



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201742636 A

(43)公開日：中華民國 106 (2017) 年 12 月 16 日

(21)申請案號：106118940

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 06 月 07 日

(51)Int. Cl.：

*A61K47/66 (2017.01)**A61K47/68 (2017.01)**A61K39/00 (2006.01)**A61P35/00 (2006.01)*

(30)優先權：2016/06/07

美國

62/346,854

2016/12/09

美國

62/432,299

(71)申請人：宏觀基因股份有限公司 (美國) MACROGENICS, INC. (US)

美國

(72)發明人：波維尼 愛利歐 BONVINI, EZIO (US)；寇尼格 史考特 KOENIG, SCOTT (US)；

強生 萊斯利 JOHNSON, LESLIE S. (US)；摩爾 保羅 MOORE, PAUL A. (GB)；

安德森 瑞夫佛曼 ALDERSON, RALPH FROMAN (US)

(74)代理人：李文賢；盧建川

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：38 項 圖式數：11 共 240 頁

(54)名稱

聯合療法

COMBINATION THERAPY

(57)摘要

本發明涉及用於治療癌症和病原體相關疾病的聯合療法，其包括施用：(1)能夠結合 PD-1 或 PD-1 的天然配體的分子(例如，雙抗體、ScFv、抗體、TandAb 等)，和(2)能夠介導對表達疾病抗原的靶細胞(例如，癌細胞或病原體感染的細胞等)的重定向殺傷的分子(例如，雙抗體、BiTe、雙特異性抗體、CAR 等)。本發明尤其涉及其中能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的分子是雙特異性結合分子的實施方式，其中所述雙特異性結合分子包含能夠免疫特異性結合效應細胞的細胞表面分子的表位的第一表位結合位點和能夠免疫特異性結合這類靶細胞(即，疾病抗原如癌抗原或病原體相關抗原)的表位的第二表位結合位點。本發明還涉及包含這類分子(一種或多種)的藥物組合物。

The present invention is directed to a combination therapy for the treatment of cancer and pathogen-associated diseases, that comprises the administration of: (1) a molecule (e.g., a diabody, an ScFv, an antibody, a TandAb, etc.) capable of binding PD-1 or a natural ligand of PD-1, and (2) a molecule (e.g., a diabody, a BiTe, a bispecific antibody, a CAR, etc.) capable of mediating the redirected killing of a target cell (e.g., a cancer cell or a pathogen-infected cell, etc.) expressing a Disease Antigen. The invention particularly concerns the embodiment in which the molecule capable of mediating the redirected killing of the target cell is a bispecific binding molecule that comprises a first epitope-binding site capable of immunospecifically binding an epitope of a cell surface molecule of an effector cell and a second epitope-binding site that is capable of immunospecifically binding an epitope of such target cells (i.e., a Disease Antigen such as a Cancer Antigen or a Pathogen-Associated Antigen). The present invention is also directed to pharmaceutical compositions that comprise such molecule(s).

指定代表圖：

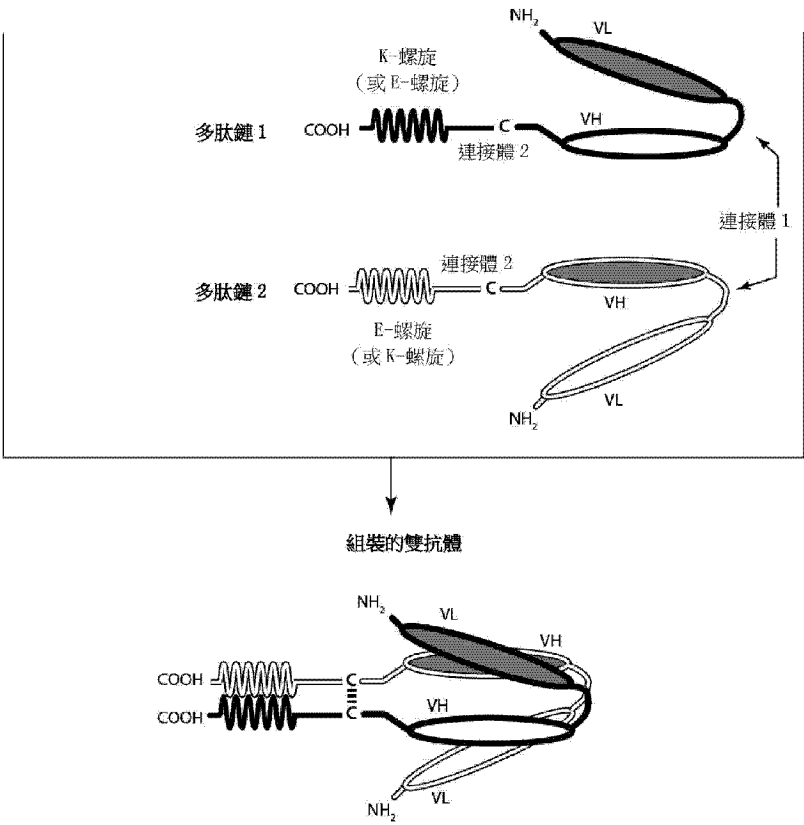


圖 1

【發明說明書】

【中文發明名稱】 聯合療法

【英文發明名稱】 Combination Therapy

【技術領域】

【0001】 [相關申請的交叉引用]

【0002】 本申請主張美國專利申請案第62/346,854號(於2016年6月7日提交；申請中)和第62/432,299號(於2016年12月9日提交；申請中)的優先權，每一申請案通過引用以其整體併入本文。

【0003】 [序列表的參考]

【0004】 根據37 C.F.R. 1.821以及下面的條款，本申請包括一個或多個序列列表，其以電腦-可讀介質(檔案名：1301_0142TW_ST25.txt，2017年6月5日創建，並且大小為223,132位元組)公開，該檔通過引用以其整體併入本文。

【0005】 本發明涉及用於治療癌症和病原體相關疾病的聯合療法，其包括施用：(1)能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子(例如，雙抗體、ScFv、抗體、TandAb等)，和(2)能夠介導對表達疾病抗原的靶細胞(例如，癌細胞或病原體感染的細胞等)的重定向殺傷的分子(例如，雙抗體、BiTe、雙特異性抗體、CAR等)。本發明尤其涉及其中能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的分子是雙特異性結合分子的實施方式，其中所述雙特異性結合分子包含能夠免疫特異性結合效應細胞的細胞表面分子的表位的第一表位結合位點和能夠免疫特異性結合這種靶細胞(即，疾病抗原如癌抗原或病原體相關抗原)的表位的第二表位結合位點。本發明還涉及包含這類分子(一種或多種)的藥物組合物。

【先前技術】

【0006】 I. 哺乳動物免疫系統

哺乳動物免疫系統用作抵抗各種病況的防禦，所述病況包括，例如損傷、感染和瘤形成。人類和其他哺乳動物發展對病原體、外來物質和癌抗原的免疫學應答的效率取決於兩個特徵：免疫應答對抗原識別的精緻特異性，以及在以相同抗原再啟動後允許更快和更有力的應答的免疫記憶(Portolés, P.等人, (2009)

“The TCR/CD3 Complex: Opening the Gate to Successful Vaccination,” Current Pharmaceutical Design 15:3290-3300；Guy, C.S.等人, (2009) “Organization of Proximal Signal Initiation at the TCR:CD3 Complex,” Immunol Rev. 232(1):7-21；Topalian, S.L.等人, (2015) “Immune Checkpoint Blockade: A Common Denominator Approach to Cancer Therapy,” Cancer Cell 27:450-461)。

【0007】 在健康的個體中，免疫系統處於靜態，其受到各種抑制性受體和受體配體的庫(repertoire)的抑制。在識別癌抗原、微生物病原體或過敏原後，一系列啟動受體和受體配體被觸發以誘導免疫系統的啟動。這類啟動引起巨噬細胞、天然殺傷(NK)細胞和抗原特異性細胞毒性T-細胞的啟動，並且促進各種細胞因數的釋放，其中全部用來反抗感知的對受試者健康的威脅(Dong, C.等人, (2003) “Immune Regulation by Novel Costimulatory Molecules,” Immunolog. Res. 28(1):39-48；Viglietta, V. 等人，(2007) “Modulating Co-Stimulation,” Neurotherapeutics 4:666-675；Korman, A.J.等人, (2007) “Checkpoint Blockade in Cancer Immunotherapy,” Adv. Immunol. 90:297-339)。當抗衡的抑制性免疫信號強過啟動免疫信號時，免疫系統能夠返回至其正常的靜態。

【0008】 因此，可認為癌症的疾病狀態(以及甚至傳染病的疾病狀態)反映了未能適當啟動受試者的免疫系統。這種失敗可反映啟動免疫信號的不充分的呈遞，或其可反映減少受試者中的抑制性免疫信號的能力不足。在一些情況中，研究者已經確定癌細胞能夠拉攏(co-opt)免疫系統以避免被免疫系統檢測到(Topalian, S.L.等人, (2015) “Immune Checkpoint Blockade: A Common Denominator Approach to Cancer Therapy,” Cancer Cell 27:450-461)。

【0009】 哺乳動物免疫系統通過兩個分開但是相關的系統：體液免疫系統和細胞免疫系統介導。通常來講，體液系統通過由**B細胞**產生的可溶分子(抗體或免疫球蛋白)介導。這類分子具有結合和中和已被識別為對於身體是外來的抗原的能力。細胞免疫系統涉及起到各種治療作用的稱為“**T細胞**”的某些細胞的動員。T細胞是在胸腺中成熟並且在組織、淋巴系統和循環系統間迴圈的淋巴細胞。響應於外來結構(抗原)的存在和識別，T細胞成為“**啟動的**”以啟動免疫應答。在許多情況中，由於瘤形成或感染，這些外來抗原在宿主細胞上表達。雖然T細胞本身不分泌抗體，但是它們通常是為第二類淋巴細胞**B細胞**(其衍生自骨髓)進行抗體分泌所必需的。關鍵的是，T細胞具備特別的免疫特異性，從而能夠區分一種抗原與另一種抗原)。

【0010】 兩種相互作用對於T細胞啟動是必需的(Viglietta, V.等人, (2007) “Modulating Co-Stimulation,” Neurotherapeutics 4:666-675；Korman, A.J.等人, (2007) “Checkpoint Blockade in Cancer Immunotherapy,” Adv. Immunol. 90:297-339)。在第一種相互作用中，細胞必須展示結合至細胞的I類或II類主要組織相容性複合體(“**MHC**”)的相關靶抗原，以使其可結合幼稚T淋巴細胞的T細胞受體(“**TCR**”)。雖然幾乎所有細胞類型皆可用作抗原呈遞細胞，但是一些細胞

如巨噬細胞、B細胞和樹突細胞專門呈遞外源性抗原因而是“專業的”“抗原抗原呈遞細胞”。結合至抗原呈遞細胞的MHC I類分子的抗原的免疫檢測導致產生細胞毒性T細胞。結合至抗原呈遞細胞的MHC II類分子的抗原的免疫檢測導致產生細胞毒性T細胞。在第二種相互作用中，抗原呈遞細胞的配體必須結合T細胞的共受體 (Dong, C. 等人, (2003) “Immune Regulation by Novel Costimulatory Molecules,” Immunolog. Res. 28(1):39-48 ; Lindley, P.S.等人, (2009) “The Clinical Utility Of Inhibiting CD28-Mediated Costimulation,” Immunol. Rev. 229:307-321) 。經歷兩種刺激信號的T細胞然後能夠響應細胞因數(如白介素-2和白介素-12)。

【0011】 在TCR接合(TCR engagement)期間沒有兩種共同刺激信號的情況下，T細胞進入功能上無應答狀態，其稱作克隆無反應性(Khawli, L.A.等人, (2008) “Cytokine, Chemokine, and Co-Stimulatory Fusion Proteins for the Immunotherapy of Solid Tumors,” Exp. Pharmacol. 181:291-328)。在病理狀態中，T細胞是各種器官特異性自身免疫疾病，如I型糖尿病、類風濕性關節炎和多發性硬化症的關鍵作用因素(Dong, C.等人, (2003) “Immune Regulation by Novel Costimulatory Molecules,” Immunolog. Res. 28(1):39-48)。

【0012】 該免疫“檢查點”途徑在維持自身耐受性(即，防止受試者對他/她自己的細胞進行免疫系統攻擊(“自身免疫”反應))中並且在抗微生物或抗過敏免疫應答期間限制附屬組織損傷中是重要的。在T細胞的接觸導致產生兩種所需信號中的僅一種的情況中，T細胞不會啟動並且適應性免疫應答不會發生。因此，T細胞啟動的“兩種信號”機制為免疫系統避免不期望的應答提供一種手段，所述不期望的應答如對以其他方式導致對受試者的自身細胞的免疫系統攻擊(“自身免疫”反應)的自身抗原的應答。

II. 細胞免疫系統的細胞表面分子

A · CD3、CD4和CD8

【0013】 免疫系統的細胞特徵在於其專門的糖蛋白細胞表面分子的表達。這類分子和其它細胞分子之間的相互作用觸發、維持或阻抑免疫應答。具體的，所有T細胞特徵在於其**CD3**的表達。CD3是包括四條不同鏈的T細胞共受體(Wucherpfennig, K.W.等人, (2010) “Structural Biology Of The T-Cell Receptor: Insights Into Receptor Assembly, Ligand Recognition, And Initiation Of Signaling,” Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2(4):a005140 ; 1-14頁 ; Chetty, R.等人, (1994) “CD3: Structure, Function, And Role Of Immunostaining In Clinical Practice,” J. Pathol. 173(4):303-307 ; Guy, C.S.等人, (2009) “Organization Of Proximal Signal Initiation At The TCR:CD3 Complex,” Immunol. Rev. 232(1):7-21)。

【0014】 在哺乳動物中，複合物包含CD3 γ 鏈、CD3 δ 鏈和兩條CD3 ϵ 鏈。這些鏈與TCR締合，以在T淋巴細胞中產生啟動信號(Smith-Garvin, J.E.等人, (2009) “T cell Activation,” Annu. Rev. Immunol. 27:591-619)。在沒有CD3的情況下，TCR不正確組裝並且被降解(Thomas, S.等人, (2010) “Molecular Immunology Lessons From Therapeutic T-Cell Receptor Gene Transfer,” Immunology 129(2):170–177)。發現CD3結合至所有成熟T細胞的膜，並且實際上不結合其它細胞類型的膜(參見，Janeway, C.A.等人, (2005) 在以下中：IMMUNOBIOLOGY: THE IMMUNE SYSTEM IN HEALTH AND DISEASE,”第六版, Garland Science Publishing, NY, 214- 216頁 ; Sun, Z. J.等人, (2001) “Mechanisms Contributing To T Cell Receptor Signaling And Assembly Revealed By The Solution Structure Of An Ectodomain Fragment Of The CD3 ϵ : γ Heterodimer,” Cell 105(7):913-923 ; Kuhns, M.S. 等人, (2006)

“Deconstructing The Form And Function Of The TCR/CD3 Complex,” Immunity. 2006 Feb;24(2):133-139)。

【0015】 T細胞上的TCR複合物的恆定CD3ε信號組分已經被用作靶標以迫使在T細胞和癌細胞之間形成免疫突觸。CD3和腫瘤抗原的共接合啟動T細胞，觸發表達腫瘤抗原的癌細胞的裂解(Baeuerle等人, (2011) “Bispecific T Cell Engager For Cancer Therapy,” 在以下中：BISPECIFIC ANTIBODIES, Kontermann, R.E. (Ed.) Springer-Verlag；2011:273-287)。該途徑允許雙特異性抗體以對癌細胞的高特異性全面地與T細胞室(T cell compartment)相互作用，並且廣泛適用於一系列的細胞表面腫瘤抗原，並且也已經被實施以靶向病原體感染的細胞(參見，例如，Sloan等人(2015) “Targeting HIV Reservoir in Infected CD4 T Cells by Dual-Affinity Re-targeting Molecules (DARTs) that Bind HIV Envelope and Recruit Cytotoxic T Cells,” PLoS Pathog 11(11): e1005233. doi:10.1371/journal.ppat.1005233；WO 2014/159940；和WO 2016/054101)。

【0016】 T細胞的第一子集，稱為“輔助T細胞”，特徵在於CD4的表達(即，他們是“CD4⁺”)。CD4⁺ T細胞是大多數哺乳動物免疫應答和自身免疫應答的主要組織者(Dong, C.等人, (2003) “Immune Regulation by Novel Costimulatory Molecules,” Immunolog. Res. 28(1):39-48)。已經發現CD4⁺ T細胞的啟動通過抗原：主要組織相容性II類(MHC II)分子複合物和兩種分子(TCR和CD3細胞表面受體配體)的複合物之間的共刺激相互作用被介導，其中所述MHC II分子複合物排列在抗原呈遞細胞(如B細胞、巨噬細胞或樹突細胞)的表面上，所述TCR和CD3細胞表面受體配體兩者皆排列在幼稚CD4⁺ T細胞的表面上。啟動的T輔助細胞能夠增殖成Th1細胞，所述Th1細胞能夠介導對靶細胞的炎症反應。

【0017】 T細胞的第二子集，稱為“**細胞毒性T細胞**”，特徵在於**CD8**的表達(即，它們是“**CD8⁺**”以及**CD3⁺**)。CD8是包括兩條不同的鏈的T-細胞共受體(Leahy, D.J. (1995) “A Structural View of CD4 and CD8,” *FASEB J.* 9:17-25)，其在細胞毒性T細胞上表達。已經發現**CD8⁺** T細胞的啟動通過抗原：主要組織相容性I類(**MHC I**)分子複合物以及CD8和T細胞受體的複合物之間的共刺激相互作用被介導，其中所述**MHC I**分子複合物排列在靶細胞的表面上，並且所述CD8和T細胞受體排列在**CD8⁺** T細胞的表面上((Gao, G.等人, (2000) “Molecular Interactions Of Coreceptor CD8 And MHC Class I: The Molecular Basis For Functional Coordination With The T-Cell *Receptor*,” *Immunol. Today* 21:630-636)。

與僅通過某些免疫系統細胞表達的主要組織相容性II類(**MHC II**)分子不同，**MHC I**類分子被非常廣泛地表達。因此，細胞毒性T細胞能夠結合許多種類的細胞類型。啟動的細胞毒性T細胞通過其釋放細胞毒素穿孔素、粒酶和粒溶素來介導細胞殺傷。通過穿孔素的作用，粒酶進入靶細胞的細胞質，並且它們的絲氨酸蛋白酶作用觸發胱天蛋白酶級聯系統，其是最終導致靶向的細胞的凋亡(程式性細胞死亡)的一系列半胱氨酸蛋白酶。

B. CD2

【0018】 **CD2**是在T-細胞和天然殺傷(NK)細胞的表面上發現的細胞黏附分子。CD2增強NK細胞毒性，可能作為NK細胞納米管形成的啟動子(Mace, E.M.等人, (2014) “Cell Biological Steps and Checkpoints in Accessing NK Cell Cytotoxicity,” *Immunol. Cell. Biol.* 92(3):245-255；Comerci, C.J.等人, (2012) “CD2 Promotes Human Nature Killer Cell Membrane Nanotube Formation,” *PLoS One* 7(10):e47664:1-12).

C. T細胞受體(“TCR”)

【0019】 T細胞受體(“TCR”)由CD4+或CD8+ T細胞天然表達，並且允許這類細胞識別抗原肽，所述抗原肽通過抗原呈遞細胞的I類或II類MHC蛋白質結合和呈遞。通過TCR識別pMHC (肽-MHC)複合物引發導致細胞因數產生和抗原呈遞細胞裂解的細胞免疫應答的傳播(參見，例如，Armstrong, K.M.等人, (2008)

“Conformational Changes And Flexibility In T-Cell Receptor Recognition Of Peptide-MHC Complexes,” Biochem. J. 415(Pt 2):183-196 ; Willemssen, R. (2008)

“Selection Of Human Antibody Fragments Directed Against Tumor T-Cell Epitopes For Adoptive T-Cell Therapy,” Cytometry A. 73(11):1093-1099 ; Beier, K.C.等人,

(2007) “Master Switches Of T-Cell Activation And Differentiation,” Eur. Respir. J. 29:804-812 ; Mallone, R. 等人, (2005) “Targeting T Lymphocytes For Immune

Monitoring And Intervention In Autoimmune Diabetes,” Am. J. Ther. 12(6):534-550)。CD3是結合至TCR的受體 (Thomas, S.等人, (2010) “Molecular

Immunology Lessons From Therapeutic T-Cell Receptor Gene Transfer,” Immunology 129(2):170-177 ; Guy, C.S.等人, (2009) “Organization Of Proximal Signal Initiation

At The TCR:CD3 Complex,” Immunol. Rev. 232(1):7-21 ; St. Clair, E.W. (Epub 2009

Oct 12) “Novel Targeted Therapies For Autoimmunity,” Curr. Opin. Immunol. 21(6):648-657 ; Baeuerle, P.A.等人, (於2009年6月9日電子出版) “Bispecific T-Cell

Engaging Antibodies For Cancer Therapy,” Cancer Res. 69(12):4941-4944 ;

Smith-Garvin, J.E. 等人, (2009) “T Cell Activation,” Annu. Rev. Immunol. 27:591-619 ; Renders, L. 等人, (2003) “Engineered CD3 Antibodies For

Immunosuppression,” Clin. Exp. Immunol. 133(3):307-309)。

【0020】 TCR和CD3複合物，連同CD3 ζ 鏈 ζ 鏈(也稱為T細胞受體T ζ 鏈或CD247)構成“**TCR複合物**”(van der Merwe, P.A. 等(於2010年12月3日電子出版)“Mechanisms For T Cell Receptor Triggering,” Nat. Rev. Immunol. 11:47-55 ; Wucherpfennig, K.W.等人, (2010) “Structural Biology of the T Cell Receptor: Insights into Receptor Assembly, Ligand Recognition, and Initiation of Signaling,” Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2:a005140)。複合物是尤其重要的，因為其包含大量(十種)的基於免疫受體酪氨酸的啟動基序(ITAM)。

D · Fc受體：CD16、CD32和CD64

【0021】 如以下詳細討論的，天然IgG抗體包括四條多肽鏈：兩條相同的“輕”鏈和兩條相同的“重”鏈。重鏈包含C-末端“CH2”和“CH3”結構域，並且兩條重鏈的締合形成“**Fc結構域**”，其能連接(結合)至多種類型的免疫系統細胞(例如，B淋巴細胞、濾泡樹突細胞、天然殺傷細胞、巨噬細胞、中性白細胞、嗜酸性細胞、嗜鹼性細胞和肥大細胞)的表面上發現的受體(單個稱為“**Fc受體**”“**Fc γ R**”，並且統稱為“**Fc γ Rs**)”。這類受體具有“**細胞外**”部分(其因而能夠連接至Fc結構域)，“**跨膜**”部分(其延伸通過細胞膜)和“**細胞質**”部分(位於細胞內)。已鑑定多種類型的Fc γ Rs：**CD16A (Fc γ RIIIA)**、**CD16B (Fc γ RIIIB)**、**CD32A (Fc γ RIIA)**、**CD32B (Fc γ RIIB)**和**CD64 (Fc γ RI)**。這類結合導致啟動信號或抑制性信號向免疫系統的轉導。

【0022】 **CD16**是啟動Fc受體、**Fc γ RIIIA (CD16A)**和**Fc γ RIIIB (CD16B)**的一般名稱。**CD16**通過中性白細胞、嗜酸性細胞、天然殺傷(NK)細胞和結合聚集的但不是單體的人IgG的組織巨噬細胞表達(Peltz, G.A.等人, (1989) “Human Fc Gamma RIII: Cloning, Expression, And Identification Of The Chromosomal Locus Of

Two Fc Receptors For IgG,” Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 86(3):1013-1017 ; Bachanova, V.等人, (2014) “NK Cells In Therapy Of Cancer,” Crit. Rev. Oncog. 19(1-2):133-141 ; Miller, J.S. (2013) “Therapeutic Applications : Natural killer Cells In The Clinic,” Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program. 2013:247-253 ; Youinou, P.等人, (2002) “Pathogenic Effects Of Anti-Fc Gamma Receptor IIIB (CD16) On Polymorphonuclear Neutrophils In Non-Organ-Specific Autoimmune Diseases,” Autoimmun Rev. 1(1-2):13-19 ; Peipp, M.等人, (2002) “Bispecific Antibodies Targeting Cancer Cells,” Biochem. Soc. Trans. 30(4):507-511)。這些受體結合IgG抗體的Fc部分，從而觸發細胞因數的釋放。如果這類抗體被結合至在細胞(例如，癌細胞，病原體感染細胞等)表面上表達的疾病抗原，那麼這樣的釋放介導對靶向細胞的殺傷。由於這樣的殺傷是抗體依賴性的，其被命名為**抗體依賴性細胞介導的細胞毒性(ADCC)**。

【0023】 CD32A (FcγRIIA) (Brandsma, A.M. (2015) “Fc Receptor Inside-Out Signaling And Possible Impact On Antibody Therapy,” Immunol Rev. 268(1):74-87 ; van Sorge, N.M. 等人, (2003) “FcγRI Polymorphisms: Implications For Function, Disease Susceptibility And Immunotherapy,” Tissue Antigens 61(3):189-202 ; Selvaraj, P.等人, (2004) “Functional Regulation Of Human Neutrophil Fc Gamma Receptors,” Immunol. Res. 29(1-3):219-230)和**CD64 (FcγRI)** (Lu, S.等人, (2015) “Structural Mechanism Of High Affinity FcγRI recognition Of Immunoglobulin G,” Immunol. Rev. 268(1):192-200 ; Swisher, J.F.等人, (2015) “The Many Faces Of FcγRI : Implications For Therapeutic Antibody Function,” Immunol. Rev. 268(1):160-174 ; Thepen, T.等人, (2009) “FcγRI Receptor 1 (CD64), A

Target Beyond Cancer,” Curr. Pharm. Des. 15(23):2712-2718 ; Rouard, H.等人, (1997) “Fc Receptors As Targets For Immunotherapy,” Int. Rev. Immunol. 16(1-2):147-185)是巨噬細胞、中性白細胞、嗜酸性細胞和樹突細胞上(並且對於 **CD32A**，還在血小板和朗格漢斯細胞上)表達的啟動Fc受體。相比之下，**CD32B (FcγRIIB)**是B淋巴細胞(巨噬細胞、中性白細胞和嗜酸性細胞)上的抑制性Fc受體 (Stopforth, R.J.等人, (2016) “Regulation of Monoclonal Antibody Immunotherapy by FcγRIIB,” J. Clin. Immunol. [於2016年2月27日電子出版], 1-7頁 ; Bruhns, P.等人, (2009) “Specificity And Affinity Of Human Fcγ Receptors And Their Polymorphic Variants For Human IgG Subclasses,” Blood. 113(16):3716-3725 ; White, A.L.等人, (2014) “FcγRIIB As A Key Determinant Of Agonistic Antibody Efficacy,” Curr. Top. Microbiol. Immunol. 382:355-372 ; Selvaraj, P.等人, (2004) “Functional Regulation Of Human Neutrophil Fc Gamma Receptors,” Immunol. Res. 29(1-3):219-230)。

【0024】 不同FcγRs介導完全相反的作用的能力反映了其結構的不同，尤其是FcγR是具有基於免疫受體酪氨酸的啟動基序(“**ITAM**”)還是具有基於免疫受體酪氨酸的抑制性基序(“**ITIM**”)。不同細胞質酶向這些結構的募集支配FcγR-介導的細胞應答的結果。含ITAM的FcγRs包括FcγRI、FcγRIIA、FcγRIIIA，並且當結合至Fc結構域(例如，存在於免疫複合物中的聚集的Fc結構域)時啟動免疫系統。FcγRIIB是目前唯一已知的含ITIM的天然FcγR；當結合至聚集的Fc結構域時，其用來阻抑或抑制免疫系統。

E · NKG2D受體

【0025】 天然殺傷細胞組2D(“**NKG2D**”)受體在所有人類(和其他哺乳動

物)天然殺傷細胞上表達(Bauer, S.等人, (1999) “Activation Of NK Cells And T Cells By NKG2D, A Receptor For Stress-Inducible MICA,” Science 285(5428):727-729 ; Jamieson, A.M.等人, (2002) “The Role Of The NKG2D Immunoreceptor In Immune Cell Activation And Natural Killing,” Immunity 17(1):19-29)以及所有CD8⁺ T細胞上表達(Groh, V.等人, (2001) “Costimulation Of CD8 $\alpha\beta$ T Cells By NKG2D Via Engagement By MIC Induced On Virus-Infected Cells,” Nat. Immunol. 2(3):255-260 ; Jamieson, A.M. 等人, (2002) “The Role Of The NKG2D Immunoreceptor In Immune Cell Activation And Natural Killing,” Immunity 17(1):19-29)。在正常細胞表面上，NKG2D配體完全不存在，或僅以低水準存在，但是其由被感染的、轉化的、衰老的或受脅迫的細胞過表達。這類結合配體，尤其是在正常細胞上不表達的那些，包括組織相容性60 (H60)分子、視黃酸早期可誘導基因-1(RAE-1)的產物和鼠科UL16-結合蛋白質樣轉錄物1 (MULT1) (Raulet D.H. (2003) “Roles Of The NKG2D Immunoreceptor And Its Ligands,” Nature Rev. Immunol. 3:781-790 ; Coudert, J.D.等人, (2005) “Altered NKG2D Function In NK Cells Induced By Chronic Exposure To Altered NKG2D Ligand-Expressing Tumor Cells,” Blood 106:1711-1717)。

III. 免疫系統細胞的相互作用分子

【0026】 涉及幾種不同類型的抗原呈遞細胞分子和T細胞分子的相互作用影響所需的免疫應答的第二種相互作用。

A · CD80/CD86和CD28/CTLA-4

【0027】 抗原呈遞細胞的B7.1 (CD80)和B7.2 (CD86)配體以及CD4⁺ T淋巴細胞的CD28和CTLA-4受體之間的結合對於所需的免疫應答的第二種相互作用

是特別重要的(Sharpe, A.H.等人, (2002) “The B7-CD28 Superfamily,” Nature Rev. Immunol. 2:116-126 ; Dong, C. 等人, (2003) “Immune Regulation by Novel Costimulatory Molecules,” Immunolog. Res. 28(1):39-48 ; Lindley, P.S.等人, (2009) “The Clinical Utility Of Inhibiting CD28-Mediated Costimulation,” Immunol. Rev. 229:307-321) 。 B7.1或B7.2與CD28的結合刺激T-細胞啟動；B7.1或B7.2與CTLA-4的結合抑制這樣的啟動(Dong, C.等人, (2003) “Immune Regulation by Novel Costimulatory Molecules,” Immunolog. Res. 28(1):39-48 ; Lindley, P.S.等人, (2009) “The Clinical Utility Of Inhibiting CD28-Mediated Costimulation,” Immunol. Rev. 229:307-321 ; Greenwald, R.J.等人, (2005) “The B7 Family Revisited,” Ann. Rev. Immunol. 23:515-548) 。 CD28在T-細胞的表面上組成型表達(Gross, J. , 等人, (1992) “Identification And Distribution Of The Costimulatory Receptor CD28 In The Mouse,” J. Immunol. 149:380–388) , 而CTLA-4表達在T-細胞啟動後被快速上調(Linsley, P. 等人, (1996) “Intracellular Trafficking Of CTLA4 And Focal Localization Towards Sites Of TCR Engagement,” Immunity 4:535–543) 。 由於CTLA-4是更高親和性的受體(Sharpe, A.H.等人, (2002) “The B7-CD28 Superfamily,” Nature Rev. Immunol. 2:116-126 ; Topalian, S.L.等人, (2015) “Immune Checkpoint Blockade: A Common Denominator Approach to Cancer Therapy,” Cancer Cell 27:450-461) , 結合首先(經由CD28)啟動T-細胞增殖, 然後抑制它(經由CTLA-4的新生表達), 從而當不再需要增殖時阻抑該作用。

B · PD-1和B7-H1/B7-DC

【0028】 程式性死亡-1 (“**PD-1**”, 還稱為“CD279”)是廣泛負調節免疫應答的T-細胞調節劑的擴展的CD28/CTLA-4家族的I型膜蛋白成員(Ishida, Y.等人,

(1992) “Induced Expression Of PD-1, A Novel Member Of The Immunoglobulin Gene Superfamily, Upon Programmed Cell Death,” EMBO J. 11:3887-3895；美國專利公開號2007/0202100；2008/0311117；2009/00110667；美國專利號6,808,710；7,101,550；7,488,802；7,635,757；7,722,868；PCT專利公開號WO 01/14557)。

【0029】 雖然PD-1和CTLA-4皆提供抑制性免疫信號，但是由PD-1提供的信號隨後在疾病過程中上升，並且可通過限制回應疾病的T-細胞的初始產量(“突發(burst)”)而充分減弱免疫應答。因此，這類PD-1可部分地將潛在有效的T-細胞應答轉化為耐受性中的一種(Topalian, S.L.等人, (2015) “Immune Checkpoint Blockade: A Common Denominator Approach to Cancer Therapy,” Cance Cell 27:450-461)。

【0030】 PD-1系統的受體-配體相互作用似乎比CD28/CTLA-4系統的那些甚至更複雜。PD-1在啟動的T-細胞、B-細胞和單核細胞的細胞表面上表達(Agata, Y.等人, (1996) “Expression Of The PD-1 Antigen On The Surface Of Stimulated Mouse T And B Lymphocytes,” Int. Immunol. 8(5):765-772；Yamazaki, T.等人, (2002) “ Expression Of Programmed Death 1 Ligands By Murine T-Cells And APC,” J. Immunol. 169:5538-5545)，並且以低水準在天然殺傷(NK) T-細胞中表達(Nishimura, H.等人, (2000) “Facilitation Of Beta Selection And Modification Of Positive Selection In The Thymus Of PD-1-Deficient Mice,” J. Exp. Med. 191:891-898；Martin-Orozco, N. 等人, (2007) “Inhibitory Costimulation And Anti-Tumor Immunity,” Semin. Cancer Biol. 17(4):288-298)。

【0031】 PD-1的胞外區由與CTLA-4中的等同結構域具有23%同一性的單一免疫球蛋白(Ig)V結構域組成(Martin-Orozco, N. 等人, (2007) “Inhibitory

Costimulation And Anti-Tumor Immunity,” Semin. Cancer Biol. 17(4):288-298)。細胞外IgV結構域後面是跨膜區和胞內尾部。胞內尾部包含位於基於免疫受體酪氨酸的抑制性基序和基於免疫受體酪氨酸的轉換基序中的兩個磷酸化位點，這表明PD-1負調節TCR信號(Ishida, Y.等人, (1992) “Induced Expression Of PD-1, A Novel Member Of The Immunoglobulin Gene Superfamily, Upon Programmed Cell Death,” EMBO J. 11:3887-3895；Blank, C.等人, (2006) “Contribution Of The PD-L1/PD-1 Pathway To T-Cell Exhaustion: An Update On Implications For Chronic Infections And Tumor Evasion Cancer,” Immunol. Immunother. 56(5):739-745)。

【0032】 PD-1通過結合**B7-H1**和**B7-DC** (也稱為PD-L1和PD-L2)介導其對免疫系統的抑制(Flies, D.B.等人, (2007) “The New B7s: Playing a Pivotal Role in Tumor Immunity,” J. Immunother. 30(3):251-260；美國專利號 6,803,192；7,794,710；美國專利公開號 2005/0059051；2009/0055944；2009/0274666；2009/0313687；PCT專利公開號WO 01/39722；WO 02/086083)。

【0033】 B7-H1和B7-DC在許多類型的人和鼠科組織的表面上廣泛表達，所述組織如心臟、胎盤、肌肉、胎肝、脾、淋巴結和胸腺以及鼠科肝、肺、腎、胰腺的胰島細胞以及小腸(Martin-Orozco, N.等人, (2007) “Inhibitory Costimulation And Anti-Tumor Immunity,” Semin. Cancer Biol. 17(4):288-298)。在人類中，B7-H1蛋白質表達已經在以下中發現：人類內皮細胞(Chen, Y.等人, (2005) “Expression of B7-H1 in Inflammatory Renal Tubular Epithelial Cells,” Nephron. Exp. Nephrol. 102:e81-e92；de Haij, S.等人, (2005) “Renal Tubular Epithelial Cells Modulate T-Cell Responses Via ICOS-L And B7-H1” Kidney Int. 68:2091-2102；Mazanet, M.M.等人, (2002) “B7-H1 Is Expressed By Human Endothelial Cells And

Suppresses T-Cell Cytokine Synthesis,” J. Immunol. 169:3581-3588)、心肌(Brown, J.A.等人, (2003) “Blockade Of Programmed Death-1 Ligands On Dendritic Cells Enhances T-Cell Activation And Cytokine Production,” J. Immunol. 170:1257-1266)、合胞體滋養層(Petroff, M.G.等人, (2002) “B7 Family Molecules: Novel Immunomodulators At The Maternal-Fetal Interface,” Placenta 23:S95-S101)。
分子也通過一些組織的駐留型巨噬細胞、通過已經經干擾素(IFN)- γ 或腫瘤壞死因數(TNF)- α 啟動的巨噬細胞表達(Latchman, Y.等人, (2001) “PD-L2 Is A Second Ligand For PD-1 And Inhibits T-Cell Activation,” Nat. Immunol 2:261-268)以及在腫瘤中表達(Dong, H. (2003) “B7-H1 Pathway And Its Role In The Evasion Of Tumor Immunity,” J. Mol. Med. 81:281-287)。

【0034】 已發現B7-H1和PD-1之間的相互作用向T細胞和B細胞提供關鍵的負共刺激信號(Martin-Orozco, N.等人, (2007) “Inhibitory Costimulation And Anti-Tumor Immunity,” Semin. Cancer Biol. 17(4):288-298)，並且用作細胞死亡誘導物(Ishida, Y.等人, (1992) “Induced Expression Of PD-1 , A Novel Member Of The Immunoglobulin Gene Superfamily, Upon Programmed Cell Death,” EMBO J. 11:3887-3895；Subudhi, S.K.等人, (2005) “The Balance Of Immune Responses: Costimulation Verse Coinhibition,” J. Molec. Med. 83:193-202)。更具體的，已發現低濃度PD-1受體和B7-H1配體之間的相互作用導致抑制性信號的傳輸，所述抑制性信號強烈抑制抗原特異性CD8⁺ T細胞的增殖；在更高濃度，與PD-1的相互作用未抑制T細胞增殖，但是明顯地降低多種細胞因數的產生(Sharpe, A.H.等人, (2002) “The B7-CD28 Superfamily,” Nature Rev. Immunol. 2:116-126)。已發現通過靜息CD4和CD8 T細胞和先前啟動的CD4和CD8 T細胞以及甚至來自臍帶血的幼

稚T-細胞進行的T-細胞增殖和細胞因數產生，受到可溶性B7-H1-Fc融合蛋白的抑制(Freeman, G.J.等人, (2000) “Engagement Of The PD-1 Immunoinhibitory Receptor By A Novel B7 Family Member Leads To Negative Regulation Of Lymphocyte Activation,” J. Exp. Med. 192:1-9 ; Latchman, Y.等人, (2001) “PD-L2 Is A Second Ligand For PD-1 And Inhibits T-Cell Activation,” Nature Immunol. 2:261-268 ; Carter, L.等人, (2002) “PD-1: PD-L Inhibitory Pathway Affects Both CD4(+) and CD8(+) T-cells And Is Overcome By IL-2,” Eur. J. Immunol. 32(3):634-643 ; Sharpe, A.H.等人, (2002) “The B7-CD28 Superfamily,” Nature Rev. Immunol. 2:116-126)。

【0035】 B7-H1和PD-1在抑制T細胞啟動和增殖中的作用已經表明這些生物分子可用作用於治療炎症和癌症的治療用靶標。因此，已經提出使用抗-PD-1抗體治療感染和腫瘤並且上調節適應性免疫應答(參見，美國專利公開號2010/0040614；2010/0028330；2004/0241745；2008/0311117；2009/0217401；美國專利號7,521,051；7,563,869；7,595,048；PCT專利公開號WO 2004/056875；WO 2008/083174)。能夠特異性結合PD-1的抗體已經由下述文獻提出：Agata, T.等人, (1996) “Expression Of The PD-1 Antigen On The Surface Of Stimulated Mouse T And B Lymphocytes,” Int. Immunol. 8(5):765-772；和Berger, R.等人, (2008) “Phase I Safety And Pharmacokinetic Study Of CT-011 , A Humanized Antibody Interacting With PD-1, In Patients With Advanced Hematologic Malignancies,” Clin. Cancer Res. 14(10):3044-3051 (也參見，美國專利號8,008,449和8,552,154；美國專利公開號2007/0166281；2012/0114648；2012/0114649；2013/0017199；2013/0230514和2014/0044738；和PCT專利公開號WO 2003/099196；WO 2004/004771；WO

2004/056875；WO 2004/072286；WO 2006/121168；WO 2007/005874；WO 2008/083174；WO 2009/014708；WO 2009/073533；WO 2012/135408，WO 2012/145549；和WO 2013/014668)。

【0036】 儘管在鑑定參與哺乳動物免疫應答的分子中的這類進步，對於治療癌症和傳染病的改進療法仍存在需要。本發明涉及該目標和其它目標。

【發明內容】

【0037】 本發明涉及用於治療癌症和病原體相關疾病的聯合療法，其包括施用：(1)能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子(例如，雙抗體、ScFv、抗體、TandAb等)，和(2)能夠介導對表達疾病抗原的靶細胞(例如，癌細胞或病原體感染的細胞等)的重定向殺傷的分子(例如，雙抗體、BiTe、雙特異性抗體、CAR等)。本發明尤其涉及其中能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的分子是雙特異性結合分子的實施方式，所述雙特異性結合分子包含能夠免疫特異性結合效應細胞的細胞表面分子的表位的第一表位結合位點和能夠免疫特異性結合這類靶細胞(即，疾病抗原如癌抗原或病原體相關抗原)的表位的第二表位結合位點。本發明還涉及包含這類分子(一種或多種)的藥物組合物。

【0038】 詳細地，本發明提供用於治療癌症或病原體相關疾病的方法，其包括向需要其的受試者施用治療有效量的：

- (1) 能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子，和
- (2) 能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的分子，其中所述靶細胞是：
 - (a) 表達癌抗原的癌細胞；或
 - (b) 表達病原體相關抗原的病原體感染細胞。

【0039】 本發明尤其涉及其中能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子能夠抑制PD-1和PD-1的天然配體之間的結合的這類方法的實施方式。

【0040】 本發明進一步涉及這類方法的實施方式，其中所述方法包括施用兩種結合分子，其累計地包括三個表位-結合結構域，所述兩種結合分子是：

(A) 結合分子，其包含能夠結合PD-1的抗體的表位元-結合結構域或能夠結合PD-1的天然配體的抗體的表位元-結合結構域；和

(B) 結合分子，其包含以下：

(1) 能夠結合效應細胞的細胞表面分子的抗體的表位元-結合結構域；

和

(2) 能夠結合靶細胞的癌抗原或病原體抗原的抗體的表位元-結合結構域；

其中所述結合分子(A)的表位元-結合結構域能夠結合PD-1或PD-1的天然配體，並且結合分子(B)的表位元-結合結構域(1)和(2)能夠介導對靶細胞的重定向殺傷。

【0041】 本發明進一步涉及這類方法的實施方式，其中能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的結合分子包括雙抗體、ScFv、抗體或TandAb，並且所述結合分子(B)包括雙特異性雙抗體、CAR、BiTe或雙特異性抗體。

【0042】 本發明進一步涉及這類方法的實施方式，其中能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的結合分子包含結合至PD-1的抗體的表位-結合結構域。

【0043】 本發明進一步涉及這類方法的實施方式，其中能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的結合分子包含結合至PD-1的天然配體的抗體的表位-結合結構域。

【0044】 本發明進一步涉及這類方法的實施方式，其中能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的結合分子包含能夠結合PD-1的第二表位-結合結構域，其中這類表位-結合結構域：

- (a) 競爭結合PD-1的相同表位；或
- (b) 不競爭結合PD-1的相同表位。

【0045】 本發明進一步涉及這類方法的實施方式，其中PD-1表位-結合結構域能夠同時結合至相同的PD-1分子。

【0046】 本發明進一步涉及這類方法的實施方式，其中能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的結合分子包含能夠結合PD-1的天然配體的第二表位-結合結構域，其中這類表位-結合結構域：

- (a) 競爭結合至PD-1的這類天然配體的相同表位；或
- (b) 不競爭結合至PD-1的這類天然配體的相同表位。

【0047】 本發明進一步涉及這類方法的實施方式，其中PD-1配體-表位-結合結構域能夠同時結合PD-1的天然配體的相同分子。

【0048】 本發明進一步涉及這類方法的實施方式，其中能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的結合分子包含第二表位-結合結構域，其能夠結合不是PD-1或PD-1的天然配體的分子的表位。

【0049】 本發明進一步涉及這類方法的實施方式，其中第二表位元-結合結構域結合CD137、LAG-3、OX40、TIGIT、TIM-3或VISTA的表位。

【0050】 本發明進一步涉及這類方法的實施方式，其中能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的結合分子包含能夠結合效應細胞的細胞表面分子的第三表位-結合結構域。

【0051】 本發明進一步涉及這類方法的實施方式，其中能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的結合分子的第三表位結合-結構域能夠結合效應細胞的不同細胞表面分子，以使能夠介導重定向殺傷的結合分子能夠結合效應細胞的兩種不同細胞表面分子。

【0052】 本發明進一步涉及這類方法的實施方式，其中能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的結合分子包含能夠結合至靶細胞的癌抗原或病原體相關抗原的第三表位-結合結構域。

【0053】 本發明進一步涉及這類方法的實施方式，其中能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的結合分子的第三表位結合-結構域能夠結合靶細胞的不同癌抗原或不同病原體抗原，以使能夠介導重定向殺傷的結合分子能夠結合至靶細胞的兩種不同癌抗原或兩種不同病原體抗原。

【0054】 本發明進一步涉及這類方法的實施方式，其中效應細胞的細胞表面分子選自：CD2、CD3、CD8、CD16、TCR和NKG2D。

【0055】 本發明進一步涉及這類方法的實施方式，其中所述癌抗原選自以下癌抗原：19.9、4.2、A33、ADAM-9、AH6、ALCAM、B1、B7-H3、BAGE、 β -聯蛋白、血型ALe^b/Le^y、伯基特淋巴瘤抗原-38.13、C14、CA125、羧肽酶M、CD5、CD19、CD20、CD22、CD23、CD25、CD27、CD28、CD33、CD36、CD40/CD154、CD45、CD56、CD46、CD52、CD56、CD79a/CD79b、CD103、CD123、CD317、CDK4、CEA、CEACAM5/CEACAM6、CO17-1A、CO-43、CO-514、CTA-1、CTLA-4、細胞角蛋白8、D1.1、D156-22、DR5、E₁系列、EGFR、肝配蛋白受體、Erb、GAGE、GD2/GD3/GM2神經節苷脂、GICA 19-9、gp100、Gp37、gp75、gpA33、HER2/neu、HMFG、人乳頭瘤病毒-E6/人乳頭瘤病毒-E7、

HMW-MAA、I抗原、IL13R α 2、整聯蛋白 β 6、JAM-3、KID3、KID31、KS 1/4全癌抗原、L6,L20、LEA、LUCA-2、M1:22:25:8、M18、M39、MAGE、MART、間皮素、MUC-1、MUM-1、Myl、N-乙醯葡萄糖氨基轉移酶、擬糖蛋白、NS-10、OFA-1、OFA-2、制癌蛋白M、p15、p97、PEM、PEMA、PIPA、PSA、PSMA、前列腺酸磷酸鹽(prostatic acid phosphate)、R₂₄、ROR1、鞘脂類、SSEA-1、SSEA-3、SSEA-4、sTn、T細胞受體衍生的肽、T₅A₇、TAG-72、TL5、TNF-受體、TNF- γ 受體、TRA-1-85、轉鐵蛋白受體、5T4、TSTA、VEGF、VEGF受體、VEP8、VEP9、VIM-D5和Y半抗原Le^y。

【0056】 本發明進一步涉及這類方法的實施方式，其中所述方法包括施用藥物組合物，並且其中所述病原體相關抗原選自以下病原體相關抗原：單純疱疹病毒感染的細胞蛋白質(ICP)47、單純疱疹病毒gD、愛潑斯坦-巴爾病毒(Epstein-Barr)LMP-1、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2A、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2B、人免疫缺陷病毒gp160、人免疫缺陷病毒gp120、人免疫缺陷病毒gp41等)、人乳頭瘤病毒E6、人乳頭瘤病毒E7、人T-細胞白血病毒gp64、人T-細胞白血病毒gp46和人T-細胞白血病毒gp21。

【0057】 本發明進一步提供藥物組合物，其包含：

(A) 治療有效量的：

- (1) 能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子，和
- (2) 能夠介導對表達癌抗原或病原體抗原的靶細胞的重定向殺傷的分子；和

(B) 藥學可接受的載體。

【0058】 本發明進一步涉及這類藥物組合物的實施方式，其中所述藥物組

合物包含兩種結合分子，其累計地包含三個表位-結合結構域，所述兩種結合分子是：

(A) 結合分子，其包含能夠結合PD-1的抗體的表位元-結合結構域或能夠結合PD-1的天然配體的抗體的表位元-結合結構域；和

(B) 結合分子，其包含以下：

(1) 能夠結合效應細胞的細胞表面分的抗體的表位元-結合結構域；和

(2) 能夠結合靶細胞的癌抗原或病原體相關抗原的抗體的表位元-結合結構域；

其中結合分子(A)的表位元-結合結構域能夠結合PD-1或PD-1的天然配體，並且結合分子(B)的表位元-結合結構域(1)和(2)能夠介導對靶細胞的重定向殺傷。

【0059】 本發明進一步涉及這類藥物組合物的實施方式，其中所述結合分子(A)包括雙抗體、ScFv、抗體或TandAb，並且所述結合分子(B)包括雙抗體、CAR、BiTe或雙特異性抗體。

【0060】 本發明進一步涉及這類藥物組合物的實施方式，其中能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的所述分子包含結合至PD-1的抗體的表位-結合結構域。

【0061】 本發明進一步涉及這類藥物組合物的實施方式，其中能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的所述分子包含結合至PD-1的天然配體的抗體的表位-結合結構域。

【0062】 本發明進一步涉及這類藥物組合物的實施方式，其中能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的所述分子包含能夠結合PD-1的第二表位-結合結構域，其中這類PD-1-表位-結合結構域：

- (a) 競爭結合至PD-1的相同表位；或
- (b) 不競爭結合PD-1的相同表位。

【0063】 本發明進一步涉及這類藥物組合物的實施方式，其中所述PD-1表位-結合結構域能夠同時結合相同PD-1分子。

【0064】 本發明進一步涉及這類藥物組合物的實施方式，其中能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的所述結合分子包含能夠結合PD-1的天然配體的第二表位-結合結構域，其中這類表位-結合結構域：

- (a) 競爭結合至PD-1的這類天然配體的相同表位；或
- (b) 不競爭結合至PD-1的這類天然配體的相同表位。

【0065】 本發明進一步涉及這類藥物組合物的實施方式，其中所述PD-1配體表位-結合結構域能夠同時結合PD-1的天然配體的相同分子。

【0066】 本發明進一步涉及這類藥物組合物的實施方式，其中能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的所述結合分子包含第二表位-結合結構域，其能夠結合不是PD-1或PD-1的天然配體的分子的表位。

【0067】 本發明進一步涉及這類藥物組合物的實施方式，其中第二表位元-結合結構域結合CD137、LAG-3、OX40、TIGIT、TIM-3或VISTA的表位。

【0068】 本發明進一步涉及這類藥物組合物的實施方式，其中能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的所述分子包含第三表位-結合結構域，其中這樣的三個表位-結合結構域能夠同時結合，並且其中第三表位-結合位點能夠結合效應細胞的細胞表面分子的表位。

【0069】 本發明進一步涉及這類藥物組合物的實施方式，其中能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的結合分子的第三表位結合-結構域能夠結合效應細胞的不

同細胞表面分子，以使能夠介導重定向殺傷的所述結合分子能夠結合效應細胞的兩種不同細胞表面分子。

【0070】 本發明進一步涉及這類藥物組合物的實施方式，其中能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的所述結合分子包含能夠結合至靶細胞的癌抗原或病原體相關抗原的第三表位-結合結構域。

【0071】 本發明進一步涉及這類藥物組合物的實施方式，其中能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的結合分子的第三表位結合-結構域能夠結合靶細胞的不同癌抗原或不同病原體相關抗原，以使能夠介導重定向殺傷的所述結合分子能夠結合至靶細胞的兩種不同癌抗原或兩種不同病原體相關抗原。

【0072】 本發明進一步涉及這類藥物組合物的實施方式，其中效應細胞的細胞表面分子選自：CD2、CD3、CD8、CD16、TCR和NKG2D。

【0073】 本發明進一步涉及這類藥物組合物的實施方式，其中癌抗原選自以下癌抗原：19.9、4.2、A33、ADAM-9、AH6、ALCAM、B1、B7-H3、BAGE、 β -聯蛋白、血型ALe^b/Le^y、伯基特淋巴瘤抗原-38.13、C14、CA125、羧肽酶M、CD5、CD19、CD20、CD22、CD23、CD25、CD27、CD28、CD33、CD36、CD40/CD154、CD45、CD56、CD46、CD52、CD56、CD79a/CD79b、CD103、CD123、CD317、CDK4、CEA、CEACAM5/CEACAM6、CO17-1A、CO-43、CO-514、CTA-1、CTLA-4、細胞角蛋白8、D1.1、D₁56-22、DR5、E₁系列、EGFR、肝配蛋白受體、Erb、GAGE、GD2/GD3/GM2神經節苷脂、GICA 19-9、gp100、Gp37、gp75、gpA33、HER2/neu、HMFG、人乳頭瘤病毒-E6/人乳頭瘤病毒-E7、HMW-MAA、I抗原、IL13R α 2、整聯蛋白 β 6、JAM-3、KID3、KID31、KS 1/4全癌抗原、L6、L20、LEA、LUCA-2、M1:22:25:8、M18、M39、MAGE、MART、

間皮素、MUC-1、MUM-1、Myl、N-乙醯葡萄糖氨基轉移酶、擬糖蛋白、NS-10、OFA-1、OFA-2、制癌蛋白M、p15、p97、PEM、PEMA、PIPA、PSA、PSMA、前列腺酸磷酸鹽、R₂₄、ROR1、鞘脂類、SSEA-1、SSEA-3、SSEA-4、sTn、T細胞受體衍生的肽、T₅A₇、TAG-72、TL5、TNF-受體、TNF- γ 受體、TRA-1-85、轉鐵蛋白受體、5T4、TSTA、VEGF、VEGF受體、VEP8、VEP9、VIM-D5和Y半抗原Le^y。

【0074】 本發明進一步涉及這類藥物組合物的實施方式，其中所述病原體相關抗原選自以下病原體抗原：單純疱疹病毒感染的細胞蛋白質(ICP)47、單純疱疹病毒gD、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-1、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2A、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2B、人免疫缺陷病毒gp160、人免疫缺陷病毒gp120、人免疫缺陷病毒gp41等)、人乳頭瘤病毒E6、人乳頭瘤病毒E7、人T-細胞白血病病毒gp64、人T-細胞白血病病毒gp46和人T-細胞白血病病毒gp21。

【0075】 本發明進一步提供包括任何上述藥物組合物的試劑盒，其中其結合分子以一個或多個容器被分開(compartmentalized)。

【圖式簡單說明】

【0076】 圖1提供了具有兩個表位-結合結構域的代表性共價結合雙抗體的示意圖，其中所述雙抗體由兩條多肽鏈構成，每一條多肽鏈各具有E-螺旋或K-螺旋異源二聚體促進結構域(以下提供了可選的異源二聚體促進結構域)。半胱氨酸殘基可存在於連接體和/或異源二聚體促進結構域中，如圖3B中顯示的。使用相同網底或填充式樣顯示識別相同表位元的VL和VH結構域。

【0077】 圖2提供具有兩個表位-結合結構域的代表性共價結合的雙抗體

分子的示意圖，所述雙抗體由兩條多肽鏈構成，每一條多肽鏈各具有CH2和CH3結構域，以使締合的鏈形成Fc結構域的全部或部分。使用相同網底或填充式樣顯示識別相同表位元的VL和VH結構域。

【0078】 圖3A-3C提供顯示具有四個表位元-結合結構域的代表性共價結合的四價雙抗體的示意圖，所述雙抗體由兩對多肽鏈(即，總計四條多肽鏈)構成。每對中的一條多肽具有CH2和CH3結構域，以使締合的鏈形成Fc結構域的全部或部分。使用相同網底或填充式樣顯示識別相同表位元的VL和VH結構域。兩對多肽鏈可相同。在其中兩對多肽鏈相同並且VL和VH結構域識別不同表位元(如圖3A-3B中顯示的)的這類實施方式中，所得分子具備四個表位-結合結構域並且就每個結合的表位而言是雙特異性和二價的。在其中VL和VH結構域識別相同表位元(例如，在兩條鏈上使用相同VL結構域CDR和相同VH結構域CDR)的這類實施方式中，所得分子具備四個表位-結合結構域並且相對於單表位而言是單特異性的和四價的。可選地，兩對多肽可不同。在其中兩對多肽鏈不同並且每對多肽的VL和VH結構域識別不同表位元(如由圖3C中的不同網底和樣式所顯示的)的這類實施方式中，所得分子具備四個表位-結合結構域並且相對於每個結合的表位而言是四特異性的和單價的。圖3A顯示了含Fc結構域的雙抗體，其包含含有半胱氨酸殘基的肽異源二聚體促進結構域。圖3B顯示了含Fc結構域的雙抗體，其包含含有半胱氨酸殘基和連接體(具有任選的半胱氨酸殘基)的E-螺旋和K-螺旋異源二聚體促進結構域。圖3C顯示了含Fc結構域的雙抗體，其包含抗體CH1和CL結構域。

【0079】 圖4A-4B提供了具有兩個表位-結合結構域的代表性共價結合的雙抗體分子的示意圖，所述雙抗體分子由三條多肽鏈構成。多肽鏈中的兩條具

備CH2和CH3結構域，以使締合的鏈形成Fc結構域的全部或部分。包含VL和VH結構域的多肽鏈進一步包含異源二聚體促進結構域。使用相同網底或填充式樣顯示識別相同表位元的VL和VH結構域。

【0080】 圖5提供了具有四個表位-結合結構域的代表性共價結合的雙抗體分子的示意圖，所述雙抗體分子由五條多肽鏈構成。多肽鏈中的兩條具備CH2和CH3結構域，以使締合的鏈形成包含Fc結構域的全部或部分的Fc結構域。包含連接的VL和VH結構域的多肽鏈進一步包含異源二聚體促進結構域。使用相同網底或填充式樣顯示識別相同表位元的VL和VH結構域。

【0081】 圖6A-6F提供了具有三個表位-結合結構域的代表性含Fc結構域的三價結合分子的示意圖。**圖6A**和**6B**分別示意性地闡釋了包含兩個雙抗體型結合結構域和具有不同結構域取向(其中所述雙抗體型結合結構域在Fc結構域的N-末端或C-末端)的Fab型結合結構域的三價結合分子的結構域。**圖6A**和**6B**中的分子包含四條鏈。**圖6C**和**6D**分別示意性地闡釋了三價結合分子的結構域，其包括在Fc結構域的N-末端的兩個雙抗體型結合結構域，和其中輕鏈和重鏈通過多肽間隔物連接的Fab型結合結構域，或scFv型結合結構域。**圖6E**和**6F**中的三價結合分子分別示意性地闡釋了三價結合分子的結構域，其包括在Fc結構域的C-末端的兩個雙抗體型結合結構域，和其中輕鏈和重鏈通過多肽間隔物連接的Fab型結合結構域，或scFv型結合結構域。**圖6C-6F**中的三價結合分子包含三條鏈。使用相同網底或填充式樣顯示識別相同表位元的VL和VH結構域。

【0082】 圖7顯示了提供MHCI⁺小鼠的結果，所述小鼠已接受 5×10^6 LOX-IMVI人轉移性黑素瘤癌細胞(ID)和 10^6 人PBMC (IP)，連同人源化抗-人PD-1抗體hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4(P)、CD3 x B7-H3雙特異性雙抗體DART-A、連同

hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4(P)和**DART-A**兩者，或連同僅僅媒介物(對照)。

【0083】 **圖8A-8B**顯示了提供MHCI^{-/-}小鼠的結果，所述小鼠已接受 5×10^6 Detroit562人轉移性咽癌細胞(ID)和 10^6 人PBMC (IP)，連同人源化抗-人PD-1抗體**hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4(P)**、CD3 x B7-H3雙特異性雙抗體**DART-A**、連同**hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4(P)**和**DART-A**兩者，或連同僅僅媒介物(對照)。**圖8A**顯示了媒介物對照**hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4(P)** (Q7Dx5)、**DART-A** (Q7Dx5)和**hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4(P) + DART-A** (Q7Dx5)的結果。**圖8B**顯示了媒介物對照**hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4(P)** (Q7Dx5)、**DART-A** (Q7Dx5)、**hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4(P) + DART-A** (Q7Dx5)和**hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4(P) + DART-A** (Q14Dx3)的結果。

【0084】 **圖9**顯示了對施用本發明聯合療法的效果的研究結果。結果顯示受體動物的免疫應答的增強，如通過其CD3⁺細胞的濃度增加所確定的。

【0085】 **圖10A-10B**顯示了在螢光素酶報告測定中對於本發明聯合療法對T-細胞信號轉導的作用的研究結果。以1:1(**圖10A**)或3:1 (**圖10B**)的效應子:靶細胞比將表達PD-1和B7-H3的MDA-MB-231腫瘤靶細胞與MNFAT-luc2/PD-1 Jurkat T-細胞混合，並且在存在增加濃度的**DART-A**的情況下單獨培養或與固定濃度(12.5 nM)的PD-1結合分子**hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4(P)**、**DART-1**或對照抗體(hIgG)一起培養。這些結果顯示在存在兩種分子時信號轉導活性的增強，如通過增加的光照所測定的。

【0086】 **圖11A-11B**顯示在存在無反應性T-細胞的情況下施用本發明聯合療法降低腫瘤復發。NOG小鼠已接受 5×10^6 A375 INF γ 處理的黑色素瘤細胞和 5×10^6 啟動的或無反應性人T-細胞以及僅僅媒介物、0.5 mg/kg **DART-2** (Q7Dx4)、0.5 mg/kg **DART-B** (QDx1)或0.5 mg/kg **DART-2** (Q7Dx4)和0.5 mg/kg

DART-B (QDx1)兩者。**圖11A**顯示接受啟動的T-細胞的小鼠的結果，並且**圖11B**顯示接受無反應性T-細胞的小鼠的結果。

【實施方式】

【0087】 本發明涉及用於治療癌症和病原體相關疾病的聯合療法，其包括施用：(1) 能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子(例如，雙抗體、ScFv、抗體、TandAb等)，和(2) 能夠介導對表達疾病抗原的靶細胞(例如，癌細胞或病原體感染的細胞等)的重定向殺傷的分子(例如，雙抗體、BiTe、雙特異性抗體、CAR等)。本發明尤其涉及其中能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的分子是雙特異性結合分子的實施方式，所述雙特異性結合分子包含能夠免疫特異性結合效應細胞的細胞表面分子的表位的第一表位結合位點和能夠免疫特異性結合這類靶細胞的表位(即，疾病抗原如癌抗原或病原體相關抗原)的第二表位結合位點。本發明還涉及保護這類分子(一種或多種)的藥物組合物。

【0088】 本發明分子的結合結構域以“**免疫特異性**”方式結合表位元。如本文使用的，如果抗體、雙抗體或其它表位結合分子，相對於可選的表位，與另一分子的區域(即，表位元)更經常、更快速、以更長的持久性和/或以更大的親和力反應或締合，則認為抗體、雙抗體或其它表位結合分子“**免疫特異性**”結合該表位。例如，免疫特異性地結合至病毒表位元的抗體是這樣的抗體，該抗體以比其免疫特異性地結合至其它病毒表位元或非病毒表位元更大的親和力、親合力、更容易和/或以更長的持久性結合該病毒表位元。通過閱讀該定義也可理解，例如，免疫特異性地結合至第一靶標的抗體(或部分或表位元)可以特異性地或優先地結合第二靶標或可以不特異性地或優先地結合第二靶標。因此，“免

疫特異性結合”不一定要(儘管其可包括)排它性結合。一般而言，但是不是必須的，提及結合意指“免疫特異性”結合。如果這類結合展示受體結合其各自配體的特異性，則認為這兩種分子能夠以“**生理特異性(physiospecific)**”方式彼此結合。

【0089】 如以上指出的，本發明的治療分子特別包括雙特異性結合分子，其包含能夠免疫特異性結合效應細胞的細胞表面分子的表位的表位-結合位點以及還有能夠免疫特異性地結合表達疾病抗原的靶細胞的表位的表位-結合位點。如本文使用的，術語“**疾病抗原**”表示這樣的抗原：其在異常細胞或受感染的細胞的表面上表達，並且是這類異常或感染所特有的，或其在外源細胞的表面上表達並且是這類外來來源所特有的。如本文使用的，在其細胞表面上表達疾病抗原並且因此被本發明治療分子結合並且從而被這類治療分子靶向用於殺傷的細胞是“**靶細胞**”。與本發明具體相關的是作為“**癌抗原**”或“**病原體相關抗原**”的疾病抗原。

I. 抗體和其結合結構域

【0090】 本發明結合分子可以是抗體。“**抗體**”是能夠通過位於免疫球蛋白分子的可變結構域中的至少一種抗原識別位點而特異性結合靶標如碳水化合物、多核苷酸、脂質、多肽等的免疫球蛋白分子。如本文使用的，術語“**抗體(antibody)**”和“**抗體(antibodies)**”指單克隆抗體、多特異性抗體、人抗體、人源化抗體、合成抗體、嵌合抗體、多克隆抗體、駱駝化(camelized)抗體、單鏈Fvs (scFv)、單鏈抗體、Fab片段、F(ab')片段、二硫鍵連接的雙特異性Fvs (sdFv)、胞內抗體以及任何上述抗體或片段的表位-結合片段。具體的，術語“抗體”包括免疫球蛋白分子和免疫球蛋白分子的免疫學活性片段，即，包含表位-結合位點的分子。

免疫球蛋白分子可屬於任何類型(例如，IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY)、類別(例如，IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁和IgA₂)或子類。由於在這類分子上存在特定結構域或部分或構象(“表位”)，抗體能夠“**免疫特異性地結合**”多肽或蛋白質或非蛋白質分子。含表位的分子可具有免疫原活性，以使其在動物中引發抗體產生應答；這類分子稱為“**抗原**”。最近幾十年，已經見證了對抗體的治療潛力的興趣的復興，並且抗體已經成為一種領先類別的生物技術衍生的藥物(Chan, C.E.等人, (2009) “The Use Of Antibodies In The Treatment Of Infectious Diseases,” Singapore Med. J. 50(7):663-666)。超過200種基於抗體的藥物已經被批准使用或在開發中。

【0091】 術語“**單克隆抗體**”指同質型(homogeneous)抗體群體，其中單克隆抗體包括參與抗原的選擇性結合的氨基酸(天然產生的或非天然產生的)。單克隆抗體是高度特異性的，直接針對單個表位(或抗原位點)。術語“單克隆抗體”不僅僅包括完整的單克隆抗體和全長單克隆抗體，而且也包括其片段(比如Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv片段等)、單鏈(scFv)結合分子及其突變體、包括抗體部分的融合蛋白、人源化的單克隆抗體、嵌合單克隆抗體和包括具有結合抗原的必要的特異性和能力的抗原識別位點的免疫球蛋白分子的任何其他修飾構造(configuration)。就抗體的來源或製備其的方式(例如，通過雜交瘤、噬菌體選擇、重組表達、轉基因動物等)而言，不旨在是限制性的。術語包括完整的免疫球蛋白以及上面根據“抗體”的定義描述的片段等。製備單克隆抗體的方法是本領域已知的。可採用的一種方法是Kohler, G.等(1975) “Continuous Cultures Of Fused Cells Secreting Antibody Of Preddefined Specificity,” Nature 256:495-497的方法或其改良。典型地，單克隆抗體在小鼠、大鼠或兔子中開發。通過用免疫原性量的細

胞、細胞提取物或包含期望的表位的蛋白質製品免疫動物而產生抗體。免疫原可以是但不限於原代細胞、培養細胞系、癌細胞、蛋白質、肽、核酸或組織。用於免疫的細胞可被培養一段時間(例如，至少24小時)，然後將它們用作免疫原。細胞它們本身或聯合非變性佐劑，比如Ribi，可用作免疫原(見，例如，Jennings, V.M. (1995) “Review of Selected Adjuvants Used in Antibody Production,” ILAR J. 37(3):119-125)。一般而言，在用作免疫原時，細胞應保持完整並且優選地有活性。相比於破裂的細胞，完整的細胞可允許抗原被免疫的動物更好地檢測。變性或烈性佐劑，例如，弗氏佐劑的使用，可使細胞破裂，因此，其應用受阻。免疫原可以週期性間隔被多次施用，諸如兩週一次或一週一次，或者可以以維持在動物(例如，在組織重組體中)中的生存力這樣的方式被施用。可選地，對於期望的致病表位是免疫特異性的現有單克隆抗體和任意其他等價抗體可被測序，並通過本領域中已知的任意手段重組產生。在一個實施方式中，對這樣的抗體測序，然後將多核苷酸序列克隆至載體用於表達或增殖。編碼感興趣的抗體的序列可在宿主細胞中保持在載體中，並且，可然後擴展和冷凍宿主細胞，用於將來的使用。這樣的抗體的多核苷酸序列可用於基因操作，以產生本發明的單特異性或多特異性(例如，雙特異性、三特異性和四特異性)分子以及親和力優化的嵌合抗體、人源化抗體和/或犬源化(caninized)抗體，以改善抗體的親和力或其他特徵。人源化抗體的一般原理涉及保留抗體的抗原結合的部分的基本序列，同時用人抗體序列交換抗體的非人剩餘部分。

【0092】 天然抗體(如IgG抗體)由與兩條“**重鏈**”複合的兩條“**輕鏈**”構成。每條輕鏈包含可變結構域(“**VL**”)和恆定結構域(“**CL**”)。每條重鏈包含可變結構域(“**VH**”)、三個恆定結構域(“**CH1**”、“**CH2**”和“**CH3**”)和位於**CH1**和**CH2**結構域之

間的“**鉸鏈**”區(“**H**”)。相比之下，scFvs是通過經由短連接肽將輕鏈和重鏈可變結構域連接在一起而製備的單鏈分子。

【0093】 因此，天然產生的免疫球蛋白(例如，IgG)的基本結構單元因此是具有兩條輕鏈和兩條重鏈的四聚體，通常作為約150,000 Da的糖蛋白被表達。每條鏈的氨基端(“N-末端”)部分包括主要負責抗原識別的約100至110或更多氨基酸的可變結構域。每條鏈的羧基端(“C-末端”)部分限定了恆定區，其中輕鏈具有單個恆定結構域而重鏈通常具有三個恆定結構域和鉸鏈結構域。因此，IgG分子的輕鏈的結構是n-VL-CL-c並且IgG重鏈的結構是n-VH-CH1-H-CH2-CH3-c (其中n和c分別表示多肽的N-末端和C-末端)。

A · 抗體可變結構域的特徵

【0094】 IgG分子的可變結構域由互補決定區(“CDR”)和稱為框架區段(“FR”)的非CDR區段組成，所述互補決定區(“CDR”)包含與表位接觸的殘基，所述框架區段一般維持結構和決定CDR環的定位，以便允許這類接觸(儘管某些框架殘基也可接觸抗原)。因此，VL和VH結構域具有結構n-FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4-c。是(或可用作)抗體輕鏈的第一、第二和第三CDR的多肽在本文分別命名為：**CDR_L1結構域**、**CDR_L2結構域**和**CDR_L3結構域**。類似地，是(或可用作)抗體重鏈的第一、第二和第三CDR的多肽在本文分別命名為：**CDR_H1結構域**、**CDR_H2結構域**和**CDR_H3結構域**。因此，術語CDR_L1結構域、CDR_L2結構域、CDR_L3結構域、CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域指當併入到蛋白質中時使得該蛋白質能夠結合特異性表位的多肽，無論這樣的蛋白質是具有輕鏈和重鏈的抗體還是雙抗體或單鏈結合分子(例如，scFv、BiTe等)或是另一類型的蛋白質。因此，如本文所使用，術語“**表位結合片**

段”表示能夠免疫特異性結合表位的分子。表位結合片段可包含抗體的1、2、3、4或5個CDR結構域，或可包含抗體的所有6個CDR結構域，並且儘管能夠免疫特異性結合這類表位，但可展示對與這樣的抗體的表位不同的這樣的表位的特異性、親和力或選擇性。但是，優選地，表位結合片段將包含這類抗體的所有6個CDR結構域。抗體的表位結合片段可以是單個多肽鏈(例如，scFv)，或可包括兩條或更多條多肽鏈，每條鏈均具有氨基末端和羧基末端(例如，雙抗體、Fab片段、Fab₂片段等)。除非具體指出，否則本文所述的蛋白質分子的結構域的順序是從“N-末端至C-末端”方向。

【0095】 本發明還特別包括表位-結合分子，其包含人源化抗體的VL和/或VH結構域。術語“**人源化抗體**”指一般使用重組技術製備的嵌合分子，其具有來自非人物種的免疫球蛋白的表位-結合位點和基於人免疫球蛋白的結構和/或序列的分子的剩餘免疫球蛋白結構。這類抗體的可變結構域的多核苷酸序列可用於遺傳操作，以產生這類衍生物和改善這類抗體的親和力或其他特徵。人源化抗體的一般原則涉及保留抗體的表位元結合部分的基本序列，同時用人抗體序列交換抗體的非人剩餘部分。人源化單克隆抗體有四個基本步驟。這些是：(1)確定開始抗體輕鏈和重鏈可變結構域的核苷酸和預測的氨基酸序列；(2)設計人源化抗體或犬源化抗體，即，決定在人源化或犬源化過程中使用哪種抗體框架區域；(3)實際人源化或犬源化方法/技術；和(4)轉染和表達人源化抗體。見，例如，美國專利號4,816,567、5,807,715、5,866,692和6,331,415。

【0096】 表位-結合位元點可包括融合到恆定結構域融合上的完整的可變結構域或僅僅包括移植至適當框架區的這類可變結構域的互補決定區(CDR)。表位元結合結構域可以是野生型或通過一個或多個氨基酸取代被修飾。這消除了

人個體中作為免疫原的恆定區，但是仍保留對外源可變結構域的免疫應答的可能性(LoBuglio, A.F.等(1989) “Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody In Man: Kinetics And Immune Response,” Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 86:4220-4224)。另一種方法不僅僅關注提供源自人的恆定區，而且也修飾可變結構域，以便重塑它們使其盡可能地與人形式接近。已知重鏈和輕鏈的可變結構域都包含三個互補決定區(CDR)，側翼是四個框架區(FR)，所述互補決定區(CDR)對所討論的抗原回應不同並且決定結合能力，所述框架區(FR)在給定物種中相對保守並且推定其為CDR提供支架。當針對特定抗原製備非人抗體時，通過將源自非人抗體的CDR移植在待修飾的人抗體中存在的FR上可“重塑”或“人源化”可變結構域。已經報導了該方法應用於各種抗體：Sato, K.等(1993) Cancer Res 53:851-856. Riechmann, L.等(1988) “Reshaping Human Antibodies for Therapy,” Nature 332:323-327；Verhoeyen, M.等(1988) “Reshaping Human Antibodies: Grafting An Antilysozyme Activity,” Science 239:1534-1536；Kettleborough, C. A.等(1991) “Humanization Of A Mouse Monoclonal Antibody By CDR-Grafting: The Importance Of Framework Residues On Loop Conformation,” Protein Engineering 4:773-3783；Maeda, H.等(1991) “Construction Of Reshaped Human Antibodies With HIV-Neutralizing Activity,” Human Antibodies Hybridoma 2:124-134；Gorman, S. D.等(1991) “Reshaping A Therapeutic CD4 Antibody,” Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 88:4181-4185；Tempest, P.R.等(1991) “Reshaping A Human Monoclonal Antibody To Inhibit Human Respiratory Syncytial Virus Infection in vivo,” Bio/Technology 9:266-271；Co, M. S.等(1991) “Humanized Antibodies For Antiviral Therapy,” Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 88:2869-2873；Carter, P.等(1992) “Humanization Of An

Anti-p185her2 Antibody For Human Cancer Therapy,” Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 89:4285-4289；和Co, M.S.等(1992) “Chimeric And Humanized Antibodies With Specificity For The CD33 Antigen,” J. Immunol. 148:1149-1154。在一些實施方式中，人源化抗體保留所有的CDR序列(例如，人源化鼠抗體，其包含來自小鼠抗體的所有六個CDR)。在其他實施方式中，人源化抗體具有一個或多個CDR (一個、兩個、三個、四個、五個或六個)，其序列相對於初始抗體不同。

【0097】 已經描述了包含源自非人免疫球蛋白的表位結合位點的許多人源化抗體分子，包括具有齧齒動物或修飾的齧齒動物可變結構域和它們與人恆定結構域融合的相關的互補決定區(CDR)的嵌合抗體(見，例如，Winter等(1991) “Man-made Antibodies,” Nature 349:293-299；Lobuglio等(1989) “Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody In Man: Kinetics And Immune Response,” Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 86:4220-4224 (1989), Shaw等(1987) “Characterization Of A Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody (17-1A) To A Colon Cancer Tumor-Associated Antigen,” J. Immunol. 138:4534-4538, and Brown等(1987) “Tumor-Specific Genetically Engineered Murine/Human Chimeric Monoclonal Antibody,” Cancer Res. 47:3577-3583)。其他參考文獻描述了移植至人支撐框架區(FR)的齧齒動物CDR，其然後與適當的人抗體恆定結構域融合(見，例如，Riechmann, L.等(1988) “Reshaping Human Antibodies for Therapy,” Nature 332:323-327；Verhoeyen, M.等(1988) “Reshaping Human Antibodies: Grafting An Antilysozyme Activity,” Science 239:1534-1536；和Jones等(1986) “Replacing The Complementarity-Determining Regions In A Human Antibody With Those From A Mouse,” Nature 321:522-525)。另外的參考文獻描述了由重組修飾的齧齒動物框

架區支撐的齧齒動物CDR。見，例如，歐洲專利公開號519,596。這些“人源化的”分子被設計，以使對齧齒動物抗人抗體分子的不利免疫應答最小化，所述不利免疫應答限制了這些部分在人接受者中治療應用的持續時間和效力。也可使用的人源化抗體的其他方法，其公開在以下文獻中：Daugherty等(1991)

“Polymerase Chain Reaction Facilitates The Cloning, CDR-Grafting, And Rapid Expression Of A Murine Monoclonal Antibody Directed Against The CD18 Component Of Leukocyte Integrins,” Nucl. Acids Res. 19:2471-2476和美國專利號6,180,377、6,054,297、5,997,867和5,866,692。

B·抗體恆定區的特徵

【0098】 遍及本說明書，在IgG重鏈的恆定區中的殘基的編號是如Kabat等人的SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 第五版, Public Health Service, NH1, MD (1991) (“**Kabat**”)的EU索引的編號，其通過引用明確併入本文。術語“**Kabat中的EU索引**”指人IgG1 EU抗體的恆定結構域的編號。來自免疫球蛋白的成熟重鏈和輕鏈的可變結構域的氨基酸通過氨基酸在鏈中的位置而命名。**Kabat**描述了抗體的許多氨基酸序列，鑑定了每個子群的氨基酸共有序列，並且指定了每種氨基酸的殘基編號，並且CDR如通過**Kabat**定義的被鑑定(應該理解，如通過Chothia, C. & Lesk, A. M. ((1987) “Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins,” J. Mol. Biol. 196:901-917)定義的，CDR_{H1}提前五個殘基開始)。通過參考保守的氨基酸比對所討論的抗體與**Kabat**中的共有序列中的一條，**Kabat**的編號方案可擴展至未包括在其綱要中的抗體。用於賦予殘基編號的該方法已經成為本領域的標準並且容易鑑定在不同抗體，

包括嵌合或人源化的變體中等同位置處的氨基酸。例如，在人抗體輕鏈50位的氨基酸佔據與在小鼠抗體輕鏈的50位氨基酸等同的位置。

1. 重鏈的恆定區：Fc結構域

【0099】 抗體的兩條重鏈的CH1結構域與抗體的輕鏈的“CL”恆定區複合，並且經由間插鉸鏈結構域連接至重鏈CH2結構域。

【0100】 示例性CH1結構域是人IgG1 CH1結構域。示例性人IgG1 CH1結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:1**)：

ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKRV

【0101】 示例性CH1結構域是人IgG2 CH1結構域。示例性人IgG2 CH1結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:2**)：

ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDPHKPS NTKVDKTV

【0102】 示例性CH1結構域是人IgG4 CH1結構域。示例性人IgG4 CH1結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:3**)：

ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVDPHKPS NTKVDKRV

【0103】 一種示例性鉸鏈結構域是人IgG1鉸鏈結構域。示例性人IgG1鉸鏈結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:4**)：EPKSCDKTHTCPPCP。

【0104】 另一示例性鉸鏈結構域是人IgG2鉸鏈結構域。示例性人IgG2鉸鏈結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:5**)：ERKCCVECPPECP。

【0105】 另一示例性鉸鏈結構域是人IgG4鉸鏈結構域。示例性人IgG4

鉸鏈結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:6**):ESKYGPPCPSCP。如本文所述,IgG4鉸鏈結構域可包含穩定化突變如S228P取代。示例性S228P-穩定化的人IgG4鉸鏈結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:7**):ESKYGPPCPPCP。

【0106】 抗體的兩條重鏈的CH2和CH3結構域相互作用，以形成“**Fc結構域**”，其是由細胞**Fc受體**，包括但不限於Fcγ受體(**FcγR**)，識別的結構域。如本文使用的，術語“Fc結構域”用來限定IgG重鏈的C-末端區域。如果Fc結構域的氨基酸序列相對於其它IgG同種型與特定IgG同種型最同源，則認為該Fc結構域屬於該IgG同種型、類或子類。除了其在診斷劑中的已知用途，還證明了抗體可用作治療劑。

【0107】 示例性人IgG1的CH2-CH3結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:8**):

231	240	250	260	270	280
APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD					
	290	300	310	320	330
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA					
	340	350	360	370	380
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE					
	390	400	410	420	430
WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE					
	440	447			
ALHNHYTQKS LSLSPG <u>X</u>					

如通過Kabat中闡釋的EU索引編號的，其中X是賴氨酸(K)或不存在。

【0108】 示例性人 IgG2 的 CH2-CH3 結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:9**) :

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

如通過Kabat中闡釋的EU索引編號的，其中X是賴氨酸(K)或不存在。

【0109】 示例性人 IgG3 的 CH2-CH3 結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:10**) :

231	240	250	260	270	280
APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVQFKWYVD					
	290	300	310	320	330
GVEVHNAKTK PREEQYNSTF RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA					
	340	350	360	370	380
PIEKTISKTK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE					
	390	400	410	420	430
WESSGQPENN YNTTTPMLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NIFSCSVMHE					
	440	447			

ALHNRFTQKS LSLSPGX

如通過Kabat中闡釋的EU索引編號的，其中X是賴氨酸(K)或不存在。

【0110】 示例性人 IgG4 的 CH2-CH3 結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:11**)：

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

如通過Kabat中闡釋的EU索引編號的，其中X是賴氨酸(K)或不存在。

【0111】 在抗體恆定區中的許多不同位置(例如，Fc位置，包括但不限於270、272、312、315、356和358位，如在Kabat闡釋的EU索引編號)處已經觀察到了多態性，因此示出的序列和現有技術的序列之間可能存在輕微的差別。已經充分表徵了人免疫球蛋白的多態性形式。目前，已知18個Gm同種異型：G1m (1、2、3、17)或G1m (a、x、f、z)、G2m (23)或G2m (n)、G3m (5、6、10、11、13、14、15、16、21、24、26、27、28)或G3m (b1、c3、b3、b0、b3、b4、s、t、g1、c5、u、v、g5) (Lefranc, 等, “The Human IgG Subclasses: Molecular Analysis Of Structure, Function And Regulation.”Pergamon, Oxford, 43-78頁(1990)；Lefranc, G.

等1979, Hum. Genet.: 50, 199-211)。具體考慮本發明的抗體可併入任何免疫球蛋白基因的任何同種異型(allotype)、異同種異型(isoallotype)或單倍型(haplotype)，並且不限於本文提供的序列的同種異型、異同種異型或單倍型。此外，在一些表達體系中，CH3結構域的C-末端氨基酸殘基(上面粗體顯示的)可在翻譯後去除。因此，CH3結構域的C-末端殘基是本發明的結合分子中的任選的氨基酸殘基。本發明具體考慮缺少CH3結構域的C-末端殘基的結合分子。本發明也具體考慮包括CH3結構域的C-末端賴氨酸殘基的這類構建體。

1. 輕鏈的恆定區

【0112】 如以上指出的，抗體的每條輕鏈包含可變結構域(“VL”)和恆定結構域(“CL”)。

【0113】 優選的CL結構域是人IgG CL κ 結構域。示例性人CL κ 結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:12**)：

RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG
NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK
SFNRGEC

【0114】 可選地，示例性CL結構域是人IgG CL λ 結構域。示例性人CL λ 結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:13**)：

QPKAAPSVTL FPPSSEELQA NKATLVCLIS DFYPGAVTVA WKADSSPVKA
GVETTPSKQS NNKYAASSYL SLTPEQWKSH RSYSCQVTHE GSTVEKTVAP
TECS

II. 嵌合抗原受體

【0115】 能夠介導對靶細胞(即，癌細胞、病原體感染的細胞等)的重定向殺傷的本發明結合分子可以可選地是單特異性單鏈分子，如併入能夠結合

癌抗原或病原體相關抗原的單鏈可變片段(scFv)的嵌合抗原受體(“CAR”)。如以上指出的，scFvs通過經由短連接肽將輕鏈和重鏈可變結構域連接在一起來製備。第一代CAR通常具有來自CD3 ζ -鏈的胞內結構域，其是來自內源性TCR的信號的主要遞質。二代CAR在CAR的細胞質尾部具備來自各種共刺激蛋白質受體(例如，CD28、41BB、ICOS等)的另外的胞內信號轉導結構域，以向T-細胞提供另外的信號。三代CAR結合多種信號轉導結構域，如CD3 ζ -CD28-41BB或CD3 ζ -CD28-OX40，以進一步增強效價(Tettamanti, S.等人, (2013) “Targeting Of Acute Myeloid Leukaemia By Cytokine-Induced Killer Cells Redirected With A Novel CD123-Specific Chimeric Antigen Receptor,” Br. J. Haematol. 161:389-401 ; Gill, S.等人, (2014) “Efficacy Against Human Acute Myeloid Leukemia And Myeloablation Of Normal Hematopoiesis In A Mouse Model Using Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells,” Blood 123(15): 2343-2354 ; Mardiros, A.等人, (2013) “T Cells Expressing CD123-Specific Chimeric Antigen Receptors Exhibit Specific Cytolytic Effector Functions And Antitumor Effects Against Human Acute Myeloid Leukemia,” Blood 122:3138-3148 ; Pizzitola, I.等人, (2014) “Chimeric Antigen Receptors Against CD33/CD123 Antigens Efficiently Target Primary Acute Myeloid Leukemia Cells in vivo,” Leukemia doi:10.1038/leu.2014.62 。

【0116】 本發明CAR的胞內結構域優選地選自下述任一項的胞內結構域：41BB-CD3 ζ 、b2c-CD3 ζ 、CD28、CD28-4-1BB-CD3 ζ 、CD28-CD3 ζ 、CD28-Fc ϵ RI γ 、CD28mut-CD3 ζ 、CD28-OX40-CD3 ζ 、CD28-OX40-CD3 ζ 、CD3 ζ 、CD4-CD3 ζ 、CD4-Fc ϵ RI γ 、CD8-CD3 ζ 、Fc ϵ RI γ 、Fc ϵ RI γ CAIX、Heregulin-CD3 ζ 、IL-13-CD3 ζ 或Ly49H-CD3 ζ (Tettamanti, S.等人, (2013) “Targeting Of Acute Myeloid

Leukaemia By Cytokine-Induced Killer Cells Redirected With A Novel CD123-Specific Chimeric Antigen Receptor,” Br. J. Haematol. 161:389-401 ; Gill, S.等人, (2014)

“Efficacy Against Human Acute Myeloid Leukemia And Myeloablation Of Normal Hematopoiesis In A Mouse Model Using Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells,” Blood 123(15): 2343-2354 ; Mardiros, A.等人, (2013) “T Cells Expressing

CD123-Specific Chimeric Antigen Receptors Exhibit Specific Cytolytic Effector

Functions And Antitumor Effects Against Human Acute Myeloid Leukemia,” Blood 122:3138-3148 ; Pizzitola, I.等人, (2014) “ Chimeric Antigen Receptors Against

CD33/CD123 Antigens Efficiently Target Primary Acute Myeloid Leukemia Cells in vivo,” Leukemia doi:10.1038/leu.2014.62) 。

III. 雙特異性抗體和多特異性雙抗體

【0117】 抗體結合抗原表位的能力取決於抗體的VL和VH結構域的存在和氨基酸序列。抗體的輕鏈和重鏈的相互作用，具體的，其VL和VH結構域的相互作用形成天然抗體如IgG的兩種表位-結合結構域中的一種。天然抗體能夠結合僅一個表位種類(即，它們是單特異性的)，儘管它們可結合該種類的多個拷貝(即，展示二價或多價)。

【0118】 抗體的功能可通過以下手段得到增強：產生基於多特異性抗體的分子，其可同時結合兩種單獨的且不同的抗原(或相同抗原的不同表位)；和/或產生基於抗體的分子，其對於相同的表位和/或抗原具有更高價(即，多於兩個結合位點)。

【0119】 為了提供具有比天然抗體更大能力的分子，已經開發了各種重組雙特異性抗體形式(見，例如，PCT專利公開號WO 2008/003116、WO

2009/132876、WO 2008/003103、WO 2007/146968、WO 2009/018386、WO 2012/009544、WO 2013/070565)，其大部分使用連接肽，所述連接肽與其他表位結合片段(例如，scFv、VL、VH等)融合或在抗體核心中(IgA、IgD、IgE、IgG或IgM)或與多個表位結合片段(例如，兩個Fab片段或scFvs)融合。可選的形式使用連接肽，以將表位結合片段(例如，scFv、VL、VH等)與二聚化結構域，比如CH2-CH3結構域，或可選的多肽融合(WO 2005/070966、WO 2006/107786 WO 2006/107617、WO 2007/046893)。PCT專利公開號WO 2013/174873、WO 2011/133886和WO 2010/136172公開了三特異性抗體，其中CL和CH1結構域由其各自的天然位置被轉變，並且VL和VH結構域已經被多樣化(WO 2008/027236、WO 2010/108127)，以允許它們結合大於一種抗原。PCT專利公開號WO 2013/163427和WO 2013/119903公開了修飾CH2結構域，以包含包括結合結構域的融合蛋白加合物。PCT專利公開號WO 2010/028797、WO2010028796和WO 2010/028795公開了重組抗體，其Fc結構域已經用另外的VL和VH結構域替換，以便形成三價結合分子。PCT專利公開號WO 2003/025018和WO2003012069公開了重組雙抗體，其單個鏈包含scFv結構域。PCT專利公開號WO 2013/006544公開了多價Fab分子，其作為單多肽鏈被合成，然後經歷蛋白酶解，以產生異源二聚化結構。PCT專利公開號WO 2014/022540、WO 2013/003652、WO 2012/162583、WO 2012/156430、WO 2011/086091、WO 2008/024188、WO 2007/024715、WO 2007/075270、WO 1998/002463、WO 1992/022583和WO 1991/003493公開了添加另外的結合結構域或功能集團至抗體或抗體部分(例如，添加雙抗體至抗體的輕鏈或添加另外的VL和VH結構域至抗體的輕鏈和重鏈或添加異源融合蛋白或彼此連結多個Fab結構域)。

【0120】 本領域已經另外注意到產生在能夠結合兩個或多個不同表位種類(即，除了雙價或多價之外顯示雙特異性或多特異性)方面不同於這樣的天然抗體的雙抗體的能力(見，例如，Holliger等人, (1993) “*Diabodies*: Small Bivalent And Bispecific Antibody Fragments,” Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 90:6444-6448 ; US 2004/0058400 (Hollinger等人) ; US 2004/0220388 / WO 02/02781 (Mertens等人) ; Alt等人, (1999) FEBS Lett. 454(1-2):90-94 ; Lu, D.等人, (2005) “A Fully Human Recombinant IgG-Like Bispecific Antibody To Both The Epidermal Growth Factor Receptor And The Insulin-Like Growth Factor Receptor For Enhanced Antitumor Activity,” J. Biol. Chem. 280(20):19665-19672 ; WO 02/02781 (Mertens等人) ; Olafsen, T.等人, (2004) “Covalent Disulfide-Linked Anti-CEA Diabody Allows Site-Specific Conjugation And Radiolabeling For Tumor Targeting Applications,” Protein Eng. Des. Sel. 17(1):21-27 ; Wu, A.等人, (2001) “Multimerization Of A Chimeric Anti-CD20 Single Chain Fv-Fv Fusion Protein Is Mediated Through Variable Domain Exchange,” Protein Engineering 14(2):1025-1033 ; Asano等人, (2004) “A Diabody For Cancer Immunotherapy And Its Functional Enhancement By Fusion Of Human Fc Domain,” Abstract 3P-683 , J. Biochem. 76(8):992 ; Takemura, S.等人, (2000) “Construction Of A Diabody (Small Recombinant Bispecific Antibody) Using A Refolding System,” Protein Eng. 13(8):583-588 ; Baeuerle, P.A.等人, (2009) “Bispecific T-Cell Engaging Antibodies For Cancer Therapy,” Cancer Res. 69(12):4941-4944) 。

【0121】 雙抗體的設計是基於單鏈可變結構域片段(scFv)的結構，其中輕鏈和重鏈可變結構域使用短連接肽彼此連接。Bird等人(1988) (“Single-Chain

Antigen-Binding Proteins,” *Science* 242:423-426)描述了連接肽的例子，其在一個可變區的羧基末端和另一可變區的氨基末端之間橋接約3.5 nm。已經設計和使用其他序列的連接體(Bird等人(1988) “Single-Chain Antigen-Binding Proteins,” *Science* 242:423-426)。連接體進而可被修飾用於另外的功能，比如藥物的附著或附著至固體載體。可重組或合成產生單鏈變體。為了合成產生scFv，可使用自動合成儀。為了重組體產生scFv，可將包含編碼scFv的多核苷酸的合適質粒引入適當的宿主細胞中，所述宿主細胞可以是真核細胞，比如酵母細胞、植物細胞、昆蟲細胞或哺乳動物細胞，或原核細胞，比如大腸埃希氏菌。可通過常規操作比如多核苷酸的連接製備編碼感興趣的scFv的多核苷酸。可使用本領域已知的標準蛋白質純化技術分離所得scFv。

【0122】 雙特異性結合分子(例如，非單特異性雙抗體)的供應提供相比抗體的明顯優勢，包括但不限於足以共連接和/或共定位表達不同表位的不同細胞的“反式(trans)”結合能力和/或足以共連接和/或共定位由相同細胞表達的不同分子的“順式(cis)”結合能力。因此，雙特異性結合分子(例如，非單特異性雙抗體)具有廣泛的應用，包括治療和免疫診斷。在各種應用中，雙特異性在設計和工程化雙抗體方面允許大的靈活性，提供對多聚抗原的增強的親合力、不同抗原的交聯和對特定細胞類型的導向靶向，這取決於兩個靶抗原的存在。由於其增加的價、低離解速率和從迴圈中快速清除(對於小尺寸的雙抗體，為~50 kDa或以下)，本領域中已知的雙抗體分子在腫瘤成像領域還顯示特別的用途(Fitzgerald等人(1997) “Improved Tumour Targeting By Disulphide Stabilized Diabodies Expressed In *Pichia pastoris*,” *Protein Eng.* 10:1221-1225)。

【0123】 產生雙特異性雙抗體的能力已經導致它們(以“反式”)將兩個

細胞共連接在一起的用途，例如，通過共連接在不同細胞表面上存在的受體(例如，交連細胞毒性T-細胞與靶細胞，如表達疾病抗原的癌細胞或病原體感染細胞)(Staerz等人, (1985) “*Hybrid Antibodies Can Target Sites For Attack By T Cell*,” *Nature* 314:628-631，和Holliger等人, (1996) “*Specific Killing Of Lymphoma Cells By Cytotoxic T-Cells Mediated By A Bispecific Diabody*,” *Protein Eng.* 9:299-305；Marvin等人, (2005) “*Recombinant Approaches To IgG-Like Bispecific Diabody*,” *Acta Pharmacol. Sin.* 26:649-658；Sloan等人, (2015) “*Targeting HIV Reservoir in Infected CD4 T Cell by Dual-Affinity Re-targeting Molecules (DARTs) that Bind HIV Envelope and Recruit Cytotoxic T Cell*” *PLoS Pathog* 11(11): e1005233. doi:10.1371/journal.ppat.1005233))。可選地(或另外)，雙特異性(或三特異性或多特異性)雙抗體可用於(以“順式”)共連接存在於相同細胞表面上的分子，如受體等。不同細胞和/或受體的共連接可用於調節效應子功能和/或免疫細胞信號轉導。包含表位-結合結構域的多特異性分子(例如，雙特異性雙抗體)可被引導至任何在T淋巴細胞、天然殺傷(NK)細胞、抗原呈遞細胞或其它單核細胞上表達的免疫細胞的表面決定子如CD2，CD3，CD8，CD16，TCR，NKG2D等。具體的，被引導至存在於免疫效應細胞上的細胞表面受體的表位-結合結構域可用於產生能夠介導重定向細胞殺傷的多特異性結合分子。

【0124】 但是，上述雙特異性雙抗體的優勢需要突出的成本。這類非單特異性雙抗體的形成需要成功組裝兩個或更多個獨特和不同的多肽(即，這樣的形成需要通過不同多肽鏈種類的異源二聚化而形成雙抗體)。該事實與單特異性雙抗體不同，其通過一致的多肽鏈的同源二聚化而形成。由於至少兩個不同的多肽(即，兩個多肽種類)必須被提供以形成非單特異性雙抗體並且由於這樣的

多肽的同源二聚化導致失活分子(Takemura, S.等人(2000) “Construction Of A Diabody (Small Recombinant Bispecific Antibody) Using A Refolding System,” Protein Eng. 13(8):583-588)，這樣的多肽的產生必須以防止相同種類多肽之間的共價結合的方式完成(即，以便防止同源二聚化) (Takemura, S.等人, (2000) “Construction Of A Diabody (Small Recombinant Bispecific Antibody) Using A Refolding System,” Protein Eng. 13(8):583-588)。因此，現有技術已經教導了這類多肽的非共價締合(參見，例如，Olafsen等人, (2004) “Covalent Disulfide-Linked Anti-CEA Diabody Allows Site-Specific Conjugation And Radiolabeling For Tumor Targeting Applications,” Prot. Engr. Des. Sel. 17:21-27；Asano等人, (2004) “A Diabody For Cancer Immunotherapy And Its Functional Enhancement By Fusion Of Human Fc Domain,” Abstract 3P-683，J. Biochem. 76(8):992；Takemura, S.等人, (2000) “Construction Of A Diabody (Small Recombinant Bispecific Antibody) Using A Refolding System,” Protein Eng. 13(8):583-588；Lu, D.等人, (2005) “A Fully Human Recombinant IgG-Like Bispecific Antibody To Both The Epidermal Growth Factor Receptor And The Insulin-Like Growth Factor Receptor For Enhanced Antitumor Activity,” J. Biol. Chem. 280(20):19665-19672)。

【0125】 但是，現有技術已經認識到由非共價締合的多肽構成的雙特異性雙抗體不穩定並且容易解離成非功能單體(參見，例如，Lu, D.等人, (2005) “A Fully Human Recombinant IgG-Like Bispecific Antibody To Both The Epidermal Growth Factor Receptor And The Insulin-Like Growth Factor Receptor For Enhanced Antitumor Activity,” J. Biol. Chem. 280(20):19665-19672)。

【0126】 面對這樣的挑戰，本領域已經成功地開發了穩定的、共價結

合的異源二聚非單特異性雙抗體，稱為**DART®** (雙親和性重靶向)雙抗體；參見，例如，美國專利公開號2013-0295121、2010-0174053和2009-0060910；歐洲專利公開號EP 2714079、EP 2601216、EP 2376109、EP 2158221和PCT專利公開號WO 2012/162068、WO 2012/018687、WO 2010/080538；以及Sloan, D.D.等人, (2015) “Targeting HIV Reservoir in Infected CD4 T Cells by Dual-Affinity Re-targeting Molecules (DARTs) that Bind HIV Envelope and Recruit Cytotoxic T Cells,” PLoS Pathog. 11(11):e1005233. Doi: 10.1371/journal.ppat.1005233；Al Hussaini, M.等人, (2015) “Targeting CD123 In AML Using A T-Cell Directed Dual-Affinity Re-Targeting (DART®) Platform,” Blood pii: blood-2014-05-575704；Chichili, G.R.等人, (2015) “A CD3xCD123 Bispecific DART For Redirecting Host T Cells To Myelogenous Leukemia: Preclinical Activity And Safety In Nonhuman Primates,” Sci. Transl. Med. 7(289):289ra82；Moore, P.A.等人, (2011) “Application Of Dual Affinity Retargeting Molecules To Achieve Optimal Redirected T-Cell Killing Of B-Cell Lymphoma,” Blood 117(17):4542-4551；Veri, M.C.等人, (2010) “Therapeutic Control Of B Cell Activation Via Recruitment Of Fcγ Receptor IIb (CD32B) Inhibitory Function With A Novel Bispecific Antibody Scaffold,” Arthritis Rheum. 62(7):1933-1943；Johnson, S.等人, (2010) “Effector Cell Recruitment With Novel Fv-Based Dual-Affinity Re-Targeting Protein Leads To Potent Tumor Cytolysis And in vivo B-Cell Depletion,” J. Mol. Biol. 399(3):436-449)。這樣的雙抗體包含兩條或多條共價複合的多肽並涉及將一個或多個半胱氨酸殘基工程化到每個應用的多肽種類中，其允許形成二硫鍵，從而將一對或多對這類多肽鏈彼此共價結合。例如，將半胱氨酸殘基添加至這樣的構建體的C-末端已經被證明允許涉及

的多肽鏈之間的二硫結合，穩定了產生的雙抗體，而不干擾雙抗體的結合特性。

【0127】 已經描述了這類分子的許多變型(參見，例如，美國專利公開號2015/0175697、2014/0255407、2014/0099318、2013/0295121、2010/0174053、2009/0060910、2007-0004909；歐洲專利公開號EP 2714079、EP 2601216、EP 2376109、EP 2158221、EP 1868650和PCT專利公開號WO 2012/162068、WO 2012/018687、WO 2010/080538、WO 2006/113665)，並且在本文中被提供。

【0128】 用於期望雙特異性或四價分子而不需要Fc的應用的可選的構建體在本領域中是已知的，包括但不限於雙特異性T細胞銜接分子，也稱為“**BiTE**”(參見，例如，PCT專利公開號WO 1993/11161和WO 2004/106381)和四價串聯抗體，也稱為“**TandAb**”(參見，例如美國專利公開號2011-0206672、歐洲專利公開號EP 2371866和PCT專利公開號WO 1999/057150、WO 2003/025018和WO 2013/013700)。BiTE由包含串聯連接的scFv的單多肽鏈形成，而TandAb由兩條相同多肽鏈的同源二聚化形成，每條多肽鏈具備VH1、VL2、VH2和VL2結構域。

【0129】 本發明提供能夠介導對表達疾病抗原的靶細胞(例如，癌細胞或病原體感染的細胞等)的重定向殺傷的雙特異性結合分子。這類雙特異性結合分子能夠結合“**第一表位**”和“**第二表位**”，這類表位彼此不同。這類雙特異性分子包含能夠結合第一表位的“**VL1**”/“**VH1**”結構域和能夠結合第二表位的“**VL2**”/“**VH2**”結構域。符號“**VL1**”和“**VH1**”分別表示結合這類雙特異性分子的“第一”表位元的輕鏈可變結構域和重鏈可變結構域。類似地，符號“**VL2**”和“**VH2**”分別表示結合這類雙特異性分子的“第二”表位元的輕鏈可變結構域和重鏈可變結構域。具體的表位被指定為第一還是第二表位是無關緊要的；這樣的符號僅僅與本發明的結合分子的多肽鏈的結構域的存在和取向相關。在一個實

施方式中，這類表位中的一種是存在於效應細胞如T淋巴細胞、天然殺傷(NK)細胞或其它單核細胞上的分子(例如，CD2、CD3、CD8、CD16、T-細胞受體(TCR)、NKG2D等)的表位，並且另一表位是疾病抗原(例如，癌抗原或病原體相關抗原)的表位。在某些實施方式中，雙特異性分子包含多於兩個表位-結合位點。本發明具體包括雙特異性雙抗體、BiTEs、抗體以及使用本文提供的任意方法產生的TandAb。

A. 缺少Fc結構域的雙抗體

【0130】 在一個實施方式中，本發明雙抗體是雙特異性的並且包含能夠結合第一和第二表位元二者的結構域，但是缺少Fc結構域，因此不能結合FcγR分子。雙特異性雙抗體的這類實施方式的第一多肽鏈在N-末端至C-末端方向包含：N-末端、能夠結合第一或第二表位的單克隆抗體的VL結構域(即，VL_{表位1}或VL_{表位2})、第一間插間隔肽(連接體1)、能夠結合第二表位的單克隆抗體的VH結構域(如果這類第一多肽鏈包含VL_{表位1})或能夠結合第一表位的單克隆抗體的VH結構域(如果這類第一多肽鏈包含VL_{表位2})、任選地包含半胱氨酸殘基的第二間插間隔肽(連接體2)、異源二聚體促進結構域和C-末端(圖1)。

【0131】 雙特異性雙抗體的該實施方式的第二多肽鏈在N-末端至C-末端方向包含：N-末端、能夠結合第一或第二表位的單克隆抗體的VL結構域(即，VL_{表位1}或VL_{表位2}，並且是未被選擇包含於雙抗體的第一多肽鏈中的VL結構域)、間插間隔肽(連接體1)、能夠結合第一或第二表位的單克隆抗體的VH結構域(即，VH_{表位1}或VH_{表位2}，並且是未被選擇包含於雙抗體的第一多肽鏈中的VH結構域)、任選地包含半胱氨酸殘基的第二間插間隔肽(連接體2)、異源二聚體促進結構域和C-末端(圖1)。所採用的對於具體表位具有特異性的VL和VH結構域優

選地獲自或衍生自相同的單克隆抗體。但是，這類結構域可衍生自不同單克隆抗體，條件是它們締合以形成能夠免疫特異性地結合這類表位的功能性結合位點。這類不同抗體在本文中被稱為“相應的”抗體。

【0132】 第一多肽鏈的VL結構域與第二多肽鏈的VH結構域相互作用，以形成對表位之一(例如，第一表位)特異性的第一功能性表位-結合位點。類似地，第二多肽鏈的VL結構域與第一多肽鏈的VH結構域相互作用，以形成對其它表位(即，第二表位)特異性的第二功能性表位-結合位點。因此，第一和第二多肽鏈的VL和VH結構域的選擇是“**協同的(coordinated)**”，以使雙抗體的兩條多肽鏈總共包含能夠結合第一表位和第二表位二者的VL和VH結構域(即，它們總共包含VL_{表位1}/VH_{表位1}和VL_{表位2}/VH_{表位2})。

【0133】 最優選地，選擇間插間隔肽(即，“**連接體1**”，其分開這類VL和VH結構域)的長度，以基本上或完全防止多肽鏈的VL和VH結構域彼此結合(例如由0、1、2、3、4、5、6、7、8或9個間插連接體氨基酸殘基組成)。因此，第一多肽鏈的VL和VH結構域基本上或完全不能彼此結合。同樣地，第二多肽鏈的VL和VH結構域基本上或完全不能彼此結合。優選的間插間隔體肽(連接體1)具有序列(**SEQ ID NO:14**): GGGSGGGG。

【0134】 基於促進這類二聚化的一個或多個多肽結構域(即，“**異源二聚體促進結構域**”)的選擇來選擇第二間插間隔肽(“**連接體2**”)的長度和組成。一般地，第二間插間隔體肽(連接體2)包含3-20個氨基酸殘基。尤其地，當採用的異源二聚體促進結構域(一個或多個)包含/不包含半胱氨酸殘基時，使用包含半胱氨酸的第二間插間隔肽(連接體2)。包含半胱氨酸的第二間插間隔體肽(連接體2)將包含1、2、3或更多個半胱氨酸。優選的含半胱氨酸的間隔肽(連接體2)具有序

列GGCGGG (SEQ ID NO:15)。可選地，連接體2不包含半胱氨酸(例如，GGG、GGGS (SEQ ID NO:16)、LGGSG (SEQ ID NO:17)、GGSGGGSGGG (SEQ ID NO:18)、ASTKG (SEQ ID NO:19)、LEPKSS (SEQ ID NO:20)、APSSS (SEQ ID NO:21)等)，並且，使用如以下所述的含半胱氨酸的異源二聚體促進結構域。任選地，使用含半胱氨酸的連接體2和含半胱氨酸的異源二聚體促進結構域二者。

【0135】 異源二聚體促進結構域可以是在一條多肽鏈上的GVEPKSC (SEQ ID NO:22)或VEPKSC (SEQ ID NO:23)或AEPKSC (SEQ ID NO:24)和在另一條多肽鏈上的GFNRGEC (SEQ ID NO:25)或FNRGEC (SEQ ID NO:26) (US2007/0004909)。

【0136】 在優選的實施方式中，異源二聚體促進結構域將包含具有相反電荷的串聯重複的螺旋結構域，例如，“E-螺旋”異源二聚體促進結構域(SEQ ID NO:27：EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK)，其谷氨酸殘基在pH 7形成負電荷，或“K-螺旋”異源二聚體促進結構域(SEQ ID NO:28：KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE)，其賴氨酸殘基在pH 7形成正電荷。這類帶電結構域的存在促進了第一和第二多肽之間的締合，因此有助於異源二聚體形成。可以使用包括上述E-螺旋和K-螺旋序列的修飾的異源二聚體促進結構域，以便包括一個或多個半胱氨酸殘基。這類半胱氨酸殘基的存在允許在一條多肽鏈上存在的螺旋與另一多肽鏈上存在的互補螺旋成為共價結合的，從而彼此共價結合多肽鏈並且增加雙抗體的穩定性。這樣的尤其優選的例子是異源二聚體促進結構域包括修飾的E-螺旋，其具有氨基酸序列EVAACEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK (SEQ ID NO:29)和修飾的K-螺旋，其具有氨基酸序列KVAACKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (SEQ ID NO:30)。

【0137】 如WO 2012/018687中公開的，為了提高雙抗體的體內藥物代謝動力學特性，雙抗體可被修飾，以在雙抗體的一個或多個末端處包含血清結合蛋白的多肽部分。最優選地，血清結合蛋白的這類多肽部分設置在雙抗體的多肽鏈的C-末端。白蛋白是血漿中最豐富的蛋白質並且在人中半衰期是19天。白蛋白具有若干小分子結合位點，這允許其非共價結合其他蛋白，從而延長它們的血清半衰期。鏈球菌屬(*Streptococcus*)菌株G148的蛋白質G的白蛋白結合結構域3 (ABD3)由形成穩定的三螺旋束的46個氨基酸殘基組成並且具有廣泛的白蛋白結合特異性(Johansson, M.U.等(2002) “Structure, Specificity, And Mode Of Interaction For Bacterial Albumin-Binding Modules,” J. Biol. Chem. 277(10):8114-8120。因此，對於改善雙抗體的體內藥物代謝動力學特性，尤其優選的血清結合蛋白的多肽部分是來自鏈球菌蛋白質G的白蛋白結合結構域(ABD)，更優選地，鏈球菌屬菌株G148的蛋白質G的白蛋白結合結構域3 (ABD3) (SEQ ID NO:31)：LAEAKVLANR ELDKYGVSDY YKNLIDNAKS AEGVKALIDE ILAALP。

【0138】 如在WO 2012/162068 (通過引用併入本文)中公開的，SEQ ID NO:31的“去免疫化”的變體具有削弱或消除II類MHC結合的能力。基於組合突變結果，對於形成這樣的去免疫化的ABD，如下取代的組合被認為是優選的取代：66D/70S +71A、66S/70S +71A、66S/70S +79A、64A/65A/71A、64A/65A/71A+66S、64A/65A/71A+66D、64A/65A/71A+66E、64A/65A/79A+66S、64A/65A/79A+66D、64A/65A/79A+66E。變異的ABD具有修飾L64A、I65A和D79A或修飾N66S、T70S和D79A。具有下述氨基酸序列：

LAEAKVLANR ELDKYGVSDY YKNLID₆₆NAKS₇₀ A₇₁EGVKALIDE ILAALP

(SEQ ID NO:32)、

或氨基酸序列：

LAEAKVLANR ELDKYGVSDY YKNAA₆₄A₆₅NNAKT VEGVKALIAA₇₉E ILAALP

(SEQ ID NO:33)、

或氨基酸序列：

LAEAKVLANR ELDKYGVSDY YKNLIS₆₆NAKS₇₀ VEGVKALIAA₇₉E ILAALP

(SEQ ID NO:34)、

的變異的去免疫化ABD是特別優選的，因為這類去免疫化的ABD展示基本上野生型結合，同時提供削弱的II類MHC結合。因此，具有ABD的這類雙抗體的第一多肽鏈包含第三連接體(連接體3)，其優選地位於這類多肽鏈的E螺旋(或K螺旋)結構域的C-末端，以便插在E螺旋(或K螺旋)結構域和ABD (其優選地是去免疫化的ABD)之間。用於這類連接體3的優選的序列是SEQ ID NO:16：GGGS。

B. 包含Fc結構域的雙抗體

【0139】 本發明的一個實施方式涉及包含Fc結構域的能夠同時結合第一和第二表位(即，相同抗原分子的不同表位或為不同抗原的分子的表位)的多特異性雙抗體(例如，雙特異性、三特異性、四特異性等)。這類分子的Fc結構域可屬於任何同種型(例如，IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)。分子可進一步包含CH1結構域和/或鉸鏈結構域。當存在時，CH1結構域和/或鉸鏈結構域可屬於任何同種型(例如，IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)，並且優選地與期望的Fc結構域屬於相同的同種型。

【0140】 添加IgG CH2-CH3結構域至雙抗體多肽鏈之一或兩條中，以便雙抗體鏈的複合導致形成Fc區，延長了生物半衰期和/或改變了雙抗體的效

價。這類雙抗體包含兩條或多條多肽鏈，其序列允許多肽鏈彼此共價結合，以形成能夠同時結合第一表位和第二表位的共價締合的雙抗體。將IgG CH2-CH3結構域併入到兩條雙抗體多肽上允許形成包含Fc-區域的雙鏈雙特異性雙抗體(圖2)。

【0141】 可選地，僅僅在一條雙抗體多肽上併入IgG CH2-CH3結構域允許形成更複雜的、包含Fc結構域的四鏈雙特異性雙抗體(圖3A-3C)。圖3C顯示具有恆定輕鏈(CL)結構域和恆定重鏈CH1結構域的代表性四鏈雙抗體，然而，可以可選地採用這類結構域的片段以及其他多肽(參見，例如，圖3A和3B，美國專利公開號2013-0295121、2010-0174053和2009-0060910；歐洲專利公開號EP 2714079、EP 2601216、EP 2376109、EP 2158221和PCT專利公開號WO 2012/162068、WO 2012/018687、WO 2010/080538)。因此，例如，代替CH1結構域，可採用源自人IgG的鉸鏈結構域的、具有氨基酸序列GVEPKSC (SEQ ID NO:22)、VEPKSC (SEQ ID NO:23)或AEPKSC (SEQ ID NO:24)的肽，並且代替CL結構域，可採用人 κ 輕鏈的C-末端6個氨基酸GFNRGEC (SEQ ID NO:25)或FNRGEC (SEQ ID NO:26)。包含代表性肽的四鏈雙抗體顯示在圖3A中。可選地，或另外，可採用包含具有相反電荷的串聯螺旋結構域的肽，比如“E-螺旋”螺旋結構域(SEQ ID NO:27：EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK或SEQ ID NO:29：EVAACEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK)；和“K-螺旋”結構域(SEQ ID NO:28：KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE或SEQ ID NO:30：KVAACKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE)。含螺旋結構域的代表性四鏈雙抗體顯示在圖3B中。

【0142】 本發明的含Fc結構域的雙抗體分子可包含另外的間插間隔

肽(連接體)，通常這類連接體將併入在異源二聚體促進結構域(例如，E-螺旋或K-螺旋)和CH₂-CH₃結構域之間和/或在CH₂-CH₃結構域和可變結構域(即，VH或VL)之間。一般地，另外的連接體將包含3-20個氨基酸殘基並且可任選地包含全部或部分IgG鉸鏈結構域的全部或部分(優選地，IgG鉸鏈結構域的含半胱氨酸部分)。本發明的含Fc結構域的雙特異性雙抗體分子中可採用的連接體包括：GGGS (SEQ ID NO:16)、LGGGSG (SEQ ID NO:17)、GGGSGGGSGGG (SEQ ID NO:18)、ASTKG (SEQ ID NO:19)、LEPKSS (SEQ ID NO:20)、APSSS (SEQ ID NO:21)、APSSSPME (SEQ ID NO:35)、VEPKSADKTHTCPPCP (SEQ ID NO:36)、LEPKSADKTHTCPPCP (SEQ ID NO:37)、DKTHTCPPCP (SEQ ID NO:38)、GGC和GGG。可使用LEPKSS (SEQ ID NO:20)代替GGG或GGC，以便於克隆。另外地，氨基酸GGG或LEPKSS (SEQ ID NO:20)之後緊接著可以是DKTHTCPPCP (SEQ ID NO:38)以形成可選的連接體：GGGDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:39)；和LEPKSSDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:40)。除了連接體以外或代替連接體，本發明含Fc結構域的雙特異性分子可併入IgG鉸鏈結構域。示例性鉸鏈結構域包括：來自IgG1的EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:4)、來自IgG2的ERKCCVECPCPCP (SEQ ID NO:5)、來自IgG4的ESKYGPPCPSCP (SEQ ID NO:6)、和ESKYGPPCPPCP (SEQ ID NO:7)，IgG4鉸鏈變體包含穩定化的S228P取代(如通過Kabat中闡釋的EU索引編號的)以減少鏈交換。

【0143】 如圖3A-3C中提供的，本發明含Fc結構域的雙抗體可包含四條鏈。這類雙抗體的第一和第三多肽鏈包含三個結構域：(i)包含VL1的結構域、(ii)包含VH2的結構域、(iii)異源二聚體-促進結構域、和(iv)包含CH₂-CH₃序列的結構域。第二和第四多肽鏈包含：(i)包含VL2的結構域、(ii)包含VH1的結構域

和(iii)異源二聚體-促進結構域，其中異源二聚體-促進結構域促進第一/第三多肽鏈與第二/第四多肽鏈的二聚化。第三和第四多肽鏈的VL和/或VH結構域，以及第一和第二多肽鏈的VL和/或VH結構域可以相同或不同，以便允許單特異性、雙特異性或四特異性的四價結合。符號“**VL3**”和“**VH3**”分別表示結合這類雙抗體的“第三”表位元的輕鏈可變結構域和可變重鏈結構域。類似地，符號“**VL4**”和“**VH4**”分別表示結合這類雙抗體的“第四”表位元的輕鏈可變結構域和可變重鏈結構域。本發明的包含Fc結構域的、代表性四鏈雙特異性雙抗體的多肽鏈的一般結構提供在**表1**中：

表1		
雙特異性	第二鏈	NH ₂ -VL2-VH1-HPD-COOH
	第一鏈	NH ₂ -VL1-VH2-HPD-CH2-CH3-COOH
	第一鏈	NH ₂ -VL1-VH2-HPD-CH2-CH3-COOH
	第二鏈	NH ₂ -VL2-VH1-HPD-COOH
四特異性	第二鏈	NH ₂ -VL2-VH1-HPD-COOH
	第一鏈	NH ₂ -VL1-VH2-HPD-CH2-CH3-COOH
	第三鏈	NH ₂ -VL3-VH4-HPD-CH2-CH3-COOH
	第四鏈	NH ₂ -VL4-VH3-HPD-COOH

HPD = 異源二聚體促進結構域

【0144】 在具體的實施方式中，本發明的雙抗體是雙特異性的、四價(即，具有四個表位元-結合結構域)、包含Fc的雙抗體，其由總共四條多肽鏈構成(圖3A-3C)。本發明的雙特異性、四價、含Fc的雙抗體保護兩個第一表位-結合結構域和兩個第二表位-結合結構域。

【0145】 在進一步的實施方式中，本發明的含Fc結構域的雙抗體包含三條多肽鏈。這類雙抗體的第一多肽包含三個結構域：(i)包含VL1的結構域、(ii)包含VH2的結構域和(iii)包含CH2-CH3序列的結構域。這類雙抗體的第二多肽包含：(i)包含VL2的結構域、(ii)包含VH1的結構域和(iii)促進與雙抗體的第一多肽鏈異源二聚化和共價結合的結構域。這類雙抗體的第三多肽包含CH2-CH3序列。因此，這類雙抗體的第一和第二多肽鏈締合在一起以形成能夠結合第一或第二表位的VL1/VH1表位-結合位點以及能夠結合這類表位的另一個的VL2/VH2表位-結合位點。第一和第二多肽通過涉及在它們各自的第三結構域中的半胱氨酸殘基的二硫鍵彼此結合。值得注意的是，第一和第三多肽鏈彼此複合，以形成經二硫鍵穩定的Fc結構域。這類雙特異性雙抗體具有增強的效價。**圖4A和4B**闡釋了這類雙抗體的結構。這類包含Fc區的雙抗體可具有兩個取向之一(**表2**)：

表2		
第一方向	第三鏈	NH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -COOH
	第一鏈	NH ₂ -VL1-VH2-HPD-CH ₂ -CH ₃ -COOH
	第二鏈	NH ₂ -VL2-VH1-HPD-COOH
第二方向	第三鏈	NH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -COOH
	第一鏈	NH ₂ -CH ₂ -CH ₃ -VL1-VH2-HPD-COOH
	第二鏈	NH ₂ -VL2-VH1-HPD-COOH

HPD = 異源二聚體促進結構域

【0146】 在具體的實施方式中，本發明的雙抗體是雙特異性的、二價的(即，具備兩個表位-結合結構域)、含Fc的雙抗體，其由總共三條總多肽鏈構

成(圖4A-4B)。本發明的雙特異性、二價的、含Fc的雙抗體包含一個對於第一或第二表位免疫特異性的表位-結合位點，以及能夠結合這類表位中的另一個的VL2/VH2表位-結合位點。

【0147】 在進一步的實施方式中，含Fc結構域的雙抗體可包含總計五條多肽鏈。在具體的實施方式中，五條多肽鏈的兩條具有相同的氨基酸序列。這類雙抗體的第一多肽鏈包含：(i)包含VH1的結構域、(ii)包含CH1的結構域和(iii)包含CH2-CH3序列的結構域。第一多肽鏈可以是抗體的重鏈，其包含VH1和重鏈恆定結構域。這類雙抗體的第二和第五條多肽鏈包含：(i)包含VL1的結構域和(ii)包含CL的結構域。這類雙抗體的第二和/或第五多肽鏈可以是抗體的輕鏈，其包含與第一/第三多肽鏈的VH1互補的VL1。第一、第二和/或第五多肽鏈可分離自天然產生的抗體。可選地，它們可以是重組構建的。這類雙抗體的第三多肽鏈包含：(i)包含VH1的結構域、(ii)包含CH1的結構域、(iii)包含CH2-CH3序列的結構域、(iv)包含VL2的結構域、(v)包含VH3的結構域和(vi)異源二聚體-促進結構域，其中異源二聚體-促進結構域促進第三鏈與第四鏈的二聚化。這類雙抗體的第四多肽包含：(i)包含VL3的結構域、(ii)包含VH2的結構域和(iii)促進與雙抗體的第三多肽鏈異源二聚化和共價結合的結構域。

【0148】 因此，這類雙抗體的第一和第二以及第三和第五多肽鏈締合在一起以形成兩個能夠結合第一表位的VL1/VH1表位-結合結構域。這類雙抗體的第三和第四多肽鏈締合在一起以形成能夠結合第二表位的VL2/VH2表位-結合位點以及能夠結合第三表位的VL3/VH3結合位點。第一和第三多肽通過涉及在它們各自恆定區中的半胱氨酸殘基的二硫鍵彼此結合。值得注意的是，第一和第三多肽鏈彼此複合以形成Fc結構域。這類多特異性雙抗體具有增強的效力。

圖5闡釋這類雙抗體的結構。應該理解，VL1/VH1、VL2/VH2和VL3/VH3結構域可以是相同的或不同的，以允許單特異性、雙特異性或三特異性的結合。

【0149】 選擇多肽鏈的VL和VH結構域，以便形成對於期望的表位特異性的VL/VH結合位點。通過多肽鏈的締合形成的VL/VH結合位點可以相同或不同，以便允許單特異性、雙特異性、三特異性或四特異性的四價結合。尤其地，可選擇VL和VH結構域，以便多特異性雙抗體包含括針對第一表位的兩個結合位點和針對第二表位的兩個結合位點，或針對第一表位的三個結合位點和針對第二表位的一個結合位點，或針對第一表位的兩個結合位點，針對第二表位的一個結合位點和針對第三表位的一個結合位點(如**圖5**中所描繪)。本發明的包含Fc結構域的代表性五鏈雙抗體的多肽鏈的一般結構提供在**表3**中：

表3		
雙特異性(2x2)	第二鏈	NH ₂ -VL1-CL-COOH
	第一鏈	NH ₂ -VH1-CH1-CH2-CH3-COOH
	第三鏈	NH ₂ -VH1-CH1-CH2-CH3-VL2-VH2-HPD-COOH
	第五鏈	NH ₂ -VL1-CL-COOH
	第四鏈	NH ₂ -VL2-VH2-HPD-COOH
雙特異性(3x1)	第二鏈	NH ₂ -VL1-CL-COOH
	第一鏈	NH ₂ -VH1-CH1-CH2-CH3-COOH
	第三鏈	NH ₂ -VH1-CH1-CH2-CH3-VL1-VH2-HPD-COOH
	第五鏈	NH ₂ -VL1-CL-COOH
	第四鏈	NH ₂ -VL2-VH1-HPD-COOH
三特異性 (2x1x1)	第二鏈	NH ₂ -VL1-CL-COOH
	第一鏈	NH ₂ -VH1-CH1-CH2-CH3-COOH
	第三鏈	NH ₂ -VH1-CH1-CH2-CH3-VL2-VH3-HPD-COOH
	第五鏈	NH ₂ -VL1-CL-COOH
	第四鏈	NH ₂ -VL3-VH2-HPD-COOH

HPD = 異源二聚體促進結構域

【0150】 在具體的實施方式中，本發明的雙抗體是雙特異性、四價的(即，具備四個表位-結合結構域)、含Fc的雙抗體，其由總共五條多肽鏈組成，其具有對於第一表位免疫特異性的兩個表位-結合結構域和對於第二表位特異性的兩個表位-結合結構域。在另一實施方式中，本發明的雙特異性、四價的、含Fc的雙抗體包含對於第一表位免疫特異性的三個表位-結合結構域和對於第二表位特異性的一個表位-結合位點。如上提供的，VL和VH結構域可被選擇以允許

三特異性結合。因此，本發明還包括三特異性、四價的、含Fc的雙抗體。本發明的三特異性、四價的、含Fc的雙抗體包含對於第一表位免疫特異性的兩個表位-結合結構域和對於第二分子免疫特異性的一個表位-結合位點以及對於第三表位免疫特異性的一個表位-結合位點。

【0151】 在傳統的免疫功能中，抗體-抗原複合物與免疫系統的細胞的相互作用產生各種各樣的應答，範圍從效應子功能，比如抗體依賴性細胞毒性、肥大細胞脫粒和吞噬，到免疫調節信號，比如調節淋巴細胞增殖和抗體分泌。所有這些相互作用通過抗體或免疫複合物的Fc結構域與造血細胞上專用細胞表面受體的結合來啟動。由抗體和免疫複合物引發的細胞應答的多樣性由三種Fc受體：FcγRI (CD64)、FcγRII (CD32)和FcγRIII (CD16)的結構異質性造成。FcγRI (CD64)、FcγRIIA (CD32A)和FcγRIII (CD16)是啟動(即，免疫系統增強)性受體；FcγRIIB (CD32B)是抑制(即，免疫系統抑制)性受體。另外，與新生Fc受體(FcRn)的相互作用介導IgG分子從內體至細胞表面的再迴圈並且釋放進入血液中。上面呈現了示例性野生型IgG1 (SEQ ID NO:8)、IgG2 (SEQ ID NO:9)、IgG3 (SEQ ID NO:10)和IgG4 (SEQ ID NO:11)的氨基酸序列。

【0152】 Fc結構域的修飾可導致改變的表型，例如改變的血清半衰期、改變的穩定性、改變的對細胞酶的易感性或改變的效應子功能。因此，就效應子功能而言，可期望修飾本發明的包含Fc結構域的結合分子，例如，以便增強這類分子治療癌症的效力。在某些情況下，例如在作用機制涉及阻斷或拮抗，但是不殺傷攜帶靶抗原的細胞的抗體的情況下，期望降低或消除Fc結構域介導的效應子功能。當涉及非期望的細胞，比如腫瘤和外源細胞時，其中FcγRs以低水準表達，例如，具有低水準的FcγRIIB腫瘤特異性B細胞(例如，非霍奇金

淋巴瘤、CLL和伯基特淋巴瘤)，一般期望增加的效應子功能。本發明的分子具有這樣的賦予的或改變的效應子功能活性，可用於治療和/或預防其中期望增強的效應子功能活性效力的疾病、病症或感染。

【0153】 因此，在某些實施方式中，本發明的包含Fc結構域的分子的Fc結構域可以是工程化的變異的Fc結構域。儘管本發明雙特異性包含Fc結構域的分子的Fc結構域可以具有結合一個或多個Fc受體(例如，FcγR)的能力，但是更優選地這類變異的Fc結構域具有對FcγRIA (CD64)、FcγRIIA (CD32A)、FcγRIIB (CD32B)、FcγRIIIA (CD16a)或FcγRIIIB (CD16b)改變的結合(相對於野生型Fc結構域展示的結合)，例如，具有與啟動性受體增強的結合和/或具有對抑制性受體基本上降低的結合能力或沒有結合抑制性受體的能力。因此，本發明包含Fc結構域的分子的Fc結構域可包括完整的Fc結構域的一些或所有CH2結構域和/或一些或所有CH3結構域，或可包括變異的CH2和/或變異的CH3序列(其相對於完整的Fc結構域的CH2或CH3結構域，可包括，例如，一個或多個插入和/或一個或多個缺失)。這類Fc結構域可包括非Fc多肽部分，或可包括非天然完整Fc結構域的部分，或可包括非天然產生的取向的CH2和/或CH3結構域(比如，例如，兩個CH2結構域或兩個CH3結構域，或者在N-末端至C-末端方向上，連接至CH2結構域的CH3結構域等)。

【0154】 鑑定為改變效應子功能的Fc結構域修飾是本領域已知的，包括增加與啟動性受體(例如，FcγRIIA (CD16A)結合的修飾和減少與抑制性受體(例如，FcγRIIB (CD32B)結合的修飾(例如，FcγRIIB (CD32B) (見，例如，Stavenshagen, J.B.等(2007) “Fc Optimization Of Therapeutic Antibodies Enhances Their Ability To Kill Tumor Cells In Vitro And Controls Tumor Expansion In Vivo Via

Low-Affinity Activating Fcγ Receptors,” Cancer Res. 57(18):8882-8890) 。表4
列舉了示例性修飾的示例性單、雙、三、四和五取代((根據EU索引的)編號和取代是相對於上面示出的SEQ ID NO:8的氨基酸序列)，其增加與啟動性受體的結合和/或降低與抑制性受體的結合。

表4			
優選啟動性Fc結構域的變異†			
單位點變異			
F243L	R292G	D270E	R292P
Y300L	P396L		
雙位點變異			
F243L和R292P	F243L和Y300L	F243L和P396L	R292P和Y300L
D270E和P396L	R292P和V305I	P396L和Q419H	P247L和N421K
R292P和P396L	Y300L和P396L	R255L和P396L	R292P和P305I
K392T和P396L			
三位點變異			
F243L、P247L和N421K	P247L、D270E和N421K		
F243L、R292P和Y300L	R255L、D270E和P396L		
F243L、R292P和V305I	D270E、G316D和R416G		
F243L、R292P和P396L	D270E、K392T和P396L		
F243L、Y300L和P396L	D270E、P396L和Q419H		
V284M、R292L和K370N	R292P、Y300L和P396L		

表4	
優選啟動性Fc結構域的變異†	
四位點變異	
L234F、F243L、R292P和Y300L	F243L、P247L、D270E和N421K
L234F、F243L、R292P和Y300L	F243L、R255L、D270E和P396L
L235I、F243L、R292P和Y300L	F243L、D270E、G316D和R416G
L235Q、F243L、R292P和Y300L	F243L、D270E、K392T和P396L
P247L、D270E、Y300L和N421K	F243L、R292P、Y300L和P396L
R255L、D270E、R292G和P396L	F243L、R292P、V305I和P396L
R255L、D270E、Y300L和P396L	F243L、D270E、P396L和Q419H
D270E、G316D、P396L和R416G	
五位點變異	
L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L	F243L、R292P、V305I、Y300L和P396L
L235P、F243L、R292P、Y300L和P396L	
† 編號根據Kabat中的EU索引	

【0155】 具有與CD32B降低的結合和/或與CD16A增加的結合的人IgG1 Fc結構域的示例性變體包括F243L、R292P、Y300L、V305I或P296L取代。這些氨基酸取代可以任何組合存在於人IgG1 Fc結構域中。在一個實施方式中，變異的人IgG1 Fc結構域包含F243L、R292P和Y300L取代。在另一實施方式中，變異的人IgG1 Fc結構域包含F243L、R292P、Y300L、V305I和P296L取代。

【0156】 在某些實施方式中，優選的，本發明含Fc結構域的結合分子的Fc結構域優選展示與FcγRIA (CD64)、FcγRIIA (CD32A)、FcγRIIB (CD32B)、FcγRIIIA (CD16a)或FcγRIIIB (CD16b)降低的(或基本上沒有)結合(相對於野生型

IgG1 Fc結構域(**SEQ ID NO:8**)展示的結合)。在具體的實施方式中，本發明含Fc結構域的結合分子包含展示降低的ADCC效應子功能的IgG Fc結構域。在優選的實施方式中，這類結合分子的CH2-CH3結構域包含以下取代中的任意1、2、3或4個：L234A、L235A、D265A、N297Q和N297G。在另一實施方式中，CH2-CH3結構域包含N297Q取代、N297G取代、L234A和L235A取代或D265A取代，因為這些突變消除FcR結合。可選地，使用天然存在的Fc結構域的CH2-CH3結構域，其固有地展示與FcγRIIIA (CD16a)降低的(或基本上沒有)結合和/或減少的效應子功能(相對於野生型IgG1 Fc結構域(**SEQ ID NO:8**)展示的結合和效應子功能)。在具體的實施方式中，本發明的含Fc結構域的結合分子包含IgG2 Fc結構域(**SEQ ID NO:9**)或IgG4 Fc結構域(**SEQ ID NO:11**)。當利用IgG4 Fc結構域時，本發明也包括引入穩定化突變，比如上述的鉸鏈區S228P取代(見，例如，**SEQ ID NO: 7**)。因為N297G、N297Q、L234A、L235A和D265A取代消除了效應子功能，在期望效應子功能的情況下，優選地將不採用這些取代。

【0157】 對於具有降低的或消除的效應子功能的本發明的包含Fc結構域的分子的CH2和CH3結構域，優選的IgG1序列包括取代L234A/L235A (**SEQ ID NO:41**)：

APE AA GGPSV	FLFPPKPKDT	LMISRTPEVT	CVVVDVSHED	PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK	PREEQYNSTY	RVVSVLTVLH	QDWLNGKEYK	CKVSNKALPA
PIEKTISKAK	GQPREPQVYT	LPPSREEMTK	NQVSLTCLVK	GFYPSDIAVE
WESNGQPENN	YKTTTPVLDS	DGSFFLYSKL	TVDKSRWQQG	NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS	LSLSPG X			

其中，X是賴氨酸(K)或不存在。

【0158】 可通過增加Fc結構域對於FcRn的結合親和力而延長包含Fc

結構域的蛋白質的血清半衰期。如本文使用的術語“半衰期”意思是分子的藥物代謝動力學性質，是對在其施用之後分子的平均生存時間的衡量。半衰期可表示為從受試者的身體(例如，人患者或其他哺乳動物)或其特定區室消除百分之五十(50%)的已知量的分子需要的時間，例如，如在血清中測量的，即，迴圈半衰期，或在其他組織中測量的。一般而言，半衰期的增加導致施用的分子在迴圈中的平均停留時間(MRT)的增加。

【0159】 在一些實施方式中，本發明的含Fc結構域的結合分子包含變異的Fc結構域，其包含相對於野生型Fc結構域的至少一個氨基酸修飾，使得該分子具有增加的半衰期(相對於包含野生型Fc結構域的這類分子)。在一些實施方式中，本發明含Fc結構域的結合分子包含變異的IgG Fc結構域，其在選自下述的一個或多個位置包含延長半衰期的氨基酸取代：238、250、252、254、256、257、258、265、272、286、288、303、305、307、308、309、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424、428、433、434、435和436。能夠延長包含Fc結構域的分子的半衰期的許多突變是本領域已知的，包括例如M252Y、S254T、T256E和其組合。例如，參見美國專利號6,277,375、7,083,784、7,217,797、8,088,376；美國專利公開號2002/0147311、2007/0148164；以及PCT專利公開號WO 98/23289、WO 2009/058492和WO 2010/033279中描述的突變，這些專利通過引用一起整體併入本文。

【0160】 在一些實施方式中，展示增強的半衰期的本發明含Fc結構域的結合分子具備變異的Fc結構域，所述變異的Fc結構域在Fc結構域殘基250、252、254、256、257、288、307、308、309、311、378、428、433、434、435和436中的兩個或多個處包含取代。具體的，兩個或多個取代選自：T250Q、

M252Y、S254T、T256E、K288D、T307Q、V308P、A378V、M428L、N434A、H435K和Y436I。在具體的實施方式中，這類分子可具備變異的IgG Fc結構域，其包含下述取代：

(A) M252Y、S254T和T256E；

(B) M252Y和S254T；

(C) M252Y和T256E；

(D) T250Q和M428L；

(E) T307Q和N434A；

(F) A378V和N434A；

(G) N434A和Y436I；

(H) V308P和N434A；或

(I) K288D和H435K。

【0161】 在優選的實施方式中，本發明含Fc結構域的結合分子具備變異的IgG Fc結構域，所述變異的IgG Fc結構域包含下述取代：M252Y、S254T和T256E中的任何1、2或3個。本發明進一步包括這類具備變異的Fc結構域的結合分子，所述變異的Fc結構域包含：

(A)改變效應子功能和/或FcγR結合的一個或多個突變；和

(B)延長血清半衰期的一個或多個突變。

【0162】 對於期望具有不同氨基酸序列的含Fc-結構域的多肽鏈(例如，其含Fc結構域的第一和第三多肽鏈期望是不同的)的某些抗體、雙抗體和三價結合分子，期望減少或防止兩個第一多肽鏈的CH2-CH3結構域之間或兩個第三多肽鏈的CH2-CH3結構域之間發生同源二聚化。這類多肽鏈的CH2和/或CH3

結構域不需要序列相同，並且有利地被修飾以促進兩條多肽鏈之間的複合。例如，氨基酸取代(優選以包括形成“杵(knob)”的大側基的氨基酸例如色氨酸進行取代)可被引入CH₂或CH₃結構域中，以便空間干擾將防止與類似的突變結構域的相互作用並將迫使突變的結構域與其中互補或適應性突變已經被工程化的結構域——即“臼(hole)” (例如，用甘氨酸取代)——配對。這樣的突變組可被工程化到任意對的、包含形成Fc結構域的CH₂-CH₃結構域的多肽中，以促進異源二聚化。蛋白質工程化以相對於同源二聚化利於異源二聚化的方法在本領域中是悉知的，尤其就工程化免疫球蛋白樣分子而言，這些都包括在本文中(參見，例如，Ridgway等人, (1996) “‘Knobs-Into-Holes’ Engineering Of Antibody CH₃ Domains For Heavy Chain Heterodimerization,” Protein Engr. 9:617-621, Atwell等人, (1997) “Stable Heterodimers From Remodeling The Domain Interface Of A Homodimer Using A Phage Display Library,” J. Mol. Biol. 270 : 26-35，和Xie等人, (2005) “A New Format Of Bispecific Antibody: Highly Efficient Heterodimerization, Expression And Tumor Cell Lysis,” J. Immunol. Methods 296:95-101；其中每一篇在此通過引用以其整體併入本文)。

【0163】 通過修飾IgG Fc結構域以包含修飾T366W而產生優選的杵。通過修飾IgG Fc結構域以包含修飾T366S、L368A和Y407V而產生優選的臼。為了有助於從最終的雙特異性的、異源二聚化的、包含Fc結構域分子中純化含臼的第三多肽鏈同源二聚體，優選地通過在435位的氨基酸取代(H435R)突變第三多肽鏈的含臼的CH₂和CH₃結構域的蛋白質A結合位點。因此，含臼的第三多肽鏈同源二聚體不結合蛋白質A，而雙特異性的異源二聚體經在第一多肽鏈上的蛋白質A結合位點而保持其結合蛋白質A的能力。在可選的實施方式中，含臼的

第三多肽鏈可併入在434和435位的氨基酸取代(N434A/N435K)。

【0164】 對於本發明含Fc結構域的分子的第一多肽鏈的CH2和CH3結構域，優選IgG氨基酸序列將具有“攜帶杵的”序列(SEQ ID NO:42)：

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

其中X是賴氨酸(K)或不存在。

【0165】 對於具有兩條多肽鏈的本發明的包含Fc結構域的分子的第二多肽鏈(或具有三、四或五條多肽鏈的包含Fc結構域的分子的第三多肽鏈)的CH2和CH3結構域，優選的IgG氨基酸序列具有“攜帶臼”的序列(SEQ ID NO:43)：

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

其中X是賴氨酸(K)或不存在。

【0166】 如將注意到，SEQ ID NO:42和SEQ ID NO:43的CH2-CH3結構域包含在位置234用丙氨酸的取代和在位置235用丙氨酸的取代，並且因此形成展示與FcγRIA (CD64)、FcγRIIA (CD32A)、FcγRIIB (CD32B)、FcγRIIIA (CD16a)或FcγRIIIB (CD16b)降低的(或基本上沒有)結合的Fc結構域(相對於野生型Fc區(SEQ ID NO:8)展示的結合)。本發明也包括這類CH2-CH3結構域，其包括野生型丙氨酸殘基，修飾Fc結構域的效應子功能和/或FγR結合活性的可選的和/或另外取代。本發明也包括這類CH2-CH3結構域，其進一步包括一個或多個延長半

衰期的氨基酸取代。尤其地，本發明包括這類包含白的和這類包含杵的CH₂-CH₃結構域，其進一步包含M252Y/S254T/T256E。

【0167】 優選的，第一多肽鏈具有“攜帶杵的”CH₂-CH₃序列，如SEQ ID NO:42的序列。但是，如將認識到，“攜帶白的”CH₂-CH₃結構域(例如，SEQ ID NO:43可在第一多肽鏈中採用，在該情況中，“攜帶杵的”CH₂-CH₃結構域(例如，SEQ ID NO:42)將在具有兩條多肽鏈的本發明含Fc結構域的分子的第二多肽鏈中(或在具有三條、四條或五條多肽鏈的含Fc結構域的分子的第三多肽鏈中)採用。

【0168】 在其它實施方式中，本發明包括包含CH₂和/或CH₃結構域的含Fc結構域的結合分子，所述CH₂和/或CH₃結構域已使用本領域已知的突變被工程化成相對於同源二聚化利於異源二聚化，如PCT專利公開號WO 2007/110205、WO 2011/143545、WO 2012/058768、WO 2013/06867中公開的那些，其所有通過引用以其整體併入本文。

IV.包含Fc結構域的三價結合分子

【0169】 本發明進一步的實施方式涉及三價結合分子，其包含能夠同時結合第一表位、第二表位和第三表位的Fc結構域，其中這類表位中的至少一個與另一個表位不同。這類三價結合分子包含三個表位-結合結構域，其中兩個是雙抗體類型結合結構域，其提供結合位點A和結合位點B，並且其中的一個是Fab類型結合結構域，或scFv類型結合結構域，其提供結合位點C(參見，例如，圖6A-6F，PCT專利公開號WO 2015/184207和WO 2015/184203)。這類三價結合分子因而包含能夠結合第一表位的“VL1”/“VH1”結構域和能夠結合第二表位的“VL2”/“VH2”結構域和能夠結合這類三價結合分子的“第三”表位的“VL3”和

“**VH3**”結構域。“雙抗體型結合結構域”是如上所述的雙抗體中存在的表位-結合位點的類型。每個“Fab型結合結構域”和“scFv型結合結構域”是通過免疫球蛋白輕鏈的VL結構域和免疫球蛋白重鏈的互補VH結構域相互作用形成的表位元-結合結構域。Fab型結合結構域與雙抗體型結合結構域的差異在於形成Fab型結合結構域的兩條多肽鏈僅僅包括單個表位-結合位點，而形成雙抗體型結合結構域的兩條多肽鏈包括至少兩個表位元-結合結構域。類似地，scFv型結合結構域與雙抗體型結合結構域的差異也在於它們僅僅包括單個表位-結合位點。因此，如本文使用的Fab型和scFv型結合結構域與雙抗體型結合結構域不同

【0170】 一般地，本發明的三價結合分子包括四條不同的多肽鏈(見圖**6A-6B**)，但是，例如，通過彼此融合這類多肽鏈(例如，經肽鏈)或通過分開這類多肽鏈，以形成另外的多肽鏈，或通過經二硫鍵締合更少的或另外的多肽鏈，分子可包括更少或更多數量的多肽鏈。圖**6C-6F**通過示意性描繪具有三條多肽鏈的這類分子闡釋了本發明的這個方面。如圖**6A-6F**中提供的，本發明的三價結合分子可具有可選的取向，其中雙抗體型結合結構域在Fc結構域的N-末端(圖**6A**、**6C**和**6D**)或C-末端(圖**6B**、**6E**和**6F**)。用於產生三價結合分子的CH2和CH3結構域在上面提供，其包含攜帶杵和攜帶臼的結構域。

【0171】 在某些實施方式中，本發明的這類三價結合分子的第一多肽鏈包含：(i)包含VL1的結構域、(ii)包含VH2的結構域、(iii)異源二聚體-促進結構域和(iv)包含CH2-CH3序列的結構域。VL1和VL2結構域位於包含CH2-CH3的結構域的N-末端或C-末端，如表**4**(也見圖**6A**和**6B**)中所顯示。這類實施方式的第二多肽鏈包含：(i)包含VL2的結構域、(ii)包含VH1的結構域和(iii)異源二聚體-促進結構域。這類實施方式的第三多肽鏈包含：(i)包含VH3的結構域、(ii)包含CH1

的結構域和(iii)包含CH2-CH3序列的結構域。第三多肽鏈可以是包含VH3和重鏈恆定區的抗體的重鏈，或包含這樣的結構域的多肽。這類實施方式的第四多肽包含：(i)包含VL3的結構域和(ii)包含CL的結構域。第四多肽鏈可以是包含與第三多肽鏈的VH3互補的VL3的抗體的輕鏈，或包含這樣的結構域的多肽。第三或第四多肽鏈可分離自天然產生的抗體。可選地，它們可經重組、合成通過其方式而構建。

【0172】 第一和第二多肽鏈的輕鏈可變結構域通過間插間隔體肽與這類多肽鏈的重鏈可變結構域分開，所述間插間隔體肽長度太短而不允許它們的VL1/VH2 (或它們的VL2/VH1)結構域締合在一起形成能夠結合第一或第二表位的表位結合位點。用於該目的的優選間插間隔體肽(連接體1)具有序列(**SEQ ID NO: 14**): GGGSGGGG。三價結合分子的其他結構域可通過任選地包括半胱氨酸殘基的一個或多個間插間隔體肽(連接體)分開。尤其地，如上面提供，這類連接體通常被併入在可變結構域(即，VH或VL)和肽異源二聚體促進結構域(例如，E-螺旋或K-螺旋)之間和這類肽異源二聚體促進結構域(例如，E-螺旋或K-螺旋)和CH2-CH3結構域之間。上面提供了用於產生三價結合分子的示例性連接體，並且其也提供在PCT專利公開號：PCT/US15/33081和PCT/US15/33076中。因此，這類三價結合分子的第一和第二多肽鏈締合在一起，形成能夠結合第一表位的VL1/VH1結合位點，以及能夠結合第二表位的VL2/VH2結合位點。這類三價結合分子的第三和第四多肽鏈締合在一起而形成能夠結合第三表位的VL3/VH3結合位點。

【0173】 如上所描述的，本發明的三價結合分子可包括三條多肽。包括三條多肽鏈的三價結合分子可通過將第四多肽N-末端的結構域連接至第三多

肽的包含VH3的結構域(例如，使用間插間隔體肽(連接體4))而獲得。可選地，使用包含下述結構域的本發明的三價結合分子的第三多肽鏈：(i)包含VL3的結構域、(ii)包含VH3的結構域和(iii)包含CH2-CH3序列的結構域，其中VL3和VH3通過間插間隔體肽彼此間隔開，所述間插間隔體肽足夠長(至少9個或更多個氨基酸殘基)，以便允許這些結構域的締合形成表位-結合位點。對於該目的，一個優選的間插間隔體肽具有序列：GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:44)。

【0174】 應當理解，這類三價結合分子的VL1/VH1、VL2/VH2和VL3/VH3結構域可以不同，以便允許單特異性、雙特異性或三特異性的結合。具體的，VL和VH結構域可被選擇，以便三價結合分子包含針對第一表位的兩個結合位點和針對第二表位的一個結合位點，或針對第一表位的一個結合位點和針對第二表位的兩個結合位點，或針對第一表位的一個結合位點、針對第二表位的一個結合位點和針對第三表位的一個結合位點。

【0175】 本發明代表性三價結合分子的多肽鏈的一般結構提供在圖6A-6F中和表5中：

表5		
四鏈 第一取向	第二鏈	NH ₂ -VL2-VH1-HPD-COOH
	第一鏈	NH ₂ -VL1-VH2-HPD-CH2-CH3-COOH
	第三鏈	NH ₂ -VH3-CH1-CH2-CH3-COOH
	第二鏈	NH ₂ -VL3-CL-COOH
四鏈 第二取向	第二鏈	NH ₂ -VL2-VH1-HPD-COOH
	第一鏈	NH ₂ -CH2-CH3-VL1-VH2-HPD-COOH
	第三鏈	NH ₂ -VH3-CH1-CH2-CH3-COOH

表5		
	第二鏈	NH ₂ -VL3-CL-COOH
三鏈 第一取向	第二鏈	NH ₂ -VL2-VH1-HPD-COOH
	第一鏈	NH ₂ -VL1-VH2-HPD-CH2-CH3-COOH
	第三鏈	NH ₂ -VL3-VH3-HPD-CH2-CH3-COOH
三鏈 第二取向	第二鏈	NH ₂ -VL2-VH1-HPD-COOH
	第一鏈	NH ₂ -CH2-CH3-VL1-VH2-HPD-COOH
	第三鏈	NH ₂ -VL3-VH3-HPD-CH2-CH3-COOH

HPD =異源二聚體促進結構域

【0176】 如以上提供的，這類三價結合分子可包括三條、四條、五條或更多條多肽鏈。

V. 本發明的實施方式

【0177】 如以上所陳述的，本發明涉及用於治療癌症的聯合療法，其包括施用：

- (1) 能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子；和
- (2) 能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的分子(例如，雙抗體、BiTe、雙特異性抗體等)。

本發明還涉及包含這類分子(一種或多種)的藥物組合物。

【0178】 如本文使用的，術語“**施用(administration)**”涉及以相對劑量和在時間上接近地提供這類分子，以為接收者提供與PD-1或PD-1的天然配體的結合以及對靶細胞(例如，癌細胞或病原體感染的細胞)的重定向殺傷二者。

【0179】 關於能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子，本發明尤其涉

及其中這類分子具備免疫特異性地結合PD-1的表位以抑制(即，阻斷或干涉)PD-1的抑制活性的能力的實施方式。例如，這類分子可結合PD-1，從而抑制細胞信號轉導和/或抑制PD-1和PD-1的天然配體之間的結合。可選地，這類分子可結合PD-1的天然配體(例如，B7-H1或B7-DC)，以便抑制(即，阻斷或干涉)這類天然配體的抑制活性。例如，這類分子可結合PD-1的天然配體，從而抑制細胞信號轉導和/或這類配體和PD-1之間的結合。在一個實施方式中，這類分子是單特異性的，以便具備結合單一表位(例如，PD-1的表位或PD-1的天然配體的表位)的能力。可選地，這類分子可以是多特異性的，即，能夠結合PD-1的兩個或多於兩個的表位(例如，PD-1的2、3、4個或多於4個表位)，或能夠結合PD-1的一個或多個天然配體(一種或多種)的兩個或多於兩個(例如，2、3、4個或多於4個)表位，或能夠結合PD-1的至少一個表位和PD-1的天然配體的至少一個表位。可選地，這類多特異性分子能夠結合PD-1的至少一個表位和結合不是PD-1的不同分子的至少一個表位，或能夠結合PD-1的天然配體的至少一個表位和不是PD-1的天然配體的不同分子的至少一個表位。優選地，不同分子的表位是參與調節存在於免疫細胞表面上的免疫檢查點的分子(例如，B7-H3、B7-H4、BTLA、CD40、CD40L、CD47、CD70、CD80、CD86、CD94、CD137、CD137L、CD226、CTLA-4、半乳糖凝集素-9、GITR、GITRL、HHLA2、ICOS、ICOSL、KIR、LAG-3、LIGHT、MHC I或II類、NKG2a、NKG2d、OX40、OX40L、PD1H、PVR、SIRPa、TCR、TIGIT、TIM-3或VISTA，尤其是CD137、LAG-3、OX40、TIGIT、TIM-3或VISTA，參見例如PCT專利公開號WO 2015/200119和WO 2011/159877)的表位。因此，例如，這類分子可結合：

(1) PD-1的單一表位；

- (2) PD-1兩個或多個表位；
- (3) PD-1的天然配體的單一表位；
- (4) PD-1的相同天然配體的兩個或多個表位；
- (5) PD-1的第一天然配體的表位和PD-1的第二天然配體的表位；
- (6) PD-1的第一天然配體的兩個或多個表位和PD-1的第二天然配體的一個或多個表位；
- (7) PD-1的一個或多個表位和PD-1的天然配體的一個或多個表位；
- (8) PD-1的一個或多個表位和不同分子的一個或多個表位；或
- (9) PD-1的天然配體的一個或多個表位和不同分子的一個或多個表位。

【0180】 關於能夠介導對靶細胞(例如，癌細胞或病原體感染的細胞)的重定向殺傷的本發明分子，本發明尤其涉及這樣的實施方式，其中這類分子包含能夠免疫特異性結合效應細胞的細胞表面分子的表位的第一表位結合位點和能夠免疫特異性地結合排列在這類靶細胞的表面的疾病抗原的表位的第二表位結合位點。在一個實施方式中，這類分子具備結合效應細胞的細胞表面分子的僅單一表位和排列在靶細胞表面的疾病抗原的僅單一表位的能力。可選地，關於任一種或兩種結合特異性，這類分子可以能夠結合效應細胞的細胞表面分子(一種或多種)的一個、兩個或多於兩個表位，並且能夠結合疾病抗原(一種或多種)的一個、兩個或多於兩個表位。因此，例如，這類分子可結合：

- (1) 效應細胞的細胞表面分子的僅單一表位和排列在靶細胞表面的疾病抗原的單一表位；
- (2) 這類效應細胞的這類細胞表面分子的僅單一表位和這類疾病抗原的兩個或多於兩個表位；

- (3) 這類效應細胞的這類細胞表面分子的僅單一表位和這類疾病抗原的一個、兩個或多於兩個表位和不同疾病抗原的一個、兩個或多於兩個表位；
- (4) 這類效應細胞的這類細胞表面分子的兩個或多於兩個表位和排列在靶細胞表面上的疾病抗原的單一表位；
- (5) 這類效應細胞的這類細胞表面分子的兩個或多於兩個表位和這類疾病抗原的兩個或多於兩個表位；
- (6) 這類效應細胞的這類細胞表面分子的兩個或多於兩個表位和這類疾病抗原的一個、兩個或多於兩個表位和這類不同疾病抗原的一個、兩個或多於兩個表位；
- (7) 這類效應細胞的這類細胞表面分子的一個、兩個或多於兩個表位和效應細胞(其可以是相同類型的效應細胞或可以是不同類型的效應細胞)的不同細胞表面分子的一個、兩個或多於兩個表位和排列在靶細胞表面上的疾病抗原的單一表位；
- (8) 這類效應細胞的這類細胞表面分子的一個、兩個或多於兩個表位和效應細胞(其可以是相同類型的效應細胞或可以是不同類型的效應細胞)的不同細胞表面分子的一個、兩個或多於兩個表位和這類疾病抗原的兩個或多於兩個表位；或
- (9) 這類效應細胞的這類細胞表面分子的一個、兩個或多於兩個表位和效應細胞(其可以是相同類型的效應細胞或可以是不同類型的效應細胞)的不同細胞表面分子的一個、兩個或多於兩個表位和這類疾病抗原的一個、兩個或多於兩個表位和這類不同疾病抗原的一個、兩個或多於兩個表位。

【0181】 作為實例，本發明考慮這樣的結合分子，其包含能夠免疫特

異性地結合CD3(作為效應細胞的細胞表面分子)的表位的第一表位結合位點；能夠免疫特異性地結合排列在這類靶細胞的表面上的疾病抗原的表位的第二表位結合位點；和能夠免疫特異性地結合CD8(作為效應細胞的不同細胞表面分子)的表位的第三表位-結合位點。

【0182】 表6A闡釋了能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的本發明示例性分子的可能的組合結合特異性。表6B闡釋了能夠結合PD-1或PD-1的天然配體以及不是PD-1或PD-1的天然配體的分子的本發明示例性多特異性分子的可能的組合結合特異性。表7闡釋了能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的本發明示例性分子的可能的組合結合特異性。

表6A		
通過能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的本發明示例性分子識別的表位數量		
PD-1	PD-1配體	
	第一PD-1配體	第二PD-1配體
1	0	0
1	1	
1		1
1	2	
1		2
1	>2	
1		>2
2	0	0

表6A		
通過能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的本發明示例性分子識別的表位數量		
PD-1	PD-1配體	
	第一PD-1配體	第二PD-1配體
1	0	0
2	1	
2		1
2	2	
2		2
2	>2	
2		>2
>2	0	0
>2	1	
>2		1
>2	2	
>2		2
>2	>2	
>2		>2
0	1	0
0	1	1
0	2	0
0	2	1

表6A		
通過能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的本發明示例性分子識別的表位數量		
PD-1	PD-1配體	
	第一PD-1配體	第二PD-1配體
1	0	0
0	2	2
0	>2	1
0	>2	2
0	>2	>2

表6B				
通過能夠結合PD-1或PD-1的天然配體以及不同分子的本發明示例性分子識別的表位數量				
PD-1	不同分子		PD-1的配體	不同分子
1	1		1	1
1	2		1	2
1	>2		1	>2
2	1		2	1
2	2		2	2
2	>2		2	>2
>2	1		>2	1
>2	2		>2	2

表6B				
通過能夠結合PD-1或PD-1的天然配體以及不同分子的本發明示例性分子識別的表位數量				
>2	>2		>2	>2

表7			
通過能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的本發明示例性分子識別的表位數量			
效應細胞的細胞表面分子		疾病抗原	
第一 表面分子	第二表面分子	第一疾病抗原	第二疾病抗原
1	0	1	0
1	0	1	1
1	0	2	0
1	0	2	1
1	0	2	2
1	0	>2	0
1	0	>2	1
1	0	>2	2
2	0	1	0
2	0	1	1
2	0	2	0
2	0	2	1
2	0	2	2
2	0	>2	0

表7			
通過能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的本發明示例性分子識別的表位數量			
效應細胞的細胞表面分子		疾病抗原	
第一 表面分子	第二表面分子	第一疾病抗原	第二疾病抗原
2	0	>2	1
2	0	>2	2
>2	0	1	0
>2	0	1	1
>2	0	2	0
>2	0	2	1
>2	0	2	2
>2	0	>2	0
>2	0	>2	1
>2	0	>2	2
1	1	1	0
1	1	1	1
1	1	2	0
1	1	2	1
1	1	2	2
1	1	>2	0
1	1	>2	1
1	1	>2	2
2	1	1	0

表7			
通過能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的本發明示例性分子識別的表位數量			
效應細胞的細胞表面分子		疾病抗原	
第一 表面分子	第二表面分子	第一疾病抗原	第二疾病抗原
2	1	1	1
2	1	2	0
2	1	2	1
2	1	2	2
2	1	>2	0
2	1	>2	1
2	1	>2	2
2	2	1	0
2	2	1	1
2	2	2	0
2	2	2	1
2	2	2	2
2	2	>2	0
2	2	>2	1
2	2	>2	2
>2	1	1	0
>2	1	1	1
>2	1	2	0
>2	1	2	1

表7			
通過能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的本發明示例性分子識別的表位數量			
效應細胞的細胞表面分子		疾病抗原	
第一 表面分子	第二表面分子	第一疾病抗原	第二疾病抗原
>2	1	2	2
>2	1	>2	0
>2	1	>2	1
>2	1	>2	2
>2	2	1	0
>2	2	1	1
>2	2	2	0
>2	2	2	1
>2	2	2	2
>2	2	>2	0
>2	2	>2	1
>2	2	>2	2
>2	>2	1	0
>2	>2	1	1
>2	>2	2	0
>2	>2	2	1
>2	>2	2	2
>2	>2	>2	0
>2	>2	>2	1

表7			
通過能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的本發明示例性分子識別的表位數量			
效應細胞的細胞表面分子		疾病抗原	
第一 表面分子	第二表面分子	第一疾病抗原	第二疾病抗原
>2	>2	>2	2

【0183】 對於可由本發明分子結合的表位或另外的表位的性質沒有限制，除了這類另外的結合能力不妨礙能夠抑制結合PD-1或PD-1的天然配體的分子進行這類結合，並且未不妨礙能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的分子介導這類重定向殺傷。

A. 能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的示例性分子

1. 對於PD-1免疫特異性的結合分子

【0184】 對於PD-1免疫特異性的抗體是已知的，並且可被採用或改造以用作能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的根據本發明的分子(例如，雙抗體、ScFv、抗體、CAR、TandAb等)(參見，例如，美國專利申請號62/198,867、62/239,559、62/255,140；美國專利號8,008,449、8,552,154；PCT專利公開號WO 2012/135408、WO 2012/145549和WO 2013/014668)。能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的優選的分子將展現結合人PD-1的連續或非連續(例如，構象)部分(表位)(CD279)的能力，並且優選地同樣展現結合一種或多種非人物種，尤其是靈長類物種(和尤其是靈長類物種，比如食蟹猴)的PD-1分子的能力。可通過分離使用PD-1或其肽片段引起的分泌抗體的雜交瘤來製備另外期望的抗體。代表性人PD-1多肽(NCBI序列NP_005009.2；包括20個氨基酸殘基信號序列，加底線顯示)和268個氨基酸殘基成熟蛋白質)具有氨基酸序列(SEQ ID NO:45)：

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

【0185】 可用於結合PD-1的優選PD-1-結合分子特徵在於任意(一個或多個)的下述標準：

- (1) 特異性結合在刺激的人T細胞表面上內源地表達的人PD-1；
- (2) 以40 nM或更少的平衡結合常數(K_D)特異性結合人PD-1；
- (3) 以5 nM或更少的平衡結合常數(K_D)特異性結合人PD-1；
- (4) 以 $1.5 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{min}^{-1}$ 或更多的結合速率(on rate) (k_a)特異性結合人PD-1；
- (5) 以 $90.0 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{min}^{-1}$ 或更多的結合速率(k_a)特異性結合人PD-1；
- (6) 以 $7 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$ 或更少的解離速率(off rate)(k_d)特異性結合人PD-1；
- (7) 以 $2 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$ 或更少的解離速率(k_d)特異性結合人PD-1；
- (8) 特異性結合非-人靈長類動物PD-1 (例如，食蟹猴的PD-1)；
- (9) 抑制(即，阻斷或干涉)PD-1配體(PD-L1/PD-L2)與PD-1的結合/抑制活性；
- (10) 刺激免疫應答；和/或
- (11) 用抗-人LAG-3抗體協同作用以刺激抗原特異性T細胞應答。

【0186】 本發明優選的可用於結合PD-1的抗-人PD-1-結合分子具備鼠科抗-人PD-1單克隆抗體“**PD-1 mAb 1**”、“**PD-1 mAb 2**”、“**PD-1 mAb 3**”、“**PD-1 mAb 4**”、“**PD-1 mAb 5**”、“**PD-1 mAb 6**”、“**PD-1 mAb 7**”、“**PD-1 mAb 8**”、“**PD-1**

mAb 9”、“PD-1 mAb 10”、“PD-1 mAb 11”、“PD-1 mAb 12”、“PD-1 mAb 13”、“PD-1 mAb 14”或“PD-1 mAb 15”的人源化VH和/或VL結構域，並且更優選地具備VH結構域的1、2或全部3個CDR_H和/或這類抗體的VL結構域的1、2或全部3個CDR_L。本發明尤其涉及這類PD-1-結合分子，其包含PD-1結合結構域，所述PD-1結合結構域具備：

(A) (1) **PD-1 mAb 1**的VH結構域的三个CDR_H；

(2) **PD-1 mAb 1**的VL結構域的三个CDR_L；

(3) **PD-1 mAb 1**的VH結構域的三个CDR_H和**PD-1 mAb 1**的VL結構域的三个CDR_L；

(4) **hPD-1 mAb 1 VH1**的VH結構域；

(5) **hPD-1 mAb 1 VL1**的VL結構域；

(6) **hPD-1 mAb 1**的VH和VL結構域；

(B) (1) **PD-1 mAb 2**的VH結構域的三个CDR_H；

(2) **PD-1 mAb 2**的VL結構域的三个CDR_L；

(3) **PD-1 mAb 2**的VH結構域的三个CDR_H和**PD-1 mAb 2**的VL結構域的三个CDR_L；

(4) **hPD-1 mAb 2 VH1**的VH結構域；

(5) **hPD-1 mAb 2 VL1**的VL結構域；

(6) **hPD-1 mAb 2**的VH和VL結構域；

(C) (1) **PD-1 mAb 3**的VH結構域的三个CDR_H；

(2) **PD-1 mAb 3**的VL結構域的三个CDR_L；

- (3) **PD-1 mAb 3**的VH結構域的三个CDR_H和**PD-1 mAb 3**的VL結構域的三个CDR_L；
- (D) (1) **PD-1 mAb 4**的VH結構域的三个CDR_H；
- (2) **PD-1 mAb 4**的VL結構域的三个CDR_L；
- (3) **PD-1 mAb 4**的VH結構域的三个CDR_H和**PD-1 mAb 4**的VL結構域的三个CDR_L；
- (E) (1) **PD-1 mAb 5**的VH結構域的三个CDR_H；
- (2) **PD-1 mAb 5**的VL結構域的三个CDR_L；
- (3) **PD-1 mAb 5**的VH結構域的三个CDR_H和**PD-1 mAb 5**的VL結構域的三个CDR_L；
- (F) (1) **PD-1 mAb 6**的VH結構域的三个CDR_H；
- (2) **PD-1 mAb 6**的VL結構域的三个CDR_L；
- (3) **PD-1 mAb 6**的VH結構域的三个CDR_H和**PD-1 mAb 6**的VL結構域的三个CDR_L；
- (G) (1) **PD-1 mAb 7**的VH結構域的三个CDR_H；
- (2) **PD-1 mAb 7**或**hPD-1 mAb 7 VL2**或**hPD-1 mAb 7 VL3**的VL結構域的三个CDR_L；
- (3) **PD-1 mAb 7**的VH結構域的三个CDR_H和**PD-1 mAb 7**或**hPD-1 mAb 7 VL2**、**hPD-1 mAb 7 VL3**的VL結構域的三个CDR_L；
- (4) **hPD-1 mAb 7 VH1**或**hPD-1 mAb 7 VH2**的VH結構域；
- (5) **hPD-1 mAb 7 VL1**或**hPD-1 mAb 7 VL2**或**hPD-1 mAb 7 VL 3**的VL結構域；

- (6) **hPD-1 mAb 7(1.1)**或**hPD-1 mAb 7(1.2)**或**hPD-1 mAb 7(1.3)**或**hPD-1 mAb 7(2.1)**或**hPD-1 mAb 7(2.2)**或**hPD-1 mAb 7(2.3)**的VH和VL結構域；
- (H) (1) **PD-1 mAb 8**的VH結構域的三个CDR_H；
- (2) **PD-1 mAb 8**的VL結構域的三个CDR_L；
- (3) **PD-1 mAb 8**的VH結構域的三个CDR_H和**PD-1 mAb 8**的VL結構域的三个CDR_L；
- (I) (1) **PD-1 mAb 9**或**hPD-1 mAb 9 VH2**的VH結構域的三个CDR_H；
- (2) **PD-1 mAb 9**或**hPD-1 mAb 9 VL2**的VL結構域的三个CDR_L；
- (3) **PD-1 mAb 9**或**hPD-1 mAb 9 VH2**的VH結構域的三个CDR_H和**PD-1 mAb 9**或**hPD-1 mAb 9 VL2**的VL結構域的三个CDR_L；
- (4) **hPD-1 mAb 9 VH1**或**hPD-1 mAb 9 VH2**的VH結構域；
- (5) **hPD-1 mAb 9 VL1**或**hPD-1 mAb 9 VL2**的VL結構域；
- (6) **hPD-1 mAb 9(1.1)**或**hPD-1 mAb 9(1.2)**或**hPD-1 mAb 9(2.1)**或**hPD-1 mAb 9(2.2)**的VH和VL結構域；
- (J) (1) **PD-1 mAb 10**的VH結構域的三个CDR_H；
- (2) **PD-1 mAb 10**的VL結構域的三个CDR_L；
- (3) **PD-1 mAb 10**的VH結構域的三个CDR_H和**PD-1 mAb 10**的VL結構域的三个CDR_L；
- (K) (1) **PD-1 mAb 11**的VH結構域的三个CDR_H；
- (2) **PD-1 mAb 11**的VL結構域的三个CDR_L；
- (3) **PD-1 mAb 11**的VH結構域的三个CDR_H和**PD-1 mAb 11**的VL結構域的三个CDR_L；

(L) (1) **PD-1 mAb 12**的VH結構域的三個CDR_H；

(2) **PD-1 mAb 12**的VL結構域的三個CDR_L；

(3) **PD-1 mAb 12**的VH結構域的三個CDR_H和**PD-1 mAb 12**的VL結構域的三個CDR_L；

(M) (1) **PD-1 mAb 13**的VH結構域的三個CDR_H；

(2) **PD-1 mAb 13**的VL結構域的三個CDR_L；

(3) **PD-1 mAb 13**的VH結構域的三個CDR_H和**PD-1 mAb 13**的VL結構域的三個CDR_L；

(N) (1) **PD-1 mAb 14**的VH結構域的三個CDR_H；

(2) **PD-1 mAb 14**的VL結構域的三個CDR_L；

(3) **PD-1 mAb 14**的VH結構域的三個CDR_H和**PD-1 mAb 14**的VL結構域的三個CDR_L；

(O) (1) **PD-1 mAb 15**的VH結構域的三個CDR_H；

(2) **PD-1 mAb 15**的VL結構域的三個CDR_L；

(3) **PD-1 mAb 15**的VH結構域的三個CDR_H和**PD-1 mAb 15**的VL結構域的三個CDR_L；

(4) **hPD-1 mAb 15 VH1**的VH結構域；

(5) **hPD-1 mAb 15 VL1**的VL結構域；

(6) **hPD-1 mAb 15**的VH和VL結構域；

或

所述PD-1結合結構域結合或競爭結合與**PD-1 mAb 1**、**PD-1 mAb 2**、**PD-1 mAb 3**、**PD-1 mAb 4**、**PD-1 mAb 5**、**PD-1 mAb 6**、**PD-1 mAb 7**、**PD-1 mAb**

8、PD-1 mAb 9、PD-1 mAb 10、PD-1 mAb 11、PD-1 mAb 12、PD-1 mAb 13、PD-1 mAb 14或PD-1 mAb 15相同的表位。

(a) PD-1 mAb 1

【0187】 鼠科抗-人PD-1 mAb 1的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:46)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)。

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

PD-1 mAb 1的CDR_H1 (SEQ ID NO:47): NDYAWN

PD-1 mAb 1的CDR_H2 (SEQ ID NO:48): HITYSGSTSYNPSLKSR

PD-1 mAb 1的CDR_H3 (SEQ ID NO:49): DYGSGYPYTLDY

【0188】 鼠科抗-人PD-1 mAb 1的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:50)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

QIVLTQSPAL MSASPGKVT MTCSATSIVS YVYWYQQKPG SSPQPWIYLT
SNLASGVPAR FSGSGSGTSY SLTISSMEAE DAATYYCQQW SDNPYTFGGG
TKLEIK

PD-1 mAb 1 CDR_L1 (SEQ ID NO:51): SATSIVSYVY

PD-1 mAb 1的CDR_L2 (SEQ ID NO:52): LTSNLAS

PD-1 mAb 1的CDR_L3 (SEQ ID NO:53): QQWSDNPYT

【0189】 當抗原表位被識別時，上述鼠科抗-人PD-1抗體PD-1 mAb 1被人源化並且進一步被去免疫化，以證明人源化抗-人PD-1抗體的能力時，從而降低其在施用至人接收者後的抗原性。人源化產生一種人源化VH結構域，本文指定為“hPD-1 mAb 1 VH1”，和一種人源化VL結構域，本文指定為“hPD-1 mAb

1 VL1”。因此，包含與人源化VH結構域配對的人源化VL結構域的抗體被稱為“hPD-1 mAb 1”。

【0190】 hPD-1 mAb 1 VH1的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:54)如下顯示 (CDR_H殘基以底線顯示)：

DVQLQESGPG LVKPSQTLST TCTVSGFSIS NDYAWNWIRQ PPGKGLEWIG
HITYSGSTSY NPSLKSRLLTI TRDTSKNQFV LTMTNMDPVD TATYYCARDY
GSGYPYTLDY WGQGT TVTVS S

【0191】 hPD-1 mAb 1 VL1的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:55)如下顯示 (CDR_H殘基以底線顯示)：

EIVLTQSPAT LSVSPGEKVT ITCSATSIVS YVYWYQQKPG QAPQPLIYLT
SNLASGIPAR FSGSGSGTDF TLTISSEAE DAATYYCQQW SDNPYTFGGG
TKVEIK

(b) PD-1 mAb 2

【0192】 鼠科抗-人PD-1 mAb 2的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:56)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)。

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

PD-1 mAb 2的CDR_H1 (SEQ ID NO:57): SFGMH

PD-1 mAb 2的CDR_H2 (SEQ ID NO:58): YISSGSMSISYADTVKG

PD-1 mAb 2的CDR_H3 (SEQ ID NO:59): LSDYFDY

【0193】 鼠科抗-人PD-1 mAb 2的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:60)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

DVVMSTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRRSSQSLV HSTGNTYLHW YLQKPGQSPK
LLIYRVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV FFCSQTTHVP
WTFGGGTKLE IK

PD-1 mAb 2的CDR_L1 (SEQ ID NO:61): RSSQSLVHSTGNTYLH

PD-1 mAb 2的CDR_L2 (SEQ ID NO:62): RVSNRFS

PD-1 mAb 2的CDR_L3 (SEQ ID NO:63): SQTTHVPWT

【0194】 當抗原表位被識別時，上述的鼠科抗-人PD-1抗體**PD-1 mAb 2**被人源化並且進一步被去免疫化，以證明人源化抗-人PD-1抗體的能力，從而降低其施用至人接收者後的抗原性。人源化產生一種人源化VH結構域，本文指定為“**hPD-1 mAb 2 VH1**”，和一種人源化VL結構域，本文指定為“**hPD-1 mAb 1 VL1**”。因此，包含與人源化VH結構域配對的人源化VL結構域的抗體被稱為“**hPD-1 mAb 2**”。

【0195】 **hPD-1 mAb 2 VH1**的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:64)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFVFS SFGMHWVRQA PGKGLEWVAY
ISSGSMSISY ADTVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMNSLRTEG TALYYCASLS
DYFDYWGQGT TTVTSS

【0196】 **hPD-1 mAb 2 VL1**的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:65)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

DVVMSTQSPHS LPVTLGQPAS ISCRRSSQSLV HSTGNTYLHW YLQKPGQSPQ
LLIYRVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCSQTTHVP
WTFGGGTKLE IK

(c) PD-1 mAb 3

【0197】 鼠科抗-人PD-1 mAb 3的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:66)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)。

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

PD-1 mAb 3的CDR_{H1} (SEQ ID NO:67): **DYVMH**

PD-1 mAb 3的CDR_{H2} (SEQ ID NO:68): **TIDPETGGTAYNQKFKG**

PD-1 mAb 3的CDR_{H3} (SEQ ID NO:69): **EKITTTIVEGTYWYFDV**

【0198】 鼠科抗-人PD-1 mAb 3的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:70)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

DVLLTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRRSSQNIV HSNGDTYLEW YLQKPGQSPK
LLIYKVSNRFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGSHLP
YTFGGGTKLE IK

PD-1 mAb 3的CDR_{L1} (SEQ ID NO:71): **RSSQNIVHSNGD**TYLEW

PD-1 mAb 3的CDR_{L2} (SEQ ID NO:72): **KVSNRF**SGVPDRFSGS

PD-1 mAb 3的CDR_{L3} (SEQ ID NO:73): **FQGSHLP**YTFGGGTKLE

(d) PD-1 mAb 4

【0199】 鼠科抗-人PD-1 mAb 4的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:74)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)。

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

PD-1 mAb 4的CDR_{H1} (SEQ ID NO:75): **SFGMH**

PD-1 mAb 4的CDR_H2 (SEQ ID NO:76) : YISSGSMISYADTVKG

PD-1 mAb 4的CDR_H3 (SEQ ID NO:77): LTDYFDY

【0200】 鼠科抗-人PD-1 mAb 4的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:78)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

DVMSQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSLV HSTGNTYFHW YLQKPGQSPK
LLIYRVSNRFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YFCSQTTHVP
WTFGGGTKLE IK

PD-1 mAb 4的CDR_L1 (SEQ ID NO:79): RSSQSLVHSTGNTYFH

PD-1 mAb 4的CDR_L2 (SEQ ID NO:80): RVS

PD-1 mAb 4的CDR_L3 (SEQ ID NO:81): SQTTHVPWT

(e) PD-1 mAb 5

【0201】 鼠科抗-人PD-1 mAb 5的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:82)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)。

QVQLQQPGVE LVRPGASVKL SCKASGYSFT AYWMNWMKQR PGQGLEWIGV
IHPSDSETWL NQKFKDKATL TVDKSSSTAY MQLISPTSED SAVYYCAREH
YGSSPFAYWG QGTLVTVSA

PD-1 mAb 5的CDR_H1 (SEQ ID NO:83): AYWMN

PD-1 mAb 5的CDR_H2 (SEQ ID NO:84): VIHP

PD-1 mAb 5的CDR_H3 (SEQ ID NO:85): EHYGSSPFAY

【0202】 鼠科抗-人PD-1 mAb 5的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:86)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCRANESVD NYGMSEFMNWF QQKPGQPPKL
LIYAASNQGSGVPARFSGSG SGTDFSLNIH PMEEDDTAMY FCQQSKEVPY

TFGGGTKLEI K

PD-1 mAb 5的CDR_L1 (SEQ ID NO:87): RANESVDNYGMSFMN

PD-1 mAb 5的CDR_L2 (SEQ ID NO:88): AASNQGS

PD-1 mAb 5的CDR_L3 (SEQ ID NO:89): QQSKEVPYT

(f) PD-1 mAb 6

【0203】 鼠科抗-人PD-1 mAb 6的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:90)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)。

EVKLVESGGG LVNPGGSLKL SCAASGFTFS SYGMSWVRQT PEKRLEWVAT
ISGGGSDTYYPDSVKGRFTI SRDNAKNNLY LQMSSLRSED TALYYCARQK
ATTWFAYWGQ GTLVTVST

PD-1 mAb 6的CDR_H1 (SEQ ID NO:91): SYGMS

PD-1 mAb 6的CDR_H2 (SEQ ID NO:92): TISGGGSDTYYPDSVKG

PD-1 mAb 6的CDR_H3 (SEQ ID NO:93): QKATTWFAY

【0204】 鼠科抗-人PD-1 mAb 6的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:94)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

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

PD-1 mAb 6的CDR_L1 (SEQ ID NO:95): RASESVDNYGISFMN

PD-1 mAb 6的CDR_L2 (SEQ ID NO:96): PASNQGS

PD-1 mAb 6的CDR_L3 (SEQ ID NO:97): QQSKEVPWT

(g) PD-1 mAb 7

【0205】 鼠科抗-人抗-人PD-1 mAb 7的VH結構域的氨基酸序列(SEQ

ID NO:98)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)。

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

CDR_H1 of PD-1 mAb 7 (SEQ ID NO:99): **SYWMN**

PD-1 mAb 7的CDR_H2 (SEQ ID NO:100): **VIHPDSETWL DQKFKD**

PD-1 mAb 7的CDR_H3 (SEQ ID NO:101): **EHYGTSPFAY**

【0206】 鼠科抗-人PD-1 mAb 7的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:102)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

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

PD-1 mAb 7的CDR_L1 (SEQ ID NO:103): **RANESVDNYGMSFMN**

PD-1 mAb 7的CDR_L2 (SEQ ID NO:104): **AASNQGS**

PD-1 mAb 7的CDR_L3 (SEQ ID NO:105): **QQSKEVPYT**

【0207】 當抗原表位被識別時，上述鼠科抗-人PD-1抗體**PD-1 mAb 7**被人源化並且進一步被去免疫化，以證明人源化抗-人PD-1抗體人的能力，從而降低其施用至人接收者後的抗原性。人源化產生兩種人源化VH結構域，本文指定為“**hPD-1 mAb 7 VH1**”和“**hPD-1 mAb 7 VH2**”，以及三個人源化VL結構域，本文指定為“**hPD-1 mAb 7 VL1**”、“**hPD-1 mAb 7 VL2**”和“**hPD-1 mAb 7 VL3**”。任何人源化VL結構域可與任一人源化VH結構域配對。因此，包含與人源化VH結構域配對的人源化VL結構域的一種的任何抗體總體上被稱為“**hPD-1 mAb**

7”，並且具體的人源化VH/VL結構域的組合通過參照特定的VH/VL結構域被命名，例如包含**hPD-1 mAb 7 VH1** 和**hPD-1 mAb 1 VL2**的人源化抗體被具體稱為“**hPD-1 mAb 7(1.2)**”。

【0208】 hPD-1 mAb 7 VH1的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:106**)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

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

【0209】 hPD-1 mAb 7 VH2的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:107**)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

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

【0210】 hPD-1 mAb 7 VL1的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:108**)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

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

【0211】 hPD-1 mAb 7 VL2的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:109**)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

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

【0212】 **hPD-1 mAb 7 VL3**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:110**)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

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

【0213】 **hPD-1 mAb 7 VL2**和**hPD-1 mAb 7 VL3**的VL結構域的CDR_L1包含天冬醯胺至絲氨酸的氨基酸取代並且具有氨基酸序列：RASESVDNYGMSFMN (**SEQ ID NO:111**)，取代的絲氨酸以底線顯示)。考慮類似的取代可併入至上述的任意PD-1 mAb 7 CDR_L1結構域中。

【0214】 另外，**hPD-1 mAb 7 VL3**的VL結構域的CDR_L2包含穀氨醯胺至精氨酸的氨基酸取代並且具有氨基酸序列：AASNRGS (**SEQ ID NO:112**)，取代的精氨酸以底線顯示)考慮類似的取代可併入至任意上述PD-1 mAb 7 CDR_L2結構域中。

(h) **PD-1 mAb 8**

【0215】 鼠科抗-人**PD-1 mAb 8**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:113**)如下顯示 (CDR_H殘基以底線顯示)。

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

PD-1 mAb 8的CDR_H1 (**SEQ ID NO:114**): **DYYMN**

PD-1 mAb 8的CDR_H2 (**SEQ ID NO:115**): **DINPKNGDTHYNQKFKG**

PD-1 mAb 8的CDR_H3 (**SEQ ID NO:116**): **DFDY**

【0216】 鼠科抗-人**PD-1 mAb 8**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID**

NO:117)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

DVVMTQTPLS LPVGLGDQAS ISCRRSSQTLV YSNGNTYLNW FLQKPGQSPK
LLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YFCSQSTHVP
FTFGSGTKLE IK

PD-1 mAb 8的CDR_L1 (SEQ ID NO:118): RSSQTLVYSNGNTYLN

PD-1 mAb 8的CDR_L2 (SEQ ID NO:119): KVSNRFS

PD-1 mAb 8的CDR_L3 (SEQ ID NO:120): SQSTHVPFT

(i)PD-1 mAb 9

【0217】 鼠科抗-人PD-1 mAb 9的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:121)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)。

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

PD-1 mAb 9的CDR_H1 (SEQ ID NO:122): SYLVS

PD-1 mAb 9的CDR_H2 (SEQ ID NO:123): TISGGGGNTYYSDSVKG

PD-1 mAb 9的CDR_H3 (SEQ ID NO:124): YGFDGAWFAY

【0218】 鼠科抗-人PD-1 mAb 9的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:125)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

DIQMTQSPAS LSASVGDIVT ITCRASENIY SYLAWYQQKQ EKSPQLLVYN
AKTLAAGVPS RFSGSGSGTQ FSLTINSLQP EDFGNYYCQH HYAVPWTFGG
GTRLEIT

PD-1 mAb 9的CDR_L1 (SEQ ID NO:126): RASENIYSYLA

PD-1 mAb 9的CDR_L2 (SEQ ID NO:127): NAKTLAA

PD-1 mAb 9的CDR_L3 (SEQ ID NO:128): QHHYAVPWT

【0219】 當抗原表位被識別時，上述鼠科抗-人PD-1抗體**PD-1 mAb 9**被人源化並且進一步被去免疫化，以證明人源化抗-人PD-1抗體人的能力，從而降低其施用至人接收者後的抗原性。人源化產生兩種人源化VH結構域，本文指定為“**hPD-1 mAb 9 VH1**”和“**hPD-1 mAb 9 VH2**”，以及兩種人源化VL結構域，本文指定為“**hPD-1 mAb 9 VL1**”和“**hPD-1 mAb 9 VL2**”。任意人源化VL結構域可與人源化VH結構域配對。因此，包含與人源化VH結構域配對的人源化VL結構域中的一種的任何抗體總體上被稱為“**hPD-1 mAb 9**”，並且具體的人源化VH/VL結構域的組合參照特定的VH/VL結構域被命名，例如包含**hPD-1 mAb 9 VH1**和**hPD-1 mAb 9 VL2**的人源化抗體被具體稱為“**hPD-1 mAb 9(1.2)**”。

【0220】 **hPD-1 mAb 9 VH1**的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:129)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

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

【0221】 **hPD-1 mAb 9 VH2**的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:130)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

EVQLVESGGG LARPGGSLKL SCAASGFTFS SYLVGWVRQA PGKGLEWTATT
ISGGGGNTYY SDSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSARAED TATYYCARYYG
FDGAWFAYWG QGTLVTVSS

【0222】 **hPD-1 mAb 9 VH2**的VH結構域的CDR_H1包含絲氨酸至甘氨酸的氨基酸取代並且具有氨基酸序列：SYLVG ((SEQ ID NO:131)，取代的甘氨酸

酸以底線顯示)。考慮類似的取代可併入至任意上述的**PD-1 mAb 9** CDR_H1結構域中。

【0223】 hPD-1 mAb 9 VL1的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:132**)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASENIY SYLAWYQQKP GKAPKLLIYN
AKTLAAGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH HYAVPWTFGQ
GTKLEIK

【0224】 hPD-1 mAb 9 VL2的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:133**)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASENIY NYLAWYQQKP GKAPKLLIYD
AKTLAAGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH HYAVPWTFGQ
GTKLEIK

【0225】 hPD-1 mAb 9 VL2的VL結構域的CDR_L1包含絲氨酸至天冬醯胺的氨基酸取代並且具有氨基酸序列：**RASENIYNYLA (SEQ ID NO:134)**，取代的天冬醯胺以底線顯示)。考慮類似的取代可併入至任意上述**PD-1 mAb 9** CDR_L1結構域中。

【0226】 hPD-1 mAb 9 VL2的VL結構域的CDR_L2包含天冬醯胺至天冬氨酸的氨基酸取代並且具有氨基酸序列：**DAKTLAA ((SEQ ID NO:135)**，取代的天冬氨酸以底線顯示)。考慮類似的取代可併入至任意上述的**PD-1 mAb 7** CDR_L2結構域中。

(j) PD-1 mAb 10

【0227】 鼠科抗-人PD-1 mAb 10的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:136**)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)。

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

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

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

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

【0228】 鼠科抗-人PD-1 mAb 10的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:140)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

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

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

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

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

(k) PD-1 mAb 11

【0229】 鼠科抗-人PD-1 mAb 11的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:144)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)。

EVQLQQSGTV LARPGASVKM SCKTSGYTFT GYWMHWVKQR PGQGLKWMGA
IYPGNSDTHY NQKFKGKAKL TAVTSASTAY MELSSLTNED SAIYYCTTGT
YSYFDVWGTG TTVTVSS

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

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

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

【0230】 鼠科抗-人PD-1 mAb 11的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:148)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

DILLTQSPAI LSVSPGERVS FSCRASQSIG TSIHWYQHRT NGSPRLLIKY
ASESISGIPS RFSGSGSGTD FTLSINSVES EDIADYYCQQ SNSWLTFGAG
TKLELK

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

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

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

(I)PD-1 mAb 12

【0231】 鼠科抗-人PD-1 mAb 12的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:152)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)。

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

PD-1 mAb 12的CDR_H1 (SEQ ID NO:153):DYEMH

PD-1 mAb 12的CDR_H2 (SEQ ID NO:154):TIDPETGGTAYNQKFKG

PD-1 mAb 12的CDR_H3 (SEQ ID NO:155):ERITTVVEGAYWYFDV

【0232】 鼠科抗-人PD-1 mAb 12的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:156)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

DVLMTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQNIV HSNGNTYLEW YLQKPGQSPK
LLICKKVSTRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGSHVP
YTFGGGTKLE IK

PD-1 mAb 12的CDR_L1 (SEQ ID NO:157):RSSQNIVHSNGNTYLE

PD-1 mAb 12的CDR_L2 (SEQ ID NO:158): KVSTRFS

PD-1 mAb 12的CDR_L3 (SEQ ID NO:159): FQGSHVPYT

(m) PD-1 mAb 13

【0233】 鼠科抗-人**PD-1 mAb 13**的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:160)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)。

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

PD-1 mAb 13的CDR_H1 (SEQ ID NO:161): SHTMS

PD-1 mAb 13的CDR_H2 (SEQ ID NO:162): TISGGGSNIYYPDSVKG

PD-1 mAb 13的CDR_H3 (SEQ ID NO:163): QAYYGNYWYFDV

【0234】 鼠科抗-人**PD-1 mAb 13**的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:164)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

DIQMTQSPAT QSASLGESVT ITCLLASQTIG TWLAWYQQKP GKSPQLLIYA
ATSLADGVPS RFSGSGSGTK FSKISSLQA EDFVSYYCQQ LDSIPWTFGG
GTKLEIK

PD-1 mAb 13的CDR_L1 (SEQ ID NO:165): LASQTIGTWLA

PD-1 mAb 13的CDR_L2 (SEQ ID NO:166): AATSLAD

PD-1 mAb 13的CDR_L3 (SEQ ID NO:167): QQLD SIPWT

(n) PD-1 mAb 14

【0235】 鼠科抗-人**PD-1 mAb 14**的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:168)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)。

QVQLQQPGAE LVKPGASVKM SCKASGYNFI SYWITWVKQR PGQGLQWIGN

IYPGTDGTTY NEKFSKATL TVDTSSSTAY MHL SRLTSED SAVYYCATGL
HWYFDVWGTG TTVTVSS

PD-1 mAb 14的CDR_H1 (SEQ ID NO:169):SYWIT

PD-1 mAb 14的CDR_H2 (SEQ ID NO:170): NIYPGTDGTTYNEKF

PD-1 mAb 14的CDR_H3 (SEQ ID NO:171):GLHWYFDV

【0236】 鼠科抗-人PD-1 mAb 14的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:172)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

DIVMTQSQKF MSTSVGDRVS VTCKASQSVG TNVAWYQQK GQSPKALIYS
ASSRFSGVPD RFTGSGSGTD FTLTISNVQS EDLAEYFCQQ YNSYPYTFGG
GTKLEIK

PD-1 mAb 14的CDR_L1 of (SEQ ID NO:173): KASQSVGTNVA

PD-1 mAb 14的CDR_L2 of (SEQ ID NO:174): SASSRFS

PD-1 mAb 14的CDR_L3 of (SEQ ID NO:175): QQYNSYPYT

(o) PD-1 mAb 15

【0237】 鼠科抗-人PD-1 mAb 15的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:176)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)。

EVMLVESGGG LVKPGGSLKL SCAASGFIFS SYLISWVRQT PEKRLEWVAA
ISGGGADTYY ADSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMSSLRSED TALYYCTRRG
TYAMDYWGQG TSVTVSS

PD-1 mAb 15的CDR_H1 (SEQ ID NO:177):SYLIS

PD-1 mAb 15的CDR_H2 (SEQ ID NO:178): AISGGGADTYYADSVKG

PD-1 mAb 15的CDR_H3 (SEQ ID NO:179):RGTYAMDY

【0238】 鼠科抗-人PD-1 mAb 15的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID

NO:180)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

DIQMTQSPAS QSASLGESVT ITCLASQTIG TWLAWYQQKP GKSPQLLIYA
ATSLADGVPS RFSGSGSGTK FSKISSLQA EDFVNYYCQQ LYSIPWTFGG
GTKLEIK

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

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

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

【0239】 當抗原表位被識別時，上述鼠科抗-人PD-1抗體**PD-1 mAb 15**被人源化並且進一步被去免疫化，以證明人源化抗-人PD-1抗體人的能力，從而降低其施用至人接收者後的抗原性。人源化產生一種人源化VH結構域，本文指定為“**hPD-1 mAb 15 VH1**”，和一種人源化VL結構域，本文指定為“**hPD-1 mAb 15 VL1**”。包含與人源化VH結構域配對的人源化VL結構域的抗體被稱為“**hPD-1 mAb 15**”。

【0240】 **hPD-1 mAb 15 VH1**的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:184)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

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

【0241】 **hPD-1 mAb 15 VL1**的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:185)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCLASQTIG TWLAWYQQKP GKAPKLLIYA
ATSLADGVPS RFSGSGSGTD FTFTISSLPQ EDFATYYCQQ LYSIPWTFGQ
GTKLEIK

(p) 另外的抗PD-1抗體

【0242】 可用於產生能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的可選的分子的抗-PD-1抗體具備下述抗-人PD-1單克隆抗體的VL和/或VH結構域：尼魯單抗(**nivolumab**) (CAS登記號:946414-94-4，也稱為5C4、BMS-936558、ONO-4538、MDX-1106 並且由 Bristol-Myers Squibb 以 OPDIVO® 售賣)；派姆單抗(**pembrolizumab**)，(之前稱為蘭羅利珠單抗(lambrolizumab))，CAS登記號:1374853-91-4，也稱為MK-3475、SCH-900475，並且由Merck以KEYTRUDA®售賣)；**EH12.2H7** (Dana Farber)；皮地珠單抗(**pidilizumab**)，CAS登記號：1036730-42-3，也稱為CT-011，CureTech,)，或表8中的任何抗PD-1抗體；並且更優選地具有這類抗PD-1單克隆抗體的VL區的1、2或所有3個CDRL和/或VH結構域的1、2或所有3個CDRH。尼魯單抗(WHO藥物資訊，2013，推薦的INN：列表69, 27(1):68-69)、派姆單抗(WHO藥物資訊，2014，推薦的INN：列表75, 28(3):407)和皮地珠單抗(WHO藥物資訊，2013，推薦的INN：列表70, 27(3):303-304)的完整重鏈和輕鏈的氨基酸序列是本領域中已知的。可用於本發明方法和組合物中的具備獨特的結合特徵的另外的抗-PD-1抗體最近已經被鑒別(參見，美國專利申請號62/198,867；62/239,559；62/255,140)。

表8：另外的抗PD-1抗體	
PD-1抗體	參照/來源
PD1-17；PD1-28；PD1-33；PD1-35；和PD1-F2	美國專利號7,488,802；7,521,051 和8,088,905；PCT專利公開號WO 2004/056875
17D8；2D3；4H1；5C4；4A11；7D3；和5F4	美國專利號8,008,449；8,779,105 和9,084,776；PCT專利公開號WO 2006/121168
hPD-1.08A；hPD-1.09A；109A；K09A；409A； h409A11；h409A16；h409A17；密碼子優化的109A； 和密碼子優化的409A	美國專利號8,354,509；8,900,587 和5,952,136；PCT專利公開號WO 2008/156712
1E3；1E8；和1H3	美國專利公開號2014/0044738； PCT專利公開號WO 2012/145493
9A2；10B11；6E9；APE1922；APE1923；APE1924； APE1950；APE1963；和APE2058	PCT專利公開號WO 2014/179664
GA1；GA2；GB1；GB6；GH1；A2；C7；H7；SH-A4； SH-A9；RG1H10；RG1H11；RG2H7；RG2H10； RG3E12；RG4A6；RG5D9；RG1H10-H2A-22-1S； RG1H10-H2A-27-2S；RG1H10-3C；RG1H10-16C； RG1H10-17C；RG1H10-19C；RG1H10-21C；和 RG1H10-23C2	美國專利公開號2014/0356363； PCT專利公開號WO 2014/194302

表8：另外的抗PD-1抗體	
PD-1抗體	參照/來源
H1M7789N；H1M7799N；H1M7800N；H2M7780N； H2M7788N；H2M7790N；H2M7791N；H2M7794N； H2M7795N；H2M7796N；H2M7798N；H4H9019P； H4xH9034P2；H4xH9035P2；H4xH9037P2； H4xH9045P2；H4xH9048P2；H4H9057P2； H4H9068P2；H4xH9119P2；H4xH9120P2； H4Xh9128p2；H4Xh9135p2；H4Xh9145p2； H4Xh8992p；H4Xh8999p；和H4Xh9008p；	美國專利公開號2015/0203579； PCT專利公開號WO 2015/112800
PD-1 mAb 1；PD-1 mAb 2；hPD-1 mAb 2；PD-1 mAb 3；PD-1 mAb 4；PD-1 mAb 5；PD-1 mAb 6；PD-1 mAb 7；hPD-1 mAb 7；PD-1 mAb 8；PD-1 mAb 9；hPD-1 mAb 9；PD-1 mAb 10；PD-1 mAb 11；PD-1 mAb 12；PD-1 mAb 13；PD-1 mAb 14；PD-1 mAb 15；和hPD-1 mAb 15	美國專利申請號62/198,867和 62/239,559

(q) 示例性IgG4 PD-1抗體

【0243】 在某些實施方式中，可用於本發明方法和組合物的抗-PD-1抗體包含以上提供的任意抗體(例如，PD-1 mAb 1、PD-1 mAb 2、PD-1 mAb 3、PD-1 mAb 4、PD-1 mAb 5、PD-1 mAb 6、PD-1 mAb 7、PD-1 mAb 8等或表6中的任意抗-PD-1抗體)的VL和VH結構域、 κ CL結構域(SEQ ID NO:12)和IgG4 Fc結構域，任選地缺少C-末端賴氨酸殘基。這類抗體優選地包含IgG4 CH1結構域(SEQ ID NO:3)和鉸鏈結構域，並且更優選地包括含S228P取代的穩定化IgG4鉸

鏈(其中編號根據Kabat中的EU索引，SEQ ID NO:7)和IgG4 CH2-CH3結構域 (SEQ ID NO:7)。

【0244】 被命名為“hPD-1 mAb 7 (1.2) IgG4 (P)”的示例性抗-PD-1抗體是人源化抗-人PD-1抗體。如以上指出的，hPD-1 mAb 7(1.2)包含hPD-1 mAb 7 VH1的VH結構域和抗體 hPD-1 mAb 7 VL2的VL結構域。

【0245】 hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4 (P)的完整重鏈的氨基酸序列是SEQ ID NO:186 (CDR_H殘基和S228P殘基以底線顯示)：

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYST SYWMNWVRQA PGQGLEWIGV
IHPDSETWL DQKFKDRVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAREEH
YGTSPFAYWG QGTLVTVSSA STKGPSVFPL APCSRSTSES TAALGCLVKD
YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFP AVLQSSG LYSLSVVTV PSSSLGTKTY
TCNVDHKPSN TKVDKRVESK YGPPCPPCPA PEFLGGPSVF LFPPKPKDTL
MISRTPEVTC VVVDVSQEDP EVQFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQFNSTYR
VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVS NKGLPSS IEKTISKAKG QPREPQVYTL
PPSQEEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTTPVLDSD
GSFFLYSRLT VDKSRWQEGN VFSCSV MHEA LHNHYTQKSL SLSLG

【0246】 在SEQ ID NO:186中，殘基1-119對應於hPD-1 mAb 7 VH1的VH結構域(SEQ ID NO:106)，氨基酸殘基120-217對應於人IgG4 CH1結構域 (SEQ ID NO:3)，氨基酸殘基218-229對應於包括S228P取代的人IgG4鉸鏈結構域 (SEQ ID NO:7)，氨基酸殘基230-245對應於人IgG4 CH2-CH3結構域(SEQ ID NO:11，其中X不存在)。

【0247】 抗體 hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4 (P)的完整輕鏈的氨基酸序列具備κ恆定區並且是(SEQ ID NO:187)：

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASESVD NYGMSFMNWF QQKPGQPPKL
 LIHAASNQGS GVPSRFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY FCQQSKEVPY
 TFGGGTKVEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV
 QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLISKADY EKHKVYACEV
 THQGLSSPVT KSFNRGEC

【0248】 在SEQ ID NO:187中，氨基酸殘基1-111對應於hPD-1 mAb 7 VL2VL的結構域(SEQ ID NO:109)，並且氨基酸殘基112-218對應於輕鏈κ恆定區(SEQ ID NO:12)。

【0249】 具有IgG4恆定區的其它示例性抗-PD-1抗體是尼魯單抗，其是人抗體，以及派姆單抗，其是人源化抗體。每種各包含如上所描述的κ CL結構域、IgG4 CH1結構域、穩定化的IgG4鉸鏈和IgG4 CH2-CH3結構域。

(r) 能夠結合PD-1和LAG-3的示例性雙特異性分子

【0250】 如本文中提供的，能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子可以是雙特異性分子。在某些實施方式中，雙特異性分子優選包含任意以上提供的抗-PD-1抗體(例如，PD-1 mAb 1、PD-1 mAb 2、PD-1 mAb 3、PD-1 mAb 4、PD-1 mAb 5、PD-1 mAb 6、PD-1 mAb 7、PD-1 mAb 8等或表6中的任意抗-PD-1抗體)的VL和VH結構域以及結合CD137、LAG-3、OX40、TIGIT、TIM-3或VISTA的表位的抗體的VL和VH結構域。這類雙特異性分子可以是雙抗體、BITEs®、雙特異性抗體或三價結合分子。

【0251】 被命名為“DART-1”的、能夠結合PD-1和LAG-3的示例性雙特異性分子是包括四條多肽鏈的雙抗體。DART-1是雙特異性四鏈含Fc區的雙抗體，其具有對於PD-1特異性的兩個結合位點、對於LAG-3特異性的兩個結合位點、為了延長半衰期而被工程化的變異的IgG4 Fc區和包含半胱氨酸的E/K-螺旋

異源二聚體促進結構域(參見，例如，**圖3B**)。DART-1的第一和第三多肽鏈在N-末端至C-末端方向包含：N-末端、能夠結合至LAG-3的單克隆抗體的VL結構域(**SEQ ID NO:273**中的底線)；間插連接體肽(**連接體1**：GGGSGGGG (**SEQ ID NO:14**))、hPD-1 mAb 7 VH1的VH結構域(**SEQ ID NO:106**)；包含半胱氨酸的間插連接體肽(**連接體2**：GGCGGG (**SEQ ID NO:15**))；包含半胱氨酸的異源二聚體促進(E-螺旋)結構域(EVAACEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK (**SEQ ID NO:29**))；穩定化的IgG4鉸鏈區(**SEQ ID NO:7**)；另外包含氨基酸取代M252Y/S254T/T256E並且缺少C-末端殘基的變異的IgG4 CH2-CH3結構域(**SEQ ID NO:11**))；和C-末端。DART-1的第一和第三多肽鏈的氨基酸序列是 (**SEQ ID NO:273**)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCRASQDVS SVVAWYQQKP GKAPKLLIYS
ASYRYTGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYSTPWTFGG
GTKLEIKGGG SGGGGQVQLV QSGAEVKKPG ASVKVSCKAS GYSFTSYWMN
WVRQAPGQGL EWIGVIHPSD SETWLDQKFK DRVITITVDKS TSTAYMELSS
LRSEDTAVYY CAREHYGTSP FAYWGQGTLV TVSSGGCGGG EVAACEKEVA
ALEKEVAALE KEVAALEKES KYGPPCPPCP APEFLGGPSV FLFPPKPKDT
LYITREPEVT CVVVDVSDQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTY
RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT
LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS
DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSV MHE ALHNHYTQKS LSLSLG

【0252】 DART-1的第二和第四多肽鏈在N-末端至C-末端方向包含：N-末端、hPD-1 mAb 7 VL2的VL結構域(**SEQ ID NO:109**)；間插連接體肽(**連接體1**：GGGSGGGG (**SEQ ID NO:14**))；能夠結合LAG-3的單克隆抗體的VH結構域

(SEQ ID NO:274中的底線)；包含半胱氨酸的間插連接體肽(連接體2：GGCGGG (SEQ ID NO:15))；包含半胱氨酸的異源二聚體促進(K-螺旋)結構域 (KVAACKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (SEQ ID NO:30)；和C-末端。

DART-1的第二和第四多肽鏈的氨基酸序列是(SEQ ID NO:274)：

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASESVD NYGMSFMNWF QQKPGQPPKL
LIHAASNQGS GVPSRFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY FCQQSKEVPY
TFGGGTKVEI KGGGSGGGGQ VQLVQSGAEV KKPGASVKVS CKASGYTFTD
YNMDWVRQAP GQGLEWMGDI NPDNGVTIYN QKFEGRTMT TDTSTSTAYM
ELRSLRSDDT AVYYCAREAD YFYFDYWGQG TLTIVSSGGC GGGKVAACKE
KVAALKEKVA ALKEKVAALK E

【0253】 命名為“**DART-2**”的能夠結合PD-1和LAG-3的另一示例性雙特異性分子具有與**DART-1**相同的結構但是併入可選的LAG-3 VL和VH結構域。

2. 對於PD-1的天然配體免疫特異性的結合分子

【0254】 如以上討論的，PD-1的天然配體，例如B7-H1 (PD-L1)和B7-DC (PD-L2)，已經被描述(Ohigashi等人, (2005) “Clinical Significance Of Programmed Death-1 Ligand-1 And Programmed Death-1 Ligand-2 Expression In Human Esophageal Cancer,” Clin. Cancer Res. 11:2947-2953；Dong, H.等人, (1999) “B7-H1, A Third Member Of The B7 Family, Co-Stimulates Cell Proliferation And Interleukin-10 Secretion,” Nat. Med. 5:1365-1369；Freeman, G.J.等人, (2000) “Engagement Of The PD-1 Immunoinhibitory Receptor By A Novel B7 Family Member Leads To Negative Regulation Of Lymphocyte Activation,” J. Exp. Med. 192:1027-1034；Tseng, S.Y.等人, (2001) “B7-DC, A New Dendritic Cell Molecule With Potent Costimulatory Properties For T Cells,” J. Exp. Med 193:839-846；

Latchman, Y.等人, (2001) “PD-L2 Is A Second Ligand For PD-1 And Inhibits T Cell Activation,” Nat. Immunol. 2:261-268 ; Iwai等人, (2002) “Involvement Of PD-L1 On Tumor Cells In The Escape From Host Immune System And Tumor Immunotherapy By PD-L1 Blockade,” Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 99:12293-12297) 。

【0255】 代表性人B7-H1 (PD-L1)多肽(NCBI序列NP_001254635.1，包括預測的18個氨基酸信號序列)具有氨基酸序列(**SEQ ID NO:188**)：

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

【0256】 代表性人B7-DC (PD-L2)多肽(NCBI序列NP_079515.2；包括預測的18個氨基酸信號序列)具有氨基酸序列(**SEQ ID NO:189**)：

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

【0257】 雖然B7-H1和B7-DC共用氨基酸序列的34%同一性，但是它們的表達已經表明它們被差別調節(Youngnak, P.等人, (2003) “Differential Binding Properties Of B7-H1 And B7-DC To Programmed Death-1,” Biochem. Biophys. Res. Commun. 307:672-677 ; Loke, P.等人, (2003) “PD-L1 And PD-L2 Are Differentially Regulated By Th1 And Th2 Cells,” Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)

100:5336-5341)。已表明PD-L1通過增加抗原-特異性T細胞克隆的凋亡而在腫瘤免疫中起作用(Dong等人, (2002) “Tumor-Associated B7-H1 Promotes T-Cell Apoptosis: A Potential Mechanism Of Immune Evasion,” Nat Med 8:793-800)。同樣已經表明B7-H1可涉及腸黏膜炎症, 並且抑制B7-H1壓制與結腸炎有關的消耗病(Kanai等人, (2003) “Blockade Of B7-H1 Suppresses The Development Of Chronic Intestinal Inflammation,” J. Immunol. 171:4156-4163)。已經報導了在肺、卵巢和結腸的人類癌症中以及在黑色素瘤中的B7-H1表達(Dong等人, (2002) “Tumor-Associated B7-H1 Promotes T-Cell Apoptosis: A Potential Mechanism Of Immune Evasion,” Nat Med 8:793-800)。另一方面, B7-DC在腫瘤中的作用在很大程度上仍是未知的(Liu, X.等人, (2003) “B7-DC/PD-L2 Promotes Tumor Immunity By APD-1-Independent Mechanism,” J. Exp. Med. 197:1721-1730; Radhakrishnan, S.等人, (2004) “Immunotherapeutic Potential Of B7-DC (PD-L2) Cross-Linking Antibody In Conferring Antitumor Immunity,” Cancer Res 64:4965-4972。已經證明癌細胞上的B7-DC表達在抗腫瘤免疫的誘導和效應期促進CD8 T細胞介導的排斥(Liu, X. 等人, (2003) “B7-DC/PD-L2 Promotes Tumor Immunity By A PD-1-Independent Mechanism,” J. Exp. Med. 197:1721-1730)。

【0258】 抗-B7-H1抗體可使用具有以上提供的B7-H1氨基酸序列的蛋白質作為免疫原來獲得。可選地, 可用於產生能夠結合PD-1的天然配體的分子的抗-B7-H1抗體可具備下述抗-人B7-H1抗體的VL和/或VH結構域: 阿特朱單抗(atezolizumab) (CAS註冊號1380723-44-3, 也稱為MPDL3280A)、度伐魯單抗(durvalumab) (CAS註冊號1428935-60-7, 也稱為MEDI-4736)、阿維魯單抗(avelumab), MDX1105 (CAS註冊號1537032-82-8, 也稱為BMS-936559), 5H1) ;

(同樣參見，美國專利號9,273,135、9,062,112、8,981,063、8,779,108、8,609,089和8,460,927；McDermott, D.F.等人, (2016) “Atezolizumab, an Anti-Programmed Death-Ligand 1 Antibody, in Metastatic Renal Cell Carcinoma: Long-Term Safety, Clinical Activity, and Immune Correlates From a Phase Ia Study,” J. Clin. Oncol. 34(8):833-842；Antonia, S.等人, (2016) “Safety And Antitumour Activity Of Durvalumab Plus Tremelimumab In Non-Small Cell Lung Cancer: A Multicentre, Phase 1b Study,” Lancet Oncol. 17(3):299-308；Boyerinas, B.等人, (2015) “Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity Activity of a Novel Anti-PD-L1 Antibody Avelumab (MSB0010718C) on Human Tumor Cells,” Cancer Immunol Res. 3(10):1148-1157；Katy, K.等人, (2014) “PD-1 And PD-L1 Antibodies For Melanoma,” Hum. Vaccin. Immunother. 10(11):3111-3116；Voena, C.等人, (2016) “Advances In Cancer Immunology And Cancer Immunotherapy,” Discov. Med. 21(114):125-133)和/或商業上可得的抗體VL和/或VH結構域(例如，兔抗-人PDL-1單克隆，1:25，克隆SP142；Ventana, Tuscon, AZ)。

【0259】 可根據本發明使用的示例性抗-人B7-H1抗體包括阿特朱單抗、度伐魯單抗和阿維魯單抗。阿特朱單抗(WHO藥物資訊，2015，推薦的INN：列表74, 29(3):387)、度伐魯單抗(WHO藥物資訊，2015，推薦的INN：列表74, 29(3):393-394)和阿維魯單抗(WHO藥物資訊，2016，推薦的INN：列表74, 30(1):100-101)的完整重鏈和輕鏈的氨基酸序列是本領域已知的。

【0260】 抗-B7-DC抗體可同樣使用具有以上提供的B7-DC氨基酸序列的蛋白質作為免疫原來獲得。可選地，先前描述的抗-B7-DC抗體(例如，2C9、MIH18等)或商業上可得的抗-B7-DC抗體(例如，MIH18，Affymetrix eBioscience)

可根據本發明採用(參見,美國專利公開號2015/0299322;Ritprajak, P.等人, (2012) “Antibodies Against B7-DC With Differential Binding Properties Exert Opposite Effects,” Hybridoma (Larchmt). 31(1):40-47 ; Tsushima, F.等人, (2003) “Preferential Contribution Of B7-H1 To Programmed Death-1-Mediated Regulation Of Hapten-Specific Allergic Inflammatory Responses,” Eur. J. Immunol. 33(10):2773-2782 。

【0261】 可根據本發明使用的示例性抗-人抗-B7-DC抗體是商業上可得的抗-B7-DC抗體**MIH18** (eBioscience, Inc.) 。

B. 能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的分子

【0262】 具有介導對靶細胞(例如, 癌細胞或病原體感染的細胞)的重定向殺傷的能力的本發明分子優選地具有兩種結合親和力。第一, 這類分子具有免疫特異性地結合效應細胞的細胞表面分子的表位的能力。第二, 這類分子具有免疫特異性地結合排列在靶細胞表面上的疾病抗原(例如, 癌抗原或病原體相關抗原)的表位的能力。這兩種結合親和力的聯合存在用來將效應細胞定位至所述靶細胞的位點(即, 以“重定向”效應細胞), 以使其可介導對靶細胞的殺傷。如以上討論的, 這類分子可以是雙特異性的, 或可能夠結合多餘兩個表位。

1. 效應細胞的示例性細胞表面分子

【0263】 如本文使用的, 術語“**效應細胞**”表示直接或間接介導對靶細胞(例如, 外源細胞、感染的細胞或癌細胞)的殺傷的細胞。效應細胞的實例包括輔助T細胞、細胞毒性T細胞、天然殺傷(NK)細胞、漿細胞(分泌抗體的B細胞)、巨噬細胞和粒細胞。這類細胞的優選細胞表面分子包括CD2、CD3、CD8、CD16、TCR和NKG2D受體。因此, 能夠免疫特異性地結合這類分子或結合其它效應細

胞表面分子的表位元的分子可根據本發明的原理使用。以下提供示例性抗體，其VH和VL結構域可用於構建能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的分子。

(a) CD2結合能力

【0264】 在一個實施方式中，能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的本發明分子通過免疫特異性地結合存在於這類效應細胞的表面上的CD2的表位來結合效應細胞。特異性結合CD2的分子包括抗-CD2抗體“**CD2 mAb Lo-CD2a**”。

【0265】 **CD2 mAb Lo-CD2a** (ATCC登記號：11423)的VH結構域的氨基酸序列；**SEQ ID NO:190**)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

EVQLQQSGPE LQRPGASVKL SCKASGYIFT EYYMYWVKQR PKQGLELVGR
IDPEDGSIDY VEKFKKKATL TADTSSNTAY MQLSSLTSED TATYFCARGGK
FNYRFAYWGQ GTLVTVSS

【0266】 **CD2 mAb Lo-CD2a** (ATCC登記號：11423；**SEQ ID NO:191**)的VL結構域的氨基酸序列如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

DVVLTTQTPPT LLATIGQSVS ISCRRSSQSL HSSGNTYLNW LLQRTGQSPQ
PLIYLVSKLE SGVPNRFGSG GSGTDFTLKI SGVEAEDLGV YYCMQFTHYP
YTFGAGTKLE LK

(b) CD3 結合能力

【0267】 在一個實施方式中，能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的本發明分子通過免疫特異性地結合存在於這類效應細胞表面上的CD3的表位來結合這類效應細胞。特異性結合CD3的分子包括抗-CD3抗體“**CD3 mAb 1**”和“**OKT3**”。抗-CD3抗體**CD3 mAb 1**能夠結合非-人靈長類動物(例如，食蟹猴)。

【0268】 **CD3 mAb 1**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:192**)如

下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

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

【0269】 CD3 mAb 1的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:193)如

下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

QAVVTQEPSL TVSPGGTVTL TCRSSTGAVT TSNYANWVQQ KPGQAPRGLI
GGTNKRAPWT PARFSGSLLG GKAALTITGA QAEDEADYYC ALWYSNLWVF
GGGTKLTVLG

【0270】 這類抗體的優選變體命名為“CD3 mAb 1 (D65G)”，並且包含具有D65G取代(Kabat位置65，對應於SEQ ID NO:192的殘基68)的CD3 mAb 1 VH結構域和CD3 mAb 1的VL結構域(SEQ ID NO:193)。CD3 mAb 1 (D65G)的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:194)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示，取代的位置(D65G)以雙底線顯示)：

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

【0271】 可選地，可採用CD3 mAb 1的親和性變體。變體包括低親和性變體，命名為“CD3 mAb 1低”，和具有更快解離速率的變體，命名為“CD3 mAb 1快”。以下提供CD3 mAb 1低和CD3 mAb 1快的每一種的VH結構域的氨基酸序列。

【0272】 抗-人CD3 mAb 1低的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:195)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

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

【0273】 抗-人CD3 mAb 1快的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:196)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

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

【0274】 CD3 mAb 1的VL結構域(SEQ ID NO:193)對於CD3 mAb 1低和CD3 mAb1快是共有的，並且在上面提供。

【0275】 另一可使用的抗-CD3抗體是抗體莫羅單抗-CD3 “OKT3”(Xu等人, (2000) “*In Vitro Characterization Of Five Humanized OKT3 Effector Function Variant Antibodies*,” Cell. Immunol. 200:16-26)；Norman, D.J. (1995) “Mechanisms Of Action And Overview Of OKT3,” Ther. Drug Monit. 17(6):615-620；Canafax, D.M.等人, (1987) “Monoclonal Antilymphocyte Antibody (OKT3) Treatment Of Acute Renal Allograft Rejection,” Pharmacotherapy 7(4):121-124；Swinnen, L.J.等人, (1993) “OKT3 Monoclonal Antibodies Induce Interleukin-6 And Interleukin-10 : A Possible Cause Of Lymphoproliferative Disorders Associated With Transplantation,” Curr. Opin. Nephrol. Hypertens. 2(4):670-678)。

【0276】 OKT3的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:197)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

QVQLQQSGAE LARPGASVKM SCKASGYTFT RYTMHWVKQR PGQGLEWIGY
INPSRGY TNY NQKFKDKATL TTDKSSSTAY MQLSSLTSED SAVYYCARYY

DDHYCLDYWG QGTTLTVSS

【0277】 OKT3的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:198)如下顯示
(CDR_L殘基以底線顯示)：

QIVLTQSPAI MSASPGKVT MTCSASSSVS YMNWYQQKSG TSPKRWIYDT
SKLASGVPAH FRGSGSGTSY SLTISGMEAE DAATYYCQQW SSNPFTFGSG
TKLEINR

【0278】 另外的可使用的抗-CD3抗體包括但不限於PCT專利公開號
WO 2008/119566；和WO 2005/118635中描述的那些。

(c) CD8 結合能力

【0279】 在一個實施方式中，能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的本發
明分子通過免疫特異性地結合存在於效應細胞表面上的CD8的表位來結合這類
效應細胞。特異性結合CD8的抗體包括抗-CD8抗體“OKT8”和X2”。

(i) OKT8

【0280】 OKT8的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:199)如下顯示
(CDR_H殘基以底線顯示)：

QVQLLESQPE LLKPGASVKM SCKASGYTFT DYNMHWVKQS HGKSLEWIGY
IYPYTGGTGY NQKFKNKATL TVDSSSSTAY MELRSLTSED SAVYYCARNF
RYTYWYFDVW GQGTTVTVSS

【0281】 OKT8的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:200)如下顯示
(CDR_L殘基以底線顯示)：

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

(ii) TRX2

【0282】 TRX2的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:201)如下顯示

(CDR_H殘基以底線顯示)：

QVQLVESGGG VVQPGRLRL SCAASGFTFS DFGMNWVRQA PGKGLEWVAL
IYYDGSNKFY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKPH
YDGYHFFDS WGQGTILVTVS S

【0283】 TRX2的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:202)如下顯示

(CDR_L殘基以底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT TCKGSQDIN NYLAWYQQKP GKAPKLLIYN
TDILHTGVPS RFSGSGSGTD FTFTISSLQP EDIATYYCYQ YNNGYTFGQG
 TKVEIK

(d) CD16 結合能力

【0284】 在一個實施方式中，能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的本發明分子將過免疫特異性地結合存在於效應細胞表面上的CD16的表位來結合這類效應細胞。特異性結合CD16的分子包括抗-CD16抗體“3G8”和“A9”。人源化A9抗體在PCT專利公開號WO 03/101485中被描述。

(i) 3G8

【0285】 3G8的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:203)如下顯示

(CDR_H殘基以底線顯示)：

QVTLEKESGPG ILQPSQTLISL TCSFSGFSLR TSGMGVGWIR QPSGKGLEWL
AHIWWDDDKR YNPALKSRILT ISKDTSSNQV FLKIASVDTA DTATYYCAQI
NPAWFAYWGQ GTLVTVSA

【0286】 3G8的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:204)如下顯示

(CDR_L殘基以底線顯示)：

DTVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCKKASQSVD FDGDSEFMNWY QQKPGQPPKL
LIYTTSNLES GIPARFSASG SGTDFTLNIH PVEEEDTATY YCQQSNEDPY
TFGGGTKLEI K

(ii) A9

【0287】 A9的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:205)如下顯示

(CDR_H殘基以底線顯示)：

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

【0288】 A9的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:206)如下顯示

(CDR_L殘基以底線顯示)：

DIQAVVTQES ALTTSPGETV TLTCRSNTGT VTTSNYANWV QEKPDHLFTG
LIGHTNNRAP GVPARFSGSL IGDKAALTIT GAQTEDEAIY FCALWYNNHW
VFGGGTKLTVL

【0289】 另外的可使用的抗-CD19抗體包括但不限於PCT專利公開號
WO 03/101485；和WO 2006/125668中描述的那些。

(e) TCR結合能力

【0290】 在一個實施方式中，能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的本發明分子通過免疫特異性地結合存在於效應細胞表面上的TCR的表位來結合這類效應細胞。

【0291】 特異性結合T細胞受體的分子包括抗-TCR抗體“BMA 031”
(EP 0403156；Kurrle, R.等人, (1989) “BMA 031 – A TCR-Specific Monoclonal

Antibody For Clinical Application,” Transplant Proc. 21(1 Pt 1):1017-1019 ; Nashan, B.等人, (1987) “Fine Specificity Of A Panel Of Antibodies Against The TCR/CD3 Complex,” Transplant Proc. 19(5):4270-4272 ; Shearman, C.W. 等人, (1991) “Construction, Expression, And Biologic Activity Of Murine/Human Chimeric Antibodies With Specificity For The Human α/β T Cell,” J. Immunol. 146(3):928-935 ; Shearman, C.W. 等人, (1991) “Construction, Expression And Characterization of Humanized Antibodies Directed Against The Human α/β T Cell Receptor,” J. Immunol. 147(12):4366-4373)。

【0292】 BMA 031的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:207)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

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

【0293】 BMA 031的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:208)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCSATSSVS YMHWYQQKPG KAPKRWIYDT
SKLASGVPSR FSGSGSGTEF TLTISSLQPE DFATYYCQQW SSNPLTFGQG
 TKLEIK

(f) NKG2D結合能力

【0294】 在一個實施方式中，能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的本發明分子通過免疫特異性地結合存在於效應細胞表面上的NKG2D受體的表位來結合這類效應細胞。特異性結合NKG2D受體的分子包括抗-NKG2D抗體“**KYK-1.0**”和“**KYK-2.0**” (Kwong, KY 等人, (2008) “Generation, Affinity Maturation, And

Characterization Of A Human Anti-Human NKG2D Monoclonal Antibody With Dual Antagonistic And Agonistic Activity,” J. Mol. Biol. 384:1143-1156 ； 和 PCT/US09/54911)。

(iii) **KYK-1.0**

【0295】 **KYK-1.0**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:209**)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

EVQLVESGGG VVQPGGSLRL SCAASGFTFS **SYGMH**WVRQA PGKGLEWVA**F**
IRYDGSNKYY **ADSVKG**RFTI SRDNSKNTKY LQMNSLRAED TAVYYCAK**DR**
FGYYLDYWGQ GTLVTVSS

【0296】 **KYK-1.0**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:210**)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

QPVLTPSSV SVAPGETARI PC**GGDDIETK** **SVH**WYQQKPG QAPVLVIY**DD**
DDRPSGIPER FFGSNSGNTA TLSISRVEAG DEADYYC**QVW** **DDNNDEWV**FG
GGTQLTVL

(iv) **KYK-2.0**

【0297】 **KYK-2.0**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:211**)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

QVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS **SYGMH**WVRQA PGKGLEWVA**F**
IRYDGSNKYY **ADSVKG**RFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAK**DR**
GLGDGTYFDY WGQGTTVTVS S

【0298】 **KYK-2.0**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:212**)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

QSALTQPASV SGSPGQSITI SC**SGSSSNIG** **NNAVN**WYQQI PGKAPKLLIY

YDDLLPSGVS DRFSGSKSGT SAFLAISGLQ SEDEADYYCA AWDDSLNGPV
FGGGTKLTVL

C · 排列在癌細胞表面上的示例性癌抗原

【0299】 如本文使用的，術語“**癌抗原**”表示在癌細胞表面上特徵性表達並且因而可以用基於抗體的分子或免疫調節分子處理的抗原。癌抗原的實例包括但不限於：如在結腸癌、胃癌黏蛋白中發現的**19.9**；**4.2**；**A33** (結直腸癌抗原；Almqvist, Y. (2006) “In vitro and in vivo Characterization of 177Lu-huA33: A Radioimmunoconjugate Against Colorectal Cancer,” Nucl. Med. Biol. 33(8):991-998)；**ADAM-9** (美國專利公開號2006/0172350；PCT專利公開號WO 06/084075)；胃癌中發現的**AH6**；**ALCAM** (PCT專利公開號WO 03/093443)；**APO-1** (惡性人淋巴細胞抗原) (Trauth, B.C. 等人, (1989) “Monoclonal Antibodies-Mediated Tumor Regression By Induction Of Apoptosis,” Science 245:301-304)；**B1** (Egloff, A.M.等人, (2006) “Cyclin B1 And Other Cyclins As Tumor Antigens In Immunosurveillance And Immunotherapy Of Cancer,” Cancer Res. 66(1):6-9)；**B7-H3** (Collins, M.等人, (2005) “The B7 Family Of Immune-Regulatory Ligands,” Genome Biol. 6:223.1-223.7)。Chapoval, A.等人, (2001) “B7-H3: A Costimulatory Moleculer For T Cell Activation and IFN- γ Production,” Nature Immunol. 2:269–274；Sun, M.等人, (2002) “Characterization of Mouse and Human B7-H3 Genes,” J. Immunol. 168:6294-6297)；**BAGE** (Bodey, B. (2002) “Cancer-Testis Antigens: Promising Targets For Antigen Directed Antineoplastic Immunotherapy,” Expert Opin. Biol. Ther. 2(6):577-584)； **β -聯蛋白**(Prange W.等人, (2003) “Beta-Catenin Accumulation In The Progression Of Human Hepatocarcinogenesis Correlates With Loss Of E-Cadherin And Accumulation Of

P53, But Not With Expression Of Conventional WNT-1 Target Genes,” J. Pathol. 201(2):250-259)；結腸腺癌中發現的**血型ALe^b/Le^y**；**伯基特淋巴瘤抗原-38.13**；結腸腺癌中發現的**C14**；**CA125 (卵巢癌抗原)** (Bast, R.C. Jr.等人, (2005) “New Tumor Markers: CA125 And Beyond,” Int. J. Gynecol. Cancer 15(Suppl 3):274-281；Yu等人, (1991) “Coexpression Of Different Antigenic Markers On Moieties That Bear CA 125 Determinants,” Cancer Res. 51(2):468-475)；**羧肽酶M** (美國專利公開號 2006/0166291)；**CD5** (Calin, G.A.等人, (2006) “Genomics Of Chronic Lymphocytic Leukemia MicroRNAs As New Players With Clinical Significance,” Semin. Oncol. 33(2):167-173；**CD19** (Ghetie等人, (1994) “Anti-CD19 Inhibits The Growth Of Human B-Cell Tumor Lines In Vitro And Of Daudi Cells In SCID Mice By Inducing Cell Cycle Arrest,” Blood 83:1329-1336；Troussard, X.等人, 1998 Hematol Cell Ther. 40(4):139-48)；**CD20** (Reff等人, (1994) “Depletion Of B Cells In Vivo By A Chimeric Mouse Human Monoclonal Antibody To CD20,” Blood 83:435-445；Thomas, D.A.等人, 2006 Hematol Oncol Clin North Am. 20(5):1125-36)；**CD22** (Kreitman, R.J. (2006) “Immunotoxins For Targeted Cancer Therapy,” AAPS J. 8(3):E532-51)；**CD23** (Rosati, S.等人, (2005) “Chronic Lymphocytic Leukaemia: A Review Of The Immuno-Architecture,” Curr. Top. Microbiol. Immunol. 294:91-107)；**CD25** (Troussard, X.等人, (1998) “Hairy Cell Leukemia. What Is New Forty Years After The First Description?” Hematol. Cell. Ther. 40(4):139-148)；**CD27** (Bataille, R. (2006) “The Phenotype Of Normal, Reactive And Malignant Plasma Cells. Identification Of “Many And Multiple Myelomas” And Of New Targets For Myeloma Therapy,” Haematologica 91(9):1234-1240)；**CD28** (Bataille, R. (2006) “The Phenotype Of

Normal, Reactive And Malignant Plasma Cells. Identification Of "Many And Multiple Myelomas" And Of New Targets For Myeloma Therapy," Haematologica 91(9):1234-1240) ; **CD33** (Sgouros 等人, (1993) "*Modeling And Dosimetry Of Monoclonal Antibody M195 (Anti-CD33) In Acute Myelogenous Leukemia*," J. Nucl. Med. 34:422-430) ; **CD36** (Ge , Y. (2005) "CD36 : A Multiligand Molecule," Lab Hematol. 11(1):31-7) ; **CD40/CD154** (Messmer, D.等人, (2005) "CD154 Gene Therapy For Human B-Cell Malignancies," Ann. N. Y. Acad. Sci. 1062:51-60) ; **CD45** (Jurcic, J.G. (2005) "Immunotherapy For Acute Myeloid Leukemia," Curr. Oncol. Rep. 7(5):339-346) ; **CD56** (Bataille , R. (2006) "The Phenotype Of Normal, Reactive And Malignant Plasma Cells. Identification Of "Many And Multiple Myelomas" And Of New Targets For Myeloma Therapy," Haematologica 91(9):1234-1240) ; **CD46** (美國專利號7,148,038 ; PCT公開號WO 03/032814) ; **CD52** (Eketorp, S.S.等人, (2014) "Alemtuzumab (Anti-CD52 Monoclonal Antibody) As Single-Agent Therapy In Patients With Relapsed/Refractory Chronic Lymphocytic Leukaemia (CLL)-A Single Region Experience On Consecutive Patients," Ann Hematol. 93(10):1725-1733 ; Suresh, T.等人, (2014) "New Antibody Approaches To Lymphoma Therapy," J. Hematol. Oncol. 7:58 ; Hoelzer, D. (2013) "Targeted Therapy With Monoclonal Antibodies In Acute Lymphoblastic Leukemia," Curr. Opin. Oncol. 25(6):701-706) ; **CD56** (Bataille, R. (2006) "The Phenotype Of Normal, Reactive And Malignant Plasma Cells. Identification Of "Many And Multiple Myelomas" And Of New Targets For Myeloma Therapy," Haematologica 91(9):1234-1240) ; **CD79a/CD79b** (Troussard, X.等人, (1998) "Hairy Cell Leukemia. What Is New Forty Years After The

First Description?” Hematol. Cell. Ther. 40(4):139-148 ; Chu, P.G.等人, (2001) “CD79: A Review,” Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol. 9(2):97-106) ; **CD103** (Troussard, X.等人, (1998) “Hairy Cell Leukemia. What Is New Forty Years After The First Description?” Hematol. Cell. Ther. 40(4):139-148) ; **CD317** (Kawai, S.等人, (2008) “Interferon- α Enhances CD317 Expression And The Antitumor Activity Of Anti-CD317 Monoclonal Antibody In Renal Cell Carcinoma Xenograft Models,” Cancer Science 99(12):2461-2466 ; Wang, W.等人, (2009) HM1.24 (CD317) Is A Novel Target Against Lung Cancer For Immunotherapy Using Anti-HM1.24 Antibody,” Cancer Immunology, Immunotherapy 58(6):967-976 ; Wang, W.等人, (2009) “Chimeric And Humanized Anti-HM1.24 Antibodies Mediate Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity Against Lung Cancer Cells. Lung Cancer,” 63(1):23-31 ; Sayeed, A.等人, (2013) “Aberrant Regulation Of The BST2 (Tetherin) Promoter Enhances Cell Proliferation And Apoptosis Evasion In High Grade Breast Cancer Cells,” PLoS ONE 8(6)e67191, 1-10頁) ; **CDK4** (Lee, Y.M.等人, (2006) “Targeting Cyclins And Cyclin-Dependent Kinases In Cancer: Lessons From Mice, Hopes For Therapeutic Applications In Human,” Cell Cycle 5(18):2110-2114) ; **CEA** (癌胚抗原 ; Foon等人, (1995) “Immune Response To The Carcinoembryonic Antigen In Patients Treated With An Anti-Idiotypic Antibody Vaccine,” J. Clin. Invest. 96(1):334-42) ; Mathelin, C. (2006) “Circulating Proteinic Biomarkers And Breast Cancer,” Gynecol. Obstet. Fertil. 34(7-8):638-646 ; Tellez-Avila, F.I.等人, (2005) “The Carcinoembryonic Antigen: Apropos Of An Old Friend,” Rev. Invest. Clin. 57(6):814-819) ; **CEACAM5/CEACAM6** (Zheng, C. 等人, (2011) “A Novel

Anti-CEACAM5 Monoclonal Antibody, CC4, Suppresses Colorectal Tumor Growth and Enhances NK Cells-Mediated Tumor Immunity,” PLoS One 6(6):e21146, 1-11 頁)；**CO17-1A** (Ragnhammar等人, (1993) “*Effect Of Monoclonal Antibody 17-1A And GM-CSF In Patients With Advanced Colorectal Carcinoma - Long-Lasting, Complete Remissions Can Be Induced,*” Int. J. Cancer 53:751-758)；**CO-43** (血型 Le^b)；如腺癌中發現的**CO-514** (血型Le^a)；**CTA-1**；**CTLA-4** (Peggs, K.S.等人, (2006) “Principles And Use Of Anti-CTLA4 Antibody In Human Cancer Immunotherapy,” Curr. Opin. Immunol. 18(2):206-13)；**細胞角蛋白8** (PCT公開號 WO 03/024191)；**D1.1**；**D₁56-22**；**DR5** (Abdulghani, J.等人, (2010) “TRAIL Receptor Signaling And Therapeutics,” Expert Opin. Ther. Targets 14(10):1091-1108；Andera, L. (2009) “Signaling Activated By The Death Receptors Of The TNFR Family,” Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech. Repub. 153(3):173-180；Carlo-Stella, C.等人, (2007) “Targeting TRAIL Agonistic Receptors for Cancer Therapy,” Clin , Cancer 13(8):2313-2317；Chaudhari, B.R.等人, (2006) “Following the TRAIL to Apoptosis,” Immunologic Res. 35(3):249-262)；如胰腺癌中發現的**E₁** 系列(血型B)；**EGFR** (表皮生長因數受體；Adenis, A.等人, (2003) “Inhibitors Of Epidermal Growth Factor Receptor And Colorectal Cancer,” Bull. Cancer. 90 Spec No:S228-S232)；**蝶素(Ephrin受體)**(具體為**EphA2** (美國專利號7,569,672；PCT 專利公開號WO 06/084226)；**Erb** (ErbB1；ErbB3；ErbB4；Zhou, H.等人, (2002) “Lung Tumorigenesis Associated With Erb-B-2 And Erb-B-3 Overexpression In Human Erb-B-3 Transgenic Mice Is Enhanced By Methylnitrosourea,” Oncogene 21(57):8732-8740；Rimon, E.等人, (2004) “Gonadotropin-Induced Gene Regulation

In Human Granulosa Cells Obtained From IVF Patients: Modulation Of Genes Coding For Growth Factors And Their Receptors And Genes Involved In Cancer And Other Diseases,” *Int. J. Oncol.* 24(5):1325-1338) ; **GAGE** (GAGE-1 ; GAGE-2 ; Akcakanat, A. 等人, (2006) “Heterogeneous Expression Of GAGE, NY-ESO-1, MAGE-A and SSX Proteins In Esophageal Cancer: Implications For Immunotherapy,” *Int. J. Cancer.* 118(1):123-128) ; **GD2/GD3/GM2** (Livingston, P.O.等人, (2005) “Selection Of GM2, Fucosyl GM1, Globo H And Polysialic Acid As Targets On Small Cell Lung Cancers For Antibody Mediated Immunotherapy,” *Cancer Immunol. Immunother.* 54(10):1018-1025) ; 神經節苷脂 **GD2** (G_{D2} ; Saleh 等人, (1993) “*Generation Of A Human Anti-Idiotypic Antibody That Mimics The GD2 Antigen*,” *J. Immunol.*, 151, 3390-3398) ; 神經節苷脂 **GD3** (G_{D3} ; Shitara 等人, (1993) “*A Mouse/Human Chimeric Anti-(Ganglioside GD3) Antibody With Enhanced Antitumor Activities*,” *Cancer Immunol. Immunother.* 36:373-380) ; 神經節苷脂 **GM2** (G_{M2} ; Livingston等人, (1994) “*Improved Survival In Stage III Melanoma Patients With GM2 Antibodies: A Randomized Trial Of Adjuvant Vaccination With GM2 Ganglioside*,” *J. Clin. Oncol.* 12:1036-1044) ; 神經節苷脂 **GM3** (G_{M3} ; Hoon等人, (1993) “*Molecular Cloning Of A Human Monoclonal Antibody Reactive To Ganglioside GM3 Antigen On Human Cancers*,” *Cancer Res.* 53:5244-5250) ; **GICA 19-9** (Herlyn 等人, (1982) “*Monoclonal Antibody Detection Of A Circulating Tumor-Associated Antigen. I. Presence Of Antigen In Sera Of Patients With Colorectal, Gastric, And Pancreatic Carcinoma*,” *J. Clin. Immunol.* 2:135-140) ; **gp100** (Lotem, M.等人, (2006) “Presentation Of Tumor Antigens By Dendritic Cells

Genetically Modified With Viral And Nonviral Vectors,” J. Immunother. 29(6):616-27) ; **Gp37** (人白細胞T細胞抗原 ; Bhattacharya-Chatterjee等人, (1988)

“*Idiotypic Vaccines Against Human T Cell Leukemia. II. Generation And Characterization Of A Monoclonal Idiotypic Cascade (Ab1, Ab2, and Ab3),*” J. Immunol. 141:1398-1403) ; **gp75** (黑色素瘤抗原 ; Vijayasardahl等人, (1990) “*The*

Melanoma Antigen Gp75 Is The Human Homologue Of The Mouse B (Brown) Locus Gene Product,” J. Exp. Med. 171(4):1375-1380) ; **gpA33** (Heath, J.K.等人, (1997)

“The Human A33 Antigen Is A Transmembrane Glycoprotein And A Novel Member Of The Immunoglobulin Superfamily,” Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 94(2):469-474 ;

Ritter, G.等人, (1997) “Characterization Of Posttranslational Modifications Of

Human A33 Antigen, A Novel Palmitoylated Surface Glycoprotein Of Human Gastrointestinal Epithelium,” Biochem. Biophys. Res. Commun. 236(3):682-686 ;

Wong, N.A.等人, (2006) “EpCAM and gpA33 Are Markers Of Barrett's Metaplasia,”

J. Clin. Pathol. 59(3):260-263) ; **HER2**抗原(HER2/neu, p185^{HER2} ; Pal, S.K.等人,

(2006) “Targeting HER2 Epitopes,” Semin. Oncol. 33(4):386-391) ; **HMFG** (人乳脂

肪球抗原 ; WO1995015171) ; **人乳頭瘤病毒-E6/人乳頭瘤病毒-E7** (DiMaio, D.等

人, (2006) “Human Papillomaviruses And Cervical Cancer,” Adv. Virus Res.

66:125-59 ; **HMW-MAA** (高分子量黑色素瘤抗原 ; Natali 等人, (1987)

“*Immunohistochemical Detection Of Antigen In Human Primary And Metastatic Melanomas By The Monoclonal Antibody 140.240 And Its Possible Prognostic Significance,*” Cancer 59:55-63 ; Mittelman 等人, (1990) “*Active Specific*

Immunotherapy In Patients With Melanoma. A Clinical Trial With Mouse Antiidiotypic

Monoclonal Antibodies Elicited With Syngeneic
 Anti-High-Molecular-Weight-Melanoma-Associated Antigen Monoclonal
Antibodies,” J. Clin. Invest. 86:2136-2144) ; **I 抗原**(分化抗原 ; Feizi (1985)
“Demonstration By Monoclonal Antibodies That Carbohydrate Structures Of
Glycoproteins And Glycolipids Are Onco-Developmental Antigens,” Nature
 314:53-57) ; **IL13R α 2** (PCT專利公開號WO 2008/146911 ; Brown, C.E.等人, (2013)
“Glioma IL13R α 2 Is Associated With Mesenchymal Signature Gene Expression And
Poor Patient Prognosis,” PLoS One. 18;8(10):e77769 ; Barderas, R.等人, (2012)
“High Expression Of IL-13 Receptor A2 In Colorectal Cancer Is Associated With
Invasion, Liver Metastasis, And Poor Prognosis,” Cancer Res. 72(11):2780-2790 ;
 Kasaian, M.T.等人, (2011) “IL-13 Antibodies Influence IL-13 Clearance In Humans
 By Modulating Scavenger Activity Of IL-13R α 2,” J. Immunol. 187(1):561-569 ;
 Bozinov, O.等人, (2010) “Decreasing Expression Of The Interleukin-13 Receptor
 IL-13R α 2 In Treated Recurrent Malignant Gliomas,” Neurol. Med. Chir. (Tokyo)
 50(8):617-621 ; Fujisawa, T.等人, (2009) “A novel role of interleukin-13 receptor
 alpha2 in pancreatic cancer invasion and metastasis,” Cancer Res.
 69(22):8678-8685) ; **整聯蛋白 β 6** (PCT專利公開號WO 03/087340) ; **JAM-3** (PCT
 專利公開號WO 06/084078) ; **KID3** (PCT專利公開號WO 05/028498) ; **KID31** (PCT
 專利公開號WO 06/076584) ; **KS 1/4全抗原**(Perez等人, (1989) “*Isolation And*
Characterization Of A cDNA Encoding The Ks1/4 Epithelial Carcinoma Marker,” J.
 Immunol. 142:3662-3667 ; Möller 等 人 , (1991)
“Bi-specific-Monoclonal-Antibody-Directed Lysis Of Ovarian Carcinoma Cells By
Activated Human T Lymphocytes,” Cancer Immunol. Immunother. 33(4):210-216 ;

Ragupathi, G. 2005 *Cancer Treat Res.* 123:157-80) ; **L6**和**L20** (人肺癌抗原 ; Hellström等人, (1986) “*Monoclonal Mouse Antibodies Raised Against Human Lung Carcinoma*,” *Cancer Res.* 46:3917-3923) ; **LEA** ; **LUCA-2** (美國專利公開號 2006/0172349 ; PCT專利公開號WO 06/083852) ; **M1:22:25:8** ; **M18** ; **M39** ; **MAGE** (MAGE-1 ; MAGE-3 ; (Bodey, B. (2002) “Cancer-Testis Antigens: Promising Targets For Antigen Directed Antineoplastic Immunotherapy,” *Expert Opin. Biol. Ther.* 2(6):577-584) ; **MART** (Kounalakis, N.等人, (2005) “Tumor Cell And Circulating Markers In Melanoma: Diagnosis, Prognosis, And Management,” *Curr. Oncol. Rep.* 7(5):377-382 ; 間皮素(Chang, K.等人, (1996) “Molecular Cloning Of Mesothelin, A Differentiation Antigen Present On Mesothelium, Mesotheliomas, And Ovarian Cancers,” *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)* 93:136-140) ; **MUC-1** (Mathelin, C. (2006) “Circulating Proteinic Biomarkers And Breast Cancer,” *Gynecol. Obstet. Fertil.* 34(7-8):638-646) ; **MUM-1** (Castelli, C. 等人, (2000) “T-Cell Recognition Of Melanoma-Associated Antigens,” *J. Cell. Physiol.* 182(3):323-331) ; **Myl** ; **N-乙醯葡萄糖氨基轉移酶** (Dennis, J.W. (1999) “Glycoprotein Glycosylation And Cancer Progression,” *Biochim. Biophys. Acta.* 6;1473(1):21-34) ; **凝糖蛋白** ; 如腺癌中發現的**NS-10** ; **OFA-1** ; **OFA-2** ; **制癌蛋白M** (制癌蛋白受體 β ; 美國專利號7,572,896 ; PCT 公開號 WO 06/084092) ; **p15** (Gil, J. 等人, (2006) “Regulation Of The INK4b-ARF-INK4a Tumour Suppressor Locus: All For One Or One For All,” *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 7(9):667-677) ; **p97** (黑素瘤相關的抗原 ; Estin等人, (1989) “*Transfected Mouse Melanoma Lines That Express Various Levels Of Human Melanoma-Associated Antigen p97*,” *J. Natl. Cancer Instit.* 81(6):445-454) ; **PEM** (多

態上皮黏蛋白；Hilkens等人, (1992) “*Cell Membrane-Associated Mucins And Their Adhesion-Modulating Property*,” Trends in Biochem. Sci. 17:359-363)；**PEMA** (多態上皮黏蛋白抗原)；**PIPA** (美國專利號7,405,061；PCT專利公開號WO 04/043239)；**PSA** (前列腺特異性抗原；Henttu等人, (1989) “*cDNA Coding For The Entire Human Prostate Specific Antigen Shows High Homologies To The Human Tissue Kallikrein Genes*,” Biochem. Biophys. Res. Comm. 10(2):903-910；Israeli等人, (1993) “*Molecular Cloning Of A Complementary DNA Encoding A Prostate-Specific Membrane Antigen*,” Cancer Res. 53:227-230；Cracco, C.M.等人, (2005) “*Immune Response In Prostate Cancer*,” Minerva Urol. Nefrol. 57(4):301-311)；**PSMA** (前列腺特異性膜抗原；Ragupathi, G. (2005) “*Antibody Inducing Polyvalent Cancer Vaccines*,” Cancer Treat. Res. 123:157-180)；**前列腺酸磷酸鹽** (Tailor 等人, (1990) “*Nucleotide Sequence Of Human Prostatic Acid Phosphatase Determined From A Full-Length cDNA Clone*,” Nucl. Acids Res. 18(16):4928)；如黑素瘤中發現的**R₂₄**；**ROR1** (美國專利號5,843,749)；**鞘脂類**；**SSEA-1**；**SSEA-3**；**SSEA-4**；**sTn** (Holmberg, L.A. (2001) “*Theratope Vaccine (STn-KLH)*,” Expert Opin. Biol. Ther. 1(5):881-91)；皮膚T細胞淋巴瘤的**T細胞受體**衍生的肽(參見 Edelson (1998) “*Cutaneous T-Cell Lymphoma: A Model For Selective Immunotherapy*,” Cancer J. Sci. Am. 4:62-71)；骨髓細胞中發現的**T₅A₇**；**TAG-72** (Yokota 等人, (1992) “*Rapid Tumor Penetration Of A Single-Chain Fv And Comparison With Other Immunoglobulin Forms*,” Cancer Res. 52:3402-3408)；**TL5** (血型A)；**TNF-受體**(TNF- α 受體、TNF- β 受體；**TNF- γ 受體**(van Horssen, R.等人, (2006) “*TNF-Alpha In Cancer Treatment : Molecular Insights, Antitumor Effects, And*

Clinical Utility,” *Oncologist* 11(4):397-408 ; Gardnerova, M.等人, (2000) “The Use Of TNF Family Ligands And Receptors And Agents Which Modify Their Interaction As Therapeutic Agents,” *Curr. Drug Targets* 1(4):327-364) ; **TRA-1-85** (血型H) ; **轉鐵蛋白受體**(美國專利號7,572,895 ; PCT專利公開號WO 05/121179) ; **5T4** (TPBG , 滋養層糖蛋白 ; Boghaert, E.R.等人, (2008) “The Oncofetal Protein, 5T4, Is A Suitable Target For Antibody-Guided Anti-Cancer Chemotherapy With Calicheamicin,” *Int. J. Oncol.* 32(1):221-234 ; Eisen, T.等人, (2014) “Naptumomab Estafenatox: Targeted Immunotherapy with a Novel Immunotoxin,” *Curr. Oncol. Rep.* 16:370, 1-6頁) ; **TSTA (腫瘤特異性移植抗原)**如病毒誘導的腫瘤抗原，包括T-抗原DNA腫瘤病毒和RNA腫瘤病毒的包膜抗原、胎性癌抗原-甲胎蛋白如結腸的CEA、膀胱腫瘤癌胚抗原(Hellström等人, (1985) “*Monoclonal Antibodies To Cell Surface Antigens Shared By Chemically Induced Mouse Bladder Carcinomas*,” *Cancer. Res.* 45:2210-2188) ; **VEGF** (Pietrantonio, F. 等人 , (2015) “Bevacizumab-Based Neoadjuvant Chemotherapy For Colorectal Cancer Liver Metastases: Pitfalls And Helpful Tricks In A Review For Clinicians,” *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 95(3):272-281 ; Grabowski, J.P. (2015) “Current Management Of Ovarian Cancer,” *Minerva Med.* 106(3):151-156 ; Field, K.M. (2015) “Bevacizumab And Glioblastoma: Scientific Review, Newly Reported Updates, And Ongoing Controversies,” *Cancer* 121(7):997-1007 ; Suh, D.H.等人, (2015) “Major Clinical Research Advances In Gynecologic Cancer In 2014,” *J. Gynecol. Oncol.* 26(2):156-167 ; Liu, K.J.等人, (2015) “Bevacizumab In Combination With Anticancer Drugs For Previously Treated Advanced Non-Small Cell Lung Cancer,” *Tumour Biol.*

36(3):1323-1327 ; Di Bartolomeo, M.等人, (2015) “Bevacizumab Treatment In The Elderly Patient With Metastatic Colorectal Cancer,” Clin. Interv. Aging 10:127-133) ; **VEGF** 受體 (O’Dwyer. P.J. (2006) “The Present And Future Of Angiogenesis-Directed Treatments Of Colorectal Cancer,” Oncologist 11(9):992-998) ; **VEP8** ; **VEP9** ; **VIM-D5** ; 和**Y半抗原**，如胚胎癌性細胞中發現的**Le^y**。另外的癌抗原和結合它們的分子(例如，抗體)公開於**表10**中。5T4、B7-H3、CEACAM5/CEACAM6、CD123、DR5、EGFR、肝配蛋白受體、gpA33、HER2/neu、IL13Rα2、ROR1和VEGF是本發明特別優選的“**癌抗原**”。

表 10		
抗體和基於抗體的分子		
抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
3F8	Gd2	成神經細胞瘤
8H9	B7-H3	成神經細胞瘤、肉瘤、轉移性腦癌
阿巴伏單抗(Abagovomab)	CA-125	卵巢癌
阿德木單抗 (Adecatumumab)	Epcam	前列腺和乳腺癌
阿托珠單抗(Afutuzumab)	CD20	淋巴瘤
阿賽珠單抗(Alacizumab)	VEGFR2	癌症
阿妥莫單抗(Altumomab)	CEA	結直腸癌
阿麥妥昔(Amatuximab)	間皮素	癌症
麻安莫單抗(Anatumomab Mafenatox)	TAG-72	非小細胞肺癌
阿尼魯單抗(Anifrolumab)	干擾素 A/B 受體	系統性紅斑狼瘡

表 10		
抗體和基於抗體的分子		
抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
安蘆珠單抗(Anrukinzumab)	IL-13	癌症
阿泊珠單抗(Apolizumab)	HLA-DR	血液癌症
阿西莫單抗(Arcitumomab)	CEA	胃腸癌症
阿提努單抗(Atinumab)	RTN4	癌症
貝妥莫單抗(Bectumomab)	CD22	非霍奇金淋巴瘤(檢測)
貝利木單抗(Belimumab)	BAFF	非霍奇金淋巴瘤
貝伐珠單抗(Bevacizumab)	VEGF-A	轉移性癌症，早產兒視網膜病
比伐珠單抗(Bivatuzumab)	CD44 V6	鱗狀細胞癌
博納吐單抗(Blinatumomab)	CD19	癌症
布侖妥昔單抗(Brentuximab)	CD30 (TNFRSF8)	血液癌症
坎妥珠單抗(Cantuzumab)	MUC1	癌症
莫坎妥珠單抗(Cantuzumab Mertansine)	黏蛋白 Canag	結直腸癌
卡普賽珠單抗 (Caplacizumab)	VWF	癌症
卡羅單抗(Capromab)	前列腺癌細胞	前列腺癌症(檢測)
卡蘆單抗(Carlumab)	MCP-1	腫瘤學/免疫指征
卡妥索單抗(Catumaxomab)	Epcam、CD3	卵巢癌、惡性腹水、胃癌
Cc49	標籤-72	腫瘤檢測
西妥昔單抗(Cetuximab)	EGFR	轉移性結直腸癌和頭頸癌

表 10		
抗體和基於抗體的分子		
抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
Ch.14.18	未確定的(undetermined)	成神經細胞瘤
西他珠單抗 (Citatuzumab)	Epcam	卵巢癌和其它實體腫瘤
西妥木單抗(Cixutumumab)	IGF-1 受體	實體腫瘤
克立瓦妥珠單抗 (Clivatuzumab)	MUC1	胰腺癌
可那木單抗(Conatumumab)	TRAIL-R2	癌症
達西珠單抗(Dacetuzumab)	CD40	血液癌症
達洛珠單抗(Dalotuzumab)	胰島素樣生長因數 I 受體	癌症
達雷木單抗(Daratumumab)	CD38	癌症
登西珠單抗(Demcizumab)	DLL4	癌症
地莫單抗(Detumomab)	B-淋巴瘤細胞	淋巴瘤
卓齊妥單抗(Drozitumab)	DR5	癌症
度利戈妥單抗 (Duligotumab)	HER3	癌症
Dusigitumab	ILGF2	癌症
依美昔單抗(Ecromeximab)	GD3 神經節苷脂	惡性黑素瘤
依庫珠單抗(Eculizumab)	C5	陣發性夜間血紅蛋白尿
依決洛單抗(Edrecolomab)	Epcam	結腸癌
依洛珠單抗(Elotuzumab)	SLAMF7	多發性骨髓瘤
艾思莫單抗(Elsilimomab)	IL-6	癌症

表 10		
抗體和基於抗體的分子		
抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
依納妥珠單抗 (Enavatuzumab)	TWEAK 受體	癌症
恩莫單抗(Enlimomab)	ICAM-1 (CD54)	癌症
依諾吉珠單抗(Enokizumab)	IL9	哮喘
依諾蘇單抗(Enoticumab)	DLL4	癌症
恩司昔單抗(Ensituximab)	5AC	癌症
西依匹莫單抗(Epitumomab Cituxetan)	Episialin	癌症
依帕珠單抗(Epratuzumab)	CD22	癌症、SLE
厄馬索單抗(Ertumaxomab)	HER2/Neu，CD3	乳腺癌
艾達珠單抗(Etaracizumab)	整聯蛋白 $A_v\beta_3$	黑素瘤、前列腺癌症、卵巢癌
法拉莫單抗(Faralimomab)	干擾素受體	癌症
法勒珠單抗(Farletuzumab)	葉酸鹽受體 1	卵巢癌
法西努單抗(Fasinumab)	HNGF	癌症
Fbta05	CD20	慢性淋巴細胞性白血病
菲拉妥珠單抗 (Ficlatuzumab)	HGF	癌症
芬妥木單抗(Figitumumab)	IGF-1 受體	腎上腺皮質癌，非小細胞肺癌
夫蘭妥單抗(Flanvotumab)	TYRP1 (糖蛋白 75)	黑素瘤

表 10		
抗體和基於抗體的分子		
抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
芳妥珠單抗(Fontolizumab)	IFN- γ	克羅恩氏病
瑞索利木單抗 (Fresolimumab)	TGF-B	特發性肺纖維化、局灶性節段性腎 小球硬化症、癌症
伏妥昔單抗(Futuximab)	EGFR	癌症
加利昔單抗(Galiximab)	CD80	B 細胞淋巴瘤
甘尼妥單抗(Ganitumab)	IGF-I	癌症
吉妥珠單抗-奧佐米星 (Gemtuzumab Ozogamicin)	CD33	急性骨髓性白血病
吉伏珠單抗(Gevokizumab)	IL-1 β	糖尿病
吉瑞昔單抗(Girentuximab)	碳酸酐酶 9 (CA-IX)	透明細胞腎細胞癌
格萊木單抗-維多汀 (Glembatumumab Vedotin)	GPNMB	黑素瘤、乳腺癌
戈利木單抗(Golimumab)	TNF-A	風濕性關節炎、牛皮癬關節炎、關 節強硬性脊椎炎
替-伊莫單抗(Ibritumomab Tiuxetan)	CD20	非霍奇金淋巴瘤
艾盧蘇單抗(Icrucumab)	VEGFR-1	癌症
伊戈伏單抗(Igovomab)	CA-125	卵巢癌(診斷)
Imab362	Cldn18.2	胃腸腺癌和胰臟腫瘤
英加妥珠單抗	EGFR	癌症

表 10		
抗體和基於抗體的分子		
抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
(Imgatuzumab)		
英拉蘇單抗(Inclacumab)	選擇素 P	癌症
拉-英達西單抗(Indatuximab Ravtansine)	SDC1	癌症
伊珠單抗-奧佐米星 (Inotuzumab Ozogamicin)	CD22	癌症
英妥木單抗(Intetumumab)	CD51	實體腫瘤(前列腺癌症、黑素瘤)
伊匹木單抗(Ipilimumab)	CD152	黑素瘤
伊妥木單抗(Iratumumab)	CD30 (TNFRSF8)	霍奇金淋巴瘤
伊曲珠單抗(Itolizumab)	CD6	癌症
拉貝珠單抗(Labetuzumab)	CEA	結直腸癌
蘭羅利珠單抗	PDCD1	抗腫瘤劑
蘭帕利珠單抗 (Lampalizumab)	CFD	癌症
來沙木單抗(Lexatumumab)	TRAIL-R2	癌症
利韋單抗(Libivirumab)	乙型肝炎表面抗原	乙型肝炎
利格利珠單抗(Ligelizumab)	IGHE	癌症
林妥珠單抗(Lintuzumab)	CD33	癌症
利瑞魯單抗(Lirilumab)	KIR2D	癌症
洛妥珠單抗(Lorvotuzumab)	CD56	癌症

表 10		
抗體和基於抗體的分子		
抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
魯卡木單抗(Lucatumumab)	CD40	多發性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤
魯昔單抗(Lumiliximab)	CD23	慢性淋巴細胞性白血病
馬帕木單抗(Mapatumumab)	TRAIL-R1	癌症
瑪格妥昔單抗 (Margetuximab)	Ch4d5	癌症
馬妥珠單抗(Matuzumab)	EGFR	結直腸癌、肺癌和胃癌
米拉珠單抗(Mi latuzumab)	CD74	多發性骨髓瘤和其它血液學惡性腫瘤
明瑞莫單抗(Minretumomab)	TAG-72	癌症
米妥莫單抗(Mitumomab)	GD3 神經節苷脂	小細胞肺癌
莫加珠單抗 (Mogamulizumab)	CCR4	癌症
莫羅木單抗(Morolimumab)	獼因數	癌症
帕蘇托-莫塞妥莫單抗 (Moxetumomab Pasudotox)	CD22	癌症
他那可單抗(Nacolomab Tafenatox)	C242 抗原	結直腸癌
奈米布單抗(Namilumab)	CSF2	癌症
他那莫單抗(Naptumomab)	5T4	非小細胞肺癌、腎細胞癌

表 10		
抗體和基於抗體的分子		
抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
Estafenatox)		
納那妥單抗(Narnatumab)	RON	癌症
奈巴庫單抗(Nebacumab)	內毒素	敗血症
奈昔木單抗(Necitumumab)	EGFR	非小細胞肺癌
奈瑞莫單抗(Nerelimomab)	TNF-A	癌症
耐斯伐庫單抗(Nesvacumab)	血管生成素 2	癌症
尼妥珠單抗(Nimotuzumab)	EGFR	鱗狀細胞癌、頭頸癌、鼻咽癌、神經膠質瘤
尼魯單抗	PD-1	癌症
莫坦-諾非妥莫單抗 (Nofetumomab Merpentan)	未確定的	癌症
奧卡拉妥珠單抗 (Ocaratuzumab)	CD20	癌症
奧法妥木單抗 (Ofatumumab)	CD20	慢性淋巴細胞性白血病
奧拉妥單抗 (Olaratumab)	PDGF-R A	癌症
奧洛珠單抗(Olokizumab)	IL6	癌症
奧納妥珠單抗 (Onartuzumab)	人散射因數受體激酶 (Human Scatter Factor Receptor Kinase)	癌症

表 10		
抗體和基於抗體的分子		
抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
昂妥昔珠單抗 (Ontuxizumab)	TEM1	癌症
莫-奧珠單抗(Oportuzumab monatox)	Epcam	癌症
奧戈伏單抗(Oregovomab)	CA-125	卵巢癌
奧替庫單抗 (Orticumab)	Oxldl	癌症
奧樂妥珠單抗 (Otlertuzumab)	CD37	癌症
帕尼單抗(Panitumumab)	EGFR	結直腸癌
帕尼庫單抗(Pankomab)	MUC1 的腫瘤特異性糖基化	卵巢癌
巴薩妥珠單抗 (Parsatuzumab)	EGFL7	癌症
帕曲妥單抗(Patritumab)	HER3	癌症
派姆單抗	PD-1	癌症
培妥莫單抗(Pemtumomab)	MUC1	癌症
培拉珠單抗(Perakizumab)	IL17A	關節炎
帕妥株單抗(Pertuzumab)	HER2/Neu	癌症
皮地珠單抗	PD-1	癌症和傳染病
皮那妥珠單抗-維多汀 (Pinatuzumab Vedotin)	CD22	癌症

表 10		
抗體和基於抗體的分子		
抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
平妥莫單抗(Pintumomab)	腺癌抗原	腺癌
普拉庫魯單抗(Placulumab)	人 TNF	癌症
泊拉妥珠單抗-維多汀 (Polatuzumab Vedotin)	CD79B	癌症
普立托昔單抗 (Pritoxaximab)	大腸桿菌志賀氏毒素類型-1	癌症
普立妥木單抗(Pritumumab)	波形蛋白	腦癌
奎利珠單抗(Quilizumab)	IGHE	癌症
雷妥莫單抗(Racotumomab)	N-羥乙醯神經氨糖酸 (N-Glycolylneuraminic Acid)	癌症
雷得妥單抗(Radretumab)	纖維蛋白額外結構域-B	癌症
雷莫蘆單抗(Ramucirumab)	VEGFR2	實體腫瘤
利妥木單抗(Rilotumumab)	HGF	實體腫瘤
利妥昔單抗(Rituximab)	CD20	淋巴瘤、白血病(Leukemias)、一些 自身免疫性病
羅妥木單抗(Robatumumab)	IGF-1 受體	癌症
羅度單抗 (Roledumab)	RHD	癌症
沙馬珠單抗(Samalizumab)	CD200	癌症
沙妥莫單抗噴地肽 (Satumomab Pendetide)	TAG-72	癌症

表 10		
抗體和基於抗體的分子		
抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
司裡班妥單抗 (Seribantumab)	ERBB3	癌症
司托昔抗(Setoxaximab)	大腸桿菌志賀氏毒素類型-1	癌症
Sgn-CD19a	CD19	急性成淋巴細胞性白血病和 B 細胞非-霍奇金淋巴瘤
Sgn-CD33a	CD33	急性髓細胞樣白血病
西羅珠單抗(Sibrotuzumab)	FAP	癌症
司妥昔單抗(Siltuximab)	IL-6	癌症
索利托單抗(Solitomab)	Epcam	癌症
松妥珠單抗 (Sontuzumab)	Episialin	癌症
他巴魯單抗(Tabalumab)	BAFF	B 細胞癌
替他珠單抗(Tacatuzumab Tetraxetan)	甲胎蛋白	癌症
帕-他莫單抗(Taplitumomab Paptox)	CD19	癌症
替莫單抗 Telimomab	未確定的	癌症
替妥莫單抗 (Tenatumomab)	生腱蛋白 C	癌症
替奈昔單抗(Teneliximab)	CD40	癌症
替妥木單抗 (Teprotumumab)	CD221	血液腫瘤

表 10		
抗體和基於抗體的分子		
抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
替昔木單抗(Ticilimumab)	CTLA-4	癌症
替加珠單抗(Tigatuzumab)	TRAIL-R2	癌症
Tnx-650	Il-13	霍奇金淋巴瘤
托西莫單抗(tositumomab)	CD20	濾泡淋巴瘤
托維妥單抗(Tovetumab)	CD140a	癌症
曲妥珠單抗(Trastuzumab)	HER2/Neu	乳腺癌
Trbs07	Gd2	黑素瘤
曲美木單抗(tremelimumab)	CTLA-4	癌症
西莫白介素單抗 (Tucotuzumab Celmoleukin)	Epcam	癌症
優利妥昔單抗(Ublituximab)	MS4A1	癌症
烏瑞魯單抗(urelumab)	4-1BB	癌症
萬替妥單抗(Vantictumab)	捲曲受體(Frizzled Receptor)	癌症
伐利昔單抗(Vapaliximab)	AOC3 (VAP-1)	癌症
伐特珠單抗(Vatelizumab)	ITGA2	癌症
維妥珠單抗 (Veltuzumab)	CD20	非霍奇金淋巴瘤
維森庫單抗(Vesencumab)	NRP1	癌症
伏洛昔單抗(Volociximab)	整聯蛋白 A5β1	實體腫瘤
伏司妥珠單抗 (Vorsetuzumab)	CD70	癌症

表 10		
抗體和基於抗體的分子		
抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
伏妥昔單抗(Votumumab)	腫瘤抗原 CTAA16.88	結直腸腫瘤
紫蘆木單抗(Zalutumumab)	EGFR	頭頸的鱗狀細胞癌
紫妥昔單抗(Zatuximab)	HER1	癌症
齊拉木單抗(Ziralimumab)	CD147	癌症

D. 能夠結合癌抗原的示例性抗體

【0300】 以上表10中列出了示例性抗體，其VH和VL結構域可用於構建能夠結合排列在癌細胞表面上的癌抗原的分子，下面提供另外的抗體。

2. 結合B7-H3的抗體

【0301】 B7-H3是在很多實體腫瘤類型上過表達的癌抗原，並且是參與免疫調節的分子的B7族的成員(參見，美國專利號8,802,091；US 2014/0328750；US 2013/0149236；Loo, D. 等人，(2012) “Development Of An Fc-Enhanced Anti-B7-H3 Monoclonal Antibody With Potent Antitumor Activity,” Clin. Cnacer Res. 18(14):3834-3845)。具體的，幾項獨立的研究已經證明人惡性癌細胞(例如，成神經細胞瘤和胃癌、卵巢癌和非小細胞肺癌的癌細胞)展示顯著增加的B7-H3蛋白質的表達，並且該增加的表達與增加的疾病嚴重性有關(Zang, X.等人, (2007) “The B7 Family And Cancer Therapy: Costimulation And Coinhibition,” Clin. Cancer Res. 13:5271-5279)，這表明B7-H3被腫瘤用作免疫逃避路徑(Hofmeyer, K.等人, (2008) “The Contrasting Role Of B7-H3,” Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 105(30):10277-10278)。

【0302】 也已發現B7-H3共刺激CD4+和CD8+ T細胞增殖。B7-H3同樣刺激IFN- γ 產生和CD8+裂解活性(Chapoval, A.等人, (2001) “B7-H3: A Costimulatory Molecule For T Cell Activation and IFN- γ Production,” Nature Immunol. 2:269-274 ; Sharpe, A.H.等人, (2002) “The B7-CD28 Superfamily,” Nature Rev. Immunol. 2:116-126)。但是，蛋白質同樣可能通過NFAT (啟動的T細胞的核因數)、NF- κ B (核因數 κ B)和AP-1 (啟動蛋白質-1)因數起作用，以抑制T細胞啟動(Yi. K.H.等人, (2009) “Fine Tuning The Immune Response Through B7-H3 And B7-H4,” Immunol. Rev. 229:145-151)。也認為B7-H3體內抑制Th1、Th2或Th17(Prasad, D.V.等人, (2004) “Murine B7-H3 Is A Negative Regulator Of T Cells,” J. Immunol. 173:2500-2506 ; Fukushima, A.等人, (2007) “B7-H3 Regulates The Development Of Experimental Allergic Conjunctivitis In Mice,” Immunol. Lett. 113:52-57 ; Yi. K.H.等人, (2009) “Fine Tuning The Immune Response Through B7-H3 And B7-H4,” Immunol. Rev. 229:145-151)。

【0303】 優選的抗-B7-H3-結合分子具備抗-人B7-H3單克隆抗體“**B7-H3 mAb 1**”、“**B7-H3 mAb 2**”或“**B7-H3 mAb 3**”或本文提供的任意抗-B7-H3抗體的VL和/或VH結構域；並且更優選地，具備這類抗-B7-H3單克隆抗體的VL區的1、2或全部3個CDR_L和/或VH結構域的1、2或全部3個CDR_H。特別優選的是具備人源化VH和/或VL結構域的B7-H3-結合分子。

(g) B7-H3 mAb 1

【0304】 **B7-H3 mAb 1**的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:213)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)。

QVQLQQSGAE LARPGASVKL SCKASGYTFT SYWMQWVKQR PGQGLEWIGT

IYPGDGDTRY TQKFKGKATL TADKSSSTAY MQLSSLASED SAVYYCARRG
IPRLWYFDVW GAGTTVTVSS

【0305】 **B7-H3 mAb 1**的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:214)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)。

DIQMTQTTSS LSASLGDRVT ISCRASQDIS NYLNWYQQKP DGTVKLLIYY
TSRLHSGVPS RFSGSGSGTD YSLTIDNLEQ EDIATYFCQQ GNTLPPTFGG
 GTKLEIK

【0306】 以下提供本文指定為“**hB7-H3 mAb 1 VH1**”和“**hB7-H3 mAb 1 VH2**”的**B7-H3 mAb 1**的兩個示例性人源化VH結構域，以及本文指定為“**hB7-H3 mAb 1 VL1**”和“**hB7-H3 mAb 1 VL2**”的**B7-H3 mAb 1**的兩個示例性人源化VL結構域。應注意到，**hB7-H3 mAb 1 VL2**包括CDR_{L1}和CDR_{L2}中的氨基酸取代，並且**hB7-H3 mAb 1 VH2**包括CDR_{H2}中的氨基酸取代。任意人源化VL結構域可與任意人源化VH結構域配對以產生B7-H3結合結構域。因此，包含與人源化VH結構域配對的人源化VL結構域中之一的任何抗體總體上稱為“**hB7-H3 mAb 1**”，並且人源化VH/VL結構域的具體組合通過參照具體的VH/VL結構域命名，例如包含**hB7-H3 mAb 1 VH1**和**hB7-H3 mAb 1 VL2**的人源化抗體具體稱為“**hB7-H3 mAb 1 (1.2)**”。

【0307】 **hB7-H3 mAb 1 VH1**的VH結構域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:215) (CDR_H殘基以底線顯示)：

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

【0308】 **hB7-H3 mAb 1 VH2**的VH結構域的氨基酸序列是(SEQ ID

NO:216) (CDR_H殘基以底線顯示)：

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

【0309】 hB7-H3 mAb 1 VL1的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:217**)

如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)。

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKLLIYY
TSRLHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDIATYYCQQ GNTLPPTFGG
GTKLEIK

【0310】 hB7-H3 mAb 1 VL2的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:218**)

如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)。

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQSIS SYLNWYQQKP GKAPKLLIYY
TSRLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDIATYYCQQ GNTLPPTFGG
GTKLEIK

(h) B7-H3 mAb 2

【0311】 B7-H3 mAb 2的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:219**)如下
顯示(CDR_H殘基以底線顯示)。

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

【0312】 B7-H3 mAb 2的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:220**)如下
顯示(CDR_L殘基以底線顯示)。

DIAMTQSQKF MSTSVGDRVS VTCKASQNVD TNVAWYQQKP GQSPKALIYS

ASYRYSGVPD RFTGSGSGTD FTLTINNVQS EDLAEYFCQQ YNNYPFTFGS
GTKLEIK

【0313】 以下提供本文指定為“hB7-H3 mAb 2 VH1”、“hB7-H3 mAb 2 VH2”、“hB7-H3 mAb 2 VH3”和“hB7-H3 mAb 2 VH4”的B7-H3 mAb 2的四個示例性人源化VH結構域，和本文指定為“hB7-H3 mAb 2 VL1”、“hB7-H3 mAb 2 VL2”、“hB7-H3 mAb 2 VL3”、“hB7-H3 mAb 2 VL4”、“hB7-H3 mAb 2 VL5”和“hB7-H3 mAb 2 VL6”的B7-H3 mAb 2的六個示例性人源化VL結構域。任意人源化VL結構域可與任意人源化VH結構域配對，以產生B7-H3結合結構域。因此，包含與人源化VH結構域配對的人源化VL結構域之一的任何抗體總體上被稱為“hB7-H3 mAb 2”，並且人源化VH/VL結構域的具體組合通過參照具體特定的VH/VL結構域命名，例如包含hB7-H3 mAb 2 VH1和hB7-H3 mAb 2 VL2的人源化抗體具體稱為“hB7-H3 mAb 2 (1.2)”。

【0314】 hB7-H3 mAb 2 VH1的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:221)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

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

【0315】 hB7-H3 mAb 2 VH2的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:222)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)。

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

【0316】 hB7-H3 mAb 2 VH3的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID

NO:223)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)。

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

【0317】 **hB7-H3 mAb 2 VH4**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:224**)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)。

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

【0318】 **hB7-H3 mAb 2 VL1**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:225**)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)。

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCKASQNVD TNVAWYQQKP GKAPKLLIYS
ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNNYPFTFGQ
GTKLEIK

【0319】 **hB7-H3 mAb 2 VL2**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:226**)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)。

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCKASQNVD TNVAWYQQKP GKAPKALIYS
ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNNYPFTFGQ
GTKLEIK

【0320】 **hB7-H3 mAb 2 VL3**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:227**)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)。

DIQLTQSPSF LSASVGDRVS VTCKASQNVD TNVAWYQQKP GKAPKLLIYS
ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNNYPFTFGQ

GTKLEIK

【0321】 hB7-H3 mAb 2 VL4的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:228)

如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)。

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCKASQNVD TNVAWYQQKP GQAPKLLIYS
ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNNYPFTFGQ
GTKLEIK

【0322】 hB7-H3 mAb 2 VL5的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:229)

如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)。

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCKASQNVD TNVAWYQQKP GQAPKALIYS
ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNNYPFTFGQ
GTKLEIK

【0323】 hB7-H3 mAb 2 VL6的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:230)

如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)。

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCKASQNVD TNVAWYQQKP GKAPKLLIYS
ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFAEYYCQQ YNNYPFTFGQ
GTKLEIK

(i) B7-H3 mAb 3

【0324】 B7-H3 mAb 3的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:231)如下

顯示(CDR_H殘基以底線顯示)。

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

【0325】 B7-H3 mAb 3的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:232)如下

顯示(CDR_L殘基以底線顯示)。

DIQMTQSPAS LSVSVGETVT ITCRASESIY SYLAWYQQKQ GKSPQLLVYN
TKTLPEGVPS RFSGSGSGTQ FSLKINSLQP EDFGRYYCQH HYGTPPWTFG
GGTNLEIK

(j) 其它抗-B7-H3結合分子

【0326】 除了以上鑑定的優選的抗-B7-H3結合分子，本發明考慮使用任意下述抗-B7-H3結合分子：**LUCA1**；**BLA8**；**PA20**；或**SKN2**（參見，美國專利號7,527,969；8,779,098和PCT專利公開號WO 2004/001381）；**M30**；**cM30**；**M30-H1-L1**；**M30-H1-L2**；**M30-H1-L3**；**M30-H1-L4**；**M30-H1-L5**；**M30-H1-L6**；**M30-H1-L7**；**M30-H4-L1**；**M30-H4-L2**；**M30-H4-L3**；和**M30-H4-L4**（參見，美國專利公開號2013/0078234和PCT專利公開號WO 2012/147713；和**8H9**（參見美國專利號7,666,424；7,737,258；7,740,845；8,148,154；8,414,892；8,501,471；9,062,110；美國專利公開號2010/0143245和PCT專利公開號WO 2008/116219）。

3. 結合CEACAM5和CEACAM6的抗體

【0327】 已經發現癌胚抗原-相關的細胞黏附分子5 (CEACAM5)和6 (CEACAM6)與各種類型的癌症有關，所述各種類型的癌症包括甲狀腺髓質癌、結直腸癌、胰腺癌、肝細胞癌、胃癌、肺癌、頭頸癌、膀胱癌、前列腺癌、子宮癌、子宮內膜癌、乳腺癌、造血系統癌症(hematopoietic cancer)、白血病和卵巢癌(PCT專利公開號WO 2011/034660)，尤其是結直腸癌、胃腸癌、胰腺癌、非小細胞肺癌(NSCL)、乳腺癌、甲狀腺癌、胃癌、卵巢癌和子宮癌(Zheng, C.等人, (2011) “A Novel Anti-CEACAM5 Monoclonal Antibody, CC4, Suppresses Colorectal Tumor Growth and Enhances NK Cells-Mediated Tumor Immunity,” PLoS One 6(6):e21146, 1-11頁)。

【0328】 已經發現CEACAM5在90%的胃腸癌、結直腸癌和胰腺癌、70%的非小細胞肺癌細胞和50%的乳腺癌中過表達(Thompson, J.A.等人, (1991) “Carcinoembryonic Antigen Gene Family: Molecular Biology And Clinical Perspectives,” J. Clin. Lab. Anal. 5:344-366)。過表達的癌胚抗原相關的細胞黏附分子6 (CEACAM6)在各種人癌症的侵入和轉移中起到重要作用，所述各種人癌症包括甲狀腺髓質癌、結直腸癌、胰腺癌、肝細胞癌、胃癌、肺癌、頭頸癌、膀胱癌、前列腺癌、子宮癌、子宮內膜癌、乳腺癌、造血系統癌症、白血病和卵巢癌(PCT專利公開號WO 2011/034660；Deng, X.等人, (2014) “Expression Profiling Of CEACAM6 Associated With The Tumorigenesis And Progression In Gastric Adenocarcinoma,” Genet. Mol. Res. 13(3):7686-7697；Cameron, S.等人, (2012) “Focal Overexpression Of CEACAM6 Contributes To Enhanced Tumourigenesis In Head And Neck Cancer Via Suppression Of Apoptosis,” Mol. Cancer 11:74, 1-11 頁；Chapin, C.等人, (2012) “Distribution And Surfactant Association Of Carcinoembryonic Cell Adhesion Molecule 6 In Human Lung,” Amer. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 302(2):L216-L25；Riley, C.J.等人, (2009) “Design And Activity Of A Murine And Humanized Anti-CEACAM6 Single-Chain Variable Fragment In The Treatment Of Pancreatic Cancer,” Cancer Res. 69(5):1933-1940；Lewis-Wambi, J.S.等人, (2008) “Overexpression Of CEACAM6 Promotes Migration And Invasion Of Oestrogen-Deprived Breast Cancer Cells,” Eur. J. Cancer 44(12):1770-1779；Blumenthal, R.D.等人, (2007) “Expression Patterns Of CEACAM5 And CEACAM6 In Primary And Metastatic Cancers,” BMC Cancer. 7:2, 1-15 頁)。免疫特異性地結合CEACAM5和CEACAM6的抗體是商業上可得的

(Santa Cruz Biotechnology, Inc., Novus Biologicals LLC ; Abnova Corporation)。

(k) 抗體16C3

【0329】 人源化抗-CEACAM5/抗-CEACAM6抗體**16C3** (EP 2585476)的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:233**)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

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

【0330】 人源化抗-CEACAM5/抗-CEACAM6抗體**16C3** (EP 2585476) 的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:234**)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCGASENIY GALNWYQRKP GKSPKLLIWG
ASNLDGMPS RFGSGSGRQ YTLTISSLQP EDVATYYCQN VLSSPYTFGG
 GTKLEIK

(l) 抗體hMN15

【0331】 人源化抗-CEACAM5/CEACAM6抗體**hMN15**的VH結構域的氨基酸序列(WO 2011/034660) (**SEQ ID NO:235**)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

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

【0332】 人源化抗-CEACAM5/CEACAM6抗體**hMN15**的VL結構域的氨基酸序列(WO 2011/034660) (**SEQ ID NO:236**)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

DIQLTQSPSS LSASVGDRVIT MTCSASSRVS YIHWYQQKPG KAPKRWIYGT
STLASGVPAR FSGSGSGTDF TFTISSLQPE DIATYYCQQW SYNPPTFGQG
 TKVEIKR

4. 結合EGFR的抗體

【0333】 表皮生長因數受體(EGFR)是某些轉移性結直腸癌、轉移性非小細胞肺癌和頭頸癌的癌抗原。結合人EGRF的示例性抗體是“西妥昔單抗”和“帕尼單抗”。西妥昔單抗是重組人-小鼠嵌合表皮生長因數受體(EGFR)IgG1單克隆抗體(Govindan R. (2004) “Cetuximab In Advanced ~~非~~-Small Cell Lung Cancer,” Clin. Cancer Res. 10(12 Pt 2):4241s-4244s ; Bou-Assaly, W.等人, (2010) “Cetuximab (Erbix),” Am. J. Neuroradiol. 31(4):626-627)。帕尼單抗(Vectibix®, Amgen)是全人源化表皮生長因數受體(EGFR)IgG2單克隆抗體(Foon, K.A.等人, (2004) “Preclinical And Clinical Evaluations Of ABX-EGF, A Fully Human Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Antibody,” Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 58(3):984-990 ; Yazdi, M.H.等人, (2015) “A Comprehensive Review of Clinical Trials on EGFR Inhibitors Such as Cetuximab and Panitumumab as Monotherapy and in Combination for Treatment of Metastatic Colorectal Cancer,” Avicenna J. Med. Biotechnol. 7(4):134-144)。

(m)西妥昔單抗

【0334】 嵌合抗-EGFR抗體“西妥昔單抗”的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:237)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

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

【0335】 嵌合抗-EGFR抗體“西妥昔單抗”的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:238)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

DILLTQSPVI LSVSPGERVS FSCRASQSIG TNIHWYQQRT NGSPRLLIKY
ASESISGIPS RFSGSGSGTD FTLSINSVES EDIADYYCQQ NNNWPTTFGA
 GTKLELKR

(n) 帕尼單抗

【0336】 帕尼單抗的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:239)如下顯示
 (CDR_H殘基以底線顯示)：

QVQLQESGPG LVKPSETLSL TCTVSGGSVS SGDYWTWIR QSPGKGLEWI
GHIYYSGNTN YNPSLKSRILT ISIDTSKTQF SLKLSSVTAA DTAIYYCVRD
RVTGAFDIWG QGTMVTVSS

【0337】 帕尼單抗的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:240)如下顯示
 (CDR_L殘基以底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCQASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKLLIYD
ASNLETGVPS RFSGSGSGTD FTFTISSLPQ EDIATYFCQH FDHLPLAFGG
 GTKVEIKR

5. 結合EphA2的抗體

【0338】 受體酪氨酸激酶、蝶素型-A受體2(**EphA2**)通常在成人上皮組織中細胞與細胞接觸的位點處表達，但是，最近的研究已經證明其也在各種類型的上皮癌(epithelial carcinomas)中過表達，其中以在轉移性病變中觀察到的EphA2表達水準最高。已經在很大範圍的癌症和許多癌細胞系，包括前列腺癌、乳腺癌、非小細胞肺癌和黑色素瘤，中發現高表達水準的EphA2 (Xu, J.等人, (2014) “High EphA2 Protein Expression In Renal Cell Carcinoma Is Associated With A Poor Disease Outcome,” Oncol. Lett. Aug 2014 ; 8(2): 687-692 ; Miao, B.等人, (2014) “EphA2 is a Mediator of Vemurafenib Resistance and a Novel Therapeutic

Target in Melanoma,” Cancer Discov. Pii: CD-14-0295)。EphA2似乎不僅僅是癌症的標記物，而似乎在許多人類癌症中被持續地過表達並且功能上被改變(Chen, P. 等人, (2014) “EphA2 Enhances The Proliferation And Invasion Ability Of LnCap Prostate Cancer Cells,” Oncol. Lett. 8(1):41-46)。結合人EphA2的示例性抗體是“EphA2 mAb 1”、“EphA2 mAb 2”和“EphA2 mAb 3”。

(o) EphA2 mAb 1

【0339】 EphA2 mAb 1的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:241)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

QVQLKESGPG LVAPSQSLSI TCTVSGFSL **RYSVHWVRQP** PGKGLEWLGM
IWGGSTDYN SALKSRLSIS KDNSKSQVFL KMNSLQTDDT AMYYCAR**KHG**
NYYTMDYWGQ GTSVTVSS

【0340】 EphA2 mAb 1的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:242)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

DIQMTQTTSS LSASLGDRIT ISC**RASQDIS NYLNWYQQK**P DGTVKLLIYY
TSRLHSGVPS RFSGSGSGTD YSLTISNLEQ EDIATYFC**QQ GYTLYT**FGGG
TKLEIK

(p) EphA2 mAb 2

【0341】 EphA2 mAb 2的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:243)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

QIQLVQSGPE LKKPGETVKI SCKASGFTFT **NYGMN**WVKQA PGKGLKWMGW
INTYIGEPTY ADDFKGRFVF SLETSASTAY LQINNLKNE D MATYFCAR**EL**
GPYYFDYWGQ GTTLTVSS

【0342】 EphA2 mAb 2的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:244)如下

顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

DVVMQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSLV HSSGNTYLHW YLQKPGQSPK
LLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YFCSQSTHVP
TFGSGTKLEI K

(q) EphA2 mAb 3

【0343】 EphA2 mAb 3的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:245)如下

顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

EVQLVESGGG SVKPGGSLKL SCAASGFTFT DHYMYWVRQT PEKRLEWVAT
ISDGGSFTSY PDSVKGRFTI SRDIAKNNLY LQMSSLKSED TAMYCTRDE
SDRPFPYWGQ GTLVTVSS

【0344】 EphA2 mAb 3的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:246)如下

顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

DIVLTQSHRS MSTSVGDRVN ITCKASQDVT TAVAWYQQKP GQSPKLLIFW
ASTRHAGVPD RFTGSGSGTD FTLTISSVQA GDLALYYCQQ HYSTPYTFGG
GTKLEIK

6. 結合gpA33的抗體

【0345】 43kD跨膜糖蛋白 A33 (**gpA33**)在>95%的所有結腸癌中被表達 (Heath, J.K.等人, (1997) “The Human A33 Antigen Is A Transmembrane Glycoprotein And A Novel Member Of The Immunoglobulin Superfamily,” Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 94(2):469-474 ； Ritter, G. 等 人 , (1997) “Characterization Of Posttranslational Modifications Of Human A33 Antigen, A Novel Palmitoylated Surface Glycoprotein Of Human Gastrointestinal Epithelium,” Biochem. Biophys. Res. Commun. 236(3):682-686 ； Wong, N.A.等人, (2006) “EpCAM and gpA33 Are

Markers Of Barrett's Metaplasia,” J. Clin. Pathol. 59(3):260-263)。結合至人gpA33的示例性抗體是“gpA33 mAb 1”。

【0346】 gpA33 mAb 1的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:247)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

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

【0347】 gpA33 mAb 1的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:248)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

DIQLTQSPSF LSASVGDRVIT ITCSARSSIS FMYWYQQKPG KAPKLLIYDT
SNLASGVPSR FSGSGSGTEF TLTISSEAE DAATYYCQQW SSYPLTFGQG
TKLEIK

7. 結合HER2/neu的抗體

【0348】 HER2/neu是185 kDa受體蛋白質，其起初被鑑定為來自經化學手段處理的大鼠的成神經細胞瘤的轉化基因的產物。由於其在幾種人類癌症和在哺乳動物開發中的作用，HER2/neu已經被大規模地研究(Hynes等人, (1994) Biochim. Biophys. Acta 1198:165-184；Dougall等人, (1994) Oncogene 9:2109-2123；Lee等人, (1995) Nature 378:394-398)。結合人HER2/neu的示例性抗體包括“瑪格妥昔單抗”、“曲妥珠單抗”和“帕妥珠單抗”。瑪格妥昔單抗(也稱為MGAH22；CAS註冊號1350624-75-7)是結合至HER2/neu並且介導增強的ADCC活性的Fc-優化的單克隆抗體。曲妥珠單抗(也稱為rhuMAB4D5，並且作為HERCEPTIN®銷售；CAS註冊號180288-69-1；參見美國專利號5,821,337)是具有

IgG1/ κ 恆定區的抗體4D5的人源化形式。帕妥株單抗(也稱為rhuMAB2C4，並且作為PERJETA™銷售；CAS註冊號380610-27-5；參見例如，WO2001/000245)是具有IgG1/ κ 恆定區的抗體2C4的人源化形式。

(r) 瑪格妥昔單抗

【0349】 瑪格妥昔單抗的VH結構域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:250)

(CDR_H殘基以底線顯示)：

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

【0350】 瑪格妥昔單抗的VL結構域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:251)

(CDR_L殘基以底線顯示)：

DIVMTQSHKF MSTSVGDRVS ITCKASQDVN TAVAWYQQKP GHSPKLLIYS
ASFRYTGVPD RFTGSRSGTD FTFTISSVQA EDLAVYYCQQ HYTTPPTFGG
 GTKVEIK

【0351】 瑪格妥昔單抗的完整重鏈和輕鏈的氨基酸序列是本領域已知的(參見，例如，WHO藥物資訊，2014，推薦的INN：列表71, 28(1):93-94)。

(s) 曲妥珠單抗

【0352】 曲妥珠單抗的VH結構域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:252)

(CDR_H殘基以底線顯示)：

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

【0353】 曲妥珠單抗的VL結構域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:253)

(CDR_L殘基以底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVN TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS
ASFLYSGVPS RFSGSRSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYTTPPTFGQ
 GTKVEIK

(t) 帕妥株單抗

【0354】 帕妥株單抗的VH結構域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:254)

(CDR_H殘基以底線顯示)：

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

【0355】 帕妥株單抗的VL結構域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:255)

(CDR_L殘基以底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQDVS IGVAWYQQKP GKAPKLLIYS
ASYRYTGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YYIYPYTFGQ
 GTKVEIK

(u) 其它抗-HER2/neu抗體

【0356】 除了上述鑑定的優選的抗-HER2/neu結合分子，本發明還考慮使用任意下述抗-Her-2結合分子：1.44.1；1.140；1.43；1.14.1；1.100.1；1.96；1.18.1；1.20；1.39；1.24；和1.71.3 (美國專利號8,350,011；8,858,942；和PCT專利公開號WO 2008/019290)；F5和C1 (美國專利號7,892,554；8,173,424；8,974,792；和PCT專利公開號WO 99/55367)；並且也考慮美國專利公開號US2013017114和PCT專利公開號WO2011/147986的抗-Her-2結合分子)。

8. 結合VEGF的抗體

【0357】 VEGF-A是在各種疾病中，尤其在某些轉移性癌症如轉移性結腸癌和在某些肺癌、腎癌、卵巢癌和腦的多形性成膠質細胞瘤中，刺激血管生成的化學信號。結合至人VEGF-A的示例性抗體是“貝伐珠單抗”(Avastin®)。貝伐珠單抗是重組人源化IgG1單克隆抗體(Midgley, R.等人, (2005) “Bevacizumab – Current Status And Future Directions,” Ann. Oncol. 16(7):999-1004 ; Hall, R.D.等人, (2015) “Angiogenesis Inhibition As A Therapeutic Strategy In Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC),” Transl. Lung Cancer Res. 4(5):515-523 ; Narita, Y. (2015) “Bevacizumab For Glioblastoma,” Ther. Clin. Risk Manag. 11:1759-1765)。

【0358】 貝伐珠單抗的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:256)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

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

【0359】 貝伐珠單抗的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:257)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCSASQDIS NYLNWYQQKPGKAPKVLIIYF
TSSLHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ
 GTKVEIKR

9. 結合5T4的抗體

【0360】 癌胚蛋白質**5T4**是腫瘤相關的蛋白質，其在許多癌症(包括腎癌、結腸癌、前列腺癌、肺癌)的細胞膜上展示並在急性成淋巴細胞性白血病中展示(參見，Boghaert, E.R.等人, (2008) “The Oncofetal Protein, 5T4, Is A Suitable Target

For Antibody-Guided Anti-Cancer Chemotherapy With Calicheamicin,” Int. J. Oncol. 32(1):221-234 ; Eisen, T. 等人, (2014) “Naptumomab Estafenatox: Targeted Immunotherapy with a Novel Immunotoxin,” Curr. Oncol. Rep. 16:370, 1-6頁)。結合至人5T4的示例性抗體包括“**5T4 mAb 1**”和“**5T4 mAb 2**”。

(v) 5T4 mAb 1

【0361】 5T4 mAb 1的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:258**)如下顯示(CDR殘基以底線顯示)：

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKAS**GYTFT** **SFWMH**WVRQA PGQGLEWMGR
IDPNRGGTEY **NEKA****KS**RVTM TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAG**GN**
PYYPMDYWGQ GTTVTVSS

【0362】 示例性**5T4 mAb 1**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:259**)如下顯示(CDR殘基以底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITC**RASQGIS** **NYLAW**FQQKP GKAPKSLIY**R**
ANRLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDVATYYC**LQ** **YDDFPWT**FGQ
GTKLEIK

(w) 5T4 mAb 2

【0363】 5T4 mAb 2的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:260**)如下顯示(CDR殘基以底線顯示)：

QVQLQQPGAE LVKPGASVKM SCKAS**GYTFT** **SYWIT**WVKQR PGQGLEWIG**D**
IYPGSGRANY **NEKF****KS**KATL TVDTSSSTAY MQLSSLTSED SAVYNCAR**YG**
PLETTVVDPN **SYAMDY**WGQG TSVTVSS

【0364】 5T4 mAb 2的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:261**)如下顯示(CDR殘基以底線顯示)：

DVLMTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSIV YSNGNTYLEW YLQKPGQSPK
 LLIYKVSNRF SGVPDRFGSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGSHVP
FTFGSGTKLE IK

10. 結合IL13R α 2的抗體

【0365】 白介素-13受體 α 2 (IL13R α 2)在各種癌症中過表達，所述癌症包括成膠質細胞瘤、結直腸癌、宮頸癌、胰腺癌、多發性黑素瘤、骨肉瘤、白血病、淋巴瘤、前列腺癌和肺癌(PCT專利公開號WO 2008/146911；Brown, C.E.等人, (2013) “*Glioma IL13R α 2 Is Associated With Mesenchymal Signature Gene Expression And Poor Patient Prognosis*,” PLoS One. 18;8(10):e77769；Barderas, R.等人, (2012) “*High Expression Of IL-13 Receptor A2 In Colorectal Cancer Is Associated With Invasion, Liver Metastasis, And Poor Prognosis*,” Cancer Res. 72(11):2780-2790；Kasaian, M.T.等人, (2011) “*IL-13 Antibodies Influence IL-13 Clearance In Humans By Modulating Scavenger Activity Of IL-13R α 2*,” J. Immunol. 187(1):561-569；Bozinov, O.等人, (2010) “*Decreasing Expression Of The Interleukin-13 Receptor IL-13R α 2 In Treated Recurrent Malignant Gliomas*,” Neurol. Med. Chir. (Tokyo) 50(8):617-621；Fujisawa, T.等人, (2009) “*A Novel Role Of Interleukin-13 Receptor Alpha2 In Pancreatic Cancer Invasion And Metastasis*,” Cancer Res. 69(22):8678-8685)。免疫特異性地結合至IL13R α 2的抗體是商業上可得的，並且已經在現有技術中被描述(Abnova Corporation、Biorbyt、LifeSpan BioSciences、Unite States Biologicals；也參見PCT專利公開號WO 2008/146911)。結合至人IL13R α 2的示例性抗體包括“**hu08**” (參見，例如，PCT專利公開號WO 2014/072888)。

【0366】 **hu08**的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:262)如下顯示(CDR

殘基以底線顯示)：

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

【0367】 hu08的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:263)如下顯示(CDR殘基以底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKKASQDVG TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS
ASYSTGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH HYSAPWTFGG
 GTKVEIK

11. 結合CD123的抗體

【0368】 CD123 (白介素3受體 α ，IL-3Ra)是40 kDa分子，其是白介素3受體複合物的一部分(Stomski, F.C.等人, (1996) “Human Interleukin-3 (IL-3) Induces Disulfide-Linked IL-3 Receptor Alpha- And Beta-Chain Heterodimerization, Which Is Required For Receptor Activation But Not High-Affinity Binding,” Mol. Cell. Biol. 16(6):3035-3046)。白介素3 (IL-3)驅動多能幹細胞早期分化為類紅細胞、髓系細胞和淋巴樣祖細胞。已經報導CD123在很大範圍的血液學惡性腫瘤(包括急性髓細胞樣白血病(AML)和脊髓增生異常綜合征(MDS))中的惡性細胞上過表達(Muñoz, L.等人, (2001) “Interleukin-3 Receptor Alpha Chain (CD123) Is Widely Expressed In Hematologic Malignancies,” Haematologica 86(12):1261-1269)。CD123的過表達與AML中的較差的預後有關(Tettamanti, M.S.等人, (2013) “Targeting Of Acute Myeloid Leukaemia By Cytokine-Induced Killer Cells Redirected With A Novel CD123-Specific Chimeric Antigen Receptor,” Br. J. Haematol. 161:389-401)。

【0369】 結合至人CD123的示例性抗體是“CD123 mAb 1”(參見，例如，

PCT專利公開號WO 2015/026892)。

【0370】 **CD123 mAb 1**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:264**)如下顯示(CDR_H殘基以底線顯示)：

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

【0371】 **CD123 mAb 1**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:265**)如下顯示(CDR_L殘基以底線顯示)：

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

E. 示例性病原體相關抗原

【0372】 如本文使用的，術語“**病原體抗原**”指這類抗原：所述抗原在病原體感染的細胞表面上特徵性地表達，並且因而可以用基於抗體的分子或免疫調節分子處理。病原體抗原的實例包括但不限於在被下述病毒感染的細胞表面上表達的抗原：單純疱疹病毒(例如，感染的細胞蛋白質(ICP)47、gD等)、水痘帶狀疱疹病毒、卡波西肉瘤相關的疱疹病毒、愛潑斯坦-巴爾病毒(例如、LMP-1、LMP-2A、LMP-2B等)、巨細胞病毒(例如、UL11等)、人免疫缺陷病毒(例如、env蛋白質gp160、gp120、gp41等)、人乳頭瘤病毒(例如、E6、E7等)、人T細胞白血病病毒(例如、env蛋白質gp64、gp46、gp21等)、甲型肝炎病毒、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、水泡性口炎病毒(VSV)、芽孢桿菌綱(Bacilli)、檸檬酸桿菌屬(Citrobacter)、霍亂(Cholera)、白喉(Diphtheria)、腸桿菌屬(Enterobacter)、淋球

菌(Gonococci)、幽門螺旋桿菌(*Helicobacter pylori*)、克雷伯氏菌屬(*Klebsiella*)、軍團菌屬(*Legionella*)、腦膜炎球菌(Meningococci)、分歧桿菌(*mycobacteria*)、假單胞菌屬(*Pseudomonas*)、Pneumonococci、立克次氏體細菌(*rickettsia bacteria*)、沙門氏菌屬(*Salmonella*)、沙雷菌屬(*Serratia*)、葡萄球菌屬(*Staphylococci*)、鏈球菌屬(*Streptococci*)、破傷風(Tetanus)、曲黴菌屬(*Aspergillus*)(煙麴黴(*fumigatus*)、黑麴黴(*niger*)等)、皮炎芽生菌(*Blastomyces dermatitidis*)、念珠菌屬(*Candida*)(白色念珠菌(*albicans*)、克柔假絲酵母(*krusei*)、光滑念珠菌(*glabrata*)、熱帶念珠菌(*tropicalis*)等)、新生隱球菌(*Cryptococcus neoformans*)、毛黴目(Mucorales)的屬(毛黴屬(*mucor*)、犁頭黴屬(*absidia*)、根黴屬(*rhizopus*))、申克氏胞絲菌(*Sporothrix schenkii*)、巴西芽生菌(*Paracoccidioides brasiliensis*)、粗球黴菌(*Coccidioides immitis*)、荚膜組織胞漿菌(*Histoplasma capsulatum*)、細螺旋體病(*Leptospirosis*)、包柔氏螺旋體(*Borrelia burgdorferi*)、蠕蟲寄生蟲(鈎蟲、條蟲、吸蟲、扁形蟲(例如血吸蟲(*Schistosomia*))、藍氏賈第蟲(*Giardia lamblia*)、旋毛蟲(*trichinella*)、脆雙核阿米巴(*Dientamoeba Fragilis*)、布氏錐蟲(*Trypanosoma brucei*)、克氏錐蟲(*Trypanosoma cruzi*)和杜氏利什曼蟲(*Leishmania donovani*)。這類抗體可從各種來源商購獲得，或可通過用這類抗原對小鼠或其它動物進行免疫接種(包括用於產生單克隆抗體)來獲得。

F·能夠結合病原體相關抗原的示例性抗體

【0373】 以下提供示例性抗體，其VH和VL結構域可用於構建能夠結合排列在病原體感染的細胞表面上的病原體抗原的分子，另外的抗體是本領域已知的。

【0374】 HIV的Env蛋白質是示例性病原體相關抗原，並且結合HIV的Env

蛋白質的抗體是能夠結合病原體相關抗原的示例性抗體。

【0375】 HIV-1感染中的最初步驟伴隨著細胞表面CD4與三聚HIV-1包膜糖蛋白(Env)、跨膜糖蛋白(gp41)和表面糖蛋白(gp120)的異源二聚體的結合而發生。gp120和gp41糖蛋白最初作為單gp160多肽被合成，該多肽隨後被切割，以產生非共價締合的gp120/gp41複合物。Env的胞外域是具有大約140 kDa品質的異源二聚體，由全部gp120組分和大約20 kDa的gp41構成(Harris, A.等人, (2011) “Trimeric HIV-1 Glycoprotein Gp140 Immunogens And Native HIV-1 Envelope Glycoproteins Display The Same Closed And Open Quaternary Molecular Architectures,” Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 108(28):11440-11445)。免疫特異性地結合至env蛋白質的抗體是商業上可得的，並且已經在現有技術中被描述(參見，例如，GenBank登記號AFQ31503；Buchacher, A.等人, (1994) “Generation Of Human Monoclonal Antibodies Against HIV-1 Proteins ; Electrofusion And Epstein-Barr Virus Transformation For Peripheral Blood Lymphocyte Immortalization,” AIDS Res. Hum. Retroviruses 10(4):359-369；Shen, R. (2010) “GP41-Specific Antibody Blocks Cell-Free HIV Type 1 Transcytosis Through Human Rectal Mucosa And Model Colonic Epithelium,” J. Immunol. 184(7):3648-3655；WO 2012/162068；和WO 2016/054101)。結合至HIV env的示例性抗體包括“**7B2**” (GenBank登記號AFQ31503)和“**h3G8**” (PCT公開號WO 2012/162068)。

【0376】 **7B2**的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:266)如下顯示(CDR殘基以底線顯示)：

QVQLVQSGGG VFKPGGSLRL SCEASGFTFT EYYMTWVRQA PGKGLEWLAY
ISKNGEYSKY SPSSNGRFTI SRDNAKNSVF LQLDRLSADD TAVYYCARAD

GLTYFSELLQ YIFDLWGQGA RVTVSS

【0377】 **7B2**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:267**)如下顯示(CDR殘基以底線顯示)：

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

【0378】 **h3G8**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:268**)如下顯示(CDR殘基以底線顯示)：

QVTLRESGPA LVKPTQTLLT TCTFSGFSL TSGMGVGWIR QPPGKALEWL
AHIWWDDDKR YNPALKSRLT ISKDTSKNQV VLTMTNMDPV DTATYYCAQI
NPAWFAYWGQ GTLVTVSS

【0379】 **h3G8**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:269**)如下顯示(CDR殘基以底線顯示)：

DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKASQSVD FDGDSFMNWY QQKPGQPPKL
LIYTTSNLES GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCQQSNEDPY
TFGQGTKLEI K

本發明示例性結合分子

【0380】 如以下討論的，使用以下兩種施用的分子的聯合療法闡釋本發明：能夠結合PD-1的分子(例如，以上描述的**hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4 (P)**、**DART-1**或**DART-2**)，和能夠介導對腫瘤細胞的重定向殺傷的分子(例如，以下描述的“**DART-A**”或“**DART-B**”)。

【0381】 **DART-A**是能夠結合效應細胞的CD3 細胞表面分子和B7-H3癌抗原的雙特異性雙抗體。它是由三條多肽鏈構成的含Fc區的雙抗體，具有針對

B7-H3一個結合位點、針對B7-H3的一個結合位點、攜帶杵和臼的IgG1 Fc區和E/K-螺旋異源二聚體促進結構域(參見，例如，圖4A)。

【0382】 **DART-A**的第一多肽鏈在N-末端至C-末端方向包含N-末端、能夠結合B7-H3的單克隆抗體(**hB7-H3 mAb 2 VL2**)的VL結構域(**SEQ ID NO:226**)、間插連接體肽(**連接體1**；GGGSGGGG (**SEQ ID NO:14**))、能夠結合CD3的單克隆抗體(**CD3 mAb 1 VH**)的VH結構域(**SEQ ID NO:192**)、間插連接體肽(**連接體2**；GGCGGG (**SEQ ID NO:15**))、異源二聚體促進(E-螺旋)結構域(**EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK (**SEQ ID NO:27**))、間插連接體肽(**間隔-連接體3**；GGGDKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:39**))、“攜帶杵的”Fc結構域(**SEQ ID NO:42**)和C-末端。因此，**DART-A**的第一多肽鏈由以下構成：**SEQ ID NO:226**—**SEQ ID NO:14**—**SEQ ID NO:192**—**SEQ ID NO:15**—**SEQ ID NO:27**—**SEQ ID NO:39**—**SEQ ID NO:42**。**DART-A**的第一多肽鏈的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:270**)：**

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

【0383】 **DART-A**的第二多肽鏈在N-末端至C-末端方向包含N-末端、能夠結合CD3的單克隆抗體(**CD3 mAb 1 VL**)的VL結構域(**SEQ ID NO:193**)、間插連

接體肽(連接體1；GGGSGGGG (SEQ ID NO:14))、能夠結合B7-H3的單克隆抗體(hB7-H3 mAb 2 VH2)的VH結構域(SEQ ID NO:222)、間插連接體肽(連接體2；GGCGGG (SEQ ID NO:15))、異源二聚體促進(K-螺旋)結構域(KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (SEQ ID NO:28)和C-末端。因此，DART-A的第二多肽由以下構成：SEQ ID NO:193－SEQ ID NO:14－SEQ ID NO:222－SEQ ID NO:15－SEQ ID NO:28。DART-A的第二多肽鏈的氨基酸序列是(SEQ ID NO:271)：

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

【0384】 DART-A的第三多肽鏈在N-末端至C-末端方向包含N-末端、肽(連接體3；DKTHTCPPCP (SEQ ID NO:38))、“攜帶白的”Fc結構域(SEQ ID NO:43)和C-末端。因此，DART-A的第三多肽由以下構成：SEQ ID NO:38－SEQ ID NO:43。DART-A的第三多肽的氨基酸序列是(SEQ ID NO:272)：

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

【0385】 能夠介導對腫瘤細胞的重定向殺傷的另一示例性分子是DART-B。DART-B是能夠結合效應細胞的CD3細胞表面分子和IL13Rα2癌抗原的雙特異性雙抗體。DART-B由三條多肽鏈構成並且具有與DART-A一樣的一般

結構。

【0386】 另外，可用於本發明方法中的能夠介導對腫瘤細胞的重定向殺傷的示例性分子包括能夠結合以下的雙特異性分子：CD19和CD3 (參見，例如，美國專利號7,235,641和WO 2016/048938)；CD123和CD3 (參見，例如，Kuo, S.R. 等人, (2012) “Engineering a CD123xCD3 bispecific scFv immunofusion for the treatment of leukemia and elimination of leukemia stem cells,” Protein Eng Des Sel. 25:561-9；PCT公開WO 2015/026892)；gpA33和CD3 (例如，WO 2015/026894)；以及三特異性分子(參見，例如，WO 2015/184203；和WO 2015/184207)。

VI. 生產方法

【0387】 本發明分子最優選地通過重組表達編碼這類多肽的核酸分子來產生，如本領域眾所周知的。

【0388】 本發明多肽可使用固相肽合成法被方便地製備(Merrifield, B. (1986) “Solid Phase Synthesis,” Science 232(4748):341-347；Houghten, R.A. (1985) “General Method For The Rapid Solid-Phase Synthesis Of Large Numbers Of Peptides: Specificity Of Antigen-Antibody Interaction At The Level Of Individual Amino Acids,” Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 82(15):5131-5135；Ganesan, A. (2006) “Solid-Phase Synthesis In The Twenty-First Century,” Mini Rev. Med. Chem. 6(1):3-10)。

【0389】 可重組製備抗體和使用本領域已知的任何方法表達。可如下經重組製備抗體：首先從宿主動物分離製備的抗體，獲得基因序列，和使用基因序列在宿主細胞(例如，CHO細胞)中重組表達抗體。可採用的另一方法是在植物(例如，煙草)或轉基因奶中表達抗體序列。用於在植物或奶中重組表達抗體的適當

的方法已經被公開了(見，例如Peeters等(2001) “Production Of Antibodies And Antibody Fragments In Plants,” Vaccine 19:2756；Lonberg, N.等(1995) “Human Antibodies From Transgenic Mice,” Int. Rev. Immunol 13:65-93；和Pollock等(1999) “Transgenic Milk As A Method For The Production Of Recombinant Antibodies,” J. Immunol Methods 231:147-157)。製備抗體衍生物，例如，人源化抗體、單鏈抗體等的適當的方法是本領域已知的，並且已經在上面描述過了。在另一可選方案中，可通過噬菌體展示技術重組製備抗體(見，例如，美國專利號5,565,332、5,580,717、5,733,743、6,265,150；和Winter, G.等(1994) “Making Antibodies By Phage Display Technology,” Annu. Rev. Immunol. 12:433-455)。

【0390】 包含感興趣的多核苷酸(例如，編碼本發明的結合分子的多肽鏈的多核苷酸)的載體可通過一些適當手段中的任意手段被引入到宿主細胞中，所述適當手段包括電穿孔；採用氯化鈣、銣氯化物、磷酸鈣、DEAE-葡聚糖或其他物質的轉染；微彈轟擊(microprojectile bombardment)；脂轉染；和感染(例如，在載體是感染劑諸如痘苗病毒的情況下)。引入載體或多核苷酸的選擇常常取決於宿主細胞的特徵。

【0391】 能夠過表達異源DNA的任何宿主細胞均可用於表達感興趣的多肽或蛋白質的目的。合適的哺乳動物宿主細胞的非限制性例子包括但不限於COS、HeLa和CHO細胞。

【0392】 本發明包括包含本發明結合分子的氨基酸序列的多肽。可通過本領域已知的程式製備本發明的多肽。可通過抗體的蛋白水解或其他降解、如上述的重組方法(即，單個或融合多肽)或化學合成來產生多肽。抗體的多肽，尤其地，上至約50個氨基酸的較短的多肽，通過化學合成被常規製備。化學合成方

法在本領域中是已知的，並且是商業上可得到的。

【0393】 本發明包括所公開的結合分子的變體，包括不明顯影響這類分子的特性的功能上等同的多肽以及具有增強的或降低的活性的變體。多肽的修飾在本領域中是常規操作，因而不需要在本文詳細描述。修飾的多肽的實例包括這樣的多肽：其具有氨基酸殘基的保守取代、未明顯有害改變功能活性的氨基酸的一個或多個缺失或添加，或使用化學類似物。可彼此保守取代的氨基酸殘基包括但不限於：甘氨酸/丙氨酸；絲氨酸/蘇氨酸；纈氨酸/異亮氨酸/亮氨酸；天冬醯胺/穀氨醯胺；天冬氨酸/谷氨酸；賴氨酸/精氨酸；和苯基丙氨酸/酪氨酸。這些多肽還包括糖基化和非糖基化多肽以及具有其它翻譯後修飾的多肽，所述其它翻譯後修飾，諸如例如，用不同糖進行糖基化、乙醯化和磷酸化。優選地，氨基酸取代應該是保守的，即，取代的氨基酸會具有與原始氨基酸類似的化學性質。這樣的保守取代在本領域中是已知的，並且已經在上文提供實例。氨基酸修飾範圍可從改變或修飾一個或多個氨基酸到區域諸如可變結構域的完全重新設計(redesign)。可變結構域中的變化可改變結合親和力和/或特異性。修飾的其它方法包括利用本領域中已知的偶合技術，包括但不限於酶促手段、氧化取代和螯合。修飾可用於例如，連接標籤用於免疫分析，諸如連接放射性部分用於放射免疫分析。修飾的多肽利用本領域中確定的方法製備，並且可利用本領域中已知的標準測定來篩選。

【0394】 本發明包括包含下述抗體的VH和/或VL結構域中的一個或多個的融合蛋白，所述抗體為：結合至PD-1(或PD-1的天然配體)的抗體、或結合至效應細胞的細胞表面分子的抗體、或結合至疾病抗原(例如，癌抗原或病原體相關抗原)的抗體。在一個實施方式中，提供包括輕鏈、重鏈或輕鏈和重鏈兩者的融

合多肽。在另一實施方式中，融合多肽包含異源免疫球蛋白恆定區。在另一實施方式中，融合多肽包含由公開保藏的雜交瘤產生的抗體的VH和VL結構域。為了本發明的目的，抗體融合蛋白包含特異性結合PD-1(或PD-1的天然配體)或結合至效應細胞的細胞表面分子的一個或多個多肽結構域，並且其包含在天然分子中未連接的另外的氨基酸序列，例如，異源序列或來自另一區域的同源序列。

【0395】 本發明尤其包括綴合至診斷或治療部分的這類結合分子(例如，抗體、雙抗體、三價結合分子等)。為了診斷目的，本發明結合分子可偶聯至可檢測檢測的物質。這類結合分子可用於作為臨床測試程式的一部分檢測監控和/或預測疾病的發展或進展，如測定具體療法的功效。可檢測檢測的物質的實例包括各種酶(例如，辣根過氧化物酶、 β -半乳糖苷酶等)、輔基(例如，抗生素蛋白/生物素)、螢光物質(例如，傘形酮、螢光素或藻紅蛋白)、發光物質(例如，魯米諾)、生物發光物質(例如，螢光素酶或水母發光蛋白)、放射物質(例如，碳-14、錳-54、鋇-85或鋅-65)、正電子發射金屬和非放射性順磁金屬離子。可檢測檢測的物質可直接偶聯或綴合至結合分子或使用本領域已知的技術通過中間體(例如，連接體)間接偶聯或綴合至結合分子。

【0396】 為了治療目的，本發明結合分子可以與治療部分如細胞毒素(例如細胞生長抑制劑或殺細胞劑)、治療劑或放射性金屬離子(例如 α -發射體)綴合。細胞毒素或細胞毒性劑包括對細胞有害的任何試劑，例如假單胞菌外毒素、白喉毒素、肉毒桿菌毒素A至F、蓖麻毒蛋白相思豆毒蛋白、肥皂草毒蛋白和這些試劑的細胞毒性片段。治療劑包括具有預防性或治療性治療病症的治療效果的任何試劑。這樣的治療劑可以是化學治療劑、蛋白質或多肽治療劑，並且包括具有所需生物活性和/或改變給定生物應答的治療劑。治療劑的實例包括烷化

劑、血管生成抑制劑、抗有絲分裂劑、激素治療劑和用於治療細胞增殖性病症的抗體。治療部分可以使用本領域已知的技術與結合分子直接偶聯或綴合，或通過中間體(例如，連接體)與結合分子間接偶聯或綴合。

VII. 本發明結合分子的用途

【0397】 如以上討論的，能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子和能夠介導對靶細胞(即，癌細胞或病原體感染的細胞)的重定向細胞殺傷的分子可用於治療目的，例如在患有癌症或感染的受試者中用於治療目的。因此，本發明結合分子具有治療疾病或病況的能力，所述疾病或病況與這類靶細胞表面上的疾病抗原(尤其是癌抗原或病原體相關抗原)的表達有關或特徵為這類靶細胞表面上的疾病抗原(尤其是癌抗原或病原體相關抗原)的表達。因此，非限制性地，可採用本發明結合分子治療癌症，尤其是特徵為癌抗原的表達的癌症。可採用本發明結合分子治療感染，尤其是特徵為病原體相關抗原的表達的感染。

【0398】 具體的，本發明包括這類方法，其中能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子包含能夠結合PD-1的抗體的表位-結合結構域或能夠結合PD-1的天然配體的抗體的表位-結合結構域，並且其中能夠介導重定向殺傷的分子包含能夠結合效應細胞(例如，輔助T細胞、細胞毒性T細胞、天然殺傷(NK)細胞、漿細胞(分泌的抗體B細胞)、巨噬細胞和粒細胞)的細胞表面分子(例如，CD2、CD3、CD8、CD16、TCR、NKG2D等)的表位-結合結構域，並且也包含能夠結合靶細胞表面上的疾病抗原(具體的，癌抗原或病原體相關抗原)以介導對靶細胞的重定向殺傷(例如，通過介導重定向細胞殺傷(例如，重定向T細胞毒性))的表位-結合結構域。

【0399】 在具體的實施方式中，能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子

是抗體，並且能夠介導重定向細胞殺傷的分子是雙抗體。在另一具體實施方式中，能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子是抗體，並且能夠介導重定向細胞殺傷的分子是三價結合分子。

【0400】 在具體的實施方式中，能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子是雙抗體並且能夠介導重定向細胞殺傷的分子是雙抗體。在另一具體實施方式中，能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子是雙抗體並且能夠介導重定向細胞殺傷的分子是三價結合分子。

【0401】 在一個實施方式中，能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子和能夠介導重定向細胞殺傷的分子被同時施用。如本文使用的，這類“同時”施用意圖表示：

(A) 施用包含能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子和能夠介導重定向細胞殺傷的分子二者的單一藥物組合物；或

(B) 分開施用兩種或多種藥物組合物，其中一種組合物包含能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子，並且其中另一種組合物包含能夠介導重定向細胞殺傷的分子，其中組合物在48小時期間內被施用。

【0402】 在第二實施方式中，分子被“順序地”施用(例如，施用能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子，並且，在隨後的時間，施用能夠介導重定向細胞殺傷的分子，或反之亦然)。在這類順序施用中，在施用第一施用的組合物後至少48小時或更久施用第二施用的組合物。

【0403】 “提供治療(providing therapy)”或“治療(treating)”指任何與有益或期望結果的任何跡象有關的組合物的施用，所述有益或期望結果包括而不限於任何臨床結果，如減少由疾病導致的症狀、減弱感染的症狀(例如，病毒載量、

發燒、疼痛、敗血症等)、縮小腫瘤尺寸(在癌症的背景中,例如,乳房腫瘤、胃癌或前列腺癌)、延遲癌細胞生長、延緩轉移的發作、發展或進展、減少由疾病導致的症狀、提高接收受試者的生活品質、減少被提供來治療受試者的疾病的其它藥物的劑量、增強另一藥物的作用如通過靶向和/或內在化、延緩疾病的進展和/或延長接收受試者的生存期(survial)。

【0404】 用於治療的受試者包括動物,最優選哺乳動物物種如非靈長類動物(例如,牛、馬、貓、犬、齧齒動物等)或靈長類動物(例如,食蟹猴,人等)。在優選的實施方式中,受試者是人。

【0405】 可通過本發明各種實施方式治療的示例性病症包括但不限於增殖性疾病、細胞增殖疾病和癌症(尤其是表達由能夠介導重定向細胞殺傷的分子結合的癌抗原的癌症)、病原體相關疾病(尤其是與由能夠介導重定向細胞殺傷的分子結合的病原體相關抗原的表達有關的慢性病毒感染)。在各種實施方式中,本發明包括用於治療、預防或管理受試者的疾病或病症的方法和組合物,包括施予受試者治療有效量的能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子和能夠介導對靶細胞(例如,腫瘤細胞、病原體感染細胞或外源細胞)的重定向殺傷的分子。這類分子的組合尤其可用於預防、抑制、減少原發腫瘤的生長或復原和腫瘤的轉移,並且可用於減少病原體載量或消除病原體感染的細胞。雖然不意欲被具體的作用機制所限制,但是這類分子可介導抵抗靶細胞的效應子功能,促進針對靶細胞的免疫系統的啟動,交聯靶細胞上的細胞表面抗原和/或受體並且提高凋亡或負生長調節信號轉導或其組合,導致靶細胞的清除和/或數量減少。

【0406】 可通過本發明分子和本發明方法治療的癌症包括但不限於：**腎上腺癌症**,包括但不限於,嗜鉻細胞瘤(pheochromocytom)或腎上腺皮質癌;**AIDS**

相關癌症；軟組織腺泡狀肉瘤(alveolar soft part sarcoma)；星形細胞瘤；基底癌(basal cancer)；膀胱癌，包括但不限於，移行細胞癌、鱗狀細胞癌、腺癌或癌肉瘤；骨肉瘤和結締組織肉瘤，如但不限於，骨肉瘤(bone sarcoma)\骨肉瘤(osteosarcoma)、軟骨肉瘤、尤文氏肉瘤、惡性巨細胞瘤、骨的纖維肉瘤、脊索瘤、骨膜肉瘤、軟組織肉瘤、血管肉瘤(血管內皮瘤)、纖維肉瘤、卡波西肉瘤、平滑肌肉瘤、脂肪肉瘤、淋巴管肉瘤、神經鞘瘤、橫紋肌肉瘤或滑膜肉瘤；腦癌，包括但不限於，神經膠質瘤、星形細胞瘤、腦幹神經膠質瘤、室管膜細胞瘤、少突神經膠質瘤、非神經膠質腫瘤(nonglial tumor)、聽神經瘤、顱咽管癌、成神經管細胞瘤、腦膜瘤、成松果體細胞瘤(pineocytoma)、松果體母細胞瘤(pineoblastoma)或原發性腦淋巴瘤；腦和脊髓癌；乳腺癌，包括但不限於，腺癌、小葉(小細胞)癌、導管內癌(intraductal carcinoma)、乳腺髓樣癌、乳腺黏液癌、管狀乳腺癌、乳頭狀乳腺癌(papillary breast cancer)、派傑病或炎性乳腺癌；動脈體瘤；宮頸癌，包括但不限於，鱗狀細胞癌或腺癌；膽管癌，包括但不限於，乳突狀、結節性膽管癌或彌漫性膽管癌；軟骨肉瘤；脊索瘤；嫌色腎細胞癌；透明細胞癌；結腸癌；結直腸癌；皮膚良性纖維組織細胞瘤；促結締組織增生性小圓細胞腫瘤；室管膜細胞瘤；眼癌，包括，但不限於眼黑素瘤如虹膜黑素瘤、脈絡膜黑素瘤和睫狀體黑素瘤和成視網膜細胞瘤；食管癌，包括但不限於鱗癌、腺癌、腺樣囊性癌(adenoid cystic carcinoma)、黏液表皮樣癌、腺鱗癌、肉瘤、黑素瘤、漿細胞瘤、疣狀癌(verrucous carcinoma)和燕麥細胞(小細胞)癌；尤文氏腫瘤；骨骼外黏液樣軟骨肉瘤；不完全性骨纖維生成；骨纖維異常增殖症；膽囊癌或膽管癌，包括但不限於腺癌；胃癌；妊娠期滋養層病；生殖細胞腫瘤；頭頸癌；肝細胞癌；重鏈病；胰島細胞瘤；卡波西肉瘤；白血病，包括但不限

於急性白血病；**急性淋巴細胞性白血病**；**急性髓細胞性白血病**，如，但不限於成髓細胞性白血病、早幼粒細胞白血病、骨髓單核細胞性白血病、單核細胞性白血病或紅白血病或脊髓增生異常綜合征；**慢性白血病**，如但不限於慢性髓細胞(粒細胞)白血病、慢性淋巴細胞性白血病、毛細胞白血病；**脂肪瘤/良性脂肪腫瘤**；**脂肪肉瘤/惡性脂肪腫瘤**；**肝癌**，包括但不限於肝細胞癌或肝母細胞癌；**淋巴瘤**，如但不限於霍奇金病；**非霍奇金病**；**肺癌**，包括但不限於非小細胞肺癌、鱗狀細胞癌(表皮樣癌)、腺癌、大細胞肺癌或小細胞肺癌；**成神經管細胞瘤**；**黑素瘤**；**腦膜瘤**；**良性單克隆性丙種球蛋白病**；**意義未明的單克隆性丙種球蛋白病**；**多發性內分泌瘤**；**多發性骨髓瘤**，如但不限於鬱積型多發性骨髓瘤、非分泌性骨髓瘤、骨硬化性骨髓瘤、漿細胞白血病、孤立性漿細胞瘤和髓外漿細胞瘤；**脊髓增生異常綜合征**；**成神經細胞瘤**；**神經內分泌腫瘤**；**口腔癌**，包括但不限於鱗狀細胞癌；**卵巢癌**，包括但不限於卵巢上皮癌、交界瘤、生殖細胞腫瘤和間質腫瘤；**胰腺癌**，包括但不限於胰島瘤、胃泌素瘤、胰高血糖素瘤、血管活性腸肽瘤(vipoma)、促生長素抑制素分泌腫瘤或類癌瘤或胰島細胞瘤；**甲狀旁腺腫瘤**；**兒科癌症**；**嚴重癌症(penal cancer)**；**周圍神經鞘瘤**；**嗜鉻細胞瘤**；**咽喉癌**，包括但不限於鱗狀細胞癌或疣狀癌；**垂體癌**，包括但不限於，庫欣病、催乳素分泌腫瘤(prolactin-secreting tumor)、肢端肥大症或糖尿病尿崩症(insipius)腫瘤；**前列腺癌**，包括但不限於腺癌、平滑肌肉瘤或橫紋肌肉瘤；**真性紅細胞增多症(polycythemia vera)**；**後葡萄膜黑素瘤(posterious uveal melanoma)**；**罕見血液病症**；**腎癌**，包括但不限於腺癌、腎上腺樣瘤(hypernephroma)、纖維肉瘤、腎轉移性癌症或移行細胞癌(腎盂和/或uterer)；**橫紋肌樣瘤**；**唾腺癌**，包括但不限於腺癌、黏液表皮樣癌或腺樣囊性癌；**肉瘤**；**皮膚癌症**，包括但不限於基底

細胞癌、鱗狀細胞癌和黑素瘤、淺表擴散性黑素瘤、結節性黑素瘤、雀斑樣惡性黑素瘤或肢端黑素瘤；**軟組織肉瘤**；**鱗狀細胞癌**；**胃癌**，包括但不限於腺癌、蕈狀(息肉樣)、潰瘍性、淺表擴散性、彌漫擴散性或惡性淋巴瘤、脂肪肉瘤、纖維肉瘤和癌肉瘤；**滑膜肉瘤**；**睪丸癌**，包括但不限於胚組織瘤、精原細胞瘤、未分化癌(anaplastic)、傳統(典型)癌、精母細胞性腫瘤、非精原細胞瘤、胚胎性癌、畸胎瘤或絨毛膜癌(卵巢內胚層囊瘤(yolk-sac tumor))；**胸腺癌**；**胸腺瘤**；**甲狀腺癌**，如但不限於乳頭狀甲狀腺癌或濾泡甲狀腺癌、轉移性甲狀腺癌、甲狀腺髓質癌或未分化甲狀腺癌；**子宮癌**，包括但不限於子宮內膜癌或子宮肉瘤；**陰道癌**，包括但不限於鱗狀細胞癌、腺癌或黑素瘤；**外陰癌**，包括但不限於鱗狀細胞癌、黑素瘤、腺癌、基底細胞癌、肉瘤或派傑病；**華氏巨球蛋白血症(Waldenström macroglobulinemia)**或**威爾姆斯瘤**。另外，癌症包括黏液肉瘤、骨源性肉瘤、內皮肉瘤(endotheliosarcoma)、淋巴管內皮肉瘤(lymphangio-endotheliosarcoma)、間皮瘤、滑膜瘤、成血管細胞瘤、上皮癌、囊腺癌、支氣管癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭狀癌和乳頭狀腺癌(對於這類病症的綜述，參見Fishman等人, 1985, Medicine, 第二版, J.B. Lippincott Co., Philadelphia 和 Murphy 等人, 1997, Informed Decisions: The Complete Book of Cancer Diagnosis, Treatment, and Recovery, Viking Penguin, Penguin Books U.S.A., Inc.)。

【0407】 具體的，本發明結合分子可用於治療腎癌、膀胱癌、乳腺癌、結直腸癌、胃癌、成膠質細胞瘤、腎癌、非小細胞肺癌、急性淋巴細胞性白血病、急性髓細胞樣白血病、慢性淋巴細胞性白血病、慢性骨髓樣白血病、毛細胞白血病、伯基特淋巴瘤、彌散性大B細胞淋巴瘤、濾泡淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、邊緣區淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、小淋巴細胞性淋巴瘤、多發性骨髓瘤、黑素瘤、

卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、皮膚癌、腎細胞癌、睪丸癌症和子宮癌。

【0408】 可由本發明LAG-3-結合分子治療的病原體相關疾病包括慢性病毒、細菌、真菌和寄生蟲感染。可由本發明LAG-3-結合分子治療的慢性感染包括愛潑斯坦-巴爾病毒(Epstein Barr virus)、甲肝病毒(HAV)；乙肝病毒(HBV)；丙肝病毒(HCV)；疱疹病毒(例如HSV-1、HSV-2、HHV-6、CMV)、人免疫缺陷病毒(HIV)、水泡性口炎病毒(VSV)、芽孢桿菌綱、檸檬酸桿菌屬、霍亂、白喉、腸桿菌屬、淋球菌、幽門螺旋桿菌、克雷伯氏菌屬、軍團菌屬、腦膜炎球菌、分歧桿菌、假單胞菌屬、Pneumonococci、立克次氏體細菌、沙門氏菌屬、沙雷菌屬、葡萄球菌屬、鏈球菌屬、破傷風、曲黴菌屬(煙麴黴、黑麴黴等)、皮炎芽生菌、念珠菌屬白色念珠菌、克柔假絲酵母、光滑念珠菌、熱帶念珠菌等)、新生隱球菌、毛黴目的屬、犁頭黴屬、根黴屬)、申克氏胞絲菌、巴西芽生菌、粗球黴菌、莢膜組織胞漿菌、細螺旋體病、包柔氏螺旋體、蠕蟲寄生蟲(鉤蟲、條蟲、吸蟲、扁形蟲(例如血吸蟲)、藍氏賈第蟲、旋毛蟲、脆雙核阿米巴、布氏錐蟲、克氏錐蟲和杜氏利什曼蟲。

VIII. 藥物組合物

【0409】 本發明包括這類組合物，其包含能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子、能夠介導對腫瘤細胞的重定向殺傷的分子，或這類分子的組合物。本發明的組合物包括原料藥物組合物，其可用於製造藥物組合物(例如，不純的或非無菌組合物)和可用於製備單位劑型的藥物組合物(即，適於施用至受試者或患者的組合物)。這類組合物包含預防或治療有效量的能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子、能夠介導對靶細胞(例如，癌細胞、病原體感染細胞等)的重定向殺傷的分子，或這類劑的組合以及藥學可接受的載體。優選地，本發明組合物

包含預防或治療有效量的本發明結合分子和藥學可接受的載體。在優選的方面，這類組合物是基本上純的(即，基本上沒有限制其效果或產生不期望的副作用的物質)。

【0410】 在多於一種治療劑被施用的情況下，這些劑可在相同的製劑中被製備在一起或可被製備為單獨的組合物。因此，在一些實施方式中，能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子和能夠介導對靶細胞(例如，癌細胞、病原體感染細胞等)的重定向殺傷的分子在相同的藥物組合物中被製備在一起。在可選的實施方式中，分子在單獨的藥物組合物中被製備。

【0411】 能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子、能夠介導對靶細胞(例如，癌細胞、病原體感染細胞等)的重定向殺傷的分子或這類分子的組合的各種製劑可用於施用。除了藥學活性劑(一種或多種)，本發明組合物還可包含合適的藥學可接受的載體，所述載體包括賦形劑和輔助劑，所述賦形劑和輔助劑是本領域中已知的並且是相對惰性的物質，其促進藥學有效物質的施用或有助於活性化合物加工成在被製藥上用於遞送至作用位點的製劑。例如，賦形劑可具有給定的形式或稠度，或用作稀釋劑。合適的賦形劑包括但不限於穩定劑、潤濕劑和乳化劑、用於改變滲透壓的鹽、封裝劑、緩衝劑和皮膚滲透增強劑。

【0412】 在具體的實施方式中，術語“**藥學上可接受的**”表示獲得聯邦政府或州政府管理機構的許可或列於美國藥典(U.S. Pharmacopeia)或其他通常獲得認可的藥典中，供用於動物，特別是用於人類。術語“**載體**”指與治療劑一起施用的稀釋劑、佐劑(例如弗氏佐劑(完全和不完全)、賦形劑或媒介。一般而言，本發明組合物的成分被單獨提供或以單位劑型混合在一起，例如作為標明活性劑的量的密封容器中的凍乾粉或無水濃縮物，所述密封容器如安瓿或小袋

(sachette)。當通過輸注施用組合物時，其可以用含有無菌的藥學級水或鹽水的輸注瓶分配。如果通過注射施用所述組合物，則可以提供一安瓿注射用無菌水或鹽水，以便可以在施用前混合所述成分。

【0413】 本發明也提供藥物包裝或試劑盒，其包括一個或多個容器，所述容器填充本發明的結合分子，單獨地或與這類藥學上可接受的載體一起。另外，用於治療疾病的一種或多種其他預防劑或治療劑也可包括在藥物包裝或試劑盒中。本發明也提供了這樣的藥物包裝或試劑盒，其包括一個或多個容器，所述容器填充本發明藥物組合物的一種或多種成分。任選地與這類容器(一個或多個)關聯的可以是管理藥物或生物產品的製造、使用或銷售的政府機構規定的形式的佈告(notice)，所述佈告反映了管理機構許可用於人類施用的製造、使用或銷售。

【0414】 本發明提供了可用於上述方法的試劑盒。試劑盒可以包括本發明的任何結合分子。試劑盒可在一個或多個容器中進一步包括可用於治療癌症的一種或多種其他預防劑和/或治療劑。

IX. 施用方法

【0415】 通過向受試者施用有效量的包含本發明能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子的藥物組合物，和包含本發明能夠介導對腫瘤細胞的重定向殺傷的分子的藥物組合物；或包括本發明這類分子的組合的藥物組合物，可提供本發明組合物用於治療、預防和改善與疾病、病症或感染有關的一種或多種症狀。在優選的方面，這類組合物基本上是純的(即，基本上不含限制其效果或產生不期望的副作用的物質)。在具體實施方式中，受試者是動物，優選哺乳動物，如非靈長類(例如牛、馬、貓科動物、犬科動物、齧齒動物等)或靈長類(例如，

猴子，如食蟹猴、人等)。在優選的實施方式中，受試者是人。

【0416】 施用本發明的分子或組合物的方法包括但不限於腸胃外施用(例如皮內、肌肉、腹腔內、靜脈內以及皮下)、硬膜外以及黏膜(例如鼻內和口腔途徑)。在具體實施方式中，本發明的結合分子經肌肉、靜脈內或皮下施用。組合物可以通過任何方便途徑施用，例如通過輸注或彈丸注射、通過上皮或黏膜皮膚被覆(lining)(例如口腔黏膜、直腸和腸黏膜等)吸收，並且可以與其他生物活性劑一起施用。給藥可以是全身的或局部的。

【0417】 本發明也使得本發明的結合分子的製劑包裝在密封容器中，比如指示分子的數量的安瓿或小袋中。在一個實施方式中，這樣的分子作為凍幹無菌粉或無水濃縮物提供於密封容器中，並且可以用例如水或鹽水重構至適當濃度，用於施用於受試者。優選地，本發明的結合分子作為無菌凍幹粉末提供在密封容器中。

【0418】 本發明結合分子的凍幹製劑應在它們的初始容器中儲存在2°C和8°C之間，並且分子應該在重構之後12小時內，優選地6小時內、5小時內、3小時內或1小時內施用。在可選的實施方式中，這樣的分子以液體形式提供在指示分子、融合蛋白或綴合分子的量和濃度的密封容器中。優選地，這類結合分子在以液體形式提供時，被供應在密封容器中。

【0419】 可通過標準臨床技術確定本發明的這類製劑有效治療、預防或改善與病症相關的一個或多個症狀的量。製劑中採用的精確劑量還將取決於施用的路徑和病況的嚴重性，並且應根據從業者的判斷和每個患者的情況決定。有效的劑量可從源自體外或動物模型測試系統的劑量回應曲線推斷。

【0420】 如本文使用的，藥物組合物的“有效量”是足以實現有益或期望的結果的量，所述結果包括但不限於臨床結果，比如減少源自疾病的症狀、減少感染的症狀(例如，病毒量、發燒、疼痛、敗血症等)或癌症的症狀(例如，癌細

胞的增殖、腫瘤存在、腫瘤轉移等)，從而提高遭受疾的患者的生命品質，降低治療疾病需要的其他藥物治療的劑量、比如經靶向和/或內化增強另一藥物的作用、延遲疾病的進展，和/或延長個體的生存期。當應用於單獨施用的單一活性成分時，該術語僅指該成分。當應用於組合物時，該術語指無論連續地或同時地組合施用，引起治療效果的活性成分的組合的量。

【0421】 可在一次或多次施用中施加有效量。為了本發明的目的，藥物、化合物或藥物組合物的有效量是這樣的量，所述量足以：直接或間接地殺傷和/或減少癌症細胞的增殖，和/或消除、降低和/或延遲從癌症的原發位點(primary site)轉移的發展；或減少感染病原體的增殖(或影響)和降低和/或延遲病原體介導的疾病的發展。在一些實施方式中，藥物、化合物或藥物組合物的有效量可聯合或不聯合另一藥物、化合物或藥物組合物實現。因此，“有效量”可在施用一種或多種化療劑的背景下考慮，並且如聯合一種或多種其他劑，可實現或實現期望的結果，則單劑可視為以有效量施用。儘管個體的需要不同，但是測定每種組分的有效量的最佳範圍是本領域技術人員已知的。

【0422】 對於本發明包括的結合分子，施用於患者的劑量優選基於接受受試者的體重(kg)確定。對於本發明包括的ROR1-結合分子，施用於患者的劑量通常為受試者體重的約0.01 µg/kg至約30 mg/kg或更多。

【0423】 可通過修飾比如，例如脂質化而增強分子的吸收和組織滲透，來減少或改變本發明的結合分子的給藥劑量和頻率。

【0424】 對於用作單劑療法，可計算向患者施用的本發明的結合分子的劑量。可選地，分子可與其他治療組合物聯合使用，並且向患者施用的劑量小於當所述分子用作單劑療法時的劑量。

【0425】 本發明藥物組合物可被局部施用至需要治療的區域；這可通過例如，但不限於下述方式實現：局部注入、通過注射、或通過植入物的手段，所

述植入物是多孔的、非多孔的或膠狀材料，包括膜，比如矽橡膠膜或纖維。優選地，當施用本發明的分子時，必須注意使用不吸收該分子的材料。

【0426】 本發明組合物可以在泡狀體(vesicle)，尤其是脂質體中遞送(見 Langer (1990) “*New Methods Of Drug Delivery*,” *Science* 249:1527-1533)；Treat等, 在 *Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer*, Lopez-Berestein和 Fidler (編輯), Liss, New York, 353- 365頁(1989)中；Lopez-Berestein, 同上, 317-327 頁)。

【0427】 在本發明的組合物是編碼本發明的結合分子的核酸的情況下，核酸可被體內施用，以通過如下方式促進其編碼的結合分子的表達：將其構建為適當的核酸表達載體的一部分並且施用其從而其成為細胞內的，例如，通過使用逆轉錄病毒載體(見美國專利號4,980,286)，或通過直接注射，或通過使用微粒轟擊(例如，基因槍；生物彈道技術(Biolistic), Dupont)，或用脂質或細胞表面受體或轉染試劑塗覆，或通過與已知進入核的同源框樣肽聯合施用(見例如，Joliot 等(1991) “*Antennapedia Homeobox Peptide Regulates Neural Morphogenesis*,” *Proc. Natl. Acad.Sci. (U.S.A.)* 88:1864-1868)等。可選地，可以將核酸引入細胞內並通過同源重組整合到宿主細胞DNA中，以進行表達。

【0428】 用治療或預防有效量的本發明的結合分子對受試者的治療可包括單治療，或優選地，可包括一系列治療。在優選的實施例中，用本發明的藥物組合物治療受試者，持續約1至10周，優選地2至8周，更優選地約3至7周，和甚至更優選地持續約4、5或6周。本發明的藥物組合物可以每天施用一次，其中這樣的給藥每週發生一次、每週發生兩次、每兩周發生一次、每月發生一次、每六周發生一次、每兩月發生一次、每年發生兩次或每年發生一次等。可選地，本發明的藥物組合物可每天施用兩次，其中這樣的給藥每週發生一次、每週發生兩次、每兩周發生一次、每月發生一次、每六周發生一次、每兩月發生一次、

每年發生兩次或每年發生一次等。可選地，本發明的藥物組合物可每天施用三次，其中這樣的給藥每週發生一次、每週發生兩次、每兩周發生一次、每月發生一次、每六周發生一次，每兩月發生一次、每年發生兩次或每年發生一次等。還應當理解，用於治療的分子的有效劑量可以在特定治療過程中增加或減少。

實施例

【0429】 現在已經大體上描述了本發明，通過參照下述實施例可更容易理解本發明，所述實施例以示例的方式提供，並不意欲限制本發明，除非指出。

實施例1

聯合治療研究：LOX-IMVI腫瘤模型

【0430】 為了闡釋本發明的原理，使用重建的腫瘤模型進行聯合治療研究，在所述腫瘤模型中，LOX-IMVI人轉移性黑素瘤癌細胞被皮下注射至經人PBMC重構的MHCII^{-/-}小鼠中。然後向小鼠施用媒介物或下述的治療：

- (1) 人源化抗-人PD-1抗體：**hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4(P)**，這類抗體是能夠結合PD-1的分子；和/或
- (2) CD3 x B7-H3雙特異性雙抗體**DART-A**，這類雙抗體是能夠結合效應細胞的細胞表面分子(即，CD3)並且能夠結合癌抗原(即，B7-H3)的分子，從而能夠介導對表達B7-H3的癌細胞的重定向殺傷。

這類施用的分子的氨基酸序列如上描述。**表11**顯示了該研究的參數。每組由6只雌性小鼠組成。對於所有組，小鼠接受 5×10^6 LOX-IMVI癌細胞(ID；在研究的第33天施用)和 10^6 人PBMC (IP；在研究的第0天施用)。每週提供治療(在研究的第42天開始施用的分子(一種或多種)或媒介物)，達三個劑量(Q7Dx3)；通過靜脈注射施用劑量。

表11		
組	施用的劑量(mg/kg)	
	hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4(P)	DART-A
1	0	0
2	0	0.5
3	1.0	0
4	1.0	0.5

【0431】 測量隨著時間變化的腫瘤體積。圖7顯示該研究的結果，並且證明聯合療法相對於僅施用hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4(P)或僅使用DART-A具有不可預料的益處。

實施例2

聯合治療研究：Detroit562腫瘤模型

【0432】 為了進一步闡釋本發明的原理，使用重建的腫瘤模型進行聯合治療研究，在所述腫瘤模型中，Detroit562人轉移性咽癌細胞被皮下注射至經人PBMC重構的MHCI^{-/-}小鼠中。然後向小鼠施用媒介物對照，1 mg/kg hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4(P)、0.5 mg/kg DART-A或1 mg/kg hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4(P)和0.5 mg/kg DART-A二者。表12顯示該研究的參數。每組由8只雄性小鼠組成。對於所有組，小鼠接受5 x 10⁶ Detroit562癌細胞(ID)和10⁶人PBMC (IP；在研究的第0天施用)。每週提供治療(在研究的第7天開始施用的分子(一種或多種)或媒介物)，進行四周(Q7Dx4)，或每14天提供治療一次，達兩個劑量(Q14Dx2)；通過靜脈注射施用劑量。

表12

組	劑量方案	施用的劑量(mg/kg)	
		hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4(P)	DART-A
1	Q7Dx4	0	0
2	Q7Dx4	1.0	0
3	Q7Dx4	0	0.5
4	Q14Dx2	0	0.5
5	Q7Dx4	1.0	0.5
6	Q14Dx2	1.0	0.5

【0433】 測量隨著時間變化的腫瘤體積。圖8A-8B顯示該研究的結果，其再次證明聯合療法相對於僅施用hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4(P)或僅使用DART-A具有不可預料的益處。圖8A顯示組1-3和5的結果；圖8B顯示組1-4和6的結果。

【0434】 小鼠中CD3⁺細胞的濃度在研究結束時測定。令人驚訝地發現，這類細胞的濃度在已經接受聯合療法的小鼠中已經增加(圖9)，從而表明本發明療法已經增強了動物的免疫應答。

實施例3

信號傳導模型

【0435】 為了進一步闡釋本發明的原理，在T細胞/腫瘤細胞共培養系統中使用Jurkat-luc-NFAT/腫瘤細胞螢光素酶報告測定來檢驗協作的T細胞信號轉導。簡言之，將表達PD-1和B7-H3的MDA-MB-231腫瘤靶細胞與MNFAT-luc2/PD-1 Jurkat T細胞以1:1 (圖10A)或3:1 (圖10B)的效應子：靶細胞比混合，並且在存在增加濃度的DART-A的情況下，單獨培養或與固定濃度(12.5 nM)的PD-1結合分子hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4(P)、DART-1、對照抗體一起培養。

發光作為細胞啟動和信號轉導的指示(indicator)被測量。圖10A-10B顯示了該研究的結果，其證明了能夠結合PD-1的分子(例如，**hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4(P)**、**DART-1**)和能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的分子(例如，**DART-A**)的組合增強了效應細胞信號轉導活性。

實施例4

聯合治療研究：在A375腫瘤模型中比較正常T細胞與無反應性T細胞

【0436】 為了進一步闡釋本發明的原理，使用重建的腫瘤模型進行聯合治療研究，在所述腫瘤模型中，A375人黑色素瘤細胞被皮下注射至經啟動的或無反應性的人T細胞重構的NOG小鼠中。然後向小鼠施用媒介物或下述的治療：

(1) PD-1 x LAG-3雙特異性雙抗體：**DART-2**，這類雙抗體是能夠結合PD-1的分子；和/或

(2) CD3 x IL13R α 2雙特異性雙抗體**DART-B**，這類雙抗體是能夠結合效應細胞的細胞表面分子(即，CD3)並且能夠結合癌抗原(即，IL13R α 2)的分子，從而能夠介導對表達IL13R α 2的癌細胞的重定向殺傷。

【0437】 通過在IL-2的存在下用CD3/CD28啟動珠培養純化的人T細胞，進行兩輪，製備啟動的T細胞。通過在IL-2的存在下用CD3/CD28啟動珠培養純化的人T細胞，進行一輪，接著在沒有IL-2的情況下用CD3/CD28啟動珠培養一輪，製備無反應性的T細胞。小鼠組(n=8只雌性)在研究的第0天接受皮下接種 5×10^6 的A375黑色素瘤細胞(用0.1 μ g/mL IFN γ 預處理24小時)和 5×10^6 人T細胞(啟動的或無反應性的)，並且然後施用媒介物對照、0.5 mg/kg **DART-2**、0.5 mg/kg **DART-B**或0.5 mg/kg **DART-2**和0.5 mg/kg **DART-B**兩者。每週提供治療(施用的分子(一種或多種)或媒介物)，進行四個劑量(Q7Dx4)，或在研究的第0天作為單

治療提供(QD (SD))；通過靜脈注射施用劑量。表13顯示該研究的參數。

表 13				
組	T 細胞	治療	劑量 (mg/kg)	途徑/方案
1	啟動的	媒介物	0	IV/QD (SD0)
2	啟動的	DART-B	0.01	IV/QD (SD0)
3	啟動的	DART-B	0.01	IV/QD (SD0)
		DART-2	0.5	IV/Q7Dx4
4	啟動的	DART-2	0.5	IV/Q7Dx4
5	無反應性的	媒介物	0	IV/QD (SD0)
6	無反應性的	DART-B	0.01	IV/QD (SD0)
7	無反應性的	DART-B	0.01	IV/QD (SD0)
		DART-2	0.5	IV/Q7Dx4
8	無反應性的	DART-2	0.5	IV/Q7Dx4

【0438】 測量隨著時間變化的腫瘤體積。圖11A-11B顯示該研究的結果，證明能夠結合PD-1的分子(例如，hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4(P)、DART-1、DART-2)和能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的分子(例如，DART-A、DART-B)的聯合療法在存在無反應性T細胞的情況下降低腫瘤復發率。這些結果再次證明了能夠結合PD-1的分子和能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的分子的聯合療法相對於單獨施用任一種分子具有不可預料的益處。圖11A顯示用正常活性的T細胞接種的組1-4的結果；圖11B顯示用無反應性T細胞接種的組5-8的結果。

【0439】 本說明書提到的所有出版物和專利通過參考併入本文，達到如同具體和單獨指出每個單個出版物或專利申請通過參考以其整體併入的相同程

度。儘管已經結合其具體實施方式描述了本發明，但是應當理解，其能夠被進一步修改，並且本申請旨在覆蓋大體上根據本發明原理並且包括與本公開的偏離的本發明的任何變型、用途或改變，只要在本發明所屬領域的已知或習慣實踐內並且如可應用至本文之前所闡釋的本質特徵。

【符號說明】

【0440】 無

序列表

<110> 宏觀基因股份有限公司
波維尼,愛利歐
寇尼格,史考特
強生,萊斯利
摩爾,保羅
安德森,瑞夫佛曼

<120> 聯合療法

<130> 1301.0142P2-TW

<150> US 62/432,299

<151> 2016-12-09

<150> US 62/346,854

<151> 2016-06-07

<160> 274

<170> PatentIn 3.5 版本

<210> 1

<211> 98

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(98)

<223> 示例性人 IgG1 CH1 結構域

<400> 1

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val

<210> 2
<211> 98
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(98)
<223> 示例性人 IgG2 CH1 結構域

<400> 2

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val

<210> 3
<211> 98
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(98)
<223> 示例性人 IgG4 CH1 結構域

<400> 3

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val

<210> 4
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (15)
<223> 示例性人 IgG1 鉸鏈結構域

<400> 4

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10 15

<210> 5
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (12)

<223> 示例性人 IgG2 鉸鏈結構域

<400> 5

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 6

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(12)

<223> 示例性人 IgG4 鉸鏈結構域

<400> 6

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro
1 5 10

<210> 7

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 示例性 S228P-穩定化的人 IgG4 鉸鏈結構域

<400> 7

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 8

<211> 217

<212> PRT

<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (217)
<223> 示例性人 IgG1 的 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217).. (217)
<223> XAA 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 8

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

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

115	120	125
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro		
130	135	140
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn		
145	150	155
		160
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu		
	165	170
		175
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val		
180	185	190
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln		
195	200	205
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa		
210	215	

<210> 9
<211> 216
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (216)
<223> 示例性人 IgG2 的 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (216).. (216)
<223> XAA 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 9

Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
1 5 10 15

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
20 25 30

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
35 40 45

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
50 55 60

Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln
65 70 75 80

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
85 90 95

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro
100 105 110

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
115 120 125

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
130 135 140

Asp Ile Ser Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa

210 215

<210> 10

<211> 217

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1).. (217)

<223> 示例性人 IgG3 的 CH2-CH3 結構域

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (217).. (217)

<223> XAA 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 10

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

210 215

<210> 11
<211> 217
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (217)
<223> 示例性人 IgG4 的 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217).. (217)
<223> XAA 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 11

Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
115 120 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Xaa
210 215

- <210> 12
- <211> 107
- <212> PRT
- <213> 智人

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (1)..(107)

<223> 示例性人 CL κ 結構域

<400> 12

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

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

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 13

<211> 104

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(104)

<223> 示例性人 CL λ 結構域

<400> 13

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu
1 5 10 15

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
20 25 30

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val
35 40 45

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
50 55 60

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
65 70 75 80

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
85 90 95

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100

<210> 14

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 優選的間插間隔肽(連接體)

<400> 14

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> 15
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 優選的含半胱氨酸的間隔肽(連接體 2)

<400> 15

Gly Gly Cys Gly Gly Gly
1 5

<210> 16
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 可選的間隔肽(連接體 2)

<400> 16

Gly Gly Gly Ser
1

<210> 17
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 可選的間隔肽(連接體 2)

<400> 17

Leu Gly Gly Gly Ser Gly
1 5

<210> 18
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 可選的間隔肽(連接體 2)

<400> 18

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
1 5 10

<210> 19
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 可選的間隔肽(連接體 2)

<400> 19

Ala Ser Thr Lys Gly
1 5

<210> 20
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 可選的間隔肽(連接體 2)

<400> 20

Leu Glu Pro Lys Ser Ser
1 5

<210> 21

<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 可選的間隔肽(連接體 2)

<400> 21

Ala Pro Ser Ser Ser
1 5

<210> 22
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 異源二聚體促進結構域

<400> 22

Gly Val Glu Pro Lys Ser Cys
1 5

<210> 23
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 異源二聚體促進結構域

<400> 23

Val Glu Pro Lys Ser Cys
1 5

<210> 24
<211> 6

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 異源二聚體促進結構域

<400> 24

Ala Glu Pro Lys Ser Cys
1 5

<210> 25
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 異源二聚體促進結構域

<400> 25

Gly Phe Asn Arg Gly Glu Cys
1 5

<210> 26
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 異源二聚體促進結構域

<400> 26

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
1 5

<210> 27
<211> 28
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> "E-螺旋"異源二聚體促進結構域

<400> 27

Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val
1 5 10 15

Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
20 25

<210> 28

<211> 28

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> "K-螺旋"異源二聚體促進結構域

<400> 28

Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val
1 5 10 15

Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
20 25

<210> 29

<211> 28

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 含半胱氨酸的"E-螺旋"異源二聚體促進結構域

<400> 29

Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val
1 5 10 15

Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
20 25

- <210> 30
- <211> 28
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 含半胱氨酸的“K-螺旋”異源二聚體促進結構域

<400> 30

Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val
1 5 10 15

Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
20 25

- <210> 31
- <211> 46
- <212> PRT
- <213> 停乳鏈球菌 (Streptococcus dysgalactiae)

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (1)..(46)
- <223> 鏈球菌屬(Streptococcus) 菌株 G148 的蛋白質 G 的白蛋白結合結構域 3 (ABD3)

<400> 31

Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly
1 5 10 15

Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asp Asn Ala Lys Ser Ala Glu
20 25 30

Gly Val Lys Ala Leu Ile Asp Glu Ile Leu Ala Ala Leu Pro
35 40 45

<210> 32
<211> 46
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鏈球菌屬菌株 G148 的蛋白質 G 的去免疫化變體白蛋白結合結構域 3 (ABD3)

<400> 32

Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly
1 5 10 15

Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asp Asn Ala Lys Ser Ala Glu
20 25 30

Gly Val Lys Ala Leu Ile Asp Glu Ile Leu Ala Ala Leu Pro
35 40 45

<210> 33
<211> 46
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鏈球菌屬菌株 G148 的蛋白質 G 的去免疫化變體白蛋白結合結構域 (3ABD3)

<400> 33

Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly
1 5 10 15

Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Ala Ala Asn Asn Ala Lys Thr Val Glu
20 25 30

Gly Val Lys Ala Leu Ile Ala Glu Ile Leu Ala Ala Leu Pro
35 40 45

<210> 34
<211> 46
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鏈球菌屬菌株 G148 的蛋白質 G 的去免疫化變體白蛋白結合結構域 3 (ABD3)

<400> 34

Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly
1 5 10 15

Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Ser Asn Ala Lys Ser Val Glu
20 25 30

Gly Val Lys Ala Leu Ile Ala Glu Ile Leu Ala Ala Leu Pro
35 40 45

<210> 35
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 間插間隔肽(連接體)

<400> 35

Ala Pro Ser Ser Ser Pro Met Glu

1 5

<210> 36
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 間插間隔肽(連接體)

<400> 36

Val Glu Pro Lys Ser Ala Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10 15

<210> 37
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 間插間隔肽(連接體)

<400> 37

Leu Glu Pro Lys Ser Ala Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10 15

<210> 38
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 間插間隔肽(連接體)

<400> 38

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 39
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 可選的連接體

<400> 39

Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 40
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 可選的連接體

<400> 40

Leu Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10 15

<210> 41
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 具有 L234A/L235A 取代的示例性人 IgG1 的 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> XAA 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 41

Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
210 215

- <210> 42
- <211> 217
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> "攜帶杵的" IgG1 CH2-CH3 結構域

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (217)..(217)
- <223> XAA 是賴氨酸(K)或不存在

- <400> 42

Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
210 215

<210> 43
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> "攜帶白的" IgG1 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217).. (217)
<223> XAA 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 43

Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

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

100					105					110						
Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	
115					120					125						
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	
130					135					140						
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	
145					150					155					160	
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	
165					170					175						
Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	
180					185					190						
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	Arg	Tyr	Thr	Gln	
195					200					205						
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Xaa								
210					215											

<210> 44
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 優選的間插間隔肽

<400> 44

Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
1				5					10					15

<210> 45
<211> 288
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (288)
<223> 人 PD-1 蛋白質 (NCBI 序列 NP_005009.2), 包括信號序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (20)
<223> 人 PD-1 蛋白質的信號序列 (NCBI 序列 NP_005009.2)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (21).. (288)
<223> 人 PD-1 蛋白質 (NCBI 序列 NP_005009.2) ; 成熟蛋白

<400> 45

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln
1 5 10 15

Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp
20 25 30

Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp
35 40 45

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val
50 55 60

Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala
65 70 75 80

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

Met Gly Thr Ser Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro Arg
245 250 255
260 265 270

Ser Ala Gln Pro Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu
275 280 285

<210> 46
<211> 121
<212> PRT
<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(121)
<223> 鼠科抗-人 PD-1 mAb 1 的 VH 結構域

<400> 46

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

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Phe Ser Ile Thr Asn Asp
20 25 30

Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp
35 40 45

Met Gly His Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

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

Leu Gln Leu Ser Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 47
<211> 6
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (6)
<223> PD-1 mAb 1 的 CDRH1

<400> 47

Asn Asp Tyr Ala Trp Asn
1 5

<210> 48
<211> 16
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (16)
<223> PD-1 mAb 1 的 CDRH2

<400> 48

His Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 49
<211> 12
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(12)
<223> PD-1 mAb 1 的 CDRH3

<400> 49

Asp Tyr Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 50
<211> 106
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(106)
<223> 鼠科抗-人 PD-1 mAb 1 的 VL 結構域

<400> 50

Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Leu Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Thr Ser Ile Val Ser Tyr Val
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Gln Pro Trp Ile Tyr

35 40 45

Leu Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Asp Asn Pro Tyr Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 51
<211> 10
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(10)
<223> PD-1 mAb 1 的 CDRL1

<400> 51

Ser Ala Thr Ser Ile Val Ser Tyr Val Tyr
1 5 10

<210> 52
<211> 7
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (7)
<223> PD-1 mAb 1 的 CDRL2

<400> 52

Leu Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 53
<211> 9
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (9)
<223> PD-1 mAb 1 的 CDRL3

<400> 53

Gln Gln Trp Ser Asp Asn Pro Tyr Thr
1 5

<210> 54
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 hPD-1 mAb 1 VH1 的 VH 結構域

<400> 54

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Ile Ser Asn Asp
20 25 30

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

Ile Gly His Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

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

Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 55
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 hPD-1 mAb 1 VL1 的 VL 結構域

<400> 55

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Thr Ser Ile Val Ser Tyr Val
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Gln Pro Leu Ile Tyr
35 40 45

Leu Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Asp Asn Pro Tyr Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 56
<211> 116
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(116)
<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 2 的 VH 結構域

<400> 56

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

Ser Arg Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Val Phe Ser Ser Phe
20 25 30

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

35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Met Ser Ile Ser Tyr Ala Asp Thr Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Thr Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 57
<211> 5
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (5)
<223> PD-1 mAb 2 的CDRH1

<400> 57

Ser Phe Gly Met His
1 5

<210> 58
<211> 17
<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1).. (17)

<223> PD-1 mAb 2 的 CDRH2

<400> 58

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

Gly

<210> 59

<211> 7

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1).. (7)

<223> PD-1 mAb 2 的 CDRH3

<400> 59

Leu Ser Asp Tyr Phe Asp Tyr
1 5

<210> 60

<211> 112

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1).. (112)
<223> 鼠科抗-人 PD-1 mAb 2 的 VL 結構域

<400> 60

Asp Val Val Met Ser Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Thr Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Phe Phe Cys Ser Gln Thr
85 90 95

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 61
<211> 16
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (16)
<223> PD-1 mAb 2 的 CDRL1

<400> 61

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Thr Gly Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 62
<211> 7
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (7)
<223> PD-1 mAb 2 的 CDRL2

<400> 62

Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 63
<211> 9
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (9)
<223> PD-1 mAb 2 的 CDRL3

<400> 63

Ser Gln Thr Thr His Val Pro Trp Thr
1 5

<210> 64
<211> 116

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 hPD-1 mAb 2 VH1 的 VH 結構域

<400> 64

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Val Phe Ser Ser Phe
20 25 30

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

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Met Ser Ile Ser Tyr Ala Asp Thr Val
50 55 60

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

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

Ala Ser Leu Ser Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 65
<211> 112
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人 hPD-1 mAb 2 VH1 的 VL 結構域

<400> 65

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
1 5 10 15

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

Thr Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Thr
85 90 95

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 66

<211> 125

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(125)
<223> 鼠科抗-人 PD-1 mAb 3 的 VH 結構域

<400> 66

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

Ser Val Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Val Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Val His Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Thr Ile Asp Pro Glu Thr Gly Gly Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Ile Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Phe
85 90 95

Thr Arg Glu Lys Ile Thr Thr Ile Val Glu Gly Thr Tyr Trp Tyr Phe
100 105 110

Asp Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 67
<211> 5
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (5)
<223> PD-1 mAb 3 的 CDRH1

<400> 67

Asp Tyr Val Met His
1 5

<210> 68
<211> 17
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (17)
<223> PD-1 mAb 3 的 CDRH2

<400> 68

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

Gly

<210> 69
<211> 16
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (16)
<223> PD-1 mAb 3 的 CDRH3

<400> 69

Glu Lys Ile Thr Thr Ile Val Glu Gly Thr Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10 15

- <210> 70
- <211> 112
- <212> PRT
- <213> 小家鼠

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (1).. (112)
- <223> 鼠科抗-人 PD-1 mAb 3 的 VL 結構域

<400> 70

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

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asp Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 71
<211> 16
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(16)
<223> PD-1 mAb 3 的 CDRL1

<400> 71

Arg Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser Asn Gly Asp Thr Tyr Leu Glu
1 5 10 15

<210> 72
<211> 7
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> PD-1 mAb 3 的 CDRL2

<400> 72

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 73
<211> 9
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (9)
<223> PD-1 mAb 3 的 CDRL3

<400> 73

Phe Gln Gly Ser His Leu Pro Tyr Thr
1 5

<210> 74
<211> 116
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (116)
<223> 鼠科抗-人 PD-1 mAb 4 的 VH 結構域

<400> 74

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

Ser Arg Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Val Phe Ser Ser Phe
20 25 30

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

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Met Ser Ile Ser Tyr Ala Asp Thr Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Thr Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 75
<211> 5
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (5)
<223> PD-1 mAb 4 的 CDRH1

<400> 75

Ser Phe Gly Met His
1 5

<210> 76
<211> 17
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (17)
<223> PD-1 mAb 4 的 CDRH2

<400> 76

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

Gly

<210> 77
<211> 7
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (7)
<223> PD-1 mAb 4 的 CDRH3

<400> 77

Leu Thr Asp Tyr Phe Asp Tyr
1 5

<210> 78
<211> 112
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (112)
<223> 鼠科抗-人 PD-1 mAb 4 的 VL 結構域

<400> 78

Asp Val Val Met Ser Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser

20 25 30

Thr Gly Asn Thr Tyr Phe His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Thr
85 90 95

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 79
<211> 16
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(16)
<223> PD-1 mAb 4 的 CDRL1

<400> 79

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Thr Gly Asn Thr Tyr Phe His
1 5 10 15

<210> 80
<211> 7
<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1).. (7)

<223> PD-1 mAb 4 的 CDRL2

<400> 80

Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 81

<211> 9

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1).. (9)

<223> PD-1 mAb 4 的 CDRL3

<400> 81

Ser Gln Thr Thr His Val Pro Trp Thr

1 5

<210> 82

<211> 119

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1).. (119)

<223> 鼠科抗-人 PD-1 mAb 5 的 VH 結構域

<400> 82

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Val Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ala Tyr
20 25 30

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

Gly Val Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Trp Leu Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Ile Ser Pro Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu His Tyr Gly Ser Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 83
<211> 5
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (5)
<223> PD-1 mAb 5 的CDRH1

<400> 83

Ala Tyr Trp Met Asn
1 5

<210> 84
<211> 17
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(17)
<223> PD-1 mAb 5 的 CDRH2

<400> 84

Val Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Trp Leu Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Asp

<210> 85
<211> 10
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(10)
<223> PD-1 mAb 5 的 CDRH3

<400> 85

Glu His Tyr Gly Ser Ser Pro Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 86
<211> 111
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (111)
<223> 鼠科抗-人 PD-1 mAb 5 的 VL 結構域

<400> 86

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Asn Glu Ser Val Asp Asn Tyr
20 25 30

Gly Met Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Asn Ile His
65 70 75 80

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

Glu Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 87
<211> 15
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (15)
<223> PD-1 mAb 5 的 CDRL1

<400> 87

Arg Ala Asn Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly Met Ser Phe Met Asn
1 5 10 15

<210> 88
<211> 7
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (7)
<223> PD-1 mAb 5 的 CDRL2

<400> 88

Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser
1 5

<210> 89
<211> 9
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (9)

<223> PD-1 mAb 5 的 CDRL3

<400> 89

Gln Gln Ser Lys Glu Val Pro Tyr Thr
1 5

<210> 90

<211> 118

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(118)

<223> 鼠科抗-人 PD-1 mAb 6 的 VH 結構域

<400> 90

Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Asn Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Gln Lys Ala Thr Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Thr
115

<210> 91
<211> 5
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (5)
<223> PD-1 mAb 6 的 CDRH1

<400> 91

Ser Tyr Gly Met Ser
1 5

<210> 92
<211> 17
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (17)
<223> PD-1 mAb 6 的 CDRH2

<400> 92

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

Gly

<210> 93
<211> 9
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (9)
<223> PD-1 mAb 6 的 CDRH3

<400> 93

Gln Lys Ala Thr Thr Trp Phe Ala Tyr
1 5

<210> 94
<211> 111
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (111)
<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 6 的 VL 結構域

<400> 94

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr
20 25 30

Gly Ile Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Pro Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Asn Ile His
65 70 75 80

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

Glu Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 95
<211> 15
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(15)
<223> PD-1 mAb 6 的 CDRL1

<400> 95

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly Ile Ser Phe Met Asn
1 5 10 15

<210> 96
<211> 7
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (7)
<223> PD-1 mAb 6 的 CDRL2

<400> 96

Pro Ala Ser Asn Gln Gly Ser
1 5

<210> 97
<211> 9
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (9)
<223> PD-1 mAb 6 的 CDRL3

<400> 97

Gln Gln Ser Lys Glu Val Pro Trp Thr
1 5

<210> 98
<211> 119
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (119)
<223> 鼠科抗-人 PD-1 mAb 7 的 VH 結構域

<400> 98

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Val Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Trp Leu Asp Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Ile Ser Pro Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu His Tyr Gly Thr Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 99
<211> 5
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (5)
<223> PD-1 mAb 7 的 CDRH1

<400> 99

Ser Tyr Trp Met Asn
1 5

<210> 100
<211> 17
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (17)
<223> PD-1 mAb 7 的 CDRH2

<400> 100

Val Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Trp Leu Asp Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Asp

<210> 101
<211> 10
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (10)
<223> PD-1 mAb 7 的 CDRH3

<400> 101

Glu His Tyr Gly Thr Ser Pro Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 102

<211> 111
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(111)
<223> 鼠科抗-人PD-1 mAb 7 的 VL 結構域

<400> 102

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Asn Glu Ser Val Asp Asn Tyr
20 25 30

Gly Met Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile His Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Phe Gly Thr Asp Phe Ser Leu Asn Ile His
65 70 75 80

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

Glu Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 103
<211> 15
<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1).. (15)

<223> PD-1 mAb 7 的 CDRL1

<400> 103

Arg Ala Asn Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly Met Ser Phe Met Asn
1 5 10 15

<210> 104

<211> 7

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1).. (7)

<223> PD-1 mAb 7 的 CDRL2

<400> 104

Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser
1 5

<210> 105

<211> 9

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1).. (9)

<223> PD-1 mAb 7 的 CDRL3

<400> 105

Gln Gln Ser Lys Glu Val Pro Tyr Thr
1 5

<210> 106
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 hPD-1 mAb 7 VH1 的 VH 結構域

<400> 106

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Val Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Trp Leu Asp Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Glu His Tyr Gly Thr Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 107
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 hPD-1 mAb 7 VH2 的 VH 結構域

<400> 107

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Val Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Trp Leu Asp Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Glu His Tyr Gly Thr Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 108
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 hPD-1 mAb 7 VL1 的 VL 結構域

<400> 108

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Asn Glu Ser Val Asp Asn Tyr
20 25 30

Gly Met Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile His Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ser
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Lys
85 90 95

Glu Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 109
<211> 111

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 hPD-1 mAb 7 VL2 的 VL 結構域

<400> 109

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr
20 25 30

Gly Met Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile His Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ser
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Lys
85 90 95

Glu Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 110
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 hPD-1 mAb 7 VL3 的 VL 結構域

<400> 110

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr
20 25 30

Gly Met Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile His Ala Ala Ser Asn Arg Gly Ser Gly Val Pro Ser
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Lys
85 90 95

Glu Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 111

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> hPD-1 mAb 7 VL2 和 hPD-1 mAb 7 VL3 的 VL 結構域的 CDRL1

<400> 111

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly Met Ser Phe Met Asn
1 5 10 15

<210> 112
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hPD-1 mAb 7 VL3 的 CDRL2

<400> 112

Ala Ala Ser Asn Arg Gly Ser
1 5

<210> 113
<211> 113
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(113)
<223> 鼠科抗-人 PD-1 mAb 8 的 VH 結構域

<400> 113

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

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Asn His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Asp Ile Asn Pro Lys Asn Gly Asp Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Glu Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Ser Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser
100 105 110

Ser

$\langle 210 \rangle$	114
$\langle 211 \rangle$	5
$\langle 212 \rangle$	PRT
$\langle 213 \rangle$	小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (5)
<223> PD-1 mAb 8 的 CDRH1

 $\langle 400 \rangle$ 114

Asp Tyr Tyr Met Asn
1 5

$\langle 210 \rangle$	115
$\langle 211 \rangle$	17
$\langle 212 \rangle$	PRT
$\langle 213 \rangle$	小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(17)
<223> PD-1 mAb 8 的 CDRH2

<400> 115

Asp Ile Asn Pro Lys Asn Gly Asp Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 116
<211> 4
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(4)
<223> PD-1 mAb 8 的 CDRH3

<400> 116

Asp Phe Asp Tyr
1

<210> 117
<211> 112
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(112)
<223> 鼠科抗-人 PD-1 mAb 8 的 VL 結構域

<400> 117

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Gly Leu Gly
1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Thr Leu Val Tyr Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 118
<211> 16
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (16)
<223> PD-1 mAb 8 的 CDRL1

<400> 118

Arg Ser Ser Gln Thr Leu Val Tyr Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15

<210> 119
<211> 7
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (7)
<223> PD-1 mAb 8 的 CDRL2

<400> 119

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 120
<211> 9
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (9)
<223> PD-1 mAb 8 的 CDRL3

<400> 120

Ser Gln Ser Thr His Val Pro Phe Thr
1 5

<210> 121
<211> 119
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(119)
<223> 鼠科抗-人 PD-1 mAb 9 的 VH 結構域

<400> 121

Glu Val Met Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Val Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

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

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Phe Asp Gly Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 122
<211> 5
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (5)
<223> PD-1 mAb 9 的 CDRH1

<400> 122

Ser Tyr Leu Val Ser
1 5

<210> 123
<211> 17
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (17)
<223> PD-1 mAb 9 的 CDRH2

<400> 123

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

Gly

<210> 124
<211> 10
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (10)
<223> PD-1 mAb 9 的 CDRH3

<400> 124

Tyr Gly Phe Asp Gly Ala Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 125
<211> 107
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(107)
<223> 鼠科抗-人 PD-1 mAb 9 的 VL 結構域

<400> 125

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Ile Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Glu Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
35 40 45

Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Ala Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Asn Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Ala Val Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile Thr
100 105

<210> 126
<211> 11
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (11)
<223> PD-1 mAb 9 的 CDRL1

<400> 126

Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 127
<211> 7
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (7)
<223> PD-1 mAb 9 的 CDRL2

<400> 127

Asn Ala Lys Thr Leu Ala Ala
1 5

<210> 128
<211> 9
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (9)
<223> PD-1 mAb 9 的 CDRL3

<400> 128

Gln His His Tyr Ala Val Pro Trp Thr
1 5

<210> 129
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 hPD-1 mAb 9 VH1 的 VH 結構域

<400> 129

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

Ala Arg Tyr Gly Phe Asp Gly Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 130
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 hPD-1 mAb 9 VH2 的 VH 結構域

<400> 130

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Phe Asp Gly Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 131
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hPD-1 mAb 9 VH2 的CDRH1

<400> 131

Ser Tyr Leu Val Gly
1 5

<210> 132
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 hPD-1 mAb 9 VL1 的VL結構域

<400> 132

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Ala Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Ala Val Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 133
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 hPD-1 mAb 9 VL2 的 VL 結構域

<400> 133

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Ala Val Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 134
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hPD-1 mAb 9 VL2 的 CDRL1

<400> 134

Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Asn Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 135
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hPD-1 mAb 9 VL2 的 CDRL2

<400> 135

Asp Ala Lys Thr Leu Ala Ala
1 5

<210> 136
<211> 116
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(116)
<223> 鼠科抗-人 PD-1 mAb 10 的 VH 結構域

<400> 136

Glu Val Ile Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

Leu Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Ser Ile Ser Gly Gly Gly Ser Asn Ile Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Gln Glu Leu Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 137
<211> 5
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (5)
<223> PD-1 mAb 10 的 CDRH1

<400> 137

Asn Tyr Leu Met Ser
1 5

<210> 138
<211> 17
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (17)
<223> PD-1 mAb 10 的 CDRH2

<400> 138

Ser Ile Ser Gly Gly Gly Ser Asn Ile Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 139
<211> 7
<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(7)

<223> PD-1 mAb 10 的 CDRH3

<400> 139

Gln Glu Leu Ala Phe Asp Tyr

1 5

<210> 140

<211> 107

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(107)

<223> 鼠科抗-人 PD-1 mAb 10 的 VL 結構域

<400> 140

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Thr Ser Gln Asp Ile Ser Asn Phe

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Ile Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Ile
100 105

<210> 141
<211> 11
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(11)
<223> PD-1 mAb 10 的 CDRL1

<400> 141

Arg Thr Ser Gln Asp Ile Ser Asn Phe Leu Asn
1 5 10

<210> 142
<211> 7
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(7)
<223> PD-1 mAb 10 的 CDRL2

<400> 142

Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser

1 5

<210> 143
<211> 9
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (9)
<223> PD-1 mAb 10 的 CDRL3

<400> 143

Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Trp Thr
1 5

<210> 144
<211> 117
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (117)
<223> 鼠科抗-人 PD-1 mAb 11 的 VH 結構域

<400> 144

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Thr Val Leu Ala Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Ser Asp Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Lys Leu Thr Ala Val Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Thr Gly Thr Tyr Ser Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 145
<211> 5
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (5)
<223> PD-1 mAb 11 的 CDRH1

<400> 145

Gly Tyr Trp Met His
1 5

<210> 146
<211> 17
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (17)
<223> PD-1 mAb 11 的 CDRH2

<400> 146

Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Ser Asp Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 147
<211> 8
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (8)
<223> PD-1 mAb 11 的 CDRH3

<400> 147

Gly Thr Tyr Ser Tyr Phe Asp Val
1 5

<210> 148
<211> 106
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (106)

<223> 鼠科抗-人 PD-1 mAb 11 的 VL 結構域

<400> 148

Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Ser
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln His Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Leu Thr
85 90 95

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 149

<211> 11

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(11)

<223> PD-1 mAb 11 的 CDRL1

<400> 149

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Ser Ile His
1 5 10

<210> 150
<211> 7
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (7)
<223> PD-1 mAb 11 的 CDRL2

<400> 150

Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser
1 5

<210> 151
<211> 8
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (8)
<223> PD-1 mAb 11 的 CDRL3

<400> 151

Gln Gln Ser Asn Ser Trp Leu Thr
1 5

<210> 152
<211> 125
<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(125)

<223> 鼠科抗-人 PD-1 mAb 12 的 VH 結構域

<400> 152

Gln Gly His Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Val His Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Thr Ile Asp Pro Glu Thr Gly Gly Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Ile Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Thr Thr Thr Tyr
65 70 75 80

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

Ser Arg Glu Arg Ile Thr Thr Val Val Glu Gly Ala Tyr Trp Tyr Phe
100 105 110

Asp Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 153

<211> 5
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (5)
<223> PD-1 mAb 12 的 CDRH1

<400> 153

Asp Tyr Glu Met His
1 5

<210> 154
<211> 17
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (17)
<223> PD-1 mAb 12 的 CDRH2

<400> 154

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

Gly

<210> 155
<211> 16
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (16)
<223> PD-1 mAb 12 的 CDRH3

<400> 155

Glu Arg Ile Thr Thr Val Val Glu Gly Ala Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10 15

<210> 156
<211> 112
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (112)
<223> 鼠科抗-人 PD-1 mAb 12 的 VL 結構域

<400> 156

Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Cys Lys Val Ser Thr Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 157
<211> 16
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (16)
<223> PD-1 mAb 12 的 CDRL1

<400> 157

Arg Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
1 5 10 15

<210> 158
<211> 7
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (7)
<223> PD-1 mAb 12 的 CDRL2

<400> 158

Lys Val Ser Thr Arg Phe Ser
1 5

<210> 159
<211> 9
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (9)
<223> PD-1 mAb 12 的 CDRL3

<400> 159

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr
1 5

<210> 160
<211> 121
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (121)
<223> 鼠科抗-人 PD-1 mAb 13 的 VH 結構域

<400> 160

Glu Val Met Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

Thr Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

50 55 60

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

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

Ala Arg Gln Ala Tyr Tyr Gly Asn Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly
100 105 110

Thr Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 161
<211> 5
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (5)
<223> PD-1 mAb 13 的 CDRH1

<400> 161

Ser His Thr Met Ser
1 5

<210> 162
<211> 17
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (17)
<223> PD-1 mAb 13 的 CDRH2

<400> 162

Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Asn Ile Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 163
<211> 12
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (12)
<223> PD-1 mAb 13 的 CDRH3

<400> 163

Gln Ala Tyr Tyr Gly Asn Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 164
<211> 107
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (107)
<223> 鼠科抗-人 PD-1 mAb 13 的 VL 結構域

<400> 164

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Gln Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Ser Val Thr Ile Thr Cys Leu Ala Ser Gln Thr Ile Gly Thr Trp
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Ala Ala Thr Ser Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Lys Phe Ser Phe Lys Ile Ser Ser Leu Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Phe Val Ser Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Asp Ser Ile Pro Trp
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

- <210> 165
- <211> 11
- <212> PRT
- <213> 小家鼠

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (1).. (11)
- <223> PD-1 mAb 13 的 CDRL1

<400> 165

Leu Ala Ser Gln Thr Ile Gly Thr Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 166
<211> 7
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (7)
<223> PD-1 mAb 13 的 CDRL2

<400> 166

Ala Ala Thr Ser Leu Ala Asp
1 5

<210> 167
<211> 9
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (9)
<223> PD-1 mAb 13 的 CDRL3

<400> 167

Gln Gln Leu Asp Ser Ile Pro Trp Thr
1 5

<210> 168
<211> 117
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (117)
<223> 鼠科抗-人 PD-1 mAb 14 的 VH 結構域

<400> 168

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Asn Phe Ile Ser Tyr
20 25 30

Trp Ile Thr Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Gln Trp Ile
35 40 45

Gly Asn Ile Tyr Pro Gly Thr Asp Gly Thr Thr Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Thr Gly Leu His Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 169
<211> 5
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (5)
<223> PD-1 mAb 14 的 CDRH1

<400> 169

Ser Tyr Trp Ile Thr
1 5

<210> 170
<211> 17
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (17)
<223> PD-1 mAb 14 的 CDRH2

<400> 170

Asn Ile Tyr Pro Gly Thr Asp Gly Thr Thr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Ser

<210> 171
<211> 8
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (8)

<223> PD-1 mAb 14 的 CDRH3

<400> 171

Gly Leu His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5

<210> 172
<211> 107
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(107)
<223> 鼠科抗-人 PD-1 mAb 14 的 VL 結構域

<400> 172

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Gly Thr Asn
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 173
<211> 11
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (11)
<223> PD-1 mAb 14 的 CDRL1

<400> 173

Lys Ala Ser Gln Ser Val Gly Thr Asn Val Ala
1 5 10

<210> 174
<211> 7
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (7)
<223> PD-1 mAb 14 的 CDRL2

<400> 174

Ser Ala Ser Ser Arg Phe Ser
1 5

<210> 175
<211> 9
<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1).. (9)

<223> PD-1 mAb 14 的 CDRL3

<400> 175

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 176

<211> 117

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1).. (117)

<223> 鼠科抗-人 PD-1 mAb 15 的 VH 結構域

<400> 176

Glu Val Met Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ile Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

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

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

Thr Arg Arg Gly Thr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 177
<211> 5
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (5)
<223> PD-1 mAb 15 的 CDRH1

<400> 177

Ser Tyr Leu Ile Ser
1 5

<210> 178
<211> 17
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (17)
<223> PD-1 mAb 15 的 CDRH2

<400> 178

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

Gly

<210> 179
<211> 8
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (8)
<223> PD-1 mAb 15 的 CDRH3

<400> 179

Arg Gly Thr Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5

<210> 180
<211> 107
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (107)
<223> 鼠科抗-人 PD-1 mAb 15 的 VL 結構域

<400> 180

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Gln Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Ser Val Thr Ile Thr Cys Leu Ala Ser Gln Thr Ile Gly Thr Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Thr Ser Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Lys Phe Ser Phe Lys Ile Ser Ser Leu Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Phe Val Asn Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Tyr Ser Ile Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 181
<211> 11
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(11)
<223> PD-1 mAb 15 的 CDRL1

<400> 181

Leu Ala Ser Gln Thr Ile Gly Thr Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 182
<211> 7
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (7)
<223> PD-1 mAb 15 的 CDRL2

<400> 182

Ala Ala Thr Ser Leu Ala Asp
1 5

<210> 183
<211> 9
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (9)
<223> PD-1 mAb 15 的 CDRL3

<400> 183

Gln Gln Leu Tyr Ser Ile Pro Trp Thr
1 5

<210> 184
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 hPD-1 mAb 15 VH1 的 VH 結構域

<400> 184

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

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

Leu Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

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

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

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

Ala Arg Arg Gly Thr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 185
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 hPD-1 mAb 15 VL1 的 VL 結構域

<400> 185

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Leu Ala Ser Gln Thr Ile Gly Thr Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Thr Ser Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Tyr Ser Ile Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

$\langle 210 \rangle$	186
$\langle 211 \rangle$	445
$\langle 212 \rangle$	PRT
$\langle 213 \rangle$	人工序列

<223> 人源化抗人PD-1 抗體 hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4 (P)的重鏈

<400> 186

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr

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

Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
435 440 445

- <210> 187
- <211> 218
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 人源化抗人 PD-1 抗體 hPD-1 mAb7 (1.2) IgG4 (P)的輕鏈
- <400> 187

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr
20 25 30

Gly Met Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile His Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ser
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Lys
85 90 95

Glu Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 188
<211> 176
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(176)
<223> 人 B7-H1 (PD-L1) 多肽 (NCBI 序列 NP_001254635.1),
包括預測的 18 個氨基酸信號序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(18)
<223> 預測的信號序列

<400> 188

Met Arg Ile Phe Ala Val Phe Ile Phe Met Thr Tyr Trp His Leu Leu
1 5 10 15

Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val Asp Pro
20 25 30

Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro Lys
35 40 45

Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser Gly Lys
50 55 60

Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn Val Thr
65 70 75 80

Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr Cys Thr
85 90 95

Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu Val Ile
100 105 110

Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr His Leu Val
115 120 125

Ile Leu Gly Ala Ile Leu Leu Cys Leu Gly Val Ala Leu Thr Phe Ile
130 135 140

Phe Arg Leu Arg Lys Gly Arg Met Met Asp Val Lys Lys Cys Gly Ile
145 150 155 160

Gln Asp Thr Asn Ser Lys Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu Glu Thr
165 170 175

<210> 189
<211> 273
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (273)
<223> 人 B7-DC (PD-L2) 多肽 (NCBI 序列 NP_079515. 2) ;
包括預測的 18 個氨基酸信號序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (18)
<223> 預測的信號序列

<400> 189

Met Ile Phe Leu Leu Leu Met Leu Ser Leu Glu Leu Gln Leu His Gln
1 5 10 15

Ile Ala Ala Leu Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Glu Leu Tyr Ile Ile
20 25 30

Glu His Gly Ser Asn Val Thr Leu Glu Cys Asn Phe Asp Thr Gly Ser
35 40 45

His Val Asn Leu Gly Ala Ile Thr Ala Ser Leu Gln Lys Val Glu Asn
50 55 60

Asp Thr Ser Pro His Arg Glu Arg Ala Thr Leu Leu Glu Glu Gln Leu
65 70 75 80

Pro Leu Gly Lys Ala Ser Phe His Ile Pro Gln Val Gln Val Arg Asp
85 90 95

Glu Gly Gln Tyr Gln Cys Ile Ile Ile Tyr Gly Val Ala Trp Asp Tyr
100 105 110

Lys Tyr Leu Thr Leu Lys Val Lys Ala Ser Tyr Arg Lys Ile Asn Thr
115 120 125

His Ile Leu Lys Val Pro Glu Thr Asp Glu Val Glu Leu Thr Cys Gln
130 135 140

Ala Thr Gly Tyr Pro Leu Ala Glu Val Ser Trp Pro Asn Val Ser Val
145 150 155 160

Pro Ala Asn Thr Ser His Ser Arg Thr Pro Glu Gly Leu Tyr Gln Val
165 170 175

Thr Ser Val Leu Arg Leu Lys Pro Pro Pro Gly Arg Asn Phe Ser Cys
180 185 190

Val Phe Trp Asn Thr His Val Arg Glu Leu Thr Leu Ala Ser Ile Asp
195 200 205

Leu Gln Ser Gln Met Glu Pro Arg Thr His Pro Thr Trp Leu Leu His
210 215 220

Ile Phe Ile Pro Phe Cys Ile Ile Ala Phe Ile Phe Ile Ala Thr Val
225 230 235 240

Ile Ala Leu Arg Lys Gln Leu Cys Gln Lys Leu Tyr Ser Ser Lys Asp
245 250 255

Thr Thr Lys Arg Pro Val Thr Thr Thr Lys Arg Glu Val Asn Ser Ala
260 265 270

Ile

<210> 190
<211> 118
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(118)
<223> 抗人 CD2 抗體 CD2 mAb Lo-CD2a 的 VH 結構域

<400> 190

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

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Glu Tyr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asp Gly Ser Ile Asp Tyr Val Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Lys Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Lys Phe Asn Tyr Arg Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

- <210> 191
- <211> 112
- <212> PRT
- <213> 小家鼠

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (1).. (112)
- <223> 抗人 CD2 抗體 CD2 mAb Lo-CD2a 的 VL 結構域

<400> 191

Asp Val Val Leu Thr Gln Thr Pro Pro Thr Leu Leu Ala Thr Ile Gly
1 5 10 15

Gln Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Ser Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Thr Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Pro Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Glu Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Gly Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Phe
85 90 95

Thr His Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 192
<211> 125
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(125)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 的 VH 結構域

<400> 192

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 193
<211> 110
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (110)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 的 VL 結構域

<400> 193

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

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

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 194
<211> 125
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(125)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 (D65G)的 VH 結構域

<400> 194

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 195
<211> 125
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (125)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 Low 的 VH 結構域

<400> 195

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 196
<211> 125
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(126)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 Fast 的 VH 結構域

<400> 196

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

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

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

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

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

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

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

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

- <210> 197
- <211> 119
- <212> PRT
- <213> 小家鼠

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (1).. (119)
- <223> 抗人 CD3 抗體 OKT3 的 VH 結構域

<400> 197

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

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
20 25 30

Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 198

<211> 107

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(107)

<223> 抗人 CD3 抗體 OKT3 的 VL 結構域

<400> 198

Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala His Phe Arg Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Gly Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr
85 90 95

Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Asn Arg
100 105

<210> 199

<211> 120

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(120)

<223> 抗人 CD8 抗體 OKT8 的 VH 結構域

<400> 199

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

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Met His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Pro Tyr Thr Gly Gly Thr Gly Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asn Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Ser Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asn Phe Arg Tyr Thr Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 200

<211> 112

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(112)

<223> 抗人 CD8 抗體 OKT8 的 VL 結構域

<400> 200

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
20 25 30

Asp Asn Ser Leu Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Val Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asp
65 70 75 80

Pro Val Glu Ala Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 201

<211> 121

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(121)

<223> 抗人 CD8 抗體 TRX2 的 VH 結構域

<400> 201

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Pro His Tyr Asp Gly Tyr Tyr His Phe Phe Asp Ser Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 202

<211> 106

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(106)

<223> 抗人 CD8 抗體 TRX2 的 VL 結構域

<400> 202

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Gly Ser Gln Asp Ile Asn Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asn Thr Asp Ile Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Tyr Gln Tyr Asn Asn Gly Tyr Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 203

<211> 118

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(118)

<223> 抗人 CD16 抗體 3G8 的 VH 結構域

<400> 203

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln
1 5 10 15

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

Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ala
50 55 60

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

Phe Leu Lys Ile Ala Ser Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Gln Ile Asn Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 204

<211> 111

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(111)

<223> 抗人 CD16 抗體 3G8 的 VL 結構域

<400> 204

Asp Thr Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Phe Asp
20 25 30

Gly Asp Ser Phe Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Thr Thr Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Ala Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65 70 75 80

Pro Val Glu Glu Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 205

<211> 117

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(117)

<223> 抗人 CD16 抗體 A9 的 VH 結構域

<400> 205

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Trp Leu Gly Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Val Thr Ala Asp Thr Ser Ser Arg Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Ala Ser Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala Arg Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 206

<211> 111

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(111)

<223> 抗人 CD16 抗體 A9 的 VL 結構域

<400> 206

Asp Ile Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro
1 5 10 15

Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Asn Thr Gly Thr Val Thr
20 25 30

Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe
35 40 45

Thr Gly Leu Ile Gly His Thr Asn Asn Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr
65 70 75 80

Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr
85 90 95

Asn Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 207

<211> 120

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(129)

<223> 抗人 TCR 抗體 BMA 031 的 VH 結構域

<400> 207

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Lys Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Val Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Ser Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Phe Val Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 208

<211> 106

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(106)

<223> 抗人 TCR 抗體 BMA 031 的 VL 結構域

<400> 208

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Thr Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 209

<211> 118

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(118)

<223> 抗人 NKG2D 抗體 KYK-1.0 的 VH 結構域

<400> 209

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Asp Arg Phe Gly Tyr Tyr Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 210

<211> 108

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(108)

<223> 抗人 NKG2D 抗體 KYK-1.0 的 VL 結構域

<400> 210

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

Thr Ala Arg Ile Pro Cys Gly Gly Asp Asp Ile Glu Thr Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Asp Asp Asp Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Phe Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Ser Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Asp Asn Asn Asp Glu
85 90 95

Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 211

<211> 121

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(121)

<223> 抗人 NKG2D 抗體 KYK-2.0 的 VH 結構域

<400> 211

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Asp Arg Gly Leu Gly Asp Gly Thr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 212

<211> 110

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1).. (110)

<223> 抗人 NKG2D 抗體 KYK-2.0 的 VL 結構域

<400> 212

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30

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

Ile Tyr Tyr Asp Asp Leu Leu Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Phe Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Asn Gly Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 213

<211> 120

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(120)

<223> 抗人 B7-H3 抗體 B7-H3 mAb 1 的 VH 結構域

<400> 213

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

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Thr Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Arg Gly Ile Pro Arg Leu Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 214

<211> 107

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(107)

<223> 抗人 B7-H3 抗體 B7-H3 mAb 1 的 VL 結構域

<400> 214

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Asp Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 215

<211> 120

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(120)

<223> 人源化抗人 B7-H3 抗體 hB7-H3 mAb 1 VH1 的 VH 結構域

<400> 215

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Thr Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Gly Ile Pro Arg Leu Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 216

<211> 120

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1).. (120)

<223> 人源化抗人 B7-H3 抗體 hB7-H3 mAb 1 VH2 的 VH 結構域

<400> 216

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Thr Ile Tyr Pro Gly Gly Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Gly Ile Pro Arg Leu Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 217

<211> 107

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(107)
<223> 人源化抗人 B7-H3 抗體 hB7-H3 mAb 1 VL1 的 VL 結構域

<400> 217

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 218
<211> 107
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(107)

<223> 人源化抗人 B7-H3 抗體 hB7-H3 mAb 1 VL2 的 VL 結構域

<400> 218

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 219

<211> 122

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(122)

<223> 抗人 B7-H3 抗體 B7-H3 mAb 2 的 VH 結構域

<400> 219

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

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

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

Ala Tyr Ile Ser Ser Asp Ser Ser Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Pro Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80

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

Gly Arg Gly Arg Glu Asn Ile Tyr Tyr Gly Ser Arg Leu Asp Tyr Trp
100 105 110

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

- <210> 220
- <211> 107
- <212> PRT
- <213> 小家鼠

- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (1)..(107)

<223> 抗人 B7-H3 抗體 B7-H3 mAb 2 的 VL 結構域

<400> 220

Asp Ile Ala Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Asn Val Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 221

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人 B7-H3 抗體 hB7-H3 mAb 2 VH1 的 VH 結構域

<400> 221

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

1					5					10					15				
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Phe				
			20					25					30						
Gly	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val				
		35					40					45							
Ala	Tyr	Ile	Ser	Ser	Asp	Ser	Ser	Ala	Ile	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Thr	Val				
	50						55					60							
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr				
65					70						75				80				
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Asp	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys				
				85					90					95					
Ala	Arg	Gly	Arg	Glu	Asn	Ile	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Arg	Leu	Asp	Tyr	Trp				
			100						105					110					
Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser										
		115					120												

- <210> 222
- <211> 122
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 人源化抗人 B7-H3 抗體 hB7-H3 mAb 2 VH2 的 VH 結構域
- <400> 222

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

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

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

Ala Tyr Ile Ser Ser Asp Ser Ser Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val
50 55 60

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

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

Gly Arg Gly Arg Glu Asn Ile Tyr Tyr Gly Ser Arg Leu Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

- <210> 223
- <211> 122
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 人源化抗人 B7-H3 抗體 hB7-H3 mAb 2 VH3 的 VH 結構域

<400> 223

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

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

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

Ala Tyr Ile Ser Ser Asp Ser Ser Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val
50 55 60

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

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

Gly Arg Gly Arg Glu Asn Ile Tyr Tyr Gly Ser Arg Leu Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

- <210> 224
- <211> 122
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 人源化抗人 B7-H3 抗體 hB7-H3 mAb 2 VH4 的 VH 結構域

- <400> 224

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

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

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

Ala Tyr Ile Ser Ser Asp Ser Ser Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Arg Glu Asn Ile Tyr Tyr Gly Ser Arg Leu Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

- <210> 225
- <211> 107
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 人源化抗人 B7-H3 抗體 hB7-H3 mAb 2 VL1 的 VL 結構域

<400> 225

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 226
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 B7-H3 抗體 hB7-H3 mAb 2 VL2 的 VL 結構域

<400> 226

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 227
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 B7-H3 抗體 hB7-H3 mAb 2 VL3 的 VL 結構域

<400> 227

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

- <210> 228
- <211> 107
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 人源化抗人 B7-H3 抗體 hB7-H3 mAb 2 VL4 的 VL 結構域

<400> 228

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

- <210> 229
- <211> 107
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 人源化抗人 B7-H3 抗體 hB7-H3 mAb 2 VL5 的 VL 結構域
- <400> 229

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100

105

<210> 230
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 B7-H3 抗體 hB7-H3 mAb 2 VL6 的 VL 結構域

<400> 230

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Glu Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 231
<211> 117

<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(117)
<223> 抗人 B7-H3 抗體 B7-H3 mAb 3 的 VH 結構域

<400> 231

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Asp Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Thr Ile Asn Ser Gly Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Leu
50 55 60

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

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

Ala Arg His Asp Gly Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 232
<211> 108
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(108)
<223> 抗人 B7-H3 抗體 B7-H3 mAb 3 的 VL 結構域

<400> 232

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
35 40 45

Tyr Asn Thr Lys Thr Leu Pro Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Arg Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Gly Thr Pro Pro
85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Asn Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 233
<211> 121

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 CEACAM5 / ANTI-CEACAM6 抗體 16C3 的 VH 結構域

<400> 233

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

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Ala Met His Trp Val Lys Gln Ser His Ala Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Leu Ile Ser Thr Tyr Ser Gly Asp Thr Lys Tyr Asn Gln Asn Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Asp Tyr Ser Gly Ser Arg Tyr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 234
<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人 CEACAM5 / ANTI-CEACAM6 抗體 16C3 的 VL 結構域

<400> 234

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Arg Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Trp Gly Ala Ser Asn Leu Ala Asp Gly Met Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Arg Gln Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 235

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人 CEACAM5 / ANTI-CEACAM6 抗體 hMN15 的 VH 結構域

<400> 235

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

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

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

Gly Phe Ile Ala Asn Lys Ala Asn Gly His Thr Thr Asp Tyr Ser Pro
50 55 60

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

Leu Phe Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr
85 90 95

Phe Cys Ala Arg Asp Met Gly Ile Arg Trp Asn Phe Asp Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 236

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人 CEACAM5 / ANTI-CEACAM6 抗體 hMN15 的 VL 結構域

<400> 236

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Tyr Ile
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
35 40 45

Gly Thr Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
65 70 75 80

Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Tyr Asn Pro Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 237

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 嵌合抗人 EGFR 抗體“西妥昔單抗”的 VH 結構域

<400> 237

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

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

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

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

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

Arg Ala Leu Thr Tyr Tyr Asp Tyr Glu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115

- <210> 238
- <211> 108
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 嵌合抗人 EGFR 抗體“西妥昔單抗”的 VL 結構域

<400> 238

Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
100 105

<210> 239
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 EGFR 抗體“帕尼單抗”的 VH 結構域

<400> 239

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Val Ser Ser Gly
20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Ile Asp Thr Ser Lys Thr Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr
85 90 95

Cys Val Arg Asp Arg Val Thr Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 240
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 EGFR 抗體“帕尼單抗”的 VL 結構域

<400> 240

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln His Phe Asp His Leu Pro Leu
85 90 95

Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 241
<211> 118
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(118)
<223> 抗人 EphA2 抗體 EphA2 mAb 1 的 VH 結構域

<400> 241

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

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr
20 25 30

Ser Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Met Ile Trp Gly Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ser Ala Leu Lys
50 55 60

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

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

Arg Lys His Gly Asn Tyr Tyr Thr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 242
<211> 106
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(106)
<223> 抗人 EphA2 抗體 EphA2 mAb 1 的 VL 結構域

<400> 242

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Ile Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Tyr Thr Leu Tyr Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 243
<211> 118
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(118)
<223> 抗人 EphA2 抗體 EphA2 mAb 2 的 VH 結構域

<400> 243

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Ile Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 244
<211> 111
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(111)
<223> 抗人 EphA2 抗體 EphA2 mAb 2 的 VL 結構域

<400> 244

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

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

35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 245
<211> 118
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(118)
<223> 抗人 EphA2 抗體 EphA2 mAb 3 的 VH 結構域

<400> 245

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp His
20 25 30

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 246
<211> 107
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(107)
<223> 抗人 EphA2 抗體 EphA2 mAb 3 的 VL 結構域

<400> 246

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser His Arg Ser Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Asn Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Thr Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Phe Trp Ala Ser Thr Arg His Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

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

Gly Asp Leu Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 247
<211> 119
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(119)
<223> 抗人 gpA33 抗體 gpA33 mAb 1 的 VH 結構域

<400> 247

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Ser
20 25 30

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

Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Glu Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ile Tyr Gly Asn Asn Val Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 248
<211> 106
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(106)
<223> 抗人 gpA33 抗體 gpA33 mAb 1 的 VL 結構域

<400> 248

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Arg Ser Ser Ile Ser Phe Met
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

35 40 45

Asp Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Leu Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 249
<211> 0
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 缺失序列

<400> 249
000
<210> 250
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 親和力優化的抗人 Her2/Neu 抗體瑪格妥昔單抗的 VH 結構域

<400> 250

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Asp Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Asp Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

- <210> 251
- <211> 107
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 親和力優化的抗人 Her2/Neu 抗體瑪格妥昔單抗的 VL 結構域

<400> 251

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly His Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

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

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 252
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 Her2/Neu 抗體曲妥珠單抗的 VH 結構域

<400> 252

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

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

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

35 40 45

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

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

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

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 253
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 Her2/Neu 抗體曲妥珠單抗的 VL 結構域

<400> 253

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 254
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 Her2/Neu 抗體帕妥珠單抗的 VH 結構域

<400> 254

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

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

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

Ala Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

- <210> 255
- <211> 107
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 人源化抗人 Her2/Neu 抗體帕妥珠單抗的 VL 結構域
- <400> 255

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Ile Gly
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 256
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 VEGF 抗體貝伐珠單抗的 VH 結構域

<400> 256

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe
50 55 60

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

- <210> 257
 - <211> 108
 - <212> PRT
 - <213> 人工序列
- <220>
- <223> 人源化抗人 VEGF 抗體貝伐珠單抗的 VL 結構域
- <400> 257

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile

35 40 45

Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 258
<211> 118
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (118)
<223> 抗人 5T4 抗體 5T4 mAb 1 的 VH 結構域

<400> 258

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Phe
20 25 30

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

Gly Arg Ile Asp Pro Asn Arg Gly Gly Thr Glu Tyr Asn Glu Lys Ala
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Gly Gly Asn Pro Tyr Tyr Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 259
<211> 107
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(107)
<223> 抗人 5T4 抗體 5T4 mAb 1 的 VL 結構域

<400> 259

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Asp Phe Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 260
<211> 127
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (127)
<223> 抗人 5T4 抗體 5T4 mAb 2 的 VH 結構域

<400> 260

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Ile Thr Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Arg Ala Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Tyr Gly Pro Leu Phe Thr Thr Val Val Asp Pro Asn Ser Tyr
100 105 110

Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 261
<211> 112
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(112)
<223> 抗人 5T4 抗體 5T4 mAb 2 的 VL 結構域

<400> 261

Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val Tyr Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Val Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 262
<211> 122
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (122)
<223> 抗人 IL13Ra2 抗體 hu08 的 VH 結構域

<400> 262

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Gln Gly Thr Thr Ala Leu Ala Thr Arg Phe Phe Asp Val Trp
100 105 110

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

<210> 263
<211> 107
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(107)
<223> 抗人 IL13Ra2 抗體 hu08 的 VL 結構域

<400> 263

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Ser Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Ser Ala Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 264
<211> 120
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (120)
<223> 抗人 CD123 抗體 CD123 mAb 1 的 VH 結構域

<400> 264

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

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

Gly Asp Ile Ile Pro Ser Asn Gly Ala Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Ser His Leu Leu Arg Ala Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 265
<211> 113
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(113)
<223> 抗人 CD123 抗體 CD123 mAb 1 的 VL 結構域

<400> 265

Asp Phe Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95

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

Lys

<210> 266
<211> 126
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (126)
<223> 抗 HIV env 抗體 7B2 的 VH 結構域

<400> 266

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Phe Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Ala Tyr Ile Ser Lys Asn Gly Glu Tyr Ser Lys Tyr Ser Pro Ser Ser
50 55 60

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

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

Ala Arg Ala Asp Gly Leu Thr Tyr Phe Ser Glu Leu Leu Gln Tyr Ile
100 105 110

Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly Ala Arg Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 267
<211> 113
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(113)
<223> 抗 HIV env 抗體 7B2 的 VL 結構域

<400> 267

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile His Cys Lys Ser Ser Gln Thr Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Asn Arg His Ser Ile Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Leu Tyr Trp Ala Ser Met Arg Leu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Asn Asn Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Ile Tyr Tyr Cys His Gln
85 90 95

Tyr Ser Ser His Pro Pro Thr Phe Gly His Gly Thr Arg Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 268
<211> 118
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1).. (118)
<223> 抗 HIV env 抗體 h3G8 的 VH 結構域

<400> 268

Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30

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

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ala
50 55 60

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

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Gln Ile Asn Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 269
<211> 111
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(111)
<223> 抗 HIV env 抗體 h3G8 的 VL 結構域

<400> 269

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Phe Asp
20 25 30

Gly Asp Ser Phe Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Thr Thr Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

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

Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 270
<211> 504
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DART-A 的第一多肽鏈

<400> 270

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
115 120 125

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
130 135 140

Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
145 150 155 160

Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr
165 170 175

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
180 185 190

Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr
195 200 205

Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val
210 215 220

Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
225 230 235 240

Gly Gly Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala
245 250 255

Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu
260 265 270

Glu Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
275 280 285

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
290 295 300

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
305 310 315 320

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
325 330 335

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
340 345 350

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
355 360 365

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
370 375 380

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
385 390 395 400

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
405 410 415

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

420 425 430

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
435 440 445

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
450 455 460

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
465 470 475 480

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
485 490 495

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
500

<210> 271
<211> 274
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DART-A 的第二多肽鏈

<400> 271

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

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

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

210 215 220

Ser Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
225 230 235 240

Gly Gly Cys Gly Gly Gly Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala
245 250 255

Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu
260 265 270

Lys Glu

- <210> 272
- <211> 227
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> DART-A 的第三多肽鏈

<400> 272

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
65					70					75					80
Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
				85					90					95	
Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile
			100					105					110		
Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
		115					120					125			
Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
	130					135					140				
Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
145					150					155					160
Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
			165					170						175	
Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
			180					185					190		
Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
	195						200					205			
His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	Arg	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
	210					215					220				
Pro	Gly	Lys													

225

<210> 273
<211> 496
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DART-1 的第一和第三多肽鏈

<400> 273

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Ser Val
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
115 120 125

Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ser	Phe
130					135					140					
Thr	Ser	Tyr	Trp	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu
145					150					155					160
Glu	Trp	Ile	Gly	Val	Ile	His	Pro	Ser	Asp	Ser	Glu	Thr	Trp	Leu	Asp
165					170					175					
Gln	Lys	Phe	Lys	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser
180					185					190					
Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val
195					200					205					
Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Glu	His	Tyr	Gly	Thr	Ser	Pro	Phe	Ala	Tyr	Trp
210					215					220					
Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Cys	Gly	Gly	Gly
225					230					235					240
Glu	Val	Ala	Ala	Cys	Glu	Lys	Glu	Val	Ala	Ala	Leu	Glu	Lys	Glu	Val
245					250					255					
Ala	Ala	Leu	Glu	Lys	Glu	Val	Ala	Ala	Leu	Glu	Lys	Glu	Ser	Lys	Tyr
260					265					270					
Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro
275					280					285					
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Tyr	Ile	Thr

290 295 300

Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
305 310 315 320

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
325 330 335

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val
340 345 350

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
355 360 365

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
370 375 380

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
385 390 395 400

Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
405 410 415

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
420 425 430

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
435 440 445

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
450 455 460

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
465 470 475 480

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
485 490 495

<210> 274
<211> 271
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DART-1 的第二和第四多肽鏈

<400> 274

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr
20 25 30

Gly Met Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile His Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ser
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Lys
85 90 95

Glu Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly

110

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala
115 120 125

Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser
130 135 140

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro
145 150 155 160

Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Asp Ile Asn Pro Asp Asn Gly Val
165 170 175

Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp
180 185 190

Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp
195 200 205

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Ala Asp Tyr Phe Tyr Phe
210 215 220

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys
225 230 235 240

Gly Gly Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys
245 250 255

Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
260 265 270



201742636

申請日: 106/06/07

【發明摘要】

IPC分類: **A61K 47/66** (2017.01)
A61K 47/68 (2017.01)
A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

【中文發明名稱】 聯合療法

【英文發明名稱】 Combination Therapy

【中文】

本發明涉及用於治療癌症和病原體相關疾病的聯合療法，其包括施用：(1)能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子(例如，雙抗體、ScFv、抗體、TandAb等)，和(2)能夠介導對表達疾病抗原的靶細胞(例如，癌細胞或病原體感染的細胞等)的重定向殺傷的分子(例如，雙抗體、BiTe、雙特異性抗體、CAR等)。本發明尤其涉及其中能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的分子是雙特異性結合分子的實施方式，其中所述雙特異性結合分子包含能夠免疫特異性結合效應細胞的細胞表面分子的表位的第一表位結合位點和能夠免疫特異性結合這類靶細胞(即，疾病抗原如癌抗原或病原體相關抗原)的表位的第二表位結合位點。本發明還涉及包含這類分子(一種或多種)的藥物組合物。

【英文】

The present invention is directed to a combination therapy for the treatment of cancer and pathogen-associated diseases, that comprises the administration of: (1) a molecule (e.g., a diabody, an ScFv, an antibody, a TandAb, etc.) capable of binding PD-1 or a natural ligand of PD-1, and (2) a molecule (e.g., a diabody, a BiTe, a bispecific antibody, a CAR, etc.) capable of mediating the redirected killing of a target cell (e.g., a cancer cell or a pathogen-infected cell, etc.) expressing a Disease Antigen. The invention particularly concerns the embodiment in which the molecule capable of

mediating the redirected killing of the target cell is a bispecific binding molecule that comprises a first epitope-binding site capable of immunospecifically binding an epitope of a cell surface molecule of an effector cell and a second epitope-binding site that is capable of immunospecifically binding an epitope of such target cells (i.e., a Disease Antigen such as a Cancer Antigen or a Pathogen-Associated Antigen). The present invention is also directed to pharmaceutical compositions that comprise such molecule(s).

【指定代表圖】 圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明申請專利範圍】

【第1項】一種用於治療癌症或病原體相關疾病的方法，所述方法包括向需要其的受試者施用治療有效量的：

- (1) 能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子，和
- (2) 能夠介導對靶細胞的重定向殺傷的分子，其中所述靶細胞是：
 - (a) 表達癌抗原的癌細胞；或
 - (b) 表達病原體相關抗原的病原體感染細胞。

【第2項】如請求項1所述的方法，其中能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的所述分子能夠抑制PD-1和PD-1的天然配體之間的結合。

【第3項】如請求項1所述的方法，其中所述方法包括施用累計包含三個表位元-結合結構域的兩種結合分子，所述兩種結合分子是：

- (A) 包含能夠結合PD-1的抗體的表位元-結合結構域或能夠結合PD-1的天然配體的抗體的表位元-結合結構域的結合分子；和
- (B) 包含下述的結合分子：
 - (1) 能夠結合所述效應細胞的細胞表面分子的抗體的表位元-結合結構域；和
 - (2) 能夠結合所述靶細胞的所述癌抗原或所述病原體抗原的抗體的表位元-結合結構域；

其中所述結合分子(A)的所述表位元-結合結構域能夠結合PD-1或PD-1的天然配體，並且所述結合分子(B)的所述表位元-結合結構域(1)和(2)能夠介導對所述靶細胞的重定向殺傷。

【第4項】如請求項3所述的方法，其中能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的所述結合分子包括雙抗體、ScFv、抗體或TandAb，並且所述結合分子(B)包括雙特異性雙抗體、CAR、BiTe或雙特異性抗體。

【第5項】如請求項3或4中任一項所述的方法，其中能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的所述結合分子包含結合PD-1的抗體的表位元-結合結構域。

【第6項】如請求項3或4中任一項所述的方法，其中能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的所述結合分子包含結合PD-1的天然配體的抗體的表位元-結合結構域。

【第7項】如請求項5所述的方法，其中能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的所述結合分子包含能夠結合PD-1的第二表位元-結合結構域，其中這類表位元-結合結構域：

- (a) 競爭結合PD-1的相同表位；或
- (b) 不競爭結合PD-1的相同表位。

【第8項】如請求項7所述的方法，其中所述PD-1表位元-結合結構域能夠同時結合至相同的PD-1分子。

【第9項】如請求項6所述的方法，其中能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的所述結合分子包含能夠結合所述PD-1的天然配體的第二表位元-結合結構域，其中這類表位元-結合結構域：

- (a) 競爭結合PD-1的這類天然配體的相同表位；或
- (b) 不競爭結合PD-1的這類天然配體的相同表位。

【第10項】如請求項9所述的方法，其中所述PD-1配體-表位元-結合結構域能夠同時結合所述PD-1的天然配體的相同分子。

【第11項】 如請求項5或6所述的方法，其中能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的所述結合分子包含第二表位元-結合結構域，其能夠結合不是PD-1或不是PD-1的天然配體的分子的表位。

【第12項】 如請求項11所述的方法，其中所述第二表位元-結合結構域結合CD137、LAG-3、OX40、TIGIT、TIM-3或VISTA的表位。

【第13項】 如請求項1-12中任一項所述的方法，其中能夠介導對所述靶細胞的重定向殺傷的所述結合分子包含第三表位元-結合結構域，其能夠結合所述效應細胞的細胞表面分子。

【第14項】 如請求項13所述的方法，其中能夠介導對所述靶細胞的重定向殺傷的所述結合分子的所述第三表位元結合-結構域能夠結合所述效應細胞的不同細胞表面分子，以便能夠介導所述重定向殺傷的所述結合分子能夠結合所述效應細胞的兩種不同細胞表面分子。

【第15項】 如請求項2-12中任一項所述的方法，其中能夠介導對所述靶細胞的重定向殺傷的所述結合分子包含第三表位元-結合結構域，其能夠結合至所述靶細胞的癌抗原或病原體相關抗原。

【第16項】 如請求項15所述的方法，其中能夠介導對所述靶細胞的重定向殺傷的所述結合分子的所述第三表位元結合-結構域能夠結合所述靶細胞的不同癌抗原或不同病原體抗原，以便能夠介導所述重定向殺傷的所述結合分子能夠結合至所述靶細胞的兩種不同癌抗原或兩種不同病原體抗原。

【第17項】 如請求項2-16中任一項所述的方法，其中所述效應細胞的所述細胞表面分子選自：CD2、CD3、CD8、CD16、TCR和NKG2D。

【第18項】 如請求項2-17中任一項所述的方法，其中所述癌抗原選自下述癌抗原：19.9、4.2、A33、ADAM-9、AH6、ALCAM、B1、B7-H3、BAGE、 β -聯蛋白、血型ALe^b/Le^y、伯基特淋巴瘤抗原-38.13、C14、CA125、羧肽酶M、CD5、CD19、CD20、CD22、CD23、CD25、CD27、CD28、CD33、CD36、CD40/CD154、CD45、CD56、CD46、CD52、CD56、CD79a/CD79b、CD103、CD123、CD317、CDK4、CEA、CEACAM5/CEACAM6、CO17-1A、CO-43、CO-514、CTA-1、CTLA-4、細胞角蛋白8、D1.1、D₁56-22、DR5、E₁系列、EGFR、肝配蛋白受體、Erb、GAGE、GD2/GD3/GM2神經節苷脂、GICA 19-9、gp100、Gp37、gp75、gpA33、HER2/neu、HMFG、人乳頭瘤病毒-E6/人乳頭瘤病毒-E7、HMW-MAA、I抗原、IL13R α 2、整聯蛋白 β 6、JAM-3、KID3、KID31、KS 1/4全癌抗原、L6,L20、LEA、LUCA-2、M1:22:25:8、M18、M39、MAGE、MART、間皮素、MUC-1、MUM-1、Myl、N-乙醯葡萄糖氨基轉移酶、擬糖蛋白、NS-10、OFA-1、OFA-2、制癌蛋白M、p15、p97、PEM、PEMA、PIPA、PSA、PSMA、前列腺酸磷酸鹽、R₂₄、ROR1、鞘脂類、SSEA-1、SSEA-3、SSEA-4、sTn、T細胞受體衍生的肽、T₅A₇、TAG-72、TL5、TNF-受體、TNF- γ 受體、TRA-1-85、轉鐵蛋白受體、5T4、TSTA、VEGF、VEGF受體、VEP8、VEP9、VIM-D5和Y半抗原Le^y。

【第19項】 如請求項2-17中任一項所述的方法，其中所述方法包括所述藥物組合物的所述施用，並且其中所述病原體相關抗原選自下述病原體相關抗原：單純疱疹病毒感染的細胞蛋白質(ICP)47、單純疱疹病毒gD、愛滋斯坦-巴爾病毒LMP-1、愛滋斯坦-巴爾病毒LMP-2A、愛滋斯坦-巴爾病毒LMP-2B、人免疫缺陷病毒gp160、人免疫缺陷病毒gp120、人免疫缺陷病毒gp41等、人乳頭瘤病毒E6、

人乳頭瘤病毒E7、人T細胞白血病毒gp64、人T細胞白血病毒gp46和人T細胞白血病毒gp21。

【第20項】 一種藥物組合物，其包含：

(A)治療有效量的：

- (1) 能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的分子，和
- (2) 能夠介導對表達癌抗原或病原體抗原的靶細胞的重定向殺傷的分子；和

(B) 藥學上可接受的載體。

【第21項】 如請求項20所述的藥物組合物，其中所述藥物組合物包含累計包含三個表位元-結合結構域的兩種結合分子，所述兩種結合分子是：

(A)包含能夠結合PD-1的抗體的表位元-結合結構域或能夠結合PD-1的天然配體的抗體的表位元-結合結構域的結合分子；和

(B)包含下述的結合分子：

- (1) 能夠結合所述效應細胞的細胞表面分子的抗體的表位元-結合結構域；和
- (2) 能夠結合所述靶細胞的癌抗原或病原體相關抗原的抗體的表位元-結合結構域；

其中所述結合分子(A)的所述表位元-結合結構域能夠結合PD-1或PD-1的天然配體，並且所述結合分子(B)的所述表位元-結合結構域(1)和(2)能夠介導對所述靶細胞的重定向殺傷。

【第22項】 如請求項21所述的藥物組合物，其中所述結合分子(A)包括雙抗體、ScFv、抗體或TandAb，並且所述結合分子(B)包括雙抗體、CAR、BiTe或雙特異性抗體。

【第23項】 如請求項21-22中任一項所述的藥物組合物，其中能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的所述分子包含結合PD-1的抗體的表位元-結合結構域。

【第24項】 如請求項21-22中任一項所述的藥物組合物，其中能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的所述分子包含結合PD-1的天然配體的抗體的表位元-結合結構域。

【第25項】 請求項23所述的藥物組合物，其中能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的所述分子包含能夠結合PD-1的第二表位元-結合結構域，其中這類PD-1表位元-結合結構域：

- (a) 競爭結合PD-1的相同表位；或
- (b) 不競爭結合PD-1的相同表位。

【第26項】 如請求項25所述的藥物組合物，其中所述PD-1表位元-結合結構域能夠同時結合相同的PD-1分子。

【第27項】 如請求項24所述的藥物組合物，其中能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的所述結合分子包含能夠結合所述PD-1的天然配體的第二表位元-結合結構域，其中這類表位元-結合結構域：

- (a) 競爭結合PD-1的這類天然配體的相同表位；或
- (b) 不競爭結合PD-1的這類天然配體的相同表位。

【第28項】 如請求項27所述的藥物組合物，其中所述PD-1配體-表位元-結合結構域能夠同時結合所述PD-1的天然配體的相同分子。

【第29項】 如請求項23或24所述的方法，其中能夠結合PD-1或PD-1的天然配體的所述結合分子包含第二表位元-結合結構域，其能夠結合不是PD-1或不是PD-1的天然配體的分子的表位。

【第30項】 如請求項29所述的方法，其中所述第二表位元-結合結構域結合CD137、LAG-3、OX40、TIGIT、TIM-3或VISTA的表位。

【第31項】 如請求項20-29中任一項所述的藥物組合物，其中能夠介導對所述靶細胞的重定向殺傷的所述分子包含第三表位元-結合結構域，其中這樣的三個表位元-結合結構域能夠同時結合，並且其中所述第三表位-結合位點能夠結合所述效應細胞的細胞表面分子的表位。

【第32項】 如請求項31所述的藥物組合物，其中能夠介導對所述靶細胞的重定向殺傷的所述結合分子的所述第三表位元結合-結構域能夠結合所述效應細胞的不同細胞表面分子，以便能夠介導所述重定向殺傷的所述結合分子能夠結合所述效應細胞的兩種不同細胞表面分子。

【第33項】 如請求項20-30中任一項所述的藥物組合物，其中能夠介導對所述靶細胞的重定向殺傷的所述結合分子包含能夠結合所述靶細胞的癌抗原或病原體相關抗原的第三表位元-結合結構域。

【第34項】 如請求項33所述的藥物組合物，其中能夠介導對所述靶細胞的重定向殺傷的所述結合分子的所述第三表位元結合-結構域能夠結合所述靶細胞的不同癌抗原或不同病原體相關抗原，以便能夠介導所述重定向殺傷的所述結合分子能夠結合所述靶細胞的兩種不同癌抗原或兩種不同病原體相關抗原。

【第35項】 如請求項21-34中任一項所述的藥物組合物，其中所述效應細胞的所述細胞表面分子選自：CD2、CD3、CD8、CD16、TCR和NKG2D。

【第36項】 如請求項20-35中任一項所述的藥物組合物，其中所述癌抗原選自下述癌抗原：19.9、4.2、A33、ADAM-9、AH6、ALCAM、B1、B7-H3、BAGE、 β -聯蛋白、血型ALe^b/Le^y、伯基特淋巴瘤抗原-38.13、C14、CA125、羧肽酶M、CD5、CD19、CD20、CD22、CD23、CD25、CD27、CD28、CD33、CD36、CD40/CD154、CD45、CD56、CD46、CD52、CD56、CD79a/CD79b、CD103、CD123、CD317、CDK4、CEA、CEACAM5/CEACAM6、CO17-1A、CO-43、CO-514、CTA-1、CTLA-4、細胞角蛋白8、D1.1、D₁56-22、DR5、E₁系列、EGFR、肝配蛋白受體、Erb、GAGE、GD2/GD3/GM2神經節苷脂、GICA 19-9、gp100、Gp37、gp75、gpA33、HER2/neu、HMFG、人乳頭瘤病毒-E6/人乳頭瘤病毒-E7、HMW-MAA、I抗原、IL13R α 2、整聯蛋白 β 6、JAM-3、KID3、KID31、KS 1/4全癌抗原、L6、L20、LEA、LUCA-2、M1:22:25:8、M18、M39、MAGE、MART、間皮素、MUC-1、MUM-1、Myl、N-乙醯葡萄糖氨基轉移酶、擬糖蛋白、NS-10、OFA-1、OFA-2、制癌蛋白M、p15、p97、PEM、PEMA、PIPA、PSA、PSMA、前列腺酸磷酸鹽、R₂₄、ROR1、鞘脂類、SSEA-1、SSEA-3、SSEA-4、sTn、T細胞受體衍生的肽、T₅A₇、TAG-72、TL5、TNF-受體、TNF- γ 受體、TRA-1-85、轉鐵蛋白受體、5T4、TSTA、VEGF、VEGF受體、VEP8、VEP9、VIM-D5和Y半抗原Le^y。

【第37項】 如請求項20-35中任一項所述的藥物組合物，其中所述病原體相關抗原選自下述病原體抗原：單純疱疹病毒感染的細胞蛋白質(ICP)47、單純疱疹病毒gD、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-1、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2A、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2B、人免疫缺陷病毒gp160、人免疫缺陷病毒gp120、人免疫缺陷

病毒gp41等、人乳頭瘤病毒E6、人乳頭瘤病毒E7、人T細胞白血病毒gp64、人T細胞白血病毒gp46和人T細胞白血病毒gp21。

【第38項】 一種試劑盒，其包括如請求項20-37中任一項所述的藥物組合物，其中其所述結合分子被分裝在一個或多個容器中。

