly Trp Ile

[1587] 1 5 10

[1588] <210> 158

[1589] <211> 21

[1590] <212> PRT

[1591] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1592] <220>

[1593] <223> 经设计HVR-H2序列85

[1594] <400> 158

[1595] Val Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[1596] 1 5 10 15

[1597] Val Lys Gly Arg Phe

[1598] 20

[1599] <210> 159
[1600] <211> 21
[1601] <212> PRT
[1602] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1603] <220>
[1604] <223> 经设计HVR-H2序列86
[1605] <400> 159
[1606] Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
[1607] 1 5 10 15
[1608] Val Lys Gly Arg Phe
[1609] 20
[1610] <210> 160
[1611] <211> 21
[1612] <212> PRT
[1613] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1614] <220>
[1615] <223> 经设计HVR-H2序列87
[1616] <400> 160
[1617] Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
[1618] 1 5 10 15
[1619] Val Lys Gly Arg Phe
[1620] 20
[1621] <210> 161
[1622] <211> 21
[1623] <212> PRT
[1624] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1625] <220>
[1626] <223> 经设计HVR-H2序列88
[1627] <400> 161
[1628] Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
[1629] 1 5 10 15
[1630] Val Lys Gly Arg Phe
[1631] 20
[1632] <210> 162
[1633] <211> 21
[1634] <212> PRT
[1635] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1636] <220>
[1637] <223> 经设计HVR-H2序列89

[1638] <400> 162
[1639] Val Ser Ser Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
[1640] 1 5 10 15
[1641] Val Lys Gly Arg Phe
[1642] 20
[1643] <210> 163
[1644] <211> 21
[1645] <212> PRT
[1646] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1647] <220>
[1648] <223> 经设计HVR-H2序列90
[1649] <400> 163
[1650] Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
[1651] 1 5 10 15
[1652] Val Lys Gly Arg Phe
[1653] 20
[1654] <210> 164
[1655] <211> 26
[1656] <212> PRT
[1657] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1658] <220>
[1659] <223> 框架FW-H1序列
[1660] <400> 164
[1661] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1662] 1 5 10 15
[1663] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
[1664] 20 25
[1665] <210> 165
[1666] <211> 10
[1667] <212> PRT
[1668] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1669] <220>
[1670] <223> 框架FW-H2序列
[1671] <400> 165
[1672] Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
[1673] 1 5 10
[1674] <210> 166
[1675] <211> 29
[1676] <212> PRT

[1677] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1678] <220>
[1679] <223> 框架FW-H3序列
[1680] <400> 166
[1681] Thr Ile Ser Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Leu
[1682] 1 5 10 15
[1683] Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1684] 20 25
[1685] <210> 167
[1686] <211> 11
[1687] <212> PRT
[1688] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1689] <220>
[1690] <223> 框架FW-H4序列
[1691] <400> 167
[1692] Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[1693] 1 5 10
[1694] <210> 168
[1695] <211> 120
[1696] <212> PRT
[1697] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1698] <220>
[1699] <223> 命中物标识符4029-VH
[1700] <400> 168
[1701] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1702] 1 5 10 15
[1703] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
[1704] 20 25 30
[1705] Tyr His Trp Gly Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
[1706] 35 40 45
[1707] Val Ser Tyr Ile Ser Gly Ala Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
[1708] 50 55 60
[1709] Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu
[1710] 65 70 75 80
[1711] Tyr Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
[1712] 85 90 95
[1713] Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Asp Tyr Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
[1714] 100 105 110
[1715] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

[1716] 115 120

[1717] <210> 169

[1718] <211> 112

[1719] <212> PRT

[1720] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1721] <220>

[1722] <223> 命中物标识符4029-VL

[1723] <400> 169

[1724] Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

[1725] 1 5 10 15

[1726] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Phe Tyr

[1727] 20 25 30

[1728] Gly Ile Ser Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

[1729] 35 40 45

[1730] Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser

[1731] 50 55 60

[1732] Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

[1733] 65 70 75 80

[1734] Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr

[1735] 85 90 95

[1736] Arg Thr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

[1737] 100 105 110

[1738] <210> 170

[1739] <211> 11

[1740] <212> PRT

[1741] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1742] <220>

[1743] <223> 经设计HVR-H1序列59

[1744] <400> 170

[1745] Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Ala Ile His Trp Val

[1746] 1 5 10

[1747] <210> 171

[1748] <211> 123

[1749] <212> PRT

[1750] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1751] <220>

[1752] <223> 命中物标识符7097-VH

[1753] <400> 171

[1754] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[1755] 1 5 10 15
[1756] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
[1757] 20 25 30
[1758] His His Trp Asp Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
[1759] 35 40 45
[1760] Val Ser Tyr Ile Ser Gly Ala Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
[1761] 50 55 60
[1762] Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu
[1763] 65 70 75 80
[1764] Tyr Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
[1765] 85 90 95
[1766] Cys Ala Arg Glu Gly Ser Asp Ala Val Leu Gly Asp Trp Phe Ala Tyr
[1767] 100 105 110
[1768] Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[1769] 115 120
[1770] <210> 172
[1771] <211> 108
[1772] <212> PRT
[1773] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1774] <220>
[1775] <223> 命中物标识符7097-VL
[1776] <400> 172
[1777] Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[1778] 1 5 10 15
[1779] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr
[1780] 20 25 30
[1781] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[1782] 35 40 45
[1783] Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[1784] 50 55 60
[1785] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[1786] 65 70 75 80
[1787] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Leu
[1788] 85 90 95
[1789] Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
[1790] 100 105
[1791] <210> 173
[1792] <211> 124
[1793] <212> PRT

[1794] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1795] <220>

[1796] <223> 命中物标识符5906-VH

[1797] <400> 173

[1798] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[1799] 1 5 10 15

[1800] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly

[1801] 20 25 30

[1802] Tyr His Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

[1803] 35 40 45

[1804] Val Ser Tyr Ile Ser Gly Asp Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[1805] 50 55 60

[1806] Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu

[1807] 65 70 75 80

[1808] Tyr Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

[1809] 85 90 95

[1810] Cys Ala Arg Asp Leu Gly Gly Tyr Tyr Gly Trp Gly Arg Tyr Phe Asp

[1811] 100 105 110

[1812] Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

[1813] 115 120

[1814] <210> 174

[1815] <211> 108

[1816] <212> PRT

[1817] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1818] <220>

[1819] <223> 命中物标识符5906-VL

[1820] <400> 174

[1821] Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

[1822] 1 5 10 15

[1823] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr

[1824] 20 25 30

[1825] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

[1826] 35 40 45

[1827] Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

[1828] 50 55 60

[1829] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

[1830] 65 70 75 80

[1831] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu

[1832] 85 90 95

[1833] Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
[1834] 100 105
[1835] <210> 175
[1836] <211> 119
[1837] <212> PRT
[1838] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1839] <220>
[1840] <223> 命中物标识符7040-VH
[1841] <400> 175
[1842] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1843] 1 5 10 15
[1844] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
[1845] 20 25 30
[1846] Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
[1847] 35 40 45
[1848] Ile Gly Trp Ile Ser Pro Ser Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Gln Lys
[1849] 50 55 60
[1850] Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu
[1851] 65 70 75 80
[1852] Tyr Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
[1853] 85 90 95
[1854] Cys Ala Arg Asp Leu Thr Ala Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
[1855] 100 105 110
[1856] Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[1857] 115
[1858] <210> 176
[1859] <211> 108
[1860] <212> PRT
[1861] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1862] <220>
[1863] <223> 命中物标识符7040-VL
[1864] <400> 176
[1865] Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[1866] 1 5 10 15
[1867] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr
[1868] 20 25 30
[1869] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[1870] 35 40 45
[1871] Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

[1872] 50 55 60

[1873] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

[1874] 65 70 75 80

[1875] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Leu

[1876] 85 90 95

[1877] Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

[1878] 100 105

[1879] <210> 177

[1880] <211> 120

[1881] <212> PRT

[1882] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1883] <220>

[1884] <223> 命中物标识符5924-VH

[1885] <400> 177

[1886] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[1887] 1 5 10 15

[1888] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly

[1889] 20 25 30

[1890] Tyr His Trp Gly Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

[1891] 35 40 45

[1892] Ile Gly Ile Ile Ser Pro Ser Ser Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys

[1893] 50 55 60

[1894] Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu

[1895] 65 70 75 80

[1896] Tyr Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

[1897] 85 90 95

[1898] Cys Ala Arg Gly Ala Gly Val His Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln

[1899] 100 105 110

[1900] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

[1901] 115 120

[1902] <210> 178

[1903] <211> 108

[1904] <212> PRT

[1905] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1906] <220>

[1907] <223> 命中物标识符5924-VL

[1908] <400> 178

[1909] Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

[1910] 1 5 10 15

[1911] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
[1912] 20 25 30
[1913] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[1914] 35 40 45
[1915] Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[1916] 50 55 60
[1917] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[1918] 65 70 75 80
[1919] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
[1920] 85 90 95
[1921] Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
[1922] 100 105
[1923] <210> 179
[1924] <211> 123
[1925] <212> PRT
[1926] <213> 人工序列(artificial sequence)
[1927] <220>
[1928] <223> 命中物标识符4034-VH
[1929] <400> 179
[1930] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1931] 1 5 10 15
[1932] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
[1933] 20 25 30
[1934] His Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
[1935] 35 40 45
[1936] Val Ser Ser Ile Ser Gly Tyr Gly Ser Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
[1937] 50 55 60
[1938] Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu
[1939] 65 70 75 80
[1940] Tyr Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
[1941] 85 90 95
[1942] Cys Ala Arg Glu Arg Tyr Tyr Gly Ser Thr Asp Tyr Ala Phe Asp Tyr
[1943] 100 105 110
[1944] Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[1945] 115 120
[1946] <210> 180
[1947] <211> 107
[1948] <212> PRT
[1949] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1950] <220>

[1951] <223> 命中物标识符4034-VL

[1952] <400> 180

[1953] Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

[1954] 1 5 10 15

[1955] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser His Val

[1956] 20 25 30

[1957] Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

[1958] 35 40 45

[1959] Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

[1960] 50 55 60

[1961] Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu

[1962] 65 70 75 80

[1963] Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Leu Gln Gly Thr His Phe Pro Trp Thr

[1964] 85 90 95

[1965] Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

[1966] 100 105

[1967] <210> 181

[1968] <211> 118

[1969] <212> PRT

[1970] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1971] <220>

[1972] <223> 命中物标识符6010-VH

[1973] <400> 181

[1974] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[1975] 1 5 10 15

[1976] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly

[1977] 20 25 30

[1978] His Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

[1979] 35 40 45

[1980] Ile Gly Trp Ile Asn Pro Asn Arg Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys

[1981] 50 55 60

[1982] Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu

[1983] 65 70 75 80

[1984] Tyr Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

[1985] 85 90 95

[1986] Cys Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

[1987] 100 105 110

[1988] Leu Val Thr Val Ser Ser

[1989] 115

[1990] <210> 182

[1991] <211> 108

[1992] <212> PRT

[1993] <213> 人工序列(artificial sequence)

[1994] <220>

[1995] <223> 命中物标识符6010-VL

[1996] <400> 182

[1997] Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

[1998] 1 5 10 15

[1999] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

[2000] 20 25 30

[2001] Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

[2002] 35 40 45

[2003] Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

[2004] 50 55 60

[2005] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

[2006] 65 70 75 80

[2007] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Gly Thr Pro Leu

[2008] 85 90 95

[2009] Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

[2010] 100 105

[2011] <210> 183

[2012] <211> 123

[2013] <212> PRT

[2014] <213> 人工序列(artificial sequence)

[2015] <220>

[2016] <223> 命中物标识符7183-VH

[2017] <400> 183

[2018] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[2019] 1 5 10 15

[2020] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly

[2021] 20 25 30

[2022] His Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

[2023] 35 40 45

[2024] Val Ser Ser Ile Ser Gly Tyr Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

[2025] 50 55 60

[2026] Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu

[2027] 65 70 75 80

[2028] Tyr Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
[2029] 85 90 95
[2030] Cys Ala Arg Glu Gly Ser Asp Thr Val Leu Gly Asp Trp Phe Ala Tyr
[2031] 100 105 110
[2032] Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[2033] 115 120
[2034] <210> 184
[2035] <211> 108
[2036] <212> PRT
[2037] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2038] <220>
[2039] <223> 命中物标识符7183-VL
[2040] <400> 184
[2041] Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[2042] 1 5 10 15
[2043] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
[2044] 20 25 30
[2045] Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[2046] 35 40 45
[2047] Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[2048] 50 55 60
[2049] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[2050] 65 70 75 80
[2051] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
[2052] 85 90 95
[2053] Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
[2054] 100 105
[2055] <210> 185
[2056] <211> 120
[2057] <212> PRT
[2058] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2059] <220>
[2060] <223> 命中物标识符4036-VH
[2061] <400> 185
[2062] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[2063] 1 5 10 15
[2064] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
[2065] 20 25 30
[2066] Gly Val Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu

[2067] 35 40 45

[2068] Trp Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ser Pro Ser

[2069] 50 55 60

[2070] Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu

[2071] 65 70 75 80

[2072] Tyr Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

[2073] 85 90 95

[2074] Cys Ala Arg Glu Arg Tyr Gly Ser Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

[2075] 100 105 110

[2076] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

[2077] 115 120

[2078] <210> 186

[2079] <211> 112

[2080] <212> PRT

[2081] <213> 人工序列(artificial sequence)

[2082] <220>

[2083] <223> 命中物标识符4036-VL

[2084] <400> 186

[2085] Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

[2086] 1 5 10 15

[2087] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Phe Tyr

[2088] 20 25 30

[2089] Gly Lys Ser Phe Leu Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

[2090] 35 40 45

[2091] Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser

[2092] 50 55 60

[2093] Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

[2094] 65 70 75 80

[2095] Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr

[2096] 85 90 95

[2097] Arg Ile Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

[2098] 100 105 110

[2099] <210> 187

[2100] <211> 117

[2101] <212> PRT

[2102] <213> 人工序列(artificial sequence)

[2103] <220>

[2104] <223> 命中物标识符5115-VH

[2105] <400> 187

[2106] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[2107] 1 5 10 15
[2108] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
[2109] 20 25 30
[2110] His Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
[2111] 35 40 45
[2112] Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ser Pro Ser Leu
[2113] 50 55 60
[2114] Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[2115] 65 70 75 80
[2116] Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[2117] 85 90 95
[2118] Ala Arg Glu Ser Tyr Tyr Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
[2119] 100 105 110
[2120] Val Thr Val Ser Ser
[2121] 115
[2122] <210> 188
[2123] <211> 108
[2124] <212> PRT
[2125] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2126] <220>
[2127] <223> 命中物标识符5115-VL
[2128] <400> 188
[2129] Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[2130] 1 5 10 15
[2131] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
[2132] 20 25 30
[2133] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[2134] 35 40 45
[2135] Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[2136] 50 55 60
[2137] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[2138] 65 70 75 80
[2139] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Thr Thr Pro Leu
[2140] 85 90 95
[2141] Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
[2142] 100 105
[2143] <210> 189
[2144] <211> 119

[2145] <212> PRT
[2146] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2147] <220>
[2148] <223> 命中物标识符5404-VH
[2149] <400> 189
[2150] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[2151] 1 5 10 15
[2152] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
[2153] 20 25 30
[2154] Tyr His Trp Ala Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
[2155] 35 40 45
[2156] Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ser Pro Ser Leu
[2157] 50 55 60
[2158] Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[2159] 65 70 75 80
[2160] Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[2161] 85 90 95
[2162] Ala Arg Ser Pro Tyr Tyr Tyr Gly Val Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
[2163] 100 105 110
[2164] Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[2165] 115
[2166] <210> 190
[2167] <211> 107
[2168] <212> PRT
[2169] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2170] <220>
[2171] <223> 命中物标识符5404-VL
[2172] <400> 190
[2173] Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[2174] 1 5 10 15
[2175] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Gly Ser Val
[2176] 20 25 30
[2177] Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
[2178] 35 40 45
[2179] Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
[2180] 50 55 60
[2181] Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
[2182] 65 70 75 80
[2183] Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Thr His Asp Pro Val Thr

[2184] 85 90 95

[2185] Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

[2186] 100 105

[2187] <210> 191

[2188] <211> 120

[2189] <212> PRT

[2190] <213> 人工序列(artificial sequence)

[2191] <220>

[2192] <223> 命中物标识符3757-VH

[2193] <400> 191

[2194] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

[2195] 1 5 10 15

[2196] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr

[2197] 20 25 30

[2198] Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

[2199] 35 40 45

[2200] Gly Trp Ile Ser Pro Ser Gly Gly Gly Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe

[2201] 50 55 60

[2202] Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

[2203] 65 70 75 80

[2204] Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[2205] 85 90 95

[2206] Ala Arg His Ser Tyr Tyr Gly Val Gly Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

[2207] 100 105 110

[2208] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

[2209] 115 120

[2210] <210> 192

[2211] <211> 108

[2212] <212> PRT

[2213] <213> 人工序列(artificial sequence)

[2214] <220>

[2215] <223> 命中物标识符3757-VL

[2216] <400> 192

[2217] Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

[2218] 1 5 10 15

[2219] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr

[2220] 20 25 30

[2221] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

[2222] 35 40 45

[2223] Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[2224] 50 55 60
[2225] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[2226] 65 70 75 80
[2227] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
[2228] 85 90 95
[2229] Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
[2230] 100 105
[2231] <210> 193
[2232] <211> 120
[2233] <212> PRT
[2234] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2235] <220>
[2236] <223> 命中物标识符5103-VH
[2237] <400> 193
[2238] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[2239] 1 5 10 15
[2240] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
[2241] 20 25 30
[2242] Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
[2243] 35 40 45
[2244] Gly Trp Ile Ser Pro Ser Gly Gly Gly Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
[2245] 50 55 60
[2246] Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[2247] 65 70 75 80
[2248] Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[2249] 85 90 95
[2250] Ala Arg His Ser Tyr Tyr Gly Val Gly Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
[2251] 100 105 110
[2252] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[2253] 115 120
[2254] <210> 194
[2255] <211> 108
[2256] <212> PRT
[2257] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2258] <220>
[2259] <223> 命中物标识符5103-VL
[2260] <400> 194
[2261] Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

[2262] 1 5 10 15
[2263] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
[2264] 20 25 30
[2265] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[2266] 35 40 45
[2267] Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[2268] 50 55 60
[2269] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[2270] 65 70 75 80
[2271] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
[2272] 85 90 95
[2273] Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
[2274] 100 105
[2275] <210> 195
[2276] <211> 117
[2277] <212> PRT
[2278] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2279] <220>
[2280] <223> 命中物标识符4027-VH
[2281] <400> 195
[2282] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[2283] 1 5 10 15
[2284] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
[2285] 20 25 30
[2286] His His Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
[2287] 35 40 45
[2288] Ile Gly Trp Ile Ser Pro Ser Ser Gly Gly Thr Lys Tyr Ala Gln Lys
[2289] 50 55 60
[2290] Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu
[2291] 65 70 75 80
[2292] Tyr Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
[2293] 85 90 95
[2294] Cys Ala Arg Gly Phe Asp Gly Phe His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
[2295] 100 105 110
[2296] Val Thr Val Ser Ser
[2297] 115
[2298] <210> 196
[2299] <211> 112
[2300] <212> PRT

[2301] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2302] <220>
[2303] <223> 命中物标识符4027-VL
[2304] <400> 196
[2305] Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[2306] 1 5 10 15
[2307] Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Phe Tyr
[2308] 20 25 30
[2309] Gly Ile Ser Phe Leu Pro Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
[2310] 35 40 45
[2311] Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ser
[2312] 50 55 60
[2313] Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
[2314] 65 70 75 80
[2315] Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr
[2316] 85 90 95
[2317] Ser Trp Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
[2318] 100 105 110
[2319] <210> 197
[2320] <211> 117
[2321] <212> PRT
[2322] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2323] <220>
[2324] <223> 图1B中的VH
[2325] <400> 197
[2326] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[2327] 1 5 10 15
[2328] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Ser Tyr
[2329] 20 25 30
[2330] Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[2331] 35 40 45
[2332] Ser Gly Ile Ser Gly Ala Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[2333] 50 55 60
[2334] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[2335] 65 70 75 80
[2336] Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[2337] 85 90 95
[2338] Ala Arg Glu Arg Asp Tyr Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
[2339] 100 105 110

[2340] Val Thr Val Ser Ser
[2341] 115
[2342] <210> 198
[2343] <211> 11
[2344] <212> PRT
[2345] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2346] <220>
[2347] <223> 式(I)
[2348] <220>
[2349] <221> misc_feature
[2350] <222> (1)..(1)
[2351] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2352] <220>
[2353] <221> misc_feature
[2354] <222> (4)..(5)
[2355] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2356] <220>
[2357] <221> misc_feature
[2358] <222> (7)..(7)
[2359] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2360] <400> 198
[2361] Xaa Thr Phe Xaa Xaa Tyr Xaa Ile His Trp Val
[2362] 1 5 10
[2363] <210> 199
[2364] <211> 12
[2365] <212> PRT
[2366] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2367] <220>
[2368] <223> 式(II)
[2369] <220>
[2370] <221> misc_feature
[2371] <222> (4)..(4)
[2372] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2373] <220>
[2374] <221> misc_feature
[2375] <222> (7)..(8)
[2376] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2377] <220>
[2378] <221> misc_feature

[2379] <222> (10)..(10)
[2380] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2381] <400> 199
[2382] Tyr Ser Ile Xaa Ser Gly Xaa Xaa Trp Xaa Trp Ile
[2383] 1 5 10
[2384] <210> 200
[2385] <211> 13
[2386] <212> PRT
[2387] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2388] <220>
[2389] <223> 式(III)
[2390] <220>
[2391] <221> misc_feature
[2392] <222> (6)..(6)
[2393] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2394] <220>
[2395] <221> misc_feature
[2396] <222> (9)..(9)
[2397] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2398] <220>
[2399] <221> misc_feature
[2400] <222> (11)..(11)
[2401] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2402] <400> 200
[2403] Phe Ser Leu Ser Thr Xaa Gly Val Xaa Val Xaa Trp Ile
[2404] 1 5 10
[2405] <210> 201
[2406] <211> 20
[2407] <212> PRT
[2408] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2409] <220>
[2410] <223> 式(IV)
[2411] <220>
[2412] <221> misc_feature
[2413] <222> (3)..(3)
[2414] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2415] <220>
[2416] <221> misc_feature
[2417] <222> (5)..(5)

[2418] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2419] <220>
[2420] <221> misc_feature
[2421] <222> (7)..(8)
[2422] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2423] <220>
[2424] <221> misc_feature
[2425] <222> (11)..(11)
[2426] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2427] <220>
[2428] <221> misc_feature
[2429] <222> (14)..(14)
[2430] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2431] <400> 201
[2432] Leu Ala Xaa Ile Xaa Trp Xaa Xaa Asp Lys Xaa Tyr Ser Xaa Ser Leu
[2433] 1 5 10 15
[2434] Lys Ser Arg Leu
[2435] 20
[2436] <210> 202
[2437] <211> 20
[2438] <212> PRT
[2439] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2440] <220>
[2441] <223> 式(V)
[2442] <220>
[2443] <221> misc_feature
[2444] <222> (3)..(3)
[2445] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2446] <220>
[2447] <221> misc_feature
[2448] <222> (5)..(6)
[2449] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2450] <400> 202
[2451] Ile Gly Xaa Ile Xaa Xaa Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ser Pro Ser Leu
[2452] 1 5 10 15
[2453] Lys Ser Arg Val
[2454] 20
[2455] <210> 203
[2456] <211> 20

[2457] <212> PRT
[2458] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2459] <220>
[2460] <223> 式(VI)
[2461] <220>
[2462] <221> misc_feature
[2463] <222> (3)..(3)
[2464] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2465] <220>
[2466] <221> misc_feature
[2467] <222> (6)..(6)
[2468] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2469] <220>
[2470] <221> misc_feature
[2471] <222> (9)..(9)
[2472] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2473] <220>
[2474] <221> misc_feature
[2475] <222> (11)..(11)
[2476] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2477] <400> 203
[2478] Ile Gly Xaa Ile Tyr Xaa Ser Gly Xaa Thr Xaa Tyr Asn Pro Ser Leu
[2479] 1 5 10 15
[2480] Lys Ser Arg Val
[2481] 20
[2482] <210> 204
[2483] <211> 21
[2484] <212> PRT
[2485] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2486] <220>
[2487] <223> 式(VII)
[2488] <220>
[2489] <221> misc_feature
[2490] <222> (3)..(3)
[2491] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2492] <220>
[2493] <221> misc_feature
[2494] <222> (7)..(7)
[2495] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸

[2496] <220>
[2497] <221> misc_feature
[2498] <222> (9)..(10)
[2499] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2500] <400> 204
[2501] Val Ser Xaa Ile Ser Gly Xaa Gly Xaa Xaa Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
[2502] 1 5 10 15
[2503] Val Lys Gly Arg Phe
[2504] 20
[2505] <210> 205
[2506] <211> 21
[2507] <212> PRT
[2508] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2509] <220>
[2510] <223> 式(VIII)
[2511] <220>
[2512] <221> misc_feature
[2513] <222> (3)..(3)
[2514] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2515] <220>
[2516] <221> misc_feature
[2517] <222> (8)..(8)
[2518] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2519] <220>
[2520] <221> misc_feature
[2521] <222> (10)..(10)
[2522] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2523] <220>
[2524] <221> misc_feature
[2525] <222> (12)..(12)
[2526] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2527] <400> 205
[2528] Ile Gly Xaa Ile Asn Pro Asn Xaa Gly Xaa Thr Xaa Tyr Ala Gln Lys
[2529] 1 5 10 15
[2530] Phe Gln Gly Arg Val
[2531] 20
[2532] <210> 206
[2533] <211> 21
[2534] <212> PRT

[2535] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2536] <220>
[2537] <223> 式(IX)
[2538] <220>
[2539] <221> misc_feature
[2540] <222> (3)..(3)
[2541] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2542] <220>
[2543] <221> misc_feature
[2544] <222> (5)..(5)
[2545] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2546] <220>
[2547] <221> misc_feature
[2548] <222> (8)..(8)
[2549] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2550] <220>
[2551] <221> misc_feature
[2552] <222> (10)..(10)
[2553] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2554] <220>
[2555] <221> misc_feature
[2556] <222> (12)..(12)
[2557] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2558] <400> 206
[2559] Ile Gly Xaa Ile Xaa Pro Ser Xaa Gly Xaa Thr Xaa Tyr Ala Gln Lys
[2560] 1 5 10 15
[2561] Phe Gln Gly Arg Val
[2562] 20
[2563] <210> 207
[2564] <211> 23
[2565] <212> PRT
[2566] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2567] <220>
[2568] <223> 式(X)
[2569] <220>
[2570] <221> misc_feature
[2571] <222> (5)..(5)
[2572] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2573] <220>

[2574] <221> misc_feature
[2575] <222> (8)..(9)
[2576] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2577] <220>
[2578] <221> misc_feature
[2579] <222> (11)..(11)
[2580] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2581] <220>
[2582] <221> misc_feature
[2583] <222> (14)..(14)
[2584] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2585] <220>
[2586] <221> misc_feature
[2587] <222> (18)..(18)
[2588] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2589] <400> 207
[2590] Val Gly Arg Ile Xaa Ser Lys Xaa Xaa Gly Xaa Thr Thr Xaa Tyr Ala
[2591] 1 5 10 15
[2592] Ala Xaa Val Lys Gly Arg Phe
[2593] 20
[2594] <210> 208
[2595] <211> 20
[2596] <212> PRT
[2597] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2598] <220>
[2599] <223> 式(XI)
[2600] <220>
[2601] <221> misc_feature
[2602] <222> (3)..(3)
[2603] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2604] <220>
[2605] <221> misc_feature
[2606] <222> (5)..(6)
[2607] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2608] <400> 208
[2609] Ile Gly Xaa Ile Xaa Xaa Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ser Pro Ser Leu
[2610] 1 5 10 15
[2611] Lys Ser Arg Val
[2612] 20

[2613] <210> 209
[2614] <211> 20
[2615] <212> PRT
[2616] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2617] <220>
[2618] <223> 式(XII)
[2619] <220>
[2620] <221> misc_feature
[2621] <222> (3)..(3)
[2622] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2623] <220>
[2624] <221> misc_feature
[2625] <222> (6)..(6)
[2626] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2627] <220>
[2628] <221> misc_feature
[2629] <222> (9)..(9)
[2630] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2631] <220>
[2632] <221> misc_feature
[2633] <222> (11)..(11)
[2634] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2635] <400> 209
[2636] Ile Gly Xaa Ile Tyr Xaa Ser Gly Xaa Thr Xaa Tyr Asn Pro Ser Leu
[2637] 1 5 10 15
[2638] Lys Ser Arg Val
[2639] 20
[2640] <210> 210
[2641] <211> 23
[2642] <212> PRT
[2643] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2644] <220>
[2645] <223> 式(XIII)
[2646] <220>
[2647] <221> misc_feature
[2648] <222> (5)..(5)
[2649] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2650] <220>
[2651] <221> misc_feature

[2652] <222> (8)..(9)
[2653] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2654] <220>
[2655] <221> misc_feature
[2656] <222> (11)..(11)
[2657] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2658] <220>
[2659] <221> misc_feature
[2660] <222> (18)..(18)
[2661] <223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
[2662] <400> 210
[2663] Val Gly Arg Ile Xaa Ser Lys Xaa Xaa Gly Xaa Thr Thr Glu Tyr Ala
[2664] 1 5 10 15
[2665] Ala Xaa Val Lys Gly Arg Phe
[2666] 20
[2667] <210> 211
[2668] <211> 23
[2669] <212> DNA
[2670] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2671] <220>
[2672] <223> 引物F_1999
[2673] <400> 211
[2674] cgtttgtcct gtgcagcttc cgg 23
[2675] <210> 212
[2676] <211> 25
[2677] <212> DNA
[2678] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2679] <220>
[2680] <223> 引物R_1999
[2681] <400> 212
[2682] cgaggccctt acccggggcc tgacg 25
[2683] <210> 213
[2684] <211> 21
[2685] <212> DNA
[2686] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2687] <220>
[2688] <223> 引物F_2003
[2689] <400> 213
[2690] ccgggtaagg gcctcgagtg g 21

[2691] <210> 214
[2692] <211> 33
[2693] <212> DNA
[2694] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2695] <220>
[2696] <223> 引物R_2003
[2697] <400> 214
[2698] gagcacgtcc gttcgaattg tcgcgactta tag 33
[2699] <210> 215
[2700] <211> 45
[2701] <212> DNA
[2702] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2703] <220>
[2704] <223> 引物S1089
[2705] <400> 215
[2706] acaactgaac agcttaagag ctgaggacac tgccgtctat tattg 45
[2707] <210> 216
[2708] <211> 32
[2709] <212> DNA
[2710] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2711] <220>
[2712] <223> 引物S1090
[2713] <400> 216
[2714] gaggagacgg tgactagtgt tccttgaccc ca 32
[2715] <210> 217
[2716] <211> 34
[2717] <212> DNA
[2718] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2719] <220>
[2720] <223> 引物F_2898
[2721] <400> 217
[2722] tacttatgta ggcgatcggg tcaccatcac ctgc 34
[2723] <210> 218
[2724] <211> 28
[2725] <212> DNA
[2726] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2727] <220>
[2728] <223> 引物R_2898
[2729] <400> 218

[2730] cggagctttt cctggtttct gttgatac 28

[2731] <210> 219

[2732] <211> 22

[2733] <212> DNA

[2734] <213> 人工序列(artificial sequence)

[2735] <220>

[2736] <223> 引物F_2013

[2737] <400> 219

[2738] gaaaccagga aaagctccga ag 22

[2739] <210> 220

[2740] <211> 29

[2741] <212> DNA

[2742] <213> 人工序列(artificial sequence)

[2743] <220>

[2744] <223> 引物R_2013

[2745] <400> 220

[2746] cgtcccggaa ccggatccag agaagcgag 29

[2747] <210> 221

[2748] <211> 35

[2749] <212> DNA

[2750] <213> 人工序列(artificial sequence)

[2751] <220>

[2752] <223> 引物F2929

[2753] <400> 221

[2754] accatcagca gtctgcagcc ggaagacttc gcaac 35

[2755] <210> 222

[2756] <211> 27

[2757] <212> DNA

[2758] <213> 人工序列(artificial sequence)

[2759] <220>

[2760] <223> 引物R2929

[2761] <400> 222

[2762] gatctccacc ttggtaccct gtccgaa 27

[2763] <210> 223

[2764] <211> 16

[2765] <212> PRT

[2766] <213> 人工序列(artificial sequence)

[2767] <220>

[2768] <223> HVR-H3序列1

[2769] <400> 223

[2770] Ala Arg Asp Leu Gly Gly Tyr Tyr Gly Trp Gly Arg Tyr Phe Asp Tyr

[2771] 1 5 10 15

[2772] <210> 224

[2773] <211> 11

[2774] <212> PRT

[2775] <213> 人工序列(artificial sequence)

[2776] <220>

[2777] <223> HVR-H3序列2

[2778] <400> 224

[2779] Ala Arg Asp Leu Thr Ala Gly Gly Phe Asp Tyr

[2780] 1 5 10

[2781] <210> 225

[2782] <211> 11

[2783] <212> PRT

[2784] <213> 人工序列(artificial sequence)

[2785] <220>

[2786] <223> HVR-H3序列3

[2787] <400> 225

[2788] Ala Arg Asp Pro Gly Val Gly Gly Phe Asp Val

[2789] 1 5 10

[2790] <210> 226

[2791] <211> 12

[2792] <212> PRT

[2793] <213> 人工序列(artificial sequence)

[2794] <220>

[2795] <223> HVR-H3序列4

[2796] <400> 226

[2797] Ala Arg Asp Pro Gly Tyr Thr Trp Tyr Phe Asp Val

[2798] 1 5 10

[2799] <210> 227

[2800] <211> 12

[2801] <212> PRT

[2802] <213> 人工序列(artificial sequence)

[2803] <220>

[2804] <223> HVR-H3序列5

[2805] <400> 227

[2806] Ala Arg Asp Tyr Gly Asp Tyr Tyr Gly Phe Asp Tyr

[2807] 1 5 10

[2808] <210> 228
[2809] <211> 12
[2810] <212> PRT
[2811] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2812] <220>
[2813] <223> HVR-H3序列6
[2814] <400> 228
[2815] Ala Arg Asp Tyr Gly Tyr Thr Trp Tyr Phe Asp Val
[2816] 1 5 10
[2817] <210> 229
[2818] <211> 10
[2819] <212> PRT
[2820] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2821] <220>
[2822] <223> HVR-H3序列7
[2823] <400> 229
[2824] Ala Arg Asp Tyr Tyr Gly Asp Phe Asp Tyr
[2825] 1 5 10
[2826] <210> 230
[2827] <211> 15
[2828] <212> PRT
[2829] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2830] <220>
[2831] <223> HVR-H3序列8
[2832] <400> 230
[2833] Ala Arg Glu Gly Ser Asp Ala Val Leu Gly Asp Trp Phe Ala Tyr
[2834] 1 5 10 15
[2835] <210> 231
[2836] <211> 15
[2837] <212> PRT
[2838] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2839] <220>
[2840] <223> HVR-H3序列9
[2841] <400> 231
[2842] Ala Arg Glu Gly Ser Asp Thr Val Leu Gly Asp Trp Phe Ala Tyr
[2843] 1 5 10 15
[2844] <210> 232
[2845] <211> 12
[2846] <212> PRT

[2847] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2848] <220>
[2849] <223> HVR-H3序列10
[2850] <400> 232
[2851] Ala Arg Glu Arg Tyr Gly Ser Tyr Tyr Phe Asp Tyr
[2852] 1 5 10
[2853] <210> 233
[2854] <211> 15
[2855] <212> PRT
[2856] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2857] <220>
[2858] <223> HVR-H3序列11
[2859] <400> 233
[2860] Ala Arg Glu Arg Tyr Tyr Gly Ser Thr Asp Tyr Ala Phe Asp Tyr
[2861] 1 5 10 15
[2862] <210> 234
[2863] <211> 10
[2864] <212> PRT
[2865] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2866] <220>
[2867] <223> HVR-H3序列12
[2868] <400> 234
[2869] Ala Arg Glu Ser Tyr Tyr Ala Phe Asp Tyr
[2870] 1 5 10
[2871] <210> 235
[2872] <211> 12
[2873] <212> PRT
[2874] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2875] <220>
[2876] <223> HVR-H3序列13
[2877] <400> 235
[2878] Ala Arg Gly Ala Gly Val His Tyr Ala Leu Asp Tyr
[2879] 1 5 10
[2880] <210> 236
[2881] <211> 9
[2882] <212> PRT
[2883] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2884] <220>
[2885] <223> HVR-H3序列14

[2886] <400> 236
[2887] Ala Arg Gly Phe Asp Gly Phe His Tyr
[2888] 1 5
[2889] <210> 237
[2890] <211> 11
[2891] <212> PRT
[2892] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2893] <220>
[2894] <223> HVR-H3序列15
[2895] <400> 237
[2896] Ala Arg Gly Phe Tyr Gly Gly Ala Leu Asp Val
[2897] 1 5 10
[2898] <210> 238
[2899] <211> 11
[2900] <212> PRT
[2901] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2902] <220>
[2903] <223> HVR-H3序列16
[2904] <400> 238
[2905] Ala Arg Gly Gly Gly Gly Tyr Tyr Phe Asp Val
[2906] 1 5 10
[2907] <210> 239
[2908] <211> 10
[2909] <212> PRT
[2910] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2911] <220>
[2912] <223> HVR-H3序列17
[2913] <400> 239
[2914] Ala Arg Gly Gly Gly Leu Gly Phe Asp Tyr
[2915] 1 5 10
[2916] <210> 240
[2917] <211> 10
[2918] <212> PRT
[2919] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2920] <220>
[2921] <223> HVR-H3序列18
[2922] <400> 240
[2923] Ala Arg Gly Gly Leu Gly Pro Phe Asp Ile
[2924] 1 5 10

[2925] <210> 241
[2926] <211> 15
[2927] <212> PRT
[2928] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2929] <220>
[2930] <223> HVR-H3序列19
[2931] <400> 241
[2932] Ala Arg Gly Gly Ser Asp Thr Val Ile Gly Asp Trp Phe Ala Tyr
[2933] 1 5 10 15
[2934] <210> 242
[2935] <211> 10
[2936] <212> PRT
[2937] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2938] <220>
[2939] <223> HVR-H3序列20
[2940] <400> 242
[2941] Ala Arg Gly Gly Val Gly Pro Phe Asp Ile
[2942] 1 5 10
[2943] <210> 243
[2944] <211> 11
[2945] <212> PRT
[2946] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2947] <220>
[2948] <223> HVR-H3序列21
[2949] <400> 243
[2950] Ala Arg Gly Gly Tyr Gly Gly Tyr Leu Asp Val
[2951] 1 5 10
[2952] <210> 244
[2953] <211> 11
[2954] <212> PRT
[2955] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2956] <220>
[2957] <223> HVR-H3序列22
[2958] <400> 244
[2959] Ala Arg Gly Leu Ser Ser Gly Tyr Phe Asp Tyr
[2960] 1 5 10
[2961] <210> 245
[2962] <211> 9
[2963] <212> PRT

[2964] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2965] <220>
[2966] <223> HVR-H3序列23
[2967] <400> 245
[2968] Ala Arg Gly Ser Trp Tyr Phe Asp Val
[2969] 1 5
[2970] <210> 246
[2971] <211> 9
[2972] <212> PRT
[2973] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2974] <220>
[2975] <223> HVR-H3序列24
[2976] <400> 246
[2977] Ala Arg Gly Thr Arg Gly Leu Asp Tyr
[2978] 1 5
[2979] <210> 247
[2980] <211> 10
[2981] <212> PRT
[2982] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2983] <220>
[2984] <223> HVR-H3序列25
[2985] <400> 247
[2986] Ala Arg Gly Tyr Ser Asp Tyr Phe Asp Tyr
[2987] 1 5 10
[2988] <210> 248
[2989] <211> 12
[2990] <212> PRT
[2991] <213> 人工序列(artificial sequence)
[2992] <220>
[2993] <223> HVR-H3序列26
[2994] <400> 248
[2995] Ala Arg Gly Tyr Tyr Tyr Gly Arg Ala Phe Asp Tyr
[2996] 1 5 10
[2997] <210> 249
[2998] <211> 13
[2999] <212> PRT
[3000] <213> 人工序列(artificial sequence)
[3001] <220>
[3002] <223> HVR-H3序列27

[3003] <400> 249
[3004] Ala Arg His Ser Tyr Tyr Gly Val Gly Asp Phe Asp Tyr
[3005] 1 5 10
[3006] <210> 250
[3007] <211> 9
[3008] <212> PRT
[3009] <213> 人工序列(artificial sequence)
[3010] <220>
[3011] <223> HVR-H3序列28
[3012] <400> 250
[3013] Ala Arg Leu Phe Glu Gly Phe Pro Tyr
[3014] 1 5
[3015] <210> 251
[3016] <211> 9
[3017] <212> PRT
[3018] <213> 人工序列(artificial sequence)
[3019] <220>
[3020] <223> HVR-H3序列29
[3021] <400> 251
[3022] Ala Arg Leu Tyr Asp Tyr Phe Ala Tyr
[3023] 1 5
[3024] <210> 252
[3025] <211> 10
[3026] <212> PRT
[3027] <213> 人工序列(artificial sequence)
[3028] <220>
[3029] <223> HVR-H3序列30
[3030] <400> 252
[3031] Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Ala Leu Asp Tyr
[3032] 1 5 10
[3033] <210> 253
[3034] <211> 12
[3035] <212> PRT
[3036] <213> 人工序列(artificial sequence)
[3037] <220>
[3038] <223> HVR-H3序列31
[3039] <400> 253
[3040] Ala Arg Ser Pro Tyr Tyr Tyr Gly Val Phe Asp Tyr
[3041] 1 5 10

[3042] <210> 254
[3043] <211> 9
[3044] <212> PRT
[3045] <213> 人工序列(artificial sequence)
[3046] <220>
[3047] <223> HVR-H3序列32
[3048] <400> 254
[3049] Ala Arg Ser Tyr Val Tyr Phe Asp Tyr
[3050] 1 5
[3051] <210> 255
[3052] <211> 19
[3053] <212> PRT
[3054] <213> 人工序列(artificial sequence)
[3055] <220>
[3056] <223> HVR-H3序列33
[3057] <400> 255
[3058] Ala Arg Asp Gly Leu Gly Leu Arg Gly Val Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
[3059] 1 5 10 15
[3060] Leu Asp Val
[3061] <210> 256
[3062] <211> 20
[3063] <212> PRT
[3064] <213> 人工序列(artificial sequence)
[3065] <220>
[3066] <223> HVR-H3序列34
[3067] <400> 256
[3068] Ala Arg Val Gly Glu Ser Gly Gly Ile Glu Ser Pro Tyr Tyr Tyr Tyr
[3069] 1 5 10 15
[3070] Gly Leu Asp Val
[3071] 20
[3072] <210> 257
[3073] <211> 15
[3074] <212> PRT
[3075] <213> 人工序列(artificial sequence)
[3076] <220>
[3077] <223> HVR-L1序列1
[3078] <400> 257
[3079] Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Phe Tyr Gly Ile Ser Phe Leu Pro
[3080] 1 5 10 15

[3081] <210> 258
[3082] <211> 15
[3083] <212> PRT
[3084] <213> 人工序列(artificial sequence)
[3085] <220>
[3086] <223> HVR-L1序列2
[3087] <400> 258
[3088] Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Phe Tyr Gly Ile Ser Phe Leu Ala
[3089] 1 5 10 15
[3090] <210> 259
[3091] <211> 15
[3092] <212> PRT
[3093] <213> 人工序列(artificial sequence)
[3094] <220>
[3095] <223> HVR-L1序列3
[3096] <400> 259
[3097] Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Phe Tyr Gly Lys Ser Phe Leu Asp
[3098] 1 5 10 15
[3099] <210> 260
[3100] <211> 10
[3101] <212> PRT
[3102] <213> 人工序列(artificial sequence)
[3103] <220>
[3104] <223> HVR-L1序列4
[3105] <400> 260
[3106] Ser Ala Ser Ser Arg Val Gly Ser Val Tyr
[3107] 1 5 10
[3108] <210> 261
[3109] <211> 10
[3110] <212> PRT
[3111] <213> 人工序列(artificial sequence)
[3112] <220>
[3113] <223> HVR-L1序列5
[3114] <400> 261
[3115] Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser His Val Phe
[3116] 1 5 10
[3117] <210> 262
[3118] <211> 11
[3119] <212> PRT

[3120] <213> 人工序列(artificial sequence)
[3121] <220>
[3122] <223> HVR-L1序列6
[3123] <400> 262
[3124] Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr Leu Ala
[3125] 1 5 10
[3126] <210> 263
[3127] <211> 11
[3128] <212> PRT
[3129] <213> 人工序列(artificial sequence)
[3130] <220>
[3131] <223> HVR-L1序列7
[3132] <400> 263
[3133] Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala
[3134] 1 5 10
[3135] <210> 264
[3136] <211> 11
[3137] <212> PRT
[3138] <213> 人工序列(artificial sequence)
[3139] <220>
[3140] <223> HVR-L1序列8
[3141] <400> 264
[3142] Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
[3143] 1 5 10
[3144] <210> 265
[3145] <211> 11
[3146] <212> PRT
[3147] <213> 人工序列(artificial sequence)
[3148] <220>
[3149] <223> HVR-L3序列1
[3150] <400> 265
[3151] Phe Cys Leu Gln Gly Thr His Phe Pro Trp Thr
[3152] 1 5 10
[3153] <210> 266
[3154] <211> 11
[3155] <212> PRT
[3156] <213> 人工序列(artificial sequence)
[3157] <220>
[3158] <223> HVR-L3序列2

[3159] <400> 266
[3160] Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Arg Thr Pro Phe Thr
[3161] 1 5 10
[3162] <210> 267
[3163] <211> 11
[3164] <212> PRT
[3165] <213> 人工序列(artificial sequence)
[3166] <220>
[3167] <223> HVR-L3序列3
[3168] <400> 267
[3169] Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Trp Pro Trp Thr
[3170] 1 5 10
[3171] <210> 268
[3172] <211> 11
[3173] <212> PRT
[3174] <213> 人工序列(artificial sequence)
[3175] <220>
[3176] <223> HVR-L3序列4
[3177] <400> 268
[3178] Tyr Cys Gln Gln Tyr Thr His Asp Pro Val Thr
[3179] 1 5 10
[3180] <210> 269
[3181] <211> 11
[3182] <212> PRT
[3183] <213> 人工序列(artificial sequence)
[3184] <220>
[3185] <223> HVR-L3序列5
[3186] <400> 269
[3187] Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Arg Ile Pro Pro Thr
[3188] 1 5 10
[3189] <210> 270
[3190] <211> 11
[3191] <212> PRT
[3192] <213> 人工序列(artificial sequence)
[3193] <220>
[3194] <223> HVR-L3序列6
[3195] <400> 270
[3196] Tyr Cys Gln His His Tyr Gly Thr Pro Leu Thr
[3197] 1 5 10

[3198] <210> 271
[3199] <211> 11
[3200] <212> PRT
[3201] <213> 人工序列(artificial sequence)
[3202] <220>
[3203] <223> HVR-L3序列7
[3204] <400> 271
[3205] Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr
[3206] 1 5 10
[3207] <210> 272
[3208] <211> 11
[3209] <212> PRT
[3210] <213> 人工序列(artificial sequence)
[3211] <220>
[3212] <223> HVR-L3序列8
[3213] <400> 272
[3214] Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Thr
[3215] 1 5 10
[3216] <210> 273
[3217] <211> 11
[3218] <212> PRT
[3219] <213> 人工序列(artificial sequence)
[3220] <220>
[3221] <223> HVR-L3序列9
[3222] <400> 273
[3223] Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Leu Thr
[3224] 1 5 10
[3225] <210> 274
[3226] <211> 11
[3227] <212> PRT
[3228] <213> 人工序列(artificial sequence)
[3229] <220>
[3230] <223> HVR-L3序列10
[3231] <400> 274
[3232] Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Thr Thr Pro Leu Thr
[3233] 1 5 10

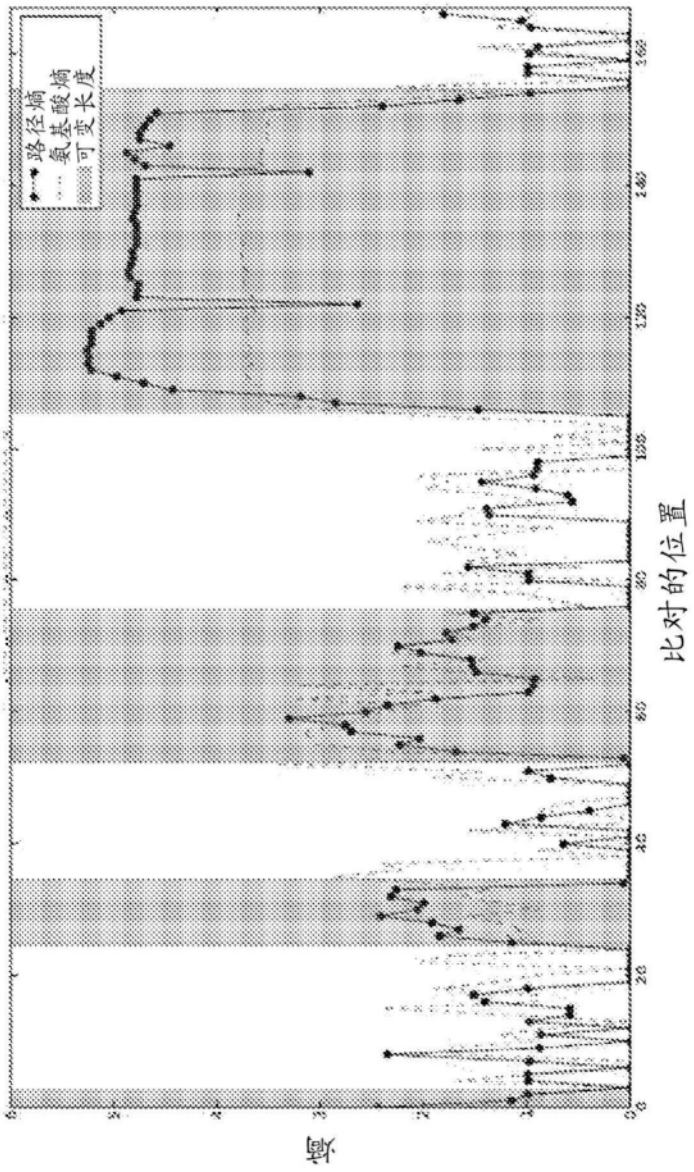


图1A

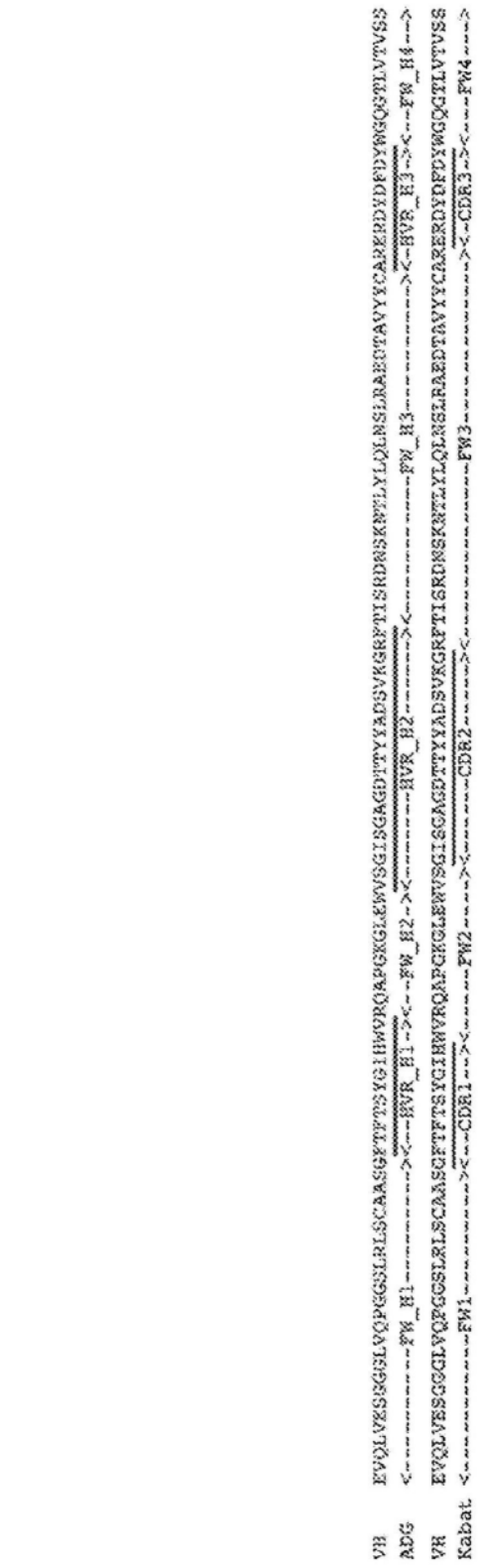

VH EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYGIHWVRQAPGKGLEWVSGIISGAGDTTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARERDYDFDYWGQGTLVTVSS
ADG <----------FW_H1----------><---HVR_H1--><---FW_H2--><---------HVR_H2---------><----------FW_H3----------><-HVR_H3-><---FW_H4--->
VH EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYGIHWVRQAPGKGLEWVSGIISGAGDTTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARERDYDFDYWGQGTLVTVSS
Kabat <----------FW1----------><---CDR1---><-------FW2------><--------CDR2--------><----------FW3----------><-CDR3-><---FW4--->
VH EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYGIHWVRQAPGKGLEWVSGIISGAGDTTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARERDYDFDYWGQGTLVTVSS

图1B

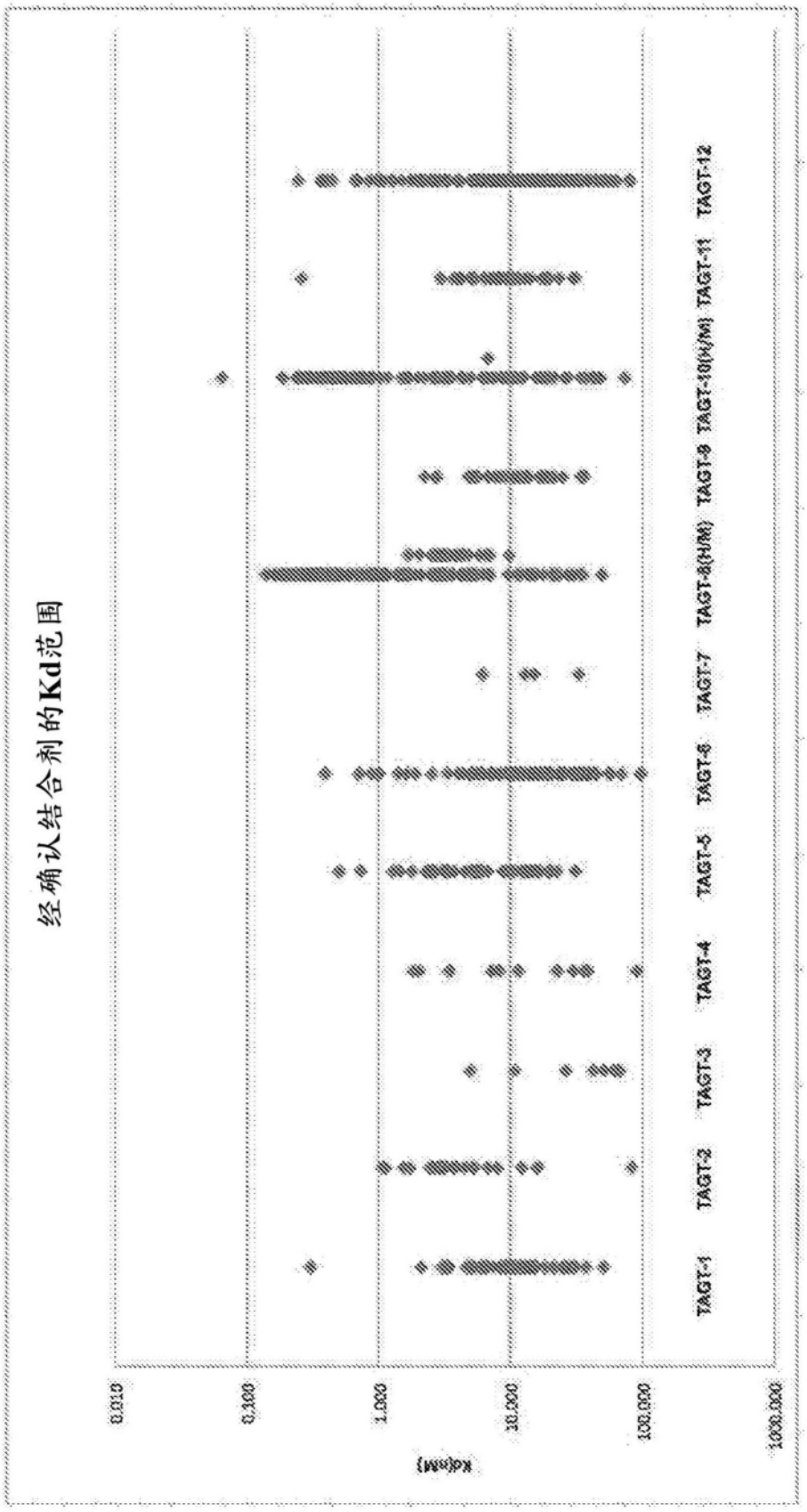

经确认结合剂的Kd范围
Kd(nM)
0.010
0.100
1.000
10.000
100.000
1000.000
TAGT-1
TAGT-2
TAGT-3
TAGT-4
TAGT-5
TAGT-6
TAGT-7
TAGT-8(H/M)
TAGT-9
TAGT-10(H/M)
TAGT-11
TAGT-12

图2A

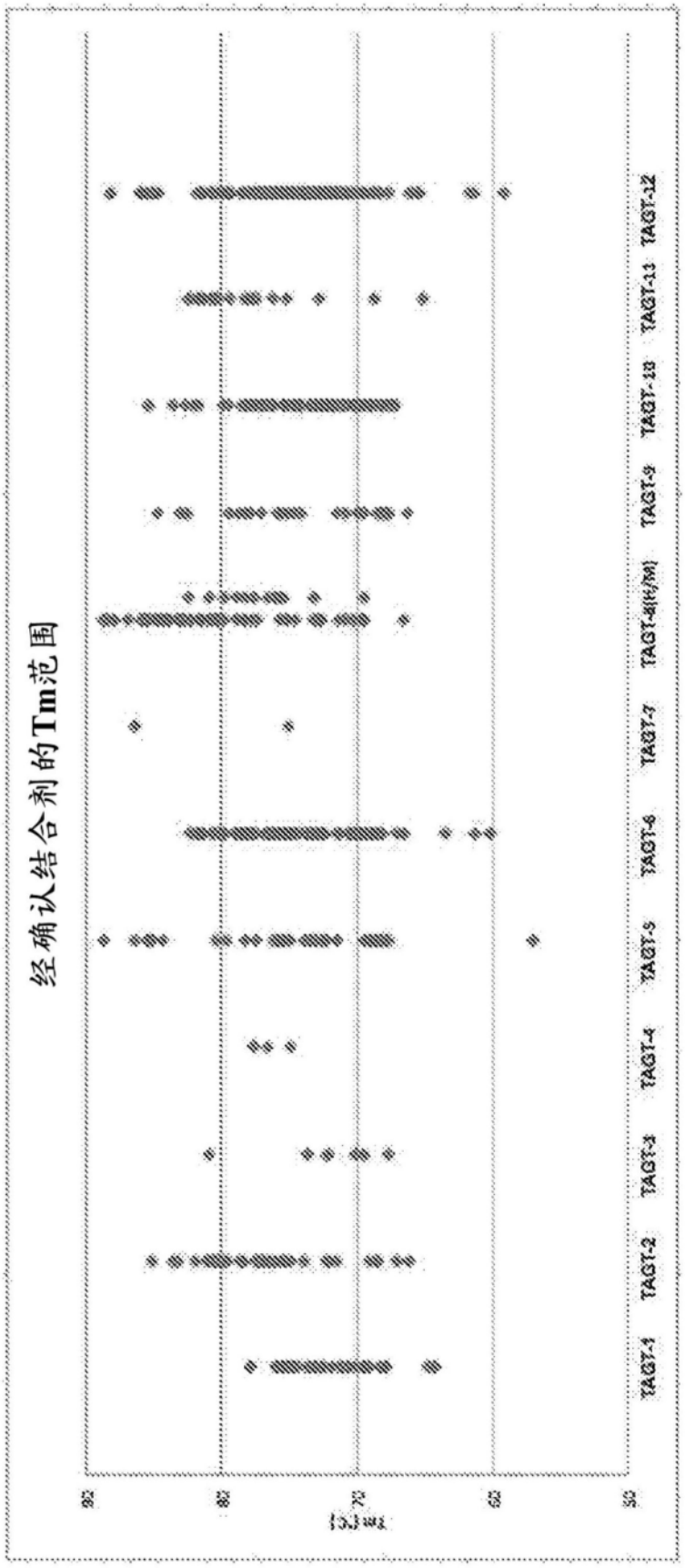

经确认结合剂的Tm范围
TAGT-1
TAGT-2
TAGT-3
TAGT-4
TAGT-5
TAGT-6
TAGT-7
TAGT-8
TAGT-9
TAGT-10
TAGT-11
TAGT-12

图2B