



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107250157 B

(45) 授权公告日 2021.06.29

(21) 申请号 201580065226.2

C07K 16/28 (2006.01)

(22) 申请日 2015.11.19

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 107250157 A

(43) 申请公布日 2017.10.13

(30) 优先权数据

62/083,021 2014.11.21 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2017.05.22

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2015/061632 2015.11.19

(87) PCT国际申请的公布数据

W02016/081746 EN 2016.05.26

(73) 专利权人 百时美施贵宝公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 N·伦贝格 A·J·科曼

M·J·塞尔比 B·C·巴恩哈特

A·P·亚姆尼克 M·斯里尼瓦桑

K·A·亨宁 M·M·韩 M·雷

L·施魏策尔 S·V·哈彻

A·赖帕尔

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

代理人 封新琴

(51) Int.Cl.

C07K 16/00 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 101939425 A, 2011.01.05

CN 1829533 A, 2006.09.06

CN 1829533 A, 2006.09.06

EP 2784091 A1, 2014.10.01

EP 2784091 A1, 2014.10.01

CN 101052654 A, 2007.10.10

M. SUZANNE CHAPPEL, et

al..Identification of the Fc,, receptor class I binding site in human IgG through the use of recombinant IgG1/IgG2 hybrid and point-mutated antibodies.《Proc. Nati. Acad. Sci. USA》.1991,第88卷(第20期),第9036-9040页.

M. SUZANNE CHAPPEL, et

al..Identification of the Fc,, receptor class I binding site in human IgG through the use of recombinant IgG1/IgG2 hybrid and point-mutated antibodies.《Proc. Nati. Acad. Sci. USA》.1991,第88卷(第20期),第9036-9040页.

审查员 高赞

权利要求书2页 说明书93页

序列表176页 附图37页

(54) 发明名称

包含修饰的重链恒定区的抗体

(57) 摘要

本申请提供的是重链恒定区(称作“修饰的重链恒定区”)或其功能上等同的片段,其相对于未修饰形式的相同抗体增强抗体的生物学性质。一个例示性修饰的重链恒定区包括IgG2铰链和三个恒定域(即,CH1、CH2和CH3域),其中一个或多个恒定区域是非-IgG2同种型的(例如,IgG1、IgG3或IgG4)。所述重链恒定区可包含野生型人

IgG域序列或这些序列的变体。本申请还提供的是用于增强包含非-IgG2铰链的抗体的一些生物学性质,如内化、激动和拮抗的方法,其中所述方法包括用IgG2铰链代替抗体的非-IgG2铰链。

1. 一种包含修饰的重链恒定区的抗体,其中所述修饰的重链恒定区以N-至C-端的顺序包含CH1域、铰链、CH2域和CH3域,其中:

(a) 所述CH1包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列;

(b) 所述铰链包含SEQ ID NO:129,SEQ ID NO:21,SEQ ID NO:23,SEQ ID NO:130或SEQ ID NO:127的氨基酸序列;

(c) 所述CH2域包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列或SEQ ID NO:24的氨基酸序列;且

(d) 所述CH3域包含SEQ ID NO:5或SEQ ID NO:5发生了氨基酸取代E356D和M358L的氨基酸序列;

或者其中包含如(a)、(b)、(c)和(d)定义的CH1域、铰链、CH2域和CH3域的修饰的重链恒定区缺乏C端GK或K。

2. 权利要求1的抗体,其中所述抗体包含选自下组的修饰的重链恒定区:SEQ ID NO:34,35,37,80,81,84和159。

3. 权利要求1或2的抗体,其(i)特异性结合共刺激受体;(ii)特异性结合细胞表面分子并触发所述细胞表面分子的抗体介导的内化;(iii)特异性结合抑制性受体;(iv)特异性结合细胞表面分子并触发细胞内信号传导;(v)特异性结合细胞表面分子并触发高分子量抗体-细胞表面分子复合物的形成;或(vi)特异性结合细胞表面分子并触发所述细胞表面分子的集群或寡聚。

4. 权利要求3的抗体,其中所述共刺激受体为GITR,OX40,4-1BB,CD28,ICOS,CD40L,CD27或任何其他TNFR超家族成员;所述细胞表面分子为CD73;所述抑制性受体为CTLA-4,PD-1,LAG-3,TIM-3,半乳糖凝集素9,CEACAM-1,BTLA,CD69,半乳糖凝集素-1,TIGIT,CD113,GPR56,VISTA,2B4,CD48,GARP,PD1H,LAIR1,TIM-1和TIM-4;或者所述细胞内信号传导介导激动剂活性、拮抗剂活性、细胞表面分子的内化或ADCC。

5. 权利要求1、2或4的抗体,其中,所述抗体相对于具有相同的可变区和轻链但包含IgG1重链恒定区的抗体呈现增强的或改变的激动剂活性;所述抗体相对于具有相同可变区和轻链但包含IgG1重链恒定区的抗体具备增强的或改变的内化性质;所述抗体相对于具有IgG1重链恒定区的相同抗体呈现更强的或改变的拮抗剂活性或引入新的活性;所述抗体相对于具有相同的可变区和轻链但包含IgG1重链恒定区的抗体触发更强的细胞内信号传导;所述抗体相对于具有相同可变区和轻链但包含IgG1重链恒定区的抗体触发更高分子量复合物的形成;或者所述抗体相对于具有相同可变区和轻链但包含IgG1重链恒定区的抗体触发所述细胞表面分子的更多的集群或寡聚。

6. 权利要求3的抗体,其中,所述抗体相对于具有相同的可变区和轻链但包含IgG1重链恒定区的抗体呈现增强的或改变的激动剂活性;所述抗体相对于具有相同可变区和轻链但包含IgG1重链恒定区的抗体具备增强的或改变的内化性质;所述抗体相对于具有IgG1重链恒定区的相同抗体呈现更强的或改变的拮抗剂活性或引入新的活性;所述抗体相对于具有相同的可变区和轻链但包含IgG1重链恒定区的抗体触发更强的细胞内信号传导;所述抗体相对于具有相同可变区和轻链但包含IgG1重链恒定区的抗体触发更高分子量复合物的形成;或者所述抗体相对于具有相同可变区和轻链但包含IgG1重链恒定区的抗体触发所述细胞表面分子的更多的集群或寡聚。

7. 一种双特异性分子,其包含前述权利要求中任一项的抗体,所述抗体连接于具有第

二结合特异性的分子。

8. 一种免疫缀合物,其包含前述权利要求中任一项的抗体,所述抗体连接于第二作用剂。

9. 一种组合物,其包含权利要求1-6中任一项的抗体、权利要求7的双特异性分子、或权利要求8的免疫缀合物,以及载剂。

10. 权利要求9的组合物,其进一步包含一个或多个另外的治疗剂。

11. 权利要求10的组合物,其中所述另外的治疗剂刺激免疫系统。

12. 权利要求11的组合物,其中所述治疗剂是共刺激受体或检查点抑制剂的拮抗剂。

13. 一种制备权利要求1的抗体的方法,包括下述步骤:

(a) 提供包含铰链和/或CH1域的抗体,所述铰链和/或CH1域不是IgG2铰链和/或IgG2 CH1域;

(b) 分别用IgG2铰链和/或IgG2 CH1域代替所述铰链和/或所述CH1域。

14. 权利要求1-6中任一项的抗体、权利要求7的双特异性分子、权利要求8的免疫缀合物、或权利要求9-12中任一项的组合物用于制备用于治疗受试者的药物的用途。

15. 权利要求14的用途,其中所述药物进一步包括一个或多个另外的治疗剂。

16. 权利要求15的用途,其中所述治疗剂刺激免疫系统。

17. 权利要求16的用途,其中所述治疗剂是检查点抑制剂或共刺激分子。

包含修饰的重链恒定区的抗体

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2014年11月21日提交的美国临时申请号62/083,021的优先权。本说明书通篇引用的任何专利、专利申请和参考文件的内容由此通过提述以其整体并入。

[0003] 背景

[0004] 抗体治疗剂是疾病,如癌症和免疫病症的治疗中最快速成长的领域之一。虽然如此,治疗性抗体有效靶向抗原仍然是保健方面的主要挑战。因此,抗体工程已经成为制药界的主要焦点。从这个焦点出发,已出现了许多新的工程化抗体,如抗体片段,抗体药物缀合物(ADCs),具有修饰的效应物区的抗体和双特异性抗体。

[0005] 抗体通过许多不同的机制促进其治疗性质。抗体可直接抑制或活靶抗原,从而调节细胞信号传导。抗体可抑制配体与受体的结合。抗体还可诱导或抑制免疫反应,例如,通过增强受试者的免疫系统来对抗感染或癌症(例如,作为活化T细胞的共刺激因子)。

[0006] 此外,细胞表面受体/抗原的抗体介导的内化被认为是治疗性抗体的主要作用机制。在这种情况下,抗体从细胞表面去除靶并通过诱导内化入细胞而且免除执行其功能。事实上,抗体治疗剂的前驱之一是用于治疗乳腺癌的曲妥珠单抗(trastuzumab)。曲妥珠单抗靶向ErbB2受体并诱导受体/抗体内化,从而抑制EGFR信号传导。然而,抗体并不总是显示有效的内化质量,因此持续需要具有改善的内化功能的抗体。因此,用于改进已知治疗性抗体的内化的方法是高度需要的。

发明内容

[0007] 本发明提供重链恒定区(称作“修饰的重链恒定区”)或其功能上等同的片段,其相对于未修饰形式的相同抗体增强抗体的生物学性质。例如,包含所述修饰的恒定区的抗体呈现增加的内化和/或激动或拮抗活性。因此,本发明的抗体是原始未修饰的抗体的优化形式。具体地,修饰的重链恒定区包括IgG2 铰链和三个恒定域(即,CH1、CH2和CH3域),其中一个或多个恒定区域是非IgG2人同种型(例如,IgG1、IgG3或IgG4),或其功能上等同的片段。修饰的恒定区可包括相应的野生型氨基酸序列,或其变体,例如,相对于野生型氨基酸序列在链链或CH1、CH2、CH3域内的一个或多个(例如,1-10,或更多个)氨基酸取代或缺失。因此,铰链和/或每个恒定域的氨基酸序列与相应的野生型氨基酸序列为至少约80%、85%、90%、95%或更多(即,96%、97%、98%、99%或100%)同一的。

[0008] 在一个实施方案中,修饰的重链恒定区包括野生型humIgG2铰链或与野生型humIgG2铰链的氨基酸序列至少95%同一的氨基酸序列。铰链可进一步包含额外的修饰,例如,以减少二硫键形成。在一个实施方案中,铰链相对于野生型humIgG2铰链包括氨基酸取代C219S。在一些实施方案中,铰链包含SEQ ID NO:8,21-23,126-132和134-147中任一个所示的氨基酸序列,或包含在CVE和CPP之间插入的1-3个氨基酸的这些序列之一。

[0009] 在一些实施方案中,修饰的重链恒定区包括IgG2 CH1域,例如野生型人 IgG2 CH1域,或与野生型人IgG2 CH1域的氨基酸序列至少95%同一的氨基酸序列(SEQ ID NO:7)。

[0010] 在一些实施方案中,修饰的重链恒定区包括IgG1 CH2域,例如野生型人 IgG1 CH2

域,或与野生型人IgG1 CH2域的氨基酸序列至少95%同一的氨基酸序列。CH2域可包含额外的修饰(例如,以减少或消除效应物功能)。在一些实施方案中,相对于野生型全长人IgG1 CH2,CH2域包含氨基酸取代 A330S和P331S。在一些实施方案中,CH2域包含SEQ ID NO:24。

[0011] 在一些实施方案中,修饰的重链恒定区包括IgG1 CH3域,例如野生型人 IgG1 CH3域,或与野生型人IgG1 CH3域的氨基酸序列至少95%同一的氨基酸序列。CH3域可进一步含有额外的修饰以赋予特定的异型(allotype)。在一个实施方案中,相对于不同异型的野生型全长人IgG1,CH3域含有在位置356 处的氨基酸残基E和位置358处的氨基酸M。在一些实施方案中,CH3域包含SEQ ID NO:5。

[0012] 在一个具体的实施方案中,该抗体包含修饰的重链恒定区其中(a)CH1域为野生型人IgG2 CH1域或野生型IgG1 CH1域,具有或不具有额外修饰,(b) 铰链是具有或不具有C219S取代的野生型IgG2铰链,(c)CH2域是野生型人 IgG1 CH2域或野生型IgG2 CH2域,具有或不具有额外的修饰,和(d)CH3 域是野生型人IgG1 CH3域或野生型人IgG2 CH3域,在位置356处具有或不具有氨基酸E,和在358位处具有氨基酸M。在一个具体的实施方案中,修饰的重链恒定区包含本文所述的氨基酸序列,例如,SEQ ID NO:26-37和 78-93的任一个中所示的。

[0013] 本发明的抗体(即,具有修饰的恒定区的抗体)可为完全人抗体或人源化的抗体,并且与相同的没有修饰的重链恒定区抗体相比进一步呈现一个或多个增强的或改变的特性。这些特征可包括增加的或改变的被细胞内化、对抗活性(agonistic activity)、大交联复合物的形成、ADCC、受体介导的信号传导、拮抗剂活性、免疫调节活性和抗肿瘤活性;或引入一个新的特性,例如,激动剂活性。

[0014] 本发明还提供含有修饰的恒定区的免疫缀合物和双特异性分子,以及组合物,其包含抗体,双特异性分子,免疫缀合物或和可接受的药物载剂。这样的组合物还可包括一个或多个另外的治疗剂,例如,刺激免疫系统的作用剂,如检验点抑制剂、共刺激分子、抗CD39抗体,或抗A2AR抗体。

[0015] 还提供了制备包含修饰的重链恒定区的抗体的方法。本申请提供的某些方法包括与包含非-IgG2同种型的铰链的相同抗体相比增加抗体被细胞内化的方法,以及增加抗体的激动剂活性的方法。这样的方法包括提供具有不是 IgG2铰链的铰链的抗体,和用IgG2铰链(如铰链,其为野生型humIgG2铰链,具有与野生型humIgG2铰链的氨基酸序列至少95%同一的氨基酸序列的铰链,或经修饰以减少二硫键形成的铰链,例如包含氨基酸取代C219S的铰链)代替所述铰链的步骤。在一个实施方案中,抗体的内化增强或增加至少10%, 30%, 50%, 75%, 2倍, 3倍, 5倍或更多,导致 $T_{1/2}$ 减少至少10%, 30%, 50%, 75%, 2倍, 3倍, 5倍或更多。在一些实施方案中,激动剂活性增加或增强至少10%, 30%, 50%, 75%, 2倍, 3倍, 5倍或更多,如通过增加的细胞因子释放或增加的效应物T细胞的增殖;降低的T调节细胞活性(如果啮合于Tregs降低Treg功能);或增加的Treg的耗尽所定义的。

[0016] 在一些实施方案中,该方法还包括用不同同种型的CH1、CH2或CH3 域代替CH1、CH2或CH3域中至少一个的步骤。这样的代替包括,例如:(a) 用IgG1 CH1域或IgG2 CH1域代替所述CH1域;(b)用IgG1 CH2域或IgG2 CH2域代替所述CH2域;和/或(b)用IgG1 CH3域或IgG2 CH3域代替所述 CH3域,其中代替域具有野生型序列或与野生型序列至少95%同一。在一些实施方案中,CH1域包含如SEQ ID NO:7所示的氨基酸序列。在一些实施方案中,CH2域经修

饰以减少或消除效应物功能,例如,CH2域包含氨基酸取代A330S和P331S(SEQ ID NO:24)。在一些实施方案中,CH3域包含在位置 356处的氨基酸残基E,和在位置358处的氨基酸M(SEQ ID NO:5)。

[0017] 本申请提供的方法包括通过施用包含修饰的重链恒定区的抗体、双特异性分子或免疫缀合物来治疗受试者的方法。也可共同施用一个或多个另外的治疗剂,例如,刺激免疫系统的治疗剂,如检查点抑制剂、共刺激分子。

[0018] 本申请提供的是包含修饰的重链恒定区的抗体,其包含CH1域、铰链、CH2域和CH3域以形成N-至C-端,而且其中(a) CH1域包含SEQ ID NO:7 的氨基酸序列或与其相差至多5个氨基酸的氨基酸序列或与SEQ ID NO:7至少95%同一的氨基酸序列,而且其中C131, R133, E137, S138或R217中的至少一个未被取代或缺失;(b) 包含SEQ ID NO:8, 21-23, 126-132或134-147 中任一个的铰链,或包含在CVE和CPP之间插入的1-3个氨基酸的序列,或与其相差至多5个氨基酸的序列,其中铰链在C219和C220两者处都不包含取代或缺失;(c) 抗体相对于包含IgG1铰链和CH1域的相同抗体具有至少一种增强的性质或新引入的性质;和(d) 修饰的重链恒定区不是野生型IgG2恒定区或包含C219S和/或C220S的IgG2恒定区。铰链可包含氨基酸序列 ERKXCVEPPCPAP (SEQ ID NO:129) 或ERKCXVEPPCPAP (SEQ ID NO:130), 其中X是除半胱氨酸外的任何氨基酸。例如,链链可包含氨基酸序列 ERKSCVEPPCPAP (SEQ ID NO:131) 或ERKCSVEPPCPAP (SEQ ID NO:132)。在一些实施方案中,氨基酸残基P233、V234、A235和G237中的至少一个或全部被缺失或用另外的氨基酸残基,例如IgG1铰链中相应的氨基酸取代。在一些实施方案中,氨基酸残基R133、E137、S138和R217中没有,或 C131、R133、E137、S138和R217中没有被取代或缺失。在一些实施方案中,N192和/或F193用另外的氨基酸取代。抗体可包含与野生型IgG1至少95%同一的CH2域。抗体可包含与野生型IgG1至少95%同一的CH3域。在一些实施方案中,CH2和/或CH3域不是野生型IgG1 CH2和/或CH3域,且抗体具有比野生型IgG1 更强的效应物功能。在一些实施方案中,CH2和/或CH3域不是野生型IgG1 CH2和/或CH3域,且抗体具有不如野生型IgG1 强的效应物功能。在一些实施方案中,抗体包含与野生型IgG1或IgG4至少 95%同一的CH2域和/或CH1域。在一些实施方案中,所述抗体具有至少一种增强的性质,其选自激动剂活性、抗体介导的受体内化、ADCC、受体介导的信号传导、拮抗剂活性、免疫调节活性或抗肿瘤活性;或新引入的性质,其为激动剂活性。在一些实施方案中,抗体包含修饰的重链恒定区,其中(a) CH1域是野生型人IgG2 CH1域;(b) 铰链包含SEQ ID NO:8, 21-23, 126-132或134-147中任一个的SEQ ID NO:或包含在CVE和CPP之间插入的1-3个氨基酸的序列;(c) CH2域是野生型人IgG1 CH2域或修饰的CH2域,其将增强的或减少的效应物功能赋予所述抗体;和(d) CH3域是野生型人IgG1 CH3域或修饰的CH3 域,其将增强的或减少的效应物功能赋予所述抗体。修饰的重链恒定域可包含 SEQ ID NOs:26-37, 54-56, 78-125和152-168中任一个所示的氨基酸序列,或与SEQ ID NOs:26-37, 54-56, 78-125和152-168至少95%同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗体包含修饰的重链恒定区,其中所述重链恒定区包含CH1域和含有如下序列的铰链

[0019] ASTKGPSVFPLAP**CS**R**ST**S**ES**TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSS ~~MF~~GTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV**ERKCC**VEPPCPAP**PVAG** (SEQ ID NO: 133), 或与SEQ ID NO:133相差至多10个氨基酸的氨基酸序列或与SEQ ID NO:133至少90%同一的

氨基酸序列,其中(i) C131,R133,E137,S138和 R217中的至少一个不用另外的氨基酸取代或被缺失;(ii) C219和C220可用另外的氨基酸取代或被缺失,但C219和C220可以不都被取代或缺失;(iii) 1-3 个氨基酸可插入铰链中的CVE和CPP之间;(iv) 铰链任选地在C末端含有额外的氨基酸,例如G;(v) 氨基酸P233,V234,A235和G237中的一个或多个可用另外的氨基酸(例如,来自IgG1的相应氨基酸)取代或被缺失;(vi) CH2 和CH3域可为野生型或修饰的IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 CH2和CH3域;(vii) 修饰的重链恒定区不是野生型IgG2重链恒定区或具有C219S或C220S 的野生型IgG2重链恒定域;和(viii) 抗体相对于包含IgG1铰链和CH1域的相同抗体具有至少一种增强的性质或新引入的性质。在一些实施方案中,所述抗体具有至少一种增强的性质,其选自激动剂活性、抗体介导的受体内化、ADCC、受体介导的信号传导、拮抗剂活性、免疫调节活性或抗肿瘤活性;或新引入的性质,其为激动剂活性。在一些实施方案中,氨基酸C131;R133; E137;S138;R217中没有一个用另外的氨基酸取代或被缺失。在一些实施方案中,N192和/或F193不被取代或分别为N192S和/或F193L。在一些实施方案中,C219是C219S,C220是C220S,P233-G237被取代或缺失;V234-G237 被取代或缺失;A235-G237被取代或缺失;G237被取代或缺失;P233被取代或缺失;P233-V234被取代或缺失;或P233-A235被取代或缺失。抗体可具有效应物功能,或被剥夺效应物功能。抗体可包含野生型或修饰的IgG1 CH2域和或野生型或修饰的IgG1 CH3域。

[0020] 在一些实施方案中,抗体包含修饰的重链恒定区,其中所述重链恒定区包含含有如下序列的CH1域:ASTKGPSVFPLAP**CS**RSTS**ES**TAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSS**AF**GTQTYTCNV~~D~~HKPSNTKVDK**TVE**(SEQ ID NO:7),或与SEQ ID NO:7相差至多10个氨基酸的氨基酸序列或与SEQ ID NO:7至少90%同一的氨基酸序列,其中(i) C131,R133,E137,S138和R217 中的至少一个不被取代或缺失;(ii) 修饰的重链恒定区不是野生型IgG2重链恒定区或具有C219S或C220S的野生型IgG2重链恒定域;和(iii) 抗体相对于包含IgG1铰链和CH1域的相同抗体具有至少一种增强的性质或新引入的性质。所述抗体可具有至少一种增强的性质,其选自激动剂活性、抗体介导的受体内化、ADCC、受体介导的信号传导、拮抗剂活性、免疫调节活性或抗肿瘤活性;或新引入的性质,其为激动剂活性。在一些实施方案中,氨基酸 C131;R133;E137和S138中没有一个用另外的氨基酸取代或被缺失。在一些实施方案中,N192和/或F193不被取代或分别为N192S和/或F193L。抗体可具有效应物功能,或被剥夺效应物功能。抗体可包含野生型或修饰的IgG1 CH2域和或野生型或修饰的IgG1 CH3域。

[0021] 抗体可包含修饰的重链恒定区,其中所述重链恒定区包含含有如下序列的铰链:**ERKCCVECPCPAPPVAG**(SEQ ID NO:8),或与SEQ ID NO:8相差至多 5个氨基酸的氨基酸序列,其中(i) C219和C220可用另外的氨基酸取代或被缺失,但C219和C220可以不都被取代或缺失;(ii) 氨基酸P233,V234,A235 和G237中的一个或多个可被取代或缺失;(iii) 1-3个氨基酸可插入铰链中的 CVE和CPP之间;(iv) 铰链任选地在C末端含有额外的氨基酸,例如G;(v) CH2和CH3域可为野生型或修饰的IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 CH2和CH3 域;(vi) 修饰的重链恒定区不是野生型IgG2重链恒定区或具有C219S或C220S 的野生型IgG2重链恒定域;和(vii) 抗体相对于包含IgG1铰链和CH1域的相同抗体具有至少一种增强的性质或新引入的性质。所述抗体可具有至少一种增强的性质,其选自激动剂活性、抗体介导的受体内化、ADCC、受体介导的信号传导、拮抗剂活性、免疫调节活性或抗肿瘤活性;或新引入的性质,其

为激动剂活性。在一些实施方案中,C219是C219S,C220是C220S, P233-G237被取代或缺失;V234-G237被取代或缺失;A235-G237被取代或缺失;G237被取代或缺失;P233被取代或缺失;P233-V234被取代或缺失;或P233-A235被取代或缺失。抗体可具有效应物功能,或被剥夺效应物功能。抗体可包含野生型或修饰的IgG1 CH2域和或野生型或修饰的IgG1 CH3域。

[0022] 还提供的是包含修饰的重链恒定区的抗体,其中所述重链恒定区包含 IgG1或IgG2铰链,而且其中所述铰链缺乏1-7个氨基酸,而且其中所述抗体相对于包含IgG1铰链和CH1域的相同抗体具有至少一种增强的性质或新引入的性质。所述抗体可具有至少一种增强的性质,其选自激动剂活性、抗体介导的受体内化、ADCC、受体介导的信号传导、拮抗剂活性、免疫调节活性或抗肿瘤活性;或新引入的性质,其为激动剂活性。所述铰链可为缺乏1-4个氨基酸,例如,氨基酸C219,C220,V222和E224的IgG2铰链。所述铰链为缺乏氨基酸S219,C220,D221,K222,T223,H224和T225的IgG1铰链。所述抗体可包含野生型或修饰的IgG2 CH1域;野生型或修饰的IgG1 CH1域,和IgG1、IgG2或IgG4 CH2域和IgG1、IgG2或IgG4 CH3域。

[0023] 具有修饰的重链恒定区的抗体可为人或人源化的抗体或其抗原结合部分。在一些实施方案中,抗体特异性结合涉及免疫调节的抗原。抗体可为共刺激受体的激动剂或抑制性受体的拮抗剂。例如,抗体可结合共刺激受体,例如,选自下组:B7-1,B7-2,CD28,4-1BB,GITR,OX40,ICOS,CD70,CD27, CD40,DR3或CD28H,或者抗体可结合抑制性受体,例如,选自下组:CTLA-4, PD-1,PD-L1,PD-L2,LAG-3,TIM-3,半乳糖凝集素9,CEACAM-1,BTLA, CD69,半乳糖凝集素-1,TIGIT,CD113,GPR56,VISTA,2B4,CD48,GARP, PD1H,LAIR1,TIM-1和TIM-4。抗原可为需要内化的抗原,例如CD73。抗原可为CD39。

[0024] 在一些实施方案中,包含修饰的重链恒定区的抗体特异性结合共刺激受体,例如GITR,OX40,4-1BB,CD28,ICOS,CD40,CD27或任何其他TNFR超家族成员,并且包含选自下组的修饰的重链恒定区:SEQ ID NOs:26-37,54-56, 78-125和152-168。在一些实施方案中,抗体相对于具有相同可变区和轻链、但包含IgG1重链恒定区的抗体呈现增强的或改变的激动剂活性。

[0025] 在一些实施方案中,包含修饰的重链恒定区的抗体特异性结合细胞表面分子,例如CD73,并触发细胞表面分子的抗体介导的内化,而且包含选自下组的修饰的重链恒定区:SEQ ID NOs:26-37,54-56,78-125和152-168。在一些实施方案中,抗体相对于具有相同可变区和轻链、但包含IgG1重链恒定区的抗体具有增强的或改变的内化性质。

[0026] 在一些实施方案中,包含修饰的重链恒定区的抗体特异性结合抑制性受体,例如CTLA-4,PD-1,LAG-3,TIM-3,半乳糖凝集素9,CEACAM-1,BTLA, CD69,半乳糖凝集素-1,TIGIT,CD113,GPR56,VISTA,2B4,CD48,GARP, PD1H,LAIR1,TIM-1和TIM-4,而且包含选自下组的修饰的重链恒定区:SEQ ID NOs:26-37,54-56,78-125和152-168。在一些实施方案中,抗体相对于具有IgG1重链恒定区的相同抗体呈现更强的或改变的拮抗剂活性或引入新的活性。

[0027] 在一些实施方案中,包含修饰的重链恒定区的抗体特异性结合细胞表面分子并触发细胞内信号传导,其中抗体包含选自下组的修饰的重链恒定区:SEQ ID NOs:26-37,54-56,78-125和152-168。在一些实施方案中,细胞内信号传导介导激动剂活性、拮抗剂活性、细胞表面分子的内化或ADCC。在一些实施方案中,抗体相对于具有相同的可变区和轻链、但包含IgG1重链恒定区的抗体触发更强的细胞内信号传导。

[0028] 在一些实施方案中,包含修饰的重链恒定区的抗体特异性结合细胞表面分子并触发高分子量抗体-细胞表面分子复合物的形成,其中抗体包含选自下组的修饰的重链恒定区:SEQ ID NOs:26-37,54-56,78-125和152-168。在一些实施方案中,抗体相对于具有相同可变区和轻链、但包含IgG1重链恒定区的抗体触发更高分子量复合物的形成。

[0029] 在一些实施方案中,包含修饰的重链恒定区的抗体特异性结合细胞表面分子并触发集群或寡聚的细胞表面分子,其中抗体包含选自下组的修饰的重链恒定区:SEQ ID NOs:26-37,54-56,78-125和152-168。在一些实施方案中,抗体相对于具有相同可变区和轻链、但包含IgG1重链恒定区的抗体触发细胞表面分子的更多集群或寡聚。

[0030] 本申请还提供的是包含抗体的双特异性分子,所述抗体含有与具有第二结合特异性的分子连接的修饰的重链恒定区。本申请还提供的是包含与第二作用剂连接的抗体的免疫缀合物,所述抗体包含修饰的重链恒定区。还提供的是本申请所述的包含抗体、双特异性(分子)或免疫缀合物以及载剂的组合物。所述组合物可包含一个或多个额外的治疗剂,例如,刺激免疫系统的治疗剂,并且是例如共刺激受体或检查点抑制剂的拮抗剂。

[0031] 本文还提供的是制备包含修饰的重链恒定区的抗体的方法,其中所述抗体包含CH1域、铰链、CH2域和CH3域以形成N-至C-端,所述方法包括以下步骤:(a)提供包含铰链和/或CH1域的抗体,所述铰链和/或CH1域不是IgG2铰链和/或IgG2 CH1域;和(b)分别用IgG2铰链和/或IgG2 CH1域替换所述铰链和/或CH1域。本文还提供的是增加抗体被细胞内化的方法,其包括:(a)提供包含铰链和/或CH1域的抗体,所述铰链和/或CH1域不是IgG2铰链和/或IgG2 CH1域;和(b)分别用IgG2铰链和/或IgG2 CH1域替换所述铰链和/或CH1域。与包含非-IgG2同种型的铰链的相同抗体(例如,包含IgG1恒定区的抗体)的内化相比,抗体的内化可增加。还提供的是增加抗体的激动剂活性的方法,其包括:(a)提供包含铰链和/或CH1域的抗体,所述铰链和/或CH1域不是IgG2铰链和/或IgG2 CH1域;和(b)分别用IgG2铰链和/或IgG2 CH1域代替所述铰链和/或CH1域。激动剂活性与包含非-IgG2同种型的铰链的相同抗体(例如,包含IgG1恒定区的抗体)的激动剂活性相比可增加。IgG2铰链可为野生型humIgG2铰链,或包含氨基酸序列,其与野生型humIgG2铰链的氨基酸序列至少95%同一,并且可包含例如表4中所示的序列。方法可包括分别用不同同种型的CH1、CH2或CH3域代替CH1,CH2或CH3域中的至少一个的步骤。方法可包括以下步骤:(a)用IgG2 CH1域替换所述CH1域;(b)用IgG1 CH2域替换所述CH2域;和/或(b)用IgG1 CH3域替换所述CH3域。方法可包括以下步骤:(a)用野生型人IgG2 CH1域或与其至少95%同一的域代替所述CH1域;(b)用野生型人IgG1 CH2域或与其至少95%同一的域代替所述CH2域;和/或(b)用野生型人IgG1 CH3域或与其至少95%同一的域代替所述CH3域。方法可包括用包含SEQ ID NOs:26-37,54-56,78-125和152-168中任一个的修饰的重链恒定区或与SEQ ID NOs:26-37,54-56,78-125和152-168至少95%同一的区代替所述重链恒定区的步骤。铰链可经修饰以减少或改变二硫键形成。铰链可包含氨基酸取代C219S。铰链可包含SEQ ID NO:8,21-23,126-132或134-147中任一个所示的氨基酸序列,或包含在CVE和CPP之间插入的1-3个氨基酸的序列。所述CH1域可包含氨基酸序列ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTV(SEQ ID NO:7)。所述CH2域可经修饰以减少或消除效应物功能。所述CH2域可包含氨基酸取代A330S和P331S。所述CH2域可包含氨基酸序列PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE

QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAK (SEQ ID NO:4)。所述CH2域可包含氨基酸取代A330S和P331S。所述CH3域可包含氨基酸序列GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK (SEQ ID NO:5)。

[0032] 还提供的是通过本申请所述的方法(例如,上文所示)产生的抗体或其抗原结合部分,例如,人或人源化的抗体。使用本申请所述的任何抗体治疗受试者(例如具有癌症的受试者)的方法也涵盖在本文中。所述方法可包括施用一种或多种额外的治疗剂,例如刺激免疫系统的治疗剂。例如,治疗剂可靶向检查点抑制剂或共刺激分子。所述方法可包括施用本申请所述的组合物、双特异性分子或免疫缀合物。

[0033] 附图简述

[0034] 图1A显示通过以下抗体在H2228细胞(非小细胞肺癌细胞系)中CD73的抗体介导的内化的动力学:H2228细胞中的11F11、4C3、6D11、具有4C3Vk1 轻链的CD73.3-IgG1.1f(“3-Vh-hHC-IgG1.1f/4C3Vk1”)、具有11F11Vk2轻链的CD73.4-IgG2CS(“4-Vh-hHC-IgG2-C219S/11F11-Vk2”)、CD73.10-IgG2CS (“CD73.10-Vh-hHC-IgG2-C219S”)、CD73.10-IgG2CS-IgG1.1f(“CD73.10-Vh-hHC-IgG2-C219S-IgG1.1f”)和CD73.10-IgG1.1f(“CD73.10-Vh-hHC-IgG1.1f”) 抗体。11F11(其为IgG2同种型的)、CD73.4-IgG2CS、CD73.10-IgG2CS和CD73.10-IgG2CS-IgG1.1f抗体比其他测试的抗体(其为IgG1同种型的)更快地内化并且内化至更高的程度。

[0035] 图1B显示在HCC15细胞(非小细胞肺癌细胞系)中与图1A所示的那些相同的抗体的抗体介导的CD73内化的动力学,其显示与在H2228细胞中获得的那些相似的结果。

[0036] 图1C显示在Calu6细胞中与图1A和1B所示的那些相同的抗体以及 CD73.11-IgG2CS(“11-Vh-hVC-IgG2-C219S”)的抗体介导的CD73内化的动力学,其显示与在H2228和HCC15细胞中获得的那些相似的结果。

[0037] 图1D显示在NCI-2030细胞(非小细胞肺癌细胞系)中与图1C所示的那些相同的抗体的抗体介导的CD73内化的动力学,其显示与在H2228、HCC15 和Calu6细胞中获得的那些相似的结果。

[0038] 图1E显示在Calu6细胞中指示抗体的抗体介导的CD73内化的动力学,如通过流式细胞术测量的。

[0039] 图1F显示在NCI-H292细胞(粘液表皮样肺癌细胞系)中指示抗体的抗体介导的CD73内化的动力学,如通过流式细胞术测量的,但其中在细胞与抗体的第一次温育后所述抗体不被洗出(washed out)。

[0040] 图1G显示在用指示抗体处理的Calu6细胞中内化的CD73的百分比,其显示Calu6细胞中指示抗体随时间的抗体介导的CD73内化。

[0041] 图1H显示在用指示抗体处理的NCI-H292细胞中随时间内化的CD73的百分比,其显示NCI-H292细胞中指示抗体随时间的抗体介导的CD73内化。

[0042] 图1I显示在用指示抗体处理的SNU-C1细胞(结肠癌细胞系)中随时间内化的CD73的百分比,其显示SNU-C1细胞中指示抗体随时间的抗体介导的 CD73内化。

[0043] 图1J显示在用指示抗体处理的NCI-H1437细胞(非小细胞肺癌细胞系)中随时间内化的CD73的百分比,其显示NCI-H1437细胞中指示抗体随时间的抗体介导的CD73内化。。

[0044] 图2显示指示抗人GITR抗体与抗CD3(平板涂覆)和CD28活化的人CD4⁺ T细胞的结合动力学和由图得到的它们相应的EC₅₀值。

[0045] 图3A-C显示来自用具有不同重链恒定区可溶性抗人GITR抗体刺激的供体CD4⁺ T细胞的IFN- γ 和IL-2的分泌。图3A显示用表达OKT3的CHO细胞和多种浓度的具有IgG2-IgG1恒定区的抗人GITR抗体刺激的供体CD4⁺ T细胞的IFN- γ 分泌。图3B显示用表达OKT3的CHO细胞和多种浓度的IgG1重链恒定域或IgG2-IgG1杂合重链恒定域刺激的供体CD4⁺ T细胞的IL-2分泌。图3C显示用表达OKT3的CHO细胞和多种浓度的图3A和B中抗体的无效应物形式(IgG1.1)刺激的供体CD4⁺ T细胞的IL-2分泌。

[0046] 图4显示在存在渐增量的指示的抗人GITR抗体的情况下,在抗CD3单克隆抗体涂覆的平板上培养的3A9-hGITR细胞的IL-2分泌:杂交瘤抗GITR(IgG2)和重组衍生物作为IgG1f、IgG1.1(无效应物),或作为与IgG2铰链的嵌合体。

[0047] 图5A-D显示IgG2铰链对抗体/抗原复合物大小的作用。图5A-C显示hCD73-his与含有不同恒定区的抗体CD73.4的复合物的SEC色谱数据、DLS数据和MALS数据。图5D显示图5C中由MALS确定的质量衍生的hCD73-his/mAb复合物的示意模型。

[0048] 图6显示CD73/mAb复合物的SEC-MALS数据。

[0049] 图7显示CD73/mAb复合物的DLS数据。

[0050] 图8A显示在用指示抗体处理的Calu6细胞中随时间内化的CD73的百分比,其显示Calu6细胞中指示抗体随时间的抗体介导的CD73内化。

[0051] 图8B显示在用指示抗体处理的NCI-H292细胞中随时间内化的CD73的百分比,其显示Calu6细胞中指示抗体随时间的抗体介导的CD73内化。

[0052] 图8C显示在用5 μ g/ml的指示抗体处理0、5、15或30分钟的Calu6细胞表面上的CD73水平。

[0053] 图9显示在具有指示恒定区的抗GITR抗体存在下由与CHO-OKT3细胞共培养的CD4⁺ T细胞分泌的IL-2的水平。

[0054] 图10显示添加每种所示抗体后1、4或21小时抗体介导的CD73内化的百分比。每个抗体的条以21小时(左侧),4小时(中)和1小时(右)的顺序显示。

[0055] 图11A显示hCD73-his与含有不同恒定区序列的16种不同CD73.4抗体的1:1摩尔复合物的SEC色谱图数据的叠加(overlay)。

[0056] 图11B显示图11A色谱图的11-19.5分钟的色谱图数据的扩展,具有指示的4种不同的洗脱物种。

[0057] 图11C显示图11B峰2的UV色谱图信号区域的百分比,对于16种不同的抗体/CD73-his复合物绘制。数据按照峰面积渐增的顺序从左到右排列。

[0058] 图12显示抗体与抗his Fab捕获的Fc γ R-his蛋白的结合。结合反应绘制为假设1:1mAb:Fc γ R结合化学计量的理论R_{max}的百分比。每个抗体的条以按幻灯片底部的颜色图例提供的顺序显示。

[0059] 图13显示抗体与抗his Fab捕获的Fc γ R-his蛋白的结合。结合反应绘制为假设1:1mAb:Fc γ R结合化学计量的理论R_{max}的百分比。每个抗体的条以按幻灯片底部的颜色图例提供的顺序显示。

[0060] 图14A显示抗体与抗his Fab捕获的Fc γ R-his蛋白的结合。结合反应绘制为假设

1:1mAb:Fc γ R结合化学计量的理论Rmax的百分比。每个抗体的条以按幻灯片底部的颜色图例提供的顺序显示。

[0061] 图14B显示抗体与抗his Fab捕获的Fc γ R-his蛋白的结合。结合反应绘制为假设1:1mAb:Fc γ R结合化学计量的理论Rmax的百分比。每个抗体的条以按幻灯片底部的颜色图例提供的顺序显示。

[0062] 图15显示抗GITR抗体的内化时程分析。

[0063] 图16A显示GITR和早期内体标记物EEA2在时间零点的共定位分析。

[0064] 图16B显示GITR和早期内体标记物EEA2在时间30和120分钟的共定位分析。

[0065] 图16C显示图16A和B所示的内体共定位的定量结果,其绘制为共定位像素强度相对于总染色的比率。

[0066] 图17A显示用指示的抗GITR抗体处理的CD8+T细胞中的NFkB信号传导活化。

[0067] 图17B显示用指示的抗GITR抗体处理的CD4+T细胞中的NFkB信号传导。

[0068] 图18显示用指示的抗GITR抗体处理的CD4+T细胞中的P38活化。

[0069] 图19显示具有构象A、B或A/B的IgG2抗体中二硫键的配置。

[0070] 图20A显示在存在不同浓度的具有指示恒定区的抗GITR抗体的情况下,与CHO-OKT3细胞共培养的CD4+T细胞分泌的IL-2的水平。

[0071] 图20B显示在存在5 μ g/ml的具有指示恒定区的抗GITR抗体的情况下,与CHO-OKT3细胞共培养的CD4+T细胞分泌的IL-2的水平(与图20A中的相同实验)。

[0072] 图20C显示在存在1.25 μ g/ml的具有指示恒定区的抗GITR抗体的情况下,与CHO-OKT3细胞共培养的CD4+T细胞分泌的IL-2的水平(与图20A 中的相同实验)。

[0073] 图20D显示在存在0.313 μ g/ml的具有指示恒定区的抗GITR抗体的情况下,与CHO-OKT3细胞共培养的CD4+T细胞分泌的IL-2的水平(与图20A 中的相同实验)。

[0074] 发明详述

[0075] 本发明至少部分地基于如下发现:当抗体包含IgG2铰链时,抗体的如下性质相对于包含非-IgG2铰链的相同抗体(或相对于包含IgG1恒定区的相同抗体)被增强或改变:(i) 内化;(ii) 激动剂功能;(iii) 受体介导的细胞内信号传导;(iv) ADCC;和(v) 抗体/抗原复合物的重量。此外,当抗体除了IgG2铰链外包含IgG2 CH1域时,抗体的这些增强的或改变的特征被进一步增强或改变。也已经观察到具有IgG2 CH1域、但不具有IgG2铰链的抗体与具有IgG1 CH1 域的相同抗体相比具有增强的或改变的活性。不想受限于特定的作用机制,已发现IgG2铰链的增强作用与抗体/抗原复合物的大小的增加相关联。当抗体具有IgG2铰链时,抗体/抗原复合物增强的大小可由IgG2铰链相对于其他同种型更高的刚性引起。此外,已显示IgG2铰链和CH1域的特定区或氨基酸残基可被修饰,而其他则优选不被修饰,以保持增强的或改变的活性。

[0076] 如本申请进一步描述的,这些赋予抗体(或其抗原结合区)增强的或修饰的活性的修饰的重链恒定区可具有效应物功能。因此,显示可产生抗体,其具有由IgG2铰链和/或CH1域赋予的有利性质并且还有效应物功能。

[0077] 本发明还至少部分地基于如下发现:IgG1或IgG2抗体中铰链一些部分的缺失导致相对于具有IgG1恒定区的抗体具有增强的或改变的性质的抗体。

[0078] 因此,本文提供的是(i) 具有修饰的重链恒定区的抗体,其赋予抗体的抗原结合区

增强的或改变的性质和使用所述抗体的方法,和(ii)用于增强或改变抗体的一些生物学性质的方法,所述抗体包含非IgG2铰链和/或CH1域,所述生物学性质如内化、激动和拮抗,其中该方法包括用IgG2铰链和/或IgG2 CH1域或其部分代替所述抗体的非IgG2铰链和/或CH1域。

[0079] 本文提供的是“修饰的重链恒定区”,其增强抗体(例如,具有非IgG2铰链和/或非IgG2 CH1域的抗体)相对于具有不同恒定区的相同抗体的一些生物学特性。例示性修饰的重链恒定区包括IgG2铰链、CH1域、CH2域和CH3域,其中这些恒定域中的至少一个不是IgG2同种型的,且可为例如IgG1、IgG3或IgG4的。在一些实施方案中,修饰的重链恒定区包含IgG2铰链和IgG1 CH2和CH3域。在一些实施方案中,修饰的重链恒定区包含IgG2 CH1域和IgG2铰链。在一些实施方案中,修饰的重链恒定区包含IgG2 CH1域、IgG2铰链、IgG1 CH2域和IgG1 CH3域。修饰的重链恒定区可具有类似于野生型IgG1的效应物功能,或经工程改造以具有相对于野生型IgG降低或增强的效应物功能。修饰的重链恒定区可包含野生型CH1、铰链、CH2和/或CH3域,或其变体,例如,相对于相应的野生型域具有一个或多个氨基酸取代、缺失或添加和/或具有与相应的野生型序列至少90%或以上同一的氨基酸序列的CH1、铰链、CH2和/或CH3域。

[0080] 定义

[0081] 为了更容易地理解本说明书,首先定义了一些术语。遍及详述列出了额外的定义。

[0082] 本申请使用的术语“抗体”可包括全部抗体和任何抗原结合片段(例如,包括铰链的抗原结合片段,包括铰链和CH1域的抗原结合片段,包括铰链和CH2域的抗原结合片段,或包含铰链、CH2域和CH3域的部分的抗原结合片段)或其单链。在一个实施方案中,“抗体”指蛋白质,例如包含至少两个重(H)链和通过二硫键相互连接的两个轻链(L)链的糖蛋白或其抗原结合部分。每个重链由重链可变区(本申请缩写为 V_H)和重链恒定区组成。在一些天然存在的IgG、IgD和IgA抗体中,重链恒定区由铰链、CH1域、CH2域和CH3域组成。在一些天然存在的抗体中,每个轻链由轻链可变区(本申请缩写为 V_L)和轻链恒定区组成。轻链恒定区由一个域CL组成。 V_H 和 V_L 区可进一步细分为高变性的区,称为互补决定区(CDR),间插于更保守的区,称为框架区(FR)。每个 V_H 和 V_L 由以如下顺序从氨基端到羧基端排列的三个CDR和四个FR组成:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重和轻链的可变区包含与抗原相互作用的结合域。抗体的恒定区可介导免疫球蛋白与宿主组织或因子的结合,包括免疫系统的各种细胞(例如效应物细胞)和经典补系统的第一组分(C1q)。

[0083] 免疫球蛋白可来自任何通常已知的同种型,包括但不限于IgA、分泌型IgA、IgG和IgM。IgG同种型在一些物种中分为亚类:人中的IgG1、IgG2、IgG3和IgG4,小鼠中的IgG1、IgG2a、IgG2b和IgG3。在一些实施方案中,本申请所述的抗体是人IgG1或IgG2亚型的。免疫球蛋白(例如,人IgG1)存在于几种同种异型中,其在至多几个氨基酸中彼此不同。“抗体”可包括例如天然存在的和非天然存在的抗体;单克隆和多克隆抗体;嵌合和人源化的抗体;人和非人抗体;全合成抗体;和单链抗体。

[0084] 在一些实施方案中,抗体的重链包含C-端赖氨酸;C-端甘氨酸(具有丢失的C-端赖氨酸),或缺乏GK或缺乏K。当提到本文所述的包含修饰的重链恒定区的抗体时,所述抗体可包含提供的具有C-端GK或K,或者缺乏GK或K的序列。

[0085] 氨基酸编号按照Kabat的EU指标。Kabat等(1991) Sequences of Proteins of

Immunological Interest, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 和根据美国专利申请公开号2008/0248028的图3c-3f。

[0086] 本申请使用的术语抗体的“抗原结合部分”指保留特异性结合抗原的能力的抗体的一个或多个片段。抗体的抗原结合部分可为“含有抗原结合部分的铰链”。已显示抗体的抗原结合功能可通过全长抗体的片段进行。涵盖在本申请所述的抗体的术语“抗原结合部分”内的结合片段的实例包括 (i) Fab 片段, 由 V_L 、 V_H 、CL 和 CH1 域组成的单价片段; (ii) $F(ab')_2$ 片段, 包含在铰链区通过二硫键连接的两个 Fab 片段的二价片段; (iii) 由 V_H 和 CH1 域组成的 Fd 片段; (iv) 由抗体的单臂的 V_L 和 V_H 域组成的 Fv 片段, (v) dAb 片段 (Ward 等, (1989) *Nature* 341:544-546), 其由 V_H 域组成; 和 (vi) 分离的互补决定区 (CDR) 或 (vii) 可任选地通过合成接头连接的两个或更多个分离的 CDR 的组合。此外, 尽管 Fv 片段的两个域 V_L 和 V_H 由单独的基因编码, 但可使用重组方法通过合成接头将它们连接, 使得它们能够被制成单个蛋白质链, 其中 V_L 和 V_H 区一对以形成被称为单链 Fv (scFv) 的单价分子; 参见例如, Bird 等 (1988) *Science* 242:423-426; 和 Huston 等 (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883)。这样的单链抗体也意欲涵盖在抗体的术语“抗原结合部分”内。这些和其他潜在的构建体描述于 Chan & Carter (2010) *Nat. Rev. Immunol.* 10:301。使用本领域技术人员已知的常规技术获得这些抗体片段, 并以与完整抗体相同的方式筛选片段的效用。抗原结合部分可通过重组 DNA 技术产生, 或通过完整免疫球蛋白的酶促或化学切割来产生。

[0087] 可变域的“CDR”是根据 Kabat、Chothia、Kabat 和 Chothia 的组合、AbM、接触和/或构象定义或本领域已知的任何 CDR 确定方法鉴定的超可变区内的氨基酸残基。抗体 CDR 可被鉴定为最初由 Kabat 等定义的超可变区。参见例如 Kabat 等, 1992, *Sequence of Proteins of Immunological Interest*, 第 5 版, Public Health Service, NIH, Washington DC。CDR 的位置也可被鉴定为由 Chothia 和其他人最初描述的结构循环结构 (structural loop structure)。参见, 例如, Chothia 等, 1989, *Nature* 342:877-883。CDR 鉴定的其他方法包括“AbM 定义”, 这是 Kabat 和 Chothia 之间的妥协, 并且是使用 Oxford Molecular 的 AbM 抗体建模软件 (现在为 **Accelrys®**) 得出的, 或者基于观察到的抗原接触的 CDR 的“接触定义”示于 MacCallum 等, 1996, *J. Mol. Biol.*, 262:732-745。在另一个方法中, 在本申请中称为 CDR 的“构象定义”, CDR 的位置可被鉴定为对抗原结合做出焓贡献的残基。参见例如 Makabe 等, 2008, *Journal of Biological Chemistry*, 283:1156-1166。其他另外的 CDR 边界定义可以不严格遵循上述方法之一, 但会无论如何与 Kabat CDR 的至少一部分重叠, 尽管它们鉴于特定残基或残基组或甚至整个 CDR 不显著影响抗原结合的预测或实验发现可缩短或延长。如本申请使用的, CDR 可指由本领域已知的任何方法 (包括方法的组合) 定义的 CDR。本申请使用的方法可利用根据任何这些方法定义的 CDR。对于包含多于一个 CDR 的任何给定的实施方案, CDR 可根据 Kabat、Chothia、扩展的、AbM、接触和/或构象定义中的任何来定义。

[0088] 如本申请使用的“同种型”指由重链恒定域基因编码的抗体类别 (例如, IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD 和 IgE 抗体)。每个野生型人 IgG 恒定区 (包括所有域, 即, CH1 域、铰链、CH2 域和 CH3 域) 的全长氨基酸序列在在线可用的 UniProt 数据库中编目, 例如, 作为 P01857 (IgG1)、P01859 (IgG2)、P01860 (IgG3) 和 P01861 (IgG4) 或其不同的异型 (分别为 SEQ ID NOs: 1, 6, 11 和 16)。如本申请使用的重链恒定区的域, 例如铰链, 为“IgG1 同种型”、“IgG2 同种型”、“IgG3 同种型”或“IgG4 同种型”的, 如果该域包含各同种型的相应域的

氨基酸序列或其变体(其与各同种型的相应域具有与其他同种型的相比更高的同源性)。

[0089] “异型”指特定同种型组内的天然存在的变体,所述变体在几个氨基酸中不同(参见例如,Jefferies等(2009) mAbs 1:1)。本申请所述的抗体可为任何异型的。

[0090] “野生型”蛋白或其部分是如在自然界中发现的蛋白质的形式。野生型蛋白(例如,重链恒定区)的氨基酸序列是蛋白质如其天然存在时的氨基酸序列。由于异型的差异,野生型蛋白可存在多于一种氨基酸序列。例如,存在几种天然存在的人IgG1重链恒定区的几种异型(参见,例如,Jeffries等(2009) mAbs 1:1)。

[0091] “Fc区”(片段可结晶区)或“Fc域”或“Fc”指介导免疫球蛋白与宿主组织或因子结合(包括结合位于免疫系统的不同细胞(例如效应物细胞)上的Fc受体或结合经典补体系统的第一组分(C1q))上的抗体的重链的C-端区。因此,同种型IgG的抗体的Fc区包含排除第一恒定区免疫球蛋白域(CH1)的抗体的重链恒定区。在IgG,IgA和IgD抗体同种型中,Fc区包含每个抗体的两个重链中的C_{H2}和C_{H3}恒定域;IgM和IgE Fc区在每个多肽链中包含三个重链恒定域(C_H域2-4)。对于IgG,Fc区包含由铰链、CH2和CH3组成的免疫球蛋白域。为了本申请的目的,Fc区定义为在氨基酸216处开始并在氨基酸447处结束,其中编号根据如Kabat中的EU索引。Kabat等(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 和根据美国专利申请公开号2008/0248028的图3c-3f。Fc可为天然的(或天然存在的或野生型)Fc,包括任何异型变体,或变体Fc(例如非天然存在的Fc),包括例如1,2,3,4,5,1-5,1-10或5-10或更多个氨基酸突变,例如取代、添加或缺失。例如,变体Fc可包含与野生型Fc至少75%,80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%或99%同一的氨基酸序列。修饰的或突变的Fc可具有增强的或降低的效应物功能和/或半衰期。CH2和CH3区是效应物功能和FcRn结合的主要位点。Fc可指隔离的或在包含Fc的蛋白多肽(如“包含Fc区的结合蛋白”)的上下文中指此区,也称为“Fc融合蛋白”(例如抗体或免疫粘附素)。

[0092] “效应物功能”指抗体Fc区与Fc受体或配体的相互作用,或由此产生的生物化学事件。例示性的“效应物功能”包括C1q结合、补体依赖性细胞毒性(CDC)、Fc受体结合、Fc γ R介导的效应物功能如ADCC和抗体依赖性细胞介导的吞噬作用(ADCP)以及细胞表面受体(例如,B细胞受体;BCR)的下调。这样的效应物功通常需要Fc区与结合域(例如,抗体可变域)组合。

[0093] “Fc受体”或“FcR”是与免疫球蛋白的Fc区结合的受体。与IgG抗体结合的FcR包含Fc γ R家族的受体,包括这些受体的等位变体和可替换剪接形式。Fc γ R家族由三个活化的(小鼠中的Fc γ RI、Fc γ RIII和Fc γ RIV;人中的Fc γ RIA、Fc γ RIIA和Fc γ RIIIA)和一种抑制性(Fc γ RIIB)受体组成。人Fc γ Rs的各种性质总结于表1中。大多数天然效应物细胞类型共表达一个或多个活化的Fc γ R和抑制性Fc γ RIIB,而天然杀伤(NK)细胞选择性地表达一种活化的Fc受体(小鼠中的Fc γ RIII和人中的Fc γ RIIIA),而不是小鼠和人中的抑制性Fc γ RIIB。人IgG1与大多数Fc受体结合,并且被认为在其结合的活化的Fc受体的类型方面与鼠IgG2a等同。

[0094] 表1.人Fc γ R的性质

[0095]

Fcγ	等位变体	对于人IgG的亲和性	同种型偏好	细胞分布
FcγRI	没有描述	高($K_D \sim 10$ nM)	IgG1=3>4>>2	单核细胞, 巨噬细胞, 活化的嗜中性粒细胞, 树突细胞?
FcγRIIA	H131	低至中	IgG1=3>2>4	嗜中性粒细胞, 单核细胞, 巨噬细胞, 嗜酸性粒细胞, 树突细胞, 血小板
	R131	低	IgG1=3>4>2	
FcγRIIIA	V158	中	IgG1=3>>4>2	NK细胞, 单核细胞, 巨噬细胞,

[0096]

Fcγ	等位变体	对于人IgG的亲和性	同种型偏好	细胞分布
	F158	低	IgG1=3>>4>2	肥大细胞, 嗜酸性粒细胞, 树突细胞?
FcγRIIB	I232	低	IgG1=3=4>2	B细胞, 单核细胞, 巨噬细胞, 树突细胞, 肥大细胞
	T232	低	IgG1=3=4>2	

[0097] “铰链”、“铰链域”或“铰链区”或“抗体铰链区”指将CH1域连接于CH2域的重链恒定区的域,并包括铰链的上部、中部和下部(Roux等J. Immunol.1998 161:4083)。铰链提供抗体的结合和效应物区之间的不同程度的灵活性,并且还提供两个重链恒定区之间的分子间二硫键合的位点。如本申请使用的,铰链对于所有IgG同种型开始于Glu216,并结束于Gly237(Roux等,1998J Immunol 161:4083)。野生型IgG1、IgG2、IgG3和IgG4铰链的序列示于表2中。

[0098] 表2

[0099] 铰链区氨基酸

Ig类型	C-端 C _H 1*	上铰链	中铰链	下铰链
[0100]	IgG1	VDKRV (SEQ ID NO: 57)	EPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 59)	CPPCP (SEQ ID NO: 64)
				APELLGG (SEQ ID NO: 70)
	IgG2	VDKTV (SEQ ID NO: 58)	ERK (SEQ ID NO: 60)	CCVECPPCP (SEQ ID NO: 65)
				APPVAG (SEQ ID NO: 71)
	IgG3 (17-15-15-15)	VDKRV (SEQ ID NO: 57)	ELKTPLGDTTH T (SEQ ID NO: 61)	CPRCP (SEQ ID NO: 66) (EPKSCDTPPPCPRCP) ³ (SEQ ID NO: 67)
				APELLGG (SEQ ID NO: 70)
[0101]	IgG3 (17-15-15)	VDKRV (SEQ ID NO: 57)	ELKTPLGDTTH T (SEQ ID NO: 61)	CPRCP (SEQ ID NO: 66) (EPKSCDTPPPCPRCP) ₂ (SEQ ID NO: 67)
				APELLGG (SEQ ID NO: 70)
	IgG3 (17-15)	VDKRV (SEQ ID NO: 57)	ELKTPLGDTTH T (SEQ ID NO: 61)	CPRCP (SEQ ID NO: 66) (EPKSCDTPPPCPRCP) ₁ (SEQ ID NO: 67)
				APELLGG (SEQ ID NO: 70)
	IgG3 (15-15-15)	VDKRV (SEQ ID NO: 57)	EPKS (SEQ ID NO: 62)	CDTPPPCPRCP (SEQ ID NO: 68) (EPKSCDTPPPCPRCP) ₂ (SEQ ID NO: 67)
				APELLGG (SEQ ID NO: 70)
[0102]	IgG3 (15)	VDKRV (SEQ ID NO: 57)	EPKS (SEQ ID NO: 62)	CDTPPPCPRCP (SEQ ID NO: 68)
				APELLGG (SEQ ID NO: 70)
[0103]	IgG4	VDKRV (SEQ ID NO: 57)	ESKYGPP (SEQ ID NO: 63)	CPSCP (SEQ ID NO: 69)
				APEFLGG (SEQ ID NO: 70)

[0102] *CH1域的C-端氨基酸序列。

[0103] 术语“铰链”包括野生型铰链(如表3所示),以及其变体(例如,非天然存在的铰链或修饰的铰链)。例如,术语“IgG2铰链”包括野生型IgG2铰链,如表3中所示,和具有1,2,3,4,5,1-3,1-5,3-5和/或至多5,4,3,2或1个突变,例如,取代、缺失或添加的变体。例示性IgG2铰链变体包括IgG2铰链,其中1,2,3或全部4个半胱氨酸(C219,C220,C226和C229)变为另外的氨基酸。在一个具体实施方案中,IgG2铰链包含C219X或C220X取代,其中X为除半胱

氨酸外的任何氨基酸。IgG2铰链可包含取代,其单独或连同重链或轻链的其他区中的一个或多个取代会导致包含所述铰链的抗体采用A或B型(参见,例如Allen等(2009) *Biochemistry* 48:3755)。在一些实施方案中,铰链是杂合铰链,其包含来自至少两个同种型的序列。例如,铰链可包含来自一个同种型的上、中或下铰链和来自一个或多个其他同种型的铰链的其余部分。例如铰链可为IgG2/IgG1铰链,并可包含,例如IgG2的上和中铰链和IgG1的下铰链。铰链可具有效应物功能或被剥夺效应物功能,例如,野生型IgG1的下铰链提供效应物功能。

[0104] “非-IgG2”铰链指不是IgG2同种型的铰链。

[0105] 术语“CH1域”指重链恒定区,其将可变域连接到重链恒定域中的铰链。如本申请使用的,CH1域开始于A118且结束于V215。术语“CH1域”包括野生型CH1域(如对于IgG1具有SEQ ID NO:2,且对于IgG2具有SEQ ID NO:7;表3),以及其变体(例如,非天然存在的CH1域或修饰的CH1域)。例如,术语“CH1域”包括野生型CH1域及其具有1,2,3,4,5,1-3,1-5,3-5和/或至多5,4,3,2或1个突变(例如,取代、缺失或添加)的变体。例示性CH1域包括具有修饰抗体的生物学活性(如ADCC、CDC或半衰期)的突变的CH1域。本申请提供了影响抗体生物活性的CH1域的修饰。

[0106] 术语“CH2域”指重链恒定区,其将铰链连接到重链恒定域中的CH3域。如本申请使用的,CH2域开始于P238且结束于K340。术语“CH2域”包括野生型CH2域(如对于IgG1具有SEQ ID NO:4;表3),以及其变体(例如,非天然存在的CH2域或修饰的CH2域)。例如,术语“CH2域”包括野生型CH2域及其具有1,2,3,4,5,1-3,1-5,3-5和/或至多5,4,3,2或1个突变(例如,取代、缺失或添加)的变体。例示性CH2域包括具有修饰抗体的生物学活性(如ADCC、CDC或半衰期)的突变的CH2域。在一些实施方案中,CH2域包含降低效应物功能的取代A330S/P331S。本申请提供影响抗体生物活性的CH2域的其他修饰。

[0107] 术语“CH3域”指重链恒定域中的C-端到CH2域的重链恒定区。如本申请使用的,CH3域开始于G341且结束于K447结束。术语“CH3域”包括野生型CH3域(如对于IgG1具有SEQ ID NO:5;表3),以及其变体(例如,非天然存在的CH3域或修饰的CH3域)。例如,术语“CH3域”包括野生型CH3域及其具有1,2,3,4,5,1-3,1-5,3-5和/或至多5,4,3,2或1个突变(例如,取代、缺失或添加)的变体。例示性的CH3域包括具有修饰抗体的生物学活性(如ADCC、CDC或半衰期)的突变的CH3域。本申请提供影响抗体的生物活性的CH3域的修饰。

[0108] 表3

[0109]

域	氨基酸序列	SEQ ID NO:
IgG1 CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKV	2
IgG1铰链	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG	3
IgG1 CH2	PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAK	4
IgG1 CH3	GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	5

[0110]

IgG2 CH1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVD HKPSNTKVDKTV	7
IgG2 铰链	ERKCCVECPPCPAPPVAG	8
IgG2 CH2	PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPAPIEKTISKTK	9
IgG2 CH3	GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPE-NNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	10
IgG3 CH1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVN HKPSNTKVDKRV	12
IgG3 铰链	ELKTPLGDTTHTCPRCPE	13
IgG3 CH2	PKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQ FKWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTFRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTK	14
IgG3 CH3	GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES SGQPENNYNTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCS VMHEALHNRFTQKSLSLSPGK	15
IgG4 CH1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVD HKPSNTKVDKRV	17
IgG4 铰链	ESKYGPPCPCSCAPEFLGG	18
IgG4 CH2	PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPSSIEKTISKAK	
IgG4 CH3	GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	20

[0111] 如本申请使用的,术语“单克隆抗体”指对特定表位显示单一结合特异性和亲和力的抗体或其中所有抗体对特定表位显示单一结合特异性和亲和力的抗体组合物。通常,这样的单克隆抗体会衍生自单个细胞或编码抗体的核酸,并且将被繁殖而无需有意引入任何序列改变。因此,术语“人单克隆抗体”指具有来自人种系免疫球蛋白序列的可变区和任选的恒定区的单克隆抗体。在一个实施方案中,人单克隆抗体是由杂交瘤产生的,例如,通过将转基因或转染色体非人动物(例如,具有包含人重链转基因和轻链转基因的基因组的转基因小鼠)得到的B细胞融合于永生化细胞而获得的。

[0112] 术语“重组的人抗体”,包括通过重组手段制备、表达、产生或分离的所有人抗体,如(a)从动物(例如,小鼠)分离的抗体,其对于人免疫球蛋白基因或由其制备的杂交瘤为转基因或染色体的,(b)从经转化以表达抗体的宿主细胞(例如,来自转染瘤)分离的抗体,

(c) 从重组的、组合人抗体文库分离的抗体,和(d) 通过涉及人类免疫球蛋白基因序列到其他DNA序列的剪接的任何其他手段制备、表达、产生或分离的抗体。这样的重组人抗体包含使用特定人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区,其由种系基因编码,但包括随后的重排和突变,例如在抗体成熟过程中发生。如本领域已知的(参见,例如,Lonberg (2005) Nature Biotech.23 (9):1117-1125),可变区包含抗原结合域,其由重排以形成对外来抗原特异性的抗体的多种基因编码。除重排之外,可变区可通过多个单氨基酸变化(称为体细胞突变或超突变)进一步修饰,以增加抗体对外源抗原的亲和力。恒定区会进一步响应抗原而变化(即,同型转换)。因此,编码响应于抗原的轻链和重链免疫球蛋白多肽的经重排和体细胞突变的核酸序列可不同于原始种系序列,但会是基本上同一或相似(即,至少具有80%同一性)。

[0113] “人”抗体(HuMAb)指具有可变区的抗体,其中框架和CDR区两者都源自人种系免疫球蛋白序列。此外,如果抗体含有恒定区,则恒定区也来自人种系免疫球蛋白序列。本申请所述的抗体可包括不由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如,通过体外随机或位点特异性诱变或通过体内体细胞突变引入的突变)。然而,如本申请使用的,术语“人抗体”不意欲包括抗体,其中源自另一哺乳动物物种(如小鼠)的种系的CDR序列已被移植到人框架序列上。术语“人”抗体和“完全人”抗体被同义使用。

[0114] “人源化”的抗体指抗体,其中非人抗体的CDR域之外的一些、大部分或全部氨基酸被源自人免疫球蛋白的相应氨基酸代替。在抗体的人源化形式的一个实施方案中,CDR域之外的一些、大部分或全部氨基酸已被来自人免疫球蛋白的氨基酸代替,而一个或多个CDR区内的一些、大多数或全部氨基酸不变。氨基酸的小添加、缺失、插入、取代或修饰是允许的,只要它们不取消抗体结合特定抗原的能力。“人源化”的抗体保留了与原始抗体相似的抗原特异性。

[0115] “嵌合抗体”指一种抗体,其中可变区源自一个物种,而恒定区源自另外的物种,如抗体,其中可变区源自小鼠抗体,而恒定区源自人抗体。

[0116] “双特异性”或“双功能抗体”是具有两个不同重/轻链对的人工杂合抗体,其产生对于不同抗原具有特异性的两个抗原结合位点。双特异性抗体可通过多种方法产生,包括杂交瘤的融合或Fab'片段的连接。参见,例如,Songsivilai & Lachmann, Clin.Exp.Immunol.79:315-321 (1990); Kostelny等, J.Immunol. 148,1547-1553 (1992)。

[0117] 短语“识别抗原的抗体”和“对于抗原特异性的抗体”与术语“特异性结合抗原的抗体”在本申请中互换使用。

[0118] 如本申请使用的,“分离的抗体”意欲指基本上不含具有不同抗原特异性的其他抗体的抗体(例如,特异性结合抗原的分离的抗体“x”基本上不含特异性结合除抗原“x”以外的抗原的抗体)。然而,特异性结合抗原“x”的表位的分离的抗体可与来自不同物种的其它抗原“x”蛋白质具有交叉反应性。

[0119] 如本申请使用的,“激动剂抗体”指作为共刺激受体的激动剂的抗体,例如,能够通过刺激蛋白的活性来增强受试者的免疫系统(或免疫反应)的抗体,所述蛋白又刺激免疫细胞,例如,T细胞,如B7-1,B7-2,CD28,4-1BB(CD137), 4-1BBL,GITR,ICOS,ICOS-L,OX40, OX40L,CD70或CD27,DR3,或CD28H 蛋白。在一些实施方案中,激动剂抗体是增强抑制性受体(例如,CTLA-4,PD-1, PD-L1,PD-L2,或LAG-3,TIM-3,半乳糖凝集素9,CEACAM-1,BTLA,

CD69, 半乳糖凝集素-1, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, 2B4, CD48, GARP, CD73, PD1H, LAIR1, TIM-1或TIM-4)的活性并由此抑制免疫反应的抗体。

[0120] 如本申请使用的,“拮抗剂抗体”指作为免疫细胞(例如,T细胞)上的抑制性信号的拮抗剂的抗体,例如能够抑制或阻断抑制T细胞活化的蛋白(例如,免疫检查点抑制剂,如CTLA-4,PD-1,PD-L1,PD-L2,或LAG-3,TIM-3,半乳糖凝集素9,CEACAM-1,BTLA,CD69,半乳糖凝集素-1,TIGIT,CD113, GPR56,VISTA,2B4,CD48,GARP,CD73,PD1H,LAIR1,TIM-1,或TIM-4)并由此刺激免疫反应的抗体。在一些实施方案中,拮抗剂抗体是抑制刺激性受体(例如,B7-1,B7-2,CD28,4-1BB(CD137),4-1BBL,GITR,ICOS,ICOS-L,OX40,OX40L,CD70,或CD27,DR3,或CD28H)的活性并由此抑制免疫反应的抗体。

[0121] 激动剂和拮抗剂抗体两者均导致扩大抗原特异性T细胞应答,或抑制抗原特异性T细胞应答(免疫检查点调节剂)。

[0122] 术语“表位”或“抗原决定簇”指免疫球蛋白或抗体特异性结合的抗原(例如,GITR)上的位点。蛋白质抗原中的表位可由连续的氨基酸(通常是线性表位)或通过蛋白质的三级折叠并置的不连续的氨基酸(通常是构象表位)形成。由连续氨基酸形成的表位在暴露于变性溶剂时通常(但不总是)保留,而通过三级折叠形成的表位在使用变性溶剂处理时通常丧失。表位在独特的空间构象中通常包括至少3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14或15个氨基酸。用于确定哪些表位被给定的抗体结合的方法(即表位作图)是本领域已知的,且包括例如免疫印迹和免疫沉淀测定法,其中测试重叠或连续肽的与给定抗体的反应性。确定表位的空间构象的方法包括本领域技术和本申请所述的那些,例如,x射线晶体学、二维核磁共振和HDX-MS(参见,例如,Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology,Vol.66,G.E.Morris编(1996))。

[0123] 如本申请使用的,应用于对象的术语“天然存在的”指对象可在自然界中找到事实。例如,生物体(包括病毒)中存在的、可从自然界中的来源分离并且在实验室中没有被人故意修饰的多肽或多核苷酸序列是天然存在的。

[0124] “多肽”指包含至少两个连续连接的氨基酸残基的链,链的长度没有上限。蛋白质中的一个或多个氨基酸残基可含有修饰,如但不限于糖基化、磷酸化或二硫键。“蛋白质”可包含一个或多个多肽。

[0125] 如本申请使用的,术语“核酸分子”意欲包括DNA分子和RNA分子。核酸分子可为单链或双链的,并且可为cDNA。

[0126] 还提供的是本文列出的序列的“保守序列修饰”,其包括例如保守核苷酸和氨基酸取代,以及核苷酸和氨基酸添加和缺失。例如,可通过本领域已知的标准技术(如定点诱变和PCR介导的诱变)将修饰引入SEQ ID NO:1-74。保守序列修饰包括保守氨基酸取代,其中氨基酸残基被具有相似侧链的氨基酸残基代替。本领域中已经定义了具有相似侧链的氨基酸残基的家族。这些家族包括具有碱性侧链(例如赖氨酸、精氨酸、组氨酸),酸性侧链(例如天冬氨酸、谷氨酸),不带电的极性侧链(例如甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸、色氨酸),非极性侧链(例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸), β -支链侧链(例如苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和芳香侧链(例如酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)的氨基酸。

[0127] 在一个实施方案中,对重链恒定区或其域的氨基酸序列修饰不改变或取消重链恒

定区的一些性质。这些性质包括,例如,铰链的刚性或刚度,以及抗体的激动剂或拮抗剂活性。在一些实施方案中,对重链恒定区或其域的氨基酸序列修饰改变或取消重链恒定区的一些性质。

[0128] 鉴定取消和不取消抗体和/或恒定区性质的氨基酸保守取代的方法是本领域已知的,例如,如本申请实施例部分中所述。

[0129] 对于核酸,术语“实质同源性(substantial homology)”指示当在最佳比对和比较时两个核酸或其指定的序列在至少约80%的核苷酸,通常至少约90%至95%,更优选至少约98%至99.5%的核苷酸中是相同的,具有适当的核苷酸插入或缺失。或者,当区段在选择性杂交条件下与链的互补物杂交时,存在实质的同源性。

[0130] 对于多肽,术语“实质同源性”指示在最佳比对和比较时两个多肽或其指定的序列在至少约80%的氨基酸,通常至少约90%至95%,更优选至少约98%至99.5%的氨基酸中是相同的,具有适当的氨基酸插入或缺失。

[0131] 两个序列之间的百分比同一性是当序列最佳对齐时由序列共享的相同位置的数目的函数(即, $\% \text{同源性} = \text{相同位置的}\# / \text{位置的总}\# \times 100$),确定的最佳对齐考虑到缺口的数目和每个缺口的长度,其需要引入用于两个序列的最佳对齐。序列的比较和两个序列之间的百分比同一性的确定可使用如下面非限制性实施例中所述的数学算法来完成。

[0132] 两个核苷酸序列之间的百分比同一性可使用GCG软件包(可在<http://www.gcg.com>得到)中的GAP程序、使用NWSgapdna.CMP矩阵和40,50,60,70或80的缺口权重和1,2,3,4,5或6的长度权重来确定。两个核苷酸或氨基酸序列之间的百分比同一性也可使用E.Meyers和W.Miller的算法(CABIOS,4:11-17(1989),其已被并入ALIGN程序(2.0版)),使用PAM120权重残基表、12的缺口长度罚分和4的缺口罚分来确定。此外,两个氨基酸序列之间的百分比同一性可使用已经并入GCG软件包(可在<http://www.gcg.com>得到)中的GAP程序中的Needleman和Wunsch(J.Mol.Biol.(48):444-453(1970))算法,使用Blossum 62矩阵或PAM250矩阵和16,14,12,10,8,6或4的缺口权重和1,2,3,4,5或6的长度权重来确定。

[0133] 本申请所述的核酸和蛋白质序列还可以用作“查询序列”以对公共数据库进行检索从而,例如,识别相关的序列。这样的检索可使用Altschul等(1990) J.Mol.Biol.215:403-10的NBLAST和XBLAST程序(2.0版)来执行。BLAST 核苷酸检索可用NBLAST程序进行,得分=100,字长=12,以获得与本申请所述的核酸分子同源的核苷酸序列。可用XBLAST程序、得分=50,字长=3,进行BLAST蛋白质检索,以获得与本申请所述的蛋白质分子同源的氨基酸序列。为了获得用于比较目的的带缺口的比对,可如Altschul等,(1997)Nucleic Acids Res.25(17):3389-3402中所述利用带缺口的BLAST。当使用BLAST和带缺口的BLAST程序时,可使用各程序(例如,XBLAST和NBLAST)的默认参数。参见www.ncbi.nlm.nih.gov。

[0134] 如本申请使用的,术语“抗原”指任何天然或合成的免疫原性物质,如蛋白质、肽或半抗原。抗原可为全长或成熟蛋白质,或其片段。

[0135] “免疫反应”指脊椎动物内对抗外来物质的生物反应,该反应保护生物免受这些作用剂和由它们引起的疾病。免疫反应由免疫系统的细胞的作用介导(例如,T淋巴细胞,B淋巴细胞,天然杀伤(NK)细胞,巨噬细胞,嗜酸性粒细胞,肥大细胞,树突状细胞或嗜中性粒细胞)和由任何这些细胞或肝脏产生的可溶性大分子(包括抗体、细胞因子和补体),其导致侵

入病原体、感染病原体的细胞或组织、癌细胞或其他异常细胞或(在自身免疫或病理性炎症的情况下)正常人细胞或组织选择性靶向、结合、损伤、破坏脊椎动物体和/或从脊椎动物体消除侵入病原体、感染病原体的细胞或组织、癌细胞或其他异常细胞或(在自身免疫或病理性炎症的情况下)正常人细胞或组织。免疫反应包括例如 T 细胞(例如效应物 T 细胞或 Th 细胞,如 CD4⁺或 CD8⁺T 细胞)的活化或抑制,或 Treg 细胞的抑制。

[0136] “免疫调节药”或“免疫调节剂”指作用剂,例如信号传导途径的组分,其可牵涉调节、调控或修饰免疫反应。“调节”、“调控”或“修饰”免疫反应指免疫系统的细胞或所述细胞的活性(例如效应物 T 细胞)的任何改变。所述调节包括免疫系统的刺激或抑制,其可通过多种细胞类型的数目的增加或减少、这些细胞的活性的增加或减少或可在免疫系统内发生的任何其它变化来表现。已经鉴定了抑制性和刺激性免疫调节剂,其中一些可能在肿瘤微环境中具有增强的功能。在优选的实施方案中,免疫调节剂位于 T 细胞的表面上。“免疫调节性靶标”或“免疫调节靶标”是一种免疫调节剂,其靶向用于被物质、作用剂、模块、化合物或分子结合,且其活性通过物质、作用剂、模块、化合物或分子的结合而改变。免疫调节靶标包括例如细胞表面上的受体(“免疫调节受体”)和受体配体(“免疫调节配体”)。

[0137] “免疫治疗”指通过包括诱导、增强、抑制或以其他方式修饰免疫反应的方法治疗患有疾病或处于罹患或遭受疾病复发的危险中的受试者。

[0138] “免疫刺激疗法”或“免疫刺激性疗法”指一种疗法,即导致增加(诱导或增强)受试者中的免疫反应,用于例如治疗癌症。

[0139] “增强内源性免疫反应”意指增加受试者中现有免疫反应的有效性或效力。这种有效性或效力的增加可,例如,通过克服抑制内源性宿主免疫反应的机制或通过刺激增强内源性宿主免疫反应的机制来实现。

[0140] “T 效应物”(“T_{eff}”)细胞指具有细胞溶解活性的 T 细胞(例如,CD4⁺和 CD8⁺T 细胞)以及 T 辅助细胞,其分泌细胞因子并活化和引导其他免疫细胞的(Th) 细胞,但不包括调节性 T 细胞(Treg 细胞)。

[0141] 如本申请使用的,术语“连接的”指两个或更多个分子的关联。连接可为共价的或非共价的。连接也可为遗传的(即,重组融合的)。可使用种类繁多的本领域公认的技术(如化学缀合和重组蛋白质生产)来实现这种连接。

[0142] 如本申请使用的,“施用”指使用本领域技术人员已知的多种方法和递送系统中的任一种将包含治疗剂的组合物物理引入受试者。本申请所述的抗体的优选施用途径包括静脉内、腹膜内、肌内、皮下、脊髓或其它肠胃外施用途径,例如通过注射或输注。如本申请使用的,术语“肠胃外施用”意指除肠内和局部施用外的施用模式,通常通过注射,且包括但不限于静脉内、腹膜内、肌内、动脉内、鞘内、淋巴内、病灶内、囊内、眶内、心内、皮内、经气管、皮下(subcutaneous)、表皮下(subcuticular)、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内、硬膜外和胸骨内注射和输注、以及体内电穿孔。或者,本申请所述的抗体可经由非肠胃外途径施用,如局部,表皮或粘膜施用途径,例如鼻内、口服、阴道、直肠、舌下或局部。施用还可以进行,例如,一次,多次,和/ 或一个或多个延长的时间。

[0143] 如本申请使用的,术语“T 细胞介导的反应”指由 T 细胞,包括效应物 T 细胞(例如 CD8⁺细胞)和辅助 T 细胞(例如,CD4⁺细胞)介导的反应。T 细胞介导的反应包括,例如,T 细胞的细胞毒性和增殖。

[0144] 如本申请使用的,术语“细胞毒性T淋巴细胞 (CTL) 反应”指由细胞毒性T 细胞诱导的免疫反应。CTL反应主要由CD8⁺T细胞介导。

[0145] 如本申请使用的,术语“抑制”或“阻断”(例如,指配体对其受体或对随后的细胞内反应的抑制/阻断)可互换使用,并涵盖部分和完全抑制/阻断。在一些实施方案中,抗体抑制结合至少约50%,例如至少约60%,70%,80%,90%,95%,99%或100%,其,例如,如本文进一步描述确定的。

[0146] 如本申请使用的,“癌症”指以身体中异常细胞的不受控生长为特征的疾病的广泛组。未调控的细胞分裂可导致恶性肿瘤或侵入相邻组织的细胞的形成,并可通过淋巴系统或血流转移到身体的远部。

[0147] 如本申请使用的,术语“治疗”(“treat”、“treating”和“treatment”)指对受试者进行的任何类型的干预或过程,或对该受试者施用活性剂,目的是逆转、缓解、改善、抑制或减缓或预防与疾病相关的症状、并发症、病况或生化指标的进展、发展、严重性或复发。预防指对没患有疾病的受试者进行施用以防止疾病发生或者若其发生使其影响最小化。

[0148] “血液恶性肿瘤”包括淋巴瘤、白血病、骨髓瘤或淋巴恶性肿瘤,以及脾脏和淋巴结的癌症。例示性淋巴瘤包括B细胞淋巴瘤和T细胞淋巴瘤两者。B细胞淋巴瘤包括霍奇金淋巴瘤和大多数非霍奇金淋巴瘤。B细胞淋巴瘤的非限制性实例包括弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、粘膜相关淋巴组织淋巴瘤、小细胞淋巴瘤细胞淋巴瘤(与慢性淋巴细胞白血病重叠)、外套细胞淋巴瘤(MCL)、布基特氏淋巴瘤、纵隔大B细胞淋巴瘤、**Waldenström** 巨球蛋白血症、淋巴结边缘区B细胞淋巴瘤、脾边缘区淋巴瘤、血管内大B细胞淋巴瘤、原发性渗液淋巴瘤、淋巴瘤样肉芽肿。T细胞淋巴瘤的非限制性实例包括结外T细胞淋巴瘤、皮肤T细胞淋巴瘤、间变性大细胞淋巴瘤和血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤。血液恶性肿瘤还包括白血病,如但不限于继发性白血病、慢性淋巴细胞白血病、急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病和急性成淋巴细胞性白血病。血液恶性肿瘤还包括骨髓瘤,如但不限于多发性骨髓瘤和郁积型多发性骨髓瘤。其他血液学和/或B细胞或T细胞相关的癌症由术语血液恶性肿瘤涵盖。

[0149] 术语“有效剂量(“effective dose”或“effective dosage”)”定义为足以实现或至少部分实现期望效果的量。药物或治疗剂的“治疗有效量”或“治疗有效剂量”是当单独使用或与另外的治疗剂组合使用时促进由疾病症状严重程度降低、疾病无症状时期的频率和持续时间增加,或预防由疾病痛苦所致的受损或失能所证明的疾病退化的任何量的药物。药物的“预防有效量”或“预防有效剂量”是药物的量,当单独或与另外的治疗剂组合施用于处于疾病发生/发展或遭受疾病复发的风险的受试者时,抑制疾病的发生/发展或复发。治疗或预防药物促进疾病退化或抑制疾病发生/发展或复发的能力可使用熟练从业者已知的多种方法来评估,如在临床试验过程中的人受试者中,对于在人中的功效为预测性的动物模型系统中,或通过体外测定法中测定作用剂的活性。

[0150] 举例来说,抗癌剂是在受试者中减慢癌症进展或促进癌症消退的药物。在优选的实施方案中,治疗有效量的药物促进癌症消退至消除癌症的点。“促进癌症消退”意指单独或与抗肿瘤剂组合施用有效量的药物导致肿瘤生长或大小减少、肿瘤的坏死、至少一种疾病症状的严重程度降低、疾病无症状时期的频率和持续时间的增加、防止由于疾病痛苦所致的受损或失能,或以其他方式改善患者中的疾病症状。药理学有效性指药物在患者中促

进癌症消退的能力。生理安全性指在药物施用所产生的细胞、器官和/或生物体水平处毒性或其他不良生理作用(不良作用)的可接受的低水平。

[0151] 作为治疗肿瘤的实例,药物的治疗有效量或剂量相对于未处理的受试者优选抑制细胞生长或肿瘤生长至少约20%,更优选至少约40%,甚至更优选至少约60%,且还更优选至少约80%。在最优选的实施方案中,药物的治疗有效量或剂量完全抑制细胞生长或肿瘤生长,即,优选抑制细胞生长或肿瘤生长100%。化合物抑制肿瘤生长的能力可使用下文所述的测定法来评估。或者,可通过检查化合物抑制细胞生长的能力来评估组合物的这种性质,这种抑制可通过熟练从业者已知的测定法在体外测量。在本申请所述的其它优选实施方案中,可观察到肿瘤消退,并且可持续至少约20天,更优选至少约40天,或甚至更优选至少约60天的时间。

[0152] 术语“患者”和“受试者”指接受预防性或治疗性治疗的任何人或非人动物。例如,本申请所述的方法和组合物可用于治疗患有癌症的受试者。术语“非人动物”包括所有脊椎动物,例如哺乳动物和非哺乳动物,如非人灵长类动物、羊(sheep)、狗、牛、鸡、两栖动物、爬行动物等。

[0153] 本申请描述的多个方面在以下小节中进一步详细描述。

[0154] I. 修饰的重链恒定区

[0155] 本申请描述的是“修饰的重链恒定区”,当存在于抗体中时,相对于不具有修饰的重链恒定区的相同抗体(如其含有非IgG2铰链的抗体,例如IgG1抗体)增强或改变抗体的一些生物学性质或特征。增强的或改变的抗体的生物学性质包括:

- [0156] (a) 增加或改变的被细胞内化;
- [0157] (b) 增加或改变的激动剂活性;
- [0158] (c) 增加或改变的拮抗剂或阻断活性;
- [0159] (d) 增强的ADCC;
- [0160] (d) 产生新的性质;
- [0161] (e) 增加或改变的信号转导;
- [0162] (f) 形成较大的抗体/抗原交联复合物;
- [0163] (g) 增加目标细胞表面分子的集群或寡聚;
- [0164] (h) 免疫反应的增加的刺激或增强;和/或
- [0165] (i) 免疫反应的增加的抑制。

[0166] 在一些实施方案中,包含修饰的重链恒定区的抗体更有效地介导抗体依赖性受体(或配体或表面分子)内化,例如,抗体内化靶或表面分子(例如,受体或配体)和/或相对于不包含修饰的重链恒定区且包含例如IgG1重链的相同抗体,在抗体结合其细胞膜上的靶物之后,以内化入细胞的较高速率和/或程度自身内化。抗体内化的速率和程度可例如如实施例中所示确定。内化的速率(如例如通过内化的 $T_{1/2}$ 测量的,例如,如实施例中所示)可增强或增加至少10%,30%,50%,75%,2倍,3倍,5倍或更多,导致 $T_{1/2}$ 减少至少10%,30%,50%,75%,2倍,3倍,5倍或更多。例如,代替具有10分钟的 $T_{1/2}$,修饰的重链恒定区可增加内化的速率,并由此将 $T_{1/2}$ 降低至5分钟(即,内化的速率增加为两倍或 $T_{1/2}$ 减少为1/2)。“ $T_{1/2}$ ”定义为如从抗体添加到细胞的时间测量的实现最大内化的一半的时间。在一些实施方案中, $T_{1/2}$ 减少至少10分钟、30分钟或1小时。内化的最大水平可为处于表示相对于抗体浓

度或时间绘制的内化的图的平台的内化水平。修饰的重链恒定区可将抗体的内化的最大水平增加至少10%,30%,50%,75%,2倍,3倍,5倍或更多。比较不同抗体(如具有修饰的重链恒定区的抗体与不具有修饰的重链恒定区的相同抗体)的内化功效的另一种方式是通过比较在给定的抗体浓度(例如,100nM)和/或在给定的时间(例如2分钟、5分钟、10分钟或30分钟)它们的内化水平。比较内化水平也可通过比较内化的 EC_{50} 水平来进行。一个抗体的内化水平可相对于给定(参考)抗体(例如,本申请所述的抗体,例如11F11或CD73.4-IgG2CS-IgG1)的情况来定义,并且可指示为以给定(参考)抗体获得的值的百分数。如通过这些方法中的任一种比较的,内化程度可增强至少10%,30%,50%,75%,2倍,3倍,5倍或更多。

[0167] 在一些实施方案中,相对于不包含修饰的重链恒定区且包含例如IgG1重链的相同抗体,包含修饰的重链恒定区的抗体具有更强的激动剂活性。在一些实施方案中,增强的激动剂活性增强了靶分子(例如GITR)或刺激或共刺激免疫反应的其他分子的刺激活性,例如T细胞活性。在一些实施方案中,增强的激动剂活性增强抑制免疫反应的靶分子的抑制活性,例如,T细胞活性(例如,检查点抑制剂)。调节T细胞活性的抗体的增强的激动剂活性可例如,如实施例所示,例如通过测量与抗体接触的T细胞的IFN- γ 或IL-2分泌的水平来确定。结合刺激性靶标的抗体的激动剂活性可增强至少10%,30%,50%,75%,2倍,3倍,5倍或更多,如通过增加的细胞因子释放或效应物T细胞的增加的增殖;降低T调节细胞活性,如果结合Treg降低Treg功能;或Treg的增加的耗尽所定义的。例如,用结合刺激性靶标的抗体刺激的T细胞分泌的IFN- γ 或IL-2的量可比用不包含修饰的重链恒定区的相同抗体模拟/刺激的T细胞高至少10%,30%,50%,75%,2倍,3倍,5倍或更多。结合抑制性靶标的抗体的激动剂活性可增强至少10%,30%,50%,75%,2倍,3倍,5倍或更多,如通过减少的细胞因子释放或效应物T细胞的减少的增殖;增加的T调节细胞活性;或Treg的减少的耗尽所定义的。例如,用结合抑制性靶标、包含修饰的重链恒定区的抗体刺激的T细胞分泌的IFN- γ 或IL-2的量可比用不包含修饰的重链恒定区的相同抗体模拟/刺激的T细胞低至少10%,30%,50%,75%,2倍,3倍,5倍或更多。

[0168] 在一些实施方案中,相对于不包含修饰的重链恒定区、且包含例如IgG1重链的相同抗体,包含修饰的重链恒定区的抗体具有更强的拮抗剂或阻断活性。抗体的增强的拮抗剂活性可例如通过测量在包括T细胞活化的条件的上下文中的增殖和/或细胞因子释放来确定。拮抗剂活性可增强至少10%,30%,50%,75%,2倍,3倍,5倍或更多。

[0169] 在一些实施方案中,相对于不包含修饰的重链恒定区、且包含例如IgG1重链的相同抗体,包含修饰的重链恒定区的抗体具有增强的ADCC活性。增强的ADCC可根据本领域已知的方法确定。ADCC可增强至少10%,30%,50%,2倍,5倍或更多。

[0170] 在一些实施方案中,相对于不包含修饰的重链恒定区、且包含例如IgG1重链的相同抗体,包含修饰的重链恒定区的抗体具有形成较大的抗体/抗原交联复合物的能力。形成复合物的能力可如例如实施例所述确定。与包含修饰的重链恒定区的抗体形成的抗体/抗原复合物可比与不包含修饰的重链恒定区的相同抗体形成的复合物大至少50%,2倍,3倍,5倍或10倍。在一些实施方案中,与具有修饰重链恒定区的抗体形成至少2,000kDa;3,000kDa;5000kDa;10,000kDa,50,000kDa或100,000kDa的复合物。

[0171] 在一些实施方案中,相对于不包含修饰重链恒定区、且包含例如IgG1重链的相同抗体,包含修饰的重链恒定区的抗体触发靶分子在细胞表面上更多的集群或寡聚。集群

(和)寡聚的程度可例如通过测量抗体/抗原复合物的的大小来确定。

[0172] 在一些实施方案中,相对于不包含修饰的重链恒定区、且包含例如IgG1 重链的相同抗体,包含修饰的重链恒定区的抗体转导更高水平或不同类型的信号传导或信号转导。信号转导可通过确定信号转导途径中一个或多个蛋白质的活化水平来监测。在一些实施方案中,信号转导通过测量信号转导蛋白,例如NkκB或p38的活性(或磷酸化)来确定,如例如实施例中所述。由包含修饰的重链恒定区的抗体触发的信号转导可比以不包含修饰的重链恒定区的相同抗体的信号转导高或低至少10%,20%,50%,2倍,5倍或更多。例如,相对于以具有IgG1重链的相同抗体获得的,由与刺激分子(例如,GITR)结合且包含修饰的重链恒定区的抗体触发的信号转导可增强至少10%。例如,p38 活性(例如,磷酸化)或NkκB的EC₅₀可减少至少50%,2倍,5倍或更多。

[0173] 在一些实施方案中,相对于不包含修饰重链恒定区、且包含例如IgG1重链的相同抗体,包含修饰的重链恒定区的抗体具有增加的刺激或增强免疫反应或免疫系统的能力。增加的刺激免疫反应或免疫系统的能力可由T细胞共刺激受体的增强的激动剂活性和/或抑制性受体的增强的拮抗剂活性引起。增加的刺激免疫反应或免疫系统的能力可通过在测量免疫反应的测定法中EC₅₀或最大活性水平的倍数增加来反映,例如,测量细胞因子或趋化因子释放的变化,细胞溶解活性(直接在靶细胞上测定或通过检测CD107a或粒酶而间接测定)和增殖的测定法。刺激免疫反应或免疫系统活性的能力可增强至少10%,30%,50%,75%,2倍,3倍,5倍或更多。

[0174] 在一些实施方案中,相对于不包含修饰的重链恒定区、且包含例如IgG1 重链的相同抗体,包含修饰的重链恒定区的抗体具有增加的抗增殖或抗肿瘤活性。抗体的增强的抗肿瘤活性可例如通过已用抗体处理的动物中肿瘤的生长来确定。抗肿瘤活性可增强至少10%,30%,50%,75%,2倍,3倍,5倍或更多。抗肿瘤活性可被测量,例如,作为肿瘤负担的减少,例如,通过肿瘤生长动力学减少和完全的肿瘤消退所表现的。

[0175] 在一些实施方案中,相对于不包含修饰的重链恒定区、且包含例如IgG1 重链的相同抗体,包含修饰的重链恒定区的抗体具有增加的抑制或阻抑免疫反应或免疫系统的能力。增加的抑制或阻抑免疫反应或免疫系统的能力可由 T细胞的共同刺激受体的增强的拮抗剂活性和/或抑制性受体的增强的激动剂活性引起。增加的刺激免疫反应或免疫系统的能力可通过在测量免疫反应的测定法中的EC₅₀或最大活性水平的倍数增加来反映,例如,测量细胞因子或趋化因子释放的变化、细胞溶解活性(直接在靶细胞上测定或通过检测CD107a或粒酶而间接测定)和增殖的测定法。抑制或阻抑免疫反应或免疫系统活性的能力可增强至少10%,30%,50%,75%,2倍,3倍,5倍或更多。

[0176] 在一些实施方案中,修饰的重链恒定区或其部分(例如铰链)与其他重链恒定区(例如,IgG1、IgG2、IgG3和/或IgG4重链恒定区)相比更具刚性。例如,修饰的重链恒定区是非自然存在的重链恒定区,其比天然存在的重链恒定区或其铰链更具刚性,或其具有比天然存在的重链恒定区或其铰链更具刚性的部分,例如铰链。重链恒定区或其部分(如铰链)的刚性可通过例如计算机建模、电子显微术、光谱术如核磁共振(NMR)、X射线晶体学(B因子)或沉积速度分析超速离心(AUC)来测量或比较包含铰链的抗体的回转半径。或者,重链恒定区或其部分的刚性可通过测量抗体/抗原复合物的的大小来确定,例如,如本申请进一步描述的。

[0177] 如根据本领域已知和本申请所述的方法学确定的包含修饰的重链恒定区和呈现增强的功能性质的抗体将会被理解为涉及在具体活性方面相对于在相同却具有不同的重链恒定区的抗体中所见的统计上显著的差异。

[0178] 在一些实施方案中,修饰的重链恒定区包含IgG2同种型的铰链(“IgG2铰链”)和CH1、CH2和CH3域。在一些实施方案中,修饰的重链恒定区包含IgG2 铰链和CH1、CH2和CH3域,其中CH1、CH2和CH3域中的至少一个不是 IgG2同种型的。在一些实施方案中,修饰的重链恒定区包含IgG2铰链和CH1、CH2和CH3域,其中重链恒定域不是野生型IgG2恒定区或不是在氨基酸219 或220处具有突变的IgG2恒定区。IgG2铰链可为野生型IgG2铰链,例如,野生型humIgG2铰链(例如,具有SEQ ID NO:8)或其变体,条件是IgG2铰链保留赋予所述抗体相对于包含非IgG2铰链或包含IgG1重链的相同抗体增强的活性的能力。在一些实施方案中,IgG2铰链变体保持与野生型IgG2铰链相似的刚性或刚度。铰链的刚性可例如通过如下确定:计算机建模、电子显微术,光谱术如核磁共振(NMR)、X射线晶体学(B因子)或沉降速度分析超离心(AUC) 以测量或比较包含铰链的抗体的回转半径。如果包含铰链的抗体具有从前一句所述的测试之一中得到的值,其与具有不同铰链(例如,IgG1铰链)的相同抗体的值的差异小于5%,10%,25%,50%,75%或100%,则铰链相对于另外的铰链具有相似或更高的刚性。本领域技术人员会能够通过解释这些测试的结果从测试中确定铰链是否与另外的铰链具有至少相似的刚性。

[0179] 例示性的humIgG2铰链变体是包含四个半胱氨酸残基(即,C219,C220, C226和C229)中的一个或多个用另外的氨基酸取代的IgG2铰链。半胱氨酸可用丝氨酸代替。一个例示性的IgG2铰链是humIgG2铰链,其包含C219X 突变或C220X突变,其中X是除丝氨酸外的任何氨基酸。在一些实施方案中, IgG2铰链不包含C219X和C220X取代两者。在一些实施方案中,IgG2铰链包含C219S或C220S,但不同时包含C219S和C220S。可使用的其它IgG2 铰链变体包括humIgG2铰链,其包含C220,C226和/或C229取代,例如C220S, C226S或C229S突变(其可与C219S突变组合)。IgG2铰链也可作为IgG2铰链,其中铰链的部分是另一种同种型的(即,它是嵌合或杂合铰链),条件是嵌合铰链的刚性至少类似于野生型IgG2铰链。例如,IgG2铰链可为IgG2铰链,其中下铰链(如表2中定义的)为IgG1同种型的,且为例如野生型IgG1下铰链。

[0180] “杂合”或“嵌合”铰链称为特定的同种型的,如果铰链的连续氨基酸的多于一半来自该同种型。例如,具有IgG2的上和中铰链和IgG1的下铰链的铰链被认为是IgG2杂合铰链。

[0181] 在一些实施方案中,抗体包含修饰的重链恒定区,其包含IgG2铰链,所述IgG2铰链包含表4中所示的序列,例如下列氨基酸序列之一:8,21,22,23, 126-129和134-147。在一些实施方案中,铰链包含SEQ ID NO:8,21,126,134 或135,其中1,2,3或全部4个氨基酸P233,V234,A235和G237(对应于 C-端4氨基酸“PVAG”(SEQ ID NO:148)被缺失或用另外的氨基酸,例如IgG1 铰链的C末端的氨基酸(ELLG(SEQ ID NO:150)或ELLGG(SEQ ID NO:151)) 取代。在一些实施方案中,铰链包含SEQ ID NO:8,21,126,134或135,其中 V234,A235和G237被缺失或用另外的氨基酸取代。在一些实施方案中,铰链包含SEQ ID NO:8,21,126,134或135,其中A235和G237被缺失或用另外的氨基酸取代。在一些实施方案中,铰链包含SEQ ID NO:8,21,126,134 或135,其中G237被缺失或用另外的氨基酸取代。在一些实施方案中,铰链包含SEQ ID NO:8,21,126,134或135,其中V234和A235被缺失或被另一个氨基

酸取代。用IgG1铰链的相应的氨基酸,即(ELLG(SEQ ID NO:150)或 ELLGG(SEQ ID NO:151))取代PVAG(SEQ ID NO:143)以获得具有SEQ ID NO:22或138或其变体的杂合铰链(参见,例如表4)提供具有IgG2铰链的优点和IgG1铰链的效应物功能的铰链。

[0182] 在一些实施方案中,修饰的重链恒定区包含铰链,其由或基本上由表4中的序列之一,例如SEQ ID NOs:8,21,22,23,127-132和134-141组成,且在一些实施方案中,不包含额外的铰链氨基酸残基。

[0183] 表4:例示性IgG2铰链

IgG2铰链描述	氨基酸序列	SEQ ID NO:
野生型IgG2	ERKCCVECPPCPAPPVAG	8
IgG2具有C219S	ERKSCVECPPCPAPPVAG	21
IgG2具有C220S	ERKCSVECPPCPAPPVAG	126
IgG2具有C219X	ERKXCVECPPCPAPPVAG	134
IgG2具有C220X	ERKCXVECPPCPAPPVAG	135
野生型IgG2具有C-端X	ERKCCVECPPCPAPPVAGX	143
IgG2具有C219S具有C-端X	ERKSCVECPPCPAPPVAGX	144
IgG2具有C220S具有C-端X	ERKCSVECPPCPAPPVAGX	145
IgG2具有C219X具有C-端X	ERKXCVECPPCPAPPVAGX	146
IgG2具有C220X具有C-端X	ERKCXVECPPCPAPPVAGX	147
IgG2/IgG1杂合体	ERKCCVECPPCPAPELLGG	22
IgG2/IgG1杂合体具有C219S	ERKSCVECPPCPAPELLGG	23
IgG2/IgG1杂合体具有C220S	ERKCSVECPPCPAPELLGG	127
IgG2/IgG1杂合体具有C219X	ERKXCVECPPCPAPELLGG	136
IgG2/IgG1杂合体具有C220X	ERKCXVECPPCPAPELLGG	137
IgG2/IgG1杂合体deltaG	ERKCCVECPPCPAPELLG	138
IgG2/IgG1杂合体具有C219S deltaG	ERKSCVECPPCPAPELLG	139
IgG2/IgG1杂合体具有C220S deltaG	ERKCSVECPPCPAPELLG	140
IgG2/IgG1杂合体具有C219X deltaG	ERKXCVECPPCPAPELLG	141
IgG2/IgG1杂合体具有C220X deltaG	ERKCXVECPPCPAPELLG	142
截短的野生型IgG2	ERKCCVECPPCPAP	128
截短的野生型IgG2具有C219S	ERKSCVECPPCPAP	129
截短的野生型IgG2具有C220S	ERKCSVECPPCPAP	130
截短的野生型IgG2具有C219X	ERKXCVECPPCPAP	131
截短的野生型IgG2具有C220X	ERKCXVECPPCPAP	132

[0185] X为除半胱氨酸外的任何氨基酸

[0186] 在一些实施方案中,修饰的重链恒定区包含表4中列出的IgG2铰链,其中将1-5,1-3,1-2或1个氨基酸插入氨基酸残基CVE和CPP之间。在一些实施方案中,插入THT或GGG。在一些实施方案中,可将1,1-2或1-3氨基酸插入铰链和CH2域之间。例如,可在铰链和CH2域之间插入额外的甘氨酸。

[0187] 在一些实施方案中,修饰的重链恒定区为IgG1或IgG2恒定区,其中链链包含1-10

个氨基酸的缺失。如实施例所示,缺乏氨基酸残基SCDKTHT (S219,C220,D221,K222,T223,H224和T225;SEQ ID NO:149)的IgG1抗体比具有野生型IgG1恒定区的相同抗体更有效地赋予抗体介导的CD73内化。类似地,在IgG2抗体的上下文中,缺乏氨基酸残基CCVE (C219,C220,V222,和E224;SEQ ID NO:170)的IgG2抗体比具有野生型IgG1恒定区的相同抗体更有效地赋予抗体介导的CD73内化。因此,本申请提供的是修饰的重链恒定区,其中铰链包含1,2,3,4,5,6或7个氨基酸残基的缺失,其选自对于IgG1抗体的残基S219,C220,D221,K222,T223,H224和T225,和对于IgG2抗体的残基C219,C220,V222和E224。

[0188] 在一些实施方案中,修饰的重链恒定区包含作为IgG1或IgG2同种型的野生型CH1域的CH1域(分别为“IgG1 CH1域”或“IgG2 CH1域”)。也可使用同种型的IgG3和IgG4的CH1域(分别为“IgG3 CH1域”和“IgG2 CH1域”)。CH1域也可以是野生型CH1域的变体,例如,野生型IgG1,IgG2,IgG3或IgG4 CH1域的变体。CH1域的例示性变体包括A114C,C131S和/或T173C。CH1域(例如,IgG2 CH1域)可包含取代C131S,该取代赋予IgG2抗体或具有IgG2 CH1和铰链的抗体B形式(或构象)。

[0189] 在一些实施方案中,修饰的重链恒定区包含作为IgG2同种型的CH1域。在一些实施方案中,CH1域为野生型IgG2 CH1域,例如具有氨基酸序列:ASTKGPSVFPLAP**CS****R**STS**ES**TAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS~~MF~~GTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTV (SEQ ID NO:7)。在一些实施方案中,CH1域是SEQ ID NO:7的变体,且包含相对于SEQ ID NO:7的1-10,1-5,1-2或1个氨基酸取代或缺失。如实施例进一步描述的,本申请已显示IgG2 CH1域或其变体赋予抗体相对于IgG1抗体增强的性质,且当抗体还包含IgG2铰链时甚至更增强的性质。在一些实施方案中,IgG2 CH1变体在以下氨基酸残基中的一个或多个处不包含氨基酸取代或缺失:C131,R133,E137和S138,该氨基酸残基在上面所示的SEQ ID NO:7中以粗体和下划线显示。例如,修饰的重链恒定区可包含IgG2 CH1域,其中R133,E137和S138均不用另外的氨基酸取代或被缺失,或者其中C131,R133,E137和S138均不用另外的氨基酸取代或被缺失。在一些实施方案中,C131用另外的氨基酸取代,例如C131S,该取代触发抗体采用构象B。具有修饰的重链恒定区的构象B和构象A抗体两者已在本申请中显示具有相对于具有IgG1恒定区的相同抗体增强的活性。

[0190] 在一些实施方案中,N192和/或F193(如在上面所示的SEQ ID NO:7中作为斜体和下划线残基显示的)用另外的氨基酸,例如用IgG1中的相应氨基酸取代,即N192S和/或F193L。

[0191] 在一些实施方案中,IgG2 CH1域的一个或多个氨基酸残基用IgG4中相应的氨基酸残基取代。例如,N192可为N192S;F193可为F193L;C131可为C131K;和/或T214可为T214R。

[0192] 抗体可包含修饰的重链恒定区,其包含IgG2 CH1域或其变体和IgG2铰链或其变体。铰链和CH1域可为本申请所述的任何IgG2铰链和IgG2 CH1域的组合。在一些实施方案中,IgG2 CH1和铰链包含如下氨基酸序列ASTKGPSVFPLAP**CS****R**STS**ES**TAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS~~MF~~GTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTV**VERKCCVECP**PCAPPVAG (SEQ ID NO:133),或与其相差至多1-10个氨基酸的氨基酸序列。氨基酸变体如上文对于铰链和CH1域所述。

[0193] 在一些实施方案中,抗体包含至少IgG2铰链,以及任选地还有IgG2 CH1域或铰链

和/或CH1域的片段或衍生物,且抗体已采用形式(构象)A(参见,例如,Allen等(2009) Biochemistry 48:3755)。在一些实施方案中,抗体包含至少IgG2铰链,以及任选地还有IgG2 CH1域或铰链和/或CH1域的片段或衍生物,且抗体已采用形式B(参见,例如,Allen等(2009) Biochemistry 48:3755)。

[0194] 在一些实施方案中,修饰的重链恒定区包含作为IgG1,IgG2,IgG3或 IgG4同种型的野生型CH2域的CH2域(分别为“IgG1 CH2域”,“IgG2 CH2 域”,“IgG3 CH2域”或“IgG4 CH2域”)。CH2域也可作为野生型CH2域的变体,例如,野生型IgG1,IgG2,IgG3或IgG4 CH2域的变体。CH2域的例示性变体包括调节抗体Fc区的生物活性(如ADCC或CDC)或调节抗体的半衰期或其稳定性的变体。在一个实施方案中,CH2域是具有A330S和/或P331S突变的人IgG1 CH2域,其中CH2域相对于没有突变的相同CH2突变具有降低的效应物功能。CH2域可具有增强的效应物功能。CH2域可包含一个或多个以下突变:SE(S267E),SELF(S267E/L328F),SDIE(S239D/I332E),SEFF, GASDALIE(G236A/S239D/A330L/I332E)和/或在以下氨基酸处的一个或多个突变:E233,G237,P238,H268,P271L328和A330。其他突变在本申请其他地方进一步列出。

[0195] 在一些实施方案中,修饰的重链恒定区包含作为IgG1,IgG2,IgG3或 IgG4同种型的野生型CH3域的CH3域(分别为“IgG1 CH3域”,“IgG2 CH3 域”,“IgG3 CH3域”或“IgG4 CH3域”)。CH3域也可作为野生型CH3域的变体,例如,野生型IgG1,IgG2,IgG3或IgG4 CH3域的变体。CH3域的例示性变体包括调节抗体Fc区的生物活性(如ADCC或CDC)或调节抗体的半衰期或其稳定性的变体。

[0196] 一般地,CH1,铰链,CH2或CH3域的变体可包含1,2,3,4,5,6,7,8,9, 10或更多的突变,和/或至多10,9,8,7,6,5,4,3,2或1个突变,或1-10或1-5 个突变,或包含与相应的野生型域(分别为CH1、铰链、CH2或CH3域)至少约75%,80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%或99%同一的氨基酸序列,条件是包含特定变体的重链恒定区保留必需的生物活性。

[0197] 表5列出例示性人重链恒定区,其包含人CH1、铰链、CH2和/或CH3域,其中每个域为野生型域或其变体,其为重链恒定区提供合意的生物活性。表5 中的未填充细胞指示该域是否存在,而且如果存在,可为任何同种型,例如 IgG1,IgG2,IgG3或IgG4的。例如,表5中包含重链恒定区1的抗体是包括含有至少IgG2铰链的重链恒定区的抗体,而且其还可包含CH1,CH2和/或 CH3域,如果存在,该CH1,CH2和/或CH3域是IgG1,IgG2,IgG3或IgG4 同种型的。作为理解表5的另一个例子,包含重链恒定区8的抗体是包括含有 IgG1 CH1域和IgG2铰链、IgG1 CH2域的重链恒定区的抗体,而且其可以或不包含CH3域,其存在,可为IgG1,IgG2,IgG3或IgG4同种型的。

[0198] 表5

MHCCR*	CH1	铰链	CH2	CH3
1		IgG2		
2	IgG1	IgG2		
3	IgG2	IgG2		
4		IgG2	IgG1	
5		IgG2	IgG2	

[0199]

[0200]

6		IgG2		IgG1
7		IgG2		IgG2
8	IgG1	IgG2	IgG1	
9	IgG1	IgG2	IgG2	
10	IgG2	IgG2	IgG1	
11	IgG2	IgG2	IgG2	
12	IgG1	IgG2		IgG1
13	IgG1	IgG2		IgG2
14	IgG2	IgG2		IgG1
15	IgG2	IgG2		IgG2
16		IgG2	IgG1	IgG1
17		IgG2	IgG1	IgG2
18		IgG2	IgG2	IgG1
19		IgG2	IgG2	IgG2
20	IgG1	IgG2	IgG1	IgG1
21	IgG1	IgG2	IgG1	IgG2
22	IgG1	IgG2	IgG2	IgG1
23	IgG1	IgG2	IgG2	IgG2
24	IgG2	IgG2	IgG1	IgG1
25	IgG2	IgG2	IgG1	IgG2
26	IgG2	IgG2	IgG2	IgG1
27	IgG2	IgG2	IgG2	IgG2

[0201] *修饰的重链恒定区

[0202] 在一些实施方案中,表5中所示的包含重链恒定区的抗体相对于包含不包含该特定的重链恒定区的重链恒定区的相同抗体或相对于包含IgG1恒定区的相同抗体具有增强的生物活性。

[0203] 在一些实施方案中,用于改进包含非IgG2铰链和/或非IgG2 CH1域的抗体的生物活性的方法包括提供包含非IgG2铰链和/或非IgG2 CH1域的抗体,并分别用IgG2铰链和IgG2 CH1域代替非IgG2铰链和非IgG2 CH1域。用于改进不包含修饰重链恒定区的抗体的生物活性的方法可包括提供不包含修饰的重链恒定区的抗体,并用修饰的重链恒定区代替其重链恒定区。

[0204] 例示性修饰的重链恒定区提供于表6中,其列出每个域的同源性。

[0205] 表6

[0206]

修饰的重链恒定区	CH1	铰链	CH2	CH3	全MHCCR的 SEQ ID NO
IgG1-IgG2-IgG1	IgG1野生型	IgG2/IgG1	IgG1野生型	IgG1野生型	SEQ ID

[0207]

	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 22	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 5	NO: 26
IgG1-IgG2-IgG12	IgG1野生型 SEQ ID NO: 2	IgG2野生型 SEQ ID NO: 8	IgG1野生型 SEQ ID NO: 4	IgG1野生型 SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 27
IgG1-IgG2CS-IgG1	IgG1野生型 SEQ ID NO: 2	IgG2C219S/IgG1 SEQ ID NO: 23	IgG1野生型 SEQ ID NO: 4	IgG1野生型 SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 32
IgG1-IgG2CS-IgG12	IgG1野生型 SEQ ID NO: 2	IgG2 C219S SEQ ID NO: 21	IgG1野生型 SEQ ID NO: 4	IgG1野生型 SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 33
IgG2-IgG1	IgG2野生型 SEQ ID NO: 7	IgG2/IgG1 SEQ ID NO: 22	IgG1野生型 SEQ ID NO: 4	IgG1野生型 SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 28
IgG2-IgG12	IgG2野生型 SEQ ID NO: 7	IgG2野生型 SEQ ID NO: 8	IgG1野生型 SEQ ID NO: 4	IgG1野生型 SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 29
IgG2CS-IgG1	IgG2野生型 SEQ ID NO: 7	IgG2C219S/IgG1 SEQ ID NO: 23	IgG1野生型 SEQ ID NO: 4	IgG1野生型 SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 34
IgG2CS-IgG12	IgG2野生型 SEQ ID NO: 7	IgG2 C219S SEQ ID NO: 21	IgG1野生型 SEQ ID NO: 4	IgG1野生型 SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 35
IgG1CH1-IgG2铰链 -IgG1CH2 (A330S, P331S)-IgG1CH3 或 IgG1-IgG2-IgG1.1	IgG1野生型 SEQ ID NO: 2	IgG2野生型 SEQ ID NO: 8	IgG1 A330S/P331S SEQ ID NO: 24	IgG1野生型 SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 30
IgG1CH1-IgG2铰链 (C219S)-IgG1CH2(A330S, P331S)-IgG1CH3或 IgG1-IgG2CS-IgG1.1	IgG1野生型 SEQ ID NO: 2	IgG2 C219S SEQ ID NO: 21	IgG1 A330S/P331S SEQ ID NO: 24	IgG1野生型 SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 36
IgG2-IgG1.1	IgG2野生型 SEQ ID NO: 7	IgG2野生型 SEQ ID NO: 8	IgG1 A330S/P331S SEQ ID NO: 24	IgG1野生型 SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 31
IgG2CS-IgG1.1	IgG2野生型 SEQ ID NO: 7	IgG2 C219S SEQ ID NO: 21	IgG1 A330S/P331S SEQ ID NO: 24	IgG1野生型 SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 37

[0208] 在一些实施方案中,抗体包含修饰的重链恒定区,其包括含有SEQ ID NO: 8,21,22,23,126-132,134-136和137中任一项的IgG2铰链或其变体,如包含如下氨基酸序列的IgG2铰链:(i)与SEQ ID NO:8,21,22,23,126-132,134-136和137之一差异为1,2,3,4或5个氨基酸取代、添加或缺失;(ii)与SEQ ID NO: 8,21,22,23,126-132,134-136和137之一差异为至多5,4,3,2或1个氨基酸取代、添加或缺失;(iii)与SEQ ID NO:8,21,22,23,126-132,134-136和137之一差异为1-5,1-3,1-2,2-5或3-5个氨基酸取代、添加或缺失和/或(iv)包含氨基酸序列,其与SEQ ID NO:8,21,22,23,126-132,134-136和137之一为至少约75%,80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%或99%同一的,其中在(i)-(iv)的任一项中,氨基酸取代可为保守的氨基酸取代或非保守的氨基酸取代;且其中修饰的重链恒定区相对于另外的重链恒定区(例如,包含非IgG2铰链的重链恒定区)或相对于包含非IgG2铰链的相同的修饰的重链恒定区具有增强的生物活性。

[0209] 在一些实施方案中,铰链包含序列,其为SEQ ID NO:8,21,22,23,126-132,134-

136和137之一的变体,其中R217(野生型IgG2铰链(SEQ ID NO: 8)中的第二氨基酸)未被缺失或用另外的氨基酸取代。在一些实施方案中,其中铰链是SEQ ID NO:8,21,22,23,126-132,134-136和137之一的变体,铰链具有与野生型IgG2类似的刚度。

[0210] 在一些实施方案中,抗体包含修饰的重链恒定区,其包括含有SEQ ID NO: 2的IgG1 CH1域或包含SEQ ID NO:7的IgG2 CH1域或SEQ ID NO:2或7的变体,所述变体(i)与SEQ ID NO:2或7差异为1,2,3,4或5个氨基酸取代、添加或缺失;(ii)与SEQ ID NO:2或7差异为至多5,4,3,2或1个氨基酸取代、添加或缺失;(iii)与SEQ ID NO:2或7差异为1-5,1-3,1-2,2-5或3-5个氨基酸取代、添加或缺失和/或(iv)包含氨基酸序列,其与SEQ ID NO:2或7为至少约75%,80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%或99%同一的,其中在(i)-(iv)的任一项中,氨基酸取代可为保守的氨基酸取代或非保守氨基酸取代;且其中修饰的重链恒定区相对于另外的重链恒定区(例如,包含非IgG2铰链的重链恒定区)或相对于包含非IgG2铰链的相同的修饰的重链恒定区具有增强的生物活性。

[0211] 在一些实施方案中,抗体包含修饰的重链恒定区,其包括含有SEQ ID NO: 4或24的IgG1 CH2域或SEQ ID NO:4或24的变体,所述变体(i)与SEQ ID NO:4或24差异为1,2,3,4或5个氨基酸取代、添加或缺失;(ii)与SEQ ID NO: 4或24差异为至多5,4,3,2或1个氨基酸取代、添加或缺失;(iii)与SEQ ID NO: 4或24差异为1-5,1-3,1-2,2-5或3-5个氨基酸取代、添加或缺失和/或(iv)包含氨基酸序列,其与SEQ ID NO:4或24为至少约75%,80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%或99%同一的,其中在(i)-(iv)的任一项中,氨基酸取代可为保守的氨基酸取代或非保守氨基酸取代;且其中修饰的重链恒定区相对于另外的重链恒定区(例如,包含非IgG2铰链的重链恒定区)或相对于包含非IgG2铰链的相同的修饰的重链恒定区具有增强的生物活性。

[0212] 在一些实施方案中,抗体包含修饰的重链恒定区,其包括含有SEQ ID NO: 5的IgG1 CH3域或SEQ ID NO:5的变体,所述变体(i)与SEQ ID NO:5差异为1,2,3,4或5个氨基酸取代、添加或缺失;(ii)与SEQ ID NO:5差异为至多5,4,3,2或1个氨基酸取代、添加或缺失;(iii)与SEQ ID NO:5差异为1-5,1-3,1-2,2-5或3-5个氨基酸取代、添加或缺失和/或(iv)包含氨基酸序列,其与SEQ ID NO:5为至少约75%,80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%或99%同一的,其中在(i)-(iv)的任一项中,氨基酸取代可为保守的氨基酸取代或非保守氨基酸取代;且其中修饰的重链恒定区相对于另外的重链恒定区(例如,包含非IgG2铰链的重链恒定区)或相对于包含非IgG2铰链的相同的修饰的重链恒定区具有增强的生物活性。

[0213] 修饰的重链恒定区也可包括上述CH1、铰链、CH2和CH3域的组合。

[0214] 在一些实施方案中,抗体包含本申请所述的修饰的重链恒定区或本申请所述的修饰的重链恒定区的变体,所述变体(i)与本申请所述的修饰的重链恒定区差异为1,2,3,4,5,6,7,8,9,10或更多个氨基酸取代、添加或缺失;(ii)与本申请所述的修饰的重链恒定区差异为至多10,9,8,7,6,5,4,3,2或1个氨基酸取代、添加或缺失;(iii)与本申请所述的修饰的重链恒定区差异为1-5,1-3,1-2,2-5,3-5,1-10或5-10个氨基酸取代、添加或缺失和/或(iv)包含氨基酸序列,其与本申请所述的修饰的重链恒定区为至少约75%,80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%或99%同一的,其中在(i)-(iv)的任一项中,氨基酸取代可为保守的氨基酸取代或非保守氨基酸取代;且其中修饰的重链恒定区相对于另外的重链恒定

区(例如,包含非IgG2铰链的重链恒定区)或相对于包含非IgG2 铰链的相同的修饰的重链恒定区具有增强的生物活性。

[0215] 在一些实施方案中,抗体包含修饰的重链恒定区,其包含SEQ ID NO: 26-37,54-56,78-125和152-168中任何一个或SEQ ID NO:26-37,54-56, 78-125和152-168中任何一个的变体,所述变体(i)与SEQ ID NO:26-37,54-56, 78-125和152-168中任何一个差异为1,2,3,4,5,6,7,8,9,10或更多个氨基酸取代、添加或缺失;(ii)与SEQ ID NO:26-37,54-56,78-125和152-168中任何一个差异为至多10,9,8,7,6,5,4,3,2或1个氨基酸取代、添加或缺失;(iii)与SEQ ID NO:26-37,54-56,78-125和152-168中任何一个差异为1-5,1-3,1-2, 2-5,3-5,1-10或5-10个氨基酸取代、添加或缺失和/或(iv)包含氨基酸序列,其与SEQ ID NO:26-37,54-56,78-125和152-168中任何一个为至少约75%, 80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%或99%同一的,其中在(i)-(iv)的任一项中,氨基酸取代可为保守的氨基酸取代或非保守氨基酸取代;且其中修饰的重链恒定区相对于另外的重链恒定区(例如,包含非IgG2铰链的重链恒定区)或相对于包含非IgG2铰链的相同的修饰的重链恒定区具有增强的生物活性。

[0216] 修饰的重链恒定区可具有(i)相对于野生型重链恒定区相似、减少或增加的效应物功能(例如,结合Fc γ R)和或(ii)相对于野生型重链恒定区相似、减少或增加的半衰期(或结合FcRn受体)。

[0217] II.具有修饰的重链恒定区的抗体及其靶抗原

[0218] 修饰的重链恒定区可用于广泛的抗体,如需要下述的抗体:内化(例如,抗体药物偶联物(ADC)和抗CD73抗体)、激动剂活性(例如,有效调节的抗体免疫反应(例如,刺激T细胞活化)的抗体,如激动剂抗GITR抗体)、拮抗剂活性(例如,抑制或阻断抑制免疫反应(例如T细胞活化)的蛋白质的抗体,如拮抗剂PD-1抗体)、ADCC、信号转导、或抗肿瘤活性。例如,细胞表面抑制性受体的内化可限制其与其受体相互作用的能力并降低细胞功能。

[0219] 在一个实施方案中,包含修饰的重链恒定域的抗体是通过例如当它们结合至细胞表面时诱导受体介导的胞吞而对于活性需要其内化的抗体(例如,对于细胞表面受体特异的抗体)。这些抗体可以用作靶向递送药物、毒素、酶或 DNA用于治疗应用的运载体。因此,增加这些抗体的内化性质是合意的。可受益于有效内化的例示性抗体是抗体药物缀合物。用于测量抗体的内化性质的多种测定法是本领域已知的和本申请描述的。这些测定法利用例如广泛的用于抗体标记的染料,其可用于基于淬灭或洗涤的测定法以监测内化。抗体内化也可以在依赖于荧光标记的无洗涤测定法中进行监测。

[0220] 在一个实施方案中,包含修饰的重链恒定域的抗体是对于活性需要内化其结合的抗原(例如细胞表面分子,如受体或配体)的抗体。因此,对于生物(例如治疗)活性需要下调的细胞表面蛋白质的抗体可使用本申请所述的修饰的重链恒定区。

[0221] 在一些实施方案中,包含修饰的重链恒定域的抗体结合细胞表面分子并激动或拮抗细胞表面分子(例如,免疫细胞例如T细胞,Teff细胞,Th1细胞, Th2细胞,CD4+T细胞,CD8+T细胞,Treg细胞,树突状细胞,巨噬细胞,单核细胞,Langerhans(朗格汉斯)细胞,NK细胞,骨髓来源的抑制物细胞, B细胞或任何其他免疫细胞上的细胞表面分子)的生物活性。细胞表面分子可为刺激性的,例如共刺激分子(例如,GITR,OX40,CD137,CD40,ICOS 和其他TNFR家族成员),并且抗体可进一步刺激活化性(激动剂抗体)或抗体可抑制活性(拮抗剂抗体)。细

胞表面分子可为抑制性分子(例如,CTLA-4,PD-1,PD-L1,LAG-3,TIM-3),且抗体可进一步刺激活性(激动剂抗体)或抗体可抑制活性(拮抗剂抗体)。

[0222] 在一些实施方案中,包含修饰的重链恒定域的抗体是刺激(或共刺激)分子的激动剂抗体,其例如增强受试者的免疫系统,例如,通过诱导T细胞的IL-2和/或IFN- γ 分泌(例如,抗GITR抗体)。已显示其他激动剂抗体活化APC,促进抗肿瘤T细胞反应,和/或培养在没有T细胞免疫的情况下具有控制癌症的潜力的细胞毒性骨髓细胞。刺激分子的激动剂抗体不同于抑制性分子的拮抗剂抗体,后者阻断阴性免疫检查点如抗CTLA-4或抗PD-1。激动剂活性(如T细胞增殖)可使用本领域已知的多种方法测量。

[0223] 在一些实施方案中,包含修饰的重链恒定域的抗体是检查点抑制剂的拮抗剂抗体,其通过阻断或抑制阴性免疫检查点来增强受试者的免疫反应,如抗CTLA-4或抗PD-1抗体,例如通过靶向在活化的T细胞上表达的抑制性受体进行。拮抗剂活性(如T细胞增殖的抑制)可使用本领域已知的多种方法测量。

[0224] 在一个实施方案中,抗体是(i)共刺激受体的激动剂或(ii)抑制性信号的拮抗剂,在例如T细胞上,这两者可导致扩增抗原特异性T细胞反应(免疫检查点调节剂)。在一些实施方案中,抗体是(i)共刺激受体的拮抗剂或(ii)抑制性信号的激动剂,例如在T细胞上。大多数共刺激和共抑制分子是免疫球蛋白超家族(IgSF)的成员,且具有修饰的重链恒定区的抗体可与其中任何一个结合。结合共刺激或共抑制性受体的膜结合配体的一个重要的家族是B7家族,其包括B7-1,B7-2,B7-H1(PD-L1),B7-DC(PD-L2),B7-H2(ICOS-L),B7-H3,B7-H4,B7-H5(VISTA)和B7-H6,且具有修饰的重链恒定区的抗体可与其中任何一个结合。与共刺激或共抑制性受体结合的膜结合配体的另一个家族是与同源TNF受体(TNFR)家族成员结合的分子的TNF家族,其包括CD40和CD40L,OX-40,OX-40L,CD70,CD27L,CD30,CD30L,4-1BBL,CD137,TRAIL/Apo2-L,TRAILR1/DR4,TRAILR2/DR5,TRAILR3,TRAILR4,OPG,RANK,RANKL,TWEAKR/Fn14,TWEAK,BAFFR,EDAR,XEDAR,TACI,APRIL,BCMA,LT β R,LIGHT,DcR3,HVEM,VEGI/TL1A,TRAMP/DR3,EDAR,EDA1,XEDAR,EDA2,TNFR1,淋巴毒素 α /TNF β ,TNFR2,TNF α ,LT α ,LT β ,LT β R,淋巴毒素 α 1 β 2,FAS,FASL(CD178),DR3(TNFRSF25),RELT,DR6,TROY,NGFR(参见例如,Tansey(2009)Drug Discovery Today 00:1)。因此,本申请所述的抗体可结合任何这些表面分子,并且它们可为例如(i)抑制T细胞活化的IgSF家族或B7家族或TNFR家族的蛋白质的激动剂或拮抗剂(或抑制剂或阻断剂)或抑制T细胞活化的细胞因子的拮抗剂(例如,IL-6,IL-10,TGF- β ,VEGF;“免疫抑制细胞因子”)和/或(ii)IgSF家族、B7家族或TNF家族或的刺激受体或刺激T细胞活化用于调节(例如,刺激免疫反应,例如用于治疗增殖性疾病(如癌症))的细胞因子的激动剂或拮抗剂。

[0225] 因此,具有修饰的重链恒定域的抗体可以用作以下作用剂之一:

[0226] (1)刺激例如T细胞活化的蛋白质,如B7-1,B7-2,CD28,4-1BB(CD137),4-1BBL,GITR,ICOS,ICOS-L,OX40,OX40L,CD70,CD27,CD40,DR3或CD28H的激动剂;或

[0227] (2)如上所述的抑制T细胞活化的蛋白质(例如,免疫检查点抑制剂)如CTLA-4,PD-1,PD-L1,PD-L2和LAG-3和任何以下蛋白质的拮抗剂(抑制剂或阻断剂):TIM-3,半乳糖凝集素9,CEACAM-1,BTLA,CD69,半乳糖凝集素-1,TIGIT,CD113,GPR56,VISTA,2B4,CD48,GARP,CD73,PD1H,LAIR1,TIM-1,TIM-4,CD39。

[0228] 其他抗体包括NK细胞上抑制性受体的拮抗剂和NK细胞上活化受体的激动剂,例如

KIR, TIGIT, NKG2A。

[0229] 通常,可受益于修饰的重链恒定区的抗体包括,例如,连接阳性共刺激受体的激动剂抗体、通过抑制性受体减弱信号传导的阻断抗体、拮抗剂抗体和全身性地增加抗肿瘤T细胞频率的抗体、克服肿瘤微环境内独特的免疫抑制途径(例如,阻断抑制性受体结合(例如,PD-L1/PD-1相互作用),耗尽或抑制Tregs(例如,抗CD25单克隆抗体,抑制代谢酶如IDO,或逆转/防止T细胞反应性或枯竭)的抗体和在肿瘤位点触发先天免疫活化和/或炎症的抗体。抑制性受体的增加的內化可翻译为较低水平的潜在抑制剂。

[0230] 在一些实施方案中,包含修饰的重链恒定区的抗体是与治疗剂缀合以形成免疫缀合物,如抗体药物免疫缀合物(ADC)的抗体,该免疫缀合物对于其活性需要內化。在ADC中,抗体作为用于将ADC引导至表达其抗原(如癌细胞上的抗原)的靶细胞的靶向剂。在这种情况下,抗原可为肿瘤相关抗原,即,被癌细胞唯一表达或过表达的抗原。一旦如此(once there),药物在靶细胞內或其附近释放以充当治疗剂。关于ADC在癌症治疗中的作用机制和用途的综述,参见Schrama等,Nature Rev. Drug Disc. 2006, 5, 147。

[0231] 对于癌症治疗,ADC的治疗剂或药物优选为引起靶向癌细胞死亡的细胞毒性药物。可用于ADC的细胞毒性药物包括以下类型的化合物及其类似物和衍生物:

[0232] (a) 烯二炔类(enediynes)如卡奇霉素(calicheamicin)(参见,例如, Lee等, J. Am. Chem. Soc. 1987, 109, 3464和3466)和Uncialamycin(参见,例如, Davies 等, WO 2007/038868 A2(2007)和Chowdari等, US 8,709,431 B2(2012));

[0233] (b) Tubulysins(参见,例如, Domling等, US 7,778,814 B2(2010); Cheng 等, US 8,394,922 B2(2013);和Cong等, US 2014/0227295 A1;

[0234] (c) CC-1065和倍癌霉素(duocarmycin)(参见,例如, Boger, US 6,545,530 B1(2003); Sufi等, US 8,461,117 B2(2013);和Zhang等, US 2012/0301490 A1(2012));

[0235] (d) 埃坡霉素(epothilones)(参见,例如, Vite等, US 2007/0275904 A1(2007)和US RE42930 E(2011));

[0236] (e) 阿里他汀(auristatins)(参见,例如, Senter等, US 6,844,869 B2(2005)和Doronina等, US 7,498,298 B2(2009));

[0237] (f) Pyrrolobenzodiazepine(PBD)二聚物(参见,例如, Howard等, US 2013/0059800 A1(2013); US 2013/0028919 A1(2013);和WO 2013/041606 A1(2013));和

[0238] (g) 美登素(maytansinoids)如DM1和DM4(参见,例如, Chari等, US 5,208,020(1993)和Amphlett等, US 7,374,762 B2(2008))。

[0239] 在ADC中,抗体和治疗剂可经由接头,例如可切割的接头,如肽基,二硫化物或脲接头缀合。例如,接头可为肽基接头,如Val-Cit, Ala-Val, Val-Ala-Val, Lys-Lys, Pro-Val-Gly-Val-Val (SEQ ID NO:169), Ala-Asn-Val, Val-Leu-Lys, Ala-Ala-Asn, Cit-Cit, Val-Lys, Lys, Cit, Ser或Glu。ADC可如美国专利号7,087,600; 6,989,452和7,129,261; PCT公开WO 02/096910; WO 07/038658; WO 07/051081; WO 07/059404; WO 08/083312和WO 08/103693; 美国专利公开20060024317; 20060004081和20060247295(其公开内容通过提述并入本申请)中所述制备。

[0240] 可以修饰的重链恒定区增强的ADC的例示性靶物包括B7H4(Korman等, US 2009/0074660 A1); CD19(Rao-Naik等, 8,097,703B2); CD22(King等, US 2010/0143368 A1); CD30

(Keler等,US 7,387,776 B2(2008);CD70(Terrett等, US 8,124,738 B2);CTLA-4(Korman等,US 6,984,720 B1(2006));PD-1(Korman等,US 8,008,449 B2(2011);PSMA(Huang等,US 2009/0297438 A1和 Cardarelli等,US 7,875,278 B2);PTK7(Terrett等,US 2010/0034826 A1);Glypican-3(Terrett等,US 2010/0209432(A1));RG1(Harkins等,US 7,335,748 B2(2008));间皮素(mesothelin)(Terrett等,US 8,268,970 B2(2012));和CD44(Xu等,US 2010/0092484 A1)。

[0241] III. 增强抗体的生物活性的方法

[0242] 本申请提供的是增强一些抗体的生物活性,如下列一种或多种生物活性的方法:

[0243] (a) 增加的或改变的被细胞内化;

[0244] (b) 增加的或改变的激动剂活性;

[0245] (c) 增加的或改变的拮抗剂或阻断活性;

[0246] (d) 增强的ADCC;

[0247] (d) 产生新的性质;

[0248] (e) 增加的或改变的信号转导;

[0249] (f) 形成较大的抗体/抗原交联复合物;

[0250] (g) 靶细胞表面分子的增加的集群或寡聚;

[0251] (h) 免疫反应的增加的刺激或增强;和/或

[0252] (i) 免疫反应的增加的抑制。

[0253] 一种用于增强抗体的生物活性的方法可包括用修饰的重链恒定区或其部分(例如,IgG2铰链和/或IgG2 CH1域)代替重链恒定区或其部分(例如铰链和 /或CH1域)。

[0254] 在一些实施方案中,改进抗体的生物活性的方法包括:(i) 提供不包含如本文所述的修饰的重链恒定区的抗体;和(ii) 用修饰的重链恒定区或其部分代替抗体的重链恒定区,其增强抗体的生物活性。在一些实施方案中,改进抗体的生物活性的方法包括:(i) 提供包含非IgG2铰链(例如,IgG1铰链,IgG3铰链或IgG4 铰链)的抗体;和(ii) 用IgG2铰链代替抗体的非IgG2铰链。在一些实施方案中,改进抗体的生物活性的方法包括:(i) 提供包含非增强性IgG2铰链的抗体;和(ii) 用IgG2铰链代替抗体的非增强性IgG2铰链。“非增强性IgG2铰链”是以这样的方式不同于IgG2铰链使得其不再具有增强抗体生物活性所需的特性的变体 IgG2铰链,例如,不再具有野生型IgG2铰链的刚度的变体铰链。

[0255] 用于增强抗体的生物活性的例示性方法包括(i) 提供含有非IgG2铰链或非增强性IgG2铰链的抗体,和(ii) 用包含SEQ ID NO:8,21,22,23,126-132, 134-136或137或其变体(例如本文所述的变体)的铰链代替所述铰链。增强抗体的生物活性的方法还可包括(i) 提供包含重链恒定区的抗体,所述重链恒定区不是修饰的重链恒定区,和(ii) 用修饰的重链恒定区代替所述重链恒定区。代替重链恒定区可包括代替CH1,铰链,CH2和/或CH3域。例如,重链恒定区可通过用IgG2铰链或其变体代替所述铰链,和/或通过用IgG1或IgG2 CH1域或其变体代替CH1域来修饰。在一些实施方案中,铰链用IgG2铰链代替而CH2域用IgG1 CH2域代替。在一些实施方案中,铰链用IgG2铰链代替而CH3域用IgG1 CH3域代替。在一些实施方案中,铰链用IgG2铰链代替,CH1用IgG2铰链代替,CH2域用IgG1 CH2域代替,而CH3域用IgG1 CH3 域代替。在一些实施方案中,重链恒定区用上表5中所示的修饰的重链区1-27 或表6中所示或本申请所述的重链恒定区代替。

[0256] 本申请还提供的是增强IgG1或IgG2抗体的生物活性的方法,包括分别在IgG1或IgG2抗体的铰链中缺失1-10个氨基酸。例如,可缺失氨基酸S219, C22,D221,K222,T223,H224和T225中的一个或多个。在一个实施方案中,全部氨基酸S219,C22,D221,K222,T223,H224和T225都被缺失。

[0257] 代替抗体的重链恒定区以增强其生物学活性优选不伴随着其与靶抗原的结合活性的降低或显著降低。如实施例所述,取代抗GITR和抗CD73抗体的重链恒定区分别没有显著改变它们对人GITR和人CD73抗原的亲合力。

[0258] 可理解的是,当涉及用不同同种型的相同域代替特定同种型的域时,不需要字面上替代该域,而是可仅需变化两种同种型之间不同的氨基酸。

[0259] 用于评价抗体对不同物种的抗原的结合能力的标准测定法是本领域已知的,并且在本文中进一步描述,且包括例如ELISA、Western印迹和RIA。合适的测定法在实施例中详细描述。抗体的结合动力学(例如,结合亲和力)也可通过本领域已知的标准测定法,如通过BIACORE® SPR分析进行评估。评价具有修饰的恒定区的抗体的性质(例如,配体结合,T细胞增殖,细胞因子产生)的测定法在实施例中在下文进一步详细描述。

[0260] 可如本文所述被修饰的例示性抗体包括,例如,用于治疗癌症的抗体,例如:Yervoy™(伊匹单抗(Ipilimumab))或替西木单抗(Tremelimumab)(对CTLA-4),加利昔单抗(Galiximab)(对B7.1),BMS-936558(对PD-1),CT-011(对PD-1),MK-3475(对PD-1),AMP224(对B7DC),BMS-936559(对B7-H1),MPDL3280A(对B7-H1),MEDI-570(对ICOS),AMG557(对B7H2),MGA271(对B7H3),IMP321(对LAG-3),BMS-663513(对CD137),PF-05082566(对CD137),CDX-1127(对CD27),抗-0X40(Providence Health Services),huMAb0X40L(对0X40L),阿塞西普(Atacicept)(对TACI),CP-870893(对CD40),鲁卡木单抗(Lucatumumab)(对CD40),达西珠单抗(Dacetuzumab)(对CD40),莫罗单抗(Muromonab)-CD3(对CD3),伊匹单抗(对CTLA-4)。

[0261] 可如本文所述被修饰的其他抗体包括PD-1和PD-L1拮抗剂抗体。可如本文所述被修饰的例示性抗PD-1抗体是尼莫单抗(nivolumab)(BMS-936558);包含WO 2006/121168中所述抗体17D8,2D3,4H1,5C4,7D3,5F4和4A11之一的CDR或可变区的抗体;WO 2012/145493中描述的MK-3475(兰布鲁珠单抗(Lambrolizumab));WO 2012/145493中描述的AMP-514;CT-011(Pidilizumab;先前为CT-AcTibody或BAT;参见,例如,Rosenblatt等(2011)J. Immunotherapy 34:409);WO 2009/014708,WO 03/099196,WO 2009/114335,WO 2011/066389,WO 2011/161699,WO 2012/145493,WO2013/173223,美国专利号7,635,757和8,217,149和美国专利公开号2009/0317368中描述的那些。

[0262] 可被修饰的其它抗体包括抗PD-L1抗体,例如BMS-936559(WO 2007/005874和美国专利号7,943,743中称作12A4);包含PCT公开WO 07/005874和美国专利号7,943,743中描述的3G10,12A4,10A5,5F8,10H10,1B12,7H1,11E6,12B7和13G4的CDR或可变区的抗体;MEDI4736(也称为抗-B7-H1);MPDL3280A(也称为RG7446);WO2013/173223,WO2011/066389,WO2012/145493,美国专利号7,635,757和8,217,149和美国公开号2009/145493中公开的任何抗PD-L1抗体。

[0263] 可被修饰的其他抗体包括抗CTLA-4抗体,例如Yervoy™(伊匹单抗或抗体10D1,描述于PCT公开WO 01/14424);替西木单抗(以前为Ticilimumab,CP-675,206);任何以下出

出版物中描述的单克隆抗体或抗CTLA-4抗体:WO 98/42752;WO 00/37504;美国专利号6,207,156;Hurwitz等(1998)Proc.Natl. Acad.Sci.USA 95(17):10067-10071;Camacho等(2004)J.Clin.Oncology 22(145):摘要号2505(抗体CP-675206);和Mokyr等(1998)Cancer Res. 58:5301-5304;和WO2013/173223中公开的任何抗CTLA-4抗体。

[0264] 可被修饰的其他抗体包括抗LAG-3抗体,例如BMS-986016;US 2011/007023中描述的IMP731;和IMP-321。

[0265] 可被修饰的其他抗体包括抗GITR激动剂抗体,例如WO2006/105021中描述的抗GITR抗体6C8或其人源化的形式;WO2011/028683中描述的抗体;和JP2008278814中描述的抗体。

[0266] 靶向其他抗原(包括本申请别处描述的那些)的抗体也可被修饰。例如,需要内化的抗Her2抗体,例如,曲妥珠单抗(赫赛汀(Herceptin))可如本文所述被修饰。

[0267] IV. 额外的重链恒定域修饰

[0268] 除本文所述的对抗体的修饰以增强其生物活性之外,可进行进一步突变,例如,对CH1、铰链、CH2或CH3域进行,以影响抗体的例如,效应物功能,结合至Fc γ Rs或稳定性。

[0269] Fc和修饰的Fc

[0270] 本申请所述的抗体可包括含有一个或多个修饰的Fc,通常以改变抗体的一个或多个功能性质,如血清半衰期、补体结合、Fc受体结合和/或抗原依赖性细胞毒性。例如,可在Fc区中进行修饰以产生相对于亲本Fc具有如下性质的Fc变体:(a) 增加或降低的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC), (b) 增加或降低的补体介导的细胞毒性(CDC), (c) 增加或降低的对C1q的亲力和/或(d) 增加或降低的对Fc受体的亲和力。所述Fc区变体通常在Fc区中包含至少一个氨基酸修饰。组合氨基酸修饰被认为是特别合意的。例如,变体Fc区可包括其中(例如,本文鉴定的特定Fc区位置)的二,三,四,五个等取代。例示性Fc序列变体在本文中公开,并且还提供于美国专利号5,624,821; 6,277,375;6,737,056;6,194,551;7,317,091;8,101,720;PCT专利公开WO 00/42072;WO 01/58957;WO 04/016750;WO 04/029207;WO 04/035752;WO 04/074455;WO 04/099249;WO 04/063351;WO 05/070963;WO 05/040217, WO 05/092925和WO 06/020114。

[0271] 降低效应物功能

[0272] 可通过修饰Fc区降低ADCC活性。在一些实施方案中,可(例如,通过突变)去除影响与Fc受体结合的位点,优选除救助受体结合位点外的位点。在其他实施方案中,Fc区可经修饰以去除ADCC位点。ADCC位点是本领域已知的;参见,例如,与IgG1中的ADCC位点相关的Sarmay等(1992)Molec. Immunol.29(5):633-9。在一个实施方案中,人IgG1的G236R和L328R变体有效消除了Fc γ R结合。Horton等(2011)J. Immunol.186:4223和Chu等(2008)Mol. Immunol.45:3926。在其他实施方案中,具有降低的与Fc γ Rs结合的Fc 包含氨基酸取代L234A,L235E和G237A。Gross等(2001)Immunity 15:289。

[0273] 也可通过修饰Fc区来降低CDC活性。在IgG1位置D270,K322,P329 和P331处的突变(特别是丙氨酸突变D270A,K322A,P329A和P331A)显著降低相应抗体结合C1q和活化补体的能力。Idusogie等(2000)J. Immunol. 164:4178;WO 99/51642。已显示IgG1的位置331的修饰(例如P331S)降低补体结合。Tao等(1993)J. Exp. Med.178:661和Canfield&Morrison(1991)J. Exp. Med.173:1483。在另一个例子中,改变氨基酸位置231至239内的一个或多个

氨基酸残基,以由此降低抗体结合补体的能力。WO 94/29351。

[0274] 在一些实施方案中,具有降低的补体结合的Fc具有氨基酸取代A330S 和P331S。Gross等(2001) *Immunity* 15:289。

[0275] 对于要完全避免效应物功能的用途,例如,当单独的抗原结合足以产生合意的治疗益处,而且效应物功能仅导致不合意的副作用(或增加其风险)时,可使用IgG4抗体,可发明缺乏Fc区的抗体或片段或其实质部分,或可将Fc 突变以总地消除糖基化(例如N297A)。或者,已经生成了人IgG2 (C_H1域和铰链区) 和人IgG4 (C_H2和C_H3域) 的杂合构建体,其没有效应物功能,缺乏结合 Fc γ Rs的能力(像IgG2) 且不能活化补体(像IgG4)。Rother等(2007) *Nat. Biotechnol.* 25:1256。还参见Mueller等(1997) *Mol. Immunol.* 34:441; Labrijn 等(2008) *Curr. Op. Immunol.* 20:479 (讨论通常降低效应物功能的Fc修饰)。

[0276] 在其他实施方案中,通过用不同的氨基酸残基代替至少一个氨基酸残基来改变Fc区以降低抗体的所有效应物功能。例如,可用不同的氨基酸残基代替选自氨基酸残基234, 235, 236, 237, 297, 318, 320和322的一个或多个氨基酸,使得抗体对效应物配体具有降低的亲和力,但保留亲本抗体的抗原结合能力。亲和力改变的效应物配体可为例如Fc受体(残基234, 235, 236, 237, 297) 或补体的C1组分(残基297, 318, 320, 322)。均为Winter等的美国专利号 5,624,821和5,648,260。

[0277] WO 88/007089提出了IgG Fc区中的修饰以减少与Fc γ RI结合而降低 ADCC (234A; 235E; 236A; G237A) 或阻断与补体组分C1q的结合而消除CDC (E318A或V/K320A和K322A/Q)。还参见Duncan&Winter (1988) *Nature* 332:563; Chappel等(1991) *Proc. Nat'l Acad. Sci. (USA)* 88:9036; 和Sondermann 等(2000) *Nature* 406:267 (讨论了这些突变对Fc γ RIII结合的作用)。

[0278] 减少效应物功能的Fc修饰还包括在位置234, 235, 236, 237, 267, 269, 325, 和328处的取代,插入和缺失,如234G, 235G, 236R, 237K, 267R, 269R, 325L 和328R。Fc变体可包含236R/328R。降低Fc γ R和补体相互作用的其他修饰包括取代297A, 234A, 235A, 237A, 318A, 228P, 236E, 268Q, 309L, 330S, 331S, 220S, 226S, 229S, 238S, 233P和234V。这些和其他修改在Strohl (2009) *Current Opinion in Biotechnology* 20:685-691中综述。通过在位置233-236和327-331 中一个或多个处突变IgG残基(如在IgG1中E233P, L234V, L235A, 任选的G236 Δ , A327G, A330S和P331S; 在IgG4中E233P, F234V, L235A, 任选的 G236 Δ ; 和在IgG2中A330S和P331S), 可降低效应物功能(ADCC和补体活化), 同时维持新生的FcR结合(维持半衰期)。参见Armour等(1999) *Eur. J. Immunol.* 29:2613; WO 99/58572。降低效应物功能的其他突变包括IgG1中的 L234A和L235A (Alegre等(1994) *Transplantation* 57:1537); IgG2中的V234A 和G237A (Cole等(1997) *J. Immunol.* 159:3613; 还参见美国专利号5,834,597); 和对于IgG4的S228P和L235E (Reddy等(2000) *J. Immunol.* 164:1925)。在人 IgG1中用于降低效应物功能的突变的另一组合包括L234F, L235E和P331S。Oganessian等(2008) *Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.* 64:700。一般地参见 Labrijn等(2008) *Curr. Op. Immunol.* 20:479。在Fc (IgG1) 融合蛋白(阿巴西普 (abatacept)) 的上下文中发现降低效应物功能的额外突变是C226S, C229S和 P238S (EU残基编号)。Davis等(2007) *J. Immunol.* 34:2204。

[0279] 具有降低的ADCC和/或CDC的其他Fc变体公开于Glaesner等(2010) *Diabetes Metab. Res. Rev.* 26:287 (F234A和L235A以减少IgG4中的ADCC和 ADCP); Hutchins等(1995)

Proc.Nat'l Acad.Sci. (USA) 92:11980 (IgG4中的 F234A,G237A和E318A) ;An等 (2009) MAbs 1:572和U.S.Pat.App.Pub. 2007/0148167 (IgG2中的H268Q,V309L,A330S和P331S) ;McEarchern等 (2007) Blood 109:1185 (IgG1中的C226S,C229S,E233P,L234V,L235A) ;Vafa等 (2014) Methods 65:114 (IgG2中的V234V,G237A,P238S,H268A,V309L, A330S,P331S)。

[0280] 在一些实施方案中,选择基本上没有效应物功能,即具有降低的与Fc γ R 结合和降低的补体结合的Fc。无效效应物的例示性Fc,例如IgG1Fc包含以下五个突变:L234A,L235E,G237A,A330S和P331S。Gross等 (2001) Immunity 15:289。这五个取代同样可与N297A组合以消除糖基化。

[0281] 增强效应物功能

[0282] 或者,可通过修饰Fc区来增加ADCC活性。关于ADCC活性,人IgG1 \cong IgG3 \gg IgG4 \cong IgG2,因此可选择IgG1恒定域而非IgG2或IgG4用于期望ADCC的药物中。或者,Fc区可经修饰以增加抗体依赖性细胞毒性 (ADCC) 和/或通过在以下位置处修饰一个或多个氨基酸来增加对Fc γ 受体的亲和力:234,235,236,238,239,240,241,243,244,245,247,248,249,252,254,255,256,258,262,263,264,265,267,268,269,270,272,276,278,280,283,285,286,289,290,292,293,294,295,296,298,299,301,303,305,307,309,312,313,315,320,322,324,325,326,327,329,330,331,332,333,334,335,337,338,340,360,373,376,378,382,388,389,398,414,416,419,430,433,434,435,436,437,438或439。参见W0 2012/142515;另见W0 00/42072。例示性取代包括236A,239D,239E,268D,267E,268E,268F,324T,332D和332E。例示性变体包括239D/332E,236A/332E,236A/239D/332E,268F/324T,267E/268F,267E/324T,和267E/268F/324T。例如,已显示包含G236A变体(其可任选地与I332E组合)的人IgG1Fc将Fc γ IIA/Fc γ IIB结合亲和力比例增加约15倍。Richards等 (2008) Mol.Cancer Therap.7:2517;Moore等 (2010) mAbs 2:181。用于增强Fc γ R和补体相互作用的其它修饰包括但不限于取代298A,333A,334A,326A,247I,339D,339Q,280H,290S,298D,298V,243L,292P,300L,396L,305I和396L。这些和其他修饰在Strohl (2009) Current Opinion in Biotechnology 20:685-691中综述。具体地,ADCC和CDC都可通过在IgG1 位置E333处的变化,例如E333A来增强。Shields等 (2001) J.Biol.Chem. 276:6591。使用P247I和A339D/Q突变以增强IgG1中的效应物功能在W0 2006/020114中公开,并且D280H,K290S \pm S298D/V公开于W0 2004/074455。已显示K326A/W和E333A/S变体在人IgG1中和E333S在IgG2中增加效应物功能。Idusogie等 (2001) J.Immunol.166:2571。

[0283] 具体地,已定位了人IgG1上用于Fc γ R1,Fc γ RII,Fc γ RIII和FcRn的结合位点,并且已描述了具有改进的结合的变体。Shields等 (2001) J.Biol.Chem. 276:6591-6604。显示在位置256,290,298,333,334和339处的特定突变改善与 Fc γ RIII的结合,包括组合突变体T256A/S298A,S298A/E333A,S298A/K224A 和S298A/E333A/K334A(具有增强的Fc γ RIIIa结合和ADCC活性)。已鉴定了具有强烈增强的与Fc γ RIIIa结合的其它IgG1变体,包括具有S239D/I332E和 S239D/I332E/A330L突变的变体,其显示对Fc γ RIIIa的亲力的最大增加,Fc γ RIIb结合降低,食蟹猴(cynomolgus monkey)中强的细胞毒性活性。Lazar 等 (2006) Proc.Nat'l Acad Sci. (USA) 103:4005;Awan等 (2010) Blood 115:1204;Desjarlais&Lazar (2011) Exp.Cell Res.317:1278。将三突变引入抗体如阿莱米单抗(CD52-特异性),曲妥珠单抗(HER2/neu-特异性),利妥昔单抗(CD20-特异性)和西妥昔单抗

(EGFR-特异性)转化为极大增强的体外ADCC活性,且 S239D/I332E变体显示增强的耗尽猴子中的B细胞的能力。Lazar等(2006) *Proc. Nat'l Acad. Sci. (USA)* 103:4005。此外,已鉴定了含有L235V,F243L,R292P, Y300L,V305I和P396L突变的IgG1突变体,其在B细胞恶性肿瘤和乳腺癌模型中在表达人Fc γ RIIIa的转基因小鼠中呈现增强的Fc γ RIIIa结合并伴随增强 ADCC活性。Stavenghagen等(2007) *Cancer Res.* 67:8882;美国专利号8,652,466; Nordstrom等(2011) *Breast Cancer Res.* 13:R123。

[0284] 不同的IgG同种型也呈现差异的CDC活性(IgG3>IgG1>>IgG2 \approx IgG4)。Dangl等(1988) *EMBO J.* 7:1989。对于期望增强的CDC的用途,也可能引入增加与C1q结合的突变。可通过在IgG2中在K326和/或E333处的突变(如 K326W(其降低ADCC活性)和E333S)而增强招募补体(CDC)的能力以增加与补体级联的第一组分C1q的结合。Idusogie等(2001) *J. Immunol.* 166:2571。将S267E/H268F/S324T(单独或以任何组合)引入人IgG1增强C1q结合。Moore等(2010) *mAbs* 2:181。Natsume等(2008) *Cancer Res.* 68:3863(其中图1)的IgG1/IgG3杂合同种型抗体“113F”的Fc区也赋予增强的CDC。另见Michaelsen等(2009) *Scand. J. Immunol.* 70:553和Redpath等(1998) *Immunology* 93:595。

[0285] 可增加或降低效应物功能的额外突变公开于Dall'Acqua等(2006) *J. Immunol.* 177:1129。另见Carter(2006) *Nat. Rev. Immunol.* 6:343;Presta(2008) *Curr. Op. Immunol.* 20:460。

[0286] 也可使用增强对于抑制性受体Fc γ RIIb的亲力的Fc变体,以增强凋亡诱导或佐剂活性。Li和Ravetch(2011) *Science* 333:1030;Li和Ravetch(2012) *Proc. Nat'l Acad. Sci. (USA)* 109:10966;美国专利申请公开2014/0010812。这种变体可提供具有与Fc γ RIIb⁺细胞,包括例如B细胞和单核细胞相关的免疫调节活性的抗体。在一个实施方案中,Fc变体相对于一个或多个活化受体提供对Fc γ RIIb选择性增强的亲和力。改变与Fc γ RIIb的结合的修饰包括在选自下组的位置处的一个或多个修饰:234,235,236,237,239,266,267,268,325,326,327,328和332,根据EU索引。用于增强Fc γ RIIb亲和力的例示性取代包括但不限于234D,234E,234F,234W,235D,235F,235R,235Y,236D,236N,237D,237N,239D,239E,266M,267D,267E,268D,268E,327D,327E,328F,328W,328Y和332E。例示性取代包括235Y,236D,239D,266M,267E,268D,268E,328F,328W和328Y。用于增强与Fc γ RIIb结合的其它Fc变体包括235Y/267E,236D/267E,239D/268D,239D/267E,267E/268D,267E/268E和267E/328F。具体地,人IgG1的S267E,G236D,S239D,L328F和I332E变体,包括S267E+L328F双变体在特异性增强对抑制性Fc γ RIIb受体的亲和力方面具有特别的价值。Chu等(2008) *Mol. Immunol.* 45:3926;美国专利申请公开2006/024298;WO 2012/087928。通过添加P238D取代可获得对于Fc γ RIIb的增强的特异性(如与Fc γ RIIa^{R131}相区别的)。Mimoto等(2013) *Protein. Eng. Des. & Selection* 26:589;WO 2012/115241。

[0287] 糖基化

[0288] 抗体的糖基化是被修饰以增加或降低效应物功能。例如,可通过在位置297处突变保守的天冬酰胺残基(例如N297A)而制得缺少所有效应物功能的去糖基化的抗体,由此取消补体和Fc γ RI结合。Bolt等(1993) *Eur. J. Immunol.* 23:403。另见Tao和Morrison(1989) *J. Immunol.* 143:2595(使用IgG1中的N297Q以消除在位置297处的糖基化)。

[0289] 虽然去糖基化的抗体通常缺乏效应物功能,但可以引入突变来恢复该功能。去糖

基化的抗体,例如由N297A/C/D/或H突变产生的或在不使蛋白糖基化的系统(例如大肠杆菌)中产生的那些,可进一步突变以恢复Fc γ R结合,例如,S298G和/或T299A/G/或H(WO 2009/079242),或E382V和M428I(Jung等(2010)Proc.Nat'l Acad.Sci(USA) 107:604)。

[0290] 此外,通过改变糖基化可制得具有增强的ADCC的抗体。例如,基于改进的与Fc γ RIIIa结合,已显示从重链Asn297连接的寡糖中除去岩藻糖以增强ADCC.Shields等(2002)JBC 277:26733;Niwa等(2005)J.Immunol.Methods 306:151;Cardarelli等(2009)Clin.Cancer Res.15:3376(MDX-1401);Cardarelli等(2010)Cancer Immunol.Immunotherap.59:257(MDX-1342)。这样的低岩藻糖抗体可例如在缺少岩藻糖基转移酶(FUT8)的敲除中国仓鼠卵巢(CHO)细胞中(Yamane-Ohnuki等(2004)Biotechnol.Bioeng.87:614)或在产生去岩藻糖基化的抗体的其它细胞中产生。参见,例如Zhang等(2011)mAbs 3:289和Li等(2006)Nat.Biotechnol.24:210(均描述了在糖基工程改造的巴斯德毕赤酵母(*Pichia pastoris*)中的抗体生产);Mossner等(2010)Blood 115:4393;Shields等(2002)J.Biol.Chem.277:26733;Shinkawa等(2003)J.Biol.Chem. 278:3466;EP 1176195B1。也可如PCT公开WO 03/035835中所述增强ADCC,其公开了使用具有降低的将岩藻糖附接于Asn(297)连接的碳水化合物的能力的变体CHO细胞系Lec13,也导致在该宿主细胞中表达的抗体的低岩藻糖基化(也参见Shields,R.L.等(2002)J.Biol.Chem.277:26733-26740)。或者,可将岩藻糖类似物在抗体产生期间添加到培养基中以抑制岩藻糖并入抗体中的碳水化合物中。WO 2009/135181。

[0291] 在抗体连接的寡糖中增加二分的GlcNAc结构也增强ADCC.Umana等的PCT公开WO 99/54342描述了经工程改造以表达糖蛋白修饰的糖基转移酶(例如, β (1,4)-N-乙酰葡萄糖胺基转移酶III(GnTIII))的细胞系,使得在工程改造的细胞系中表达的抗体呈现增加的二分的GlcNAc结构,这导致抗体的ADCC活性增加(另见Umana等(1999)Nat.Biotech.17:176-180)。

[0292] 已开发了额外的糖基化变体,其没有半乳糖、唾液酸、岩藻糖和木糖残基(所谓的GNGN糖型),其呈现增强的ADCC和ADCP但却降低的CDC,以及没有唾液酸、岩藻糖和木糖的其他者(所谓的G1/G2糖型),其呈现增强的ADCC、ADCP和CDC。美国专利申请公开号2013/0149300。具有这些糖基化模式的抗体在遗传修饰的本氏烟草(*N.benthamiana*)植物中任选地产生,在所述植物中内源性木糖基和岩藻糖基转移酶基因已被敲除。

[0293] 也可使用糖基化工程以通过改变附接于Fc区的Asn297处的碳水化合物链的 α 2,6唾液酰基含量来修饰IgG构建体的抗炎性质,其中 α 2,6唾液酸化形式的增加的比例导致增强的抗炎作用。参见Nimmerjahn等(2008)Ann.Rev. Immunol.26:513。相反,具有 α 2,6唾液酸化碳水化合物的抗体的比例的降低在不需要抗炎性质的情况下可为有用的。例如通过 α 2,6唾液酸化形式的选择性纯化或通过酶促修饰来修饰抗体的 α 2,6唾液酸化含量的方法提供于美国专利申请公开号2008/0206246。在其他实施方案中,Fc区的氨基酸序列可被修饰以模拟 α 2,6唾液酸化的作用,例如通过包含F241A修饰。WO 2013/095966。

[0294] 本文描述的抗体可在轻链或重链可变区中包含一个或多个糖基化位点。这样的糖基化位点可导致抗体的免疫原性增加或由于改变的抗原结合所致的抗体的pK的改变(Marshall等(1972)Annu Rev Biochem 41:673-702;Gala和Morrison(2004)J.Immunol 172:5489-94;Wallick等(1988)J Exp Med 168:1099-109;Spiro(2002)Glycobiology 12:

43R-56R;Parekh等(1985)Nature 316:452-7;Mimura等(2000)Mol Immunol 37:697-706)。已知糖基化发生在含有N-X-S/T序列的基序处。

[0295] 生物半衰期

[0296] 在一些实施方案中,抗体是修饰的以增加其生物半衰期。各种方法是可能的。例如,这可通过增加Fc区对于FcRn的结合亲和力来完成。在一个实施方案中,抗体在CH1或CL区内被改变以含有取自IgG的Fc区的CH2域的两个环的补救受体结合表位,如Presta等的美国专利号5,869,046和6,121,022中所述。增加与FcRn结合和/或改善药代动力学性质的其它示例性Fc变体包括在位置259,308和434处的取代,包括例如259I,308F,428L,428M,434S,434H,434F,434Y,和434M。增加Fc结合FcRn的其它变体包括:250E,250Q,428L,428F,250Q/428L(Hinton等,2004,J.Biol.Chem.279(8):6213-6216,Hinton等2006Journal of Immunology 176:346-356),256A,272A,305A,307A,311A,312A,378Q,380A,382A,434A(Shields等,Journal of Biological Chemistry,2001,276(9):6591-6604),252F,252Y,252W,254T,256Q,256E,256D,433R,434F,434Y,252Y/254T/256E,433K/434F/436H(Dall'Acqua等Journal of Immunology,2002,169:5171-5180,Dall'Acqua等,2006,Journal of Biological Chemistry 281:23514-23524)。参见美国专利号8,367,805。

[0297] 已提出IgG Fc中一些保守残基(I253/H310/Q311/H433/N434)的修饰,如N434A变体(Yeung等(2009)J.Immunol.182:7663),作为增加FcRn亲和力的方式,从而增加循环中抗体的半衰期。WO 98/023289。已显示包含M428L和N434S的组合Fc变体增加FcRn结合并将血清半衰期增加多至五倍。Zalevsky等(2010)Nat.Biotechnol.28:157。包含T307A,E380A和N434A修饰的组合Fc变体也延长了IgG1抗体的半衰期。Petkova等(2006)Int.Immunol.18:1759。此外,包含M252Y/M428L,M428L/N434H,M428L/N434F,M428L/N434Y,M428L/N434A,M428L/N434M,和M428L/N434S变体的组合Fc变体也已显示延长的半衰期。WO 2009/086320。

[0298] 此外,包含M252Y,S254T和T256E的组合Fc变体将半衰期增加近4倍。Dall'Acqua等(2006)J.Biol.Chem.281:23514。已使用提供增加的FcRn亲和力但却降低的pH依赖性的相关IgG1修饰(M252Y/S254T/T256E/H433K/N434F)以产生用作预防其它抗体与FcRn结合的竞争物的IgG1构建体("MST-HN Abdeg"),导致其他抗体(内源性IgG(例如在自身免疫性设定中)或另外的外源(治疗性)mAb)的清除增加。Vaccaro等(2005)Nat.Biotechnol.23:1283;WO 2006/130834。

[0299] 用于增加FcRn结合的其它修饰描述于Yeung等(2010)J.Immunol.182:7663-7671;6,277,375;6,821,505;WO 97/34631;WO 2002/060919中。

[0300] 在一些实施方案中,杂合IgG同种型可用于增加FcRn结合,并潜在地增加半衰期。例如,可通过在两个同种型不同的位置处用来自IgG3的氨基酸取代CH2和/或CH3区中的IgG1位置来构建IgG1/IgG3杂合变体。因此,可构建包含一个或多个取代,例如274Q,276K,300F,339T,356E,358M,384S,392N,397M,422I,435R和436F的杂合变体IgG抗体。在本文所述的其它实施方案中,可通过在两个同种型不同的位置处来自IgG1的氨基酸取代CH2和/或CH3区中的IgG2位置来构建IgG1/IgG2杂合变体。因此,可构建包含一个或多个取代,例如一个或多个以下氨基酸取代的杂合变体IgG抗体:233E,234L,235L,-236G(指在位置236处插入甘氨酸)和327A。参见美国专利号8,629,113。已产生了IgG1/IgG2/IgG4序列的

杂合体,其显然增加血清半衰期并改善表达。美国专利号7,867,491(其中序列号18)。

[0301] 本发明抗体的血清半衰期也可通过聚乙二醇化来增加。可将抗体聚乙二醇化以例如增加抗体的生物(例如,血清)半衰期。为了使抗体聚乙二醇化,抗体或其片段通常在其中一个或多个PEG基团变为与抗体或抗体片段附接的条件下与聚乙二醇(PEG)试剂(如PEG的反应性酯或醛衍生物)反应。优选地,聚乙二醇化经由酰化反应或烷基化反应与反应性PEG分子(或类似的反应性水溶性聚合物)进行。如本申请使用的,术语“聚乙二醇”意欲涵盖已用于衍生化其它蛋白质的任何PEG形式,如单(C1-C10)烷氧基-或芳氧基-聚乙二醇或聚乙二醇-马来酰亚胺。在一些实施方案中,待聚乙二醇化的抗体是去糖基化的抗体。用于聚乙二醇化蛋白质的方法是本领域已知的,并可应用于本申请所述的抗体。参见例如,Nishimura等的EP 0154316和Ishikawa等的EP0401384。

[0302] 或者,在一些情况下,可为期望的是降低本发明的抗体的半衰期,而非增加它。人IgG1的Fc中的修饰如I253A(Hornick等(2000) J.Nucl.Med. 41:355)和H435A/R I253A或H310A(Kim等(2000) Eur.J.Immunol.29:2819) 可降低FcRn结合,因而减少半衰期(增加清除)用于在优选快速清除的情况下,如医学成像。另见Kenanova等(2005) Cancer Res.65:622。增强清除的其他手段包括将本发明的抗原结合域格式化为缺乏结合FcRn的能力的抗体片段(如Fab片段)。这样的修饰可将抗体的循环半衰期从几周降低到几小时。然后可使用抗体片段的聚乙二醇化来微调(增加)抗体片段的半衰期(如果需要的话)。Chapman等(1999) Nat.Biotechnol.17:780。抗体片段也可与人血清白蛋白融合,例如在融合蛋白构建体中,以增加半衰期。Yeh等(1992) Proc. Nat'l Acad.Sci.89:1904。或者,可用本发明的第一抗原结合域和与人血清白蛋白(HSA)结合的第二抗原结合域构建双特异性抗体。参见国际专利申请公开 WO 2009/127691和其中引用的专利参考文献。或者,可将专门的多肽序列添加到抗体片段以增加半衰期,例如“XTEN”多肽序列。Schellenberger等(2009) Nat.Biotechnol.27:1186;国际专利申请公开WO 2010/091122。

[0303] 稳定性

[0304] 通过D221G和K222S修饰可消除IgG1构建体的铰链中潜在的蛋白酶切割位点,增加抗体的稳定性。WO 2014/043344。

[0305] 在一些实施方案中,本申请所述的抗体不含天冬酰胺异构位点。天冬酰胺的脱酰胺可能发生在N-G或D-G序列上,并可导致产生异天冬氨酸残基,其可将扭结(kink)引入多肽链中并可降低其稳定性(异天冬氨酸效应)。

[0306] 每个抗体会具有独特的等电点(pI),其通常落入6-9.5的pH范围。IgG1抗体的pI通常落入7-9.5的pH范围内,且IgG4抗体的pI通常落入6-8的pH范围内。有这样猜测,在体内条件下,具有超出正常范围的pI的抗体可具有一些解折叠和不稳定性。因此,优选的是具有含有落在正常范围的pI值的抗体。这可通过选择具有正常范围的pI的抗体或通过突变带电荷的表面残基来实现。

[0307] 每个抗体会具有特征的熔化温度,而较高的熔融温度指示更大的体内总体稳定性(Krishnamurthy R和Manning M C(2002) Curr Pharm Biotechnol 3:361-71)。通常,优选的是 T_{m1} (初始解折叠的温度)大于60℃,优选大于65℃,甚至更优选大于70℃。抗体的熔点可使用差示扫描量热法(Chen等(2003) Pharm Res 20:1952-60;Ghirlando等(1999) Immunol Lett 68:47-52)或圆二色性(Murray等(2002) J.Chromatogr Sci 40:343-9)测量。

[0308] 在一个优选的实施方案中,选择不快速降解的抗体。抗体的降解可使用毛细管电泳(CE)和MALDI-MS(Alexander A J和Hughes D E(1995) Anal Chem 67:3626-32) 测量。

[0309] 当使用IgG4恒定域时,通常优选的是包括取代S228P,其模拟IgG1中的铰链序列并由此稳定IgG4分子,例如降低正在治疗的患者中治疗性抗体与内源性IgG4之间的Fab-臂交换。Labrijn等(2009) Nat.Biotechnol.27:767; Reddy等(2000) J.Immunol.164:1925。类似地,在含有IgG2铰链的抗体中, C219S和/或C220S突变使包含IgG2铰链的抗体稳定化。

[0310] 聚集

[0311] 在另一个优选的实施方案中,选择具有最小聚集效应的抗体,其可导致触发不想要的免疫反应和/或改变的或不利的药代动力学性质。通常,具有 25%或更少,优选20%或更少,甚至更优选15%或更少,甚至更优选10%或更少,和甚至更优选5%或更少的聚集的抗体是可接受的。聚集可通过几种技术测量,包括大小排阻柱(SEC)、高效液相色谱(HPLC)和光散射。

[0312] V. 非-抗体蛋白和抗体衍生物

[0313] 本申请所述的发明也可应用于不是全长抗体的分子,条件是它们包含铰链。例如,可制得具有增强的生物活性的IgG融合蛋白。因此,本申请提供的是包含活性部分的融合蛋白,所述活性部分连接(例如共价连接)于IgG恒定区,例如Fc区,其包含IgG2铰链和任选的CH2和CH3域或其部分。Fc 可为本申请所述的修饰的重链恒定区的任何Fc,如表5和6中所示的修饰的重链恒定区的Fc部分。

[0314] 本申请所述的抗体也可用于形成双特异性分子。抗体或其抗原结合部分可被衍生化或连接于另外的功能性分子,例如另外的肽或蛋白质(例如,另外的抗体或受体的配体)以产生结合至少两个不同的结合位点或目标分子的双特异性分子。本申请所述的抗体可被衍生化或连接于多于一个其它功能性分子以产生结合多于两个不同的结合位点和/或靶分子的多特异性分子;这样的多特异性分子也意欲被如本申请使用的术语“双特异性分子”涵盖。为了产生双特异性分子,本申请所述的抗体可功能性连接(例如,通过化学偶联,遗传融合,非共价缔合或其它方式)于一个或多个其他结合分子(如另外的抗体、抗体片段,肽或结合模拟物),从而产生双特异性分子。

[0315] VI. 组合物

[0316] 还提供的是组合物,例如,药物组合物,其含有与药学上可接受的载体一起配制的本申请所述的一种抗体或其抗原结合部分,或者抗体或其抗原结合部分的组合。这样的组合物可包括本申请所述的一种抗体或抗体(例如,两个或多个不同的)组合或免疫缀合物或双特异性分子。例如,本申请所述的药物组合物可包含结合靶抗原上的不同表位或具有互补活性的抗体的组合(或免疫缀合物或双特异性分子)。

[0317] 在一些实施方案中,组合物以至少1mg/ml,5mg/ml,10mg/ml,50mg/ml, 100mg/ml, 150mg/ml,200mg/ml,1-300mg/ml或100-300mg/ml的浓度包含本申请所述的抗体。

[0318] 本申请所述的药物组合物也可以组合治疗施用,即与其它药剂组合。例如,组合治疗可包括本申请所述的抗体与至少一种其它抗癌剂和/或T细胞刺激(例如,活化)剂组合。可在组合治疗中使用的治疗剂的实例在下文关于本申请所述的抗体的用途部分中更详细地描述。

[0319] 在一些实施方案中,本申请公开的治疗组合物可包括用于治疗癌症的其它化合

物、药物和/或药剂。这些化合物、药物和/或药剂可包括例如化疗药物、小分子药物或刺激对于给定癌症的免疫反应的抗体。在一些情况下,治疗组合物可包括例如下列的一种或多种:抗CTLA-4抗体,抗PD-1抗体,抗PDL-1 抗体,抗OX40 (也称为CD134, TNFRSF4, ACT35和/或TXGP1L) 抗体,或抗 LAG-3抗体。

[0320] 如本申请使用的“药学上可接受的载体”包括生理上相容的任何和所有溶剂、分散介质、涂层、抗细菌和抗真菌剂、等渗和吸收延迟剂等。优选地,载体适合于静脉内、肌内、皮下、肠胃外、脊髓或表皮施用(例如通过注射或输注)。取决于给药途径,可将活性化合物(即抗体、免疫缀合物或双特异性分子)涂覆在材料中以保护化合物免受可使化合物失活的酸和其它天然条件的作用。

[0321] 本申请所述的药物化合物可包括一种或多种药学上可接受的盐。“药学上可接受的盐”指保留亲本化合物的所需生物活性,且不会给予任何不期望的毒理作用的盐(参见,例如Berge, S.M., 等(1977) J. Pharm. Sci. 66:1-19)。这些盐的实例包括酸加成盐和碱加成盐。酸加成盐包括衍生自无毒的无机酸(如盐酸、硝酸、磷酸、硫酸、氢溴酸、氢碘酸、亚磷酸等)以及衍生自无毒的有机酸(如脂族单和二羧酸,苯基取代的链烷酸,羟基链烷酸,芳族酸,脂族和芳族磺酸等)的那些。碱加成盐包括衍生自碱土金属(如钠,钾,镁,钙等),以及衍生自无毒的有机胺(如N,N'-二苄基乙二胺,N-甲基葡萄糖胺,氯普鲁卡因,胆碱,二乙醇胺,乙二胺,普鲁卡因等)的那些。

[0322] 本申请所述的药物组合物还可包括药学上可接受的抗氧化剂。药学上可接受的抗氧化剂的实例包括:(1)水溶性抗氧化剂,如抗坏血酸,半胱氨酸盐酸盐,硫酸氢钠,偏亚硫酸氢钠,亚硫酸钠等;(2)油溶性抗氧化剂,如抗坏血酸棕榈酸酯,丁基化羟基苯甲醚(BHA),丁基化羟基甲苯(BHT),卵磷脂,没食子酸丙酯, α -生育酚等;和(3)金属螯合剂,如柠檬酸,乙二胺四乙酸(EDTA),山梨醇,酒石酸,磷酸等。

[0323] 可用于本申请所述药物组合物中的合适的水性和非水性载体的实例包括水,乙醇,多元醇(如甘油,丙二醇,聚乙二醇等)及其合适的混合物,植物油如橄榄油和可注射有机酯,如油酸乙酯。可保持适当的流动性,例如,通过使用涂覆材料,如卵磷脂,通过在分散体的情况下维持所需的粒度,以及通过使用表面活性剂。

[0324] 这些组合物还可含有佐剂如防腐剂,润湿剂,乳化剂和分散剂。可通过灭菌方法(同上)和通过包括各种抗细菌和抗真菌剂(例如对羟基苯甲酸酯,氯丁醇,苯酚山梨酸等)来确保防止微生物的存在。还可为合意的是将等渗剂如糖,氯化钠等包括在组合物中。此外,可通过包含延迟吸收的作用剂(如单硬脂酸铝和明胶)进行可注射药物形式的延长吸收。

[0325] 药学上可接受的载体包括无菌水溶液或分散体和用于临时制备无菌注射溶液或分散体的无菌粉末。使用所述介质和药剂用于药物活性物质是本领域已知的。除了与活性化合物不相容的任何常规介质或药剂范围之外,涵盖其在本申请所述的药物组合物中的用途。补充的活性化合物也可并入组合物中。

[0326] 治疗组合物通常在制造和储存条件下必须是无菌的和稳定的。该组合物可配制成为适合于高药物浓度的溶液,微乳液,脂质体或其它有序结构。载体可为含有例如水,乙醇,多元醇(例如甘油,丙二醇和液体聚乙二醇等)的溶剂或分散介质及其合适的混合物。可保持适当的流动性,例如,通过使用涂层如卵磷脂,通过在分散体的情况下维持所需的粒度和通

过使用表面活性剂。在许多情况下,优选的是在组合物中包括等渗剂,例如糖,多元醇如甘露醇,山梨醇或氯化钠。可通过在组合物中包含延迟吸收的作用剂,例如单硬脂酸盐和明胶来进行可注射组合物的延长吸收。

[0327] 无菌可注射溶液可通过将所需量的活性化合物在适当的溶剂中并入所需的上述一种成分或成分的组合,然后进行灭菌微滤来制备。通常,通过将活性化合物并入含有碱性分散介质的无菌载体和来自上述那些的所需的其它成分来制备分散体。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下,优选的制备方法是真空干燥和冷冻干燥(冻干),其从先前无菌过滤的溶液中产生活性成分加上任何额外的所需成分的粉末。

[0328] 可与载体材料组合以产生单一剂型的活性成分的量将根据所治疗的受试者和具体的给药模式而变化。可与载体材料组合以产生单一剂型的活性成分的量通常是产生治疗效果的组合物的量。一般地,以百分之一百计,此量会在约0.01%至约99%的活性成分,优选约0.1%至约70%,最优选约1%至约30%的活性成分的范围与药学上可接受的载体组合。

[0329] 调整剂量方案以提供最佳期望的反应(例如,治疗反应)。例如,可施用单次推注,可随时时间施用几个分开的剂量,或者可如通过治疗情况的紧急程度指示的按比例减少或增加剂量。特别有利的是以剂量单位形式配制肠胃外组合物以便于施用和剂量均匀。如本申请使用的,剂量单位形式指合适作为待治疗的受试者的单位剂量的物理上离散的单位;每个单位含有预定量的活性化合物,其经计算以产生与所需药物载体相关联的所需治疗效果。本申请所述的剂量单位形式的规格(specification)由如下决定且直接依赖于:(a) 活性化合物的独特特征和待实现的特定治疗效果,和(b) 复合这种活性化合物用于治疗个体的敏感性的本领域中固有限制。

[0330] 对于抗体的施用,剂量范围为宿主体重的约0.0001至100mg/kg,更通常为0.01至5mg/kg。例如,剂量可为0.3mg/kg体重,1mg/kg体重,3mg/kg 体重,5mg/kg体重或10mg/kg体重或在1-10mg/kg的范围内。一个例示的治疗方案是每周施用一次,每两周一次,每三周一次,每四周一次,每月一次,每三个月一次,或每三至六个月一次。本申请所述的抗体的优选剂量方案包括经由静脉内施用的1mg/kg体重或3mg/kg体重,其中使用以下给药方案之一给予抗体:(i) 每四周进行6次剂量,然后每三个月;(ii) 每三周;(iii) 每三周3mg/kg体重一次,然后为1mg/kg体重。

[0331] 在一些方法中,同时施用具有不同结合特异性的两种或更多种单克隆抗体,在这种情况下,所施用的每种抗体的剂量落在所指示的范围内。抗体通常多次施用。单剂量之间的间隔可例如每周,每月,每三个月或每年(一次)。间隔也可不规则的,如通过测量患者中抗体对靶抗原的血液水平所指示的。在一些方法中,调整剂量以实现约1-1000 μ g/ml,并且在一些方法中约25-300 μ g/ml的血浆抗体浓度。

[0332] 抗体可作为持续释放制剂施用,在这种情况下需要较不频繁的施用。剂量和频率取决于患者中抗体的半衰期。一般来说,人抗体显示最长的半衰期,其次是人源化的抗体、嵌合抗体和非人抗体。施用的剂量和频率可根据处理是预防性还是治疗性而变化。在预防性应用中,相对低的剂量在较长时间内以相对不频繁的间隔施用。一些病人在他们的余生中继续接受治疗。在治疗应用中,有时需要在相对短的间隔、相对高的剂量,直到疾病的进展减少或终止,并且优选直到患者显示疾病症状的部分或完全改善。此后,可对患者施用预

防性方案。

[0333] 本申请所述的药物组合物中的活性成分的实际剂量水平可变化,从而获得活性成分的量,其对于特定患者、组合物和施用方式达到期望的治疗反应是有效的,而对患者没有毒性。所选择的剂量水平会取决于多种药代动力学因素,包括采用的本申请所述的特定组合物或其酯,盐或酰胺的活性,施用途径,施用时间,采用的特定化合物的排泄速率,治疗的持续时间,其他药物,与所采用的特定组合物组合使用的化合物和/或材料,被治疗患者的年龄,性别,体重,状况,一般健康情况和先前病史,以及在医药领域已知的类似因素。

[0334] 本申请所述的抗体的“治疗有效剂量”优选地导致疾病症状的严重性的降低,疾病无症状期的频率和持续时间的增加,或防止由于疾病痛苦所致的受损或失能。在癌症的上下文中,治疗有效剂量优选防止与癌症相关的身体症状的进一步恶化。癌症的症状在本领域中是已知的,并包括例如不寻常的痣特征,痣的外观变化(包括不对称,边界,颜色和/或直径),新着色的皮肤区域,异常痣,指甲下面的区域变暗,乳房肿块,乳头变化,乳房囊肿,乳房疼痛,死亡,体重减轻,虚弱,过度疲劳,饮食困难,食欲不振,慢性咳嗽,气喘恶化,咳血,尿血,便血,恶心,呕吐,肝转移,肺转移,骨转移,腹部丰满,气胀,腹腔液,阴道出血,便秘,腹胀,结肠穿孔,急性腹膜炎(感染,发热,疼痛),疼痛,吐血,大量出汗,发热,高血压,贫血,腹泻,黄疸,眩晕,寒战,肌肉痉挛,结肠转移,肺转移,膀胱转移,肝转移,骨转移,肾转移和胰腺转移,吞咽困难等等。

[0335] 治疗有效剂量可预防或延缓癌症的发作,如当存在疾病的早期或初期迹象时可为合意的。用于癌症诊断的实验室测试包括化学,血液学,血清学和放射学。因此,监测任何前述内容的任何临床或生物化学测定可用于确定特定治疗是否是治疗癌症的治疗有效剂量。本领域普通技术人员能够基于因素如受试者的尺寸,受试者症状的严重性以及所选择的特定组合物或施用途径来确定这些量。

[0336] 本申请描述的组合物可经由一个或多个施用途径使用本领域已知的多种方法中的一个或多个来施用。如本领域技术人员可理解的,施用的途径和/或模式将取决于期望的结果而变化。本申请所述抗体的优选施用途径包括静脉内,肌肉内,皮内,腹膜内,皮下,脊髓或其它肠胃外施用途径,例如通过注射或输注。如本申请使用的,术语“肠胃外施用”意指除肠和局部施用以外的施用方式,通常通过注射,并包括但不限于静脉内,肌内,动脉内,鞘内,囊内,眶内,心内,皮内,腹膜内,经气管,皮下,表皮下,关节内,囊下,蛛网膜下,脊柱内,硬膜外和胸骨内注射和输注。

[0337] 或者,本申请描述的抗体可经由非肠胃外途径,如局部,表皮或粘膜施用途径施用,例如鼻内,口服,阴道,直肠,舌下或局部。

[0338] 活性化合物可用保护化合物免受快速释放的载体制备,如控释制剂,包括植入物、透皮贴剂和微囊化递送系统。可使用可生物降解的生物相容性聚合物,如乙烯乙酸乙烯酯,聚酐,聚乙醇酸,胶原,聚原酸酯和聚乳酸。用于制备这些制剂的许多方法是获得专利的或本领域技术人员通常已知的。参见,例如,Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems,J.R.Robinson 编,Marcel Dekker,Inc.,New York,1978。

[0339] 治疗组合物可用本领域已知的医疗装置施用。例如,在一个优选的实施方案中,本申请所述的治疗组合物可用无针头的皮下注射装置施用,如美国专利号5,399,163;5,383,851;5,312,335;5,064,413;4,941,880;4,790,824或 4,596,556中公开的装置。用于与本

申请所述的抗体一起使用的已知植入物和模块的实例包括：美国专利号4,487,603,其公开了一种用于以受控速率分配药物的可植入微量输注泵；美国专利4,486,194,其公开了一种用于通过皮肤施用药物的治疗装置；美国专利号4,447,233,其公开了一种用于以精确的输注速率递送药物的药物输注泵；美国专利号4,447,224,其公开了一种用于连续药物递送的变速流可植入输注设备；美国专利4,439,196,其公开了一种具有多室隔室的渗透药物递送系统；和美国专利号4,475,196,其公开了一种渗透药物递送系统。这些专利通过提述并入本申请。许多其它这样的植入物,递送系统和模块是本领域技术人员已知的。

[0340] 在一些实施方案中,可配制本申请所述的抗体以确保在体内适当分布。例如,血脑屏障(BBB)排除许多高亲水性化合物。为了确保本申请所述的治疗化合物穿过BBB(如果需要),可将它们例如在脂质体中配制。对于制造脂质体的方法,参见,例如美国专利4,522,811;5,374,548和5,399,331。脂质体可包含一个或多个部分,其被选择性地转运到特定细胞或器官中,从而增强靶向药物递送(参见,例如,V.V.Ranade(1989) J.Clin.Pharmacol.29:685)。例示性靶向部分包括叶酸或生物素(参见,例如,授予Low等的美国专利5,416,016);甘露糖苷(Umezawa等,(1988) Biochem.Biophys.Res.Commun. 153:1038);抗体(P.G.Bloeman等(1995) FEBS Lett.357:140;M.Owais等(1995) Antimicrob.Agents Chemother.39:180);表面活性蛋白A受体(Briscoe等(1995) Am.J.Physiol.1233:134);p120(Schreier等(1994) J.Biol.Chem. 269:9090);另见K.Keinanen;M.L.Laukkanen(1994) FEBS Lett.346:123;J.J. Killion;I.J.Fidler(1994) Immunomethods 4:273。

[0341] VII.用途和方法

[0342] 本申请描述的抗体、抗体组合物和方法具有许多体外和体内功用,涉及例如治疗各种病症,例如癌症。例如,本申请所述的抗体可体外或离体施用于培养物中的细胞,或(例如,体内)施用于人受试者。因此,本申请提供的是治疗受试者的方法,其包括向受试者施用包含修饰的重链恒定区的抗体使得治疗发生。本申请还提供的是修饰受试者中的免疫反应的方法,包括向受试者施用抗体使得受试者中的免疫反应被修饰。优选地,反应被增强、刺激或上调。然而,在其他实施方案中,免疫反应被抑制。

[0343] 优选的受试者包括人患者,其中增强免疫反应会是合意的。该方法特别适合于治疗具有可通过增进免疫反应(例如T细胞介导的免疫反应)而治疗的病症的人患者。在一个具体的实施方案中,该方法特别适合于体内癌症的治疗。在一个实施方案中,该受试者是携带肿瘤的受试者,并且针对肿瘤的免疫反应被刺激。肿瘤可能是实体肿瘤或液体肿瘤,例如血液恶性肿瘤。在一些实施方案中,肿瘤是免疫原性肿瘤。在一些实施方案中,肿瘤是非免疫原性的。在一些实施方案中,肿瘤为PD-L1阳性。在一些实施方案中,肿瘤为PD-L1阴性。受试者也可作为携带病毒的受试者,并且针对病毒的免疫反应被刺激。

[0344] 还提供的是用于抑制受试者中肿瘤细胞生长的方法,包括向受试者施用本申请所述的抗体,使得受试者中肿瘤的生长被抑制。还提供的是治疗受试者中病毒感染的方法,包括向受试者施用本申请所述的抗体,使得病毒感染在受试者中得到治疗。

[0345] 本申请还涵盖的是用于从具有肿瘤的受试者的肿瘤微环境(例如癌性肿瘤)中耗尽Treg细胞的方法,包括向受试者施用治疗有效量的本申请所述的包含在肿瘤微环境中刺激T_{reg}细胞耗尽的Fc的抗体。Fc可例如为具有效应物功能或增强的效应物功能(如结合或具

有增强的结合于一个或多个活化Fc受体)的Fc。

[0346] 在一些实施方案中,包含修饰的重链恒定区的抗体结合刺激性分子并抑制其活性,即为刺激性分子的拮抗剂,或所述抗体结合抑制性分子并刺激其活性,即为抑制性分子的激动剂。这样的抗体可用于治疗免疫系统或免疫反应应被下调的疾病(例如自身免疫性疾病)或防止移植排斥。

[0347] 癌症

[0348] 本申请提供的是治疗患有癌症的受试者的方法,包括对受试者施用本申请所述的抗体,使得受试者得到治疗,例如使得癌性肿瘤的生长被抑制或降低和/或肿瘤消退。例如,抗GITR抗体活化GITR可增强患者中对癌细胞的免疫反应。抗体可单独使用来抑制癌性肿瘤的生长。或者,抗体可与另外的药剂(例如其它免疫原性剂,标准癌症治疗或其他抗体)结合使用,如下所述。

[0349] 使用本申请所述的抗体可以抑制其生长的癌症包括通常对免疫治疗有反应的癌症。用于治疗癌症的非限制性实例包括鳞状细胞癌,小细胞肺癌,非小细胞肺癌,鳞状非小细胞肺癌(NSCLC),非NSCLC,神经胶质瘤,胃肠癌,肾癌(例如透明细胞癌),卵巢癌,肝癌,结肠直肠癌,子宫内膜癌,肾癌(例如肾细胞癌(RCC)),前列腺癌(例如激素难治性前列腺癌),甲状腺癌,成神经细胞瘤,胰腺癌,成胶质细胞瘤(多形性成胶质细胞瘤),宫颈癌,胃癌,膀胱癌,肝癌,乳腺癌,结肠癌和头颈癌(或癌瘤),胃癌,生殖细胞瘤,儿科肉瘤,鼻窦自然杀伤细胞,黑素瘤(例如,转移性恶性黑素瘤,如皮肤或眼内恶性黑素瘤),骨癌,皮肤癌,子宫癌,肛区癌症,睾丸癌,输卵管的癌瘤,子宫内膜的癌瘤,宫颈的癌瘤,阴道的癌瘤,外阴的癌瘤,食道癌,小肠癌,内分泌系统癌,甲状旁腺癌,肾上腺癌,软组织肉瘤,尿道癌,阴茎癌,儿童实体瘤,输尿管癌,肾盂的癌瘤,中枢神经系统(CNS)的赘生物,原发性CNS淋巴瘤,肿瘤血管生成,脊髓轴肿瘤,脑干胶质瘤,垂体腺瘤,卡波西肉瘤,表皮样癌,鳞状细胞癌,T细胞淋巴瘤,环境诱导的癌症包括由石棉诱导的那些,病毒相关癌症(例如人乳头状瘤病毒(HPV)相关肿瘤),血液恶性肿瘤源自两个主要血细胞谱系中的任一个,即骨髓细胞系(其产生粒细胞,红细胞,血小板,巨噬细胞和肥大细胞)或淋巴细胞系(产生B,T,NK和浆细胞),如所有类型的白血病(leukemias),淋巴瘤和骨髓瘤,例如,急性,慢性,淋巴细胞性和/或骨髓性白血病,如急性白血病(ALL),急性骨髓性白血病(AML),慢性淋巴细胞性白血病(CLL)和慢性骨髓性白血病(CML),未分化的AML(M0),成髓细胞白血病(M1),成髓细胞白血病(M2;具有细胞成熟),早幼粒细胞白血病(M3或M3变体[M3V]),骨髓单核细胞白血病(M4或M4变体与嗜酸粒细胞增多症[M4E]),单核细胞白血病(M5),红白血病(M6),巨核细胞白血病(M7),分离的粒细胞肉瘤和绿色瘤;淋巴瘤,如霍奇金氏淋巴瘤(HL),非霍奇金氏淋巴瘤(NHL),B细胞淋巴瘤,T细胞淋巴瘤,淋巴浆细胞样淋巴瘤,单核细胞B细胞淋巴瘤,粘膜相关淋巴组织(MALT)淋巴瘤,间变性(例如,Ki 1+)大细胞淋巴瘤,成人T细胞淋巴瘤/白血病,套细胞淋巴瘤,血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤,血管中心淋巴瘤,肠T细胞淋巴瘤,原发性纵隔B细胞淋巴瘤,前体T成淋巴细胞淋巴瘤,T成淋巴细胞淋巴瘤和淋巴瘤/白血病(T-Lbly/T-ALL),外周T细胞淋巴瘤,成淋巴细胞淋巴瘤,移植后淋巴组织增生性疾病,真组织细胞淋巴瘤,原发性中枢神经系统淋巴瘤,原发性渗液淋巴瘤,成淋巴细胞淋巴瘤(LBL),淋巴样谱系的造血肿瘤,急性成淋巴细胞性白血病,弥漫性大B细胞淋巴瘤,布基特氏淋巴瘤,滤泡淋巴瘤,弥漫性组织细胞淋巴瘤(DHL),免疫母细胞性大细胞淋巴瘤,前体B成淋巴细胞淋巴瘤,皮肤

T细胞淋巴瘤 (CTLC) (也称为蕈样肉芽肿病或Sezary 综合征) 和淋巴浆细胞样淋巴瘤 (LPL) 及瓦尔登斯特伦氏巨球蛋白血症 (Waldenstrom's macroglobulinemia); 骨髓瘤, 如IgG骨髓瘤, 轻链骨髓瘤, 非分泌性骨髓瘤, 郁积型骨髓瘤 (也称无痛性骨髓瘤), 孤立性浆细胞瘤和多发性骨髓瘤, 慢性淋巴细胞白血病 (CLL), 毛细胞淋巴瘤, 髓样谱系的造血肿瘤, 间质起源的肿瘤, 包括纤维肉瘤和横纹肌肉瘤; 精原细胞瘤, 畸胎瘤, 中枢和周围神经的肿瘤, 包括星形细胞瘤, 神经鞘瘤; 间质起源的肿瘤, 包括纤维肉瘤, 横纹肌肉瘤和骨肉瘤; 和其他肿瘤, 包括黑素瘤, 色素性皮肤病, 角化棘皮瘤, 精原细胞瘤, 甲状腺滤泡癌和畸胎瘤, 淋巴样谱系的造血肿瘤, 例如T细胞和B细胞肿瘤, 包括但不限于T细胞病症如T幼淋巴细胞性白血病 (T-PLL), 包括小细胞和脑细胞类型; 大颗粒淋巴细胞白血病 (LGL) 优选T 细胞型的; a/d T-NHL肝脾淋巴瘤; 外周/后胸腺T细胞淋巴瘤 (多形性和免疫母细胞亚型); 血管中心 (鼻) T细胞淋巴瘤; 头或颈部的癌, 肾癌, 直肠癌, 甲状腺癌; 急性髓细胞性淋巴瘤, 以及所述癌症的任何组合。本申请所述的方法还可用于治疗转移性癌症、难治性癌症 (例如, 对先前的免疫治疗难治的癌症, 例如具有阻断CTLA-4或PD-1抗体) 和复发性癌症。

[0350] 组合治疗

[0351] 除了上面提供的治疗之外, 本申请所述的抗体也可与另外的治疗组合使用。例如, 对于癌症治疗, 可将本申请所述的抗体施用于也在接受另外的癌症治疗 (如化疗、放疗、手术或基因治疗) 的受试者。

[0352] 治疗的方法可包括本申请所述的抗体 (例如, 拮抗剂抗体、激动剂抗体和具有修饰的重链恒定区的ADC) 与另外的分子, 例如抗体 (例如, 拮抗剂抗体、激动剂抗体和ADC) 共施用。本申请所述的刺激免疫系统的抗体可与刺激免疫系统的另外的分子一起施用, 例如, 作为共刺激分子的激动剂或抑制性分子的抑制剂的分子。

[0353] 如本申请所述的抗体单独或与一个或多个额外的免疫刺激抗体 (例如, CTLA-4和/或PD-1和/或PD-L1和/或LAG-3阻断) 可与标准癌症治疗组合。例如, 本申请所述的抗体单独或与一个或多个额外的抗体可与化学治疗方案有效地组合。在这些情况下, 可能的是降低与本空开的组合施用的其它化学治疗剂的剂量 (Mokyr等 (1998) Cancer Research 58: 5301-5304)。这种组合的实例是本申请所述的抗体与或不与额外的抗体的组合, 进一步与氨烯咪胺 (decarbazine) 或IL-2组合用于治疗黑素瘤。

[0354] 本申请描述的抗体可与抗肿瘤抗体, 如美罗华(Rituxan)[®] (利妥昔单抗 (rituximab)), 赫赛汀(Herceptin)[®] (曲妥珠单抗 (trastuzumab)), Bexxar[®] (托西莫单抗 (tositumomab)), Zevalin[®] (替伊莫单抗 (ibritumomab)), Campath[®] (阿仑单抗 alemtuzumab), Lymphocide[®] (依帕珠单抗 (epratuzumab)), 阿瓦斯汀(Avastin)[®] (贝伐珠单抗 (bevacizumab)) 和特罗凯(Tarceva)[®] (厄洛替尼 (erlotinib)) 等。本申请所述的抗体也可与以下化疗剂中的一种或多种组合: 喜树碱 (camptothecin) (CPT-11), 5-氟尿嘧啶 (5-FU), 顺铂, 多柔比星, 伊立替康, 紫杉醇, 吉西他滨, 顺铂, 紫杉醇, 卡铂-紫杉醇 (泰素 (Taxol)), 多柔比星, 5-Fu或喜树碱+apo21/TRAIL (6X组合)); 蛋白酶体抑制剂 (例如, 硼替佐米或 MG132); Bcl-2抑制剂 (例如BH3I-2' (bcl-x1抑制剂), 吡啶胺双加氧酶-1 (IDO1) 抑制剂 (例如, INCB24360), AT-101 (R-(-)-棉酚衍生物), ABT-263 (小分子), GX-15-070 (Obatoclax) 或MCL-1 (髓细胞性白血病细胞分化蛋白-1) 拮抗剂), iAP (凋亡蛋白抑制剂)

拮抗剂(例如,smac7,smac4,小分子smac模拟物,合成的smac肽(参见Fulda等,Nat Med 2002;8:808-15),ISIS23722(LY2181308)或AEG-35156(GEM-640)),HDAC(组蛋白脱乙酰酶)抑制剂,抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗),血管发生抑制剂(例如贝伐珠单抗),靶向VEGF和VEGFR的抗血管生成剂(例如阿瓦斯汀),合成的三萜类化合物(参见Hyer等,Cancer Research 2005;65:4799-808),c-FLIP(细胞FLICE抑制蛋白)调节剂(例如,PPAR γ (过氧化物酶体增殖物活化的受体 γ)的天然和合成配体,5809354或5569100),激酶抑制剂(例如,索拉非尼(Sorafenib)),曲妥珠单抗,西妥昔单抗,西罗莫司(Temsirolimus),mTOR抑制剂如雷帕霉素和西罗莫司,硼替佐米,JAK2抑制剂,HSP90抑制剂,PI3K-AKT抑制剂,Lenalidomide,GSK3 β 抑制剂,IAP抑制剂和/或基因毒性药物。

[0355] 本申请所述的抗体和组合抗体治疗可进一步与一种或多种抗增殖性细胞毒性剂组合使用。可用作抗增殖细胞毒性剂的化合物类型包括但不限于以下:

[0356] 烷基化剂(包括但不限于氮芥,亚乙基亚胺衍生物,烷基磺酸盐,亚硝基脲和三氮烯):尿嘧啶氮芥,氯米特林(Chlormethine),环磷酰胺(CYTOXANTM) 磷酰胺,美法仑(Melphalan),苯丁酸氮芥(Chlorambucil),哌泊溴烷(Pipobroman),曲他胺(Triethylenemelamine),三亚乙基硫代磷酰胺(Triethylenethiophosphoramine),白消安(Busulfan),卡莫司汀(Carmustine),洛莫司汀(Lomustine),链佐星(Streptozocin),达卡巴嗪(Dacarbazine)和替莫唑胺(Temozolomide)。

[0357] 抗代谢物(包括但不限于叶酸拮抗剂,嘧啶类似物,嘌呤类似物和腺苷脱氨酶抑制剂):甲氨蝶呤,5-氟尿嘧啶,氟尿苷(Floxuridine),阿糖胞苷(Cytarabine),6-巯基嘌呤(6-Mercaptopurine),6-硫代鸟嘌呤(6-Thioguanine),磷酸氟达拉滨(Fludarabine phosphate),喷司他丁(Pentostatine)和吉西他滨(Gemcitabine)。

[0358] 用于与本申请所述的抗体组合的合适的抗增殖剂不限于紫杉烷类,紫杉醇(紫杉醇可作为TAXOLTM商购获得),多西他赛(docetaxel),discodermolide(DDM),Dictyostatin(丝氨酸蛋白酶抑制剂)(DCT),Peloruside A,埃坡霉素(epothilones),埃坡霉素A,埃坡霉素B,埃博霉素C,埃坡霉素D,埃坡霉素E,埃坡霉素F,呋喃埃坡霉素D(furanoepothilone D),脱氧埃坡霉素B1(desoxyepothilone B1),[17]脱氢脱氧埃坡霉素B([17]-dehydrodesoxyepothilone B),[18]脱氢脱氧埃坡霉素B([18]dehydrodesoxyepothilones B),C12,13-环丙基-埃坡霉素A,C6-C8桥连埃坡霉素A,反-9,10-脱氢埃坡霉素D,顺-9,10-脱氢埃坡霉素D,16-脱甲基埃坡霉素B,埃坡霉素B10,Discardololide,帕土匹龙(patupilone)(EP0-906),KOS-862,KOS-1584,ZK-EP0,ABJ-789,

[0359] XAA296A(Discodermolide),TZZ-1027(Soblidotin),ILX-651(盐酸Tasidotin),软海绵素B(Halichondrin B),甲磺酸艾日布林(Eribulin mesylate)(E-7389),

[0360] Hemistaster(HTI-286),E-7974,Cryptophycins,LY-355703,美登木素类免疫缀合物(Maytansinoid immunoconjugates)(DM-1),MKC-1,ABT-751,T1-38067,T-900607,SB-715992(伊斯平斯(ispinesib)),SB-743921,MK-0731,STA-5312,艾榴塞洛素(eleutherobin),17 β -乙酰氧基-2-乙氧基-6-氧代-B-高-雌-1,3,5(10)-三烯-3-醇(17beta-acetoxy-2-ethoxy-6-oxo-B-homo-estra-1,3,5(10)-trien-3-ol),环链霉菌素(cyclostreptin),Isolaulimalide,Laulimalide,4-表-7-脱羟基-14,16-二去甲基-(+)-圆皮海绵内酯(4-epi-7-dehydroxy-14,16-didemethyl-(+)-discodermolides)和

Cryptothilone 1,除了本领域已知的其它微管稳定剂之外。

[0361] 组合治疗可以同时或顺序施用。在一些实例中,组合是固定剂量组合。

[0362] 在用本申请所述的抗体处理之前或与之组合使异常增殖细胞静止为合意的情况中,激素和类固醇(包括合成类似物),如17a-炔雌醇(17a-Ethinylestradiol),己烯雌酚(Diethylstilbestrol),睾酮(Testosterone),泼尼松(Prednisone),氟甲睾酮(Fluoxymesterone),丙酸屈他雄酮(Dromostanolone propionate),睾内酯(Testolactone),乙酸甲地孕酮(Megestrolacetate),甲泼尼龙(Methylprednisolone),甲睾酮(Methyl-testosterone),泼尼松龙(Prednisolone),曲安西龙(Triamcinolone),氯烯雌醚(Chlorotrianisene),羟孕酮(Hydroxy progesterone),氨鲁米特(Aminoglutethimide),雌莫司汀(Estramustine),醋酸甲羟孕酮(Medroxyprogesteroneacetate),亮丙瑞林(Leuprolide),氟他胺(Flutamide),托瑞米芬(Toremifene),ZOLADEX™也可施用于患者。当采用本申请所述的方法或组合物时,也可根据需要施用用于调节临床环境中的肿瘤生长或转移的其它药剂,如抗模拟物(antimimetics)。

[0363] 用于安全和有效施用化学治疗剂的方法是本领域技术人员已知的。此外,它们的施用在标准文献中描述。例如,许多化学治疗剂的施用描述于医师案头参考(Physicians' s Desk Reference)(PDR),例如1996版(Medical Economics Company, Montvale, N.J.07645-1742,USA);其公开内容通过对其提述并入本文。

[0364] 化学治疗剂和/或放射治疗可根据本领域已知的治疗方案施用。对于本领域技术人员明显的是,化疗剂和/或放射治疗的施用可根据所治疗的疾病和化治剂和/或放射治疗对该疾病的已知作用而变化。而且,根据熟练临床医生的知识,考虑到所施用的治疗剂对患者的观察到的作用,并考虑到疾病对施用的治疗剂的观察到的反应,可改变治疗方案(例如,剂量和施用的次数)。

[0365] 本公开内容通过以下实施例进一步说明,所述实施例不应被理解为进一步限制。所有附图和所有参考文献,Genbank序列,遍及本申请中引用的专利和公开的专利申请的内容通过提述明确地并入本文。特别地,PCT公开 WO 09/045957,W0 09/073533,W0 09/073546,W0 09/054863和 PCT/US2013/072918以及美国专利公开号2011/0150892的公开内容通过提述明确地并入本文。

实施例

[0366] 实施例1:相对于具有非IgG2铰链的相同抗体,具有IgG2铰链的抗CD73 抗体的增强的内化

[0367] 已观察到源自杂交瘤的抗-CD73抗体11F11(其具有IgG2恒定区)在细胞的CD73抑制测定法比作为IgG1或IgG1.1(无效应物的IgG1)的11F11抗体更有力,而且比具有IgG1恒定区的其他抗CD73抗体更有力。至少基于此观察,假设具有IgG2铰链的抗CD73抗体相对于具有非IgG2铰链(如IgG1铰链)的那些增加的抑制活性是由于抗体的增加的内化。为了测试这一假设,在内化测定中测试了具有IgG1或IgG2恒定区或其部分的抗CD73抗体。

[0368] 使用的抗体列于表7,其提供每个抗体的恒定区(全为人)的每个域的身份,包括特定的突变(如果存在的话)。

[0369] 表7

[0370]

抗体的 名称	VH	CH1	铰链	CH2	CH3	HC SEQ ID NO ¹	LC SEQ ID NO ²
-----------	----	-----	----	-----	-----	------------------------------	------------------------------

[0371]

11F11	11F11	IgG2	IgG2	IgG2	IgG2	44	72
4C3	4C3	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	45	73
6D11	6D11	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	46	74
CD73.10-IgG2-C219S	CD73.10	IgG2	IgG2 (C219S)	IgG2	IgG2	47	72
CD73.10-IgG2-C219S-IgG1.1	CD73.10	IgG2	IgG2 (C219S)	IgG1.1 (A330S/ P331S)	IgG2	48	72
CD73.10-IgG1.1	CD73.10	IgG1.1	IgG1.1 (L234A/ L235E/ G237A)	IgG1.1 (A330S/ P331S)	IgG1.1	49	72
CD73.4-IgG2-C219S	CD73.10	IgG2	IgG2 (C219S)	IgG2	IgG2	50	72
CD73.3-IgG1.1	CD73.3	IgG1.1	IgG1.1 (L234A/ L235E/ G237A)	IgG1.1 (A330S/ P331S)	IgG1.1	51	73

[0372] ¹全长重链的SEQ ID NO[0373] ²全长轻链的SEQ ID NO

[0374] 通过在HEK293-6E细胞中表达重和轻链来制得抗体,并在转染后5天收获培养基。

[0375] 测量构建体与Fc γ Rs的结合。IgG1.1和IgG2分子的hCD64和hCD32a-H131 结合数据与不同Fc的预期值一致。IgG1.1f是最惰性的Fc。IgG2和IgG2-C219S 显示IgG2的典型FcR结合。如所预期的,IgG2-C219S-G1.1f的数据表明比野生型IgG1或IgG2显著弱的结合,但与IgG1.1f相比增加的结合。

[0376] 测量抗体对人CD73的亲合力以确定恒定区的变化是否影响它们。亲合力由表面等离子体共振 (SPR) 确定如下。使用Biacore T100仪器 (GE Healthcare) 在25℃通过表面等离子体共振 (SPR) 研究了CD73结合动力学和亲合力。此实验测试了hCD73的N末端域 (由人CD73的残基26-36组成 (称为N-hCD73)) 对于在固定化蛋白A表面上捕获的抗体的结合。对于这些实验,使用标准的乙基 (二甲基氨基丙基) 碳二亚胺 (EDC) /N-羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 化学,用乙醇胺封闭,在0.01M HEPES pH 7.4,0.15M NaCl,3mM EDTA,0.005% v/v吐温20的运行缓冲液中,将蛋白A (Pierce) 固定化至CM5传感器芯片 (GE Healthcare) 的流通池1-4上3000-4000RU的密度。动力学实验通过使用30秒的接触时间以10ul/min,结合600,200,66.7,22.2,7.4和2.5nM N-hCD73-his,使用180 秒的缔合时间和360秒的解离时间以30ul/min的流速首先将抗体 (5-10ug/ml) 捕获于蛋白A表面。用于动力学实验的运行缓冲液是10mM磷酸钠,130mM 氯化钠,0.05%吐温20,pH7.1。在每个循环后,以30ul/min的流速,使用10mM 甘氨酸pH 1.5的两个30秒脉冲再生表面。传感图 (Sensogram) 数据被双引用,然后使

用Biacore T100评估软件v2.0.4拟合到1:1朗缪尔 (Langmuir) 模型,以确定缔合速率常数 (k_a),解离速率常数 (k_d) 和平衡解离常数 (K_D)。

[0377] 结果示于表8中。该表编辑来自不同实验的数据。对于显示两组数字的抗体,每组对应于在单独实验中获得的数据。

[0378] 表8

[0379]

单抗	Fc	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (nM)
11F11	IgG2	2.6E+05	4.2E-04	1.6
		2.9E+05	1.6E-04	0.56
4C3	IgG1	2.2E+04	2.4E-03	110
		2.4E+04	2.2E-03	92
6E11	IgG1	5.7E+04	1.4E-03	25
CD73.10	IgG1.1	2.7E+05	1.3E-03	4.7
CD73.10	IgG2-C219S	2.2E+05	1.4E-03	6.2
		2.2E+05	1.8E-03	8.3
CD73.10	IgG2-C219S-IgG1.1	2.4E+05	1.4E-03	5.7
		2.3E+05	1.60E-03	6.8
CD73.4	IgG2-C219S	2.9E+05	1.6E-04	0.55
		2.8E+05	3.3E-04	1.2
		2.9E+05	3.7E-04	1.3
CD73.3	IgG1.1	1.6E+04	3.6E-03	220

[0380] 结果指示,抗体(例如CD73.10)中不同恒定区的存在并没有改变抗体对人 CD73的亲合力。

[0381] 在两种不同的测定法中测量抗CD73抗体的内化。

[0382] A. 高含量内化测定法(2小时固定时间测定法)

[0383] 将抗CD73抗体用于通过在抗体温育2小时后评估细胞表达来测试Calu6 细胞中抗CD73抗体依赖性CD73内化。将20 μ l完全培养基(具有10%热灭活的胎牛血清的Gibco RPMI培养基1640)中的细胞(2,000个细胞/孔)铺在384BD Falcon板中,并在37°C 5%CO₂和95%湿度生长过夜。用含有0.2%BSA的 PBS缓冲液连续稀释抗CD73抗体,并将5 μ l/孔加入细胞板。将细胞与抗体在 37°C 5%CO₂和95%湿度温育2小时,然后用PBS缓冲液洗涤一次。然后将甲醛(PBS中最终4%)以20 μ l/孔加入细胞板中,并将板在室温温育10分钟。之后,抽吸所有液体,并用30 μ l PBS洗涤细胞一次。将检测抗体(2.5 μ g/孔的抗 CD73抗体 CD73.10.IgG2C219S)以15 μ g/孔加入到固定的细胞板中。细胞在4°C温育过夜。第二天,将板用PBS缓冲液洗涤两次,然后加入含有Alexa-488山羊抗人的二次抗体和DAPI,在室温染色1小时。在PBS缓冲液中洗涤3次后,将板在Arrayscan Vti (Cellomics,Pittsburgh,PA)上成像。测量IC₅₀和Ymax。通过与100nM剂量的11F11作为内部最大值进行比较来确定Ymax。所有的计算(值)确定为与该对照(其设定为100%)相比的内化百分数。

[0384] 结果提供于表9中。

[0385] 表9

[0386]

单抗	恒定区	表位划分	EC50 (nM)	Ymax
----	-----	------	-----------	------

11F11	IgG2	1	0.58	98
4D4	IgG2	1	0.38	104
10D2	IgG1	1	ND	29
24H2	IgG1	1	8.2	51
7A11	IgG1	1	2.59	50
CD73.4	IgG2-C219S-IgG1.1	1	1.2	97
CD73.10	IgG1.1	1	6.18	64
CD73.10	IgG2-C219S	1	0.67	99
CD73.10	IgG2-C219S-IgG1.1	1	0.87	99

[0387] ND=没有检测到

[0388] NA=不适用

[0389] 结果显示具有IgG2铰链的抗CD73抗体具有较低的EC50和较高的Y_{max}。

[0390] 进行动力学内化研究以评估内化率。测试几种细胞系:H2228细胞, HCC15细胞, Calu6细胞和NCI-H2030。将20μl完全培养基(具有10%热灭活的胎牛血清的Gibco RPMI培养基1640)中的细胞(2,000个细胞/孔)铺在384 BD Falcon板中,并在37℃5%CO₂和95%湿度生长过夜。将CD73抗体用含有0.2%BSA的PBS缓冲液稀释至10μg/ml,并将5μl/孔加入细胞板。将细胞与抗体在37℃温育0-2小时时程,然后用PBS缓冲液洗涤一次。随后将细胞用甲醛(PBS中最终4%)在室温固定10分钟,然后用30μl PBS洗涤一次。用含有0.2%BSA的PBS缓冲液稀释检测抗体(2.5μg/孔抗CD73抗体 CD73.10IgG2C219S),并将15μl/孔加入到固定的细胞板中。将板在4℃温育过夜。第二天,在PBS缓冲液中3次洗涤后,加入二次抗体Alexa488-山羊抗人及DAPI。细胞在室温染色60分钟,3次洗涤后,使用Arrayscan Vti (Cellomics,Pittsburgh,PA)获得图像。结果提供于图1A-J和表10和11中。表 10中的值源自图1A-J所示的数据。

[0391] 表10

细胞系	11F11(IgG2) T _{1/2} (分钟)	6E11(IgG1) T _{1/2} (分钟)	CD73.10.IgG1.1f T _{1/2} (分钟)
Calu6	3.9	60.9	14.4
HCC44	3.3	27.9	23.5
H2030	3.3	40.3	18.3
H647	45.7	N/A	N/A
H2228	10.9	36.5	35.7
HCC15	2.2	84.4	37.9
SKLU1	6.8	18.0	17.2
SKMES1	2.2	62.8	32.3
SW900	10.3	94.9	43.4

[0393] 表11:4个人细胞系中CD73抗体的T_{1/2}和%内化

[0394]

	H228 细胞		HCC15 细胞		Calu6 细胞		H2030 细胞	
	T _{1/2} 分钟	%内化	T _{1/2} 分钟	%内化	T _{1/2} 分钟	%内化	T _{1/2} 分钟	%内化
CD73.11-IgG2CS	-	-	-	-	4.1	89	4.6	85
CD73.10-IgG2CS	9.7	93	2.6	91	3.0	91	3.3	85
CD73.10-IgG2CS-IgG1.1f	9.4	92	3.0	91	3.1	91	4.3	87
CD73.4-IgG2CS	13.8	94	3.1	94	6.5	88	3.7	89
CD73.10-IgG1.1f	35.7	33	37.9	71	14.4	63	18.3	67
CD73.3-IgG1.1f	16.5	-47	>240	38	111.4	79	>120	27
11F11	10.9	96	2.2	94	3.9	87	3.3	90
4C3	7.6	-48	141.5	28	0.6	-6	>120	-34
6E11	36.5	13	84.4	64	107.4	68	40.32	51

[0395] 结果指示,11F11 (IgG2抗体)在几分钟内内化,在30分钟内达到平台,而6E11 (IgG1抗体)内化更慢,在约1小时达到平台(图1A-J)。类似地,具有 IgG1恒定区的11F11内化比具有IgG2恒定区的11F11更慢。在几种细胞系中观察到这种趋势(表10和11以及图1A-J)。

[0396] B.通过流式细胞术测量的内化

[0397] 还通过流式细胞术测试了抗CD73抗体介导的CD73的内化。将指示的细胞与10μg/mL的指示的抗体在冰上温育30分钟,洗涤数次,并转移至37℃持续指示的时间。在指示的温育时间后同时收获细胞。细胞再次用原代抗体染色(用于初始温育的相同抗体),然后是抗人二次抗体。然后通过流式细胞术测定细胞的CD73表达。

[0398] 图1E和表11中显示的结果与上述内化测定中获得那些一致,并指示所有具有IgG2铰链和CH1的抗体均诱导快速而完全的内化。洗脱后22小时后,CD73水平保持在低水平,指示内化是耐久的。

[0399] 在NCI-H292细胞系中获得了图1F和表11中显示的相似结果,其中在培养时间过程中抗体维持在培养物中(无洗出)。再次,这些数据指示快速和显著的内化和维持内源性CD73的下调。

[0400] 还用SNU-C1(结肠癌细胞系)和NCI-H1437(非小细胞肺癌细胞系)细胞进行内化测定。图1I和J中显示的结果也指示在5小时内达到最大水平的快速内化,和在SNU-1中对于CD73.4.IgG2-C219S-IgG1.1f约50%的最大内化水平和对于NCI-H1437细胞为60%。图1G和H显示在Calu6和NCI-H292细胞中CD73.4.IgG2-C219S-IgG1.1f的内化的相似动力学。对于显示内化的CD73的%的图表,此数字如下获得:

$$[0401] \quad \% \text{内化的 } CD73 = 100 - \left(\frac{MFI_{t=x} - MFI_{\text{背景}}}{MFI_{t=0} - MFI_{\text{背景}}} \times 100 \right)$$

[0402] 其中对于每个抗体,MFI_{t=x}为在给定时间点的MFI和MFI_{t=0}为在t=0的最大荧光,

和MFI_{背景}是仅二次抗体的MFI。

[0403] 表12:几个细胞系中抗体介导的CD73内化的EC₅₀ (数据来自图1G-I)

	Calu6		NCI-H292		SNU-C1		SNU-C1 (无洗涤)		NCI-H1437		NCI-H1437 (无洗涤)	
	Ymax (%)	T _{1/2} (小时)	Ymax (%)	T _{1/2} (小时)	Ymax (%)	T _{1/2} (小时)	Ymax (%)	T _{1/2} (小时)	Ymax (%)	T _{1/2} (小时)	Ymax (%)	T _{1/2} (小时)
mAb-CD73. 4-IgG2-IgG	76.8	0.5661	77.64	0.2633	48.96	0.4954	38.39	1.025	63.12	0.3164	62.78	0.3418

	1.1f											
	Ymax (%)	T _{1/2} (小时)	Ymax (%)	T _{1/2} (小时)	Ymax (%)	T _{1/2} (小时)	Ymax (%)	T _{1/2} (小时)	Ymax (%)	T _{1/2} (小时)	Ymax (%)	T _{1/2} (小时)
mAb-CD73. 4-IgG2	75.59	0.6003	78.42	0.2766	-	-	-	-	-	-	-	-
mAb-CD73. 4-IgG1.1f	44.99	1.737	51.49	0.2087	30.58	0.9915	33.16	2.33	49.76	0.4915	49.95	0.5384

[0406] 因此,具有IgG2铰链的抗CD73抗体相对于具有IgG1铰链的抗CD73 抗体更快地内化并且内化至更大的程度。

[0407] 实施例2:具有IgG2铰链的GITR抗体相对于具有IgG1铰链的相同抗体的增强的激动剂活性

[0408] 此实施例证明,包含IgG2铰链的抗GITR抗体相对于具有IgG1铰链的相同抗体,具有增加的诱导从T细胞分泌IL-2和IFN- γ 的能力。

[0409] 在上述CHO-OKT3和3A9测定中已经观察到,具有IgG2恒定区的杂交瘤衍生的抗体在刺激细胞因子分泌中比其中将重链恒定区交换为IgG1或无效应物IgG1 (IgG1.1) 的相同抗体更有力。因此,在这些测定中,进一步测试了IgG2恒定区或铰链对于抗GITR抗体的作用。

[0410] 抗人GITR抗体的重链可变区 (SEQ ID NO:75) 与表13中显示的重链恒定区连接。抗GITR抗体的轻链包含SEQ ID NO:77。表13显示恒定区的每个域的身份:

[0411] 表13:此实施例中使用的抗体的重链恒定区

抗体的名称	CH1	铰链	CH2	CH3	SEQ ID NO*
抗GITR	IgG2 SEQ ID NO: 7	IgG2 SEQ ID NO: 8	IgG2 SEQ ID NO: 9	IgG2 SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 52
抗GITR -IgG2	IgG2 SEQ ID NO: 7	IgG2 SEQ ID NO: 8	IgG2 SEQ ID NO: 9	IgG2 SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 52
抗GITR -IgG1	IgG1 SEQ ID NO: 2	IgG1 SEQ ID NO: 3	IgG1 SEQ ID NO: 4	IgG1 SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 53
抗GITR -IgG1.1	IgG1.1 SEQ ID NO: 2	IgG1.1 (L234A/L235E/G 237A) SEQ ID NO: 25	IgG1.1 (A330S/P331S) SEQ ID NO: 24	IgG1.1 SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 54
抗GITR -IgG2-IgG1或 抗GITR.g2.gl	IgG2 SEQ ID NO: 7	IgG2/IgG1杂合体 SEQ ID NO: 22	IgG1 SEQ ID NO: 4	IgG1 SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 55

[0413]	抗GITR	IgG2	IgG2	IgG1.1	IgG1	SEQ ID
	-IgG2-IgG1.1 或抗 GITR.g2.g1.1	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 8	(A330S/P331S) SEQ ID NO: 24	SEQ ID NO: 5	NO: 56

[0414] *全长重链恒定区的SEQ ID NO

[0415] 首先,将这些GITR抗体的结合亲和力与具有IgG1铰链的GITR抗体的那些进行比较。抗GITR抗体对可溶性GITR的结合亲和力通过Biacore确定如下。将抗GITR抗体捕获于人kappa涂覆的芯片上(~5KRUs;Southernbiotech 目录#2060-01),将重组人GITR(rhGITR/Fc;R&D Systems,目录#689-GR)以500nM,250nM,125nM,62nM,和31nM的浓度流过芯片。单抗/体积的捕获浓度为2-40μg/mL(5μL以10μL/min)。抗原结合时间在15μL/min为5分钟,抗原解离时间为6分钟,并用50mM HCl/50mM NaOH(每种12μL以100 μL/min)进行再生。

[0416] 图2中显示的结果指示所有三种具有IgG2铰链的GITR抗体对于活化的 T细胞具有与具有IgG1或IgG1.1恒定区的GITR抗体相似的亲和力。

[0417] 接下来,测试具有IgG1恒定区或IgG2铰链/IgG1Fc域的GITR抗体的诱导从用抗CD3scFv(OKT3)表达的CHO细胞刺激的人供体T细胞分泌IL-2和 IFN-γ的能力。CHO细胞表达低水平的OKT3以促进次优的(suboptimal)刺激以能够观察抗GITR抗体的激动作用。用表达CHOT3的CHO细胞和抗GITR抗体刺激来自供体的CD4+T细胞,并测量IL-2和IFN-γ分泌。实验如下进行。对于以CD4+T细胞的实验,根据制造商的方案,从具有RosetteSep人CD4+T细胞富集混合物(StemCell Technology#15062)的人PBMC获得CD4+T细胞。将表达抗CD3scFv(OKT3)的CHO细胞(CHO-OKT3)用RPMI培养基洗涤两次,并经受用50K Rad剂量的照射。收获细胞并以 2.5×10^5 /mL重悬于培养基(RPMI-1640,补充有10%胎牛血清,2mM L-谷氨酰胺,55nMβ-巯基乙醇,1mM 丙酮酸钠和100U/mL青霉素/链霉素)。将 2.5×10^4 个CHO-OKT3细胞和 1×10^5 个T细胞每孔接种于96孔TC级平板板(Costar)中。将细胞与以40μg/mL开始的8点、4倍滴定的GITR抗体一起温育。以40μg/mL添加不相关的hIgG1作为同种型对照。包括仅含有细胞的样品以显示基线活性而没有任何治疗。在第2天收获来自每个样品的上清液用于IL-2测量(仅对于以CD4+T细胞的测定)(BD opt EIA人IL-2ELISA试剂盒;BD Bioscience#555190)并在第3天用于IFN-γ测量(BD optEIA人IFN-g ELISA试剂盒;BD Bioscience#555142)。

[0418] 如图3A和B中所示,具有IgG2铰链/IgG1Fc域的抗体(抗GITR.g2.g1)诱导来自T细胞的IL-2和IFN-γ分泌比具有IgG1恒定区的抗体(抗GITR.g1)至更高的程度。用这些恒定域的无效应物形式获得了类似的结果(图3C)。

[0419] 为了进一步确认包含IgG2铰链的抗GITR抗体的增加的T细胞活化,测试了不同实验形式中的IL-2分泌。在此实验中,如下测试了GITR抗体诱导从 3A9-hGITR细胞(异位表达人GITR的小鼠T细胞杂交瘤3A9细胞系)分泌IL-2的能力。在存在增加量的所指示抗体的情况下,在抗CD3单克隆抗体涂覆的平板上培养异位表达人GITR的小鼠T细胞杂交瘤3A9细胞系(3A9-hGITR)。将 5×10^4 个3A9-hGITR细胞在用1μg/ml抗CD3抗体(克隆145-2C11;BD Biosciences)涂覆的平板上培养,并用指示浓度的抗体处理7小时。

[0420] 如图4中所示,所有具有IgG2铰链的抗体(抗GITR.g2,抗GITR.g2.g1f和抗GITR.g2.g1.f)诱导自3A9-hGITR细胞的IL-2分泌比其包含IgG1恒定区的对应物(抗

GITR.g1f和抗GITR.g1.1f)至更高的程度。

[0421] 这些结果共同表明具有IgG2铰链和g1或g1.1恒定区的抗GITR抗体比具有IgG1铰链的相同抗体更有力。

[0422] 实施例3:不同铰链/Fc组合对抗体/抗原复合物的大小的影响

[0423] 如上述实施例中所示,具有IgG2铰链的抗CD73抗体是CD73细胞活性的更好的抑制剂并且比具有IgG1铰链的相同抗体内化更好,且具有IgG2铰链的抗GITR抗体是比具有IgG1铰链的相同抗体更有力的激动剂。基于这一观察,和IgG2铰链比IgG1铰链刚度更大的事实,假设在抗原和具有IgG2 铰链的抗体之间形成相对于具有IgG1铰链的抗体更大的复合物。进行以下实验来分析这一假设。

[0424] 通过SEC-MALS和DLS检测溶液中CD73/抗体复合物的结构和寡聚状态。对于这些研究,将含有IgG1或IgG2恒定区的抗体以不同的摩尔比与重组蛋白质混合,所述重组蛋白质包含含有C-端多组氨酸标签(人-CD73的氨基酸残基26-546,称为hCD73-his)的人-CD73的全长细胞外域,或对应于人-CD73的N-末端域的片段(氨基酸残基26-336,称为N-hCD73-his)。

[0425] 通过耦合于在线多角度光散射检测器(SEC-MALS)的大小排阻色谱法检查CD73/抗体复合物的寡聚状态。在连接到Prominence Shimadzu UFLC的 Shodex PROTEIN KW-803柱上,在含有以0.5mL/min运行的含有0.02%叠氮化钠(0.1 μ m过滤)的200mM K₂HPO₄,150mM NaCl,pH 6.8的缓冲液中进行等度分离。使用SIL-20AC Prominence Shimadzu自动进样器将样品注入柱上,并从三个串联的在线检测器获得数据:Prominence SPD-20AD二极管阵列UV/vis分光光度计,之后是Wyatt miniDAWN™ TREOS多角度光散射检测器然后是Wyatt Optilab T-rEX折射率检测器。收集数据并使用Astra (Wyatt) 和Labsolutions (Shimadzu) 软件分析。

[0426] 动态光散射(DLS)研究在Wyatt DynaPro读板器上在384孔板中在25℃进行。实验参数为每次测量各5秒的20次获取,且测量结果一式四份记录,报告平均值和标准偏差。强度自相关函数使用Dynamics软件(Wyatt Technologies) 中的“正则化”算法拟合。

[0427] 图6和图7中提供SEC-MALS和DLS的总结。单独抗体的分析显示对于单体单克隆抗体典型的每种抗体的保留时间(约16-17分钟),质量(140-150 kDa)和流体动力学半径(5.0-5.4nm)。hCD73-his蛋白质的数据与在溶液中采用预期的二聚体结构的蛋白质一致;特别地,从SEC-MALS数据(120kDa)确定的质量与对于CD73-his的二聚体(117kDa)所预期的一致,且与对于hCD73-his 的单体(58.5kDa)所预期的不一致。N-hCD73的数据与溶液中单体的重组N- 域蛋白质一致(SEC-MALS测量的质量=38kDa,与预期单体质量=35.0kDa 相比),这是预期的,因为负责蛋白质二聚化的全长CD73胞外域的区包含在 C-端区域内,而无N-域残基的贡献。

[0428] 发现给定抗体与N-hCD73-his的等摩尔混合物在SEC中作为单一物种洗脱,其具有比单独的抗体或N-hCD73-His更短的保留时间,以及通过DLS的更大的流体动力学半径(Rh),这与复合物的形成是一致的。MALS数据指示这些复合物的质量为约210kDa。这与和给定抗体的两个Fab域中的每一个结合的一个N-hCD73-his分子一致以形成1:2抗体:N-hCD73-his复合物。

[0429] 抗CD73抗体与hCD73-his二聚体的混合物的SEC-MALS数据显示,混合物比单独

hCD73-his或抗体洗脱更早,这表明形成了复合物。比较含有相同可变区但不同恒定域的单抗的数据,显示hCD73-his与含有IgG2恒定域的单抗(IgG2-C219S,IgG2-C219S-IgG1.1f)的复合物的洗脱时间为早于 hCD73-his与含有IgG1.1f恒定域的单抗的复合物的那些。此外, hCD73-his 与含有IgG2恒定域的单抗的复合物的MALS确定的质量大于hCD73-his与含有IgG1恒定域的单抗的复合物的那些。DLS数据进一步显示,hCD73-his 与含有IgG2恒定域的单抗的复合物的流体动力学半径大于hCD73-his与含有 IgG1恒定域的单抗的复合物的那些。例如,具有三种不同恒定区 (CD2-2 C219S,IgG2-C219S-IgG1.1f或IgG1.1f)的CD73.4的SEC-MALS和DLS数据示于图5中。在这里可见,和hCD73-his与CD73.4-IgG1.1f的复合物相比, hCD73-his与含有IgG2恒定域的CD73.4的复合物具有较短的保留时间(图 5A),较大的流体动力学半径(图5B)和较大的MALS确定的质量(图5C)。基于MALS质量,图5D中显示了hCD73-his和抗体之间的复合物的结构和化学计量学的示意模型,其中包含CD73.4-IgG1.1f的复合物主要形成较小的2:2 (峰1=~550kDa)或4:4单抗/CD73二聚体复合物(峰2=~1300kDa),而 CD73.4-IgG2-C219S或CD73.4-IgG2-C219S-IgG1.1f与hCD73-his形成大得多的复合物(>3000kDa),其精确结构和化学计量学不能肯定地建模。

[0430] 总之,SEC-MALS和DLS数据证明,与含有IgG1铰链区(IgG1.1ff)的那些相比, hCD73-his与含有IgG2铰链区的单抗(IgG2-C219S或 IgG2-C219S-IgG1.1f)之间形成更大的复合物。

[0431] 实施例4:IgG2同种型的CH1进一步改进抗体介导的CD73内化

[0432] 在Calu6和H292细胞中进行额外的内化测定,以进一步区分同种型对内化的作用。如实施例1A和1B(不含抗体洗出步骤的流式细胞术方案)所述进行内化测定,将表14中显示的不同杂合同种型的抗体以10μg/mL在温育时间过程中在培养物中维持。对于流式细胞术实验,将实施例1B的方法适应于 96孔板(相对于48孔板)和50,000个细胞每孔的高通量分析。

[0433] 表14:以CD73.4的可变区测试的恒定区:

构建体	恒定区的	
	SEQ ID NO	描述
IgG1f	78	野生型 IgG1f
IgG1.1f	83	标准的惰性 IgG1.1f
IgG2.3	79	IgG2 A-形式(C219S)
IgG2.5	82	IgG2 B-形式(C131S)
IgG2.3G1-KH	81	IgG2.3 的 CH1、上铰链和下铰链/上 CH2, 所有其他 IgG1f
IgG2.5G1-KH	90	IgG2.5 的 CH1、上铰链和下铰链/上 CH2, 所有其他 IgG1f
IgG2.3G1-AY	80	IgG2.3 的 CH1 和上铰链, 所有其他 IgG1f
IgG2.5G1-AY	89	IgG2.5 的 CH1 和上铰链, 所有其他 IgG1f
IgG1-G2.3G1-KH	93	IgG1 的 CH1, IgG2.3 的上铰链和下铰链/上 CH2, 所有其

[0435]

		他 IgG1f
IgG1-G2.3G1-AY	92	IgG1 的 CH1, IgG2.3 的上铰链, 所有其他 IgG1f
IgG2.3G1.1f-KH	84	IgG2.3 的 CH1、上铰链和下铰链/上 CH2, 所有其他 IgG1.1f
IgG2.5G1.1f-KH	88	IgG2.5 的 CH1、上铰链和下铰链/上 CH2, 所有其他 IgG1.1f
IgG1-deltaTHT	85	具有从铰链去除的 THT 序列的 IgG1
IgG2.3-plusTHT	86	具有加入铰链的(来自 IgG1 的)THT 序列的 IgG2.3
IgG2.5-plusTHT	91	具有加入铰链的(来自 IgG1 的)THT 序列的 IgG2.5
IgG2.3-plusGGG	87	具有加入铰链的柔性 GGG 序列的 IgG2.3

[0436] Fc γ R 结合显示为如对于每种构建体预期的, 即 Fc γ R 结合由下铰链/CH2 区驱动。

[0437] 结果示于图8A、B和C中及表15和16中。使用与实施例1B中所述相同方案生成表15中显示的数据(不洗出抗体)。使用实施例1A中所述的相同方案生成表16中所示的数据。

[0438] 表15: Calu6和NCI-292细胞中抗体介导的CD73内化的Y_{max}和T_{1/2}

[0439]

	Calu6		NCI-H292	
	Y _{max} (%)	T _{1/2} (小时)	Y _{max} (%)	T _{1/2} (小时)
mAb-CD73.4-IgG1f/LC-11F11-Vk2	55.72	0.8452	73.05	0.5014
mAb-CD73.4-IgG2.3G1-AY-pTT5-SP	85.07	0.3326	90.25	0.272
mAb-CD73.4-IgG2.3G1-KH	81.62	0.3962	91.61	0.2801
mAb-CD73.4-G1-G2.3-G1-AY	72.7	0.4229	84.51	0.3083
mAb-CD73.4-IgG1-deltaTHT	69.27	0.5652	83.63	0.3441
mAb-CD73.4-G1-G2.3-G1-KH	65.67	0.5674	83.29	0.343
mAb-CD73.4-IgG2.3-plusTHT	81.19	0.3551	91.41	0.2935
mAb-CD73.4-IgG2.3-plusGGG	81.72	0.3355	91.6	0.2712
mAb-CD73.4-IgG2.5	78.98	0.3485	89.56	0.3057
mAb-CD73.4-IgG2.5G1.1f-KH	79.63	0.3527	90.86	0.2993
mAb-CD73.4-IgG2.5G1-AY	81.91	0.2901	91.3	0.2452
mAb-CD73.4-IgG2.5G1-KH	76	0.2837	90.75	0.256
mAb-CD73.4-IgG2.5plusTHT/LC	80.15	0.2869	89.6	0.2565
mAb-CD73.4-IgG2-C219S/LC	82.35	0.3725	88.91	0.2866
mAb-CD73.4-IgG2-C219S/LC	82.54	0.3639	87.66	0.2845
mAb-CD73.4-IgG1.1f+K/LC	57.07	1.519	70.4	0.4969
mAb-CD73.4-IgG2CS-IgG1.1f	80.98	0.3508	90.35	0.2764

[0440] 表16: Calu6细胞中具有不同恒定区的CD73.4的内化特征

CD73_单抗_克隆	内化	
	最大	速度
CD73.4-IgG1f/LC-11F11-Vk2	+	+
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.3G1-AY-pTT5-SP5	++++	++++
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.3G1-KH	++++	+++
CD73.4-Vh-hHC-G1-G2.3-G1-AY	++	++
CD73.4-Vh-hHC-G1-G2.3-G1-KH	++	++
CD73.4-Vh-hHC-IgG1-deltaTHT	++	+++
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.3-plusTHT	++++	++++
[0441] CD73.4-Vh-hHC-IgG2.3-plusGGG	++++	++++
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.5	++++	++++
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.5G1.1f-KH	++	++++
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.5G1-AY	+++	++++
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.5G1-KH	+++	++++
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.5plusTHT/LC	++++	++++
CD73.4-Vh-hHC-IgG2-C219S/LC	++++	++++
CD73.4-Vh-hHC-IgG2-C219S/LC	++++	++++
CD73.4-Vh-hHC-IgG1.1f+K/LC	+	+
CD73.4-Vh-hCh-IgG2-C219S-IgG1.1f	++++	++++

[0442] 图8A-C和表15和16指示,具有IgG2同种型的铰链和CH1域的抗体在驱动CD73内化方面是最有效的,而具有IgG1铰链和CH1域的抗体对应于图中较低的曲线,即较低的内化程度。此外,与人IgG1铰链相比,仅具有来自IgG2的铰链的抗体具有增加的内化。因此,具有IgG2同种型的铰链和CH1域的抗体相对于具有IgG1同种型的抗体具有优异的内化特征。

[0443] 因此,抗CD73抗体mAb-CD73.4-IgG2CS-IgG1.1f(其具有含C219S取代的IgG2铰链和IgG2 CH1域)诱导依赖于测试的细胞系的快速内化。内化的 $T_{1/2}$ 的范围从几分钟到一小时内。测试的大多数细胞系具有10分钟以内的 $T_{1/2}$ 。对于一些细胞系诱导了几乎完全的内化,并且测试的大多数在表面CD73表达方面具有至少50%的降低,其通常在5小时达到最大水平,在一些情况中短得多。

[0444] 实施例5: IgG2 CH1增强了GITR抗体诱导的CD4+T细胞的IL-2分泌

[0445] 此实施例显示IgG2同种型的CH1域相对于具有IgG1同种型的CH1域的抗体增强抗GITR抗体诱导的T细胞活性。

[0446] 将实施例4中使用的相同的修饰的重链恒定区与抗GITR抗体(实施例2)的可变区连接。将供体CD4+T细胞与表达OKT3-scFv的CHO细胞和多种抗GITR抗体一起温育,并测量分泌的IL-2水平。这如实施例2中所述进行。

[0447] 图9中显示的结果指示除了IgG2同种型的铰链外,具有IgG2同种型CH1域的所有抗GITR抗体比具有IgG1铰链和CH1的那些在刺激CD4+T细胞的IL-2分泌方面更有效。

[0448] 因此,此实施例显示IgG2铰链和IgG2 CH1域在激动剂抗GITR抗体中的存在相对于不具有IgG2同种型的铰链和/或CH1域的相同抗体进一步增强了所述抗体的激动剂活性。具有IgG2同种型的铰链和CH1域两者的抗体相对于具有IgG2同种型的铰链但不具有CH1的抗体具有更强的激动剂作用。此外,具有来自IgG2的CH1域的抗体比具有来自IgG1同种型的

CH1域的抗体具有更强的激动剂活性。具有来自IgG2的铰链和来自IgG1的CH1域的抗体比具有来自IgG1同种型的CH1和铰链的抗体具有更强的激动剂活性。

[0449] 实施例6: IgG2 CH1和铰链中某些氨基酸残基在改进抗体介导的CD73 内化中的相关性

[0450] 如上文在抗体介导的CD73内化测定法中所述制备并测试具有表17中显示的重链恒定区的抗CD73抗体 (CD73.4)。

[0451] 表17:融合于抗CD73可变区的重链恒定区

	描述	构建体	恒定区的
			SEQ ID NO
[0452]	IgG2的CH1域, 及所有其余IgG1。 而且, Cys>Ser突变体以降低潜在的 二硫化物异质性:	G2-G1-G1-G1	94
		G2.5-G1-G1-G1	95
	IgG1的CH1域及所有其余IgG2. 3:	G1-G2.3-G2-G2	96
	IgG1中的CH1区交换为IgG2的那些, 单独或一起:	G1-KRGE GSSNLF	97
		G1-KRGE GS	98
		G1-SNLF	99
		IgG1-ITNDRTPR	100
		G1-SNLFPR	101
	IgG2中的CH1区交换为IgG1的那些, 单独或一起	G2-RKEGSGNSFL	102
		G2-RKEGSG	103
		G2-NSFL	104
		IgG2-TIDNTRRP	105
		G2-NSFLRP	106
	IgG1及IgG2的CH2域残基:	G1-G1-G2-G1-AY	107
		G1-G1-G2-G1-KH	108
[0453]	IgG2及IgG1的CH2域残基:	G2-G2.3-G1-G2-KH	109
		G2.5-G2.3-G1-G2-KH	110
		G2-G2.3-G1-G2-AY	111
		G2.5-G2.3-G1-G2-AY	112
	在IgG1和IgG2之间交换铰链区:	G1-G2.3-G1-G1-KH	113
		G2-G1-G2-G2-AY	114
		G2.5-G1-G2-G2-AY	115
		G1-G2-G1-G1-AY	116
		G2-G1-G2-G2-KH	117
		G2.5-G1-G2-G2-KH	118
	铰链截短	IgG1-deltaHinge	119
		IgG2-deltaHinge	120
		IgG2.5-deltaHinge	121
		IgG1-deltaG237	122
		IgG2-plusG237	123
	其他	IgG2.4	124
		IgG2.3/4	125

[0454] 等同方案

[0455] 图10中显示的结果在CD73内化的上下文中提供以下信息:

[0456] ●CH2域看起来不具有如通过如下所示的影响

[0457] ○a) 相对于具有格式“KH”的那些 (ERKCCVECP PCAPELLG (SEQ ID NO:22), 在包含具有格式“AY”的修饰的重链恒定区的抗体 (具有IgG2铰链 ERKCCVECP PCA PPVAG (SEQ ID

NO:8)) 之间在内化能力方面观察到非常微小的差异(组5,6和7);

[0458] ○b) CH2交换可与野生型G1或G2相比(组5和6);和

[0459] ○c) 残基237对内化不具有影响:将“G”残基添加至IgG2铰链和缺失IgG1铰链中的C末端“G”均不影响内化(组9)。

[0460] 这表明CH2域不影响内化(即,CH2域可为IgG1或IgG2形式);

[0461] ●将IgG1中组3(KRGE GSSNLF;KRGE GS;SNLF;ITNDRTPR和 SNLFPR)中所指示的CH1区交换为IgG2的那些提供极少的益处,即,内化保持与IgG1的相似;(参见组3);

[0462] ●将IgG2中组4(RKEGSGNSFL;RKEGSG;NSFL;TIDNTRRP和NSFLRP)中所指示的CH1区交换为IgG1的那些具有可变的影响:变化NSFL 不具有影响,而涉及其他的两个区(RKEGSG和RP)(参见组4)。基于组3和 4的结果,看起来在CH1区和铰链之间有相互作用,RKEGSG和RP区比 NSFL区更重要;

[0463] ●铰链区影响内化,即,IgG2的铰链相对于IgG1的铰链提供更好的内化(参见组7和8)。此外,具有缺失的IgG1(G1-delta-Hinge)相对于IgG1改进了内化。具有缺失的IgG2(G2-delta-Hinge)相对于IgG2铰链的提供了相似的内化水平。这表明铰链区影响内化,其效果通过IgG2 CH1增强(G2-G1-G2-G2-AY可与G1-G2-G1-G1-AY相比);

[0464] ●IgG2.4(C220S)与IgG2.3(C219S)相比具有相似的或降低的内化。IgG2.3/4(C219S/C220S)对于单独IgG2.3或IgG2.4相比具有降低很多的内化(参见组10)。这表明具有IgG2铰链和C219S的抗体的内化大约与具有C220S的 IgG2铰链的相同,它们都比具有C219S和C220S两者的IgG2铰链的好得多;

[0465] ●IgG2.5(C131S突变)与具有C131的构建体相比具有降低的内化(参见组 1,6和7)。

[0466] 因此,这些结果指示CH1域和所述铰链都与抗体介导的CD73内化相关,而且具有来自这些域的IgG2序列的抗体相对于具有来自IgG1的这些区的抗体以更好的功效内化。

[0467] 实施例7:具有IgG2铰链和/或CH1域的抗体形成高分子量复合物

[0468] 如实施例3中所述,还通过SEC-MALS和DLS实验测试了具有表14所示的重链恒定区的CD73.4抗体的高分子量复合物的形成。

[0469] 先前测试了本研究中16种抗体中的3种:CD73.4-IgG1.1f, CD73.4-IgG2-C219S(也称为CD73.4-IgG2.3),和CD73.4-IgG2-C219S-IgG1.1f(也称为CD73.4-IgG2.3G1.1f-KH)。抗体单独的SEC-MALS和DLS数据显示对于单体单克隆抗体典型的每种抗体的保留时间、质量和流体动力学半径。与单独的抗体或hCD73-his相比,每个抗体(5.5uM)与hCD73-his(5.5uM)的等摩尔复合物对于所有复合物显示较慢的保留时间,指示复合物的形成。16个复合物中每个的SEC色谱图数据的叠加示于图11A中。色谱图数据可分为4个不同的峰,其示于图11B中。峰1含有最大的物种,MALS确定的质量表明复合物具有质量当量大于4:4hCD73-his:单抗复合物。峰2包含具有MALS 确定的质量的物种,其表明约2:2hCD73-his:单抗复合物的复合物。峰3是具有低信号和MALS确定的质量的小物种,表明约1:1hCD73-his:单抗复合物。峰4对应于单独的单抗的洗脱,其MALS-测定的质量与游离抗体一致。为了定量每个物种的相对量,将每个色谱图的4个峰积分为峰1(<12.9分钟),峰 2(12.9-15.1分钟),峰3(15.1-16.7分钟),峰4(16.7-19.3分钟)。积分还包括额外的积分范围,称为峰5(>19.3分钟)以解释任何低分子量物种,其被发现是可忽略的(所有复合物的<3.5%)。表18中

总结了来自此积分的每个物种的百分比。所有复合物都含有相似的小百分比的峰3 (约6-9%),但却可变量的其他峰。最值得注意的是,hCD73-his和含有来自hIgG1的CH1域的抗体之间的所有复合物具有显着较大的小复合物百分比(峰2),而含有来自hIgG2的CH1域的那些具有较大百分比的大复合物(峰1)(表18和图11C)。这表明不仅铰链区而且CH1域在高阶的复合物形成中的重要作用。

[0470] 表18:具有修饰的重链恒定区的CD73.4抗体的保留时间

		UV%				
		峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5
复合物		<12.9 分钟	12.9-15.1 分钟	15.1-16.7 分钟	16.7-19.3 分钟	>19.3 分钟
CD73.4-IgG2.3 + hCD73-his	+	37.0	23.8	7.7	28.6	2.9
CD73.4-IgG2.3G1.1f-KH + hCD73-his		36.0	23.8	7.9	29.3	3.0
CD73.4-IgG1.1f + hCD73-his	+	28.4	36.2	7.4	25.6	2.3
CD73.4-IgG1f + hCD73-his	+	26.0	36.5	7.5	27.8	2.2
CD73.4-IgG2.3G1-AY + hCD73-his		30.2	24.3	8.1	34.4	3.0
CD73.4-IgG2.3G1-KH + hCD73-his		34.9	23.4	7.9	30.7	3.0
CD73.4-IgG1-G2.3G1-AY + hCD73-his		14.6	29.2	6.4	48.3	1.6
CD73.4-IgG1-G2.3G1-KH + hCD73-his		23.8	32.6	7.0	34.5	2.1
CD73.4-IgG1-deltaTH T + hCD73-his		28.3	35.4	7.0	26.9	2.4
CD73.4-IgG2.3-plusT HT + hCD73-his		30.6	24.3	8.3	33.7	3.2
CD73.4-IgG2.3-plusG GG + hCD73-his		30.0	23.9	8.2	34.9	2.9
CD73.4-IgG2.5 + hCD73-his	+	31.7	24.4	8.4	32.5	3.1
CD73.4-IgG2.5G1.1f-KH + hCD73-his		30.7	24.3	8.9	32.7	3.4
CD73.4-IgG2.5G1-AY + hCD73-his		26.3	24.8	8.1	38.3	2.6
CD73.4-IgG2.5G1-KH + hCD73-his		21.4	24.1	7.0	45.6	1.9
CD73.4-IgG2.5-plusT HT + hCD73-his		32.6	23.5	8.3	32.6	3.0

[0473] 实施例8:具有工程改造的恒定域的抗体的Fc受体结合

[0474] 此实施例证明了当具有包含IgG2的铰链和CH1的修饰的重链恒定区的抗体含有IgG1的CH2和CH3域时,它们与Fc γ R结合。

[0475] 除了可变域的抗原结合之外,抗体可通过与恒定域的相互作用而与Fc- γ 受体(Fc γ R)结合。这些相互作用介导效应物功能如抗体依赖性细胞毒性(ADCC)和抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)。对于IgG1同种型,效应物功能活性高,但由于这些同种型对Fc γ R具有低的亲和力,对于IgG2和IgG4,(效应物功能活性)非常低或不存在。此外,IgG1的效应物功能可通过在恒定区内的氨基酸残基的突变来修饰以改变Fc γ R亲和力和选择性。

[0476] 使用包括Biacore表面等离子体共振(SPR)和Fortebio Biolayer干涉测量(BLI)的生物传感器技术来研究抗体对Fc γ 受体(Fc γ R或Fc γ R)的结合。在25℃,在Biacore T100仪器(GE Healthcare)上进行SPR研究。使用EDC/NHS将来自鼠抗6xHis抗体的Fab片段固定化于CM5传感器芯片上至~3000RU的密度。以10 μ l/min使用30s的接触时间经由C-端his标签捕获多种his标记的Fc γ R(7 μ g/ml),并在10mM NaPO₄,130mM NaCl,0.05%p20(PBS-T) pH 7.1的运行缓冲液中评估1.0 μ M抗体的结合。用于这些实验的Fc γ R包括CD64(Fc γ RI),CD32a-H131(Fc γ RIIa-H131),CD32a-R131(Fc γ RIIa-R131),CD32b(Fc γ RIIb),CD16a-V158(Fc γ RIIIa-V158),CD16b-NA1(Fc γ RIIIb-NA1)和CD16B-NA2(Fc γ RIIIb-NA2)。在25℃在NaPO₄,130mM NaCl,0.05%p20(PBS-T) pH 7.1中在Fortebio Octet RED仪器(Pall, Fortebio)上进行BLI实验。从蛋白A涂覆的传感器上从未稀释的表达上清液中捕获抗体,然后是1 μ M hCD32a-H131, hCD32a-R131, hCD32b, hCD16a-V158或0.1 μ M hCD64分析物的结合。

[0477] 首先,制备包含修饰的IgG1Fc域的结合多个靶物的抗体,所述修饰的IgG1Fc域包括取代S267E(SE)和S267E/L328F(SELF),以及突变P238D, P271G, H268D, A330R, G237D, E233D的多种组合,称作V4, V7, V8, V9和 V12。通过Biacore SPR与IgG1f, IgG2.3(IgG2-C219S)和IgG4.1(IgG4-S228P)抗体以及IgG1.1f抗体(其已被工程改造以降低与所有Fc γ R的结合)进行比较研究了这些抗体的结合。图12中显示的结果证明了IgG1f, IgG2.3和IgG4.1以及突变的IgG1抗体的预期的Fc γ R结合性质,包括对于SE和SELF增加的CD32a-H131, CD32a-R131和CD32b结合,以及CD32b相对于CD32a-H131和CD32a-R131的V4, V7, V8, V9和V12突变体增加的选择性,图12。

[0478] 下一组构建体用于将效应物功能工程改造为其他效应物功能阴性的IgG2同种型。对于此研究,在IgG2.3恒定区或称为IgG2.3G1-AY的IgG2.3/IgG1f杂合物的上下文中引入上述突变,表19。抗体以小规模表达为上清液,并使用Fortebio Octet BioLayer Interferometry生物传感器技术测试与Fc γ R的结合。由于抗体在上清液中以低浓度存在,所以通过使用蛋白A涂覆的传感器从上清液中捕获抗体,然后在溶液中结合Fc γ R分析物来进行实验。还包括纯化和上清液对照IgG1f(包括野生型IgG1, SE, P238D, V4和V12抗体)用于比较,而且这些对照抗体中的每一个证明了预期的Fc γ R结合性质,图13。IgG2.3抗体还证明了预期的结合概貌,仅与CD32a-H131具有可感知的结合。然而,所有将S267E, L328F, P238D, P271G, H268D, A330R, G237D或E233D突变引入IgG2.3的突变都无法重现(recapitulate)相应工程改造的IgG1单抗的Fc γ R亲和力,图13。相比之下, IgG2.3G1-AY构建体能够完全保留野生型IgG1的Fc γ R结合性质,同时保留IgG2.3的CH1和铰链区。此外,含有S267E, L328F, P238D, P271G, H268D, A330R, G237D和E233D的所有IgG2.3G1-AY突变体都显示出与含有相同突变的IgG1形式单抗相当的Fc γ R结合性质,图13。这证明了具有IgG2的

CH1和铰链区的抗体与野生型或突变体IgG1的效应物功能组合的成功工程化。

[0479] 表19:工程化的IgG2构建体

组	ID	构建体	Seq ID#
[0480]	1	IgG2.3	hHC-IgG2-C219S
		IgG2.3-V13	hHC-IgG2-C219S – P238D
		IgG2.3-V14	hHC-IgG2-C219S – P238D,P271G
		IgG2.3-V15	hHC-IgG2-C219S – P238D,H268D,P271G
		IgG2.3-V16	hHC-IgG2-C219S – P238D,P271G,A330R
		IgG2.3-V17	hHC-IgG2-C219S P238D,H268D,P271G,A330R
		IgG2.3-V18	hHC-IgG2-C219S – S267E
[0481]	2	IgG2.3-V19	hHC-IgG2-C219S – S267E,L328F
		IgG2.3G1	hHC-IgG2-C219S/hHC-IgG1f
		IgG2.3G1-AY-V20	hHC-IgG2-C219S/hHC-IgG1f – P238D
		IgG2.3G1-AY-V21	hHC-IgG2-C219S/hHC-IgG1f P238D,P271G
		IgG2.3G1-AY-V22	hHC-IgG2-C219S/hHC-IgG1f P238D,H268D,P271G
		IgG2.3G1-AY-V23	hHC-IgG2-C219S/hHC-IgG1f P238D,P271G,A330R
		IgG2.3G1-AY-V24	hHC-IgG2-C219S/hHC-IgG1f P238D,H268D,P271G,A330R
		IgG2.3G1-AY-V25	hHC-IgG2-C219S/hHC-IgG1f G237D,P238D,H268D,P271G,A330R
		IgG2.3G1-AY-V26	hHC-IgG2-C219S/hHC-IgG1f E233D,G237D,P238D,H268D,P271G,A330R
		IgG2.3G1-AY-V27	hHC-IgG2-C219S/hHC-IgG1f – S267E
		IgG2.3G1-AY-V28	hHC-IgG2-C219S/hHC-IgG1f S267E,L328F

[0482] 通过产生具有IgG2.3G1-AY, IgG2.3G1-AY-S267E (IgG2.3G1-AY-V27) 以及IgG2-B型变体 (IgG2.5G1-AY和IgG2.5G1-AY-V27) 格式的其他抗体,和含有IgG1和IgG2恒定域的不同组合的其他杂合抗体并使用Biacore SPR技术测试这些抗体与抗-his Fab捕获的his标记的FcγR的结合而进一步探索了此工程化策略。与Octet上清液数据一致,SPR数据显示,IgG2.3G1-AY和 IgG2.3G1-AY-V27抗体具有相当的分别与IgG1f和IgG1f-S267E的FcγR结合性质,尽管含有A型IgG2抗体 (IgG2.3) 的CH1和铰链区 (图14A和B和表20)。使用IgG2.5G1-AY和IgG2.5G1-AY-V27抗体也获得了相似的数据,这证明具有IgG1f或修饰的IgG1f样效应物功能的B型IgG2抗体 (含有称为IgG2.5的 C131S突变) 的成功工程化。具有IgG2.3G1-AY, IgG2.3G1-AY-V27, IgG2.5G1-AY,或IgG2.5G1-AY-V27恒定区但却不同的可变区的几种其他抗体的数据显示,此工程策略广泛适用于独立于可变域的其他抗体 (图14A和B 和表20)。

证明IgG1f样FcγR结合性质的其他构建体是IgG1-G2.3G1-AY和 IgG1deltaTHT,而几种修饰的恒定区构建体不能保留IgG1f样FcγR结合性质,包括IgG2.3G1-KH,IgG2.5G1-KH,IgG2.3plusTHT,IgG2.5plusTHT和 IgG2.3plusGGG构建体,(图14A和B和表20)。

[0483] 表20:与抗his Fab捕获的FcγR-his蛋白结合的1μM抗体的%Rmax值

单抗	hCD64	hCD32a -H131	hCD32a -R131	hCD32b	hCD16a -V158	hCD16 B-NA2
mAb8-IgG1f	80%	82%	51%	27%	51%	21%
mAb9-IgG1f	70%	33%	19%	4%	28%	10%
CD73.4-IgG1f	65%	46%	26%	6%	43%	17%
GITR.6-IgG1f	66%	35%	25%	8%	41%	19%
CD73.4-IgG1.1f	2%	0%	2%	1%	0%	0%
GITR.6-IgG1.1f	2%	0%	3%	1%	0%	0%
mAb11-IgG2.3	2%	44%	17%	5%	1%	0%
CD73.4-IgG2.3	3%	48%	11%	1%	1%	0%
mAb6-IgG2.3	3%	66%	14%	3%	1%	0%
GITR.6-IgG2.3	4%	40%	10%	1%	2%	0%
mAb4-IgG2.3	1%	39%	6%	1%	1%	0%
mAb5-IgG2.3	6%	100%	30%	4%	3%	0%
mAb12-IgG2.3	2%	39%	7%	1%	1%	0%
mAb13-IgG2.3	2%	40%	7%	1%	1%	0%
mAb11-IgG2.5	0%	40%	13%	3%	0%	-1%
mAb7-IgG2.5	4%	72%	19%	2%	2%	0%
mAb8-IgG2.5	3%	59%	14%	3%	2%	0%
mAb10-IgG2.5	1%	29%	5%	1%	1%	0%
CD73.4-IgG2.5	3%	40%	7%	1%	1%	0%
mAb6-IgG2.5	3%	75%	17%	4%	2%	0%
GITR.6-IgG2.5	4%	43%	13%	2%	2%	1%
mAb4-IgG2.5	2%	46%	8%	1%	1%	0%
mAb5-IgG2.5	6%	89%	26%	5%	4%	1%
mAb12-IgG2.5	1%	36%	6%	1%	1%	0%
mAb13-IgG2.5	-2%	39%	4%	-2%	0%	-2%
mAb8-IgG2.3G1-AY	77%	61%	38%	10%	38%	13%
mAb10-IgG2.3G1-AY	67%	23%	14%	4%	24%	8%
CD73.4-IgG2.3G1-AY	65%	38%	20%	5%	38%	14%
GITR.6-IgG2.3G1-AY	66%	43%	33%	16%	42%	21%
mAb7-IgG2.5G1-AY	80%	73%	45%	12%	47%	19%

[0484]

[0485]

mAb8-IgG2.5G1-AY	77%	70%	45%	17%	48%	22%
CD73.4-IgG2.5G1-AY	65%	43%	24%	7%	40%	16%
GITR.6-IgG2.5G1-AY	65%	38%	27%	10%	41%	19%
CD73.4-IgG2.3G1-KH	2%	15%	2%	0%	2%	0%
GITR.6-IgG2.3G1-KH	3%	13%	3%	0%	3%	1%
CD73.4-IgG2.5G1- KH	2%	17%	2%	0%	3%	0%
GITR.6-IgG2.5G1- KH	2%	15%	3%	0%	3%	1%
CD73.4-IgG2.3G1.1f-KH	1%	10%	1%	0%	1%	0%
GITR.6-IgG2.3G1.1f-KH	2%	9%	2%	0%	1%	0%
CD73.4-IgG2.5G1.1f-KH	1%	6%	1%	0%	1%	0%
GITR.6-IgG2.5G1.1f-KH	3%	15%	4%	0%	2%	0%
mAb7-IgG2.3G1-AY-V27	84%	68%	92%	76%	26%	7%
mAb8-IgG2.3G1-AY-V27	78%	67%	80%	67%	24%	7%
mAb10-IgG2.3G1-AY-V27	69%	24%	57%	40%	12%	3%
mAb7-IgG2.5G1-AY-V27	81%	74%	89%	84%	32%	9%
mAb8-IgG2.5G1-AY-V27	77%	76%	79%	77%	33%	10%
CD73.4-IgG1-G2.3G1-AY	66%	50%	31%	10%	48%	23%
GITR.6-IgG1-G2.3G1-AY	66%	36%	25%	7%	42%	19%
CD73.4-IgG1-G2.3G1-KH	2%	18%	2%	0%	4%	1%
GITR.6-IgG1-G2.3G1-KH	2%	21%	2%	0%	5%	1%
CD73.4-IgG1deltaTHT	65%	43%	23%	6%	42%	17%
GITR.6-IgG1deltaTHT	66%	57%	42%	17%	48%	27%
CD73.4-IgG2.3plusTHT	3%	42%	8%	1%	1%	0%
GITR.6-IgG2.3plusTHT	6%	45%	17%	2%	3%	1%
CD73.4-IgG2.5plusTHT	2%	34%	7%	1%	1%	0%
GITR.6-IgG2.5plusTHT	5%	44%	15%	2%	3%	1%

[0486]

CD73.4-IgG2.3plusGGG	3%	43%	8%	1%	1%	0%
GITR.6-IgG2.3plusGGG	6%	45%	17%	2%	3%	1%

[0487] 综合起来, 这些数据显示铰链区中保守的CPPCPAP基序的紧邻C-端的序列赋予

FcγR介导的效应物功能,而抗体的CH1和铰链的上部可用IgG2 或修饰的IgG2序列代替,以潜在地将IgG1和修饰的IgG1的效应物功能与含有IgG2 CH1和/或铰链区的抗体的优异的内化或信号传导性质组合。

[0488] 实施例9:GITR激动剂抗体内化在具有IgG2铰链和CH1域的抗体中增强

[0489] 为了诱导GITR表达,将细胞在37℃用20ng/ml anti-CD3+1000ng/ml CD28 温育72小时。作为T细胞活化的替代方法,通过三阶段培养方案制备大批活化的CD4⁺T细胞。简言之,CD4⁺T细胞用补充1μg/ml可溶性CD28的平板结合的CD3 (1.5ug/ml) 在37℃刺激72小时,在20u/ml IL2存在下在培养物中扩增14天,并通过添加10ug/ml PHA, 2u/ml IL2和1ug/ml CD28在37℃72小时最后暴露于另一轮活化。将刺激的T细胞接种到384孔PDL成像板2小时以粘附细胞,在4℃冷却15分钟,然后分别加入alexa 488标记的GITR抗体1 小时。板最终通过HCS成像,并将数据报告为每个细胞的总强度。

[0490] 已使用上述T细胞活化方法评价了三种不同的GITR抗体。它们是作为 G1同种型和不能结合Fc受体的惰性(IgG1.1) 同种型的GITR.6抗体,以及与代替IgG1铰链的IgG2铰链的嵌合体。

[0491] 在CD3刺激的CD4⁺T细胞中使用alexa淬灭测定法形式评估GITR抗体诱导的内化。将新鲜获得的CD4阳性T细胞如上所述温育以诱导GITR表达。刺激后,将细胞重悬于新鲜培养基中,并铺板用于如下内化测定。将细胞与如上所述的抗体一起温育,用温热的培养基洗涤并在37℃温育指示的时间,然后固定和淬灭。将内化抗体测量为在时间零点观察到的小的不可淬灭信号之上增加的荧光,然后针对最初与细胞结合的总荧光“未淬灭的对照”进行归一化。如图15中所示,GITR连接导致快速内化,对于测试的每个抗体在30-60 分钟出峰,而对照抗体被发现保持定位于质膜。结果指示,IgG2铰链区增强了GITR连接诱导的内化。

[0492] 为了进一步剖析内化和相关动力学的详细机制,分析了抗体内吞作用和递送入早期内体区室。在此实验中,细胞用未标记的抗体进行脉搏追踪分析。固定后,将细胞透化并染色用于早期内体标记物EEA1 (细胞信号传导技术),洗涤,然后用Alexa Fluor-488缀合的抗兔二次抗体 (EEA1) 和Alexa Fluor-647 缀合的抗人抗体 (GITR) 检测。在具有60X水浸物镜的Opera共焦系统上对板成像。结果指示膜结合的抗GITR抗体染色和细胞内EEA1信号之间的明确隔离 (clear segregation)。在温育培养物后,检测到一些抗体的集群看起来与内体蛋白质共定位。使用HCS Studio软件进行内体共定位的定量,并将结果绘制为共定位的像素强度相对于总染色的比率 (图16)。GITR抗体和早期内体的共定位在30分钟最突出。在此测试的时间点,GITR.6.G2.G1f显示出比 GITR.6.G1f抗体更高的共定位的分数。共定位结果与使用上述Alexa淬灭方法的观察结果相关,并且支持了表明G2铰链相对于G1用于诱导GITR内化具有潜在优势的模型。

[0493] 实施例10:T细胞受体活化的CD4⁺和CD8⁺T细胞中GITR激动剂抗体信号传导在具有IgG2铰链和CH1域的抗体中增强

[0494] 为了进一步研究抗GITR激动剂抗体的机制,监测了参与T细胞活化的几个信号传导途径,如NFκB和P38信号传导途径。

[0495] 将来自健康供体 (M6576) 的CD4⁺和CD8⁺T细胞用平板涂覆的0.4μg/ml 抗CD3和0.4 μg/ml抗-CD28活化。3天后,收集细胞并铺板于384孔成像板上用于信号传导活化。细胞在板上沉静2小时后,将其用GITR抗体处理15 分钟,并通过将甲醛添加入测定板至最终10%而

终止信号传导事件。然后将细胞透化并用磷-p65NFKB抗体染色用于信号传导检测。如图17中所示,与 CD4⁺和CD8⁺T细胞中的GITR.6.G1f相比,GITR.6.G2和GITR.6.G2.G1f抗体具有更高的信号传导反应。虽然没有将内化与信号传导途径活化连接的直接证据,但令人惊奇的是注意到G2同种型与GITR的IgG1相比似乎改善了抗体功能活性的两个方面。

[0496] 为了量化每个抗体的信号传导活性,计算每个抗体的EC50和Emax,因为两个参数对于捕获信号传导事件的全部范围(full extent)至关重要。选择 GITR.6.G2.G1f的反应水平作为100%对照,并将所有其他抗体针对其归一化。如表21中所示,对于通过抗CD3和抗CD28抗体活化的CD4⁺和CD8⁺T细胞群体,在效力(EC50)和功效(Emax%)方面均有一定范围的对于GITR抗体的活性。虽然GITR.6.G2,GITR.6.G2.G1f和GITR.6.G1f在约10nM范围显示出相似的效力(EC50),但不同同种型的功效(Emax)是相当不同的,表明G1抗体不像G2或嵌合同种型一样有效地信号传导。

[0497] 表21.TCR活化的CD4⁺和CD8⁺T细胞中GITR HuMab NFKB信号传导活性的总结

抗体	CD4 ⁺ T 细胞		CD8 ⁺ T 细胞	
	EC50 (nM)	Emax (%)	EC50 (nM)	Emax (%)
GITR.6.G2	12.8	69	9.00	85
GITR.6.G2.G1f	9.00	100	3.77	92
GITR.6.G1f	7.3	10.8	20.05	27
hIgG1 同种型对照	失活的	4	失活的	6

[0499] 为了进一步确认GITR.6.G2和GITR.6.G2.G1f与GITR.6.G1f相比的信号传导差异是否仅限于NFkB信号传导,或者是否其对于其他信号事件也是如此,探索了P38MAPK信号传导出。如图18中所示,与CD4⁺细胞p38MAPK 活化测定中的GITR.6.G1f抗体相比,GITR.6.G2和GITR.6.G2.G1f抗体具有更高的信号传导反应。因此,GITR.6G2同种型与G1同种型相比更好的信号传导活性不仅限于NFkB信号传导。

[0500] 除了增强的激动剂活性和内化,还显示修饰的重链恒定区可赋予增强的 ADCC(例如刺激性受体的激动剂),以及为抗体提供新的活性。例如,发现改变与抑制性细胞表面分子结合并且防止细胞表面分子(拮抗剂)对本申请所述的修饰的重链恒定区的抑制活性的抗体的恒定重链域导致抗体失去其作为拮抗剂的能力,取而代之的是赋予它(抑制活性的)激动剂活性。

[0501] 实施例11:IgG2.3和IgG2.5构建体的二硫键的确认

[0502] 通过比较非还原和还原的Lys-C消化物(digests),确认包含恒定域IgG2.3 (A型)、IgG2.3G1 (A型) 和IgG2.5 (B型) 的抗体中的二硫键结构是正确的。

[0503] 抗体样品用Lys-C消化,所述Lys-C特异性切割赖氨酸(K,Lys) 残基的羧基末端侧上的肽键。使用Waters ACQUITY BEH C18柱,1.7μm,2.1×150mm,反相HPLC柱分离消化物中的肽并用紫外(UV) 检测器在214nm处和Thermo LTQ质谱仪检测。

[0504] Lys-C酶消化和二硫键的还原:向含有100μg抗体样品的小瓶中加入 120μL变性缓冲液,得到3.7M GuHCl,0.2M Tris pH 7.0溶液。将混合物在55℃温育30分钟。通过在上述溶液中添加1μL 50mM碘乙酰胺,然后在室温在黑暗中温育30分钟来进行蛋白质的烷基化。将烷基化的样品用80μL dH2O稀释,并以作为1:10的酶对底物比加入Waco Lys-C。将抗体在室温在黑暗中消化过夜。消化后,从Lys-C消化的样品中移出100μL等分试样,并加入10μL

的0.5M DTT。将此样品在室温温育1小时以减少二硫键。

[0505] 获得的结果为如下：

[0506] IgG2.3和IgG2.3G1抗体的二硫化物结构(A型)：在重链的Fab区内Cys22 (H) 连接于Cys98 (H)，且Cys151 (H) 连接于Cys207 (H)。在重链的Fc区内 Cys265 (H) 连接于Cys325 (H)，且Cys371 (H) 连接于Cys429 (H)。在轻链Fab 区内Cys23 (L) 连接于Cys88 (L)，且Cys134 (L) 连接于Cys194 (L)。轻链的 C-端Cys214 (L) 在Cys138 (H) 连接于重链。重链的铰链区含有三个半胱氨酸残基Cys227 (H)，Cys230 (H) 和Cys233 (H)，其提供三个链间二硫键。最可能的连接是Cys227 (H) 至Cys227 (H)，Cys230 (H) 至Cys230 (H) 和Cys233 (H) 至Cys233 (H)，其为IgG2A型的正确理论二硫化物排列。

[0507] IgG2.5抗体的二硫化物结构(B型)：在重链的Fab区内Cys22 (H) 连接于 Cys98 (H)，且Cys151 (H) 连接于Cys207 (H)。在重链的Fc区内Cys264 (H) 连接于Cys324 (H)，且Cys370 (H) 连接于Cys428 (H)。在轻链的Fab区内Cys23 (L) 连接于Cys88 (L)，且Cys134 (L) 连接于Cys194 (L)。重链的铰链区含有四个半胱氨酸残基Cys226 (H)，Cys227 (H)，Cys230 (H) 和Cys233 (H)。轻链的C-端Cys214 (L) 在铰链区中连接于重链的半胱氨酸残基，其余三个半胱氨酸残基提供三个链间二硫键。最可能的连接是Cys214 (L) 至Cys226 (H)，然后 Cys227 (H) 至Cys227 (H)，Cys230 (H) 至Cys230 (H) 和Cys233 (H) 至Cys233 (H)，其为IgG2B型的正确理论二硫化物排列。此外，使用离子阱质谱仪，使用电子转移离解 (ETD) 触发的串联质谱法确认了铰链区中的二硫键。

[0508] 实施例12：IgG2 CH1和铰链中某些氨基酸残基在改进对T细胞的GITR 激动作用中的相关性

[0509] 在如实施例2中所述的IL-2产生测定中制备并测试具有表17中所示的重链恒定区的抗GITR抗体 (GITR.6)，但其中在40小时而不是48小时收集上清液。

[0510] 图20A-D中显示的结果在很大程度上符合用具有与此实施例中使用的某些相同的重链恒定区的抗CD73抗体获得的CD73内化结果 (参见图10)。

[0511] 序列表

[0512]

SEQ ID NO	描述	序列
1	全长IgG1野生型	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTTSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV <u>EPKSCDKTHTCPPCPA</u> <u>PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK</u> TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
2	CH1 IgG1野生型	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTTSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
3	铰链IgG1野生型	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
4	CH2 IgG1野生型	PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
5	CH3 IgG1野生型	GQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
6	全长IgG2野生型	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTTSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV <u>ERKCCVECP</u> PPCPAPPV <u>AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR</u> EEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVY ITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
7	CH1 IgG2野生型	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTTSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV
8	铰链IgG2野生型	ERKCCVECPCPAPPVAG
9	CH2 IgG2野生型	PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTK
10	CH3 IgG2野生型	GQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPM LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
11	全长IgG3野生型	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTTSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHKPSNTKVDKRV <u>ELKTPLGDTTHTCPRC</u> <u>PEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPAPELLGGPSVF</u> LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFKWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TFRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYITLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPMLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNIFSCSVMEALHNRFQKSLSLSPGK
12	CH1 IgG3野生型	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTTSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHKPSNTKVDKRV

[0513]

13	铰链IgG3野生型	ELKTPLGDTTHTCPRCPE
14	CH2 IgG3野生型	PKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFKWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTF RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTK
15	CH3 IgG3野生型	GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSGPENNYNTTPPM LDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSVMEALHNRTQKSLSLSPGK
16	全长IgG4野生型	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPSCAPEF LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKISKAKGQPREPQV YTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK
17	CH1 IgG4野生型	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRV
18	铰链IgG4野生型	ESKYGPCCPSCAPEFLGG
19	CH2 IgG4野生型	PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKISKAK
20	CH3 IgG4野生型	GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDSGGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK
21	修饰的IgG2铰链(C219S)	ERKSCVECPPCAPPVAG
22	IgG2/IgG1杂合铰链	ERKCCVECPPCAPELLGG
23	IgG2 C219S/IgG1杂合铰链	ERKSCVECPPCAPELLGG
24	修饰的 CH2 IgG1 (A330S/P331S)	PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKISKAK
25	IgG1.1 铰 链 (L234A/L235E/G237A)	EPKSCDKTHTCPPCPAPEA <u>EGA</u>
26	IgG1-IgG2-IgG1 (IgG1-IgG2/IgG1(SEQ#2 2)-IgG1-IgG1)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVERKCCVECPPCAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
27	IgG1-IgG2-IgG12 (IgG1-IgG2(SEQ#8)-IgG1 -IgG1)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVERKCCVECPPCAPPV AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL

[0514]

		YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
28	IgG2-IgG1 (IgG2-IgG2/IgG1(SEQ#2)-IgG1-IgG1)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVTPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV <u>VERKCCVECP</u> PCPAPEL <u>LG</u> GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
29	IgG2-IgG12 (IgG2-IgG2(SEQ#8)-IgG1-IgG1)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVTPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV <u>VERKCCVECP</u> PCAPPV <u>AG</u> PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
30	IgG1-IgG2-IgG1.1 (IgG1-IgG2(SEQ#8)-IgG1(A330S/P331S)-IgG1)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK <u>VERKCCVECP</u> PCAPPV <u>AG</u> PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
31	IgG2-IgG1.1 (IgG2-IgG2(SEQ#8)-IgG1(A330S/P331S)-IgG1)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVTPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV <u>VERKCCVECP</u> PCAPPV <u>AG</u> PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
32	IgG1-IgG2CS-IgG1 (IgG1-IgG2(C219S)-IgG1-IgG1)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK <u>VERKSCVECP</u> PCAPPV <u>AG</u> PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
33	IgG1-IgG2CS-IgG12 (IgG1-IgG2(C219S)-IgG1-IgG1)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK <u>VERKSCVECP</u> PCAPPV <u>AG</u> PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
34	IgG2CS-IgG1 (IgG2-IgG2(C219S)-IgG1)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVTPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV <u>VERKSCVECP</u> PCPAPEL

[0515]

	-IgG1)	LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF LYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
35	IgG2CS-IgG12 (IgG2-IgG2(C219S)-IgG1 -IgG1)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVTPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKSKVCEPCPPCAPPV AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF LYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
36	IgG1-IgG2CS-IgG1.1 (IgG1-IgG2(C219S)-IgG1 (A330S/P331S)-IgG1)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVERKSCVCEPCPPCAPPV AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF LYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
37	IgG2CS-IgG1.1 (IgG2-IgG2(C219S)-IgG1 (A330S/P331S)-IgG1)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVTPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKSKVCEPCPPCAPPV AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF LYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
38	抗体11F11 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCATSGFTFSNYGMHWRQAPGKGLEWVAVILYDGSN KYYPD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSSWYPSDFDIWGQG TMVTVSS
39	抗体4C3 VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWKSGS IGYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCVKGYVILTGLDYWGQGT LTVSS
40	抗体CD73.10 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWRQAPGKGLEWVAVIYDESN KYYPD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSSWYPSDFDIWGQG TMVTVSS
41	抗体 CD73.3 VH (4C3/V94A)	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWKSGS IGYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCVKGYVILTGLDYWGQGT LTVSS
42	抗体6E11 VH	EVQLVESGGALVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGITWNSGG IGYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDRYSSWLLFDNWGQG ILTVSS
43	抗体CD73.4 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWRQAPGKGLEWVAVILYDGSN KYYPD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSSWYPSDFDIWGQG

[0516]

		TMVTVSS
44	抗体11F11 全长HC	QVQLVESGGGVVQPGRSRLRLSCATSGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAVILYDGSN KYYPDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSSWYPDSFDIWGQG TMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNV D HKPSNTKVDKTKVERKCCVECP PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTFRVVS VLT VVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
45	抗体4C3 全长HC	EVQLVESGGGLVQPGRSRLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWKS GS IGYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCVKGYVYILTGLDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVH TFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLT VLVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP VLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
46	抗体6E11 全长HC	EVQLVESGGALVQPGRSRLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGITWNSGG IGYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDRYSSWLLFDNWGQG ILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLT VLVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP PVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
47	抗体 CD73.10-IgG2-C219S 全 长HC	QVQLVESGGGVVQPGRSRLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAVI WYDESN KYYPDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSSWYPDSFDIWGQG TMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNV D HKPSNTKVDKTKVERKSCVECP PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTFRVVS VLT VVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
48	抗体 CD73.10-IgG2-C219S-Ig G1.1 全长HC	QVQLVESGGGVVQPGRSRLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAVI WYDESN KYYPDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSSWYPDSFDIWGQG TMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNV D HKPSNTKVDKTKVERKSCVECP PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVS VLT VLVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQ

[0517]

		PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
49	抗体 CD73.10-IgG1.1 全长HC (IgG1.1 – IgG1.1(L234A/L235E/G2 37A)-IgG1.1(A330S/P331 S)-IgG1.1)	QVQLVESGGGVVQPGRSRLRSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWD ^{ESN} KYYPDSVKGRFTISRDN ^{SKNT} LYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSSWY ^{PD} SFDI ^{WG} QG TMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT ^{SV} SWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSV ^{VT} VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPS ^{VFL} FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
50	抗体 CD73.4-IgG2-C219S 全长HC	QVQLVESGGGVVQPGRSRLRSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAVILYDGSN KYYPDSVKGRFTISRDN ^{SKNT} LYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSSWY ^{PD} SFDI ^{WG} QG TMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT ^{SV} SWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSV ^{VT} VPSSNFGTQTYTCNV ^{DH} KPSNTKVDK ^{TV} VERKSCVECP PCPAPPVAGPSV ^{FL} FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
51	抗体 CD73.3-IgG1.1 全长 HC (IgG1.1 – IgG1.1(L234A/L235E/G2 37A)-IgG1.1(A330S/P331 S)-IgG1.1)	EVQLVESGGGLVQPGRSRLRSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWKS ^{GS} IGYADSVKGRFTISRDN ^{AKNS} LYLQMNSLRAEDT ^V LYYCVKGYV ^{ILT} GLDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT ^{SV} SWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSV ^{VT} VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAEGAPS ^{VFL} FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
52	全长重链恒定区 IgG2-IgG2-IgG2-IgG2	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT ^{SV} SWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSV ^{VT} VPSSNFGTQTYTCNV ^{DH} KPSNTKVDK ^{TV} VERKCCVECP ^{PC} PAPPV AGPSV ^{FL} FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
53	全长重链恒定区 IgG1-IgG1-IgG1-IgG1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT ^{SV} SWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSV ^{VT} VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSV ^{FL} FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0518]

54	全长重链恒定区 IgG1-IgG1.1(L234A/L235 E/G237A)-IgG1 (A330S/P331S)-IgG1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPRE PQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
55	全长重链恒定区 IgG2-IgG2/IgG1 杂合体 -IgG1-IgG1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
56	全长重链恒定区 IgG2-IgG2-IgG1.1(A330/ P331S)-IgG1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPPCAPPV AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQV YITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
57	表2-铰链域	VDKRV
58	表2-铰链域	VDKTV
59	表2-铰链域	EPKSCDKTHT
60	表2-铰链域	ERK
61	表2-铰链域	ELKTPLGDTTHT
62	表2-铰链域	EPKS
63	表2-铰链域	ESKYGPP
64	表2-铰链域	CPPCP
65	表2-铰链域	CCVECPPCP
66	表2-铰链域	CPRCP
67	表2-铰链域	EPKSCDTPPPCPRCP
68	表2-铰链域	CDTPPPCPRCP
69	表2-铰链域	CPSCP
70	表2-铰链域	APELLGG
71	表2-铰链域	APPVAG
72	轻链 11F11	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGGGTKEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
73	轻链 4C3	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATG IPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGGGTKEIKRTVAAPS

[0519]

		VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
74	轻链 6D11	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGSSFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
75	抗G1TR 抗体VH	QVQLVESGEGGVVQPGSRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKLEWVAWIWYEGSN KYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSMVRGDYYYGMDVW GGGTTVTVSS
76	抗G1TR 抗体VL	AIQLTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESG VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPYTFGGGTKLEIK
77	抗G1TR 抗体LC	AIQLTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESG VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPYTFGGGTKLEIKRTVAAPS <u>VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS</u> <u>TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</u>
78	IgG1f	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
79	IgG2.3	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKSKVCEPCPPCAPPV AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
80	IgG2.3G1-AY	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKSKVCEPCPPCAPPV LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
81	IgG2.3G1-KH	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKSKVCEPCPPCAPPV AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0520]

82	IgG2.5	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPPCAPPV AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
83	IgG1.1f	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKSCDKTHTCPPCPA PEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
84	IgG2.3G1.1f-KH	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPPCAPPV AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
85	IgG1-deltaTHT	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKSCDKCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
86	IgG2.3-plusTHT	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVEVETHTCPPCPA PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
87	IgG2.3-plusGGG	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVEGGGCPPCPA PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0521]

88	IgG2.5G1.1f-KH	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCAPPV AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTSKAKGQPREPQVY TLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFLL YSKLTVDKSRWQQGNVSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
89	IgG2.5G1-AY	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCAPPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
90	IgG2.5G1-KH	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCAPPV AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFLL YSKLTVDKSRWQQGNVSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
91	IgG2.5-plusTHT	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVEHTCPPCA PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
92	IgG1-G2.3G1-AY	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKSCVECPPCAPPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
93	IgG1-G2.3G1-KH	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKSCVECPPCAPPV AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPSSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFLL YSKLTVDKSRWQQGNVSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
94	G2-G1-G1-G1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVER KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS

[0522]

		HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
95	G2.5-G1-G1-G1	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSNFGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV KSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
96	G1-G2.3-G2-G2	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV KSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
97	G1-KRGE GSSNLF	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSNFGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV KSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
98	G1-KRGE GS	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV KSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
99	G1-SNLF	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSNFGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV KSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0523]

100	IgG1-ITNDRTPR	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVR KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYCKKVSNAKALPAIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
101	G1-SNLFPR	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSNFGTQTYICNVNHKPSNTKVDKTVR KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYCKKVSNAKALPAIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
102	G2-RKEGSGNSFL	ASTKGPSVFPLAPCSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVR KSCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGK EYCKKVSNAKGLPAIEKTIKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
103	G2-RKEGSG	ASTKGPSVFPLAPCSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVR KSCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGK EYCKKVSNAKGLPAIEKTIKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
104	G2-NSFL	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVR KSCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGK EYCKKVSNAKGLPAIEKTIKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
105	IgG2-TIDNTRRP	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSNFGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS

[0524]

		HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPAIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
106	G2-NSFLRP	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVEP KSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPAIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
107	G1-G1-G2-G1-AY	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCDKHTCPCPPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPAIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
108	G1-G1-G2-G1-KH	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCDKHTCPCPPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPAIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
109	G2-G2.3-G1-G2-KH	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVEP KSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
110	G2.5-G2.3-G1-G2-KH	ASTKGPSVFPLAPSRSSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVEP KSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0525]

111	G2-G2.3-G1-G2-AY	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV KSCVECPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
112	G2.5-G2.3-G1-G2-AY	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV KSCVECPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
113	G1-G2.3-G1-G1-KH	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV KSCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
114	G2-G1-G2-G2-AY	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV KSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
115	G2.5-G1-G2-G2-AY	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV KSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
116	G1-G2-G1-G1-AY	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV KSCVECPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK

[0526]

		EYKCKVSNKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
117	G2-G1-G2-G2-KH	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDNLNGKEYKCKVSNKGLPAIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
118	G2.5-G1-G2-G2-KH	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDNLNGKEYKCKVSNKGLPAIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
119	IgG1-deltaHinge	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDNLNGKEYKCKVSNKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
120	IgG2-deltaHinge	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDNLNGKEYKCKVSNKGLPAIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
121	IgG2.5-deltaHinge	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDNLNGKEYKCKVSNKGLPAIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
122	IgG1-deltaG237	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV

[0527]

		HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
123	IgG2-plusG237	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVET KSCVECPPCPAPPVAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
124	IgG2.4	ASTKGP SVFPLAPCSR STSESTAALG CLVKDYFPEP VTVSWNSGAL TSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSNF GTQTYTCNV DHKPSNTKVDK TVERKCSVEC PPCPAPPVAG PSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVQFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQFN STFRVSVLT VVHQDWLNGK EYKCKVSNKG LPAPIEKTIS KTKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPM LSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
125	IgG2.3/4	ASTKGP SVFPLAPCSR STSESTAALG CLVKDYFPEP VTVSWNSGAL TSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSNF GTQTYTCNV DHKPSNTKVDK TVERKSSVEC PPCPAPPVAG PSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVQFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQFN STFRVSVLT VVHQDWLNGK EYKCKVSNKG LPAPIEKTIS KTKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPM LSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
126	铰链IgG2 C220S	ERKCSVECPPCPAPPVAG
127	IgG2/IgG1 杂 合 铰 链 C220S	ERKCSVECPPCPAPELLGG
128	野生型IgG2铰链部分	ERKCCVECPPCAP
129	IgG2铰链部分 C219S	ERKSCVECPPCAP
130	IgG2铰链部分 C220S	ERKCSVECPPCAP
131	IgG2铰链部分 C219X	ERKXCVCPPCAP
132	IgG2铰链部分 C220X	ERKCXVECPPCAP
133	IgG2 CH1+IgG2铰链(野生型)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVETKVERKCCVECPPCPAPPV AG
134	具有C219X的 IgG2	ERKXCVCPPCPAPPVAG

[0528]

135	具有C220X的 IgG2	ERKCXVECPPCPAPPVAG
136	具有 C219X的IgG2/IgG1 杂合体	ERKXCVCEPPCPAPPELLG
137	具有 C220X的 IgG2/IgG1 杂合体	ERKCVCEPPCPAPPELLG
138	IgG2/IgG1杂合体 deltaG	ERKCCVECPPCPAPPELLG
139	具有 C219S deltaG 的 IgG2/IgG1杂合体	ERKSCVECPPCPAPPELLG
140	具有 C220S deltaG 的 IgG2/IgG1杂合体	ERKCSVECPPCPAPPELLG
141	具有 C219X deltaG 的 IgG2/IgG1杂合体	ERKXCVCEPPCPAPPELLG
142	具有 C220X deltaG 的 IgG2/IgG1杂合体	ERKCXVECPPCPAPPELLG
143	野生型IgG2 具有C-端X	ERKCCVECPPCPAPPVAGX
144	具有C219S的IgG2 具有 C-端X	ERKSCVECPPCPAPPVAGX
145	具有C220S的IgG2 具有 C-端X	ERKCSVECPPCPAPPVAGX
146	具有C219X的IgG2 具有 C-端X	ERKXCVCEPPCPAPPVAGX
147	具有C220X的IgG2 具有 C-端X	ERKCXVECPPCPAPPVAGX
148	IgG2铰链部分	PVAG
149	IgG1铰链部分	SCDKTHT
150	IgG1铰链部分 1	ELLG
151	IgG1铰链部分 2	ELLGG
152	IgG2.3-V13	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKSKVECPPCPAPPV AGDSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
153	IgG2.3-V14	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKSKVECPPCPAPPV AGDSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDGEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0529]

154	IgG2.3-V15	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKRSKCECPPCAPPV AGDSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDDEGEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
155	IgG2.3-V16	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKRSKCECPPCAPPV AGDSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDGEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPRPIEKTISKTKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
156	IgG2.3-V17	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKRSKCECPPCAPPV AGDSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDDEGEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPRPIEKTISKTKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
157	IgG2.3-V18	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKRSKCECPPCAPPV AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVEHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
158	IgG2.3-V19	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKRSKCECPPCAPPV AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVEHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
159	IgG2.3G1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKRSKCECPPCAPPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
160	IgG2.3G1-V20	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKRSKCECPPCAPPEL LGGDSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP

[0530]

		REEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
161	IgG2.3G1-V21	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKSKVCEPPCPAPEL LGDDSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDGEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
162	IgG2.3G1-V22	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKSKVCEPPCPAPEL LGDDSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDGEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
163	IgG2.3G1-V23	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKSKVCEPPCPAPEL LGDDSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDGEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPRPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
164	IgG2.3G1-V24	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKSKVCEPPCPAPEL LGDDSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDGEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPRPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
165	IgG2.3G1-V25	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKSKVCEPPCPAPEL LGDDSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDGEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPRPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
166	IgG2.3G1-V26	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKSKVCEPPCPAPDL LGDDSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDGEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPRPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0531]

167	IgG2.3G1-V27	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTVERKSCVECPGPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
168	IgG2.3G1-V28	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTVERKSCVECPGPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFAPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0532] 本领域技术人员会使用不超过常规实验认识到或能够确定本申请描述的具体实施方案的许多等同方案。这样的等同方案意欲由所附权利要求所涵盖。

序列表

<110> 百时美施贵宝公司(BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY)

N•伦贝格(LONBERG, Nils)

A•J•科曼(KORMAN, Alan J.)

M•J•塞尔比(SELBY, Mark J.)

B•C•巴恩哈特(BARNHART, Bryan)

A•P•亚姆尼克(YAMNIUK, Aaron P.)

M•斯里尼瓦桑(SRINIVASAN, Mohan)

K•A•亨宁(HENNING, Karla)

M•M•韩(HAN, Michelle Minhua)

M•雷(LEI, Ming)

L•施魏策尔(SCHWEIZER, Liang)

S•V•哈彻(HATCHER, Sandra V.)

A•赖帕尔(RAJPAL, Arvind)

<120> 包含修饰的重链恒定区的抗体

[0001]

<130> MXI-539PC

<140> PCT/US2015/061632

<141> 2015-11-19

<150> US 62/083,021

<151> 2014-11-21

<160> 170

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 330

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(330)

<223> 全长 IgG1 野生型

<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
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
[0002] Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

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

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 2

<211> 98

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(98)

<223> CH1 IgG1 野生型

<400> 2

[0003]

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

Lys Val

<210> 3

<211> 22

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<220>

<221> misc_feature
<222> (1)..(22)
<223> 铰链 IgG1 野生型
<400> 3
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15
Pro Glu Leu Leu Gly Gly
20
<210> 4
<211> 103
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(103)
<223> CH2 IgG1 野生型
[0004] <400> 4
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
1 5 10 15
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
20 25 30
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
35 40 45
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
50 55 60
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
65 70 75 80
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
85 90 95
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
100
<210> 5
<211> 107
<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(107)
<223> CH3 IgG1 野生型
<400> 5
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
1 5 10 15
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
20 25 30
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
35 40 45
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
65 70 75 80
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
[0005] 85 90 95
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
100 105
<210> 6
<211> 326
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(326)
<223> 全长 IgG2 野生型
<400> 6
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

[0006]

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 Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325
<210> 7
<211> 98
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(98)
<223> CH1 IgG2 野生型
<400> 7
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
[0007] 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> 8
<211> 18
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(18)
<223> 铰链 IgG2 野生型
<400> 8

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
1 5 10 15
Ala Gly
<210> 9
<211> 103
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(103)
<223> CH2 IgG2 野生型
<400> 9
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
1 5 10 15
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
20 25 30
Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
[0008] 35 40 45
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
50 55 60
Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
65 70 75 80
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu
85 90 95
Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
100
<210> 10
<211> 107
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(107)
<223> CH3 IgG2 野生型

<400> 10
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
1 5 10 15
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
20 25 30
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
35 40 45
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
65 70 75 80
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
100 105
<210> 11
<211> 377
[0009] <212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(377)
<223> 全长 IgG3 野生型
<400> 11
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
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

[0010]

Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro
100 105 110

Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg
115 120 125

Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys
130 135 140

Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
145 150 155 160

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
165 170 175

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
180 185 190

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr
195 200 205

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
210 215 220

Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
225 230 235 240

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
245 250 255

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
260 265 270

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
275 280 285

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
290 295 300

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn
305 310 315 320

Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
325 330 335

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile
340 345 350

[0011]

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
355 360 365

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
370 375

<210> 12

<211> 98

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(98)

<223> CH1 IgG3 野生型

<400> 12

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
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 Thr Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val

<210> 13

<211> 18

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(18)

<223> 铰链 IgG3 野生型

<400> 13
Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Arg Cys
1 5 10 15
Pro Glu
<210> 14
<211> 154
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(154)
<223> CH2 IgG3 野生型
<400> 14
Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu Pro
1 5 10 15
Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu Pro Lys
20 25 30
[0012] Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Ala Pro Glu Leu
35 40 45
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
50 55 60
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
65 70 75 80
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr Val Asp Gly Val
85 90 95
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
100 105 110
Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
115 120 125
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
130 135 140
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
145 150
<210> 15

<211> 107
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(107)
<223> CH3 IgG3 野生型
<400> 15
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
1 5 10 15
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
20 25 30
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu
35 40 45
Asn Asn Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
[0013] 65 70 75 80
Asn Ile Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe
85 90 95
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
100 105
<210> 16
<211> 327
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(327)
<223> 全长 IgG4 野生型
<400> 16
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

[0014]

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 Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325
<210> 17
<211> 98
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(98)
<223> CH1 IgG4 野生型
<400> 17
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
[0015] 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> 18
<211> 19
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(19)

<223> 铰链 IgG4 野生型
<400> 18
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe
1 5 10 15
Leu Gly Gly
<210> 19
<211> 103
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(103)
<223> CH2 IgG4 野生型
<400> 19
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
1 5 10 15
[0016] Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
20 25 30
Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
35 40 45
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg
50 55 60
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
65 70 75 80
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
85 90 95
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
100
<210> 20
<211> 107
<212> PRT
<213> 人(Homo sapiens)
<220>
<221> misc_feature

<222> (1)..(107)

<223> CH3 IgG4 野生型

<400> 20

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

100 105

[0017]

<210> 21

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 修饰的 IgG2 较链(C219S)

<400> 21

Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val

1 5 10 15

Ala Gly

<210> 22

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG2/IgG1 杂合较链

<400> 22

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
1 5 10 15
Leu Gly Gly
<210> 23
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG2 C219S/IgG1 杂合铰链
<400> 23
Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
1 5 10 15
Leu Gly Gly
<210> 24
<211> 103
<212> PRT
<213> 人工序列
[0018] <220>
<223> 合成的: 修饰的 CH2 IgG1 (A330S/P331S)
<400> 24
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
1 5 10 15
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
20 25 30
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
35 40 45
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
50 55 60
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
65 70 75 80
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu
85 90 95
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
100

<210> 25
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG1.1 铰链(L234A/L235E/G237A)
<400> 25
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15
Pro Glu Ala Glu Gly Ala
20
<210> 26
<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
[0019] <223> 合成的: IgG1 IgG2 IgG1 (IgG1 IgG2/IgG1(SEQ#22) IgG1 IgG1)
<400> 26
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
Lys Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

[0020]

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325
<210> 27
<211> 325
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG1 IgG2 IgG12 (IgG1 IgG2(SEQ#8) IgG1 IgG1)
<400> 27
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
Lys Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
[0021] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
165 170 175
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly
325
<210> 28
<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG2 IgG1 (IgG2 IgG2/IgG1(SEQ#22) IgG1 IgG1)
<400> 28
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
[0022] 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 Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

[0023]

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325
<210> 29
<211> 325
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG2 IgG12 (IgG2 IgG2(SEQ#8) IgG1 IgG1)
<400> 29
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

[0024]

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 Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly
325
<210> 30
<211> 325
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG1 IgG2 IgG1.1 (IgG1 IgG2(SEQ#8) IgG1(A330S/P331S)
IgG1)
<400> 30
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
[0025] 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
Lys Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
165 170 175
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp

180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
195 200 205
Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
[0026] Ser Leu Ser Pro Gly
325
<210> 31
<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG2 IgG1.1 (IgG2 IgG2(SEQ#8) IgG1(A330S/P331S) IgG1)
<400> 31
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

[0027]

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 Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
165 170 175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
195 200 205

Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 32

<211> 325

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG1 IgG2CS IgG1 (IgG1 IgG2(C219S) IgG1 IgG1)

<400> 32

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

[0028]

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Lys Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

[0029]

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly

325

<210> 33

<211> 325

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG1 IgG2CS IgG12 (IgG1 IgG2(C219S) IgG1 IgG1)

<400> 33

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

[0030]

Lys Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
165 170 175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 34

<211> 325

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG2CS IgG1 (IgG2 IgG2(C219S) IgG1 IgG1)

<400> 34

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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

[0031]

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

	245 250 255
	Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
	260 265 270
	Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
	275 280 285
	Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
	290 295 300
	Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
	305 310 315 320
	Ser Leu Ser Pro Gly
	325
	<210> 35
	<211> 325
	<212> PRT
	<213> 人工序列
	<220>
[0032]	<223> 合成的: IgG2CS IgG12 (IgG2 IgG2(C219S) IgG1 IgG1)
	<400> 35
	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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
	100 105 110
	Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
	115 120 125

[0033]

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
165 170 175
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly
325
<210> 36
<211> 325
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG1 IgG2CS IgG1.1 (IgG1 IgG2(C219S) IgG1(A330S/P331S)
IgG1)
<400> 36

[0034]

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

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 37

<211> 325

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG2CS IgG1.1 (IgG2 IgG2(C219S) IgG1(A330S/P331S)
IgG1)

<400> 37

[0035] 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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

[0036]

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
165 170 175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
195 200 205

Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 38

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 抗体 11F11 VH

<400> 38

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 Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Leu Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Pro 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 Arg Gly Gly Ser Ser Trp Tyr Pro Asp Ser Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 39
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
[0037] <220>
<223> 合成的: 抗体 4C3 VH
<400> 39
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Lys Ser Gly Ser Ile Gly 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 Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Lys Gly Tyr Tyr Val Ile Leu Thr Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 40
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: 抗体 CD73.10 VH
<400> 40
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 Asn Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Glu Ser Asn Lys Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60
[0038] 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 Arg Gly Gly Ser Ser Trp Tyr Pro Asp Ser Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 41
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: 抗体 CD73.3 VH (4C3 / V94A)
<400> 41
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Lys Ser Gly Ser Ile Gly 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 Val Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95

Val Lys Gly Tyr Tyr Val Ile Leu Thr Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 42

<211> 121

<212> PRT

[0039]

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 抗体 6E11 VH

<400> 42

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Ala Leu Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Gly Ile Thr Trp Asn Ser Gly Gly Ile Gly 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 Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Asp Arg Tyr Tyr Ser Ser Trp Leu Leu Phe Asp Asn Trp Gly

100 105 110
Gln Gly Ile Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 43
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: 抗体 CD73.4 VH
<400> 43
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 Asn Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Leu Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
[0040] 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 Arg Gly Gly Ser Ser Trp Tyr Pro Asp Ser Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 44
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: 抗体 11F11 全长 HC
<400> 44
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 Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Leu Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Pro 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 Arg Gly Gly Ser Ser Trp Tyr Pro Asp Ser Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
130 135 140
[0041] Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys
210 215 220
Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
225 230 235 240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275 280 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
290 295 300
Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335
Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350
Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
385 390 395 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415
[0042] Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445
<210> 45
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: 抗体 4C3 全长 HC
<400> 45
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Lys Ser Gly Ser Ile Gly 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 Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Val Lys Gly Tyr Tyr Val Ile Leu Thr Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

[0043] Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

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

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445
Gly Lys
450
<210> 46
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: 抗体 6E11 全长 HC
<400> 46
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Ala Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Thr Trp Asn Ser Gly Gly Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

[0044]

65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Asp Arg Tyr Tyr Ser Ser Trp Leu Leu Phe Asp Asn Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Ile Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205
[0045] Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

[0046]

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Pro Gly Lys

450

<210> 47

<211> 446

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 抗体 CD73.10 IgG2 C219S 全长 HC

<400> 47

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 Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

[0047]

Ala Arg Gly Gly Ser Ser Trp Tyr Pro Asp Ser Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys
210 215 220

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

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

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
385 390 395 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445
<210> 48
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: 抗体 CD73.10 IgG2 C219S IgG1.1 全长 HC
<400> 48
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 Asn Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Glu Ser Asn Lys Tyr Tyr Pro 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 Arg Gly Gly Ser Ser Trp Tyr Pro Asp Ser Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala

[0048]

130 135 140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys
210 215 220
Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
225 230 235 240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270
[0049] Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350
Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
385 390 395 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

405 410 415
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445
<210> 49
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: 抗体 CD73.10 IgG1.1 全长 HC (IgG1.1
IgG1.1(L234A/L235E/G237A) IgG1.1(A330S/P331S) IgG1.1)
<400> 49
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 Asn Tyr
20 25 30
[0050] Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Glu Ser Asn Lys Tyr Tyr Pro 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 Arg Gly Gly Ser Ser Trp Tyr Pro Asp Ser Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala

[0051]

165 170 175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
225 230 235 240
Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

435 440 445
Pro Gly
450
<210> 50
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: 抗体 CD73.4 IgG2 C219S 全长 HC
<400> 50
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 Asn Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
[0052] Ala Val Ile Leu Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Pro 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 Arg Gly Gly Ser Ser Trp Tyr Pro Asp Ser Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
130 135 140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys
210 215 220

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

[0053] Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

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

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 51

<211> 449

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: 抗体 CD73.3 IgG1.1 全长 HC (IgG1.1
IgG1.1(L234A/L235E/G237A) IgG1.1(A330S/P331S) IgG1.1)
<400> 51
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Lys Ser Gly Ser Ile Gly 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
[0054] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Val Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Lys Gly Tyr Tyr Val Ile Leu Thr Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

[0055]

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

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

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu
325 330 335

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

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 52

<211> 326

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 全长重链恒定区 IgG2 IgG2 IgG2

IgG2

<400> 52

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 Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

[0056]

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 53

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0057]

<223> 合成的: 全长重链恒定区 IgG1 IgG1 IgG1

IgG1

<400> 53

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

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

100 105 110

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

115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
[0058] Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330
<210> 54
<211> 329
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: 全长重链恒定区 IgG1
IgG1.1(L234A/L235E/G237A) IgG1.1 (A330S/P331S) IgG1

<400> 54

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

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

100 105 110

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

115 120 125

[0059]

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

325

<210> 55

<211> 326

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 全长重链恒定区 IgG2 IgG2/IgG1

杂合的 IgG1 IgG1

[0060]

<400> 55

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 Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
[0061] Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325
<210> 56
<211> 325
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: 全长重链恒定区 IgG2 IgG2
IgG1.1(A330/P331S) IgG1
<400> 56
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 Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
[0062] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
165 170 175
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
195 200 205
Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly

325

<210> 57

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 表 2 铰链域

<400> 57

Val Asp Lys Arg Val

1 5

[0063] <210> 58

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 表 2 铰链域

<400> 58

Val Asp Lys Thr Val

1 5

<210> 59

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 表 2 铰链域

<400> 59

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

1 5 10

<210> 60

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 表 2 铰链域

<400> 60

Glu Arg Lys

1

<210> 61

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 表 2 铰链域

[0064] <400> 61

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

1 5 10

<210> 62

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 表 2 铰链域

<400> 62

Glu Pro Lys Ser

1

<210> 63

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 表 2 铰链域

<400> 63

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro

1 5

<210> 64

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 表 2 铰链域

<400> 64

Cys Pro Pro Cys Pro

1 5

<210> 65

<211> 9

<212> PRT

[0065] <213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 表 2 铰链域

<400> 65

Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro

1 5

<210> 66

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 表 2 铰链域

<400> 66

Cys Pro Arg Cys Pro

1 5

<210> 67

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 表 2 铰链域

<400> 67

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro

1 5 10 15

<210> 68

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 表 2 铰链域

<400> 68

Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro

1 5 10

[0066] <210> 69

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 表 2 铰链域

<400> 69

Cys Pro Ser Cys Pro

1 5

<210> 70

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 表 2 铰链域

<400> 70

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly

1 5
<210> 71
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: 表 2 铰链域
<400> 71

Ala Pro Pro Val Ala Gly

1 5
<210> 72
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: 轻链 11F11
<400> 72

[0067]

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 Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser 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 Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210
<210> 73
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
[0068] <223> 合成的: 轻链 4C3
<400> 73
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 74

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0069]

<223> 合成的: 轻链 6D11

<400> 74

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Gly Ser Ser Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210
<210> 75
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
[0070] <220>
<223> 合成的: 抗 GITR 抗体 VH
<400> 75
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 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 Val Ile Trp Tyr Glu 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 Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 76
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: 抗 GITR 抗体 VL
<400> 76
Ala Ile Gln Leu 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 Ser Ala
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 Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
[0071] 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 Phe Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105
<210> 77
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: 抗 GITR 抗体 LC
<400> 77
Ala Ile Gln Leu 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 Ser Ala
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 Ser Ser Leu Glu 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 Phe Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

[0072]

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 78

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG1f

<400> 78

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 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
[0073] Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

	290 295 300
	Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
	305 310 315 320
	Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
	325 330
	<210> 79
	<211> 326
	<212> PRT
	<213> 人工序列
	<220>
	<223> 合成的: IgG2.3
	<400> 79
	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
[0074]	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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
	100 105 110
	Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
	115 120 125
	Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
	130 135 140
	Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
	145 150 155 160
	Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
	165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325
<210> 80
<211> 327
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG2.3G1 AY
<400> 80
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

[0075]

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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
[0076] Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325
<210> 81
<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG2.3G1 KH
<400> 81
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
[0077] 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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
165 170 175
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325
<210> 82
<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG2.5
<400> 82
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser 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

[0078]

85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
[0079] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325
<210> 83
<211> 330
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG1.1f

<400> 83

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

[0080]

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 84

<211> 326

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG2.3G1.1f KH

<400> 84

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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

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

[0081]

115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
165 170 175
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
195 200 205
Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
[0082] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325
<210> 85
<211> 327
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG1 deltaTHT
<400> 85

[0083]

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

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 86

<211> 329

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG2.3 plusTHT

<400> 86

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

[0084]

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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
115 120 125

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
130 135 140

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

145 150 155 160
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
165 170 175
Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His
180 185 190
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
195 200 205
Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
210 215 220
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
225 230 235 240
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
245 250 255
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
260 265 270
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
275 280 285
[0085] Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
290 295 300
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
305 310 315 320
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325
<210> 87
<211> 329
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG2.3 plusGGG
<400> 87
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

[0086]

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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Gly Gly Gly Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
115 120 125

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
130 135 140

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
145 150 155 160

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
165 170 175

Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His
180 185 190

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
195 200 205

Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
210 215 220

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
225 230 235 240

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
245 250 255

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
260 265 270

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
275 280 285

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
290 295 300

[0087]

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
305 310 315 320
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325
<210> 88
<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG2.5G1.1f KH
<400> 88
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser 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 Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
165 170 175
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp

180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
195 200 205
Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
[0088] Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325
<210> 89
<211> 327
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG2.5G1 AY
<400> 89
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser 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 Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

[0089] Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 90

<211> 326

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG2.5G1 KH

<400> 90

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

[0090]

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

[0091]

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 91

<211> 329

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG2.5 plusTHT

<400> 91

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

[0092]

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
115 120 125

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
130 135 140

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
145 150 155 160

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
165 170 175

Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His
180 185 190

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
195 200 205

Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
210 215 220

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
225 230 235 240

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
245 250 255

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
260 265 270

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
275 280 285

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
290 295 300

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
305 310 315 320

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 92

<211> 327

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG1 G2.3G1 AY

<400> 92

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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

[0093]

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

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

245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325
<210> 93
<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
[0094] <223> 合成的: IgG1 G2.3G1 KH
<400> 93
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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

[0095]

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
165 170 175
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325
<210> 94
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: G2 G1 G1 G1
<400> 94
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 Glu Arg Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
[0096] Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330
<210> 95
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: G2.5 G1 G1 G1
<400> 95
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg
1 5 10 15
[0097] 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 Glu Arg Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

[0098]

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 96

<211> 326

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: G1 G2.3 G2 G2

<400> 96

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 Glu Pro Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
[0099] Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325
<210> 97
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: G1 KRGE GSSNLF
<400> 97
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser 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
[0100] 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 Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

[0101] Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 98

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: G1 KRGECS

<400> 98

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser 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 Gln Thr

[0102]

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 99

<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: G1 SNLF
<400> 99
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 Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
[0103] Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

[0104]

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 100

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG1 ITNDRTPR

<400> 100

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 Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

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

100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240
[0105] Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330
<210> 101
<211> 329
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 合成的: G1 SNLFPR

<400> 101

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 Asn Phe 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 Glu Arg Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

[0106]

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325
<210> 102
<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: G2 RKEGSGNSFL
<400> 102
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys 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 Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

[0107]

130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
[0108] Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325
<210> 103
<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: G2 RKEGSG
<400> 103
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Lys
1 5 10 15

[0109]

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 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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

[0110]

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 104

<211> 326

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: G2 NSFL

<400> 104

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 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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

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

165 170 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
[0111] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325
<210> 105
<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG2 TIDNTRRP
<400> 105
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

[0112]

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 Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325
<210> 106
<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: G2 NSFLRP
<400> 106
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
[0113] Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu 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 Glu Pro Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

[0114]

<210> 107

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: G1 G1 G2 G1 AY

<400> 107

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 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

[0115] Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 108

<211> 329

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: G1 G1 G2 G1 KH

<400> 108

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

[0116]

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

100 105 110

Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

[0117]

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 109

<211> 326

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: G2 G2.3 G1 G2 KH

<400> 109

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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

[0118]

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
165 170 175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 110

<211> 326

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: G2.5 G2.3 G1 G2 KH

<400> 110

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser 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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

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

115 120 125

[0119]

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 111

<211> 326

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: G2 G2.3 G1 G2 AY

<400> 111

[0120]

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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

[0121]

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 112

<211> 327

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: G2.5 G2.3 G1 G2 AY

<400> 112

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

[0122]

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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325
<210> 113
<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: G1 G2.3 G1 G1 KH
<400> 113
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
[0123] 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 Glu Pro Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
165 170 175

[0124]

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325
<210> 114
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: G2 G1 G2 G2 AY
<400> 114
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 Glu Arg Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val
180 185 190
[0125] His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330
<210> 115
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: G2.5 G1 G2 G2 AY
<400> 115
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser 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
[0126] 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 Glu Arg Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330
<210> 116
<211> 327
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: G1 G2 G1 G1 AY
<400> 116
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

[0127]

85 90 95
Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
[0128] Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325
<210> 117
<211> 328
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: G2 G1 G2 G2 KH

<400> 117

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

[0129]

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

100 105 110

Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
245 250 255

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
260 265 270

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
275 280 285

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
290 295 300

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
305 310 315 320

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 118

<211> 329

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0130] <223> 合成的: G2.5 G1 G2 G2 KH

<400> 118

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser 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 Glu Arg Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys

115 120 125
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
130 135 140
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
145 150 155 160
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
165 170 175
Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His
180 185 190
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
195 200 205
Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
210 215 220
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
225 230 235 240
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
245 250 255
[0131] Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
260 265 270
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
275 280 285
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
290 295 300
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
305 310 315 320
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325
<210> 119
<211> 323
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG1 deltaHinge
<400> 119

[0132]

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

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
275 280 285

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
290 295 300

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
305 310 315 320

Pro Gly Lys
<210> 120
<211> 322
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG2 deltaHinge
<400> 120

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

[0133] 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 Glu Arg Lys Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
100 105 110

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
115 120 125

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
130 135 140

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
145 150 155 160

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
165 170 175

Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
180 185 190

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu
195 200 205

Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
210 215 220

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
225 230 235 240

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
245 250 255

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
260 265 270

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
275 280 285

[0134] Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
290 295 300

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
305 310 315 320

Gly Lys

<210> 121

<211> 322

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG2.5 deltaHinge

<400> 121

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

[0135]

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 Glu Arg Lys Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
100 105 110

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
115 120 125

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
130 135 140

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
145 150 155 160

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
165 170 175

Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
180 185 190

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu
195 200 205

Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
210 215 220

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
225 230 235 240

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
245 250 255

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
260 265 270

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
275 280 285

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
290 295 300

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
305 310 315 320

Gly Lys
<210> 122
<211> 328
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG1 deltaG237
<400> 122
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
[0136] 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 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
115 120 125
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
130 135 140
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
145 150 155 160
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
165 170 175
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
180 185 190
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

325

<210> 123

[0137]

<211> 327

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG2 plusG237

<400> 123

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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175
Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
[0138] Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325
<210> 124
<211> 326
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG2.4

<400> 124

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

[0139]

Thr Val Glu Arg Lys Cys Ser Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 125

<211> 326

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0140]

<223> 合成的: IgG2.3/4

<400> 125

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 Glu Arg Lys Ser Ser Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

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

115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
[0141] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325
<210> 126
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: 铰链 IgG2 C220S
<400> 126

Glu Arg Lys Cys Ser Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
1 5 10 15
Ala Gly
<210> 127
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG2/IgG1 杂合体铰链 C220S
<400> 127
Glu Arg Lys Cys Ser Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
1 5 10 15
Leu Gly Gly
<210> 128
<211> 14
<212> PRT
[0142] <213> 人(Homo sapiens)
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(14)
<223> 野生型 IgG2 铰链部分
<400> 128
Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
1 5 10
<210> 129
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG2 铰链部分 C219S
<400> 129
Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
1 5 10

<210> 130

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG2 铰链部分 C220S

<400> 130

Glu Arg Lys Cys Ser Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

1 5 10

<210> 131

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG2 铰链部分 C219X

<220>

[0143] <221> misc_feature

<222> (4)..(4)

<223> Xaa 是除半胱氨酸外的任何氨基酸

<400> 131

Glu Arg Lys Xaa Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

1 5 10

<210> 132

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG2 铰链部分 C220X

<220>

<221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa 是除半胱氨酸外的任何氨基酸

<400> 132

Glu Arg Lys Cys Xaa Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

1 5 10

<210> 133

<211> 116

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(116)

<223> IgG2 CH1+IgG2 铰链(野生型)

<400> 133

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

[0144]

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 Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala Gly

115

<210> 134

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 具有 C219X 的 IgG2

<220>

<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> Xaa 是除半胱氨酸外的任何氨基酸
<400> 134
Glu Arg Lys Xaa Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
1 5 10 15
Ala Gly
<210> 135
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: 具有 C220X 的 IgG2
<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
[0145] <223> Xaa 是除半胱氨酸外的任何氨基酸
<400> 135
Glu Arg Lys Cys Xaa Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
1 5 10 15
Ala Gly
<210> 136
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: 具有 C219X 的 IgG2/IgG1 杂合体
<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> Xaa 是除半胱氨酸外的任何氨基酸
<400> 136
Glu Arg Lys Xaa Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu

1 5 10 15

Leu Gly Gly

<210> 137

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 具有 C220X 的 IgG2/IgG1 杂合体

<400> 137

Glu Arg Lys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

1 5 10 15

Gly Gly

<210> 138

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

[0146] <220>

<223> 合成的: IgG2/IgG1 杂合体 deltaG

<400> 138

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu

1 5 10 15

Leu Gly

<210> 139

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 具有 C219S deltaG 的 IgG2/IgG1 杂合体

<400> 139

Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu

1 5 10 15

Leu Gly

<210> 140

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 具有 C220S deltaG 的 IgG2/IgG1 杂合体

<400> 140

Glu Arg Lys Cys Ser Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu

1 5 10 15

Leu Gly

<210> 141

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 具有 C219X deltaG 的 IgG2/IgG1 杂合体

<220>

[0147] <221> misc_feature

<222> (4)..(4)

<223> Xaa 是除半胱氨酸外的任何氨基酸

<400> 141

Glu Arg Lys Xaa Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu

1 5 10 15

Leu Gly

<210> 142

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 具有 C220X deltaG 的 IgG2/IgG1 杂合体

<220>

<221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa 是除半胱氨酸外的任何氨基酸

<400> 142

Glu Arg Lys Cys Xaa Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu

1 5 10 15

Leu Gly

<210> 143

<211> 19

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(19)

<223> 具有 C 末端 X 的野生型 IgG2

<220>

<221> misc_feature

<222> (19)..(19)

<223> Xaa 是除半胱氨酸外的任何氨基酸

[0148] <400> 143

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val

1 5 10 15

Ala Gly Xaa

<210> 144

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 具有 C219S 具有 C 末端 X 的 IgG2

<220>

<221> misc_feature

<222> (19)..(19)

<223> Xaa 是除半胱氨酸外的任何氨基酸

<400> 144

Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val

1 5 10 15

Ala Gly Xaa
<210> 145
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: 具有 C220S 具有 C 末端 X 的 IgG2
<220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(19)
<223> Xaa 是除半胱氨酸外的任何氨基酸
<400> 145
Glu Arg Lys Cys Ser Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
1 5 10 15
Ala Gly Xaa
<210> 146
[0149] <211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: 具有 C219X 具有 C 末端 X 的 IgG2
<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> Xaa 是除半胱氨酸外的任何氨基酸
<220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(19)
<223> Xaa 是除半胱氨酸外的任何氨基酸
<400> 146
Glu Arg Lys Xaa Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
1 5 10 15
Ala Gly Xaa

<210> 147
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: 具有 C220X 具有 C 末端 X 的 IgG2
<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa 是除半胱氨酸外的任何氨基酸
<220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(19)
<223> Xaa 是除半胱氨酸外的任何氨基酸
<400> 147

Glu Arg Lys Cys Xaa Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val

[0150] 1 5 10 15

Ala Gly Xaa

<210> 148
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG2 铰链部分
<400> 148
Pro Val Ala Gly
1
<210> 149
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG1 铰链部分

<400> 149
Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
1 5
<210> 150
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG1 铰链部分 1
<400> 150
Glu Leu Leu Gly
1
<210> 151
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
[0151] <220>
<223> 合成的: IgG1 铰链部分 2
<400> 151
Glu Leu Leu Gly Gly
1 5
<210> 152
<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG2.3 V13
<400> 152
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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
[0152] Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325
<210> 153
<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG2.3 V14
<400> 153
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
[0153] 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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Gly Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

[0154]

<210> 154

<211> 326

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG2.3 V15

<400> 154

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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Ser Asp Glu Asp Gly Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

[0155]

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 155

<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG2.3 V16
<400> 155
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
[0156] Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Gly Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Arg Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220

[0157]

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 156

<211> 326

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG2.3 V17

<400> 156

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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110
Pro Val Ala Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser Asp Glu Asp Gly Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Arg Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
[0158] Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325
<210> 157
<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 合成的: IgG2.3 V18

<400> 157

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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

[0159]

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Glu His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 158

<211> 326

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG2.3 V19

<400> 158

[0160]

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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140
Val Glu His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Phe Pro
195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
[0161] Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325
<210> 159
<211> 327
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG2.3G1
<400> 159
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

[0162]

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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

[0163]

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 160

<211> 327

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG2.3G1 V20

<400> 160

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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

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

165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
[0164] Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325
<210> 161
<211> 327
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG2.3G1 V21
<400> 161
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

[0165]

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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Gly Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325
<210> 162
<211> 327
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG2.3G1 V22
<400> 162
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
[0166] 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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser Asp Glu Asp Gly Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

[0167]

<210> 163

<211> 327

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG2.3G1 V23

<400> 163

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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Gly Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205

[0168] Pro Arg Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 164

<211> 327

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG2.3G1 V24

<400> 164

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

[0169]

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

[0170]

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 165

<211> 327

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG2.3G1 V25

<400> 165

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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

[0171]

Glu Leu Leu Gly Asp Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Asp Glu Asp Gly Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205

Pro Arg Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 166

<211> 327

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG2.3G1 V26

<400> 166

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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

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

115 120 125

[0172]

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325
<210> 167
<211> 327
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成的: IgG2.3G1 V27
<400> 167
[0173] 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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

[0174]

Asp Val Glu His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 168

<211> 327

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG2.3G1 V28

<400> 168

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

[0175]

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 Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 169

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: 接头

[0176] <400> 169

Pro Val Gly Val Val

1 5

<210> 170

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的: IgG2 铰链部分

<400> 170

Cys Cys Val Glu

1

抗体介导的受体内化
(H2228细胞)

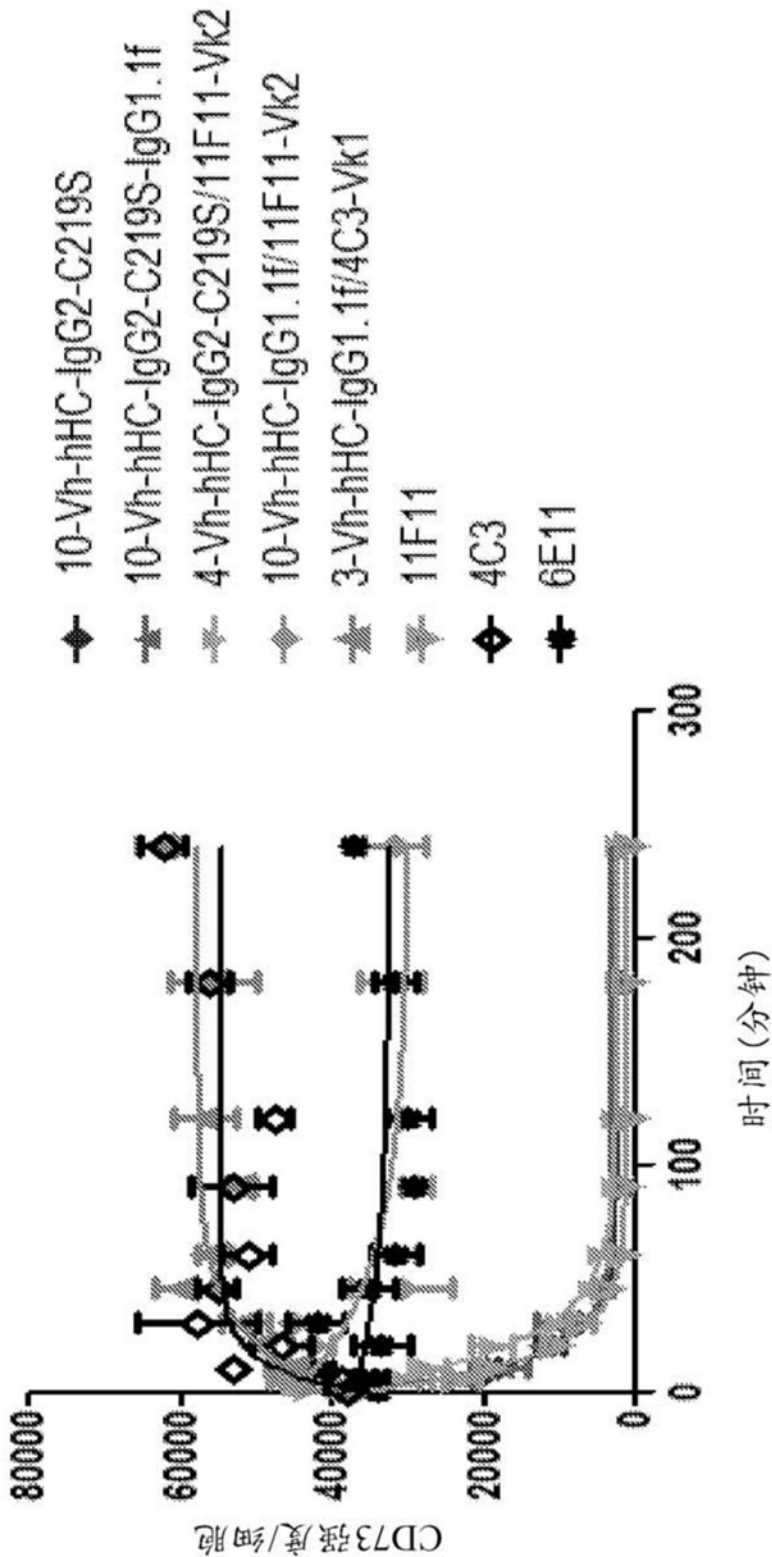


图1A

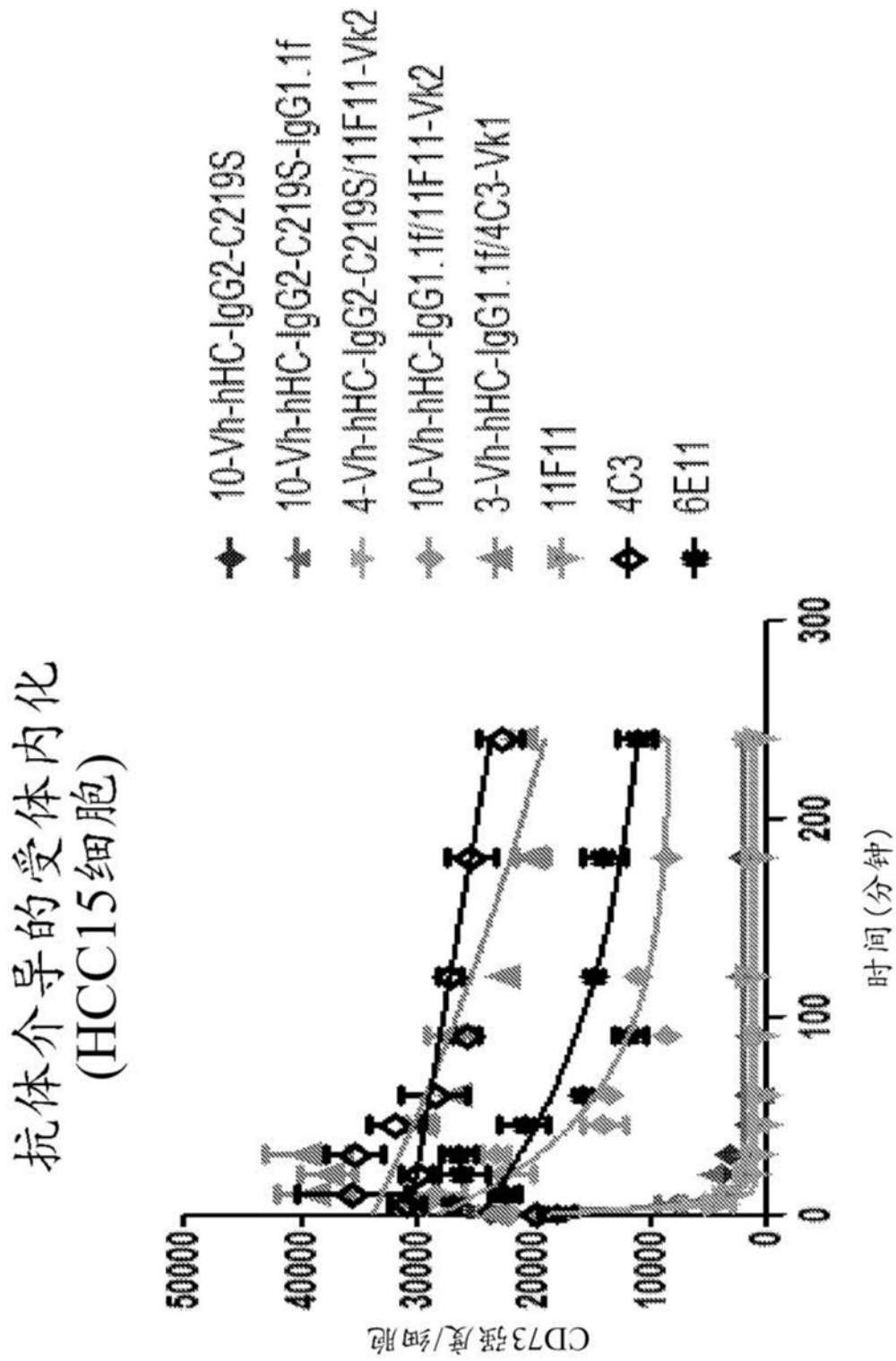


图1B

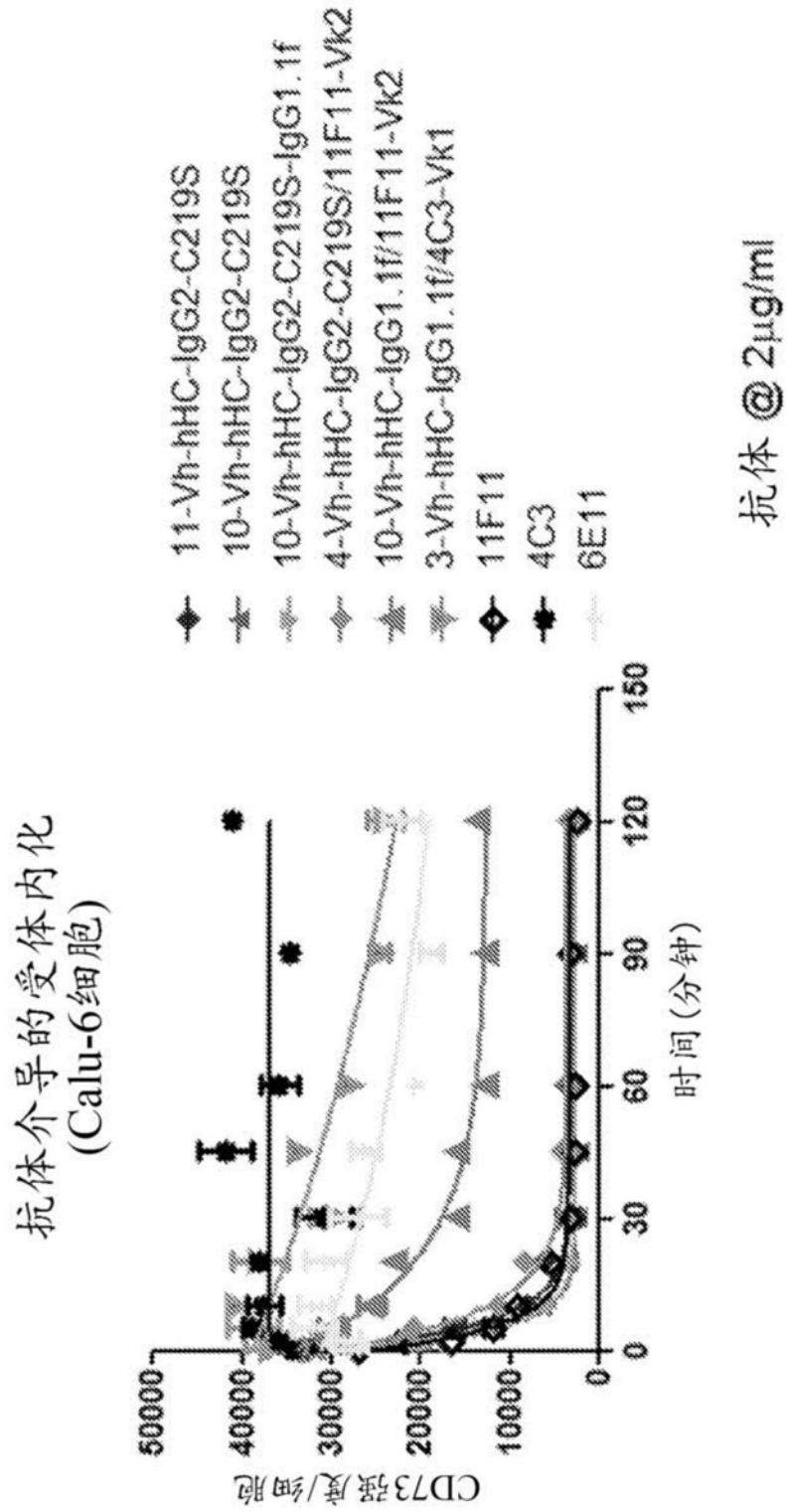


图1C

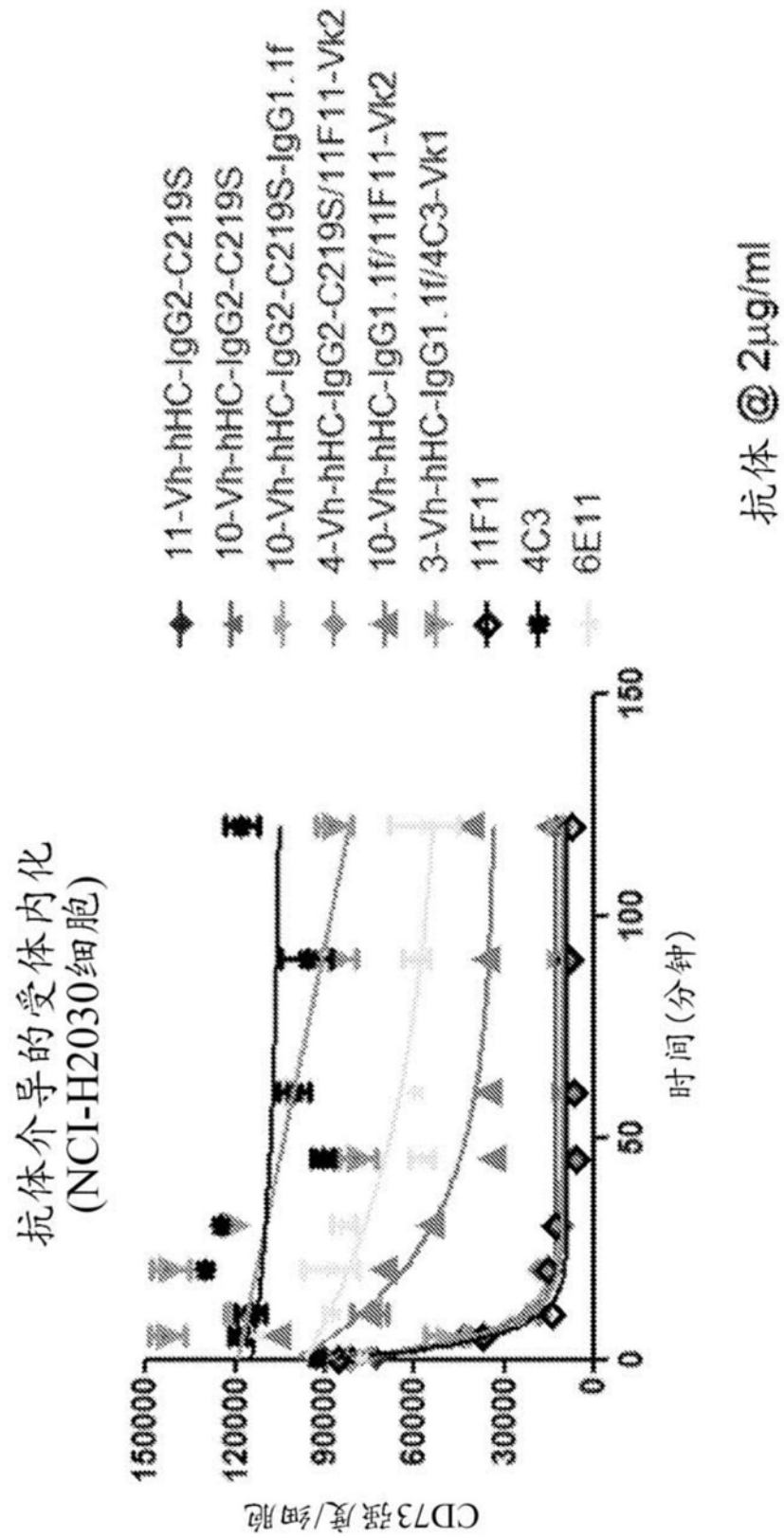


图1D

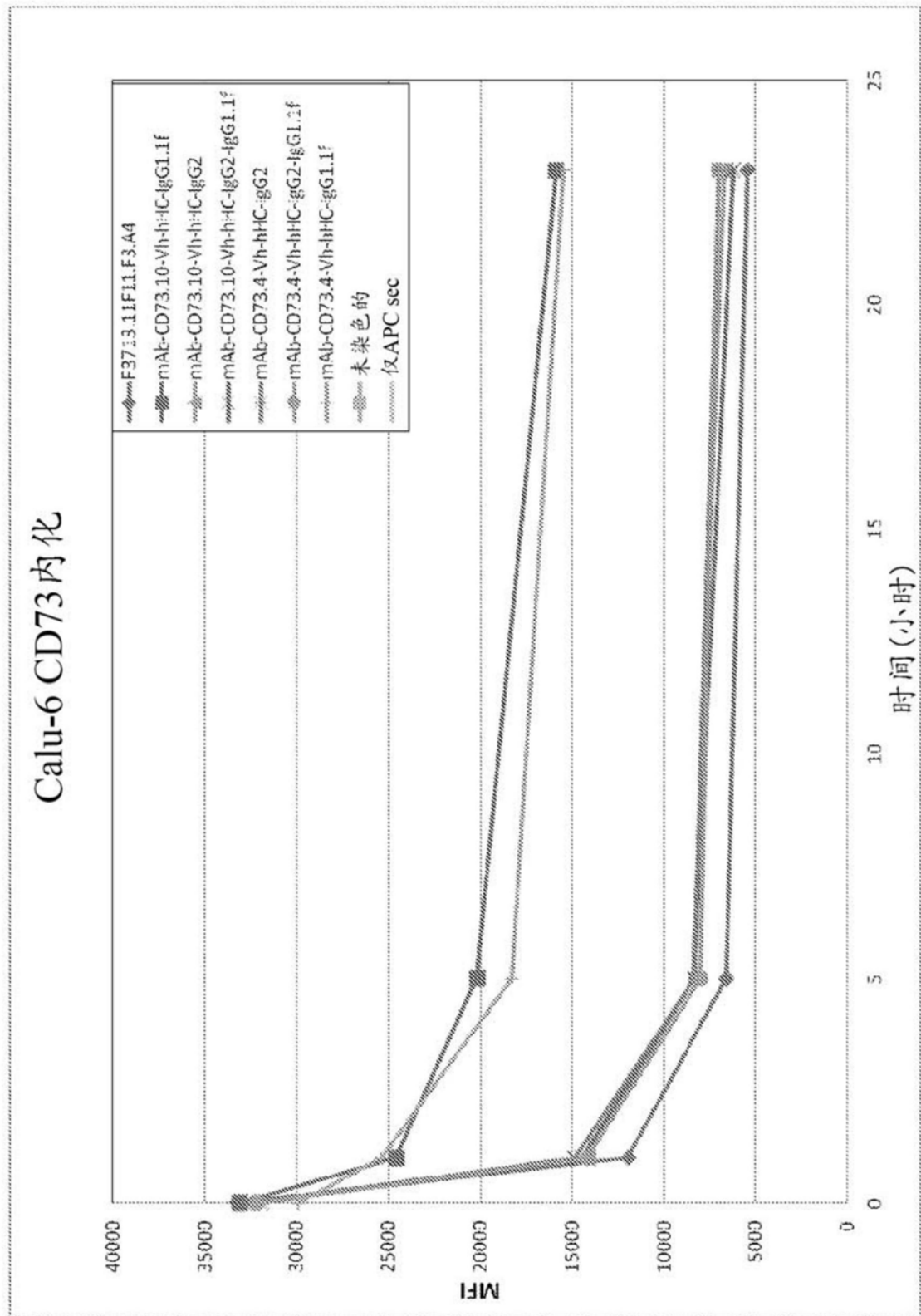


图1E

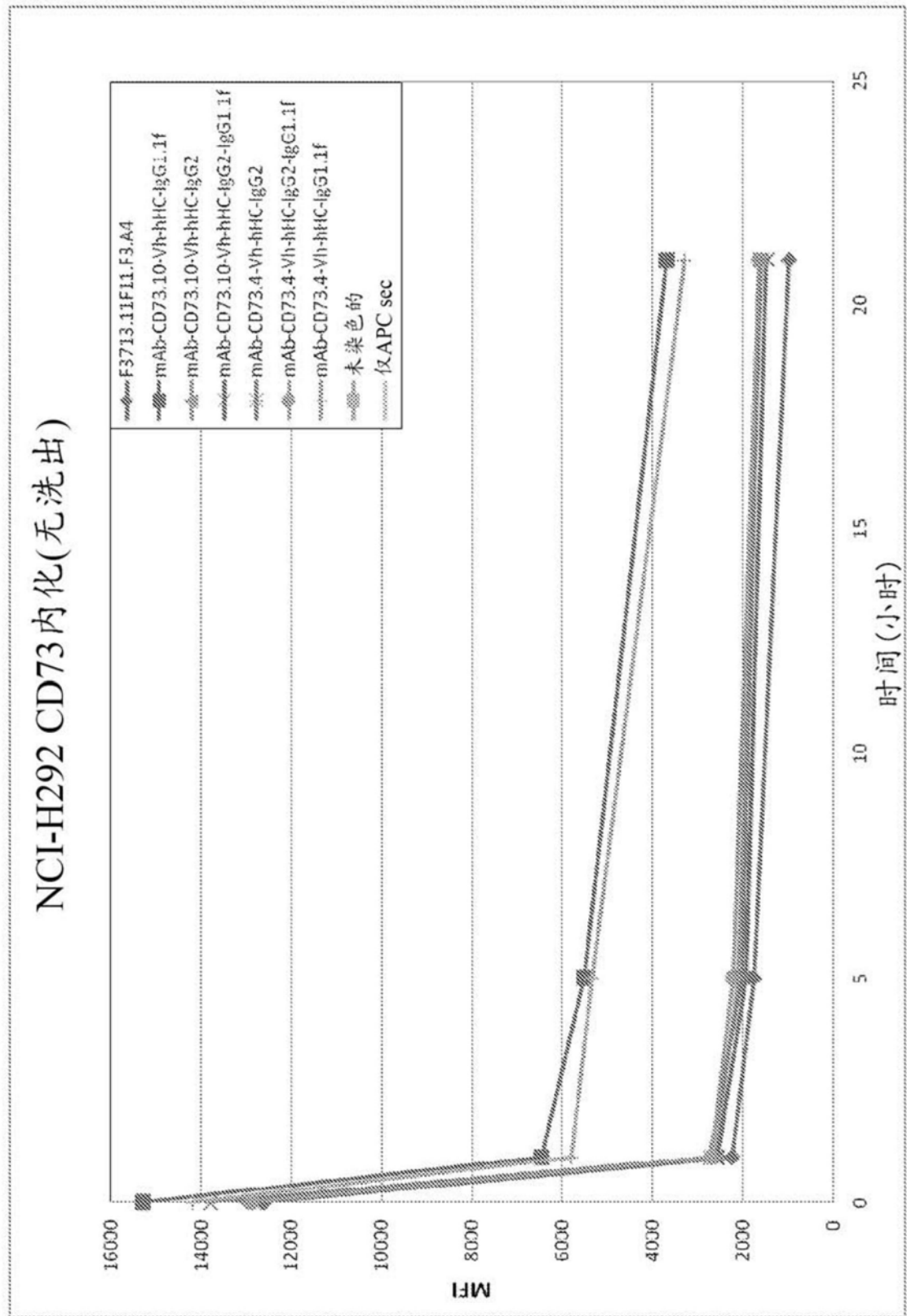


图1F

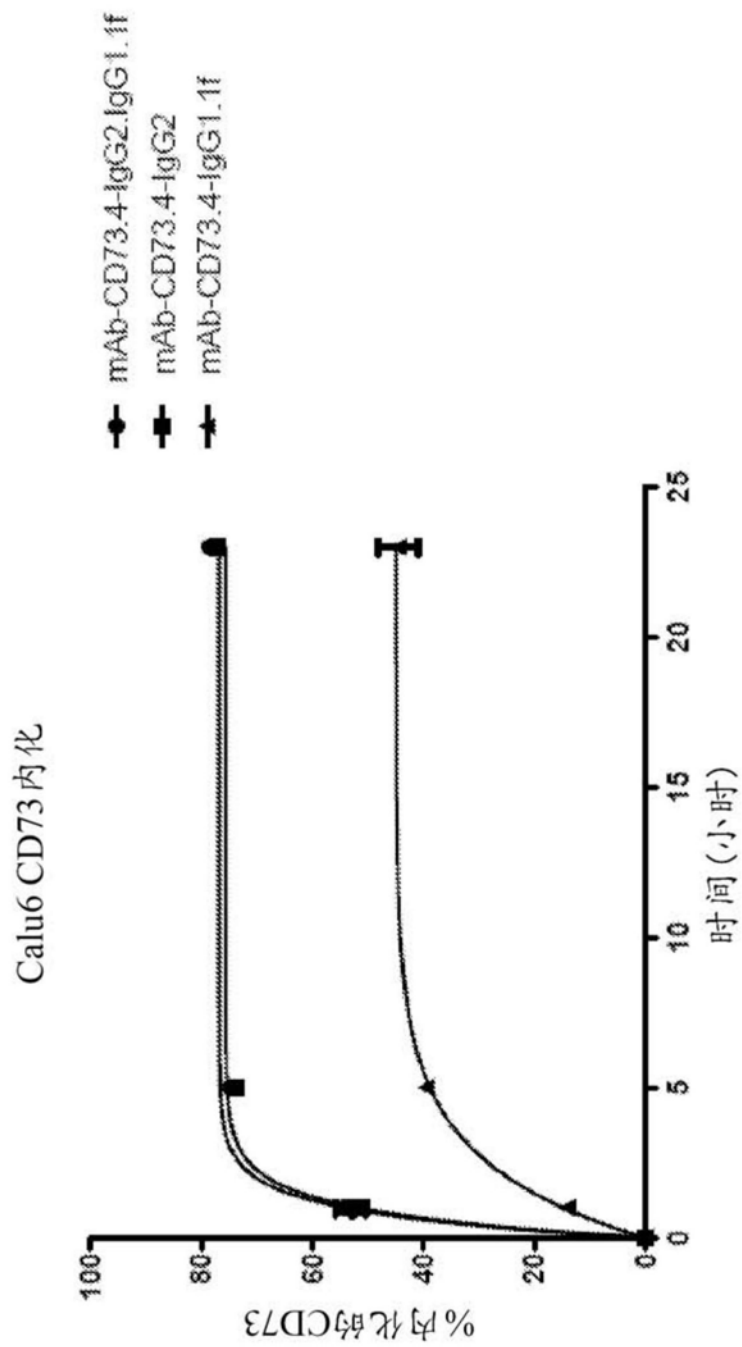


图1G

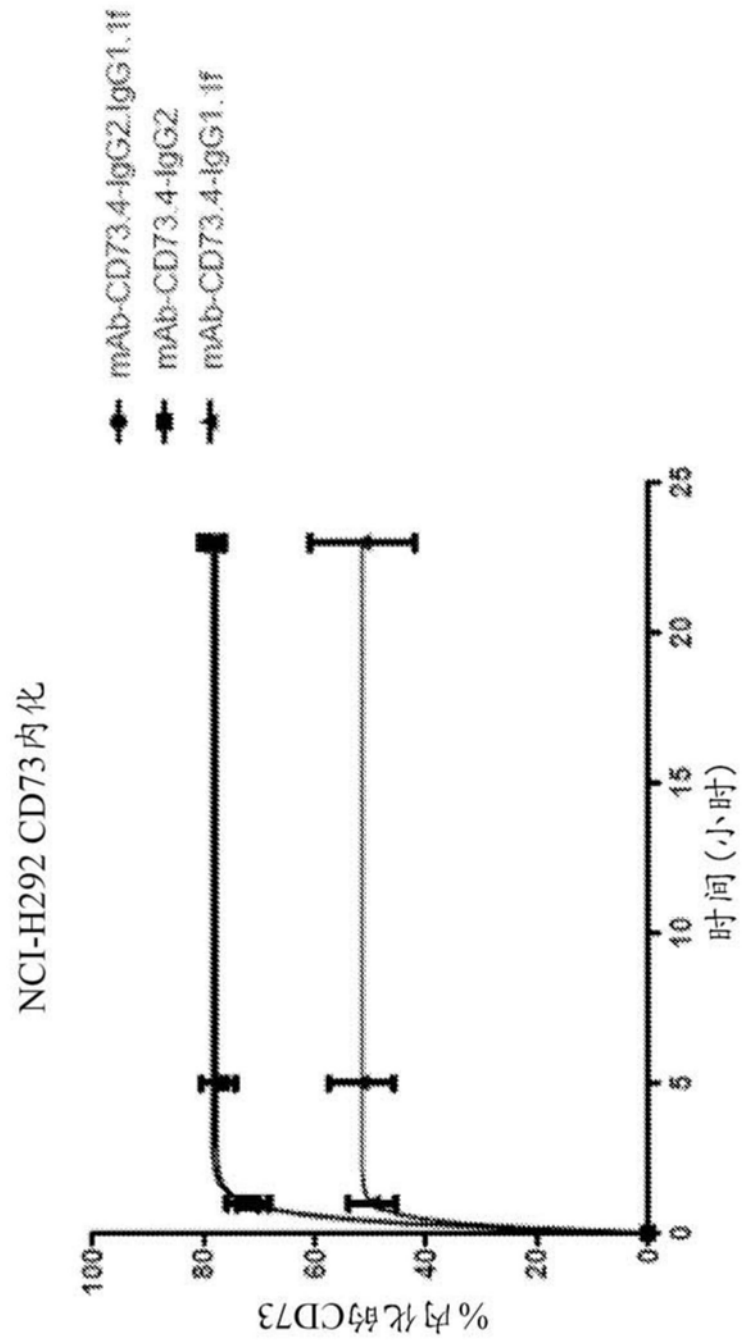


图1H

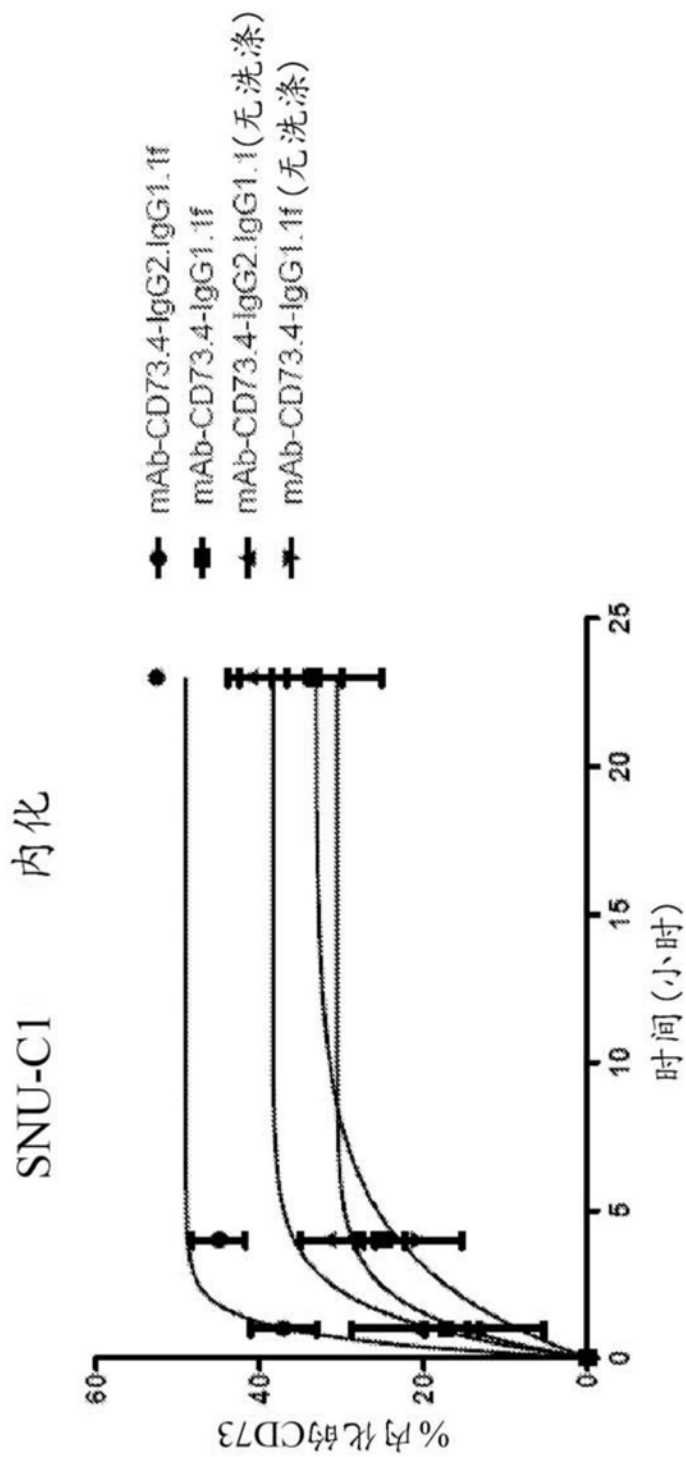


图1I

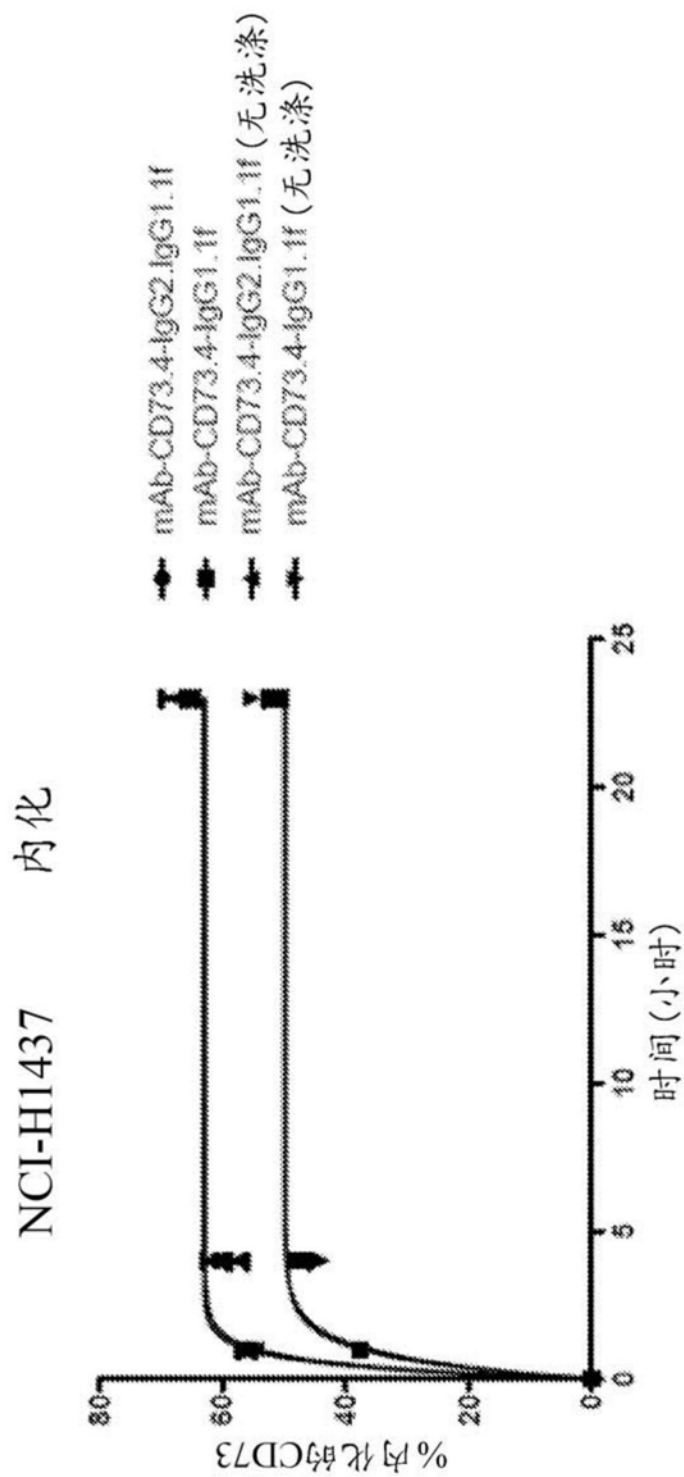


图1J

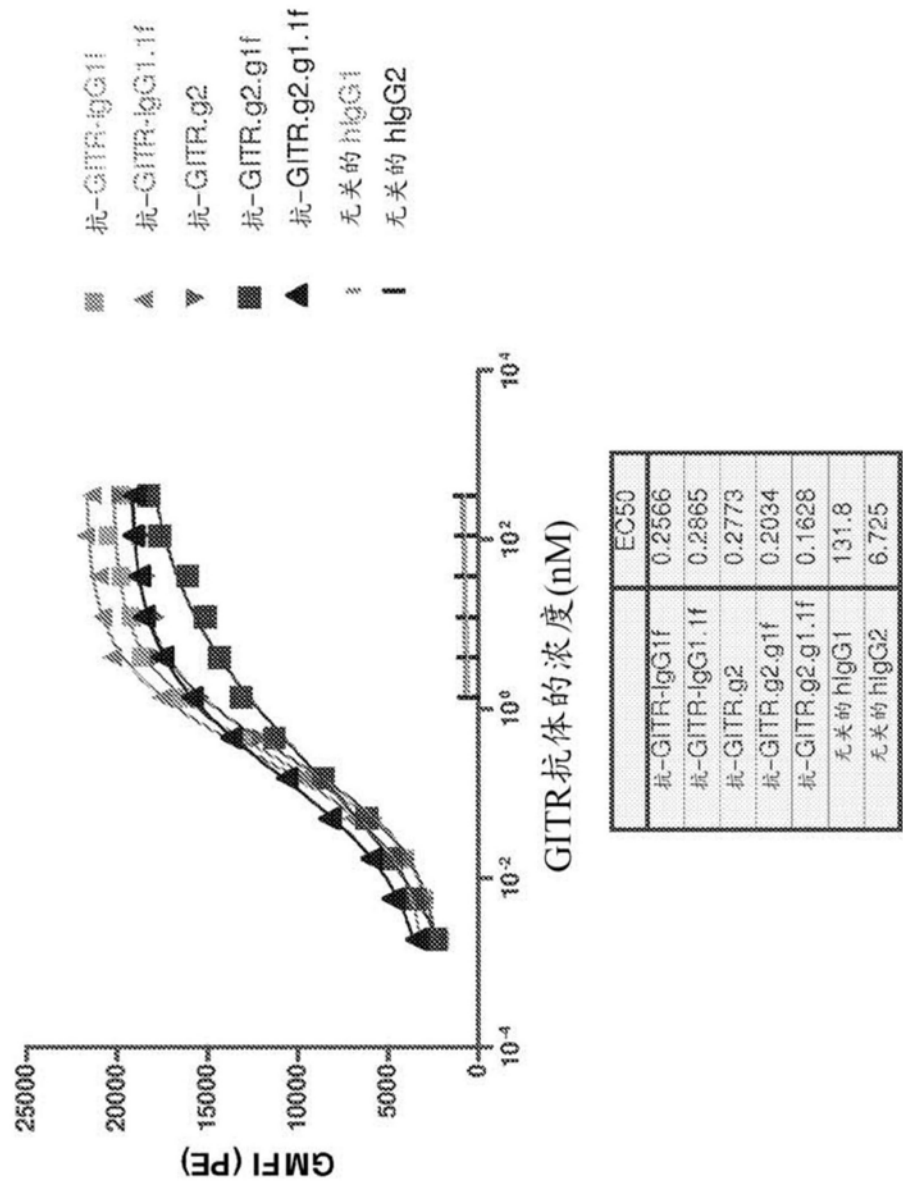


图2

GITR抗体对于用表达OKT3的CHO细胞刺激的
CD4 T细胞的IFN-g分泌-供体#2

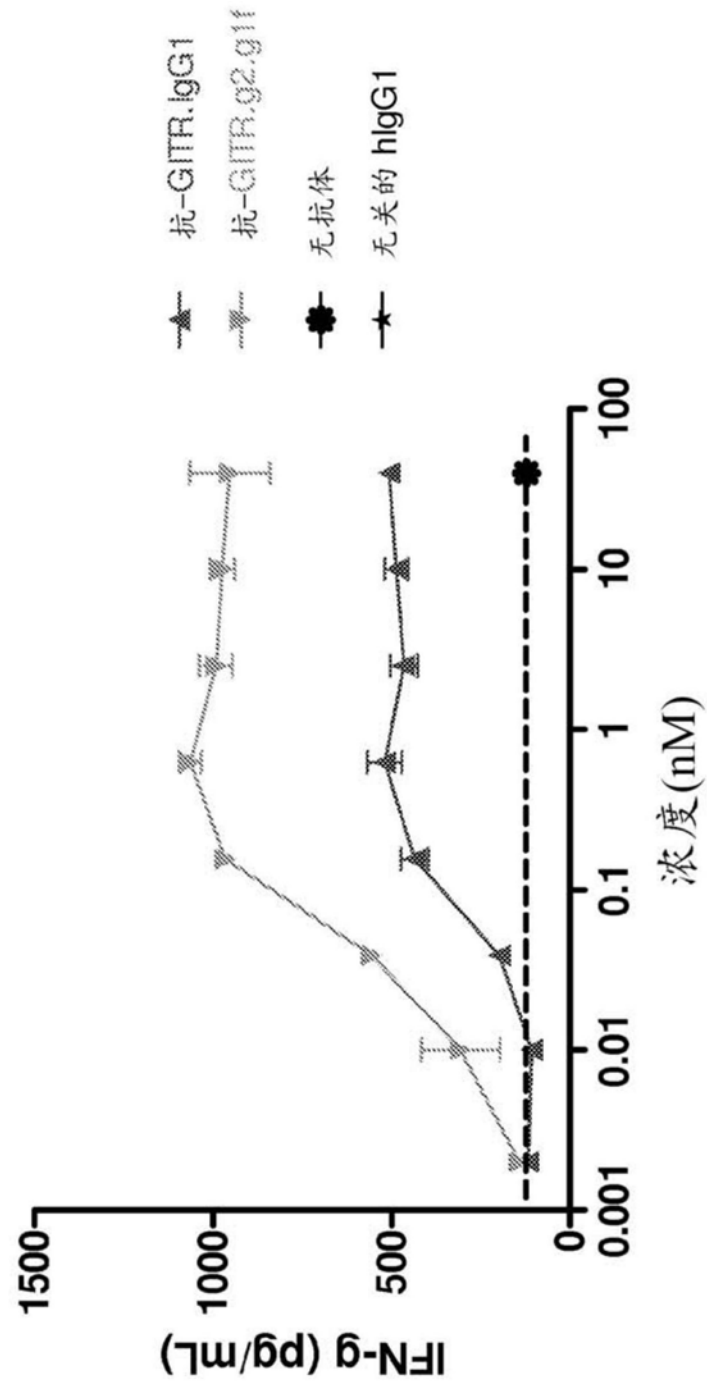


图3A

GITR抗体对于用表达OKT3的CHO细胞刺激的
CD4 T细胞的IL-2分泌-供体#3

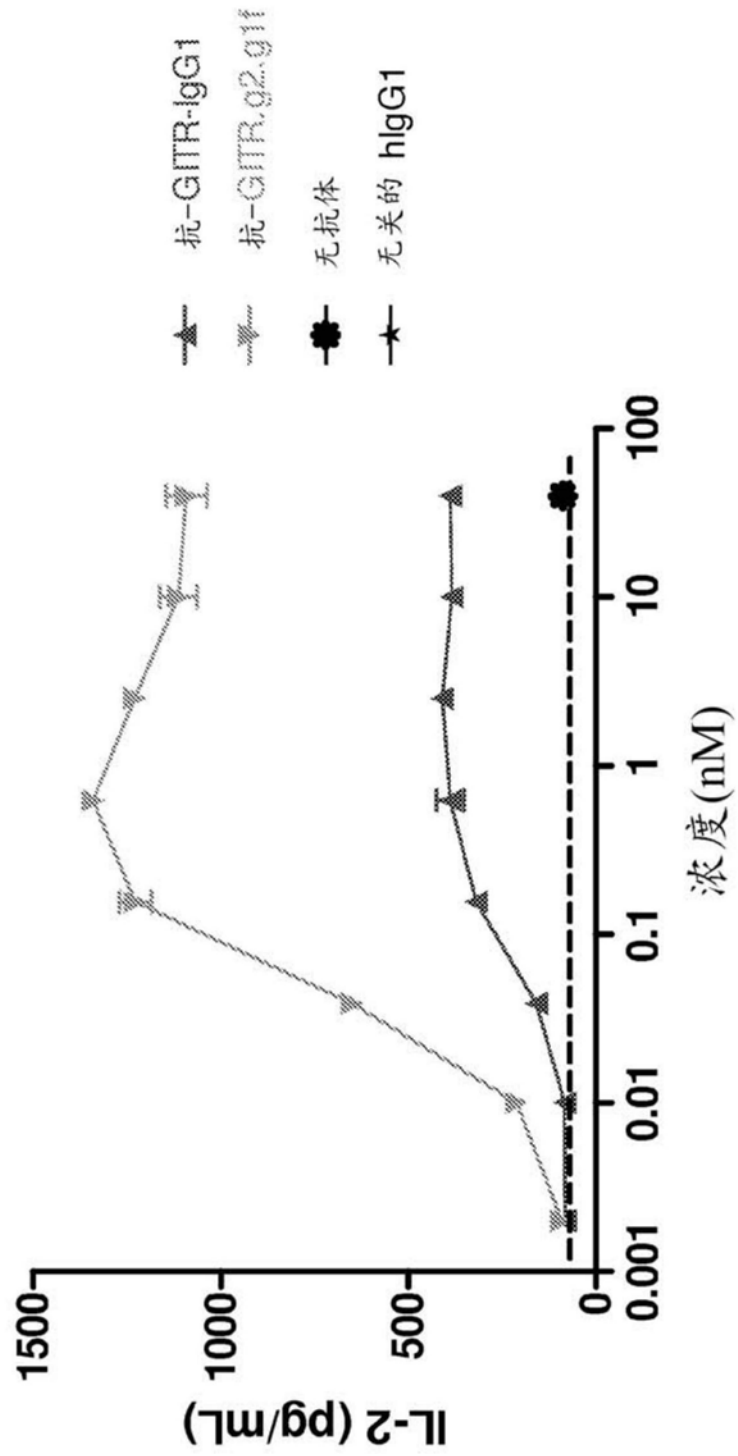


图3B

GITR抗体对于用表达OKT3的CHO细胞刺激的
CD4 T细胞的IL-2分泌-供体#3

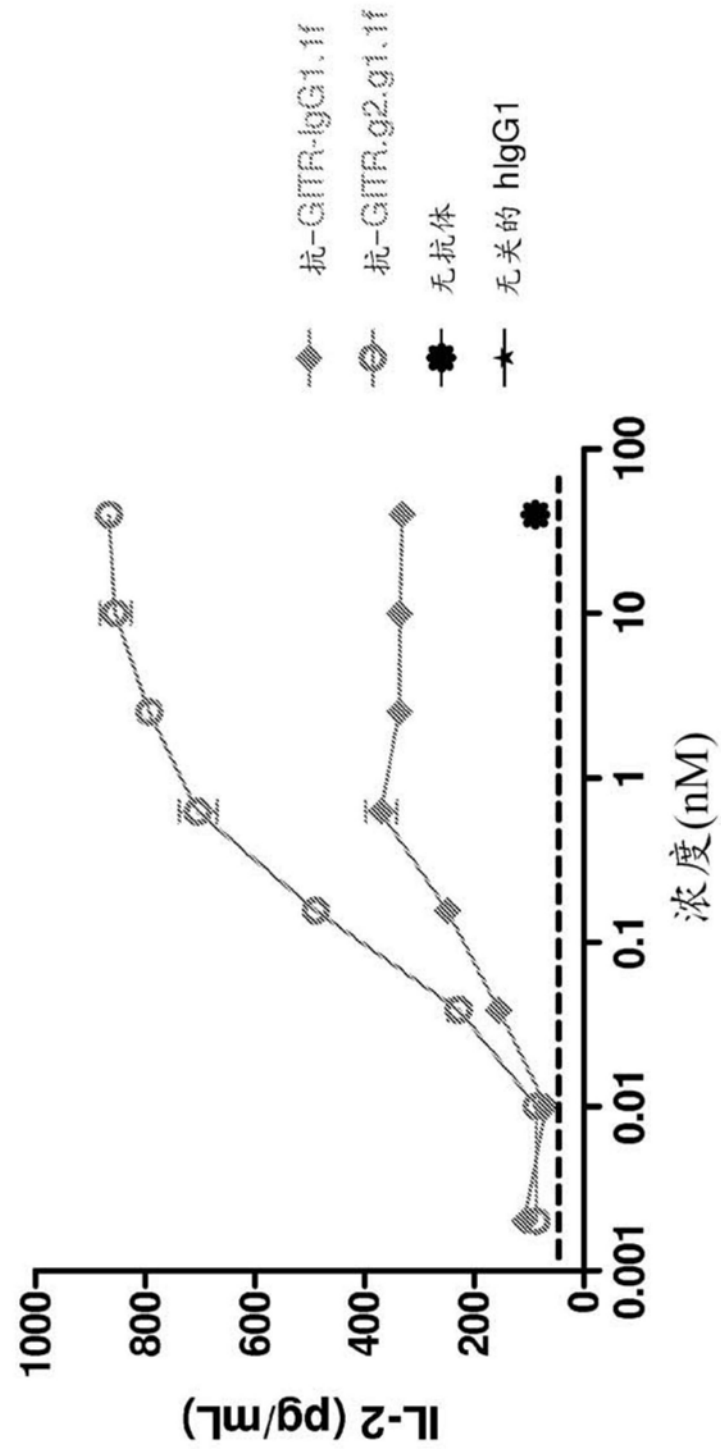


图3C

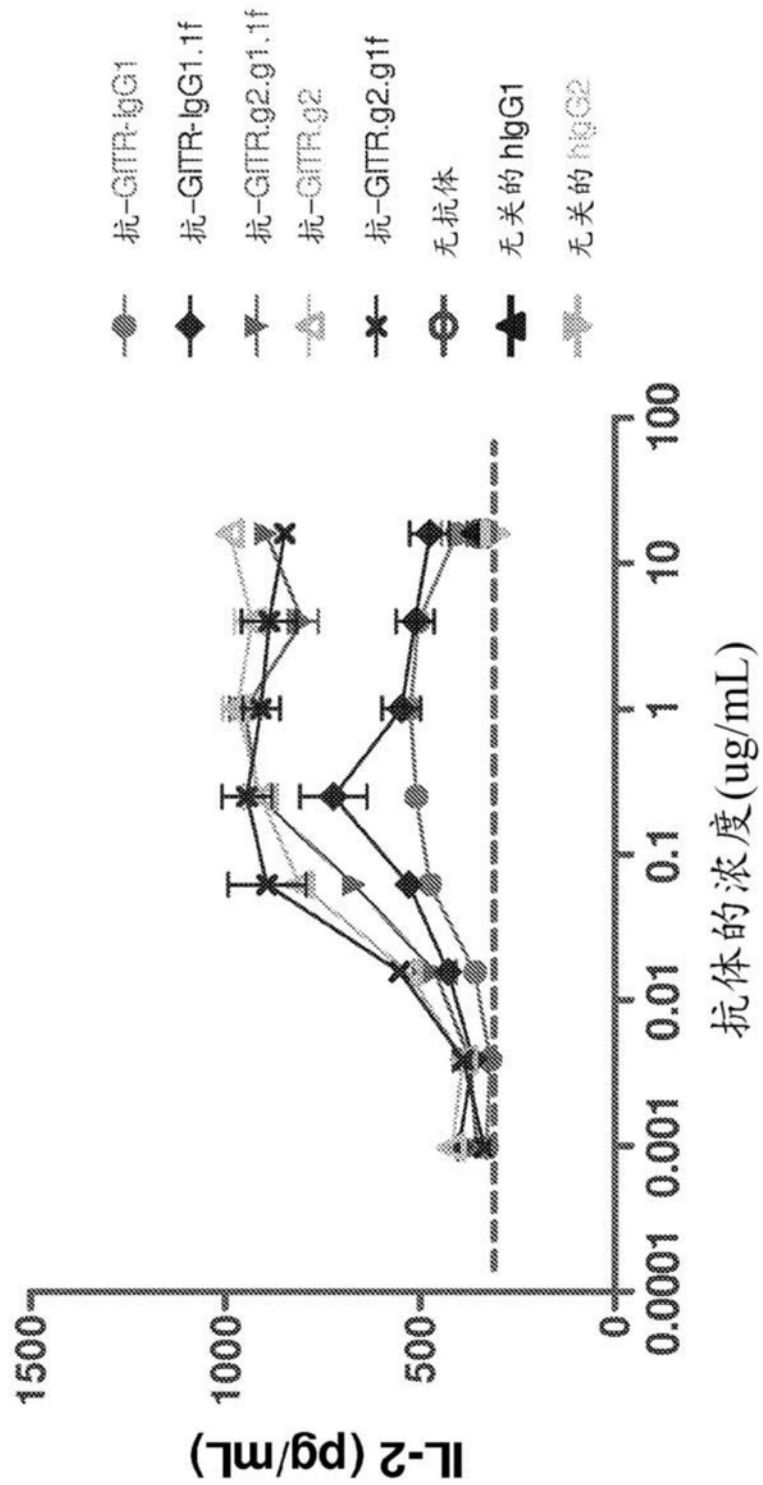


图4

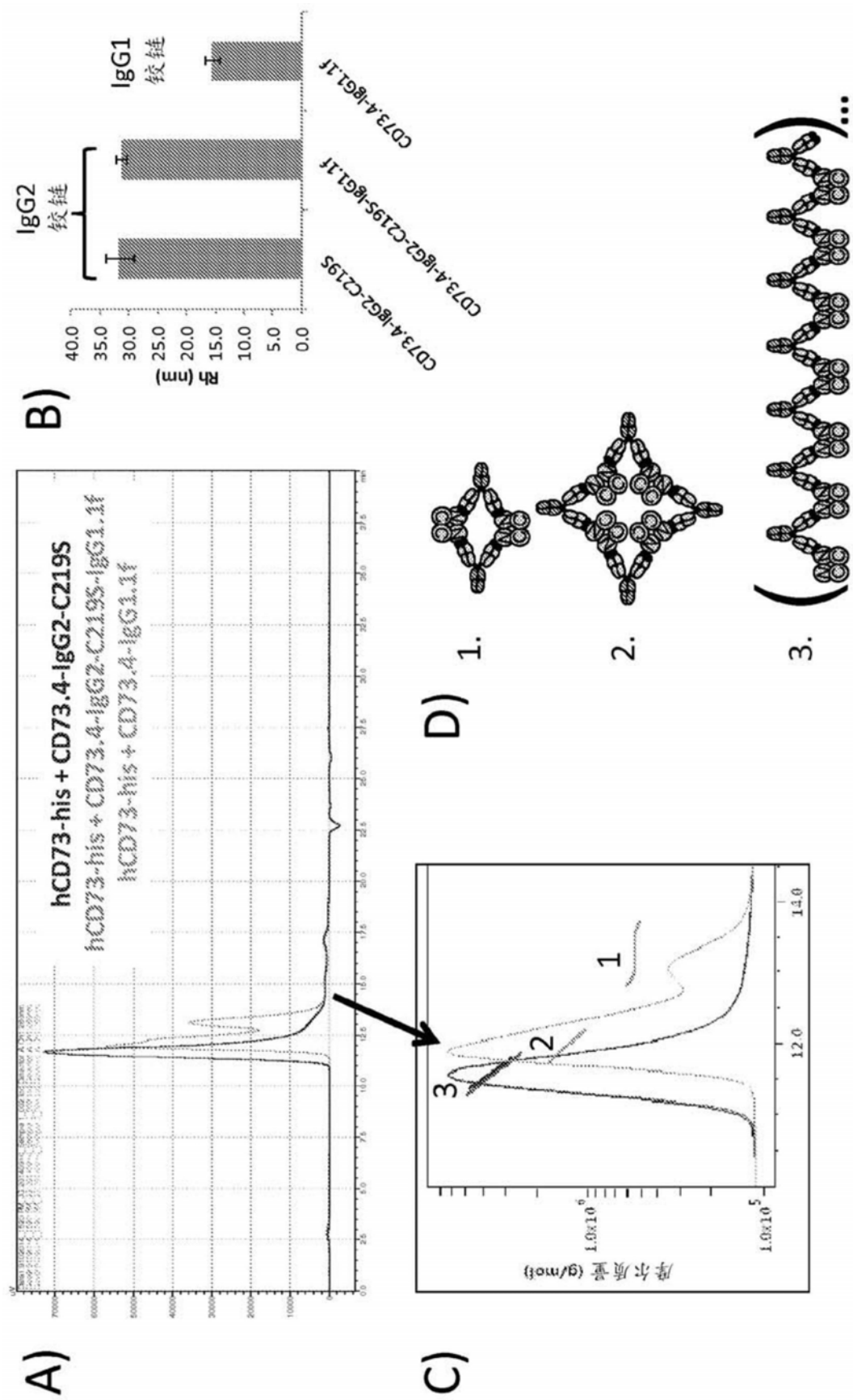


图5

CD73/单抗复合物的SEC-MALS数据

靶物	单抗	摩尔比	靶物] $[uM]$ 单抗] $[uM]$	UV洗脱时间(分钟)				SEC UV积分以%表示				分子量(kDa)			
				峰1	峰2	峰3	峰4	峰1	峰2	峰3	峰4	峰1	峰2	峰3	峰4
	CD73.10-IgG1.1f	0:1	4	~2.0	~14.0	~17.3		0.3	0.3	99.4		n/a	62	140	
	CD73.10-IgG2-C219S	0:1	4	~2.0	~17.5			0.1	99.5			73	150		
	CD73.3-IgG1.1f	0:1	4	~16.3				100.0				150			
	11F11-Fab	0:1	8	~2.0	~17.7	~20.2		0.8	0.6	98.7		n/a	19	47	
hCD73-his		1:0	4	~17.1	~18.4			2.8	97.2			280	120		
N-hCD73-his		1:0	8	~19.3				100.0				38			
hCD73-his	CD73.10-IgG1.1f	1:1	4	~11.7	~12.7	~16.9		34.2	67.2	3.0		1100	540	180	
hCD73-his	CD73.10-IgG2-C219S	1:1	4	~10.3	~11.1			6.4	93.3			110000	3400		
hCD73-his	CD73.3-IgG1.1f	1:1	4	~12.0	~13.0	~14.8		17.5	78.3	4.0		960	530	260	
hCD73-his	11F11-Fab	1:2	4	~12.6	~14.7	~16.8	~20.1	0.9	90.7	0.8	7.7	300	310	85	40
N-hCD73-his	CD73.10-IgG1.1f	2:1	8	~14.6	~17.1			86.5	13.5			210	140		
N-hCD73-his	CD73.10-IgG2-C219S	2:1	8	~14.7	~17.3			87.1	12.9			210	150		
N-hCD73-his	CD73.3-IgG1.1f	2:1	8	~15.3	~16.2	~19.3		6.4	68.7	24.9		170	160	42	
N-hCD73-his	11F11-Fab	1:1	8	~17.4	~20.0			95.3	4.7			84	44		
hCD73		1:0	2.5	~16.9				100.0				120			
hCD73	CD73.4-杂合体	1:0.25	2.5	~11.8	~13.4	~17.1		42.0	21.6	36.4		1200	520	120	
hCD73	CD73.4-杂合体	1:0.5	2.5	~11.7	~13.4	~17.1		71.9	15.8	13.4		1900	540	130	
hCD73	CD73.4-杂合体	1:1	2.5	~11.5	~13.4	~17.1		95.3	1.9	2.8		3300	1000	530	
hCD73	CD73.4-杂合体	1:2	2.5	~11.7	~13.4	~15.3	~17.1	52.5	17.7	0.6	29.3	1700	500	220	140
hCD73	CD73.4-杂合体	1:4	2.5	~11.7	~13.4	~15.3	~17.1	24.1	16.2	1.2	58.6	1300	500	200	140
hCD73		1:0	2.5	~16.9	~18.2			97.6	2.4			120	73		
hCD73	CD73.4-IgG1.1f	1:0.25	2.5	~12.3	~13.1	~17.1		11.8	49.5	38.6		830	530	120	
hCD73	CD73.4-IgG1.1f	1:0.5	2.5	~12.3	~13.1	~17.1		31.1	54.8	3.3	10.7	890	540	120	81
hCD73	CD73.4-IgG1.1f	1:1	2.5	~12.1	~12.3	~13.1	~17.0	55.2	44.5	2.1	2.2	1100	560	280	160
hCD73	CD73.4-IgG1.1f	1:2	2.5	~12.3	~13.1	~15.3	~17.0	22.3	44.1	2.8	30.7	910	530	210	140
hCD73	CD73.4-IgG1.1f	1:4	2.5	~12.3	~13.2	~15.3	~17.0	9.1	31.0	2.4	57.4	810	510	200	140
N-hCD73	CD73.4-hybrid	1:1	5	~13.9	~14.7	~15.9	~17.0	0.7	88.3	8.1	2.8	390	210	180	150
N-hCD73	CD73.4-hybrid	1:1	5	~13.4	~14.7			1.7	98.3			360	210		
		0:1	0	~15.9	~16.9			0.4	99.6			290	140		
hCD73	CD73.4-IgG1.1f	0:1	0	~14.2	~15.9	~17.1		0.6	1.2	98.2		81	120	140	
hCD73	CD73.4-IgG2-C219S	1:1	2.5	~11.5	~13.4	~17.3		95.0	2.1	2.8		3400	970	480	
hCD73	CD73.4-IgG2-C219S-IgG1.1f	1:1	2.5	~11.5	~13.4	~17.3		94.7	2.3	3.0		3600	1100	580	
hCD73	CD73.4-IgG1.1f	1:1	2.5	~11.7	~13.0	~15.1	~17.0	60.0	35.3	2.3	2.5	1300	550	270	160
hCD73	CD73.10-IgG2-C219S	1:1	2.5	~11.8	~16.9			96.2	3.2			2000	310		
hCD73	CD73.10-IgG2CS-1.1	1:1	2.5	~11.8	~16.9			96.6	2.5	0.9		2000	320	390	
hCD73	CD73.10-IgG1.1f	1:1	2.5	~12.1	~13.0	~16.5		35.1	67.1	2.7		1000	530	170	
hCD73		1:0	2.5	~17.3	~18.4			97.2	2.8			120	60		
hCD73	CD73.4-IgG2-C219S-IgG1.1f	1:1	5	~11.5	~13.4	~17.3		93.9	2.6	3.5		4800	1300	740	
hCD73	CD73.4-IgG2-C219S-IgG1.1f	1:1	1	~11.5	~13.4	~15.0	~17.3	84.4	7.6	2.5	5.4	2900	660	460	240

* 摩尔浓度定义为N-hCD73单体、11F11-Fab单体、hCD73-his二聚体和(二价)单抗

CD73/单抗复合物的DLS数据:

图6

靶物	单抗	摩尔比	靶物] [uM[单抗] [uM]	DLS				
				Rh	Rh SD	%Pd	%Pd SD	%质量 SD
	CD73.10-IgG1.1f	0:1	4	5.0	0.6	11.0	6.0	100.0
	CD73.10-IgG2-C219S	0:1	4	5.2	0.1	11.9	2.3	100.0
	CD73.3-IgG1.1f	0:1	4	5.1	0.5	11.6	6.9	100.0
	11F11-Fab	0:1	8	3.4	0.2	22.0	5.3	100.0
hCD73-his		1:0	4	4.3	0.3	10.6	5.2	99.8
N-hCD73-his		1:0	8	2.3	0.2	19.3	12.3	99.9
hCD73-his	CD73.10-IgG1.1f	1:1	4	12.8	0.7	32.4	6.7	100.0
hCD73-his	CD73.10-IgG2-C219S	1:1	4	2.9	1.5	7.5	0.8	73.9
hCD73-his	CD73.3-IgG1.1f	1:1	4	10.8	0.1	28.2	0.6	100.0
hCD73-his	11F11-Fab	1:2	4	6.4	0.1	15.1	4.3	100.0
N-hCD73-his	CD73.10-IgG1.1f	2:1	8	6.6	0.3	15.3	6.5	100.0
N-hCD73-his	CD73.10-IgG2-C219S	2:1	8	6.5	0.2	15.7	5.7	100.0
N-hCD73-his	CD73.3-IgG1.1f	2:1	8	5.8	0.3	12.8	5.3	100.0
N-hCD73-his	11F11-Fab	1:1	8	4.2	0.1	12.6	4.7	100.0
hCD73		1:0	2.5	4.5	0.1	12.3	4.3	99.9
hCD73	CD73.4-杂合体	1:0.25	2.5	13.2	1.7	46.5	5.9	99.9
hCD73	CD73.4-杂合体	1:0.5	2.5	17.5	1.0	31.7	8.8	62.6
hCD73	CD73.4-杂合体	1:1	2.5	29.9	1.0	25.1	2.1	22.3
hCD73	CD73.4-杂合体	1:2	2.5	14.4	0.1	31.3	5.5	68.7
hCD73	CD73.4-杂合体	1:4	2.5	11.4	0.9	42.9	3.5	90.2
hCD73		1:0	2.5	4.7	0.1	18.6	3.3	99.8
hCD73	CD73.4-IgG1.1f	1:0.25	2.5	10.4	1.5	38.6	15.9	81.3
hCD73	CD73.4-IgG1.1f	1:0.5	2.5	12.9	0.6	35.5	5.4	88.3
hCD73	CD73.4-IgG1.1f	1:1	2.5	14.7	0.5	34.3	3.9	100.0
hCD73	CD73.4-IgG1.1f	1:2	2.5	11.6	0.4	24.9	8.5	65.0
hCD73	CD73.4-IgG1.1f	1:4	2.5	8.1	4.0	33.0	16.9	84.2
N-hCD73	CD73.4-杂合体	1:1	5	6.7	0.3	13.9	7.0	100.0
N-hCD73	CD73.4-IgG1.1f	1:1	5	6.5	0.1	7.4	3.2	100.0
	CD73.4-杂合体	0:1	0	5.4	0.2	15.7	5.7	99.9
	CD73.4-IgG1.1f	0:1	0	5.3	0.4	13.6	7.9	100.0
hCD73	CD73.4-IgG2-C219S	1:1	2.5	31.7	2.4	31.6	11.4	19.3
hCD73	CD73.4-IgG2-C219S-IgG1.1f	1:1	2.5	31.2	0.9	30.8	3.8	17.5
hCD73	CD73.4-IgG1.1f	1:1	2.5	15.6	1.2	32.7	8.0	100.0
hCD73	CD73.10-IgG2-C219S	1:1	2.5	23.9	1.2	26.7	4.4	36.3
hCD73	CD73.10-IgG2CS-1.1	1:1	2.5	25.6	2.3	30.1	8.8	35.9
hCD73	CD73.10-IgG1.1f	1:1	2.5	13.5	1.2	31.6	12.0	83.2
hCD73		1:0	2.5	4.2	0.8	24.4	12.8	99.1
hCD73	CD73.4-IgG2-C219S-IgG1.1f	1:1	5	35.3	3.8	35.2	13.9	6.7
hCD73	CD73.4-IgG2-C219S-IgG1.1f	1:1	1	25.5	3.2	32.9	2.9	27.5

* 摩尔浓度定义为N-hCD73单体、11F11-Fab单体、hCD73-his二聚体和(二价)单抗

图7

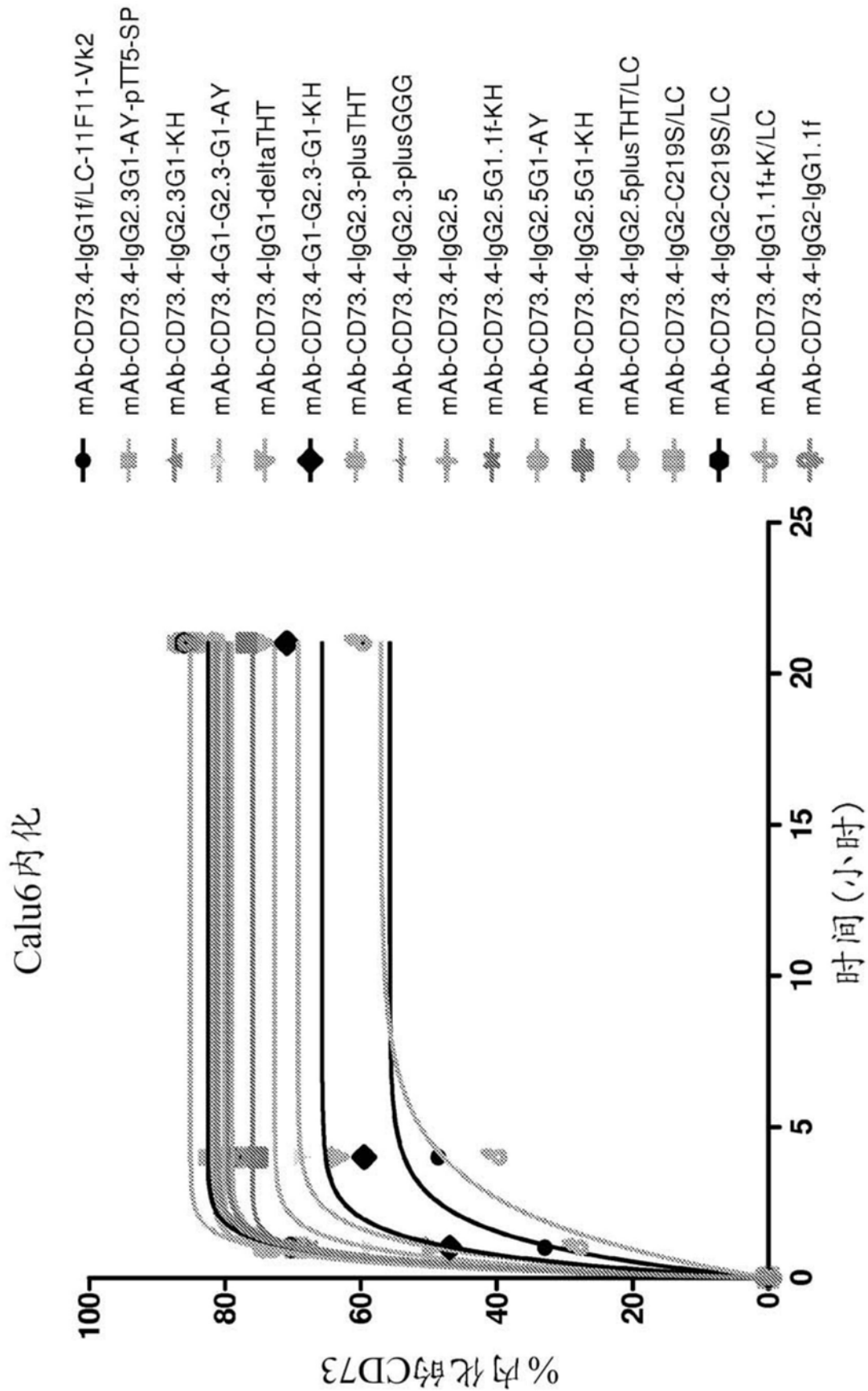


图8A

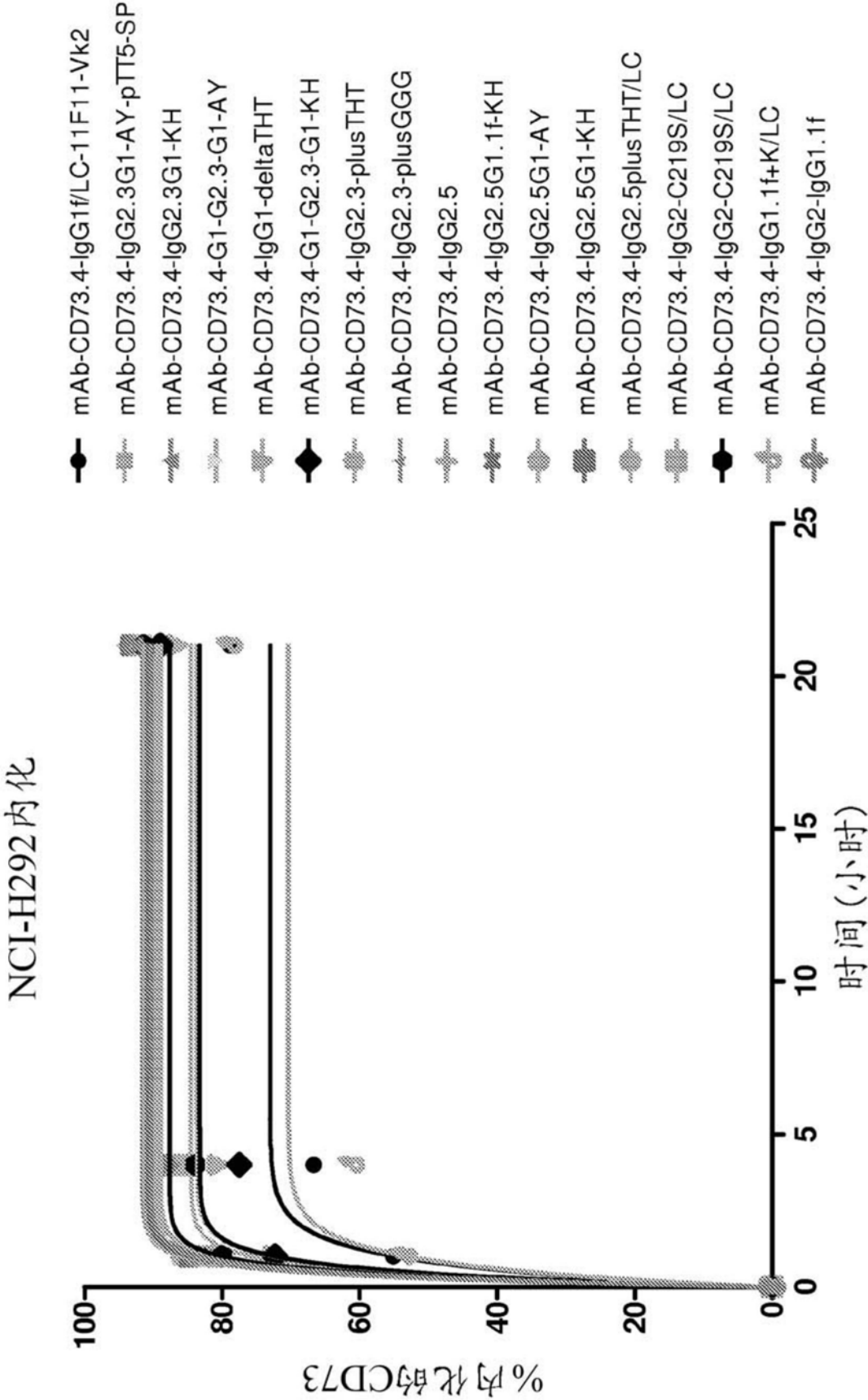


图8B

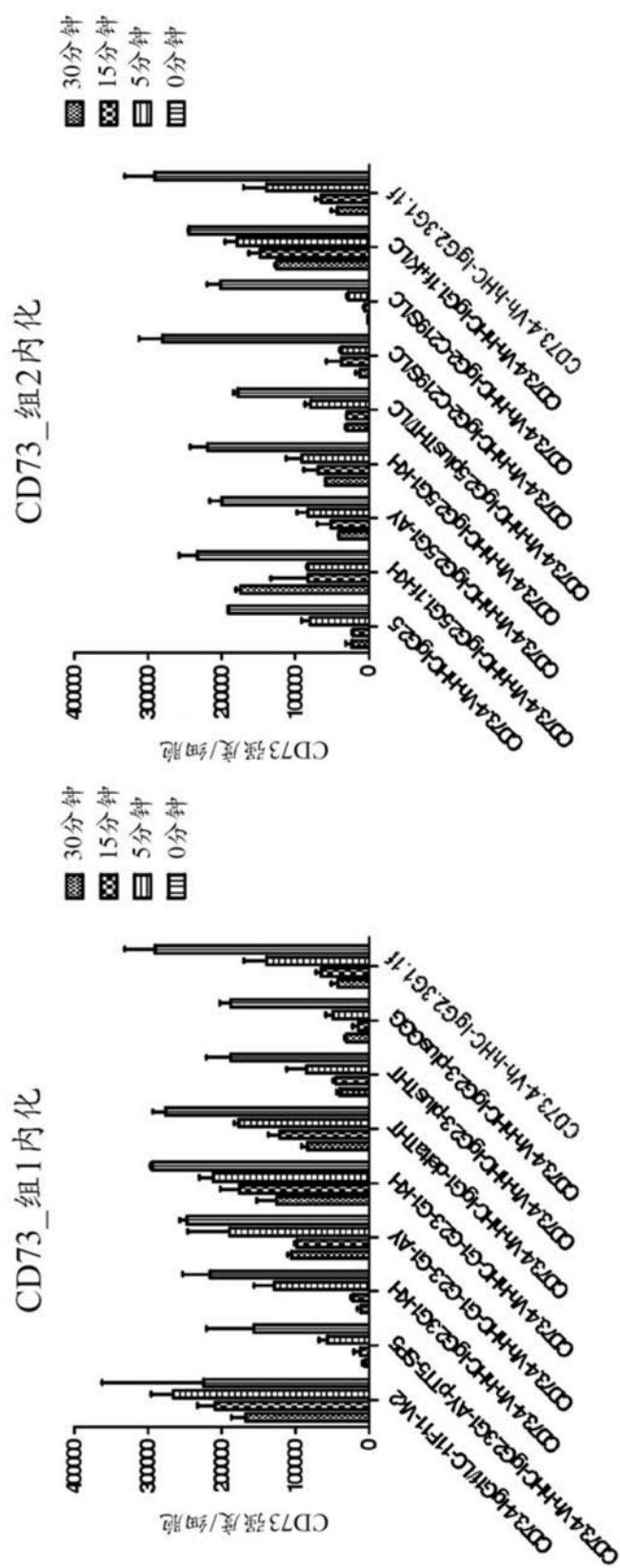


图8C

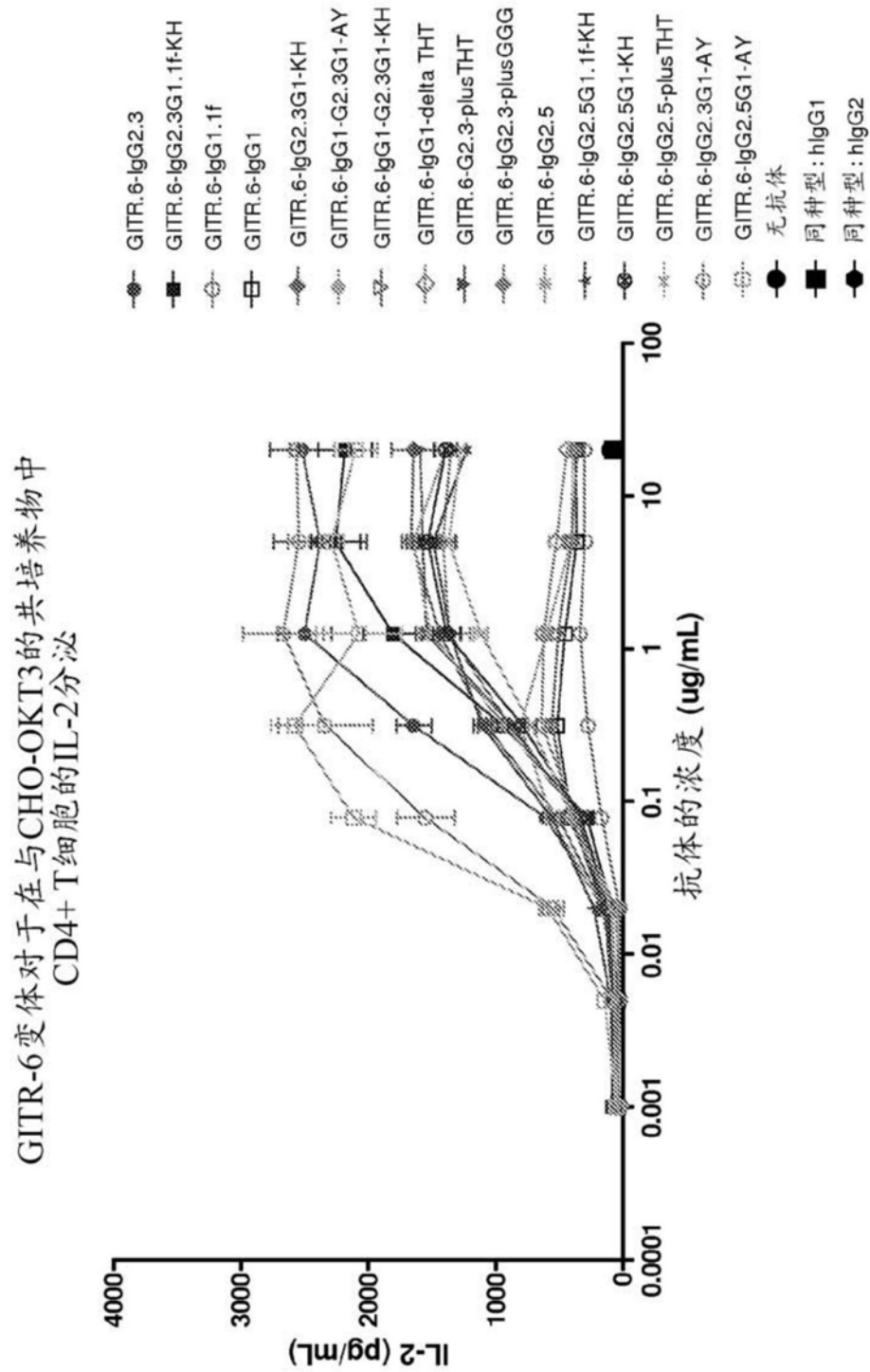


图9

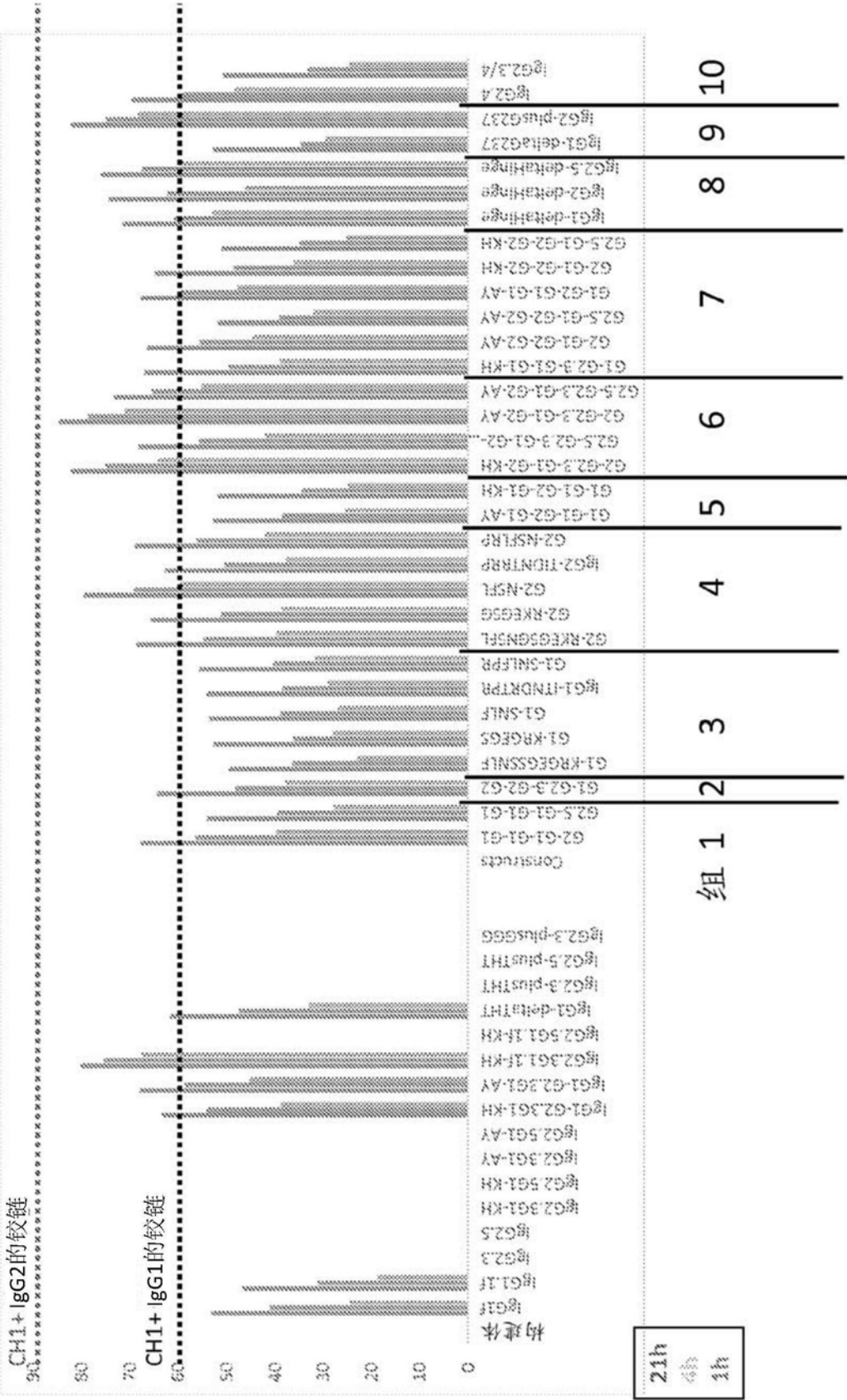


图10

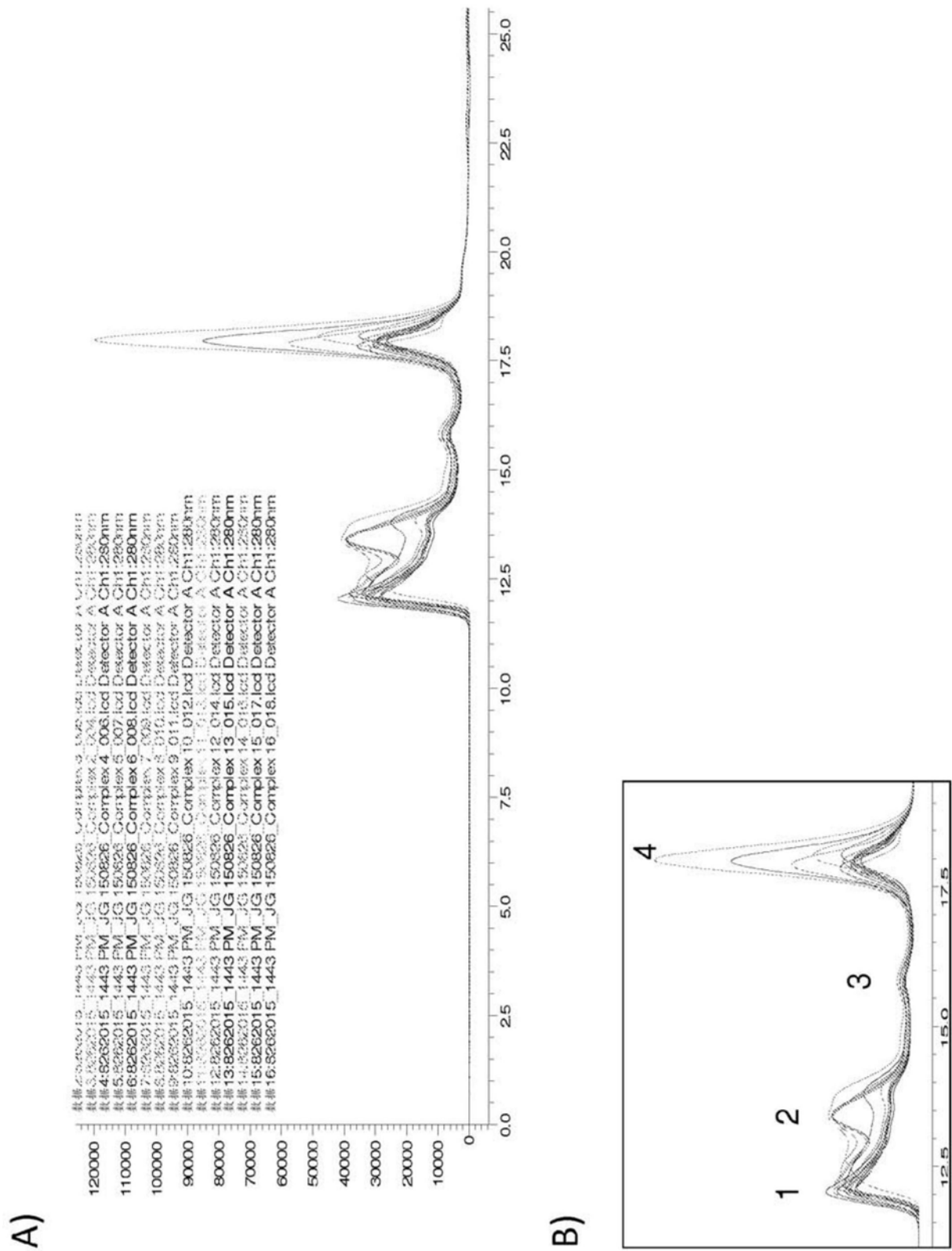


图11

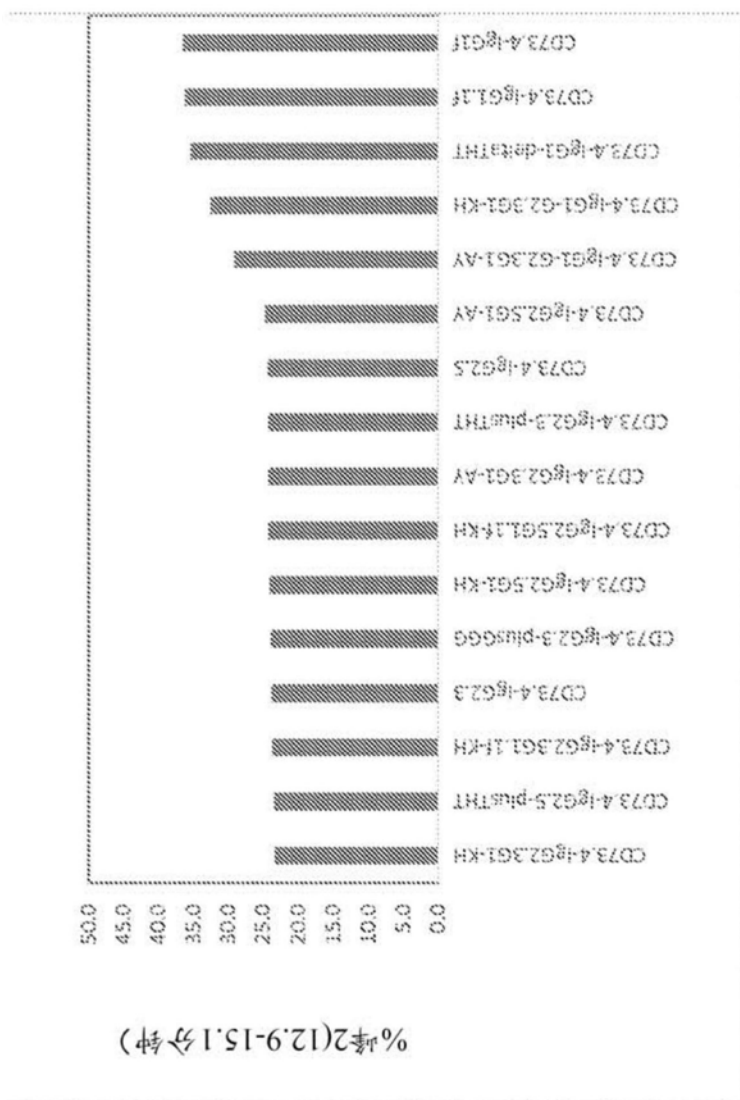


图11C

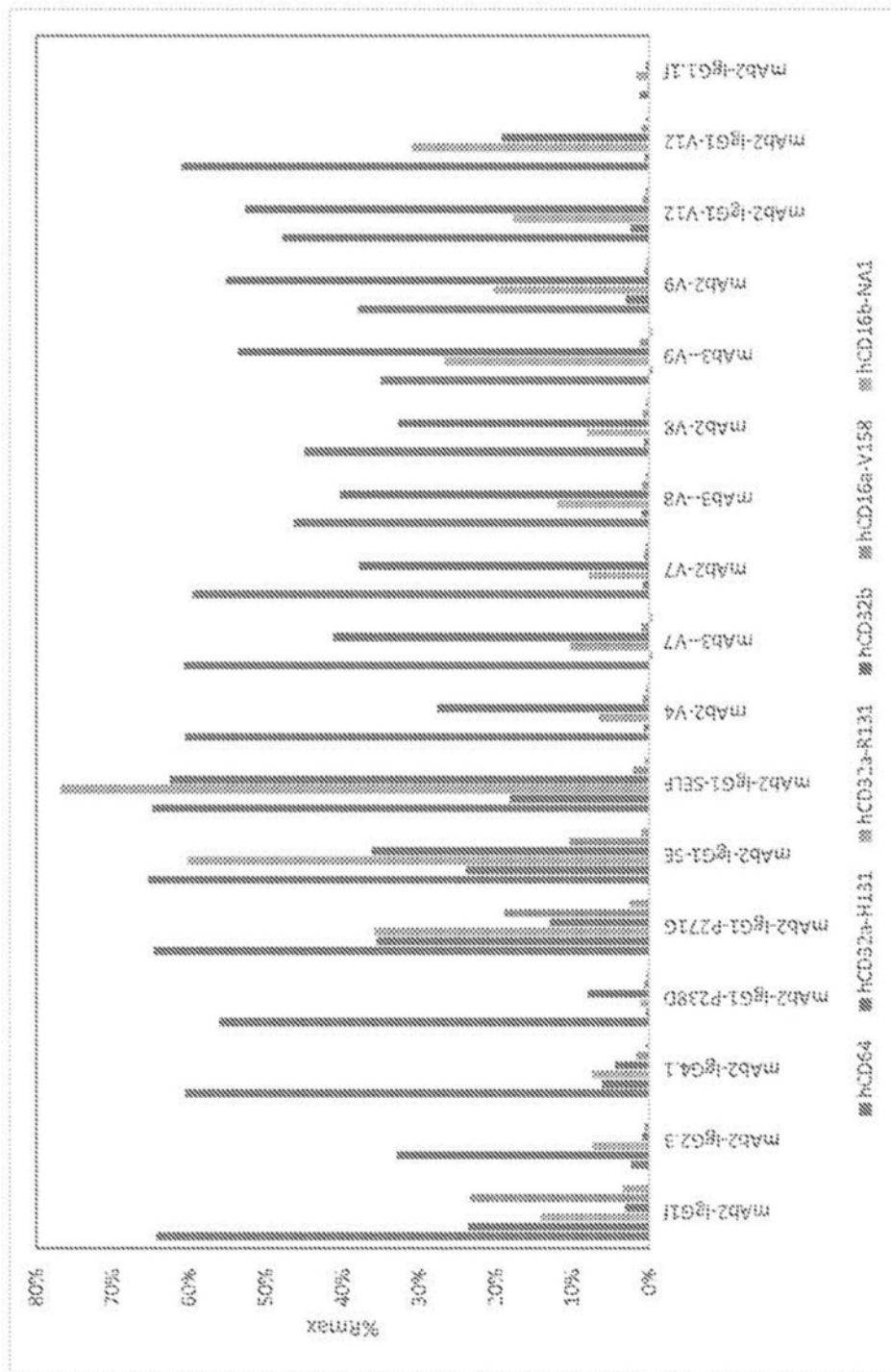


图12

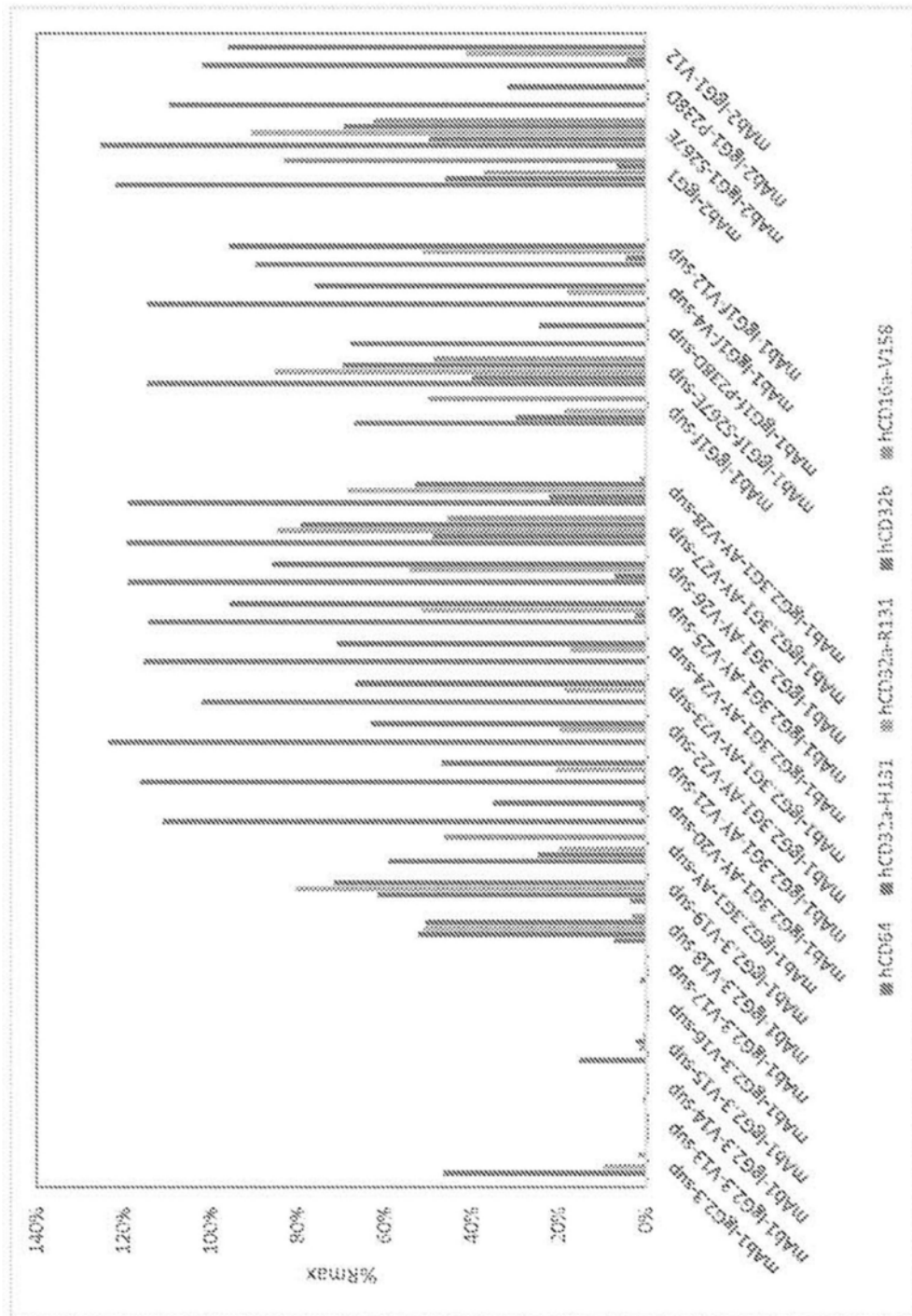


图13

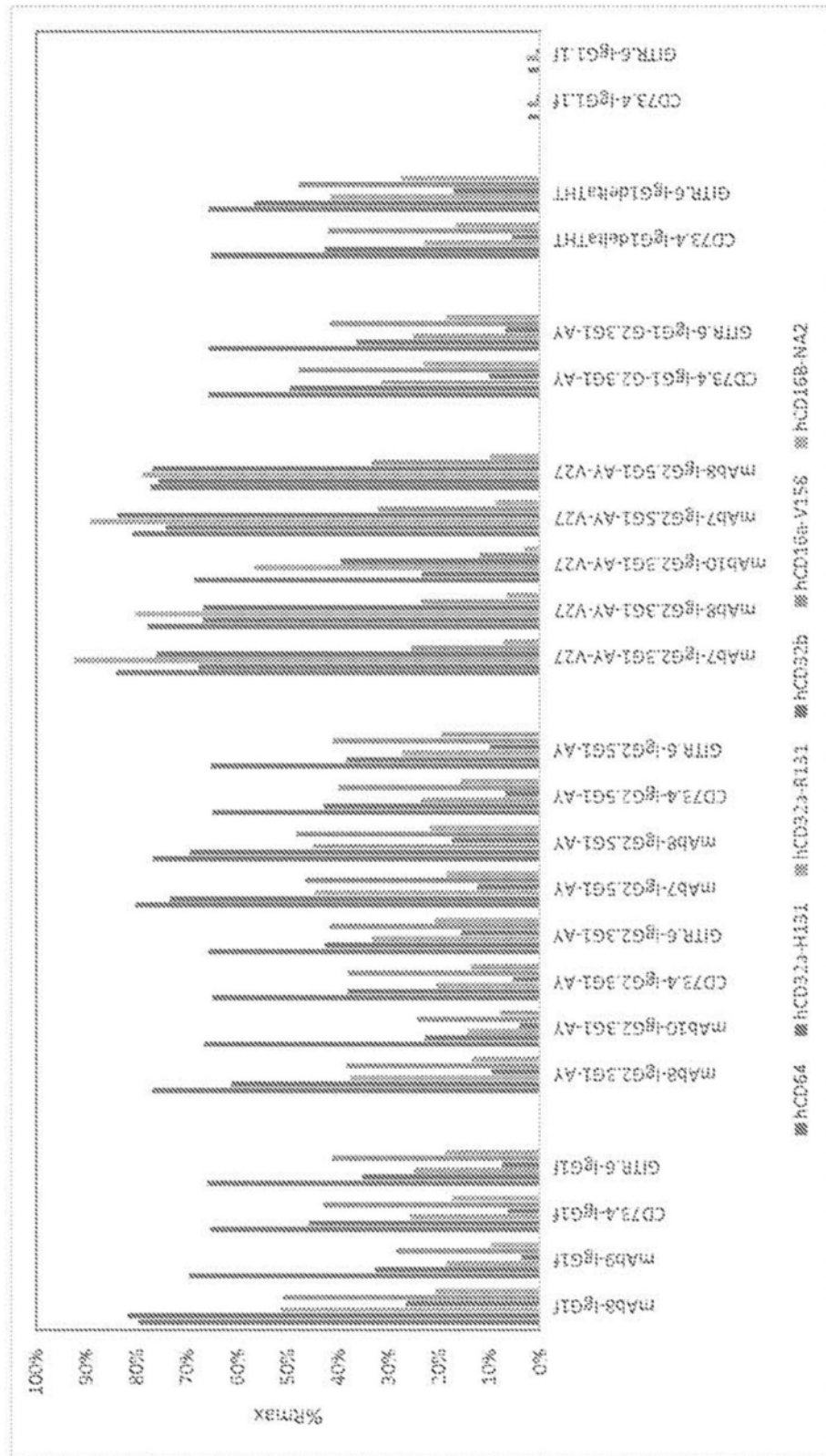


图14A

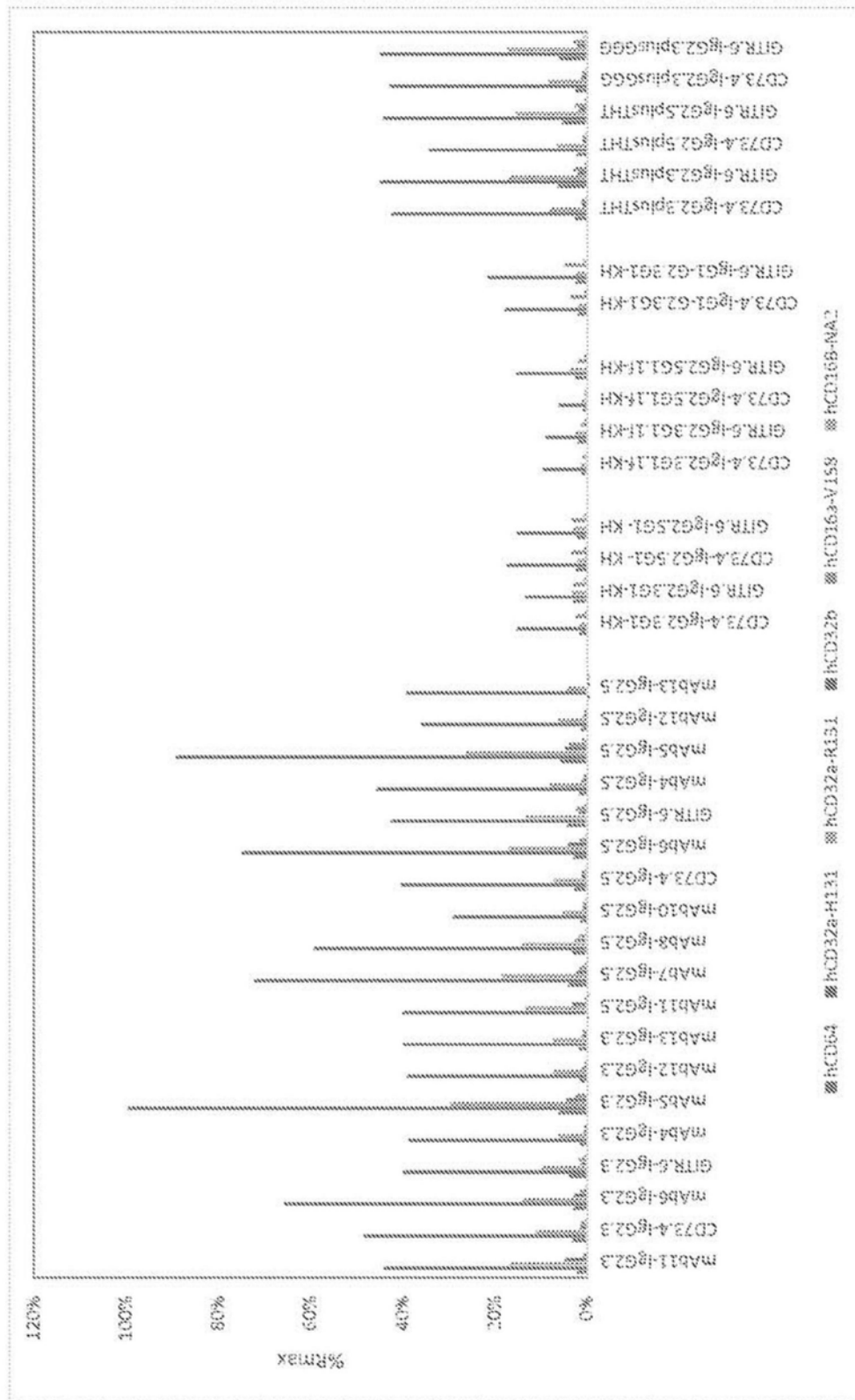


图14B

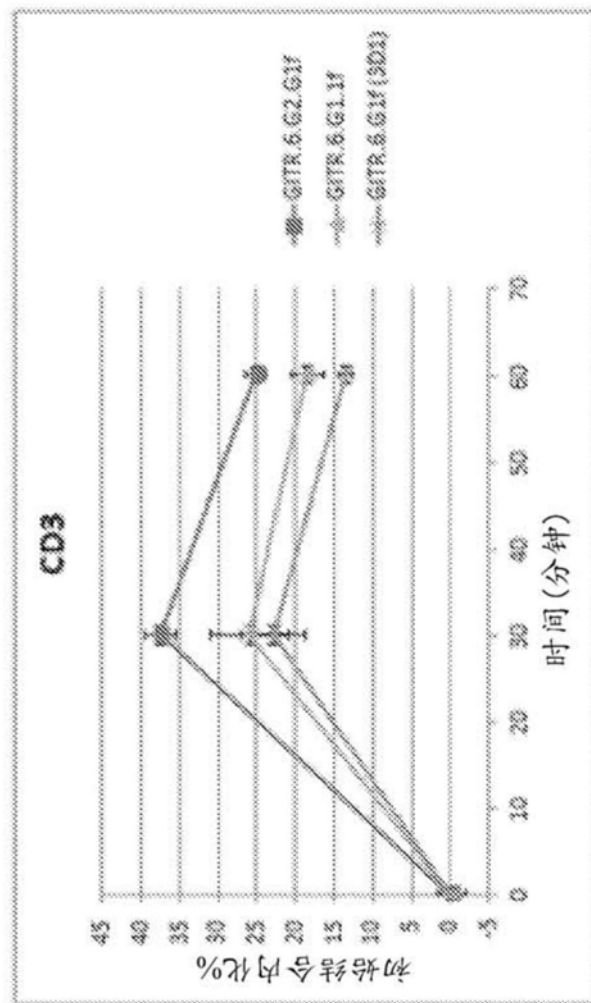


图15

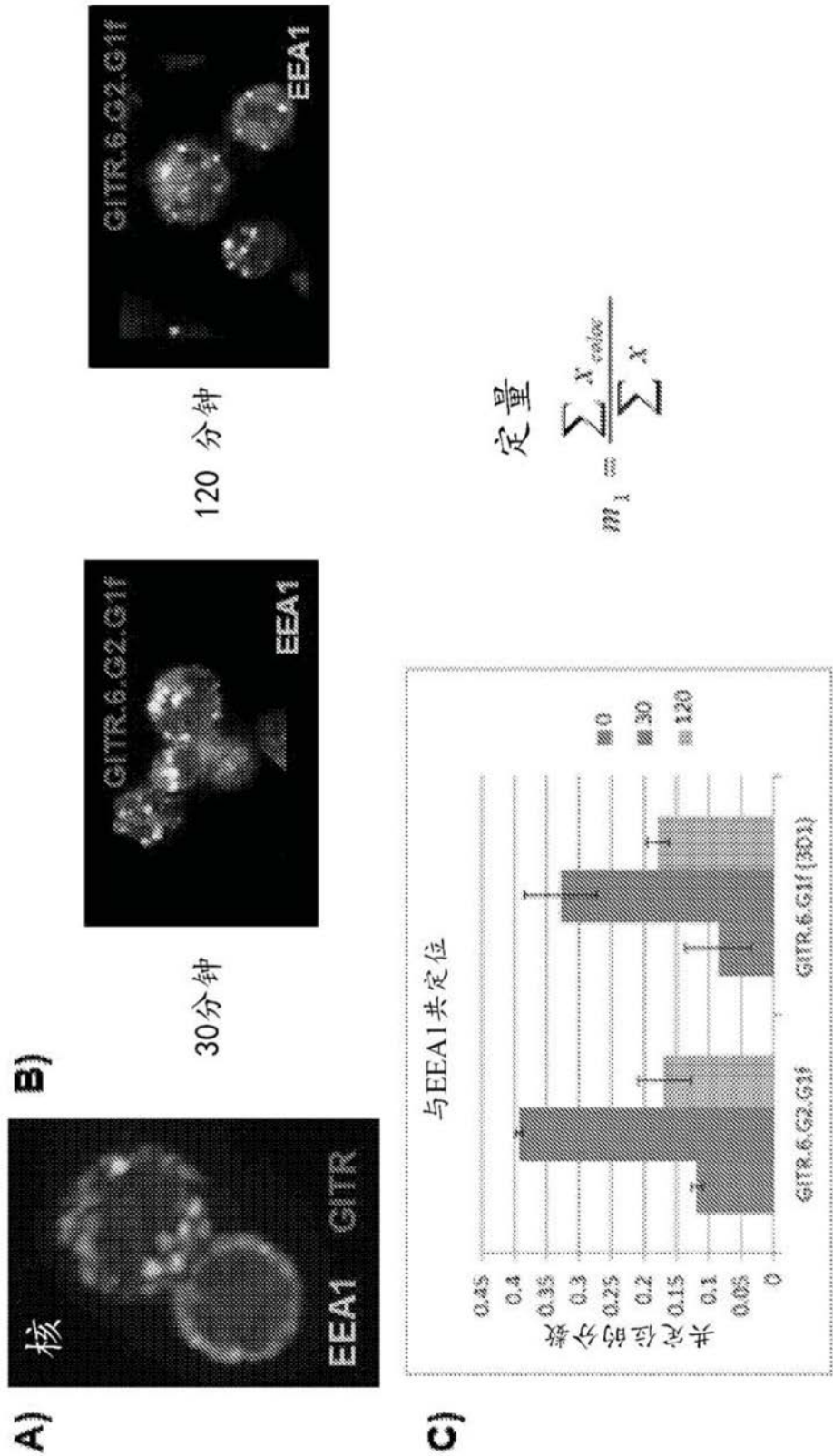
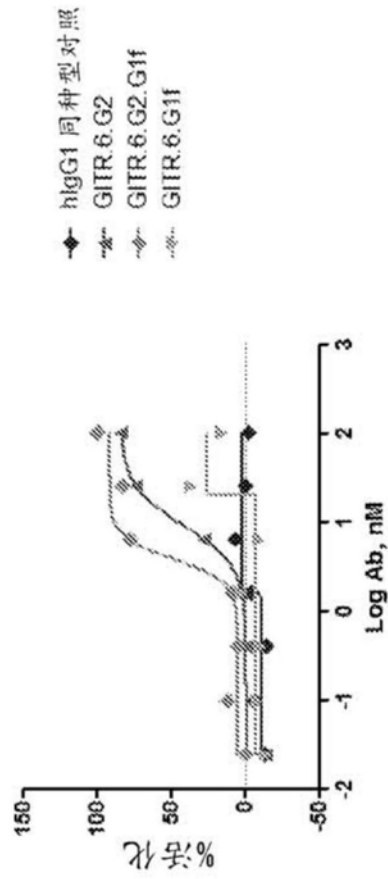


图16

A

活化的CD8+细胞中的NFkB信号传导



B

活化的CD4+细胞中的NFkB信号传导

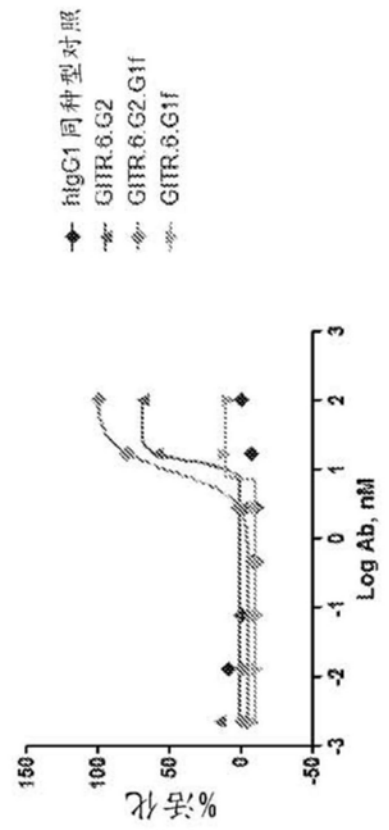


图17

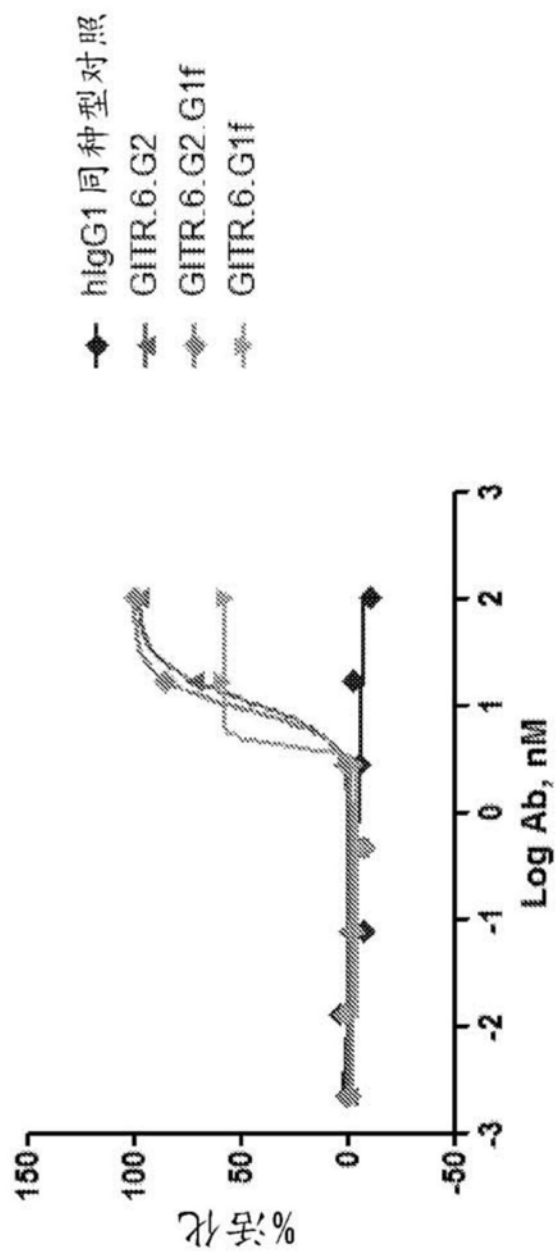


图18

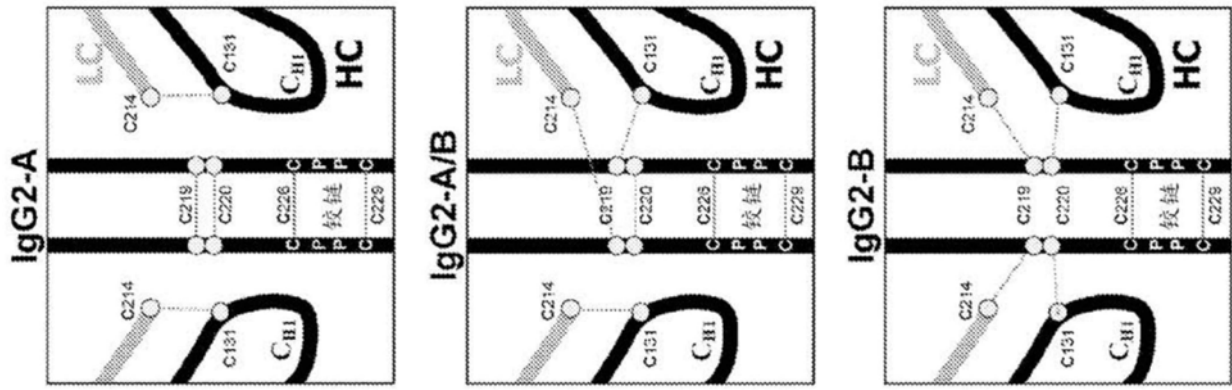


图19

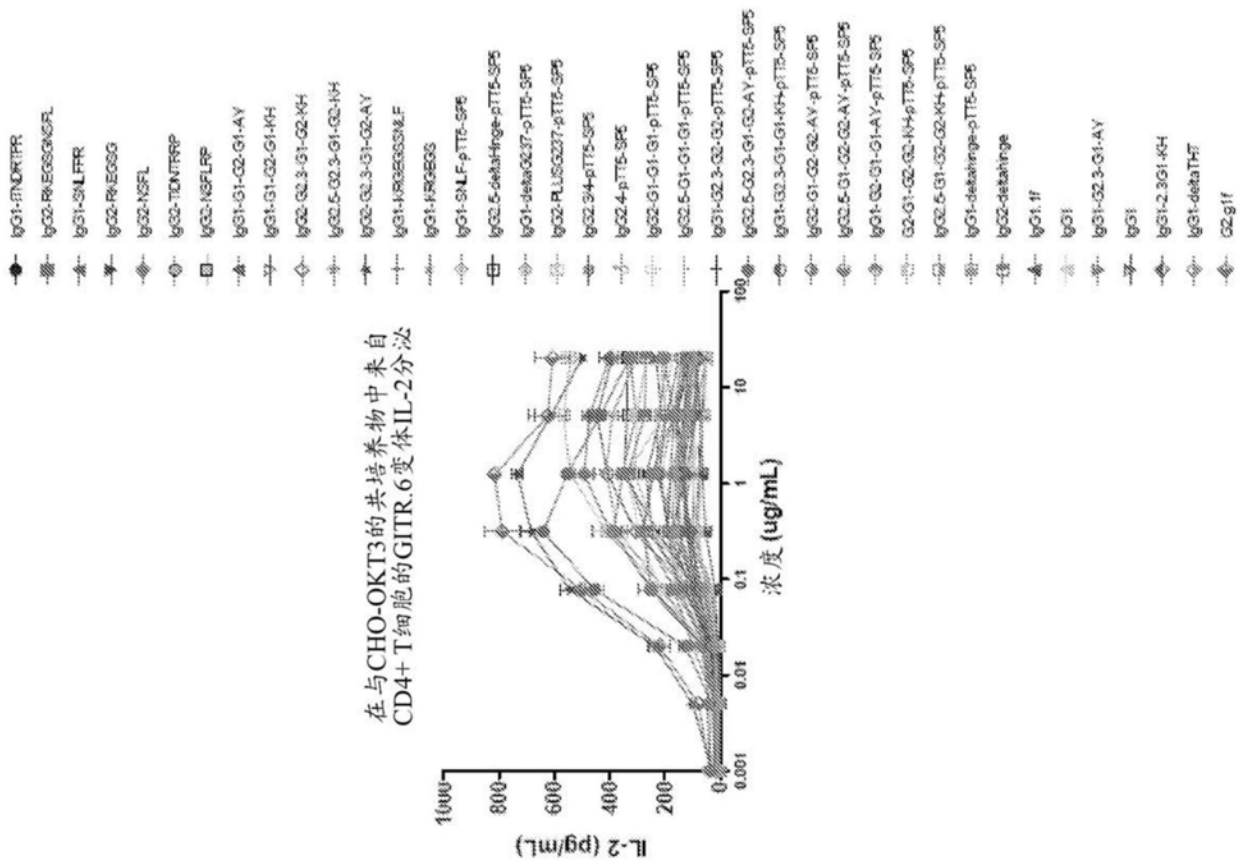


图20A

在与CHO-OKT3的共培养物中来自CD4+ T细胞的
GITR.6 变体IL-2分泌(以5ug/mL刺激)

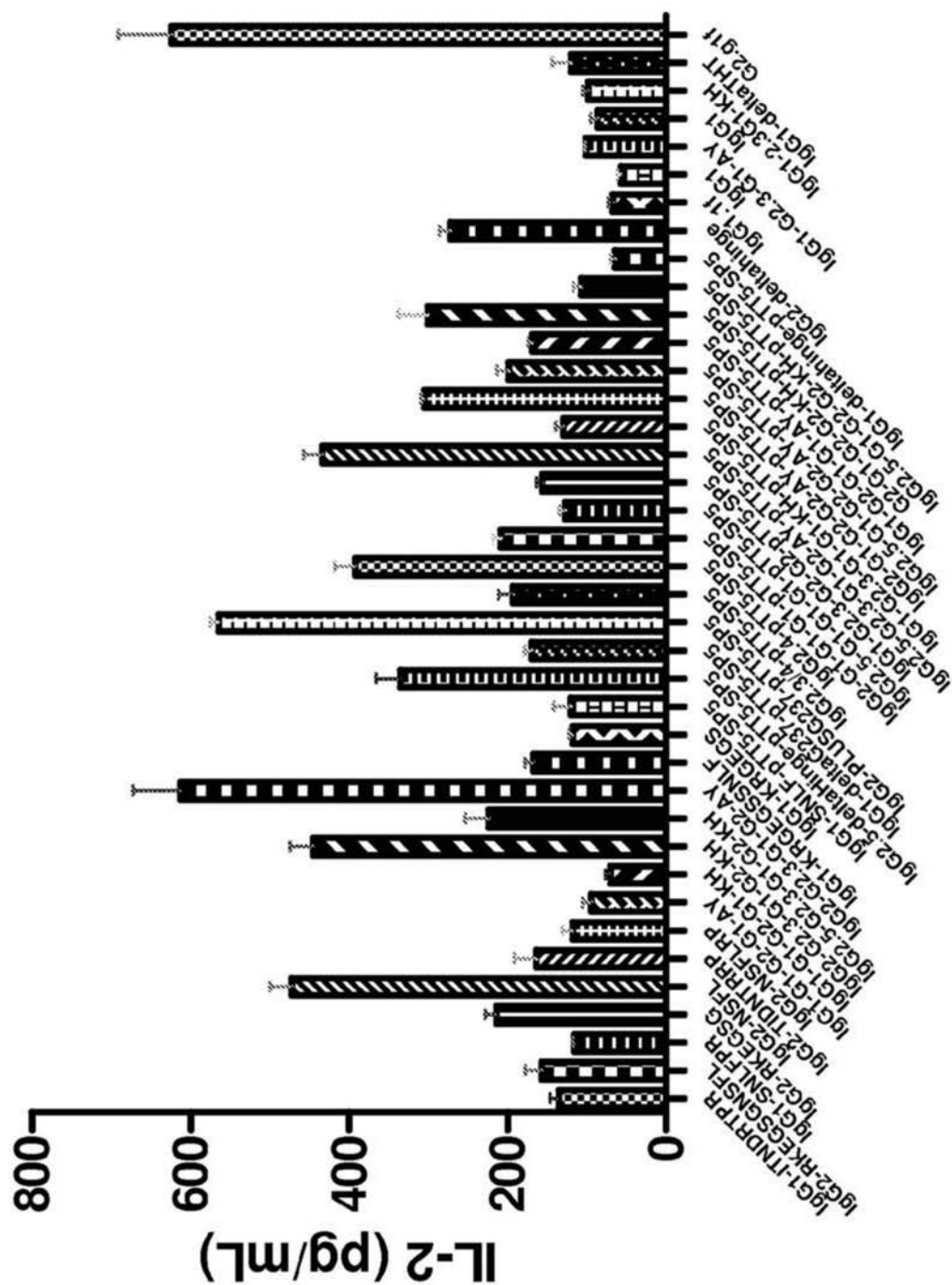


图20B

在与CHO-OKT3的共培养物中来自CD4+ T细胞的GITR.6变体IL-2分泌(以1.25ug/mL刺激)

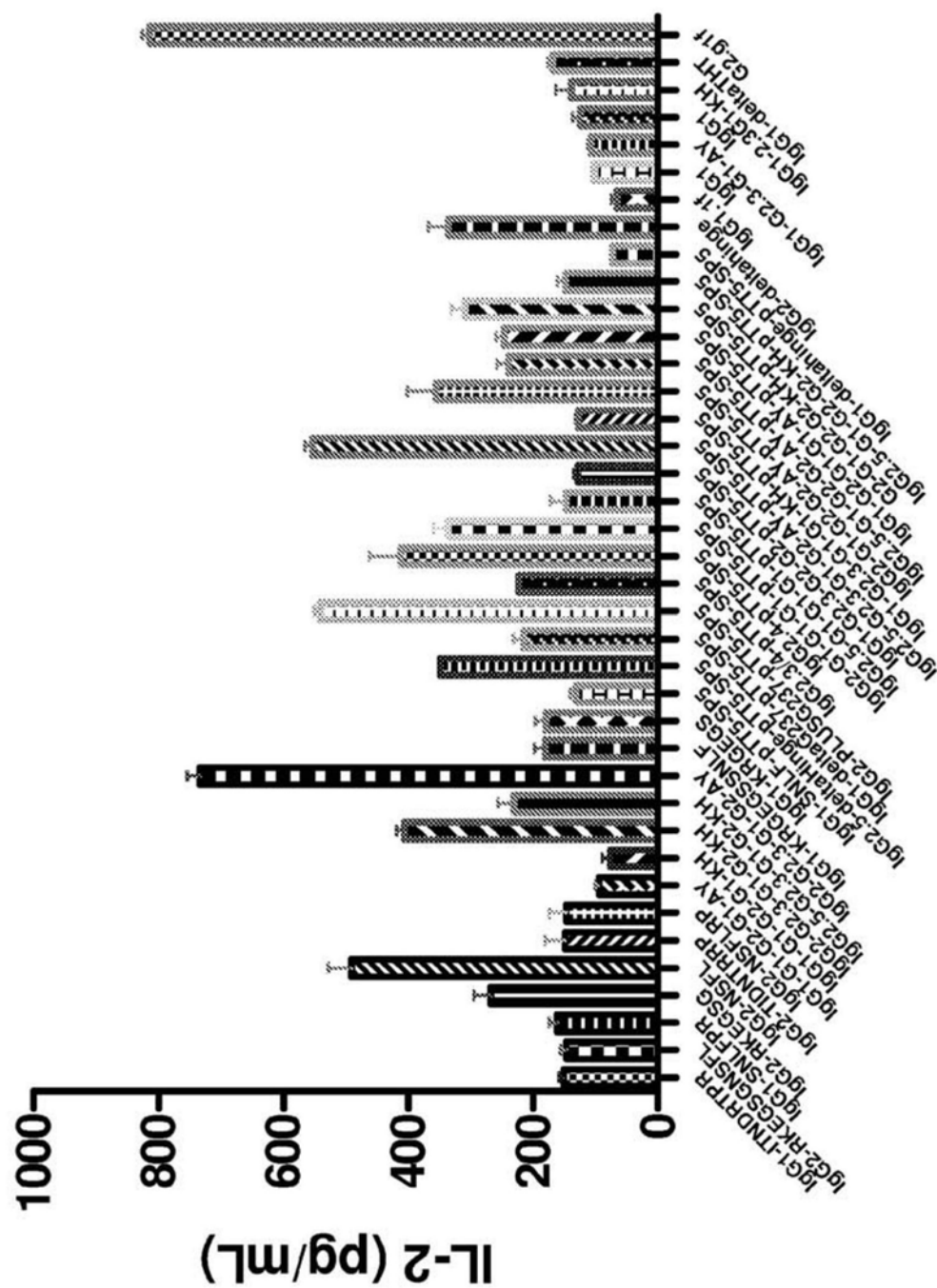


图20C

