



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108368170 B

(45) 授权公告日 2022.04.15

(21) 申请号 201680052368.X

A61K 39/00 (2006.01)

(22) 申请日 2016.07.13

(56) 对比文件

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 108368170 A

WO 2006121168 A1,2006.11.16

US 8735553 B1,2014.05.27

CN 102131828 B,2015.06.17

(43) 申请公布日 2018.08.03

US 2014356363 A1,2014.12.04

WO 2014179664 A2,2014.11.06

(30) 优先权数据

CN 104470949 A,2015.03.25

WO 2010081173 A2,2010.07.15

62/191902 2015.07.13 US

62/205825 2015.08.17 US

62/295314 2016.02.15 US

62/323543 2016.04.15 US

62/333629 2016.05.09 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2018.03.09

development of masked therapeutic antibodies to limit off-target effects: application to anti-EGFR antibodies”.《Cancer Biol Ther.》.2009,第8卷(第22期),

Guan M等.“Adverse events of

monoclonal antibodies used for cancer therapy”.《Biomed Res Int.》.2015,

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2016/042141 2016.07.13

Weidle UH等.“Proteases as activators for cytotoxic prodrugs in antitumor therapy”.《Cancer Genomics Proteomics》.2014,第11卷(第2期),

(87) PCT国际申请的公布数据
W02017/011580 EN 2017.01.19

Krishna R Polu等.“probody

therapeutics for targeting antibodies to diseased tissue”.《Expert Opin Biol Ther》.2014,第14卷(第8期),

(73) 专利权人 西托姆克斯治疗公司
地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 K.A.蒂普顿 J.W.韦斯特 C.M.陈

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001

代理人 李唐 黄希贵

审查员 张宁

(51) Int.Cl.

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

权利要求书4页 说明书342页

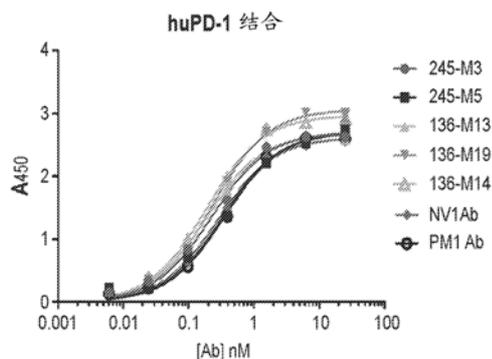
序列表(电子公布) 附图39页

(54) 发明名称

抗PD-1抗体、可活化抗PD-1抗体及其使用方法

(57) 摘要

本发明一般涉及特异性结合程序性细胞死亡蛋白1(PD-1)的抗体、特异性结合PD-1的可活化抗体以及制备这些抗PD-1抗体和抗PD-1可活化抗体和在多种治疗、诊断和预防适应症中使用它们的方法。



CN 108368170 B

1. 特异性结合人PD-1的分离的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段包含:

GFTFSGYAMS (SEQ ID NO: 653)的VH CDR1序列;
YISNSGGNAH (SEQ ID NO: 658)的VH CDR2序列;
EDYGTSPFVY (SEQ ID NO: 664)的VH CDR3序列;
选自RASESVDSYGISFMN (SEQ ID NO: 675)和RASESVDAYGISFMN (SEQ ID NO: 676)的VL CDR1序列;
AASNQGS (SEQ ID NO: 678)的VL CDR2序列;和
QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683)的VL CDR3序列。

2. 可活化抗体,所述可活化抗体处于活化状态时特异性结合人PD-1,其中所述可活化抗体包含:

特异性结合人PD-1的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段包含:
GFTFSGYAMS (SEQ ID NO: 653)的VH CDR1序列;
YISNSGGNAH (SEQ ID NO: 658)的VH CDR2序列;
EDYGTSPFVY (SEQ ID NO: 664)的VH CDR3序列;
选自RASESVDSYGISFMN (SEQ ID NO: 675)和RASESVDAYGISFMN (SEQ ID NO: 676)的VL CDR1序列;

AASNQGS (SEQ ID NO: 678)的VL CDR2序列;
QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683)的VL CDR3序列;
掩蔽部分(MM),当所述可活化抗体处于未切割状态时所述掩蔽部分抑制所述抗体或其抗原结合片段与人PD-1的结合;和

与所述抗体或其抗原结合片段偶联的可切割部分(CM),其中所述CM是功能为蛋白酶底物的多肽。

3. 权利要求2的可活化抗体,其中所述抗体或其抗原结合片段包含:含有SEQ ID NO: 21的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO: 47的氨基酸序列的VL。

4. 权利要求2的可活化抗体,其中所述抗体或其抗原结合片段包含:含有SEQ ID NO: 21的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO: 45的氨基酸序列的VL。

5. 权利要求2-4中任一项的可活化抗体,其中所述MM包含选自SEQ ID NO: 66-213、384-514和548-571的氨基酸序列。

6. 权利要求2-4中任一项的可活化抗体,其中所述MM包含选自SEQ ID NO: 384-514和548-571的氨基酸序列。

7. 权利要求2-4中任一项的可活化抗体,其中所述MM包含选自SEQ ID NO: 66、67、70、71、74、77、81、82、84、90、91、93和99的氨基酸序列。

8. 权利要求2-7中任一项的可活化抗体,其中所述CM为在患病组织中有活性的蛋白酶的底物。

9. 权利要求2-8中任一项的可活化抗体,其中所述CM包含选自SEQ ID NO: 214、294-361、1092-1112、1157、1158、1161、1162、1165、1166、1169、1520和1695-1704的氨基酸序列。

10. 权利要求2-8中任一项的可活化抗体,其中所述CM包含选自SEQ ID NO: 214、294、300、302、303、305、308、318、347、361、1092-1102、1111和1157的氨基酸序列。

11. 权利要求2-8中任一项的可活化抗体,其中所述其抗原结合片段选自Fab片段、F(ab')₂片段、scFv和scAb。

12. 权利要求2-11中任一项的可活化抗体,其中所述抗体或其抗原结合片段连接至所述CM。

13. 权利要求12的可活化抗体,其中所述抗体或其抗原结合片段直接连接至所述CM。

14. 权利要求12的可活化抗体,其中所述抗体或其抗原结合片段经连接肽连接至所述CM。

15. 权利要求2-14中任一项的可活化抗体,其中所述MM连接至所述CM,使得处于未切割状态的可活化抗体包含如下的从N-末端至C-末端的结构排列:MM-CM-抗体或其抗原结合片段或抗体或其抗原结合片段-CM-MM。

16. 权利要求15的可活化抗体,其中所述可活化抗体包含MM和CM之间的连接肽。

17. 权利要求15的可活化抗体,其中所述可活化抗体包含CM和抗体或其抗原结合片段之间的连接肽。

18. 权利要求15的可活化抗体,其中所述可活化抗体包含第一连接肽(LP1)和第二连接肽(LP2),且其中处于未切割状态的可活化抗体具有如下的从N-末端至C-末端的结构排列:MM-LP1-CM-LP2-抗体或其抗原结合片段或抗体或其抗原结合片段-LP2-CM-LP1-MM。

19. 权利要求18的可活化抗体,其中两个连接肽彼此不同。

20. 权利要求18或19的可活化抗体,其中LP1和LP2的每一个是长度1-20个氨基酸的肽。

21. 权利要求2-20中任一项的可活化抗体,其包含选自以下的氨基酸序列:SEQ ID NO: 2056和2057。

22. 缀合的可活化抗体,其包含缀合至试剂的权利要求2-21中任一项的可活化抗体。

23. 权利要求22的缀合的可活化抗体,其中所述试剂经接头缀合至所述可活化抗体。

24. 权利要求23的缀合的可活化抗体,其中所述接头是可切割接头。

25. 权利要求23的缀合的可活化抗体,其中所述接头是不可切割接头。

26. 权利要求22-25中任一项的缀合的可活化抗体,其中所述试剂是可检测部分。

27. 权利要求26的缀合的可活化抗体,其中所述可检测部分是诊断剂。

28. 药物组合物,其包含权利要求2-21中任一项的可活化抗体或权利要求22-27中任一项的缀合的可活化抗体和载体。

29. 药物组合物,其包含权利要求2-21中任一项的可活化抗体。

30. 权利要求28的药物组合物,其包含另外的药剂。

31. 权利要求29的药物组合物,其包含另外的药剂。

32. 权利要求30的药物组合物,其中所述另外的药剂是治疗剂。

33. 权利要求31的药物组合物,其中所述另外的药剂是治疗剂。

34. 分离的核酸分子,其编码权利要求1的抗体或权利要求2-21中任一项的可活化抗体。

35. 载体,其包含权利要求34的分离的核酸分子。

36. 产生可活化抗体的方法,所述方法通过在导致表达所述可活化抗体的条件下培养细胞,其中所述细胞包含权利要求34的核酸分子。

37. 制备可活化抗体的方法,所述可活化抗体在活化状态下结合PD-1,所述方法包括:

(a) 在导致表达权利要求2-21中任一项的可活化抗体的条件下培养包含编码所述可活化抗体的核酸构建体的细胞;和

(b) 回收所述可活化抗体。

38. 权利要求1的抗体、权利要求2-21中任一项的可活化抗体、权利要求22-27中任一项的缀合的可活化抗体、或权利要求28-33中任一项的药物组合物在制备用于降低选自PDL1或PDL2的配体结合T细胞上的PD-1的方法的药物中的用途,其中所述方法包括向有需要的主体施用有效量的权利要求1的抗体或权利要求2-21中任一项的可活化抗体、或权利要求29、31或32的药物组合物。

39. 权利要求1的抗体、权利要求2-21中任一项的可活化抗体、权利要求22-27中任一项的缀合的可活化抗体、或权利要求28-33中任一项的药物组合物在制备用于降低选自PDL1或PDL2的配体结合T细胞上的PD-1的方法的药物中的用途,其中所述方法包括向有需要的主体施用治疗有效量的如权利要求1的分离的抗体、如权利要求2-21中任一项的可活化抗体、或如权利要求29、31或32中任一项的药物组合物。

40. 权利要求38或39的用途,其中所述配体位于肿瘤上或其他免疫细胞上。

41. 权利要求1的抗体、权利要求2-21中任一项的可活化抗体、权利要求22-27中任一项的缀合的可活化抗体、或权利要求28-33中任一项的药物组合物在制备用于降低免疫抑制的方法的药物中的用途,其中所述方法包括向有需要的主体施用治疗有效量的权利要求1的抗体或权利要求2-21中任一项的可活化抗体或权利要求22-27中任一项的缀合的抗体或缀合的可活化抗体或权利要求29、31或32中任一项的药物组合物。

42. 权利要求41的用途,其中所述免疫抑制由T细胞上的PD-1衔接至肿瘤或其他免疫细胞上的PDL1或PDL2来介导。

43. 权利要求1的抗体、权利要求2-21中任一项的可活化抗体、权利要求22-27中任一项的缀合的可活化抗体、或权利要求28-33中任一项的药物组合物在制备用于治疗病症或疾病、减轻病症或疾病的症状、或延迟病症或疾病的进展的方法的药物中的用途,其中所述方法包括向有需要的主体施用治疗有效量的权利要求1的抗体或权利要求2-21中任一项的可活化抗体或权利要求29、31或32中任一项的药物组合物。

44. 权利要求43的用途,其中所述PDL1介导的病症或疾病是癌症。

45. 权利要求44的用途,其中所述癌症是膀胱癌、骨癌、乳腺癌、类癌、宫颈癌、胆管癌、结肠癌、子宫内膜癌、神经胶质瘤、头颈癌、肝癌、肺癌、淋巴瘤、黑色素瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、肾癌、肉瘤、皮肤癌、胃癌、睾丸癌、胸腺癌、甲状腺癌、泌尿生殖癌症或尿路上皮癌。

46. 权利要求44的用途,其中所述癌症选自黑色素瘤(MEL)、肾细胞癌(RCC)、鳞状非小细胞肺癌(NSCLC)、非鳞状NSCLC、结肠直肠癌(CRC)、去势抵抗性前列腺癌(CRPC)、肝细胞癌(HCC)、头颈部鳞状细胞癌、胸腺瘤、食道癌、卵巢癌、胃肠道癌和乳腺癌和恶性血液病。

47. 权利要求46的用途,其中所述恶性血液病为多发性骨髓瘤、B细胞淋巴瘤、T细胞淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、原发性纵隔B细胞淋巴瘤或慢性粒细胞白血病。

48. 权利要求38-46中任一项的用途,其中所述方法包括施用另外的药剂。

49. 权利要求48的用途,其中所述另外的药剂是治疗剂。

50. 权利要求21的可活化抗体,其中所述可活化抗体包含轻链,所述轻链含有包含SEQ

ID NO: 2056的序列的氨基酸序列;和

其中所述可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 2053的氨基酸序列的重链。

51. 权利要求21的可活化抗体,其中所述可活化抗体包含轻链,所述轻链含有包含SEQ

ID NO: 2057的序列的氨基酸序列;和

其中所述可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 2053的氨基酸序列的重链。

52. 权利要求21的可活化抗体,其中所述可活化抗体包含轻链,所述轻链含有包含SEQ

ID NO: 2056的序列的氨基酸序列;和

其中所述可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 2052的氨基酸序列的重链。

53. 权利要求5的可活化抗体,其中所述MM包含SEQ ID NO: 99的氨基酸序列。

54. 权利要求9的可活化抗体,其中所述CM包含SEQ ID NO: 1100的氨基酸序列。

抗PD-1抗体、可活化抗PD-1抗体及其使用方法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求享有于2015年7月13日提交的美国临时申请号62/191,902;于2015年8月17日提交的美国临时申请号62/205,825;于2016年2月15日提交的美国临时申请号62/295,314;于2016年4月15日提交的美国临时申请号62/323,543;以及于2016年5月9日提交的美国临时申请号62/333,629的权益;其每一个的内容以其整体通过引用并入本文。

发明领域

[0003] 本发明一般涉及特异性结合程序性细胞死亡蛋白1 (PD-1) 的抗体、特异性结合PD-1的可活化抗体以及制备这些抗PD-1抗体和抗PD-1可活化抗体和在多种治疗、诊断和预防适应症中使用它们的方法。

[0004] 发明背景

[0005] 基于抗体的疗法已经证明是几种疾病的有效治疗,但在一些情况下,由于广泛的靶标表达导致的毒性已限制了它们的治疗有效性。此外,基于抗体的治疗剂已经表现出其他限制,诸如施用后从循环中快速清除。

[0006] 在慢性刺激条件下,T细胞上调并维持抑制性受体PD-1的表达以负调节T细胞应答的质量和量级。PD-1的一级配体PD-L1在许多肿瘤细胞上调并且经其在肿瘤浸润性T细胞上衔接PD-1而已经与抗肿瘤T细胞免疫的抑制相关。临床试验已证实抗体阻断PD-1或PD-L1以在患者中多种肿瘤类型间恢复持久肿瘤特异性免疫的活性的能力。(Herbst 等人, 2014;Lipson 等人, 2015)。然而,由于相似机制控制抗肿瘤免疫和自体耐受性,这些检验点靶向疗法的全身性递送也可能诱导可随联合治疗(诸如纳武单抗或派姆单抗(抗PD-1)和易普利姆玛(抗CTLA4))而恶化的全身性自身免疫。因此,需要提供抗肿瘤活性而不下调全身免疫的新方法。

[0007] 在小分子治疗剂的领域,已经开发了提供活性化学实体的前药的策略。此类前药以相对无活性(或显著较低活性)的形式施用。一旦施用,前药在体内代谢成活性化合物。此类前药策略可以提供药物对其预定靶标的增加的选择性和副作用的减少。

[0008] 因此,在基于抗体的治疗剂的领域中继续需要模拟小分子前药的所需特征的抗体。

[0009] 发明概述

[0010] 本发明提供特异性结合程序性细胞死亡蛋白1 (PD-1,也称为CD279、SLEB2和/或hSLE1)的抗体或其抗原结合片段。使用术语“PD-1”旨在覆盖其任何变化,诸如通过非限制性实例,PD1和/或PD 1,所有变化本文可以互换使用。PD-1和PD-1相关的信号传导的异常表达和/或活性已牵涉于许多疾病和病症诸如癌症的发病。

[0011] 本发明提供特异性结合PD-1的单克隆抗体(mAb)、可活化抗体及其抗原结合片段。

[0012] 在一些实施方案中,所述抗体包括特异性结合PD-1的抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,结合PD-1的抗体或其抗原结合片段是单克隆抗体、结构域抗体、单链、Fab片段、F(ab')₂片段、scFv、scAb、dAb、单一结构域重链抗体或单一结构域轻链抗体。在一些

实施方案中,此类结合PD-1的抗体或其抗原结合片段是小鼠、其他啮齿动物、嵌合、人源化或全人单克隆抗体。

[0013] 在一些实施方案中,抗体包括特异性结合哺乳动物PD-1的分离的抗体或其抗原结合片段(AB),其中所述AB具有选自以下的一种或多种特征:(a) AB以低于5 nM的 EC_{50} 值抑制哺乳动物PD-1与哺乳动物PDL1的结合;(b) AB以低于5 nM的 EC_{50} 值抑制哺乳动物PD-1与哺乳动物PDL2的结合;和(c) AB特异性结合人PD-1和食蟹猴PD-1。

[0014] 在一些实施方案中,所述抗体以以下解离常数特异性结合哺乳动物PD-1:0.01 nM-5 nM、0.05 nM-5 nM、0.1 nM-5 nM、0.2 nM-5 nM、0.3 nM-5 nM、0.4 nM-5 nM、0.5 nM-5 nM、0.75 nM-5 nM、1 nM-5 nM、2 nM-5 nM、0.01 nM-2 nM、0.05 nM-2 nM、0.1 nM-2 nM、0.2 nM-2 nM、0.3 nM-2 nM、0.4 nM-2 nM、0.5 nM-2 nM、0.75 nM-1 nM、1 nM-2 nM、0.01 nM-1 nM、0.05 nM-1 nM、0.1 nM-1 nM、0.2 nM-1 nM、0.3 nM-1 nM、0.4 nM-1 nM、0.5 nM-1 nM、0.75 nM-1 nM、0.01 nM-0.75 nM、0.05 nM-0.75 nM、0.1 nM-0.75 nM、0.2 nM-0.75 nM、0.3 nM-0.75 nM、0.4 nM-0.75 nM、0.5 nM-0.75 nM、0.01 nM-0.5 nM、0.05 nM-0.5 nM、0.1 nM-0.5 nM、0.2 nM-0.5 nM、0.3 nM-0.5 nM、0.4 nM-0.5 nM、0.01 nM-0.4 nM、0.05 nM-0.4 nM、0.1 nM-0.4 nM、0.2 nM-0.4 nM、0.3 nM-0.4 nM、0.01 nM-0.3 nM、0.05 nM-0.3 nM、0.1 nM-0.3 nM、0.2 nM-0.3 nM、0.01 nM-0.2 nM、0.05 nM-0.2 nM、0.1 nM-0.2 nM、0.01 nM-0.1 nM、0.05 nM-0.1 nM或0.01 nM-0.05 nM。

[0015] 在一些实施方案中,哺乳动物PD-1选自人PD-1和食蟹猴PD-1。在一些实施方案中,哺乳动物PD-1是鼠PD-1。在一些实施方案中,所述抗体以小于或等于1 nM的解离常数特异性结合人PD-1或食蟹猴PD-1。在一些实施方案中,哺乳动物PD-1是人PD-1。

[0016] 在一些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段以小于或等于0.01 nM、小于或等于0.05 nM、小于或等于0.1 nM、小于或等于0.2 nM、小于或等于0.3 nM、小于或等于0.4 nM、小于或等于0.5 nM、小于或等于0.75 nM和小于或等于1 nM的解离常数特异性结合哺乳动物PD-1。

[0017] 在一些实施方案中,所述抗体具有选自以下的一种或多种特征:(a) AB特异性结合人PD-1和食蟹猴PD-1;(b) AB抑制人PDL1和人PDL2结合人PD-1;(c) AB抑制食蟹猴PDL1和食蟹猴PDL2结合食蟹猴PD-1;(d) AB特异性结合鼠PD-1;和(e) AB抑制鼠PDL1和鼠PDL2结合鼠PD-1。

[0018] 在一些实施方案中,抗体以以下的 EC_{50} 阻断天然配体结合哺乳动物PDL1的能力:0.1 nM-10 nM、0.1 nM-5 nM、0.1 nM-3 nM、0.1 nM-2 nM、0.1 nM-1 nM、0.1 nM-0.5 nM、0.1 nM-0.25 nM、0.25 nM-10 nM、0.25 nM-5 nM、0.25 nM-3 nM、0.25 nM-2 nM、0.25 nM-1 nM、0.25 nM-0.5 nM、0.5 nM-10 nM、0.5 nM-5 nM、0.5 nM-3 nM、0.5 nM-2 nM、0.5 nM-1 nM、1 nM-10 nM、1 nM-5 nM、1 nM-3 nM、1 nM-2 nM、2 nM-10 nM、2 nM-5 nM、2 nM-3 nM、3 nM-10 nM、3 nM-5 nM或5 nM-10 nM。在一些实施方案中,天然配体是哺乳动物PDL1或哺乳动物PDL2。在一些实施方案中,天然配体选自:人PDL1、人PDL2、食蟹猴PDL1和食蟹猴PDL2。在一些实施方案中,天然配体是鼠PDL1或鼠PDL2。

[0019] 在一些实施方案中,所述抗体以小于或等于0.1 nM、小于或等于0.25 nM、小于或等于0.5 nM、小于或等于1 nM、小于或等于2 nM、小于或等于3 nM、小于或等于4 nM、小于或等于5 nM和小于或等于10 nM的 EC_{50} 阻断天然配体结合哺乳动物PDL1的能力。

[0020] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括重链和轻链,所述重链包含或衍生自选自以下的氨基酸序列:SEQ ID NO:1、5、9、13、17、21、23、25、27、29、31、33、35和37,所述轻链包含或衍生自选自以下的氨基酸序列:SEQ ID NO:3、7、11、15、19、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59。

[0021] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括重链和轻链,所述重链包含或衍生自选自以下的氨基酸序列:SEQ ID NO:21、23、25、27、29、31、33、35和37,所述轻链包含或衍生自选自以下的氨基酸序列:SEQ ID NO:39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59。

[0022] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括重链,所述重链包含或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO:21。在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括轻链,所述轻链包含或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO:45或SEQ ID NO:47。在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 21的重链和含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 45或SEQ ID NO: 47的轻链。在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 21的重链和含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 45的轻链。在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 21的重链和含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 47的轻链。

[0023] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括SEQ ID NO: 21的重链氨基酸序列的互补决定区(CDR)序列的组合。21。在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括SEQ ID NO: 45或SEQ ID NO: 47的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括SEQ ID NO: 21的重链氨基酸序列的CDR序列和SEQ ID NO: 45或47的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括SEQ ID NO: 21的重链氨基酸序列的CDR序列和SEQ ID NO: 45的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括SEQ ID NO: 21的重链氨基酸序列的CDR序列和SEQ ID NO: 47的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。

[0024] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括:(a)包含选自SEQ ID NO: 653-657的氨基酸序列的可变重链互补决定区1(VH CDR1);(b)包含选自SEQ ID NO: 658-663的氨基酸序列的可变重链互补决定区2(VH CDR2);(c)包含选自SEQ ID NO: 664-668的氨基酸序列的可变重链互补决定区3(VH CDR3);(d)包含选自SEQ ID NO: 669-677的氨基酸序列的可变轻链互补决定区1(VL CDR1);(e)包含选自SEQ ID NO: 678-682的氨基酸序列的可变轻链互补决定区2(VL CDR2);和(f)包含选自SEQ ID NO: 683-687的氨基酸序列的可变轻链互补决定区3(VL CDR3)。

[0025] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括以下的组合:可变重链互补决定区1 (VH CDR1,本文也称为CDRH1)序列、可变重链互补决定区2 (VH CDR2,本文也称为CDRH2)序列和可变重链互补决定区3 (VH CDR3,本文也称为CDRH3)序列,其中VH CDR1序列包含GFTFSGYAMS (SEQ ID NO: 653);VH CDR2序列包含YISNSGGNAH (SEQ ID NO: 658)和VH CDR3序列包含EDYGTSPFVY (SEQ ID NO: 664)。

[0026] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括以下的组合:可变轻链互补决定区1 (VL CDR1,本文也称为CDRL1)序列、可变轻链互补决定区2 (VL CDR2,本文也称为CDRL2)序列和可变轻链互补决定区3 (VL CDR3,本文也称为CDRL3)序列,其中VL CDR1序列包含RASESVDSYGISFMN (SEQ ID NO: 675)或RASESVDAYGISFMN (SEQ ID NO:676);VL CDR2序列

包含AASNQGS (SEQ ID NO: 678)和VL CDR3序列包含QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683)。在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VL CDR1序列包含RASESVDSYGISFMN (SEQ ID NO: 675);VL CDR2序列包含AASNQGS (SEQ ID NO: 678)和VL CDR3序列包含QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683)。在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VL CDR1序列包含RASESVDAYGISFMN (SEQ ID NO:676);VL CDR2序列包含AASNQGS (SEQ ID NO: 678)和VL CDR3序列包含QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683)。

[0027] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含GFTFSGYAMS (SEQ ID NO: 653);VH CDR2序列包含YISNSGGNAH (SEQ ID NO: 658)和VH CDR3序列包含EDYGTSPFVY (SEQ ID NO: 664);VL CDR1序列包含RASESVDSYGISFMN (SEQ ID NO: 675)或RASESVDAYGISFMN (SEQ ID NO:676);VL CDR2序列包含AASNQGS (SEQ ID NO: 678)和VL CDR3序列包含QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683)。在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含GFTFSGYAMS (SEQ ID NO: 653);VH CDR2序列包含YISNSGGNAH (SEQ ID NO: 658)和VH CDR3序列包含EDYGTSPFVY (SEQ ID NO: 664);VL CDR1序列包含RASESVDSYGISFMN (SEQ ID NO: 675);VL CDR2序列包含AASNQGS (SEQ ID NO: 678)和VL CDR3序列包含QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683)。在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含GFTFSGYAMS (SEQ ID NO: 653);VH CDR2序列包含YISNSGGNAH (SEQ ID NO: 658)和VH CDR3序列包含EDYGTSPFVY (SEQ ID NO: 664);VL CDR1序列包含RASESVDAYGISFMN (SEQ ID NO:676);VL CDR2序列包含AASNQGS (SEQ ID NO: 678)和VL CDR3序列包含QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683)。

[0028] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 1346的重链和含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 626的轻链。

[0029] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 1514的重链和含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 638的轻链。

[0030] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括SEQ ID NO: 1346的重链氨基酸序列的互补决定区(CDR)序列的组合。在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括SEQ ID NO: 626的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括SEQ ID NO: 1346的重链氨基酸序列的CDR序列和SEQ ID NO: 626的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。

[0031] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括以下的组合:可变重链互补决定区1 (VH CDR1,本文也称为CDRH1)序列、可变重链互补决定区2 (VH CDR2,本文也称为CDRH2)序列和可变重链互补决定区3 (VH CDR3,本文也称为CDRH3)序列,其中VH CDR1序列包含GITFSNSG (SEQ ID NO: 1705);VH CDR2序列包含IWYDGSKR (SEQ ID NO: 1706)和VH CDR3序列包含TNDDY (SEQ ID NO: 1707)。

[0032] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括以下的组合:可变轻链互补决定区1 (VL CDR1,本文也称为CDRL1)序列、可变轻链互补决定区2 (VL CDR2,本文也称为CDRL2)序列和可变轻链互补决定区3 (VL CDR3,本文也称为CDRL3)序列,其中VL CDR1序列包含QSVSSY

(SEQ ID NO: 1708); VL CDR2序列包含DAS (SEQ ID NO: 1709)和VL CDR3序列包含QQSSNWPRT (SEQ ID NO: 1710)。

[0033] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含GITFSNSG (SEQ ID NO: 1705); VH CDR2序列包含IWYDGSKR (SEQ ID NO: 1706)和VH CDR3序列包含TNDDY (SEQ ID NO: 1707); VL CDR1序列包含QSVSSY (SEQ ID NO: 1708); VL CDR2序列包含DAS (SEQ ID NO: 1709)和VL CDR3序列包含QQSSNWPRT (SEQ ID NO: 1710)。

[0034] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括SEQ ID NO: 1514的重链氨基酸序列的互补决定区(CDR)序列的组合。在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括SEQ ID NO: 638的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括SEQ ID NO: 1514的重链氨基酸序列的CDR序列和SEQ ID NO: 638的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。

[0035] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括以下的组合:可变重链互补决定区1 (VH CDR1,本文也称为CDRH1)序列、可变重链互补决定区2 (VH CDR2,本文也称为CDRH2)序列和可变重链互补决定区3 (VH CDR3,本文也称为CDRH3)序列,其中VH CDR1序列包含GYTFTNYY (SEQ ID NO: 1711); VH CDR2序列包含INPSNGGT (SEQ ID NO: 1712)和VH CDR3序列包含RRDYRFDMGFDY (SEQ ID NO: 1713)。

[0036] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括以下的组合:可变轻链互补决定区1 (VL CDR1,本文也称为CDRL1)序列、可变轻链互补决定区2 (VL CDR2,本文也称为CDRL2)序列和可变轻链互补决定区3 (VL CDR3,本文也称为CDRL3)序列,其中VL CDR1序列包含KGVSTSGYSY (SEQ ID NO: 1714); VL CDR2序列包含LAS (SEQ ID NO: 1715)和VL CDR3序列包含QHSRDPLT (SEQ ID NO: 1716)。

[0037] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含GYTFTNYY (SEQ ID NO: 1711); VH CDR2序列包含INPSNGGT (SEQ ID NO: 1712); VH CDR3序列包含RRDYRFDMGFDY (SEQ ID NO: 1713); VL CDR1序列包含KGVSTSGYSY (SEQ ID NO: 1714); VL CDR2序列包含LAS (SEQ ID NO: 1715)和VL CDR3序列包含QHSRDPLT (SEQ ID NO: 1716)。

[0038] 在一些实施方案中,抗体包含与选自SEQ ID NO: 1、5、9、13、17、21、23、25、27、29、31、33、35和37的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列。在一些实施方案中,抗体包含与选自SEQ ID NO: 3、7、11、15、19、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在一些实施方案中,抗体包含与选自SEQ ID NO: 1、5、9、13、17、21、23、25、27、29、31、33、35和37的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列和与选自SEQ ID NO: 3、7、11、15、19、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。

[0039] 在一些实施方案中,抗体包含与选自SEQ ID NO: 21、23、25、27、29、31、33、35和37的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列。在一些实施方案中,抗体包含与选自SEQ ID NO: 39、41、43、45、47、49、51、53、55、

57和59的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在一些实施方案中,抗体包含与选自SEQ ID NO: 21、23、25、27、29、31、33、35和37的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列和与选自SEQ ID NO: 39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括与SEQ ID NO: 21的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链序列和与SEQ ID NO: 45或SEQ ID NO: 47的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链序列。在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括与SEQ ID NO: 21的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链序列和与SEQ ID NO: 45的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链序列。在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括与SEQ ID NO: 21的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链序列和与SEQ ID NO: 47的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链序列。

[0040] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括与SEQ ID NO: 1346的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO: 626的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸序列。

[0041] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括与SEQ ID NO: 1514的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO: 638的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸序列。

[0042] 在一些实施方案中,抗体包含可变重链互补决定区1(VH CDR1,本文也称为CDRH1)序列、可变重链互补决定区2(VH CDR2,本文也称为CDRH2)序列、可变重链互补决定区3(VH CDR3,本文也称为CDRH3)序列、可变轻链互补决定区1(VL CDR1,本文也称为CDRL1)序列、可变轻链互补决定区2(VL CDR2,本文也称为CDRL2)序列和可变轻链互补决定区3(VL CDR3,本文也称为CDRL3)序列的组合,其中至少一个CDR序列选自:表8中所示的VH CDR1序列;表8中所示的VH CDR2序列;表8中所示的VH CDR3序列;表8中所示的VL CDR1序列;表8中所示的VL CDR2序列;和表8中所示的VL CDR3序列。

[0043] 在一些实施方案中,抗体包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中至少一个CDR序列选自:包含与表8中所示的VH CDR1序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VH CDR1序列;包含与表8中所示的VH CDR2序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VH CDR2序列;包含与表8中所示的VH CDR3序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VH CDR3序列;包含与表8中所示的VL CDR1序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VL CDR1序列;包含与表8中所示的VL CDR2序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VL CDR2序列;和包含与表8中所示的VL CDR3序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性

的序列的VL CDR3序列。

[0044] 在一些实施方案中,抗体包含含有VH CDR1序列、VH CDR2序列和VH CDR3序列的组合的重链,其中组合为表8中单行中所示的三个重链CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)的组合。

[0045] 在一些实施方案中,抗体包含含有VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合的轻链,其中组合为表8中单行中所示的三个轻链CDR序列(VL CDR1、VL CDR2、VL CDR3)的组合。

[0046] 在一些实施方案中,抗体包含表8中单行中所示的VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列和表8中单行中所示的VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合。

[0047] 在一些实施方案中,抗体包含表8中单行中所示的VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列和表8中单行中所示的VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中组合中的各CDR序列包含与表8中单行中所示的相应VH CDR序列和表8中单行中所示的相应VL CDR具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0048] 在一些实施方案中,抗体包含含有VH CDR1序列、VH CDR2序列和VH CDR3序列的组合的重链,其中组合中的各CDR序列包含与表8中单行中所示的三个重链CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)的组合中的相应CDR序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0049] 在一些实施方案中,抗体包含含有VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合的轻链,其中组合中的各CDR序列包含与表8中单行中所示的三个轻链CDR序列(VL CDR1、VL CDR2、VL CDR3)的组合中的相应CDR序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0050] 在一些实施方案中,抗体包括VH CDR1序列、VH CDR2序列和VH CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含与GITFSNSG (SEQ ID NO: 1705)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VH CDR2序列包含与IWYDGSKR (SEQ ID NO: 1706)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;和VH CDR3序列包含与TNDDY (SEQ ID NO: 1707)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0051] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VL CDR1序列包含与QSVSSY (SEQ ID NO: 1708)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VL CDR2序列包含与DAS (SEQ ID NO: 1709)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;和VL CDR3序列包含与QQSSNPRT (SEQ ID NO: 1710)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0052] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含与GITFSNSG (SEQ ID NO: 1705)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VH CDR2序列包含与IWYDGSKR (SEQ ID NO: 1706)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VH CDR3序列包含与TNDDY (SEQ ID NO: 1707)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VL CDR1序列包含与

QSVSSY (SEQ ID NO: 1708) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VL CDR2序列包含与DAS (SEQ ID NO: 1709) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;和VL CDR3序列包含与QQSSNWPRT (SEQ ID NO: 1710) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0053] 在一些实施方案中,抗体包括VH CDR1序列、VH CDR2序列和VH CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含与GYTFTNYY (SEQ ID NO: 1711) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VH CDR2序列包含与INPSNGGT (SEQ ID NO: 1712) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;和VH CDR3序列包含与RRDYRFDMGFY (SEQ ID NO: 1713) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0054] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体包括VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VL CDR1序列包含与KGVSTSGYSY (SEQ ID NO: 1714) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VL CDR2序列包含与LAS (SEQ ID NO: 1715) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;和VL CDR3序列包含与QHSRDLPLT (SEQ ID NO: 1716) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0055] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含与GYTFTNYY (SEQ ID NO: 1711) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VH CDR2序列包含与INPSNGGT (SEQ ID NO: 1712) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VH CDR3序列包含与RRDYRFDMGFY (SEQ ID NO: 1713) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VL CDR1序列包含与KGVSTSGYSY (SEQ ID NO: 1714) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VL CDR2序列包含与LAS (SEQ ID NO: 1715) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;和VL CDR3序列包含与QHSRDLPLT (SEQ ID NO: 1716) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0056] 在一些实施方案中,抗体由包含编码选自 SEQ ID NO: 1、5、9、13、17、21、23、25、27、29、31、33、35和37的重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列所编码。在一些实施方案中,抗体由包含编码选自 SEQ ID NO: 21、23、25、27、29、31、33、35和37的重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列所编码。

[0057] 在一些实施方案中,抗体由包含编码选自 SEQ ID NO: 3、7、11、15、19、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的轻链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列所编码。在一些实施方案中,抗体由包含编码选自 SEQ ID NO: 39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的轻链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列所编码。

[0058] 在一些实施方案中,抗体由包含编码选自 SEQ ID NO: 1、5、9、13、17、21、23、25、27、29、31、33、35和37的重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列和包含编码选自 SEQ ID NO: 3、7、11、15、19、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的轻链氨基酸序列的核酸序列

的核酸序列所编码。

[0059] 在一些实施方案中,抗体由包含编码选自 SEQ ID NO: 21、23、25、27、29、31、33、35和37的重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列和包含编码选自 SEQ ID NO: 39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的轻链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列所编码。

[0060] 在一些实施方案中,抗PD-1由包含编码重链的核酸序列的核酸序列和包含编码轻链的核酸序列的核酸序列所编码,所述重链含有或衍生自SEQ ID NO: 1346的氨基酸序列,所述轻链含有或衍生自SEQ ID NO: 626的氨基酸序列。

[0061] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体由包含编码重链的核酸序列的核酸序列和包含编码轻链的核酸序列的核酸序列所编码,所述重链含有或衍生自SEQ ID NO: 1514的氨基酸序列,所述轻链含有或衍生自SEQ ID NO: 638的氨基酸序列。

[0062] 在一些实施方案中,抗体由包含编码与选自SEQ ID NO: 1、5、9、13、17、21、23、25、27、29、31、33、35和37的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列所编码。在一些实施方案中,抗体由包含编码与选自SEQ ID NO: 21、23、25、27、29、31、33、35和37的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列所编码。

[0063] 在一些实施方案中,抗体由包含编码与选自SEQ ID NO: 3、7、11、15、19、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列所编码。在一些实施方案中,抗体由包含编码与选自SEQ ID NO: 39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列所编码。

[0064] 在一些实施方案中,抗体由包含编码与选自SEQ ID NO: 1、5、9、13、17、21、23、25、27、29、31、33、35和37的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列的核酸序列和编码与选自SEQ ID NO: 3、7、11、15、19、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列所编码。

[0065] 在一些实施方案中,抗体由包含编码与选自SEQ ID NO: 21、23、25、27、29、31、33、35和37的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列和包含编码与选自SEQ ID NO: 39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列所编码。

[0066] 在一些实施方案中,抗PD-1由包含编码与SEQ ID NO: 1346的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链的核酸序列的核酸序列和包含编码与SEQ ID NO: 626的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链的核酸序列的核酸序列所编码。

[0067] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体由包含编码与SEQ ID NO: 1514的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链的核酸序列的核酸序列和包含编码与SEQ ID NO: 638的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、

97%、98%或99%同一性的轻链的核酸序列的核酸序列所编码。

[0068] 在一些实施方案中,抗体由选自 SEQ ID NO: 2、6、10、14、18、22、24、26、28、30、32、34、36和38的重链核酸序列所编码。在一些实施方案中,抗体由选自 SEQ ID NO: 22、24、26、28、30、32、34、36和38的重链核酸序列所编码。

[0069] 在一些实施方案中,抗体由选自 SEQ ID NO: 4、8、12、16、20、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58和60的轻链核酸序列所编码。在一些实施方案中,抗体由选自 SEQ ID NO: 40、42、44、46、48、50、52、54、56、58和60的轻链核酸序列所编码。

[0070] 在一些实施方案中,抗体由选自选自SEQ ID NO: 2、6、10、14、18、22、24、26、28、30、32、34、36和38的SEQ ID NO:的重链核酸序列和选自 SEQ ID NO: 4、8、12、16、20、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58和60的轻链核酸序列所编码。在一些实施方案中,抗体由选自选自SEQ ID NO: 22、24、26、28、30、32、34、36和38的SEQ ID NO:的重链核酸序列和选自 SEQ ID NO: 40、42、44、46、48、50、52、54、56、58和60的轻链核酸序列所编码。

[0071] 在一些实施方案中,抗体由与选自SEQ ID NO: 2、6、10、14、18、22、24、26、28、30、32、34、36和38的重链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列所编码。在一些实施方案中,抗体由与选自SEQ ID NO: 22、24、26、28、30、32、34、36和38的重链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列所编码。

[0072] 在一些实施方案中,抗体由与选自SEQ ID NO: 4、8、12、16、20、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58和60的轻链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列所编码。在一些实施方案中,抗体由与选自SEQ ID NO: 40、42、44、46、48、50、52、54、56、58和60的轻链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列所编码。

[0073] 在一些实施方案中,抗体由与选自SEQ ID NO: 2、6、10、14、18、22、24、26、28、30、32、34、36和38的重链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列和与选自SEQ ID NO: 4、8、12、16、20、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58和60的轻链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列所编码。在一些实施方案中,抗体由与选自SEQ ID NO: 22、24、26、28、30、32、34、36和38的重链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列和与选自SEQ ID NO: 40、42、44、46、48、50、52、54、56、58和60的轻链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列所编码。

[0074] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段并入多特异性抗体或其抗原结合片段中,其中所述多特异性抗体的至少一个臂特异性结合PD-1。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段并入双特异性抗体或其抗原结合片段中,其中所述双特异性抗体的至少一个臂特异性结合PD-1。

[0075] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含选自SEQ ID NO: 1、5、9、13、17、21、23、25、27、29、31、33、35和37的重链氨基酸序列。在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含选自SEQ ID NO: 21、23、25、27、29、31、33、35和37的重链氨基酸序列。

[0076] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含选自SEQ

ID NO: 3、7、11、15、19、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含选自SEQ ID NO: 39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的轻链氨基酸序列。

[0077] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含含有选自SEQ ID NO: 1、5、9、13、17、21、23、25、27、29、31、33、35和37的氨基酸序列的重链氨基酸序列和选自SEQ ID NO: 3、7、11、15、19、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含含有选自SEQ ID NO: 21、23、25、27、29、31、33、35和37的氨基酸序列的重链氨基酸序列和选自SEQ ID NO: 39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的轻链氨基酸序列。

[0078] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 21的重链。在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 45或SEQ ID NO: 47的轻链。在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 21的重链和含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 45或SEQ ID NO: 47的轻链。在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 21的重链和含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 45的轻链。在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 21的重链和含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 47的轻链。

[0079] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含SEQ ID NO: 21的重链氨基酸序列的互补决定区(CDR)序列的组合。在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含SEQ ID NO: 45或SEQ ID NO: 47的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含SEQ ID NO: 21的重链氨基酸序列的CDR序列和SEQ ID NO: 45或47的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含SEQ ID NO: 21的重链氨基酸序列的CDR序列和SEQ ID NO: 45的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含SEQ ID NO: 21的重链氨基酸序列的CDR序列和SEQ ID NO: 47的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。

[0080] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含:(a)包含选自SEQ ID NO: 653-657的氨基酸序列的可变重链互补决定区1(VH CDR1);(b)包含选自SEQ ID NO: 658-663的氨基酸序列的可变重链互补决定区2(VH CDR2);(c)包含选自SEQ ID NO: 664-668的氨基酸序列的可变重链互补决定区3(VH CDR3);(d)包含选自SEQ ID NO: 669-677的氨基酸序列的可变轻链互补决定区1(VL CDR1);(e)包含选自SEQ ID NO: 678-682的氨基酸序列的可变轻链互补决定区2(VL CDR2);和(f)包含选自SEQ ID NO: 683-687的氨基酸序列的可变轻链互补决定区3(VL CDR3)。

[0081] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包括以下的组合:可变重链互补决定区1(VH CDR1,本文也称为CDRH1)序列、可变重链互补决定区2(VH CDR2,本文也称为CDRH2)序列和可变重链互补决定区3(VH CDR3,本文也称为CDRH3)序列,其中VH CDR1序列包含GFTFSGYAMS(SEQ ID NO: 653);VH CDR2序列包含YISNSGGNAH(SEQ

ID NO: 658)和VH CDR3序列包含EDYGTSPFVY (SEQ ID NO: 664)。

[0082] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包括以下的组合:可变轻链互补决定区1 (VL CDR1,本文也称为CDRL1)序列、可变轻链互补决定区2 (VL CDR2,本文也称为CDRL2)序列和可变轻链互补决定区3 (VL CDR3,本文也称为CDRL3)序列,其中VL CDR1序列包含RASESVDSYGISFMN (SEQ ID NO: 675)或RASESVDAYGISFMN (SEQ ID NO:676);VL CDR2序列包含AASNQGS (SEQ ID NO: 678)和VL CDR3序列包含QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683)。在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包括VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VL CDR1序列包含RASESVDSYGISFMN (SEQ ID NO:675);VL CDR2序列包含AASNQGS (SEQ ID NO: 678)和VL CDR3序列包含QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683)。在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包括VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VL CDR1序列包含RASESVDAYGISFMN (SEQ ID NO:676);VL CDR2序列包含AASNQGS (SEQ ID NO: 678)和VL CDR3序列包含QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683)。

[0083] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包括VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含GFTFSGYAMS (SEQ ID NO: 653);VH CDR2序列包含YISNSGGNAH (SEQ ID NO: 658)和VH CDR3序列包含EDYGTSPFVY (SEQ ID NO: 664);VL CDR1序列包含RASESVDSYGISFMN (SEQ ID NO: 675)或RASESVDAYGISFMN (SEQ ID NO:676);VL CDR2序列包含AASNQGS (SEQ ID NO: 678)和VL CDR3序列包含QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683)。在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包括VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含GFTFSGYAMS (SEQ ID NO: 653);VH CDR2序列包含YISNSGGNAH (SEQ ID NO: 658)和VH CDR3序列包含EDYGTSPFVY (SEQ ID NO: 664);VL CDR1序列包含RASESVDSYGISFMN (SEQ ID NO: 675);VL CDR2序列包含AASNQGS (SEQ ID NO: 678)和VL CDR3序列包含QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683)。在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包括VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含GFTFSGYAMS (SEQ ID NO: 653);VH CDR2序列包含YISNSGGNAH (SEQ ID NO: 658)和VH CDR3序列包含EDYGTSPFVY (SEQ ID NO: 664);VL CDR1序列包含RASESVDAYGISFMN (SEQ ID NO: 676);VL CDR2序列包含AASNQGS (SEQ ID NO: 678)和VL CDR3序列包含QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683)。

[0084] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 1346的重链和含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 626的轻链。

[0085] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 1514的重链和含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 638的轻链。

[0086] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含SEQ ID NO: 1346的重链氨基酸序列的互补决定区(CDR)序列的组合。在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含SEQ ID NO: 626的轻链氨基酸序列的CDR序列的

组合。在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含SEQ ID NO: 1346的重链氨基酸序列的CDR序列和SEQ ID NO: 626的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。

[0087] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包括以下的组合:可变重链互补决定区1 (VH CDR1,本文也称为CDRH1)序列、可变重链互补决定区2 (VH CDR2,本文也称为CDRH2)序列和可变重链互补决定区3 (VH CDR3,本文也称为CDRH3)序列,其中VH CDR1序列包含GITFSNSG (SEQ ID NO: 1705);VH CDR2序列包含IWYDGSKR (SEQ ID NO: 1706)和VH CDR3序列包含TNDDY (SEQ ID NO: 1707)。

[0088] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包括以下的组合:可变轻链互补决定区1 (VL CDR1,本文也称为CDRL1)序列、可变轻链互补决定区2 (VL CDR2,本文也称为CDRL2)序列和可变轻链互补决定区3 (VL CDR3,本文也称为CDRL3)序列,其中VL CDR1序列包含QSVSSY (SEQ ID NO: 1708);VL CDR2序列包含DAS (SEQ ID NO: 1709)和VL CDR3序列包含QQSSNPRT (SEQ ID NO: 1710)。

[0089] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包括VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含GITFSNSG (SEQ ID NO: 1705);VH CDR2序列包含IWYDGSKR (SEQ ID NO: 1706)和VH CDR3序列包含TNDDY (SEQ ID NO: 1707);VL CDR1序列包含QSVSSY (SEQ ID NO: 1708);VL CDR2序列包含DAS (SEQ ID NO: 1709)和VL CDR3序列包含QQSSNPRT (SEQ ID NO: 1710)。

[0090] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含SEQ ID NO: 1514的重链氨基酸序列的互补决定区(CDR)序列的组合。在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含SEQ ID NO: 638的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含SEQ ID NO: 1514的重链氨基酸序列的CDR序列和SEQ ID NO: 638的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。

[0091] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包括以下的组合:可变重链互补决定区1 (VH CDR1,本文也称为CDRH1)序列、可变重链互补决定区2 (VH CDR2,本文也称为CDRH2)序列和可变重链互补决定区3 (VH CDR3,本文也称为CDRH3)序列,其中VH CDR1序列包含GYTFTNYY (SEQ ID NO: 1711);VH CDR2序列包含INPSNGGT (SEQ ID NO: 1712)和VH CDR3序列包含RRDYRFDMGFDY (SEQ ID NO: 1713)。

[0092] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包括以下的组合:可变轻链互补决定区1 (VL CDR1,本文也称为CDRL1)序列、可变轻链互补决定区2 (VL CDR2,本文也称为CDRL2)序列和可变轻链互补决定区3 (VL CDR3,本文也称为CDRL3)序列,其中VL CDR1序列包含KGVSTSGYSY (SEQ ID NO: 1714);VL CDR2序列包含LAS (SEQ ID NO: 1715)和VL CDR3序列包含QHSRDLPLT (SEQ ID NO: 1716)。

[0093] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包括VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含GYTFTNYY (SEQ ID NO: 1711);VH CDR2序列包含INPSNGGT (SEQ ID NO: 1712);VH CDR3序列包含RRDYRFDMGFDY (SEQ ID NO: 1713);VL CDR1序列包含KGVSTSGYSY (SEQ ID NO: 1714);VL CDR2序列包含LAS (SEQ ID NO: 1715)和VL CDR3序列包含QHSRDLPLT (SEQ ID NO: 1716)。

[0094] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含与选自SEQ ID NO: 1、5、9、13、17、21、23、25、27、29、31、33、35和37的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列。在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含与选自SEQ ID NO: 21、23、25、27、29、31、33、35和37的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列。

[0095] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含与选自SEQ ID NO: 3、7、11、15、19、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含与选自SEQ ID NO: 39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。

[0096] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含与选自SEQ ID NO: 1、5、9、13、17、21、23、25、27、29、31、33、35和37的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列和与选自SEQ ID NO: 3、7、11、15、19、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。

[0097] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包括与SEQ ID NO: 1346的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO: 626的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。

[0098] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包括与SEQ ID NO: 1514的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO: 638的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。

[0099] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包括VH CDR1序列、VH CDR2序列和VH CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含与GITFSNSG (SEQ ID NO: 1705) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VH CDR2序列包含与IWYDGSKR (SEQ ID NO: 1706) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;和VH CDR3序列包含与TNDDY (SEQ ID NO: 1707) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0100] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包括VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VL CDR1序列包含与QSVSSY (SEQ ID NO: 1708) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VL CDR2序列包含与DAS (SEQ ID NO: 1709) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;和VL CDR3序列包含与QQSSNWPRT (SEQ ID NO: 1710) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0101] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包括VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中

VH CDR1序列包含与GITFSNSG (SEQ ID NO: 1705) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VH CDR2序列包含与IWYDGSKR (SEQ ID NO: 1706) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VH CDR3序列包含与TNDDY (SEQ ID NO: 1707) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VL CDR1序列包含与QSVSSY (SEQ ID NO: 1708) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VL CDR2序列包含与DAS (SEQ ID NO: 1709) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;和VL CDR3序列包含与QQSSNWPRT (SEQ ID NO: 1710) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0102] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包括VH CDR1序列、VH CDR2序列和VH CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含与GYTFTNYY (SEQ ID NO: 1711) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VH CDR2序列包含与INPSNGGT (SEQ ID NO: 1712) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;和VH CDR3序列包含与RRDYRFDMGFDY (SEQ ID NO: 1713) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0103] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包括VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VL CDR1序列包含与KGVSTSGYSY (SEQ ID NO: 1714) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VL CDR2序列包含与LAS (SEQ ID NO: 1715) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;和VL CDR3序列包含与QHSRDLPLT (SEQ ID NO: 1716) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0104] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包括VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含与GYTFTNYY (SEQ ID NO: 1711) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VH CDR2序列包含与INPSNGGT (SEQ ID NO: 1712) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VH CDR3序列包含与RRDYRFDMGFDY (SEQ ID NO: 1713) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VL CDR1序列包含与KGVSTSGYSY (SEQ ID NO: 1714) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VL CDR2序列包含与LAS (SEQ ID NO: 1715) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;和VL CDR3序列包含与QHSRDLPLT (SEQ ID NO: 1716) 具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0105] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂含有可变重链互补决定区1 (VH CDR1,本文中也称为CDRH1) 序列、可变重链互补决定区2 (VH CDR2,本文中也称为CDRH2) 序列、可变重链互补决定区3 (VH CDR3,本文中也称为CDRH3) 序列、可变轻链互补决定区1 (VL CDR1,本文中也称为CDRL1) 序列、可变轻链互补决定区2 (VL CDR2,本文中也称为CDRL2) 序列和可变轻链互补决定区3 (VL CDR3,本文中也称为CDRL3) 序列的组合,其中至少一个CDR序列选自表8中所示的VH CDR1序列;表8中所示的VH CDR2序列;表8中所示的VH CDR3序列;表8中所示的VL CDR1序列;表8中所示的VL CDR2序列;和表8中所示的VL

CDR3序列。

[0106] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中至少一个CDR序列选自:包含与表8中所示的VH CDR1序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VH CDR1序列;包含与表8中所示的VH CDR2序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VH CDR2序列;包含与表8中所示的VH CDR3序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VH CDR3序列;包含与表8中所示的VL CDR1序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VL CDR1序列;包含与表8中所示的VL CDR2序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VL CDR2序列;和包含与表8中所示的VL CDR3序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VL CDR3序列。

[0107] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合为表8中单行中所示的六个CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3)的组合。

[0108] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含含有VH CDR1序列、VH CDR2序列和VH CDR3序列的组的重链,其中所述组合为表8中单行中所示的三个重链CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)的组合。

[0109] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含表8中单行中所示的VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列的组合、表8中单行中所示的VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中组合中的各CDR序列包含与表8中单行中所示的相应VH CDR序列和表8中单行中所示的相应VL CDR具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0110] 在一些实施方案中,多特异性抗体例如双特异性抗体的至少一个臂包含含有VH CDR1序列、VH CDR2序列和VH CDR3序列的组的重链,其中组合中的各CDR序列包含与表8中单行中所示的三个重链CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)的组合中的相应CDR序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0111] 本发明还提供可活化抗体,其包括偶联至掩蔽部分(MM)使得MM的偶联降低抗体或其抗原结合片段结合PD-1的能力的特异性结合PD-1的抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,MM经包含功能为蛋白酶底物的序列的可切割部分(CM)来偶联。当可活化部分通过蛋白酶切割时,本发明的可活化抗PD-1抗体被活化。例如,蛋白酶由靠近表达PD-1的T细胞的肿瘤产生。在一些实施方案中,蛋白酶由与表达PD-1的T细胞共定位的肿瘤产生。

[0112] 本文提供的可活化抗PD-1抗体,在本文也称为抗PD-1可活化抗体或PD-1可活化抗体,在循环中是稳定的,在治疗和/或诊断的预期位点而不在正常例如健康组织或其他非靶向治疗 and/或诊断的组织中是活化的,并且当活化时,展示出至少与相应的未修饰抗体相当的与PD-1的结合。

[0113] 本发明还提供使用结合PD-1的抗体或可活化抗体、特别是结合并中和或以其他方式抑制PD-1的至少一种生物活性的可活化抗体在主体中治疗、预防与PD-1异常的表达和/

或活性相关的症状、和/或延迟该症状的发作或进展、或减缓该症状的方法。

[0114] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包含这样的可活化抗体,所述可活化抗体处于活化状态时特异性结合哺乳动物PD-1,其中所述可活化抗体包含:特异性结合哺乳动物PD-1的抗体或其抗原结合片段(AB);当可活化抗体处于未切割状态时抑制AB结合哺乳动物PD-1的掩蔽部分(MM);和与AB偶联的可切割部分(CM),其中CM是功能为蛋白酶底物的多肽。

[0115] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包含这样的可活化抗体,所述可活化抗体处于活化状态时(a)特异性结合哺乳动物PD-1;和(b)特异性阻断PD-1的天然配体结合哺乳动物PD-1,其中所述可活化抗体包含:特异性结合哺乳动物PD-1的抗体或其抗原结合片段(AB);当可活化抗体处于未切割状态时抑制AB结合哺乳动物PD-1的掩蔽部分(MM);和与AB偶联的可切割部分(CM),其中CM是功能为蛋白酶底物的多肽。

[0116] 在一些实施方案中,处于未切割状态的可活化抗体以以下解离常数特异性结合哺乳动物PD-1:0.5 nM-1 nM、0.5 nM-2 nM、0.5 nM-5 nM、0.5 nM-10 nM、0.5 nM-15 nM、0.5 nM-20 nM、0.5 nM-25 nM、0.5 nM-50 nM、0.5 nM-75 nM、0.5 nM-100 nM、0.5 nM-150 nM、0.5 nM-200 nM、0.5 nM-300 nM、0.5 nM-400 nM、1 nM-2 nM、1 nM-5 nM、1 nM-10 nM、1 nM-15 nM、1 nM-20 nM、1 nM-25 nM、1 nM-50 nM、1 nM-75 nM、1 nM-100 nM、1 nM-150 nM、1 nM-200 nM、1 nM-300 nM、1 nM-400 nM、2 nM-5 nM、2 nM-10 nM、2 nM-15 nM、2 nM-20 nM、2 nM-25 nM、2 nM-50 nM、2 nM-75 nM、2 nM-100 nM、2 nM-150 nM、2 nM-200 nM、2 nM-300 nM、2 nM-400 nM、5 nM-10 nM、5 nM-15 nM、5 nM-20 nM、5 nM-25 nM、5 nM-50 nM、5 nM-75 nM、5 nM-100 nM、5 nM-150 nM、5 nM-200 nM、5 nM-300 nM、5 nM-400 nM、10 nM-15 nM、10 nM-20 nM、10 nM-25 nM、10 nM-50 nM、10 nM-75 nM、10 nM-100 nM、10 nM-150 nM、10 nM-200 nM、10 nM-300 nM、10 nM-400 nM、15 nM-20 nM、15 nM-25 nM、15 nM-50 nM、15 nM-75 nM、15 nM-100 nM、15 nM-150 nM、15 nM-200 nM、15 nM-300 nM、15 nM-400 nM、20 nM-25 nM、20 nM-50 nM、20 nM-75 nM、20 nM-100 nM、20 nM-150 nM、20 nM-200 nM、20 nM-300 nM、20 nM-400 nM、25 nM-50 nM、25 nM-75 nM、25 nM-100 nM、25 nM-150 nM、25 nM-200 nM、25 nM-300 nM、25 nM-400 nM、50 nM-75 nM、50 nM-100 nM、50 nM-150 nM、50 nM-200 nM、50 nM-300 nM、50 nM-400 nM、75 nM-100 nM、75 nM-150 nM、75 nM-200 nM、75 nM-300 nM、75 nM-400 nM、100 nM-150 nM、100 nM-200 nM、100 nM-300 nM、100 nM-400 nM、150 nM-200 nM、150 nM-300 nM、150 nM-400 nM、200 nM-300 nM、200 nM-400 nM或300 nM-400 nM。

[0117] 在一些实施方案中,处于活化状态的可活化抗体以以下解离常数特异性结合哺乳动物PD-1:0.01 nM-5 nM、0.05 nM-5 nM、0.1 nM-5 nM、0.2 nM-5 nM、0.3 nM-5 nM、0.4 nM-5 nM、0.5 nM-5 nM、0.75 nM-5 nM、1 nM-5 nM、2 nM-5 nM、0.01 nM-2 nM、0.05 nM-2 nM、0.1 nM-2 nM、0.2 nM-2 nM、0.3 nM-2 nM、0.4 nM-2 nM、0.5 nM-2 nM、0.75 nM-1 nM、1 nM-2 nM、0.01 nM-1 nM、0.05 nM-1 nM、0.1 nM-1 nM、0.2 nM-1 nM、0.3 nM-1 nM、0.4 nM-1 nM、0.5 nM-1 nM、0.75 nM-1 nM、0.01 nM-0.75 nM、0.05 nM-0.75 nM、0.1 nM-0.75 nM、0.2 nM-0.75 nM、0.3 nM-0.75 nM、0.4 nM-0.75 nM、0.5 nM-0.75 nM、0.01 nM-0.5 nM、0.05 nM-0.5 nM、0.1 nM-0.5 nM、0.2 nM-0.5 nM、0.3 nM-0.5 nM、0.4 nM-0.5 nM、0.01 nM-0.4 nM、0.05 nM-0.4 nM、0.1 nM-0.4 nM、0.2 nM-0.4 nM、0.3 nM-0.4 nM、0.01 nM-

0.3 nM、0.05 nM-0.3 nM、0.1 nM-0.3 nM、0.2 nM-0.3 nM、0.01 nM-0.2 nM、0.05 nM-0.2 nM、0.1 nM-0.2 nM、0.01 nM-0.1 nM、0.05 nM-0.1 nM或0.01 nM-0.05 nM。

[0118] 在一些实施方案中,可活化抗体包含以以下解离常数特异性结合哺乳动物PD-1的AB:0.01 nM-5 nM、0.05 nM-5 nM、0.1 nM-5 nM、0.2 nM-5 nM、0.3 nM-5 nM、0.4 nM-5 nM、0.5 nM-5 nM、0.75 nM-5 nM、1 nM-5 nM、2 nM-5 nM、0.01 nM-2 nM、0.05 nM-2 nM、0.1 nM-2 nM、0.2 nM-2 nM、0.3 nM-2 nM、0.4 nM-2 nM、0.5 nM-2 nM、0.75 nM-1 nM、1 nM-2 nM、0.01 nM-1 nM、0.05 nM-1 nM、0.1 nM-1 nM、0.2 nM-1 nM、0.3 nM-1 nM、0.4 nM-1 nM、0.5 nM-1 nM、0.75 nM-1 nM、0.01 nM-0.75 nM、0.05 nM-0.75 nM、0.1 nM-0.75 nM、0.2 nM-0.75 nM、0.3 nM-0.75 nM、0.4 nM-0.75 nM、0.5 nM-0.75 nM、0.01 nM-0.5 nM、0.05 nM-0.5 nM、0.1 nM-0.5 nM、0.2 nM-0.5 nM、0.3 nM-0.5 nM、0.4 nM-0.5 nM、0.01 nM-0.4 nM、0.05 nM-0.4 nM、0.1 nM-0.4 nM、0.2 nM-0.4 nM、0.3 nM-0.4 nM、0.01 nM-0.3 nM、0.05 nM-0.3 nM、0.1 nM-0.3 nM、0.2 nM-0.3 nM、0.01 nM-0.2 nM、0.05 nM-0.2 nM、0.1 nM-0.2 nM、0.01 nM-0.1 nM、0.05 nM-0.1 nM或0.01 nM-0.05 nM。

[0119] 在一些实施方案中,哺乳动物PD-1选自人PD-1和食蟹猴PD-1。在一些实施方案中,AB以小于或等于1 nM的解离常数特异性结合人PD-1或食蟹猴PD-1。在一些实施方案中,哺乳动物PD-1是人PD-1。在一些实施方案中,AB具有选自以下的一种或多种特征:(a) AB特异性结合人PD-1和食蟹猴PD-1;(b) AB抑制人PDL1和人PDL2结合人PD-1;和(c) AB抑制食蟹猴PDL1和食蟹猴PDL2结合食蟹猴PD-1。

[0120] 在一些实施方案中,哺乳动物PD-1是小鼠PD-1。在一些实施方案中,可活化抗体包含特异性结合小鼠PD-1或抑制小鼠PDL1和小鼠PDL2结合小鼠PD-1的AB。

[0121] I

[0122] 在一些实施方案中,处于未切割状态的可活化抗体以以下解离常数特异性结合哺乳动物PD-1:大于或等于0.5 nM、大于或等于1 nM、大于或等于2 nM、大于或等于3 nM、大于或等于4 nM、大于或等于5 nM、大于或等于10 nM、大于或等于15 nM、大于或等于20 nM、大于或等于25 nM、大于或等于50 nM、大于或等于75 nM、大于或等于100 nM、大于或等于150 nM、大于或等于200 nM、大于或等于300 nM和/或大于或等于400 nM。

[0123] 在一些实施方案中,处于活化状态的可活化抗体以以下解离常数特异性结合哺乳动物PD-1:小于或等于0.01 nM、小于或等于0.05 nM、小于或等于0.1 nM、小于或等于0.2 nM、小于或等于0.3 nM、小于或等于0.4 nM、小于或等于0.5 nM、小于或等于0.75 nM和小于或等于1 nM。

[0124] 在一些实施方案中,可活化抗体包含以以下解离常数特异性结合哺乳动物PD-1的AB:小于或等于0.01 nM、小于或等于0.05 nM、小于或等于0.1 nM、小于或等于0.2 nM、小于或等于0.3 nM、小于或等于0.4 nM、小于或等于0.5 nM、小于或等于0.75 nM和小于或等于1 nM。

[0125] 在一些实施方案中,可活化抗体包含以以下的 EC_{50} 阻断天然配体结合哺乳动物PDL1的能力的AB:0.1 nM-10 nM、0.1 nM-5 nM、0.1 nM-3 nM、0.1 nM-2 nM、0.1 nM-1 nM、0.1 nM-0.5 nM、0.1 nM-0.25 nM、0.25 nM-10 nM、0.25 nM-5 nM、0.25 nM-3 nM、0.25 nM-2 nM、0.25 nM-1 nM、0.25 nM-0.5 nM、0.5 nM-10 nM、0.5 nM-5 nM、0.5 nM-3 nM、0.5 nM-2 nM、0.5 nM-1 nM、1 nM-10 nM、1 nM-5 nM、1 nM-3 nM、1 nM-2 nM、2 nM-10 nM、2 nM-5

nM、2 nM-3 nM、3 nM-10 nM、3 nM-5 nM或5 nM-10 nM。

[0126] 在一些实施方案中,天然配体是哺乳动物PDL1或哺乳动物PDL2。在一些实施方案中,天然配体选自:人PDL1、人PDL2、食蟹猴PDL1和食蟹猴PDL2。

[0127] 在一些实施方案中,可活化抗体具有以下特征中的一种或多种:(a)AB在非肥胖糖尿病(NOD)小鼠中诱导1型糖尿病;和(b)处于未切割状态的可活化抗体在NOD小鼠中抑制1型糖尿病的诱导。

[0128] 在一些实施方案中,在以以下的单一剂量施用可活化抗体后,可活化抗体在NOD小鼠中抑制1型糖尿病的诱导:0.5 mg/kg-15 mg/kg、1 mg/kg-15 mg/kg、2 mg/kg-15 mg/kg、3 mg/kg-15 mg/kg、5 mg/kg-15 mg/kg、10 mg/kg-15 mg/kg、0.5 mg/kg-10 mg/kg、1 mg/kg-10 mg/kg、2 mg/kg-10 mg/kg、3 mg/kg-10 mg/kg、5 mg/kg-10 mg/kg、0.5 mg/kg-5 mg/kg、1 mg/kg-5 mg/kg、2 mg/kg-5 mg/kg、3 mg/kg-5 mg/kg、0.5 mg/kg-3 mg/kg、1 mg/kg-3 mg/kg、2 mg/kg-3 mg/kg、0.5 mg/kg-2 mg/kg、1 mg/kg-2 mg/kg或0.5 mg/kg-1 mg/kg。在一些实施方案中,在以3 mg/kg-10 mg/kg、3 mg/kg或10 mg/kg的单一剂量施用可活化抗体后,可活化抗体在NOD小鼠中抑制1型糖尿病的诱导。在一些实施方案中,在以3 mg/kg-10 mg/kg的单一剂量施用可活化抗体后,可活化抗体在NOD小鼠中抑制1型糖尿病的诱导。在一些实施方案中,在以3 mg/kg的单一剂量施用可活化抗体后,可活化抗体在NOD小鼠中抑制1型糖尿病的诱导。在一些实施方案中,在以10 mg/kg的单一剂量施用可活化抗体后,可活化抗体在NOD小鼠中抑制1型糖尿病的诱导。

[0129] 在一些实施方案中,在以以下的单一剂量施用AB后,AB在NOD小鼠中诱导1型糖尿病:0.5 mg/kg-15 mg/kg、1 mg/kg-15 mg/kg、2 mg/kg-15 mg/kg、3 mg/kg-15 mg/kg、5 mg/kg-15 mg/kg、10 mg/kg-15 mg/kg、0.5 mg/kg-10 mg/kg、1 mg/kg-10 mg/kg、2 mg/kg-10 mg/kg、3 mg/kg-10 mg/kg、5 mg/kg-10 mg/kg、0.5 mg/kg-5 mg/kg、1 mg/kg-5 mg/kg、2 mg/kg-5 mg/kg、3 mg/kg-5 mg/kg、0.5 mg/kg-3 mg/kg、1 mg/kg-3 mg/kg、2 mg/kg-3 mg/kg、0.5 mg/kg-2 mg/kg、1 mg/kg-2 mg/kg或0.5 mg/kg-1 mg/kg。在一些实施方案中,在以1 mg/kg-20 mg/kg、1 mg/kg、3 mg/kg、5 mg/kg、10 mg/kg或20 mg/kg的单一剂量施用AB后,AB在NOD小鼠中诱导1型糖尿病。在一些实施方案中,在以1 mg/kg-20 mg/kg的单一剂量施用AB后,AB在NOD小鼠中诱导1型糖尿病。在一些实施方案中,在以1 mg/kg的单一剂量施用AB后,AB在NOD小鼠中诱导1型糖尿病。在一些实施方案中,在以3 mg/kg的单一剂量施用AB后,AB在NOD小鼠中诱导1型糖尿病。在一些实施方案中,在以5 mg/kg的单一剂量施用AB后,AB在NOD小鼠中诱导1型糖尿病。在一些实施方案中,在以10 mg/kg的单一剂量施用AB后,AB在NOD小鼠中诱导1型糖尿病。在一些实施方案中,在以20 mg/kg的单一剂量施用AB后,AB在NOD小鼠中诱导1型糖尿病。

[0130] 在一些实施方案中,可活化抗体具有以下特征中的一种或多种:(a)处于未切割状态的可活化抗体在大于50%的非肥胖糖尿病(NOD)小鼠群体中不诱导1型糖尿病,和(b)AB在大于50%、大于60%、大于70%、大于80%、50%-100%、50%-75%或70%-90%的NOD小鼠群体中诱导1型糖尿病。

[0131] 在一些实施方案中,在以以下剂量向NOD小鼠群体中的每只小鼠施用单一剂量的可活化抗体后,可活化抗体在大于50%、大于60%、大于70%、大于80%、50%-100%、50%-75%或70%-90%的所述群体中不诱导1型糖尿病:0.5 mg/kg-15 mg/kg、1 mg/kg-15 mg/kg、2 mg/kg-

kg-15 mg/kg、3 mg/kg-15 mg/kg、5 mg/kg-15 mg/kg、10 mg/kg-15 mg/kg、0.5 mg/kg-10 mg/kg、1 mg/kg-10 mg/kg、2 mg/kg-10 mg/kg、3 mg/kg-10 mg/kg、5 mg/kg-10 mg/kg、0.5 mg/kg-5 mg/kg、1 mg/kg-5 mg/kg、2 mg/kg-5 mg/kg、3 mg/kg-5 mg/kg、0.5 mg/kg-3 mg/kg、1 mg/kg-3 mg/kg、2 mg/kg-3 mg/kg、0.5 mg/kg-2 mg/kg、1 mg/kg-2 mg/kg或0.5 mg/kg-1 mg/kg。在一些实施方案中,在以3 mg/kg-10 mg/kg、3 mg/kg或10 mg/kg的单一剂量施用可活化抗体后,可活化抗体在NOD小鼠中抑制1型糖尿病的诱导。在一些实施方案中,所述剂量是3 mg/kg-10 mg/kg的单一剂量。在一些实施方案中,所述剂量是3 mg/kg的单一剂量。在一些实施方案中,所述剂量是10 mg/kg的单一剂量。

[0132] 在一些实施方案中,可活化抗体具有以下特征中的一种或多种:(a)当以3 mg/kg的单一剂量施用时,处于未切割状态的可活化抗体在大于50%、大于60%、大于70%、大于80%、50%-100%、50%-75%或70%-90%的非肥胖糖尿病(NOD)小鼠群体中不诱导1型糖尿病;和(b)当以3 mg/kg的单一剂量施用时,AB在大于50%、大于60%、大于70%、大于80%、50%-100%、50%-75%或70%-90%的NOD小鼠群体中诱导1型糖尿病。

[0133] 在一些实施方案中,可活化抗体具有以下特征中的一种或多种:(a)当以10 mg/kg的单一剂量施用时,处于未切割状态的可活化抗体在大于50%、大于60%、大于70%、大于80%、50%-100%、50%-75%或70%-90%的非肥胖糖尿病(NOD)小鼠群体中不诱导1型糖尿病;和(b)当以10 mg/kg的单一剂量施用时,AB在大于50%、大于60%、大于70%、大于80%、50%-100%、50%-75%或70%-90%的NOD小鼠群体中诱导1型糖尿病。

[0134] 在一些实施方案中,在以以下剂量向NOD小鼠群体中的每只小鼠施用单一剂量的AB后,AB在大于50%、大于60%、大于70%、大于80%、50%-100%、50%-75%或70%-90%的所述群体中诱导1型糖尿病:2 mg/kg-15 mg/kg、3 mg/kg-15 mg/kg、5 mg/kg-15 mg/kg、10 mg/kg-15 mg/kg、2 mg/kg-10 mg/kg、3 mg/kg-10 mg/kg、5 mg/kg-10 mg/kg、2 mg/kg-5 mg/kg、3 mg/kg-5 mg/kg或2 mg/kg-3 mg/kg。在一些实施方案中,所述剂量是3 mg/kg-20 mg/kg、3 mg/kg、5 mg/kg、10 mg/kg或20 mg/kg的单一剂量。在一些实施方案中,所述剂量是3 mg/kg-20 mg/kg的单一剂量。在一些实施方案中,所述剂量是3 mg/kg的单一剂量。在一些实施方案中,所述剂量是5 mg/kg的单一剂量。在一些实施方案中,所述剂量是10 mg/kg的单一剂量。在一些实施方案中,所述剂量是20 mg/kg的单一剂量。

[0135] 在一些实施方案中,处于未切割状态的可活化抗体在大于50%的非肥胖糖尿病(NOD)小鼠的群体中不诱导1型糖尿病,其中NOD小鼠的群体同时用抗CTLA4抗体给药。

[0136] 在一些实施方案中,以2 mg/kg-15 mg/kg、3 mg/kg-15 mg/kg、5 mg/kg-15 mg/kg、10 mg/kg-15 mg/kg、2 mg/kg-10 mg/kg、3 mg/kg-10 mg/kg、5 mg/kg-10 mg/kg、2 mg/kg-5 mg/kg、3 mg/kg-5 mg/kg或2 mg/kg-3 mg/kg的剂量向NOD小鼠群体各自施用单一剂量的可活化抗体,同时施用一定剂量的抗CTLA4抗体。在一些实施方案中,NOD小鼠群体各自以10 mg/kg的剂量施用单一剂量的可活化抗体,同时施用一定剂量的抗CTLA4抗体。

[0137] 在一些实施方案中,NOD小鼠群体各自以2 mg/kg-15 mg/kg、3 mg/kg-15 mg/kg、5 mg/kg-15 mg/kg或10 mg/kg-15 mg/kg的剂量施用单一剂量的抗CTLA4抗体,同时施用一定剂量的抗PD-1可活化抗体。在一些实施方案中,NOD小鼠群体各自以10 mg/kg的剂量施用单一剂量的抗CTLA4抗体,同时施用一定剂量的抗PD-1可活化抗体。

[0138] 在一些实施方案中,NOD小鼠群体各自以5 mg/kg-15 mg/kg的剂量施用单一剂量

的可活化抗体,和以5 mg/kg-15 mg/kg的剂量施用单一剂量的抗CTLA4抗体。在一些实施方案中,NOD小鼠群体各自以10 mg/kg的剂量施用单一剂量的可活化抗体,同时以10 mg/kg的剂量施用单一剂量的抗CTLA4抗体。

[0139] 在一些实施方案中,NOD小鼠是雌性NOD/ShiLtJ小鼠亚品系。在一些实施方案中,当第一次施用可活化抗体时,NOD小鼠的群体各自5周龄。在一些实施方案中,当第一次施用可活化抗体时,NOD小鼠的群体各自10周龄。

[0140] 活化状态下的可活化抗体结合PD-1且包括(i) 特异性结合PD-1的抗体或其抗原结合片段(AB);(ii) 掩蔽部分(MM),当所述可活化抗体在未切割状态下时,所述掩蔽部分(MM)抑制AB与PD-1的结合;和(c) 与所述AB偶联的可切割部分(CM),其中所述CM是作为蛋白酶的底物发挥功能的多肽。

[0141] 在一些实施方案中,未切割状态下的可活化抗体具有如下的N-末端至C-末端的结构排列:MM-CM-AB或AB-CM-MM。

[0142] 在一些实施方案中,所述可活化抗体包含在MM和CM之间的连接肽。

[0143] 在一些实施方案中,所述可活化抗体包含在CM和AB之间的连接肽。

[0144] 在一些实施方案中,所述可活化抗体包含第一连接肽(LP1)和第二连接肽(LP2),且其中未切割状态下的可活化抗体具有如下的N-末端至C-末端的结构排列:MM-LP1-CM-LP2-AB或AB-LP2-CM-LP1-MM。在一些实施方案中,两个连接肽不需要彼此相同。在一些实施方案中,LP1和LP2的每个为长度约1-20个氨基酸的肽。

[0145] 在一些实施方案中,LP1或LP2中的至少一个包含选自 $(GS)_n$ 、 $(GGS)_n$ 、 $(GSGGS)_n$ (SEQ ID NO:363)和 $(GGGS)_n$ (SEQ ID NO:364)的氨基酸序列,其中n是至少1的整数。

[0146] 在一些实施方案中,LP1或LP2的至少一个包含选自以下的氨基酸序列:GGSG (SEQ ID NO: 365)、GGSGG (SEQ ID NO: 366)、GSGSG (SEQ ID NO: 367)、GSGGG (SEQ ID NO: 368)、GGGSG (SEQ ID NO: 369)和GSSSG (SEQ ID NO: 370)。

[0147] 在一些实施方案中,LP1包含氨基酸序列GSSGSGGSGGSG (SEQ ID NO: 371)、GSSGSGGSGG (SEQ ID NO: 372)、GSSGSGGSGGS (SEQ ID NO: 373)、GSSGSGGSGGSGGS (SEQ ID NO: 374)、GSSGSGGSG (SEQ ID NO: 375)、GSSGSGGSGS (SEQ ID NO: 376)、GGGSGGS (SEQ ID NO: 65)或GGGSSG (SEQ ID NO: 1040)。

[0148] 在一些实施方案中,LP2包含氨基酸序列GSS、GGS、GGGS (SEQ ID NO: 377)、GSSGT (SEQ ID NO: 378)或GSSG (SEQ ID NO: 379)。

[0149] 在一些实施方案中,对于结合PD-1,AB具有约100 nM或更低的解离常数(K_d)。

[0150] 在一些实施方案中,所述可活化抗体包括特异性结合PD-1的抗体或其抗原结合片段(AB)。在一些实施方案中,结合PD-1的抗体或其抗原结合片段是单克隆抗体、结构域抗体、单链、Fab片段、 $F(ab')_2$ 片段、scFv、scAb、dAb、单一结构域重链抗体或单一结构域轻链抗体。在一些实施方案中,此类结合PD-1的抗体或其抗原结合片段是小鼠、其他啮齿动物、嵌合、人源化或全人单克隆抗体。

[0151] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有或衍生自选自SEQ ID NO: 1、5、9、13、17、21、23、25、27、29、31、33、35和37的氨基酸序列的重链氨基酸序列。在一些实施方案中,可活化抗体包含选自SEQ ID NO: 3、7、11、15、19、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的轻链氨基酸序列。

[0152] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包含含有或衍生自选自SEQ ID NO: 21、23、25、27、29、31、33、35和37的氨基酸序列的重链和含有或衍生自选自SEQ ID NO: 39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的氨基酸序列的轻链。

[0153] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括重链,所述重链包含或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 21。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括轻链,所述轻链包含或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 45或SEQ ID NO: 47。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 21的重链和含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 45或SEQ ID NO: 47的轻链。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 21的重链和含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 45的轻链。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 21的重链和含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 47的轻链。

[0154] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括SEQ ID NO: 21的重链氨基酸序列的互补决定区(CDR)序列的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括SEQ ID NO: 45或SEQ ID NO: 47的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括SEQ ID NO: 21的重链氨基酸序列的CDR序列和SEQ ID NO: 45或47的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括SEQ ID NO: 21的重链氨基酸序列的CDR序列和SEQ ID NO: 45的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括SEQ ID NO: 21的重链氨基酸序列的CDR序列和SEQ ID NO: 47的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。

[0155] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括:(a)包含选自SEQ ID NO: 653-657的氨基酸序列的可变重链互补决定区1(VH CDR1);(b)包含选自SEQ ID NO: 658-663的氨基酸序列的可变重链互补决定区2(VH CDR2);(c)包含选自SEQ ID NO: 664-668的氨基酸序列的可变重链互补决定区3(VH CDR3);(d)包含选自SEQ ID NO: 669-677的氨基酸序列的可变轻链互补决定区1(VL CDR1);(e)包含选自SEQ ID NO: 678-682的氨基酸序列的可变轻链互补决定区2(VL CDR2);和(f)包含选自SEQ ID NO: 683-687的氨基酸序列的可变轻链互补决定区3(VL CDR3)。

[0156] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括以下的组合:可变重链互补决定区1(VH CDR1,本文也称为CDRH1)序列、可变重链互补决定区2(VH CDR2,本文也称为CDRH2)序列和可变重链互补决定区3(VH CDR3,本文也称为CDRH3)序列,其中VH CDR1序列包含GFTFSGYAMS (SEQ ID NO: 653);VH CDR2序列包含YISNSGGNAH (SEQ ID NO: 658)和VH CDR3序列包含EDYGTSPFVY (SEQ ID NO: 664)。

[0157] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括以下的组合:可变轻链互补决定区1(VL CDR1,本文也称为CDRL1)序列、可变轻链互补决定区2(VL CDR2,本文也称为CDRL2)序列和可变轻链互补决定区3(VL CDR3,本文也称为CDRL3)序列,其中VL CDR1序列包含RASESVDSYGISFMN (SEQ ID NO: 675)或RASESVDAYGISFMN (SEQ ID NO:676);VL CDR2序列包含AASNQGS (SEQ ID NO: 678)和VL CDR3序列包含QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683)。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VL CDR1序列包含RASESVDSYGISFMN (SEQ ID NO: 675);VL CDR2序列包含AASNQGS (SEQ ID NO: 678)和VL CDR3序列包含QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683)。在一些实施方案中,

可活化抗PD-1抗体包括VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VL CDR1序列包含RASESVDAYGISFMN (SEQ ID NO:676);VL CDR2序列包含AASNQGS (SEQ ID NO: 678)和VL CDR3序列包含QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683)。

[0158] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含GFTFSGYAMS (SEQ ID NO: 653);VH CDR2序列包含YISNSGGNAH (SEQ ID NO: 658)和VH CDR3序列包含EDYGTSPFVY (SEQ ID NO: 664);VL CDR1序列包含RASESVDSYGISFMN (SEQ ID NO: 675)或RASESVDAYGISFMN (SEQ ID NO:676);VL CDR2序列包含AASNQGS (SEQ ID NO: 678)和VL CDR3序列包含QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683)。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含GFTFSGYAMS (SEQ ID NO: 653);VH CDR2序列包含YISNSGGNAH (SEQ ID NO: 658)和VH CDR3序列包含EDYGTSPFVY (SEQ ID NO: 664);VL CDR1序列包含RASESVDSYGISFMN (SEQ ID NO: 675);VL CDR2序列包含AASNQGS (SEQ ID NO: 678)和VL CDR3序列包含QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683)。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含GFTFSGYAMS (SEQ ID NO: 653);VH CDR2序列包含YISNSGGNAH (SEQ ID NO: 658)和VH CDR3序列包含EDYGTSPFVY (SEQ ID NO: 664);VL CDR1序列包含RASESVDAYGISFMN (SEQ ID NO:676);VL CDR2序列包含AASNQGS (SEQ ID NO: 678)和VL CDR3序列包含QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683)。

[0159] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 1346的重链和含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 626的轻链。

[0160] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 1514的重链和含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 638的轻链。

[0161] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括SEQ ID NO: 1346的重链氨基酸序列的互补决定区(CDR)序列的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括SEQ ID NO: 626的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括SEQ ID NO: 1346的重链氨基酸序列的CDR序列和SEQ ID NO: 626的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。

[0162] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括以下的组合:可变重链互补决定区1 (VH CDR1,本文也称为CDRH1)序列、可变重链互补决定区2 (VH CDR2,本文也称为CDRH2)序列和可变重链互补决定区3 (VH CDR3,本文也称为CDRH3)序列,其中VH CDR1序列包含GITFSNSG (SEQ ID NO: 1705);VH CDR2序列包含IWYDGSKR (SEQ ID NO: 1706)和VH CDR3序列包含TNDDY (SEQ ID NO: 1707)。

[0163] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括以下的组合:可变轻链互补决定区1 (VL CDR1,本文也称为CDRL1)序列、可变轻链互补决定区2 (VL CDR2,本文也称为CDRL2)序列和可变轻链互补决定区3 (VL CDR3,本文也称为CDRL3)序列,其中VL CDR1序列包含QSVSSY (SEQ ID NO: 1708);VL CDR2序列包含DAS (SEQ ID NO: 1709)和VL CDR3序列包含QQSSNWPRT (SEQ ID NO: 1710)。

[0164] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3

序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含GITFSNSG (SEQ ID NO: 1705);VH CDR2序列包含IWYDGSKR (SEQ ID NO: 1706);VH CDR3序列包含TNDDY (SEQ ID NO: 1707);VL CDR1序列包含QSVSSY (SEQ ID NO: 1708);VL CDR2序列包含DAS (SEQ ID NO: 1709)和VL CDR3序列包含QQSSNWPRT (SEQ ID NO: 1710)。

[0165] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括SEQ ID NO: 1514的重链氨基酸序列的互补决定区(CDR)序列的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括SEQ ID NO: 638的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括SEQ ID NO: 1514的重链氨基酸序列的CDR序列和SEQ ID NO: 638的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。

[0166] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括以下的组合:可变重链互补决定区1 (VH CDR1,本文也称为CDRH1)序列、可变重链互补决定区2 (VH CDR2,本文也称为CDRH2)序列和可变重链互补决定区3 (VH CDR3,本文也称为CDRH3)序列,其中VH CDR1序列包含GYTFTNYY (SEQ ID NO: 1711);VH CDR2序列包含INPSNGGT (SEQ ID NO: 1712)和VH CDR3序列包含RRDYRFDMGFDY (SEQ ID NO: 1713)。

[0167] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括以下的组合:可变轻链互补决定区1 (VL CDR1,本文也称为CDRL1)序列、可变轻链互补决定区2 (VL CDR2,本文也称为CDRL2)序列和可变轻链互补决定区3 (VL CDR3,本文也称为CDRL3)序列,其中VL CDR1序列包含KGVSTSGYSY (SEQ ID NO: 1714);VL CDR2序列包含LAS (SEQ ID NO: 1715)和VL CDR3序列包含QHSRDPLT (SEQ ID NO: 1716)。

[0168] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含GYTFTNYY (SEQ ID NO: 1711);VH CDR2序列包含INPSNGGT (SEQ ID NO: 1712);VH CDR3序列包含RRDYRFDMGFDY (SEQ ID NO: 1713);VL CDR1序列包含KGVSTSGYSY (SEQ ID NO: 1714);VL CDR2序列包含LAS (SEQ ID NO: 1715)和VL CDR3序列包含QHSRDPLT (SEQ ID NO: 1716)。

[0169] 在一些实施方案中,可活化抗体包含与选自SEQ ID NO: 1、5、9、13、17、21、23、25、27、29、31、33、35和37的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列。在一些实施方案中,可活化抗体包含与选自SEQ ID NO: 3、7、11、15、19、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在一些实施方案中,可活化抗体包含与选自SEQ ID NO: 1、5、9、13、17、21、23、25、27、29、31、33、35和37的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列和与选自SEQ ID NO: 3、7、11、15、19、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。

[0170] 在一些实施方案中,可活化抗体包含与选自SEQ ID NO: 21、23、25、27、29、31、33、35和37的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列。在一些实施方案中,可活化抗体包含与选自SEQ ID NO: 39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在一些实施方案中,可活化抗体包含与选自SEQ ID NO: 21、23、

25、27、29、31、33、35和37的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列和与选自SEQ ID NO: 39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括与SEQ ID NO: 21的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链序列和与SEQ ID NO: 45或SEQ ID NO: 47的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链序列。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括与SEQ ID NO: 21的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链序列和与SEQ ID NO: 45的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链序列。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括与SEQ ID NO: 21的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链序列和与SEQ ID NO: 47的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链序列。

[0171] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括与SEQ ID NO: 1346的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链序列和与SEQ ID NO: 626的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链序列。

[0172] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括与SEQ ID NO: 1514的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链序列和与SEQ ID NO: 638的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链序列。

[0173] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体的AB包含选自表7中所示的重链序列的重链氨基酸序列。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体的AB包含选自表7中所示的轻链序列的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体的AB包含选自表7中所示的重链序列的重链氨基酸序列和选自表7中所示的轻链序列的轻链氨基酸序列。

[0174] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体的AB包含与选自表7中所示的重链序列的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体的AB包含与选自表7中所示的轻链序列的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体的AB包含与选自表7中所示的重链序列的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列和与选自表7中所示的轻链序列的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸序列。

[0175] 在一些实施方案中,可活化抗体的AB包括VH CDR1序列、VH CDR2序列和VH CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含与GITFSNSG (SEQ ID NO: 1705)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VH CDR2序列包含与IWYDGSKR (SEQ ID NO: 1706)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;和VH CDR3序列包含与TNDDY (SEQ ID NO: 1707)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0176] 在一些实施方案中,可活化抗体的AB包括VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序

列的组合,其中VL CDR1序列包含与QSVSSY (SEQ ID NO: 1708)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VL CDR2序列包含与DAS (SEQ ID NO: 1709)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;和VL CDR3序列包含与QQSSNWPRT (SEQ ID NO: 1710)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0177] 在一些实施方案中,可活化抗体的AB包括VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含与GITFSNSG (SEQ ID NO: 1705)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VH CDR2序列包含与IWYDGSKR (SEQ ID NO: 1706)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VH CDR3序列包含与TNDDY (SEQ ID NO: 1707)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VL CDR1序列包含与QSVSSY (SEQ ID NO: 1708)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VL CDR2序列包含与DAS (SEQ ID NO: 1709)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;和VL CDR3序列包含与QQSSNWPRT (SEQ ID NO: 1710)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0178] 在一些实施方案中,可活化抗体的AB包括VH CDR1序列、VH CDR2序列和VH CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含与GYTFTNYY (SEQ ID NO: 1711)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VH CDR2序列包含与INPSNGGT (SEQ ID NO: 1712)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;和VH CDR3序列包含与RRDYRFDMGFY (SEQ ID NO: 1713)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0179] 在一些实施方案中,可活化抗体的AB包括VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VL CDR1序列包含与KGVSTSGYSY (SEQ ID NO: 1714)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VL CDR2序列包含与LAS (SEQ ID NO: 1715)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;和VL CDR3序列包含与QHSRDLPLT (SEQ ID NO: 1716)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0180] 在一些实施方案中,可活化抗体的AB包括VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含与GYTFTNYY (SEQ ID NO: 1711)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VH CDR2序列包含与INPSNGGT (SEQ ID NO: 1712)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VH CDR3序列包含与RRDYRFDMGFY (SEQ ID NO: 1713)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VL CDR1序列包含与KGVSTSGYSY (SEQ ID NO: 1714)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;VL CDR2序列包含与LAS (SEQ ID NO: 1715)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列;和VL CDR3序列包含与QHSRDLPLT (SEQ ID NO: 1716)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0181] 在一些实施方案中,可活化抗体包含可变重链互补决定区1(VH CDR1,本文也称为CDRH1)序列、可变重链互补决定区2(VH CDR2,本文也称为CDRH2)序列、可变重链互补决定区3(VH CDR3,本文也称为CDRH3)序列、可变轻链互补决定区1(VL CDR1,本文也称为CDRL1)序列、可变轻链互补决定区2(VL CDR2,本文也称为CDRL2)序列和可变轻链互补决定区3(VL CDR3,本文也称为CDRL3)序列的组合,其中至少一个CDR序列选自:表8中所示的VH CDR1序列;表8中所示的VH CDR2序列;表8中所示的VH CDR3序列;表8中所示的VL CDR1序列;表8中所示的VL CDR2序列;和表8中所示的VL CDR3序列。

[0182] 在一些实施方案中,可活化抗体包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中至少一个CDR序列选自:包含与表8中所示的VH CDR1序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VH CDR1序列;包含与表8中所示的VH CDR2序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VH CDR2序列;包含与表8中所示的VH CDR3序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VH CDR3序列;包含与表8中所示的VL CDR1序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VL CDR1序列;包含与表8中所示的VL CDR2序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VL CDR2序列;和包含与表8中所示的VL CDR3序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VL CDR3序列。

[0183] 在一些实施方案中,可活化抗体包含表8中单行中所示的VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列和表8中单行中所示的VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合。

[0184] 在一些实施方案中,抗体包含含有VH CDR1序列、VH CDR2序列和VH CDR3序列的组合的重链,其中组合为表8中单行中所示的三个重链CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)的组合。

[0185] 在一些实施方案中,可活化抗体包含表8中单行中所示的VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、表8中单行中所示的VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中组合中的各CDR序列包含与表8中单行中所示的三个VH CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)的组合中以及表8中单行中所示的三个VL CDR序列(VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3)的组合中的相应CDR序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0186] 在一些实施方案中,抗体包含含有VH CDR1序列、VH CDR2序列和VH CDR3序列的组合的重链,其中组合中的各CDR序列包含与表8中单行中所示的三个重链CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)的组合中的相应CDR序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0187] 在一些实施方案中,可活化抗体包含可变重链互补决定区1(VH CDR1,本文也称为CDRH1)序列、可变重链互补决定区2(VH CDR2,本文也称为CDRH2)序列、可变重链互补决定区3(VH CDR3,本文也称为CDRH3)序列、可变轻链互补决定区1(VL CDR1,本文也称为CDRL1)序列、可变轻链互补决定区2(VL CDR2,本文也称为CDRL2)序列和可变轻链互补决定区3(VL CDR3,本文也称为CDRL3)序列的组合,其中至少一个CDR序列选自:表9中所示的VH CDR1序列;表9中所示的VH CDR2序列;表9中所示的VH CDR3序列;表9中所示的VL CDR1序列;表9中

所示的VL CDR2序列;和表9中所示的VL CDR3序列。

[0188] 在一些实施方案中,可活化抗体包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中至少一个CDR序列选自:包含与表9中所示的VH CDR1序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VH CDR1序列;包含与表9中所示的VH CDR2序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VH CDR2序列;包含与表9中所示的VH CDR3序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VH CDR3序列;包含与表9中所示的VL CDR1序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VL CDR1序列;包含与表9中所示的VL CDR2序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VL CDR2序列;和包含与表9中所示的VL CDR3序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VL CDR3序列。

[0189] 在一些实施方案中,可活化抗体包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合为表9中所示的组合。

[0190] 在一些实施方案中,可活化抗体包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中组合中的各CDR序列包含与表9中所示的组合中的相应CDR序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0191] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有选自SEQ ID NO: 66、67、70、71、74、77、81、82、84、90、91、93、99的氨基酸序列的掩蔽部分(MM);含有选自SEQ ID NO: 214、294、300、302、303、305、308、318、347、361、1092-1102、1111和1157的氨基酸序列的可切割部分(CM);和VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 675或SEQ ID NO: 676的VL CDR1序列;SEQ ID NO: 678的VL CDR2序列;SEQ ID NO: 683的VL CDR3序列;SEQ ID NO: 653的VH CDR1序列;SEQ ID NO: 658的VH CDR2序列和SEQ ID NO: 664的VH CDR3序列。

[0192] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有选自SEQ ID NO: 66、67、70、71、74、77、81、82、84、90、91、93、99的氨基酸序列的掩蔽部分(MM);可切割部分;含有选自SEQ ID NO: 214、294、300、302、303、305、308、318、347、361、1092-1102、1111和1157的氨基酸序列的可切割部分(CM);VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 675或SEQ ID NO: 676的VL CDR1序列;SEQ ID NO: 678的VL CDR2序列;SEQ ID NO: 683的VL CDR3序列;SEQ ID NO: 653的VH CDR1序列;SEQ ID NO: 658的VH CDR2序列和SEQ ID NO: 664的VH CDR3序列,和人免疫球蛋白轻链恒定结构域。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0193] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有选自SEQ ID NO: 66、67、70、71、74、77、81、82、84、90、91、93、99的氨基酸序列的掩蔽部分(MM);含有选自SEQ ID NO: 214、294、300、302、303、305、308、318、347、361、1092-1102、1111和1157的氨基酸序列的可切割部分(CM);VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 675或SEQ ID NO: 676的VL CDR1序列;SEQ ID NO:

678的VL CDR2序列;SEQ ID NO: 683的VL CDR3序列;SEQ ID NO: 653的VH CDR1序列;SEQ ID NO: 658的VH CDR2序列和SEQ ID NO: 664的VH CDR3序列,和人免疫球蛋白重链恒定结构域。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自381、382、383和1807的氨基酸序列。

[0194] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有选自SEQ ID NO: 66、67、70、71、74、77、81、82、84、90、91、93、99的氨基酸序列的掩蔽部分(MM);含有选自SEQ ID NO: 214、294、300、302、303、305、308、318、347、361、1092-1102、1111和1157的氨基酸序列的可切割部分(CM);VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 675或SEQ ID NO: 676的VL CDR1序列;SEQ ID NO: 678的VL CDR2序列;SEQ ID NO: 683的VL CDR3序列;SEQ ID NO: 653的VH CDR1序列;SEQ ID NO: 658的VH CDR2序列和SEQ ID NO: 664的VH CDR3序列,人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列,和人免疫球蛋白轻链恒定结构域为包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0195] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有选自SEQ ID NO: 66、67、70、71、74、77、81、82、84、90、91、93、99的氨基酸序列的掩蔽部分(MM);含有选自SEQ ID NO: 214、294、300、302、303、305、308、318、347、361、1092-1102、1111和1157的氨基酸序列的可切割部分(CM);VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 675的VL CDR1序列;SEQ ID NO: 678的VL CDR2序列;SEQ ID NO: 683的VL CDR3序列;SEQ ID NO: 653的VH CDR1序列;SEQ ID NO: 658的VH CDR2序列和SEQ ID NO: 664的VH CDR3序列。

[0196] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有选自SEQ ID NO: 66、67、70、71、74、77、81、82、84、90、91、93、99的氨基酸序列的掩蔽部分(MM);含有选自SEQ ID NO: 214、294、300、302、303、305、308、318、347、361、1092-1102、1111和1157的氨基酸序列的可切割部分(CM);VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 675的VL CDR1序列;SEQ ID NO: 678的VL CDR2序列;SEQ ID NO: 683的VL CDR3序列;SEQ ID NO: 653的VH CDR1序列;SEQ ID NO: 658的VH CDR2序列和SEQ ID NO: 664的VH CDR3序列,和人免疫球蛋白轻链恒定结构域。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0197] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有选自SEQ ID NO: 66、67、70、71、74、77、81、82、84、90、91、93、99的氨基酸序列的掩蔽部分(MM);含有选自SEQ ID NO: 214、294、300、302、303、305、308、318、347、361、1092-1102、1111和1157的氨基酸序列的可切割部分(CM);VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 675的VL CDR1序列;SEQ ID NO: 678的VL CDR2序列;SEQ ID NO: 683的VL CDR3序列;SEQ ID NO: 653的VH CDR1序列;SEQ ID NO: 658的VH CDR2序列和SEQ ID NO: 664的VH CDR3序列,和人免疫球蛋白重链恒定结构域。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。

[0198] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有选自SEQ ID NO: 66、67、70、71、74、77、81、82、84、90、91、93、99的氨基酸序列的掩蔽部分(MM);含有选自SEQ ID NO: 214、294、300、302、303、305、308、318、347、361、1092-1102、1111和1157的氨基酸序列的可切割部分(CM);VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 675的VL CDR1序列;SEQ ID NO: 678的VL CDR2序列;SEQ ID NO: 683的VL CDR3序列;SEQ ID NO: 653的VH CDR1序列;SEQ ID NO: 658的VH CDR2序列和SEQ ID NO: 664的VH CDR3序列,人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列,和人免疫球蛋白轻链恒定结构域为包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0199] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有选自SEQ ID NO: 66、67、70、71、74、77、81、82、84、90、91、93、99的氨基酸序列的掩蔽部分(MM);含有选自SEQ ID NO: 214、294、300、302、303、305、308、318、347、361、1092-1102、1111和1157的氨基酸序列的可切割部分(CM);和VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 676的VL CDR1序列;SEQ ID NO: 678的VL CDR2序列;SEQ ID NO: 683的VL CDR3序列;SEQ ID NO: 653的VH CDR1序列;SEQ ID NO: 658的VH CDR2序列和SEQ ID NO: 664的VH CDR3序列。

[0200] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有选自SEQ ID NO: 66、67、70、71、74、77、81、82、84、90、91、93、99的氨基酸序列的掩蔽部分(MM);含有选自SEQ ID NO: 214、294、300、302、303、305、308、318、347、361、1092-1102、1111和1157的氨基酸序列的可切割部分(CM);VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 676的VL CDR1序列;SEQ ID NO: 678的VL CDR2序列;SEQ ID NO: 683的VL CDR3序列;SEQ ID NO: 653的VH CDR1序列;SEQ ID NO: 658的VH CDR2序列和SEQ ID NO: 664的VH CDR3序列,和人免疫球蛋白轻链恒定结构域。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0201] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有选自SEQ ID NO: 66、67、70、71、74、77、81、82、84、90、91、93、99的氨基酸序列的掩蔽部分(MM);含有选自SEQ ID NO: 214、294、300、302、303、305、308、318、347、361、1092-1102、1111和1157的氨基酸序列的可切割部分(CM);VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 676的VL CDR1序列;SEQ ID NO: 678的VL CDR2序列;SEQ ID NO: 683的VL CDR3序列;SEQ ID NO: 653的VH CDR1序列;SEQ ID NO: 658的VH CDR2序列和SEQ ID NO: 664的VH CDR3序列,和人免疫球蛋白重链恒定结构域。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。

[0202] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有选自SEQ ID NO: 66、67、70、71、74、77、81、82、84、90、91、93、99的氨基酸序列的掩蔽部分(MM);含有选自SEQ ID NO: 214、294、300、302、303、305、308、318、347、361、1092-1102、1111和1157的氨基酸序列的可切割部分(CM);VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列

的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 676的VL CDR1序列;SEQ ID NO: 678的VL CDR2序列;SEQ ID NO: 683的VL CDR3序列;SEQ ID NO: 653的VH CDR1序列;SEQ ID NO: 658的VH CDR2序列和SEQ ID NO: 664的VH CDR3序列,人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列,和人免疫球蛋白轻链恒定结构域为包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0203] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有选自SEQ ID NO: 66、67、70、71、74、77、81、82、84、90、91、93、99的氨基酸序列的MM;含有选自SEQ ID NO: 214、294、300、302、303、305、308、318、347、361、1092-1102、1111和1157的氨基酸序列的CM;和VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 21的可变重链序列的VH CDR序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链序列的VL CDR序列。在一些实施方案中,所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0204] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有选自SEQ ID NO: 66、67、70、71、74、77、81、82、84、90、91、93、99的氨基酸序列的MM;含有选自SEQ ID NO: 214、294、300、302、303、305、308、318、347、361、1092-1102、1111和1157的氨基酸序列的CM;和VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 676的VL CDR1序列;SEQ ID NO: 678的VL CDR2序列;SEQ ID NO: 683的VL CDR3序列;SEQ ID NO: 653的VH CDR1序列;SEQ ID NO: 658的VH CDR2序列和SEQ ID NO: 664的VH CDR3序列。在一些实施方案中,所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0205] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有选自SEQ ID NO: 66、67、70、71、74、77、81、82、84、90、91、93、99的氨基酸序列的MM;含有选自SEQ ID NO: 214、294、300、302、303、305、308、318、347、361、1092-1102、1111和1157的氨基酸序列的可切割部分(CM);和SEQ ID NO: 21的可变重链(VH)序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链(VL)序列的组合。在一些实施方案中,所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0206] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列TSYCSIEHYPCNTHH (SEQ ID NO: 99)的掩蔽部分(MM),其在本文称为掩蔽物PD034或PD34;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDNP (SEQ ID NO: 1100)的可切割部分(CM),其在本文也称为底物2011;和VH

CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合，其中所述组合包含SEQ ID NO: 21的可变重链序列的VH CDR序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链序列的VL CDR序列。在一些实施方案中，所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中，人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中，人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0207] 在一些实施方案中，可活化抗体包含：含有氨基酸序列TSYCSIEHYPCNTHH (SEQ ID NO: 99)的掩蔽部分(MM)；含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDNP (SEQ ID NO: 1100)的可切割部分(CM)；和VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合，其中所述组合包含SEQ ID NO: 676的VL CDR1序列；SEQ ID NO: 678的VL CDR2序列；SEQ ID NO: 683的VL CDR3序列；SEQ ID NO: 653的VH CDR1序列；SEQ ID NO: 658的VH CDR2序列和SEQ ID NO: 664的VH CDR3序列。在一些实施方案中，所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中，人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中，人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0208] 在一些实施方案中，可活化抗体包含：含有氨基酸序列TSYCSIEHYPCNTHH (SEQ ID NO: 99)的掩蔽部分(MM)；含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDNP (SEQ ID NO: 1100)的可切割部分(CM)；和SEQ ID NO: 21的可变重链(VH)序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链(VL)序列的组合。在一些实施方案中，所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中，人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中，人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0209] 在一些实施方案中，可活化抗体包含：含有氨基酸序列TSYCSIEHYPCNTHH (SEQ ID NO: 99)的掩蔽部分(MM)，其在本文称为掩蔽物PD034或PD34；含有氨基酸序列ISSGLLSGRSANP (SEQ ID NO: 1101)的可切割部分(CM)，其在本文也称为底物2012；和VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合，其中所述组合包含SEQ ID NO: 21的可变重链序列的VH CDR序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链序列的VL CDR序列。在一些实施方案中，所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中，人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中，人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0210] 在一些实施方案中，可活化抗体包含：含有氨基酸序列TSYCSIEHYPCNTHH (SEQ ID NO: 99)的掩蔽部分(MM)；含有氨基酸序列ISSGLLSGRSANP (SEQ ID NO: 1101)的可切割部分(CM)；和VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合，其中所述组合包含SEQ ID NO: 676的VL CDR1序列；SEQ ID NO: 678的VL

CDR2序列;SEQ ID NO: 683的VL CDR3序列;SEQ ID NO: 653的VH CDR1序列;SEQ ID NO: 658的VH CDR2序列和SEQ ID NO: 664的VH CDR3序列。在一些实施方案中,所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0211] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列TSYCSIEHYPCNTHH (SEQ ID NO: 99)的掩蔽部分(MM);含有氨基酸序列ISSGLLSGRSANP (SEQ ID NO: 1101)的可切割部分(CM);和SEQ ID NO: 21的可变重链(VH)序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链(VL)序列的组合。在一些实施方案中,所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0212] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列TSYCSIEHYPCNTHH (SEQ ID NO: 99)的掩蔽部分(MM),其在本文称为掩蔽物PD034或PD34;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDNP (SEQ ID NO: 1100)的可切割部分(CM),其在本文也称为底物2011;和VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 21的可变重链序列的VH CDR序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链序列的VL CDR序列。在一些实施方案中,所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0213] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列TSYCSIEHYPCNTHH (SEQ ID NO: 99)的掩蔽部分(MM);含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDNP (SEQ ID NO: 1100)的可切割部分(CM);和VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 676的VL CDR1序列;SEQ ID NO: 678的VL CDR2序列;SEQ ID NO: 683的VL CDR3序列;SEQ ID NO: 653的VH CDR1序列;SEQ ID NO: 658的VH CDR2序列和SEQ ID NO: 664的VH CDR3序列。在一些实施方案中,所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0214] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列TSYCSIEHYPCNTHH (SEQ ID NO: 99)的掩蔽部分(MM);含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDNP (SEQ ID NO: 1100)的可切割部分(CM);和SEQ ID NO: 21的可变重链(VH)序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链(VL)序列的组合。在一些实施方案中,所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施

方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0215] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列TSYCSIEHYPCNTHH (SEQ ID NO: 99)的掩蔽部分(MM),其在本文称为掩蔽物PD034或PD34;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 214)的可切割部分(CM),其在本文也称为底物2001;和VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 21的可变重链序列的VH CDR序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链序列的VL CDR序列。在一些实施方案中,所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0216] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列TSYCSIEHYPCNTHH (SEQ ID NO: 99)的掩蔽部分(MM);含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 214)的可切割部分(CM);和VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 676的VL CDR1序列;SEQ ID NO: 678的VL CDR2序列;SEQ ID NO: 683的VL CDR3序列;SEQ ID NO: 653的VH CDR1序列;SEQ ID NO: 658的VH CDR2序列和SEQ ID NO: 664的VH CDR3序列。在一些实施方案中,所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域、或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0217] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列TSYCSIEHYPCNTHH (SEQ ID NO: 99)的掩蔽部分(MM);含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 214)的可切割部分(CM);和SEQ ID NO: 21的可变重链(VH)序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链(VL)序列的组合。在一些实施方案中,所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0218] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列TSYCSIEHYPCNTHH (SEQ ID NO: 99)的掩蔽部分(MM);含有氨基酸序列ISSGLLSGRSGNH (SEQ ID NO: 361)的可切割部分(CM),其在本文中也称为底物2002;和选自以下的组合:(a)VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 21的可变重链序列的VH CDR序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链序列的VL CDR序列;(b)VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 676的VL CDR1序列;SEQ ID NO: 678的VL CDR2序列;SEQ ID NO: 683的VL CDR3序列;SEQ ID NO: 653的VH CDR1序列;SEQ ID NO: 658的VH

CDR2序列和SEQ ID NO: 664的VH CDR3序列;和(c)SEQ ID NO: 21的可变重链(VH)序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链(VL)序列的组合。在一些实施方案中,所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人κ恒定结构域。

[0219] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列TSYCSIEHYPCNTHH (SEQ ID NO: 99)的掩蔽部分(MM);含有氨基酸序列ISSGLLSGRSANPRG (SEQ ID NO: 1092)的可切割部分(CM),其在本文中也称为底物2003;和选自以下的组合:(a)VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 21的可变重链序列的VH CDR序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链序列的VL CDR序列;(b)VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 676的VL CDR1序列;SEQ ID NO: 678的VL CDR2序列;SEQ ID NO: 683的VL CDR3序列;SEQ ID NO: 653的VH CDR1序列;SEQ ID NO: 658的VH CDR2序列和SEQ ID NO: 664的VH CDR3序列;和(c)SEQ ID NO: 21的可变重链(VH)序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链(VL)序列的组合。在一些实施方案中,所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人κ恒定结构域。

[0220] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列TSYCSIEHYPCNTHH (SEQ ID NO: 99)的掩蔽部分(MM);含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDDH (SEQ ID NO: 1095)的可切割部分(CM),其在本文中也称为底物2006;和选自以下的组合:(a)VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 21的可变重链序列的VH CDR序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链序列的VL CDR序列;(b)VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 676的VL CDR1序列;SEQ ID NO: 678的VL CDR2序列;SEQ ID NO: 683的VL CDR3序列;SEQ ID NO: 653的VH CDR1序列;SEQ ID NO: 658的VH CDR2序列和SEQ ID NO: 664的VH CDR3序列;和(c)SEQ ID NO: 21的可变重链(VH)序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链(VL)序列的组合。在一些实施方案中,所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人κ恒定结构域。

[0221] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列TSYCSIEHYPCNTHH (SEQ ID NO: 99)的掩蔽部分(MM);含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDIH (SEQ ID NO: 1096)的可切割部分(CM),其在本文中也称为底物2007;和选自以下的组合:(a)VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 21的可变重链序列的VH CDR序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链序列的VL CDR序列;(b)

VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 676的VL CDR1序列;SEQ ID NO: 678的VL CDR2序列;SEQ ID NO: 683的VL CDR3序列;SEQ ID NO: 653的VH CDR1序列;SEQ ID NO: 658的VH CDR2序列和SEQ ID NO: 664的VH CDR3序列;和(c)SEQ ID NO: 21的可变重链(VH)序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链(VL)序列的组合。在一些实施方案中,所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0222] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列TSYCSIEHYPCNTHH (SEQ ID NO: 99)的掩蔽部分(MM);含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDQH (SEQ ID NO: 1097)的可切割部分(CM),其在本文中也称为2008;和选自以下的组合:(a)VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 21的可变重链序列的VH CDR序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链序列的VL CDR序列;(b)VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 676的VL CDR1序列;SEQ ID NO: 678的VL CDR2序列;SEQ ID NO: 683的VL CDR3序列;SEQ ID NO: 653的VH CDR1序列;SEQ ID NO: 658的VH CDR2序列和SEQ ID NO: 664的VH CDR3序列;和(c)SEQ ID NO: 21的可变重链(VH)序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链(VL)序列的组合。在一些实施方案中,所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0223] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列TSYCSIEHYPCNTHH (SEQ ID NO: 99)的掩蔽部分(MM);含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDTH (SEQ ID NO: 1098)的可切割部分(CM),其在本文中也称为底物2009;和选自以下的组合:(a)VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 21的可变重链序列的VH CDR序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链序列的VL CDR序列;(b)VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 676的VL CDR1序列;SEQ ID NO: 678的VL CDR2序列;SEQ ID NO: 683的VL CDR3序列;SEQ ID NO: 653的VH CDR1序列;SEQ ID NO: 658的VH CDR2序列和SEQ ID NO: 664的VH CDR3序列;和(c)SEQ ID NO: 21的可变重链(VH)序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链(VL)序列的组合。在一些实施方案中,所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0224] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列TSYCSIEHYPCNTHH (SEQ ID NO: 99)的掩蔽部分(MM);含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDYH (SEQ ID NO: 1099)的可切割部

分(CM),其在本文中也称为2010;和选自以下的组合:(a)VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 21的可变重链序列的VH CDR序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链序列的VL CDR序列;(b) VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 676的VL CDR1序列;SEQ ID NO: 678的VL CDR2序列;SEQ ID NO: 683的VL CDR3序列;SEQ ID NO: 653的VH CDR1序列;SEQ ID NO: 658的VH CDR2序列和SEQ ID NO: 664的VH CDR3序列;和(c)SEQ ID NO: 21的可变重链(VH)序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链(VL)序列的组合。在一些实施方案中,所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0225] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列TSYCSIEHYPCNTHH (SEQ ID NO: 99)的掩蔽部分(MM);含有氨基酸序列ISSGLLSGRSANI (SEQ ID NO: 1102)的可切割部分(CM),其在本文中也称为底物2013;和选自以下的组合:(a)VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 21的可变重链序列的VH CDR序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链序列的VL CDR序列;(b) VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 676的VL CDR1序列;SEQ ID NO: 678的VL CDR2序列;SEQ ID NO: 683的VL CDR3序列;SEQ ID NO: 653的VH CDR1序列;SEQ ID NO: 658的VH CDR2序列和SEQ ID NO: 664的VH CDR3序列;和(c)SEQ ID NO: 21的可变重链(VH)序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链(VL)序列的组合。在一些实施方案中,所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0226] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列TSYCSIEHYPCNTHH (SEQ ID NO: 99)的掩蔽部分(MM);含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDNI (SEQ ID NO: 1111)的可切割部分(CM),其在本文中也称为底物2014;和选自以下的组合:(a)VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 21的可变重链序列的VH CDR序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链序列的VL CDR序列;(b) VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 676的VL CDR1序列;SEQ ID NO: 678的VL CDR2序列;SEQ ID NO: 683的VL CDR3序列;SEQ ID NO: 653的VH CDR1序列;SEQ ID NO: 658的VH CDR2序列和SEQ ID NO: 664的VH CDR3序列;和(c)SEQ ID NO: 21的可变重链(VH)序列和SEQ ID NO: 47的可变轻链(VL)序列的组合。在一些实施方案中,所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链

恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人κ恒定结构域。

[0227] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 1151的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的重链。

[0228] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 1152的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的重链。

[0229] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 1190的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的重链。

[0230] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 1191的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的重链。

[0231] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 1198的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的重链。

[0232] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 1199的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的重链。

[0233] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 2055的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:2052的氨基酸序列的重链。

[0234] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 2054的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:2052的氨基酸序列的重链。

[0235] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 2057的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:2052的氨基酸序列的重链。

[0236] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 2056的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:2052的氨基酸序列的重链。

[0237] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 2059的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:2052的氨基酸序列的重链。

[0238] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 2058的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:2052的氨基酸序列的重链。

[0239] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 2055的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:2053的氨基酸序列的重链。

[0240] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 2054的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:2053的氨基酸序列的重链。

[0241] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 2057的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:2053的氨基酸序列的重链。

[0242] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 2056的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:2053的氨基酸序列的重链。

[0243] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 2059的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:2053的氨基酸序列的重链。

[0244] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 2058的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:2053的氨基酸序列的重链。

[0245] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有选自SEQ ID NO: 1351-1362的氨基酸序列的掩蔽部分(MM);含有选自SEQ ID NO: 214、294、300、302、303、305、308、318、347、

361、1092-1102、1111和1157的氨基酸序列的可切割部分(CM);和VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 1514的可变重链序列的VH CDR序列和SEQ ID NO: 638的可变轻链序列的VL CDR序列。在一些实施方案中,所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0246] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有选自SEQ ID NO: 1351-1362的氨基酸序列的MM;含有选自SEQ ID NO: 214、294、300、302、303、305、308、318、347、361、1092-1102、1111和1157的氨基酸序列的CM;和VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含GYTFTNYY (SEQ ID NO: 1711);VH CDR2序列包含INPSNGGT (SEQ ID NO: 1712);VH CDR3序列包含RRDYRFDMGFDY (SEQ ID NO: 1713);VL CDR1序列包含KGVSTSGYSY (SEQ ID NO: 1714);VL CDR2序列包含LAS (SEQ ID NO: 1715)和VL CDR3序列包含QHSRDLPLT (SEQ ID NO: 1716)。在一些实施方案中,所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0247] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有选自SEQ ID NO: 1351-1362的氨基酸序列的MM;含有选自SEQ ID NO: 214、294、300、302、303、305、308、318、347、361、1092-1102、1111和1157的氨基酸序列的CM;SEQ ID NO: 1514的VH序列和SEQ ID NO: 638的VL序列。在一些实施方案中,所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0248] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有选自SEQ ID NO: 1206-1217的氨基酸序列的MM;含有选自SEQ ID NO: 214、294、300、302、303、305、308、318、347、361、1092-1102、1111和1157的氨基酸序列的CM;和VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包含SEQ ID NO: 1346的可变重链序列的VH CDR序列和SEQ ID NO: 626的可变轻链序列的VL CDR序列。在一些实施方案中,所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人 κ 恒定结构域。

[0249] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有选自SEQ ID NO: 1206-1217的氨基酸序列的MM;含有选自SEQ ID NO: 214、294、300、302、303、305、308、318、347、361、1092-

1102、1111和1157的氨基酸序列的CM;和VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含GITFSNSG (SEQ ID NO: 1705);VH CDR2序列包含IWYDGSKR (SEQ ID NO: 1706);VH CDR3序列包含TNDDY (SEQ ID NO: 1707);VL CDR1序列包含QSVSSY (SEQ ID NO: 1708);VL CDR2序列包含DAS (SEQ ID NO: 1709)和VL CDR3序列包含QQSSNWPRT (SEQ ID NO: 1710)。在一些实施方案中,所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人κ恒定结构域。

[0250] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有选自SEQ ID NO: 1206-1217的氨基酸序列的MM;含有选自SEQ ID NO: 214、294、300、302、303、305、308、318、347、361、1092-1102、1111和1157的氨基酸序列的CM;SEQ ID NO: 1346的VH序列和SEQ ID NO: 626的VL序列。在一些实施方案中,所述组合进一步包含人免疫球蛋白重链恒定区、人免疫球蛋白轻链恒定结构域或人免疫球蛋白重链恒定区和人免疫球蛋白轻链恒定结构域两者。在一些实施方案中,人免疫球蛋白重链恒定结构域包含选自SEQ ID NO: 63、381、382、383和1807的氨基酸序列。在一些实施方案中,人免疫球蛋白轻链恒定结构域是包含SEQ ID NO: 61或SEQ ID NO: 1344的人κ恒定结构域。

[0251] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSANP (SEQ ID NO: 1101)的CM,其在本文也称为底物2012;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列。

[0252] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDNP (SEQ ID NO: 1100)的CM,其在本文也称为底物2011;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列。

[0253] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 214)的CM,其在本文也称为底物2001;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列。

[0254] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSGNH (SEQ ID NO: 361)的CM,其在本文也称为底物2002;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列。

[0255] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSANPRG (SEQ ID NO: 1092)的CM,其在本文也称为底物2003;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列。

[0256] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDDH (SEQ ID NO: 1095)的CM,其在本文也称为底物2006;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列。

[0257] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDIH (SEQ ID NO: 1096)的CM,其在本文也称为底物2007;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列。

[0258] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDQH (SEQ ID NO: 1097)的CM,其在本文也称为底物2008;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列。

[0259] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDTH (SEQ ID NO: 1098)的CM,其在本文也称为底物2009;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列。

[0260] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDYH (SEQ ID NO: 1099)的CM,其在本文也称为底物2010;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列。

[0261] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSANI (SEQ ID NO: 1102)的CM,其在本文也称为底物2013;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列。

[0262] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDNI (SEQ ID NO: 1111)的CM,其在本文也称为底物2014;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列。

[0263] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSANP (SEQ ID NO: 1101)的CM,其在本文也称为底物2012;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列的可变重链区(VH)和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列的可变轻链区(VL)。

[0264] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDNP (SEQ ID NO: 1100)的CM,其在本文也称为底物2011;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列的可变重链区(VH)和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列的可变轻链区(VL)。

[0265] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 214)的CM,其在本文也称为底物2001;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列的可变重链区(VH)和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列的可变轻链区(VL)。

[0266] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSGNH (SEQ ID NO: 361)的CM,其在本文也称为底物2002;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列的可变重链区(VH)和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列的可变轻链区(VL)。

[0267] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSANPRG (SEQ ID NO: 1092)的CM,其在本文也称为底物2003;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列的可变重链区(VH)和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列的可变轻链区(VL)。

[0268] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDDH (SEQ ID NO: 1095)的CM,其在本文也称为底物2006;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列的可变重链区(VH)和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列的可变轻链区(VL)。

[0269] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDIH (SEQ ID NO: 1096)的CM,其在本文也称为底物2007;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列的可变重链区(VH)和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列的可变轻链区(VL)。

[0270] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDQH (SEQ ID NO: 1097)的CM,其在本文也称为底物2008;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列的可变重链区(VH)和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列的可变轻链区(VL)。

[0271] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDTH (SEQ ID NO: 1098)的CM,其在本文也称为底物2009;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列的可变重链区(VH)和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列的可变轻链区(VL)。

[0272] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDYH (SEQ ID NO: 1099)的CM,其在本文也称为底物2010;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列的可变重链区(VH)和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列的可变轻链区(VL)。

[0273] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSANI (SEQ ID NO: 1102)的CM,其在本文也称为底物2013;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列的可变重链区(VH)和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列的可变轻链区(VL)。

[0274] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDNI (SEQ ID NO: 1111)的CM,其在本文也称为底物2014;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列的可变重链区(VH)和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列的可变轻链区(VL)。

[0275] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSANP (SEQ ID NO: 1101)的CM,其在本文也称为底物2012;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列的重链互补决定区(CDR)和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列的轻链互补决定区(CDR)。

[0276] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDNP (SEQ ID NO: 1100)的CM,其在本文也称为底物2011;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列的重链互补决定区(CDR)和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列的轻链互补决定区(CDR)。

[0277] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 214)的CM,其在本文也称为底物2001;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列的重链互补决定区(CDR)和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列的轻链互补决定区(CDR)。

[0278] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSGNH (SEQ ID NO: 361)的CM,其在本文也称为底物2002;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列的重链互补决定区(CDR)和SEQ ID NO: 543的

轻链(LC)序列的轻链互补决定区(CDR)。

[0279] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSANPRG (SEQ ID NO: 1092)的CM,其在本文也称为底物2003;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列的重链互补决定区(CDR)和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列的轻链互补决定区(CDR)。

[0280] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDDH (SEQ ID NO: 1095)的CM,其在本文也称为底物2006;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列的重链互补决定区(CDR)和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列的轻链互补决定区(CDR)。

[0281] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDIH (SEQ ID NO: 1096)的CM,其在本文也称为底物2007;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列的重链互补决定区(CDR)和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列的轻链互补决定区(CDR)。

[0282] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDQH (SEQ ID NO: 1097)的CM,其在本文也称为底物2008;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列的重链互补决定区(CDR)和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列的轻链互补决定区(CDR)。

[0283] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDTH (SEQ ID NO: 1098)的CM,其在本文也称为底物2009;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列的重链互补决定区(CDR)和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列的轻链互补决定区(CDR)。

[0284] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDYH (SEQ ID NO: 1099)的CM,其在本文也称为底物2010;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列的重链互补决定区(CDR)和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列的轻链互补决定区(CDR)。

[0285] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSANI (SEQ ID NO: 1102)的CM,其在本文也称为底物2013;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列的重链互补决定区(CDR)和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列的轻链互补决定区(CDR)。

[0286] 在一些实施方案中,可活化抗体包含:含有氨基酸序列ACRICQDHPATKWNS (SEQ ID NO: 549)的MM;含有氨基酸序列ISSGLLSGRSDNI (SEQ ID NO: 1111)的CM,其在本文也称为底物2014;SEQ ID NO: 546的重链(HC)序列的重链互补决定区(CDR)和SEQ ID NO: 543的轻链(LC)序列的轻链互补决定区(CDR)。

[0287] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有选自SEQ ID NO: 1808、1810、1812、1814、1816、1818、1820、1822、1824、1826、1828和1830的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO: 546的氨基酸序列的重链。

[0288] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 1808的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO: 546的氨基酸序列的重链。

[0289] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 1810的氨基酸序列的轻链

和含有SEQ ID NO:546的氨基酸序列的重链。

[0290] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 1812的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:546的氨基酸序列的重链。

[0291] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 1814的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:546的氨基酸序列的重链。

[0292] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 1816的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:546的氨基酸序列的重链。

[0293] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 1818的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:546的氨基酸序列的重链。

[0294] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 1820的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:546的氨基酸序列的重链。

[0295] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 1822的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:546的氨基酸序列的重链。

[0296] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 1824的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:546的氨基酸序列的重链。

[0297] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 1826的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:546的氨基酸序列的重链。

[0298] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 1828的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:546的氨基酸序列的重链。

[0299] 在一些实施方案中,可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 1830的氨基酸序列的轻链和含有SEQ ID NO:546的氨基酸序列的重链。

[0300] 在一些实施方案中,可活化抗体由包含编码选自 SEQ ID NO: 1、5、9、13、17、21、23、25、27、29、31、33、35和37的重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列所编码。在一些实施方案中,可活化抗体由包含编码选自 SEQ ID NO: 21、23、25、27、29、31、33、35和37的重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列所编码。

[0301] 在一些实施方案中,可活化抗体由包含编码选自 SEQ ID NO: 3、7、11、15、19、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的轻链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列所编码。在一些实施方案中,可活化抗体由包含编码选自 SEQ ID NO: 39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的轻链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列所编码。

[0302] 在一些实施方案中,可活化抗体由包含编码选自 SEQ ID NO: 1、5、9、13、17、21、23、25、27、29、31、33、35和37的重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列和包含编码选自 SEQ ID NO: 3、7、11、15、19、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的轻链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列所编码。

[0303] 在一些实施方案中,可活化抗体由包含编码选自 SEQ ID NO: 21、23、25、27、29、31、33、35和37的重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列和包含编码选自 SEQ ID NO: 39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的轻链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列所编码。

[0304] 在一些实施方案中,可活化抗体由包含编码与选自SEQ ID NO: 1、5、9、13、17、21、23、25、27、29、31、33、35和37的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列所编码。在一些实施方案中,可

活化抗体由包含编码与选自SEQ ID NO: 21、23、25、27、29、31、33、35和37的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列所编码。

[0305] 在一些实施方案中,可活化抗体由包含编码与选自SEQ ID NO: 3、7、11、15、19、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸的核酸序列的核酸序列所编码。在一些实施方案中,可活化抗体由包含编码与选自SEQ ID NO: 39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸的核酸序列的核酸序列所编码。

[0306] 在一些实施方案中,可活化抗体由包含编码与选自SEQ ID NO: 1、5、9、13、17、21、23、25、27、29、31、33、35和37的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列的核酸序列和编码与选自SEQ ID NO: 3、7、11、15、19、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸的核酸序列的核酸序列所编码。

[0307] 在一些实施方案中,可活化抗体由包含编码与选自SEQ ID NO: 21、23、25、27、29、31、33、35和37的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列和包含编码与选自SEQ ID NO: 39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸的核酸序列的核酸序列所编码。

[0308] 在一些实施方案中,可活化抗体由选自 SEQ ID NO: 2、6、10、14、18、22、24、26、28、30、32、34、36和38的重链核酸序列所编码。在一些实施方案中,可活化抗体由选自 SEQ ID NO: 22、24、26、28、30、32、34、36和38的重链核酸序列所编码。

[0309] 在一些实施方案中,可活化抗体由选自 SEQ ID NO: 4、8、12、16、20、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58和60的轻链核酸序列所编码。在一些实施方案中,可活化抗体由选自 SEQ ID NO: 40、42、44、46、48、50、52、54、56、58和60的轻链核酸序列所编码。

[0310] 在一些实施方案中,可活化抗体由选自选自SEQ ID NO: 2、6、10、14、18、22、24、26、28、30、32、34、36和38的SEQ ID NO:的重链核酸序列和选自 SEQ ID NO: 4、8、12、16、20、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58和60的轻链核酸序列所编码。在一些实施方案中,可活化抗体由选自选自SEQ ID NO: 22、24、26、28、30、32、34、36和38的SEQ ID NO:的重链核酸序列和选自 SEQ ID NO: 40、42、44、46、48、50、52、54、56、58和60的轻链核酸序列所编码。

[0311] 在一些实施方案中,可活化抗体由与选自SEQ ID NO: 2、6、10、14、18、22、24、26、28、30、32、34、36和38的重链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列所编码。在一些实施方案中,可活化抗体由与选自SEQ ID NO: 22、24、26、28、30、32、34、36和38的重链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列所编码。

[0312] 在一些实施方案中,可活化抗体由与选自SEQ ID NO: 4、8、12、16、20、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58和60的轻链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列所编码。在一些实施方案中,可活化抗体由与选自SEQ ID

NO: 40、42、44、46、48、50、52、54、56、58和60的轻链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列所编码。

[0313] 在一些实施方案中,可活化抗体由与选自SEQ ID NO: 2、6、10、14、18、22、24、26、28、30、32、34、36和38的重链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列和与选自SEQ ID NO: 4、8、12、16、20、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58和60的轻链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列所编码。在一些实施方案中,可活化抗体由与选自SEQ ID NO: 22、24、26、28、30、32、34、36和38的重链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列和与选自SEQ ID NO: 40、42、44、46、48、50、52、54、56、58和60的轻链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列所编码。

[0314] 在一些实施方案中,MM具有这样的结合AB的解离常数(即平衡态下的解离常数) K_d ,其大于AB结合PD-1的 K_d 。

[0315] 在一些实施方案中,MM具有这样的结合AB的 K_d ,其不大于AB结合PD-1的 K_d 。

[0316] 在一些实施方案中,MM具有这样的结合AB的 K_d ,其不小于AB结合PD-1的 K_d 。

[0317] 在一些实施方案中,MM具有这样的结合AB的 K_d ,其大约等于AB结合PD-1的 K_d 。

[0318] 在一些实施方案中,MM具有这样的结合AB的 K_d ,其小于AB结合PD-1的 K_d 。

[0319] 在一些实施方案中,MM具有这样的结合AB的 K_d ,其为AB结合PD-1的 K_d 的不超过2、3、4、5、10、25、50、100、250、500或1000倍。在一些实施方案中,MM具有这样的结合AB的 K_d ,其为AB结合PD-1的 K_d 的1-5、2-5、2-10、5-10、5-20、5-50、5-100、10-100、10-1,000、20-100、20-1000或100-1,000倍。

[0320] 在一些实施方案中,MM具有这样的结合AB的亲和力,其小于AB结合PD-1的亲和力。

[0321] 在一些实施方案中,MM具有这样的结合AB的亲和力,其不大于AB结合PD-1的亲和力。

[0322] 在一些实施方案中,MM具有这样的结合AB的亲和力,其大约等于AB结合PD-1的亲和力。

[0323] 在一些实施方案中,MM具有这样的结合AB的亲和力,其不小于AB结合PD-1的亲和力。

[0324] 在一些实施方案中,MM具有这样的结合AB的亲和力,其大于AB结合PD-1的亲和力。

[0325] 在一些实施方案中,MM具有这样的结合AB的亲和力,其比AB结合PD-1的亲和力小2、3、4、5、10、25、50、100、250、500或1000倍。在一些实施方案中,MM具有这样的结合AB的亲和力,其比AB结合PD-1的亲和力的小1-5、2-5、2-10、5-10、5-20、5-50、5-100、10-100、10-1,000、20-100、20-1000或100-1,000倍。在一些实施方案中,MM具有这样的结合AB的亲和力,其比AB结合PD-1的亲和力小2-20倍。在一些实施方案中,MM不与AB共价连接,并且在与AB的等摩尔浓度下不抑制AB结合PD-1。

[0326] 在一些实施方案中,当可活化抗体处于切割状态时,MM不干扰或与AB竞争结合PD-1。

[0327] 在一些实施方案中,MM为长度2-40个氨基酸的多肽。在一些实施方案中,MM为长度最多约40个氨基酸的多肽。

[0328] 在一些实施方案中,MM为长度不超过40个氨基酸的多肽。

[0329] 在一些实施方案中,MM多肽序列不同于PD-1的多肽序列。在一些实施方案中,MM多肽序列不同于人PD-1的多肽序列。在一些实施方案中,MM多肽序列与AB的任何天然结合配偶体具有不超过50%的同一性。在一些实施方案中,MM多肽序列不同于PD-1的多肽序列并且与AB的任何天然结合配偶体具有不超过40%、30%、25%、20%、15%或10%的同一性。在一些实施方案中,MM多肽序列与人PD-1具有不超过50%的同一性。在一些实施方案中,MM多肽序列不同于PD-1的多肽序列并且与人PD-1具有不超过40%、30%、25%、20%、15%或10%的同一性。

[0330] 在一些实施方案中,MM包含选自SEQ ID NO: 66-213、384-514、548-571、1206-1295和1351-1465的氨基酸序列。在一些实施方案中,MM包含与选自SEQ ID NO: 66-213、384-514、548-571、1206-1295和1351-1465的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,MM包含选自SEQ ID NO: 66、67、70、71、74、77、81、82、84、90、91、93和99的氨基酸序列。在一些实施方案中,MM包含选自SEQ ID NO: 66、71、74、77、82、84、90、91、93和99的氨基酸序列。在一些实施方案中,MM包含选自SEQ ID NO: 1206-1217的氨基酸序列。在一些实施方案中,MM包含选自SEQ ID NO: 1351-1362的氨基酸序列。

[0331] 在一些实施方案中,MM包含选自SEQ ID NO: 66-213的氨基酸序列。在一些实施方案中,MM包含与选自SEQ ID NO: 66-213的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。

[0332] 在一些实施方案中,MM包含选自SEQ ID NO: 384-514的氨基酸序列。在一些实施方案中,MM包含与选自SEQ ID NO: 384-514的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。

[0333] 在一些实施方案中,MM包含选自SEQ ID NO: 548-571的氨基酸序列。在一些实施方案中,MM包含与选自SEQ ID NO: 548-571的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。

[0334] 在一些实施方案中,MM包含选自SEQ ID NO: 1206-1295的氨基酸序列。在一些实施方案中,MM包含与选自SEQ ID NO: 1206-1295的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。

[0335] 在一些实施方案中,MM包含选自SEQ ID NO: 1351-1465的氨基酸序列。在一些实施方案中,MM包含与选自SEQ ID NO: 1351-1465的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。

[0336] 在一些实施方案中,抗体或可活化抗体包含含有选自SEQ ID NO: 2052和2053的氨基酸的重链。

[0337] 在一些实施方案中,抗体或可活化抗体包含含有选自SEQ ID NO: 2054-2059的氨基酸的轻链。

[0338] 在一些实施方案中,抗体或可活化抗体包含含有选自SEQ ID NO: 2052和2053的氨基酸的重链和含有选自SEQ ID NO: 2054-2059的氨基酸的轻链。

[0339] 在一些实施方案中,MM与AB的偶联降低AB结合PD-1的能力,使得当偶联至MM时AB对PD-1的解离常数(K_d)是当未偶联至MM时AB对PD-1的 K_d 的至少2倍。

[0340] 在一些实施方案中,MM与AB的偶联降低AB结合PD-1的能力,使得当偶联至MM时AB对PD-1的解离常数(K_d)是当未偶联至MM时AB对PD-1的 K_d 的至少5倍。

[0341] 在一些实施方案中,MM与AB的偶联降低AB结合PD-1的能力,使得当偶联至MM时AB对PD-1的解离常数(K_d)是当未偶联至MM时AB对PD-1的 K_d 的至少10倍。

[0342] 在一些实施方案中,MM与AB的偶联降低AB结合PD-1的能力,使得当偶联至MM时AB对PD-1的解离常数(K_d)是当未偶联至MM时AB对PD-1的 K_d 的至少20倍。

[0343] 在一些实施方案中,MM与AB的偶联降低AB结合PD-1的能力,使得当偶联至MM时AB对PD-1的解离常数(K_d)是当未偶联至MM时AB对PD-1的 K_d 的至少40倍。

[0344] 在一些实施方案中,MM与AB的偶联降低AB结合PD-1的能力,使得当偶联至MM时AB对PD-1的解离常数(K_d)是当未偶联至MM时AB对PD-1的 K_d 的至少100倍。

[0345] 在一些实施方案中,MM与AB的偶联降低AB结合PD-1的能力,使得当偶联至MM时AB对PD-1的解离常数(K_d)是当未偶联至MM时AB对PD-1的 K_d 的至少1000倍。

[0346] 在一些实施方案中,MM与AB的偶联降低AB结合PD-1的能力,使得当偶联至MM时AB对PD-1的解离常数(K_d)是当未偶联至MM时AB对PD-1的 K_d 的至少10,000倍。

[0347] 在一些实施方案中,在存在PD-1的情况下,当使用靶标置换测定诸如例如PCT公开号W0 2010/081173(其内容以其整体通过引用并入本文)中所述的测定体外进行测定时,相比于当CM被切割时,当CM未切割时,MM降低AB结合PD-1的能力至少90%。

[0348] 在一些实施方案中,切割CM的蛋白酶在患病组织中是有活性的,例如上调的,并且当可活化抗体暴露于所述蛋白酶时,蛋白酶切割可活化抗体中的CM。

[0349] 在一些实施方案中,由邻近表达PD-1的T细胞的肿瘤产生蛋白酶,并且当可活化抗体暴露于所述蛋白酶时,蛋白酶切割可活化抗体中的CM。在一些实施方案中,由与表达PD-1的T细胞共定位的肿瘤产生蛋白酶,并且当可活化抗体暴露于所述蛋白酶时,蛋白酶切割可活化抗体中的CM。

[0350] 在一些实施方案中,CM位于可活化抗体中,使得当可活化抗体处于未切割状态时,可活化抗体与PD-1的结合降低至以这样的解离常数发生,所述解离常数为未修饰的AB结合PD-1的解离常数的至少两倍,而处于切割状态时(即当可活化抗体处于切割状态时),AB结合PD-1。

[0351] 在一些实施方案中,CM位于可活化抗体中,使得当可活化抗体处于未切割状态时,可活化抗体与PD-1的结合降低至以这样的解离常数发生,所述解离常数为未修饰的AB结合PD-1的解离常数的至少五倍,而处于切割状态时(即当可活化抗体处于切割状态时),AB结合PD-1。

[0352] 在一些实施方案中,CM位于可活化抗体中,使得当可活化抗体处于未切割状态时,可活化抗体与PD-1的结合降低至以这样的解离常数发生,所述解离常数为未修饰的AB结合PD-1的解离常数的至少10倍,而处于切割状态时(即当可活化抗体处于切割状态时),AB结合PD-1。

[0353] 在一些实施方案中,CM位于可活化抗体中,使得当可活化抗体处于未切割状态时,可活化抗体与PD-1的结合降低至以这样的解离常数发生,所述解离常数为未修饰的AB结合PD-1的解离常数的至少20倍,而处于切割状态时(即当可活化抗体处于切割状态时),AB结合PD-1。

[0354] 在一些实施方案中,CM位于可活化抗体中,使得当可活化抗体处于未切割状态时,可活化抗体与PD-1的结合降低至以这样的解离常数发生,所述解离常数为未修饰的AB结合

PD-1的解离常数的至少40倍,而处于切割状态时,AB结合PD-1。

[0355] 在一些实施方案中,CM位于可活化抗体中,使得当可活化抗体处于未切割状态时,可活化抗体与PD-1的结合降低至以这样的解离常数发生,所述解离常数为未修饰的AB结合PD-1的解离常数的至少50倍,而处于切割状态时,AB结合PD-1。

[0356] 在一些实施方案中,CM位于可活化抗体中,使得当可活化抗体处于未切割状态时,可活化抗体与PD-1的结合降低至以这样的解离常数发生,所述解离常数为未修饰的AB结合PD-1的解离常数的至少100倍,而处于切割状态时,AB结合PD-1。

[0357] 在一些实施方案中,CM位于可活化抗体中,使得当可活化抗体处于未切割状态时,可活化抗体与PD-1的结合降低至以这样的解离常数发生,所述解离常数为未修饰的AB结合PD-1的解离常数的至少200倍,而处于切割状态时,AB结合PD-1。

[0358] 在一些实施方案中,CM为长度最多为15个氨基酸的多肽。

[0359] 在一些实施方案中,CM是包括作为至少一种基质金属蛋白酶(MMP)的底物的第一可切割部分(CM1)和作为至少一种丝氨酸蛋白酶(SP)的底物的第二可切割部分(CM2)的多肽。在一些实施方案中,CM1-CM2底物的CM1底物序列和CM2底物序列的每一个独立地为长度最多为15个氨基酸的多肽。

[0360] 在一些实施方案中,CM是至少一种蛋白酶的底物,所述蛋白酶在癌症中上调或据信在癌症中上调。在一些实施方案中,CM是至少一种蛋白酶的底物,所述蛋白酶在炎症中上调或据信在炎症中上调。在一些实施方案中,CM是至少一种蛋白酶的底物,所述蛋白酶在自身免疫中上调或据信在自身免疫中上调。

[0361] 在一些实施方案中,CM是选自以下的至少一种蛋白酶的底物:基质金属蛋白酶(MMP)、凝血酶、中性粒细胞弹性蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、豆类蛋白(legumain)和丝氨酸蛋白酶诸如基质蛋白酶(matriptase(MT-SP1))和尿激酶(uPA)。不受理论束缚,据信这些蛋白酶在癌症、炎症和/或自身免疫的至少一种中上调。

[0362] 示例性底物包括但不限于由表3中所列的以下酶或蛋白酶中的一种或多种可切割的底物。

[0363] 在一些实施方案中,选择用于特定蛋白酶的CM,例如已知与可活化抗体的靶标共定位的蛋白酶。例如,蛋白酶由靠近表达PD-1的T细胞的肿瘤产生。在一些实施方案中,蛋白酶由与表达PD-1的T细胞共定位的肿瘤产生。

[0364] 在一些实施方案中,CM是至少一种MMP的底物。MMP的实例包括表3中所列的MMP。在一些实施方案中,CM是选自MMP 9、MMP14、MMP1、MMP3、MMP13、MMP17、MMP11和MMP19的蛋白酶的底物。在一些实施方案中,CM是MMP9的底物。在一些实施方案中,CM是MMP14的底物。

[0365] 在一些实施方案中,CM是包括以下序列的底物:

TGRGPSWV (SEQ ID NO: 295); SARGPSRW (SEQ ID NO: 319); TARGPSFK (SEQ ID NO: 297); LSGRSDNH (SEQ ID NO: 294); GGWHTGRN (SEQ ID NO: 320); HTGRSGAL (SEQ ID NO: 321); PLTGRSGG (SEQ ID NO: 296); AARGPAIH (SEQ ID NO: 322); RGPAPNPM (SEQ ID NO: 323); SSRGPAYL (SEQ ID NO: 324); RGPATPIM (SEQ ID NO: 325); RGPA (SEQ ID NO: 326); GGQPSGMWGW (SEQ ID NO: 327); FPRPLGITGL (SEQ ID NO: 328); VHMPGLFLGP (SEQ ID NO: 302); SPLTGRSG (SEQ ID NO: 329); SAGFSLPA (SEQ ID NO: 330); LAPLGLQRR (SEQ ID NO: 331); SGGPLGVR (SEQ ID NO: 332); PLGL (SEQ ID NO: 333); LSGRSGNH (SEQ ID NO: 1157); SGRSANPRG (SEQ ID NO: 1158); LSGRSDDH (SEQ ID NO: 1161); LSGRSDIH (SEQ ID NO: 1162); LSGRSDQH (SEQ ID NO: 1165); LSGRSDTH (SEQ ID NO: 1166); LSGRSDYH (SEQ ID NO: 1169); LSGRSDNP (SEQ ID NO: 1520); LSGRSANP (SEQ ID NO: 1695); LSGRSANI (SEQ ID NO: 1696); 和/或 LSGRSDNI (SEQ ID NO: 1697)。

[0368] 在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列LSGRSDNH (SEQ ID NO:294)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列TGRGPSWV (SEQ ID NO:295)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列PLTGRSGG (SEQ ID NO:296)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列GGQPSGMWGW (SEQ ID NO:327)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列FPRPLGITGL (SEQ ID NO:328)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列VHMPGLFLGP (SEQ ID NO:302)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列PLGL (SEQ ID NO:333)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列SARGPSRW (SEQ ID NO:319)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列TARGPSFK (SEQ ID NO:297)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列GGWHTGRN (SEQ ID NO:320)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列HTGRSGAL (SEQ ID NO:321)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列AARGPAIH (SEQ ID NO:322)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列RGPAPNPM (SEQ ID NO:323)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列SSRGPAYL (SEQ ID NO:324)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列RGPATPIM (SEQ ID NO:325)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列RGPA (SEQ ID NO:326)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列LSGRSGNH (SEQ ID NO:1157)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列SGRSANPRG (SEQ ID NO:1158)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列LSGRSDDH (SEQ ID NO:1161)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列LSGRSDIH (SEQ ID NO:1162)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列LSGRSDQH (SEQ ID NO:1165)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列LSGRSDTH (SEQ ID NO:1166)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列LSGRSDYH (SEQ ID NO:1169)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列LSGRSDNP (SEQ ID NO:1520)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列LSGRSANP (SEQ ID NO:1695)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列LSGRSANI (SEQ ID NO:1696)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列LSGRSDNI (SEQ ID NO:1697)。

[0369] 在一些实施方案中,CM是MMP的底物并且包括序列

[0370] ISSGLSS (SEQ ID NO: 334); QNQALRMA (SEQ ID NO: 305); AQNLLGMV (SEQ ID NO: 304); STFPFGMF (SEQ ID NO: 307); PVGYTSSL (SEQ ID NO: 335); DWLYWPGI (SEQ ID NO: 336); ISSGLSS (SEQ ID NO: 308); LKAAPRWA (SEQ ID NO: 337); GPSHLVLT (SEQ ID NO: 338); LPGGLSPW (SEQ ID NO: 339); MGLFSEAG (SEQ ID NO: 340); SPLPLRVP (SEQ ID NO: 341); RMHLRSLG (SEQ ID NO: 342); LAAPLGLL (SEQ ID NO: 306); AVGLLAPP (SEQ ID NO: 303); LLAPSHRA (SEQ ID NO: 343); PAGLWLDP (SEQ ID NO: 309); MIAPVAYR (SEQ ID NO: 1698); RPSPMWAY (SEQ ID NO: 1699); WATPRPMR (SEQ ID NO: 1700); FRLLDWQW (SEQ ID NO: 1701); ISSGL (SEQ ID NO: 1702); ISSGLLS (SEQ ID NO: 1703); 和/或 ISSGLL (SEQ ID NO: 1704)。

[0372] 在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列ISSGLSS (SEQ ID NO:334)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列QNQALRMA (SEQ ID NO:305)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列AQNLLGMV (SEQ ID NO:304)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列STFPFGMF (SEQ ID NO:307)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列PVGYTSSL (SEQ ID NO:335)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列DWLYWPGI (SEQ ID NO:336)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列ISSGLSS (SEQ ID NO:308)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列LKAAPRWA (SEQ ID NO:337)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列GPSHLVLT (SEQ ID NO:338)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列LPGGLSPW (SEQ ID NO:339)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列MGLFSEAG (SEQ ID NO:340)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列SPLPLRVP (SEQ ID NO:341)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列RMHLRSLG (SEQ ID NO:342)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列LAAPLGLL (SEQ ID NO:306)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列AVGLLAPP (SEQ ID NO:303)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列LLAPSHRA (SEQ ID NO:343)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列PAGLWLDP (SEQ ID NO:309)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列MIAPVAYR (SEQ ID NO:1698)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列RPSPMWAY (SEQ ID NO:1699)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列WATPRPMR (SEQ ID NO:1700)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列FRLLDWQW (SEQ ID NO:1701)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列ISSGL (SEQ ID NO:1702)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列ISSGLLS (SEQ ID NO:1703)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列ISSGLL (SEQ ID NO:1704)。

[0373] 在一些实施方案中,CM是凝血酶的底物。在一些实施方案中,CM是凝血酶的底物并且包括序列GPRSFGL (SEQ ID NO:344)或GPRSFG (SEQ ID NO:345)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列GPRSFGL (SEQ ID NO:344)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列GPRSFG (SEQ ID NO:345)。

[0374] 在一些实施方案中,CM包含选自以下的氨基酸序列:

[0375] NTLSGRSENHSG (SEQ ID NO: 298); NTLSGRSGNHGS (SEQ ID NO: 299); TSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 300); TSGRSANP (SEQ ID NO: 301); VAGRSMRP (SEQ ID NO: 310); VVPEGRRS (SEQ ID NO: 311); ILPRSPAF (SEQ ID NO: 312); MVLGRSLL (SEQ ID NO: 313); QGRAITFI (SEQ ID NO: 314); SPRSIMLA (SEQ ID NO: 315); 和 SMLRSMPL (SEQ ID NO: 316)。

[0377] 在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列NTLSGRSENHSG (SEQ ID NO:298)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列NTLSGRSGNHGS (SEQ ID NO:299)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列TSTSGRSANPRG (SEQ ID NO:300)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列TSGRSANP (SEQ ID NO:301)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列VAGRSMRP (SEQ ID NO:310)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列VVPEGRRS (SEQ ID NO:311)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列ILPRSPAF (SEQ ID NO:312)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列MVLGRSLL (SEQ ID NO:313)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列QGRAITFI (SEQ ID NO:314)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列SPRSIMLA (SEQ ID NO:315)。在一些实施方案中,CM包含氨基酸序列SMLRSMPL (SEQ ID NO:316)。

[0378] 在一些实施方案中,CM包含选自SEQ ID NO: 214、294-361、1092-1112、1157、1158、1161、1162、1165、1166、1169、1520和1695-1704的氨基酸序列。在一些实施方案中,CM包含选自SEQ ID NO: 214、294、300、302、303、305、308、318、347、361、1092-1102、1111和1157的氨基酸序列。

[0379] 在一些实施方案中,CM是中性粒细胞弹性蛋白酶的底物。在一些实施方案中,CM是丝氨酸蛋白酶的底物。在一些实施方案中,CM是uPA的底物。在一些实施方案中,CM是豆蔻蛋白酶 (legumain) 的底物。在一些实施方案中,CM是基质蛋白酶的底物。在一些实施方案中,CM是半胱氨酸蛋白酶的底物。在一些实施方案中,CM是半胱氨酸蛋白酶、诸如组织蛋白酶的底物。

[0380] 在一些实施方案中,CM是CM1-CM2底物并且包括序列

ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 214); ISSGLLSSGGSGGSLSGRSDNH (SEQ ID NO: 346); AVGLLAPPGGTSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 347); TSTSGRSANPRGGGAVGLLAPP (SEQ ID NO: 348); VHMPGLGFLPGGTSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 349); TSTSGRSANPRGGGVHMPGLGFLGP (SEQ ID NO: 350); AVGLLAPPGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 318); LSGRSDNHGGAVGLLAPP (SEQ ID NO: 351); VHMPGLGFLPGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 352);

[0381] LSGRSDNHGGVHMPGLGFLGP (SEQ ID NO: 353); LSGRSDNHGGSGGSISSGLLSS (SEQ ID NO: 354); LSGRSGNHGGSGGSISSGLLSS (SEQ ID NO: 355); ISSGLLSSGGSGGSLSGRSGNH (SEQ ID NO: 356); LSGRSDNHGGSGGSEQNQLRMA (SEQ ID NO: 357); QNQLRMAGGSGGSLSGRSDNH (SEQ ID NO: 358); LSGRSGNHGGSGGSEQNQLRMA (SEQ ID NO: 359); QNQLRMAGGSGGSLSGRSGNH (SEQ ID NO: 360); ISSGLLSGRSGNH (SEQ ID NO: 361); ISSGLLSGRSANPRG (SEQ ID

NO: 1092); AVGLLAPPTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 1093); AVGLLAPPSGRSANPRG (SEQ ID NO: 1094); ISSGLLSGRSDDH (SEQ ID NO: 1095); ISSGLLSGRSDIH (SEQ ID NO: 1096); ISSGLLSGRSDQH (SEQ ID NO: 1097); ISSGLLSGRSDTH (SEQ ID NO: 1098); ISSGLLSGRSDYH (SEQ ID NO: 1099); ISSGLLSGRSDNP (SEQ ID NO: 1100); ISSGLLSGRSANP (SEQ ID NO: 1101); ISSGLLSGRSANI (SEQ ID NO: 1102); [0382] AVGLLAPPGGLSGRSDDH (SEQ ID NO: 1103); AVGLLAPPGGLSGRSDIH (SEQ ID NO: 1104); AVGLLAPPGGLSGRSDQH (SEQ ID NO: 1105); AVGLLAPPGGLSGRSDTH (SEQ ID NO: 1106); AVGLLAPPGGLSGRSDYH (SEQ ID NO: 1107); AVGLLAPPGGLSGRSDNP (SEQ ID NO: 1108); AVGLLAPPGGLSGRSANP (SEQ ID NO: 1109); AVGLLAPPGGLSGRSANI (SEQ ID NO: 1110); ISSGLLSGRSDNI (SEQ ID NO: 1111); 和/或 AVGLLAPPGGLSGRSDNI (SEQ ID NO: 1112)。

[0384] 在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 214),其在本文也称为底物2001。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列ISSGLLSSGGSGGSLSGRSNDH (SEQ ID NO: 346),其在本文也称为底物1001/LP'/0001,其中如用于该CM1-CM2底物中的LP'是氨基酸序列GGSGGS (SEQ ID NO: 1519)。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列AVGLLAPPGGTSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 347),其在本文也称为底物1004/LP'/0003,其中如用于该CM1-CM2底物中的LP'是氨基酸序列GG。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列TSTSGRSANPRGGGAVGLLAPP (SEQ ID NO: 348),其在本文也称为底物0003/LP'/1004,其中如用于该CM1-CM2底物中的LP'是氨基酸序列GG。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列VHMPGLGFLGPGGTSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 349),其在本文也称为底物1003/LP'/0003,其中如用于该CM1-CM2底物中的LP'是氨基酸序列GG。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列TSTSGRSANPRGGGVHMPGLGFLGP (SEQ ID NO: 350),其在本文也称为底物0003/LP'/1003,其中如用于该CM1-CM2底物中的LP'是氨基酸序列GG。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列AVGLLAPPGGLSGRSNDH (SEQ ID NO: 318),其在本文也称为底物1004/LP'/0001,其中如用于该CM1-CM2底物中的LP'是氨基酸序列GG。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列LSGRSDNHGGAVGLLAPP (SEQ ID NO: 351),其在本文也称为底物0001/LP'/1004,其中如用于该CM1-CM2底物中的LP'是氨基酸序列GG。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列VHMPGLGFLGPGGLSGRSNDH (SEQ ID NO: 352),其在本文也称为底物1003/LP'/0001,其中如用于该CM1-CM2底物中的LP'是氨基酸序列GG。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列LSGRSDNHGGVHMPGLGFLGP (SEQ ID NO: 353),其在本文也称为底物0001/LP'/1003,其中如用于该CM1-CM2底物中的LP'是氨基酸序列GG。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列LSGRSDNHGGSGGSISSGLLSS (SEQ ID NO: 354),其在本文也称为底物0001/LP'/1001,其中如用于该CM1-CM2底物中的LP'是氨基酸序列GGSGGS (SEQ ID NO: 1519)。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列LSGRSGNHGGSGGSISSGLLSS (SEQ ID NO: 355),其在本文也称为底物0002/LP'/1001,其中如用于该CM1-CM2底物中的LP'是氨基酸序列GGSGGS (SEQ ID NO: 1519)。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列ISSGLLSSGGSGGSLSGRSNGH (SEQ ID NO: 356),其在本文也称为底物1001/LP'/0002,其中如用于该CM1-CM2底物中的LP'是氨基酸序列GGSGGS (SEQ ID NO: 1519)。在一些实施方

案中,CM1-CM2底物包括序列LSGRSDNHGGSGGSQNLALRMA (SEQ ID NO: 357),其在本文也称为底物0001/LP'/1002,其中如用于该CM1-CM2底物中的LP' 是氨基酸序列GGSGGS (SEQ ID NO: 1519)。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列QNQALRMAGGSGGSLSGRSDNH (SEQ ID NO: 358),其在本文也称为底物1002/LP'/0001,其中如用于该CM1-CM2底物中的LP' 是氨基酸序列GGSGGS (SEQ ID NO: 1519)。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列LSGRSGNHGGSGGSQNLALRMA (SEQ ID NO: 359),其在本文也称为底物0002/LP'/1002,其中如用于该CM1-CM2底物中的LP' 是氨基酸序列GGSGGS (SEQ ID NO: 1519)。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列QNQALRMAGGSGGSLSGRSGNH (SEQ ID NO: 360),其在本文也称为底物1002/LP'/0002,其中如用于该CM1-CM2底物中的LP' 是氨基酸序列GGSGGS (SEQ ID NO: 1519)。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列ISSGLLSGRSGNH (SEQ ID NO: 361),其在本文也称为底物2002。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列ISSGLLSGRSANPRG (SEQ ID NO:1092),其在本文也称为底物2003。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列AVLLAPPTSGRSANPRG (SEQ ID NO:1093),其在本文也称为底物2004。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列AVLLAPPSGRSANPRG (SEQ ID NO:1094),其在本文也称为底物2005。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列ISSGLLSGRSDDH (SEQ ID NO:1095),其在本文也称为底物2006。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列ISSGLLSGRSDIH (SEQ ID NO: 1096),其在本文也称为底物2007。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列ISSGLLSGRSDQH (SEQ ID NO:1097),其在本文也称为底物2008。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列ISSGLLSGRSDTH (SEQ ID NO:1098),其在本文也称为底物2009。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列ISSGLLSGRSDYH (SEQ ID NO:1099),其在本文也称为底物2010。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列ISSGLLSGRSDNP (SEQ ID NO:1100),其在本文也称为底物2011。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列ISSGLLSGRSANP (SEQ ID NO:1101),其在本文也称为底物2012。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列ISSGLLSGRSANI (SEQ ID NO:1102),其在本文也称为底物2013。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列AVLLAPPGLSGRSDDH (SEQ ID NO:1103),其在本文也称为底物3006。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列AVLLAPPGLSGRSDIH (SEQ ID NO:1104),其在本文也称为底物3007。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列AVLLAPPGLSGRSDQH (SEQ ID NO:1105),其在本文也称为底物3008。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列AVLLAPPGLSGRSDTH (SEQ ID NO:1106),其在本文也称为底物3009。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列AVLLAPPGLSGRSDYH (SEQ ID NO:1107),其在本文也称为底物3010。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列AVLLAPPGLSGRSDNP (SEQ ID NO:1108),其在本文也称为底物3011。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列AVLLAPPGLSGRSANP (SEQ ID NO:1109),其在本文也称为底物3012。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列AVLLAPPGLSGRSANI (SEQ ID NO:1110),其在本文也称为底物3013。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列ISSGLLSGRSDNI (SEQ ID NO:1111),其在本文也称为底物2014。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列和/或AVLLAPPGLSGRSDNI (SEQ ID NO:1112),其在本文也称为底物3014。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列GLSGRSDNHGGAVLLAPP (SEQ ID NO: 1970),其在本文也称为底物0001/LP'/1004,其中如用于该CM1-CM2底物中的LP' 是氨基酸序列GG。在一些实施方案中,CM1-CM2底物包括序列GLSGRSDNHGGVHMLPGLFLGP

(SEQ ID NO: 1971),其在本文也称为底物0001/LP'/1003,其中如用于该CM1-CM2底物中的LP' 是氨基酸序列GG。

[0385] 在一些实施方案中,CM是至少两种蛋白酶的底物。在一些实施方案中,每种蛋白酶选自表3中所示的那些。在一些实施方案中,CM是至少两种蛋白酶的底物,其中蛋白酶之一选自MMP、凝血酶、中性粒细胞弹性蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、uPA、豆荚蛋白和基质蛋白酶,而另一种蛋白酶选自表3中所示的那些。在一些实施方案中,CM是选自MMP、凝血酶、中性粒细胞弹性蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、uPA、豆荚蛋白和基质蛋白酶的至少两种蛋白酶的底物。

[0386] 在一些实施方案中,可活化抗体至少包括第一CM和第二CM。在一些实施方案中,第一CM和第二CM各自是不多于15个氨基酸长的多肽。在一些实施方案中,未切割状态下的可活化抗体中的第一CM和第二CM具有如下的N-末端至C-末端的结构排列:MM-CM1-CM2-AB或AB-CM2-CM1-MM。在一些实施方案中,第一CM和第二CM中的至少一个是作为选自MMP、凝血酶、中性粒细胞弹性蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、uPA、豆荚蛋白和基质蛋白酶的蛋白酶的底物发挥功能的多肽。在一些实施方案中,第一CM在靶组织中被选自MMP、凝血酶、中性粒细胞弹性蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、uPA、豆荚蛋白和基质蛋白酶的第一切割剂切割,且第二CM在靶组织中被第二切割剂切割。在一些实施方案中,另一蛋白酶选自表3中所示的那些。在一些实施方案中,第一切割剂和第二切割剂是选自MMP、凝血酶、中性粒细胞弹性蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、uPA、豆荚蛋白和基质蛋白酶的相同的蛋白酶,且第一CM和第二CM是酶的不同底物。在一些实施方案中,第一切割剂和第二切割剂是选自表3中所示的那些的相同的蛋白酶。在一些实施方案中,第一切割剂和第二切割剂是不同的蛋白酶。在一些实施方案中,第一切割剂和第二切割剂在靶组织中共定位。在一些实施方案中,第一CM和第二CM在靶组织中被至少一种切割剂切割。

[0387] 在一些实施方案中,可活化抗体暴露于蛋白酶并被蛋白酶切割,使得在活化或切割状态下时,活化的抗体包括在蛋白酶已切割CM后包括LP2和/或CM序列的至少一部分的轻链氨基酸序列。

[0388] 在一些实施方案中,可活化抗体还包括缀合至AB的试剂。在一些实施方案中,缀合至AB或可活化抗体的AB的试剂是治疗剂。在一些实施方案中,试剂经可切割接头缀合至AB。在一些实施方案中,试剂经包括至少一个CM1-CM2底物序列的接头缀合至AB。在一些实施方案中,试剂经不可切割接头缀合至AB。

[0389] 在一些实施方案中,所述试剂是抗炎剂。

[0390] 在一些实施方案中,所述可活化抗体还包括可检测部分。在一些实施方案中,所述可检测部分是诊断剂。

[0391] 在一些实施方案中,可活化抗体还包括信号肽。在一些实施方案中,信号肽经间隔区缀合至可活化抗体。在一些实施方案中,在不存在信号肽的情况下间隔区缀合至可活化抗体。在一些实施方案中,间隔区直接连接可活化抗体的MM。在一些实施方案中,间隔区以从N末端至C末端为间隔区-MM-CM-AB的结构排列直接连接可活化抗体的MM。直接连接至可活化抗体的MM的N末端的间隔区的实例选自QQQSGQG (SEQ ID NO:362)、QQQSGQ (SEQ ID NO:913)、QQQSG (SEQ ID NO:914)、QQQS (SEQ ID NO:915)、QQQ (SEQ ID NO:916)、QG (SEQ ID NO:917)和Q。间隔区的另外实例包括GQSGQG (SEQ ID NO:2042)、QSGQG (SEQ ID NO:2043)、SGQG (SEQ ID NO:2044)、GQG (SEQ ID NO:2045)、QG (SEQ ID NO:2046)和G。在一

些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QGQSGQG (SEQ ID NO:362)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QGQSGQ (SEQ ID NO:913)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QGQSG (SEQ ID NO:914)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QGQS (SEQ ID NO:915),在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QGQ (SEQ ID NO:916)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QG (SEQ ID NO:917)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸残基Q。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列GQSGQG (SEQ ID NO:2042)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QSGQG (SEQ ID NO:2043)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列SGQG (SEQ ID NO:2044)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列GQG (SEQ ID NO:2045)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QG (SEQ ID NO:2046)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸残基G。在一些实施方案中,可活化抗体不包括间隔区序列。

[0392] 在一些实施方案中,可活化抗体的AB天然含有一个或多个二硫键。在一些实施方案中,AB可以被工程改造以包括一个或多个二硫键。

[0393] 在一些实施方案中,可活化抗体的血清半衰期比相应抗体的血清半衰期更长;例如,可活化抗体的pK比相应抗体的pK更长。在一些实施方案中,可活化抗体的血清半衰期与相应抗体的血清半衰期类似。在一些实施方案中,当施用于生物时,可活化抗体的血清半衰期为至少15天。在一些实施方案中,当施用于生物时,可活化抗体的血清半衰期为至少12天。在一些实施方案中,当施用于生物时,可活化抗体的血清半衰期为至少11天。在一些实施方案中,当施用于生物时,可活化抗体的血清半衰期为至少10天。在一些实施方案中,当施用于生物时,可活化抗体的血清半衰期为至少9天。在一些实施方案中,当施用于生物时,可活化抗体的血清半衰期为至少8天。在一些实施方案中,当施用于生物时,可活化抗体的血清半衰期为至少7天。在一些实施方案中,当施用于生物时,可活化抗体的血清半衰期为至少6天。在一些实施方案中,当施用于生物时,可活化抗体的血清半衰期为至少5天。在一些实施方案中,当施用于生物时,可活化抗体的血清半衰期为至少4天。在一些实施方案中,当施用于生物时,可活化抗体的血清半衰期为至少3天。在一些实施方案中,当施用于生物时,可活化抗体的血清半衰期为至少2天。在一些实施方案中,当施用于生物时,可活化抗体的血清半衰期为至少24小时。在一些实施方案中,当施用于生物时,可活化抗体的血清半衰期为至少20小时。在一些实施方案中,当施用于生物时,可活化抗体的血清半衰期为至少18小时。在一些实施方案中,当施用于生物时,可活化抗体的血清半衰期为至少16小时。在一些实施方案中,当施用于生物时,可活化抗体的血清半衰期为至少14小时。在一些实施方案中,当施用于生物时,可活化抗体的血清半衰期为至少12小时。在一些实施方案中,当施用于生物时,可活化抗体的血清半衰期为至少10小时。在一些实施方案中,当施用于生物时,可活化抗体的血清半衰期为至少8小时。在一些实施方案中,当施用于生物时,可活化抗体的血清半衰期为至少6小时。在一些实施方案中,当施用于生物时,可活化抗体的血清半衰期为至少4小时。在一些实施方案中,当施用于生物时,可活化抗体的血清半衰期为至少3小时。

[0394] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体是单特异性的。

[0395] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体是多特异性的,例如通过非限制性实例,为双特异性的或三功能性的。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体配制为前双特异性T细胞

衔接者 (BITE) 分子的一部分, 即, BITE 包括掩蔽部分和可切割部分。在一些实施方案中, 可活化抗 PD-1 抗体配制为前嵌合抗原受体 (CAR) 修饰的 T 细胞、修饰的 NK 细胞或其他修饰的免疫效应细胞的一部分。在一些实施方案中, 可活化抗 PD-1 抗体配制为免疫效应细胞上的另一工程化的受体的一部分; 即, 前 CAR 或其他前工程化受体包括掩蔽部分和可切割部分。

[0396] 在一些实施方案中, 可活化抗体或其抗原结合片段并入多特异性可活化抗体或其抗原结合片段中, 其中所述多特异性可活化抗体的至少一个臂特异性结合 PD-1。在一些实施方案中, 可活化抗体或其抗原结合片段并入双特异性可活化抗体或其抗原结合片段中, 其中所述双特异性可活化抗体的至少一个臂特异性结合 PD-1。

[0397] 在一些实施方案中, 多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含选自 SEQ ID NO: 1、5、9、13、17、21、23、25、27、29、31、33、35 和 37 的重链氨基酸序列。在一些实施方案中, 多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含选自 SEQ ID NO: 21、23、25、27、29、31、33、35 和 37 的重链氨基酸序列。

[0398] 在一些实施方案中, 多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含选自 SEQ ID NO: 3、7、11、15、19、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57 和 59 的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中, 多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含选自 SEQ ID NO: 39、41、43、45、47、49、51、53、55、57 和 59 的轻链氨基酸序列。

[0399] 在一些实施方案中, 多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含含有选自 SEQ ID NO: 1、5、9、13、17、21、23、25、27、29、31、33、35 和 37 的氨基酸序列的重链氨基酸序列和选自 SEQ ID NO: 3、7、11、15、19、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57 和 59 的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中, 多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含含有选自 SEQ ID NO: 21、23、25、27、29、31、33、35 和 37 的氨基酸序列的重链氨基酸序列和选自 SEQ ID NO: 39、41、43、45、47、49、51、53、55、57 和 59 的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中, 多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含含有或衍生自氨基酸序列 SEQ ID NO: 21 的重链。在一些实施方案中, 多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含含有或衍生自氨基酸序列 SEQ ID NO: 45 或 SEQ ID NO: 47 的轻链。在一些实施方案中, 多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含含有或衍生自氨基酸序列 SEQ ID NO: 21 的重链和含有或衍生自氨基酸序列 SEQ ID NO: 45 或 SEQ ID NO: 47 的轻链。在一些实施方案中, 多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含含有或衍生自氨基酸序列 SEQ ID NO: 21 的重链和含有或衍生自氨基酸序列 SEQ ID NO: 45 的轻链。在一些实施方案中, 多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含含有或衍生自氨基酸序列 SEQ ID NO: 21 的重链和含有或衍生自氨基酸序列 SEQ ID NO: 47 的轻链。

[0400] 在一些实施方案中, 多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含 SEQ ID NO: 21 的重链氨基酸序列的互补决定区 (CDR) 序列的组合。在一些实施方案中, 多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含 SEQ ID NO: 45 或 SEQ ID NO: 47 的轻链氨基酸序列的 CDR 序列的组合。在一些实施方案中, 多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含 SEQ ID NO: 21 的重链氨基酸序列的 CDR 序列和 SEQ ID NO: 45 或 47 的轻链氨基酸序列的 CDR 序列的组合。在一些实施方案中, 多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含 SEQ ID NO: 21 的重链氨基酸序列

的CDR序列和SEQ ID NO: 45的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含SEQ ID NO: 21的重链氨基酸序列的CDR序列和SEQ ID NO: 47的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。

[0401] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含:(a)包含选自SEQ ID NO: 653-657的氨基酸序列的可变重链互补决定区1(VH CDR1);(b)包含选自SEQ ID NO: 658-663的氨基酸序列的可变重链互补决定区2(VH CDR2);(c)包含选自SEQ ID NO: 664-668的氨基酸序列的可变重链互补决定区3(VH CDR3);(d)包含选自SEQ ID NO: 669-677的氨基酸序列的可变轻链互补决定区1(VL CDR1);(e)包含选自SEQ ID NO: 678-682的氨基酸序列的可变轻链互补决定区2(VL CDR2);和(f)包含选自SEQ ID NO: 683-687的氨基酸序列的可变轻链互补决定区3(VL CDR3)。

[0402] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包括以下的组合:可变重链互补决定区1(VH CDR1,本文也称为CDRH1)序列、可变重链互补决定区2(VH CDR2,本文也称为CDRH2)序列和可变重链互补决定区3(VH CDR3,本文也称为CDRH3)序列,其中VH CDR1序列包含GFTFSGYAMS (SEQ ID NO: 653);VH CDR2序列包含YISNSGGNAH (SEQ ID NO: 658)和VH CDR3序列包含EDYGTSPFVY (SEQ ID NO: 664)。

[0403] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包括以下的组合:可变轻链互补决定区1(VL CDR1,本文也称为CDRL1)序列、可变轻链互补决定区2(VL CDR2,本文也称为CDRL2)序列和可变轻链互补决定区3(VL CDR3,本文也称为CDRL3)序列,其中VL CDR1序列包含RASESVDSYGISFMN (SEQ ID NO: 675)或RASESVDAYGISFMN (SEQ ID NO:676);VL CDR2序列包含AASNQGS (SEQ ID NO: 678)和VL CDR3序列包含QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683)。在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包括VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VL CDR1序列包含RASESVDSYGISFMN (SEQ ID NO: 675);VL CDR2序列包含AASNQGS (SEQ ID NO: 678)和VL CDR3序列包含QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683)。在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包括VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VL CDR1序列包含RASESVDAYGISFMN (SEQ ID NO:676);VL CDR2序列包含AASNQGS (SEQ ID NO: 678)和VL CDR3序列包含QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683)。

[0404] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包括VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含GFTFSGYAMS (SEQ ID NO: 653);VH CDR2序列包含YISNSGGNAH (SEQ ID NO: 658)和VH CDR3序列包含EDYGTSPFVY (SEQ ID NO: 664);VL CDR1序列包含RASESVDSYGISFMN (SEQ ID NO: 675)或RASESVDAYGISFMN (SEQ ID NO: 676);VL CDR2序列包含AASNQGS (SEQ ID NO: 678)和VL CDR3序列包含QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683)。在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包括VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含GFTFSGYAMS (SEQ ID NO: 653);VH CDR2序列包含YISNSGGNAH (SEQ ID NO: 658)和VH CDR3序列包含EDYGTSPFVY (SEQ ID NO: 664);VL CDR1序列包含RASESVDSYGISFMN (SEQ ID NO: 675);VL CDR2序列包含AASNQGS (SEQ ID

NO: 678)和VL CDR3序列包含QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683)。在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包括VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含GFTFSGYAMS (SEQ ID NO: 653);VH CDR2序列包含YISNSGGNAH (SEQ ID NO: 658)和VH CDR3序列包含EDYGTSPFVY (SEQ ID NO: 664);VL CDR1序列包含RASESVDAYGISFMN (SEQ ID NO:676);VL CDR2序列包含AASNQGS (SEQ ID NO: 678)和VL CDR3序列包含QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683)。

[0405] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 1346的重链和含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 626的轻链。

[0406] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 1514的重链和含有或衍生自氨基酸序列SEQ ID NO: 638的轻链。

[0407] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含SEQ ID NO: 1346的重链氨基酸序列的互补决定区(CDR)序列的组合。在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含SEQ ID NO: 626的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含SEQ ID NO: 1346的重链氨基酸序列的CDR序列和SEQ ID NO: 626的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。

[0408] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包括以下的组合:可变重链互补决定区1 (VH CDR1,本文也称为CDRH1)序列、可变重链互补决定区2 (VH CDR2,本文也称为CDRH2)序列和可变重链互补决定区3 (VH CDR3,本文也称为CDRH3)序列,其中VH CDR1序列包含GITFSNSG (SEQ ID NO: 1705);VH CDR2序列包含IWYDGSKR (SEQ ID NO: 1706)和VH CDR3序列包含TNDDY (SEQ ID NO: 1707)。

[0409] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包括以下的组合:可变轻链互补决定区1 (VL CDR1,本文也称为CDRL1)序列、可变轻链互补决定区2 (VL CDR2,本文也称为CDRL2)序列和可变轻链互补决定区3 (VL CDR3,本文也称为CDRL3)序列,其中VL CDR1序列包含QSVSSY (SEQ ID NO: 1708);VL CDR2序列包含DAS (SEQ ID NO: 1709)和VL CDR3序列包含QQSSNWPRT (SEQ ID NO: 1710)。

[0410] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包括VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含GITFSNSG (SEQ ID NO: 1705);VH CDR2序列包含IWYDGSKR (SEQ ID NO: 1706);VH CDR3序列包含TNDDY (SEQ ID NO: 1707);VL CDR1序列包含QSVSSY (SEQ ID NO: 1708);VL CDR2序列包含DAS (SEQ ID NO: 1709)和VL CDR3序列包含QQSSNWPRT (SEQ ID NO: 1710)。

[0411] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含SEQ ID NO: 1514的重链氨基酸序列的互补决定区(CDR)序列的组合。在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含SEQ ID NO: 638的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可

活化抗体的至少一个臂包含SEQ ID NO: 1514的重链氨基酸序列的CDR序列和SEQ ID NO: 638的轻链氨基酸序列的CDR序列的组合。

[0412] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包括以下的组合:可变重链互补决定区1 (VH CDR1,本文也称为CDRH1)序列、可变重链互补决定区2 (VH CDR2,本文也称为CDRH2)序列和可变重链互补决定区3 (VH CDR3,本文也称为CDRH3)序列,其中VH CDR1序列包含GYTFTNYY (SEQ ID NO: 1711);VH CDR2序列包含INPSNGGT (SEQ ID NO: 1712)和VH CDR3序列包含RRDYRFDMGFDY (SEQ ID NO: 1713)。

[0413] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包括以下的组合:可变轻链互补决定区1 (VL CDR1,本文也称为CDRL1)序列、可变轻链互补决定区2 (VL CDR2,本文也称为CDRL2)序列和可变轻链互补决定区3 (VL CDR3,本文也称为CDRL3)序列,其中VL CDR1序列包含KGVSTSGYSY (SEQ ID NO: 1714);VL CDR2序列包含LAS (SEQ ID NO: 1715)和VL CDR3序列包含QHSRDLPLT (SEQ ID NO: 1716)。

[0414] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包括VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中VH CDR1序列包含GYTFTNYY (SEQ ID NO: 1711);VH CDR2序列包含INPSNGGT (SEQ ID NO: 1712);VH CDR3序列包含RRDYRFDMGFDY (SEQ ID NO: 1713);VL CDR1序列包含KGVSTSGYSY (SEQ ID NO: 1714);VL CDR2序列包含LAS (SEQ ID NO: 1715)和VL CDR3序列包含QHSRDLPLT (SEQ ID NO: 1716)。

[0415] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含与选自SEQ ID NO: 1、5、9、13、17、21、23、25、27、29、31、33、35和37的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列。在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含与选自SEQ ID NO: 21、23、25、27、29、31、33、35和37的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列。

[0416] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含与选自SEQ ID NO: 39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。

[0417] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含与选自SEQ ID NO: 1、5、9、13、17、21、23、25、27、29、31、33、35和37的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列和与选自SEQ ID NO: 3、7、11、15、19、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含与选自SEQ ID NO: 21、23、25、27、29、31、33、35和37的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列和与选自SEQ ID NO: 39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。

[0418] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包括与SEQ ID NO: 1346的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%

或99%同一性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO: 626的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。

[0419] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包括与SEQ ID NO: 1514的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO: 638的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。

[0420] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含可变重链互补决定区1(VH CDR1,本文也称为CDRH1)序列、可变重链互补决定区2(VH CDR2,本文也称为CDRH2)序列、可变重链互补决定区3(VH CDR3,本文也称为CDRH3)序列、可变轻链互补决定区1(VL CDR1,本文也称为CDRL1)序列、可变轻链互补决定区2(VL CDR2,本文也称为CDRL2)序列和可变轻链互补决定区3(VL CDR3,本文也称为CDRL3)序列的组合,其中至少一个CDR序列选自:表8中所示的VH CDR1序列;表8中所示的VH CDR2序列;表8中所示的VH CDR3序列;表8中所示的VL CDR1序列;表8中所示的VL CDR2序列;和表8中所示的VL CDR3序列。

[0421] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中至少一个CDR序列选自:包含与表8中所示的VH CDR1序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VH CDR1序列;包含与表8中所示的VH CDR2序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VH CDR2序列;包含与表8中所示的VH CDR3序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VH CDR3序列;包含与表8中所示的VL CDR1序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VL CDR1序列;包含与表8中所示的VL CDR2序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VL CDR2序列;和包含与表8中所示的VL CDR3序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的VL CDR3序列。

[0422] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含表8中单行中所示的VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列和表8中单行中所示的VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合。

[0423] 在一些实施方案中,抗体包含含有VH CDR1序列、VH CDR2序列和VH CDR3序列的组合的重链,其中组合为表8中单行中所示的三个重链CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)的组合。

[0424] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体例如双特异性可活化抗体的至少一个臂包含表8中单行中所示的VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列和表8中单行中所示的VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中组合中的各CDR序列包含与表8中单行中所示的相应VH CDR序列和表8中单行中所示的相应VL CDR具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列。

[0425] 在一些实施方案中,抗体包含含有VH CDR1序列、VH CDR2序列和VH CDR3序列的组合的重链,其中组合中的各CDR序列包含与表8中单行中所示的三个重链CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)的组合中的相应CDR序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、

98%、99%或更高同一性的序列。

[0426] 在一些实施方案中,本文所述的抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体与一种或多种另外的药剂或另外药剂的组合联合使用。合适的另外的药剂包括开发用于特定应用的其他实验性抗癌剂、用于预期应用诸如例如癌症的目前的药物和/或手术疗法。例如,抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体可以与另外的化疗剂或抗肿瘤剂联合使用。

[0427] 在一些实施方案中,另外的药剂包括开发用于特定应用的至少一种实验性抗癌剂。在一些实施方案中,另外的药剂包括已批准用于一种适应症但正在对另一种进行测试的至少一种药剂。在一些实施方案中,另外的药剂包括目前未批准用于任何适应症但为了获得监管批准目的正在一种或多种适应症中测试的至少一种药剂。在一些实施方案中,另外的药剂包括作为用于预期应用的药物疗法的至少一种药剂。在一些实施方案中,另外的药剂包括作为用于预期应用的药物疗法的至少一种药剂。在一些实施方案中,另外的药剂包括作为用于预期应用的药物疗法的至少一种药剂。在一些实施方案中,另外的药剂包括作为用于预期应用的药物疗法的至少一种药剂。在一些实施方案中,另外的药剂包括作为用于预期应用的药物疗法的至少一种药剂。在一些实施方案中,另外的药剂是化疗剂。在一些实施方案中,另外的药剂是抗肿瘤剂。在一些实施方案中,另外的药剂是这些药剂的任何两种或更多种的组合。

[0428] 在一些实施方案中,另外的药剂为化疗剂,诸如选自以下的化疗剂:多西他赛、紫杉醇、白蛋白结合型紫杉醇(abraxane)(即白蛋白缀合的紫杉醇)、多柔比星、奥沙利铂、卡铂、顺铂、伊立替康和吉西他滨。

[0429] 在一些实施方案中,另外的药剂是检验点抑制剂、激酶抑制剂、靶向肿瘤微环境中的抑制剂的药剂和/或T细胞或NK激动剂。在一些实施方案中,另外的药剂是放射疗法,其单独或与另一种另外的药剂诸如化疗剂或抗肿瘤剂组合。在一些实施方案中,另外的药剂是疫苗、肿瘤病毒和/或DC活化剂诸如但不限于toll样受体(TLR)激动剂和/或 α -CD40。在一些实施方案中,另外的药剂为设计用于经ADCC或经直接缀合至毒素(例如,抗体药物缀合物(ADC))杀死肿瘤的肿瘤靶向抗体。

[0430] 在一些实施方案中,检验点抑制剂是选自CTLA-4、LAG-3、PD-1、PD-1、TIGIT、TIM-3、B7H4、BTLA和Vista的靶标的抑制剂。在一些实施方案中,激酶抑制剂选自B-RAFi、MEKi和Btk抑制剂,诸如依鲁替尼。在一些实施方案中,激酶抑制剂为克唑替尼。在一些实施方案中,B-RAF抑制剂为维罗非尼。在一些实施方案中,肿瘤微环境抑制剂选自IDO抑制剂、 α -CSF1R抑制剂、 α -CCR4抑制剂、TGF- β 、骨髓衍生的抑制细胞或T调节细胞。在一些实施方案中,激动剂选自Ox40、GITR、CD137、ICOS、CD27和HVEM。

[0431] 在一些实施方案中,抑制剂是CTLA-4抑制剂。在一些实施方案中,抑制剂是LAG-3抑制剂。在一些实施方案中,抑制剂是PD-1抑制剂。在一些实施方案中,抑制剂是PD-1抑制剂。在一些实施方案中,抑制剂是TIGIT抑制剂。在一些实施方案中,抑制剂是TIM-3抑制剂。在一些实施方案中,抑制剂是B7H4抑制剂。在一些实施方案中,抑制剂是Vista抑制剂。在一些实施方案中,抑制剂是B-RAFi抑制剂。在一些实施方案中,抑制剂是MEKi抑制剂。在一些实施方案中,抑制剂是Btk抑制剂。在一些实施方案中,抑制剂是依鲁替尼。在一些实施方案中,抑制剂是克唑替尼。在一些实施方案中,抑制剂是IDO抑制剂。在一些实施方案中,抑制剂是 α -CSF1R抑制剂。在一些实施方案中,抑制剂是 α -CCR4抑制剂。在一些实施方案中,抑制剂是TGF- β 。在一些实施方案中,抑制剂是骨髓衍生的抑制细胞。在一些实施方案中,抑制剂

是T调节细胞。

[0432] 在一些实施方案中,激动剂是Ox40。在一些实施方案中,激动剂是GITR。在一些实施方案中,激动剂是CD137。在一些实施方案中,激动剂是ICOS。在一些实施方案中,激动剂是CD27。在一些实施方案中,激动剂是HVEM。

[0433] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体和/或可活化抗体在治疗过程中和/或在治疗之后与一种或多种另外的药剂诸如例如化疗剂、抗炎剂和/或免疫抑制剂组合施用。在一些实施方案中,将抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体和另外的药剂配制入单一治疗组合物中,并且将抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体和另外的药剂同时施用。可选地,将抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体和另外的药剂彼此分开,例如,各自配制入分开的治疗组合物中,并且将抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体和另外的药剂同时施用,或者将抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体和另外的药剂在治疗方案期间在不同时间施用。例如,在施用另外的药剂之前施用抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体,在施用另外的药剂之后施用抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体,或者以交替方式施用抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体和另外的药剂。如本文所述,将抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体和另外的药剂以单一剂量或以多个剂量施用。

[0434] 在一些实施方案中,将抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体和另外的药剂同时施用。例如,可以将抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体和另外的药剂配制入单一组合物中或者作为两种或更多种单独的组合物施用。在一些实施方案中,将抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体和另外的药剂顺序施用,或者将抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体和另外的药剂在治疗方案过程中在不同的时间施用。

[0435] 在一些实施方案中,将抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体在治疗过程中和/或在治疗之后与一种或多种另外的药剂组合施用,所述另外的药剂诸如但不限于化疗剂、抗炎剂和/或免疫抑制剂,诸如烷化剂、抗代谢物、抗微管剂、拓扑异构酶抑制剂、细胞毒性抗生素和/或任何其他核酸损伤剂。在一些实施方案中,另外的药剂是紫杉烷,诸如紫杉醇(例如,Abraxane®)。在一些实施方案中,另外的药剂是抗代谢物,诸如吉西他滨。在一些实施方案中,另外的药剂是烷化剂,诸如基于铂的化疗,诸如卡铂或顺铂。在一些实施方案中,另外的药剂是靶向药剂,诸如激酶抑制剂,例如索拉非尼或厄洛替尼。在一些实施方案中,另外的药剂是靶向药剂,诸如另一种抗体,例如单克隆抗体(例如贝伐单抗)、双特异性抗体或多特异性抗体。在一些实施方案中,另外的药剂是蛋白酶体抑制剂,诸如硼替佐米或卡非佐米。在一些实施方案中,另外的药剂是免疫调节剂,诸如来那度胺或IL-2。在一些实施方案中,另外的药剂是放射。在一些实施方案中,另外的药剂是本领域技术人员认为是标准治疗的药剂。在一些实施方案中,另外的药剂是本领域技术人员公知的化疗剂。

[0436] 在一些实施方案中,另外的药剂是另一种抗体或其抗原结合片段和/或另一种可活化抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,另外的药剂是例如针对PD-1的第一抗体或其抗原结合片段和/或可活化抗体或其抗原结合片段针对相同靶标的另一种抗体或其抗原结合片段和/或另一种可活化抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,另外的药剂是针对与第一抗体或其抗原结合片段、第一缀合抗体或其抗原结合片段和/或可活化抗体或其抗原结合片段的不同的靶标的另一种抗体或其抗原结合片段和/或另一种可活化抗体或其抗原结合片段。

[0437] 作为非限制性实例,抗体或抗原结合片段和/或可活化抗体的AB是表1中所列出的任何靶标的结合配偶体。

[0438] 表1:示例性靶标

I-92-LFA-3	CD52	DL44	HVEM	LIF-R	STEAPI
α -4 整联蛋白	CD56	DLK1	透明质酸酶	Lewis X	STEAP2
α -V 整联蛋白	CD64	DLL4	ICOS	LIGHT	TAG-72
α 4 β 1 整联蛋白	CD70	DPP-4	IFN α	LRP4	TAPA1
α 4 β 7 整联蛋白	CD71	DSG1	IFN β	LRRC26	TGF β
AGR2	CD74	EGFR	IFN γ	MCSP	TIGIT
抗-Lewis-Y		EGFRviii	IgE	间皮素	TIM-3
Apelin J 受体	CD80	内皮素 B 受体 (ETBR)	IgE 受体(Fc ϵ RI)	MRP4	TLR2
APRIL	CD81	ENPP3	IGF	MUC1	TLR4
B7-H4	CD86	EpCAM	IGF1R	粘蛋白-16 (MUC16, CA-125)	TLR6
BAFF	CD95	EPHA2	IL1B	Na/K ATP 酶	TLR7
BTLA	CD117	EPHB2	IL1R	中性粒细胞弹性蛋白酶	TLR8
C5 补体	CD125	ERBB3	IL2	NGF	TLR9
C-242	CD132 (IL-2RG)	RSV 的 F 蛋白	IL11	呆蛋白	TMEM31
CA9	CD133	FAP	IL12	Notch 受体	TNF α
CA19-9 (Lewis a)	CD137	FGF-2	IL12p40	Notch 1	TNFR
碳酸酐酶 9	CD138	FGF8	IL-12R, IL-12R β 1	Notch 2	TNFRS12A
CD2	CD166	FGFR1	IL13	Notch 3	TRAIL-R1
CD3	CD172A	FGFR2	IL13R	Notch 4	TRAIL-R2
CD6	CD248	FGFR3	IL15	NOV	转铁蛋白
CD9	CDH6	FGFR4	IL17	OSM-R	转铁蛋白受体
CD11a	CEACAM5 (CEA)	叶酸受体	IL18	OX-40	TRK-A
CD19	CEACAM6 (NCA-90)	GAL3ST1	IL21	PAR2	TRK-B
CD20	CLAUDIN-3	G-CSF	IL23	PDGF-AA	uPAR
CD22	CLAUDIN-4	G-CSFR	IL23R	PDGF-BB	VAP1
CD24	cMet	GD2	IL27/IL27R (wsx1)	PDGFR α	VCAM-1
CD25	胶原	GITR	IL29	PDGFR β	VEGF
CD27	Cripto	GLUT1	IL-31R	PD-1	VEGF-A
CD28	CSFR	GLUT4	IL31/IL31R	PD-L1	VEGF-B
CD30	CSFR-1	GM-CSF	IL2R	PD-L2	VEGF-C
CD33	CTLA-4	GM-CSFR	IL4	磷脂酰基-丝氨酸	VEGF-D

[0439]

[0440]

CD38	CTGF	GP IIb/IIIa 受体	IL4R	PIGF	VEGFR1
CD40	CXCL10	Gp130	IL6, IL6R	PSCA	VEGFR2
CD40L	CXCL13	GPIIB/IIIA	胰岛素受体	PSMA	VEGFR3
CD41	CXCR1	GPNMB	Jagged 配体	RAAG12	VISTA
CD44	CXCR2	GRP78	Jagged 1	RAGE	WISP-1
CD44v6		HER2/neu	Jagged 2	SLC44A4	WISP-2
CD47	CXCR4	HGF	LAG-3	鞘氨醇 1 磷酸	WISP-3
CD51	CYR61	hGH			

[0441] 作为非限制性实例, 抗体或抗原结合片段和/或可活化抗体的AB是或者衍生自表2中所列出的抗体。

[0442] 表2: 示例性Ab来源

[0443]

抗体商品名(抗体名)	靶标
Avastin™ (贝伐单抗)	VEGF
Lucentis™ (雷珠单抗)	VEGF
Erbix™ (西妥昔单抗)	EGFR
Vectibix™ (帕尼单抗)	EGFR
Remicade™ (英夫利昔单抗)	TNF α
Humira™ (阿达木单抗)	TNF α
Tysabri™ (那他珠单抗)	整联蛋白 α 4
Simulect™ (巴利昔单抗)	IL2R
Soliris™ (依库丽单抗)	补体C5
Raptiva™ (伊伐珠单抗)	CD11a
Bexxar™ (托西莫单抗)	CD20
Zevalin™ (替伊莫单抗)	CD20
Rituxan™ (利妥昔单抗)	CD20
奥瑞珠单抗(Ocrelizumab)	CD20
Arzerra™ (奥法木单抗)	CD20
Gazyva™ (阿托珠单抗)	CD20
Zenapax™ (达珠单抗)	CD25
Adcetris™ (色瑞替尼)	CD30
Myelotarg™ (吉妥珠单抗)	CD33
Mylotarg™ (吉妥珠单抗奥佐米星)	CD33
Campath™ (阿仑单抗)	CD52
ReoPro™ (阿昔单抗)	糖蛋白受体 IIb/IIIa
Xolair™ (奥马珠单抗)	IgE
Herceptin™ (曲妥单抗)	Her2
Kadcyla™ (曲妥单抗 emtansine)	Her2
Synagis™ (帕利珠单抗)	RSV的F蛋白
(易普利姆玛)	CTLA-4
(替西木单抗(tremelimumab))	CTLA-4

Hu5c8	CD40L
(帕妥珠单抗)	Her2-neu
(厄妥索单抗)	CD3/Her2-neu
Orencia™ (阿巴西普)	CTLA-4
(他尼珠单抗 (tanezumab))	NGF
(巴维昔单抗)	磷脂酰丝氨酸
(扎鲁木单抗)	EGFR
(马帕木单抗)	EGFR
(马妥珠单抗)	EGFR
(尼妥珠单抗)	EGFR
ICR62	EGFR
mAb 528	EGFR
CH806	EGFR
MDX-447	EGFR/CD64
(依决洛单抗)	EpCAM
RAV12	RAAG12
huJ591	PSMA
Enbrel™ (依那西普)	TNF-R
Amevive™ (阿法赛特)	1-92-LFA-3
Antril™, Kineret™ (阿那白滞素)	IL-1Ra
GC1008	TGFβ
	Notch, 例如, Notch 1
	Jagged 1或Jagged 2
(阿德木单抗)	EpCAM
(芬妥木单抗)	IGF1R
(托珠单抗)	IL-6受体
Stelara™ (优特克单抗)	IL-12/IL-23
Prolia™ (地诺单抗)	RANKL

[0444] 在一些实施方案中, 另外的抗体或其抗原结合片段和/或可活化抗体或其抗原结合片段是单克隆抗体、结构域抗体、单链、Fab片段、F(ab')₂片段、scFv、scAb、dAb、单一结构域重链抗体或单一结构域轻链抗体。在一些实施方案中, 另外的抗体或其抗原结合片段和/或可活化抗体或其抗原结合片段是小鼠、其他啮齿动物、嵌合、人源化或全人单克隆抗体。

[0445] 本发明还提供了通过在导致表达抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体多肽的条件下培养细胞来产生所述多肽的方法, 其中所述细胞包含编码本文所述的抗体和/或可活化抗体的分离的核酸分子, 和/或包括这些分离的核酸序列的载体。本发明提供了通过在导致表达抗体和/或可活化抗体的条件下培养细胞来产生抗体和/或可活化抗体的方法, 其中所述细胞包含编码本文所述的抗体和/或可活化抗体的分离的核酸分子, 和/或包括这些分离的核酸序列的载体。

[0446] 本发明还提供了通过如下制备在活化状态下结合PD-1的可活化抗体的方法: (a)

在导致表达所述可活化抗体的条件下培养包含编码所述可活化抗体的核酸构建体的细胞，其中所述可活化抗体包含掩蔽部分 (MM)、可切割部分 (CM) 和特异性结合PD-1的抗体或其抗原结合片段 (AB)，(i) 其中所述CM是作为蛋白酶的底物发挥功能的多肽；且(ii) 其中所述CM位于可活化抗体中，使得当可活化抗体在未切割状态下时，MM干扰AB与PD-1的特异性结合，且当在切割状态下时，MM不干扰或竞争AB与PD-1的特异性结合；和(b) 回收所述可活化抗体。合适的AB、MM和/或CM包括本文公开的AB、MM和/或CM中的任一种。

[0447] 在一些实施方案中，未切割状态下的可活化抗体具有如下的N-末端至C-末端的结构排列：MM-CM-AB或AB-CM-MM。在一些实施方案中，所述可活化抗体包含在MM和CM之间的连接肽。在一些实施方案中，所述可活化抗体包含在CM和AB之间的连接肽。在一些实施方案中，所述可活化抗体包含第一连接肽 (LP1) 和第二连接肽 (LP2)，且其中未切割状态下的可活化抗体具有如下的N-末端至C-末端的结构排列：MM-LP1-CM-LP2-AB或AB-LP2-CM-LP1-MM。在一些实施方案中，未切割状态下的可活化抗体具有如下的N-末端至C-末端的结构排列：间隔区-MM-LP1-CM-LP2-AB或AB-LP2-CM-LP1-MM-间隔区。

[0448] 在一些实施方案中，两个连接肽不需要彼此相同。

[0449] 在一些实施方案中，LP1或LP2的至少一个包含选自以下的氨基酸序列： $(GS)_n$ 、 $(GGS)_n$ 、 $(GSGGS)_n$ (SEQ ID NO:363) 和 $(GGGS)_n$ (SEQ ID NO:364)，其中n为至少为1的整数。

[0450] 在一些实施方案中，LP1或LP2的至少一个包含选自以下的氨基酸序列：

[0451] $GGSG$ (SEQ ID NO: 365), $GGSGG$ (SEQ ID NO: 366), $GSGSG$ (SEQ ID NO: 367), $GSGGG$ (SEQ ID NO: 368), $GGGSG$ (SEQ ID NO: 369), 和 $GSSSG$ (SEQ ID NO: 370)。

[0453] 在一些实施方案中，LP1包含氨基酸序列

$GSSGSGSGSGSG$ (SEQ ID NO: 371), $GSSGSGSGSGG$ (SEQ ID NO: 372), $GSSGSGSGSGGS$ (SEQ ID NO: 373), $GSSGSGSGSGSGGS$ (SEQ ID NO: 374), $GSSGSGSGSG$ (SEQ ID NO: 375), $GSSGSGSGSGS$ (SEQ ID NO: 376), $GGGSSGGS$ (SEQ ID NO: 65), 或 $GGGSSGG$ (SEQ ID NO: 1040)。

[0456] 在一些实施方案中，LP2包含氨基酸序列GSS、GGS、GGGS (SEQ ID NO:377)、GSSGT (SEQ ID NO:378)或GSSG (SEQ ID NO:379)。

[0457] 本发明提供通过向有需要的主体施用治疗有效量的本文所述的抗PD-1抗体、缀合的抗PD-1抗体、可活化抗PD-1抗体和/或缀合的可活化抗PD-1抗体在主体中预防病症或疾病、延迟其进展、治疗该病症或疾病、缓解其症状或以其他方式减轻该病症或疾病的方法。

[0458] 本发明还提供降低免疫抑制的方法，其包括向有需要的主体施用治疗有效量的本文所述的抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体。在一些实施方案中，免疫抑制是T细胞活性抑制。在一些实施方案中，免疫抑制由T细胞上的PD-1衔接至肿瘤细胞或其他免疫细胞上的PD-L1或PD-L2来介导。在一些实施方案中，本发明提供降低或抑制PD-L1 (本文也称为PDL1) 和/或PD-L2 (本文也称为PDL2) 结合T细胞上的PD-1的方法。配体PD-L1和/或PD-L2通常发现于肿瘤细胞或其他免疫细胞上。

[0459] 本发明还提供通过向有需要的主体施用治疗有效量的本文所述的抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体在主体中预防癌症、延迟癌症进展、治疗癌症、缓解癌症症状或以其他方式

方式减轻癌症的方法。已知在多种癌症中PD-1表达于免疫细胞诸如T细胞上,所述癌症诸如但不限于黑色素瘤、非小细胞肺癌、鼻咽癌、成胶质细胞瘤/混合胶质瘤、结肠腺癌、肝细胞癌、尿路上皮癌、多发性骨髓瘤、卵巢癌、胃癌、食道癌、胰腺癌、肾细胞癌(RCC)、乳腺癌、淋巴瘤如霍奇金淋巴瘤和白血病。(参见例如Chen 等人., “Molecular Pathways:Next-Generation Immunotherapy - Inhibiting Programmed Death-Ligand 1 and Programmed Death-1,” Clin.Can.Res., vol. 18:6580-6587 (2012),其内容以其整体通过引用并入本文)。

[0460] 在一些实施方案中,癌症是膀胱癌、骨癌、乳腺癌、类癌、宫颈癌、胆管癌、结肠癌、子宫内膜癌、神经胶质瘤、头颈癌、肝癌、肺癌、淋巴瘤诸如霍奇金淋巴瘤、黑色素瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、肾癌、肉瘤、皮肤癌、胃癌、睾丸癌、胸腺癌、甲状腺癌、泌尿生殖癌症和/或尿路上皮癌。

[0461] 在一些实施方案中,癌症选自黑色素瘤(MEL)、肾细胞癌(RCC)、鳞状非小细胞肺癌(NSCLC)、非鳞状NSCLC、结肠直肠癌(CRC)、去势抵抗性前列腺癌(CRPC)、肝细胞癌(HCC)、头颈部鳞状细胞癌、胸腺瘤、食道癌、卵巢癌、胃肠道癌和乳腺癌、或恶性血液病如多发性骨髓瘤、B细胞淋巴瘤、T细胞淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、原发性纵隔B细胞淋巴瘤和慢性粒细胞白血病。

[0462] 本发明还提供通过向有需要的主体施用治疗有效量的本文所述的抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体治疗患有自身免疫或炎性疾病的癌症患者的方法。在一些实施方案中,自身免疫疾病是结肠炎、RA、胰腺炎、糖尿病或肺炎。

[0463] 这些方法和用途的任何实施方案中所用的抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体可以在疾病的任何阶段施用。例如,此类抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体可以向患有任何阶段(从早期至转移性)癌症的患者施用。术语主体和患者本文可以互换使用。

[0464] 在一些实施方案中,主体是哺乳动物,诸如人、非人灵长类动物、伴侣动物(例如,猫、狗、马)、农场动物、役用动物或动物园动物。在一些实施方案中,主体是人。在一些实施方案中,主体是伴侣动物。在一些实施方案中,主体是兽医照料的动物。

[0465] 将抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体及其治疗制剂施用于患有或易感与免疫抑制(例如,通过肿瘤细胞或其他免疫细胞上的PD-L1或PD-L2衔接T细胞上的PD-1所介导的免疫抑制)相关的疾病或病症的患者。在一些实施方案中,免疫抑制是T细胞活性抑制。使用本领域中公知的多种方法中的任一种鉴定患有或易感与此类免疫抑制相关的疾病或病症的主体。例如,使用多种临床和/或实验室测试中的任一种诸如体检和血液、尿液和/或粪便分析以评估健康状态来鉴定患有癌症或其他肿瘤病况的主体。例如,使用多种临床和/或实验室测试中的任一种诸如体检和/或体液分析(例如,血液、尿液和/或粪便分析)以评估健康状态来鉴定患有炎症和/或炎性病况的主体。

[0466] 如果实现多种实验室或临床目标中的任一种,则认为向患有与免疫抑制(例如,通过肿瘤细胞或其他免疫细胞上的PD-L1或PD-L2衔接T细胞上的PD-1所介导的免疫抑制)相关的疾病或病症的患者施用抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体是成功的。例如,如果与该疾病或病况相关的症状中的一种或多种减轻、降低、已知或不进展至进一步(即恶化)状态,则认为向患有与此类免疫抑制相关的疾病或病况的患者施用抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体是成功的。如果该疾病或病况开始缓解或不进展至进一步(即恶化)状态,则认为

向患有与免疫抑制(例如,通过T细胞上的PD-1衔接肿瘤细胞或其他免疫细胞上的PD-L1或PD-L2所介导的免疫抑制)相关的疾病或病症的患者施用抗PD-1抗体和/或缀合的可活化抗PD-1抗体是成功的。

[0467] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体和/或缀合的可活化抗PD-1抗体在治疗过程中和/或在治疗之后与一种或多种另外的药剂诸如例如化疗剂、抗炎剂和/或免疫抑制剂组合施用。在一些实施方案中,将抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体和另外的药剂同时施用。例如,可以将抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体和另外的药剂配制入单一组合物中或者作为两种或更多种单独的组合物施用。在一些实施方案中,将抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体和另外的药剂顺序施用。

[0468] 本发明还提供了用于在各种诊断和/或预防适应症中使用可活化抗PD-1抗体的方法和试剂盒。例如,本发明提供了用于通过如下检测主体或样品中切割剂和目标靶标的存在或不存在的方法和试剂盒:(i)使主体或样品与抗PD-1可活化抗体接触,其中抗PD-1可活化抗体包含掩蔽部分(MM)、被切割剂切割的可切割部分(CM)和特异性结合目标靶标的抗原结合结构域或其片段(AB),其中未切割的非活化状态下的抗PD-1可活化抗体具有如下的N-末端至C-末端的结构排列:MM-CM-AB或AB-CM-MM;(a)其中MM是抑制AB与PD-1的结合的肽,且其中MM不具有AB的天然存在的结合配偶体的氨基酸序列且不是AB的天然结合配偶体的修饰形式;且(b)其中,当AB在未切割的非活化状态下时,MM干扰AB与PD-1的特异性结合,且当AB在切割的活化状态下时,MM不干扰或竞争AB与PD-1的特异性结合;和(ii)测量主体或样品中的活化的抗PD-1可活化抗体的水平,其中主体或样品中的活化的抗PD-1可活化抗体的可检测水平表明切割剂和PD-1存在于主体或样品中,且其中主体或样品中的活化的抗PD-1可活化抗体的不可检测水平表明切割剂、PD-1或切割剂和PD-1两者不存在于主体或样品中。

[0469] 在一些实施方案中,所述可活化抗PD-1抗体是与治疗剂缀合的可活化抗PD-1抗体。在一些实施方案中,所述可活化抗PD-1抗体不与试剂缀合。在一些实施方案中,所述可活化抗PD-1抗体包含可检测标记。在一些实施方案中,所述可检测标记位于AB上。在一些实施方案中,测量主体或样品中的可活化抗PD-1抗体的水平使用特异性结合可活化抗体的第二试剂来实现,其中所述试剂包含可检测标记。在一些实施方案中,所述第二试剂是包含可检测标记的抗体。

[0470] 在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,所述可活化抗PD-1抗体包括可检测标记。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,所述可检测标记包括成像剂、造影剂、酶、荧光标记、发色团、染料、一种或多种金属离子或基于配体的标记。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,所述成像剂包含放射性同位素。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,所述放射性同位素是铟或镓。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,所述造影剂包含碘、钆或氧化铁。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,所述酶包含辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶或 β -半乳糖苷酶。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,所述荧光标记包含黄色荧光蛋白(YFP)、青色荧光蛋白(CFP)、绿色荧光蛋白(GFP)、修饰的红色荧光蛋白(mRFP)、红色荧光蛋白tdimer2(RFP tdimer2)、HCRED或铈衍生物。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,所述发光标记包含N-甲基吡啶鎓(methylacrydium)衍生物。在这些方法的一些实施方案中,所述标记包含Alexa Fluor[®]标记,诸如Alex Fluor[®] 680或Alexa Fluor[®] 750。在这些

方法和试剂盒的一些实施方案中,所述基于配体的标记包含生物素、抗生物素蛋白、链霉抗生物素蛋白或一种或多种半抗原。

[0471] 在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,所述主体是哺乳动物。在这些方法的一些实施方案中,所述主体是人。在一些实施方案中,所述主体是非人哺乳动物,诸如非人灵长类动物、伴侣动物(例如,猫、狗、马)、家畜、役畜或动物园动物。在一些实施方案中,所述主体是啮齿动物。

[0472] 在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,所述方法是体内方法。在这些方法的一些实施方案中,所述方法是原位方法。在这些方法的一些实施方案中,所述方法是离体方法。在这些方法的一些实施方案中,所述方法是体外方法。

[0473] 在所述方法和试剂盒的一些实施方案中,所述方法用于鉴定或以其他方式精选适合于用本发明的抗PD-1可活化抗体治疗的患者群体,随后通过将可活化抗PD-1抗体施用于有需要的主体来治疗。例如,对于靶标(例如,PD-1)和切割这些方法中所测试的抗PD-1可活化抗体的可切割部分(CM)中的底物的蛋白酶两者测试阳性的患者被鉴定为用包含此类CM的此类抗PD-1可活化抗体治疗的合适的候选者,且然后向所述患者施用治疗有效量的所测试的可活化抗PD-1抗体。同样,对于靶标(例如PD-1)和切割使用这些方法所测试的可活化抗体中的CM中的底物的蛋白酶中任一者或两者测试阴性的患者可能被鉴定为另一种形式的疗法的合适候选者。在一些实施方案中,此类患者可以用其他抗PD-1可活化抗体进行测试,直到鉴定用于治疗的合适的抗PD-1可活化抗体(例如,包含在疾病部位处被患者切割的CM的抗PD-1可活化抗体)。在一些实施方案中,然后向患者施用治疗有效量的患者对于其测试阳性的可活化抗PD-1抗体。合适的AB、MM和/或CM包括本文公开的AB、MM和/或CM中的任一种。

[0474] 根据本发明的药物组合物可以包括本发明的抗体和载体。这些药物组合物可以包括于试剂盒诸如例如诊断试剂盒中。

[0475] 附图简述

[0476] 图1是描绘使用以下本文所称的各种结合人PD-1的鼠抗体(即,抗hPD-1抗体)的ELISA结合测定的结果的图:245-M3,本文也称为M3(VH: SEQ ID NO: 9;VL: SEQ ID NO: 11);245-M5,本文也称为M5(VH: SEQ ID NO: 13;VL: SEQ ID NO: 15);136-M13,本文也称为M13(VH: SEQ ID NO: 1;VL: SEQ ID NO: 3);136-M19,本文也称为M19(VH: SEQ ID NO: 5;VL: SEQ ID NO: 7)和136-M14,本文也称为M14(VH: SEQ ID NO: 17;VL: SEQ ID NO: 19)。将抗PD-1抗体纳武单抗(本文也称为“nivo”或“NV1”)和派姆单抗(本文也称为“pembro”或“PM1”或“PM1 AB”)用作阳性对照。

[0477] 图2是显示各种鼠抗hPD-1抗体阻断配体人PD-L1(hPD-L1)和人PD-L2(hPD-L2)结合人PD-1的的一系列图。

[0478] 图3是显示各种鼠抗hPD-1抗体阻断配体人PD-L1(hPD-L1)和人PD-L2(hPD-L2)结合人PD-1的的一系列图。

[0479] 图4是描绘如通过ELISA所测定的本公开称为A1.0(VH: SEQ ID NO: 21;VL: SEQ ID NO: 39)、A1.2(VH: SEQ ID NO: 21;VL: SEQ ID NO: 43)和A1.4(VH: SEQ ID NO: 21;VL: SEQ ID NO: 45)的各种抗hPD-1抗体结合人PD-1的图。将抗PD-1抗体派姆单抗(“PM1”)用作阳性对照。

[0480] 图5是描绘如通过ELISA所测定的本公开称为A1.5 (VH: SEQ ID NO: 21;VL: SEQ ID NO: 47)、A1.6 (VH: SEQ ID NO: 21;VL: SEQ ID NO: 49)、Ba2 (VH: SEQ ID NO: 29;VL: SEQ ID NO: 57)、Bb2 (VH: SEQ ID NO: 31;VL: SEQ ID NO: 57)、C1.1 (VH: SEQ ID NO: 33;VL: SEQ ID NO: 41)和D4 (VH: SEQ ID NO: 37;VL: SEQ ID NO: 59)的各种抗hPD-1抗体结合人PD-1的图。将抗PD-1抗体纳武单抗(“NV1”)和派姆单抗(“PM1”)用作阳性对照。

[0481] 图6是描绘如通过ELISA所测定的本公开称为A1.0、A1.2和A1.4的各种抗hPD-1抗体抑制人PD-1 (hPD-1)与人PDL-1 (hPDL-1)和人PDL-2 (hPDL-2)之间的结合的能力的图。将抗PD-1抗体派姆单抗(“PM1”)用作阳性对照。

[0482] 图7是描绘如通过ELISA所测定的本公开称为A1.5和C1.1的各种抗hPD-1抗体抑制hPD-1与hPDL-1和hPDL-2之间的结合的能力的图。将抗PD-1抗体纳武单抗(“NV1”)和派姆单抗(“PM1”)用作阳性对照。

[0483] 图8是描绘如通过ELISA所测定的本公开称为A1.5、Ba2、Bb2、C1.1和D4的各种抗hPD-1抗体抑制hPD-1与hPDL-1之间的结合的能力的图。将抗PD-1抗体纳武单抗(“NV1”)和派姆单抗(“PM1”)用作阳性对照。

[0484] 图9是描绘如通过ELISA所测定的本公开称为A1.5、Ba2、Bb2、C1.1和D4的各种抗hPD-1抗体抑制hPD-1与hPDL-2之间的结合的能力的图。将抗PD-1抗体纳武单抗(“NV1”)和派姆单抗(“PM1”)用作阳性对照。

[0485] 图10是描绘如通过ELISA所测定的本文称为A1.5的抗PD-1抗体特异性结合hPD-1的图。A1.5抗PD-1抗体针对一组人和小鼠蛋白进行测试。

[0486] 图11A和11B是描绘抗PD-1抗体A1.5阻断抗PD-1抗体纳武单抗(“NV1”)和派姆单抗(“PM1”)的Fab片段结合PD-1的能力的一系列图。这些图还表明抗PD-1抗体A1.5结合与NV1和/或PM1的不同的表位。

[0487] 图12是表示抗PD-1抗体A1.5具有在T细胞再刺激测定中测量的与纳武单抗(“NV1”)和派姆单抗(“PM1”)的效力类似效力的图。在图12中,PMBC如下处理:PBMCs:将CMV+HemaCare Donor C以 2×10^5 细胞/孔铺板;用 $5\mu\text{g}/\text{mL}$ CMV裂解物 +/- 抗PD-1或同种型对照刺激;对第4天的上清液进行IFN- γ ELISA测定。

[0488] 图13是表示抗PD-1抗体A1.5和Ba2以与抗PD-1抗体纳武单抗(“NV1”)和派姆单抗(“PM1”)类似或比其更高的亲和力结合单体人PD-1 (hPD1)的一系列图。

[0489] 图14是描绘如通过ELISA所测定的由抗PD-1抗体A1.4和由包括本文称为PD01 (SEQ ID NO: 66)、PD02 (SEQ ID NO: 67)、PD03 (SEQ ID NO: 68)、PD08 (SEQ ID NO: 73)、PD09 (SEQ ID NO: 74)和PD10 (SEQ ID NO: 75)的各种掩蔽部分的各种可活化抗PD-1抗体结合人PD-1的一系列图。

[0490] 图15是描绘由抗PD-1抗体A1.5和由包括抗PD-1抗体A1.5和本文称为PD01 (SEQ ID NO: 66)、PD02 (SEQ ID NO: 67)、PD03 (SEQ ID NO: 68)、PD05 (SEQ ID NO: 70)、PD06 (SEQ ID NO: 71) (板1);PD08 (SEQ ID NO: 73)、PD09 (SEQ ID NO: 74)、PD10 (SEQ ID NO: 75)、PD11 (SEQ ID NO: 76)、PD12 (SEQ ID NO: 77) (板2);PD13 (SEQ ID NO: 78)、PD14 (SEQ ID NO: 79)、PD15 (SEQ ID NO: 80)、PD16 (SEQ ID NO: 81)、PD17 (SEQ ID NO: 82) (板3);PD18 (SEQ ID NO: 83)、PD19 (SEQ ID NO: 84)、PD20 (SEQ ID

NO: 85)、PD21 (SEQ ID NO: 86)、PD22 (SEQ ID NO: 87) (板4);和PD23 (SEQ ID NO: 88)、PD24 (SEQ ID NO: 89) (板5)的掩蔽部分的各种可活化抗PD-1抗体结合hPD-1的一系列活动图。

[0491] 图16是描绘由抗PD-1抗体A1.5和包括抗PD-1抗体A1.5、本文称为3001的可切割部分(其包括序列AVGLLAPPGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 318))和本文称为PD02、PD12和PD16的掩蔽部分的各种可活化抗PD-1抗体结合hPD-1的图。

[0492] 图17是描绘由抗PD-1抗体A1.5和由包括抗PD-1抗体A1.5、本文称为2001的可切割部分(其包括序列ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 214))和本文称为PD05 (SEQ ID NO: 70)、PD06 (SEQ ID NO: 71)、PD09 (SEQ ID NO: 74) (左上图);PD12 (SEQ ID NO: 77)、PD23 (SEQ ID NO: 88)、PD25 (SEQ ID NO: 90) (右上图);PD26 (SEQ ID NO: 91)、PD27 (SEQ ID NO: 92)、PD28 (SEQ ID NO: 93) (左下图);和PD30 (SEQ ID NO: 95)、PD33 (SEQ ID NO: 98)、PD35 (SEQ ID NO: 100) (右下图)的掩蔽部分的各种可活化抗PD-1抗体结合hPD-1的一系列活动图。

[0493] 图18是描绘由抗PD-1抗体A1.5和由包括抗PD-1抗体A1.5和本文称为PD34 (SEQ ID NO: 99)、PD06 (SEQ ID NO: 71)、PD09 (SEQ ID NO: 74) (左上图);PD34 (SEQ ID NO: 99)、PD12 (SEQ ID NO: 77)、PD17 (SEQ ID NO: 82) (右上图);PD34 (SEQ ID NO: 99)、PD19 (SEQ ID NO: 84)、PD25 (SEQ ID NO: 90) (左下图);和PD34 (SEQ ID NO: 99)、PD26 (SEQ ID NO: 91)、PD28 (SEQ ID NO: 93) (右下图)的掩蔽部分的各种可活化抗PD-1抗体结合hPD-1的一系列活动图。

[0494] 图19是描绘本发明的抗PD1 A1.5可活化抗体相比于对照hIgG4增加CMV刺激的IFN- γ 分泌的能力但相对于抗PD1 A1.5亲本抗体具有降低效力的图。所测试的可活化抗体包括抗PD-1抗体A1.5、本文称为2001的可切割部分和本文称为PD06、PD05、PD11、PD12、PD14和PD19的掩蔽部分。在图19中,PMBC如下处理:PBMCs:将CMV+ HemaCare Donor C以 2×10^5 细胞/孔铺板;用5 μ g/mL CMV裂解物 +/- 抗PD-1或同种型对照刺激;对第4天的上清液进行IFN- γ ELISA测定。

[0495] 图20A和20B是描绘本文称为J43v2 (重链(HC): SEQ ID NO: 546;轻链(LC): SEQ ID NO: 543)的抗PD-1抗体以个位数nM EC₅₀值阻断鼠PD-L1 (mPD-L1)和鼠PD-L2 (mPD-L2)结合表达鼠PD-1 (mPD-1)的细胞的能力的一系列活动图。

[0496] 图21是描绘由本文称为J43v2 m2a (HC: SEQ ID NO: 546;LC: SEQ ID NO: 543)的抗体在NOD小鼠中剂量依赖性诱导糖尿病的图。

[0497] 图22是描绘由抗PD-1抗体J43v2 m2a和由包括抗PD-1抗体J43v2 m2a和本文称为MP01 (SEQ ID NO: 384)、MP02 (SEQ ID NO: 385)、MP03 (SEQ ID NO: 386)、MP04 (SEQ ID NO: 387)、MP05 (SEQ ID NO: 388) (左上图);MP06 (SEQ ID NO: 389)、MP07 (SEQ ID NO: 390)、MP08 (SEQ ID NO: 391)、MP09 (SEQ ID NO: 392)、MP10(本文也称为MP010) (SEQ ID NO: 393) (右上图);MP11(本文也称为MP011) (SEQ ID NO: 394)、MP12(本文也称为MP012) (SEQ ID NO: 395)、MP13(本文也称为MP013) (SEQ ID NO: 396)、MP14(本文也称为MP014) (SEQ ID NO: 397) (下图)的掩蔽部分的各种可活化抗PD-1抗体结合hPD-1的一系列活动图。

[0498] 图23是描绘由抗PD-1抗体J43v2 m2a和由包括抗PD-1抗体J43v2 m2a、本文称为

2001的可切割部分和本文称为MP5-2 (SEQ ID NO: 565)、MP7-1 (SEQ ID NO: 558)、MP7-5 (SEQ ID NO: 562)、MP8-2 (SEQ ID NO: 549) (上图);和MP7-1 (SEQ ID NO: 558)、MP8-9 (SEQ ID NO: 556)、MP8-8 (SEQ ID NO: 555) (下图)的掩蔽部分的各种可活化抗PD-1抗体结合hPD-1的图。

[0499] 图24是描绘抗PD-1 J43v2抗体随剂量增加在NOD小鼠中以增加频率诱导糖尿病和相比于以相似剂量的抗体,抗PD-1 J43v2可活化抗体展示降低的糖尿病的图。

[0500] 图25A和25B是描绘由抗PD-1抗体A1.5和由包含抗PD1抗体A1.5、本文称为PD34 (SEQ ID NO: 99)的掩蔽部分(且对于图25A,本文称为2006 (SEQ ID NO: 1095)、2007 (SEQ ID NO: 1096)、2008 (SEQ ID NO: 1097)、2009 (SEQ ID NO: 1098)和2001 (SEQ ID NO: 214)的底物,和对于图25B,本文称为2001 (SEQ ID NO: 214)、2008 (SEQ ID NO: 1097)、2012 (SEQ ID NO: 1101)、2011 (SEQ ID NO: 1100)和2003 (SEQ ID NO: 1092)的底物)的本发明的各种可活化抗体结合hPD-1的一系列图。

[0501] 图26A、26B和26C是描绘由抗PD-1抗体纳武单抗(NV1)和由包含抗PD1抗体NV1、本文称为2001 (SEQ ID NO: 214)的底物和本文称为NV01 (SEQ ID NO: 1206)、NV02 (SEQ ID NO: 1207)、NV03 (SEQ ID NO: 1208)、NV04 (SEQ ID NO: 1209)、NV05 (SEQ ID NO: 1210)、NV06 (SEQ ID NO: 1211)、NV07 (SEQ ID NO: 1212)、NV08 (SEQ ID NO: 1213)、NV09 (SEQ ID NO: 1214)、NV10 (SEQ ID NO: 1215)、NV11 (SEQ ID NO: 1216)和NV12 (SEQ ID NO: 1217)的掩蔽部分的本发明的各种可活化抗体结合hPD-1的一系列图。

[0502] 图27A、27B和27C是描绘由抗PD-1抗体派姆单抗(PM1)和由包含抗PD1抗体PM1、本文称为2001 (SEQ ID NO: 214)的底物和本文称为PM01 (SEQ ID NO: 1351)、PM02 (SEQ ID NO: 1352)、PM03 (SEQ ID NO: 1353)、PM04 (SEQ ID NO: 1354)、PM05 (SEQ ID NO: 1355)、PM06 (SEQ ID NO: 1356)、PM07 (SEQ ID NO: 1357)、PM08 (SEQ ID NO: 1358)、PM09 (SEQ ID NO: 1359)、PM10 (SEQ ID NO: 1360)、PM11 (SEQ ID NO: 1361)和PM12 (SEQ ID NO: 1362)的掩蔽部分的本发明的各种可活化抗体结合hPD-1的一系列图。

[0503] 图28是描绘包含抗PD-1 A1.5 (PD)抗体、NV1 (NV)抗体和PM1 (PM)抗体和多种掩蔽和底物组合的本发明的各种可活化抗体的掩蔽部分特异性的图。

[0504] 图29A和29B是描绘由IgG2a效应子阴性(EN)抗PD1抗体J43 (J43 m2a EN)和由包含IgG2a效应子阴性(EN)抗PD1抗体J43 (J43 m2a EN)和多种掩蔽和底物组合的本发明的各种可活化抗体结合PD1的一系列图。

[0505] 图30是描绘抗PD-1 J43m2a EN抗体随剂量增加在NOD小鼠中以增加频率诱导糖尿病和相比于以相似剂量的抗体,抗PD-1 J43m2a EN可活化抗体展示降低的糖尿病的图。

[0506] 图31A和31B是描绘本发明的抗PD1可活化抗体MP7-1 2001 m2a EN和MP8-2 2001 m2a EN作为单一药剂(图31A)和与可商购抗CTLA4抗体9D9 mIgG2b的组合(图31B)以相似于阳性对照抗PD1抗体J43 m2a EN的方式抑制MC38同源肿瘤(syngeneic tumor)生长的一系列图。

[0507] 图32A、32B、32C、32D和32E是描绘本文称为A1.5 Ab (即SEQ ID NO: 21的VH和SEQ ID NO: 47的VL)的抗人PD1抗体在抗原回忆测定(antigen recall assay)中阻断PD-L1/PD-L2结合PD1和有效活化T细胞的一系列图。图31A显示如通过标准板ELISA所检测的抗人PD-1 A1.5与固定的人PD1的结合,和图31B显示如通过ELISA所检测的A1.5 Ab与食蟹猴PD1

的结合。图32C描绘如通过ELISA所测定的通过A1.5 Ab的生物素化的人PD-L1与固定的PD1的抑制,和图32D描绘如通过ELISA所测定的生物素化的人PD-L2与固定的PD1的抑制。图32E表示在CMV T细胞再刺激测定中A1.5 Ab增强IFN- γ 产生。

[0508] 图33A和33B是描绘本文称为A1.5 PD34 2001 (即,SEQ ID NO: 21的VH和SEQ ID NO: 47的VL、SEQ ID NO: 99的掩蔽部分和SEQ ID NO: 214的可切割部分)的可活化抗PD1抗体相对于亲本PD-1 Ab即A1.5 Ab以降低的亲和力结合人PD1(图33A)和A1.5 PD34 2001可活化抗体在CMV T细胞抗原回忆测定中显示功能性掩蔽(图33B)的一系列图。

[0509] 图34是描绘给药单一IV大剂量的A1.5抗体或本文称为A1.5 PD34 2001的可活化抗体(以1 mg/kg或以5 mg/kg)后来自食蟹猴的血浆样品的药代动力学(PK)分析结果的图和表。显示A1.5和A1.5 PD34 2001的平均PK参数。

[0510] 图35是描绘在第0、4和7天给药的10 mg/kg抗PD-1 J43抗体加10 mg/kg抗CTLA-4抗体的组合到第11天诱导50%的NOD小鼠中的糖尿病而相同给药方案的可活化抗PD-1 J43抗体与CTLA-4抗体到第18天不诱导糖尿病的图。

[0511] 图36是描绘抗PD1可活化抗体MP8-2 2012 m2a EN和MP8-2 2011 m2a EN作为单一药剂和与抗CTLA4抗体9D9 mIgG2b的组合相似于阳性对照抗PD1抗体J43 m2a EN抑制MC38同源肿瘤生长的图。

[0512] 图37是描绘组合CTLA4抗体和J43可活化抗体治疗针对用MC38肿瘤细胞再攻击来保护小鼠的一系列图。

[0513] 图38是描绘单独施用或与抗CTLA4抗体组合施用的抗PD-1抗体在NOD小鼠中诱导糖尿病,而作为单一药剂或与抗CTLA4抗体组合的抗PD-1可活化抗体到第15天不诱导糖尿病的图。

[0514] 图39是表示实施方案的抗PD-1可活化A1.5和可活化纳武单抗抗体如相比于对照抗体在CMV T细胞再刺激测定中增强IFN- γ 产生但未到受抗PD-1抗体A1.5或纳武单抗影响的程度的图。

[0515] 图40是表示实施方案的抗PD-1可活化派姆单抗抗体如相比于对照抗体在CMV T细胞再刺激测定中增强IFN- γ 产生但未到受抗PD-1抗体A1.5或派姆单抗影响的程度的图。

[0516] 发明详述

[0517] 本发明提供特异性结合程序性细胞死亡蛋白1(PD-1)(也称为CD279)的单克隆抗体(mAb)、可活化抗体及其抗原结合片段。使用术语“PD-1”旨在覆盖其任何变化,诸如通过非限制性实例,PD1和/或PD 1,所有变化本文可以互换使用。PD-1和PD-1相关的信号传导的异常表达和/或活性已牵涉于许多疾病和病症诸如癌症的发病。

[0518] PD-1,一种属于免疫球蛋白超家族的细胞表面受体,表达于T细胞和原B细胞上。已知PD-1结合两种配体PD-L1和PD-L2。PD-1表达在可活化T细胞的表面上,并且PD-1和PD-L1和/或PD-L2之间的相互作用功能为免疫检验点,因为PD-L1或PD-L2结合PD-1失活T细胞。因此,PD-1通过阻止T细胞活化,其继而降低自身免疫并促进自身耐受,而在下调免疫系统中起作用。

[0519] 本发明的抗PD-1单克隆抗体和活化的可活化抗PD-2抗体结合和中和PD-1或以其他方式抑制PD-1结合或以其他方式与PD-L1和PD-L2相互作用的能力。本发明的抗PD-1单克隆抗体和活化的可活化抗PD-1抗体结合和中和PD-1或以其他方式抑制PD-1的至少一种生

物活性。例如，本发明的抗PD-1单克隆抗体和活化的可活化抗PD-1抗体结合PD-1并阻断或以其他方式抑制活化的T细胞上的PD-1的配体活化。与传统化疗和其他靶向的抗癌疗法（其通过直接细胞毒性或肿瘤生长抑制发挥其作用）不同，本发明的单克隆抗体和可活化抗体阻断T细胞活化和应答的负调节子，由此允许免疫系统攻击肿瘤。

[0520] 本发明的可活化抗PD-1抗体包括偶联至掩蔽部分（MM）使得MM的偶联降低抗体或其抗原结合片段结合PD-1的能力的特异性结合PD-1的抗体或其抗原结合片段。MM经包含功能为蛋白酶底物的序列的可切割部分（CM）来偶联。

[0521] 当可活化部分通过蛋白酶切割时，本发明的可活化抗PD-1抗体被活化。例如，蛋白酶由靠近表达PD-1的T细胞的肿瘤产生。在一些实施方案中，蛋白酶由与表达PD-1的T细胞共定位的肿瘤产生。在活化（即切割）状态，本发明的可活化抗PD-1抗体结合表达在T细胞表面上的PD-1。

[0522] 可活化抗PD-1抗体用于治疗、预防这样的疾病或病症、延迟所述疾病或病症的进展、减轻和/或缓解所述疾病或病症的症状的方法中，所述疾病或病症与选自PD-L1和PD-L2的配体结合T细胞上的PD-1相关。此类配体通常发现于肿瘤细胞和其他免疫细胞上。此类配体结合PD-1可以导致免疫抑制，诸如抑制T细胞活性，这被本发明的抗PD1抗体和可活化抗PD-1抗体所降低。例如，可活化抗PD-1抗体用于治疗、预防癌症或其他肿瘤病况、延迟其进展、减轻和/或缓解其症状的方法中。

[0523] 本发明的示例性可活化抗PD-1抗体包括例如包含作为或衍生自实施例如实施例1、2、8、9、14和15中所述的抗体的重链和轻链的可活化抗体。

[0524] 在一些实施方案中，可活化抗PD-1抗体包括重链和轻链，所述重链包含或衍生自选自以下的氨基酸序列：SEQ ID NO:1、5、9、13、17、21、23、25、27、29、31、33、35和37，所述轻链包含或衍生自选自以下的氨基酸序列：SEQ ID NO:3、7、11、15、19、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、239、241、245、247、249、251、253、255、257、259、261、263、265、267、269、271、273、275、277、279、281、283、285、287、289、291、293、515、517、519、521、523、525、527、529、531、533、535、537、539、541、572、574、576、578、580、582、919、921、923、925、927、929、931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1007、1009、1011、1013、1015、1017、1019、1021、1023、1025、1027、1030、1032、1034、1036、1039、1041-1090、1113-1120、1123、1124、1127、1128、1131、1132、1134、1135、1138、1139、1143、1144、1147、1148、1151、1152、1155、1156、1159、1160、1163、1164、1167、1168、1170、1171、1174、1175、1178、1179、1182、1183、1186、1187、1190、1191、1194、1195、1198、1199、1202、1203、2055、2054、2057、2056、2059和2058。

[0525] 在一些实施方案中，可活化抗PD-1抗体包括重链和轻链，所述重链包含或衍生自选自以下的氨基酸序列：SEQ ID NO:21、23、25、27、29、31、33、35和37，所述轻链包含或衍生自选自以下的氨基酸序列：SEQ ID NO:39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、239、241、245、247、249、251、253、255、257、259、261、263、265、267、269、271、273、275、277、279、281、283、285、287、289、291、293、515、517、519、521、523、525、527、529、531、533、535、537、539、541、572、574、576、578、580、582、

584、919、921、923、925、927、929、931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1007、1009、1011、1013、1015、1017、1019、1021、1023、1025、1027、1029、1030、1032、1034、1036、1039、1041-1090、1113-1120、1123、1127、1131、1134、1138、1144、1148、1152、1156、1160、1164、1168、1170、1174、1178、1182、1186、1190、1194、1198、1203、2055、2054、2057、2056、2059和2058。

[0526] 在一些实施方案中,轻链包含或衍生自选自SEQ ID NO: 39、41、43、45、47、49、51、53、55、57和59的氨基酸序列。在一些实施方案中,轻链包含或衍生自选自以下的氨基酸序列:SEQ ID NO: 215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、239、241、245、247、249、251、253、255、257、259、261、263、265、267、269、271、273、275、277、279、281、283、285、287、289、291、293、584、919、921、923、925、927、929、931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995和997。

[0527] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括重链和轻链,所述重链包含或衍生自选自以下的氨基酸序列:SEQ ID NO:21、23、25、27、29、31、33、35和37,所述轻链包含或衍生自选自以下的氨基酸序列:215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、239、241、243、245、247、249、251、253、255、257、259、261、263、265、267、269、271、273、275、277、279、281、283、285、287、289、291、293、572、574、576、578、580、582、1029、1120、1124、1128、1132、1135、1139、1143、1147、1151、1155、1159、1163、1167、1171、1175、1179、1183、1187、1191、1195、1199、1203、2055、2054、2057、2056、2059和2058。

[0528] 在一些实施方案中,轻链包含或衍生自选自以下的氨基酸序列:SEQ ID NO:515、517、519、521、523、525、527、529、531、533、535、537、539、541、572、574、576、578、580、582、999、1001、1003、1005、1007、1009、1011、1013、1015、1017、1019、1021、1023、1025、1027、1029、1030、1032、1034、1036、1039、1041-1090、1113-1120、1123、1127、1131、1134、1138、1144、1148、1152、1156、1160、1164、1168、1170、1174、1178、1182、1186、1190、1194、1198、1203、2055、2054、2057、2056、2059和2058。

[0529] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括轻链,所述轻链包含或衍生自选自以下的氨基酸序列:SEQ ID NO:215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、239、241、243、245、247、249、251、253、255、257、259、261、263、265、267、269、271、273、275、277、279、281、283、285、287、289、291、293、515、517、519、521、523、525、527、529、531、533、535、537、539、541、572、574、576、578、580、582、919、921、923、925、927、929、931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、1027、1028、1029、1030、1032、1034、1036、1039、1041-1076、1113-1120、1123、1124、1127、1128、1131、1132、1134、1135、1138、1139、1143、1144、1147、1148、1151、1152、1155、1156、1159、1160、1163、1164、1167、1168、1170、1171、1174、1175、1178、1179、1182、1183、1186、1187、1190、1191、1194、1195、1198、1199、1202、1203、2055、2054、2057、2056、2059和2058。

[0530] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括重链和轻链,所述重链包含或衍生自选自以下的氨基酸序列:SEQ ID NO:21、23、25、27、29、31、33、35和37,所述轻链包含或衍生

自选自以下的氨基酸序列:SEQ ID NO:215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、239、241、243、245、247、249、251、253、255、257、259、261、263、265、267、269、271、273、275、277、279、281、283、285、287、289、291、293、919、921、923、925、927、929、931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、1028、1029、1041-1076、1138、1139、1143、1144、1147、1148、1151、1152、1155、1156、1159、1160、1163、1164、1167、1168、1170、1171、1174、1175、1178、1179、1182、1183、1186、1187、1190、1191、1194、1195、1198、1199、1202、1203、2055、2054、2057、2056、2059和2058。

[0531] 在一些实施方案中,轻链包含或衍生自选自以下的氨基酸序列:SEQ ID NO:919、921、923、925、927、929、931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、1028、1041-1076、1138、1144、1148、1152、1156、1160、1164、1168、1170、1174、1178、1182、1186、1190、1194、1198、1202、2055、2057和2059。

[0532] 在一些实施方案中,轻链包含或衍生自选自以下的氨基酸序列:SEQ ID NO:215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、239、241、243、245、247、249、251、253、255、257、259、261、263、265、267、269、271、273、275、277、279、281、283、285、287、289、291、293、1029、1139、1143、1147、1151、1155、1159、1163、1167、1171、1175、1179、1183、1187、1191、1195、1199、1203、2054、2056和2058。

[0533] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括重链和轻链,所述重链包含或衍生自选自以下的氨基酸序列:SEQ ID NO:546,所述轻链包含或衍生自选自以下的氨基酸序列:SEQ ID NO:515、517、519、521、523、525、527、529、531、533、535、537、539、541、572、574、576、578、580、582、999、1001、1003、1005、1007、1009、1011、1013、1015、1017、1019、1021、1023、1025、1027、1030、1032、1034、1036、1039、1077-1090、1113-1120、1123、1124、1127、1128、1131、1132、1134和1135。

[0534] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括轻链,所述轻链包含或衍生自选自以下的氨基酸序列:SEQ ID NO:999、1001、1003、1005、1007、1009、1011、1013、1015、1017、1019、1021、1023、1025、1027、1030、1032、1034、1036、1039、1070-1090、1119、1123、1127、1131和1134。

[0535] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括轻链,所述轻链包含或衍生自选自以下的氨基酸序列:SEQ ID NO:515、517、519、521、523、525、527、529、531、533、535、537、539、541、572、574、576、578、580、582、1120、1124、1128、1132和1135。

[0536] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括重链,所述重链包含或衍生自表7中所示的重链氨基酸序列。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括轻链,所述轻链包含或衍生自表7中所示的轻链氨基酸序列。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括含有或衍生自表7中所示的重链氨基酸序列的重链和含有或衍生自表7中所示的轻链氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括来自表7中组A中所示的组的重链可变区序列和轻链可变区序列的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括来自表7中组B中所示的组的重链可变区序列和轻链可变区序列的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括来自表7中组C中所示的组的重链可变区序列和轻链可变区序列的组合。在

[0557] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括来自表7中组U中所示的重链序列的重链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括来自表7中组U中所示的轻链序列的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括来自表7中组U中所示的重链序列的重链序列的CDR和来自表7中组U中所示的轻链序列的轻链序列的CDR的组合。

[0558] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括来自表7中组V中所示的重链序列的重链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括来自表7中组V中所示的轻链序列的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括来自表7中组V中所示的重链序列的重链序列的CDR和来自表7中组V中所示的轻链序列的轻链序列的CDR的组合。

[0559] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 619的重链序列的CDR的组合和SEQ ID NO: 1856的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 619的重链序列和SEQ ID NO: 1856的轻链序列的组合。

[0560] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1846的重链序列的CDR的组合和SEQ ID NO: 1858的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1846的重链序列和SEQ ID NO: 1858的轻链序列的组合。

[0561] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1843的重链序列的CDR的组合和SEQ ID NO: 1859的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1843的重链序列和SEQ ID NO: 1859的轻链序列的组合。

[0562] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1847的重链序列的CDR的组合和SEQ ID NO: 737的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1847的重链序列和SEQ ID NO: 737的轻链序列的组合。

[0563] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1848的重链序列的CDR的组合和SEQ ID NO: 1860的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1848的重链序列和SEQ ID NO: 1860的轻链序列的组合。

[0564] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1844的重链序列的CDR的组合和SEQ ID NO: 1861的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1844的重链序列和SEQ ID NO: 1861的轻链序列的组合。

[0565] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1841的重链序列的CDR的组合和SEQ ID NO: 737的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1841的重链序列和SEQ ID NO: 737的轻链序列的组合。

[0566] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO:

1842的重链序列的CDR的组合和SEQ ID NO: 737的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1842的重链序列和SEQ ID NO: 737的轻链序列的组合。

[0567] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1845的重链序列的CDR的组合和SEQ ID NO: 737的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1845的重链序列和SEQ ID NO: 737的轻链序列的组合。

[0568] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1835的重链序列的CDR的组合和SEQ ID NO: 1857的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1835的重链序列和SEQ ID NO: 1857的轻链序列的组合。

[0569] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1836的重链序列的CDR的组合和SEQ ID NO: 1862的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1836的重链序列和SEQ ID NO: 1862的轻链序列的组合。

[0570] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1837的重链序列的CDR的组合和SEQ ID NO: 1863的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1837的重链序列和SEQ ID NO: 1863的轻链序列的组合。

[0571] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1838的重链序列的CDR的组合和SEQ ID NO: 1864的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1838的重链序列和SEQ ID NO: 1864的轻链序列的组合。

[0572] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1838的重链序列的CDR的组合和SEQ ID NO: 1865的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1838的重链序列和SEQ ID NO: 1865的轻链序列的组合。

[0573] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1839的重链序列的CDR的组合和SEQ ID NO: 1864的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1839的重链序列和SEQ ID NO: 1864的轻链序列的组合。

[0574] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1839的重链序列的CDR的组合和SEQ ID NO: 1865的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1839的重链序列和SEQ ID NO: 1865的轻链序列的组合。

[0575] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1840的重链序列的CDR的组合和SEQ ID NO: 1866的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1840的重链序列和SEQ ID NO: 1866的轻链序列的组合。

[0576] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1841的重链序列的CDR的组合和SEQ ID NO: 1867的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1841的重链序列和SEQ ID NO: 1867的轻链序列的组合。

[0577] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1841的重链序列的CDR的组合和SEQ ID NO: 1868的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1841的重链序列和SEQ ID NO: 1868的轻链序列的组合。

[0578] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1849的重链序列的CDR的组合和SEQ ID NO: 1858的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1849的重链序列和SEQ ID NO: 1858的轻链序列的组合。

[0579] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1853的重链序列的CDR的组合和SEQ ID NO: 1859的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1853的重链序列和SEQ ID NO: 1859的轻链序列的组合。

[0580] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1869的重链序列的CDR的组合和SEQ ID NO: 737的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1869的重链序列和SEQ ID NO: 737的轻链序列的组合。

[0581] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1850的重链序列的CDR的组合和SEQ ID NO: 1860的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1850的重链序列和SEQ ID NO: 1860的轻链序列的组合。

[0582] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1851的重链序列的CDR的组合和SEQ ID NO: 1861的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1851的重链序列和SEQ ID NO: 1861的轻链序列的组合。

[0583] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1852的重链序列的CDR的组合和SEQ ID NO: 737的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1852的重链序列和SEQ ID NO: 737的轻链序列的组合。

[0584] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1854的重链序列的CDR的组合和SEQ ID NO: 737的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1854的重链序列和SEQ ID NO: 737的轻链序列的组合。

[0585] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1855的重链序列的CDR的组合和SEQ ID NO: 737的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括如表7中组V中所示的SEQ ID NO: 1855的重链序列和SEQ ID

NO: 737的轻链序列的组合。

[0586] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括来自表7中组W中所示的重链序列的重链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括来自表7中组W中所示的轻链序列的轻链序列的CDR的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括来自表7中组W中所示的重链序列的重链序列的CDR和来自表7中组W中所示的轻链序列的轻链序列的CDR的组合。

[0587] 表7. 结合PD-1的可活化抗体的可变重链区 (VH) 和可变轻链区 (VL) 序列

[0588]

组 A	
VH	QVQLVESGGDVVQPGGSLRLSCAASGVAFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAWIWYDGSNKYYADSVKGRFTISR DNSKNMLYLQMNSLRAEDTAMYYCARNDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 615)
VH	QVQLVESGGDVVQPGRSRLSCLASGLTFTNYGFHWVRQAPGKGLEWVAWIWYDGSKKYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCATGDDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 617)
VH	QVYLVESGGGVVQPGRSRLSCLASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVALIWIWYDGSNKYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMTSLRVEDTAVYYCASNVHWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 618)
VH	QVQLVESGGGVVQPGRSRLRDLCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAWIWYDGSKRYADSVKGRFTISR DNSKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 1346)
VH	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSLRSSEFFWGWIRQPPGKLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRTIS VDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCVRDYDILTGDEYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 620)
VH	QVQLVESGGGVVQPGRSRLSCTTSGITFSSYGFHWVRQAPGKGLEWVAWIWYDGSKKYYADSVKGRFTLSR DSSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVTGDDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 621)
VH	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCSVSGGSLRSSEFFWGWIRQPPGKLEWIASIFYSGETYFNPSLKSRTIS VDTSRNQFSLKLSVTAADTAVYYCARDYDILTGDEYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 623)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLIIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFT LTISLQPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 624)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLIIYDTSNRATGIPARFSGSGSGTDFT LTISLQPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 625)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLIIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFT LTISLQPEDFAVYYCQSSNWPRTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 626)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDVRSITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASNLRSVPSRFSGSGSGTDFT LTISLQPEDFATYYCQQYYSYPRTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 628)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLIIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFT LTISLQPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 629)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDVRSITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISLQPEDFATYYCQQYYSYPRTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 630)
组 B	
VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYLYWMKQRPQGGLWIGGVNPSNGGTFNFEKFKSKATLTV DKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCTRRDSNYDGGFDYWGQGTLLTVSSAK (SEQ ID NO: 631)
VH	QVQLQQPGAELVKPGTSVKLSCKASGYTFTNYMYWVKQRPQGGLWIGGINPSNGGTFNFEKFKSKATLTV DSSSTTYMQLSSLTSEDSAVYYCTRRDYRFDMGFDYWGQGTLLTVSSAK (SEQ ID NO: 632)

[0589]

VH	MDWTWSILFLVAAPTGAHSQVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYFTNYYMYWVRQAPGQGLEWMGGINP SNGGTNFNEKFKNRVTLTTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 633)
VH	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYFTNYYMYWVRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTNFNEKFKNRVTLTT DSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 634)
VH	EVQLVLSGGGFVQPGGSLKLSCAASGFTFSSYAMSWVRQNPERRLVVATITGGGRNTYYPDSVKGRFTISR DNAKNTLYLQMSLRSEDTAMYYCTRQGYDGYTFWYWGQGTTLVTVS (627)
VL	DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASKSVSTSGFSYLHWYQQKPGQPPKLLIFLASNLESGVPARFSGSGSG TDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHSWELPLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO: 635)
VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRAAISCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQSPKLLIYLASYLESVGPARGSGSGSG TDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHSRDLPLTFGTGKLELK (SEQ ID NO: 636)
VL	MAPVQLLGLLVFLPAMRCEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIY LASYLESVGPARGSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 637)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESVGPARGSGSGSG TDFTLTISSELEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 638)
VL	MAPVQLLGLLVFLPAMRCEIVLTQSPSLPVTPEGPASISCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQSPQLLIY LASYLESVGPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCQHSRDLPLTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 639)
VL	EIVLTQSPSLPVTPEGPASISCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQSPQLLIYLASYLESVGPDRFSGSGSG TDFTLTKISRVEAEDVGVYYCQHSRDLPLTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 640)
VL	MAPVQLLGLLVFLPAMRCDIVMTQTPLSLPVTPEGPASISCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQSPQLLIY LASYLESVGPDRFSGSGSGTAFTLTKISRVEAEDVGLYYCQHSRDLPLTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 641)
VL	DIVMTQTPLSLPVTPEGPASISCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQSPQLLIYLASYLESVGPDRFSGSGSG TAFTLTKISRVEAEDVGLYYCQHSRDLPLTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 642)
VL	DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASEVDNSGISFMNWFQKPGQPPKLLIYAASNPGSGVPARFSGSGSG TDFSLSNIHPMEEDDTAMYFCQQSKEVPWTFGGGTELEIKR (SEQ ID NO: 725)
HC	MAVLGLLFCLVTFPSCVLSQVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYFTNYYMYWVRQAPGQGLEWMGGINP SNGGTNFNEKFKNRVTLTTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQGTTVTVSSASTKG PSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLG TKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQE DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAG QPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDSGSFFLYSRLTVD KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGLK (SEQ ID NO: 643)

[0590]

HC	<p>QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSKASGYFTFTNYYMYWVRQAPGQGLEWMGGINPSSGGTNFNEKFKNRVTLTT DSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPFAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDK RVESKYGPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKQPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEAL HNHYTQKSLSLGK (SEQ ID NO: 644)</p>
HC	<p>MAVLGLLFCLVTFPSCVLSQVQLVQSGVEVKKPGASVKVSKASGYFTFTNYYMYWVRQAPGQGLEWMGGINP SNGGTNFNEKFKNRVTLTTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFYWGQGTITVTVSSASTKG PSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPFAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKL TVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHNTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 645)</p>
HC	<p>QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSKASGYFTFTNYYMYWVRQAPGQGLEWMGGINPSSGGTNFNEKFKNRVTLTT DSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPFAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHNTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 646)</p>
LC	<p>MAPVQLLGLLVFLPAMRCEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQKPGQAPRLLIY LASYLESGVVPARFSGSGSDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 647)</p>
LC	<p>EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQKPGQAPRLLIYLASYLESGVVPARFSGSGS GSDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC (SEQ ID NO: 648)</p>
LC	<p>MAPVQLLGLLVFLPAMRCEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQKPGQAPRLLIY LASYLESGVVPDRFSGSGSDFTLTKISRVEAEDVGVYYCQHSRDLPLTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 649)</p>
LC	<p>EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQKPGQAPRLLIYLASYLESGVVPDRFSGSGS GSDFTLTKISRVEAEDVGVYYCQHSRDLPLTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC (SEQ ID NO: 650)</p>

[0591]

LC	MAPVQLLGLLVFLPAMRCDIVMTQTPLSLPVTPEPASISCRASKGVSTSGYSYLHWYLQKPGQSPQLLIYLASYLESQVDFRFSGSGSGTAFTLKI SRVEAEDVGLYYCQHSRDLPLTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 651)
LC	DIVMTQTPLSLPVTPEPASISCRASKGVSTSGYSYLHWYLQKPGQSPQLLIYLASYLESQVDFRFSGSGSGTAFTLKI SRVEAEDVGLYYCQHSRDLPLTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 652)
组 C	
VH	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWRQFPGNKLEWNGYINYSGSTSYNPSLKSRSITRDTSKNQFFLQNSVTEDTATYYCARWIGSSAWYFDVWGAGTTVTV (SEQ ID NO: 726)
VL	DVLMQTPLSLPVS LGDQASISCRSGQNI VHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVS NRFFGVPDRISGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCFQGSHPVFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 727)
VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTTYLYWVVRQRPQGQGLEWIGGINPSNGGTNFNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCTRRDYRYDRGFDYWGQGTSTVTV (SEQ ID NO: 728)
VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSTSGFNHYIHWYQQKPGQPPKLLIYLANLESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEDEDAATYYCQHSRELPLTFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 729)
VH	QVQLQQSGAELVKPGASVKMSCKAFGYTFTTYPIEWMKQNHGKSLEWIGNFHPYNDDTKYNEKFKGKAKLTV EKSSTTVYLELSRLTSDDSAVYYCARENYGSHGGFVYWGQGTSLTVTV (SEQ ID NO: 730)
VL	ENVLTQSPAIMSASPGKVTMTCRASSSVISSYLHWYQQKSGASPKLWIYSTSNLASGVPDRFSGSGSGTSLTISVVEAEDAATYYCQYNGYPLTFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 731)
组 D	
	LFTVTVPKELYII EHGSNVTLECNFDTGSHVNLGAITASLQKVENDTSPHRERATLLEEQLPLGKASFHIPQVQVRDEGQYQCII IYGVAWDYKYLTLKVKASARKINTHILKVPETDEVELTQCATGYPLAEVSWPNVSVPAN TSHSRTPEGLYQVTSVLR LKPPGRNFSCVFVWNTHVRELTLASIDLQSQMEPRTHPTWEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 732)
组 E	
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYRFTSYGISWVRQAPGQGLEWGWISAYNGNTNYAQLQGRVTMTTDTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDADYSSGSGYWGQGTSLTVTVSS (SEQ ID NO: 733)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVRSKASGYTTLTSYYIHWVVRQAPGQGLEWGIINPRGATISYAQKFGQGRVTMTRDTSTSTVYMELRNLKSEDTALYYCATAGIYGFDFDYWGRGTLTVTVSS (SEQ ID NO: 734)
VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGAYYWSWIRQHPGKLEWIGYIYNGNTYYNPSLRSLVTISVDASKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARASDYVWGGYRYMDAFDIWGRGTLITVSS (SEQ ID NO: 735)

[0592]

VH	GAHSEVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYWCDRMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKENWGSYFDLWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 736)
VL	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKQYAYWYQQKPGQAPVMVIYKDTERPSPGIPERFSGSSSGTKVTL TISGVQAEDEADYYCQSADNSITYRVFGGGTKVTVL (SEQ ID NO: 737)
VL	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSNDVGGYNYVSWYQHHPGKAPKLIIDVTNRPSGVSDRFSGSKSGNT ASLTISGLLAEDEGDYCYSSYITVTNFEVLFGGGTKLTV (SEQ ID NO: 738)
VL	QSVLTQPPSASGTPGQRTVITSCSGSNSNIGSNVNWYQQLPGTAPKLLIYGNNQRPSPGVPDRFSGSKSGTSA SLAISGLQSENEADYYCAAWDDSLNGPVFGRGTKVTVLGE (SEQ ID NO: 739)
VL	GVHSDIVMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQGISSWLAWYQQKPGRAPKVLIIYKASTLESVPSRFRFSGSGSG TDFTLTISSLPEDFATYYCQSYSTPWTFGQGTKLEIKR (SEQ ID NO: 740)
组 F	
VH	QVQLVQSGHEVKQPGASVKMSCKASGYSFTSSWIHWKQAPGQGLEWIGYIYPTGTFTEYNQKFKDRATLTA DKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARWRDSSGYHAMDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 741)
VH	QVQLVQSGHEVKQPGASVKMSCKASGYSFTSSWIHWVRQAPGQGLEWIGYIYPTGTFTEYNQKFKDRATLTA DKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARWRDSSGYHAMDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 742)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGQRLTISCRASQSVSTSGYSYMHWYQQKPDQSPKLLIKFGSNLESGIPARFSGSGSG TDFTLTISSLEPEDFATYYCQHSWEIPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 743)
VL	DIVLTQSPATLSLSPGQRLTISCRASQSVSTSGYSYMHWYQQKPDQSPKLLIKFGSNLESGIPARFSGSGSG TDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSWEIPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 744)
组 H	
VH	QGQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYFTDYEMHWVRQAPIHGLEWIGVIESETGGTAYNQKFKGRVTITA DKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREGITTVATYYWYFDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 745)
VL	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVNRFSGVPDRFSGSGS GTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCFQGSHVPLTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 746)
组 I	
VH	MGLGLQWVFFVALLKGVHCEVRLLESGGGLVKPEGSLKLSCVASGFTFSDYFMSWVRQAPGKGLEWVAHIYT KSYNYATYYSGSVKGRFTISRDDSRSMVYLQMNLRTEDTATYYCTRDGSGYPSLDFWGQGTQVTVSSATTT APSVYPLAPACDSTTKS (SEQ ID NO: 747)
VL	YELTQPPSASVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSDQITILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLT IRDVRAEDEGDYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDYFYP GSATVTWKANGATINDGVKTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEKSLSPAACL (SEQ ID NO: 748)

[0593]

Bs	METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAAQPARRARRTKLGTTELSPGLQEFVRLLESGGGLVKPEGSLKLSCVASG FTFSDYFMSWVRQAPGKGLEWVAHIYTKSYNYATYYSGSVKGRFTISRDDSRSMVYLQMNLRTEDTATYYC TRDGSYPSLDFWQGTQVTVSSGGGSDIQMTQSPSSLPASLGDVRTINCQASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTNKLADGVPSRFSGSGSRDSSFTISSLESEDIGSYCQQYYNYPWTFPGTKLEIKGGGSGGGG Ab
Ab	SGGGGSEVQLVESGGGLVQPGLSLKLSCEASGFTFSGYGMHWVRQAPGRGLESVAYITSSSINIKYADAVKG RFTVSRDNAKNLLFLQMNILKSEDTAMYYCARFDWDKNYWGQTMVTVSSGGGGSYELTQPPSASVNVGETV KITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQITLQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCFSG YVDSKLYVFGSGTQLTVLGPGRGPEQKLISEEDLNSAVDHHHHHH (SEQ ID NO: 749)
组 J	
VH	QLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWI SAYNGNTNYAQKLGRTVMTTDT STSTATMELRSLRSDDTAVYYCARGRGSYGIDAFDIWGQTMVT (SEQ ID NO: 750)
VH	LSYVLTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKQYAYWYQQKPGQAPVLIYKDSERPSPGIPERFSGSSSGTTVT LTISGVQAEDEADYYCQSADSSGTYVVFVGGGTKLTVLQGP (SEQ ID NO: 751)
组 K	
VH	QVQLQQSGPGLVLRPSQTLSSLCDISGDSVSSNSATWNWIRQSPSRGLEWLGRTFYRSKWHYDVALSVKSRIT INPDTSKNQFSLQLNSVSPGDTAVYFCVREDIDGRDLVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 752)
VH	QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYIFSDNGVNWVRQAPGQGLEWMGWINTKIGNPTYAQGFTGRFVFL DTSVSTTYLQISSLQAGDTAVYYCAREHDIYGGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 753)
VH	MAEVQLLESQAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSHYMHVVRQAPGQGLEWMGVINPSGGSTSYAQKFGQRTVM TRDTSTSTVYMDLSSLRSEDVAVYYCARRSEAYYHGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 754)
VH	EVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYIFSDNGVNWVRQAPGQGLEWMGWINTKIGNPTYAQGFTGRFVFL DTSISTTYLQISSLQAGDTAVYYCAREHDIYGGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 755)
VH	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCEATGFTFSRYWMHWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYADSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDTLEYYGSGILENAMGYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 756)
VH	EVQLVESGGGLVLRPGGSLRLACAASGFSDYMTWIRQAPGRGLEWIAIYISDSGQTVHYADSVKGRFTISR DNTKNSLFLQVNTLRAEDTAVYYCAREDLLGYLQSWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 757)
VH	EVQLVESGGGVVQGRSLRLSACAASGFTFSYWMHWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGEHDAFDIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 758)
VH	QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYIFSDNGVNWVRQAPGQGLEWMGWINTKIGNPTYAQGFTGRFVFL DTSVSTTYLQISSLQAGDTAVYYCAREHDIYGGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 759)
VH	QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYIFSDNGVNWVRQAPGQGLEWMGWINTKIGNPTYAQGFTGRFVFL DTSVSTTYLQISSLQAGDTAVYYCAREHDIYGGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 760)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTRYTMHWVRQAPGRLEWMGWINAGNGNTKYSQKFGQRTVITR DTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCAKVSAGTESWFDVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 761)

[0594]

VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLGQGRVTMTT DTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGLYGDEYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 762)
VH	QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYIFSDNGVNWVRQAPGQGLEWMGWINTKIGNPTYAQGFTGRFVFSL DTSISTTYLQISSLQAGDTAVYYCAREHDYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 763)
VH	QMQLVQSGAEVKKPGESLKI SCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSPFQGV TISA DKSISTAYLQWSSLKASDTAMYVCASGVTRKRYSSSWPPFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 764)
VH	QVQLQQWGAGLLKSETLSLSCAVYGGTFRDDHWSWIRQPPGKGLEWIGESHHTGRTIYNPSLRSRV TMSID TSKNEFSLILRSVTAADTATYFCARGNNYVWGNQEDFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 765)
VH	QVQLQQSGPGLVRPSQTL SLSCDISGDSVSSNSATWNWIRQSPSRGLEWLGRTTFYRSKWYHDYALSVKSRIT INPDTSKNQFSLQLNSVSPGDTAVYFCVREDIDGRLDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 766)
VH	EVQLVESGGALVQPGGSLRLSCAVSGFTFSDHYMDWVRQAPGKGLEWVARSRNKGN SYTTEYAASVVRGRFTI SRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCVRVGVVPALDGMVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 767)
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDTLEYGSGILENAMGYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 768)
VH	EVQLLESGGGVQTRSLRLSCSDSGSTFRSQAMHWVRQTPGKGLEWLAVTSHDGSKTY YADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRGEDTAVYYCARGGRGYTDHSFFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 769)
VH	QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYIFSDNGVNWVRQAPGQGLEWMGWINTK DGNPTYAQGFTGRFVFSL DTSISTTYLQISSLQAGDTAVYYCAREHDYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 770)
VH	QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYIFSDNGVNWVRQAPGQGLEWMGWINTK TGNPTYAQGFTGRFVFSL DTSISTTYLQISSLQAGDTAVYYCAREHDYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 771)
VH	QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYTFTSDNGVNWVRQAPGQGLEWMGWINTK DGNPTYAQGFTGRFVFSL DTSISTTYLQISSLQAGDTAVYYCAREHDYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 772)
VH	QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYTFTSDNGVNWVRQAPGQGLEWMGWINTK TGNPTYAQGFTGRFVFSL DTSISTTYLQISSLQAGDTAVYYCAREHDYYYGMDVWGQGTTVTVS (SEQ ID NO: 773)
VH	QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYKFS DNGVNWVRQAPGQGLEWMGWINTKSGNPTYAQGFTGRFVFSL DTSISTTYLQISSLQAGDTAVYYCAREHDYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 774)
VH	QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYTFTSDNGVNWVRQAPGQGLEWMGWINTK SGNPTYAQGFTGRFVFSL DTSISTTYLQISSLQAGDTAVYYCAREHDYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 775)
VH	QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYKFS DNGVNWVRQAPGQGLEWMGWINTK DGNPTYAQGFTGRFVFSL DTSISTTYLQISSLQAGDTAVYYCAREHDYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 776)
VL	LPVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPSGVPDRFSGSKSGNT ASLTVSGLQAEDEADYYCSAWDDSLNADVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 777)
VL	QPVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGTNTVNWYQQVPGTAPKLLIHGNDQRPSGVPDRFSGSKSDTSA SLAITGLQSDDDADYYCSAWDDSLNADVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 778)
VL	QAVLTQPPSASATPGQRVTISCSGSDSNIGTNYVYVYQQFPGTAPQPLIYRDNQRPSGVPDRFSGSKSGTSA SLAISGLRSEDEATYFCSTWDDSLNGWVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 779)

[0595]

VL	QPVLTPRSVSGSPGQSITTSCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSNRPSGVSNRFSGSKSGNT ASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSTLEVFGTGKVTVL (SEQ ID NO: 780)
VL	YELMQPPSVSGAPGQRTVITSGSSSNIGAAVDVHWYQQLPGKAPKLVFANSNRPSGVPDRFSGSKSGTSA SLAITGLQAEDEADYYCQSYDISLRAVVFGTGKLTVL (SEQ ID NO: 781)
VL	SYELMQPPSASGTPGQRTVITSCSGSSNIGTNTVNWYQHLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSA SLAISGLQSEDEADYYCATWDDSPNGWVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 782)
VL	QAVLTQPPSVSAAFGQRTVITSCSGSNSNIADTYVSWYQQLPGTAPRLLIYDNDQRPSGIPDRFSGSKSGTSA TLGITGLQTDGDEADYYCGTWDDSSLSGVFGGTGKVTVL (SEQ ID NO: 783)
VL	QSVLTQPASVSGSPGQSVTISCTGSSSDVGAYNFVSWYRQYPGKAPKLLIYEVNKRPSDVPDRFSGSKFGNT ASLTVSGLQADDEADYYCSSYAGSTDVFGGTGKVTVL (SEQ ID NO: 784)
VL	LPVLTQPPSVSGTPGQRTVITSCSGSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYTNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSA SLAISGLQSEDEADYYCAAWDESLNGDVFGTGKVTVL (SEQ ID NO: 785)
VL	AIRMTQSPSFLSASVGDRVTITCRTSQNIYNYLNWYQQKPGKAPELLIFVASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISLQPEDFATYFCLQDHSYPYTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 786)
VL	LPVLTQPPSVSEVPGQRTVITSCSGGISNIGSNAVNWYQHFPKAPKLLIYNDLLPSGVSDRFSASKSGTSA SLAISGLRSEDEADYYCAAWDDNLSAYVFATGKVTVL (SEQ ID NO: 787)
VL	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQHHPGKAPKLMIEVSKRPSGVPDRFSGSKSAIT ASLTISGLLQTEADYYCSAWDDSLNADVFGGGTKVTVL (SEQ ID NO: 788)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQISISTYLNWYQQKPGKAPKVLITDASSLETGVPSPRFSGSGSGTDFT FTISLQPEDTATYFCQYDLDLPTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 789)
VL	QAGLTQPRSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIIDVTKRPSGVSNRFSGSKSGNT ASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSTYVFGGTGKVTVL (SEQ ID NO: 790)
VL	QPVLTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIIDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNT ASLAITGLQSDDDADYYCSAWDDSLNADVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 791)
VL	QAGLTQPPSVSKGLRQTATLTCTGNSNIGDQGAAWLQHQHQPRLLSYRNNNRPSGISERLSASRSGNIA SLTITGLQPEDEADYYCSAWDSSLVWVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 792)
VL	QAVLTQPPSASGTPGQRTVITSCSGSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSA SLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGGTGKLTVL (SEQ ID NO: 793)
VL	AIRMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASENIRNLLAWYQQKPGKAPELLIHGASTLGTGVPSPRFSGGGSGTEFT LTISLQPDDEFATYYCQYQYDFNTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 794)
组 L	
VH	QVQLVESGPGVKKPGSSLKLSCTVSGFTFSSYDYMHVWRQAPNGLEWMAVIWYSGSNTYYNDSLKSRFSI TRDNSKNTAYMQLNSLRAEDTAVYYCARAYFGVDVWQGTTLVTVSS (SEQ ID NO: 795)
VL	DIVMTQSPASLSVSGDRATISCRASQIGINTLAWYQQKPGQAPKRLLIYRASQIGINTLAGVPARFSGDGD GTDFTLTIDLEPEDFATYYCQYDHYVPLTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 796)
组 M	

[0596]

VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAFGYTFTTYPIEWMRQAHGQGLEWIGNFHPYNDDTKYNEKFKGRVTMTV DKSTTTVYMEISSLRSEDVAVYYCARENYGSHGGFVYWGQGLTVTS (SEQ ID NO: 797)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAFGYTFTTYPIEWMRQAHGQGLEWIGNFHPYNDDTKYNEKFKGRVTMTR DTSTSTVYMEISSLRSEDVAVYYCARENYGSHGGFVYWGQGLTVTS (SEQ ID NO: 798)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAFGYTFTTYPIEWMRQAPGQGLEWMGNFHPYNDDTKYNEKFKGRVTMTR DTSTSTVYMEISSLRSEDVAVYYCARENYGSHGGFVYWGQGLTVTS (SEQ ID NO: 799)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTTYPIEWMRQAPGQGLEWMGNFHPYNDDTKYNEKFKGRVTITA DKSTSTAYMEISSLRSEDVAVYYCARENYGSHGGFVYWGQGLTVTS (SEQ ID NO: 800)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAFGYTFTTYPIEWMRQAHGQGLEWIGNFHPYNDDTKYNEKFKGRVTITV DKSTTTVYMEISSLRSEDVAVYYCARENYGSHGGFVYWGQGLTVTS (SEQ ID NO: 801)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAFGYTFTTYPIEWMRQAHGQGLEWIGNFHPYNDDTKYNEKFKGRVTITA DKSTSTAYMEISSLRSEDVAVYYCARENYGSHGGFVYWGQGLTVTS (SEQ ID NO: 802)
VL	ENVLTQSPFSLASVGDRTITCRASSSVISSYLHWYQQKPAKAPKLWIYSTSNLASGVDPDRFSGSGSGTSY TLTISSLQPEDFATYYCQQYNGYPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 803)
VL	ENVLTQSPFSLASVGDRTITCRASSSVISSYLHWYQQKPAKAPKLFYIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDY TLTISSLQPEDFATYYCQQYNGYPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 804)
VL	ENVLTQSPFSLASVGDRTITCRASSSVISSYLHWYQQKPAKAPKLWIYSTSNLASGVDPDRFSGSGSGTSY TLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 805)
VL	ENVMTQSPFSLASVGDRTITCRASSSVISSYLHWYQQKPAKAPKLFYIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDY TLTISSLQPEDFATYYCQQYNGYPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 806)
VL	ENVMTQSPFSLASVGDRTITCRASSSVISSYLHWYQQKPAKAPKLFYIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDY TLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 807)
VL	ENVLTQSPFSLASVGDRTITCRASSSVISSYLHWYQQKPAKAPKLFYIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDY TLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 808)
VL	ENVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASSSVISSYLHWYQQKPGQAPRLWIYSTSNLASGVDPDRFSGSGSGTSY TLTISRLEPEDFATYYCQQYNGYPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 809)
VL	ENVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASSSVISSYLHWYQQKPGQAPRLWIYSTSNLASGVDPDRFSGSGSGTSY TLTISRLEPEDFATYYCQQYNSYPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 810)
组 N	
VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYYLYWMKQRPQGLEWIGGVNPSNGGTNFSEKFKSKATLTV DKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCTRRDSNYDGGFDYWGQGTTLTVSSAK (SEQ ID NO: 631)
VL	DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASKSVSTSGFSYLHWYQQKPGQPPKLLIFLASNLESGVPARFSGSGSG TDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHSWELPLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO: 635)
组 O	
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYDGMHWVRQAPGKLEWVAYISSGYTIYSADSVKGRFTISR DNAKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCARRGYGSFYEYFDYWGQGTTVTVS (SEQ ID NO: 1521)

[0597]

VL	QIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMYWYQQKPGQAPRLLIYLTSNRATGIPARFSGSGSDTYL TISSLEPEDFAVYYCQQWSSNPFTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1522)
组 P	
VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYFTTTYWMHWVRQATGQGLEWMGNIYPGTGGSNFDEKFKNRVTITA DKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRWTGTGAYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 1523)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYFTTTYWMHWIRQSPSRGLEWLGNIYPGTGGSNFDEKFKNRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRWTGTGAYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 1524)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYFTTTYWMHWVRQAPGQGLEWMGNIYPGTGGSNFDEKFKNRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRWTGTGAYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 1525)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSSQSLLDSGNQKNFLTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGVPSRFSGSG SGTEFTLTISSLQDDFATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1526)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKSSQSLLDSGNQKNFLTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGIPPRFSGSG YGTDFTLTINNIESEDAAYYFCQNDYSYPYTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1527)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSSQSLLDSGNQKNFLTWYQQKPGKAPKLLIYWASTRESGVPSRFSGSG SGTDFFTTISSLQPEDATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1528)
VL	DIVMTQTPLSLPVTPEPASISCKSSQSLLDSGNQKNFLTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGVPSRFSGSG SGTDFFTTISLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1529)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSSQSLLDSGNQKNFLTWYQQKPGKAPKLLIYWASTRESGVPSRFSGSG SGTDFFTTISLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1530)
VL	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCKSSQSLLDSGNQKNFLTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGVPSRFSGSG SGTDFFTTISLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1531)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSSQSLLDSGNQKNFLTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGVPSRFSGSG SGTDFFTTISLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1532)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKSSQSLLDSGNQKNFLTWYLQKPGQSPQLLIYWASTRESGVPSRFSGSG SGTDFFTTISLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1533)
VL	DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGNQKNFLTWYQQKPGKAPKLLIYWASTRESGVPSRFSGSG SGTDFFTTISLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1534)
HC	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYFTTTYWMHWVRQATGQGLEWMGNIYPGTGGSNFDEKFKNRVTITA DKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRWTGTGAYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPVAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRV SKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALH YTQKSLSLGK (SEQ ID NO: 1535)

[0598]

HC	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYWMHWIRQSPSRGLEWLGNIYPGTGGSNFDEKFKNRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRWTGTGAYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVE SKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNNH YTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 1536)</p>
HC	<p>EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTTYWMHWIRQSPSRGLEWLGNIYPGTGGSNFDEKFKNRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRWTGTGAYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVE SKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNNH YTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 1537)</p>
HC	<p>EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTTYWMHWVVRQAPGQGLEWMGNIYPGTGGSNFDEKFKNRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRWTGTGAYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVE SKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNNH YTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 1538)</p>
HC	<p>EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTTYWMHWVVRQATGQGLEWMGNIYPGTGGSNFDEKFKNRVTITA DKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRWTGTGAYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVE SKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNNH YTQKSLSLSLG (SEQ ID NO: 1539)</p>
HC	<p>EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTTYWMHWIRQSPSRGLEWLGNIYPGTGGSNFDEKFKNRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRWTGTGAYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVE SKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNNH YTQKSLSLSLG (SEQ ID NO: 1540)</p>

[0599]

LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCCKSSQSLDSDGNQKNFLTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGVPSRFSGSG SGTEFTLTISSLQPDDEFATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC (SEQ ID NO: 1541)
LC	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKSSQSLDSDGNQKNFLTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGIPPRFSGSG YGTDFTLTINNI ESEDAAYFCQNDYSYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC (SEQ ID NO: 1542)
LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCCKSSQSLDSDGNQKNFLTWYQQKPGKAPKLLIYWASTRESGVPSRFSGSG SGTDFFTTISSLQPEDATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC (SEQ ID NO: 1543)
LC	DIVMTQTPSLPVTPEPASISCKSSQSLDSDGNQKNFLTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGVPSRFSGSG SGTDFFTTISSL EAEADAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC (SEQ ID NO: 1544)
LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCCKSSQSLDSDGNQKNFLTWYQQKPGKAPKLLIYWASTRESGVPSRFSGSG SGTDFFTTISSL EAEADAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC (SEQ ID NO: 1545)
LC	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCKSSQSLDSDGNQKNFLTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGVPSRFSGSG SGTDFFTTISSL EAEADAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC (SEQ ID NO: 1546)
LC	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKSSQSLDSDGNQKNFLTWYQLKPGQSPQLLIYWASTRESGVPSRFSGSG SGTDFFTTISSL EAEADAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC (SEQ ID NO: 1547)
LC	DVVMTQSPSLPVTGLQPASISCKSSQSLDSDGNQKNFLTWYQQKPGKAPKLLIYWASTRESGVPSRFSGSG SGTDFFTTISSL EAEADAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC (SEQ ID NO: 1548)
LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCCKSSQSLDSDGNQKNFLTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGVPSRFSGSG SGTDFFTTISSL EAEADAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC (SEQ ID NO: 1834)
组 Q	

[0600]

VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCSASGFTFSSYTMNWVRQAPGKGLEWVSGISDTGGNTYYTDSVKGRFTVSR DNSKNTLSLQMNSLRAEDTAVYYCAKDQGGSPYYFHYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1549)
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNNYMSWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGFTYYTDSVKGRFTISRH NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYYYDTSYDWTFFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1550)
VH	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAWIYDGSNIYYSDSVKGRFTISR ANSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARPGHWNYFFFEYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1551)
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCGASGFTFRNYDMHWVRQITGKGLEWVSAIGSAGDTYYPDSVKGRFTISRE NAKNSLYLQMNSLRVGDTAVYYCTRDIHCSSTRCYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 1552)
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFKFSNEWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTI SRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTDQDFWSGYTADYYGMDVWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 1553)
VH	QMQLQWAGALLKPSSETLSLTCVYGGSLNGYVSWIRQSPGKGLEWIGEIDHSGSTNYPNPSLKNRVTMSVD TSKIQFSLKLTSVTVADTAVYYCAREGLLPFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1554)
VH	QLQLQESGPDLVKPSDTLSLTCVSDDSISSTTYWAWIRQPPGKLEWIGSMSYNGNYYNPSLKSRAVIS AGTSQKQFSLKLTSVTAADTAVYHCARHLGYNGNWPFFDFWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1555)
VH	EVQVVESGGGLVEPGRSLRLSCKASGFTFDDYAMHWVRQTPGKALEWVSGINWSGNNIGYADSVKGRFTISK DDAKNSLYLQMNSLRPEDTALYYCTKDISITGTLDAFDVWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 1556)
VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAIIWSDGDSEYNLDSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRVEDSAVYYCARDRDLEDIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 1557)
VH	EVQLLESGGVLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSNFGMTWVRQAPGKGLEWVSGISGGGRDITYFADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLKGEDTAVYYCVKWNIFYFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1558)
VH	EVQLVESGGGVVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMWVRQVPGKGLEWVSGISWNDGKTVYAESVKGRFIIISR DNAKNSLYLEMNSLRAEDTALYYCARDWQYLIERYFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1559)
VH	EVQLVESGGGVVVRPGGSLRLSCTASGFTFDDYGMWVRQAPGKLEWISGIGWTGGRSSYADSVRGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLGAEDTALYYCARDRQWLWQYFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1560)
VH	EVQLVESGGRVVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMWVRQLPGKGLEWVAGISWNDGKTVYAESVKGRFIIISR DNAKNSLHLEMNSLRAEDTALYYCARDWQYLIDRYFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1561)
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKLEWVSGIGWSSGSIGYADSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMDSLRPEDSALYYCAKAYTFMITLYFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1562)
VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYDMHWVRQAPGKLEWVSGSGWNRGSLGYADSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMNLSRVEDTALYYCAKGFVVVSAAYFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1563)
VH	QVQLVQSGAEVVKRPGSSVKVSVCKVSGVTFRNFAIIWVRQAPGQGLEWVGIIIPFFSAANYAQSFGQGRVTTIP DESTSTAFMELASLRSEDVAVYYCAREGERGHTYGFYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1564)
VH	EVQLVESGGGLVQSGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQPPGKLEWVSGINWNRGRTGYADSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMNDRVEDTALYYCAKAEQWLDEGYFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1565)
VH	EVQLVESGGGLVQRGSLRLSCAASGFSFSSYAMNWVRQAPGKLEWVSTISDSGGSTYYADSVKGRFTISR DNSKNTLSLQMNSLRAEDTAVYYCAKDQGGSPYYFHYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1566)

[0601]

VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTTFEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGIGWSNVKIGYADSVKGRFTISR DNVRNSLYLQMNSLRTEDTAFYYCVKAYTSM LT LYFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1567)
VH	QVQLVQSGAEVKRPGASVKVSKASGYTFTSFYMYWVRQAPGQGLEWMIINPSDGSTSN AQ KFQGRVTMTR DTSTSTVYME LSS LRSEDTAVYYCARRVAGDIFDIWQGTMTVSS (SEQ ID NO: 1568)
VH	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYHWNWIRQSPGKGLEWIGYIYYIGSTDYNPSLESRVTISVD TSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARV VP GATGASDVWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 1569)
VH	EVQLVESGGGSVVRP GG SLRLSCVVS GFT FEDYGLSWVRQIPGKGLEWVSGISWTGGNTGYADSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYHCTRD RQ WLMQWYFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1570)
VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFTFSAYAMHWVRQAPGKGLEWVA AI SYGGSDKYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLR TD DTAVYYCAKSAHWNFFFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1571)
VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCVASGFALHDYAMHWVRQVPGKGLEWVSSISWNSGVIGYADSLKGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKSGSYVSWFDPWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1572)
VH	QLQLQESGPGLVQPSSETLSLTCTVSGDSISSTAYHWDWIRQPPGKLEWIGTITYNGNTYFNPSLKS RV TIS VDTSKNQFSLKLLSMTAAETA V FYCARHLGYNSDFPFDFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1573)
VH	EVQLVESGGGLV RP GGSLRLSCAASGFTTFSTYAMAWVRQTPGKGLEGVSAIGGSGDSTYYVDSVKGRFTISR DNSKSTLFLQMNSLRAEDTAVYYCVKVRNYDGSFDI W QGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 1574)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGD RV TITCRASQSISSYLIWYQQKPGTAPKFLIYAASSLQSGVPSRFSGCGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPPITFGQGT R LEIK (SEQ ID NO: 1575)
VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFT LTISSLQSGDFAVYYCQQYNNWPLTFGGG T KVEIN (SEQ ID NO: 1576)
VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFT LTISSLQSGDFAVYYCQQYNNWPLTFGGG T KVEIN (SEQ ID NO: 1577)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGD RV TITCRASQSI NN YLNWYQQKPGKAPKLLIYTASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPPLTFGQGT Q LEIK (SEQ ID NO: 1578)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGD RV TITCRASQSI SN YLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPPITFGQGT R LEIK (SEQ ID NO: 1579)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGD RV TITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPPITFGQGT R LEIK (SEQ ID NO: 1580)
VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERVTLSCRASQSVSSNYLAWYQQNPGQAPRLLIYAASNRATGIPDRFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYCHQYATSPWTFGQGT K VEIK (SEQ ID NO: 1581)
VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLNWYQQKPGQAPRLLIYGASSRTTGI P DRFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYCQQYGS SP WTFGQGT K VEIK (SEQ ID NO: 1582)
VL	DIQMTQSPISVSASVGD RV TITCRASQGISNWLAWYQQKPGIAPKLLIYSASSLQSGVPSRFRSGSGSGTDFT LTIGSLQPEDFATYYCQQAHSFPLTFGGG T KVEIK (SEQ ID NO: 1583)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGD RV TITCRASQGI R NDLWYQQKPGKAPKRLIYAASNLSQSGVPSRFSGSGSGTEFT LTISSLQPEDFATYYCLOHNSYPLTFGGG T KVEIK (SEQ ID NO: 1584)

[0602]

VL	DIQMTQSPSSLSASVGDSTITCRASLSINTFLN WY QKPGKAPNLLIYAASSLHGGVPSRFSGSGSGTDFT LTIRTLQPEDFATYYCQSSNTPFTFGPGTVVDFR (SEQ ID NO: 1585)
VL	EIVLTQSPGTL SL SPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD F TLTISRLEPEDFAVYYCQY GSS PWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1586)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGD RV TITCRASQSISSYLN WY QKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQSYSTPPITFGQ TR LEIK (SEQ ID NO: 1587)
HC	EVQLLES GG VLVQPGGSLRLS CAAS GFTFSNFGMTWVRQAPGKGLEWVSGISGGGRD TY FADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMN SL KGEDTAVYYCVK WGN IYFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKYTCNV DHK PSNTKVDK R VE SKYGP PCPP CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRT PEVTCVVVDVSD QED PEVQFNWYVDGVEVHNAK T KP REEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTK N QV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV M HEALHNH YTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 1588)
HC	EVQV VES GGGLVEPGRSLRLS CKAS GFTFDDYAMHWVRQTPGKALEWVSGISW SGNN IGYADSVKGRFTISK DDAKNSLYLQMN SL RPEDTALYYCTKDISITGTLDAFDVWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKYTCNV DHK PSNTK V DKRVESKYGPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRT PEVTCVVVDVSD QED PEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAK GQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV M HE ALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 1589)
HC	EVQLVESGGGLV RP GGSLRLS CAAS GFTFSTYAMAWVRQTPGKGLEGVS AIGG SGDSTYYVDVSKGRFTISR DNSKSTLFLQMN SL RAEDTAVYYCVK VRN YDGSFDI WG QGMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKYTCNV DHK PSNTKVD R VESKYGP PCPP CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRT PEVTCVVVDVSD QED PEVQFNWYVDGVEVHNAK T KPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTK N QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV M HEALH NHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 1590)
HC	QVQLVQSGAEVKRPGSSVKV SCKV SGVTFRNFAI I WVRQAPGQGLEWMGGI I PFSAANYAQS FQ GRVITIP DESTSTAFMELASLRSED TAVYYC AREGERGHTYGF DY WGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKYTCNV DHK PSNTKVD KRVESKYGP PCPP CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRT PEVTCVVVDVSD QED PEVQFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV M HEA LHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 1591)

[0603]

LC	DIQMTQSPSSLSASVGDSTITTCRASLSINTFLN WY QQKPGKAPNLLIYAASSLHGGVPSRFRSGSGSDFT LTIRTLQPEDFATYYCQSSNTPFTFGPGTVVDFRRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 1592)
LC	DIQMTQSPISVSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGIAPKLLIYSASSLQSGVPSRFRSGSGSDFT LTIGSLQPEDFATYYCQQAHSFPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 1593)
LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSDFT TLTISRLEPEDFAVYYCQYQSSPWTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 1594)
LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFRSGSGSDFT LTISSLQPEDFATYYCQSYSTPPITFGQGTREIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 1595)
组 R	
VH	EVKLVESGGGLV K PGGSLKLSCAASGFTFSSYGM SWLR QTPEKRLEWVATMSGGGRDIYYPDSMKGRFTISR DNAKNNLYLQMSLRSEDALYYCARQYYDDWFAYWGQGLVTVSA (SEQ ID NO: 1719)
VH	QVQLKQSGPGLVQPSQNLSTCTVSGFSLT TY GVHWRVQSPGKGLEWLGVIWGGSTDYNAAFISRLTISKD NARSQVFFKMN SLQ VNDTAMYYCAREKSVYGNVYGAMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 1720)
VH	EVKLVESGGGLV K PGGSLKLS CG ASGFTFSSYGM SWVR QTPEKRLEWVATISGGGRDIYYPDSVKGRLTISR DNAKNNLYLQMSLRSEDALYYCVRQYYDDWFAYWGQGLVTVSA (SEQ ID NO: 1721)
VH	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWN WIR QFPGNQLEWMAYISYSGYTSYNPSLKSRI SITR DTSKNQFFLQ LN SVTTEDTATYYCARSLDYDYG TMDY WGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 1722)
VH	EVKLVESGGGLV K PGGSLKLSCAASGF AFRSY DMSWVRQTPEKILEWVATISGGGSYTYQDSVKG RFTISR DNARNTLYLQMSLRSEDALYYCASPYGPFYD Y WGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 1723)
VH	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWN WIR QFPGNQLEWMAYISYSGYTSYNPSLKSRI SITR DTSRNQFFLQ LN SVTTEDTATYYCARSLDYDYG TMDY WGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 1724)
VH	EVKLVESGGGLV K PGGSLKLS CS ASGF SF SYDMSWVRQTPEKGLEWVATISGGGRNTYFIDSVKGRFTISR DNVKN NLYLL MSSLRSEDALYYCASPYEGAVDFW G QGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 1725)
VH	EVKLVESGGGLV K PGGSLKLSCAASGFTFSSYGM SWVR QTPEKRLEWATISGGGRDYYLD SVKGRFTISR NAKNNLYLQMSLRSEDALYYCVRQYYDDWFAYWGQGLV NS NSA (SEQ ID NO: 1726)
VH	QVQLQQSGDELVRPGTSVKMSCKAAGYTF TNN WIGVVKQRPGHGLEWIGDFYPPGGYTYN Y NEKFKGKATLTA DTSSSTAYMQLSSLTSEDSAIYYCARGY TNY WYFDVWGAGTTVTVSS (SEQ ID NO: 1727)
VH	QIHLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTF TN FGMNWVKQAPGKGLKWMGWISGYTREPTYAADFKGRFAISL ETSASTAYLQINDLKNEDMATYFCARDVFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 1728)

[0604]

VH	QIQLVQSGSELKKPGASVKVSKASGYFTNFGMNWVRQAPGQGLKWMGWISGYTREPTYAADFKGRFVISL DTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARDVFDYWGQGTTLVTVSS (SEQ ID NO: 1729)
VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGYSISSDYAWNWRQPPGKGLEWMAYISYSGYTSYNPSLKSRTISR DTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARSLDYDYGTM Y WGQGTTLVTVSS (SEQ ID NO: 1730)
VL	DIVLTQTPATLSVTPGDSVSLSCRASQSI S NNLHWYQKSHESPRLLIKYASQSI S GI S PSRFSGSGSGTDFT LNINSVETEDFGMYFCQ Q NSWPLTFGAGTKLELKR (SEQ ID NO: 1731)
VL	SIVMTQTPKFLLSAGDRVITITCKASQSVSDDVAWYQKPGQSPKLLIYYAFNRYTGVPDRFTGSGYGTDTFT FTISTVQSEDLAVYFCQ Q DYRSPWTFGGGTKLEIKR (SEQ ID NO: 1732)
VL	DIVLTQSPATLSVTPGDSVSLSCRASQSI S NDLHWYQKSHESPRLLIKYVSQSI S GI S PSRFSGSGSGTDFT LSINSVETEDFGMYFCQ Q S S WPLTFGAGTKLELKR (SEQ ID NO: 1733)
VL	QIVLSQSPAILSASPGKVTMTCRANSSVSSMHWYQKPGSSPEPWIYAI S NLAFGVPTRFSGSGSGTYSYL TISRVEAEDAATYFCQ Q WSSRPPTFGGGTKLEIKR (SEQ ID NO: 1734)
VL	DIQMNQSPSSLSASLGDTITITCHASQSI N VWLSWYQKPGNIPKLLIYRASNLHTGVP S SRFSGSGSGTGFT LTISSLQPD D IATYYCQ Q GQSY P WTFGGGTKLEIKR (SEQ ID NO: 1735)
VL	QIVLSQSPAILSASPGKVTMTCRANSSVSSMHWYQKPGSSPEPWIYAI S NLAFGVPARFSGSGSGTYSYL TISRVEAEDAATYFCQ Q WNSRPPTFGGGTKLEIKR (SEQ ID NO: 1736)
VL	DIVMTQSHKVMSTSVGDRVSITCKASQD V DN A VAWYQ N PGQSPKLLIKWASTRHHGVPDRFTGSGSGTDFT LTISTVQSEDLADFFCQ Q YSTFPYTFGGGTKLEIKR (SEQ ID NO: 1737)
VL	DIVLTQTPATLSVTPGDSVSLSCRASQSI S NNLHWYQKSHESPRLLIKYASQSI S GI S PSRFSGSGSGTDFT LSINSVETEDFGMYFCQ Q NSWPLTFGAGTKLEMKR (SEQ ID NO: 1738)
VL	NIVMTQTPKILFISAGDRVITITCKASQSVSNDVAWYQKPGQSPKLLIYYAFTRYIGVPDRFTGSGYGTDTFT FTISTVQAE D LAVYFCQ Q DYSSPYTFGGGTKLEIKR (SEQ ID NO: 1739)
VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESDNYGYSFMNWFQKPGQPPKLLIYRASNL E SGIPARFSGSGSR TNFTLTINPVEADDVATYFCQ Q SNADPTFGGGTNLEIKR (SEQ ID NO: 1740)
VL	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESDNYGYSFMNWFQKPGQPPKLLIYRASNL E SGV P ARFSGSGSR TDFTLTINPVEANDTANYCYCQ Q SNADPTFGQGT K LEIK (SEQ ID NO: 1741)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRANSSVSSMHWYQKPGQSPPEPWIYAI S NLAFGVPARFSGSGSGTDYTL TISSLEPEDFAVYYCQ Q WSSRPPTFGQGT K LEIK (SEQ ID NO: 1742)
组 S	
VH	QVQLVQSGSEVKKSGSSVKVSKCTSGGTFSTNYAINWVRQAPGQGLEWMGGILPIFGAAKYAQKFQDRVTI TADESTNTAYLELSSLTSED T AMYYCARGKRWLQSDLQYWGQGTTLVTVSS (SEQ ID NO: 1743)
VL	QPVLTPASVSGSPGQSITISCTGSSSDVGSYDLVSWYQSPGKVPKLLIYEGVKRPSGVS N RFSGSGSKGNT ASLTISGLQAEDEADYCYSSYAGTRNFVFGGQT L TVL (SEQ ID NO: 1744)
组 T	
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYFTNYYMYWVKQAPGQGLEWIGGINPSNGGTNYNEKFNKATLTA DKSTSTAYMELSSLRSED T AVYYCTRDRYRDMGFDYWGQGT T TVTVSS (SEQ ID NO: 1745)

VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMYWVRQAPGQGLEWMGGVNPSSNGGTNFNEKFKSRVTITA DKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRDYRYDMGFDYWGQGT ^T TVTVSS (SEQ ID NO: 1746)
VH	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTNYMYWVKQSHGKSLEWIGGINPSSNGGTNYNEKFKNKATLTV DKSSSTAYMELNSLTSEDSAVYYCARRDYRYDMGFDYWGAGT ^T TVTVSS (SEQ ID NO: 1747)
VH	EVQLQQSGPVLVKPGASVKMSCKASGYTFTSYMYWVKQSHGKSLEWIGGVNPSSNGGTNFNEKFKSKATLTV DKSSSTAYMELNSLTSEDSAVYYCARRDYRYDMGFDYWGQGT ^T TLTVSS (SEQ ID NO: 1748)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATISCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLES ^G VPARFSGSGS TDFTLTISSLEPEDFATYYCQHSRELPLT ^F FGTGKVEIK (SEQ ID NO: 1749)
VL	QIVLTQSPA ^I MSAS ^P GEKVT ^M TCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGSSP ^R LLIYLASYLES ^G VPVRFSGSGS TSYSLTISR ^M EAE ^D AATYYCQHSRELPLT ^F FGTGTRLEIK (SEQ ID NO: 1750)
组 U	
VH	QVQLQQSGAELMKPGASVKMSCKTTGYIFSSYIWGWKQRP ^G HGLEWIGKIF ^P PGSGSADY ^N ENFKGKATFTV DTSNTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGYGNLYFDVWGAGT ^T TVTVSS (SEQ ID NO: 619)
VH	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGHSITSDYAWN ^W IRQFP ^G NKLEW ^M GYISYSGRTSYN ^P SLTSRISITR DTSKNQFFLQLNSVT ^T EDTATYYCARGYALDYWGQGT ^S TVTVSS (SEQ ID NO: 1835)
VH	EVKLVESGGGLVSPGGSLKLSCAASGFTFSTFGMSWVRQ ^T PEKRL ^E WVATISGGGSDTYYPDSVQGRFII ^S R YNAKNNLYLQ ^M NLSR ^P EDTALYYCARQGYDVYSWFAYWGQGT ^L VTVSA (SEQ ID NO: 1836)
VH	EVKLVESGGGLVSPGGSLKLSCAASGFTFSTYGM ^S WVRQ ^T PEKRLQ ^W VATISGGGSDTYYPDSV ^K GRFTISR DNAKNNLYLQ ^M SSLR ^S EDTALYYCARQ ^R DSAWFASWGQGT ^L VTVSA (SEQ ID NO: 1837)
VH	EVQLVESGGGLVSPGGSLRLS ^C CAASGFTFSTFGMSWVRQAPGK ^G LEWVSTISGGGSDTYYPDSVQGRF ^T ISR DNAKNSLYLQ ^M NLSR ^A EDTAVYYCARQGYDVYSWFAYWGQGT ^L VTVSS (SEQ ID NO: 1838)
VH	EVQLVESGGGLVSPGGSLRLS ^C CAASGFTFSTFGMSWVRQAPGK ^G LEWVATISGGGSDTYYPDSVQGRF ^T ISR DNAKNSLYLQ ^M NLSR ^A EDTAVYYCARQGYDVYSWFAYWGQGT ^L VTVSS (SEQ ID NO: 1839)
VH	EVQLVESGGGLVSPGGSLRLS ^C CAASGFTFSTYGM ^S WVRQAPGK ^G LEWVATISGGGSDTYYPDSV ^K GRFTISR DDSKNTLYLQ ^M NLSK ^T EDTAVYYCARQ ^R DSAWFASWGQGT ^L VTVSS (SEQ ID NO: 1840)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYRFP ^H YGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMT ^T DTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDVDYGTGSGYWGQGT ^L VTVSS (SEQ ID NO: 1841)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYRFR ^Q GISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTKYAQKLQGRVTMT ^T DTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDVDYGS ^G SGYWGQGT ^L VTVSS (SEQ ID NO: 1842)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYRFST ^F GISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMT ^T DTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDVDYSS ^G SGYWGQGT ^L VTVSS (SEQ ID NO: 1843)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYRFR ^Y GISWVRQAPGQGLEWMGWVSAHNGNTNYAQKLQGRVTMT ^T DTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDADYGS ^G SGYWGQGT ^L VTVSS (SEQ ID NO: 1844)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYRFP ^H YGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMT ^T DTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARD ^A EYGS ^G SGYWGQGT ^L VTVSS (SEQ ID NO: 1845)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYRFT ^W YGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMT ^T DTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARD ^S EYSS ^G SGYWGQGT ^L VTVSS (SEQ ID NO: 1846)

[0605]

[0606]

VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYRFETYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQLQGRVTMTT DTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARD <u>AEYSLGSGYWGQGT</u> LVTVSS (SEQ ID NO: 1847)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYRFRQYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQLQGRVTMTT DTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARD <u>AEYSGSGYWGQGT</u> LVTVSS (SEQ ID NO: 1848)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYRFTWYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQLQGRVTMTT DTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARD <u>SEYRSGSGYWGQGT</u> LVTVSS (SEQ ID NO: 1849)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYRFRQYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQLQGRVTMTT DTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARD <u>AEYRSGSGYWGQGT</u> LVTVSS (SEQ ID NO: 1850)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYRFRTRYGISWVRQAPGQGLEWMGWVSAHNGNTNYAQLQGRVTMTT DTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARD <u>ADYRSGSGYWGQGT</u> LVTVSS (SEQ ID NO: 1851)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYRFPHYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQLQGRVTMTT DTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARD <u>VDYRTGSGYWGQGT</u> LVTVSS (SEQ ID NO: 1852)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYRFSTFGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQLQGRVTMTT DTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARD <u>VDYRSGSGYWGQGT</u> LVTVSS (SEQ ID NO: 1853)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYRFRQGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTKYAQLQGRVTMTT DTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARD <u>VDYRSGSGYWGQGT</u> LVTVSS (SEQ ID NO: 1854)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYRFPHYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQLQGRVTMTT DTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARD <u>AEYRSGSGYWGQGT</u> LVTVSS (SEQ ID NO: 1855)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYRFETYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQLQGRVTMTT DTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARD <u>AEYRLGSGYWGQGT</u> LVTVSS (SEQ ID NO: 1869)
VL	NIVMTQTPKFLLSAGDRITITCKASQSVSDDVAMYQQKPGQSPKLLISYAFKRYIGVDPDRFTGSGYGTDFE FTISTVQAEDLAVYFCQONYN <u>SPYTFGGG</u> TKLELKR (SEQ ID NO: 1856)
VL	QIVLSQSPAILSASPGKVTMTCRTSSSVNYMHWFQKPGSSPKPWYATSKLASGVPARFSGSGSGTSYSL TISRVEAEDAATYFCQWISDPWT <u>FGGG</u> TKLEIK (SEQ ID NO: 1857)
VL	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALTTQYAYWYQQKPGQAPVMVIYKDTERPSGIPERFSGSSSGTKVTL TISGVQAEDEADYQCQADNSITYRV <u>FGGG</u> TKVTVL (SEQ ID NO: 1858)
VL	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALSEQYAYWYQQKPGQAPVMVIYKDTERPSGIPERFSGSSSGTKVTL TISGVQAEDEADYQCQADNSITYRV <u>FGGG</u> TKVTVL (SEQ ID NO: 1859)
VL	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKQYAYWYQQKPGQAPVMVIYKDTERPSGIPERFSGSSSGTKVTL TISGVQAEDEADYQCQADNSITYRV <u>FGGG</u> TKVTVL (SEQ ID NO: 737)
VL	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKQYAYWYQQKPGQAPVMVLYKDTERPSGIPERFSGSSSGTKVTL TISGVQAEDEADYQCQADNSITYRV <u>FGGG</u> TKVTVL (SEQ ID NO: 1860)
VL	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPMQYGYWYQQKPGQAPVMVIYKDTERPSGIPERFSGSSSGTKVTL TISGVQAEDEADYQCQADNSITYRV <u>FGGG</u> TKVTVL (SEQ ID NO: 1861)
VL	DIILTQSPASLAVSLGQRAAISCRASESVDNSGISFMSWFQKPGQPPKLLIYTASNQSGSGVPARFSGSGSG TEFSLNIHPMEEDDTAMYFCQQSKEVPWT <u>FGGG</u> TKLEIR (SEQ ID NO: 1862)

[0607]

VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASENVDDYGVSFMNWFQQKPGQPPKLLIYPASNQGSVGPVRFSGSGSG TDFSLNIHPMEEDDTAMYFCQQSKEVPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 1863)
VL	DIQLTQSPSFLSASVGRVTITCRASESVDNSGISFMSWYQQKPGKAPKLLIYTASNQGSVGPVRFSGSGSG TEFTLTISSLPEDFATYYCQQSKEVPWTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1864)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVDNSGISFMSWYQQKPGQAPRLLIYTASNQGSVIPARFSGSGSG TDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1865)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASENVDDYGVSFMNWYQQKPGQAPRLLIYPASNQGSVIPARFSGSGSG TDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1866)
VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASENVDDYGVSFMNWYQQKPGQAPRLLIYPASNQGSVIPDRFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1867)
VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASENVDDYGVSFMNWYQQKPGQPPKLLIYPASNQGSVGPDRFSGSGSG TDFTLTISLQAEDVAVYYCQQSKEVPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 1868)
组 V	
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWINWVRQAPGQGLEWMGNIYPGSSLTNYNEKFKNRVTMTR DTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARLLTGTFA Y WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1870)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWINWVRQAPGQGLEWMGNIYPGSSLTNYNEKFKNRVTMTR DTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARLSTGTFA Y WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1871)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWINWVRQAPGQGLEWMGNIYPGSSITNYNEKFKNRVTMTR DTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARLTTGTFA Y WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1872)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWINWVRQAPGQGLEWMGNIWPGSSLTNYNEKFKNRVTMTR DTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARLLTGTFA Y WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1873)
VH	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLWDSGNQKNFLTWYQQKPGQPPKLLIYWTSTRESGVPDRFSGSG SGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQNDYFYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1874)
VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLWDSGNQKNFLTWYQQKPGQPPKLLIYWTSYRESGVPDRFSGSG SGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQNDYFYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1875)
VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLWDSGNQKNFLTWYQQKPGQPPKLLIYWTSYRESGVPDRFSGSG SGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQNDYFYPHTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1876)
VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLWDSSTNQKNFLTWYQQKPGQPPKLLIYWTSTRESGVPDRFSGSG SGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQNDYFYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1877)
HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWINWVRQAPGQGLEWMGNIYPGSSLTNYNEKFKNRVTMTR DTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARLSTGTFA Y WGQGLTVTVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYLSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVE SKYGPPCPAPPEFLGGPSVFLFPPPKKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNNH YTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 1878)

[0608]

HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSTSYWINWVRQAPGQGLEWMGNIYPGSSLTNYNEKFKNRVTMTR DTSTSTVYMEISSLRSEDVAVYYCARLSTGTGFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFLPAPCSRSTSESTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPVAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVE SKYGPFPCCPAPEFLGGPSVFLFPPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI S KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNNH YTQKSLSLSLG (SEQ ID NO: 1879)
LC	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLWDSGNQKFLTWYQQKPGQPPKLLIYWTSYRESGVDRFSGSG SGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNDYFYPHTFGGGTKVEIKRGTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC (SEQ ID NO: 1880)
组 W	
VH	EVQLQESGPELVRPGASVKMSCKASGYTFSTSYWMHWVKRPGQGLEWIGMIDPSNSETSLNQKFKDKATLNV DKSNTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSRGNAYEMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 1972)
VH	EVQLQESGPELVRPGASVKMSCKASGYTFSTSYWMHWVKRPGQGLEWIGMIEPSSSETSLNQKFKDKATLNV DKSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSRGNAYEMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 1973)
VH	EVQLQESGPELVRPGASVKMSCKASGYTFSTSYWMHWVKRPGQGLEWIGMIDPYSSETSLNQKFKDKATLNV DKISNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARSRGNAYDMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 1974)
VH	EVQLQESGPELVRPGASVKMSCKASGYTFSTSYWMHWVKRPGQGLEWIGMIDPSNSETSLNQKFKDKATLNV DKSSKTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSRGNAYDMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 1975)
VH	EVQLQESGAELVMPGASVKMSCKASGYTFDYWMHWVKRPGQGLEWIGAIDTSDSYTSYHQNFKGKATLTE DESSSTAYMQLSSLTSEDSAIYYCARRDYGFGYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 1976)
VH	EVQLQESGPELVKPGASVKIPCKASGYTFDYNDMDWVKQSHGKSLEWIGDIDPNNGGTIYNQKFKGKATLTV DKSSRTAYMELRSLTSEDVAVYYCARWRSSMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 1977)
VH	EVQLQESGPELVKPGASVKIPCRASGYIFTDYNDMDWVKQSHGKSLEWIGDIDPNNGGTIYNQKFKDKTTLTV DKSSRTAYMELRSLTSEDVAVYYCARWRSSMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 1978)
VH	EVQLQESGPELVKPGASVKIPCKASGYTFDYNDMDWVKQNHGKSLEWIGDIDPNNGGTIYNQKFKGKATLTV DKSSRTAYMELRSLTSEDVAVYYCARWRSSMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 1979)
VH	EVQLQESGPELVKPGASVKIPCKASGYTFDYNDMDWVKQSHGKSLEWIGDIDPNSGGSIYNQKFKGKATLTV DKSSRTVYMEI RSLTSEDVAVYYCARWRSSMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 1980)
VH	EVQLQESGPELVKPGASVKITCKASGYTFDYNDMDWVKQSHGKSLEWIGDIDPNNGGTIYNQKFKGKATLTV DKSSNTAYMELRSLASEDTAVYYCARWRSSMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 1981)
VH	EVQLQESGPELVKPGASVKIPCKASGYTFDYNDMDWVKQSHGKSLEWIGDIDPNNGGTIYNQKFKGKATLTV DKSSSTAYMELRSLTSEDVAVYYCARWRSSMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 1982)
VH	EVQLQESGPELVKPGASVKIPCKASGYTFDYNDMDWVKQSHGKSLEWIGDIDPNNGGI IYNQKFKGKAALTV DKSSSTAYMELRSLTSEDVAVYYCARWRSSMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 1983)

[0609]

VH	EVQLQESGPELVKPGASVKIPCKASGYTFTDYNMDWVKQSHGKSLEWIGDIDPNNGGIIYNQKFKGKAALTV DKSSSTAYMELRSLTSEDVAVYYCTRWRSMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 1984)
VH	EVQLQESGPELVKPGASVKIPCKASGYTFTDYNMDWVKQSHGKSLEWIGDIDPNNNGTIYNQKFKGKATLTV DKSSSTAYMELRSLTSEDVAVYYCTKWRSSMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 1985)
VH	EVQLQESGPELVKPGASVKIPCKASGYTFTDYNMDWVWQSHGKSLEWIGDIDPNNGGTIYNQKFKGKATLTV DKSSSTAYMELRSLTSEDVAVYYCTRWRSMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 1986)
VH	EVQLQESGPELVKPGASVKIPCKASGYTFTDYNVDWVKQSHGKSLEWIGDIDPNNGGTFYVQKFKGKATLTV DKSSSTAHMELRSLTSEDVAVYYCVRWRSSMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 1987)
VH	EVQLQESGPELVKPGASVKIPCKASGYTFTDYNMDWVKQSHGKSLEWIGDIDPNTGTTFYVQDFKFKGKATLTV DKSSSTAYMELRSLTSEDVAVYYCARWRSSMDYWGQGTSLTVSS (SEQ ID NO: 1988)
VH	EVQLQESGAELVLRPGASVTLSCKASGYTFTDYEMHWVKQTPVHGLEWIGVIDPGTGGTAYNQKFKVKALLTA DKSSNTAYMELRSLTSEDSAVYYCTSEKFGSNYYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 1989)
VH	EVQLQESGAELVLRPGASVTLSCKASGYTFTDYEIHWVKQTPVHGLEWIGVIDPETGGTAYNQKFKGKAILTA DKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCTSEKFGSSYYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 1990)
VH	EVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWRQFPGNKLEWNGYITYSGSPTYNPSLKSQFSITR DTSKNQFFLQLNSLTTEDTATYYCARLGGHYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 1991)
VH	EVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWRQFPGNKLEWNGYITYSGSPTYNPSLKSQFSITR DTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCARLGGHYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 1992)
VH	EVQLQESGPDVLPKPSQSLSLTCTVTGYSITSGYSWHWRQFPGNKLEWNGFIHYSGDTNYPNPSLKSRSFSITR DTSKNQFFLHLNSVTPEDTATYYCASPSRLLFDYWGHTTLTVSS (SEQ ID NO: 1993)
VH	EVQLQESGPGLVAPSQSLSLTCTVSGFSLTNYGVDWVRQSPGKGLEWLGVIWVGSTNYNSALKSRLSISKD NSKSQVFLKMNSLQTDDTAMYYCASDGFVYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 1994)
VH	EVQLQESGPGLVAPSQSLSLTCTVSGFSLTNYGVDWVRQSPGKGLEWLGVIWVGSTNYNSALKSRLSISKD NSKSQVFLKMNSLQSDDTAMYYCASDGFVYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 1995)
VH	EVQLQESGPSLVQPSQSLSLTCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWRGGNTDYNAAFMSRLSITKD NSKSQVFFKMNSLQADDTAIYYCAASMIGGYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 1996)
VH	EVQLQESGPSLVQPSQSLSLTCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWRGGNTDYNAAFMSRLSITKD NSKSQVFFKPHSLQTDDTAIYYCAASMIGGYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 1997)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGGLEWGMIDPSNSETSLNQKFGQGRVTMTV DKSTNTVYMELSSLRSEDVAVYYCARSRGNAYEMDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 1998)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGGLEWGMIDPSNSETSLNQKFGQGRVTMLNV DKSTNTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSRGNAYEMDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 1999)
VH	EVQLVQSGTEVTKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGGLEWGMIDPSNSETTLNQKFGQGRVTMTV DKSTNTVYMELTSLRSEDVAVYYCARSRGNAYEMDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 2000)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYEMHWVRQAPGGLEWGMIDPGTGGTAYNQKFGQGRVTMTA DKSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCTSEKFGSNYYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 2001)

[0610]

VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYEMHWVRQAPGQGLEWMGIIDPGTGGTAYNQKFKQGRVTMTA DKSTNTVYMELSSLRSEDTAVYYCTSEKFGSNYYFDYWGQGTLLVTVSS (SEQ ID NO: 2002)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYEMHWVRQAPGQRLEWMGVIDPGTGGTAYNQKFKQGRVTITA DKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTSEKFGSNYYFDYWGQGTLLVTVSS (SEQ ID NO: 2003)
VL	DIVLTQTPAIMSASPGEKVTLTCSASSSVSNLYWYQQRPGSSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTYSY SLTISMEAEADAASYFCHQWSSYPPTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 2004)
VL	DIVITQTTAIMSASPGEKVTLTCSASSSVSNLYWYQQRPGSSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTYSY SLTISMEAEADAASYFCHQWSSYPPTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 2005)
VL	DIVMTQTPATMSASPGEKVTLTCSASSSVSNLYWYQQRPGSSPKVWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTYSY SLTISMEAEADAASYFCHQWSSYPPTFGSGTKLELK (SEQ ID NO: 2006)
VL	DIVMTQTTATMSASPGEKVTLTCSASSSVSNLYWYQQRPGSSPKVWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTYSY SLTISMEAEADAASYFCHQWSSYPPTFGSGTKLELK (SEQ ID NO: 2007)
VL	DIVLTQSTAIMSASPGEKVTLTCSASSGVSNLYWYQQRPGSSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTYSY SLTISVVEAEADAASYFCHQWSSYPPTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 2008)
VL	DIVLTQTPSSLSASLGDRVTISCSASQGISNYLNWYQQRPDGTVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDYS LTISNLEPEDIATYYCQQYSKLPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2009)
VL	DIVLTQSPSSLSASLGDRVTISCSASQGISNYLNWYQQRPDGTVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDYS LTISNLEPEDIATYYCQQYSKLPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2010)
VL	DIVITQSPSSLSASLGDRVTISCSASQGISNYLNWYQQRPDGTVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDYS LTISNLEPEDIATYYCQQYSELPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2011)
VL	DIVMTQSPSSLSASLGDRVTISCSASQGISNYLNWYQQRPDGTVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDYS LTISNLEPEDIATYYCQQYSNLPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2012)
VL	DIVMTQSPSSLSASLGDRVTISCSASQGISNYLNWYQQRPDGTVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDYS LTISNLEPEDIATYYCQQYSELPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2013)
VL	DIVMTQSTSSLSASLGDRVTISCSASQGISHYLNWYQQRPDGTVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDYS LTIRNLEPEDIATYYCQQYSELPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2014)
VL	DIVMTQSPSSLSASLGDRVTISCSASQGISHYLNWYQQRPDGTVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDYS LTIRNLEPEDIATYYCQQYSELPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2015)
VL	DIVMTQSPSSLSASLGDRVTISCSASQDISSYLNWYQQRPDGTVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDYS LTISNLEPEDIATYYCQQYSELPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2016)
VL	DIVMTQTPSSLSASLGDRVTISCSASQGISYLNWYQQRPDGTIKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDYS LTISNLEPEDIATYYCQQYSELPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2017)
VL	DIVMTQTPSSMSASLGDRVTISCSASQGISNYLNWYQQRPDGTVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDYS LTISNLEPEDIATYYCQQYSYLPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2018)
VL	DIVMTQTPSSLSASLGDRVTISCSASQIGNYLNWYQQRPDGTVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGRSGSGTDYS LTISNLEPEDIATYYCQQYSNLPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2019)

[0611]

VL	DIVMTQSPSSLSASLGDRVTISCSASQGISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSLNLSHGVPDRFSGSGSGTDYS LTISDLAPEDIATYYCQQYSYLPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2020)
VL	DIVITQSPFLSLPVGLGDAQASISCRSSQSLVHNSGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFGVDPDRFSGSGS GTDFTLKI SRVEAEDLGVIYFCQSTHVPYTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2021)
VL	DIVLTQTFLSLPVSLGDAQASISCRSSQSIHNSGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFGVDPDRFSGSGS GTNFTLKI SRVEAEDLGVIYFCQGSVPLTFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 2022)
VL	DIVLTQSPFLSLPVSLGDAQASISCRSSQSIHNSGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFGVDPDRFSGSGS GTDFTLKI SRVEAEDLGIYFCQGSVPLTFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 2023)
VL	DIVITQTFLSLPVSLGDAQASISCRSSQTIHNSGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFGVDPDRFSGSGS GTDFTLKI SRVEAEDLGVIYFCQGSVPLTFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 2024)
VL	DIVMTQSTLSLPVSLGDAQVSIHNSGNTYLEWYLQKPGQSPNLLIYKVSNRFGVDPDRFSGSGS GTDFTLKI SRVEAEDLGVIYFCQGSVPLTFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 2025)
VL	DIVLTQDELSPVTSGESVSIHNSGNTYLEWYLQKPGQSPQVLIYFMSTRASGVSDRFSGSGS GTDFTLEI SRVKAEDVGVYFCQQLVDFPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 2026)
VL	DIVMTQDELSPVTSGESVSIHNSGNTYLEWYLQKPGQSPQVLIYFMSTRASGVSDRFSGSGS GTDFTLEI SRVKAEDVGVYFCQQLVDFPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 2027)
VL	DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNSGTQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSG SGTDFTLTISSVQAEDLAVYFCQNDYSYPLTFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 2028)
VL	DIVLTQTATLSVTPGDRVSLSCRASQSIHNSGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFGVDPDRFSGSGS LTVNSVEPEDVGVYFCQNGHSYPTTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2029)
VL	DIVLTQSPDTLSVTPGDRVSLSCRASQSIHNSGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFGVDPDRFSGSGS LSINSVEPEDVGVYFCQNGHSYPTTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2030)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSVSNLYWYQQKPGQAPRLLIYSTSNRATGIPARFSGSGSGTDY TLTISSELEPEDFAVYFCHQWSSYPPTFGGKLEIK (SEQ ID NO: 2031)
VL	DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSVSNLYWYQQKPGQAPRLLIYSTSNLATGIPARFSGSGSGTDY TLTISSELEPEDFAVYFCHQWSSYPPTFGGKLEIK (SEQ ID NO: 2032)
VL	DIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASSVSNLYWYQQKPGQAPRLLIYSTSNLATGIPDRFSGSGSGTDY TLTISRLEPEDFAVYFCHQWSSYPPTFGGKLEIK (SEQ ID NO: 2034)
VL	DIVMTQSPFLSLPVTLGQPASISCRSSQTIHNSGNTYLEWYQQRPGQSPKLLIYKVSNRFGVDPDRFSGSGS GTDFTLKI SRVEAEDVGVYFCQGSVPLTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 2035)
VL	DIVMTQSPFLSLPVTLGQPASISCRSSQTIHNSGNTYLEWYQQRPGQSPKLLIYKVSNRFGVDPDRFSGSGS GTDFTLKI SRVEAEDVGVYFCQGSVPLTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 2036)
VL	DIVMTQTFLSSPVTLGQPASISCRSSQTIHNSGNTYLEWYQQRPGQPPRLLIYKVSNRFGVDPDRFSGSGA GTDFTLKI SRVEAEDVGVYFCQGSVPLTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 2037)

[0612] 注意：(i) 对组B、组P、组Q和组V提供的和命名为“HC”和“LC”的序列是重链和轻链氨基酸序列；表7中呈现的所有其他序列均为可变重链和可变轻链序列；(ii) 组D中提供的序列是包含B7-DC多肽和免疫球蛋白多肽的融合蛋白；和(iii) 在组I中，最后的序列为双特异性抗体(BsAb)序列。

[0613] 在一些实施方案中，可活化抗PD-1抗体包括表8中所示的CDR序列、选自表8单行中所示的那些组合的VL CDR序列(VL CDR1、VL CDR2、VL CDR3)的组合、选自表8中所示的那些组合的VH CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)的组合、或选自表8中所示的那些组合的VL CDR和VH CDR序列(VL CDR1、VL CDR2、VL CDR3、VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)的组合。CDR区根据如UCL的Andrew C.R. Martin's Bioinformatics Group网站中CDR定义表中所述的AbM定义来限定。

[0614] 表8. 结合PD-1的抗体和可活化抗体的CDR序列

AB 名称	VH			VL		
	CDR1 (SEQ ID NO)	CDR2 (SEQ ID NO)	CDR3 (SEQ ID NO)	CDR1 (SEQ ID NO)	CDR2 (SEQ ID NO)	CDR3 (SEQ ID NO)
M13	GFTFSGYAMS (653)	YISNSGGNAH (658)	EDYGTSPFVY (664)	RASESVDNYGIS FMN (669)	AASNQGS (678)	QQSKDVPWT (683)
M19	GYTFTDYMD (654)	YIYPKNGGSS (659)	KVVATDY (665)	KSSQSLLYSSNQ KNYL (670)	WASIRES (679)	QQCDSYPWT (684)
M3	GFTFSNYAMS (655)	YISNGGGDTH (660)	ENYGTSPFVY (666)	RASESVDNYGIS FMN (669)	AASNQGS (678)	QQSKDVPWT (683)
M5	GFSFSSYDMS (656)	TISGGGRYTY (661)	NYYGFDY (667)	KASQDVGTAVA (671)	WASTRHT (680)	QQYSSYPWT (685)
M14	GFTFSSYGMS (657)	TISGGGRDIY (662)	LYLGFYD (668)	LASQTIGTWLA (672)	AATSLAD (681)	QQLYSIPWT (686)
A	GFTFSGYAMS (653)	YISNSGGNAH (658)	EDYGTSPFVY (664)			
Ab	GFTFSGYAMS (653)	YISNSGGNAH (658)	EDYGTSPFVY (664)			
Ae	GFTFSGYAMS (653)	YISNSGGNTH (663)	EDYGTSPFVY (664)			
Af	GFTFSGYAMS (653)	YISNSGGNTH (663)	EDYGTSPFVY (664)			
Ba	GYTFTDYMD (654)	YIYPKNGGSS (659)	KVVATDY (665)			
Bb	GYTFTDYMD (654)	YIYPKNGGSS (659)	KVVATDY (665)			
C	GFTFSNYAMS (655)	YISNGGGDTH (660)	ENYGTSPFVY (666)			
Ca	GFTFSNYAMS (655)	AYISNQGGDT H (2041)	ENYGTSPFVY (666)			
D	GFSFSSYDMS (656)	TISGGGRYTY (661)	NYYGFDY (667)			
1.0				RASESVDNYGIS FMN (673)	AASNQGS (678)	QQSKDVPWT (683)

[0615]

[0616]

1.1				RASESVDNYGIS FMN (673)	AASNQGS (678)	QSKDVPWT (683)
1.2				RASESVDQYGIS FMN (674)	AASNQGS (678)	QSKDVPWT (683)
1.4				RASESVDSYGIS FMN (675)	AASNQGS (678)	QSKDVPWT (683)
1.5				RASESVDAYGIS FMN (676)	AASNQGS (678)	QSKDVPWT (683)
1.6				RASESVDNYGIS FMN (673)	AASDQGS (682)	QSKDVPWT (683)
1.7	c1			RASESVDAYGIS FMN (676)	AASNQGS (678)	QSKDVPWT (683)
1.9				RASESVDAY GISFMN (676)	AASNQGS (678)	QSKDVPWT (683)
1.10				RASESVDAYGIS FMN (676)	AASNQGS (678)	QSKDVPWT (683)
2				KSSQSLLYSSNQ KNYLA (677)	WASIPES (679)	QSDSYPWT (687)
4				KASQDVGTA (671)	WASTRHT (680)	QYSSYPWT (685)

[0617] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包含或衍生自通过杂交瘤制备、分泌或以其他方式产生的抗体,所述杂交瘤诸如例如公开于美国专利号8,927,697和美国专利申请公开号US 2011-0171215和US 2015-0152180并以检索号08090902、08090903和08090901保藏于欧洲细胞培养物收藏中心(European Collection of Cell Cultures (ECACC))的杂交瘤。

[0618] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包含或衍生自通过杂交瘤制备、分泌或以其他方式产生的抗体,所述杂交瘤诸如例如公开于美国专利申请公开号US 2014-0335093并以保藏号1-4122保藏于Collection Nationale De Cultures De Microorganismes (CNCM)的杂交瘤。

[0619] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包含或衍生自通过杂交瘤制备、分泌或以其他方式产生的抗体,所述杂交瘤诸如例如公开于PCT公开号WO 2015/058573或WO 2014/206107并以检索号8351保藏于中国培养物保藏委员会普通微生物中心(China Culture Collection Committee General Microbiology Center)的杂交瘤。

[0620] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包含或衍生自通过杂交瘤制备、分泌或以其他方式产生的抗体,所述杂交瘤诸如例如公开于美国专利申请公开号US2011177088并以保藏号1-3745保藏于Collection Nationale De Cultures De Microorganismes (CNCM)的杂交瘤。

[0621] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括表9中所示的CDR序列、选自表9中所示的那些组合的VL CDR序列的组合和/或选自表9中所示的那些组合的VH CDR序列的组合。

[0622] 在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括选自表9中组A中所示的组合的重链CDR序列的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括选自表9中组A中所示的组合的轻链CDR序列的组合。在一些实施方案中,可活化抗PD-1抗体包括选自表9中组A中所示的组

[0642]

组 A					
VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
NYGMH (688)	VIWYDGSNKYYADSVKG (694)	NDDY (700)	RASQSVSSYLA (704)	DASNRAT (706)	QQRSNWPLT (710)
NYGFH (689)	VIWYDGSKKYYADSVKG (695)	GDDY (701)	RASQSVSSYLA (704)	DTSNRAT (707)	QQRSNWPLT (710)
NYGMH (688)	LIWYDGSNKYYADSVKG (696)	NVDH (702)	RASQSVSSYLA (704)	DASNRAT (706)	QQSSNWPRP (711)
NSGMH (690)	VIWYDGSKRYYADSVKG (697)	NDDY (700)	RASQSVSSYLA (704)	DASNRAT (706)	QQSSNWPRP (711)
RSSFFWG (691)	SIYYSGSTYYNPSLKS (698)	DYDILTGDEDY (703)	RASQGISSWLA (705)	AASNLRG (708)	QQYYSYPRT (712)
SYGFH (692)	VIWYDGSKKYYADSVKG (695)	GDDY (701)	RASQSVSSYLA (704)	DASNRAT (706)	QQRSNWPLT (710)
RSSYFWG (693)	SIFYSGETYFNP SLKS (699)	DYDILTGDEDY (703)	RASQGISSWLA (705)	AASSLQS (709)	QQYYSYPRT (712)
组 B					
VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
SYLY (713)	GVNPSNGGTNFSEKFK S (715)	RDSNYDGGFDY (717)	RASKSVSTSGFSY LH (719)	LASNLES (721)	QHSWELPLT (723)
NYMY (714)	GINPSNGGTNFNEKFK N (716)	RDYRFDMGFDY (718)	RASKGVSTSGYSY LH (720)	LASYLES (722)	QHSRDLPLT (724)
AASGFTFS SYAMS (2060)	TITGGGRNTYYPDSVK G (817)	QGYDGYTFAY (823)	RASESVDNSGISF MN (830)	AASNPGS (836)	QQSKEVPWT (840)
AASGFTFS SPGMS (811)	TISGGGSNTYYPDSVK (818)	IYDVAWFAY (824)	RSSQTIVHSDGNT YLE (831)	AASNQGS (678)	FOGSHVPYT (841)
KSGYSFT DYALH (812)	VISTHYGDTVYNQRFK G (1832)	EGYGS LFYFDQ (825)	RASESVD SYGNSF MN (832)	KVSNRFS (837)	QQNEVPLT (842)
KASGYAFT SYNIY (813)	YIDLINGDTSYNEKF (819)	EGRLSPDY (826)	RSSQSIVQSNNGNT YLE (833)	LASNLDG (838)	FOGSHVPYT (843)
AASGFTFS NYDMS (814)	YISGGGGNTYYPDTL (820)	ISLTGIFDY (827)	RSSQTIVHGNNGNT YLE (834)	SASTLAS (839)	QQGFGTSNVE NP (844)
AASGFTFN SYGMS (815)	TISGGGSYTYYPDSVQ G (821)	GNVYVMDY (828)	QASENIYSSLA (835)		
KSGYIFT DYVMH (816)	VISTYYSNINYNQKFK G (822)	EGFGRPYWYFD V (829)			
组 C					

VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
GYSITSDY AWN (845)	YINYSGSTSYPNSLKS (847)	WIGSSAWYFDV (849)	RSGQNIVHSNGNTY LE (851)	KVSNRFF (853)	FQGSHPVPT (855)
GYTFTTY LY (846)	GINPSNGGTNFNEKFK (848)	RDYRYDRGFY (850)	RASKSVSTSGFN YI H (852)	LASNLES (721)	QHSRELPLT (856)
组 E					
VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
SYGIS (857)	WISAYNGNTNYAQ KLQG (861)	DADYSSGSGY (865)	SGDALPKQYAY (869)	KDTERPS (872)	QSADNSITYR V (876)
SYIYH (858)	IINPRGATISYAO KFIG (862)	AGIYGFDY (866)	TGTSNDVGGYNYVS (870)	DVTNRPS (873)	SSYITVITNFE VL (877)
SGAYYWS (859)	YIYNGNTYYPNS LRS (863)	ASDYVWGGYRYM DAFDI (867)	SGSNSNIGSNV (871)	GNNQRPS (874)	AAWDDSLNGP V (878)
SSYWMS (860)	AISGSGSTYYAD SVKG (864)	ENWGSYFDL (868)	RASQGISSWLA (705)	KASTLES (875)	QQSYSTPWT (879)
组 F					
VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
SSWIH (880)	YIYPSTGFTEYNQ KPKD (881)	WRDSSGYHAMDY (882)	RASQSVSTSGYSYM H (883)	FGSNLES (884)	QHSWEIPYT (885)
组 L					
VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
GFTFSSYD YYMH (886)	VIWYSGSNTYYND SLKS (887)	AYFGVDV (888)	RASQGIGNTLA (889)	RASQGIG NTLA (889)	QQYDHPVPLT (891)
组 G					
VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
GFSLTSYG VH (892)	VIWAGGSTNYNSA LMS (317)	GFSLTSYGVH (896)	KASQSVSNDVA (898)	YAFHRPT (900)	
VIWAGGST NYNPSLKS (893)	ARAYGNYWYIDV (897)	ARAYGNYWYIDV (897)	KSSSVSNDVA (899)		
VIYAGGST NYNPSLKS (894)	HQAYSSPYT (895)				

[0643]

组 H					
VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
DYEMH (901)	VIESETGGTAYNQ KFK (902)	EGITTVATTYYW YFDV (903)	RSSQSIVHSNGNTYLE (904)	KVSNRFS (905)	FQGS HVPLT (906)
组 M					
VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
GYTFTTYP IE (907)	NFHPYNDDTKYNE KFK (908)		RASSSVISSYLH (909)	STSNLAS (910)	QQYNGYPLT (911)
					QQYNSYPLT (912)
组 N					
VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
SYLY (713)	GVNPSNGGTFNSE KFK (1596)	RDSNYDGGFDY (717)	RASKSVSTSGFSYLH (719)	LASNLES (721)	QHSWELPLT (723)
组 P					
VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
GYTFTTY (854)	YPGTGG (1597)	WTTGTGAY (1598)	SQSLLDSGNQKNF (1599)	WAS (1600)	DYSYPY (1601)
TYWMH (1602)	NIYPGTGGSNFDE KFK (1603)		KSSQSLLDSGNQKNFL (1833)	WASTRES (1604)	QNDYSYPYT (1605)
GYTFTTYW MH (1606)					
组 Q					
VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
GFTFSSYT (1607)	ISDTGGNT (1608)	AKDQGGSYPPYF HY (1609)	QSISSY (1610)	AAS (1611)	QQSYSTPPIT (1612)
GFTVSNNY (1613)	IYSGGFT (1614)	ARYYYDTSDYWT FFDY (1615)	QSVSSN (1616)	GAS (1617)	QQYNNWPLT (1618)
GFTFSSYG (1619)	IWYDGSNI (1620)	ARPGHWNYFFEY (1621)	QSINNY (1622)	TAS (1623)	QQSYSTPPLT (1624)
GFTFRNYD (1625)	IGSAGDT (1626)	TRDIHCSSTRCY GMDV (1627)	QSISSY (1628)	AAS (1611)	QQSYSTPPIT (1612)
GFKFSNEW (1629)	IKSKTDGGTT (1630)	TTDQDFWSGYT GADYYGMDV (1631)		AAS (1611)	QQSYSTPPIT (1612)
GGSLNGYY (1632)	IDHSGST (1633)	AREGLLPFDY (1634)	QSVYSNY (1635)	AAS (1611)	HQYATSPWT (1636)

[0644]

[0645]

DDSISSTT YY (1637)	MSYNGNN (622)	ARHLGYNGNWYP FDF (1638)	QSVSSSY (1639)	GAS (1640)	QQYGSSPWT (1641)
GFTFDDYA (1642)	INWSGNNI (1643)	TKDISITGTLDA FDV (1644)	QGISNW (1645)	SAS (1646)	QQAHSFPLT (1647)
GFTFSSYG (1619)	IWSGDSE (1648)	ARDRLEDI (1649)	QGIRND (1650)	AAS (1611)	LQHNSYPLT (1651)
GFTFSNFG (1652)	ISGGGRDT (1653)	VKWGNIYFDY (1654)	LSINTF (1655)	AAS (1611)	QQSNTPTPT (1656)
GFTFDDYG (1657)	ISWNDGKT (1658)	ARDWQYLIERYF DY (1659)	QSVSSSY (1639)	GAS (1640)	QQYGSSPWT (1641)
GFTFDDYG (1657)	IGWTGGRS (1660)	ARDRQWLQWYF DY (1661)	QSISSY (1610)	AAS (1611)	QQSYSTPPIT (1612)
GFTFDDYG (1657)	ISWNDGKT (1658)	ARDWQYLIDRYF DF (1662)			
GFTFDDYA (1642)	IGWSSGSI (1663)	AKAYTFMITLYF DY (1664)			
GFTFDDYD (1665)	SGWNRGSL (1666)	AKGFVVVSAAYF DY (1667)			
GVTFRNFA (1668)	IIPFFSAA (1669)	AREGERGHTYGF DY (1670)			
GFTFDDYA (1642)	INWNRGRT (1671)	AKAEQWLDEGYF DY (1672)			
GFTFEDYA (1673)	ISDSGGST (1674)	AKDQGSYPYF HY (1609)			
GYTFTSFY (1675)	IGWSNVKI (1676)	VKAYTSMITLYF DY (1677)			
GGSISSYH (1678)	INPSDGST (1679)	ARRVAGDIFDI (1680)			
GFTFEDYG (1681)	IYYIGST (1682)	ARVPVGTGASD V (1683)			
GFTFSAYA (1684)	ISWTGGNT (1685)	TRDRQWLMQWYF DY (1686)			
GFALHDYA (1687)	ISYGGSDK (1688)	AKSAHWNFFFDY (1689)			
GDSISSTA YH (1140)	ISWNSGVI (1717)	AKGSGSYVSWF DP (1718)			
GFTFSTYA (1690)	ITYNGNT (1691)	ARHLGYNSDFFP FDF (1692)			
	IGSGDST (1693)	VXVRNYDGSFDI (1694)			
组 R					
VH			VL		
SYGMS (1751)	TMSGGRDIYYP SMKG (1752)	QYDDWFAY (1753)	RASQISNNLH (1754)	YASQIS (1755)	QQSNSWPLT (1756)
TYGVH (1757)	VIWSGGSTYNA FIS (1758)	EKSVMYGNVY DY (1759)	KASQSVSDVA (1760)	YAFNRYT (1761)	QQDYRSPWT (1762)
SYGMS (1751)	TISGGGRDIYYP SVKG (1763)	QYDDWFAY (1753)	RASQISNDLH (1764)	YVSQIS (1765)	QQSDSWPLT (1766)
SDYAWN (1767)	YISYSGYTSYN LKS (1768)	SLDYDYGMDY (1769)	RANSSVSSMH (1770)	AINLAF (1771)	QQWSSRPPT (1772)
SYDMS (1773)	TISGGGSYTYQD SVKG (1774)	PYGPYFDY (1775)	HASQINWLS (1776)	ASNLHT (1777)	QQGQSYPT (1778)

SDYAWN (1767)	YISYSGYTSYNPS LKS (1768)	SLDYDYGTMDY (1769)	RANSSVSSMH (1770)	AISNLAF (1771)	QQWNSRPPT (1779)
YYDMS (1780)	TISGGGRNTYFID SVKG (1781)	PYEGAVDF (1782)	KASQDVNDVA (1783)	WASTRHH (1784)	QQYSTFPYT (1785)
SYGMS (1751)	TISGGGRDYYLD SVKG (1786)	QYDDWFAY (1753)	RASQSLSNNLH (1787)	YASQSI (1755)	QQSNSWPLT (1756)
NNWIG (1788)	DFYPGGGYTNYNE KFKG (1789)	GYGTNYWYFDV (1790)	KASQSVSNDVA (1791)	YAFTRYI (1792)	QQDYSSPYT (1793)
NFGMN (1794)	WISGYTREPTYAA DFKG (1795)	DVFDY (1796)	RASESVDNYGYSFMN (1797)	RASNLES (1798)	QQSNADPT (1799)
组 T					
VH			VL		
GYTFTSY MY (1800)	GVNPSNGGTNFNE KFKS (1801)	RDYRYDMGFDY (1802)	RASKGVSTSGYSYLH (1803)	LASYLE (1804)	QHSRELPLT (1805)
GYTFTNY MY (1806)	GINPSNGGTNYNE KFKN (890)	RDYRYDMGFDY (1802)			
组 U					
VH			VL		
G (T/R/ I) (F / L) (S/ E/ T/ P/ R) (T/ S/ H/Q/R/ W) (F/Y/ Q) (1881)	W (I/V) S A (Y/H) N G N T (K/N) Y A Q K L Q G (1882)	(Q/-) GY (G/D) (N/V) Y (L/S) (Y/W) (D/A) (Y/V) (1883)	S G D A L (P/T/S) (M/T/E/K) Q Y (G/A) Y (1884)		Q Q (N/S/W) (Y/K/I) (N/E/S) (S/V/D/T) P (Y/W) T (1885)
(T/R/W/Q /H/S) (Y/F/ Q) G (M/I) (1886)	(T/A) I S G (S/G) G (S/G) . (S/D/N) T Y Y (A/P/S) D S V (K/Q) G (1887)	D (A/V/S) (D/E) Y (S/G/R) (S/L/ T) (1888), 条件是如果位置2 为A, 则位置5中 不是D或S			
		GYALDY (2038)			
GYIFSSY (1889)	FPGSGS (1890)	GYGNLYFDV (1891)	KASQSVSDDVA (1760)	YAFKRYI (1892)	QQNYNSPYT (1893)
SYWIG (1894)	KIFPFGSGSADYNE NFKG (1895)	DSEYSSGSGY (1896)	SGDALTTQYAY (1897)	KDTERPS (872)	QSADNSITYR V (876)
		QRDSAWFAS (2039)	RASESVDNSGISFMS (1898)	ATSKLAS (1899)	QQWISDPWT (1900)
			SGDALSEQYAY (1901)	TASNQGS (1902)	QQSKEVPWT (840)

[0646]

[0647]

			SGDALPKQYAY (869)		
			SGDALPMQYGY (1903)		
			RTSSSVNYMH (1904)		
GYRFTWY (1905)	SAYNGN (1906)	DVDYSSGSGY (1907)			
WYGIS (1908)	WISAYNGNTNYAQ KLQG (861)	DAEYSLGSGY (1909)			
GYRFSTF (1910)	SAHNGN (1911)	DAEYGS GSGY (1912)			
TFGIS (1913)	WWSAHNGNTNYAQ KLQG (1914)	DADYGS GSGY (1915)			
GYRFETY (1916)	SYSGR (1917)	DVDYGTGSGY (1918)			
GYRFRQY (1919)	YISYSGRTSYNPS LTS (1920)	DVDYGS GSGY (1921)			
QYGIS (1922)	SGGGSD (1923)	DAEYGS GSGY (1912)			
GYRFTRY (1924)	TISGGGSDTYYPD SVQG (1925)	GYALDY (2038)			
RYGIS (1926)		QGYDVYSWFAY (1927)			
GYRFPHY (1928)					
HYGIS (1929)					
GYRFTRQ (1930)					
RQGIS (1931)					
GHSITSDY (1932)					
SDYAWN (1767)					
GFTFSTF (1933)					
TFGMS (1934)					
组 V					
VH			VL		
GWSLTGPG (1935)	IYGDGST (1936)	AYEYAMDW (1937)	WSVSTSGKSY (1938)	LLS (1939)	YHIRDLT (2040)
组 W					
VH			VL		
GYTFTSYW IN (1940)	YPGSSL (1941)	LSTGTFAY (1942)	KSSQSLWDSTNQKNFL T (1943)	WTSTRES (1944)	QNDYFYPLT (1945)
GYTFTSY (1946)	NIYPGSSLTNYNE KFKN (1947)	LTTGTFAY (1948)	KSSQSLWDSGNQKNFL T (1949)	WTSYRES (1950)	QNDYFYPHT (1951)

[0648]

SYWIN (1952)	YPGSSI (1953)	LLTGT Fay (1954)	KSSQSLD SG N Q K N F L T (1955)	WTS (T/Y) RES (1956)	QNDYSYPLT (1957)
	NIYPGSSITNYNE KFKN (1958)	L(L/S)TGT Fay (1959)	KSSQSL(W/L)DS(G/ T)NQNFLT (1960)		QNDY(F/S)Y P(L/H)T (1961)
	WPGSSL (1962)				
	NIWPGSSLTNYNE KFKN (1963)				
	NIYPGSSSTNYNE KFKN (1964)				
	NI(Y/W)PGSS (L/I/S)TNYNEK FKN (1965)				
组 X					
VH			VL		
GLTFSSSG (1966)	IWYDGSKR (1706)	ATNNDY (1967)	RASQSVSSYLA (704)	TASNRAT (1968)	QQYSNWPRT (1969)

[0649] 本发明的可活化抗体的AB特异性结合PD-1靶标,诸如例如,哺乳动物PD-1。在一些实施方案中,此类Ab结合哺乳动物PD-1。在一些实施方案中,此类Ab结合人PD-1。在一些实施方案中,此类Ab结合非人灵长类动物PD-1。还包括在本发明中的是如本发明的抗体和/或本文所述的活化的可活化抗体结合相同的PD-1表位的AB。还包括在本发明中的是与本文所述的抗PD-1抗体和/或活化的抗PD-1可活化抗体竞争结合PD-1靶标例如人PD-1的AB。还包括在本发明中的是与本文所述的抗PD-1抗体和/或活化的抗PD-1可活化抗体交叉竞争结合PD-1靶标例如人PD-1的AB。

[0650] 本文提供的可活化抗PD-1抗体包括掩蔽部分。在一些实施方案中,所述掩蔽部分是这样的氨基酸序列,其与抗PD-1抗体偶联或以其他方式连接且位于可活化抗PD-1抗体构建体内,使得所述掩蔽部分降低抗PD-1抗体特异性结合PD-1的能力。使用各种已知技术中的任一种来鉴定合适的掩蔽部分。例如,使用Daugherty等人的PCT公开号W0 2009/025846(其内容以其整体通过引用并入本文)中描述的方法来鉴定肽掩蔽部分。

[0651] 本文提供的可活化抗PD-1抗体包括可切割部分。在一些实施方案中,所述可切割部分包括这样的氨基酸序列,其为蛋白酶(通常为细胞外蛋白酶)的底物。使用各种已知技术中的任一种来鉴定合适的底物。例如,使用Daugherty等人的美国专利号7,666,817; Stagliano等人的美国专利号8,563,269;和La Porte等人的PCT公开号W0 2014/026136(其各自的内容以其整体通过引用并入本文)中描述的方法来鉴定肽底物。(还参见Boulware等人“Evolutionary optimization of peptide substrates for proteases that exhibit rapid hydrolysis kinetics.” Biotechnol Bioeng. 106.3 (2010): 339-46)。

[0652] 示例性底物包括但不限于可被以下表3中所列的酶或蛋白酶中的一种或多种切割的底物。

[0653] 表3:示例性蛋白酶和/或酶

[0654]	ADAMS, ADAMTS, 例如 ADAM8 ADAM9 ADAM10 ADAM12 ADAM15 ADAM17/TACE ADAMDEC1 ADAMTS1 ADAMTS4 ADAMTS5	半胱氨酸蛋白酶, 例如, Cruzipain 豆荚蛋白 Otubain-2	丝氨酸蛋白酶, 例如, 活化蛋白C 组织蛋白酶A 组织蛋白酶G 糜蛋白酶 凝血因子蛋白酶 (例如, FVIIa, FIXa, FXa, FXIa, FXIIa)
		KLKs, 例如, KLK4 KLK5 KLK6 KLK7 KLK8 KLK10	弹性蛋白酶 颗粒酶B 胍基苯甲酸酶(Guanidinobenzoatase) HtrA1
	天冬氨酸蛋白酶, 例如, BACE 肾素	KLK11 KLK13 KLK14	人中性粒细胞弹性蛋白酶 乳铁蛋白 Marapsin NS3/4A
[0655]	天冬氨酸组织蛋白酶, 例如, 组织蛋白酶D 组织蛋白酶E	金属蛋白酶, 例如, 穿膜肽酶 脑啡肽酶 PSMA BMP-1	PACE4 纤溶酶 PSA tPA 凝血酶 胰蛋白酶 uPA
	胱天蛋白酶, 例如, 胱天蛋白酶1 胱天蛋白酶2 胱天蛋白酶3 胱天蛋白酶4 胱天蛋白酶5 胱天蛋白酶6 胱天蛋白酶7 胱天蛋白酶8 胱天蛋白酶9 胱天蛋白酶10 胱天蛋白酶14	MMPs, 例如, MMP1 MMP2 MMP3 MMP7 MMP8 MMP9 MMP10 MMP11 MMP12 MMP13 MMP14 MMP15 MMP16 MMP17 MMP19 MMP20 MMP23 MMP24 MMP26 MMP27	II型跨膜丝氨酸蛋白酶(TTSPs), 例如, DESC1 DPP-4 FAP Hepsin 基质蛋白酶-2 MT-SP1/基质蛋白酶(Matriptase) TMPRSS2 TMPRSS3 TMPRSS4
	半胱氨酸组织蛋白酶, 例如, 组织蛋白酶B 组织蛋白酶C 组织蛋白酶K 组织蛋白酶L 组织蛋白酶S 组织蛋白酶V/L2 组织蛋白酶X/Z/P		

[0656] 本文所述的可活化抗PD-1抗体克服了抗体治疗剂、特别是已知在体内在至少一定程度上有毒性的抗体治疗剂的限制。靶标介导的毒性构成治疗性抗体的开发的主要限制。设计本文提供的可活化抗PD-1抗体以解决与传统治疗性抗体在正常组织中抑制靶标相关的毒性。这些可活化抗PD-1抗体保持被掩蔽,直到在疾病部位处被蛋白水解活化。以作为亲本治疗性抗体的抗PD-1抗体开始,通过将所述抗体通过并入蛋白酶底物的接头偶联至抑制性掩蔽物来工程改造本发明的可活化抗PD-1抗体。

[0657] 当AB用MM修饰且在靶标存在的情况下时,与未用MM修饰的AB与靶标的特异性结合或亲本AB与靶标的特异性结合相比,AB与其靶标的特异性结合被降低或抑制。

[0658] 用MM修饰的AB对靶标的 K_d 比未用MM修饰的AB或亲本AB对靶标的 K_d 高至少5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、50,000、100,000、500,000、1,000,000、5,000,000、10,000,000、50,000,000倍或更高、或5-10、10-100、10-1,000、10-10,000、10-100,000、10-1,000,000、10-10,000,000、100-1,000、100-10,000、100-100,000、100-1,000,000、100-10,000,000、1,000-10,000、1,000-100,000、1,000-1,000,000、1000-10,000,000、10,000-100,000、10,000-1,000,000、10,000-10,000,000、100,000-1,000,000或100,000-10,000,000倍。相反,用MM修饰的AB对靶标的结合亲和力比未用MM修饰的AB或亲本AB对靶标的结合亲和力低至少2、3、4、5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、50,000、100,000、500,000、1,000,000、5,000,000、10,000,000、50,000,000倍或更高、或5-10、10-100、10-1,000、10-10,000、10-100,000、10-1,000,000、10-10,000,000、100-1,000、100-10,000、100-100,000、100-1,000,000、100-10,000,000、1,000-10,000、1,000-100,000、1,000-1,000,000、1000-10,000,000、10,000-100,000、10,000-1,000,000、10,000-10,000,000或100,000-10,000,000倍。

[0659] 在一些实施方案中,MM对AB的解离常数(K_d)通常大于AB对靶标的 K_d 。MM对AB的 K_d 可以比AB对靶标的 K_d 高至少5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、100,000、1,000,000或甚至10,000,000倍。相反,MM对AB的结合亲和力通常低于AB对靶标的结合亲和力。MM对AB的结合亲和力可以比AB对靶标的结合亲和力低至少5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、100,000、1,000,000或甚至10,000,000倍。

[0660] 在一些实施方案中,MM对AB的解离常数(K_d)约等于AB对靶标的 K_d 。在一些实施方案中,MM对AB的解离常数(K_d)不大于AB对靶标的解离常数。

[0661] 在一些实施方案中,MM对AB的解离常数(K_d)小于AB对靶标的解离常数。

[0662] 在一些实施方案中,MM对AB的解离常数(K_d)大于AB对靶标的解离常数。

[0663] 在一些实施方案中,MM与AB的结合的 K_d 不大于AB与靶标的结合的 K_d 。

[0664] 在一些实施方案中,MM与AB的结合的 K_d 不小于AB与靶标的结合的 K_d 。

[0665] 在一些实施方案中,MM与AB的结合的 K_d 约等于AB与靶标的结合的 K_d 。

[0666] 在一些实施方案中,MM与AB的结合的 K_d 小于AB与靶标的结合的 K_d 。

[0667] 在一些实施方案中,MM与AB的结合的 K_d 大于AB与靶标的结合的 K_d 。

[0668] 在一些实施方案中,MM与AB的结合的 K_d 不大于AB与靶标的结合的 K_d 的2、3、4、5、10、25、50、100、250、500或1,000倍。在一些实施方案中,MM与AB的结合的 K_d 是AB与靶标的结合的 K_d 的1-5、2-5、2-10、5-10、5-20、5-50、5-100、10-100、10-1,000、20-100、20-1000或100-1,000倍。

[0669] 在一些实施方案中,MM与AB的结合的亲和力小于AB与靶标的结合的亲和力。

[0670] 在一些实施方案中,MM与AB的结合的亲和力不多于AB与靶标的结合的亲和力。

[0671] 在一些实施方案中,MM与AB的结合的亲和力约等于AB与靶标的结合的亲和力。

[0672] 在一些实施方案中,MM与AB的结合的亲和力不小于AB与靶标的结合的亲和力。

[0673] 在一些实施方案中,MM与AB的结合的亲和力大于AB与靶标的结合的亲和力。

[0674] 在一些实施方案中,MM与AB的结合的亲和力是AB与靶标的结合的亲和力的1/2、1/3、1/4、1/5、1/10、1/25、1/50、1/100、1/250、1/500或1/1,000。在一些实施方案中,MM与AB的结合的亲和力是AB与靶标的结合的亲和力的1/1-1/5、1/2-1/5、1/2-1/10、1/5-1/10、1/5-

1/20、1/5-1/50、1/5-1/100、1/10-1/100、1/10-1/1,000、1/20-1/100、1/20-1/1000或1/100-1/1,000。在一些实施方案中,MM与AB的结合的亲和力是AB与靶标的结合的亲和力的1/2-1/20。在一些实施方案中,未与AB共价连接且与AB等摩尔浓度的MM不抑制AB与靶标的结合。

[0675] 当AB用MM修饰且在靶标存在的情况下时,与未用MM修饰的AB的特异性结合或亲本AB与靶标的特异性结合相比,AB与其靶标的特异性结合被降低或抑制。当与未用MM修饰的AB与靶标的结合或亲本AB与靶标的结合相比时,当在体内或在体外测定法中测量时,当用MM修饰时的AB结合靶标的能力可以降低至少50%、60%、70%、80%、90%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%和甚至100%持续至少2、4、6、8、12、28、24、30、36、48、60、72、84或96小时,或5、10、15、30、45、60、90、120、150或180天,或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个月或更长。

[0676] MM抑制AB与靶标的结合。MM结合AB的抗原结合结构域且抑制AB与靶标的结合。MM可以空间抑制AB与靶标的结合。MM可以变构抑制AB与其靶标的结合。在这些实施方案中,与未经MM修饰的AB、亲本AB或未与MM偶联的AB与靶标的结合相比,当AB用MM修饰或与MM偶联且在靶标存在的情况下时,当在体内或在体外测定法中测量时,不存在AB与靶标的结合或基本上无AB与靶标的结合,或不多于0.001%、0.01%、0.1%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%或50%的AB与靶标的结合,持续至少2、4、6、8、12、28、24、30、36、48、60、72、84或96小时,或5、10、15、30、45、60、90、120、150或180天,或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个月或更长。

[0677] 当AB与MM偶联或被MM修饰时,MM“掩蔽”或降低或以其他方式抑制AB与靶标的特异性结合。当AB与MM偶联或被MM修饰时,这样的偶联或修饰可以实现降低或抑制AB特异性结合其靶标的能力的结构改变。

[0678] 与MM偶联或用MM修饰的AB可以由下式代表(以从氨基(N)端区域至羧基(C)端区域的顺序):

(MM)-(AB)

(AB)-(MM)

[0679]

(MM)-L-(AB)

(AB)-L-(MM)

[0680] 其中MM是掩蔽部分,AB是抗体或其抗体片段,且L是接头。在许多实施方案中,期望将一个或多个接头,例如,柔性接头插入组合物中以提供柔性。

[0681] 在某些实施方案中,MM不是AB的天然结合配偶体。在一些实施方案中,MM不含或基本上不含与AB的任何天然结合配偶体的同源性。在一些实施方案中,MM与AB的任何天然结合配偶体具有不多于5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%的相似性。在一些实施方案中,MM与AB的任何天然结合配偶体具有不多于5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%的同一性。在一些实施方案中,MM与AB的任何天然结合配偶体具有不多于25%的同一性。在一些实施方案中,MM与AB的任何天然结合配偶体具有不多于50%的同一性。在一些实施方案中,MM与AB的任何天然结合配偶体具有不多于20%的同一性。在一些实施方案中,MM与AB的任何天然结合配偶体具有不多于10%的同一性。

[0682] 在一些实施方案中,可活化抗体包括通过MM修饰的AB,且还包括一种或多种可切

割部分 (CM)。这样的可活化抗体展现与AB的靶标的可活化/可变换结合。可活化抗体通常包括被掩蔽部分 (MM) 和可修饰或可切割部分 (CM) 修饰或与掩蔽部分 (MM) 和可修饰或可切割部分 (CM) 偶联的抗体或抗体片段 (AB)。在一些实施方案中,CM含有作为至少一种蛋白酶的底物发挥功能的氨基酸序列。

[0683] 可活化抗体的元件经排列,使得MM和CM经放置,使得在切割(或者相对活性)状态下且在靶标存在的情况下,AB结合靶标,而可活化抗体在未切割(或者相对无活性)状态下在靶标存在的情况下,AB与其靶标的特异性结合被降低或抑制。AB与其靶标的特异性结合可以由于AB特异性结合其靶标的能力被MM抑制或掩蔽而降低。

[0684] 用MM和CM修饰的AB对靶标的 K_d 比未用MM和CM修饰的AB或亲本AB对靶标的 K_d 大至少5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、50,000、100,000、500,000、1,000,000、5,000,000、10,000,000、50,000,000倍或更高、或5-10、10-100、10-1,000、10-10,000、10-100,000、10-1,000,000、10-10,000,000、100-1,000、100-10,000、100-100,000、100-1,000,000、100-10,000,000、1,000-10,000、1,000-100,000、1,000-1,000,000、1000-10,000,000、10,000-100,000、10,000-1,000,000、10,000-10,000,000、100,000-1,000,000或100,000-10,000,000倍。相反,用MM和CM修饰的AB对靶标的结合亲和力比未用MM和CM修饰的AB或亲本AB对靶标的结合亲和力低至少5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、50,000、100,000、500,000、1,000,000、5,000,000、10,000,000、50,000,000倍或更高、或5-10、10-100、10-1,000、10-10,000、10-100,000、10-1,000,000、10-10,000,000、100-1,000、100-10,000、100-100,000、100-1,000,000、100-10,000,000、1,000-10,000、1,000-100,000、1,000-1,000,000、1000-10,000,000、10,000-100,000、10,000-1,000,000、10,000-10,000,000、100,000-1,000,000、或100,000-10,000,000倍。

[0685] 当AB用MM和CM修饰且在靶标存在的情况下、但不在修饰剂(例如至少一种蛋白酶)存在的情况下时,与未用MM和CM修饰的AB或亲本AB与靶标的特异性结合相比,AB与其靶标的特异性结合被降低或抑制。当与亲本AB与其靶标的结合或未用MM和CM修饰的AB与其靶标的结合相比时,当在体内或在体外测定法中测量时,当用MM和CM修饰时的AB结合靶标的能力可以降低至少50%、60%、70%、80%、90%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%和甚至100%持续至少2、4、6、8、12、28、30、36、48、60、72、84或96小时或5、10、15、30、45、60、90、120、150或180天或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个月或更长。

[0686] 如本文所用,术语切割状态是指在CM被至少一种蛋白酶修饰后可活化抗体的状况。如本文所用,术语未切割状态是指在不存在CM被蛋白酶切割的情况下可活化抗体的状况。如上所讨论,术语“可活化抗体”在本文用于指呈其未切割(天然)状态以及呈其切割状态的可活化抗体。普通技术人员显而易见的是,在一些实施方案中,切割的可活化抗体可以由于蛋白酶对CM的切割、导致至少MM的释放而缺乏MM(例如,其中MM未通过共价键(例如半胱氨酸残基之间的二硫键)与可活化抗体连接)。

[0687] 可活化或可变换的意指当可活化抗体在抑制、掩蔽或未切割状态下(即,第一构象)时,可活化抗体展现与靶标的第一结合水平,和在未抑制、未掩蔽和/或切割状态下(即,第二构象)可活化抗体展现与靶标的第二结合水平,其中靶标结合的第二水平大于结合的第一水平。通常,靶标对可活化抗体的AB的接近在能够切割CM的切割剂(即,蛋白酶)存在的情况下比在这样的切割剂不存在的情况下更大。因此,当可活化抗体在未切割状态下时,AB

被抑制免于靶标结合且可以被掩蔽免于靶标结合(即,第一构象使得AB不能结合靶标),且在切割状态下,对于靶标结合,AB未被抑制或未被掩蔽。

[0688] 选择可活化抗体的CM和AB,使得AB代表给定靶标的结合部分,并且CM代表蛋白酶的底物。在一些实施方案中,所述蛋白酶与所述靶标在主体中的治疗部位或诊断部位处共定位。如本文所用,共定位是指在相同的部位或相对靠近。在一些实施方案中,蛋白酶切割CM,其产生结合位于切割位点附近的靶标的活化的抗体。本文公开的可活化抗体特别可用于其中例如能够切割CM中的位点的蛋白酶(即蛋白酶)以比非治疗部位的组织(例如健康组织)相对更高的水平存在于或靠近治疗部位或诊断部位的含有靶标的组织的情况。在一些实施方案中,本发明的CM也被一种或多种其他蛋白酶切割。在一些实施方案中,正是一种或多种其他蛋白酶与靶标共定位并且负责体内切割CM。

[0689] 在一些实施方案中,可活化抗体提供降低的毒性和/或不良副作用,如果AB未被掩蔽或以其他方式被抑制免于结合靶标,则所述毒性和/或不良副作用可以其他方式由在非治疗部位处的AB的结合导致。

[0690] 通常,可活化抗体可以通过如下来设计:选择目标AB和构建可活化抗体的剩余部分,使得当构象上被限制时,MM提供AB的掩蔽或AB与其靶标的结合的降低。可以考虑结构设计标准以提供该功能特征。

[0691] 提供了对在抑制构象相比于非抑制构象中的靶标结合展现所需动态范围的可变换表型的可活化抗体。动态范围通常是指(a)在第一组条件下参数的最大检测水平与(b)在第二组条件下该参数的最小检测值的比率。例如,在可活化抗体的背景下,动态范围是指(a)在能够切割可活化抗体的CM的至少一种蛋白酶存在的条件下与可活化抗体结合的靶蛋白的最大检测水平与(b)在蛋白酶不存在的情况下与可活化抗体结合的靶蛋白的最小检测水平的比率。可活化抗体的动态范围可计算为可活化抗体切割剂(例如,酶)处理的解离常数与可活化抗体切割剂处理的解离常数的比率。可活化抗体的动态范围越大,可活化抗体的可变换表型越好。具有相对更高的动态范围值(例如,大于1)的可活化抗体展现更加期望的变换表型,使得在能够切割可活化抗体的CM的切割剂(例如,酶)存在的条件下比在切割剂不存在的情况下,可活化抗体的靶蛋白结合在更大的程度上发生(例如,主要发生)。

[0692] 可活化抗体可以各种结构构型提供。下文提供可活化抗体的示例性式。特别考虑,AB、MM和CM的N-至C-末端顺序可以在可活化抗体内反转。还特别考虑,CM和MM的氨基酸序列可以重叠,例如,使得CM至少部分包含于MM内。

[0693] 例如,可活化抗体可以由下式代表(以从氨基(N)端区域至羧基(C)端区域的顺序):

(MM)-(CM)-(AB)

[0694]

(AB)-(CM)-(MM)

[0695] 其中MM是掩蔽部分,CM是可切割部分,且AB是抗体或其片段。应注意,尽管MM和CM在上式中表示为不同的组分,但在本文公开的所有示例性实施方案(包括式)中,考虑MM和CM的氨基酸序列可以重叠,例如,使得CM完全或部分地包含于MM内。此外,上式提供额外氨基酸序列,其可以位于可活化抗体元件的N-末端或C-末端。

[0696] 在某些实施方案中,MM不是AB的天然结合配偶体。在一些实施方案中,MM不含或基本上不含与AB的任何天然结合配偶体的同源性。在一些实施方案中,MM与AB的任何天然结

合配偶体具有不多于5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%的相似性。在一些实施方案中,MM与AB的任何天然结合配偶体具有不多于5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%的同一性。在一些实施方案中,MM与AB的任何天然结合配偶体具有不多于50%的同一性。在一些实施方案中,MM与AB的任何天然结合配偶体具有不多于25%的同一性。在一些实施方案中,MM与AB的任何天然结合配偶体具有不多于20%的同一性。在一些实施方案中,MM与AB的任何天然结合配偶体具有不多于10%的同一性。

[0697] 在许多实施方案中,可期望将一个或多个接头、例如柔性接头插入可活化抗体构建体,以在MM-CM连接CM-AB连接或两者中的一个或多个处提供柔性。例如,AB、MM和/或CM可以不含足够数量的残基(例如,Gly、Ser、Asp、Asn,尤其是Gly和Ser,特别是Gly)以提供期望的柔性。因此,这样的可活化抗体构建体的可变换表型可以获益于引入一个或多个氨基酸以提供柔性接头。此外,如下所述,在作为构象受限的构建体提供可活化抗体的情况下,可以可操作插入柔性接头,以促进形成和维持未切割的可活化抗体的环状结构。

[0698] 例如,在某些实施方案中,可活化抗体包含下式之一(其中下式代表以N-至C-末端方向或C-至N-末端方向的氨基酸序列):

(MM)-L1-(CM)-(AB)

[0699] (MM)-(CM)-L2-(AB)

(MM)-L1-(CM)-L2-(AB)

[0700] 其中MM、CM和AB如上文所定义;其中L1和L2各自独立地且任选地存在或不存在,是相同或不同的柔性接头,其包括至少1个柔性氨基酸(例如,Gly)。此外,上式提供额外氨基酸序列,其可以位于可活化抗体元件的N-末端或C-末端。实例包括但不限于靶向部分(例如,靶组织中存在的细胞的受体的配体)和血清半衰期延长部分(例如,结合血清蛋白诸如免疫球蛋白(例如,IgG)或血清白蛋白(例如,人血清白蛋白(HAS)的多肽)。

[0701] CM被至少一种蛋白酶以约 $0.001-1500 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$ 或至少0.001、0.005、0.01、0.05、0.1、0.5、1、2.5、5、7.5、10、15、20、25、50、75、100、125、150、200、250、500、750、1000、1250或 $1500 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$ 的速率特异性切割。在一些实施方案中,CM以约 $100,000 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$ 的速率被特异性切割。在一些实施方案中,CM以约 1×10^2 至约 $1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$ (即,约 1×10^2 至约 $1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$)的速率被特异性切割。

[0702] 对于酶的特异性切割,进行酶和CM之间的接触。当包含与MM和CM偶联的AB的可活化抗体在靶标和足够的酶活性存在的情况下时,CM可以被切割。足够的酶活性可以是指酶与CM进行接触并实现切割的能力。可以容易设想,酶可以在CM的附近,但因为其他细胞因子或酶的蛋白修饰而不能切割。

[0703] 适合用于本文所述的组合物的接头通常是提供修饰的AB或可活化抗体的柔性以促进AB与靶标的结合的抑制的接头。这样的接头通常被称为柔性接头。合适的接头可以容易地选择,且可以具有任何合适的不同长度,诸如1个氨基酸(例如,Gly)至20个氨基酸、2个氨基酸至15个氨基酸、3个氨基酸至12个氨基酸,包括4个氨基酸至10个氨基酸、5个氨基酸至9个氨基酸、6个氨基酸至8个氨基酸或7个氨基酸至8个氨基酸,且可以是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个氨基酸长。

[0704] 示例性柔性接头包括甘氨酸聚合物(G)_n、甘氨酸-丝氨酸聚合物(包括例如,(GS)

n、(GSGGS)_n (SEQ ID NO:363) 和(GGGGS)_n (SEQ ID NO:364),其中n是至少1的整数)、甘氨酸-丙氨酸聚合物、丙氨酸-丝氨酸聚合物和本领域已知的其他柔性接头。甘氨酸和甘氨酸-丝氨酸聚合物相对无结构,因此可能能够充当各组分之间的中性系链。甘氨酸获得比甚至丙氨酸显著更多的phi-psi空间,且比具有更长侧链的残基受到少得多的限制(参见 Scheraga, Rev. Computational Chem.11173-142 (1992))。示例性柔性接头包括但不限于GGSG (SEQ ID NO: 365)、GGSGG (SEQ ID NO: 366)、GSGSG (SEQ ID NO: 367)、GSGGG (SEQ ID NO: 368)、GGGSG (SEQ ID NO: 369)、GSSSG (SEQ ID NO: 370)等。普通技术人员将认识到,可活化抗体的设计可以包括是全部或部分柔性的接头,使得接头可以包括柔性接头以及赋予较少柔性结构的一个或多个部分,以提供期望的可活化抗体结构。

[0705] 本发明还提供包括可活化抗PD-1抗体的组合物和方法,所述可活化抗PD-1抗体包括特异性结合PD-1的抗体或抗体片段(AB),其中AB与降低AB结合其靶标的能力的掩蔽部分(MM)偶联。在一些实施方案中,所述可活化抗PD-1抗体进一步包含作为蛋白酶的底物的可切割部分(CM)。本文提供的组合物和方法使得能够将一种或多种试剂连接至AB中的一个或多个半胱氨酸残基,而不损害可活化抗PD-1抗体的活性(例如,掩蔽、活化或结合活性)。在一些实施方案中,本文提供的组合物和方法使得能够将一种或多种试剂连接至AB中的一个或多个半胱氨酸残基,而不减少或以其他方式干扰MM内的一个或多个二硫键。本文提供的组合物和方法产生可活化抗PD-1抗体,其与一种或多种试剂,例如多种治疗剂、诊断剂和/或预防剂中的任一种缀合,例如,在一些实施方案中,没有任何试剂与可活化抗PD-1抗体的MM缀合。本文提供的组合物和方法产生缀合的可活化抗PD-1抗体,其中MM保留有效且有效率地掩蔽未切割状态下的可活化抗体的AB的能力。本文提供的组合物和方法产生缀合的可活化抗PD-1抗体,其中可活化抗体在可切割CM的蛋白酶存在的情况下仍被活化,即切割。

[0706] 可活化抗PD-1抗体具有试剂的至少一个缀合点,但在本文提供的方法和组合物中,少于所有可能的缀合点可用于与试剂缀合。在一些实施方案中,一个或多个缀合点是参与二硫键的硫原子。在一些实施方案中,一个或多个缀合点是参与链间二硫键的硫原子。在一些实施方案中,一个或多个缀合点是参与链间硫化物键的硫原子,但不是参与链内二硫键的硫原子。在一些实施方案中,一个或多个缀合点是半胱氨酸或含有硫原子的其他氨基酸残基的硫原子。这样的残基可以天然存在于抗体结构中,或者可以通过定点诱变、化学转化或错误并入非天然氨基酸而并入抗体中。

[0707] 还提供了制备在AB中具有一个或多个链间二硫键和在MM中具有一个或多个链内二硫键的可活化抗PD-1抗体的缀合物的方法,并且提供与游离巯基反应的药物。该方法通常包括用还原剂(诸如例如TCEP)部分还原可活化抗体中的链间二硫键;和将与游离巯基反应的药物与部分还原的可活化抗体缀合。如本文所用,术语部分还原是指其中可活化抗PD-1抗体与还原剂接触且少于所有二硫键,例如少于所有可能的缀合位点被减少的情况。在一些实施方案中,少于99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%或少于5%的所有可能的缀合位点被还原。

[0708] 在还有其他实施方案中,提供了将试剂例如药物还原和缀合至可活化抗PD-1抗体、导致试剂放置的选择性的方法。该方法通常包括用还原剂部分还原可活化抗PD-1抗体,使得可活化抗体的掩蔽部分或其他非AB部分中的任何缀合位点不被还原,并将该试剂缀合至AB中的链间巯基。选择缀合位点以便允许试剂的期望放置,以允许在期望的位点发生缀

合。还原剂例如为TCEP。通过鉴定产生其中MM保留有效和有效地掩蔽未切割状态下的可活化抗体的AB的能力的缀合的可活化抗体的条件来确定还原反应条件,诸如例如还原剂与可活化抗体的比率,孵育时长,孵育期间的温度,还原反应溶液的pH等。还原剂与可活化抗PD-1抗体的比率将根据可活化抗体而变化。在一些实施方案中,还原剂与可活化抗PD-1抗体的比率将范围为约20:1至1:1、约10:1至1:1、约9:1至1:1、约8:1至1:1、约7:1至1:1、约6:1至1:1、约5:1至1:1、约4:1至1:1、约3:1至1:1、约2:1至1:1、约20:1至1:1.5、约10:1至1:1.5、约9:1至1:1.5、约8:1至1:1.5、约7:1至1:1.5、约6:1至1:1.5、约5:1至1:1.5、约4:1至1:1.5、约3:1至1:1.5、约2:1至1:1.5、约1.5:1至1:1.5或约1:1至1:1.5。在一些实施方案中,比率在约5:1至1:1的范围内。在一些实施方案中,比率在约5:1至1.5:1的范围内。在一些实施方案中,比率在约4:1至1:1的范围内。在一些实施方案中,比率在约4:1至1.5:1的范围内。在一些实施方案中,比率在约8:1至约1:1的范围内。在一些实施方案中,比率在约2.5:1至1:1的范围内。

[0709] 在一些实施方案中,提供了还原可活化抗PD-1抗体的AB中的链间二硫键和将试剂(例如,含巯基的试剂,诸如药物)缀合至所得链间巯基以将试剂选择性定位在AB上的方法。该方法通常包括用还原剂部分还原AB以形成至少两个链间巯基,而不在可活化抗体中形成所有可能的链间巯基;和将所述试剂缀合至部分还原的AB的链间巯基。例如,以还原剂:可活化抗体的期望比率将可活化抗体的AB在约37°C下部分还原约1小时。在一些实施方案中,还原剂与可活化抗体的比率将范围为约20:1至1:1、约10:1至1:1、约9:1至1:1、约8:1至1:1、约7:1至1:1、约6:1至1:1、约5:1至1:1、约4:1至1:1、约3:1至1:1、约2:1至1:1、约20:1至1:1.5、约10:1至1:1.5、约9:1至1:1.5、约8:1至1:1.5、约7:1至1:1.5、约6:1至1:1.5、约5:1至1:1.5、约4:1至1:1.5、约3:1至1:1.5、约2:1至1:1.5、约1.5:1至1:1.5或约1:1至1:1.5。在一些实施方案中,比率在约5:1至1:1的范围内。在一些实施方案中,比率在约5:1至1.5:1的范围内。在一些实施方案中,比率在约4:1至1:1的范围内。在一些实施方案中,比率在约4:1至1.5:1的范围内。在一些实施方案中,比率在约8:1至约1:1的范围内。在一些实施方案中,比率在约2.5:1至1:1的范围内。

[0710] 含巯基的试剂可以是例如半胱氨酸或N-乙酰半胱氨酸。还原剂可以是例如TCEP。在一些实施方案中,可以在缀合之前使用例如柱色谱、透析或渗滤纯化还原的可活化抗体。或者,在部分还原后和缀合之前不纯化还原的抗体。

[0711] 本发明还提供了部分还原的可活化抗PD-1抗体,其中可活化抗体中的至少一个链间二硫键已用还原剂还原,而不干扰可活化抗体中的任何链内二硫键,其中可活化抗体包括特异性结合PD-1的抗体或其抗原结合片段(AB),抑制未切割状态下的可活化抗体的AB与PD-1靶标的结合的掩蔽部分(MM),和与AB偶联的可切割部分(CM),其中所述CM是作为蛋白酶的底物发挥功能的多肽。在一些实施方案中,MM经由CM与AB偶联。在一些实施方案中,可活化抗体的一个或多个链内二硫键不被还原剂干扰。在一些实施方案中,可活化抗体内的MM的一个或多个链内二硫键不被还原剂干扰。在一些实施方案中,未切割状态下的可活化抗体具有如下的N-末端至C-末端的结构排列:MM-CM-AB或AB-CM-MM。在一些实施方案中,所述还原剂是TCEP。

[0712] 本发明还提供了部分还原的可活化抗体,其中可活化抗体中的至少一个链间二硫键已用还原剂还原,而不干扰可活化抗体中的任何链内二硫键,其中可活化抗体包括特异

性结合靶标(例如,PD-1)的抗体或其抗原结合片段(AB),抑制未切割状态下的可活化抗体的AB与靶标的结合的掩蔽部分(MM),和与AB偶联的可切割部分(CM),其中所述CM是作为至少一种蛋白酶的底物发挥功能的多肽。在一些实施方案中,MM经由CM与AB偶联。在一些实施方案中,可活化抗体的一个或多个链内二硫键不被还原剂干扰。在一些实施方案中,可活化抗体内的MM的一个或多个链内二硫键不被还原剂干扰。在一些实施方案中,未切割状态下的可活化抗体具有如下的N-末端至C-末端的结构排列:MM-CM-AB或AB-CM-MM。在一些实施方案中,所述还原剂是TCEP。

[0713] 在一些实施方案中,本文所述的可活化抗体还包括与可活化抗体缀合的试剂。在一些实施方案中,缀合的试剂是治疗剂,诸如抗炎剂。在这样的实施方案中,所述试剂与可活化抗体的碳水化合物部分缀合,例如,在一些实施方案中,其中碳水化合物部分位于可活化抗体中的抗体或抗原结合片段的抗原结合区域之外。在一些实施方案中,所述试剂与可活化抗体中的抗体或抗原结合片段的巯基缀合。

[0714] 在一些实施方案中,所述试剂是可检测部分,诸如例如标记或其他标记物。例如,试剂是或包括放射性标记的氨基酸,可以通过标记的抗生物素蛋白检测的一种或多种生物素部分(例如,可以通过光学或量热法检测的含有荧光标记物或酶促活性的链霉抗生物素蛋白),一种或多种放射性同位素或放射性核素,一种或多种荧光标记,一种或多种酶促标记和/或一种或多种化学发光剂。在一些实施方案中,可检测部分通过间隔区分子连接。

[0715] 本领域普通技术人员将认识到,很多可能的部分可与本发明所得的抗体偶联。(参见例如“Conjugate Vaccines”, Contributions to Microbiology and Immunology, J. M. Cruse和R. E. Lewis, Jr (编辑), Carger Press, New York, (1989),其完整内容通过引用并入本文)。

[0716] 偶联可通过结合两个分子的任何化学反应进行,只要抗体和另一部分保持它们各自的活性。该键可包括许多化学机制,例如共价结合、亲和力结合、嵌入、配位结合和络合。然而在一些实施方案中,结合是共价结合。共价结合可通过现有侧链的直接缩合或通过并入外部的桥接分子实现。许多二价或多价连接剂可用于将蛋白分子,诸如本发明的抗体,与其他分子偶联。例如,代表性的偶联剂可包括有机化合物,诸如硫代酸酯、碳二亚胺、琥珀酰亚胺酯、二异氰酸酯、戊二醛、重氮苯和六亚甲基二胺。该列表不意欲穷尽本领域已知的各种类别的偶联剂,而是较常见偶联剂的例示。(参见Killen和Lindstrom, Jour. Immun. 133:1335-2549 (1984);Jansen等人, Immunological Reviews 62:185-216 (1982);和Vitetta等人, Science 238:1098 (1987)。

[0717] 在一些实施方案中,除了本文提供的组合物和方法以外,缀合的可活化抗体还可通过插入或以其他方式包括在可活化抗体序列中的修饰的氨基酸序列,经修饰用于位点特异性缀合。这些修饰的氨基酸序列经设计以允许在缀合的可活化抗体内受控的放置和/或给药缀合的试剂。例如,可活化抗体可经工程改造以在轻链和重链的位置上包括半胱氨酸取代,其提供反应性巯基和不负面影响蛋白折叠和装配,也不改变抗原结合。在一些实施方案中,可活化抗体可经工程改造以在可活化抗体内包括或以其他方式引入一个或多个非天然氨基酸残基,以提供用于缀合的合适位点。在一些实施方案中,可活化抗体可经工程改造以在可活化抗体序列内包括或以其他方式经酶促引入可活化肽序列。

[0718] 合适的接头描述于文献中(参见例如Ramakrishnan, S.等人, Cancer Res. 44:

201-208 (1984), 描述使用MBS (M-马来酰亚胺基苯甲酰基-N-羟基琥珀酰亚胺酯)。也参见美国专利号5,030,719, 描述使用通过寡肽接头与抗体偶联的卤代乙酰基酰肼衍生物。在一些实施方案中, 合适的接头包括: (i) EDC (1-乙基-3-(3-二甲氨基-丙基) 碳化二亚胺盐酸盐; (ii) SMPT (4-琥珀酰亚胺基氧基羰基- α -甲基- α -(2-吡啶基-二巯基)-甲苯 (Pierce Chem. Co., 目录号 (21558G); (iii) SPDP (琥珀酰亚胺基-6 [3-(2-吡啶基二巯基) 丙酰胺] 己酸酯 (Pierce Chem. Co., 目录号 21651G); (iv) 磺基-LC-SPDP (磺基琥珀酰亚胺基6 [3-(2-吡啶基二巯基)-丙酰胺] 己酸酯 (Pierce Chem. Co. 目录号 2165-G); 和 (v) 与 EDC 缀合的磺基-NHS (N-羟基磺基-琥珀酸亚胺: Pierce Chem. Co., 目录号 24510)。额外的接头包括但不限于 SMCC、磺基-SMCC、SPDB 或磺基-SPDB。

[0719] 上述接头含有具有不同属性的元件, 因此产生具有不同物理化学性质的缀合物。例如, 羧酸烷酯的磺基-NHS 酯比芳族羧酸酯的磺基-NHS 酯更稳定。含有 NHS-酯的接头比磺基-NOS 酯更难溶解。此外, 接头 SMPT 含有空间阻碍的二硫键, 且可形成具有增加的稳定性的缀合物。二硫键通常比其他键更不稳定, 因为二硫键被体外切割, 导致较少的可获得缀合物。具体地, 磺基-NHS 可以增强碳二亚胺偶联的稳定性。当与磺基-NHS 结合使用时, 碳二亚胺偶联物 (诸如 EDC) 形成比单独的碳二亚胺偶联反应更耐受水解的酯。

[0720] 在一些实施方案中, 接头是可切割的。在一些实施方案中, 接头是不可切割的。在一些实施方案中, 存在两个或更多个接头。所述两个或更多个接头全都相同, 即, 是可切割的或不可切割的, 或所述两个或更多个接头是不同的, 即, 至少一个可切割且至少一个不可切割。

[0721] 本发明利用几种方法来将试剂连接至 AB: (a) 连接至 AB 的碳水化合物部分, 或 (b) 连接至 AB 的巯基, 或 (c) 连接至 AB 的氨基, 或 (d) 连接至 AB 的羧酸基团。根据本发明, AB 可通过具有至少两个反应性基团的中间体接头共价连接至试剂, 一个基团与 AB 反应和一个基团与所述试剂反应。可包括任何相容的有机化合物的接头可经选择使得与 AB (或试剂) 的反应不会不利地影响 AB 的反应性和选择性。此外, 连接接头至试剂, 可能不破坏试剂的活性。对于与氧化的抗体或氧化的抗体片段反应, 合适的接头包括含有胺的那些, 所述胺选自伯胺、仲胺、胍、酰胍、羟胺、苯胍、氨基脲和氨基硫脲基团。这样的反应性官能团可作为接头结构的部分存在, 或可通过不含这样的基团的接头的合适化学修饰引入。

[0722] 根据本发明, 用于连接至还原的 AB 的合适的接头包括具有能够与还原抗体或片段的巯基反应的某些反应性基团的那些。这样的反应性基团包括但不限于: 反应性卤代烷基 (包括例如, 卤代乙酰基)、对汞基苯甲酸基团和能够 Michael-型加成反应的基团 (包括例如, 马来酰亚胺和 Mitra 和 Lawton, 1979, J. Amer. Chem. Soc. 101: 3097-3110 描述的类型基团)。

[0723] 根据本发明, 用于连接至非氧化也非还原的 Ab 的合适的接头包括具有能够与存在于 Ab 的未经修饰的赖氨酸残基中的伯氨基反应的某些官能团的那些。这样的反应性基团包括但不限于 NHS 羧酸或碳酸酯、磺基-NHS 羧酸或碳酸酯、4-硝基苯基羧酸或碳酸酯、五氟苯基羧酸或碳酸酯、酰基咪唑、异氰酸酯和异硫氰酸酯。

[0724] 根据本发明, 用于连接至非氧化也非还原的 Ab 的合适的接头包括具有能够与存在于 Ab 的天冬氨酸或谷氨酸残基中的羧酸基团反应的某些官能团的那些, 所述羧酸基团已被合适的试剂活化。合适的活化试剂包括 EDC (具有或不具有加入的 NHS 或磺基-NHS) 和用于

羧酰胺形成的其他脱水剂。这些实例中,存在于合适的接头中的官能团包括伯胺和仲胺、胍、羟胺和酰胍。

[0725] 所述试剂可在接头与AB连接之前或之后与接头连接。在某些应用中,首先产生AB-接头中间体可能是需要的,其中接头不包含相关的试剂。根据具体的应用,特定的试剂可然后与接头共价连接。在一些实施方案中,AB首先与MM、CM和相关的接头连接,且然后与用于缀合目的的接头连接。

[0726] 分支接头:在特定的实施方案中,利用具有多个试剂连接位点的分支接头。对于多位点接头,与AB的单一共价连接将产生能够在多个位点上结合试剂的AB-接头中间体。所述位点可以是醛基团或巯基或试剂可连接的任何化学位点。

[0727] 在一些实施方案中,通过在AB的多个位点上连接单一位点接头,可获得较高的特异活性(或较高的试剂:AB比)。通过两种方法的任一种,该多个位点可引入AB中。第一,可在同一AB上产生多个醛基团和/或巯基。第二,可连接AB的醛或巯基与具有用于随后连接接头的多个功能位点的“分支接头”。分支接头或多位点接头的功能位点可以是醛基团或巯基,或可以是接头可连接的任何化学位点。还更高的特异活性可通过组合这两种方法获得,即在AB的数个位点上连接多位点接头。

[0728] 可切割的接头:在本发明的一个实施方案中,可使用易于被补体系统的酶(诸如但不限于u-纤溶酶原激活物、组织纤溶酶原激活物、胰蛋白酶、纤溶酶或具有蛋白水解活性的另一种酶)切割的肽接头。根据本发明的一种方法,试剂经由对补体切割敏感的接头连接。抗体选自可活化补体的类别。因此,抗体-试剂缀合物活化补体级联且在靶标位点上释放试剂。根据本发明的另一种方法,试剂经由易于被具有蛋白水解活性的酶(例如u-纤溶酶原激活物、组织纤溶酶原激活物、纤溶酶或胰蛋白酶)切割的接头连接。

[0729] 可切割的接头序列的非限制性实例提供于表5中。

[0730] 表5:用于缀合的示例性接头序列

可切割序列的类型	氨基酸序列
纤溶酶可切割序列	
原尿激酶	PRFKIIGG (SEQ ID NO: 587)
	PRFRIIGG (SEQ ID NO: 588)
TGFβ	SSRHRRALD (SEQ ID NO: 589)
纤溶酶原	RKSSIIIRMRDVVL (SEQ ID NO: 590)
葡萄球菌激酶	SSSFDKGGKYKKGDDA (SEQ ID NO: 591)
	SSSFDKGGKYKRGDDA (SEQ ID NO: 592)
因子Xa可切割序列	
	IEGR (SEQ ID NO: 593)
	IDGR (SEQ ID NO: 594)
	GGSIDGR (SEQ ID NO: 595)
MMP可切割序列	
明胶酶A	PLGLWA (SEQ ID NO: 596)
胶原酶可切割序列	
[0731] 小牛皮肤胶原(α1(I)链)	GPQGIAGQ (SEQ ID NO: 597)
小牛皮肤胶原(α2(I)链)	GPQGLLGA (SEQ ID NO: 598)
牛软骨胶原(α1(II)链)	GIAGQ (SEQ ID NO: 599)
人肝胶原(α1(III)链)	GPLGIAGI (SEQ ID NO: 600)
人 α ₂ M	GPEGLRVG (SEQ ID NO: 601)
人 PZP	YGAGLGVV (SEQ ID NO: 602)
	AGLGVVER (SEQ ID NO: 603)
	AGLGISS (SEQ ID NO: 604)
大鼠 α ₁ M	EPQALAMS (SEQ ID NO: 605)
	QALAMSAI (SEQ ID NO: 606)
大鼠 α ₂ M	AAYHLVSQ (SEQ ID NO: 607)
	MDAFLESS (SEQ ID NO: 608)
大鼠 α ₁ I ₃ (2J)	ESLPVVAV (SEQ ID NO: 609)
大鼠 α ₁ I ₃ (27J)	SAPAVESE (SEQ ID NO: 610)
人成纤维细胞胶原酶	DVAQFVLT (SEQ ID NO: 611)
<u>(自溶切割)</u>	VAQFVLTE (SEQ ID NO: 612)
	AQFVLTEG (SEQ ID NO: 613)
	PVQPIGPQ (SEQ ID NO: 614)

[0732] 此外,试剂可经由二硫键(例如半胱氨酸分子上的二硫键)与AB连接。因为许多肿瘤天然释放高水平的谷胱甘肽(还原剂),所以这可还原二硫键,随后在递送位点上释放试剂。在一些实施方案中,修饰CM的还原剂也将修饰缀合的可活化抗体的接头。

[0733] **间隔区和可切割的元件**:在一些实施方案中,以使得优化试剂和可活化抗体的AB之间的间隔的方式构建接头可能是必需的。这可通过使用以下通式结构的接头实现:

[0734] $W - (CH_2)_n - Q$

[0735] 其中

[0736] W是--NH--CH₂--或--CH₂--;

[0737] Q是氨基酸、肽;且

[0738] n是0-20的整数。

[0739] 在一些实施方案中,接头可包含间隔区元件和可切割的元件。间隔区元件用于定位可切割的元件远离AB的核心,使得可切割的元件更易接近负责切割的酶。上述的某些分支接头可用作间隔区元件。

[0740] 在整个讨论中,应理解接头与试剂(或间隔区元件与可切割的元件、或可切割的元

件与试剂)的连接不需要是特定的连接或反应模式。提供具有合适的稳定性和生物相容性的产物的任何反应都是可接受的。

[0741] **血清补体和接头选择**:根据本发明的一种方法,当需要试剂释放时,使用作为可活化补体的类型的抗体的AB。所得缀合物同时保留结合抗原和活化补体级联的能力。因此,根据本发明的该实施方案,试剂连接可切割的接头或可切割的元件的一个末端,且接头基团的另一末端与AB上的特定位点连接。例如,如果试剂具有羟基或氨基,其可与肽、氨基酸或其他合适选择的接头的羧基末端分别经由酯或酰胺键连接。例如,这样的试剂可与接头肽经由碳二亚胺反应连接。如果试剂含有会干涉接头连接的官能团,这些干涉官能团可在连接之前被封闭且在产物缀合物或中间体制备后解封闭。接头的相对或氨基端然后直接或在进一步修饰后用于结合能够活化补体的AB。

[0742] **接头(或接头的间隔区元件)**可具有任何需要的长度,其一个末端可与可活化抗体的AB的特定位点共价连接。接头或间隔区元件的另一末端可与氨基酸或肽接头连接。

[0743] 因此,当这些缀合物在补体的存在下结合抗原时,连接试剂与接头的酰胺或酯键将被切割,导致释放呈其活性形式的试剂。这些缀合物当施用于主体时,将在靶标位点上实现试剂的递送和释放,且对于药剂、抗生素、抗代谢物、抗增殖药等(如在表5中(但不限于此)提供的那些)的体内递送特别有效。

[0744] **用于无补体活化下的释放的接头**:在靶向递送的又一种应用中,无补体活化的试剂释放是需要的,因为补体级联的活化将最终溶解靶细胞。因此,当试剂的递送和释放应在不杀死靶细胞的情况下实现时该方法是有用的。这是当需要递送细胞介质诸如激素、酶、皮质类固醇、神经递质、基因或酶至靶细胞时的目标。这些缀合物可通过将试剂与不能活化补体的AB经由接头连接制备,所述接头对通过血清蛋白酶的切割轻度敏感。当将该缀合物施用于个体时,抗原-抗体复合物将快速形成,而试剂的切割将缓慢发生,因此导致在靶标位点上释放化合物。

[0745] **生物化学交叉接头**:在一些实施方案中,使用某些生物化学交叉接头,可活化抗体可与一种或多种治疗剂缀合。交叉连接试剂形成分子桥,其将两个不同分子的官能团系在一起。为了以逐步方式连接两个不同的蛋白,可使用杂-双官能交叉-接头,其排除不需要的均聚物形成。

[0746] 还可使用通过溶酶体蛋白酶可切割的肽基接头,例如Val-Cit、Val-Ala或其他二肽。此外,可使用在溶酶体的低pH环境中可切割的酸不稳定性接头,例如:双-唾液酸醚。其他合适的接头包括组织蛋白酶不稳定性底物,特别是在酸性pH下显示最佳功能的那些。

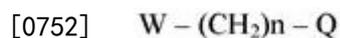
[0747] 示例性的杂-双官能交叉-接头在表6中提及。

[0748] 表6:示例性的杂-双官能交叉接头

杂-双官能交叉接头			
接头	对以下反应	优点和应用	交联后的间隔臂长度(埃)
SMPT	伯胺 巯基	较大的稳定性	11.2 Å
SPDP	伯胺 巯基	硫醇化	6.8 Å
LC-SPDP	伯胺 巯基	可切割交联 延伸的间隔臂	15.6 Å
磺基-LC-SPDP	伯胺 巯基	延伸间隔臂	15.6 Å
SMCC	伯胺 巯基	水溶性的 稳定的马来酰亚胺反应性基团	11.6 Å
磺基-SMCC	伯胺 巯基	酶-抗体缀合 半抗原-载体蛋白缀合 稳定的马来酰亚胺反应性基团	11.6 Å
[0749] MBS	伯胺 巯基	水溶性的 酶-抗体缀合	9.9 Å
磺基-MBS	伯胺 巯基	酶-抗体缀合 半抗原-载体蛋白缀合	9.9 Å
SIAB	伯胺 巯基	水溶性的	10.6 Å
磺基-SIAB	伯胺 巯基	酶-抗体缀合	10.6 Å
SMPB	伯胺 巯基	水溶性的	14.5 Å
磺基-SMPB	伯胺 巯基	延伸的间隔臂 酶-抗体缀合	14.5 Å
EDE/磺基-NHS	伯胺 羰基	延伸的间隔臂 水溶性的	0
ABH	碳水化合物 无选择性	半抗原-载体缀合 与糖基反应	11.9 Å

[0750] 不可切割的接头或直接连接:在本发明的一些实施方案中,缀合物可经设计,使得所述试剂被递送至靶标而不释放。这可通过将试剂与AB直接或经由不可切割的接头连接实现。

[0751] 这些不可切割的接头可包括氨基酸、肽、D-氨基酸或可经修饰以包括可随后用于通过本文所述的方法连接AB的官能团的其他有机化合物。这样的有机接头的通式可以是



[0753] 其中

[0754] W是--NH--CH₂--或--CH₂--;

[0755] Q是氨基酸、肽;且

[0756] n是0-20的整数。

[0757] 不可切割的缀合物:在一些实施方案中,化合物可与不活化补体的AB连接。当使用

不能补体活化的AB时,该连接可使用对活化的补体的切割敏感的接头或使用对活化的补体的切割不敏感的接头来实现。

[0758] 本文公开的抗体还可被配制为免疫脂质体。含有抗体的脂质体通过本领域已知的方法制备,诸如Epstein等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 3688 (1985);Hwang等人, Proc. Natl Acad. Sci. USA, 77: 4030 (1980);和美国专利号4,485,045和4,544,545中描述的方法。具有提高的循环时间的脂质体公开于美国专利号5,013,556。

[0759] 特别有用的脂质体可用包含磷脂酰胆碱、胆固醇和PEG-衍生的磷脂酰乙醇胺(PEG-PE)的脂质组合物通过反相蒸发方法产生。脂质体通过限定孔径的滤器挤出,以得到具有所需直径的脂质体。本发明的抗体的Fab'片段可按Martin等人, J. Biol. Chem., 257: 286-288 (1982)中所述,经由二硫化物交换反应与脂质体缀合。

[0760] 定义:

[0761] 除非另外定义,与本发明结合使用的科学和技术术语应具有本领域普通技术人员通常理解的含义。术语“一个/种(a)”实体或“一个/种(an)”实体是指该实体中的一个/种或多个/种。例如,化合物是指一种或多种化合物。因此,术语“一个/种(a)”、“一个/种(an)”、“一个/种或多个/种”和“至少一个/种”可以互换使用。此外,除非上下文另外要求,单数术语应包括复数且复数术语应包括单数。通常,与本文描述的细胞和组织培养、分子生物学和蛋白和寡核苷酸或多核苷酸化学和杂交结合使用的命名法及其技术是本领域众所周知和通常使用的那些。标准技术用于重组DNA、寡核苷酸合成和组织培养和转化(例如,电穿孔、脂转染)。酶促反应和纯化技术根据制造商的说明书或本领域通常实践或本文所述进行。前述技术和程序通常根据本领域众所周知的常规方法和如本说明书各处中引用和讨论的各种通用和较特定的参考文献中所述进行。参见例如,Sambrook等人Molecular Cloning: A Laboratory Manual (第2版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989))。与本文描述的分析化学、合成有机化学和医用和药用化学结合使用的命名法及其实验室程序和技术是本领域众所周知和通常使用的那些。标准技术用于化学合成、化学分析、药物制备、配制和递送,和治疗患者。

[0762] 如根据本发明所用,除非另外说明,以下术语应理解具有以下含义:

[0763] 如本文所用,术语“抗体”是指免疫球蛋白分子和免疫球蛋白(Ig)分子的抗原结合部分,即,含有特异性结合抗原(与其免疫反应)的抗原结合位点的分子。“特异性结合”或“与...免疫反应”或“免疫特异性结合”意指抗体与所需抗原的一个或多个抗原决定簇反应和与其他多肽反应或以低得多的亲和力结合($K_d > 10^{-6}$)。抗体包括但不限于多克隆抗体、单克隆抗体、嵌合抗体、结构域抗体、单链、Fab和F(ab')₂片段、scFv和Fab表达文库。

[0764] 基础抗体结构单位已知包含四聚体。各四聚体由两个相同的多肽链对构成,每一对具有一个“轻”链(约25 kDa)和一个“重”链(约50-70 kDa)。各链的氨基末端部分包括约100-110或更多个氨基酸的可变区,其主要负责抗原识别。各链的羧基末端部分限定了恒定区,其主要负责效应子功能。通常,获得自人的抗体分子涉及类别IgG、IgM、IgA、IgE和IgD中的任一类别,它们彼此不同之处在于分子中存在的重链的性质。某些类别还具有亚类,诸如IgG₁、IgG₂和其他。此外,在人中,轻链可以是κ链或λ链。

[0765] 如本文所用的术语“单克隆抗体”(mAb)或“单克隆抗体组合物”,是指仅含有一个分子种类的抗体分子的抗体分子群,所述抗体分子由独特的轻链基因产物和独特的重链基

因产物组成。具体而言,单克隆抗体的互补决定区(CDR)在所述群的所有分子中相同。MAb含有能够与抗原的特定表位起免疫反应的抗原结合位点,特征在于对其有独特的结合亲和力。

[0766] 术语“抗原结合位点”或“结合部分”是指免疫球蛋白分子的一部分,其涉及抗原结合。抗原结合位点由重(“H”)和轻(“L”)链的N-末端可变(“V”)区的氨基酸残基形成。在重链和轻链的V区内的三个高度不同的区段,被称为“高变区”,间插在称为“框架区”或“FR”的较保守的侧翼区段之间。因此,术语“FR”是指天然存在于免疫球蛋白的高变区之间并与其邻近的氨基酸序列。在抗体分子中,轻链的三个高变区和重链的三个高变区在三维空间中彼此相对排列,以形成抗原结合表面。抗原结合表面与结合的抗原的三维表面互补,重链和轻链各自的三个高变区被称为“互补决定区”或“CDR”。氨基酸在各结构域中的分配根据Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987和1991))或Chothia & Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987), Chothia等人Nature 342:878-883 (1989)中的定义来进行。

[0767] 如本文所用,术语“表位”包括能够特异性结合免疫球蛋白、scFv或T-细胞受体的任何蛋白决定簇。术语“表位”包括能够特异性结合免疫球蛋白或T-细胞受体的任何蛋白决定簇。表位决定簇通常由分子例如氨基酸或糖侧链的化学活性表面簇(groupings)组成,和通常具有特定的三维结构特征以及特定的电荷特征。例如,抗体可以针对多肽的N-末端或C-末端肽产生。当解离常数是 $\leq 1 \mu\text{M}$;在一些实施方案中 $\leq 100 \text{ nM}$ 和在一些实施方案中 $\leq 10 \text{ nM}$ 时,认为抗体特异性结合抗原。

[0768] 如本文所用,术语“特异性结合”、“免疫结合”和“免疫结合性质”是指在免疫球蛋白分子和免疫球蛋白对其具有特异性的抗原之间形成的类型的非共价相互作用。免疫结合相互作用的强度或亲和力可表示为相互作用的解离常数(K_d),其中 K_d 越小表示亲和力越大。选择的多肽的免疫结合性质可使用本领域众所周知的方法定量。一个这样的方法要求测定抗原结合位点/抗原复合物形成和解离的速率,其中这些速率取决于复合物配偶体的浓度、相互作用的亲和力和在两个方向上同等影响速率的几何参数。因此,“结合速率常数”(K_{on})和“解离速率常数”(K_{off})可通过计算浓度和缔合和解离的实际速率来测定。(参见Nature 361:186-87 (1993))。 K_{off}/K_{on} 之比等于解离常数 K_d 。(一般参见Davies等人 (1990) Annual Rev Biochem 59:439-473)。当结合常数(K_d)是 $\leq 1 \mu\text{M}$,在一些实施方案中 $\leq 100 \text{ nM}$,在一些实施方案中 $\leq 10 \text{ nM}$ 和在一些实施方案中 $\leq 100 \text{ pM}$ 至约 1 pM 时,认为本发明的抗体特异性结合靶标,如通过测定法诸如放射配体结合测定法或本领域技术人员已知的类似测定法所测量。

[0769] 如本文所用的术语“分离的多核苷酸”应意指基因组、cDNA或合成来源的多核苷酸,或其一些组合,根据其来源,“分离的多核苷酸”(1)不缔合“分离的多核苷酸”天然存在于其中的多核苷酸的全部或一部分,(2)与天然不与其连接的多核苷酸可操作连接,或(3)不作为较大序列的一部分天然存在。根据本发明的多核苷酸包括编码本文所示的重链免疫球蛋白分子的核酸分子,和编码本文所示的轻链免疫球蛋白分子的核酸分子。

[0770] 本文提及的术语“分离的蛋白”意指cDNA、重组RNA或合成来源的蛋白或其一些组合,根据其来源或衍生源,“分离的蛋白”(1)不缔合天然存在的蛋白,(2)不含相同来源的其他蛋白,例如,不含鼠蛋白,(3)通过不同物种的细胞表达,或(4)不天然存在。

[0771] 本文作为通称使用的术语“多肽”是指具有多肽序列的天然蛋白、片段或类似物。

因此,天然蛋白片段和类似物是多肽上位概念(genus)的下位概念(species)。根据本发明的多肽包含本文所示的重链免疫球蛋白分子和本文所示的轻链免疫球蛋白分子,以及由包含重链免疫球蛋白分子与轻链免疫球蛋白分子诸如 κ 轻链免疫球蛋白分子的组合(和反之亦然)形成的抗体分子以及其片段和类似物。

[0772] 如本文所用的术语“天然存在的”在应用于物体时是指物体可天然存在的事实。例如,存在于生物体(包括病毒)中的、可自天然来源分离的和未在实验室中经人为有意修饰或以其他方式有意修饰的多肽或多核苷酸序列是天然存在的。

[0773] 如本文所用的术语“可操作连接”是指所述组分的位置处于允许它们以其预期方式起作用的关系中。与编码序列“可操作连接”的控制序列以使得编码序列的表达在与控制序列相容的条件下实现的方式连接。

[0774] 如本文所用的术语“控制序列”是指实现与它们连接的编码序列的表达和加工所必需的多核苷酸序列。这样的控制序列的性质取决于宿主生物体而不同,在原核生物中这样的控制序列通常包括启动子、核糖体结合位点和转录终止序列,在真核生物中通常这样的控制序列包括启动子和转录终止序列。术语“控制序列”意欲最少包括其存在是表达和加工所必需的所有元件,和还可包括其存在是有利的其他元件,例如前导序列和融合物配偶体序列。本文提及的术语“多核苷酸”意指至少10个碱基长的核苷酸,为核糖核苷酸或脱氧核糖核苷酸或任一类型的核苷酸的修饰形式。该术语包括单链和双链形式的DNA。

[0775] 本文提及的术语寡核苷酸包括通过天然存在的和非天然存在的寡核苷酸键(linkage)连接在一起的天然存在的和修饰的核苷酸。寡核苷酸是通常包含长度200个或更少的碱基的多核苷酸子集。在一些实施方案中,寡核苷酸是10-60个碱基长,且在一些实施方案中12、13、14、15、16、17、18、19或20-40个碱基长。寡核苷酸通常是单链的,例如对于探针,但寡核苷酸也可以是双链的,例如用于构建基因突变体。本发明的寡核苷酸为有义或反义寡核苷酸。

[0776] 本文提及的术语“天然存在的核苷酸”包括脱氧核糖核苷酸和核糖核苷酸。本文提及的术语“修饰的核苷酸”包括具有修饰的或取代的糖基团等的核苷酸。本文提及的术语“寡核苷酸键”包括寡核苷酸键,诸如硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、硒代磷酸酯、二硒代磷酸酯、苯胺基硫代磷酸酯(phosphoroanilothioate)、苯胺磷酸酯(phosphoraniladate)、氨基磷酸酯(phosphoromidate)等。参见例如,LaPlanche等人Nucl. Acids Res. 14:9081 (1986);Stec等人 J. Am. Chem. Soc. 106:6077 (1984), Stein等人Nucl. Acids Res. 16:3209 (1988), Zon等人Anti Cancer Drug Design 6:539 (1991);Zon等人Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach,第87-108页(F. Eckstein编辑, Oxford University Press, Oxford England (1991));Stec等人美国专利号5,151,510;Uhlmann和Peyman Chemical Reviews 90:543 (1990)。如果需要,寡核苷酸可包括用于检测的标记。

[0777] 如本文所用,20种常规氨基酸和其缩写按常规使用。参见Immunology - A Synthesis (第2版, E.S. Golub和D.R. Green编辑, Sinauer Associates, Sunderland Mass. (1991))。20种常规氨基酸的立体异构体(例如,D-氨基酸)、非天然氨基酸例如 α - α -二取代的氨基酸、N-烷基氨基酸、乳酸和其他非常规氨基酸也可以是本发明的多肽的合适的组分。非常规氨基酸的实例包括:4羟基脯氨酸、 γ -羧基谷氨酸、 ϵ -N,N,N-三甲基赖氨

酸、 ϵ -N-乙酰基赖氨酸、O-磷酸丝氨酸、N-乙酰基丝氨酸、N-甲酰基甲硫氨酸、3-甲基组氨酸、5-羟基赖氨酸、 σ -N-甲基精氨酸和其他类似的氨基酸和亚氨基酸(例如,4-羟基脯氨酸)。在本文使用的多肽符号中,根据标准用法和惯例,左手方向是氨基末端方向和右手方向是羧基末端方向。

[0778] 类似地,除非另外说明,单链多核苷酸序列的左手末端是5'端,双链多核苷酸序列的左手方向被称为5'方向。新生RNA转录物的5'至3'加入方向被称为转录方向,具有与RNA相同的序列的DNA链上且在RNA转录物的5'末端的5'处的序列区被称为“上游序列”,具有与RNA相同的序列的DNA链上且在RNA转录物的3'末端的3'处的序列区被称为“下游序列”。

[0779] 应用于多肽时,术语“基本同一性”意指,两个肽序列当诸如通过程序GAP或BESTFIT使用默认的空位权重最佳比对时,共有至少80%的序列同一性,在一些实施方案中,共有至少90%的序列同一性,在一些实施方案中共有至少95%的序列同一性,和在一些实施方案中共有至少99%的序列同一性。

[0780] 在一些实施方案中,不相同的残基位置因保守氨基酸取代而不同。

[0781] 如本文所讨论,抗体或免疫球蛋白分子的氨基酸序列的较少变化预期包括在本发明中,条件是氨基酸序列中的所述变化保持至少75%,在一些实施方案中至少80%、90%、95%,和在一些实施方案中99%。具体而言,预期保守氨基酸替换。保守替换是在其侧链上相关的氨基酸家族中发生的那些。遗传编码氨基酸通常分为以下家族:(1)酸性氨基酸是天冬氨酸、谷氨酸;(2)碱性氨基酸是赖氨酸、精氨酸、组氨酸;(3)非极性氨基酸是丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸;和(4)不带电荷的极性氨基酸是甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、半胱氨酸、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸。亲水氨基酸包括精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、组氨酸、赖氨酸、丝氨酸和苏氨酸。疏水氨基酸包括丙氨酸、半胱氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。氨基酸的其他家族包括(i)丝氨酸和苏氨酸,其为脂肪族羟基家族;(ii)天冬酰胺和谷氨酰胺,其为含有酰胺的家族;(iii)丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸,其为脂肪族的家族;和(iv)苯丙氨酸、色氨酸和酪氨酸,其为芳香族的家族。例如,可合理预期单独替换亮氨酸为异亮氨酸或缬氨酸、天冬氨酸为谷氨酸、苏氨酸为丝氨酸或类似替换氨基酸为结构相关的氨基酸,不将对所得分子的结合或性质具有主要影响,尤其是如果所述替换不涉及框架位点内的氨基酸。氨基酸变化是否产生功能肽可通过测定多肽衍生物的特定活性而容易地确定。本文详细描述了测定法。抗体或免疫球蛋白分子的片段或类似物可通过本领域普通技术人员容易地制备。合适的片段或类似物的氨基末端和羧基末端出现在功能结构域的边界附近。结构和功能结构域可通过将核苷酸和/或氨基酸序列数据与公开的或专有的序列数据库比较来鉴定。在一些实施方案中,计算机比较方法用于鉴定出现在具有已知结构和/或功能的其他蛋白中的序列基序或预测的蛋白构象结构域。鉴定折叠成已知三维结构的蛋白序列的方法是已知的。Bowie等人*Science* 253:164 (1991)。因此,前述实例证实,本领域技术人员可识别可用于定义根据本发明的结构和功能结构域的序列基序和结构构象。

[0782] 合适的氨基酸取代为以下那些氨基酸取代,其:(1)降低对蛋白水解的敏感性,(2)降低对氧化的敏感性,(3)改变形成蛋白复合物的结合亲和力,(4)改变结合亲和力,和(5)赋予或修改这样的类似物的其他物理化学或功能性质。类似物可包括具有并非天然存在的肽序列的序列的各种突变型蛋白。例如,可在天然存在的序列中,例如在形成分子间接触的

结构域外的多肽部分中进行单一或多个氨基酸取代(例如保守氨基酸取代)。保守氨基酸取代不应实质上改变亲本序列的结构特征(例如,替换氨基酸不应倾向于中断在亲本序列中出现的螺旋,或破坏亲本序列所特有的其他类型的二级结构)。本领域公认的多肽二级和三级结构的实例描述于Proteins, Structures and Molecular Principles (Creighton编辑, W. H. Freeman and Company, New York (1984)); Introduction to Protein Structure (C. Branden和J. Tooze编辑, Garland Publishing, New York, N.Y. (1991)); 和Thornton等人Nature 354:105 (1991)。

[0783] 如本文所用的术语“多肽片段”是指具有氨基末端和/或羧基末端缺失和/或一个或多个内部缺失的多肽,但其中剩余的氨基酸序列与从例如全长cDNA序列中推断的天然存在的序列的相应的位置相同。片段通常为至少5、6、8或10个氨基酸长,在一些实施方案中至少14个氨基酸长,在一些实施方案中至少20个氨基酸长,通常至少50个氨基酸长,和在一些实施方案中至少70个氨基酸长。如本文所用的术语“类似物”是指由至少25个氨基酸的区段构成的多肽,所述区段与推断的氨基酸序列的一部分具有实质同一性和在合适的结合条件下与靶标特异性结合。通常,多肽类似物包含相对于天然存在的序列的保守氨基酸取代(或添加或缺失)。类似物通常为至少20个氨基酸长,在一些实施方案中至少50个氨基酸长或更长,和通常可与全长的天然存在的多肽一样长。

[0784] 术语“试剂”在本文用于表示化合物、化合物的混合物、生物大分子或自生物材料制备的提取物。

[0785] 如本文所用,术语“标记”或“标记的”是指并入可检测标记物,例如,通过并入放射性标记的氨基酸或与可通过标记的抗生物素蛋白(例如,含有可通过光学或量热方法检测的荧光标记或酶活性的链霉抗生物素蛋白)检测的生物素基部分的多肽连接。在某些情况下,标记或标记物也可以是治疗性的。标记多肽和糖蛋白的各种方法是本领域已知的且可被使用。用于多肽的标记的实例包括但不限于以下:放射性同位素或放射性核素(例如, ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I)、荧光标记(例如,FITC、若丹明、镧系元素磷光体)、酶标记(例如,辣根过氧化物酶、p-半乳糖苷酶、萤光素酶、碱性磷酸酶)、化学发光、生物素基团、被第二报告分子识别的预定的多肽表位(例如,亮氨酸拉链对序列、第二抗体的结合位点、金属结合结构域、表位标签)。在一些实施方案中,标记通过各种长度的间隔区臂连接以减少潜在的空间位阻。如本文所用的术语“药物或药品”是指当适当施用于患者时能够诱导所需的治疗效果的化合物或组合物。

[0786] 本文的其他化学术语根据本领域的常规用法使用,如由The McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (Parker, S.编辑, McGraw-Hill, San Francisco (1985)) 所举例。

[0787] 如本文所用,“基本上纯的”意指对象种类是存在的主要种类(即,在摩尔基础上它比组合物中的任何其他个别种类更丰富),并且在一些实施方案中,基本上纯化的部分是其中对象种类占存在的所有大分子种类的至少约50% (在摩尔基础上)的组合物。

[0788] 通常,基本上纯的组合物将包含组合物中存在的超过约80%的所有大分子种类,在一些实施方案中,超过约85%、90%、95%和99%。在一些实施方案中,对象种类纯化至基本均质(通过常规检测方法在组合物中不能检测到污染物种类),其中组合物基本上由单一大分子种类组成。

[0789] 术语患者包括人和兽医主体。

[0790] 本发明的抗体和/或可活化抗体特异性结合给定靶标,例如人靶蛋白,诸如人PD-1。本发明中还包括与本文所述的抗体和/或可活化抗体结合相同表位的抗体和/或可活化抗体。本发明中还包括与本文所述的抗PD-1抗体和/或抗PD-1可活化抗体竞争结合PD-1、例如人PD-1的抗体和/或抗体可活化抗体。本发明中还包括与本文所述的抗PD-1抗体和/或抗PD-1可活化抗体交叉竞争结合PD-1、例如人PD-1的抗体和/或抗体可活化抗体。

[0791] 本领域技术人员将认识到,可能在没有过度实验的情况下通过确定单克隆抗体(例如,鼠单克隆或人源化抗体)是否阻止本文所述的方法中使用的单克隆抗体结合靶标来确定前者是否与后者具有相同的特异性。如果所测试的单克隆抗体与本发明的单克隆抗体竞争,如通过本发明的单克隆抗体的结合降低所示,则两种单克隆抗体结合相同或紧密相关的表位。用于确定单克隆抗体是否具有本发明的单克隆抗体的特异性的替代方法是将本发明的单克隆抗体与靶标预孵育,然后添加待测试的单克隆抗体,以确定所测试的单克隆抗体在其结合靶标的能力方面是否被抑制。如果所测试的单克隆抗体被抑制,则很可能地,其具有与本发明的单克隆抗体相同或功能等同的表位特异性。

[0792] 多特异性可活化抗体

[0793] 本发明还提供多特异性抗PD-1可活化抗体。本文提供的多特异性可活化抗体是这样的多特异性抗体,其识别PD-1和至少一种或多种不同的抗原或表位,且包括至少一个掩蔽部分(MM),所述掩蔽部分与多特异性抗体的至少一个抗原或表位结合结构域连接,使得MM的偶联降低抗原或表位结合结构域结合其靶标的能力。在一些实施方案中,MM经由作为至少一种蛋白酶的底物发挥功能的可切割部分(CM)与多特异性抗体的抗原或表位结合结构域偶联。本文提供的可活化多特异性抗体在循环中是稳定的,在预期的治疗和/或诊断部位处被活化,但在正常(即健康)组织中不被活化,并且当被活化时展现与相应的未修饰的多特异性抗体至少相当的与靶标的结合。

[0794] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体经设计以衔接免疫效应细胞,在本文中也称为免疫效应细胞衔接多特异性可活化抗体。在一些实施方案中,多特异性可活化抗体经设计以衔接白细胞,在本文中也称为白细胞衔接多特异性可活化抗体。在一些实施方案中,多特异性可活化抗体经设计以衔接T-细胞,在本文中也称为T-细胞衔接多特异性可活化抗体。在一些实施方案中,多特异性可活化抗体衔接白细胞(诸如T-细胞、天然杀伤(NK)细胞、骨髓单核细胞、巨噬细胞和/或另一种免疫效应细胞)上的表面抗原。在一些实施方案中,免疫效应细胞是白细胞。在一些实施方案中,免疫效应细胞是T-细胞。在一些实施方案中,免疫效应细胞是NK细胞。在一些实施方案中,免疫效应细胞是单核细胞,诸如骨髓单核细胞。在一些实施方案中,多特异性可活化抗体经设计以与多于一种靶标和/或多于一种表位结合或以其他方式相互作用,在本文中也称为多抗原靶向可活化抗体。如本文所用,术语“靶标”和“抗原”可互换使用。

[0795] 在一些实施方案中,本发明的免疫效应细胞衔接多特异性可活化抗体包括结合PD-1的靶向抗体或其抗原结合片段和免疫效应细胞衔接抗体或其抗原结合部分,其中靶向抗体或其抗原结合片段和/或免疫效应细胞衔接抗体或其抗原结合部分中的至少一种被掩蔽。在一些实施方案中,免疫效应细胞衔接抗体或其抗原结合片段包括结合第一免疫效应细胞衔接靶标的第一抗体或其抗原结合片段(AB1),其中AB1与掩蔽部分(MM1)连接,使得

MM1的偶联降低AB1结合第一靶标的能力。在一些实施方案中,靶向抗体或其抗原结合片段包括第二抗体或其片段,其包括结合PD-1的第二抗体或其抗原结合片段(AB2),其中AB2与掩蔽部分(MM2)连接,使得MM2的偶联降低AB2结合PD-1的能力。在一些实施方案中,免疫效应细胞衔接抗体或其抗原结合片段包括结合第一免疫效应细胞衔接靶标的第一抗体或其抗原结合片段(AB1),其中AB1与掩蔽部分(MM1)连接,使得MM1的偶联降低AB1结合第一靶标的的能力,且靶向抗体或其抗原结合片段包括第二抗体或其片段,其包括结合PD-1的第二抗体或其抗原结合片段(AB2),其中AB2与掩蔽部分(MM2)连接,使得MM2的偶联降低AB2结合PD-1的能力。在一些实施方案中,非免疫效应细胞衔接抗体是癌症靶向抗体。在一些实施方案中,非免疫细胞效应抗体是IgG。在一些实施方案中,非免疫效应细胞衔接抗体是scFv。在一些实施方案中,PD-1靶向抗体(例如,非免疫细胞效应抗体)是IgG且免疫效应细胞衔接抗体是scFv。在一些实施方案中,免疫效应细胞是白细胞。在一些实施方案中,免疫效应细胞是T-细胞。在一些实施方案中,免疫效应细胞是NK细胞。在一些实施方案中,免疫效应细胞是骨髓单核细胞。

[0796] 在一些实施方案中,本发明的T-细胞衔接多特异性可活化抗体包括PD-1靶向抗体或其抗原结合片段和T-细胞衔接抗体或其抗原结合部分,其中PD-1靶向抗体或其抗原结合片段和/或T-细胞衔接抗体或其抗原结合部分中的至少一种被掩蔽。在一些实施方案中,T-细胞衔接抗体或其抗原结合片段包括结合第一T-细胞衔接靶标的第一抗体或其抗原结合片段(AB1),其中AB1与掩蔽部分(MM1)连接,使得MM1的偶联降低AB1结合第一靶标的的能力。在一些实施方案中,靶向抗体或其抗原结合片段包括第二抗体或其片段,其包括结合PD-1的第二抗体或其抗原结合片段(AB2),其中AB2与掩蔽部分(MM2)连接,使得MM2的偶联降低AB2结合PD-1的能力。在一些实施方案中,T-细胞衔接抗体或其抗原结合片段包括结合第一T-细胞衔接靶标的第一抗体或其抗原结合片段(AB1),其中AB1与掩蔽部分(MM1)连接,使得MM1的偶联降低AB1结合第一靶标的的能力,且靶向抗体或其抗原结合片段包括第二抗体或其片段,其包括结合PD-1的第二抗体或其抗原结合片段(AB2),其中AB2与掩蔽部分(MM2)连接,使得MM2的偶联降低AB2结合PD-1的能力。

[0797] 在免疫效应细胞衔接多特异性可活化抗体的一些实施方案中,一种抗原是PD-1,且另一种抗原通常是存在于T-细胞、天然杀伤(NK)细胞、骨髓单核细胞、巨噬细胞和/或其他免疫效应细胞的表面上的刺激性或抑制性受体,诸如,但不限于B7-H4、BTLA、CD3、CD4、CD8、CD16a、CD25、CD27、CD28、CD32、CD56、CD137、CTLA-4、GITR、HVEM、ICOS、LAG3、NKG2D、OX40、TIGIT、TIM3或VISTA。在一些实施方案中,抗原是存在于T细胞或NK细胞的表面上的刺激性受体;这样的刺激性受体的实例包括,但不限于CD3、CD27、CD28、CD137(也称为4-1BB)、GITR、HVEM、ICOS、NKG2D和OX40。在一些实施方案中,抗原是存在于T细胞的表面上的抑制性受体;这样的抑制性受体的实例包括,但不限于BTLA、CTLA-4、LAG3、TIGIT、TIM3和NK-表达的KIRs。赋予对T-细胞表面抗原特异性的抗体结构域还可以被配体或配体结构域取代,所述配体或配体结构域结合T细胞受体、NK细胞受体、巨噬细胞受体和/或其他免疫效应细胞受体,诸如例如但不限于B7-1、B7-2、B7H3、PDL1、PDL2或TNFSF9。

[0798] 在一些实施方案中,所述T细胞衔接多特异性可活化抗体包括抗CD3 ϵ (CD3 ϵ ,本文中也称为CD3 ϵ 和CD3) scFv和靶向抗体或其抗原结合片段,其中抗CD3 ϵ scFv和/或靶向抗体或其抗原结合片段中的至少一种被掩蔽。在一些实施方案中,CD3 ϵ scFv包括结合CD3 ϵ 的

第一抗体或其抗原结合片段 (AB1), 其中 AB1 与掩蔽部分 (MM1) 连接, 使得 MM1 的偶联降低 AB1 结合 CD3 ϵ 的能力。在一些实施方案中, 所述靶向抗体或其抗原结合片段包括第二抗体或其片段, 其包括结合 PD-1 的第二抗体或其抗原结合片段 (AB2), 其中 AB2 与掩蔽部分 (MM2) 连接, 使得 MM2 的偶联降低 AB2 结合 PD-1 的能力。在一些实施方案中, 所述 CD3 ϵ scFv 包括结合 CD3 ϵ 的第一抗体或其抗原结合片段 (AB1), 其中 AB1 与掩蔽部分 (MM1) 连接, 使得 MM1 的偶联降低 AB1 结合 CD3 ϵ 的能力, 且所述靶向抗体或其抗原结合片段包括第二抗体或其片段, 其包括结合 PD-1 的第二抗体或其抗原结合片段 (AB2), 其中 AB2 与掩蔽部分 (MM2) 连接, 使得 MM2 的偶联降低 AB2 结合 PD-1 的能力。

[0799] 在一些实施方案中, 多抗原靶向抗体和/或多抗原靶向可活化抗体至少包括结合第一靶标和/或第一表位的第一抗体或其抗原结合片段和结合第二靶标和/或第二表位的第二抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中, 多抗原靶向抗体和/或多抗原靶向可活化抗体结合两个或更多个不同的靶标。在一些实施方案中, 多抗原靶向抗体和/或多抗原靶向可活化抗体结合相同靶标上的两个或更多个不同的表位。在一些实施方案中, 多抗原靶向抗体和/或多抗原靶向可活化抗体结合两个或更多个不同的靶标和相同靶标上的两个或更多个不同的表位的组合。

[0800] 在一些实施方案中, 包含 IgG 的多特异性可活化抗体的 IgG 可变结构域被掩蔽。在一些实施方案中, 包含 scFv 的多特异性可活化抗体的 scFv 结构域被掩蔽。在一些实施方案中, 多特异性可活化抗体具有 IgG 可变结构域和 scFv 结构域两者, 其中 IgG 可变结构域中的至少一个与掩蔽部分偶联。在一些实施方案中, 多特异性可活化抗体具有 IgG 可变结构域和 scFv 结构域两者, 其中 scFv 结构域中的至少一个与掩蔽部分偶联。在一些实施方案中, 多特异性可活化抗体具有 IgG 可变结构域和 scFv 结构域两者, 其中 IgG 可变结构域中的至少一个与掩蔽部分偶联, 且 scFv 结构域中的至少一个与掩蔽部分偶联。在一些实施方案中, 多特异性可活化抗体具有 IgG 可变结构域和 scFv 结构域两者, 其中 IgG 可变结构域和 scFv 结构域中的每个与其自身的掩蔽部分偶联。在一些实施方案中, 多特异性可活化抗体的一个抗体结构域具有对靶抗原的特异性, 且另一个抗体结构域具有对 T-细胞表面抗原的特异性。在一些实施方案中, 多特异性可活化抗体的一个抗体结构域具有对靶抗原的特异性, 且另一个抗体结构域具有对另一个靶抗原的特异性。在一些实施方案中, 多特异性可活化抗体的一个抗体结构域具有对靶抗原的一个表位的特异性, 且另一个抗体结构域具有对靶抗原的另一个表位的特异性。

[0801] 在多特异性可活化抗体中, scFv 可以与 IgG 可活化抗体的重链的羧基末端、与 IgG 可活化抗体的轻链的羧基末端、或与 IgG 可活化抗体的重链和轻链两者的羧基末端融合。在多特异性可活化抗体中, scFv 可以与 IgG 可活化抗体的重链的氨基末端、与 IgG 可活化抗体的轻链的氨基末端、或与 IgG 可活化抗体的重链和轻链两者的氨基末端融合。在多特异性可活化抗体中, scFv 可以与 IgG 可活化抗体的一个或多个羧基末端和一个或多个氨基末端的任何组合融合。在一些实施方案中, 与可切割部分 (CM) 连接的掩蔽部分 (MM) 连接至 IgG 的抗原结合结构域并使之掩蔽。在一些实施方案中, 与可切割部分 (CM) 连接的掩蔽部分 (MM) 连接至至少一个 scFv 的抗原结合结构域并使之掩蔽。在一些实施方案中, 与可切割部分 (CM) 连接的掩蔽部分 (MM) 连接至 IgG 的抗原结合结构域并使之掩蔽, 且与可切割部分 (CM) 连接的掩蔽部分 (MM) 连接至至少一个 scFv 的抗原结合结构域并使之掩蔽。

[0802] 本发明提供了多特异性可活化抗体结构的实例,其包括但不限于以下: $(VL-CL)_2$: $(VH-CH1-CH2-CH3-L4-VH*-L3-VL*-L2-CM-L1-MM)_2$; $(VL-CL)_2$: $(VH-CH1-CH2-CH3-L4-VL*-L3-VH*-L2-CM-L1-MM)_2$; $(MM-L1-CM-L2-VL-CL)_2$: $(VH-CH1-CH2-CH3-L4-VH*-L3-VL*)_2$; $(MM-L1-CM-L2-VL-CL)_2$: $(VH-CH1-CH2-CH3-L4-VL*-L3-VH*)_2$; $(VL-CL)_2$: $(MM-L1-CM-L2-VL*-L3-VH*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2$; $(VL-CL)_2$: $(MM-L1-CM-L2-VH*-L3-VL*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2$; $(MM-L1-CM-L2-VL-CL)_2$: $(VL*-L3-VH*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2$; $(MM-L1-CM-L2-VL-CL)_2$: $(VH*-L3-VL*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2$; $(VL-CL-L4-VH*-L3-VL*-L2-CM-L1-MM)_2$: $(VH-CH1-CH2-CH3)_2$; $(VL-CL-L4-VL*-L3-VH*-L2-CM-L1-MM)_2$: $(VH-CH1-CH2-CH3)_2$; $(MM-L1-CM-L2-VL*-L3-VH*-L4-VL-CL)_2$: $(VH-CH1-CH2-CH3)_2$; $(MM-L1-CM-L2-VH*-L3-VL*-L4-VL-CL)_2$: $(VH-CH1-CH2-CH3)_2$; $(VL-CL-L4-VH*-L3-VL*-L2-CM-L1-MM)_2$: $(MM-L1-CM-L2-VL*-L3-VH*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2$; $(VL-CL-L4-VH*-L3-VL*-L2-CM-L1-MM)_2$: $(MM-L1-CM-L2-VH*-L3-VL*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2$; $(VL-CL-L4-VL*-L3-VH*-L2-CM-L1-MM)_2$: $(MM-L1-CM-L2-VL*-L3-VH*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2$; $(VL-CL-L4-VL*-L3-VH*-L2-CM-L1-MM)_2$: $(MM-L1-CM-L2-VL*-L3-VH*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2$; $(VL-CL-L4-VH*-L3-VL*)_2$: $(MM-L1-CM-L2-VL*-L3-VH*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2$; $(VL-CL-L4-VH*-L3-VL*)_2$: $(MM-L1-CM-L2-VH*-L3-VL*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2$; $(VL-CL-L4-VL*-L3-VH*)_2$: $(MM-L1-CM-L2-VL*-L3-VH*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2$; $(VL-CL-L4-VL*-L3-VH*)_2$: $(MM-L1-CM-L2-VH*-L3-VL*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2$; $(VL-CL-L4-VH*-L3-VL*-L2-CM-L1-MM)_2$: $(VL*-L3-VH*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2$; $(VL-CL-L4-VH*-L3-VL*-L2-CM-L1-MM)_2$: $(VH*-L3-VL*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2$; $(VL-CL-L4-VL*-L3-VH*-L2-CM-L1-MM)_2$: $(VH*-L3-VL*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2$; 或 $(VL-CL-L4-VL*-L3-VH*-L2-CM-L1-MM)_2$: $(VH*-L3-VL*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2$, 其中:VL和VH代表IgG中包含的具有第一特异性的轻链和重链可变结构域;VL*和VH*代表scFv中包含的具有第二特异性的可变结构域;L1是连接掩蔽部分(MM)和可切割部分(CM)的接头肽;L2是连接可切割部分(CM)和抗体的接头肽;L3是连接scFv的可变结构域的接头肽;L4是连接具有第一特异性的抗体与具有第二特异性的抗体的接头肽;CL是轻链恒定结构域;且CH1、CH2、CH3是重链恒定结构域。第一和第二特异性可以针对任何抗原或表位。

[0803] 在T细胞衔接多特异性可活化抗体的一些实施方案中,一种抗原是PD-1,且另一种抗原通常是存在于T-细胞、天然杀伤(NK)细胞、骨髓单核细胞、巨噬细胞和/或其他免疫效应细胞的表面上的刺激性(本文中也称为活化性)或抑制性受体,诸如,但不限于B7-H4、BTLA、CD3、CD4、CD8、CD16a、CD25、CD27、CD28、CD32、CD56、CD137(也称为TNFRSF9)、CTLA-4、GITR、HVEM、ICOS、LAG3、NKG2D、OX40、PD-1、TIGIT、TIM3或VISTA。赋予对T-细胞表面抗原特异性的抗体结构域还可以被配体或配体结构域取代,所述配体或配体结构域结合T细胞受体、NK细胞受体、巨噬细胞受体和/或其他免疫效应细胞受体。

[0804] 在一些实施方案中,所述靶向抗体是本文公开的抗PD-1抗体。在一些实施方案中,靶向抗体可呈可活化抗体的形式。在一些实施方案中,scFv可呈Pro-scFv的形式(参见例如WO 2009/025846、WO 2010/081173)。

[0805] 在一些实施方案中,scFv对于结合CD3 ϵ 是特异性的,并且包含或衍生自结合CD3 ϵ 的抗体或其片段,所述CD3 ϵ 例如CH2527、FN18、H2C、OKT3、2C11、UCHT1或V9。在一些实施方案中,scFv对于结合CTLA-4(本文也称为CTLA和CTLA4)是特异性的。

[0806] 在一些实施方案中,抗CTLA-4 scFv包括以下氨基酸序列:

[0807] GGGSGGGSGSGGGSGGGSGGGGEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYQSSPLTFGGGTKVEIKRSGGSTITSYINVY YTKLSSSGTQVQLVQVQGGGVVQPGRSLRLSCAASGSTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGGSGSTYYADSVKGR FTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCATNSLYWYFDLWGRGTLVTSSAS (SEQ ID NO: 585)。

[0808] 在一些实施方案中,抗CTLA-4 scFv包括与SEQ ID NO:585的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的氨基酸序列。

[0809] 在一些实施方案中,抗CD3 ϵ scFv包括以下氨基酸序列:

[0810] GGGSGGGSGSGGGSGGGSGGGQVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKRPGQGL EWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSGG GSGGGSGGGGSQIVLTQSPAISASPGEKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLAGVPAHFRG SSGSGTSYSLTISGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEINR (SEQ ID NO: 586)。

[0811] 在一些实施方案中,抗CD3 ϵ scFv包括与SEQ ID NO:586的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的氨基酸序列。

[0812] 在一些实施方案中,scFv对于结合一种或多种T细胞、一种或多种NK细胞和/或一种或多种巨噬细胞是特异性的。在一些实施方案中,scFv对于结合选自以下的靶标是特异性的:B7-H4、BTLA、CD3、CD4、CD8、CD16a、CD25、CD27、CD28、CD32、CD56、CD137、CTLA-4、GITR、HVEM、ICOS、LAG3、NKG2D、OX40、TIGIT、TIM3或VISTA。

[0813] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体还包括与AB缀合的试剂。在一些实施方案中,所述试剂是治疗剂。在一些实施方案中,所述试剂经由接头与多特异性可活化抗体缀合。在一些实施方案中,所述试剂经由可切割接头与AB缀合。在一些实施方案中,接头是不可切割接头。

[0814] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体还包括可检测部分。在一些实施方案中,所述可检测部分是诊断剂。

[0815] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体天然含有一个或多个二硫键。在一些实施方案中,多特异性可活化抗体可以进行工程改造以包括一个或多个二硫键。

[0816] 本发明还提供了编码本文所述的多特异性可活化抗体的分离的核酸分子,以及包括这些分离的核酸序列的载体。本发明提供了通过在导致表达可活化抗体的条件下培养细胞来产生多特异性可活化抗体的方法,其中所述细胞包含此核酸分子。在一些实施方案中,所述细胞包含此载体。

[0817] 本发明还提供了通过以下制备本发明的多特异性可活化抗体的方法:(a)在导致表达多特异性可活化抗体的条件下培养包含编码多特异性可活化抗体的核酸构建体的细胞,和(b)回收多特异性可活化抗体。合适的AB、MM和/或CM包括本文公开的AB、MM和/或CM中的任一种。

[0818] 本发明还提供了多特异性可活化抗体和/或多特异性可活化抗体组合物,其至少包括特异性结合第一靶标或第一表位的第一抗体或其抗原结合片段(AB1)和结合第二靶标或第二表位的第二抗体或其抗原结合片段(AB2),其中至少AB1与掩蔽部分(MM1)偶联或以其他方式连接,使得MM1的偶联降低AB1结合其靶标的能力。在一些实施方案中,MM1经由第一可切割部分(CM1)序列与AB1偶联,所述第一可切割部分(CM1)序列包括蛋白酶(例如,与

AB1的靶标在主体中的治疗部位或诊断部位处共定位的蛋白酶)的底物。本文提供的多特异性可活化抗体在循环中是稳定的,在预期的治疗和/或诊断部位处被活化,但在正常(即健康)组织中不被活化,并且当被活化时展现与相应的未修饰的多特异性抗体至少相当的与AB1的靶标的结合。合适的AB、MM和/或CM包括本文公开的AB、MM和/或CM中的任一种。

[0819] 本发明还提供了包括多特异性可活化抗体的组合物和方法,所述多特异性可活化抗体至少包括特异性结合靶标的第一抗体或抗体片段(AB1)和第二抗体或抗体片段(AB2),其中多特异性可活化抗体中的至少第一AB与降低AB1结合其靶标的能力的掩蔽部分(MM1)偶联。在一些实施方案中,每个AB与降低其相应的AB对每个靶标的能力的MM偶联。例如,在双特异性可活化抗体实施方案中,AB1与降低AB1结合其靶标的能力的第一掩蔽部分(MM1)偶联,且AB2与降低AB2结合其靶标的能力的第二掩蔽部分(MM2)偶联。在一些实施方案中,多特异性可活化抗体包含多于两个AB区域;在此类实施方案中,对于多特异性可活化抗体中的每个AB,AB1与降低AB1结合其靶标的能力的第一掩蔽部分(MM1)偶联,AB2与降低AB2结合其靶标的能力的第二掩蔽部分(MM2)偶联,AB3与降低AB3结合其靶标的能力的第三掩蔽部分(MM3)偶联等等。合适的AB、MM和/或CM包括本文公开的AB、MM和/或CM中的任一种。

[0820] 在一些实施方案中,多特异性可活化抗体还包括作为蛋白酶的底物的至少一种可切割部分(CM),其中CM连接MM与AB。例如,在一些实施方案中,多特异性可活化抗体至少包括特异性结合靶标的第一抗体或抗体片段(AB1)和第二抗体或抗体片段(AB2),其中多特异性可活化抗体中的至少第一AB经由第一可切割部分(CM1)与降低AB1结合其靶标的能力的掩蔽部分(MM1)偶联。在一些双特异性可活化抗体实施方案中,AB1经由CM1与MM1偶联,且AB2经由第二可切割部分(CM2)与降低AB2结合其靶标的能力的第二掩蔽部分(MM2)偶联。在一些实施方案中,多特异性可活化抗体包含多于两个AB区域;在这些实施方案的一些中,对于多特异性可活化抗体中的每个AB,AB1经由CM与MM1偶联,AB2经由CM2与MM2偶联,且AB3经由第三可切割部分(CM3)与降低AB3结合其靶标的能力的第三掩蔽部分(MM3)偶联等等。合适的AB、MM和/或CM包括本文公开的AB、MM和/或CM中的任一种。

[0821] 具有非结合空间部分或非结合空间部分的结合配偶体的可活化抗体

[0822] 本发明还提供了包括非结合空间部分(NB)或非结合空间部分的结合配偶体(BP)的可活化抗体,其中BP招募或以其他方式将NB吸引至可活化抗体。本文提供的可活化抗体包括例如包括非结合空间部分(NB)、可切割接头(CL)和结合靶标的抗体或抗体片段(AB)的可活化抗体;包括非结合空间部分的结合配偶体(BP)、CL和AB的可活化抗体;和包括已经招募NB的BP、CL和结合靶标的AB的可活化抗体。其中NB与可活化抗体的CL和AB共价连接或通过与可活化抗体的CL和AB共价连接的BP相互作用而缔合的可活化抗体在本文中称为“含有NB的可活化抗体”。可活化或可变换的意指可活化抗体当可活化抗体在抑制、掩蔽或未切割状态下(即,第一构象)时展现与靶标的第一结合水平,且当可活化抗体在未抑制、未掩蔽和/或切割状态下(即,第二构象,即,活化的抗体)时展现与靶标的第二结合水平,其中第二靶标结合水平大于第一靶标结合水平。与常规抗体治疗剂相比,可活化抗体组合物可以展现增加的生物利用度和更有利的生物分布。

[0823] 在一些实施方案中,可活化抗体提供降低的毒性和/或不良副作用,如果AB未被掩蔽或以其他方式被抑制免于结合非治疗部位和/或非诊断部位,则所述毒性和/或不良副作用可以其他方式由在此部位处的结合导致。

[0824] 包括非结合空间部分 (NB) 的抗PD-1可活化抗体可以使用PCT公开号WO 2013/192546 (其内容以其整体通过引用并入本文) 中记载的方法制备。

[0825] 抗体和可活化抗体的用途

[0826] 应理解,本发明的治疗实体的施用将与合适的载体、赋形剂和并入制剂中以提供改进的转移、递送、耐受性等的其他试剂一起施用。大多数合适的制剂可见于所有制药化学家已知的药典:Remington's Pharmaceutical Sciences (第15版, Mack Publishing Company, Easton, PA (1975)),特别是其中Blaug, Seymour的第87章。这些制剂包括例如,粉剂、糊剂、软膏剂、凝胶剂、蜡、油、脂质、含脂质(阳离子或阴离子)的囊泡(诸如Lipofectin™)、DNA缀合物、无水吸收糊剂、水包油和油包水乳剂、乳剂聚乙二醇(各种分子量的聚乙二醇)、半固体凝胶和含有聚乙二醇的半固体混合物。任何前述的混合物可适合于本发明的治疗和疗法,条件是制剂中的活性成分未被制剂失活和制剂与施用途径在生理学上是相容和耐受的。对于与制药化学家众所周知的制剂、赋形剂和载体相关的其他信息,还参见Baldrick P. "Pharmaceutical excipient development: the need for preclinical guidance" Regul. Toxicol Pharmacol. 32(2):210-8 (2000);Wang W. "Lyophilization and development of solid protein pharmaceuticals" Int. J. Pharm. 203(1-2):1-60 (2000);Charman WN "Lipids, lipophilic drugs, and oral drug delivery-some emerging concepts" J Pharm Sci.89(8):967-78 (2000);Powell 等人"Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA J Pharm Sci Technol. 52:238-311 (1998) 和其中的引文。

[0827] 包括抗PD-1抗体和/或可活化抗PD-1抗体、诸如通过非限制性实例的方式、抗体和/或可活化抗体的本发明的治疗制剂用于预防、治疗或以其他方式改善与异常靶标表达和/或活性相关的疾病或病症。例如,包括抗体和/或可活化抗体的本发明的治疗制剂用于治疗或以其他方式改善癌症或其他肿瘤病况、炎症、炎性病症和/或自身免疫疾病。在一些实施方案中,癌症是其中表达靶标的实体肿瘤或血液恶性肿瘤。在一些实施方案中,癌症是其中表达靶标的实体肿瘤。在一些实施方案中,癌症是其中表达靶标的血液恶性肿瘤。在一些实施方案中,靶标在薄壁组织上(例如,在癌症中,通常实施器官或组织的功能的器官或组织的部分)表达。在一些实施方案中,靶标在细胞、组织或器官上表达。在一些实施方案中,靶标在基质(即,细胞、组织或器官的结缔支持构架)上表达。在一些实施方案中,靶标在成骨细胞上表达。在一些实施方案中,靶标在内皮(血管系统)上表达。在一些实施方案中,靶标在癌干细胞上表达。

[0828] 与用于诊断或治疗与靶标表达和/或活性(诸如例如异常的靶标表达和/或活性)相关的疾病或病症的任何已知方法相关地确定预防、改善或治疗的有效性。在主体中延长主体的存活或以其他方式延迟与靶标表达和/或活性(例如异常的靶标表达和/或活性)相关的疾病或病症的进展表明抗体和/或可活化抗体赋予临床益处。

[0829] 抗体和/或可活化抗体可以以药物组合物的形式施用。制备此类组合物中涉及的原理和考量以及组分选择的指导提供于例如Remington:The Science and Practice Of Pharmacy第19版(Alfonso R. Gennaro, 等人编辑) Mack Pub. Co., Easton, Pa. : 1995;Drug Absorption Enhancement : Concepts, Possibilities, Limitations, and Trends, Harwood Academic Publishers, Langhorne, Pa., 1994;和Peptide and

Protein Drug Delivery (Advances In Parenteral Sciences, Vol. 4), 1991, M. Dekker, New York.

[0830] 在其中使用抗体片段的一些实施方案中,选择特异性结合靶标蛋白的结合结构域的最小片段。例如,根据抗体的可变区序列,可设计保留结合靶标蛋白序列的能力的肽分子。此类肽可经化学合成和/或通过重组DNA技术产生。(参见例如,Marasco等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 7889-7893 (1993))。所述制剂还可含有所治疗的特定适应症所必需的超过一种活性化合物,例如,在一些实施方案中,具有补充活性的那些,它们不会不利地彼此影响。在一些实施方案中或另外,组合物可包含提高其功能的试剂,诸如例如细胞毒性剂、细胞因子、化学治疗剂或生长抑制剂。此类分子以对预期目的有效的量合适地组合存在。

[0831] 活性成分也可被包封在微囊中,所述微囊在胶体药物递送系统(例如脂质体、白蛋白微球、微乳剂、纳米粒和纳米囊)或大乳剂中例如通过凝聚技术或通过界面聚合(例如分别为羟甲基纤维素或明胶-微囊和聚-(甲基丙烯酸甲酯)微囊)制备。

[0832] 待用于体内施用的制剂必须是无菌的。这通过无菌滤膜过滤容易实现。

[0833] 可制备持续释放制剂。持续释放制剂的合适的实例包括含有抗体的固体疏水聚合物的半透性基质,所述基质呈成型物的形式,例如,膜或微囊。持续释放基质的实例包括聚酯、水凝胶(例如聚(甲基丙烯酸-2-羟乙酯)或聚(乙烯醇))、聚乳酸(美国专利号3,773,919)、L-谷氨酸和 γ 乙基-L-谷氨酸酯的共聚物、不可降解的乙烯-乙酸乙烯酯、可降解的乳酸-羟乙酸共聚物诸如LUPRON DEPOT™(由乳酸-羟乙酸共聚物和醋酸亮丙瑞林构成的可注射微球)和聚-D-(-)-3-羟基丁酸。尽管聚合物诸如乙烯-乙酸乙烯酯和乳酸-羟乙酸能够释放分子超过100天,但某些水凝胶释放蛋白较短的时间。

[0834] 在一些实施方案中,抗体和/或可活化抗体含有可检测标记。使用完整抗体或其片段(例如Fab、scFv或F(ab)₂)。对于探针或抗体,术语“标记的”意欲包括通过偶联(即物理连接)可检测的物质与探针或抗体直接标记探针或抗体,以及通过与直接标记的另一试剂的反应性间接标记探针或抗体。间接标记的实例包括使用荧光标记的第二抗体检测第一抗体,和用生物素末端标记DNA探针使得其可用荧光标记的链霉亲和素检测。术语“生物样品”意欲包括自主体分离的组织、细胞和生物流体,以及在主体内存在的组织、细胞和流体。因此,血液和血液级分或组分(包括血清、血浆或淋巴)包括在术语“生物样品”的用法内。即,本发明的检测方法可用于体外以及体内检测生物样品中的分析物mRNA、蛋白或基因组DNA。例如,用于检测分析物mRNA的体外技术包括Northern杂交和原位杂交。用于检测分析物蛋白的体外技术包括酶联免疫吸附测定法(ELISA)、Western印迹、免疫沉淀、免疫化学染色和免疫荧光。用于检测分析物基因组DNA的体外技术包括Southern杂交。用于进行免疫测定的程序描述于例如“ELISA: Theory and Practice: Methods in Molecular Biology”, Vol. 42, J. R. Crowther (编辑) Human Press, Totowa, NJ, 1995;“Immunoassay”, E. Diamandis和T. Christopoulos, Academic Press, Inc., San Diego, CA, 1996;和“Practice and Theory of Enzyme Immunoassays”, P. Tijssen, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1985。此外,用于检测分析物蛋白的体内技术包括将标记的抗分析物蛋白抗体引入主体。例如,抗体可用放射性标记物进行标记,在主体中所述标记物的存在和位置可通过标准成像技术检测。

[0835] 本发明的抗体和/或可活化抗体还可用于各种诊断性和预防性制剂。在一个实施方案中,将抗体和/或可活化抗体施用于处于发生一种或多种前述病症的风险的患者。患者或器官对一种或多种前述病症的易感性可使用基因型、血清学或生物化学标记物确定。

[0836] 在本发明的一些实施方案中,将抗体和/或可活化抗体施用于诊断患有与一种或多种前述病症相关的临床适应症的人个体。在诊断后,施用抗体和/或可活化抗体以减轻或逆转临床适应症的影响。

[0837] 本发明的抗体和/或可活化抗体还可用于检测患者样品中的靶标且因此可用作诊断剂。例如,本发明的抗体和/或可活化抗体及其缀合版本用于体外测定法,例如,ELISA,以检测患者样品中的靶标水平。

[0838] 在一些实施方案中,将抗PDL1抗体用作这样的患者的诊断剂,所述患者更可能有利地对用本发明的抗PD-1抗体和/或可活化抗体治疗相应。在这些实施方案中,将在肿瘤细胞和浸润性免疫细胞上肿瘤活检样品中的PD-L1表达和血液中免疫细胞上的PD-L1表达用于表示存在主动免疫,和因此存在经通过PD-L1的PD-1衔接抑制T细胞活性的可能性。

[0839] 在一个实施方案中,本发明的抗体、缀合的抗体、可活化抗体和/或缀合的可活化抗体固定在固体支持物(例如,微量滴定板的孔)上。固定的抗体、缀合的抗体、可活化抗体和/或缀合的可活化抗体用作测试样品中可存在的任何靶标的捕获抗体。将固定的抗体和/或可活化抗体和/或其缀合版本与患者样品接触之前,将固体支持物清洗,和用封闭试剂诸如乳蛋白或白蛋白处理以防止分析物的非特异性吸附。

[0840] 随后,将孔用疑似含有抗原的测试样品或用含有标准量的抗原的溶液处理。此样品是例如来自疑似具有被认为是病理诊断的循环抗原水平的主体的血清样品。在洗去测试样品或标准品后,固体支持物用可检测标记的第二抗体处理。标记的第二抗体用作检测抗体。测量可检测标记的水平,测试样品中靶抗原的浓度通过与自标准样品产生的标准曲线相比较来测定。

[0841] 应理解,基于在体外诊断测定法中使用本发明的抗体和可活化抗体及其缀合版本获得的结果,可能基于靶抗原的表达水平将主体的疾病分期。对于给定的疾病,从诊断为处于疾病进展中的各种阶段和/或处于疾病的治疗处理中的各个点的主体获取血液样品。使用对进展或治疗的各阶段提供统计学显著结果的一组样品,指定可被认为是各阶段的特征的抗原的浓度范围。

[0842] 抗体、缀合的抗体、可活化抗体和/或缀合的可活化抗体还可用于诊断和/或成像方法。在一些实施方案中,此类方法为体外方法。在一些实施方案中,此类方法为体内方法。在一些实施方案中,此类方法为原位方法。在一些实施方案中,此类方法为离体方法。例如,具有酶促可切割的CM的可活化抗体可用于检测能够切割CM的酶的存在或不存在。此类可活化抗体可用于诊断,其可包括通过在给定宿主生物体的给定细胞或组织中测量的活化的抗体(即,由可活化抗体的切割所产生的抗体)的累积,体内检测(例如定性或定量)酶活性(或者在一些实施方案中,还原电位增加的环境,诸如其可提供二硫键的还原)。活化的抗体的此累积不仅表明所述组织表达酶活性(或增加的还原电位,取决于CM的性质),而且还表明所述组织表达活化的抗体结合的靶标。

[0843] 例如,可选择CM为在肿瘤部位处、在病毒或细菌感染部位处、在生物学限制的部位处(诸如在脓肿中、在器官中等)等存在的至少一种蛋白酶的底物。AB可以是结合靶抗原的

AB。使用如本文公开的方法,或当适当时,本领域技术人员熟悉的方法,可检测的标记(例如荧光标记或放射性标记或放射性示踪剂)可与AB或抗体和/或可活化抗体的其他区域缀合。合适的可检测的标记在上述筛选方法的文中进行讨论,且其他具体的实例在下文提供。使用对疾病状态的蛋白或肽特异性的AB以及在目标疾病组织中其活性升高的至少一种蛋白酶,可活化抗体将表现出相对于其中CM特异性的酶不以可检测的水平存在或以比在疾病组织中低的水平存在或无活性(例如,呈酶原形式或与抑制剂复合)的组织,对疾病组织的结合率增加。因为小的蛋白和肽从血液中通过肾过滤系统快速清除,且因为对CM特异性的酶不以可检测的水平存在(或在非疾病组织中以较低水平存在或以无活性构象存在),在疾病组织中活化的抗体的累积相对于非疾病组织提高。

[0844] 在另一个实例中,可活化抗体可用于检测样品中切割剂的存在或不存在。例如,在可活化抗体含有对酶切割敏感的CM的情况下,可活化抗体可用于检测(定性地或定量地)样品中酶的存在。在另一个实例中,在可活化抗体含有对还原剂切割敏感的CM的情况下,可活化抗体可用于检测(定性地或定量地)样品中还原条件的存在。为了便于在这些方法中分析,可活化抗体可经可检测标记,且可结合至支持物(例如,固体支持物,诸如载片或珠粒)。可检测的标记可置于在切割后不释放的可活化抗体的部分上,例如可检测的标记可以是直到发生切割时才可检测的猝灭的荧光标记或其他标记。测定法可如下进行:例如通过使固定的可检测标记的可活化抗体与疑似含有酶和/或还原剂的样品接触足以发生切割的一段时间,然后洗涤以除去过量的样品和污染物。然后通过在与样品接触之前可活化抗体的可检测信号的变化,例如由于样品中的切割剂切割可活化抗体导致的可检测信号的存在和/或增加,评价在样品中切割剂(例如酶或还原剂)的存在或不存在。

[0845] 此类检测方法可适合于还提供当切割时能够结合可活化抗体的AB的靶标的存在或不存在的检测。因此,所述测定法可适合于评价切割剂的存在或不存在和目标靶标的存在或不存在。切割剂的存在或不存在可通过上述可活化抗体的可检测的标记的存在和/或增加来检测,且靶标的存在或不存在可通过检测靶标-AB复合物,例如通过使用可检测标记的抗靶标抗体来检测。

[0846] 可活化抗体还可用于原位成像以验证可活化抗体活化(例如通过蛋白酶切割)和与特定靶标的结合。原位成像是能够在生物样品诸如细胞培养物或组织切片中定位蛋白水解活性和靶标的技术。使用该技术,可能基于可检测的标记(例如荧光标记)的存在证实与给定靶标的结合和蛋白水解活性两者。

[0847] 这些技术可用于源自疾病部位(例如肿瘤组织)或健康组织的任何冷冻细胞或组织。这些技术还可用于新鲜细胞或组织样品。

[0848] 在这些技术中,可活化抗体用可检测的标记进行标记。可检测的标记可以是荧光染料(例如荧光团、异硫氰酸荧光素(FITC)、异硫氰酸若丹明(TRITC)、Alexa Fluor® 标记)、近红外(NIR)染料(例如Qdot® 纳米晶体)、胶体金属、半抗原、放射性标记物、生物素和放大试剂例如链霉亲和素或酶(诸如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶)。

[0849] 已与标记的可活化抗体孵育的样品中标记的检测表明,样品含有靶标和含有对可活化抗体的CM特异性的蛋白酶。在一些实施方案中,蛋白酶的存在可使用广谱蛋白酶抑制剂诸如本文描述的那些和/或通过使用对蛋白酶特异性的试剂(例如抗体诸如A11,其对蛋白酶基质蛋白酶特异性并抑制基质蛋白酶的蛋白水解活性;参见例如,公开于2010年11月

11日的国际公开号WO 2010/129609来证实。使用广谱蛋白酶抑制剂诸如本文描述的那些和/或通过使用更有选择性的抑制剂的相同方法可用于鉴定对可活化抗体的CM特异性的蛋白酶。在一些实施方案中,靶标的存在可使用对靶标特异性的试剂(例如另一种抗体)来证实,或可检测的标记可与未标记的靶标竞争。在一些实施方案中,未标记的可活化抗体可用于通过标记的第二抗体或更复杂的检测系统进行的检测。

[0850] 类似的技术也可用于体内成像,其中在主体(例如哺乳动物,包括人类)中荧光信号的检测表明疾病部位包含靶标和包含对可活化抗体的CM特异性的蛋白酶。

[0851] 这些技术还可用于试剂盒和/或用作试剂以基于可活化抗体中的蛋白酶特异性CM在各种细胞、组织和生物体中检测、鉴定或表征蛋白酶活性。

[0852] 本发明提供了在各种诊断和/或预防适应症中使用抗体和/或可活化抗体的方法。例如,本发明提供了通过如下检测主体或样品中切割剂和目标靶标的存在或不存在的方法:(i)使主体或样品与可活化抗体接触,其中所述可活化抗体包含掩蔽部分(MM)、被切割剂(例如,蛋白酶)切割的可切割部分(CM)和特异性结合目标靶标的抗原结合结构域或其片段(AB),其中未切割的非活化状态下的可活化抗体具有如下的N-末端至C-末端的结构排列:MM-CM-AB或AB-CM-MM;(a)其中MM是抑制AB与靶标的结合的肽,且其中MM不具有AB的天然存在的结合配偶体的氨基酸序列且不是AB的天然结合配偶体的修饰形式;且(b)其中在未切割的非活化状态下,MM干扰AB与靶标的特异性结合,且在切割的活化状态下,MM不干扰AB特异性结合靶标或不与AB竞争特异性结合靶标;和(ii)测量主体或样品中的活化的可活化抗体的水平,其中主体或样品中的活化的可活化抗体的可检测水平表明切割剂和靶标存在于主体或样品中,且其中主体或样品中的活化的可活化抗体的不可检测水平表明切割剂、靶标或切割剂和靶标两者不存在和/或不充分地存在于主体或样品中。在一些实施方案中,所述可活化抗体是与治疗剂缀合的可活化抗体。在一些实施方案中,所述可活化抗体不与试剂缀合。在一些实施方案中,所述可活化抗体包含可检测标记。在一些实施方案中,所述可检测标记位于AB上。在一些实施方案中,测量主体或样品中的可活化抗体的水平使用特异性结合可活化抗体的第二试剂来实现,其中所述试剂包含可检测标记。在一些实施方案中,所述第二试剂是包含可检测标记的抗体。

[0853] 本发明还提供了通过如下检测主体或样品中切割剂的存在或不存在的方法:(i)在目标靶标(例如靶标)存在的情况下使主体或样品与可活化抗体接触,其中所述可活化抗体包含掩蔽部分(MM)、被切割剂(例如,蛋白酶)切割的可切割部分(CM)和特异性结合目标靶标的抗原结合结构域或其片段(AB),其中未切割的非活化状态下的可活化抗体具有如下的N-末端至C-末端的结构排列:MM-CM-AB或AB-CM-MM;(a)其中MM是抑制AB与靶标的结合的肽,且其中MM不具有AB的天然存在的结合配偶体的氨基酸序列且不是AB的天然结合配偶体的修饰形式;且(b)其中在未切割的非活化状态下,MM干扰AB与靶标的特异性结合,且在切割的活化状态下,MM不干扰AB特异性结合靶标或不与AB竞争特异性结合靶标;和(ii)测量主体或样品中的活化的可活化抗体的水平,其中主体或样品中的活化的可活化抗体的可检测水平表明切割剂存在于主体或样品中,且其中主体或样品中的活化的可活化抗体的不可检测水平表明切割剂不存在和/或不充分地存在于主体或样品中。在一些实施方案中,所述可活化抗体是与治疗剂缀合的可活化抗体。在一些实施方案中,所述可活化抗体不与试剂缀合。在一些实施方案中,所述可活化抗体包含可检测标记。在一些实施方案中,所述可检

测标记位于AB上。在一些实施方案中,测量主体或样品中的可活化抗体的水平使用特异性结合可活化抗体的第二试剂来实现,其中所述试剂包含可检测标记。在一些实施方案中,所述第二试剂是包含可检测标记的抗体。

[0854] 本发明还提供了用于检测主体或样品中切割剂和靶标的存在或不存在的方法中的试剂盒,其中所述试剂盒至少包括可活化抗体,所述可活化抗体包含掩蔽部分(MM)、被切割剂(例如,蛋白酶)切割的可切割部分(CM)和特异性结合目标靶标的抗原结合结构域或其片段(AB),其中未切割的非活化状态下的可活化抗体具有如下的N-末端至C-末端的结构排列:MM-CM-AB或AB-CM-MM;(a)其中MM是抑制AB与靶标的结合的肽,且其中MM不具有AB的天然存在的结合配偶体的氨基酸序列且不是AB的天然结合配偶体的修饰形式;且(b)其中在未切割的非活化状态下,MM干扰AB与靶标的特异性结合,且在切割的活化状态下,MM不干扰AB特异性结合靶标或不与AB竞争特异性结合靶标;和(ii)测量主体或样品中的活化的可活化抗体的水平,其中主体或样品中的活化的可活化抗体的可检测水平表明切割剂存在于主体或样品中,且其中主体或样品中的活化的可活化抗体的不可检测水平表明切割剂不存在和/或不充分地存在于主体或样品中。在一些实施方案中,所述可活化抗体是与治疗剂缀合的可活化抗体。在一些实施方案中,所述可活化抗体不与试剂缀合。在一些实施方案中,所述可活化抗体包含可检测标记。在一些实施方案中,所述可检测标记位于AB上。在一些实施方案中,测量主体或样品中的可活化抗体的水平使用特异性结合可活化抗体的第二试剂来实现,其中所述试剂包含可检测标记。在一些实施方案中,所述第二试剂是包含可检测标记的抗体。

[0855] 本发明还提供了通过如下检测主体或样品中切割剂的存在或不存在的方法:(i)使主体或样品与可活化抗体接触,其中可活化抗体包含掩蔽部分(MM)、被切割剂(例如,蛋白酶)切割的可切割部分(CM)、特异性结合靶标的抗原结合结构域(AB)和可检测标记,其中未切割的非活化状态下的可活化抗体具有如下的N-末端至C-末端的结构排列:MM-CM-AB或AB-CM-MM;其中MM是抑制AB与靶标的结合的肽,且其中MM不具有AB的天然存在的结合配偶体的氨基酸序列且不是AB的天然结合配偶体的修饰形式;其中在未切割的非活化状态下,MM干扰AB与靶标的特异性结合,且在切割的活化状态下,MM不干扰AB特异性结合靶标或不与AB竞争特异性结合靶标;且其中可检测标记位于可活化抗体的部分上,其在切割CM后释放;和(ii)测量主体或样品中的可检测标记的水平,其中主体或样品中的可检测标记的可检测水平表明切割剂不存在和/或不充分地存在于主体或样品中,且其中主体或样品中的可检测标记的不可检测水平表明切割剂存在于主体或样品中。在一些实施方案中,所述可活化抗体是与治疗剂缀合的可活化抗体。在一些实施方案中,所述可活化抗体不与试剂缀合。在一些实施方案中,所述可活化抗体包含可检测标记。在一些实施方案中,所述可检测标记位于AB上。在一些实施方案中,测量主体或样品中的可活化抗体的水平使用特异性结合可活化抗体的第二试剂来实现,其中所述试剂包含可检测标记。在一些实施方案中,所述第二试剂是包含可检测标记的抗体。

[0856] 本发明还提供了用于检测主体或样品中切割剂和靶标的存在或不存在的方法中的试剂盒,其中所述试剂盒包括至少用于接触主体或生物样品的本文所述的可活化抗体和/或缀合的可活化抗体(缀合治疗剂的可活化抗体)以及用于检测主体或生物样品中的活化的可活化抗体和/或缀合的可活化抗体的水平的装置,其中主体或生物样品中的活化的

可活化抗体的可检测水平表明切割剂和靶标存在于主体或生物样品中,且其中主体或生物样品中的活化的可活化抗体的不可检测水平表明切割剂、靶标或切割剂和靶标两者不存在和/或不充分地存在于主体或生物样品中,使得在主体或生物样品中不能检测到可活化抗体的靶标结合和/或蛋白酶切割。

[0857] 本发明还提供了通过如下检测主体或样品中切割剂的存在或不存在的方法:(i)在靶标存在的情况下使主体或生物样品与可活化抗体接触,且(ii)测量主体或生物样品中的活化的可活化抗体的水平,其中主体或生物样品中的活化的可活化抗体的可检测水平表明切割剂存在于主体或生物样品中,且其中主体或生物样品中的活化的可活化抗体的不可检测水平表明切割剂不存在和/或不以可检测水平充分存在于主体或生物样品中,使得在主体或生物样品中不能检测到可活化抗体的蛋白酶切割。此可活化抗体包括掩蔽部分(MM)、被切割剂(例如,蛋白酶)切割的可切割部分(CM)和特异性结合靶标的抗原结合结构域或其片段(AB),其中未切割(即非活化)状态下的可活化抗体具有如下的N-末端至C-末端的结构排列:MM-CM-AB或AB-CM-MM;(a)其中MM是抑制AB与靶标的结合的肽,且其中MM不具有AB的天然存在的结合配偶体的氨基酸序列;且(b)其中未切割状态下的可活化抗体的MM干扰AB与靶标的特异性结合,且其中切割(即活化)状态下的可活化抗体的MM不干扰或竞争AB与靶标的特异性结合。在一些实施方案中,可活化抗体是与治疗剂缀合的可活化抗体。在一些实施方案中,可活化抗体不与试剂缀合。在一些实施方案中,可检测标记与掩蔽部分连接。在一些实施方案中,可检测标记与蛋白酶切割位点N-末端的可切割部分连接。在一些实施方案中,AB的单一抗原结合位点被掩蔽。在其中本发明的抗体具有至少两个抗原结合位点的一些实施方案中,至少一个抗原结合位点被掩蔽且至少一个抗原结合位点未被掩蔽。在一些实施方案中,所有抗原结合位点都被掩蔽。在一些实施方案中,测量步骤包括使用包含可检测标记的二级试剂。

[0858] 本发明还提供了用于检测主体或样品中切割剂和靶标的存在或不存在的方法中的试剂盒,其中所述试剂盒包括至少本文所述的可活化抗体和/或缀合的可活化抗体,其用于使主体或生物样品与可活化抗体在靶标存在的情况下接触以及测量主体或生物样品中的活化的可活化抗体的水平,其中主体或生物样品中的活化的可活化抗体的可检测水平表明切割剂存在于主体或生物样品中,且其中主体或生物样品中的活化的可活化抗体的不可检测水平表明切割剂不存在和/或不以可检测水平充分存在于主体或生物样品中,使得在主体或生物样品中不能检测到可活化抗体的蛋白酶切割。此可活化抗体包括掩蔽部分(MM)、被切割剂(例如,蛋白酶)切割的可切割部分(CM)和特异性结合靶标的抗原结合结构域或其片段(AB),其中未切割(即非活化)状态下的可活化抗体具有如下的N-末端至C-末端的结构排列:MM-CM-AB或AB-CM-MM;(a)其中MM是抑制AB与靶标的结合的肽,且其中MM不具有AB的天然存在的结合配偶体的氨基酸序列;且(b)其中未切割状态下的可活化抗体的MM干扰AB与靶标的特异性结合,且其中切割(即活化)状态下的可活化抗体的MM不干扰或竞争AB与靶标的特异性结合。在一些实施方案中,可活化抗体是与治疗剂缀合的可活化抗体。在一些实施方案中,可活化抗体不与试剂缀合。在一些实施方案中,可检测标记与掩蔽部分连接。在一些实施方案中,可检测标记与蛋白酶切割位点N-末端的可切割部分连接。在一些实施方案中,AB的单一抗原结合位点被掩蔽。在其中本发明的抗体具有至少两个抗原结合位点的一些实施方案中,至少一个抗原结合位点被掩蔽且至少一个抗原结合位点未被掩蔽。

在一些实施方案中,所有抗原结合位点都被掩蔽。在一些实施方案中,测量步骤包括使用包含可检测标记的二级试剂。

[0859] 本发明还提供了用于检测主体或样品中切割剂的存在或不存在的方法中的试剂盒,其中所述试剂盒包括至少用于接触主体或生物样品的本文所述的可活化抗体和/或缀合的可活化抗体以及用于检测主体或生物样品中的活化的可活化抗体和/或缀合的可活化抗体的水平的装置,其中可活化抗体包括位于可活化抗体的部分上的可检测标记,所述可检测标记在切割CM后释放,其中主体或生物样品中的活化的可活化抗体的可检测水平表明切割剂不存在和/或不充分地存在于主体或生物样品中,使得在主体或生物样品中不能检测到可活化抗体的靶标结合和/或蛋白酶切割,且其中主体或生物样品中的活化的可活化抗体的不可检测水平表明切割剂以可检测水平存在于主体或生物样品中。

[0860] 本发明提供了通过如下检测主体或样品中切割剂和靶标的存在或不存在的方法:
(i) 使主体或生物样品与可活化抗体接触,其中可活化抗体包括位于可活化抗体的部分上的可检测标记,所述可检测标记在切割CM后释放,且(ii) 测量主体或生物样品中的活化的可活化抗体的水平,其中主体或生物样品中的活化的可活化抗体的可检测水平表明切割剂、靶标或切割剂和靶标两者不存在和/或不充分地存在于主体或生物样品中,使得在主体或生物样品中不能检测到可活化抗体的靶标结合和/或蛋白酶切割,且其中主体或生物样品中的活化的可活化抗体的降低的可检测水平表明切割剂和靶标存在于主体或生物样品中。可检测标记的降低水平为,例如,降低约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%和/或约100%。此可活化抗体包括掩蔽部分(MM)、被切割剂切割的可切割部分(CM)和特异性结合靶标的抗原结合结构域或其片段(AB),其中未切割(即非活化)状态下的可活化抗体具有如下的N-末端至C-末端的结构排列:MM-CM-AB或AB-CM-MM;(a) 其中MM是抑制AB与靶标的结合的肽,且其中MM不具有AB的天然存在的结合配偶体的氨基酸序列;且(b) 其中未切割状态下的可活化抗体的MM干扰AB与靶标的特异性结合,且其中切割(即活化)状态下的可活化抗体的MM不干扰或竞争AB与靶标的特异性结合。在一些实施方案中,可活化抗体是与治疗剂缀合的可活化抗体。在一些实施方案中,可活化抗体不与试剂缀合。在一些实施方案中,可活化抗体包含可检测标记。在一些实施方案中,可检测标记位于AB上。在一些实施方案中,测量主体或样品中的可活化抗体的水平使用特异性结合可活化抗体的第二试剂来实现,其中所述试剂包含可检测标记。在一些实施方案中,第二试剂是包含可检测标记的抗体。

[0861] 本发明还提供了用于检测主体或样品中切割剂和靶标的存在或不存在的方法中的试剂盒,其中所述试剂盒包括至少用于接触主体或生物样品的本文所述的可活化抗体和/或缀合的可活化抗体以及用于检测主体或生物样品中的活化的可活化抗体和/或缀合的可活化抗体的水平的装置,其中主体或生物样品中的活化的可活化抗体的可检测水平表明切割剂、靶标或切割剂和靶标两者不存在和/或不充分地存在于主体或生物样品中,使得在主体或生物样品中不能检测到可活化抗体的靶标结合和/或蛋白酶切割,且其中主体或生物样品中的活化的可活化抗体的降低的可检测水平表明切割剂和靶标存在于主体或生物样品中。可检测标记的降低水平为,例如,降低约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%和/或约100%。

[0862] 本发明还提供了通过如下检测主体或样品中切割剂的存在或不存在的方法：(i) 使主体或生物样品与可活化抗体接触，其中可活化抗体包括位于可活化抗体的部分上的可检测标记，所述可检测标记在切割CM后释放；且(ii) 测量主体或生物样品中的可检测标记的水平，其中主体或生物样品中的可检测标记的可检测水平表明切割剂不存在和/或不以可检测水平充分存在于主体或生物样品中，使得在主体或生物样品中不能检测到可活化抗体的蛋白酶切割，且其中主体或生物样品中的可检测标记的降低的可检测水平表明切割剂存在于主体或生物样品中。可检测标记的降低水平为，例如，降低约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%和/或约100%。此可活化抗体包括掩蔽部分(MM)、被切割剂切割的可切割部分(CM)和特异性结合靶标的抗原结合结构域或其片段(AB)，其中未切割(即非活化)状态下的可活化抗体具有如下的N-末端至C-末端的结构排列：MM-CM-AB或AB-CM-MM；(a) 其中MM是抑制AB与靶标的结合的肽，且其中MM不具有AB的天然存在的结合配偶体的氨基酸序列；且(b) 其中未切割状态下的可活化抗体的MM干扰AB与靶标的特异性结合，且其中切割(即活化)状态下的可活化抗体的MM不干扰或竞争AB与靶标的特异性结合。在一些实施方案中，可活化抗体是与治疗剂缀合的可活化抗体。在一些实施方案中，可活化抗体不与试剂缀合。在一些实施方案中，可活化抗体包含可检测标记。在一些实施方案中，可检测标记位于AB上。在一些实施方案中，测量主体或样品中的可活化抗体的水平使用特异性结合可活化抗体的第二试剂来实现，其中所述试剂包含可检测标记。在一些实施方案中，第二试剂是包含可检测标记的抗体。

[0863] 本发明还提供了用于检测主体或样品中目标切割剂的存在或不存在的方法中的试剂盒，其中所述试剂盒包括至少用于接触主体或生物样品的本文所述的可活化抗体和/或缀合的可活化抗体以及用于检测主体或生物样品中的活化的可活化抗体和/或缀合的可活化抗体的水平的装置，其中可活化抗体包括位于可活化抗体的部分上的可检测标记，所述可检测标记在切割CM后释放，其中主体或生物样品中的可检测标记的可检测水平表明切割剂、靶标或切割剂和靶标两者不存在和/或不充分地存在于主体或生物样品中，使得在主体或生物样品中不能检测到可活化抗体的靶标结合和/或蛋白酶切割，且其中主体或生物样品中的可检测标记的降低的可检测水平表明切割剂和靶标存在于主体或生物样品中。可检测标记的降低水平为，例如，降低约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%和/或约100%。

[0864] 在这些方法和试剂盒的一些实施方案中，可活化抗体包括可检测标记。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中，可检测标记包括成像剂、造影剂、酶、荧光标记、发色团、染料、一种或多种金属离子或基于配体的标记。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中，成像剂包含放射性同位素。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中，放射性同位素是铟或钨。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中，造影剂包含碘、钆或氧化铁。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中，酶包含辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶或 β -半乳糖苷酶。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中，荧光标记包含黄色荧光蛋白(YFP)、青色荧光蛋白(CFP)、绿色荧光蛋白(GFP)、修饰的红色荧光蛋白(mRFP)、红色荧光蛋白tdimer2(RFP tdimer2)、HCRED或钨衍生物。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中，发光标记包含N-甲基吡啶鎓(methylacrydium)衍生物。在这些方法的一些实施方案中，标记包含Alexa Fluor[®]标记，诸

如Alex Fluor[®] 680或Alexa Fluor[®] 750。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,基于配体的标记包含生物素、抗生物素蛋白、链霉抗生物素蛋白或一种或多种半抗原。

[0865] 在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,主体是哺乳动物。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,主体是人。在一些实施方案中,所述主体是非人哺乳动物,诸如非人灵长类动物、伴侣动物(例如,猫、狗、马)、家畜、役畜或动物园动物。在一些实施方案中,所述主体是啮齿动物。

[0866] 在这些方法的一些实施方案中,所述方法是体内方法。在这些方法的一些实施方案中,所述方法是原位方法。在这些方法的一些实施方案中,所述方法是离体方法。在这些方法的一些实施方案中,所述方法是体外方法。

[0867] 在一些实施方案中,原位成像和/或体内成像可在鉴定哪些患者来治疗的方法中使用。例如,在原位成像中,使用可活化抗体来筛选患者样品,以鉴定在适当位置(例如在肿瘤部位)具有适当蛋白酶和靶标的那些患者。

[0868] 在一些实施方案中,原位成像用于鉴定或以其他方式精选适合于用本发明的可活化抗体治疗的患者群体。例如,对于靶标(例如靶标)和切割所测试的可活化抗体的可切割部分(CM)中的底物的蛋白酶两者测试阳性(例如,将活化的抗体累积于疾病部位)的患者被鉴定为用包含此CM的此可活化抗体治疗的合适的候选者。同样,对于靶标(例如靶标)和切割使用这些方法所测试的可活化抗体中的CM中的底物的蛋白酶中任一者或两者测试阴性的患者可能被鉴定为另一种形式的疗法的合适候选者。在一些实施方案中,就第一可活化抗体而言测试阴性的此类患者可以用包含不同的CM的其他可活化抗体进行测试,直到鉴定出用于治疗合适的可活化抗体(例如,包含在疾病部位处被患者切割的CM的可活化抗体)。在一些实施方案中,然后向患者施用治疗有效量的患者对于其测试阳性的可活化抗体。

[0869] 在一些实施方案中,体内成像用于鉴定或以其他方式精选适合于用本发明的可活化抗体治疗的患者群体。例如,对于靶标(例如靶标)和切割所测试的可活化抗体的可切割部分(CM)中的底物的蛋白酶两者测试阳性(例如,将活化的抗体累积于疾病部位)的患者被鉴定为用包含此CM的此可活化抗体治疗的合适的候选者。同样,测试阴性的患者可能被鉴定为另一种形式的疗法的合适候选者。在一些实施方案中,就第一可活化抗体而言测试阴性的此类患者可以用包含不同的CM的其他可活化抗体进行测试,直到鉴定出用于治疗合适的可活化抗体(例如,包含在疾病部位处被患者切割的CM的可活化抗体)。在一些实施方案中,然后向患者施用治疗有效量的患者对于其测试阳性的可活化抗体。

[0870] 在方法和试剂盒的一些实施方案中,所述方法或试剂盒用于鉴定或以其他方式精选适合于用本发明的可活化抗体治疗的患者群体。例如,对于靶标(例如靶标)和切割这些方法中所测试的可活化抗体的可切割部分(CM)中的底物的蛋白酶两者测试阳性的患者被鉴定为用含有此CM的此可活化抗体治疗的合适的候选者。同样,对于靶标(例如靶标)和切割使用这些方法所测试的可活化抗体中的CM中的底物的蛋白酶两者测试阴性的患者可能被鉴定为另一种形式的疗法的合适候选者。在一些实施方案中,此类患者可以用其他可活化抗体进行测试,直到鉴定出用于治疗合适的可活化抗体(例如,包含在疾病部位处被患者切割的CM的可活化抗体)。在一些实施方案中,对于靶标(例如靶标)中任一者测试阴性的患者被鉴定为用包含此CM的此可活化抗体治疗的合适的候选者。在一些实施方案中,对于靶

标(例如靶标)中任一者测试阴性的患者被鉴定为不是用包含此CM的此可活化抗体治疗的合适的候选者。在一些实施方案中,此类患者可以用其他可活化抗体进行测试,直到鉴定用于治疗的可活化抗体(例如,包含在疾病部位处被患者切割的CM的可活化抗体)。在一些实施方案中,所述可活化抗体是与治疗剂缀合的可活化抗体。在一些实施方案中,所述可活化抗体不与试剂缀合。在一些实施方案中,所述可活化抗体包含可检测标记。在一些实施方案中,所述可检测标记位于AB上。在一些实施方案中,测量主体或样品中的可活化抗体的水平使用特异性结合可活化抗体的第二试剂来实现,其中所述试剂包含可检测标记。在一些实施方案中,所述第二试剂是包含可检测标记的抗体。

[0871] 在一些实施方案中,方法或试剂盒用于鉴定或以其他方式精选适合于用本发明的抗靶标可活化抗体和/或缀合的可活化抗体(例如,缀合治疗剂的可活化抗体)治疗的患者群体,随后通过将可活化抗体和/或缀合的可活化抗体施用于有需要的主体来治疗。例如,对于靶标(例如靶标)和切割这些方法中所测试的可活化抗体和/或缀合的可活化抗体的可切割部分(CM)中的底物的蛋白酶两者测试阳性的患者被鉴定为用包含此CM的此抗体和/或此缀合的可活化抗体治疗的合适的候选者,且然后向所述患者施用治疗有效量的所测试的可活化抗体和/或缀合的可活化抗体。同样,对于靶标(例如靶标)和切割使用这些方法所测试的可活化抗体中的CM中的底物的蛋白酶中任一者或两者测试阴性的患者可能被鉴定为另一种形式的疗法的合适候选者。在一些实施方案中,此类患者可以用其他抗体和/或缀合的可活化抗体进行测试,直到鉴定用于治疗的可活化抗体和/或缀合的可活化抗体(例如,包含在疾病部位处被患者切割的CM的可活化抗体和/或缀合的可活化抗体)。在一些实施方案中,然后向患者施用治疗有效量的患者对于其测试阳性的可活化抗体和/或缀合的可活化抗体。

[0872] 在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,MM是具有约4至40个氨基酸的长度的肽。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,可活化抗体包含接头肽,其中接头肽位于MM和CM之间。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,可活化抗体包含接头肽,其中接头肽位于AB和CM之间。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,可活化抗体包含第一接头肽(L1)和第二接头肽(L2),其中第一接头肽位于MM和CM之间,且第二接头肽位于AB和CM之间。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,L1和L2各自是约1-20个氨基酸长的肽,且其中L1和L2各自不需要是相同的接头。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,L1和L2中的一者或两者包含甘氨酸-丝氨酸聚合物。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,L1和L2中的至少一者包含选自(GS)_n、(GSGGS)_n(SEQ ID NO:363)和(GGGS)_n(SEQ ID NO:364)的氨基酸序列,其中n是至少1的整数。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,L1和L2中的至少一者包含具有式(GGS)_n的氨基酸序列,其中n是至少1的整数。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,L1和L2中的至少一者包含选自以下的氨基酸序列:GGSG(SEQ ID NO:365)、GGSGG(SEQ ID NO:366)、GSGSG(SEQ ID NO:367)、GSGGG(SEQ ID NO:368)、GGGSG(SEQ ID NO:369)和GSSSG(SEQ ID NO:370)。

[0873] 在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,AB包含选自本文呈现的交叉反应性抗体序列的抗体或抗体片段序列。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,AB包含Fab片段、scFv或单链抗体(scAb)。

[0874] 在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,切割剂是与靶标在主体或样品中共定位

的蛋白酶,且CM底物是作为蛋白酶的底物发挥功能的多肽,其中当可活化抗体暴露于蛋白酶时,蛋白酶切割可活化抗体中的CM。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,CM是最多达15个氨基酸长的多肽。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,CM与AB的N-末端偶联。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,CM与AB的C-末端偶联。在这些方法和试剂盒的一些实施方案中,CM与AB的VL链的N-末端偶联。

[0875] 本发明的抗体和/或可活化抗体用于诊断和预防制剂中。在一个实施方案中,将可活化抗体施用于处于发展上述炎症、炎性病症、癌症或其他病症中的一种或多种的风险中的患者。

[0876] 可以使用基因型、血清学或生物化学标记物来确定患者或器官对一种或多种前述疾病的易感性。

[0877] 在本发明的一些实施方案中,将抗体和/或可活化抗体施用于诊断患有与一种或多种前述病症相关的临床适应症的人个体。在诊断后,施用抗体和/或可活化抗体以减轻或逆转临床适应症的影响。

[0878] 本发明的抗体和/或可活化抗体还可用于检测患者样品中的靶标且因此可用作诊断剂。例如,本发明的抗体和/或可活化抗体用于体外测定法,例如,ELISA,以检测患者样品中的靶标水平。

[0879] 在一些实施方案中,将抗PDL1抗体用作这样的患者的诊断剂,所述患者更可能有利地对用本发明的抗PD-1抗体和/或可活化抗体治疗响应。在这些实施方案中,将在肿瘤细胞和浸润性免疫细胞上肿瘤活检样品中的PD-L1表达和血液中免疫细胞上的PD-L1表达用于表示存在主动免疫,和因此存在经通过PD-L1的PD-1衔接抑制T细胞活性的可能性。

[0880] 在一个实施方案中,本发明的抗体和/或可活化抗体固定在固体支持物(例如,微量滴定板的孔)上。固定的抗体和/或可活化抗体用作测试样品中可存在的任何靶标的捕获抗体。将固定的抗体和/或可活化抗体与患者样品接触之前,将固体支持物清洗,和用封闭试剂诸如乳蛋白或白蛋白处理以防止分析物的非特异性吸附。

[0881] 随后,将孔用疑似含有抗原的测试样品或用含有标准量的抗原的溶液处理。此样品是例如来自疑似具有被认为是病理诊断的循环抗原水平的主体的血清样品。在洗去测试样品或标准品后,固体支持物用可检测标记的第二抗体处理。标记的第二抗体用作检测抗体。测量可检测标记的水平,测试样品中靶抗原的浓度通过与自标准样品产生的标准曲线相比较来测定。

[0882] 应理解,基于在体外诊断测定法中使用本发明的抗体和/或可活化抗体获得的结果,可能基于靶抗原的表达水平将主体的疾病分期。对于给定的疾病,从诊断为处于疾病进展中的各种阶段和/或处于疾病的治疗处理中的各个点的主体获取血液样品。使用对进展或治疗的各阶段提供统计学显著结果的一组样品,指定可被认为是各阶段的特征的抗原的浓度范围。

[0883] 抗体、缀合的抗体、可活化抗体和/或缀合的可活化抗体还可用于诊断和/或成像方法。在一些实施方案中,此类方法为体外方法。在一些实施方案中,此类方法为体内方法。在一些实施方案中,此类方法为原位方法。在一些实施方案中,此类方法为离体方法。例如,具有酶促可切割的CM的可活化抗体可用于检测能够切割CM的酶的存在或不存在。此类可活化抗体可用于诊断,其可包括通过在给定宿主生物体的给定细胞或组织中测量的活化抗体

(即,由可活化抗体的切割所产生的抗体)的累积,体内检测(例如定性或定量)酶活性(或者在一些实施方案中,还原电位增加的环境,诸如其可提供二硫键的还原)。活化的抗体的此累积不仅表明所述组织表达酶活性(或增加的还原电位,取决于CM的性质),而且还表明所述组织表达活化的抗体结合的靶标。

[0884] 例如,可选择CM为在肿瘤部位处、在病毒或细菌感染部位处、在生物学限制的部位处(诸如在脓肿中、在器官中等)等存在的蛋白酶的蛋白酶底物。AB可以是结合靶抗原的AB。使用本领域技术人员熟悉的方法,可检测的标记(例如荧光标记或放射性标记或放射性示踪剂)可与AB或可活化抗体的其他区域缀合。合适的可检测的标记在上述筛选方法的文中进行讨论,且其他具体的实例在下文提供。使用对疾病状态的蛋白或肽特异性的AB以及在目标疾病组织中其活性升高的蛋白酶,可活化抗体将表现出相对于其中CM特异性的酶不以可检测的水平存在或以比在疾病组织中低的水平存在或无活性(例如,呈酶原形式或与抑制剂复合)的组织,对疾病组织的结合率增加。因为小的蛋白和肽从血液中通过肾过滤系统快速清除,且因为对CM特异性的酶不以可检测的水平存在(或在非疾病组织中以较低水平存在或以无活性构象存在),在疾病组织中活化的抗体的累积相对于非疾病组织提高。

[0885] 在另一个实例中,可活化抗体可用于检测样品中切割剂的存在或不存在。例如,在可活化抗体含有对酶切割敏感的CM的情况下,可活化抗体可用于检测(定性地或定量地)样品中酶的存在。在另一个实例中,在可活化抗体含有对还原剂切割敏感的CM的情况下,可活化抗体可用于检测(定性地或定量地)样品中还原条件的存在。为了便于在这些方法中分析,可活化抗体可经可检测标记,且可结合至支持物(例如,固体支持物,诸如载片或珠粒)。可检测的标记可置于在切割后不释放的可活化抗体的部分上,例如可检测的标记可以是直到发生切割时才可检测的猝灭的荧光标记或其他标记。测定法可如下进行:例如通过使固定的可检测标记的可活化抗体与疑似含有酶和/或还原剂的样品接触足以发生切割的一段时间,然后洗涤以除去过量的样品和污染物。然后通过在与样品接触之前可活化抗体的可检测信号的变化,例如由于样品中的切割剂切割可活化抗体导致的可检测信号的存在和/或增加,评价在样品中切割剂(例如酶或还原剂)的存在或不存在。

[0886] 此类检测方法可适合于还提供当切割时能够结合可活化抗体的AB的靶标的存在或不存在的检测。因此,所述测定法可适合于评价切割剂的存在或不存在和目标靶标的存在或不存在。切割剂的存在或不存在可通过上述可活化抗体的可检测的标记的存在和/或增加来检测,且靶标的存在或不存在可通过检测靶标-AB复合物,例如通过使用可检测标记的抗靶标抗体来检测。

[0887] 可活化抗体还可用于原位成像以验证可活化抗体活化(例如通过蛋白酶切割)和与特定靶标的结合。原位成像是能够在生物样品诸如细胞培养物或组织切片中定位蛋白水解活性和靶标的技术。使用该技术,可能基于可检测的标记(例如荧光标记)的存在证实与给定靶标的结合和蛋白水解活性两者。

[0888] 这些技术可用于源自疾病部位(例如肿瘤组织)或健康组织的任何冷冻细胞或组织。这些技术还可用于新鲜细胞或组织样品。

[0889] 在这些技术中,可活化抗体用可检测的标记进行标记。可检测的标记可以是荧光染料(例如异硫氰酸荧光素(FITC)、异硫氰酸若丹明(TRITC))、近红外(NIR)染料(例如Qdot[®]纳米晶体)、胶体金属、半抗原、放射性标记物、生物素和放大试剂例如链霉亲和素或酶

(诸如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶)。

[0890] 已与标记的可活化抗体孵育的样品中标记的检测表明,样品含有靶标和含有对可活化抗体的CM特异性的蛋白酶。在一些实施方案中,蛋白酶的存在可使用广谱蛋白酶抑制剂诸如本文描述的那些和/或通过使用对蛋白酶特异性的试剂(例如抗体诸如A11,其对蛋白酶基质蛋白酶特异性并抑制基质蛋白酶的蛋白水解活性;参见例如,公开于2010年11月11日的国际公开号WO 2010/129609)来证实。使用广谱蛋白酶抑制剂诸如本文描述的那些和/或通过使用更有选择性的抑制剂的相同方法可用于鉴定对可活化抗体的CM特异性的一种蛋白酶或一类蛋白酶。在一些实施方案中,靶标的存在可使用对靶标特异性的试剂(例如,另一种抗体)来证实,或可检测的标记可与未标记的靶标竞争。在一些实施方案中,未标记的可活化抗体可用于通过标记的第二抗体或更复杂的检测系统进行的检测。

[0891] 类似的技术也可用于体内成像,其中在主体(例如哺乳动物,包括人类)中荧光信号的检测表明疾病部位包含靶标和包含对可活化抗体的CM特异性的蛋白酶。

[0892] 这些技术还可用于试剂盒和/或用作试剂以基于可活化抗体中的蛋白酶特异性CM在各种细胞、组织和生物体中检测、鉴定或表征蛋白酶活性。

[0893] 在一些实施方案中,原位成像和/或体内成像可用于鉴定哪些患者来治疗的方法。例如,在原位成像中,使用可活化抗体来筛选患者样品,以鉴定在适当位置(例如在肿瘤部位)具有适当蛋白酶和靶标的那些患者。

[0894] 在一些实施方案中,原位成像用于鉴定或以其他方式精选适合于用本发明的可活化抗体治疗的患者群体。例如,对于靶标和切割所测试的可活化抗体的可切割部分(CM)中的底物的蛋白酶两者测试阳性(例如,将活化的抗体累积于疾病部位)的患者被鉴定为用包含此CM的此可活化抗体治疗的合适的候选者。同样,对于靶标和切割使用这些方法所测试的可活化抗体中的CM中的底物的蛋白酶中任一者或两者测试阴性的患者被鉴定为另一种形式的疗法(即,不适合于用所测试的可活化抗体治疗)的合适候选者。在一些实施方案中,就第一可活化抗体而言测试阴性的此类患者可以用包含不同的CM的其他可活化抗体进行测试,直到鉴定出用于治疗的合适的可活化抗体(例如,包含在疾病部位处被患者切割的CM的可活化抗体)。

[0895] 在一些实施方案中,体内成像用于鉴定或以其他方式精选适合于用本发明的可活化抗体治疗的患者群体。例如,对于靶标和切割所测试的可活化抗体的可切割部分(CM)中的底物的蛋白酶两者测试阳性(例如,将活化的抗体累积于疾病部位)的患者被鉴定为用包含此CM的此可活化抗体治疗的合适的候选者。同样,测试阴性的患者被鉴定为另一种形式的疗法(即,不适合于用所测试的可活化抗体治疗)的合适候选者。在一些实施方案中,就第一可活化抗体而言测试阴性的此类患者可以用包含不同的CM的其他可活化抗体进行测试,直到鉴定出用于治疗的合适的可活化抗体(例如,包含在疾病部位处被患者切割的CM的可活化抗体)。

[0896] 药物组合物

[0897] 本发明的抗体和/或可活化抗体(在本文中也称为“活性化合物”)和其衍生物、片段、类似物和同源物,可并入适合于施用的药物组合物中。此类组合物通常包含所述抗体和/或可活化抗体以及药学上可接受的载体。如本文所用,术语“药学上可接受的载体”意图包括与药物施用相容的任何和所有的溶剂、分散介质、包衣料、抗细菌和抗真菌剂、等渗和

吸收延迟剂等。合适的载体描述于最新版的Remington's Pharmaceutical Sciences,其为本领域的标准参考教科书,其通过引用并入本文。此类载体或稀释剂的合适的实例包括但不限于水、盐水、林格溶液、葡萄糖溶液和5%人血清白蛋白。也可使用脂质体和非水媒介物诸如固定油。用于药物活性物质的这样的介质和试剂的使用是本领域众所周知的。除非任何常规介质或试剂与活性化合物不相容,否则均考虑其在组合物中的使用。补充活性化合物也可以掺入组合物中。

[0898] 本发明的药物组合物经配制以与其预期施用途径相容。施用途径的实例包括胃肠外,例如静脉内、皮内、皮下、经口(例如吸入)、经皮(即局部)、经粘膜和直肠施用。用于胃肠外、皮内或皮下施用的溶液或混悬液可包括以下组分:无菌稀释剂诸如注射用水、盐水溶液、固定油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其他合成溶剂、抗菌剂诸如苯甲醇或对羟基苯甲酸甲酯;抗氧化剂诸如抗坏血酸或亚硫酸氢钠;螯合剂诸如乙二胺四乙酸(EDTA);缓冲剂诸如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐,和用于调节张力的试剂诸如氯化钠或葡萄糖。可用酸或碱诸如盐酸或氢氧化钠调节pH。可将胃肠外制剂包封在用玻璃或塑料制成的安瓿、一次性注射器或多剂量小瓶中。

[0899] 适合于可注射使用的药物组合物包括无菌水性溶液(在水溶性的情况下)或分散体和用于临时制备无菌可注射溶液或分散体的无菌粉剂。对于静脉内施用,合适的载体包括生理盐水、抑菌水、Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, N.J.)或磷酸盐缓冲盐水(PBS)。在所有情况下,组合物都必须是无菌的,且应该是流动的至容易注射的程度。在制备和储存的条件下其必须是稳定的,且必须针对微生物诸如细菌和真菌的污染作用而防腐。载体可以是溶剂或分散介质,其含有例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇和液体聚乙二醇等)和其合适的混合物。可保持合适的流动性,例如通过使用包衣料诸如卵磷脂,在分散体的情况下通过保持所需的粒度和通过使用表面活性剂。预防微生物作用可通过各种抗菌剂和抗真菌剂例如对羟基苯甲酸酯类、氯丁醇、苯酚、抗坏血酸、硫柳汞等实现。在一些实施方案中,期望的是在组合物中包括等渗剂例如糖、多元醇诸如甘露醇、山梨醇、氯化钠。可注射组合物的延长吸收可通过在组合物中包括延长吸收的试剂例如单硬脂酸铝和明胶实现。

[0900] 无菌可注射溶液可通过将所需量的活性化合物并入含有上文列举的成分之一或成分的组合(根据需要)的合适的溶剂中,随后无菌过滤而制备。通常,分散体通过将活性化合物并入含有基础分散介质和来自上文列举的那些的所需的其他成分的无菌媒介物制备。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉剂的情况下,制备方法为真空干燥和冷冻干燥,其自它们之前的无菌过滤溶液产生活性成分加任何其他所需成分的粉末。

[0901] 口服组合物通常包括惰性稀释剂或可食用载体。它们可包封在明胶胶囊中或压制成片剂。为了口服治疗施用的目的,活性化合物可掺有赋形剂和以片剂、锭剂或胶囊剂的形式使用。口服组合物还可使用液体载体制备,用作漱口剂,其中液体载体中的化合物经口施用,并漱口和吐出或咽下。可包括药学上相容的粘合剂和/或辅助材料作为组合物的一部分。片剂、丸剂、胶囊剂、锭剂等可含有任何以下成分或具有类似性质的化合物:粘合剂诸如微晶纤维素、黄耆胶或明胶;赋形剂诸如淀粉或乳糖;崩解剂诸如藻酸、Primogel或玉米淀粉;润滑剂诸如硬脂酸镁或Sterotes;助流剂诸如胶态二氧化硅;甜味剂诸如蔗糖或糖精;或矫味剂诸如薄荷、水杨酸甲酯或橙味调料。

[0902] 对于通过吸入施用,化合物以气溶胶喷雾剂的形式从含有合适的抛射剂例如气体

诸如二氧化碳的加压容器或分配器,或喷雾器递送。

[0903] 全身性施用还可通过经粘膜或经皮方式进行。对于经粘膜或经皮施用,适合于待渗透屏障的渗透剂用于制剂中。此类渗透剂通常是本领域已知的,和对于经粘膜施用,包括例如去污剂、胆汁盐和夫西地酸衍生物。经粘膜施用可通过使用经鼻喷雾剂或栓剂实现。对于经皮施用,将活性化合物配制成本领域通常已知的软膏剂(ointments)、油膏剂(salves)、凝胶剂或霜剂。

[0904] 化合物还可以以用于直肠递送的栓剂(例如,用常规栓剂基料诸如可可脂和其他甘油酯)或滞留灌肠剂的形式制备。

[0905] 在一个实施方案中,活性化合物用将保护化合物免于快速从身体清除的载体制备,诸如控制释放制剂,包括植入体和微囊递送系统。可使用可生物降解的生物相容性聚合物,诸如乙烯乙酸乙烯酯、聚酐、聚乙醇酸、胶原、聚原酸酯和聚乳酸。用于制备此类制剂的方法对本领域技术人员而言是显而易见的。所述材料还可市售获得自Alza Corporation和Nova Pharmaceuticals, Inc.脂质体混悬液(包括具有针对病毒抗原的单克隆抗体的靶向感染细胞的脂质体)也可用作药学上可接受的载体。这些可根据本领域技术人员已知的方法制备,例如如美国专利号4,522,811中所述。

[0906] 为了易于施用和剂量均匀,特别有利的是以剂量单位形式配制口服或胃肠外组合物。如本文所用的剂量单位形式是指作为单位剂量适合于待治疗的主体的物理离散单位;各单位含有经计算以产生所需治疗效果的预定量的活性化合物以及所需药用载体。本发明的剂量单位形式的规格由活性化合物的独特性质和待实现的特定治疗效果以及配制此活性化合物用于治疗个体的本领域固有的限制来支配,并直接依赖于它们。

[0907] 所述药物组合物以及用于施用的说明书可包括在容器、包装或分配器(dispenser)中。

[0908] 本发明将在以下实施例中进一步描述,所述实施例不限制权利要求中描述的本发明的范围。

实施例

[0909] 实施例1.结合人PD-1并阻断hPD-L1和hPD-L2结合人PD-1的实施方案的小鼠抗体的生成

[0910] 本实施例表明结合人PD-1的本发明的小鼠抗体可以从衍生自用重组人PD-1蛋白的小鼠免疫的杂交瘤分离,并且此类结合可以抑制PD-1结合PDL1和PDL2。

[0911] 在第0、7和21天用重组人PD-1 (Sino Biological, Beijing, P.R. China;目录号ABIN2181605)在右侧免疫六只NZBWF1/J 雌性小鼠(Jackson Laboratories, Sacramento, CA;目录号100008)。在第28天从经免疫小鼠取血清并测量与HEK293-hPD-1(转染有编码人PD-1的表达载体的细胞(Origene, 目录号SC117011))的结合。所有六只小鼠均显示阳性结合。从小鼠1、3和6分离脾细胞并与SP0小鼠B细胞融合;类似地,从小鼠2、4和5分离脾细胞并与SP0小鼠B细胞融合,产生杂交瘤合并物(pool)m136和m245。将从两个融合体产生的杂交瘤合并物m136和m245铺板为单克隆,并测定克隆培养上清液的能够结合HEK293-hPD-1细胞但不结合未转染的HEK293细胞的抗体。选择表达抗PD-1抗体的杂交瘤克隆用于进一步分析。

[0912] 本文呈现的研究中所用的抗体序列如下所示：

m136-M13 – MHC723 mIgG1/K

MHC723HC.1 可变重链区氨基酸序列：

EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSGYAMSWVRQTPAKRLEWVAYISNSGGNAHYPDSV
KGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRSEDAMYYCTREDYGTSPFVYWQGTLVTVSA (SEQ ID
NO: 1)

[0913]

MHC723HC.1 可变重链区核酸序列：

GAAGTGAAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGAAACCTGGAGGGTCCCTGAAACTCTCCT
GTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTCAGTGGCTATGCCATGTCTTGGGTTCCGCAGACTCCGGCGAA
GAGGCTGGAGTGGGTCGCATACATTAGTAATAGTGGTGGTAACGCCCACTATCCAGACAGTGTA

AAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACACCCTATACCTGCAAATGAGCAGTC
TGAGGTCTGAGGACACGGCCATGTATTACTGTACAAGAGAGGACTACGGTACTAGTCCTTTTGT
TTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 2)

MHC723LC.3 可变轻链区氨基酸序列:

DIVLTQSPASLAVSLGQRTTISCRASESVDNYGISFMNWFQOKPGQPPKLLIYAASNQGSVPA
RFSGSGSGTDFSLNIHPMEEDDTAVYFCQSKDVPWTFGGGTKLEIR (SEQ ID NO: 3)

MHC723LC.3 可变轻链区核酸序列:

GACATTGTGCTGACCCAATCTCCAGCTTCTTTGGCTGTGTCTCTTGGGCAGAGGACCACCATCT
CCTGCAGAGCCAGCGAAAGTGTGATAATTATGGCATTAGTTTTATGAACTGGTTCCAACAGAA
ACCAGGACAGCCACCCAAACTCCTCATCTATGCTGCATCCAACCAAGGATCCGGGGTCCCTGCC
AGGTTTAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCAGCCTCAACATCCATCCTATGGAGGAGGATG
ATACTGCAGTGTATTTCTGTGCAAGTAAGGACGTTCCGTGGACGTTCCGTGGAGGCACCAA
GCTGGAAATCAGAC (SEQ ID NO: 4)

[0914]

m136-M19 – MHC725 mIgG2b/K

MHC725HC.2 可变重链区氨基酸序列:

EVQLQQSGPELVKPGDSVKMSCKASGYTFTDYMDWVKQSHGKSLEWIGYIYPKNGGSSYNQKF
KGGATLTVDKSSSTAYMELHSLTSEDSAVYYCARKVVATDYWGQTTTLTVSS (SEQ ID
NO: 5)

MHC725HC.2 可变重链区核酸序列:

GAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGATTGAGTGAAGATGTCCT
GCAAGGCTTCTGGCTACACATTCAGTACTACTACATGGACTGGGTGAAGCAGAGCCATGGAAA
GAGCCTTGAGTGGATTGGATATATTTATCCTAAAAATGGTGGTTCCAGCTACAATCAGAAGTTC
AAGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGACAAGTCCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCCACAGCC
TGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGAAAGGTCGTAGCTACGGACTACTGGGG
CCAAGGCCACACTCTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 6)

MHC725LC.2 可变轻链区氨基酸序列:

DIVMSQSPSSLAVSVGEKVTMSCKSSQSLLYSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLIFWASIRESGV
PDRFTGSGSGTDFTLTISSVKAEDRAVYYCQQCDSYPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 7)

MHC725LC.2 可变轻链区核酸序列:

GACATTGTGATGTCACAGTCTCCATCCTCCCTAGCTGTGTGAGAGAAAGGTTACTATGA
GCTGCAAGTCCAGTCAGAGCCTTTTATATAGTAGCAATCAAAGAAGTACTTGGCCTGGTACCA
GCAGAAACCAGGGCAGTCTCCTAAACTGCTGATTTTCTGGGCATCTATTAGGGAATCTGGGGTC
CCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTGTGAAGG
CTGAAGACCGGGCAGTTTATTACTGTGCAATGTGATAGCTATCCGTGGACGTTCCGGTGGAGG
CACCAAAGTGGAAATCAAAC (SEQ ID NO: 8)

m245-M3 – MHC728 mIgG2a/K

MHC728HC.4 可变重链区氨基酸序列:

[0915]

EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSNYAMSWVRQTPAKRLEWVAYISNGGGDTHYPDSL
KGRFTVSRDNAKNTLYLQMSLKSSEDAMYYCARENYGTSPFVYWGQGLVTVSA (SEQ ID
NO: 9)

MHC728HC.4 可变重链区核酸序列:

GAAGTGAAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGAAACCTGGAGGGTCCCTGAAACTCTCCT
GTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAACTATGCCATGTCTTGGGTTCGCCAGACTCCGGCGAA
GAGGCTGGAGTGGGTCGCATACATTAGTAATGGTGGTGGTGACACCCACTATCCAGACAGTTTA
AAGGGCCGATTCACCGTCTCCAGAGACAATGCCAAGAACACCCTGTACCTACAAATGAGCAGTC
TGAAGTCTGAGGACACGGCCATGTATTACTGTGCAAGAGAAAACACGGTACTAGTCCCTTTGT
TTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 10)

MHC728LC.2 可变轻链区氨基酸序列:

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDNYGISFMNWFQQKPGQPPKLLIYAASNQSGVPA
RFSGSGSGTDFSLNIHPMEEDDTAMYFCQQSKDVPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 11)

MHC728LC.2 可变轻链区核酸序列:

GACATTGTGCTGACCCAATCTCCAGCTTCTTTGGCTGTGTCTCTAGGGCAGAGGGCCACCATCT
CCTGCAGAGCCAGCGAAAGTGTGATAATTATGGCATTAGTTTTATGAACTGGTTCCAACAGAA
ACCAGGACAGCCACCCAAACTCCTCATCTATGCTGCATCCAACCAAGGATCCGGGGTCCCTGCC
AGGTTTAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCAGCCTCAACATCCATCCTATGGAGGAGGATG
ATACTGCAATGTATTTCTGTGAGCAAAGTAAAGATGTTCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCACCAA
GCTGGAAATCAAAC (SEQ ID NO: 12)

m245-M5 – MHC729 mIgG1/K

MHC729HC.1 可变重链区氨基酸序列:

EVQLVESGGGLVKSGGSLKLSCAHSGFSFSSYDMSWVRQTPAKRLEWVATISGGGRYTYYPDSV
KGRFTISRDNKNTLYLQMSGLRSEDAMYYCASNYGFDYWGQGTTTLTVSS (SEQ ID
NO: 13)

MHC729HC.1 可变重链区核酸序列:

[0916]

GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGAAGTCTGGAGGGTCCCTGAAACTCTCCT
GTGCGCATTCTGGATTGAGTTTTAGTAGTTATGACATGTCTTGGGTTCGCCAGACTCCGGCGAA
GAGGCTGGAGTGGGTCGCAACCATTAGTGGTGGTGGTTCGTTACACCTACTATCCAGACAGTGTG
AAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACACCCTGTACCTGCAAATGAGCGGTC
TGAGGTCTGAGGACACAGCCATGTATTACTGTGCAAGTAATTACTACGGTTTTGACTACTGGGG
CCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCTTCA (SEQ ID NO: 14)

MHC729LC.3 可变轻链区氨基酸序列:

DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSI~~TCKASQD~~VGTAVAWYQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVPDRFTG
SGSGTDFTLTISNVQSEDLADYFCQYSSYPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 15)

MHC729LC.3 可变轻链区核酸序列:

GATATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGCATCA
CCTGCAAGGCCAGTCAGGATGTGGGTACTGCTGTAGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGGCAATC
TCCTAAACTACTGATTTACTGGGCATCCACCCGGCACACTGGAGTCCCTGATCGTTACGGGC
AGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATTAGCAATGTGCAGTCTGAAGACTTGGCAGATT

ATTTCTGTCAGCAATATAGCAGCTATCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAA
AC (SEQ ID NO: 16)

m136-M14 – MHC724 mIgG2a/K

MHC724HC.3 可变重链区氨基酸序列:

KVMLVESGGDLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSYGMSWVRQTPEKRLEWVATISGGGRDIYYADTV
KGRFTISRDNKNTLYLQMSLRSEDTALYFCARLYLGF~~FDY~~WGQGTTLTVSS (SEQ ID
NO: 17)

MHC724HC.3 可变重链区核酸序列:

[0917]

AAAGTGATGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGACTTAGTGAAGCCTGGAGGGTCCCTGAAACTCTCCT
GTGCAGCCTCTGGATTCACTTTCAGTAGCTATGGCATGTCTTGGGTTCGCCAGACTCCGGAGAA
GAGGCTGGAGTGGGTCGCAACCATTAGTGGTGGTGGTAGAGACATCTACTACGCAGACACTGTG
AAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACCCTGTACCTACAAATGAGCAGTC
TGAGGTCTGAGGACACGGCCTTGTATTTCTGTGCAAGGCTCTACCTGGGGTTTGACTACTGGGG
CCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 18)

MHC724LC.1 可变轻链区氨基酸序列:

DIQMTQSPASQSASLGESVTITCLASQTIGTWLAWYQQKPKSPQLLIYAATSLADGVPSRFSG
SGSGTKFSPKISSLQAEDFVSYQCQQLYSIPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 19)

MHC724LC.1 可变轻链区核酸序列:

GACATTAGATGACCCAGTCTCCTGCCTCCCAGTCTGCATCTCTGGGAGAAAGTGTACCATCA
CATGCCTGGCAAGTCAGACCATGGTACATGGTATGCATGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAATC
TCCTCAGCTCCTGATTTATGCTGCAACCAGCTTGGCAGATGGGGTCCCATCAAGGTTAGTGGT
AGTGGATCTGGCACAAAATTTCTTTCAAGATCAGCAGCCTACAGGCTGAAGATTTGTAAAGTT
ATTACTGTCAACAACCTTTACAGTATTCGGTGGACATTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAA
AC (SEQ ID NO: 20)

[0918] 通过ELISA证实小鼠抗体m136-M13、m136-M19、m245-M3、m245-M5和m136-M14与人PD-1的结合(图1)。简言之,将人PD-1-Fc (R and D systems, Minneapolis, MN)吸附至96孔ELISA板的孔。将经纯化的抗PD-1抗体以系列稀释施加至板并允许结合。将板用PBST (PBS, pH 7.2 + 0.05% Tween-20)洗涤。用抗小鼠IgG-HRP缀合物(Sigma, St Louis, MO)检测结合的抗体并用发色底物TMB (Thermo Scientific, Rockford, IL)显现。在Prizm (Sigma Plot)中绘图并将数据拟合至单位点饱和结合的模型。将抗PD-1抗体纳武单抗(NV1)和/或派姆单抗(PM1)用作用抗人IgG-HRP缀合物(Fab特异性的)(Sigma, St Louis, MO)用于检测的结合测定中的阳性对照。测试的每个抗体的 K_d 显示于下表10中:

[0919] 表10 测试的抗体的 K_d 值:

[0920]

克隆	K_d , nM
245-M3	0.22
245-M5	0.34
136-M13	0.19
136-M19	0.23
136-M14	0.19
NV1 nivo	0.28
PM1 pembro	0.35

[0921] 在抑制性ELISA测定中小鼠抗体m136-M13、m136-M19、m245-M3、m245-M5和m136-M14与人PD-1的结合抑制PD-1结合PDL1和PDL2(图2-3)。抑制性ELISA如下进行。将人PD-1-Fc (R and D systems, Minneapolis, MN) 吸附至96孔ELISA板的孔。在存在2nM生物素化的PD-L1或2nM生物素化的PDL2的情况下,将纯化的抗PD-1抗体以系列稀释施加至板。通过Pierce™链霉抗生物素蛋白多HRP缀合物(Thermo Scientific, Rockford, IL)检测生物素化的PD-L1和PD-L2的结合并用TMB显现。在Prizm (Sigma Plot)中绘图并将数据拟合至单位点竞争结合的模型并测定 IC_{50} 。M13和M14抗体的 IC_{50} 值显示在下表11中:

[0922] 表11:测试的抗体的 IC_{50} 值

[0923]

IC50 (nM)	hPDL1/Fc	hPDL2/Fc
M13	3.3	2
M14	4.8	2.8

[0924] 实施例2.人源化抗PD-1抗体的纯化和测试

[0925] 本实施例表明结合人PD-1的本发明的小鼠抗体可以转化为保留PD-1结合和对PDL1和PDL2结合PD-1的抑制的人源化IgG抗体。

[0926] 将如实施例1中所述产生的小鼠抗PD-1抗体的可变域人源化并表达为全长hIgG4/h κ 抗体。从瞬时转染的HEK-293细胞表达完全人IgG抗PD-1抗体并通过蛋白A层析从培养上清液中纯化。

[0927] 本文呈现的研究中所用的人源化抗体序列如下所示:

PD-1 A Hv 可变重链区氨基酸序列:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVRQAPGKGLEWVAYISNSGGNAHYADSV
KGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCTREDYGTSPFVYWGQGLVTVSS (SEQ ID
NO: 21)

[0928]

PD-1 A Hv 可变重链区核酸序列:

GAAGTGCAGCTGGTGG AATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCT
GTGCCGCCAGCGGCTT CACCTTTAGCGGCTACGCCATGAGCTGGGTGCGCCAGGCTCCTGGCAA
AGGCCTGGAATGGGTGG CCTACATCAGCAACAGCGGCGGCAATGCCCACTACGCCGATAGCGTG
AAGGGCCGGTT CACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCC
TGCGGGCCGAGGACACC GCGGTGTACTACTGCACCAGAGAGGACTACGGCACCAGCCCCTTCGT
GTATTGGGGCCAGGGT ACCCTCGTGACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 22)

PD-1 Ab Hv 可变重链区氨基酸序列:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASSGFTFSGYAMSWVRQAPGKGLEWVSYISNSGGNAHYADSV
KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKEDYGTSPFVYWGQGLVTVSS (SEQ ID
NO: 23)

PD-1 Ab Hv 可变重链区核酸序列:

GAAGTGCAGCTGGTGGAAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCT
GTGCCGCCAGCGGCTTACCTTTAGCGGCTACGCCATGAGCTGGGTGCGCCAGGCTCCTGGCAA
AGGCCTGGAATGGGTGAGTTACATCAGCAACAGCGGCGGCAATGCCACTACGCCGATAGCGTG
AAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCC
TGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAAGGAGGACTACGGCACCAGCCCCTTCGT
GTATTGGGGCCAGGTTACCCTCGTGACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 24)

PD-1 Ae Hv 可变重链区氨基酸序列:

[0929]

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASSGFTFSGYAMSWVRQAPGKGLEWVAYISNSGGNTHYADSV
KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREDYGTSPFVYWGQGLVTVSS (SEQ ID
NO: 25)

PD-1 Ae Hv 可变重链区核酸序列:

GAAGTGCAGCTGGTGGAAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCT
GTGCCGCCAGCGGCTTACCTTTAGCGGCTACGCCATGAGCTGGGTGCGCCAGGCTCCTGGCAA
AGGCCTGGAATGGGTGGCTACATCAGCAACAGCGGCGGCAATACCCACTACGCCGATAGCGTG
AAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCC
TGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGGAGGACTACGGCACCAGCCCCTTCGT
GTATTGGGGCCAGGTTACCCTCGTGACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 26)

PD-1 Af Hv 可变重链区氨基酸序列:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASSGFTFSGYAMSWVRQAPGKGLEWVAYISNSGGNTHYADSL
KGRFTVSRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREDYGTSPFVYWGQGLVTVSS (SEQ ID
NO: 27)

PD-1 Af Hv 可变重链区核酸序列:

GAAGTGCAGCTGGTGGAAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCT
 GTGCCGCCAGCGGCTTACCTTTAGCGGCTACGCCATGAGCTGGGTGCGCCAGGCTCCTGGCAA
 AGGCCTGGAATGGGTGGCCTACATCAGCAACAGCGGCGGCAATACCCACTACGCCGATAGCCTG
 AAGGGCCGGTTACCGTCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCC
 TGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGAGGACTACGGCACCAGCCCCTTCGT
 GTATTGGGGCCAGGGTACCCTCGTGACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 28)

PD-1 Ba Hv 可变重链区氨基酸序列:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTDYIMDWVRQAPGQGLEWIGYIYPKNGGSSYAQKF
 QGRATLTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARKVVATDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID
 NO: 29)

PD-1 Ba Hv 可变重链区核酸序列:

[0930]

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGATGAGCT
 GCAAGGCCAGCGGCTACACCTTACCGACTACTACATGGACTGGGTGCGCCAGGCCCCCTGGACA
 GGGACTGGAATGGATCGGCTACATCTACCCCAAGAACGGCGGCAGCAGCTACGCCCAGAAGTTC
 CAGGGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACACCAGCACAAGCACC GCCTACATGGAAC TGAGCAGCC
 TGC GGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAAAGGTGGTGGCCACAGACTACTGGGG
 CCAGGGTACCCTGCTGACCGTGTCTAGT (SEQ ID NO: 30)

PD-1 Bb Hv 可变重链区氨基酸序列:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTDYIMDWVRQAPGQGLEWIGYIYPKNGGSSYAQKF
 QGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARKVVATDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID
 NO: 31)

PD-1 Bb Hv 可变重链区核酸序列:

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGATGAGCT
 GCAAGGCCAGCGGCTACACCTTACCGACTACTACATGGACTGGGTGCGCCAGGCCCCCTGGACA
 GGGACTGGAATGGATCGGCTACATCTACCCCAAGAACGGCGGCAGCAGCTACGCCCAGAAGTTC
 CAGGGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCACCAGCACC GCCTACATGGAAC TGAGCAGCC

TGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAAAGGTGGTGGCCACAGACTACTGGGG
CCAGGGTACCCTGCTGACCGTGTCTAGT (SEQ ID NO: 32)

PD-1 C Hv 可变重链区氨基酸序列:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASSGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVAYISNGGGDTHYADSL
KGRFTVSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARENYGTSPFVYWGQGLVTVSS (SEQ ID
NO: 33)

PD-1 C Hv 可变重链区核酸序列:

GAAGTGCAGCTGGTGGAAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCT
GTGCCGCCAGCGGCTTACCTTACGCAACTACGCCATGAGCTGGGTGCGCCAGGCCCTGGAAA
AGGCCTGGAATGGGTGGCTACATCAGCAACGGCGGAGGCGATAACCCACTACGCCGATAGCCTG
AAGGGCCGGTTCACCGTGTCCAGAGACAACAGCAAGAACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCC
TGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCGCCAGAGAGAACTACGGCACCAGCCCCTTCGT
GTACTGGGGCCAGGGTACCCTCGTGACCGTGTCTCT (SEQ ID NO: 34)

[0931]

PD-1 Ca Hv 可变重链区氨基酸序列:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASSGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVAYISNQGDDTHYADSL
KGRFTVSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARENYGTSPFVYWGQGLVTVSS (SEQ ID
NO: 35)

PD-1 Ca Hv 可变重链区核酸序列:

GAAGTGCAGCTGGTGGAAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCT
GTGCCGCCAGCGGCTTACCTTACGCAACTACGCCATGAGCTGGGTGCGCCAGGCCCTGGAAA
AGGCCTGGAATGGGTGGCTACATCAGCCAAGGCGGAGGCGATAACCCACTACGCCGATAGCCTG
AAGGGCCGGTTCACCGTGTCCAGAGACAACAGCAAGAACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCC
TGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCGCCAGAGAGAACTACGGCACCAGCCCCTTCGT
GTACTGGGGCCAGGGTACCCTCGTGACCGTGTCTCT (SEQ ID NO: 36)

PD-1 D Hv 可变重链区氨基酸序列:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAHSGFSFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGRYTYADSV
KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASNYYGFDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID
NO: 37)

PD-1 D Hv 可变重链区核酸序列:

GAAGTGCAGCTGGTGGAACTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCT
GTGCCACAGCGGCTTCAGCTTCAGCAGCTACGACATGAGCTGGGTGCGCCAGGCCCTGGCAA
AGGACTGGAATGGGTGGCCACAATCAGCGCGGAGGCCGGTACACCTACTACGCCGATAGCGTG
AAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCC
TGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGCAACTACTACGGCTTCGACTACTGGGG
CCAGGGTACCCTGCTGACCGTGTCTATCT (SEQ ID NO: 38)

[0932]

PD-1 1.0 Lv 可变轻链区氨基酸序列:

DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASESVDNYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 39)

PD-1 1.0 Lv 可变轻链区核酸序列:

GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCA
CCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACAACACTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCAGCAGAA
GCCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGCGTGCCAAGC
AGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCATGCAGCCCAGG
ACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGTACCAA
GCTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 40)

PD-1 1.1 Lv 可变轻链区氨基酸序列:

DIQLTQSPSSLSVSVGDRTITCRASESVDNYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 41)

PD-1 1.1 Lv 可变轻链区核酸序列:

GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCCGTGTCCGTGGGCGACAGAGCCACCATCA
CCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACAACACTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCCAGCAGAA
GCCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGGCGTGCCAAGC
AGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCATGCAGCCCAGAG
ACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGTACCAA
GCTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 42)

PD-1 1.2 Lv 可变轻链区氨基酸序列:

DIQLTQSPSSLSASVGDRTTITCRASESVDQYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 43)

PD-1 1.2 Lv 可变轻链区核酸序列:

[0933]

GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCA
CCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACCAATACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCCAGCAGAA
GCCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGGCGTGCCAAGC
AGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCATGCAGCCCAGAG
ACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGTACCAA
GCTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 44)

PD-1 1.4 Lv 可变轻链区氨基酸序列:

DIQLTQSPSSLSASVGDRTTITCRASESVDSYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 45)

PD-1 1.4 Lv 可变轻链区核酸序列:

GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCA
CCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACAGTTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCCAGCAGAA
GCCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGGCGTGCCAAGC
AGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCATGCAGCCCAGAG
ACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGTACCAA
GCTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 46)

PD-1 1.5 Lv 可变轻链区氨基酸序列:

DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQOKPGKAPKLLIYAASNQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 47)

PD-1 1.5 Lv 可变轻链区核酸序列:

GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCA
CCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCCAGCAGAA
GCCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGGCGTGCCAAGC
AGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCATGCAGCCCAGG
ACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGTACCAA
GCTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 48)

PD-1 1.6 Lv 可变轻链区氨基酸序列:

[0934]

DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASEVDNYGISFMNWFQOKPGKAPKLLIYAASDQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 49)

PD-1 1.6 Lv 可变轻链区核酸序列:

GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCA
CCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACAACTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCCAGCAGAA
GCCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCGATCAGGGCAGCGGCGTGCCAAGC
AGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCATGCAGCCCAGG
ACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGTACCAA
GCTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 50)

PD-1 1.7 Lv 可变轻链区氨基酸序列:

DIQLTQSPSSLSVSVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQOKPGKAPKLLIYAASNQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 51)

PD-1 1.7 Lv 可变轻链区核酸序列:

GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCCGTGTCCGTGGGCGACAGAGCCACCATCA
CCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCCAGCAGAA
GCCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGGCGTGCCAAGC
AGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCATGCAGCCCGAGG
ACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGTACCAA
GCTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 52)

PD-1 1.9 Lv 可变轻链区氨基酸序列:

DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 53)

PD-1 1.9 Lv 可变轻链区核酸序列:

[0935]

GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCA
CCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCCAGCAGAA
GCCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGGCGTGCCAAGC
AGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCATGCAGCCCGAGG
ACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGTACCAA
GGTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 54)

PD-1 1.10 Lv 可变轻链区氨基酸序列:

DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPYTFFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 55)

PD-1 1.10 Lv 可变轻链区核酸序列:

GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCA
CCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCCAGCAGAA
GCCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGGCGTGCCAAGC
AGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCATGCAGCCCGAGG
ACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTACACCTTTGGCCAGGGTACCAA
GCTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 56)

PD-1 2 Lv 可变轻链区氨基酸序列:

DIQMTQSPSSLSASVGDRTMTCKSSQSLLYSSNQKNYLAWYQQKPGKAPKLLIFWASIRESGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISVQPEDFATYYCQQSDSYPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID
NO: 57)

PD-1 2 Lv 可变轻链区核酸序列:

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGATAGAGTGACCATGA
CCTGCAAGAGCAGCCAGAGCCTGCTGTACTCCAGCAACCAGAAGAACTACCTGGCCTGGTATCA
GCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTTCTGGGCCAGCATCCGGGAAAGCGGCGTG
CCCAGCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGCGTGACGC
CCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCGACAGCTACCCCTGGACCTTTGGCCAGGG
TACCAAGCTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 58)

[0936]

PD-1 4 Lv 可变轻链区氨基酸序列:

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVGTAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPSRFSG
SGSGTDFTLTISVQPEDFATYYCQQYSSYPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 59)

PD-1 4 Lv 可变轻链区核酸序列:

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCA
CATGCAAGGCCAGCCAGGACGTGGGAACAGCCGTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGC
CCCCAAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACCAGACACACCGGCGTGCCAGCAGATTTTCTGGC
AGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGCGTGACGCCGAGGACTTCGCCACCT
ACTACTGCCAGCAGTACAGCAGCTACCCCTGGACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAA
G (SEQ ID NO: 60)

κ恒定区氨基酸序列:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 61)

κ恒定区核酸序列:

CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA
 CTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGT
 GGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGC
 ACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACG
 CCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTG
 T (SEQ ID NO: 62)

hIgG4 S228P 氨基酸序列:

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
 LSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK
 DTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
 WLNQKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
 IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
 LSLSLGK (SEQ ID NO: 63)

[0937]

hIgG4 S228P 核酸序列:

GCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTGTAGCAGAAGCACCAGCGAGTCTA
 CAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCT
 AGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC
 CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCAAGACCTACACCTGTAACGTGG
 ACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGCGGGTGAATCTAAGTACGGCCCTCCCTGCCC
 TCCTTGCCAGCCCCTGAATTTCTGGGGGACCGTCAGTCTTCCCTCTCCCCCAAAACCCAAG
 GACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAG
 ACCCTGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCC
 GCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGAC
 TGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGGCCTGCCAGCTCCATCGAGA
 AAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCA
 GGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGAC
 ATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGC
 TGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAGACTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGA
 AGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC
 CTCTCCCTGTCTCTGGGTAAA (SEQ ID NO: 64)

[0938]

[0939] 这些可变重链区 (VH) 和可变轻链区 (VL) 可以以多种组合使用以产生本发明的抗 PD-1 抗体。例如, 本文称为 A1.0 的抗体包括 SEQ ID NO: 21 的 VH 序列和 SEQ ID NO: 39 的 VL 序列, A1.5 抗体包括 SEQ ID NO: 21 的 VH 序列和 SEQ ID NO: 47 的 VL 序列; 本文称为 C1.1 的抗体包括 SEQ ID NO: 33 的 VH 序列和 SEQ ID NO: 41 的 VL 序列, 等等。

[0940] 如图 4-5 中所示, 人源化抗 PD-1 抗体在标准 ELISA 中以类似于纳武单抗和/或派姆

单抗的方式结合hPD-1,并且人源化抗体的结合在抑制性ELISA中抑制PD-1结合PDL1和PDL2(图6-9)。ELISA如下进行。对于hPD-1结合ELISA,将人PD-1-Fc (R and D systems, Minneapolis, MN) 吸附至96孔ELISA板的孔。将经纯化的抗PD-1抗体以系列稀释施加至板并允许结合。用抗人IgG-HRP缀合物(Fab特异性的)(Sigma, St Louis, MO) 检测结合的抗体并用发色底物TMB (Thermo Scientific, Rockford, IL) 显现。在Prizm (Sigma Plot) 中绘图并将数据拟合至单位点饱和结合的模式。对于配体抑制性ELISA,将人PD-1-Fc (R and D systems, Minneapolis, MN) 吸附至96孔ELISA板的孔。在存在2nM生物素化的hPD-L1或2nM生物素化的hPDL2的情况下,将纯化的抗PD-1抗体以系列稀释施加至板。Pierce™链霉抗生物素蛋白多HRP缀合物(Thermo Scientific, Rockford, IL) 和用TMB显现。在Prizm (Sigma Plot) 中绘图并将数据拟合至单位点竞争结合的模式并测定IC₅₀。

[0941] 实施例3:抗PD-1抗体显示结合中的特异性

[0942] 实施例3通过板ELISA显示本发明的人源化抗PD-1抗体组A1和C1特异性结合hPD-1。

[0943] 本发明的抗PD-1抗体A1.5的结合在标准ELISA中针对一组众多人和小鼠蛋白对于hPD-1-Fc是高度特异性的(图10)。用抗人IgG-HRP缀合物(Fab特异性的)(Sigma, St Louis, MO) 检测抗PD-1 A1.5的结合并用发色底物TMB (Thermo Scientific, Rockford, IL) 显现。在Prizm (Sigma Plot) 中绘图并将数据拟合至单位点饱和结合的模式。

[0944] 实施例4:抗PD-1表位结合

[0945] 本实施例比较本发明的人源化抗PD-1抗体、纳武单抗和派姆单抗所结合的表位。

[0946] 纳武单抗和派姆单抗抗PD-1抗体各自结合人PD-1并且各自的此类结合抑制PD-1结合PDL1和PDL2。为了定位本发明的人源化组A1和C1抗体的表位,进行抗PD-1抑制性ELISA,并且与纳武单抗和派姆单抗抑制比较。将纳武单抗、派姆单抗、A1和C1抗体的稀释系列在存在浓度为0.3nM的生物素化的纳武单抗Fab或生物素化的派姆单抗Fab的情况下在标准板ELISA形式中与hPD-1-Fc (R & D systems, Minneapolis, MN) 进行孵育。通过Pierce™链霉抗生物素蛋白多HRP缀合物(Thermo Scientific, Rockford, IL) 检测生物素化的Fab的结合并用TMB (Thermo Scientific, Rockford IL) 和1N HCl显现。属于本发明的A1和C1组的抗体类似于派姆单抗抗体且比纳武单抗抗体更完全阻断生物素化的派姆单抗Fab结合PD-1(图11A)。相同的本发明的A1和C1抗体类似于纳武单抗抗体且比派姆单抗抗体更完全阻断生物素化的纳武单抗结合(图11B)。图11A和11B中的数据显示本发明的A1和C1抗体完全阻断纳武单抗和派姆单抗,而纳武单抗和派姆单抗彼此不完全阻断。

[0947] 实施例5:抗PD-1 A1.5增强由来自CMV阳性供体的PBMC的CMV刺激的细胞因子分泌

[0948] 在本实施例中,将来自CMV阳性供体的外周血单核细胞在CMV病毒裂解物和本发明的抗PD-1抗体存在的情况下孵育以评价此类抗PD-1抗体对干扰素 γ (IFN- γ 、IFN γ -g、IFN γ 或IFN- γ) 细胞因子分泌的作用。

[0949] 将来自CMV阳性供体的PBMC (Hemacare) 以 2×10^5 细胞/孔在CMV病毒裂解物(Astarte) 和本发明的抗PD-1抗体A1.5或hIgG4同种型对照抗体存在的情况下进行铺板。四天后,从每一孔去除上清液,并使用IFN- γ ELISA试剂盒(Life Technologies, Carlsbad, CA) 测定IFN- γ 水平(图12)。相比于对照hIgG4,抗PD-1抗体A1.5增加CMV刺激的IFN- γ 分泌并且具有与抗PD-1纳武单抗和派姆单抗抗体类似的效力。

[0950] 实施例6:抗PD-1抗体以高亲和力和低解离动力学结合单体hPD-1

[0951] 在本实施例中,本发明的人源化抗PD-1抗体显示以高亲和力和低解离结合单体PD-1。

[0952] 可活化抗体可以单独活化,产生单价结合部分,或者双重活化,产生二价结合部分。具有不同亲和力的抗体的单臂活化可以以更高的单价亲和力有利于可活化抗体的结合和生物活性。将本发明的抗PD-1抗体A1.5和Bba2以及纳武单抗和派姆单抗以相同密度固定在Forte-Bio Octet BioLayer Inferometry (Pall ForteBio, Menlo Park, CA)传感器上并允许结合溶液中的人PD-1-His (R & D systems, Minneapolis, MN)的系列稀释。用ForteBio Data Analysis软件进行动力学分析。结果(图13)显示本发明的PD-1抗体与纳武单抗或派姆单抗相似或更高的亲和力以及相似或更低的解离常数结合单体PD-1。

[0953] 实施例7:可活化抗PD-1 M13/A1.4/A1.5抗体掩蔽部分

[0954] 本实施例描述降低本发明的抗PD-1抗体结合其靶标的掩蔽部分(MM)的鉴定。

[0955] 将抗PD-1抗体m136-M13、A1.4和A1.5用于筛选文库,其使用与公开于2010年7月15日的PCT国际公开号WO 2010/081173中所述相似的方法进行。筛选由一轮MACS和五轮FACS分选组成。对于初始MACS,将约 2×10^{11} 个细胞与浓度为100nM的m136-M13抗体孵育,并且使用Protein-G Dynabeads (Invitrogen)收集 6×10^6 个结合物。FACS轮次如下进行:用DyLight 650 (Thermo-Fisher)标记的m136-M19抗体标记细胞,对于FACS第1-4轮如下:100nM FACS第1轮(F1)、10nM FACS第2轮(F2)、2nM FACS第3轮(F3)和1nM FACS第4轮(F4),且在每轮收集如通过荧光评价的渐增地小百分比的结合物。对于FACS第5轮(F5),用1nM DyLight 650标记的A1.5抗体标记细胞并收集最亮的0.2-4%细胞。通过序列分析鉴定来自F3、F4和F5的单独肽克隆并且随后验证其结合DyLight-650 A1.4或DyLight-650 A1.5的能力。

[0956] 抗PD-1 m136-M13、A1.4和A1.5掩蔽部分的序列列于表12(掩蔽部分PD001在本发明中也称为PD01和/或PD-01;掩蔽部分PD002本文也称为PD02和/或PD-02,等等):

[0957] 表12:掩蔽部分

[0958]

掩蔽物	氨基酸序列	SEQ ID NO:
PD001	AMSGCSWSAFCPYLA	66
PD002	DVNCAIWYSVCTTVP	67
PD003	LVCPLYALSSGVCMG	68
PD004	SVNCRIWSAVCAGYE	69
PD005	MLVCSLQPTAMCERV	70
PD006	APRCYMFASYCKSQY	71
PD007	VGPCELTPKPV CNTY	72
PD008	ETCNQYERSSGLCFA	73
PD009	APRTCYTYQCSSFYT	74
PD010	GLCSWYLSSSGLCVD	75
PD011	VPWCQLTPRVMCMWA	76
PD012	NWLDCQFYSECSVYG	77
PD013	SCPLYVMSSFGGCWD	78
PD014	MSHCWMFSSSCDGVK	79
PD015	VSYCTWLIEVTCLRG	80
PD016	VLCAAYALSSGICGG	81

[0959]

PD017	TTCNLYQQSSMFCNA	82
PD018	APRCYMFASYCKSQY	83
PD019	PCDQNPYFYPPYVCHA	84
PD020	SVCPMYALSSMLCGA	85
PD021	LSVECYVFSRCSSLP	86
PD022	FYCTYLVSLTCHPQ	87
PD023	SMAGCQWSSFCVQRD	88
PD024	IYSCYMFASRCTSDK	89
PD025	SRCVYEVSSGLCDW	90
PD026	GMCSAYAYSSKLCTI	91
PD027	MTTNTCNLLCQQFLT	92
PD028	FQPCLMFASSCFTSK	93
PD029	WNCHPAGVGPVFCEV	94
PD030	ALCSMYLASSGLCNK	95
PD031	NYLSCQFFQNCYETY	96
PD032	GWCLFSDMWLGLCSA	97
PD033	EFCARDWLPYQCSSF	98
PD034	TSYCSIEHYPCNTHH	99
PD035	PYICSSFPLDCQAGQ	100
PD036	VGCEWYMSSSGMCSR	101
PD037	EVCGGCSMQSVSCWP	102
PD038	FTECQLSPKAICMSN	103
PD039	KYCLFSEYVEGTCLN	104
PD040	SGCPMYAWGWDECWR	105
PD041	VDCPWYASSSAICSR	106
PD042	DMLLCQIRGSCAAWG	107
PD043	ECHPYQASASLWCGY	108
PD044	MMMGCMWSAWCPPSR	109
PD045	NAYFRCSLMCNMIMF	110
PD046	ACCKESVHSVHDCR	111

[0960]

PD047	ACIGINSYMSNYCYL	112
PD048	ANCSFLELTNKFCTI	113
PD049	AYCSYLMFASNPCI	114
PD050	CFTSKCPCLCYSLLA	115
PD051	CLCRDINCWLGCST	116
PD052	CWCDIYCSPYQCSSF	117
PD053	DCIYYYQQSANLCSY	118
PD054	DCTGVNYYIDKHCTN	119
PD055	DECHGYLRSSGLCGG	120
PD056	DICSAYAASSGFCYY	121
PD057	DIICVLTPTAWCGRT	122
PD058	DNCCMYCSWWIACRD	123
PD059	DSCQWYMLSADLCGT	124
PD060	DSVCFSSSSFLCHKS	125
PD061	DTMCAIWWTVCSGGR	126
PD062	ECTYQTSSFHEACMS	127
PD063	EGCNLYERSSYGCNN	128
PD064	EGCTAFAMSAGICGG	129
PD065	EQSCSLTPIAFCWSE	130
PD066	EWCNAYISSSKLCST	131
PD067	FEVCYMFASACRNGM	132
PD068	FSCSWYAESSLCDI	133
PD069	FVCQMFEASSGLCGG	134
PD070	FYCPCCMFASSCGSR	135
PD071	FYCSYLPGASHQCSH	136
PD072	FYCSYLYMCEVCCYE	137
PD073	GFCTQHTVLTWCPTS	138
PD074	GSCPSYAVSAGLCYA	139
PD075	GSQCFLTPTAFCTHT	140
PD076	GTCHPYMQSSKICNN	141

[0961]

PD077	GVECFVFTGGCGGYG	142
PD078	HELCNGHWVPCCWAY	143
PD079	ICDSYYAVSSGLCLL	144
PD080	IGCAWYVSSAGWCSP	145
PD081	INLCWMFASECGEHH	146
PD082	KCWLAEMTNLEHCNM	147
PD083	KHCSDFAYSRLCDR	148
PD084	KVCSSYASSSGLCGW	149
PD085	LDSCYMFASYCVQAV	150
PD086	LLACHPIFVTVCQTR	151
PD087	LLSCPYNPEHVCHTS	152
PD088	LMCSLYALSSNLCGR	153
PD089	LMWCVLFLWSWCCRI	154
PD090	LPICHLTPTAVCTHI	155
PD091	LSNMCLAFGSCLYAW	156
PD092	LSRCHPIWYTICQNP	157
PD093	LTQCMSVHKECGGYE	158
PD094	LVNCRIWSWCCEAT	159
PD095	LYCSWYQMSSAVCKE	160
PD096	MECGWYALSARFCEV	161
PD097	MTCSPYAMSAHFCNE	162
PD098	MVCSLYAYSASLCGA	163
PD099	NALCWSTFSWWCDMD	164
PD-100	NFTCMLTPKAYCVQT	165
PD-101	NGACIFTLWCTNKT	166
PD-102	NGCELYAAASGLCRT	167
PD-103	NIECSVFGRCCCDNY	168
PD-104	PACRPMFWNRSCDNI	169
PD-105	PCRVSNMFFPYNCLD	170
PD-106	PIMCMLLPESYCWIW	171

[0962]

PD-107	PQSCYMFASLCMPNG	172
PD-108	PRCPQGLPLYQCSSF	173
PD-109	PSVECLVFKRCYALP	174
PD-110	PVCQRSATIYNCNWF	175
PD-111	QCAAYYISSFGGCSN	176
PD-112	QFGCFMLARDFCGTY	177
PD-113	QMMCPYNPEHKCHQK	178
PD-114	QRECWMFASSCNSKN	179
PD-115	QSNMCTTYICSSFNY	180
PD-116	QSRCHSLAPYLCSSF	181
PD-117	RAYCSLLFADSCNNN	182
PD-118	RCIGINQYIDSNCYN	183
PD-119	RLSCFMFASQCALEF	184
PD-120	RQCIILMNHRQCFFK	185
PD-121	RSCTPYMMSSSLCNT	186
PD-122	RYCHYWKMPYECSSF	187
PD-123	SCVSLSWFDMLKCYE	188
PD-124	SDNCEIWWTVCSAAM	189
PD-125	SFCWSYLVSSGLCGV	190
PD-126	SMCMNNYGTTIMCGN	191
PD-127	SMVGCGWSTFCPSRG	192
PD-128	SSLHCANGHTCPFCL	193
PD-129	SVCSYYEESSGICSP	194
PD-130	SWCGWYAASSGVCAL	195
PD-131	TCISQTIDSYLNCVN	196
PD-132	TFCNLYTKSSNICMS	197
PD-133	TYCVFHEYLDNTCNN	198
PD-134	VATGCPNLMLCGSWP	199
PD-135	VEYCSLLLGNRCDYW	200
PD-136	VGCNMYLMSAGLCVD	201

[0963]

PD-137	VLYCSWDSGTCVGS	202
PD-138	VMFSCYYLETCA	203
PD-139	VRIGLCPESCLV	204
PD-140	VTCTYYATSSSL	205
PD-141	VTGCILLPKAWC	206
PD-142	VWCSIYEYSSNL	207
PD-143	WMLECQYNNTCN	208
PD-144	WPCSPLEYYNNIC	209
PD-145	WTYDCHLNQTC	210
PD-146	YCSINMYLIGGN	211
PD-147	YFCSLYANSAG	212
PD-148	YVSCYMFSSSCP	213

[0964] 实施例8:可活化抗PD-1 A1.4和A1.5抗体

[0965] 本实施例描述本发明的可活化抗PD-1 A1.4和A1.5抗体的实例。

[0966] 包含抗PD-1 M13掩蔽部分、可切割部分和本发明的抗PD-1 A1.4抗体的可活化抗PD-1 A1.4抗体以及包含抗PD-1 M13或抗PD-1 A1.5掩蔽部分、选自可切割部分的可切割部分和抗PD-1 A1.5抗体的可活化抗PD-1 A1.5抗体根据与PCT公开号WO 2009/025846和WO 2010/081173中所述的那些相似的方法来产生,所述PCT公开的内容以其整体通过引用并入本文。在一些实施方案中,可切割部分选自本文称为“2001”且包含序列ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 214)的可切割部分和本文称为“3001”且包含序列AVGLLAPPGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 318)的可切割部分。下文提供本发明的若干可活化抗PD-1抗体可变结构域的氨基酸和核酸序列。抗体如含有单一氨基酸取代S228P (Angal, 等人.1993.Mol Immunol 30: 105-8.)HC和hK LC形式的hIgG4产生。

[0967] 在一些实施方案中,可活化抗体还包括间隔区序列。在一些实施方案中,间隔区直接连接可活化抗体的MM。在一些实施方案中,间隔区以从N末端至C末端为间隔区-MM-CM-AB的结构排列直接连接可活化抗体的MM。在一些实施方案中,直接连接至可活化抗体的MM的N末端的间隔区选自QQQSGQG (SEQ ID NO:362)、QQQSGQ (SEQ ID NO:913)、QQQSG (SEQ ID NO:914)、QQQS (SEQ ID NO:915)、QQQ (SEQ ID NO:916)、QG (SEQ ID NO:917)和Q。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QQQSGQG (SEQ ID NO:362)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QQQSGQ (SEQ ID NO:913)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QQQSG (SEQ ID NO:914)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QQQS (SEQ ID NO:915),在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QQQ (SEQ ID NO:916)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QG (SEQ ID NO:917)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸残基Q。在一些实施方案中,可活化抗体不包括间隔区序列。

[0968] 尽管下文显示的序列包括SEQ ID NO: 362的间隔区序列,但本领域技术人员理解本发明的可活化抗PD-1抗体可以包括任何合适的间隔区序列,诸如例如选自以下的间隔区

序列:QQQSGQG (SEQ ID NO:362)、QQQSGQ (SEQ ID NO:913)、QQQSG (SEQ ID NO:914)、QQQS (SEQ ID NO:915)、QQQ (SEQ ID NO:916)、QG (SEQ ID NO:917)和Q。间隔区的另外实例包括GQSGQG (SEQ ID NO:2042)、QSGQG (SEQ ID NO:2043)、SGQG (SEQ ID NO:2044)、GQG (SEQ ID NO:2045)、QG (SEQ ID NO:2046)和G。尽管下文显示的序列包括SEQ ID NO:362的间隔区序列,但本领域普通技术人员也将理解在一些实施方案中的本发明的可活化抗PD-1抗体不包括间隔区序列。

可活化抗PD-1可变结构域:

[0969]

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.4 PD001 2001 (SEQ ID NO: 919)]

[QQQSGQG] [AMSGCSWSAFPCPYLAGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDSYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 215)

PD-1 1.4 PD001 2001 氨基酸序列:

AMSGCSWSAFPCPYLAGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASESVDSYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1041)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.4 PD001 2001 (SEQ ID NO: 920)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGATGAGTGGGTGCTCGTGGTCTGCTTTTTGCCCGTATT
TGGCGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACAGTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 216)

[0970]

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.4 PD002 2001 (SEQ ID NO: 921)]

[QQQSGQG] [DVNCAIWYSVCTTVPGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDSYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 217)

PD-1 1.4 PD002 2001 氨基酸序列:

DVNCAIWYSVCTTVPGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASESVDSYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1042)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.4 PD002 2001 (SEQ ID NO: 922)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GATGTTAATTGCGCTATTTGGTATTCGGTGTGCACTACTG
TTCCTGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACAGTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 218)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.4 PD003 2001 (SEQ ID NO: 923)]

[QGQSGQG] [LVCPLYALSSGVCMGGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDSYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 219)

[0971]

PD-1 1.4 PD003 2001 氨基酸序列:

LVCPLYALSSGVCMGGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASESVDSYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1043)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.4 PD003 2001 (SEQ ID NO: 924)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [TTGGTTTGCCCTTTGTATGCATTGAGTTCTGGGGTGTGCA
TGGGGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACAGTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 220)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.4 PD008 2001 (SEQ ID NO: 925)]

[0972]

[QGQSGQG] [ETCNQYERSSGLCFAGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDSYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 221)

PD-1 1.4 PD008 2001 氨基酸序列:

ETCNQYERSSGLCFAGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASESVDSYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1044)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.4 PD008 2001 (SEQ ID NO: 926)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GAGACTTGCAATCAGTATGAGAGGTCGAGTGGTTTGTGCT
TTGCGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACAGTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 222)

[0973]

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.4 PD009 2001 (SEQ ID NO: 927)]

[QQQSGQG] [APRTCYTYQCSSFYTGGSSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDSYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 223)

PD-1 1.4 PD009 2001 氨基酸序列:

APRTCYTYQCSSFYTGGSSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASESVDSYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1045)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.4 PD009 2001 (SEQ ID NO: 928)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGCCGCGGACGTGCTATACGTATCAGTGCTCTAGTTTTT
ATACTGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACAGTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG

CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 224)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.4 PD010 2001 (SEQ ID NO: 929)]

[QGQSGQG] [GLCSWYLSSSGLCVDGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDSYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 225)

PD-1 1.4 PD010 2001 氨基酸序列:

GLCSWYLSSSGLCVDGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASESVDSYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1046)

[0974]

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.4 PD010 2001 (SEQ ID NO: 930)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GGTCTTTGCAGTTGGTATCTTAGTAGTTCCGGTTTGTGCG
TGGATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACAGTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 226)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD01 2001 (SEQ ID NO: 931)]

[QGQSGQG] [AMSGCSWSAFCPYLAGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 227)

PD-1 1.5 PD01 2001 氨基酸序列:

AMSGCSWSAFCPYLAGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
 ASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
 TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1047)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD001 2001 (SEQ ID NO: 932)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGATGAGTGGGTGCTCGTGGTCTGCTTTTTGCCCGTATT
 TGGCGGGAGGTGGCTCGAGCGGGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
 TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
 GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
 ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
 CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCATCAGC
 AGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
 TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 228)

[0975]

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD002 2001 (SEQ ID NO: 933)]

[QQQSGQG] [DVNCAIWYSVCTTVPGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
 VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
 ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 229)

PD-1 1.5 PD002 2001 氨基酸序列:

DVNCAIWYSVCTTVPGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
 ASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
 TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1048)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD002 2001 (SEQ ID NO: 934)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GATGTTAATTGCGCTATTTGGTATTCGGTGTGCACTACTG
 TTCCTGGAGGTGGCTCGAGCGGGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
 TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
 GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
 ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG

CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 230)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD003 2001 (SEQ ID NO: 935)]

[QQQSGQG] [LVCPLYALSSGVCMMGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 231)

PD-1 1.5 PD003 2001 氨基酸序列:

LVCPLYALSSGVCMMGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1049)

[0976]

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD003 2001 (SEQ ID NO: 936)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [TTGGTTTGCCCTTTGTATGCATTGAGTTCTGGGGTGTGCA
TGGGGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 232)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD004 2001 (SEQ ID NO: 937)]

[QQQSGQG] [SVNCRIWSAVCAGYEGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 233)

PD-1 1.5 PD004 2001 氨基酸序列:

SVNCRIWSAVCAGYEGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1050)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD004 2001 (SEQ ID NO: 938)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [TCTGTGAATTGCCGGATTGGTTCGGCTGTTTGC GCGGGGT
ATGAGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 234)

[0977]

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD005 2001 (SEQ ID NO: 939)]

[QQQSGQG] [MLVCSLQPTAMCERVGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 235)

PD-1 1.5 PD005 2001 氨基酸序列:

MLVCSLQPTAMCERVGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1051)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD005 2001 (SEQ ID NO: 940)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [ATGCTTGTGTGCTCGTTGCAGCCTACTGCGATGTGCGAGC
GGGTGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG

CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 236)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD006 2001 (SEQ ID NO: 941)]

[QGQSGQG] [APRCYMFASYCKSQYGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 237)

PD-1 1.5 PD006 2001 氨基酸序列:

APRCYMFASYCKSQYGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 941)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD006 2001 (SEQ ID NO: 942)]

[0978]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGCCTAGGTGCTATATGTTTTCGCTCGTATTGCAAGAGTC
AGTATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 238)

PD-1 1.5 PD006 2001 核酸序列:

GCGCCTAGGTGCTATATGTTTTCGCTCGTATTGCAAGAGTCAGTATGGAGGTGGCTCGAGCGGCG
GCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCA
GCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCA
AGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGCGTGCCAAGCAGATTTTC
CGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCATGCAGCCCCGAGGACTTCGCC

ACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAA
TCAAG (SEQ ID NO: 942)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD007 2001 (SEQ ID NO: 943)]

[QQQSGQG] [VGPCELTPKPVNTYGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 239)

PD-1 1.5 PD007 2001 氨基酸序列:

VGPCELTPKPVNTYGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1052)

[0979] [间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD007 2001 (SEQ ID NO: 944)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GTGGGGCCTTGCGAGTTGACGCCGAAGCCTGTTTGCAATA
CGTATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 240)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD008 2001 (SEQ ID NO: 945)]

[QQQSGQG] [ETCNQYERSSGLCFAGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 241)

PD-1 1.5 PD008 2001 氨基酸序列:

ETCNQYERSSGLCFAGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASESVDAYGISFMNWFQOKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1053)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD008 2001 (SEQ ID NO: 946)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GAGACTTGCAATCAGTATGAGAGGTCGAGTGGTTTGTGCT
TTGCGGGAGGTGGCTCGAGCGGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCAAGCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 242)

[0980]

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD009 2001 (SEQ ID NO: 947)]

[QGQSGQG] [APRTCYTYQCSSFYTGGSSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQOKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 243)

PD-1 1.5 PD009 2001 氨基酸序列:

APRTCYTYQCSSFYTGGSSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASESVDAYGISFMNWFQOKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1054)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD009 2001 (SEQ ID NO: 948)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGCCGCGGACGTGCTATACGTATCAGTGCTCTAGTTTTT
ATACTGGAGGTGGCTCGAGCGGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCAAGCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG

CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 244)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD010 2001 (SEQ ID NO: 949)]

[QGQSGQG] [GLCSWYLSSSGLCVDGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVITICRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 245)

PD-1 1.5 PD010 2001 氨基酸序列:

GLCSWYLSSSGLCVDGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVITICR
ASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1055)

[0981]

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD010 2001 (SEQ ID NO: 950)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GGTCTTTGCAGTTGGTATCTTAGTAGTTTCGGGTTTGTGCG
TGGATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 246)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD011 2001 (SEQ ID NO: 951)]

[QGQSGQG] [VPWCQLTPRVMCMWAGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVITICRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 247)

PD-1 1.5 PD011 2001 氨基酸序列:

VPWCQLTPRVCMWAGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVITICR
 ASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
 TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1056)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD011 2001 (SEQ ID NO: 952)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GTGCCTTGGTGCCAGTTGACGCCGCGGGTTATGTGCATGT
 GGGCGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
 TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
 GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
 ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
 CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
 AGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
 TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 248)

[0982] [间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD012 2001 (SEQ ID NO: 953)]

[QQQSGQG] [NWLDCQFYSECSVYGGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
 VGDRVITICRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI
 ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 249)

PD-1 1.5 PD012 2001 氨基酸序列:

NWLDCQFYSECSVYGGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVITICR
 ASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
 TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 953)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD012 2001 (SEQ ID NO: 954)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [AATTGGTTGGATTGCCAGTTTTATTCTGAGTGCTCTGTTT
 ATGGTGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
 TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
 GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
 ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG

CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 250)

PD-1 1.5 PD012 2001 核酸序列:

AATTGGTTGGATTGCCAGTTTTATTCTGAGTGCTCTGTTTATGGTGGAGGTGGCTCGAGCGGCG
GCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCA
GCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCAGCAGAAGCCCGGCA
AGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTC
CGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCATGCAGCCCAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAA
TCAAG (SEQ ID NO: 954)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD013 2001 (SEQ ID NO: 955)]

[0983]

[QQQSGQG] [SCPLYVMSSFGGCWDGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVITICRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 251)

PD-1 1.5 PD013 2001 氨基酸序列:

SCPLYVMSSFGGCWDGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVITICR
ASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1057)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD013 2001 (SEQ ID NO: 956)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [TCGTGCCCTTTGTATGTGATGTCTAGTTTTGGTGGGTGCT
GGGATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC

AGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 252)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD014 2001 (SEQ ID NO: 957)]

[QQQSGQG] [MSHCWMFSSSCDGVKGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 253)

PD-1 1.5 PD014 2001 氨基酸序列:

MSHCWMFSSSCDGVKGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1058)

[0984]

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD014 2001 (SEQ ID NO: 958)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [ATGAGTCATTGCTGGATGTTTTTCGAGTTCTTGCGATGGGG
TGAAGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 254)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD015 2001 (SEQ ID NO: 959)]

[QQQSGQG] [VSYCTWLIEVTCLRGGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 255)

PD-1 1.5 PD015 2001 氨基酸序列:

VSYCTWLVIEVTCVLRGGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCR
ASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1059)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD015 2001 (SEQ ID NO: 960)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GTTTCGTATTGCACGTGGTTGATTGAGGTGACTTGCCTGA
GGGGTGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 256)

[0985] [间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD016 2001 (SEQ ID NO: 961)]

[QQQSGQG] [VLCAAYALSSGICGGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 257)

PD-1 1.5 PD016 2001 氨基酸序列:

VLCAAYALSSGICGGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCR
ASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1060)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD016 2001 (SEQ ID NO: 962)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GTTTTGTGCGCTGCTTATGCTTTGAGTTCGGGTATTTGCG
GTGGGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG

CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 258)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD017 2001 (SEQ ID NO: 963)]

[QGQSGQG] [TTCNLYQQSSMFCNAGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 259)

PD-1 1.5 PD017 2001 氨基酸序列:

TTCNLYQQSSMFCNAGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1061)

[0986]

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD017 2001 (SEQ ID NO: 964)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [ACGACTTGCAATCTGTATCAGCAGTCTTCTATGTTTTGCA
ATGCTGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 260)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD018 2001 (SEQ ID NO: 965)]

[QGQSGQG] [APRCYMFASYCKSQYGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 261)

PD-1 1.5 PD018 2001 氨基酸序列:

APRCYMFASYCKSQYGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
 ASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
 TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1062)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD018 2001 (SEQ ID NO: 966)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGCCTAGGTGCTATATGTTTGCCTCGTATTGCAAGAGTC
 AGTATGGAGGTGGCTCGAGCGGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
 TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
 GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
 ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
 CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCATCAGC
 AGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
 TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 262)

[0987]

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD019 2001 (SEQ ID NO: 967)]

[QQQSGQG] [PCDQNPYFYPYVCHAGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
 VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
 ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 263)

PD-1 1.5 PD019 2001 氨基酸序列:

PCDQNPYFYPYVCHAGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
 ASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
 TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 967)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD019 2001 (SEQ ID NO: 968)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CCTTGCATCAGAATCCGTATTTTATCCGTATGTGTGCC
 ATGCGGGAGGTGGCTCGAGCGGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
 TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
 GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
 ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG

CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 264)

PD-1 1.5 PD019 2001 核酸序列:

CCTTGCATCAGAATCCGTATTTTATCCGTATGTGTGCCATGCGGGAGGTGGCTCGAGCGGCG
GCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCA
GCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCA
AGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGCGTGCCAAGCAGATTTTC
CGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAA
TCAAG (SEQ ID NO: 968)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD020 2001 (SEQ ID NO: 969)]

[0988] [QGQSGQG] [SVCPMYALSSMLCGAGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVITICRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 265)

PD-1 1.5 PD020 2001 氨基酸序列:

SVCPMYALSSMLCGAGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVITICR
ASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1063)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD020 2001 (SEQ ID NO: 970)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [TCTGTGTGCCCTATGTATGCGTTGAGTTCTATGTTGTGCG
GTGCGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC

AGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 266)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD021 2001 (SEQ ID NO: 971)]

[QGQSGQG] [LSVECYVFSRCSSLPGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 267)

PD-1 1.5 PD021 2001 氨基酸序列:

LSVECYVFSRCSSLPGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1064)

[0989] [间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD021 2001 (SEQ ID NO: 972)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [TTGTCTGTGGAGTGCTATGTGTTTTTCGCGGTGCAGTAGTC
TGCCGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 268)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD022 2001 (SEQ ID NO: 973)]

[QGQSGQG] [FYCTYLVSILTCHPQGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASV
GDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI
SSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 269)

PD-1 1.5 PD022 2001 氨基酸序列:

FYCTYLVSILTCHPQGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRA
 SESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQGSVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFAT
 YYCQOSKDVPTWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1065)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD022 2001 (SEQ ID NO: 974)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [TTTTATTGCACTTATTTGGTGTCTTTGACTTGCCATCCGC
 AGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCA
 CGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGAC
 AGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGAACT
 GGTTCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAG
 CGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGC
 ATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTG
 GCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 270)

[0990]

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD023 2001 (SEQ ID NO: 975)]

[QQQSGQG] [SMAGCQWSSFCVQRDGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
 VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQGSVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
 TYYCQOSKDVPTWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 271)

PD-1 1.5 PD023 2001 氨基酸序列:

SMAGCQWSSFCVQRDGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
 ASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQGSVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
 TYYCQOSKDVPTWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1066)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD023 2001 (SEQ ID NO: 976)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [TCTATGGCGGGTTGCCAGTGGAGTTCGTTTTGCGTGCAGC
 GGGATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
 TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
 GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
 ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG

CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 272)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD024 2001 (SEQ ID NO: 977)]

[QGQSGQG] [IYSCYMFASRCTSDKGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQGSVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 273)

PD-1 1.5 PD024 2001 氨基酸序列:

IYSCYMFASRCTSDKGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQGSVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1067)

[0991]

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD024 2001 (SEQ ID NO: 978)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [ATTTATTCGTGCTATATGTTTGTCTCGCGGTGCACGTCTG
ATAAGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 274)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD002 3001 (SEQ ID NO: 979)]

[QGQSGQG] [DVNCAIWYSVCTTVPGGGSSGGAVGLLAPPGGLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQGSVPSRFSGSGSGTDF
TLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 275)

PD-1 1.5 PD002 3001 氨基酸序列:

DVNCAIWYSVCTTVPGGGSSGGAVGLLAPPGGLSGRSDNHGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTI
TCRASESVDAYGISFMNWFQOKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPE
DFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1068)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD002 3001 (SEQ ID NO: 980)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGTGATGTTAATTGCGCTATTTG
GTATTCGGTGTGCACTACTGTTTCTGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTG
CTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGGAGGATCCGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCGCTGTGG
GACTGCTGGCTCCTCCTGGTGGCCTGTCTGGCAGATCTGATAACCACGGAGGATCCGATATCCA
GCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCAGCAGAAGCCCGGCA
AGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTC
CGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCATGCAGCCCAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAA
TCAAG] (SEQ ID NO: 276)

[0992]

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD-12 3001 (SEQ ID NO: 981)]

[QGQSGQG] [NWLDCQFYSECSVYGGGSSGGAVGLLAPPGGLSGRSDNHGGSDIQLTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQOKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDF
TLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 277)

PD-1 1.5 PD-12 3001 氨基酸序列:

NWLDCQFYSECSVYGGGSSGGAVGLLAPPGGLSGRSDNHGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTI
TCRASESVDAYGISFMNWFQOKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPE
DFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1069)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD-12 3001 (SEQ ID NO: 982)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [AATTGGTTGGATTGCCAGTTTTATTCTGAGTGCTCTGTTT
ATGGTGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCGCTGTGGGACTGCTGGCTCCTCCTGGT

GGCCTGTCTGGCAGATCTGATAACCACGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCA
GCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGC
TTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATC
TACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCG
ACTTCACCCTGACCATCAGCAGCATGCAGCCCAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAG
CAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID
NO: 278)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD-16 3001 (SEQ ID NO: 983)]

[QGQSGQG] [VLCAAYALSSGICGGGGSSGGAVLLAPPGLSGRSDNHGGSDIQLTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDF
TLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 279)

PD-1 1.5 PD-16 3001 氨基酸序列:

[0993] VLCAAYALSSGICGGGGSSGGAVLLAPPGLSGRSDNHGGSDIQLTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDF
TLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1070)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD-16 3001 (SEQ ID NO: 984)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GTTTTGTGCGCTGCTTATGCTTTGAGTTCGGGTATTTGCG
GTGGGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCGCTGTGGGACTGCTGGCTCCTCCTGGT
GGCCTGTCTGGCAGATCTGATAACCACGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCA
GCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGC
TTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATC
TACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCG
ACTTCACCCTGACCATCAGCAGCATGCAGCCCAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAG
CAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID
NO: 280)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD025 2001 (SEQ ID NO: 985)]

[QGQSGQG] [SRCSVYEVSSGLCDWGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVITICRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 281)

PD-1 1.5 PD025 2001 氨基酸序列:

SRCSVYEVSSGLCDWGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVITICR
ASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1071)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD025 2001 (SEQ ID NO: 986)]

[0994]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [TCTCGTTGCTCTGTGTATGAGTTTCGTCGGGGCTGTGCG
ATTGGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 282)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD026 2001 (SEQ ID NO: 987)]

[QGQSGQG] [GMCSAYAYSSKLCTIGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVITICRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 283)

PD-1 1.5 PD026 2001 氨基酸序列:

GMCSAYAYSSKLCTIGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVITICR
ASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1072)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD026 2001 (SEQ ID NO: 988)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GGGATGTGCTCGGCGTATGCTTATTCGAGTAAGTTGTGCA
CTATTGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 284)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD027 2001 (SEQ ID NO: 989)]

[QGQSGQG] [MTTNTCNLLCQQFLTGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 285)

[0995]

PD-1 1.5 PD027 2001 氨基酸序列:

MTTNTCNLLCQQFLTGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1073)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD027 2001 (SEQ ID NO: 990)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [ATGACTACGAATACTTGCAATCTGTTGTGCCAGCAGTTTT
TGACGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 286)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD028 2001 (SEQ ID NO: 991)]

[QGQSGQG] [FQPCLMFASSCFTSKGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVITITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 287)

PD-1 1.5 PD028 2001 氨基酸序列:

FQPCLMFASSCFTSKGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCR
ASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 991)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD028 2001 (SEQ ID NO: 992)]

[0996]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [TTTCAGCCGTGCCTGATGTTTTCGAGTAGTTGCTTTACTA
GTAAGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 288)

PD-1 1.5 PD028 2001 核酸序列:

TTTCAGCCGTGCCTGATGTTTTCGAGTAGTTGCTTTACTAGTAAGGGAGGTGGCTCGAGCGGCG
GCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCA
GCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCAGCAGAAGCCCGCA
AGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTC
CGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAA
TCAAG (SEQ ID NO: 992)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD030 2001 (SEQ ID NO: 993)]
 [QGQSGQG] [ALCSMYLASSGLCNKGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
 VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLT
 ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 289)

PD-1 1.5 PD030 2001 氨基酸序列:

ALCSMYLASSGLCNKGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
 ASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
 TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1074)

[0997]

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD030 2001 (SEQ ID NO: 994)]
 [CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGCTTTCAGTATGTATCTTGCTAGTTCTGGGCTGTGCA
 ATAAGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
 TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
 GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGTTCATGA
 ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCCCAGCAATCAGGG
 CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
 AGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
 TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 290)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD033 2001 (SEQ ID NO: 995)]

[QGQSGQG] [EFCARDWLPYQCSSFGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
 VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLT
 ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 291)

PD-1 1.5 PD033 2001 氨基酸序列:

EFCARDWLPYQCSSFGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
 ASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
 TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1075)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD033 2001 (SEQ ID NO: 996)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GAGTTTTGCGCTCGGGATTGGCTGCCGTATCAGTGCTCGA
 GTTTTGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA

TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 292)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD034 2001 (SEQ ID NO: 1028)]

[QGQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVITICRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1029)

PD-1 1.5 PD034 2001 氨基酸序列:

TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVITICR
ASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1028)

[0998]

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD034 2001 (SEQ ID NO: 1030)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [ACGTCATACTGCAGTATTGAGCATTACCCCTGCAATACAC
ATCATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1031)

PD-1 1.5 PD034 2001 核酸序列:

ACGTCATACTGCAGTATTGAGCATTACCCCTGCAATACACATCATGGAGGTGGCTCGAGCGGCG
GCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCA
GCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCA
AGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTC

CGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCATGCAGCCCAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAA
TCAAG (SEQ ID NO: 1030)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD035 2001 (SEQ ID NO: 997)]

[QGQSGQG] [PYICSSFPLDCQAGQGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 293)

PD-1 1.5 PD035 2001 核酸序列:

[0999] PYICSSFPLDCQAGQGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1076)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD035 2001 (SEQ ID NO: 998)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CCTTATATTTGCTCTAGTTTTCCGTTGGATTGCCAGGCGG
GTCAGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 584)

[1000] 实施例9: 本发明的抗PD-1可活化抗体

[1001] 本实施例表明本发明的抗PD-1可活化抗体可以以MM、CM、VL和VH结构域的多种组合以及以多种不同Ig同种型来制备。此外,本实施例表明本发明的抗PD-1可活化抗体可以以MM、CM、VLCDR1、VLCDR2、VLCDR3、VHCDR1、VHCDR2和VHCDR3结构域的多种组合以及以多种不同Ig同种型来制备。

[1002]

表13A

掩蔽物序列	底物:	VL SEQ ID NO:	VH SEQ ID NO:	VL CDRs SEQ ID NO: CDR1 CDR2 CDR3	VH CDRs SEQ ID NO: CDR1 CDR2 CDR3
AMSGCSWSAFCPYLA (SEQ ID NO: 66)	LSGRSDNH (SEQ ID NO: 294)	1	3	653 658 664	669 678 683
DVNCALWYSVCTTVP (SEQ ID NO: 67)	TGRGFSWV (SEQ ID NO: 295)	5	7	654 659 665	670 679 684
LVCPLYALSSGVMG (SEQ ID NO: 68)	PLTGRSGG (SEQ ID NO: 296)	9	11	655 660 666	671 680 685
SVNCRIWSAVCAGYE (SEQ ID NO: 69)	TARGPSFK (SEQ ID NO: 297)	13	15	656 661 667	672 681 686
MLVCSLQPTAMCERV (SEQ ID NO: 70)	NTLSGRSENHSG (SEQ ID NO: 298)	17	19	657 662 668	673 682 687
APRCYMEASYCKSQY (SEQ ID NO: 71)	NTLSGRSGNHGS (SEQ ID NO: 299)	21	39	663	674
VGPCELTPKPVNTY (SEQ ID NO: 72)	TSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 300)	23	41		675
ETCNQYERSGGLCFA (SEQ ID NO: 73)	TSGRSANP (SEQ ID NO: 301)	25	43		676
APRTCYYQCSSFYT (SEQ ID NO: 74)	VHMPGLGLGP (SEQ ID NO: 302)	27	45		677
GLCSWYLSGGLCVD (SEQ ID NO: 75)	AVGLLAPP (SEQ ID NO: 303)	29	47	SEQ ID NO:1的VL CDR	SEQ ID NO:3的VH CDR
VPWCQLTFRVNCMWA (SEQ ID NO: 76)	AQNLLGMV (SEQ ID NO: 304)	31	49	SEQ ID NO:5的VL CDR	SEQ ID NO:7的VH CDR
NWLDCQFYSEC SVYG	QNQALRMA	33	51	SEQ ID NO:9的VL CDR	SEQ ID NO:11的VH CDR

[1003]

(SEQ ID NO: 77) SCPLYVMSFFGGCWD	(SEQ ID NO: 305) LAAPLGLL	35	53	SEQ ID NO:13的VL CDR	SEQ ID NO:15的VH CDR
(SEQ ID NO: 78) MSHCWFMFSSCDGVK	(SEQ ID NO: 306) STFFFGMF	37	55	SEQ ID NO:17的VL CDR	SEQ ID NO:19的VH CDR
(SEQ ID NO: 79) VSYCTWLIETCLRG	(SEQ ID NO: 307) ISSGLLSS		57	SEQ ID NO:21的VL CDR	SEQ ID NO:39的VH CDR
(SEQ ID NO: 80) VLCAAYALSSGICGG	(SEQ ID NO: 308) FAGLWLDP		59	SEQ ID NO:23的VL CDR	SEQ ID NO:41的VH CDR
(SEQ ID NO: 81) TTCNLYQSSMFCNA	(SEQ ID NO: 309) VAGRSMRP			SEQ ID NO:25的VL CDR	SEQ ID NO:43的VH CDR
(SEQ ID NO: 82) APRCYMFASYCKSQY	(SEQ ID NO: 310) VVPEGRRS			SEQ ID NO:27的VL CDR	SEQ ID NO:45的VH CDR
(SEQ ID NO: 83) PCDQNFYFPYVCHA	(SEQ ID NO: 311) ILPRSPAF			SEQ ID NO:29的VL CDR	SEQ ID NO:47的VH CDR
(SEQ ID NO: 84) SVCPMYALSSMLCGA	(SEQ ID NO: 312) MVLGRSLL			SEQ ID NO:31的VL CDR	SEQ ID NO:49的VH CDR
(SEQ ID NO: 85) LSVECYVFSRCSSLP	(SEQ ID NO: 313) QGRAITFI			SEQ ID NO:33的VL CDR	SEQ ID NO:51的VH CDR
(SEQ ID NO: 86) FYCTYLVSLTCHPQ	(SEQ ID NO: 314) SPRSIMLA			SEQ ID NO:35的VL CDR	SEQ ID NO:53的VH CDR
(SEQ ID NO: 87) SMAGCQWSSFCVQRD	(SEQ ID NO: 315) SMLRSMPL			SEQ ID NO:37的VL CDR	SEQ ID NO:55的VH CDR
(SEQ ID NO: 88) IYSCYMFASRCTSDK	(SEQ ID NO: 316) SARGPSRW				SEQ ID NO:57的VH CDR
(SEQ ID NO: 89) SRCSVYEVSSGLCDW	(SEQ ID NO: 319) GGWHTGRN				SEQ ID NO:59的VH CDR
(SEQ ID NO: 90)	(SEQ ID NO: 320)				

[1004]

		SEQ ID NO:543的 LC CDR	SEQ ID NO:546的 HC CDR
GMCSAYAYSSKLCCTI (SEQ ID NO: 91)	HTGRSGAL (SEQ ID NO: 321)		
MTTNTCNLLCQQFLT	AARGPAIH		
(SEQ ID NO: 92)	(SEQ ID NO: 322)		
FQPCLMFASCFSTK	RGPAFNPM		
(SEQ ID NO: 93)	(SEQ ID NO: 323)		
WNCHPAGVGPVFCEV	SSRGPAYL		
(SEQ ID NO: 94)	(SEQ ID NO: 324)		
ALCSMYLASSGLCNK	RGPATPIM		
(SEQ ID NO: 95)	(SEQ ID NO: 325)		
NYLSCQFFQNCYETY	RGPA		
(SEQ ID NO: 96)	(SEQ ID NO: 326)		
GWCLFSDMWLGLCSA	GGQPSGMWGW		
(SEQ ID NO: 97)	(SEQ ID NO: 327)		
EFCARDWLPYQCSSE	FRRPLGITGL		
(SEQ ID NO: 98)	(SEQ ID NO: 328)		
TSYCSIEHYPCNTHH	SELTGRSG		
(SEQ ID NO: 99)	(SEQ ID NO: 329)		
PYICSSFPLDCQAGQ	SAGFSLPA		
(SEQ ID NO: 100)	(SEQ ID NO: 330)		
VGCEWYMSSSGMCSR	LAPLGLQRR		
(SEQ ID NO: 101)	(SEQ ID NO: 331)		
EVCGGCSMQSVSWP	SGGPLGVR		
(SEQ ID NO: 102)	(SEQ ID NO: 332)		
FTECQLSPKAICMSN	PLGL		
(SEQ ID NO: 103)	(SEQ ID NO: 333)		
KYCLFSEYVEGTCLN	ISSGLSS		

[1005]

(SEQ ID NO: 104) SGCPMYAWGWDECWR	(SEQ ID NO: 334) FVGYTSSL
(SEQ ID NO: 105) VDCPWYASSSAICSR	(SEQ ID NO: 335) DWLYWPGI
(SEQ ID NO: 106) DMLLCQIRGSCAAWG	(SEQ ID NO: 336) LKAAPRWA
(SEQ ID NO: 107) ECHPYQASASLWCGY	(SEQ ID NO: 337) GPSHLVLT
(SEQ ID NO: 108) MMGCMWSAWCPPSR	(SEQ ID NO: 338) LPGGLSPW
(SEQ ID NO: 109) NAYFRCSLMCNMIME	(SEQ ID NO: 339) MGLFSEAG
(SEQ ID NO: 110) ACCKESVHSVHDKR	(SEQ ID NO: 340) SPLPLRVP
(SEQ ID NO: 111) ACIGINSYMSNYCYL	(SEQ ID NO: 341) RMHLRSLG
(SEQ ID NO: 112) ANCSFLELTNKFTI	(SEQ ID NO: 342) LLAPSHRA
(SEQ ID NO: 113) AYCSYLMEASNPCII	(SEQ ID NO: 343) GPRSFGL
(SEQ ID NO: 114) CFTSKPCCLCYSLLA	(SEQ ID NO: 344) GPRSFG
(SEQ ID NO: 115) CLCRDINCLGCSKT	(SEQ ID NO: 345) LSGRSGNH
(SEQ ID NO: 116) CWCDIYCSFYQCSSF	(SEQ ID NO: 1157) SGRSANPRG
(SEQ ID NO: 117)	(SEQ ID NO: 1158)

[1006]

DCIYYQCSANLCSY (SEQ ID NO: 118)	LSGRSDDH (SEQ ID NO: 1161)
DCTGVNYYIDKHCTN (SEQ ID NO: 119)	LSGRSDIH (SEQ ID NO: 1162)
DECHGLRSSLGCGG (SEQ ID NO: 120)	LSGRSDQH (SEQ ID NO: 1165)
DICSAYAASSGFCYY (SEQ ID NO: 121)	LSGRSDTH (SEQ ID NO: 1166)
DIICVLTPTAWCGRT (SEQ ID NO: 122)	LSGRSDYH (SEQ ID NO: 1169)
DNCCMYCSWWIACRD (SEQ ID NO: 123)	LSGRSDNP (SEQ ID NO: 1520)
DSCQWYMLADLCGT (SEQ ID NO: 124)	LSGRSANP (SEQ ID NO: 1695)
DSVCFSSSFLCHKKS (SEQ ID NO: 125)	LSGRSANI (SEQ ID NO: 1696)
DTMCAIWWTVCSGGR (SEQ ID NO: 126)	LSGRSDNI (SEQ ID NO: 1697)
ECTYQTSFHEACMS (SEQ ID NO: 127)	MIAPVAYR (SEQ ID NO: 1698)
EGCNLYERSYGCNN (SEQ ID NO: 128)	RPSPMWAY (SEQ ID NO: 1699)
EGCTAFAMSAGICGG (SEQ ID NO: 129)	WATPRPMR (SEQ ID NO: 1700)
EQSCSLTPIAFCWSE (SEQ ID NO: 130)	FRLLDWQW (SEQ ID NO: 1701)
EWCNAYISSKLCST	ISSGL

[1007]

(SEQ ID NO: 131) FEVCYMFASACRNGM	(SEQ ID NO: 1702) ISSGLLS
(SEQ ID NO: 132) FCSWYAESSLCDI	(SEQ ID NO: 1703) ISSGLL
(SEQ ID NO: 133) FVCQMFASGLCGG	(SEQ ID NO: 1704) ISSGLLSGRSDNH
(SEQ ID NO: 134) FYPCCMFASCGSR	(SEQ ID NO: 214) AVGLLAPPGGLSGRSDNH
(SEQ ID NO: 135) FYCSYLPGASHQCCH	(SEQ ID NO: 318) ISSGLLSGGGGSLSGRSDNH
(SEQ ID NO: 136) FYCSYLMCEVCCYE	(SEQ ID NO: 346) ISSGLLSGGGGSLSGRSDNH
(SEQ ID NO: 137) GFCTQHTVLTWCPTS	(SEQ ID NO: 346) ISSGLLSGGGGSLSGRSDNH
(SEQ ID NO: 138) GSCPSYAVSAGLCYA	(SEQ ID NO: 347) AVGLLAPPGGTSTSGRSANPRG
(SEQ ID NO: 139) GSQCFLTPTAFCTHT	(SEQ ID NO: 347) AVGLLAPPGGTSTSGRSANPRG
(SEQ ID NO: 140) GTCHPYMQSSKICNN	(SEQ ID NO: 348) TSTSGRSANPRGGGAVGLLAPP
(SEQ ID NO: 141) GVECFVTGGCGGYG	(SEQ ID NO: 349) VHMPGLGFLPGGTSTSGRSANPRG
(SEQ ID NO: 142) HELNCNGHWVPCWAY	(SEQ ID NO: 349) VHMPGLGFLPGGTSTSGRSANPRG
(SEQ ID NO: 143) ICDSYAVVSSGLCLL	(SEQ ID NO: 350) TSTSGRSANPRGGVHMPGLGFLGP
(SEQ ID NO: 144) ICDSYAVVSSGLCLL	(SEQ ID NO: 350) TSTSGRSANPRGGVHMPGLGFLGP
	(SEQ ID NO: 351) LSGRSDNHGGAVGLLAPP
	(SEQ ID NO: 351) LSGRSDNHGGAVGLLAPP
	(SEQ ID NO: 352) VHMPGLGFLPGGLSGRSDNH
	(SEQ ID NO: 352) VHMPGLGFLPGGLSGRSDNH
	(SEQ ID NO: 353) LSGRSDNHGGVHMPGLGFLGP
	(SEQ ID NO: 353) LSGRSDNHGGVHMPGLGFLGP

[1008]

IGCAWYVVSAGWCSP (SEQ ID NO: 145)	LSGRSDNHGGSGGSISSGLLSS (SEQ ID NO: 354)
INLCWNFASECGEHH (SEQ ID NO: 146)	LSGRSGNHGGSGGSISSGLLSS (SEQ ID NO: 355)
KCWLAEMTNLEHCNM (SEQ ID NO: 147)	ISSGLLSSGGSGGSLSGRSGNH (SEQ ID NO: 356)
KHCSDFAYSRLCDR (SEQ ID NO: 148)	LSGRSDNHGGSGGSONQALRMA (SEQ ID NO: 357)
KVCSSYASSGLCGW (SEQ ID NO: 149)	QNQALRMAGGSGGSLSGRSDNH (SEQ ID NO: 358)
LDSCYNFASYCVQAV (SEQ ID NO: 150)	LSGRSGNHGGSGGSONQALRMA (SEQ ID NO: 359)
LLACHPIFVTVCQTR (SEQ ID NO: 151)	QNQALRMAGGSGGSLSGRSGNH (SEQ ID NO: 360)
LLSCPYNPEHVCHTS (SEQ ID NO: 152)	ISSGLLSGRSGNH (SEQ ID NO: 361)
LMCSLYALSSNLCGR (SEQ ID NO: 153)	ISSGLLSSGGSGGSLSGRNH (SEQ ID NO: 1091)
LMWCVFLWSWCCRI (SEQ ID NO: 154)	ISSGLLSGRSANPRG (SEQ ID NO: 1092)
LPICHLTPTAVCTHI (SEQ ID NO: 155)	AVGLLAPPTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 1093)
LSNMCLAFGSCLYAW (SEQ ID NO: 156)	AVGLLAPPSGRSANPRG (SEQ ID NO: 1094)
LSRCHFIWYITICQNP (SEQ ID NO: 157)	ISSGLLSGRSDDH (SEQ ID NO: 1095)
LTQCMSVHKECGGYE	ISSGLLSGRSDIH

[1009]

(SEQ ID NO: 158) LVNCRISWVCEEAT	(SEQ ID NO: 1096) ISSGLLSGRSDQH
(SEQ ID NO: 159) LYCSWYQMSSAVCKE	(SEQ ID NO: 1097) ISSGLLSGRSDTH
(SEQ ID NO: 160) MECGWYALSARFCEV	(SEQ ID NO: 1098) ISSGLLSGRSDYH
(SEQ ID NO: 161) MTCSPYAMSAHFCNE	(SEQ ID NO: 1099) ISSGLLSGRSDNP
(SEQ ID NO: 162) MVCSLYAYSASLCGA	(SEQ ID NO: 1100) ISSGLLSGRSANP
(SEQ ID NO: 163) NALCWSTFSWCDMD	(SEQ ID NO: 1101) ISSGLLSGRSANI
(SEQ ID NO: 164) NFTCMLTPKAYCVQT	(SEQ ID NO: 1102) AVGLLAPPGGLSGRSDDH
(SEQ ID NO: 165) NGACIFTLSWCTNKT	(SEQ ID NO: 1103) AVGLLAPPGGLSGRSDIH
(SEQ ID NO: 166) NGCELYAAAASGLCRT	(SEQ ID NO: 1104) AVGLLAPPGGLSGRSDQH
(SEQ ID NO: 167) NIECSVFGRCDDNY	(SEQ ID NO: 1105) AVGLLAPPGGLSGRSDTH
(SEQ ID NO: 168) PACREMFWRNSCDNI	(SEQ ID NO: 1106) AVGLLAPPGGLSGRSDYH
(SEQ ID NO: 169) PCRVSNMFFPYNCLD	(SEQ ID NO: 1107) AVGLLAPPGGLSGRSDNP
(SEQ ID NO: 170) PIMCMLLPESYCIWI	(SEQ ID NO: 1108) AVGLLAPPGGLSGRSANP
(SEQ ID NO: 171)	(SEQ ID NO: 1109)

[1010]

PQSCYMFASLCMPNG (SEQ ID NO: 172)	AVGLLAPPGLSGRSANI (SEQ ID NO: 1110)
PRCPQGLPLYQCSSF (SEQ ID NO: 173)	ISSGLLSGRSDNI (SEQ ID NO: 1111)
PSVECLVFKRCYALP (SEQ ID NO: 174)	AVGLLAPPGLSGRSDNI (SEQ ID NO: 1112)
PVCQRSATIYCNWF (SEQ ID NO: 175)	
QCAAYYISSFGGCSN (SEQ ID NO: 176)	
QFGCFMLARDFCGTY (SEQ ID NO: 177)	
QMMCPYNPEHKCHQK (SEQ ID NO: 178)	
QRECFMFASSCSKN (SEQ ID NO: 179)	
QSNMCTTYICSSFNY (SEQ ID NO: 180)	
QSRCHSLAPYLCSF (SEQ ID NO: 181)	
RAYCSLLFADSCNNN (SEQ ID NO: 182)	
RCIGINQYIDSNVCYN (SEQ ID NO: 183)	
RLSCFMFASQCALEF (SEQ ID NO: 184)	
RQCIIILMNHRCQCFK	

[1011]

(SEQ ID NO: 185)
RSCTPYMMSSSLCNT
(SEQ ID NO: 186)
RYCHYKMPYECSSF
(SEQ ID NO: 187)
SCVLSLWFDMLKCYE
(SEQ ID NO: 188)
SDNCEIWWTVCSAAM
(SEQ ID NO: 189)
SFCWSYLVSSGLCGV
(SEQ ID NO: 190)
SMCNNNYGTTIMCGN
(SEQ ID NO: 191)
SMVCGGWSTFCPSRG
(SEQ ID NO: 192)
SSLHCANGHTCPFCL
(SEQ ID NO: 193)
SVCSEYEESSGICSP
(SEQ ID NO: 194)
SWCGWYAASSGVCAL
(SEQ ID NO: 195)
TCISQTIDSYLNCVN
(SEQ ID NO: 196)
TFCNLTKSSNICMS
(SEQ ID NO: 197)
TYCVFHEYLDNTCNN
(SEQ ID NO: 198)

[1012]

VATGCPNMLCGSWP
(SEQ ID NO: 199)
VEYCSLLGNRCDYW
(SEQ ID NO: 200)
VGCNMYLMSAGLCVD
(SEQ ID NO: 201)
VLYCSWDSGTCVGS
(SEQ ID NO: 202)
VMFSCYYLETCA
(SEQ ID NO: 203)
VRIGLCPESC
(SEQ ID NO: 204)
VTCTYYATSS
(SEQ ID NO: 205)
VTGCILLPKAWC
(SEQ ID NO: 206)
VWCSIYESSNLC
(SEQ ID NO: 207)
WMLECYNNTCN
(SEQ ID NO: 208)
WPCSPLEYNNIC
(SEQ ID NO: 209)
WTYDCHLNQTC
(SEQ ID NO: 210)
YCSINMYLIGNC
(SEQ ID NO: 211)
YFCSLYANSAGFC

[1013]

(SEQ ID NO: 212) YVSCYMFSSSCPSTW (SEQ ID NO: 213)							
表13B							
掩蔽物序列	底物:	VL SEQ ID NO:	VH SEQ ID NO:	VL CDRs SEQ ID NO: CDR1 CDR2 CDR3	VH CDRs SEQ ID NO: CDR1 CDR2 CDR3		
RYCHAANPDRFCGIY (SEQ ID NO: 1206) PRVCSTDGGDYCLLP (SEQ ID NO: 1207) PRQCHRRHNCPDHP (SEQ ID NO: 1208) KCSREAHQNPDRCSR (SEQ ID NO: 1209) ASYRCFDYKCSHTKH (SEQ ID NO: 1210) LPRCPDHPKCIETK (SEQ ID NO: 1211) YTFGCPDRYCDRAAT (SEQ ID NO: 1212) RGCPDENPPSHCYTA (SEQ ID NO: 1213) RDYCGPQSPDYCHEI (SEQ ID NO: 1214) PNKPCPDLQCYVTNY (SEQ ID NO: 1215)	LSGRSDNH (SEQ ID NO: 294) TGRGPSWV (SEQ ID NO: 295) PLTGRSGG (SEQ ID NO: 296) TARGPSFK (SEQ ID NO: 297) NTLSGRSEHSG (SEQ ID NO: 298) NTLSGRSGNHGS (SEQ ID NO: 299) TSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 300) TSGRSANP (SEQ ID NO: 301) VHMPGLGFLGP (SEQ ID NO: 302) AVGLLAPP (SEQ ID NO: 303)	626	1346	SEQ ID NO:626的 VL CDR 1705 1706 1707	SEQ ID NO:1346的 VH CDR 1708 1709 1710		

[1014]

PRVACGEFDLCYSNT (SEQ ID NO: 1216)	AQNLLGMV (SEQ ID NO: 304)
RGCKKHTISTLTCPD (SEQ ID NO: 1217)	QNQALRMA (SEQ ID NO: 305)
PAYRCPDRPPCKNQM (SEQ ID NO: 1218)	LAAPLGLL (SEQ ID NO: 306)
NARCYPYFGDNCHMN (SEQ ID NO: 1220)	STFFFGMF (SEQ ID NO: 307)
PTLRCPDRWCYDSPR (SEQ ID NO: 1221)	ISSGLLSS (SEQ ID NO: 308)
PSNLCPDKWCQTWRS (SEQ ID NO: 1222)	PAGLWLDP (SEQ ID NO: 309)
TPRYCAASYCPAHGY (SEQ ID NO: 1223)	VAGRSMRP (SEQ ID NO: 310)
RFCCGAVSPRCPDAP (SEQ ID NO: 1224)	VVPEGRRS (SEQ ID NO: 311)
VLRCHKQNPDCNNH (SEQ ID NO: 1225)	ILPRSPAF (SEQ ID NO: 312)
GVKSCREPDFCSRGS (SEQ ID NO: 1226)	MVLGRSLL (SEQ ID NO: 313)
RNNLCPDYSCNNHNS (SEQ ID NO: 1227)	QGRAITFI (SEQ ID NO: 314)
RAACHRLNPDACTNG (SEQ ID NO: 1228)	SPRSIMLA (SEQ ID NO: 315)
VCQSDRIPDYVTCTD (SEQ ID NO: 1229)	SMLRS MPL (SEQ ID NO: 316)
RNCRIASINPDYCN I	SARGPSRW

[1015]

(SEQ ID NO: 1230)	(SEQ ID NO: 319)
KEWPCFDYKCKPSYH	GGWHTGRN
(SEQ ID NO: 1231)	(SEQ ID NO: 320)
NLRICKSLCPDYIK	HTGRSGAL
(SEQ ID NO: 1232)	(SEQ ID NO: 321)
NTHKCSNTNICPSFN	AARGPAIH
(SEQ ID NO: 1233)	(SEQ ID NO: 322)
STRYCOASCCOMSPY	RGEAFNPM
(SEQ ID NO: 1234)	(SEQ ID NO: 323)
THRFTASLCNKNTS	SSRGPAYL
(SEQ ID NO: 1235)	(SEQ ID NO: 324)
YTLNTRSPDWCENK	RGPATPIM
(SEQ ID NO: 1236)	(SEQ ID NO: 325)
IRCTTGQSPDYCPQS	RGPA
(SEQ ID NO: 1237)	(SEQ ID NO: 326)
RCNQPKNDQMLCNI	GGQFSGMWG
(SEQ ID NO: 1238)	(SEQ ID NO: 327)
GTCRTDHSQSPDYCY	FPRELGITGL
(SEQ ID NO: 1239)	(SEQ ID NO: 328)
RGCFRSGDSLGMCPD	SPLTGRSG
(SEQ ID NO: 1240)	(SEQ ID NO: 329)
SGCFDSNEHRHCSRI	SAGFSLPA
(SEQ ID NO: 1241)	(SEQ ID NO: 330)
NRCMKLWYDFDCVAR	LAPLGLQRR
(SEQ ID NO: 1242)	(SEQ ID NO: 331)
PLCARPHYWSPCDQS	SGGFLGVR
(SEQ ID NO: 1243)	(SEQ ID NO: 332)

[1016]

DSKCHENSPDYCFNS (SEQ ID NO: 1244)	PLGL (SEQ ID NO: 333)
NGSCRPLGGDFCGNR (SEQ ID NO: 1245)	ISSGLSS (SEQ ID NO: 334)
KTRCIEMSGDYCAKS (SEQ ID NO: 1246)	PVGYTSSL (SEQ ID NO: 335)
IRPCMYNWGDLNQF (SEQ ID NO: 1247)	DWLYWPGI (SEQ ID NO: 336)
VKTCMENNPDYCYNN (SEQ ID NO: 1248)	LKAAAPRWA (SEQ ID NO: 337)
LRMCFEASGDYCDQQ (SEQ ID NO: 1249)	GFSHLVLT (SEQ ID NO: 338)
IRKCOLDGPDQCMLT (SEQ ID NO: 1250)	LPGLSPW (SEQ ID NO: 339)
KWKCHKNNPNYCNR (SEQ ID NO: 1251)	MGLFSEAG (SEQ ID NO: 340)
RTMCLDTNPDYCQSH (SEQ ID NO: 1252)	SFLPLRVP (SEQ ID NO: 341)
LAACHSMDSHRCPDY (SEQ ID NO: 1253)	RMHLRSLG (SEQ ID NO: 342)
RSPCIHNATMCPDYT (SEQ ID NO: 1254)	LLAPSHRA (SEQ ID NO: 343)
MPRCPDWPPRCSMVI (SEQ ID NO: 1255)	GPRSFGL (SEQ ID NO: 344)
VRQLCRLPDYCPGK (SEQ ID NO: 1256)	GPRSFGL (SEQ ID NO: 345)
PRPFCQAQSLNCPDRA	LSGRSGNH

[1017]

(SEQ ID NO: 1257)	(SEQ ID NO: 1157)
SFGRCTLVRTCPDEM	SGRSANPRG
(SEQ ID NO: 1258)	(SEQ ID NO: 1158)
RDKPCPDFSCATIHY	LSGRSDDH
(SEQ ID NO: 1259)	(SEQ ID NO: 1161)
ATKPCPDWCTMSTL	LSGRSDIH
(SEQ ID NO: 1260)	(SEQ ID NO: 1162)
SSNRCPDLRCTHNM	LSGRSDQH
(SEQ ID NO: 1261)	(SEQ ID NO: 1165)
RGSMCPDLHC SLSHI	LSGRSDTH
(SEQ ID NO: 1262)	(SEQ ID NO: 1166)
NYQRCPDRTCMHNII	LSGRSDYH
(SEQ ID NO: 1263)	(SEQ ID NO: 1169)
QKRPCPDRKCHAHYN	LSGRSDNP
(SEQ ID NO: 1264)	(SEQ ID NO: 1520)
QNHRCPPDRWCNKTTN	LSGRSANP
(SEQ ID NO: 1265)	(SEQ ID NO: 1695)
RLNLCPDKHCHMTNL	LSGRSANI
(SEQ ID NO: 1266)	(SEQ ID NO: 1696)
PQDRCPDKRCTNPGN	LSGRSDNI
(SEQ ID NO: 1267)	(SEQ ID NO: 1697)
SRWRCPDYKCEHGKY	MIAFVAYR
(SEQ ID NO: 1268)	(SEQ ID NO: 1698)
YENQCPDLYCNRYSM	RPSEFWAY
(SEQ ID NO: 1269)	(SEQ ID NO: 1699)
TARSCPVENCPDNNNS	WATPRPMR
(SEQ ID NO: 1270)	(SEQ ID NO: 1700)

[1018]

MDQRCFDWCTSKPK (SEQ ID NO: 1271)	FRLLDWQW (SEQ ID NO: 1701)
GDLRCFDRLCFRHSL (SEQ ID NO: 1272)	ISSGL (SEQ ID NO: 1702)
IQYLCPDYHCKRASN (SEQ ID NO: 1273)	ISSGLLS (SEQ ID NO: 1703)
QHRCPDRYCNNSNN (SEQ ID NO: 1274)	ISSGLL (SEQ ID NO: 1704)
TVALCPDYSCYHINN (SEQ ID NO: 1275)	ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 214)
SFWRCPDRYCLSNHD (SEQ ID NO: 1276)	AVGLLAPPGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 318)
SSKRCPDRFCNKTHA (SEQ ID NO: 1277)	ISSGLSSGGGGSLSGRSDNH (SEQ ID NO: 346)
HTDRCPDYKCSQNH (SEQ ID NO: 1278)	ISSGLSSGGGGSLSGRSDNH (SEQ ID NO: 346)
SRSNCTPQRNSDYH (SEQ ID NO: 1279)	AVGLLAPPGGTSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 347)
FAARCPDYKCALIHTN (SEQ ID NO: 1280)	TSTSGRSANPRGGGAVGLLAPP (SEQ ID NO: 348)
GSARCPDLVCOQTKQ (SEQ ID NO: 1281)	VHMPGLGFLGGTSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 349)
RNLMPDKFCNKNTK (SEQ ID NO: 1282)	TSTSGRSANPRGGVHMPGLGFLGP (SEQ ID NO: 350)
NIRLCPDKVCTPTWV (SEQ ID NO: 1283)	LSGRSDNHGGAVGLLAPP (SEQ ID NO: 351)
MTDLCPDAHCAKTHM	VHMPGLGFLGGSLSGRSDNH

[1019]

(SEQ ID NO: 1284) PYRLCAYPCDFVG	(SEQ ID NO: 352) LSGRSDNHGGVHMPLGFLGP
(SEQ ID NO: 1285) LCGCARSPDYCKRG	(SEQ ID NO: 353) LSGRSDNHGGGGSSISSGLLSS
(SEQ ID NO: 1286) WRCERVPDCCPRG	(SEQ ID NO: 354) LSGRSGNHGGGGSSISSGLLSS
(SEQ ID NO: 1287) TRNTCHTRICYMAC	(SEQ ID NO: 355) ISSGLLSSGGGGSSLSGRSGNH
(SEQ ID NO: 1288) CVCTSCSSYWTLCPD	(SEQ ID NO: 356) LSGRSDNHGGGGSSQNALRMA
(SEQ ID NO: 1289) LCCSRGNSNCFDRCTW	(SEQ ID NO: 357) QNQALRMAGGGSSLSGRSDNH
(SEQ ID NO: 1290) CCPLCQANMCPDNQS	(SEQ ID NO: 358) LSGRSGNHGGGGSSQNALRMA
(SEQ ID NO: 1291) ECKLCCPDLYCGGTM	(SEQ ID NO: 359) QNQALRMAGGGSSLSGRSGNH
(SEQ ID NO: 1292) CSNPMCAVCCFDLIL	(SEQ ID NO: 360) ISSGLLSGRSGNH
(SEQ ID NO: 1293) CPRCNTYSKHDCYHQ	(SEQ ID NO: 361) ISSGLLSGRSGNH
(SEQ ID NO: 1294) FCCASKMPAFSNCHT	(SEQ ID NO: 1091) ISSGLLSGRSGNH
(SEQ ID NO: 1295) AVGLLAPPTSGRSANPRG	(SEQ ID NO: 1092) AVGLLAPPTSGRSANPRG
	(SEQ ID NO: 1093) AVGLLAPFSGRSANPRG
	(SEQ ID NO: 1094) AVGLLAPFSGRSANPRG

[1020]

ISSGLLSGRSDDH
(SEQ ID NO: 1095)
ISSGLLSGRSDIH
(SEQ ID NO: 1096)
ISSGLLSGRSDQH
(SEQ ID NO: 1097)
ISSGLLSGRSDTH
(SEQ ID NO: 1098)
ISSGLLSGRSDYH
(SEQ ID NO: 1099)
ISSGLLSGRSDNP
(SEQ ID NO: 1100)
ISSGLLSGRSANP
(SEQ ID NO: 1101)
ISSGLLSGRSANI
(SEQ ID NO: 1102)
AVGLLAPFGGLSGRSDDH
(SEQ ID NO: 1103)
AVGLLAPFGGLSGRSDIH
(SEQ ID NO: 1104)
AVGLLAPFGGLSGRSDQH
(SEQ ID NO: 1105)
AVGLLAPFGGLSGRSDTH
(SEQ ID NO: 1106)
AVGLLAPFGGLSGRSDYH
(SEQ ID NO: 1107)
AVGLLAPFGGLSGRSDNP

[1021]

	(SEQ ID NO: 1108) AVGLLAPPGGLSGRSANP (SEQ ID NO: 1109) AVGLLAPPGGLSGRSANI (SEQ ID NO: 1110) ISSGLLSGRSDNI (SEQ ID NO: 1111) AVGLLAPPGGLSGRSDNI (SEQ ID NO: 1112)					
--	--	--	--	--	--	--

表13C

掩蔽物序列	底物:	VL SEQ ID NO:	VH SEQ ID NO:	VL CDRs SEQ ID NO: CDR1 CDR2 CDR3	VH CDRs SEQ ID NO: CDR1 CDR2 CDR3
GCDFTSAKHNCSSGW (SEQ ID NO: 1351)	LSGRSDNH (SEQ ID NO: 294)	638	1514	SEQ ID NO:638的 VL CDR 1711 1712 1713	SEQ ID NO:1514的 VH CDR 1714 1715 1716
VGSNCWTGPACALTS (SEQ ID NO: 1352)	TGRGPSWV (SEQ ID NO: 295)				
FCVAMFDLSDRCLH (SEQ ID NO: 1353)	PLTGRSGG (SEQ ID NO: 296)				
FCPPWLDYLGKCMT (SEQ ID NO: 1354)	TARGPSEK (SEQ ID NO: 297)				
MSCWDFSSAQGGQH (SEQ ID NO: 1355)	NTLSGRSEHSG (SEQ ID NO: 298)				
LMCADLHYNHYNCKY (SEQ ID NO: 1356)	NTLSGRSGNHGS (SEQ ID NO: 299)				
ELCGWQSFSGVCTSE (SEQ ID NO: 1357)	TSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 300)				

[1022]

WTYENCWASCQPHLE (SEQ ID NO: 1358)	TSGRSANP (SEQ ID NO: 301)
KLTEDEFSSAA (SEQ ID NO: 1359)	VHMPGLGFLGP (SEQ ID NO: 302)
VGQSCFSGLVCDRQL (SEQ ID NO: 1360)	AVGLLAPP (SEQ ID NO: 303)
ISHYCFSGKSCRD (SEQ ID NO: 1361)	AQNLLGMV (SEQ ID NO: 304)
HCIPDFTSAAGDCMR (SEQ ID NO: 1362)	QNQALRMA (SEQ ID NO: 305)
RLVSAYSFS (SEQ ID NO: 1363)	LAAPLGLL (SEQ ID NO: 306)
KFHSHPLVHDTSA (SEQ ID NO: 1364)	STFFFGMF (SEQ ID NO: 307)
ASYEDFSSANGVGLR (SEQ ID NO: 1365)	ISSGLLSS (SEQ ID NO: 308)
GLATTLNSVDFTSAG (SEQ ID NO: 1366)	PAGLWLDP (SEQ ID NO: 309)
DFTSANSAFSGDAST (SEQ ID NO: 1367)	VAGRSMRP (SEQ ID NO: 310)
GRLPGHVVVDFTSAW (SEQ ID NO: 1368)	VVPEGRRS (SEQ ID NO: 311)
SGSFYSSSAFDTSA (SEQ ID NO: 1369)	ILPRSPAF (SEQ ID NO: 312)
CDDFTSAQHSRINEC (SEQ ID NO: 1370)	MVLGRSLL (SEQ ID NO: 313)
CDFTSAQGGKCRITAL	QGRAITFI

[1023]

(SEQ ID NO: 1371) YYIDKYQSPSYGPVL	(SEQ ID NO: 314) SPRSIMLA
(SEQ ID NO: 1372) FSVARARSSADFTSS	(SEQ ID NO: 315) SMLRSMPL
(SEQ ID NO: 1373) DSDFTSAGSADRSR	(SEQ ID NO: 316) SARGPSRW
(SEQ ID NO: 1374) CDFTSATSIKPCDH	(SEQ ID NO: 319) GGWHTGRN
(SEQ ID NO: 1375) IESSASSWGLOASRN	(SEQ ID NO: 320) HTGRSGAL
(SEQ ID NO: 1376) FRYHNLNFTTPALSEGS	(SEQ ID NO: 321) AARGPAIH
(SEQ ID NO: 1377) DLFARFPLDRDFTSA	(SEQ ID NO: 322) RGPANPM
(SEQ ID NO: 1378) HCNFTTPPYCSSTIM	(SEQ ID NO: 323) SSRGPAYL
(SEQ ID NO: 1379) NVPIILLTDROQLSG	(SEQ ID NO: 324) RGPATPIM
(SEQ ID NO: 1380) NFTACDFTSSMATYC	(SEQ ID NO: 325) RGPA
(SEQ ID NO: 1381) FVTVRESNMFVSP	(SEQ ID NO: 326) GGQPSGMWGW
(SEQ ID NO: 1382) YDFSSASNSPFRQT	(SEQ ID NO: 327) FPRPLGITGL
(SEQ ID NO: 1383) AHPDFSSAMRGNLLG	(SEQ ID NO: 328) SPLTGRSG
(SEQ ID NO: 1384)	(SEQ ID NO: 329)

[1024]

SSHVVHKDFTSANSR (SEQ ID NO: 1385)	SAGFSLPA (SEQ ID NO: 330)
CPDFTSANGGCWQM (SEQ ID NO: 1386)	LAPLGLQRR (SEQ ID NO: 331)
SLGQSYPTDFTCPGC (SEQ ID NO: 1387)	SGGPLGVR (SEQ ID NO: 332)
ASMRSEQRDFTSAY (SEQ ID NO: 1388)	PLGL (SEQ ID NO: 333)
SCQWFFTLCGGVPH (SEQ ID NO: 1389)	ISSGLSS (SEQ ID NO: 334)
PYPNNRTGMHDTSA (SEQ ID NO: 1390)	PVGYTSSL (SEQ ID NO: 335)
KPPFIDFTSAGTSGT (SEQ ID NO: 1391)	DWLYWPGI (SEQ ID NO: 336)
SIKSFIPRDEFTSAA (SEQ ID NO: 1392)	LKAAPRWA (SEQ ID NO: 337)
GIKNPATPFVDEFTSA (SEQ ID NO: 1393)	GPSHLVLT (SEQ ID NO: 338)
LSHTYPRGSSTIEAS (SEQ ID NO: 1394)	LPGGLSPW (SEQ ID NO: 339)
PSLDFSSAT (SEQ ID NO: 1395)	MGLFSEAG (SEQ ID NO: 340)
AFTPRIAPTFDVMKE (SEQ ID NO: 1396)	SPLPLRVP (SEQ ID NO: 341)
LCGLQIPPPDCERS (SEQ ID NO: 1397)	RMHLRSLG (SEQ ID NO: 342)
AAKVVSHSERDFTSA	LLAPSHRA

[1025]

(SEQ ID NO: 1398) VSVFCFSGMQCPHY	(SEQ ID NO: 343) GPRSFGL
(SEQ ID NO: 1399) ASKCRLPCMASTQIY	(SEQ ID NO: 344) GPRSPFG
(SEQ ID NO: 1400) GLRSCNIYFSIPCTY	(SEQ ID NO: 345) LSGRSGNH
(SEQ ID NO: 1401) RGTSDGTLDFTTARS	(SEQ ID NO: 1157) SGRSANPRG
(SEQ ID NO: 1402) SMYPASARLLHPQYP	(SEQ ID NO: 1158) LSGRSDDH
(SEQ ID NO: 1403) HCISCYDFTSAAGSF	(SEQ ID NO: 1161) LSGRSDIH
(SEQ ID NO: 1404) SSGRWGDAWACARIC	(SEQ ID NO: 1162) LSGRSDQH
(SEQ ID NO: 1405) RVFSDFTSASHSFGG	(SEQ ID NO: 1165) LSGRSDTH
(SEQ ID NO: 1406) TDRHSASGRDFTSAH	(SEQ ID NO: 1166) LSGRSDYH
(SEQ ID NO: 1407) AHCEDFSSAERIATMGC	(SEQ ID NO: 1169) LSGRSDNP
(SEQ ID NO: 1408) ACDPYFSFIPCDDRL	(SEQ ID NO: 1520) LSGRSANP
(SEQ ID NO: 1409) NSPFTLSHIYDR (SEQ ID NO: 1410)	(SEQ ID NO: 1695) LSGRSANI
IGTNFTTPSAFVAFP	(SEQ ID NO: 1696) LSGRSDNI
(SEQ ID NO: 1411)	(SEQ ID NO: 1697)

[1026]

RDAPFIYRNADFSTP (SEQ ID NO: 1412)	MIAFVAYR (SEQ ID NO: 1698)
SIPNASSYNTSSSG (SEQ ID NO: 1413)	RSPMWAY (SEQ ID NO: 1699)
AGIPDKRHTYDFTSA (SEQ ID NO: 1414)	WATPRPMR (SEQ ID NO: 1700)
WPLAHSRDRWNFTTP (SEQ ID NO: 1415)	FRLLDWQW (SEQ ID NO: 1701)
RHSPSSGHVDFTSAG (SEQ ID NO: 1416)	ISSGL (SEQ ID NO: 1702)
SCFAWTDVWNRCSW (SEQ ID NO: 1417)	ISSGLS (SEQ ID NO: 1703)
MPCDWTGPGKIWCGG (SEQ ID NO: 1418)	ISSGLL (SEQ ID NO: 1704)
RDCDFSTANFRSCNK (SEQ ID NO: 1419)	ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 214)
LSCVWSPNYLHCNDH (SEQ ID NO: 1420)	AVGLLAPPGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 318)
FVCGLYSFGVCQGV (SEQ ID NO: 1421)	ISSGLLSGGGGSLSGRSDNH (SEQ ID NO: 346)
IGLMCFSGLQCPMLA (SEQ ID NO: 1422)	ISSGLLSGGGGSLSGRSDNH (SEQ ID NO: 346)
PGMNCFSGEICQMST (SEQ ID NO: 1423)	AVGLLAPPGGTSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 347)
GDVGSWASCGLQGG (SEQ ID NO: 1424)	TSTSGRSANPRGGAVGLLAPP (SEQ ID NO: 348)
SQFQDCWASCGASFT	VHMPGLGFLGPGGTSTSGRSANPRG

[1027]

(SEQ ID NO: 1425)	(SEQ ID NO: 349)
VGSLNCWYSCGDIWL	TSTSGRSANPRGGVHMPFLGLGP
(SEQ ID NO: 1426)	(SEQ ID NO: 350)
MCESWLNFLGDQCGM	LSGRSDNHGGAVGLLAPP
(SEQ ID NO: 1427)	(SEQ ID NO: 351)
RCMISQSFSGMCGM	VHMPFLGLFPGLSGRSDNH
(SEQ ID NO: 1428)	(SEQ ID NO: 352)
NCAFWTSMNSNHCLK	LSGRSDNHGGVHMPFLGLGP
(SEQ ID NO: 1429)	(SEQ ID NO: 353)
LCGVGSATGLELCGV	LSGRSDNHGGSGSISGGLLSS
(SEQ ID NO: 1430)	(SEQ ID NO: 354)
GCDFFSLGGRQPCFP	LSGRSGNHGGSGSISGGLLSS
(SEQ ID NO: 1431)	(SEQ ID NO: 355)
MGCNFTTYPYHTCNT	ISSGILLSGGSGSLSGRSGNH
(SEQ ID NO: 1432)	(SEQ ID NO: 356)
GSCDFTSGAGKCCGS	LSGRSDNHGGSGSQNALRMA
(SEQ ID NO: 1433)	(SEQ ID NO: 357)
VSCDFTSSHARMCSR	QNQALRMAGSGSLSGRSDNH
(SEQ ID NO: 1434)	(SEQ ID NO: 358)
MRCTDFYHNHTNCIG	LSGRSGNHGGSGSQNALRMA
(SEQ ID NO: 1435)	(SEQ ID NO: 359)
RSCDFTSAANKYCAT	QNQALRMAGSGSLSGRSGNH
(SEQ ID NO: 1436)	(SEQ ID NO: 360)
LYCDSFVPRPNCAP	ISSGILLSGRSGNH
(SEQ ID NO: 1437)	(SEQ ID NO: 361)
NSCDFTSARVSKCST	ISSGILLSGGSGSLSGRSGNH
(SEQ ID NO: 1438)	(SEQ ID NO: 1091)

[1028]

STCSDNFTTTPFCNT (SEQ ID NO: 1439)	ISSGLLSGRSANPRG (SEQ ID NO: 1092)
DICNDRPNLTHCHYF (SEQ ID NO: 1440)	AVGLLAPPTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 1093)
LRCDDFTSIAIGRGY (SEQ ID NO: 1441)	AVGLLAPPSSGRSANPRG (SEQ ID NO: 1094)
EGCDFTSALHSCNNY (SEQ ID NO: 1442)	ISSGLLSGRSDDH (SEQ ID NO: 1095)
RKGGDFTSASCFVW (SEQ ID NO: 1443)	ISSGLLSGRSDIH (SEQ ID NO: 1096)
GMLCAGSSFLCESM (SEQ ID NO: 1444)	ISSGLLSGRSDQH (SEQ ID NO: 1097)
RESCFGSSLGLCTNK (SEQ ID NO: 1445)	ISSGLLSGRSDTH (SEQ ID NO: 1098)
ILRCYDIPNMCNFN (SEQ ID NO: 1446)	ISSGLLSGRSDYH (SEQ ID NO: 1099)
NSECTFGAMYCRNKP (SEQ ID NO: 1447)	ISSGLLSGRSDNP (SEQ ID NO: 1100)
ASGCFDEDIRCSGGA (SEQ ID NO: 1448)	ISSGLLSGRSANP (SEQ ID NO: 1101)
HYFCNQSNPSCQTAP (SEQ ID NO: 1449)	ISSGLLSGRSANI (SEQ ID NO: 1102)
AMGCELGGAGCIGSP (SEQ ID NO: 1450)	AVGLLAPPGGLSGRSDDH (SEQ ID NO: 1103)
TLKCHMPRKLKANDP (SEQ ID NO: 1451)	AVGLLAPPGGLSGRSDIH (SEQ ID NO: 1104)
RPACRDLPHNCITST	AVGLLAPPGGLSGRSDQH

[1029]

(SEQ ID NO: 1452) QMSCHGNFTTCHSNP	(SEQ ID NO: 1105) AVGLLAPPGGLSGRSDTH
(SEQ ID NO: 1453) LTGCARGARPCRLRV	(SEQ ID NO: 1106) AVGLLAPPGGLSGRSDYH
(SEQ ID NO: 1454) WSELCLAGPSCGWVG	(SEQ ID NO: 1107) AVGLLAPPGGLSGRSDNP
(SEQ ID NO: 1455) VTKSCHQLPHCITAP	(SEQ ID NO: 1108) AVGLLAPPGGLSGRSANP
(SEQ ID NO: 1456) KAASCPHNQICNMTA	(SEQ ID NO: 1109) AVGLLAPPGGLSGRSANI
(SEQ ID NO: 1457) VSKNCFSGMCPVFA	(SEQ ID NO: 1110) ISSGLLSGRSDNI
(SEQ ID NO: 1458) NRSSCWGTGPTCHVLH	(SEQ ID NO: 1111) AVGLLAPPGGLSGRSDNI
(SEQ ID NO: 1459) ARTGCSGPVCLNDVS	(SEQ ID NO: 1112)
(SEQ ID NO: 1460) STRTCLAFTCINGNT	
(SEQ ID NO: 1461) MLDNCWYACSYKNT	
(SEQ ID NO: 1462) FSRSDCWSACAPWRV	
(SEQ ID NO: 1463) GGRMDCWASCQPLSR	
(SEQ ID NO: 1464) NSPHSCMTNCDFTSA	
(SEQ ID NO: 1465)	

[1030]

表13D

掩蔽物序列	底物:	LC SEQ ID NO: 543	HC SEQ ID NO: 546	LC CDRs SEQ ID NO: CDR1 CDR2 CDR3 SEQ ID NO:543的 LC CDR	HC CDRs SEQ ID NO: CDR1 CDR2 CDR3 SEQ ID NO:546的 HC CDR
DYTYCRWVNWCLSGV (SEQ ID NO: 384)	LSGRSDNH (SEQ ID NO: 294)				
ILCPEDPWGHKCKLP (SEQ ID NO: 385)	TGRGPSWV (SEQ ID NO: 295)				
TNIWSCQTYCDHKHK (SEQ ID NO: 386)	PLTGRSGG (SEQ ID NO: 296)				
SDHKCKLQNCMNTKV (SEQ ID NO: 387)	TARGPSFK (SEQ ID NO: 297)				
PGNCHPMQKEMCQFI (SEQ ID NO: 388)	NTLSGRSENHSG (SEQ ID NO: 298)				
VEHLCYTHNKCKHPD (SEQ ID NO: 389)	NTLSGRSGNHGS (SEQ ID NO: 299)				
TIPRCGQHPKCKDTL (SEQ ID NO: 390)	TSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 300)				
ACRICQDHPKTKWNS (SEQ ID NO: 391)	TSGRSANP (SEQ ID NO: 301)				
LIQCTGNLDHKCKHY (SEQ ID NO: 392)	VHMPFLGLGP (SEQ ID NO: 302)				
IPCHHSADHKHKCTS (SEQ ID NO: 393)	AVGLLAPP (SEQ ID NO: 303)				
SRQICADYCNCHNKYK (SEQ ID NO: 394)	AQNLLGMV (SEQ ID NO: 304)				
QPCNFPQIDHKIKICIY	QNQALRMA				

[1031]

(SEQ ID NO: 395)	(SEQ ID NO: 305)
HYTICMTHNKCKDMA	LAAPLGLL
(SEQ ID NO: 396)	(SEQ ID NO: 306)
ANSCLAVEHKCKHNY	STFFFGMF
(SEQ ID NO: 397)	(SEQ ID NO: 307)
AALHCTEHKCKNHIK	ISSGLLSS
(SEQ ID NO: 398)	(SEQ ID NO: 308)
APCIINTVDWKSCEI	PAGLWLDP
(SEQ ID NO: 399)	(SEQ ID NO: 309)
ATNWCTHKQCKQDM	VAGRSMRP
(SEQ ID NO: 400)	(SEQ ID NO: 310)
DCYNEHKLKTRVCNN	VVPEGRRS
(SEQ ID NO: 401)	(SEQ ID NO: 311)
DEMOCCHKQCKTNSK	ILPRSPAF
(SEQ ID NO: 402)	(SEQ ID NO: 312)
DVGICSQHNKCKRPTK	MVLGRSLL
(SEQ ID NO: 403)	(SEQ ID NO: 313)
ENYCSSDDHKCKITL	QGRAITFI
(SEQ ID NO: 404)	(SEQ ID NO: 314)
ELECSHNKVKNCIQI	SPRSIMLA
(SEQ ID NO: 405)	(SEQ ID NO: 315)
ELHPCNTHKCKPIVN	SMLRSMPL
(SEQ ID NO: 406)	(SEQ ID NO: 316)
EYCSNHPKCKSNNY	SARGFSRW
(SEQ ID NO: 407)	(SEQ ID NO: 319)
EYSPSLAHPKCKDMA	GCWHTGRN
(SEQ ID NO: 408)	(SEQ ID NO: 320)

[1032]

FESLHPKGGHPEDLG (SEQ ID NO: 409)	HTGRSGAL (SEQ ID NO: 321)
FPLCVRADRVCGDAQ (SEQ ID NO: 410)	AARGPAIH (SEQ ID NO: 322)
FQAPPASHNKLKESL (SEQ ID NO: 411)	RGPAFNPM (SEQ ID NO: 323)
GAIDSCHHKCKSPHY (SEQ ID NO: 412)	SSRGPAYL (SEQ ID NO: 324)
GKIYTCEHNCTFGYS (SEQ ID NO: 413)	RGPATPIM (SEQ ID NO: 325)
HCTVNNHSSDHKCKI (SEQ ID NO: 414)	RGPA (SEQ ID NO: 326)
HGTQCTHNKCKPILS (SEQ ID NO: 415)	GGQPSGMWGW (SEQ ID NO: 327)
HIGWCLHPKCKTTTT (SEQ ID NO: 416)	FPRPLGITGL (SEQ ID NO: 328)
HLRTCIQKWCEHNK (SEQ ID NO: 417)	SPLTGRSG (SEQ ID NO: 329)
HTDCTMMSNHKCKIN (SEQ ID NO: 418)	SAGFSLPA (SEQ ID NO: 330)
IRQQCTALACLKVH (SEQ ID NO: 419)	LAPLGLQRR (SEQ ID NO: 331)
KGCSTHKMRAYCNQM (SEQ ID NO: 420)	SGGPLGVR (SEQ ID NO: 332)
KMFTPKIWCNNSYN (SEQ ID NO: 421)	PLGL (SEQ ID NO: 333)
KTMCSGHKQKCNSS	ISSGLSS

[1033]

(SEQ ID NO: 422) LACHSASLVDHKCKL	(SEQ ID NO: 334) PVGYTSSL
(SEQ ID NO: 423) LCNVSMDDHKKPCYL	(SEQ ID NO: 335) DWLYWPGI
(SEQ ID NO: 424) LGLNCFSEHKCKEHM	(SEQ ID NO: 336) LKAAPRWA
(SEQ ID NO: 425) LGTCTHKKKNCNYTL	(SEQ ID NO: 337) GFSHLVLT
(SEQ ID NO: 426) LHEGCTTHNKCKPIA	(SEQ ID NO: 338) LPGGLSPW
(SEQ ID NO: 427) LKRSTGHWTCYTNW	(SEQ ID NO: 339) MGLFSEAG
(SEQ ID NO: 428) LQRCTHKEYKYCHAIH	(SEQ ID NO: 340) SPLPLRVP
(SEQ ID NO: 429) LSHCYDHRKCKSYIV	(SEQ ID NO: 341) RMHLRSLG
(SEQ ID NO: 430) LSKCHNKEKNCNNN	(SEQ ID NO: 342) LLAPSHRA
(SEQ ID NO: 431) MDTCEMHKQKCRPSF	(SEQ ID NO: 343) GPRSFGL
(SEQ ID NO: 432) MHNECLTHKCKVPIT	(SEQ ID NO: 344) GPRSFQ
(SEQ ID NO: 433) MLTLCNTNACHKEKN	(SEQ ID NO: 345) LSCRSGNH
(SEQ ID NO: 434) MRPCLNLEHKCKHY	(SEQ ID NO: 1157) SGRSANPRG
(SEQ ID NO: 435)	(SEQ ID NO: 1158)

[1034]

MSRCPTHKMKCSLNI (SEQ ID NO: 436)	LSGRSDDH (SEQ ID NO: 1161)
MWICQEHKLCMTDT (SEQ ID NO: 437)	LSGRSDIH (SEQ ID NO: 1162)
MYCKRRSAFYCTLN (SEQ ID NO: 438)	LSGRSDQH (SEQ ID NO: 1165)
NDCQHDKQMHKCKMH (SEQ ID NO: 439)	LSGRSDTH (SEQ ID NO: 1166)
NFGPCMLLGCFFGR (SEQ ID NO: 440)	LSGRSDYH (SEQ ID NO: 1169)
NHTDCSHPKCKSHDS (SEQ ID NO: 441)	LSGRSDNP (SEQ ID NO: 1520)
NLNCPHKQKNC DKYH (SEQ ID NO: 442)	LSGRSANP (SEQ ID NO: 1695)
NPQCTPIDHKCKTHH (SEQ ID NO: 443)	LSGRSANI (SEQ ID NO: 1696)
NTTCTHPKCKHQGK (SEQ ID NO: 444)	LSGRSDNI (SEQ ID NO: 1697)
NVGGCDNYGCHKLKN (SEQ ID NO: 445)	MIAPVAYR (SEQ ID NO: 1698)
PCSPGNLTWDHKCKY (SEQ ID NO: 446)	RESPWAY (SEQ ID NO: 1699)
PFTKCHGFNKCKEHT (SEQ ID NO: 447)	WATFRPMR (SEQ ID NO: 1700)
PGDKCTHKEKCYNN (SEQ ID NO: 448)	FRLLDWQW (SEQ ID NO: 1701)
PNICLNDHKRKRIN	ISSGL

[1035]

(SEQ ID NO: 449) PQLACKHPKCKDAGN	(SEQ ID NO: 1702) ISSGLLS
(SEQ ID NO: 450) PSCTMWTHGGVCKHA	(SEQ ID NO: 1703) ISSGLL
(SEQ ID NO: 451) PSHRHPLAKPGRVE	(SEQ ID NO: 1704) ISSGLLSGRSDNH
(SEQ ID NO: 452) PTCFKTHNKSKCNRV	(SEQ ID NO: 214) AVGLLAPFGGLSGRSDNH
(SEQ ID NO: 453) PTPVCHHNFHCFGYD	(SEQ ID NO: 318) ISSGLLSGGGGSLSGRSDNH
(SEQ ID NO: 454) QATCQWKKRSKCHNK	(SEQ ID NO: 346) ISSGLLSGGGGSLSGRSDNH
(SEQ ID NO: 455) QHSWCQHKAKCNYGN	(SEQ ID NO: 346) AVGLLAPPGGTSTSGRSANPRG
(SEQ ID NO: 456) QNCSPYTTTHKCKLT	(SEQ ID NO: 347) TSTSGRSANPRGGAVGLLAPP
(SEQ ID NO: 457) QSSNCEHKRKCISIS	(SEQ ID NO: 348) VHMPLGFLPGGTSTSGRSANPRG
(SEQ ID NO: 458) RPELLGLVPDHCKKL	(SEQ ID NO: 349) TSTSGRSANPRGGVHMPLGFLGP
(SEQ ID NO: 459) RRSCMRSINTCKQKY	(SEQ ID NO: 350) LSGRSDNHGGAVGLLAPP
(SEQ ID NO: 460) RSSCPTVTPQNCENQ	(SEQ ID NO: 351) VHMPLGFLPGGLSGRSDNH
(SEQ ID NO: 461) RTMCLDLNHKCKPSN	(SEQ ID NO: 352) LSGRSDNHGGVHMPLGFLGP
(SEQ ID NO: 462)	(SEQ ID NO: 353)

[1036]

RTYCTNHNKCKHNM (SEQ ID NO: 463)	LSGRSDNHGGSGGSISSGLLSS (SEQ ID NO: 354)
RVENCEHNOYCHKWK (SEQ ID NO: 464)	LSGRSGNHGGSGGSISSGLLSS (SEQ ID NO: 355)
SCHEDDHKNKNICSL (SEQ ID NO: 465)	ISSGLLSSGGSGGSLSGRSGNH (SEQ ID NO: 356)
SDTCVMNHPKCKRDN (SEQ ID NO: 466)	LSGRSDNHGGSGGSGNQALRMA (SEQ ID NO: 357)
SSTCFHPNQKECMTK (SEQ ID NO: 467)	QNQALRMAGGSGGSLSGRSDNH (SEQ ID NO: 358)
SSYCGGITMPCRRAM (SEQ ID NO: 468)	LSGRSGNHGGSGGSGNQALRMA (SEQ ID NO: 359)
STGYCTYVWNCYTN (SEQ ID NO: 469)	QNQALRMAGGSGGSLSGRSGNH (SEQ ID NO: 360)
THKCKLHLQVCTQTT (SEQ ID NO: 470)	ISSGLLSGRSGNH (SEQ ID NO: 361)
TMNCTHPKQKCQHTN (SEQ ID NO: 471)	ISSGLLSSGGSGGSLSGRNNH (SEQ ID NO: 1091)
TNVLCESHNCDHKNK (SEQ ID NO: 472)	ISSGLLSGRSANPRG (SEQ ID NO: 1092)
TQHAASLGVVEHKS (SEQ ID NO: 473)	AVGLLAPPTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 1093)
TQLPCFDDHKCKNTN (SEQ ID NO: 474)	AVGLLAPPSGRSANPRG (SEQ ID NO: 1094)
TSDSCMRQKCEHKEK (SEQ ID NO: 475)	ISSGLLSGRSDDH (SEQ ID NO: 1095)
TTCCDDHKYKHKCAQL	ISSGLLSGRSDIH

[1037]

(SEQ ID NO: 476) TTCGAHKEKHCIYT	(SEQ ID NO: 1096) ISSGLLSGRSDQH
(SEQ ID NO: 477) TTYCAYWHNKCFET	(SEQ ID NO: 1097) ISSGLLSGRSDTH
(SEQ ID NO: 478) VGFTCGHAKCKQSEV	(SEQ ID NO: 1098) ISSGLLSGRSDYH
(SEQ ID NO: 479) VSHPCNTHKCKTNIV	(SEQ ID NO: 1099) ISSGLLSGRSDNP
(SEQ ID NO: 480) WDCRNTSHPKLCCHN	(SEQ ID NO: 1100) ISSGLLSGRSDNP
(SEQ ID NO: 481) WSPCNSDHKRCNNG	(SEQ ID NO: 1101) ISSGLLSGRSAMP
(SEQ ID NO: 482) YANMSCEYDCHMKY	(SEQ ID NO: 1102) ISSGLLSGRSANI
(SEQ ID NO: 483) YANPCTHKEKCFKN	(SEQ ID NO: 1103) AVGLLAPPGLSGRSDDH
(SEQ ID NO: 484) YDCSPSWTHPKCKHK	(SEQ ID NO: 1104) AVGLLAPPGLSGRSDIH
(SEQ ID NO: 485) YGTCTTHPKCKTTN	(SEQ ID NO: 1105) AVGLLAPPGLSGRSDQH
(SEQ ID NO: 486) YQKCHPKAKDCGNNT	(SEQ ID NO: 1106) AVGLLAPPGLSGRSDTH
(SEQ ID NO: 487) YWPCPNMEHNKCKNN	(SEQ ID NO: 1107) AVGLLAPPGLSGRSDYH
(SEQ ID NO: 488) PNGNRYCVLDHPKLLK	(SEQ ID NO: 1108) AVGLLAPPGLSGRSDNP
(SEQ ID NO: 489)	(SEQ ID NO: 1109) AVGLLAPPGLSGRSAMP

[1038]

AVGLLAPFGGLSGRSANI
 (SEQ ID NO: 1110)
 ISSGLSGRSDNI
 (SEQ ID NO: 1111)
 AVGLLAPFGGLSGRSDNI
 (SEQ ID NO: 1112)

GHKSCQKHCEYTQT
 (SEQ ID NO: 490)
 LYLEMCCCCWESIT
 (SEQ ID NO: 491)
 ACQAQHCYKTYACKP
 (SEQ ID NO: 492)
 CCYTCSVHPKCKNQL
 (SEQ ID NO: 493)
 CKHRCSHKEKCPANH
 (SEQ ID NO: 494)
 CHVLFCLMCCRWSL
 (SEQ ID NO: 495)
 LNSSLVFDHPKAKPN
 (SEQ ID NO: 496)
 MLLCRSKFGCKVKG
 (SEQ ID NO: 497)
 IICNDHKCKQNCNN
 (SEQ ID NO: 498)
 IRCSLRDLSLGCERM
 (SEQ ID NO: 499)
 TSCQPPKHKCTCNHG
 (SEQ ID NO: 500)
 TQCPHRCVKPNCWLH
 (SEQ ID NO: 501)
 KCCETKRNHKHCYK
 (SEQ ID NO: 502)
 LPHCCHKAKHCNHTS

[1039]

(SEQ ID NO: 503)
PAMCAAHEKCCIKV
(SEQ ID NO: 504)
PRSCGNQLCPCHYYK
(SEQ ID NO: 505)
TNKCSNHNMKCINY
(SEQ ID NO: 506)
VETCCQHMKCKYPEI
(SEQ ID NO: 507)
IFCCSNHEDHKCKTN
(SEQ ID NO: 508)
VCRLLICPLTCVIGVG
(SEQ ID NO: 509)
FHGCCSVYSCLTNPQ
(SEQ ID NO: 510)
ALACHPKQKPLEGQL
(SEQ ID NO: 511)
SIICCATSSCPLKHL
(SEQ ID NO: 512)
APCCRPHEKPIDSR
(SEQ ID NO: 513)
WELCCPSADCRVAMG
(SEQ ID NO: 514)
QDHPKTKWNS (SEQ
ID NO: 548)
ACRICQDHPATKWNS
(SEQ ID NO: 549)

[1040]

ACRICQDHPKTAWNS
(SEQ ID NO: 550)
ACRICQDAPKTAWNS
(SEQ ID NO: 551)
ACRICQDHAKTAWNS
(SEQ ID NO: 552)
DHPATKWS
(SEQ ID NO: 553)
DHPKTAWNS
(SEQ ID NO: 554)
DAPKTAWNS
(SEQ ID NO: 555)
DAPATKWS
(SEQ ID NO: 556)
ACRICQDHP
(SEQ ID NO: 557)
HPQSKDTL
(SEQ ID NO: 558)
HPKSQDTL
(SEQ ID NO: 559)
TIPRCGQHPLCLDTL
(SEQ ID NO: 560)
HPLSLDTL
(SEQ ID NO: 561)
HPASKDTL
(SEQ ID NO: 562)
HPKSADTL

[1041]

(SEQ ID NO: 563) PGNCHPLQKELCQFI
(SEQ ID NO: 564) HPLQKELAQFI
(SEQ ID NO: 565) HPLALELAQFI
(SEQ ID NO: 566) PGNCHPLQLELCQFI
(SEQ ID NO: 567) TNIWSCQTYCDHAHA
(SEQ ID NO: 568) TNIWSCQTYCDHAHL
(SEQ ID NO: 569) TNIWSCQTYCDHLHA
(SEQ ID NO: 570) TNIWSCQTYCDHKHA
(SEQ ID NO: 571)

[1042] 表13A、13B、13C和/或13D中所述的任何组合可以与人免疫球蛋白恒定区组合以产生包括IgG1、IgG2、IgG4或突变的恒定区的完全人源化的IgG以产生功能改变的人IgG诸如

IgG1 N297A、IgG1 N297Q或IgG4 S228P。另外的实施例是本领域技术人员已知的。其中在至少一个氨基酸中突变导致降低的Fc功能的Ig重链恒定区氨基酸的实例包括但不限于重链恒定区的氨基酸228、233、234、235、236、237、239、252、254、256、265、270、297、318、320、322、327、329、330和331中的突变。突变的氨基酸的组的实例也是本领域已知的，诸如但不限于氨基酸234、235和331中突变诸如L234F、L235E和P331S的组合或氨基酸318、320和322诸如E318A、K320A和K322A的组合。

[1043] 作为实例，包含SEQ ID NO: 66的掩蔽部分可以与包含SEQ ID NO: 294的底物和包含SEQ ID NO: 39的VL区与包含SEQ ID NO: 61的人 κ 恒定结构域组合以产生轻链，其可以包含或不包含接头区。一个此类实例是SEQ ID NO: 380，尽管具有更长接头序列的其他实施方案也是考虑的。在一些实施方案中，例如，包含SEQ ID NO: 21的VH区可以与人免疫球蛋白重链恒定结构域组合以产生IgG1重链 (SEQ ID NO: 2048)、IgG4重链 (SEQ ID NO: 2051)、IgG4 S228P重链 (SEQ ID NO: 2047)、突变的IgG1 N297A重链 (SEQ ID NO: 2049) 或突变的IgG1 N297Q重链 (SEQ ID NO: 2050)。SEQ ID NO: 380与SEQ ID NO: 2048的共表达将产生IgG1抗PD-1可活化抗体。SEQ ID NO: 380与SEQ ID NO: 2051的共表达将产生IgG4抗PD-1可活化抗体。SEQ ID NO: 380与SEQ ID NO: 2047的共表达将产生IgG4S228P抗PD-1可活化抗体。SEQ ID NO: 380与SEQ ID NO: 2049的共表达将产生IgG1 N297A抗PD-1可活化抗体。SEQ ID NO: 380与SEQ ID NO: 2050的共表达将产生IgG1 N297Q抗PD-1可活化抗体。

[1044] 在一些实施方案中，包含SEQ ID NO: 99的掩蔽部分与包含SEQ ID NO: 214的底物和包含SEQ ID NO: 47的VL区与包含SEQ ID NO: 61的人 κ 恒定结构域组合以产生包含SEQ ID NO: 2055的轻链。在一些实施方案中，将间隔区QQQSGQG (SEQ ID NO: 362)添加至SEQ ID NO: 2055的N末端以形成SEQ ID NO: 2054。在一些实施方案中，包含SEQ ID NO: 99的掩蔽部分与包含SEQ ID NO: 1100的底物和包含SEQ ID NO: 47的VL区与包含SEQ ID NO: 61的人 κ 恒定结构域组合以产生包含SEQ ID NO: 2057的轻链。在一些实施方案中，将间隔区QQQSGQG (SEQ ID NO: 362)添加至SEQ ID NO: 2057的N末端以形成SEQ ID NO: 2056。在一些实施方案中，包含SEQ ID NO: 99的掩蔽部分与包含SEQ ID NO: 1101的底物和包含SEQ ID NO: 47的VL区与包含SEQ ID NO: 61的人 κ 恒定结构域组合以产生包含SEQ ID NO: 2059的轻链。在一些实施方案中，将间隔区QQQSGQG (SEQ ID NO: 362)添加至SEQ ID NO: 2059的N末端以形成SEQ ID NO: 2058。在一些实施方案中，包含SEQ ID NO: 21的VH区可以与包含SEQ ID NO: 63的IgG4 S228P人免疫球蛋白重链恒定结构域组合以产生包含SEQ ID NO: 2052的重链。在一些实施方案中，将SEQ ID NO: 2052的C末端赖氨酸缺失以形成具有SEQ ID NO: 2053的氨基酸序列。这些轻链的任一者与这些重链的任一者的共表达将导致产生实施方案的可活化抗体。

[1045] 恒定区氨基酸序列下文显示于SEQ ID NO: 381、382、383和1807。

IgG1 Hc CH1- 端氨基酸序列:

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
 LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
 KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY[1]STYRVVSVLTVL
 HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
 PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT
 [1046] QKLSLSLSPG (SEQ ID NO: 381)

IgG1NA CH1- 端氨基酸序列:

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
 LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
 KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY[2]STYRVVSVLTVL
 HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
 PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT
 QKLSLSLSPG (SEQ ID NO: 382)

IgG1NQ CH1- 端氨基酸序列:

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
 LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
 KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY[3]STYRVVSVLTVL
 HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
 PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT
 QKLSLSLSPG (SEQ ID NO: 1807)

[1047] IgG4 Hc CH1- 端氨基酸序列:

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
 LSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP[4]CPAPEFLGGPSVFLFPPKPK
 DTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
 WLNKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
 IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
 LLSLGLG (SEQ ID NO: 383)

轻链(Lc)氨基酸序列:

AMSGCSWSAFCPYLA [X1]_nLSGRSDNH [X2]_nDIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASESVD
 NYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISSMQPEDFATYYC
 QQSKDVPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV
 DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
 EC

[1048] 其中[X1]_n和[X2]_n各自独立地可以是0-20个氨基酸(SEQ ID NO: 380)或任何其他

合适长度的连接肽。

IgG4 S228P 重链(Hc)氨基酸序列:

[1049] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVRQAPGKGLEWVAYISNSGGNAHYADSV
KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTREDYGTSPFVYWGQGLTQTLVTVSSASTKGPSVF
PLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS
SSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
EVTCCVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC
KVSNGKLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLQK
(SEQ ID NO: 2047)

IgG1 重链(Hc)氨基酸序列:

[1050] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVRQAPGKGLEWVAYISNSGGNAHYADSV
KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTREDYGTSPFVYWGQGLTQTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY^YSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT
QKLSLSLSPG (SEQ ID NO: 2048)

IgG1NA Hc 氨基酸序列:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVRQAPGKGLEWVAYISNSGGNAHYADSV
KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTREDYGTSPFVYWGQGLTQTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY^YSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT
QKLSLSLSPG (SEQ ID NO: 2049)

IgG1NQ Hc 氨基酸序列:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVRQAPGKGLEWVAYISNSGGNAHYADSV
KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTREDYGTSPFVYWGQGLTQTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS

LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
 KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY₁STYRVVSVLTVL
 HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
 PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYT
 QKSLSLSPG (SEQ ID NO: 2050)

IgG4 Hc 氨基酸序列:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVRQAPGKGLEWVAYISNSGGNAHYADSV
 KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTREDYGTSPFVYWGQGLTVTVSS
 ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
 LSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP₁CPAPEFLGGPSVFLFPPKPK
 DTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
 WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
 IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCSCVMHEALHNHYTQKS
 LSLSLG (SEQ ID NO: 2051)

[1051]

重链1氨基酸序列 (SEQ ID NO:2052):

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVRQAPGKGLEWVAYISNSGGNA
 HYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTREDYGTSPFVYWGQGLTVT
 VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
 QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGG
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF
 NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQ
 EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK
 SRWQEGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

重链2氨基酸序列 (SEQ ID NO:2053):

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVRQAPGKGLEWVAYISNSGGNA
 HYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTREDYGTSPFVYWGQGLTVT
 VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
 QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGG

PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQ
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK
SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG

具有间隔区的轻链1氨基酸序列 (SEQ ID NO:2054):

[QGQSGQG][TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSSISGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLS
ASVGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGS
GTDFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS
GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADY
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]

不具有间隔区的轻链1氨基酸序列 (SEQ ID NO:2055):

[1052]

TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSSISGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTI
TCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS
MQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL
NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYKHKVYAC
EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

具有间隔区的轻链2氨基酸序列 (SEQ ID NO:2056):

[QGQSGQG][TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSSISGLLSGRSDNPGGGSDIQLTQSPSSLS
ASVGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGS
GTDFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS
GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADY
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]

具有间隔区的轻链2氨基酸序列 (SEQ ID NO:2057):

TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSSISGLLSGRSDNPGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTIT
CRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSM
QPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN

FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV
THQGLSSPVTKSFNRGEC

具有间隔区的轻链3氨基酸序列 (SEQ ID NO:2058):

[1053] [QGQSGQG][TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSISSGLLSGRSANPGGGSDIQLTQSPSSLS
ASVGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGS
GTDFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS
GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTYLSSTLTLSKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]

具有间隔区的轻链3氨基酸序列 (SEQ ID NO:2059):

TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSISSGLLSGRSANPGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTIT
CRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSM
QPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN
FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV
THQGLSSPVTKSFNRGEC

[1054] 实施例10:掩蔽部分的效力的评估

[1055] 本实施例描述与hPD-1结合降低的本发明的可活化抗PD-1抗体。

[1056] 掩蔽抗体结合其抗原的能力是结合抑制的实例。抑制程度取决于抗体对其抗原的亲合力、抗体的掩蔽部分(本文也称为掩蔽物)的亲合力和所有反应物的浓度。拴系的肽掩蔽物(抑制剂)的局部浓度在可活化抗体背景中非常高,在10 mM数量级,因此中等亲合力肽将有效掩蔽可活化抗体抗原结合。

[1057] 通过标准板ELISA评估掩蔽效力。简言之,将人PD-1-Fc (R and D systems, Minneapolis, MN) 吸附至96孔ELISA板的孔。将经纯化的抗PD-1抗体和可活化抗体以系列稀释施加至板并允许结合。用抗人IgG-HRP缀合物(FAb特异性的)(Sigma, St Louis, MO) 检测结合的抗体和可活化抗体并用发色底物TMB (Thermo Scientific, Rockford, IL) 显现。显示抗PD-1 A1.4和抗PD-1 A1.5可活化抗体的结合等温线的图(图14-18)。在Prizm (Sigma Plot) 中绘图;将数据拟合至单位点饱和结合的模型,并测定平衡解离常数 K_d 。通过将可活化抗体结合的 K_d 除以亲本抗体的 K_d 来计算掩蔽效力。所测试的抗体的掩蔽效力(ME)值显示于下文表14和表15中(掩蔽部分PD001本文也称为PD01和/或PD-01;掩蔽部分PD002本文也称为PD02和/或PD-02,等等),和所测试的可活化抗体的表观 K_d (nM)和掩蔽效力(ME)值显示于表26中:

[1058] 表14:图14中测试的可活化抗体的掩蔽效率值

[1059]

掩蔽物	ME
PD01	25
PD02	18
PD03	5
PD08	13
PD09	2
PD-10	13

[1060] 表15:图18中测试的可活化抗体的掩蔽效率值

[1061]

掩蔽物	ME
无	1
PD06	30
PD09	2
PD-12	10
PD-17	20
PD-19	30
PD25	30
PD26	20
PD28	25
PD34	42

[1062] 表26:图15中测试的可活化抗体的表观Kd和掩蔽效率值

[1063]

分子	表观KD, nM	掩蔽效力
A1.5 (n=5, 平均值)	1.8	
PD01	348	193
PD02	21	12
PD03	109	61
PD05	68	38
PD06	71	39
PD08	55	31
PD09	10	6
PD10	54	30
PD11	67	37
PD12	25	14
PD13	151	84
PD14	100	56
PD15	117	65
PD16	57	32
PD17	22	12
PD18	75	42
PD19	93	52
PD20	77	43
PD21	49	27
PD22	41	23
PD23	31	17
PD24	92	51

[1064] 实施例11:实施方案的抗PD-1可活化抗体在人T细胞再刺激测定中被功能上掩蔽

[1065] 本实施例描述了掩蔽部分对抗PD-1抗体的生物功能的影响(图19)。

[1066] 将来自CMV阳性供体的PBMC (Hemacare)以 2×10^5 细胞/孔在CMV病毒裂解物(Astarte)和本发明的抗PD-1抗体A1.5、抗PD-1可活化抗体或hIgG4同种型对照抗体存在的情况下进行铺板。四天后,从每一孔去除上清液,并使用IFN- γ ELISA试剂盒(Life Technologies, Carlsbad, CA)测定IFN- γ 水平。抗PD-1 A1.5可活化抗体相比于对照hIgG4增加CMV刺激的IFN- γ 分泌,但相对于抗PD-1 A.15亲本抗体具有降低的效能(图19)。

[1067] 实施例12:抗小鼠PD-1 J43v2 mIgG2a抗体结合小鼠PD-1并阻断小鼠PD-L1和小鼠PD-L2结合

[1068] 本实施例表明Armenian仓鼠抗小鼠PD-1 J43抗体(US 7,858,746;Agata 等人,

1996, International Immunology, Vol. 8 No. 5 pp765-77) 可以功能表达为小鼠IgG2a 抗体。

[1069] 将抗小鼠PD-1抗体J43重新格式为仓鼠LC (SEQ ID NO: 543 氨基酸;SEQ ID NO: 544或SEQ ID NO: 545核苷酸) 小鼠IgG2a抗体,其通过将重链可变结构域融合至mIgG2a,导致氨基酸SEQ ID NO 546、核苷酸序列SEQ ID NO 547。全长J43v2 mIgG2a (也称为J43v2、J43 m2a和J43v2 m2a) 通过瞬时转染HEK293细胞表达并且通过蛋白G层析从培养上清液纯化。本发明的一个实施方案是包含含有氨基酸序列SEQ ID NO: 543的轻链的抗体。本发明的一个实施方案是包含含有氨基酸序列SEQ ID NO: 546的重链的抗体。本发明的一个实施方案是包含含有氨基酸序列SEQ ID NO: 543的轻链和含有氨基酸序列SEQ ID NO: 546的重链的抗体。本发明的一个实施方案是含有包含含有氨基酸序列SEQ ID NO: 543的轻链和含有氨基酸序列SEQ ID NO: 546的重链的抗体的CDR的抗体。

[1070] 通过J43v2 m2a结合表达小鼠PD-1的HEK293细胞并证实J43v2 m2a与HEK293-mPD-1的结合抑制生物素化的mPD-L1和生物素化的mPD-L2结合HEK293-mPD-1来测定功能性(图20)。将约100,000个mPD-1 HEK293细胞转移至U型底96孔板。对于结合实验,将以150 nM开始的J43v2 m2a抗体的1:4滴定液加入细胞。对于阻断实验,将20nM的生物素化的mPD-L1-Fc或20nM的生物素化的mPD-L2-Fc与以150 nM开始的J43v2 m2a的1:4滴定液预混并加入到细胞。两者均在冰上孵育1小时并将细胞洗涤3次。使用抗小鼠二级抗体(Jackson Immunoresearch, West Grove, PA) 检测J43v2 m2a抗体结合。对于阻断实验,使用链霉抗生物素蛋白-PE (Life Technologies, Carlsbad, CA) 检测生物素化的PD-L1或生物素化的PD-L2。结合和阻断两者均在冰上孵育30分钟并且洗涤,并在流式细胞仪(MACSQuant) 上读取。

[1071] 实施例13:J43v2 m2a在NOD小鼠模型中诱导糖尿病

[1072] 在本实施例中,证实抗PD-1 J43v2 m2a抗体在NOD小鼠模型中诱导糖尿病。

[1073] 如下证实抗体J43v2 m2a在NOD小鼠中诱导糖尿病。NOD小鼠亚系NOD/ShiLtJ在8周时获自Jackson Laboratory并现场适应2周。在10周时,在登记前检查小鼠的糖尿病,分组,并如表16中所述进行给药。图21显示在NOD小鼠中J43v2 m2a的糖尿病的剂量依赖性诱导。单一剂量后第八天,mIgG2a同种型对照组中100%的小鼠保持无糖尿病,而20mg/kg、3 mg/kg和1mg/kg组中分别0%、14%和86%的小鼠保持无糖尿病。

[1074] 表16:研究设计

组	计数	性别	处理	剂量 (mg/kg)	剂量体积 (mL/kg)	时间表	途径
[1075] 1	7	F	mIgG2a (C1.18.4)	20	10	q7dx1	IP
2	7	F	抗-PD-1 (J43v2)	20	10	q7dx1	IP
3	7	F	抗-PD-1 (J43v2)	5	10	q7dx1	IP
4	7	F	抗-PD-1 (J43v2)	1	10	q7dx1	IP

[1076] 实施例14:可活化抗小鼠PD-1 J43掩蔽部分

[1077] 本实施例描述降低抗PD-1 J43抗体结合其靶标的掩蔽部分(MM)的鉴定。

[1078] 将抗PD-1 J43v2 mIgG2a用于筛选文库,其使用与公开于2010年7月15日的PCT国际公开号W0 2010/081173中所述相似的方法进行。筛选由一轮MACS和三轮FACS分选组成。

对于初始MACS,将约 1×10^{12} 个细胞与浓度为200nM的J43v2 m2a抗体孵育,并且使用Protein-G Dynabeads (Life Technologies, Carlsbad, CA)收集约 9×10^7 个结合物。FACS轮次如下进行,用DyLight 650 (Thermo-Fisher)标记的J43v2 m2a抗体标记细胞,并收集具有最强荧光的细胞:对于FACS第1轮(F1),200nM J43-650收集最亮的3%,对于FACS第2轮(F2),20nM J43-650收集最亮的8%,并且对于FACS第3轮(F3-20和F3-0.5),1nM J43-650收集两个群体:最亮的20%和最亮的0.5%。通过序列分析(表17)鉴定来自F2、F3-20和F3-0.5的各个肽克隆,并将所选的肽克隆MP001-MP014随后验证其结合J43-650的能力(掩蔽部分MP001本文也称为MP01和/或MP-01;掩蔽部分MP002本文也称为MP02和/或MP-02,等等)。

[1079] 表17:掩蔽部分序列

掩蔽物	氨基酸序列	SEQ ID NO:
MP001	DYTYCRWVNWCLSGV	384
MP002	ILCPEDPWGHKCKLP	385
MP003	TNIWSCQTYCDHKHK	386
MP004	SDHKCKLQNCMNTKV	387
MP005	PGNCHPMQKEMCQFI	388
MP006	VEHLCYTHNKCKHPD	389
MP007	TIPRCGQHPKCKDTL	390
MP008	ACRICQDHPKTKWNS	391
MP009	LIQCTGNLDHKCKHY	392
MP010	IPCHHSADHKHKCTS	393

[1080]

[1081]

MP011	SRQICADYNCHNKYK	394
MP012	QPCNPQIDHKIKCIY	395
MP013	HYTICMTHNKCKDMA	396
MP014	ANSCLAVEHKCKHNY	397
MP015	AALHCTEHKCKNHIK	398
MP016	APCIINTVDWKSCEI	399
MP017	ATNWCTHKQKCKQDM	400
MP018	DCYNEHKLKTRVCNN	401
MP019	DEMQCSHKQKCTNSK	402
MP020	DVGICSQHNKCKPTK	403
MP021	EKYCSSDDHKCKITL	404
MP022	ELECSHNKVKNCIQI	405
MP023	ELHPCNTHKCKPIVN	406
MP024	EVGSCNHPKCKSNNY	407
MP025	EYSPSLAHPKLDNA	408
MP026	FESLHPKGKHPEDLG	409
MP027	FPLCVRADRVCGDAQ	410
MP028	FQAPPASHNKLKPSL	411
MP029	GAIDSCHHKCKSPHY	412
MP030	GKIYTCEHNCTFGYS	413
MP031	HCTVNNHSSDHKCKI	414
MP032	HGTQCTHNKCKPILS	415
MP033	HIGWCLHPKCKTTTT	416
MP034	HLRTCQKWCEHKMK	417
MP035	HTDCTMMSNHKCKIN	418
MP036	IRQQCTALACLLKVH	419
MP037	KGCSTHKMRAYCNQM	420
MP038	KMFTPCKIWCNNSYN	421
MP039	KTMCSGHKQKCNNSS	422
MP040	LACHSASLVDHKCKL	423

[1082]

MP041	LCNVSMDHKHKPCYL	424
MP042	LGLNCFSEHKCKEHM	425
MP043	LGTCTHKHKNCNYTL	426
MP044	LHEGCTTHNKCKPIA	427
MP045	LKRSCTGHWTCYTNW	428
MP046	LQRCTHKEKYCHAIH	429
MP047	LSHCYDHKRKCSYIV	430
MP048	LSKCHNKEKNCSNNN	431
MP049	MDTCEMHKQKCRPSF	432
MP050	MHNECLTHKCKVPIT	433
MP051	MLTLCNTNACHKEKN	434
MP052	MRPCLNNLEHKCKHY	435
MP053	MSRCPTHKMKCSLNI	436
MP054	MWICQEHLKLCMTDT	437
MP055	MYYCKRRSAFYCTLN	438
MP056	NDCQHDKQMHKCKMH	439
MP057	NFGPCPMLLGCFGFR	440
MP058	NHTDCSHPKCKSHDS	441
MP059	NLNCPHKQKNCDKYH	442
MP060	NPQCTPIDHKCKTHH	443
MP061	NTTSCTHPKCKHQGK	444
MP062	NVGGCDNYGCHKLKN	445
MP063	PCSPGNLTWDHKCKY	446
MP064	PFTKCHGFNKCKEHT	447
MP065	PGDKCTHKEKCYNN	448
MP066	PNICNLDHKRKRIN	449
MP067	PQLACKHPKCKDAGN	450
MP068	PSCTMWITHGGVCKHA	451
MP069	PSHRHPLAKPGFRVE	452
MP070	PTCFKTHNKSKCNRV	453

[1083]

MP071	PTPVCHHNFHCFGYD	454
MP072	QATCQWKKRSKCHNK	455
MP073	QHSWCQHKAKCNYGN	456
MP074	QNCSPTYTTHKCKLT	457
MP075	QSSNCEHKRKCSSIS	458
MP076	RPCLLGLVPDHKCKL	459
MP077	RRSCMRSINTCKQKY	460
MP078	RSSCPTVTPQNCENQ	461
MP079	RTMCLDLNHKCKPSN	462
MP080	RTYWCTNHNKCKHNM	463
MP081	RVENCEHNQYCHKWK	464
MP082	SCHEDDHKNKNICSL	465
MP083	SDTCVMNHPKCKRDN	466
MP084	SSTCFHPNQKECMTK	467
MP085	SSYCGGITMRCRRAM	468
MP086	STGYCTYVNWNYTN	469
MP087	THKCKLHLQVCTQTT	470
MP088	TMNCTHPKQKCQHTN	471
MP089	TNVLCESHNCDHKNK	472
MP090	TQHAASLGVEHFSKI	473
MP091	TQLPCFDDHKCKNTN	474
MP092	TSDSCMRQKCEHKEK	475
MP093	TTCDDHKYKHKCAQL	476
MP094	TTCGAHKEKQHCIYT	477
MP095	TTYCAYWHNKCKFET	478
MP096	VGPTCGHAKCKQSEV	479
MP097	VSHPCNTHKCKTNIV	480
MP098	WDCRNTSHPKLKCHN	481
MP099	WSPCNSDHRKCNNG	482
MP100	YANMSCEYDCHKMKY	483

	MP101	YANPCTHKEKCHFKN	484
	MP102	YDCSPSWTHPKCKHK	485
	MP103	YGWTCTTHPKCKTTN	486
	MP104	YQKCHPKAKDCGNNT	487
	MP105	YWECPNMEHNKCKNN	488
	MP106	PMGNRYCVLDHPKLK	489
	MP107	GHKSCCQKHCEYTQT	490
	MP108	LYLEMCSCCCWESIT	491
	MP109	ACQAQHCYKTYACKP	492
	MP110	CCYTCSVHPKCKNQL	493
	MP111	CKHRCSHKEKCPANH	494
	MP112	CHVLFCLMQCCRWSL	495
	MP113	LNSSLVFDHPKAKPN	496
	MP114	MCLLCRSKFGCKVKG	497
[1084]	MP115	IICNDHKCKQNQCNN	498
	MP116	IRCSLRDSLGCERM	499
	MP117	TSCQPPKHKCTCNHG	500
	MP118	TQCPHRCVKPNCWLH	501
	MP119	KCCETKRNHKHCTYK	502
	MP120	LPHCCHKAKHCNHTS	503
	MP121	PAMCAAIHEKCCIKV	504
	MP122	PRSCGNQLCPCHYYK	505
	MP123	TNKCSCNHNMKCINY	506
	MP124	VETCCQHMKCKYPFI	507
	MP125	IFCCSNHEDHKCKTN	508
	MP126	VCRLICPLTCVIGVG	509
	MP127	FHGCCSVYSCLTNP	510
	MP128	ALACHPKQKPLEGQL	511
	MP129	SIICCATSSCPLKHL	512
	MP130	APCCRPHKEKPIDSR	513
[1085]	MP131	WELCCPSADCRVAMG	514

[1086] 实施例15:可活化抗小鼠PD-1抗体的表征

[1087] 本实施例描述相比于亲本抗体的结合,与hPD-1结合降低的本发明的可活化抗PD-1抗体。

[1088] 通过标准板ELISA评估掩蔽效力。简言之,将小鼠PD-1-Fc (R and D systems, Minneapolis, MN) 吸附至96孔ELISA板的孔。将纯化的J43v2和包含所示的掩蔽物、可切割部分2001以及抗体J43v2的可活化J43v2抗体以系列稀释施加至板并允许结合。用抗小鼠IgG-HRP缀合物 (Sigma, St Louis, MO) 检测结合的抗体和可活化抗体并用发色底物TMB (Thermo Scientific, Rockford, IL) 显现。在Prizm (Sigma Plot) 中作图。相比于亲本J43,所有可活化J43抗体显示强烈降低的结合(图22)。

[1089] 在一些实施方案中,可活化抗体还包括间隔区序列。在一些实施方案中,间隔区直接连接可活化抗体的MM。在一些实施方案中,间隔区以从N末端至C末端为间隔区-MM-CM-AB的结构排列直接连接可活化抗体的MM。在一些实施方案中,直接连接至可活化抗体的MM的N末端的间隔区选自QQQSGQG (SEQ ID NO:362)、QQQSGQ (SEQ ID NO:913)、QQQSG (SEQ ID NO:914)、QQQS (SEQ ID NO:915)、QQQ (SEQ ID NO:916)、QG (SEQ ID NO:917) 和Q。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QQQSGQG (SEQ ID NO:362)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QQQSGQ (SEQ ID NO:913)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QQQSG (SEQ ID NO:914)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QQQS (SEQ ID NO:915),在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QQQ (SEQ ID NO:916)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QG (SEQ ID NO:917)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸残基Q。在一些实施方案中,可活化抗体不包括间隔区序列。

[1090] 间隔区的另外实例包括GQSGQG (SEQ ID NO:2042)、QSGQG (SEQ ID NO:2043)、SGQG (SEQ ID NO:2044)、GQG (SEQ ID NO:2045)、QG (SEQ ID NO:2046) 和G。

[1091] 尽管下文显示的序列包括SEQ ID NO: 362的间隔区序列,但本领域技术人员理解本发明的可活化抗PD-1抗体可以包括任何合适的间隔区序列,诸如例如选自以下的间隔区序列:QQQSGQG (SEQ ID NO:362)、QQQSGQ (SEQ ID NO:913)、QQQSG (SEQ ID NO:914)、QQQS (SEQ ID NO:915)、QQQ (SEQ ID NO:916)、QG (SEQ ID NO:917) 和Q。间隔区的另外实例包括GQSGQG (SEQ ID NO:2042)、QSGQG (SEQ ID NO:2043)、SGQG (SEQ ID NO:2044)、GQG (SEQ ID NO:2045)、QG (SEQ ID NO:2046) 和G。尽管下文显示的序列包括SEQ ID NO: 362的间隔区序列,但本领域普通技术人员也将理解在一些实施方案中的本发明的可活化抗PD-1抗体不包括间隔区序列。

可活化抗小鼠PD-1轻链可变结构域

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP001 2001 (SEQ ID NO: 999)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [DYTYCRWVNWCLSGVGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVG
ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
EDEGDYYCFSGYVDS DSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 515)

J43 MP001 2001 氨基酸序列:

[1092]

DYTYCRWVNWCLSGVGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGD
QLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCF
SYVDS DSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1077)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP001 2001 (SEQ ID NO: 1000)] 核酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GATTATACGTATTGCCGTTGGGTTAATGGTGCTTGTCTG
GGGTGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTTCAGCATCAGTCAATGTAGGAGAGACT
GTCAAATCACCTGCTCTGGGGACCAATTGCCGAAATATTTGCAGATTGGTTTCATCAAAGGT

CAGACCAGACCATTTTGCAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCCCTCGGGTATCCCTGAAAG
AATCTCTGGGTCCAGCTCAGGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTGAGGAT
GAAGGTGACTATTACTGTTTCTCAGGATATGTTGATAGTGATAGCAAATTGTATGTTTTTGGCA
GCGGAACCCAGCTCACCGTCCT (SEQ ID NO: 516)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP002 2001 (SEQ ID NO: 1001)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [ILCPEDPWGHKCKLPGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVG
ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
EDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 517)

J43 MP002 2001 氨基酸序列:

ILCPEDPWGHKCKLPGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGD
QLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCFS
GYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1078)

[1093] [间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP002 2001 (SEQ ID NO: 1002)] 核酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [ATTCTGTGCCCGGAGGATCCGTGGGGGCATAAAGTGCAAGC
TGCTTGAGAGTGGCTCGAGCGGCGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTTCAGCATCAGTCAATGTAGGAGAGACT
GTCAAATCACCTGCTCTGGGGACCAATTGCCGAAATATTTTGCAGATTGGTTTCATCAAAGGT
CAGACCAGACCATTTTGCAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCCCTCGGGTATCCCTGAAAG
AATCTCTGGGTCCAGCTCAGGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTGAGGAT
GAAGGTGACTATTACTGTTTCTCAGGATATGTTGATAGTGATAGCAAATTGTATGTTTTTGGCA
GCGGAACCCAGCTCACCGTCCTA (SEQ ID NO: 518)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP003 2001 (SEQ ID NO: 1003)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [TNIWSCQTYCDHKHKGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVG
ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
EDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 519)

J43 MP003 2001 氨基酸序列:

TNIWSCQTYCDHKHKGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGD
QLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYCF
GYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1079)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP003 2001 (SEQ ID NO: 1004)] 核酸序列:

[1094]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [ACGAATATTTGGAGTTGCCAGACTTATTGCCGATCATAAGC
ATAAGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTTCAGCATCAGTCAATGTAGGAGAGACT
GTCAAATCACCTGCTCTGGGGACCAATTGCCGAAATATTTGCAGATTGGTTTCATCAAAGGT
CAGACCAGACCATTTTGCAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCTCGGGTATCCCTGAAAG
AATCTCTGGGTCCAGCTCAGGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTGAGGAT
GAAGGTGACTATTACTGTTTCTCAGGATATGTTGATAGTGATAGCAAATTGTATGTTTTTGGCA
GCGGAACCCAGCTCACCGTCCTA (SEQ ID NO: 520)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP004 2001 (SEQ ID NO: 1005)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [SDHKCKLQNCMNTKVGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVG
ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
EDEGDYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 521)

J43 MP004 2001 氨基酸序列:

SDHKCKLQNCMNTKVGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGD
QLPKYFADWFHQRS DQ TILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCFS
GYVDS DSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1080)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP004 2001 (SEQ ID NO: 1006)] 核酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [AGTGATCATAAGTGCAAGCTTCAGAATTGCATGAATACTA
AGGTTGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTTCAGCATCAGTCAATGTAGGAGAGACT
GTCAA AATCACCTGCTCTGGGGACCAATTGCCGAAATATTTTGCAGATTGGTTTCATCAAAGGT
CAGACCAGACCATTTTGCAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCTCGGGTATCCCTGAAAG
AATCTCTGGGTCCAGCTCAGGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTGAGGAT
GAAGGTGACTATTACTGTTTCTCAGGATATGTTGATAGTGATAGCAAATTGTATGTTTTTGGCA
GCGGAACCCAGCTCACCGTCCTA (SEQ ID NO: 522)

[1095] [间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP005 2001 (SEQ ID NO: 1007)] 氨基酸序列:

[QQQSGQG] [PGNCHPMQKEMCQFIGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVG
ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRS DQ TILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
EDEGDYYCFSGYVDS DSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 523)

J43 MP005 2001 氨基酸序列:

PGNCHPMQKEMCQFIGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGD
QLPKYFADWFHQRS DQ TILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCFS
GYVDS DSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1081)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP005 2001 (SEQ ID NO: 1008)] 核酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CCTGGTAATTGCCATCCTATGCAGAAGGAGATGTGCCAGT
TTATTGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTTCAGCATCAGTCAATGTAGGAGAGACT
GTCAA AATCACCTGCTCTGGGGACCAATTGCCGAAATATTTTGCAGATTGGTTTCATCAAAGGT
CAGACCAGACCATTTTGCAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCTCGGGTATCCCTGAAAG

AATCTCTGGGTCCAGCTCAGGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTGAGGAT
GAAGGTGACTATTACTGTTTCTCAGGATATGTTGATAGTGATAGCAAATTGTATGTTTTTGGCA
GCGGAACCCAGCTCACCGTCCTA (SEQ ID NO: 524)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP006 2001 (SEQ ID NO: 1009)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [VEHLCYTHNKCKHPDGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVG
ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRS DQ TILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
EDEGDYYCFSGYVDS DSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 525)

J43 MP006 2001 氨基酸序列:

VEHLCYTHNKCKHPDGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGD
QLPKYFADWFHQRS DQ TILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCF
SYVDS DSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1082)

[1096]

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP006 2001 (SEQ ID NO: 1010)] 核酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GTTGAGCATTTGTGCTATACGCATAATAAGTGCAAGCATC
CTGATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTTCAGCATCAGTCAATGTAGGAGAGACT
GTCAA AATCACCTGCTCTGGGGACCAATTGCCGAAATATTTTGCAGATTGGTTTTCATCAAAGGT
CAGACCAGACCATTTTGCAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCTCGGGTATCCCTGAAAG
AATCTCTGGGTCCAGCTCAGGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTGAGGAT
GAAGGTGACTATTACTGTTTCTCAGGATATGTTGATAGTGATAGCAAATTGTATGTTTTTGGCA
GCGGAACCCAGCTCACCGTCCTA (SEQ ID NO: 526)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP007 2001 (SEQ ID NO: 1011)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [TIPRCGQHPKCKDTLGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVG
ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRS DQ TILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
EDEGDYYCFSGYVDS DSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 527)

J43 MP007 2001 氨基酸序列:

TIPRCGQHPKCKD TLGGSSGGS ISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGD
QLPKYFADWFHQ RSDQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCFS
GYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1083)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP007 2001 (SEQ ID NO: 1012)] 核酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [ACTATCCGAGGTGCGGTCAGCATCCGAAGTGCAAGGATA
CTTTGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTTCAGCATCAGTCAATGTAGGAGAGACT
GTCAAATCACCTGCTCTGGGGACCAATTGCCGAAATATTTTGCAGATTGGTTTCATCAAAGGT
CAGACCAGACCATTTTGCAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCCTCGGGTATCCCTGAAAG
AATCTCTGGGTCCAGCTCAGGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTGAGGAT
GAAGGTGACTATTACTGTTTCTCAGGATATGTTGATAGTAGCAAATTGTATGTTTTTGGCA
GCGGAACCCAGCTCACCGTCCTA (SEQ ID NO: 528)

[1097] [间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP008 2001 (SEQ ID NO: 1013)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [ACRICQDHPKTKWNSGGGSSGGS ISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVG
ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQ RSDQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
EDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 529)

J43 MP008 2001 氨基酸序列:

ACRICQDHPKTKWNSGGGSSGGS ISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGD
QLPKYFADWFHQ RSDQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCFS
GYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1084)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP008 2001 (SEQ ID NO: 1014)] 核酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGTGCCGTATTTGTCAGGATCATCCTAAGACGAAGTGGA
ATTCTGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTTCAGCATCAGTCAATGTAGGAGAGACT
GTCAAATCACCTGCTCTGGGGACCAATTGCCGAAATATTTTGCAGATTGGTTTCATCAAAGGT
CAGACCAGACCATTTTGCAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCCTCGGGTATCCCTGAAAG

AATCTCTGGGTCCAGCTCAGGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTGAGGAT
GAAGGTGACTATTACTGTTTCTCAGGATATGTTGATAGTGATAGCAAATTGTATGTTTTTGGCA
GCGGAACCCAGCTCACCGTCCTA (SEQ ID NO: 530)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP009 2001 (SEQ ID NO: 1015)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [LIQCTGNLDHKCKHYGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVG
ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
EDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 531)

J43 MP009 2001 氨基酸序列:

LIQCTGNLDHKCKHYGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGD
QLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCF
SYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1085)

[1098]

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP009 2001 (SEQ ID NO: 1016)] 核酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CTTATTCAGTGCACCTGGTAATCTTGATCATAAGTGCAAGC
ATTATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTCAGCATCAGTCAATGTAGGAGAGACT
GTCAAATCACCTGCTCTGGGGACCAATTGCCGAAATATTTTGCAGATTGGTTTTCATCAAAGGT
CAGACCAGACCATTTTGCAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCCTCGGGTATCCCTGAAAG
AATCTCTGGGTCCAGCTCAGGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTGAGGAT
GAAGGTGACTATTACTGTTTCTCAGGATATGTTGATAGTGATAGCAAATTGTATGTTTTTGGCA
GCGGAACCCAGCTCACCGTCCT (SEQ ID NO: 532)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP010 2001 (SEQ ID NO: 1017)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [IPCHHSADHKHKCTSGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVG
ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
EDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 533)

J43 MP010 2001 氨基酸序列:

IPCHHSADHKHKCTSGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGD
QLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCFS
GYVDSDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1086)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP010 2001 (SEQ ID NO: 1018)] 核酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [ATTCCTTGCCATCATAGTGCTGATCATAAGCATAAGTGCA
CGAGTGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTTCAGCATCAGTCAATGTAGGAGAGACT
GTCAAATCACCTGCTCTGGGGACCAATTGCCGAAATATTTTGCAGATTGGTTTCATCAAAGGT
CAGACCAGACCATTTTGCAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCCTCGGGTATCCCTGAAAG
AATCTCTGGGTCCAGCTCAGGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTGAGGAT
GAAGGTGACTATTACTGTTTCTCAGGATATGTTGATAGTAGCAAATTGTATGTTTTTGGCA
GCGGAACCCAGCTCACCGTCCTA (SEQ ID NO: 534)

[1099]

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP011 2001 (SEQ ID NO: 1019)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [SRQICADYNCHNKYKGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVG
ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
EDEGDYYCFSGYVDSDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 535)

J43 MP011 2001 氨基酸序列:

SRQICADYNCHNKYKGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGD
QLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCFS
GYVDSDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1087)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP011 2001 (SEQ ID NO: 1020)] 核酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [TCGCGGCAGATTTGCGCTGATTATAATTGCCATAATAAGT
ATAAGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTTCAGCATCAGTCAATGTAGGAGAGACT
GTCAAATCACCTGCTCTGGGGACCAATTGCCGAAATATTTTGCAGATTGGTTTCATCAAAGGT
CAGACCAGACCATTTTGCAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCCTCGGGTATCCCTGAAAG

AATCTCTGGGTCCAGCTCAGGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTGAGGAT
GAAGGTGACTATTACTGTTTCTCAGGATATGTTGATAGTGATAGCAAATTGTATGTTTTTGGCA
GCGGAACCCAGCTCACCGTCCTA (SEQ ID NO: 536)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP012 2001 (SEQ ID NO: 1021)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [QPCNPQIDHKIKCIYGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVG
ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRS DQ TILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
EDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 537)

J43 MP012 2001 氨基酸序列:

QPCNPQIDHKIKCIYGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGD
QLPKYFADWFHQRS DQ TILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCF
SYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1088)

[1100]

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP012 2001 (SEQ ID NO: 1022)] 核酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CAGCCTTGCAATCCGCAGATTGATCATAAGATTAAGTGCA
TTTATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTTCAGCATCAGTCAATGTAGGAGAGACT
GTCAAATCACCTGCTCTGGGGACCAATTGCCGAAATATTTTCAGATTGGTTTTCATCAAAGGT
CAGACCAGACCATTTTGCAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCTCGGGTATCCCTGAAAG
AATCTCTGGGTCCAGCTCAGGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTGAGGAT
GAAGGTGACTATTACTGTTTCTCAGGATATGTTGATAGTGATAGCAAATTGTATGTTTTTGGCA
GCGGAACCCAGCTCACCGTCCTA (SEQ ID NO: 538)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP013 2001 (SEQ ID NO: 1023)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [HYTICMTHNKCKDMAGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVG
ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRS DQ TILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
EDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 539)

J43 MP013 2001 氨基酸序列:

HYTICMTHNKCKDMAGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGD
QLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCFS
GYVDS DSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1089)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP013 2001 (SEQ ID NO: 1024)] 核酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CATTATACTATTTGCATGACGCATAATAAGTGCAAGGATA
TGGCGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTTCAGCATCAGTCAATGTAGGAGAGACT
GTCAA AATCACCTGCTCTGGGGACCAATTGCCGAAATATTTTGCAGATTGGTTTCATCAAAGGT
CAGACCAGACCATTTTGCAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCCCTCGGGTATCCCTGAAAG
AATCTCTGGGTCCAGCTCAGGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTGAGGAT
GAAGGTGACTATTACTGTTTCTCAGGATATGTTGATAGTGATAGCAAATTGTATGTTTTTGGCA
GCGGAACCCAGCTCACCGTCCTA (SEQ ID NO: 540)

[1101] [间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP014 2001 (SEQ ID NO: 1025)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [ANSCLAVEHKCKHNYGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVG
ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
EDEGDYYCFSGYVDS DSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 541)

J43 MP014 2001 氨基酸序列:

ANSCLAVEHKCKHNYGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGD
QLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCFS
GYVDS DSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1090)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP014 2001 (SEQ ID NO: 1026)] 核酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCTAATAGTTGCCTTGCTGTTGAGCATAAGTGCAAGCATA
ATTATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTTCAGCATCAGTCAATGTAGGAGAGACT
GTCAA AATCACCTGCTCTGGGGACCAATTGCCGAAATATTTTGCAGATTGGTTTCATCAAAGGT
CAGACCAGACCATTTTGCAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCCCTCGGGTATCCCTGAAAG

AATCTCTGGGTCCAGCTCAGGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTGAGGAT
GAAGGTGACTATTACTGTTTCTCAGGATATGTTGATAGTGATAGCAAATTGTATGTTTTTGGCA
GCGGAACCCAGCTCACCGTCCTA (SEQ ID NO: 542)

重新格式化的抗小鼠PD-1重链和轻链:

J43v2 轻链(LC)氨基酸序列:

YELTQPPSASVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRS DQTI LQVIYDDNKRPSGIPERISGSS
SGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCFSGYVDS DSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEEL
RTNKATLVCLVNDFYPGSATVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNR
VSCQVTHEGETVEKSLSPA ECL (SEQ ID NO: 543)

J43v2 LC 核苷酸序列1:

[1102]

TATGAGCTGACTCAGCCACCTTCAGCATCAGTCAATGTAGGAGAGACTGTCAA AATCACCTGCT
CTGGGGACCAATTGCCGAAATATTTTGCAGATTGGTTTTCATCAAAGGTCAGACCAGACCATTTT
GCAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCTCGGGTATCCCTGAAAGAATCTCTGGGTCCAGC
TCAGGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTGAGGATGAAGGTGACTATTACT
GTTTCTCAGGATATGTTGATAGTGATAGCAAATTGTATGTTTTTGGCAGCGGAACCCAGCTCAC
CGTCCTAGGTGGACCCAAGTCTTCTCCCAAAGTCACAGTGTTTCCACCTTACCTGAGGAGCTC
CGGACAAACAAAGCCACACTGGTGTGTCTGGTTAATGACTTCTACCCGGGTTCTGCAACAGTGA
CCTGGAAGGCAAATGGAGCAACTATCAATGATGGGGTGAAGACTACAAAGCCTTCCAAACAGGG
CCAAACTACATGACCAGCAGCTACCTAAGTTTGACAGCAGACCAGTGGAAATCTCACAACAGG
GTTTCTGCCAAGTTACCCATGAAGGGGAAACTGTGGAGAAGAGTTTGTCCCTGCAGAATGTC
TT (SEQ ID NO: 544)

J43v2 LC 核苷酸序列2:

TACGAGCTGACCCAGCCTCCTAGCGCCTCCGTGAATGTGGGCGAGACAGTGAAGATCACCTGTA
GCGGCGACCAGCTGCCAAGTACTTCGCCGACTGGTTCCACCAGCGGAGCGACCAGACAATCCT
GCAAGTGATCTACGACGACAACAAGCGGCCAGCGGCATCCCCGAGAGAATCAGCGGAAGCAGC
AGCGGCACCACCGCCACCCTGACCATTAGAGATGTGCGGGCCGAGGACGAGGGCGACTACTACT
GCTTTAGCGGCTACGTGGACAGCGACAGCAAGCTGTACGTGTTCCGGCTCCGGTACCCAGCTGAC
AGTGCTGGGCGGACCTAAGAGCAGCCCCAAAGTGACCGTGTTCCCCCAAGCCCCGAGGAACTG
AGGACCAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTCGTGAACGACTTCTACCCTGGCAGCGCCACCCTGA

CCTGGAAAGCCAATGGCGCCACCATCAACGACGGCGTGAAAACCACCAAGCCCAGCAAGCAGGG
 CCAGAACTACATGACCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCGCCGACCAGTGGAAGTCCCACAACAGA
 GTGTCCTGCCAAGTGACCCACGAGGGGGAAACCGTGAAAAGAGCCTGAGCCCTGCCGAGTGCC
 TG (SEQ ID NO: 545)

J43v2 mIgG2a 重链(HC)氨基酸序列:

EVRLLESGLLVKPEGSLKLSVCVASGFTFSDYFMSWVRQAPGKLEWVAHIYTKSYNYATYYSG
 SVKGRFTISRDDSRSMVYLQMNLRTEdTATYYCTRDSGYPSLDFWQGTQVTVSSAKTTAPS
 VYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVT
 SSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFI FPPKIKDVLV
 ISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSG
 KEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTFDFMPEDIYVE
 WTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRT
 PGK (SEQ ID NO: 546)

[1103]

J43v2 mIgG2a HC 核酸序列:

GAGGTGCGGCTTCTGGAGTCTGGTGGAGGATTAGTGAAGCCTGAGGGGTCACTGAAACTCTCCT
 GTGTGGCCTCTGGATTCACCTTCAGTGACTATTTTCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAA
 GGGGCTGGAGTGGGTGCTCACATATACACGAAAAGTTATAATTATGCAACTTATTACTCGGGT
 TCGGTGAAAGGCAGATTCACCATCTCCAGAGATGATTCGGAAGCATGGTCTACCTGCAAATGA
 ACAACCTGAGAACTGAGGACACGGCCACTTATTACTGTACAAGAGATGGAAGCGGATATCCCTC
 TCTGGATTTCTGGGGTCAAGGGACCCAAGTCACTGTCTCCTCAGCTAAAACAACAGCCCCATCG
 GTCTATCCACTGGCCCCTGTGTGTGGAGATACAACTGGCTCCTCGGTGACTCTAGGATGCCTGG
 TCAAGGGTTATTTCCCTGAGCCAGTGACCTTGACCTGGAACCTCTGGATCCCTGTCCAGTGGTGT
 GCACACCTTCCCAGCTGTCCTGCAGTCTGACCTCTACACCCTCAGCAGCTCAGTGACTGTAACC
 TCGAGCACCTGGCCCAGCCAGTCCATCACCTGCAATGTGGCCACCCGGCAAGCAGCACCAGG
 TGGACAAGAAAATTGAGCCCAGAGGGCCACAATCAAGCCCTGTCCTCCATGCAAATGCCCAGC
 ACCTAACCTCTTGGGTGGACCATCCGTCTTCATCTTCCCTCAAAGATCAAGGATGTACTCATG
 ATCTCCCTGAGCCCCATAGTCACATGTGTGGTGGTGGATGTGAGCGAGGATGACCCAGATGTCC
 AGATCAGCTGGTTTGTGAACAACGTGGAAGTACACACAGCTCAGACACAAACCCATAGAGAGGA
 TTACAACAGTACTCTCCGGGTGGTCAAGTGCCTCCCCATCCAGCACCAGGACTGGATGAGTGGC
 AAGGAGTTCAAATGCAAGGTCAACAACAAAGACCTCCCAGCGCCATCGAGAGAACCATCTCAA
 AACCCAAAGGGTCAGTAAGAGCTCCACAGGTATATGTCTTGCCTCCACCAGAAGAAGAGATGAC
 TAAGAAACAGGTCACTCTGACCTGCATGGTCAAGACTTCATGCCTGAAGACATTTACGTGGAG
 TGGACCAACAACGGGAAAACAGAGCTAAACTACAAGAACACTGAACCAGTCCCTGGACTCTGATG
 GTTCTTACTTCATGTACAGCAAGCTGAGAGTGGAAAAGAAGAACTGGGTGGAAAGAAATAGCTA
 CTCCTGTTCAAGTGGTCCACGAGGGTCTGCACAATCACCACACGACTAAGAGCTTCTCCCGGACT
 CCGGGTAAA (SEQ ID NO: 547)

[1104]

[1105] 实施例16:具有一定范围的掩蔽效力的可活化抗mPD-1抗体

[1106] 本实施例描述通过掩蔽部分截短和单氨基酸取代调节抗mPD-1抗体掩蔽效力。

[1107] 选择四个J43可活化抗体以通过掩蔽部分截短或一个或多个MM残基的氨基酸取代来产生可活化抗mPD-1抗体的家族。表18列出设计的MM。通过转染30mL HEK293细胞产生具有设计的MM和2001底物的可活化J43v2抗体,并通过如实施例15中所述的ELISA评价所选的可活化抗体(序列MPtrunc ELISA可活化抗体LC)的掩蔽(图23)。

[1108] 在一些实施方案中,可活化抗体还包括间隔区序列。在一些实施方案中,间隔区直接连接可活化抗体的MM。在一些实施方案中,间隔区以从N末端至C末端为间隔区-MM-CM-AB的结构排列直接连接可活化抗体的MM。在一些实施方案中,直接连接至可活化抗体的MM的N末端的间隔区选自QQQSGQG (SEQ ID NO:362)、QQQSGQ (SEQ ID NO:913)、QQQSG (SEQ ID NO:914)、QQQS (SEQ ID NO:915)、QQQ (SEQ ID NO:916)、QG (SEQ ID NO:917)和Q。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QQQSGQG (SEQ ID NO:362)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QQQSGQ (SEQ ID NO:913)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QQQSG (SEQ ID NO:914)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QQQS (SEQ ID NO:915),在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QQQ (SEQ ID NO:916)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QG (SEQ ID NO:917)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸残基Q。在一些实施方案中,可活化抗体不包括间隔区序列。

[1109] 尽管下文显示的序列包括SEQ ID NO: 362的间隔区序列,但本领域普通技术人员理解本发明的可活化抗PD-1抗体可以包括任何合适的间隔区序列,诸如例如选自以下的间隔区序列:QQQSGQG (SEQ ID NO:362)、QQQSGQ (SEQ ID NO:913)、QQQSG (SEQ ID NO:914)、QQQS (SEQ ID NO:915)、QQQ (SEQ ID NO:916)、QG (SEQ ID NO:917)和Q。尽管下文显示的序列包括SEQ ID NO: 362的间隔区序列,但本领域普通技术人员也将理解在一些实施方案中的本发明的可活化抗PD-1抗体不包括间隔区序列。

[1110] 表18:掩蔽部分序列

掩蔽物	氨基酸序列	SEQ ID NO:
MP8-1	QDHPKTKWNS	548
MP8-2	ACRICQDHPATKWNS	549
MP8-3	ACRICQDHPKTAWNS	550
MP8-4	ACRICQDAPKTKWNS	551
MP8-5	ACRICQDHAKTKWNS	552
MP8-6	DHPATKWNS	553
MP8-7	DHPKTAWNS	554
MP8-8	DAPKTKWNS	555
MP8-9	DAPATKWNS	556
MP8-10	ACRICQDHP	557
MP7-1	HPQSKDTL	558
MP7-2	HPKSQDTL	559
MP7-3	TIPRCGQHPLCLDTL	560
MP7-4	HPLSLDTL	561
MP7-5	HPASKDTL	562
MP7-6	HPKSADTL	563
MP5-1	PGNCHPLQKELCQFI	564
MP5-2	HPLQKELAQFI	565
MP5-3	HPLALELAQFI	566
MP5-4	PGNCHPLQLELCQFI	567
MP3-1	TNIWSCQTYCDHAHA	568
MP3-2	TNIWSCQTYCDHAHL	569
MP3-3	TNIWSCQTYCDHLHA	570
MP3-4	TNIWSCQTYCDHKHA	571

[1111]

[1112]

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP5-2 2001 (SEQ ID NO: 1027)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [HPLQKELAQFIGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVK
ITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQITILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEG
DYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 572)

J43 MP5-2 2001 氨基酸序列:

HPLQKELAQFIGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGDQLPK
YFADWFHQRSQDQITILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYCFSGYVD
SDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1113)

[1113]

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP5-2 2001 (SEQ ID NO: 1038)] 核酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CATCCTCTGCAGAAGGAGCTGGCCCAGTTTATTGGAGGTG
GCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGGAGG
CTCTTACGAGCTGACCCAGCCTCCTAGCGCCTCCGTGAATGTGGGCGAGACAGTGAAGATCACC
TGTAGCGGCGACCAGCTGCCCAAGTACTTCGCCGACTGGTTCACCAGCGGAGCGACCAGACAA
TCCTGCAAGTGATCTACGACGACAACAAGCGGCCAGCGGCATCCCCGAGAGAATCAGCGGAAG
CAGCAGCGGCACCACCGCCACCCTGACCATTAGAGATGTGCGGGCCGAGGACGAGGGCGACTAC
TACTGCTTTAGCGGCTACGTGGACAGCGACAGCAAGCTGTACGTGTTCCGGTCCGGTACCCAGC
TGACAGTGCTGGGCGGACCTAAGAGCAGCCCCAAAGTGACCGTGTTCCCCCAAGCCCCGAGGA
ACTGAGGACCAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTCGTGAACGACTTCTACCCTGGCAGCGCCACC
GTGACCTGGAAAGCCAATGGCGCCACCATCAACGACGGCGTGAAAACCACCAAGCCCAGCAAGC
AGGGCCAGAACTACATGACCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCGCCGACCAGTGGAAGTCCCACAA

CAGAGTGTCTGCCAAGTGACCCACGAGGGGGAAACCGTGAAAAAGAGCCTGAGCCCTGCCGAG
TGCCTG (SEQ ID NO: 573)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP7-1 2001 (SEQ ID NO: 1039)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [HPQSKDTLGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITC
SGDQLPKYFADWFHQRSRSDQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYY
CFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 574)

J43 MP7-1 2001 氨基酸序列:

HPQSKDTLGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGDQLPKYFA
DWFHQRSRSDQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCFSGYVDSK
KLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1114)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP7-1 2001 (SEQ ID NO: 2062)] 核酸序列:

[1114]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CATCCGCAGTCTAAGGATACTTTGGGAGGTGGCTCGAGCG
GCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGGAGGCTCTTACGA
GCTGACCCAGCCTCCTAGCGCCTCCGTGAATGTGGGCGAGACAGTGAAGATCACCTGTAGCGGC
GACCAGCTGCCCAAGTACTTCGCCGACTGGTTCACCAGCGGAGCGACCAGACAATCCTGCAAG
TGATCTACGACGACAACAAGCGGCCAGCGGCATCCCCGAGAGAATCAGCGGAAGCAGCAGCGG
CACCACCGCCACCCTGACCATTAGAGATGTGCGGGCCGAGGACGAGGGCGACTACTACTGCTTT
AGCGGCTACGTGGACAGCGACAGCAAGCTGTACGTGTTCCGGCTCCGGTACCCAGCTGACAGTGC
TGGGCGGACCTAAGAGCAGCCCCAAAGTGACCGTGTTCCCCCAAGCCCCGAGGAACTGAGGAC
CAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTCGTGAACGACTTCTACCCTGGCAGCGCCACCCTGACCTGG
AAAGCCAATGGCGCCACCATCAACGACGGCGTGAAAACCACCAAGCCCAGCAAGCAGGGCCAGA
ACTACATGACCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCGCCGACCAGTGGAAGTCCCACAACAGAGTGTC
CTGCCAAGTGACCCACGAGGGGGAAACCGTGAAAAAGAGCCTGAGCCCTGCCGAGTGCCTG
(SEQ ID NO: 575)

MPtrunc ELISA可活化抗体LCs:

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP7-5 2001 (SEQ ID NO: 1115)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [HPASKDTLGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITC
SGDQLPKYFADWFHQRSQDQITILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYY
CFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 576)

J43 MP7-5 2001 氨基酸序列:

HPASKDTLGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGDQLPKYFA
DWFHQRSQDQITILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCFSGYVDS
KLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1115)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP7-5 2001 (SEQ ID NO: 2061)] 核酸序列:

[1115] [CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CATCCGGCGTCTAAGGATACTTTGGGAGGTGGCTCGAGCG
GCGGCTCTATCTCTTCCGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGGAGGCTCTTACGA
GCTGACCCAGCCTCCTAGCGCCTCCGTGAATGTGGGCGAGACAGTGAAGATCACCTGTAGCGGC
GACCAGCTGCCCAAGTACTTCGCCGACTGGTTCACCAGCGGAGCGACCAGACAATCCTGCAAG
TGATCTACGACGACAACAAGCGGCCAGCGGCATCCCCGAGAGAATCAGCGGAAGCAGCAGCGG
CACCACCGCCACCCCTGACCATTAGAGATGTGCGGGCCGAGGACGAGGGCGACTACTACTGCTTT
AGCGGCTACGTGGACAGCGACAGCAAGCTGTACGTGTTCCGGCTCCGGTACCCAGCTGACAGTGC
TGGGCGGACCTAAGAGCAGCCCCAAAGTGACCGTGTTCCCCCAAGCCCCGAGGAAGTACTGAGGAC
CAACAAGGCCACCCCTCGTGTGCCTCGTGAACGACTTCTACCCTGGCAGCGCCACCGTGACCTGG
AAAGCCAATGGCGCCACCATCAACGACGGCGTGAAAACCAAGCCAGCAAGCAGGGCCAGA
ACTACATGACCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCGCCGACCAGTGGAAGTCCCACAACAGAGTGTC
CTGCCAAGTGACCCACGAGGGGAAACCGTGAAAAGAGCCTGAGCCCTGCCGAGTGCCTG
(SEQ ID NO: 577)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP8-2 2001 (SEQ ID NO: 1032)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVG
ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQITILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
EDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 578)

J43 MP8-2 2001 氨基酸序列:

ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGD
QLPKYFADWFHQRSQDQITLQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYCF
GYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1116)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] J43 MP8-2 2001 (SEQ ID NO: 1033) 核酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGTGCCGTATTTGTCAGGATCATCCTGCGACGAAGTGA
ATTCTGGAGGTGGCTCGAGCGGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGCTCTACGAGCTGACCCAGCCTCCTAGCGCCTCCGTGAATGTGGGCGAGACAG
TGAAGATCACCTGTAGCGGGCACCAGCTGCCAAGTACTTCGCCGACTGGTTCCACCAGCGGAG
CGACCAGACAATCCTGCAAGTGATCTACGACGACAACAAGCGGCCAGCGGCATCCCCGAGAGA
ATCAGCGGAAGCAGCAGCGGCACCACCGCCACCCTGACCATTAGAGATGTGCGGGCCGAGGACG
AGGGCGACTACTACTGCTTTAGCGGCTACGTGGACAGCGACAGCAAGCTGTACGTGTTCCGGCTC
CGGTACCCAGCTGACAGTGCTGGGCGGACCTAAGAGCAGCCCCAAAGTGACCGTGTCCCCCA
[1116] AGCCCCGAGGAAGTGAAGACCAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTCGTGAACGACTTCTACCCTG
GCAGCGCCACCGTGACCTGGAAAGCCAATGGCGCCACCATCAACGACGGCGTGAAAACCACCAA
GCCAGCAAGCAGGGCCAGAAGTACATGACCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCGCCGACCAGTGG
AAGTCCCACAACAGAGTGTCTGCCAAGTGACCCACGAGGGGGAAACCGTGAAAAGAGCCTGA
GCCCTGCCGAGTGCCTG (SEQ ID NO: 579)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP8-8 2001 (SEQ ID NO: 1034)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [DAPKTKWNSGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKIT
CSGDQLPKYFADWFHQRSQDQITLQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDY
YCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 580)

J43 MP8-8 2001 氨基酸序列:

DAPKTKWNSGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGDQLPKYF
ADWFHQRSQDQITLQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYCFSGYVDS
SKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1117)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] J43 MP8-8 2001 (SEQ ID NO: 1035) 核酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GATGCTCCTAAGACGAAGTGAATTCTGGAGGTGGCTCGA
GCGGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGGAGGCTCTTA
CGAGCTGACCCAGCCTCCTAGCGCCTCCGTGAATGTGGGCGAGACAGTGAAGATCACCTGTAGC
GGCGACCAGCTGCCAAGTACTTCGCCGACTGGTTCCACCAGCGGAGCGACCAGACAATCCTGC
AAGTGATCTACGACGACAACAAGCGGCCAGCGGCATCCCCGAGAGAATCAGCGGAAGCAGCAG
CGGCACCACCGCCACCCTGACCATTAGAGATGTGCGGGCCGAGGACGAGGGCGACTACTACTGC
TTTAGCGGCTACGTGGACAGCGACAGCAAGCTGTACGTGTTCCGGCTCCGGTACCCAGCTGACAG
TGCTGGGCGGACCTAAGAGCAGCCCCAAGTGACCGTGTCCCCCAAGCCCCGAGGAACTGAG
GACCAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTCGTGAACGACTTCTACCCTGGCAGCGCCACCCTGACC
TGAAAGCCAATGGCGCCACCATCAACGACGGCGTGAAAACCACCAAGCCCAGCAAGCAGGGCC
AGAACTACATGACCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCGCCGACCAGTGAAGTCCACAACAGAGT
GTCCTGCCAAGTGACCCACGAGGGGAAACCGTGAAAAGAGCCTGAGCCCTGCCGAGTGCCTG
(SEQ ID NO: 581)

[1117]

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] J43 MP8-9 2001 (SEQ ID NO: 1036) 氨基酸序列:

[QQQSGQG] [DAPATKWNSGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKIT
CSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDY
YCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 582)

J43 MP8-9 2001 氨基酸序列:

DAPATKWNSGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGDQLPKYF
ADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYCFSGYVDS
SKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1118)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] J43 MP8-9 2001 (SEQ ID NO: 1037) 核酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GATGCTCCTGCGACGAAGTGAATTCTGGAGGTGGCTCGA
GCGGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGGAGGCTCTTA
CGAGCTGACCCAGCCTCCTAGCGCCTCCGTGAATGTGGGCGAGACAGTGAAGATCACCTGTAGC
GGCGACCAGCTGCCAAGTACTTCGCCGACTGGTTCCACCAGCGGAGCGACCAGACAATCCTGC
AAGTGATCTACGACGACAACAAGCGGCCAGCGGCATCCCCGAGAGAATCAGCGGAAGCAGCAG
CGGCACCACCGCCACCCTGACCATTAGAGATGTGCGGGCCGAGGACGAGGGCGACTACTACTGC

TTTAGCGGCTACGTGGACAGCGACAGCAAGCTGTACGTGTTTCGGCTCCGGTACCCAGCTGACAG
TGCTGGGCGGACCTAAGAGCAGCCCCAAAGTGACCGTGTTCCCCCAAGCCCCGAGGAAGTGTGAG
GACCAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTCGTGAACGACTTCTACCCTGGCAGCGCCACCCTGACC
TGAAAGCCAATGGCGCCACCATCAACGACGGCGTGAAAACCACCAAGCCCAGCAAGCAGGGCC
AGAACTACATGACCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCGCCGACCAGTGAAGTCCCACAACAGAGT
GTCCTGCCAAGTGACCCACGAGGGGAAACCCTGGAAAAGAGCCTGAGCCCTGCCGAGTGCCTG
(SEQ ID NO: 583)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][J43 MP8-2 2003 (SEQ ID NO: 1119) 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSSGGSSGGSSISSGLLSGRSANPRGGGSYELTQPPSASVNV
GETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVR
AEDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 1120)

J43 MP8-2 2003 氨基酸序列:

ACRICQDHPATKWNSSGGSSGGSSISSGLLSGRSANPRGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSG
DQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCF
SGYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1119)

[1118]

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)][J43 MP8-2 2003 (SEQ ID NO: 1121) 核酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGTGCCGATTTTGTCCAGGATCATCCTGCGACGAAGTGA
ATTCTGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGCCAA
TCCTCGTGGCGGAGGATCCTACGAGCTGACCCAGCCTCCTAGCGCCTCCGTGAATGTGGGCGAG
ACAGTGAAGATCACCTGTAGCGGCGACCAGCTGCCCAAGTACTTCGCCGACTGGTTCCACCAGC
GGAGCGACCAGACAATCCTGCAAGTGATCTACGACGACAACAAGCGGCCAGCGGCATCCCCGA
GAGAATCAGCGGAAGCAGCAGCGGCACCACCGCCACCCTGACCATTAGAGATGTGCGGGCCGAG
GACGAGGGCGACTACTACTGCTTTAGCGGCTACGTGGACAGCGACAGCAAGCTGTACGTGTTCC
GCTCCGGTACCCAGCTGACAGTGCTG] (SEQ ID NO: 1122)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][J43 MP8-2 2005 (SEQ ID NO: 1123) 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSSGGSSGGAVGLLAPPSGRSANPRGGGSYELTQPPSASVN
VGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDV
RAEDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 1124)

J43 MP8-2 2005 氨基酸序列:

ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGAVGLLAPPSGRSANPRGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCS
GDQLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYC
FSGYVDS DSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1123)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][J43 MP8-2 2008 (SEQ ID NO: 1127) 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSISSGLLSGRSDGHGGGSYELTQPPSASVNVG
ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
EDEGDYYCFSGYVDS DSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 1128)

J43 MP8-2 2008 氨基酸序列:

ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSISSGLLSGRSDGHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGD
QLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCFS
GYVDS DSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1127)

[1119]

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)][J43 MP8-2 2008 (SEQ ID NO: 1129) 核酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGTGCCGTATTTGTCAGGATCATCCTGCGACGAAGTGGA
ATTCTGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACCA
GCACGGCGGAGGATCCTACGAGCTGACCCAGCCTCCTAGCGCCTCCGTGAATGTGGGCGAGACA
GTGAAGATCACCTGTAGCGGCGACCAGCTGCCCAAGTACTTCGCCGACTGGTTCCACCAGCGGA
GCGACCAGACAATCCTGCAAGTGATCTACGACGACAACAAGCGGCCAGCGGCATCCCCGAGAG
AATCAGCGGAAGCAGCAGCGGCACCACCGCCACCCTGACCATTAGAGATGTGCGGGCCGAGGAC
GAGGGCGACTACTACTGCTTTAGCGGCTACGTGGACAGCGACAGCAAGCTGTACGTGTTCCGGCT
CCGGTACCCAGCTGACAGTGCTG] (SEQ ID NO: 1130)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][J43 MP8-2 2012 (SEQ ID NO: 1131) 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSISSGLLSGRSANPGGGSYELTQPPSASVNVG
ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
EDEGDYYCFSGYVDS DSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 1132)

J43 MP8-2 2012 氨基酸序列:

ACRICQDHPATKWNSGGSSGGSSISSGLLSGRSANPGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITC
SGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEG
DYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1131)

[间隔区(SEQ ID NO: 918)][J43 MP8-2 2012 (SEQ ID NO: 616) 核酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGTGCCGTATTTGTCAGGATCATCCTGCGACGAAGT
GGAATTCTGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATC
CGCTAATCCCGGCGGAGGATCCTACGAGCTGACCCAGCCTCCTAGCGCCTCCGTGAATGTG
GGCGAGACAGTGAAGATCACCTGTAGCGGCGACCAGCTGCCAAGTACTTCGCCGACTGGT
TCCACCAGCGGAGCGACCAGACAATCCTGCAAGTGATCTACGACGACAACAAGCGGCCAG
CGGCATCCCCGAGAGAATCAGCGGAAGCAGCAGCGGCACCACCGCCACCCTGACCATTAGA
GATGTGCGGGCCGAGGACGAGGGCGACTACTACTGCTTTAGCGGCTACGTGGACAGCGACA
GCAAGCTGTACGTGTTCCGGCTCCGGTACCCAGCTGACAGTGCTG] (SEQ ID
NO: 1133)

[1120] [间隔区(SEQ ID NO: 362)][J43 MP8-2 2011 (SEQ ID NO: 1134) 氨基酸序列:

[QQQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSGGSSGGSSISSGLLSGRSDNPGGGSYELTQPPSASV
NVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLT
IRDVRAEDEGDYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 1135)

J43 MP8-2 2011 氨基酸序列:

ACRICQDHPATKWNSGGSSGGSSISSGLLSGRSDNPGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITC
SGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEG
DYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1134)

[间隔区(SEQ ID NO: 918)][J43 MP8-2 2011 (SEQ ID NO: 1136) 核酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGTGCCGTATTTGTCAGGATCATCCTGCGACGAAGT
GGAATTCTGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATC
CGACAATCCCGGCGGAGGATCCTACGAGCTGACCCAGCCTCCTAGCGCCTCCGTGAATGTG
GGCGAGACAGTGAAGATCACCTGTAGCGGCGACCAGCTGCCAAGTACTTCGCCGACTGGT
TCCACCAGCGGAGCGACCAGACAATCCTGCAAGTGATCTACGACGACAACAAGCGGCCAG
CGGCATCCCCGAGAG

[1121] AATCAGCGGAAGCAGCAGCGGCACCACCGCCACCCTGACCATTAGAGATGTGCGGGCCGAGGAC
GAGGGCGACTACTACTGCTTTAGCGGCTACGTGGACAGCGACAGCAAGCTGTACGTGTTCCGGCT
CCGGTACCCAGCTGACAGTGCTG] (SEQ ID NO: 1137)

[1122] 实施例17:可活化抗小鼠PD-1 J43抗体降低NOD小鼠中糖尿病的发病

[1123] 在本实施例中,分析抗PD-1 J43可活化抗体在NOD小鼠中保护免于抗PD-1诱导的

糖尿病的能力。NOD小鼠亚系NOD/ShiLtJ在8周时获自Jackson Laboratory并现场适应2周。在10周时,在登记前检查小鼠的糖尿病,分组,并如表4中所述进行给药。

[1124] 表4. 给药方案

组	计数	性别	处理	剂量 (mg/kg)	剂量体积 (mL/kg)	时间表	途径
1	7	F	mIgG2a (C1.18.4)	10	10	q7dx1	IP
2	7	F	抗-PD-1 J43 m2a	10	10	q7dx1	IP
[1125] 3	7	F	抗-PD-1 J43 m2a	3	10	q7dx1	IP
4	7	F	抗-PD-1 J43 m2a	1	10	q7dx1	IP
5	7	F	J43 MP7-1 2001 m2a	10	10	q7dx1	IP
6	7	F	J43 MP7-1 2001 m2a	3	10	q7dx1	IP
7	7	F	J43 MP8-2 2001 m2a	10	10	q7dx1	IP
8	7	F	J43 MP8-2 2001 m2a	3	10	q7dx1	IP

[1126] 图24为%无糖尿病相对于给药后天数作图,其显示随剂量增加,抗PD-1 J43抗体在NOD小鼠中以增加的频率诱导糖尿病。在给药后第14天,对于20 mg/kg、3 mg/kg和1 mg/kg剂量组的抗体治疗组中无糖尿病小鼠的百分比分别为14%、43%和71%。可活化抗体J43 MP7-1 2001 m2a和J43 MP8-2 2001 m2a需要增加的剂量以与亲本抗体相当的频率诱导糖尿病。在用J43 MP7-1 2001 m2a给药后第14天,57%的20 mg/kg组保持无糖尿病并且所有的3 mg/kg均无糖尿病。在用J43 MP8-2 2001 m2a给药后第14天,71%的20 mg/kg组和86%的3 mg/kg组保持无糖尿病。

[1127] 实施例18:掩蔽部分的效力的评估

[1128] 本实施例描述了展示结合hPD-1降低的另外的可活化抗PD-1抗体。

[1129] 使用如本文所述的技术产生包含抗PD1抗体A1.5和多种掩蔽物和底物组合的本发明的另外的可活化抗体的实例。下文提供本发明的这些可活化抗PD-1抗体可变结构域的氨基酸和核酸序列。抗体如含有单一氨基酸取代S228P (Angal, 等人.1993.Mol Immunol 30:105-8.) HC和hK LC形式的hIgG4产生。

[1130] 这些可活化抗体中的若干抗体的掩蔽效力如本文所述测定。结果显示于图25A和25B中。

[1131] 在一些实施方案中,可活化抗体还包括间隔区序列。在一些实施方案中,间隔区直接连接可活化抗体的MM。在一些实施方案中,间隔区以从N末端至C末端为间隔区-MM-CM-AB的结构排列直接连接可活化抗体的MM。在一些实施方案中,直接连接至可活化抗体的MM的N末端的间隔区选自QQQSGQG (SEQ ID NO:362)、QQQSGQ (SEQ ID NO:913)、QQQSG (SEQ ID NO:914)、QQQS (SEQ ID NO:915)、QQQ (SEQ ID NO:916)、QG (SEQ ID NO:917)和Q。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QQQSGQG (SEQ ID NO:362)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QQQSGQ (SEQ ID NO:913)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QQQSG (SEQ ID NO:914)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QQQS (SEQ ID NO:915),在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QQQ (SEQ ID NO:916)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸序列QG (SEQ ID NO:917)。在一些实施方案中,间隔区包括至少氨基酸残基Q。在一些实施方案中,可活化抗体不包括间隔区序列。间隔区的另外实例包括QQSGQG (SEQ ID NO:2042)、QSGQG (SEQ ID NO:2043)、SGQG (SEQ ID

NO:2044)、GGG (SEQ ID NO:2045)、QG (SEQ ID NO:2046) 和G。

[1132] 尽管下文显示的序列包括SEQ ID NO: 362的间隔区序列,但本领域普通技术人员理解本发明的可活化抗PD-1抗体可以包括任何合适的间隔区序列,诸如例如选自以下的间隔区序列:QQQSGQG (SEQ ID NO:362)、QQQSGQ (SEQ ID NO:913)、QQQSG (SEQ ID NO:914)、QQQS (SEQ ID NO:915)、QQQ (SEQ ID NO:916)、QG (SEQ ID NO:917)和Q。间隔区的另外实例包括GQSGQG (SEQ ID NO:2042)、QSGQG (SEQ ID NO:2043)、SGQG (SEQ ID NO:2044)、GGG (SEQ ID NO:2045)、QG (SEQ ID NO:2046) 和G。尽管下文显示的序列包括SEQ ID NO: 362的间隔区序列,但本领域普通技术人员也将理解在一些实施方案中的本发明的可活化抗PD-1抗体不包括间隔区序列。

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][PD1 1.5 PD01 2003 (SEQ ID NO: 1138) 氨基酸序列:

[QQQSGQG] [AMSGCSWSAFPCPYLAGGGSSGGSSISSGLLSGRSANPRGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD
RVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTL
TISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1139)

PD1 1.5 PD01 2003 氨基酸序列:

AMSGCSWSAFPCPYLAGGGSSGGSSISSGLLSGRSANPRGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD
RVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSMQPEDF
ATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1138)

[1133]

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)][PD1 1.5 PD001 2003 (SEQ ID NO: 1141)] 核苷酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGATGAGTGGGTGCTCGTGGTCTGCTTTTTGCCCGTATT
TGCGGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGCCAA
TCCTCGTGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTG
GGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCA
TGAAC TGGTTCCAGCAGAAGCCC GGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCA
GGGCAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATC
AGCAGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGA
CCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1142)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][PD1 1.5 PD01 2012 (SEQ ID NO: 1144) 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [AMSGCSWSAFCPYLGGGSSGGSISSGLLSGRSANPGGGSDIQLTQSPSSLSASV
GDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTI
SSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFQGQTKLEIK] (SEQ ID NO: 1143)

PD1 1.5 PD01 2012 氨基酸序列:

AMSGCSWSAFCPYLGGGSSGGSISSGLLSGRSANPGGGSDIQLTQSPSSLSASV
GDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTI
SSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFQGQTKLEIK (SEQ ID NO: 1144)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD1 1.5 PD01 2012 (SEQ ID NO: 1145)] 核苷酸序列:

[1134]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGATGAGTGGGTGCTCGTGGTCTGCTTTTTGCCCGTATT
TGGCGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGCTAA
TCCCGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1146)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][PD1 1.5 PD01 2011 (SEQ ID NO: 1148) 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [AMSGCSWSAFCPYLGGGSSGGSISSGLLSGRSDNPGGGSDIQLTQSPSSLSASV
GDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTI
SSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFQGQTKLEIK] (SEQ ID NO: 1147)

PD1 1.5 PD01 2011 氨基酸序列:

AMSGCSWSAFCPYLGGGSSGGSISSGLLSGRSDNPGGGSDIQLTQSPSSLSASV
GDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTI
SSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFQGQTKLEIK (SEQ ID NO: 1148)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD1 1.5 PD01 2011 (SEQ ID NO: 1149)] 核苷酸序列:
[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGATGAGTGGGTGCTCGTGGTCTGCTTTTTGCCCGTATT
TGGCGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCCCGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1150)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][PD1 1.5 PD34 2001 (SEQ ID NO: 1152)] 氨基酸序列:
[QGQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1151)

[1135]

PD1 1.5 PD34 2001 氨基酸序列:

TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1152)

[间隔区 (SEQ ID NO: 1125)] [PD1 1.5 PD034 2001 (SEQ ID NO: 1153)] 核苷酸序列:
[CAGGGGCAATCTGGCCAGGGG] [ACGTCTTACTGCAGTATTGAGCATTACCCCTGCAATACAC
ATCATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1154)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][PD1 1.5 PD34 1004/GG/0001 (SEQ ID NO: 1156)] 氨基酸序列:

[1136]

[QGQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGS AVGLLAPPGLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS
SLSASVGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT
DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1155)

PD1 1.5 PD34 1004/GG/0001 氨基酸序列:

TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSAVGLLAPPGGLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRV
TITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ
PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1156)

[间隔区(SEQ ID NO: 362)][PD1 1.5 PD34 2005 (SEQ ID NO: 1160) 氨基酸序列:

[QQQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSAVGLLAPPSGRSANPRGGGSDIQLTQSPSS
LSASVGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTD
FTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1159)

PD1 1.5 PD34 2005 氨基酸序列:

TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSAVGLLAPPSGRSANPRGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVT
ITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQP
EDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1160)

[1137]

[间隔区(SEQ ID NO: 362)][PD1 1.5 PD34 2010 (SEQ ID NO: 1164) 氨基酸序列:

[QQQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSISSGLLSGRSDYHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1163)

PD1 1.5 PD34 2010 氨基酸序列:

TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSISSGLLSGRSDYHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1164)

[间隔区(SEQ ID NO: 362)][PD1 1.5 PD34 2014 (SEQ ID NO: 1168) 氨基酸序列:

[QQQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSISSGLLSGRSDNIGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1167)

PD1 1.5 PD34 2014 氨基酸序列:

TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNIGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1168)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][PD1 1.5 PD34 2003 (SEQ ID NO: 1170) 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSSISSGLLSGRSANPRGGGSDIQLTQSPSSLSA
SVGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTL
TISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1171)

PD1 1.5 PD34 2003 氨基酸序列:

TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSSISSGLLSGRSANPRGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITC
RASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSMQPEDF
ATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1170)

[1138]

[间隔区 (SEQ ID NO: 1125)][PD1 1.5 PD034 2003 (SEQ ID NO: 1172)] 核苷酸序列:

[CAGGGGCAATCTGGCCAGGGG] [ACGTCTTACTGCAGTATTGAGCATTACCCCTGCAATACAC
ATCATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGCCAA
TCCTCGTGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTG
GGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCA
TGAAGTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCA
GGCAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATC
AGCAGCATGCAGCCCAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGA
CCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1173)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][PD1 1.5 PD34 2006 (SEQ ID NO: 1174) 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSSISSGLLSGRSDDHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1175)

PD1 1.5 PD34 2006 氨基酸序列:

TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSSISSGLLSGRSDDHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRTITCR
ASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQGSVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1174)

[间隔区 (SEQ ID NO: 1125)] [PD1 1.5 PD034 2006 (SEQ ID NO: 1176)] 核苷酸序列:

[CAGGGGCAATCTGGCCAGGGG] [ACGTCTTACTGCAGTATTGAGCATTACCCCTGCAATACAC
ATCATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACGA
TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1177)

[1139] [间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD1 1.5 PD34 2007 (SEQ ID NO: 1178) 氨基酸序列:

[QQQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSSISSGLLSGRSDIHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQGSVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1179)

PD1 1.5 PD34 2007 氨基酸序列:

TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSSISSGLLSGRSDIHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRTITCR
ASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQGSVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1178)

[间隔区 (SEQ ID NO: 1125)] [PD1 1.5 PD034 2007 (SEQ ID NO: 1180)] 核苷酸序列:

[CAGGGGCAATCTGGCCAGGGG] [ACGTCTTACTGCAGTATTGAGCATTACCCCTGCAATACAC
ATCATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAT
TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG

CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1181)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][PD1 1.5 PD34 2009 (SEQ ID NO: 1182) 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSISSGLLSGRSDTHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1183)

[PD1 1.5 PD34 2009 氨基酸序列:

TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSISSGLLSGRSDTHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1182)

[1140]

[间隔区 (SEQ ID NO: 1125)][PD1 1.5 PD034 2009 (SEQ ID NO: 1184)] 核苷酸序列:

[CAGGGGCAATCTGGCCAGGGG] [ACGTCTTACTGCAGTATTGAGCATTACCCCTGCAATACAC
ATCATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAC
TCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1185)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][PD1 1.5 PD34 2008 (SEQ ID NO: 1186) 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSISSGLLSGRSDQHGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1187)

PD1 1.5 PD34 2008 氨基酸序列:

TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSSISSGLLSGRSDQHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1186)

[间隔区 (SEQ ID NO: 1125)] [PD1 1.5 PD034 2008 (SEQ ID NO: 1188)] 核苷酸序列:

[CAGGGGCAATCTGGCCAGGGG] [ACGTCTTACTGCAGTATTGAGCATTACCCCTGCAATACAC
ATCATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACCA
GCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1189)

[1141] [间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD1 1.5 PD34 2012 (SEQ ID NO: 1190)] 氨基酸序列:

[QQQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSSISSGLLSGRSANPGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1191)

PD1 1.5 PD34 2012 氨基酸序列:

TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSSISSGLLSGRSANPGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1190)

[间隔区 (SEQ ID NO: 1125)] [PD1 1.5 PD034 2012 (SEQ ID NO: 1192)] 核苷酸序列:

[CAGGGGCAATCTGGCCAGGGG] [ACGTCTTACTGCAGTATTGAGCATTACCCCTGCAATACAC
ATCATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGCTAA
TCCCGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG

CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1193)

[间隔区(SEQ ID NO: 362)][PD1 1.5 PD34 2013 (SEQ ID NO: 1194) 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSSISSGLLSGRSANIGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1195)

PD1 1.5 PD34 2013 氨基酸序列:

TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSSISSGLLSGRSANIGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1194)

[1142]

[间隔区(SEQ ID NO: 1125)][PD1 1.5 PD034 2013 (SEQ ID NO: 1196)] 核苷酸序列:

[CAGGGGCAATCTGGCCAGGGG] [ACGTCTTACTGCAGTATTGAGCATTACCCCTGCAATACAC
ATCATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGCTAA
TATTGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1197)

[间隔区(SEQ ID NO: 362)][PD1 1.5 PD34 2011 (SEQ ID NO: 1198) 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNPGGGSDIQLTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT
ISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1199)

PD1 1.5 PD34 2011 氨基酸序列:

TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNPGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFA
TYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1198)

[间隔区 (SEQ ID NO: 1125)] [PD1 1.5 PD034 2011 (SEQ ID NO: 1200)] 核苷酸序列:

[CAGGGGCAATCTGGCCAGGG] [ACGTCTTACTGCAGTATTGAGCATTACCCCTGCAATACAC
ATCATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCCCGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGC
GACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGA
ACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGG
CAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC
AGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCT
TTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1201)

[1143] [间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [PD1 1.5 PD006 2003 (SEQ ID NO: 1202) 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [APRCYMFASYCKSQYGGGSSGGSSISSGLLSGRSANPRGGGSDIQLTQSPSSLSA
SVGDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTL
TISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1203)

PD1 1.5 PD006 2003 氨基酸序列:

APRCYMFASYCKSQYGGGSSGGSSISSGLLSGRSANPRGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITC
RASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDF
ATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1202)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [PD1 1.5 PD006 2003 (SEQ ID NO: 1204)] 核苷酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGCCTAGGTGCTATATGTTTGCCTCGTATTGCAAGAGTC
AGTATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGCCAA
TCCTCGTGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTG
GGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCA
TGAAGTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCA
GGGCAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATC
AGCAGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGA
CCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1205)

[1144] 实施例19:可活化抗PD1纳武单抗掩蔽部分

[1146] 本实施例描述降低抗PD-1纳武单抗抗体结合其靶标的掩蔽部分(MM)的鉴定。

[1147] 将抗PD-1纳武单抗(NV1)(参见例如US 8,008,449)用于筛选文库,其使用与公开于2010年7月15日的PCT国际公开号W0 2010/081173中所述相似的方法进行。筛选由一轮

MACS和四轮FACS分选组成。对于初始MACS,将约 6×10^{11} 个细胞与浓度为100nM的NV1抗体孵育,并且使用Protein-A Dynabeads (Life Technologies, Carlsbad, CA)收集约 3×10^7 个结合物。FACS轮次如下进行,用DyLight 650 (Thermo-Fisher)标记的NV1抗体标记细胞,并收集具有最强荧光的细胞:对于FACS第1轮(F1),20nM NV1-650收集最亮的13%,对于FACS第2轮(F2-1),2nM NV1-650收集最亮的2%,对于FACS第3轮(F3-1b),1nM NV1-650收集最亮的1%,并且对于FACS第4轮(F4-1b.1和F4-1b.2),1nM NV1-650收集两个群体:最亮的88%和最亮的1%。通过序列分析(表19)鉴定来自F4-1b.1和F4-1b.2的各个肽克隆,并将所选的肽克隆NV01-NV12随后验证其结合NV1的能力(掩蔽部分NV001本文也称为NV01和/或NV-01;掩蔽部分NV002本文也称为NV02和/或NV-02,等等)。

[1148] 表19

[1149]

掩蔽物	氨基酸序列	SEQ ID NO:
NV01	RYCHAANPDRFCGIY	1206
NV02	PRVCSTDGGDYCLLP	1207
NV03	PRPQCHHRHNCPDHP	1208
NV04	KCSRPAHQNPDRCSR	1209
NV05	ASYRCPDYKCSHTKH	1210
NV06	LPRCPDHPIKCIETK	1211

[1150]

NV07	YTFGCPDRYCDRAAT	1212
NV08	RGCPDFNPPSHCYTA	1213
NV09	RDYCGPQSPDYCHEI	1214
NV10	PNKPCPDLCYVTNY	1215
NV11	PRVACGEPDLCYSNT	1216
NV12	RGCKKHTISTLTCPD	1217
NV13	PAYRCPDRPPCKNQM	1218
NV14	NARCYPYFGDNCHMN	1220
NV15	PTLRCPDRWCYDSPR	1221
NV16	PSNLCPDKWCQTWRS	1222
NV17	TPRYCAASYCPAHGY	1223
NV18	RPGCGAVSPRCPDAP	1224
NV19	VLRCHKQNPDCNNH	1225
NV20	GVKSCREPDFCSRGS	1226
NV21	RNNLCPDYSCNNHNS	1227
NV22	RAACHRLNPDACTNG	1228
NV23	VCQSDRIPDYVTCTD	1229
NV24	RNCRIASINPDYCNI	1230
NV25	KEWRCPDYKCKPSYH	1231
NV26	NLRICHKSLCPDYIK	1232
NV27	NTHKCSNTNICPSFN	1233
NV28	STRYCQASQCQMSPY	1234
NV29	THRFCTASLCNKNTS	1235
NV30	YTLCNTRSPDWCPNK	1236
NV31	IRCTTGQSPDYCPQS	1237
NV32	RCNQPKNDQMLCNI	1238
NV33	GTCRTDHQSPDYCYY	1239
NV34	RGCFRSGDSLGMCPD	1240
NV35	SGCFDSNEHRHCSRI	1241
NV36	NRCMKLWYNPDCVAR	1242

[1151]

NV37	PLCARPHYWSPCDQS	1243
NV38	DSKCHPNSPDYCFNS	1244
NV39	NGSCRPLGGDFCGNR	1245
NV40	KTRCIEMSGDYCAKS	1246
NV41	IRPCMYNWGDLCNQF	1247
NV42	VKTCMENNPDYCYNN	1248
NV43	LRMCFEASGDYCDQQ	1249
NV44	IRKCQLDGPDQCMLT	1250
NV45	KWKCHKNNPNYCNRR	1251
NV46	RTMCLDTNPDYCQSH	1252
NV47	LAACHSMDSHRCPDY	1253
NV48	RSPCIHNATMCPDYT	1254
NV49	MPRCPDWPPRCSMVI	1255
NV50	VRQLCRLPDYCPSGK	1256
NV51	PRPPCAQSLNCPDRA	1257
NV52	SFGRCTLVRTCPDFM	1258
NV53	RDKPCPDFSCATIHY	1259
NV54	ATKPCPDRWCTMSTL	1260
NV55	SSNRCPDLRCTHHNM	1261
NV56	RGSMCPDLHCSLSHI	1262
NV57	NYQRCPDRTCMHNII	1263
NV58	QKRPCPDRKCHAHYN	1264
NV59	QNHRCPDRWCNKTTN	1265
NV60	RLNLCPDKHCHMTNL	1266
NV61	PQDRCPDKRCTNPGN	1267
NV62	SRWRCPDYKCEHGKY	1268
NV63	YENQCPDLYCNRYSM	1269
NV64	TARSCPVFNCPDNNS	1270
NV65	MDQRCPDAWCTSKPK	1271
NV66	GDLRCPDRLCPRHSL	1272

	NV67	IQYLCPDYHCKASNN	1273
	NV68	QHHRCPCDRYCNSNNN	1274
	NV69	TVALCPDYSCYHINN	1275
	NV70	SPWRCPCDRYCLSNHD	1276
	NV71	SSKRCPCDRFCNKTHA	1277
	NV72	HTDRCPCDYKCSQNHF	1278
	NV73	SRSNCTPQRCNSDYH	1279
	NV74	FAARCPDKYCAIHTN	1280
	NV75	GSARCPDLVCQQTKQ	1281
	NV76	RNLMCPDKFCNKNTK	1282
	NV77	NIRLCPDKVCTPTWV	1283
[1152]	NV78	MTDLCPDAHCAKTHM	1284
	NV79	PYSRLCAYPCPDFVG	1285
	NV80	LCGCARSPDYCKCRG	1286
	NV81	WGRCERVPDCCCPRG	1287
	NV82	TRNTCHTRICYGMAC	1288
	NV83	CVCTSCSSYWTLCPD	1289
	NV84	LCCSRGSNCPDRCTW	1290
	NV85	CCPLCQANMCPDNQS	1291
	NV86	ECKLCCPDLYCGGTM	1292
	NV87	CSNPMCAIYCCPDIL	1293
	NV88	CPRCNTYSKHDCYHQ	1294
	NV89	FCCASKMPAPSNCHT	1295

[1153] 实施例20:可活化抗PD1纳武单抗抗体

[1154] 本实施例描述本发明的可活化抗PD1纳武单抗抗体的实例。

[1155] 根据与PCT公开号W0 2009/025846和W0 2010/081173中所述的方法相似的方法产生包含抗PD1 NV1掩蔽部分、可切割部分和本发明的抗PD1 NV1抗体的可活化抗PD1 NV1抗体。本发明的一个实施方案是包含含有氨基酸序列SEQ ID NO: 1346的重链的抗PD-1可活化抗体。本发明的一个实施方案是包含含有氨基酸序列SEQ ID NO: 626的轻链的抗PD-1可活化抗体。本发明的一个实施方案是包含含有氨基酸序列SEQ ID NO: 1346的重链和含有氨基酸序列SEQ ID NO: 626的轻链的抗PD-1可活化抗体。本发明的一个实施方案是含有包含含有氨基酸序列SEQ ID NO: 1346的重链和含有氨基酸序列SEQ ID NO: 626的轻链的抗PD-1可活化抗体的CDR的抗PD-1可活化抗体。

[1156] 下文提供本发明的若干可活化抗PD1抗体可变结构域的氨基酸和核酸序列。抗体

如含有单一氨基酸取代S228P (Angal, 等人.1993.Mol Immunol 30:105-8.)HC和hK LC形式的hIgG4产生。

NV1 轻链序列:

EIVLTQSPATLSLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSG
SGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 626)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][NV1 NV01 2001 (SEQ ID NO: 1296) 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [RYCHAANPDRFCGIYGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSP
GERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELE
PEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1297)

[1157]

NV1 NV01 2001 氨基酸序列:

RYCHAANPDRFCGIYGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
SQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQ
QSSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1296)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)][NV1 NV01 2001 (SEQ ID NO: 1298)] 核苷酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CGGTATTGCCATGCTGCGAATCCTGATCGGTTTTGCGGTA
TTTATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAA

AGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCAGCCAGAGCGTGTCCAGCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGA
AGCCCGGCCAGGCTCCCCGGCTGCTGATCTACGATGCCAGCAATAGAGCCACCGGCATCCCCGC
CAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGGAACCCGAG
GACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAGCAACTGGCCCCGGACATTTGGCCAGGGCACCA
AGGTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1299)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][NV1 NV02 2001 (SEQ ID NO: 1300) 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [PRVCSTDGGDYCLLPGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSP
GERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLLE
PEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1301)

NV1 NV02 2001 氨基酸序列:

PRVCSTDGGDYCLLPGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
SQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQ
QSSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1300)

[1158]

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)][NV1 NV02 2001 (SEQ ID NO: 1302) 核苷酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CCTAGGGTTTGTCTACTGATGGTGGTATTATTGCTTGC
TTCCTGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAA
AGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCAGCCAGAGCGTGTCCAGCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGA
AGCCCGGCCAGGCTCCCCGGCTGCTGATCTACGATGCCAGCAATAGAGCCACCGGCATCCCCGC
CAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGGAACCCGAG
GACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAGCAACTGGCCCCGGACATTTGGCCAGGGCACCA
AGGTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1303)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][NV1 NV03 2001 (SEQ ID NO: 1304) 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [PRPQCHHRHNC PDHPGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSP
GERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLLE
PEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1305)

NV1 NV03 2001 氨基酸序列:

PRPQCHRRHNCPDHPGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
SQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAVYYCQ
QSSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1304)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [NV1 NV03 2001 (SEQ ID NO: 1306)] 核苷酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CCTCGTCCGCAGTGCCATCATCGGCATAATTGTCCTGATC
ATCCTGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAA
AGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCAGCCAGAGCGTGTCCAGCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGA
AGCCCGGCCAGGCTCCCCGGCTGCTGATCTACGATGCCAGCAATAGAGCCACCGGCATCCCCGC
CAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGGAACCCGAG
GACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAGCAACTGGCCCCGGACATTTGGCCAGGGCACCA
AGGTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1307)

[1159] [间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [NV1 NV04 2001 (SEQ ID NO: 1308) 氨基酸序列:

[QQQSGQG] [KCSRPAHQNPDRCSRGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSP
GERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLE
PEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1309)

NV1 NV04 2001 氨基酸序列:

KCSRPAHQNPDRCSRGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
SQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAVYYCQ
QSSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1308)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [NV1 NV04 2001 (SEQ ID NO: 1310)] 核苷酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [AAGTGCTCGCGGCTGCTCATCAGAATCCGGATCGTTGCT
CGCGAGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAA
AGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCAGCCAGAGCGTGTCCAGCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGA
AGCCCGGCCAGGCTCCCCGGCTGCTGATCTACGATGCCAGCAATAGAGCCACCGGCATCCCCGC

CAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGGAACCCGAG
GACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAGCAACTGGCCCCGGACATTTGGCCAGGGCACCA
AGGTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1311)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][NV1 NV05 2001 (SEQ ID NO: 1312) 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [ASYRCPDYKCSHTKHGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSP
GERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSE
PEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1313)

NV1 NV05 2001 氨基酸序列:

ASYRCPDYKCSHTKHGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
SQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQ
QSSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1312)

[1160]

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)][NV1 NV05 2001 (SEQ ID NO: 1314) 核苷酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCTTCGTATCGGTGCCCTGATTATAAGTGCAGTCATACTA
AGCATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAA
AGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCAGCCAGAGCGTGTCCAGCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGA
AGCCCGGCCAGGCTCCCCGGCTGCTGATCTACGATGCCAGCAATAGAGCCACCGGCATCCCCGC
CAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGGAACCCGAG
GACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAGCAACTGGCCCCGGACATTTGGCCAGGGCACCA
AGGTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1315)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][NV1 NV06 2001 (SEQ ID NO: 1316) 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [LPRCPDHPKCIETKGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSP
GERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSE
PEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1317)

NV1 NV06 2001 氨基酸序列:

LPRCPDHPIKCIETKGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
SQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQ
QSSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1316)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [NV1 NV06 2001 (SEQ ID NO: 1318)] 核苷酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [TTGCCGAGGTGCCCGGATCATCCGATTAAGTGCATTGAGA
CTAAGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAA
AGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCAGCCAGAGCGTGTCAGCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGA
AGCCCGGCCAGGCTCCCCGGCTGCTGATCTACGATGCCAGCAATAGAGCCACCGGCATCCCCGC
CAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGGAACCCGAG
GACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAGCAACTGGCCCCGGACATTTGGCCAGGGCACCA
AGGTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1319)

[1161] [间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [NV1 NV07 2001 (SEQ ID NO: 1320)] 氨基酸序列:

[QQQSGQG] [YTFGCPDRYCDRAATGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSP
GERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLE
PEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1321)

NV1 NV07 2001 氨基酸序列:

YTFGCPDRYCDRAATGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
SQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQ
QSSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1320)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [NV1 NV07 2001 (SEQ ID NO: 1322)] 核苷酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [TATACGTTTGGTTGCCCTGATAGGTATTGCCGATCGTGCGG
CGACGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAA
AGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCAGCCAGAGCGTGTCAGCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGA
AGCCCGGCCAGGCTCCCCGGCTGCTGATCTACGATGCCAGCAATAGAGCCACCGGCATCCCCGC

CAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGGAACCCGAG
GACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAGCAACTGGCCCCGGACATTTGGCCAGGGCACCA
AGGTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1323)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][NV1 NV08 2001 (SEQ ID NO: 1324) 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [RGCPDFNPPSHCYTAGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSP
GERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSE
PEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1325)

NV1 NV08 2001 氨基酸序列:

RGCPDFNPPSHCYTAGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
SQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQ
QSSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1324)

[1162]

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)][NV1 NV08 2001 (SEQ ID NO: 1326)] 核苷酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CGTGGTTGTCCGGATTTTAATCCTCCTTCTCATTGCTATA
CTGCTGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAA
AGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCAGCCAGAGCGTGTCCAGCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGA
AGCCCGCCAGGCTCCCCGGCTGCTGATCTACGATGCCAGCAATAGAGCCACCGGCATCCCCGC
CAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGGAACCCGAG
GACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAGCAACTGGCCCCGGACATTTGGCCAGGGCACCA
AGGTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1327)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][NV1 NV09 2001 (SEQ ID NO: 1328) 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [RDYCGPQSPDYCHEIGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSP
GERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSE
PEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1329)

NV1 NV09 2001 氨基酸序列:

RDYCGPQSPDYCHEIGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
SQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQ
QSSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1328)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [NV1 NV09 2001 (SEQ ID NO: 1330)] 核苷酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [AGGGATTATTGCGGGCCTCAGAGTCCTGATTATTGCCATG
AGATTGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAA
AGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCAGCCAGAGCGTGTCCAGCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGA
AGCCCGGCCAGGCTCCCCGGCTGCTGATCTACGATGCCAGCAATAGAGCCACCGGCATCCCCGC
CAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGGAACCCGAG
GACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAGCAACTGGCCCCGGACATTTGGCCAGGGCACCA
AGGTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1331)

[1163] [间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [NV1 NV10 2001 (SEQ ID NO: 1332)] 氨基酸序列:

[QQQSGQG] [PNKPCPDLCYVTNYGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSP
GERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLE
PEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1333)

NV1 NV10 2001 氨基酸序列:

PNKPCPDLCYVTNYGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
SQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQ
QSSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1332)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [NV1 NV10 2001 (SEQ ID NO: 1334)] 核苷酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CCGAATAAGCCTTGCCCGGATCTGCAGTGCTATGTGACGA
ATTATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAA
AGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCAGCCAGAGCGTGTCCAGCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGA
AGCCCGGCCAGGCTCCCCGGCTGCTGATCTACGATGCCAGCAATAGAGCCACCGGCATCCCCGC

CAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGGAACCCGAG
GACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAGCAACTGGCCCCGGACATTTGGCCAGGGCACCA
AGGTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1335)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][NV1 NV11 2001 (SEQ ID NO: 1336) 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [PRVACGEPDLCYSNTGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSP
GERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSE
PEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1337)

NV1 NV11 2001 氨基酸序列:

PRVACGEPDLCYSNTGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
SQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQ
QSSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1336)

[1164]

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)][NV1 NV11 2001 (SEQ ID NO: 1338) 核苷酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CCGCGGGTTGCTTGCGGTGAGCCTGATCTTTGCTATTCTA
ATACTGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAA
AGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCAGCCAGAGCGTGTCCAGCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGA
AGCCCGGCCAGGCTCCCCGGCTGCTGATCTACGATGCCAGCAATAGAGCCACCGGCATCCCCGC
CAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGGAACCCGAG
GACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAGCAACTGGCCCCGGACATTTGGCCAGGGCACCA
AGGTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1339)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][NV1 NV12 2001 (SEQ ID NO: 1340) 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [RGCKKHTISTLTCPDGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSP
GERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSE
PEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1341)

NV1 NV12 2001 氨基酸序列:

RGCKKHTISTLTCPDGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
SQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRTGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQ
QSSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1340)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)] [NV1 NV12 2001 (SEQ ID NO: 1342)] 核苷酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CGGGGGTGCAAGAAGCATACTATTTTCGACGCTTACGTGCC
CTGATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAA
AGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCAGCCAGAGCGTGTCCAGCTACCTGGCCTGGTATCAGCAGA
AGCCCGGCCAGGCTCCCCGGCTGCTGATCTACGATGCCAGCAATAGAGCCACCGGCATCCCCGC
CAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGGAACCCGAG
GACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAGCAACTGGCCCCGGACATTTGCCAGGGCACCA
AGGTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1343)

[1165]

人κ恒定

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 1344)

人κ恒定

CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA
CTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGT
GGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGC
ACCTACAGCCTCAGCAGACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACG
CCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTG
T (SEQ ID NO: 1345)

NV1 HC 可变

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWIYDGSKRYYADSV
KGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID
NO: 1346)

NV1 HC 可变

CAGGTGCAGCTGGTGGAAATCTGGCGGCGGAGTGGTGCAGCCTGGCAGAAGCCTGAGACTGGACT
 GCAAGGCCAGCGGCATCACCTTCAGCAACAGCGGCATGCACTGGGTGCGCCAGGCCCTGGAAA
 AGGCCTGGAATGGGTGGCCGTGATTTGGTACGACGGCAGCAAGCGGTACTACGCCGACAGCGTG
 AAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAATACCCTGTTCTGCAGATGAACAGCC
 TGGCGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCACCAACGACGACTATTGGGGCCAGGGCAC
 ACTCGTGACCGTGTCTCT (SEQ ID NO: 1347)

hIgG4 S228P 恒定

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYS
 LSSVVTVPSSSLGTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPK
 DTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
 WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
 IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
 LSLSLGK (SEQ ID NO: 1348)

[1166]

hIgG4 S228P 恒定

GCTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTGTAGCAGAAGCACCAGCGAGTCTA
 CAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAATC
 AGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCC
 CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCACCAAGACCTACACCTGTAACGTGG
 ACCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGCGGGTGGAAATCTAAGTACGGCCCTCCCTGCCC
 TCCTTGCCCAGCCCCTGAATTTCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCTTCCCCCAAACCCAAG
 GACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAG
 ACCCTGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCC
 GCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTTCAGCGTCTCACCCTGCACCAGGAC
 TGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGGCCTGCCAGCTCCATCGAGA
 AAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCA
 GGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGAC
 ATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGC
 TGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTTCTTACAGCAGACTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGA
 AGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC
 CTCTCCCTGTCTCTGGGTAAA (SEQ ID NO: 1349)

[1167]

[1168] 实施例21:可活化抗PD1 NV1抗体的表征

[1169] 本实施例描述了结合hPD1降低的可活化抗PD1 NV1抗体。

[1170] 通过标准板ELISA评估掩蔽效力。简言之,将人PD1-Fc (R and D systems, Minneapolis, MN) 吸附至96孔ELISA板的孔。将经纯化的NV1和可活化NV1抗体以系列稀释施加至板并允许结合。用抗hu Fab-HRP缀合物 (Sigma, St Louis, MO) 检测结合的抗体和

可活化抗体并用发色底物TMB (Thermo Scientific, Rockford, IL) 显现。在Prizm (Sigma Plot) 中作图。如图26中所示, 相比于亲本NV1, 所有可活化NV1抗体显示降低的结合。

[1171] 实施例22: 可活化抗PD1派姆单抗掩蔽部分

[1172] 本实施例描述降低抗PD-1派姆单抗抗体结合其靶标的掩蔽部分(MM)的鉴定。

[1173] 将抗PD-1派姆单抗(PM1) (参见例如US 8,354,509) 用于筛选文库, 其使用与公开于2010年7月15日的PCT国际公开号WO 2010/081173中所述相似的方法进行。筛选由一轮MACS和三轮FACS分选组成。对于初始MACS, 将约 1.6×10^{12} 个细胞与浓度为200nM的PM1抗体孵育, 并且使用Protein-A Dynabeads (Life Technologies, Carlsbad, CA) 收集约 8×10^6 个结合物。FACS轮次如下进行, 用DyLight 650 (Thermo-Fisher) 标记的PM1抗体标记细胞, 并收集具有最强荧光的细胞: 对于FACS第1轮, 100nM PM1-650收集最亮的10% (对于F1, 5.6×10^5), 对于FACS第2轮, 10nM PM1-650收集最亮的1.5% (对于F2, 1.4×10^4), 对于FACS第3轮, 1nM PM1-650收集高于背景的所有结合物(4,000) 和最高的0.2% (820) (F3)。通过序列分析(表20) 鉴定来自两个F3群体的各个肽克隆, 并将所选的肽克隆PM01-PM12随后验证其结合PM1的能力(掩蔽部分PM001本文也称为PM01和/或PM-01; 掩蔽部分PM002本文也称为PM02和/或PM-02, 等等)。

[1174] 表20

[1175]

掩蔽物	氨基酸序列	SEQ ID NO:
PM01	GCDFTSAKHNCGSW	1351
PM02	VGSNCWTGPACALTS	1352
PM03	FCAVMFDLSDRCLH	1353
PM04	FCPPWLDYLGKNCMT	1354
PM05	MSCWDFSSAQGCGQH	1355
PM06	LMCADLHYNHYNCKY	1356
PM07	ELCGWQSFSGVCTSE	1357
PM08	WTYENCWASCQPHLE	1358
PM09	KLTEDFSSAA	1359
PM10	VGQSCFSGLVCDRQL	1360
PM11	ISHYCFSGKSCRD	1361
PM12	HCIPDFTSAAGDCMR	1362
PM13	RLVSAYSFS	1363
PM14	KFHSHPLVHDFTSA	1364
PM15	ASYPDFSSANGVGLR	1365
PM16	GLATTLSNVDFTSAG	1366
PM17	DFTSANSASFSGDAST	1367
PM18	GRLPGHSVVDFTSAW	1368
PM19	SGSFYSSSAFDFTSA	1369
PM20	CDDFTSAQHSRINEC	1370
PM21	CDFTSAQGKKCRTAL	1371
PM22	YYIDKYQSPSYGPVL	1372
PM23	FSVARARSSADFTSS	1373
PM24	DSDFTSAGSADSRSR	1374
PM25	CDFTSATSISKRCDH	1375

[1176]

PM26	IESSASSWGLQASRN	1376
PM27	PRYHNLNFTTPALSPGS	1377
PM28	DLFARFPLDRDFTSA	1378
PM29	HCNFTTPPYCSSTLW	1379
PM30	NVPIILLTDRQLLSG	1380
PM31	NPTACDFTSSMATYC	1381
PM32	FVRTVRFNSNSMFSVP	1382
PM33	YDFSSASNSSPSRQT	1383
PM34	AHPDFSSAMRGNLLG	1384
PM35	SSHVVHKDFTSANSR	1385
PM36	CPDFTSANGGGCWQM	1386
PM37	SLGQSYPTDFTCPGC	1387
PM38	ASMRSHEQRDFTSAY	1388
PM39	SCQFWFTLCSGGVFH	1389
PM40	PYPNNRTGMHDFTSA	1390
PM41	KFPIDFTSAGTSGT	1391
PM42	SIKSFIPRDDFTSAA	1392
PM43	GIKNPATPFVDFTSA	1393
PM44	LSHTYPRGSSTIEAS	1394
PM45	PSLDFSSAT	1395
PM46	AFTPRIAPTFDVMKE	1396
PM47	LCGLQIPDCERS	1397
PM48	AAKMVSHSERDFTSA	1398
PM49	VSVECFSGMQCPHY	1399
PM50	ASKCRLPCMASTQIY	1400
PM51	GLRSCNIYFSIPCTY	1401
PM52	RGTS DGTL DFTTARS	1402
PM53	SMYPSASRLLHPQYP	1403
PM54	HCISCYDFTSAAGSF	1404
PM55	SSGRWGDAWACARIC	1405

[1177]

PM56	RVFSDFTSASHSFGG	1406
PM57	TDRHSASGRDFTSAH	1407
PM58	AHCEDFSSAERIATMGC	1408
PM59	ACDPYSFSIPCDDRL	1409
PM60	NSPFTLSHIYDR	1410
PM61	IGTNFTTPSAFVAFP	1411
PM62	RDAFPIYRNADFSTP	1412
PM63	SIPNASSYNFTSSSG	1413
PM64	AGIPDKRHTYDFTSA	1414
PM65	WPLAHSRDWNFTTP	1415
PM66	RHSPSSGHVDFTSAG	1416
PM67	SCFAWTDPVWNRCSW	1417
PM68	MPCDWTGPGKIWCGG	1418
PM69	RDCDFSTANFRSCNK	1419
PM70	LSCVVSPNYLHCNDH	1420
PM71	FVCGLYSFGVCQGV	1421
PM72	IGLMCFSGLQCPMLA	1422
PM73	PGMNCFSGEICQMST	1423
PM74	GDVGSCWASGLQGG	1424
PM75	SQFQDCWASCGASFT	1425
PM76	VGSLNCWYSCGDIWL	1426
PM77	MCESWLNFLGDQCGM	1427
PM78	RCMISQSSFSGMCGM	1428
PM79	NCAPWTSNMSNHCLK	1429
PM80	LCGVGSATGLELCGV	1430
PM81	GCDFSSLGGRQPCTP	1431
PM82	MGCNFTTYPYHTCNT	1432
PM83	GSCDFTSGAGKKCGS	1433
PM84	VSCDFTSSHARMCSR	1434
PM85	MRCTDFYYNHTNCIG	1435

[1178]

PM86	RSCDFTSAANKYCAT	1436
PM87	LYCDSFSVPRPNCAP	1437
PM88	NSCDFTSARVSKCST	1438
PM89	STCSDNFTTPMPCNT	1439
PM90	DICNDRPNLTHCHYF	1440
PM91	LRCDDFTSAIGCRGY	1441
PM92	EGCDFTSALHSCNNY	1442
PM93	RKGC GDFTSASC FVV	1443
PM94	GMLCAGSSFGLCESM	1444
PM95	RESCFGSSLGLCTNK	1445
PM96	ILRCYDIPTNCMNFN	1446
PM97	NSECTFGAMYCRNKP	1447
PM98	ASGCFDEDIRCSGGA	1448
PM99	HYFCNQSNPSCQTAP	1449
PM100	AMGCELGGAGCIGSP	1450
PM101	TLKCHMPRKL CANDP	1451
PM102	RPACRDLPHNCITST	1452
PM103	QMSCHGNFTTCHSNP	1453
PM104	LTGCARGARPCRLRV	1454
PM105	WSELCLAGPSCGWVG	1455
PM106	VTKSCWQLPHCITAP	1456
PM107	KAASCPHNQICNMTA	1457
PM108	VSKNCFSGMMCPVFA	1458
PM109	NRSSCW TGPTCHVLH	1459
PM110	ARTGCSGPVCLNDVS	1460
PM111	STRTCLAFTCINGNT	1461
PM112	MLDGNCWYACSYKNT	1462
PM113	FSRSDCWSACAPWRV	1463
PM114	GGRMDCWASCQPLSR	1464
PM115	NSPHSCMTNCDFTSA	1465

[1179] 实施例23:可活化抗PD1派姆单抗抗体

[1180] 本实施例描述本发明的可活化抗PD1派姆单抗抗体的实例。

[1181] 根据与PCT公开号W0 2009/025846和W0 2010/081173中所述的方法相似的方法产生包含抗PD1 PM1掩蔽部分、可切割部分和本发明的抗PD1 PM1抗体的可活化抗PD1 PM1抗体。本发明的一个实施方案是包含含有氨基酸序列SEQ ID NO: 1514的重链的抗PD-1可活化抗体。本发明的一个实施方案是包含含有氨基酸序列SEQ ID NO: 638的轻链的抗PD-1可

活化抗体。本发明的一个实施方案是包含含有氨基酸序列SEQ ID NO: 1514的重链和含有氨基酸序列SEQ ID NO: 638的轻链的抗PD-1可活化抗体。本发明的一个实施方案是含有包含含有氨基酸序列SEQ ID NO: 1514的重链和含有氨基酸序列SEQ ID NO: 638的轻链的抗PD-1可活化抗体的CDR的抗PD-1可活化抗体。

[1182] 下文提供本发明的若干可活化抗PD1抗体可变结构域的氨基酸和核酸序列。抗体如含有单一氨基酸取代S228P (Angal, 等人.1993.Mol Immunol 30:105-8.)HC和hK LC形式的hIgG4产生。

PM1 轻链氨基酸序列:

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESGVPA
RFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSDLPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 638)

[1183]

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][PM1 PM01 2001 (SEQ ID NO: 1466)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [CDFTSAKHNCGSGWGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGER
ATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESGVPARFSGSGSGTDFTLTISSE
LEPEDFAVYYCQHSDLPLTFGGGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1467)

PM1 PM01 2001 氨基酸序列:

CDFTSAKHNCGSWGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKG
VSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLAstyleSGVparfsgsgsgtdftltisslep EDFAVYYC
QHSRDLPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1466)

[间隔区 (SEQ ID NO: 1126)][PM1 PM01 2001 (SEQ ID NO: 1468)] 核苷酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGA] [TGCgattttacttctgccaagcacaattgCGGCTCTGGCT
GGGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGG
ATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAAAGAGCCACC
CTGAGCTGTAGAGCCTCTAAGGGCGTGTCCACCAGCGGCTACAGCTACCTGCACTGGTATCAGC
AGAAGCCCGGCCAGGCCCCAGACTGCTGATCTACCTGGCCTCCTACCTGGAAAGCGGCGTGCC
CGCCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGCCTGGAACCC
GAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCACAGCAGGGACCTGCCCTGACATTTGGCGGAGGCA
CCAAGGTGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1469)

[1184] [间隔区 (SEQ ID NO: 362)][PM1 PM02 2001 (SEQ ID NO: 1470)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [VGSNCWTGPACALTSgggSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSP
GERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLAstyleSGVparfsgsgsgtdftlti
SSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1471)

PM1 PM02 2001 氨基酸序列:

VGSNCWTGPACALTSgggSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
SKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLAstyleSGVparfsgsgsgtdftltisslep EDFAV
YYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1470)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)][PM1 PM02 2001 (SEQ ID NO: 1472)] 核苷酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GTTGGGTGCAATTGCTGGACGGGGCCGGCGTGCGCTTTGA
CGTCGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAA
AGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCTCTAAGGGCGTGTCCACCAGCGGCTACAGCTACCTGCACT
GGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCAGACTGCTGATCTACCTGGCCTCCTACCTGGAAAG

CGGCGTGCCCGCCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGC
CTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCACAGCAGGGACCTGCCCTGACATTTG
GCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1473)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][PM1 PM03 2001 (SEQ ID NO: 1474)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [FCAVMFDLSDRCLHGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSP
GERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESVGFARFSGSGSGTDFTLTI
SSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1475)

PM1 PM03 2001 氨基酸序列:

FCAVMFDLSDRCLHGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
SKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESVGFARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAV
YYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1474)

[1185]

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)][PM1 PM03 2001 (SEQ ID NO: 1476)] 核苷酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [TTTTGCGCTGTGATGTTTGTATTTCTGTCTGATCGGTGCC
TGCATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAA
AGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCTCTAAGGGCGTGTCCACCAGCGGCTACAGCTACCTGCACT
GGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCCAGACTGCTGATCTACCTGGCCTCCTACCTGGAAAG
CGGCGTGCCCGCCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGC
CTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCACAGCAGGGACCTGCCCTGACATTTG
GCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1477)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][PM1 PM04 2001 (SEQ ID NO: 1478)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [FCPPWLDYLGKNCMTGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSP
GERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESVGFARFSGSGSGTDFTLTI
SSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1479)

PM1 PM04 2001 氨基酸序列:

FCPPWLDYLGKNCMTGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
SKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLA SYLESGV PARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAV
YYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1478)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)][PM1 PM04 2001 (SEQ ID NO: 1480)] 核苷酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [TTTTGCCCGCCGTGGTTGGATTATTTGGGTAATAAGTGCA
TGACGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAA
AGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCTCTAAGGGCGTGTCCACCAGCGGCTACAGCTACCTGCACT
GGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCAGACTGCTGATCTACCTGGCCTCCTACCTGGAAAG
CGGCGTGCCCGCCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGC
CTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCACAGCAGGGACCTGCCCTGACATTTG
GCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1481)

[1186] [间隔区 (SEQ ID NO: 362)][PM1 PM05 2001 (SEQ ID NO: 1482)] 氨基酸序列:

[QQQSGQG] [MSCWDFSSAQGCGQHGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSP
GERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLA SYLESGV PARFSGSGSGTDFTLTI
SSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1483)

PM1 PM05 2001 氨基酸序列:

MSCWDFSSAQGCGQHGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
SKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLA SYLESGV PARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAV
YYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1482)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)][PM1 PM05 2001 (SEQ ID NO: 1484)] 核苷酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [ATGTCTTGCTGGGATTTTCTTCCGGCTCAGGGGTGCGGTC
AGCATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAA
AGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCTCTAAGGGCGTGTCCACCAGCGGCTACAGCTACCTGCACT
GGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCAGACTGCTGATCTACCTGGCCTCCTACCTGGAAAG

CGGCGTGCCCGCCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGC
CTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCACAGCAGGGACCTGCCCTGACATTTG
GCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1485)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][PM1 PM06 2001 (SEQ ID NO: 1486)] 氨基酸序列:

[QQQSGQG] [LMCADLHYNHYNCKYGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSP
GERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLA SYLESGV PARFSGSGSGTDFTLTI
SSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1487)

PM1 PM06 2001 氨基酸序列:

LMCADLHYNHYNCKYGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRA
SKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLA SYLESGV PARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAV
YYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1486)

[1187]

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)][PM1 PM06 2001 (SEQ ID NO: 1488)] 核苷酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [TTGATGTGCGCTGATTTGCATTATAATCATTATAATTGCA
AGTATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAA
AGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCTCTAAGGGCGTGTCCACCAGCGGCTACAGCTACCTGCACT
GGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCAGACTGCTGATCTACCTGGCCTCCTACCTGGAAAG
CGGCGTGCCCGCCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGC
CTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCACAGCAGGGACCTGCCCTGACATTTG
GCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1489)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][PM1 PM07 2001 (SEQ ID NO: 1490)] 氨基酸序列:

[QQQSGQG] [ELCGWQSFSGVCTSEGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSP
GERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLA SYLESGV PARFSGSGSGTDFTLTI
SSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1491)

PM1 PM07 2001 氨基酸序列:

ELCGWQSFSGVCTSEGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
SKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESVGPARGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAV
YYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1490)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)][PM1 PM07 2001 (SEQ ID NO: 1492)] 核苷酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GAGTTGTGCGGTTGGCAGAGTTTTTCGGGGGTTTGCAC
GTGAGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAA
AGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCTCTAAGGGCGTGTCCACCAGCGGCTACAGCTACCTGCACT
GGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCAGACTGCTGATCTACCTGGCCTCCTACCTGGAAAG
CGGCGTGCCCCCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACTTACCCTGACAATCAGCAGC
CTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCACAGCAGGGACCTGCCCTGACATTTG
GCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1493)

[1188] [间隔区 (SEQ ID NO: 362)][PM1 PM08 2001 (SEQ ID NO: 1494)] 氨基酸序列:

[QQQSGQG] [WTYENCWASCQPHLEGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSP
GERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESVGPARGSGSGTDFTLTI
SSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1495)

PM1 PM08 2001 氨基酸序列:

WTYENCWASCQPHLEGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
SKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESVGPARGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAV
YYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1494)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)][PM1 PM08 2001 (SEQ ID NO: 1496)] 核苷酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [TGGACTTATGAGAATTGCTGGGCTTCGTGCCAGCCTCATT
TGGAGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAA
AGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCTCTAAGGGCGTGTCCACCAGCGGCTACAGCTACCTGCACT
GGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCAGACTGCTGATCTACCTGGCCTCCTACCTGGAAAG

CGGCGTGCCCCGCCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGC
CTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCACAGCAGGGACCTGCCCTGACATTTG
GCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1497)

[间隔区 (SEQ ID NO: 913)][PM1 PM09 2001 (SEQ ID NO: 1498)] 氨基酸序列:

[QGQSGQ] [KLTEDFSSAAGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSC
RASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLA SYLESGV PARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDF
AVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1499)

PM1 PM09 2001 氨基酸序列:

KLTEDFSSAAGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTS
GYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLA SYLESGV PARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSR
DLPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1498)

[1189]

[间隔区 (SEQ ID NO: 1518)][PM1 PM09 2001 (SEQ ID NO: 1500)] 核苷酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAA] [AAGCTTACTGAGGATTTTCTAGCGCAGCAGGCTCGAGCGGCG
GCTCTATCTCTTCCGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGGATCCGAGATCGTGCT
GACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAAAGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCC
TCTAAGGGCGTGTCACCAGCGGCTACAGCTACCTGCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGG
CCCCAGACTGCTGATCTACCTGGCCTCCTACCTGGAAAGCGGCGTGCCCGCCAGATTTTCTGG
CTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGCCTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTG
TACTACTGCCAGCACAGCAGGGACCTGCCCTGACATTTGGCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCA
AG] (SEQ ID NO: 1501)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][PM1 PM10 2001 (SEQ ID NO: 1502)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [VGQSCFSGLVCDRLGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSP
GERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLA SYLESGV PARFSGSGSGTDFTLTI
SSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1503)

PM1 PM10 2001 氨基酸序列:

VGQSCFSGLVCDRQLGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
SKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLA SYLESGVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAV
YYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1502)

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)][PM1 PM10 2001 (SEQ ID NO: 1504)] 核苷酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GTGGGCAGAGTTGCTTTTCTGGGCTGGTTTGCATAGGC
AGCTGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAA
AGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCTCTAAGGGCGTGTCCACCAGCGGCTACAGCTACCTGCACT
GGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCAGACTGCTGATCTACCTGGCCTCCTACCTGGAAAG
CGGCGTGCCCGCCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGC
CTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCACAGCAGGGACCTGCCCTGACATTTG
GCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1505)

[1190] [间隔区 (SEQ ID NO: 913)][PM1 PM11 2001 (SEQ ID NO: 1506)] 氨基酸序列:

[QQQSGQ] [ISHYCFSGKSCRDGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERAT
LSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLA SYLESGVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEP
EDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1507)

PM1 PM11 2001 氨基酸序列:

ISHYCFSGKSCRDGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGV
STSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLA SYLESGVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQ
HSRDLPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1506)

[间隔区 (SEQ ID NO: 1518)][PM1 PM11 2001 (SEQ ID NO: 1508)] 核苷酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAA] [ATCTCTCACTATTGTTTCAGTGGCAAATCCTGCAGGGACGGCT
CGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGGATCCGA
GATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAAAGAGCCACCCTGAGC
TG TAGAGCCTCTAAGGGCGTGTCCACCAGCGGCTACAGCTACCTGCACTGGTATCAGCAGAAGC
CCGGCCAGGCCCCAGACTGCTGATCTACCTGGCCTCCTACCTGGAAAGCGGCGTGCCCGCCAG

ATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGCCTGGAACCCGAGGAC
TTCGCCGTGTACTACTGCCAGCACAGCAGGGACCTGCCCTGACATTTGGCGGAGGCACCAAGG
TGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1509)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)][PM1 PM12 2001 (SEQ ID NO: 1510)] 氨基酸序列:

[QQQSGQG] [HCIPDFTSAAGDCMRGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSP
GERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESVGPARGSGSGTDFTLTI
SSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1511)

PM1 PM12 2001 氨基酸序列:

HCIPDFTSAAGDCMRGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA
SKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESVGPARGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAV
YYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1510)

[1191]

[间隔区 (SEQ ID NO: 918)][PM1 PM12 2001 (SEQ ID NO: 1512)] 核苷酸序列:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CATTGCATTCCTGATTTTACTTCTGCTGCTGGTGATTGCA
TGAGGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAA
TCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAA
AGAGCCACCCCTGAGCTGTAGAGCCTCTAAGGGCGTGTCCACCAGCGGCTACAGCTACCTGCACT
GGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCAGACTGCTGATCTACCTGGCCTCCTACCTGGAAAG
CGGCGTGCCCGCCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGC
CTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCACAGCAGGGACCTGCCCTGACATTTG
CGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1513)

PM1 HC 可变

QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYYMYWVRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTNFNEKF
KNRVTLTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFYWGQTTVTVSS (SEQ ID
NO: 1514)

PM1 HC 可变

[1192]

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGTGGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGCCT
GCAAGGCCAGCGCTACACCTTTACCAACTACTACATGTACTGGGTGCGCCAGGCCCCAGGCCA
GGGACTGGAATGGATGGGCGGCATCAACCCAGCAACGGCGGCACCAACTTCAACGAGAAGTTC
AAGAACAGAGTGACCCTGACCACCGACAGCAGCACCACCACCGCCTACATGGAAGTGAAGTCCC
TGCAGTTCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGACGGGACTACAGATTCGACATGGGCTT
CGACTACTGGGGCCAGGGCACAACCGTGACCGTGTCTAGT (SEQ ID NO: 1515)

[1193] 实施例24:可活化抗PD1 PM1抗体的表征

[1194] 本实施例描述了结合hPD1降低的可活化抗PD1 PM1抗体。

[1195] 通过标准板ELISA评估掩蔽效力。简言之,将人PD1-Fc (R and D systems,

Minneapolis, MN) 吸附至96孔ELISA板的孔。将经纯化的PM1和可活化PM1抗体以系列稀释施加至板并允许结合。用抗hu Fab-HRP缀合物 (Sigma, St Louis, MO) 检测结合的抗体和可活化抗体并用发色底物TMB (Thermo Scientific, Rockford, IL) 显现。在Prizm (Sigma Plot) 中作图。如图27A、27B和27C中所示, 相比于亲本PM1, 所有可活化PM1抗体显示降低的结合。

[1196] 实施例25: 本发明的抗PD-1可活化抗体的表征

[1197] 评价对于A1.5 (PD)、NV1 (NV) 和PM1 (PM) 抗体鉴定的本发明的若干掩蔽部分的结合特性。将来自每一掩蔽物发现工作的八肽克隆在37°C、850rpm下在2mL深孔板中在LB + 氯霉素 + 0.2%葡萄糖中生长过夜, 在LB + 氯霉素中1:20稀释, 并在37°C、850rpm下生长105分钟。通过添加0.04%阿拉伯糖持续35分钟诱导肽表达, 并将克隆用冰冷PBS + 0.5% BSA中的1nM A1.5-DyLight 650、1nM PM1-DyLight 650和1nM NV1-DyLight 650染色。将克隆沉淀, 去除染色溶液, 并将细胞重悬于PBS + 1%甲醛。在Miltenyi Biotec, Inc. (San Diego, CA) 制造的MACSQuant Analyzer 10流式细胞仪上测量荧光。如图28中所示, 掩蔽部分结合文库筛选中所用的抗PD1抗体, 从所述文库筛选将其鉴定。

[1198] 实施例26: 通过效应子阴性可活化抗体评估掩蔽部分结合

[1199] 本实施例描述了展示结合小鼠PD-1降低的另外的可活化抗PD-1 J43抗体。

[1200] 使用如本文所述的技术产生包含IgG2a效应子阴性 (EN) 抗PD1抗体J43 (J43 m2a EN) 和多种掩蔽物和底物组合的本发明的另外的可活化抗体的实例。下文提供IgG2a EN抗体的恒定区的氨基酸和核酸序列。编码该效应子阴性Fc区的质粒pFUSE-mIgG2Ae1-Fc可获自InvivoGen, San Diego, CA。通过突变以下氨基酸将mIgG2a的Fc区工程化以降低与FcR和C1q的结合: L235E和E318A/K320A/K322A。

> mIgG2a EN

```
AKTTAPSVYPLAPVCGDITGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTL
SSSVTVTSSTWPSQSIITCNVAHPASSTKVDKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLEGGPSVFI FPP
KIKDVLMIISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQ
HQDWMSGKAFACAVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFM
PEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGYSFYMSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHT
TKSFSRTPGK (SEQ ID NO: 1516)
```

[1201]

> mIgG2a EN

```
GCCAAGACAACAGCCCCAGCGTGTACCCTCTGGCCCCCTGTGTGTGGCGATAACCACAGGCAGCT
CTGTGACCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGGCTACTTCCCTGAGCCAGTGACCCTGACCTGGAACAG
CGGCTCTCTGTCTAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCGACCTGTACACCCTG
AGCAGCAGCGTGACCCTGACCAGCAGCACATGGCCCAGCCAGAGCATCACCTGTAACGTGGCCC
ACCCTGCCAGCTCCACCAAGGTGGACAAGAAGATCGAGCCCAGAGGCCCCACCATCAAGCCTTG
CCCCCCTTGCAAATGCCCTGCCCCCAATCTGGAAGGCGGCCCTAGCGTGTTCATCTTCCCACCC
AAGATCAAGGACGTGCTGATGATCAGCCTGAGCCCCATCGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGT
```

[1202] CCGAGGACGACCCCGATGTGCAGATCAGTTGGTTCGTGAACAACGTGGAAGTGCACACCGCCCA
 GACCCAGACACACAGAGAGGACTACAACAGCACCCCTGAGAGTGGTGTCCGCCCTGCCCATCCAG
 CACCAGGATTGGATGAGCGGCAAGGCCCTTCGCCTGCGCTGTGAACAACAAGGACCTGCCAGCCC
 CCATCGAGCGGACCATCTCTAAGCCTAAGGGCAGCGTGC GGGCTCCCCAGGTGTACGTGCTGCC
 TCCTCCAGAGGAAGAGATGACCAAGAAACAAGTGACACTGACATGCATGGTCACCGACTTCATG
 CCCGAGGACATCTACGTGGAATGGACCAACAACGGCAAGACCGAGCTGAACTACAAGAACACCG
 AGCCCGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTACTTCATGTACAGCAAGCTGCGGGTGGAAAAGAAAA
 CTGGGTGGAACGGAACAGCTACAGCTGCAGCGTGGTGCACGAGGGCCTGCACAATCACCACACC
 ACCAAGAGCTTCAGCCGGACCCCTGGAAAA (SEQ ID NO: 1517)

[1203] 这些可活化抗体中的若干抗体的掩蔽效力如本文所述测定。结果显示于图29A和
 29B中。

J43m2a EN 可活化抗体LC:

[间隔区(SEQ ID NO: 362)] [J43m2a EN MP8-2 2001 (SEQ ID NO: 1808)] 氨基酸序列:

[1204] [QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVG
 ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
 EDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDF
 YPGSATVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEK
 SLSPAEL] (SEQ ID NO: 1809)

J43m2a EN MP8-2 2001 氨基酸序列:

ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGD
 QLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCFS
 GYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDFYPGSATVTWK
 ANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEKSLSPAEL
 (SEQ ID NO: 1808)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43m2a EN MP8-2 2011 (SEQ ID NO: 1810)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNPGGGSYELTQPPSASVNVG
ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
EDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDF
YPGSATVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEK
SLSPAACL] (SEQ ID NO: 1811)

J43m2a EN MP8-2 2011 氨基酸序列:

ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNPGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGD
QLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCF
SYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDFYPGSATVTWK
ANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEKSLSPAACL
(SEQ ID NO: 1810)

[1205]

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43m2a EN MP8-2 2012 (SEQ ID NO: 1812)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSSISSGLLSGRSANPGGGSYELTQPPSASVNVG
ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
EDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDF
YPGSATVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEK
SLSPAACL] (SEQ ID NO: 1813)

J43m2a EN MP8-2 2012 氨基酸序列:

ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSSISSGLLSGRSANPGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGD
QLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCF
SYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDFYPGSATVTWK
ANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEKSLSPAACL
(SEQ ID NO: 1812)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43m2a EN MP8-2 2002 (SEQ ID NO: 1814)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSISSGLLSGRSGNHGGGSYELTQPPSASVNVG
ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
EDEGDYYCFSGYVDS DSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDF
YPGSATVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEK
SLSPAEL] (SEQ ID NO: 1815)

J43m2a EN MP8-2 2002 氨基酸序列:

ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSISSGLLSGRSGNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGD
QLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCFS
GYVDS DSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDFYPGSATVTWK
ANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEKSLSPAEL
(SEQ ID NO: 1814)

[1206]

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43m2a EN MP8-2 2003 (SEQ ID NO: 1816)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSISSGLLSGRSANPRGGGGSYELTQPPSASVN
VGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDV
RAEDEGDYYCFSGYVDS DSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVN
DFYPGSATVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETV
EKSLSPAEL] (SEQ ID NO: 1817)

J43m2a EN MP8-2 2003 氨基酸序列:

ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSISSGLLSGRSANPRGGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCS
GDQLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYC
FSGYVDS DSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDFYPGSATVT
WKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEKSLSPAEL
(SEQ ID NO: 1816)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43m2a EN MP8-2 2006 (SEQ ID NO: 1818)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSISSGLLSGRSDDHGGGSYELTQPPSASVNVG
ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
EDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDF
YPGSATVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEK
SLSPAACL] (SEQ ID NO: 1819)

J43m2a EN MP8-2 2006 氨基酸序列:

ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSISSGLLSGRSDDHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGD
QLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCF
SYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDFYPGSATVTW
KANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEKSLSPAACL
(SEQ ID NO: 1818)

[1207]

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43m2a EN MP8-2 2007 (SEQ ID NO: 1820)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSISSGLLSGRSDIHGGGSYELTQPPSASVNVG
ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
EDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDF
YPGSATVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEK
SLSPAACL] (SEQ ID NO: 1821)

J43m2a EN MP8-2 2007 氨基酸序列:

ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSISSGLLSGRSDIHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGD
QLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCF
SYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDFYPGSATVTW
KANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEKSLSPAACL
(SEQ ID NO: 1820)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43m2a EN MP8-2 2008 (SEQ ID NO: 1822)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSSGGSSGGSSISSGLLSGRSDQHGGGSYELTQPPSASVNVG
ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
EDEGDYYCFSGYVDS DSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVND F
YPGSATVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEK
SLSPA ECL] (SEQ ID NO: 1823)

J43m2a EN MP8-2 2008 氨基酸序列:

ACRICQDHPATKWNSSGGSSGGSSISSGLLSGRSDQHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGD
QLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCF S
GYVDS DSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVND FYPGSATVTWK
ANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEKSLSPA ECL
(SEQ ID NO: 1822)

[1208]

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43m2a EN MP8-2 2009 (SEQ ID NO: 1824)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSSGGSSGGSSISSGLLSGRSDTHGGGSYELTQPPSASVNVG
ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
EDEGDYYCFSGYVDS DSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVND F
YPGSATVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEK
SLSPA ECL] (SEQ ID NO: 1825)

J43m2a EN MP8-2 2009 氨基酸序列:

ACRICQDHPATKWNSSGGSSGGSSISSGLLSGRSDTHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGD
QLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCF S
GYVDS DSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVND FYPGSATVTWK
ANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEKSLSPA ECL
(SEQ ID NO: 1824)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43m2a EN MP8-2 2010 (SEQ ID NO: 1826)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSISSGLLSGRSDYHGGGSYELTQPPSASVNVG
ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
EDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDF
YPGSATVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEK
SLSPAACL] (SEQ ID NO: 1827)

J43m2a EN MP8-2 2010 氨基酸序列:

ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSISSGLLSGRSDYHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGD
QLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCF
SYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDFYPGSATVTW
KANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEKSLSPAACL
(SEQ ID NO: 1826)

[1209]

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43m2a EN MP8-2 2013 (SEQ ID NO: 1828)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSISSGLLSGRSANIGGGSYELTQPPSASVNVG
ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
EDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDF
YPGSATVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEK
SLSPAACL] (SEQ ID NO: 1829)

J43m2a EN MP8-2 2013 氨基酸序列:

ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSISSGLLSGRSANIGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGD
QLPKYFADWFHQRS DQTILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCF
SYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDFYPGSATVTW
KANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEKSLSPAACL
(SEQ ID NO: 1828)

[间隔区 (SEQ ID NO: 362)] [J43m2a EN MP8-2 2014 (SEQ ID NO: 1830)] 氨基酸序列:

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNIGGGSYELTQPPSASVNVG
ETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSDDQITLQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRA
EDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDF
YPGSATVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEK
SLSPAEL] (SEQ ID NO: 1831)

[1210]

J43m2a EN MP8-2 2014 氨基酸序列:

ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNIGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGD
QLPKYFADWFHQRSDDQITLQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCFS
GYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDFYPGSATVTWK
ANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEKSLSPAEL
(SEQ ID NO: 1830)

[1211] 实施例27:可活化抗小鼠PD1 J43 m2a EN抗体降低NOD小鼠中糖尿病的发病

[1212] 在本实施例中,分析抗PD-1 J43 m2a EN(效应子阴性)可活化抗体在NOD小鼠中保护免于PD1 m2a EN介导的诱导糖尿病的能力。

[1213] NOD小鼠亚系NOD/ShiLtJ在8周时获自Jackson Laboratory并现场适应2周。在10周时,在登记前检查小鼠的糖尿病,分组,并如表21中所述进行给药。

[1214]

组	计数	性别	处理	剂量 (mg/kg)	剂量体积 (mL/kg)	时间表	途径
1	7	F	mIgG2a (C1.18.4)	10	10	q7dx1	IP
2	7	F	抗-PD-1 J43 m2a EN	10	10	q7dx1	IP
3	7	F	抗-PD-1 J43 m2a EN	3	10	q7dx1	IP
4	7	F	抗-PD-1 J43 m2a EN	1	10	q7dx1	IP
5	7	F	J43 MP7-1 2001 m2a EN	10	10	q7dx1	IP
6	7	F	J43 MP7-1 2001 m2a EN	3	10	q7dx1	IP
7	7	F	J43 MP8-2 2001 m2a EN	10	10	q7dx1	IP
8	7	F	J43 MP8-2 2001 m2a EN	3	10	q7dx1	IP

[1215] 图30为%无糖尿病相对于给药后天数作图,其显示随剂量增加,抗PD-1 J43抗体在NOD小鼠中以增加的频率诱导糖尿病。在给药后第11天,对于10mg/kg、3mg/kg和1mg/kg剂量组的抗体治疗组中无糖尿病小鼠的百分比分别为29%、43%和71%。可活化抗体J43 MP7-1 2001 m2a EN和J43 MP8-2 2001 m2a EN需要增加的剂量以与亲本抗体相当的频率诱导糖尿病。在用J43 MP7-1 2001 m2a EN给药后第11天,71%的10mg/kg组保持无糖尿病并且86%的3mg/kg组无糖尿病。在用J43 MP8-2 2001 m2a EN给药后第14天,86%的10 mg/kg组和100%的3mg/kg组保持无糖尿病。

[1216] 实施例28.可活化抗小鼠PD1 J43 m2a EN抗体在MC38同源肿瘤模型中显示效力

[1217] 本实施例证实实施方案的可活化抗体能够降低MC38同源肿瘤的生长。

[1218] 在本实施例中,分析抗PD1可活化抗体J43 MP7-1 2001 m2a EN和J43 MP8-2 2001 m2a EN降低MC38同源肿瘤生长的能力。

[1219] 小鼠结肠癌细胞系MC38获自 ATCC。将MC38在补充有10%胎牛血清的RPMI-1640中在37°C下和空气中5% CO₂的气氛下生长。在对数生长期过程中收获细胞,以合适的细胞浓度重悬于PBS,并置于冰上用于肿瘤诱导。

[1220] 将每一小鼠用PBS中的 1.5×10^6 个MC38细胞在右侧腹皮下接种用于肿瘤发生。当平均肿瘤大小达到约80 mm³ (60-120 mm³)时开始治疗。使用卡尺在两个维度上每周两次测量肿瘤大小,并使用下式以mm³表示体积: $V = 0.5 a \times b^2$,其中a和b分别为肿瘤的长和短的直径。

[1221] 如表22中所示将小鼠分组并给予。

[1222] 表22:

组	计数	处理	剂量 (mg/kg)	剂量体积 (mL/kg)	时间表	途径
1	10	mIgG1 MOPC-21 + mIgG12b MPC-11	10 + 10	10	b.i.w. 持续3周	IP
2	10	抗-CTLA4 9D9 mIgG2b	10	10	b.i.w. 持续3周	IP
3	10	抗-PD-1 (J43 m2a EN)	10	10	b.i.w. 持续3周	IP
[1223] 4	10	J43 MP8-2 2001 m2a EN	10	10	b.i.w. 持续3周	IP
5	10	J43 MP7-1 2001 m2a EN	10	10	b.i.w. 持续3周	IP
6	10	抗-PD-1 (J43 m2a EN) + 抗-CTLA4 9D9 mIgG2b	10+10	10	b.i.w. 持续3周	IP
7	10	J43 MP8-2 2001 m2a EN + 抗-CTLA4 9D9 mIgG2b	10+10	10	b.i.w. 持续3周	IP
8	10	J43 MP7-1 2001 m2a EN + 抗-CTLA4 9D9 mIgG2b	10+10	10	b.i.w. 持续3周	IP

[1224] 图31A和31B以肿瘤体积相对于初始剂量后天数作图,表明抗PD1可活化抗体MP7-1 2001 m2a EN和MP8-2 2001 m2a EN作为单一药剂和与抗CTLA4抗体9D9 mIgG2b (BioXCell, West Lebanon, NH)的组合相似于阳性对照抗PD1抗体J43 m2a EN抑制MC38同源肿瘤的生长。

[1225] 实施例29.在抗原回忆测定中抗人PD1抗体和可活化抗人PD1抗体的评价

[1226] 本实施例表明实施方案的抗PD1抗体和活化的可活化抗PD1抗体(即其中CM已经被蛋白酶切割的可活化抗体)能够在抗原回忆测定中阻断PD-L1/PD-L2结合PD1并活化T细胞。

[1227] 如图32A-32E中所示,本文称为A1.5 Ab (即SEQ ID NO: 21的VH和SEQ ID NO: 47的VL)的抗人PD1抗体在抗原回忆测定中阻断PD-L1/PD-L2结合PD1和有效活化T细胞。如通过标准板ELISA检测的抗人PD-1 A1.5 Ab与固定的人PD1的结合显示于图32A,并且如通过

ELISA检测的A1.5 Ab与食蟹猴PD1 (本文也称为cyno-PD1, Sino Biological 目录号90311-C02H)的结合显示于图32B。如通过ELISA测定的经A1.5 Ab的生物素化的人PD-L1(本文也称为生物素-PD-L1)对固定的PD1的抑制显示于图32C,并且如通过ELISA测定的生物素化的人PD-L2(本文也称为生物素-PD-L2)对固定的PD1的抑制显示于图32D。

[1228] 如图32E中所示,在CMV T细胞再刺激测定中A1.5 Ab增强IFN- γ 产生。简言之,将CMV⁺人PBMC以250,000细胞/孔与同种型对照抗体或与A1.5 Ab铺板,并用5 μ g/mL CMV裂解物刺激4天。通过ELISA测量上清液IFN- γ 水平。

[1229] 如图33A和33B中所示,本文称为A1.5 PD34 2001 (即,SEQ ID NO: 21的VH、SEQ ID NO: 47的VL、SEQ ID NO: 99的掩蔽部分和SEQ ID NO: 214的可切割部分)的可活化抗PD1抗体相对于亲本PD-1 Ab即A1.5 Ab以降低的亲和力结合人PD1(图33A)和A1.5 PD34 2001可活化抗体在CMV T细胞抗原回忆测定中显示功能性掩蔽(图33B)。简言之,将4mg/mL的A1.5 PD34 2001可活化抗体与0 μ g/mL或60 μ g/mL重组人尿激酶(rh uPA, R&D, Cat. # 1310-SE)组合并在37°C下孵育过夜。通过标准板ELISA测定与uPA孵育的可活化抗体与hPD1的结合。如图33中所示,本发明的可活化抗PD1抗体在通过蛋白酶活化后重新获得活化的完全结合。

[1230] 实施例30.可活化抗人PD1抗体在非人灵长类动物模型中的药代动力学评价

[1231] 本实施例表明实施方案的抗PD-1抗体和抗PD-1可活化抗体的药代动力学和剂量均衡(dose proportionality)数据。

[1232] 简言之,用单一IV大剂量的A1.5抗体或本文称为A1.5 PD34 2001的可活化抗体以1 mg/kg或以5 mg/kg对雌性食蟹猴(n=2/组)给予。通过合格的抗人夹心ELISA分析血浆样品的A1.5和A1.5 PD34 2001浓度。结果显示于图34,其中每条线表示一个个体。显示A1.5和A1.5 PD34 2001的平均PK参数。对于在相似研究中向食蟹猴施用的可活化抗体A1.5 PD34 2012和A1.5 PD34 2011可见类似结果。

[1233] 实施例31.可活化抗小鼠PD-1 J43抗体降低给予抗CTLA4抗体的NOD小鼠中糖尿病的发病

[1234] 在本实施例中,分析抗PD-1 J43可活化抗体在当同时给予抗CTLA-4 9D9 mIgG2b抗体(BioXCell cat #BE0164)的NOD小鼠中保护免于抗PD-1诱导的糖尿病的能力。NOD小鼠亚系NOD/ShiLtJ在4周时获自Jackson Laboratory并现场适应1周。在5周时,在登记前检查小鼠的糖尿病,分组,并如表23中所述进行给药。如本文所用,称为“J43 m2a EN”(及其变化)的抗体包含SEQ ID NO: 546的重链(HC);SEQ ID NO: 543的轻链(LC)和SEQ ID NO: 1516的恒定区。如本文所用,称为“J43 MP8-2 2012 m2a EN”的可活化抗体是包含J43 m2a EN抗体、MP8-2掩蔽部分(SEQ ID NO: 549)和2012底物(SEQ ID NO: 1101)的可活化抗体,和称为“J43 MP8-2 2001 m2a EN”的可活化抗体是包含J43 m2a EN抗体、MP8-2掩蔽部分(SEQ ID NO: 549)和2001底物(SEQ ID NO: 214)的可活化抗体。

[1235] 表23. 给药方案

[1236]

组	计数	处理				剂量体积 (mL/kg)	时间表	途径
		物品#1	剂量 (mg/kg)	物品#2	剂量 (mg/kg)			
1	8	mIgG1 MOPC-21	10	mIgG2b MPC-11	10	10	d0, d4, d7	IP
2	8	抗- CTLA4 9D9 mIgG2b	10	mIgG1 MOPC- 21	10	10	d0, d4, d7	IP
3	8	抗-PD-1 (J43 m2a EN)	10	mIgG2b MPC-11	10	10	d0, d4, d7	IP
4	8	抗-PD-1 (J43 m2a EN)	1	mIgG2b MPC-11	10	10	d0, d4, d7	IP
5	8	抗-PD-1 (J43 m2a EN)	10	抗- CTLA4 9D9 mIgG2b	10	10	d0, d4, d7	IP
6	8	抗-PD-1 (J43 m2a EN)	1	抗- CTLA4 9D9 mIgG2b	10	10	d0, d4, d7	IP
7	8	J43 MP8-2 2012 m2a EN	10	mIgG2b MPC-11	10	10	d0, d4, d7	IP
8	8	J43 MP8-2 2012 m2a EN	10	抗- CTLA4 9D9 mIgG2b	10	10	d0, d4, d7	IP
9	8	J43 MP8-2 2001 m2a EN	10	mIgG2b MPC-11	10	10	d0, d4, d7	IP
10	8	J43 MP8-2 2001 m2a EN	10	抗- CTLA4 9D9 mIgG2b	10	10	d0, d4, d7	IP

[1237] 图35对%非糖尿病相对于初始剂量后的天数作图,显示在第0、4和7天给药的10 mg/kg抗PD-1 J43抗体加10 mg/kg抗CTLA-4抗体的组合到第11天诱导50%的NOD小鼠中的糖尿病而相同给药时间表的可活化抗PD-1 J43抗体与CTLA-4抗体到第18天不诱导糖尿病。

[1238] 实施例32.可活化抗小鼠PD1 J43 m2a EN抗体当与抗CTLA4抗体在MC38同源肿瘤模型中共施用显示增强的效力

[1239] 本实施例表明实施方案的可活化抗体作为单一药剂能够降低MC38同源肿瘤的生长并且当与抗CTLA4抗体9D9 mIgG2b共施用诱导MC38肿瘤消退。

[1240] 在本实施例中,分析抗PD1可活化抗体J43 MP8-2 2011 m2a EN和J43 MP8-2 2012 m2a EN减缓MC38同源肿瘤生长或者与抗CTLA4抗体组合诱导MC38同源肿瘤中的消退的能力。如本文所用,称为“J43 m2a EN”(及其变化)的抗体包含SEQ ID NO: 546的重链(HC); SEQ ID NO: 543的轻链(LC)和SEQ ID NO: 1516的恒定区。如本文所用,称为“J43 MP8-2 2011 m2a EN”的可活化抗体是包含J43 m2a EN抗体、MP8-2掩蔽部分(SEQ ID NO: 549)和2011底物(SEQ ID NO: 1100)的可活化抗体,和称为“J43 MP8-2 2012 m2a EN”的可活化抗体是包含J43 m2a EN抗体、MP8-2掩蔽部分(SEQ ID NO: 549)和2012底物(SEQ ID NO:

1101)的可活化抗体。

[1241] 小鼠结肠癌细胞系MC38获自 ATCC。将MC38细胞在补充有10%胎牛血清的RPMI-1640中在37°C下和空气中5% CO₂的气氛下生长。在对数生长期过程中收获细胞,以合适的细胞浓度重悬于PBS,并置于冰上用于肿瘤诱导。

[1242] 将每一小鼠用PBS中的1.5X10⁶个MC38细胞在右侧腹皮下接种用于肿瘤发生。当肿瘤大小达到约60 mm³ (45-80 mm³)时开始治疗。使用卡尺在两个维度上每周两次测量肿瘤大小,并使用下式以mm³表示体积: $V = 0.5 a \times b^2$,其中a和b分别为肿瘤的长和短的直径。

[1243] 如表24中所示将小鼠分组并给予。

[1244] 表24:

组	计数	处理	剂量 (mg/kg)	剂量体积 (mL/kg)	时间表	途径
1	10	mIgG1 MOPC-21 + mIgG12b MPC-11	10 + 10	10	b.i.w. 持续3周	IP
2	10	抗-CTLA4 9D9 mIgG2b	10	10	b.i.w. 持续3周	IP
3	10	抗-PD-1 (J43 m2a EN)	10	10	b.i.w. 持续3周	IP
[1245] 4	10	J43 MP8-2 2012 m2a EN	10	10	b.i.w. 持续3周	IP
5	10	J43 MP8-2 2011 m2a EN	10	10	b.i.w. 持续3周	IP
6	10	抗-PD-1 (J43 m2a EN) + 抗-CTLA4 9D9 mIgG2b	10+10	10	b.i.w. 持续3周	IP
7	10	J43 MP8-2 2012 m2a EN + 抗-CTLA4 9D9 mIgG2b	10+10	10	b.i.w. 持续3周	IP
8	10	J43 MP8-2 2011 m2a EN + 抗-CTLA4 9D9 mIgG2b	10+10	10	b.i.w. 持续3周	IP

[1246] 图36以肿瘤体积相对于初始剂量后天数作图,表明抗PD1可活化抗体MP8-2 2012 m2a EN和MP8-2 2011 m2a EN作为单一药剂和与抗CTLA4抗体9D9 mIgG2b (BioXCell, West Lebanon, NH)的组合相似于阳性对照抗PD1抗体J43 m2a EN抑制MC38同源肿瘤的生长。

[1247] 实施例33.可活化抗小鼠PD1 J43 m2a EN抗体当与抗CTLA4抗体在MC38同源肿瘤模型中共施用显示持久的抗肿瘤活性

[1248] 本实施例表明实施方案的抗PD-1可活化抗体与抗CTLA4抗体的组合在MC38同源肿瘤模型中诱导持久的抗肿瘤完全应答。

[1249] 在本实施例中,将用显示持续肿瘤消退的来自实施例28的抗CTLA4和抗PD1药剂的组合((i) 抗-PD-1 J43 m2aEN + 抗-CTLA4 9D9 mIgG2b (图37中称为“抗-PD-1 J43 m2aEN抗体” + “抗-CTLA4 9D9 mIgG2b抗体”) (n=8), (ii) 可活化抗体抗-PD-1 J43 MP8-2 2012 m2a EN + 抗-CTLA4 9D9 mIgG2b (图37中称为“J43 MP8-2 2012 m2a EN AA” + “抗-CTLA4 9D9 mIgG2b抗体”,其中AA代表可活化抗体) (n=8),和可活化抗体抗-PD-1 J43 MP8-2 2011 m2a EN + 抗-CTLA4 9D9 mIgG2b (图37中称为“J43 MP8-2 2011 m2a EN AA” + “抗-CTLA4 9D9 mIgG2b抗体”,其中AA代表可活化抗体) (n=6))治疗的所有动物在第38天用1.5 x 10⁶个MC38肿瘤细胞在相对于原始MC38移植的左侧腹进行移植。用1.5 x

10⁶ MC38肿瘤细胞移植五只未治疗的小鼠以证实MC38细胞的致瘤活性。

[1250] 图37显示之前用抗PD1和抗CTLA4药剂组合治疗的小鼠均没有显示原始肿瘤部位(右侧腹)的再生长或新肿瘤(左侧腹)的生长,而所有五只未治疗的对照小鼠显示快速肿瘤生长。

[1251] 实施例34.可活化抗小鼠PD-1 J43抗体降低共给予抗CTLA4抗体的NOD小鼠中糖尿病的发病

[1252] 本实施例表明实施方案的抗PD-1可活化抗体与抗CTLA4抗体的组合保护NOD小鼠免于PD1 m2a EN介导的糖尿病的诱导。

[1253] 在本实施例中,分析抗PD-1 J43可活化抗体MP8-2 2011 m2aEN在当同时给予抗CTLA-4 9D9 mIgG2b抗体(BioXcell cat #BE0164)的NOD小鼠中保护免于抗PD-1诱导的糖尿病的能力。NOD小鼠亚系NOD/ShiLtJ在4周时获自Jackson Laboratory并现场适应1周。在5周时,在登记前检查小鼠的糖尿病,分组,并如表25中所述进行给药。

[1254] 表25. 给药方案

组	计数	处理					时间表	途径
		物品#1	剂量(mg/kg)	物品#2	剂量(mg/kg)	剂量体积(mL/kg)		
1	8	抗-CTLA4 9D9 mIgG2b	10	mIgG1 MOPC-21	10	10	d0, d4, d7	IP
[1255] 2	8	抗-PD-1 (J43 m2a EN)	10	mIgG2b MPC-11	10	10	d0, d4, d7	IP
3	8	抗-PD-1 (J43 m2a EN)	10	抗-CTLA4 9D9 mIgG2b	10	10	d0, d4, d7	IP
4	8	J43 MP8-2 2011 m2a EN	10	mIgG2b MPC-11	10	10	d0, d4, d7	IP
5	8	J43 MP8-2 2011 m2a EN	10	抗-CTLA4 9D9 mIgG2b	10	10	d0, d4, d7	IP

[1256] 图38以%无糖尿病相对于初始剂量后天数作图,显示了在第0、4和7天给予的单一药剂抗PD-1 J43抗体(附图中称为“抗PD1 J43 Ab”)和10 mg/kg抗-PD-1 J43抗体加10 mg/kg抗-CTLA4抗体的组合(附图中称为“抗-PD1 J43 Ab” + “抗-CTLA4 9D9 mIgG2b”)在第九天在25%的NOD小鼠中诱导糖尿病。相反,相同给药时间表的作为单一药剂的可活化抗体抗PD-1 J43 MP8-2 2011 m2a EN (附图中称为“J43 MP8-2 2011 m2a EN AA”,其中AA代表可活化抗体)或者与抗CTLA4抗体的组合(附图中称为“J43 MP8-2 2011 m2a EN AA + “抗-CTLA4 9D9 mIgG2b”,其中AA代表可活化抗体)导致直至第15天无糖尿病的诱导。

[1257] 实施例35.实施方案的抗PD-1纳武单抗可活化抗体在人T细胞再刺激测定中被功能上掩蔽

[1258] 本实施例描述了掩蔽部分对抗PD-1纳武单抗抗体的生物功能的影响。

[1259] 将来自CMV阳性供体的PBMC (Hemacare)以 2×10^5 细胞/孔在CMV病毒裂解物(Astarte)和抗PD-1抗体A1.5、抗PD-1可活化抗体A1.5 PD34 2001、抗PD-1抗体纳武单抗(NV1)、抗PD-1纳武单抗可活化抗体NV1 NV07 2001或hIgG4同种型对照抗体存在的情况下进行铺板。四天后,从每一孔去除上清液,并使用IFN- γ ELISA试剂盒(Life Technologies, Carlsbad, CA)测定IFN- γ 水平。

[1260] 图39表明抗PD-1可活化抗体A1.5 PD34 2001 (附图中称为“A1.5 PD34 2001 AA”,其中AA代表可活化抗体)和抗PD1纳武单抗可活化抗体NV1 NV07 2001 (附图中称为

“NV1 NV07 2001 AA”，其中AA代表可活化抗体)产生相比于对照hIgG4抗体(附图中称为hIgG4)增加的CMV刺激的IFN- γ 分泌,但产生相对于抗PD-1亲本抗体A1.5(附图中称为A1.5)或抗PD-1亲本抗体纳武单抗(附图中称为NV1)降低的效力。

[1261] 实施例36.实施方案的抗PD-1派姆单抗可活化抗体在人T细胞再刺激测定中被功能上掩蔽

[1262] 本实施例描述了掩蔽部分对抗PD-1派姆单抗抗体的生物功能的影响。

[1263] 将来自CMV阳性供体的PBMC (Hemacare)以 2×10^5 细胞/孔在4 ug/ml CMV病毒裂解物(Astarte)和抗PD-1抗体A1.5、抗PD-1抗体派姆单抗(PM1)、抗PD-1派姆单抗可活化抗体PM1 PM07 2001或hIgG4同种型对照抗体存在的条件下进行铺板。四天后,从每一细胞去除上清液,并使用IFN- γ ELISA试剂盒(Life Technologies, Carlsbad, CA)测定IFN- γ 水平。

[1264] 图40表明抗PD-1派姆单抗可活化抗体PM1 PM07 2001 (附图中称为“PM1 PM07 2001 AA”,其中AA代表可活化抗体)产生相比于对照hIgG4抗体(附图中称为hIgG4)增加的CMV刺激的IFN- γ 分泌,但产生相对于抗PD-1亲本抗体A1.5(附图中称为A1.5)或抗PD-1亲本抗体派姆单抗(附图中称为PM1)降低的效力。

[1265] 其他实施方案

[1266] 尽管本发明已经结合其详述进行描述,但前述描述旨在说明而不是限制本发明的范围,所述本发明的范围由所附权利要求的范围所定义。其他方面、优点和修改在以下的范围之内。

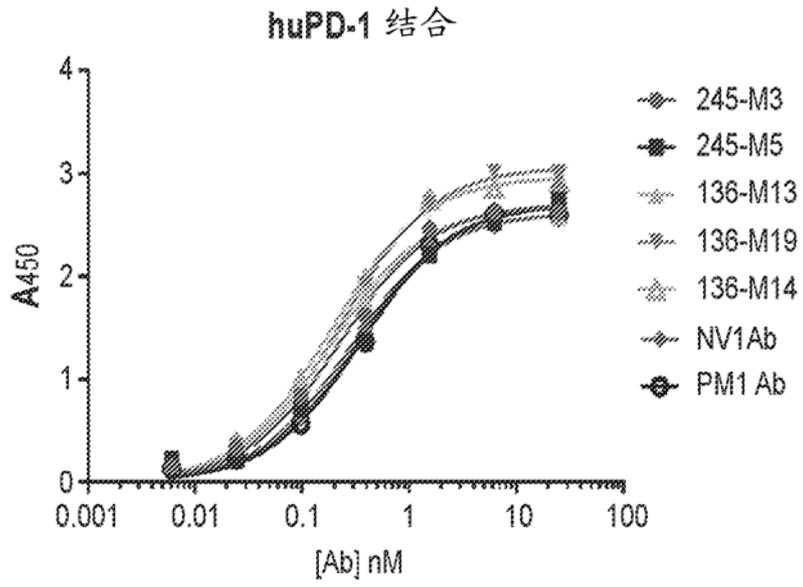


图 1

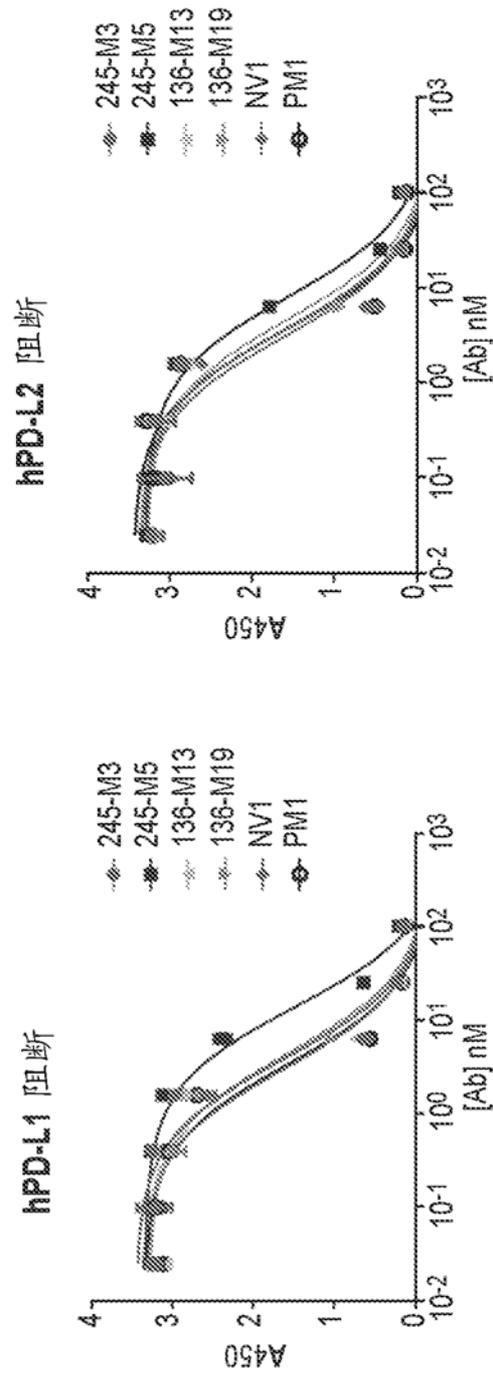


图 2

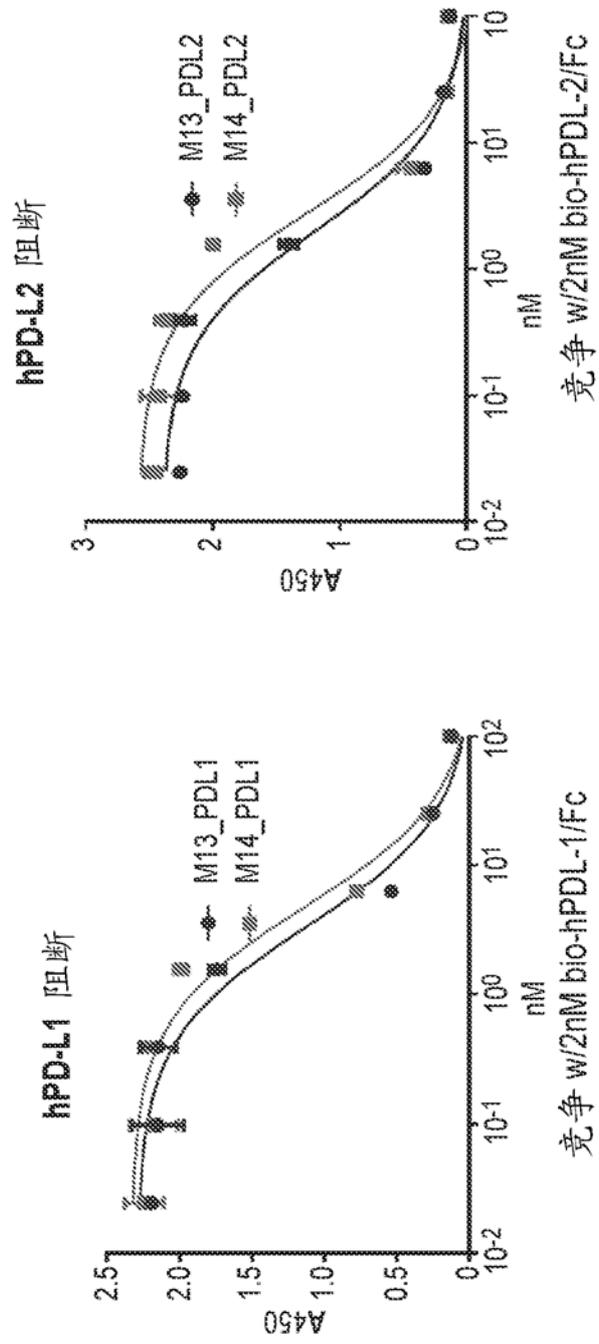


图 3

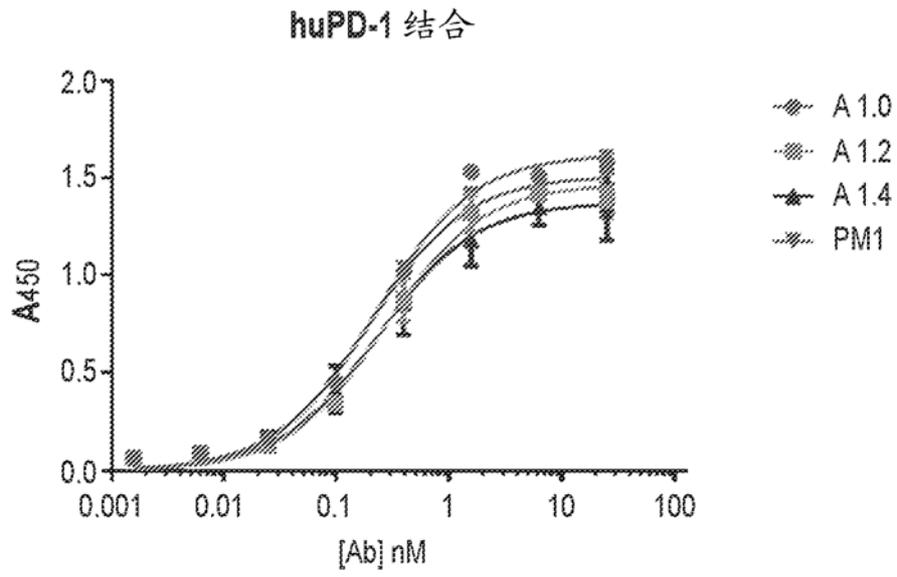


图 4

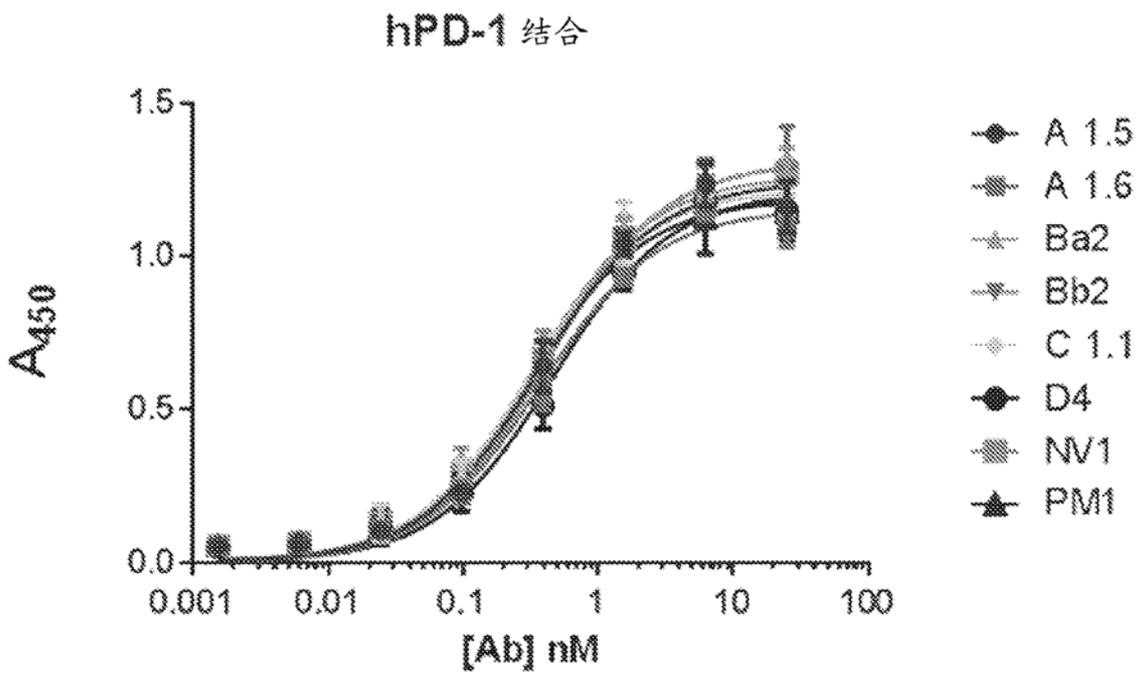
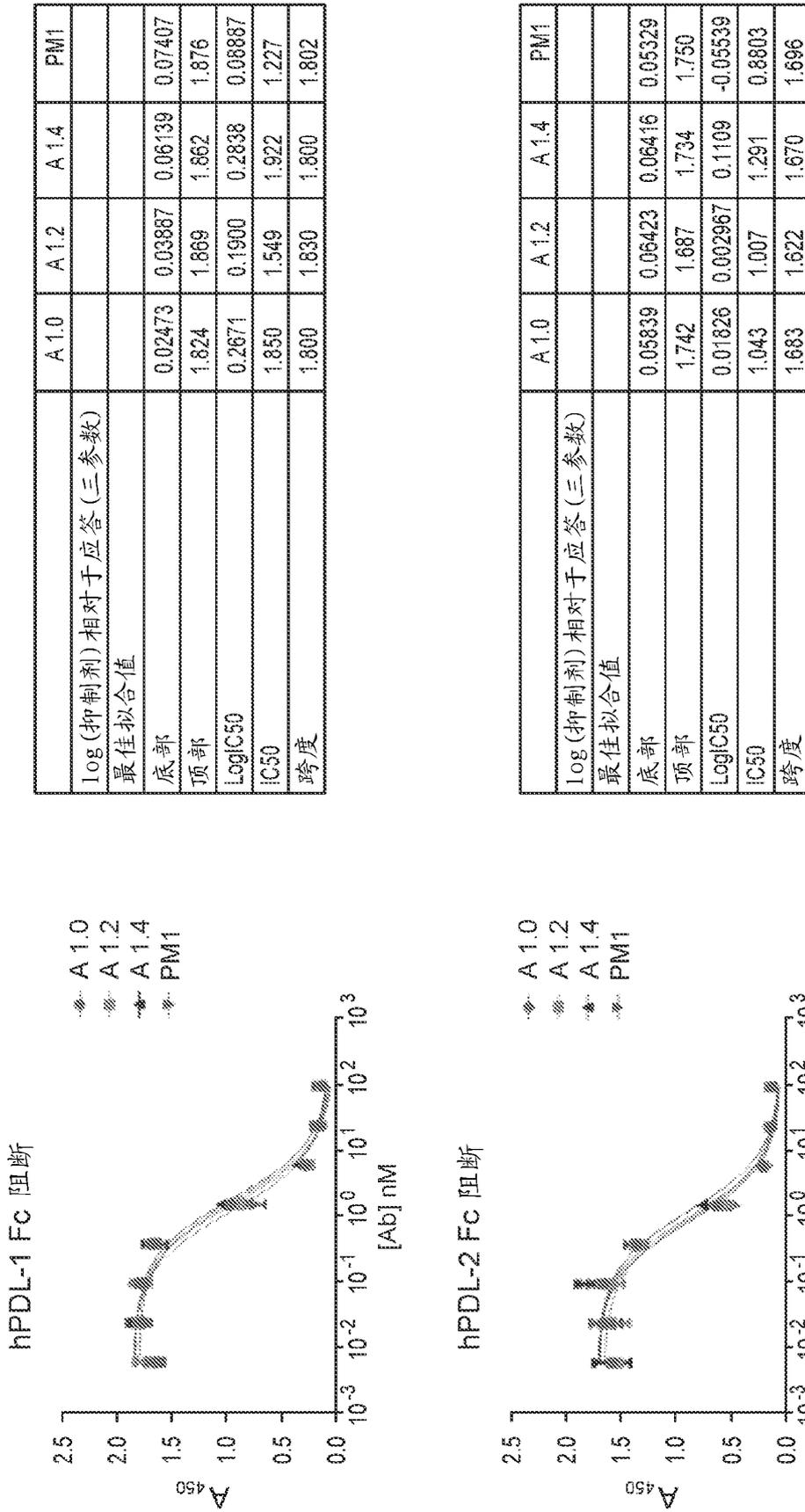


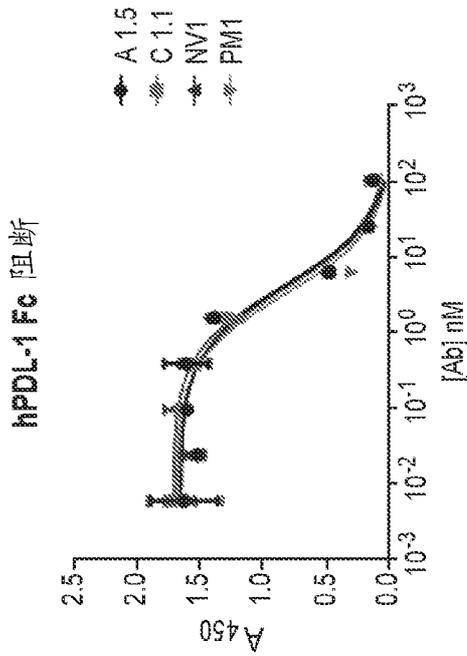
图 5



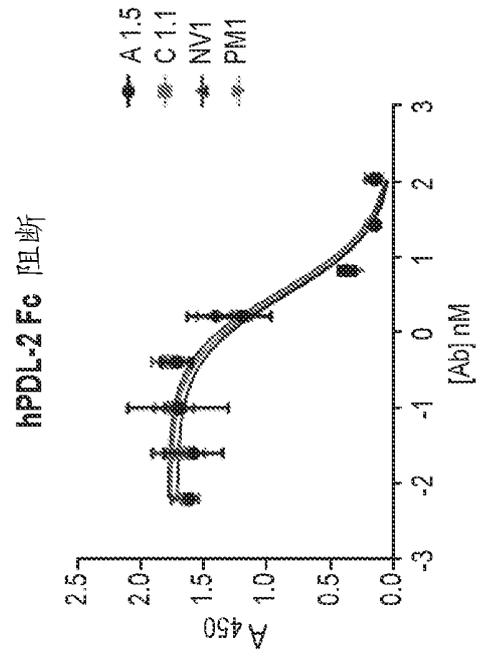
	A 1.0	A 1.2	A 1.4	PM1
Log(抑制剂)相对于应答(三参数)				
最佳拟合值				
底部	0.02473	0.03887	0.06139	0.07407
顶部	1.824	1.869	1.862	1.876
LogIC50	0.2671	0.1900	0.2838	0.08887
IC50	1.850	1.549	1.922	1.227
跨度	1.800	1.830	1.800	1.802

	A 1.0	A 1.2	A 1.4	PM1
Log(抑制剂)相对于应答(三参数)				
最佳拟合值				
底部	0.05839	0.06423	0.06416	0.05329
顶部	1.742	1.687	1.734	1.750
LogIC50	0.01826	0.002967	0.1109	-0.05539
IC50	1.043	1.007	1.291	0.8803
跨度	1.683	1.622	1.670	1.696

图 9

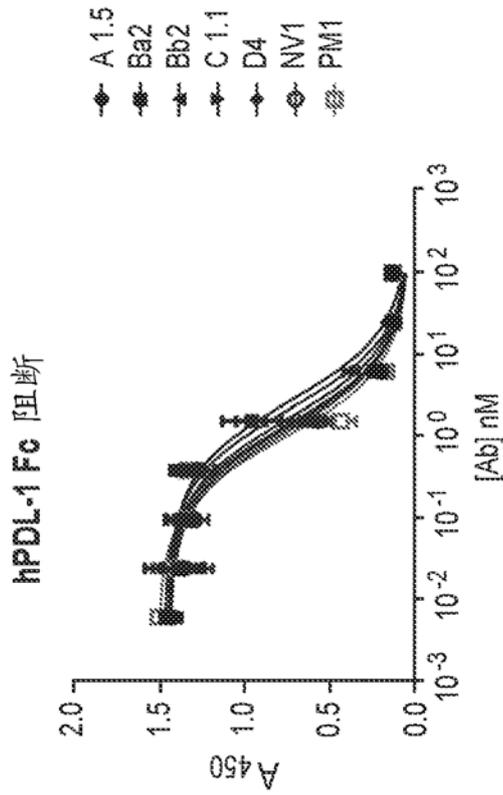


	A 1.5	C 1.1	NV1	PM1
Log(抑制剂)相对于应答(三参数)				
最佳拟合值				
底部	-0.01122	-0.002852	0.01597	-0.01207
顶部	1.672	1.691	1.735	1.710
LogIC50	0.6289	0.5712	0.6045	0.5045
IC50	4.255	3.726	4.023	3.196



	A 1.5	C 1.1	NV1	PM1
Log(抑制剂)相对于应答(三参数)				
最佳拟合值				
底部	0.01162	0.002368	0.02642	0.003166
顶部	1.733	1.784	1.804	1.779
LogIC50	0.4676	0.4875	0.5231	0.4797
IC50	2.935	3.073	3.335	3.018

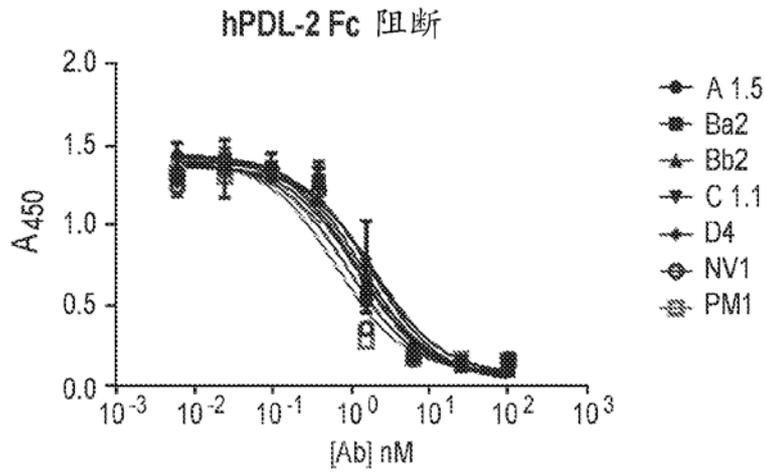
图 7



	A 1.5	Ba2	Bb2	C 1.1	D4	NV1	PM1
Log(抑制剂) 相对于应答(三参数)							
最佳拟合值							
底部	0.03776	0.03156	0.04762	0.05233	0.04490	0.05720	0.04908
顶部	1.494	1.469	1.471	1.472	1.460	1.461	1.529
LogIC50	0.1465	0.3417	0.2221	0.1209	0.4346	0.07608	-0.01427
IC50	1.401	2.196	1.668	1.321	2.720	1.191	0.9677
跨度	1.457	1.437	1.423	1.420	1.415	1.404	1.480

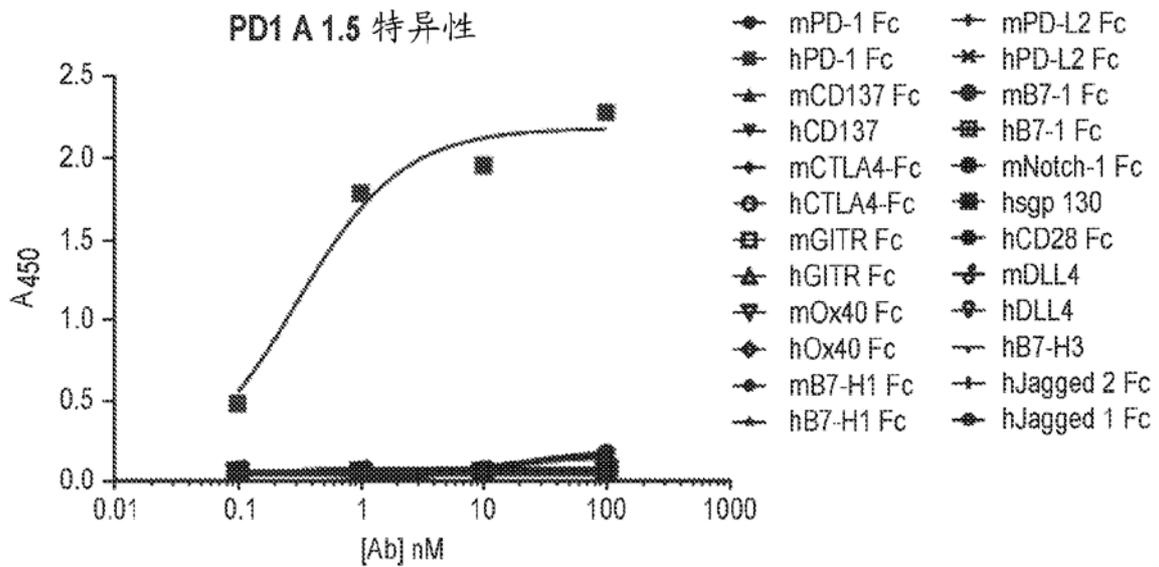
1.4571.4371.4231.4201.4151.4041.480

图 8



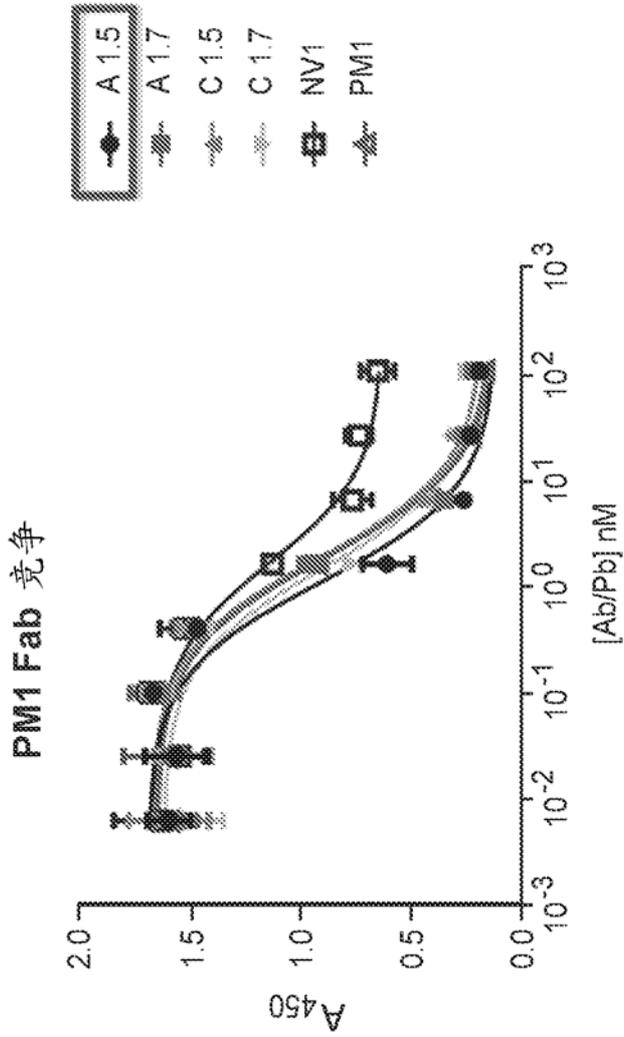
	A 1.5	Ba2	Bb2	C 1.1	D4	NV1	PM1
log(抑制剂)相对于应答(三参数)							
最佳拟合值							
底部	0.05123	0.04694	0.02765	0.06529	0.06849	0.06895	0.08572
顶部	1.445	1.430	1.404	1.385	1.370	1.391	1.404
LogIC50	0.1290	0.08061	0.2635	0.07807	0.2893	-0.03908	-0.1851
IC50	1.346	1.204	1.834	1.197	1.947	0.9140	0.6529
跨度	1.344	1.383	1.376	1.320	1.302	1.322	1.318

图 9



A1.5的Kd = 0.2948

图 10



	A 1.5	A 1.7	C 1.5	C 1.7	NV1	PM1
log(抑制剂)相对于应答(三参数)						
最佳拟合值						
底部	0.1248	0.1450	0.1778	0.1928	0.6340	0.1206
顶部	1.694	1.653	1.678	1.626	1.660	1.676
LogIC50	0.03121	0.2458	0.2429	0.1508	0.2042	0.2741
IC50	1.075	1.761	1.749	1.415	1.600	1.880

图 11a

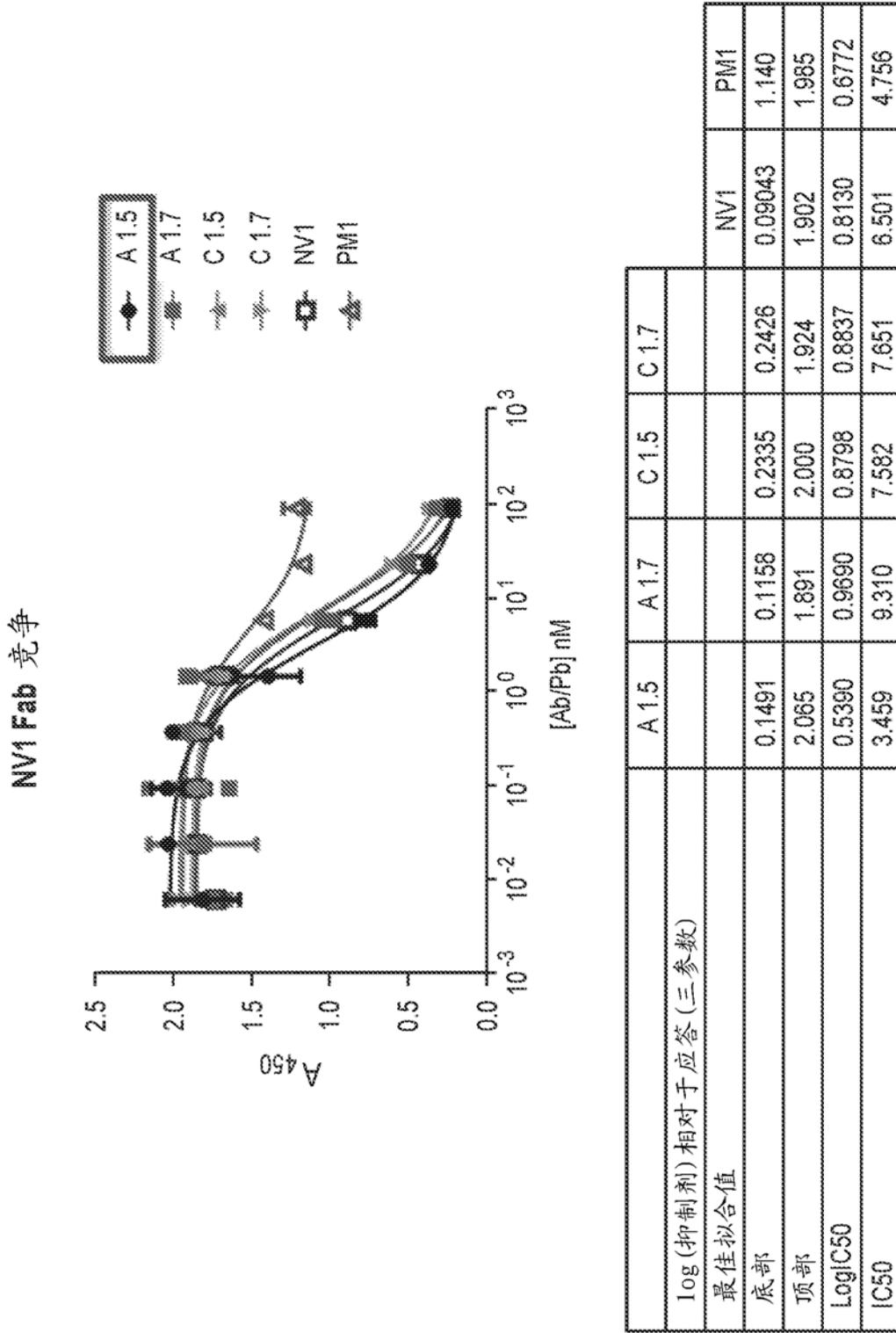


图 11b

通过CMV抗原的T细胞再刺激

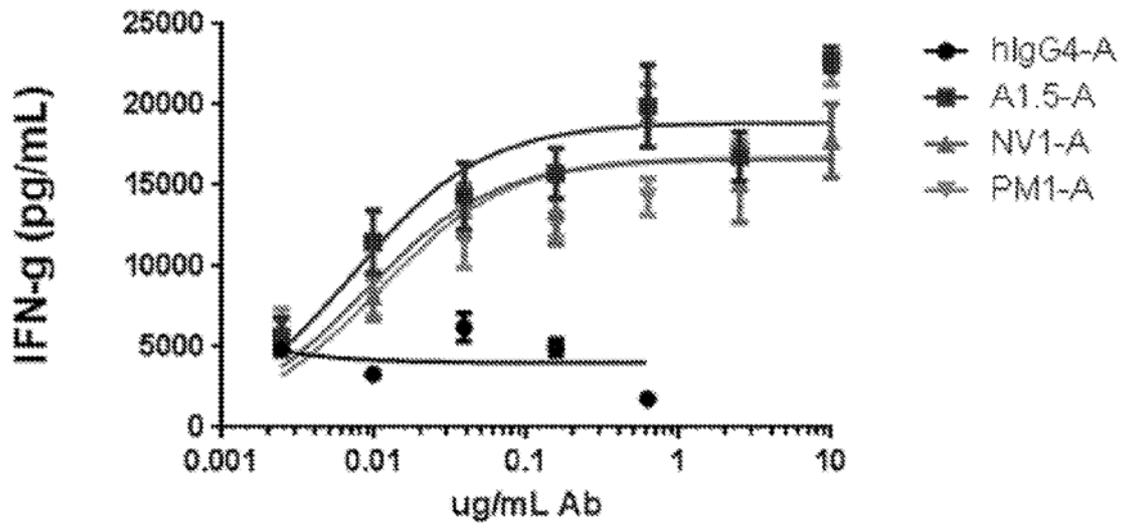


图 12

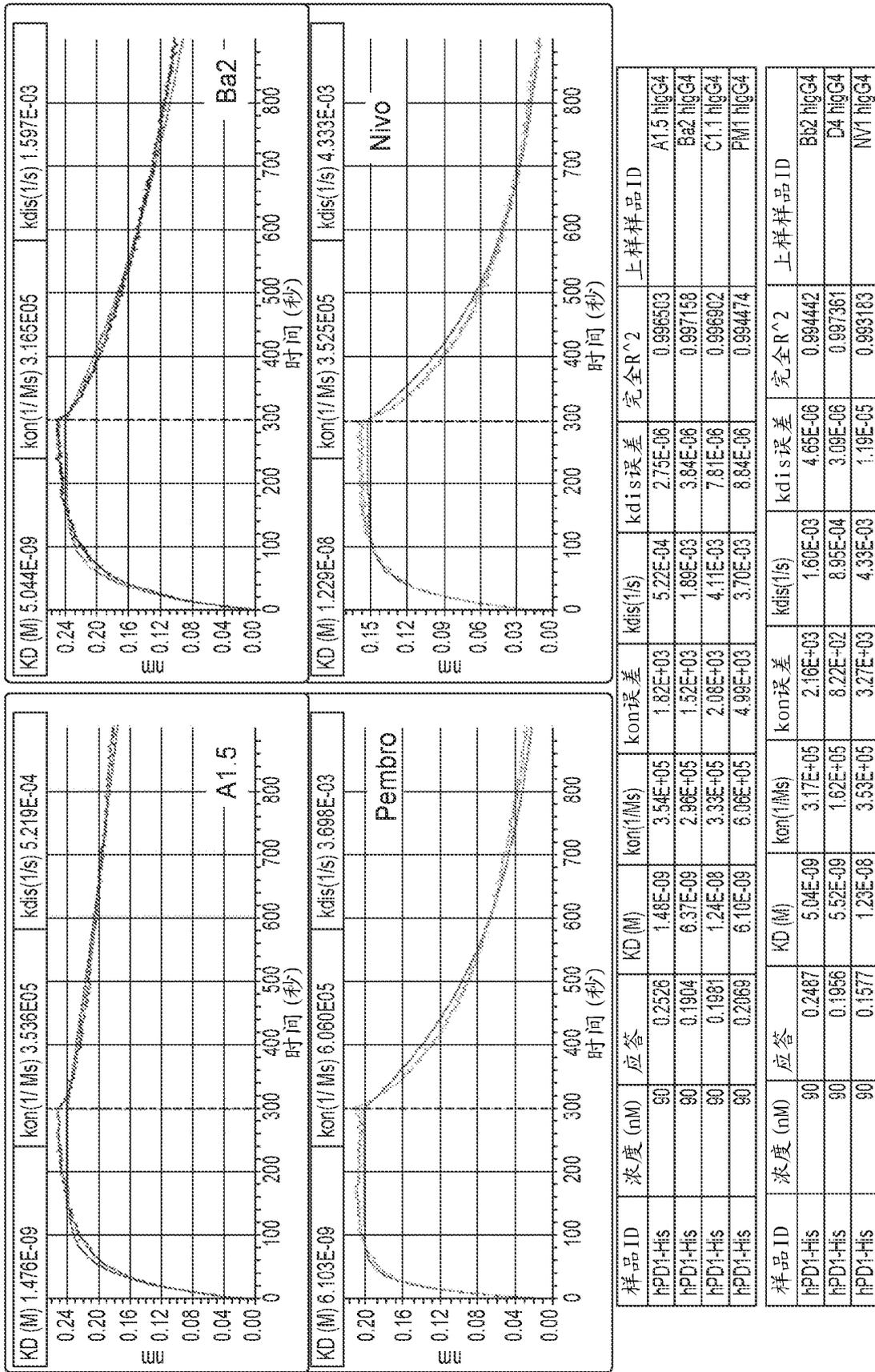
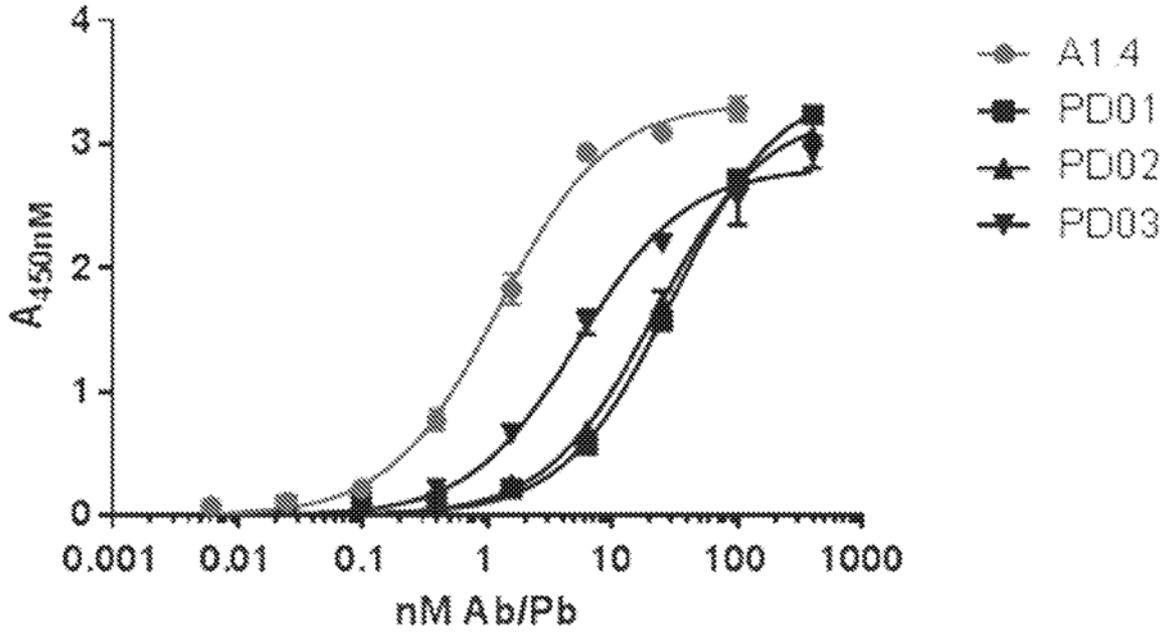


图 13

A1.4 PD 2001 可活化抗体ELISA



A1.4 PD 2001 可活化抗体ELISA

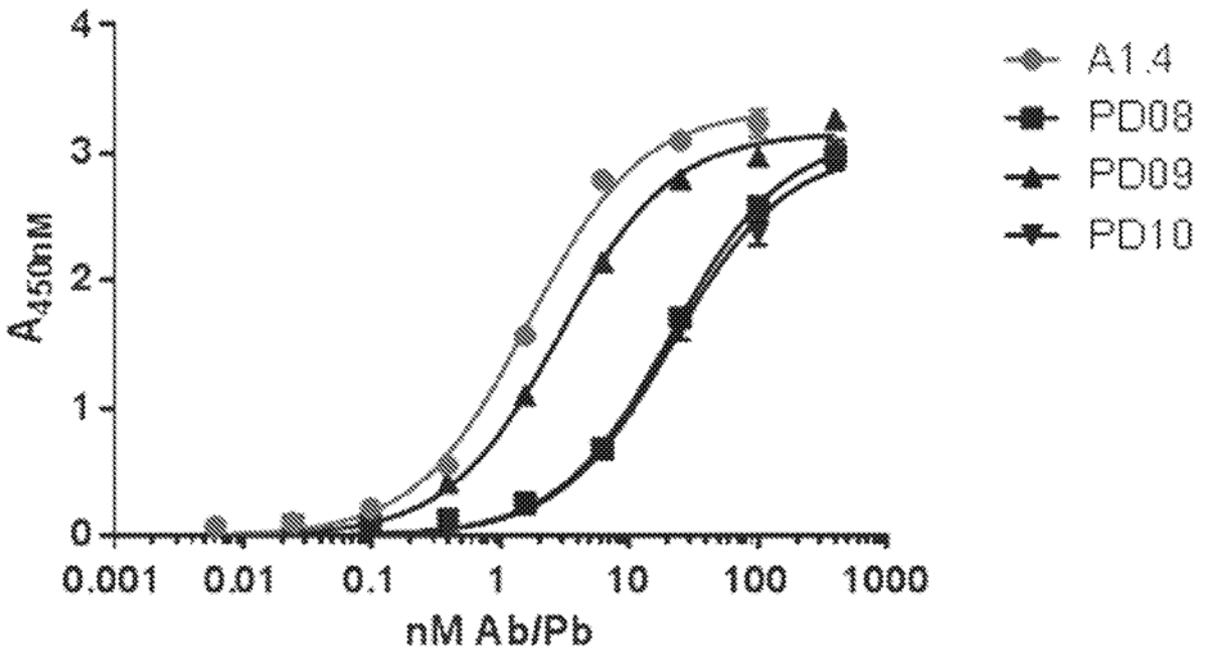
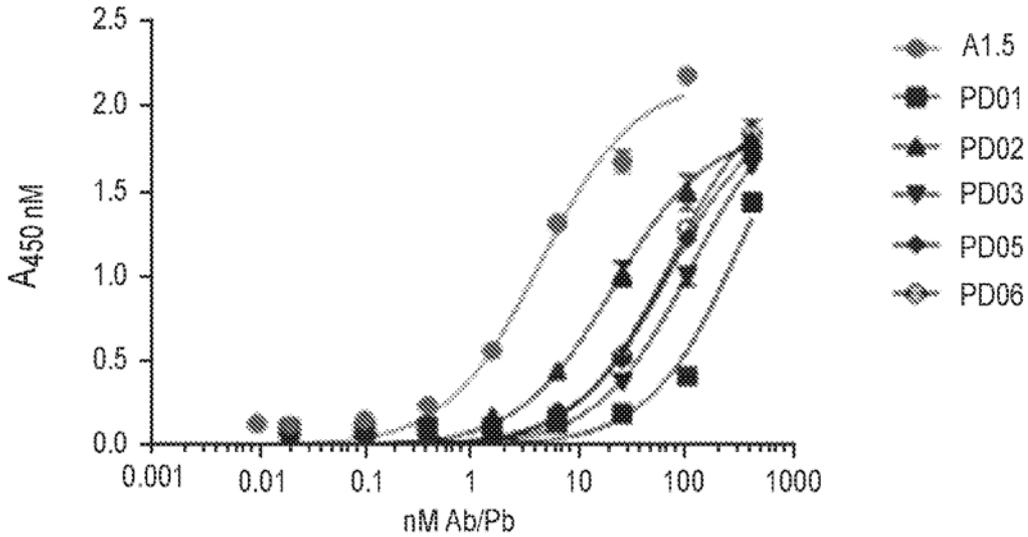


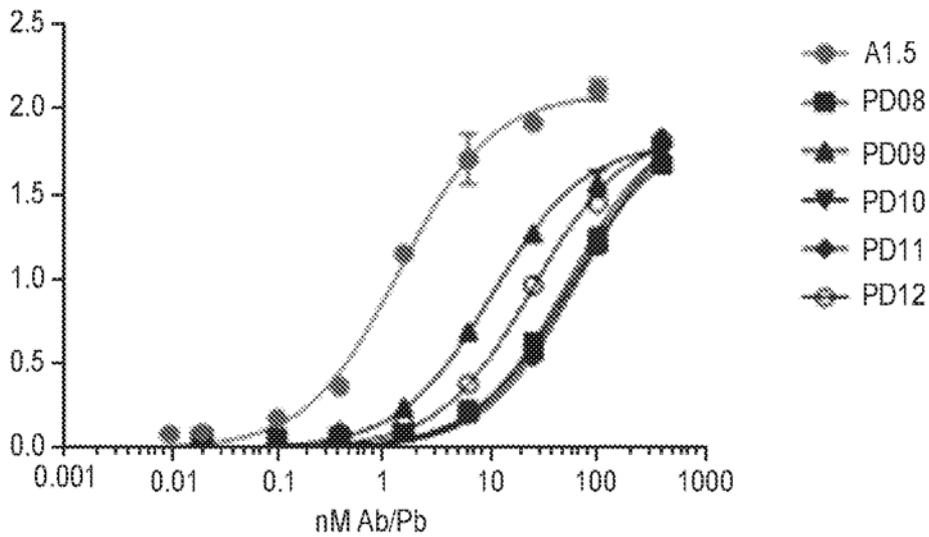
图 14

板1



	A1.5	PD01	PD02	PD03	PD05	PD06
单位点-特异性结合		命中约束 (Hit constraint)				
最佳拟合值						
Bmax	2.145	-2.500	1.852	2.091	2.009	2.158
Kd	4.259	347.8	20.64	109.3	67.61	T1.01

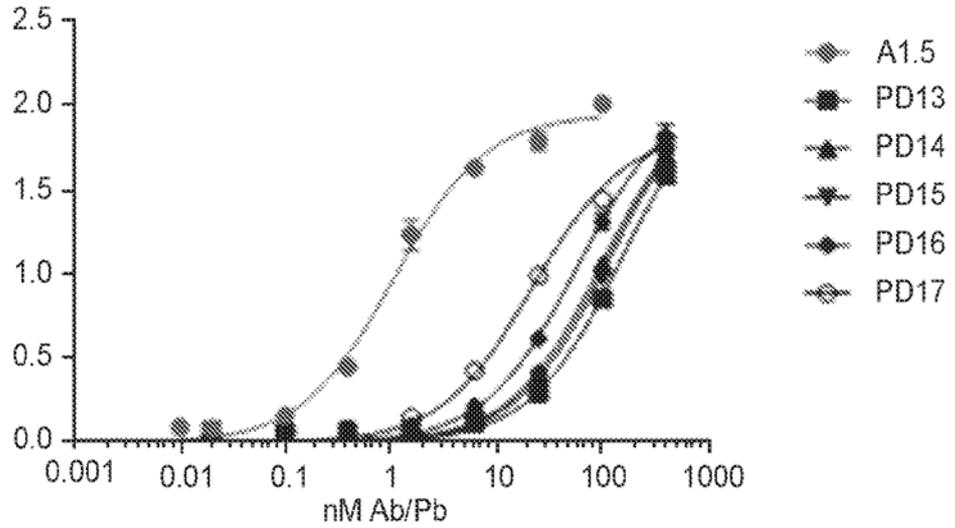
板2



	A1.5	PD08	PD09	PD10	PD11	PD12
单位点-特异性结合						
最佳拟合值						
Bmax	2.100	1.899	1.815	1.910	2.017	1.859
Kd	1.417	55.20	10.25	52.97	67.47	24.69

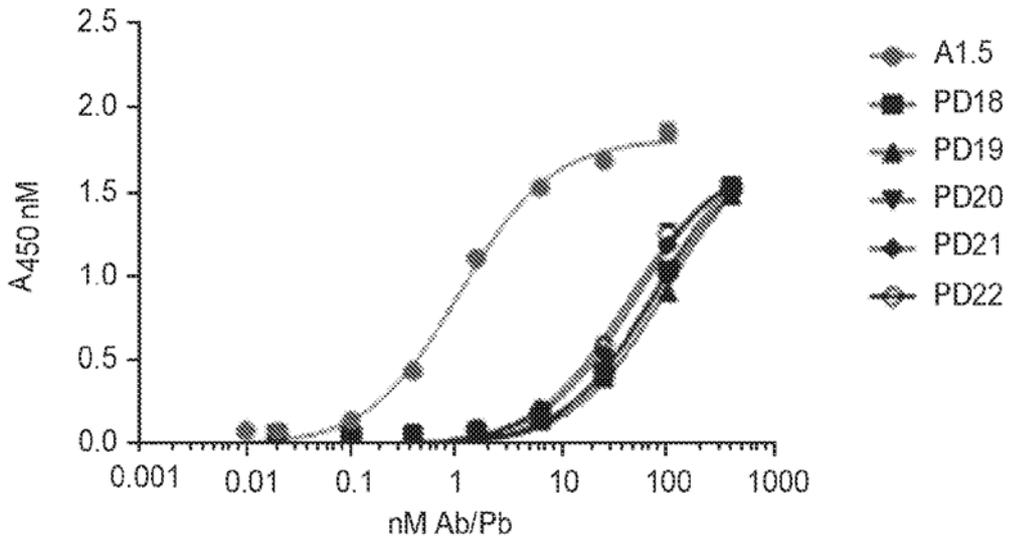
图 15

板3



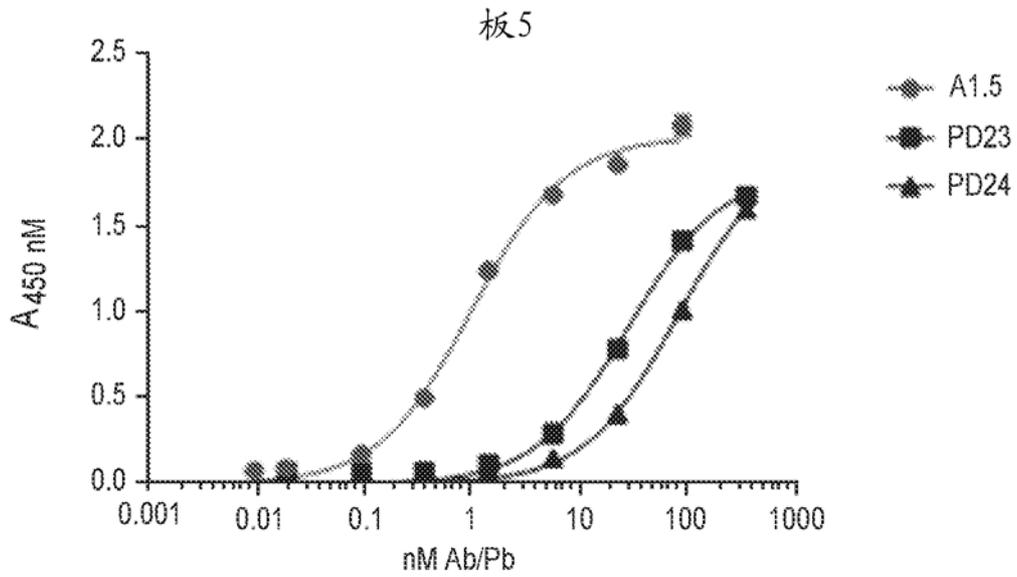
	A1.5	PD13	PD14	PD15	PD16	PD17
单位点-特异性结合		命中约束 (Hit constraint)		命中约束 (Hit constraint)		
最佳拟合值						
E _{max}	1.987	-2.200	2.162	-2.200	2.084	1.885
K _d	1.073	151.2	100.3	117.0	58.81	21.95

板4



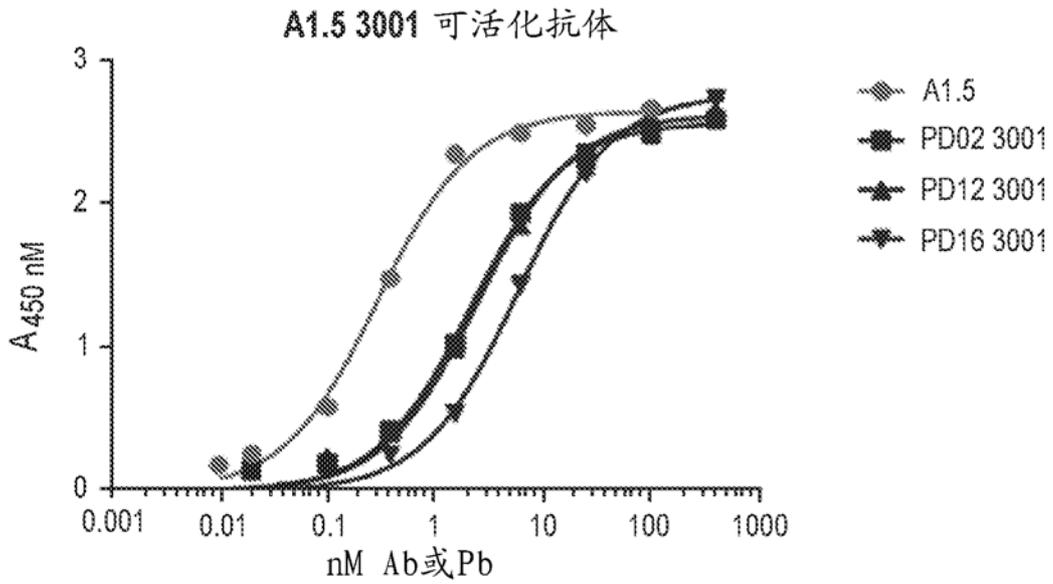
	A1.5	PD18	PD19	PD20	PD21	PD22
单位点-特异性结合						
最佳拟合值						
E _{max}	1.839	1.844	1.837	1.802	1.750	1.720
K _d	1.087	75.12	93.27	77.46	48.96	41.33

图 15续



	A 1.5	PD23	PD24
单位点-特异性结合			
最佳拟合值			
Bmax	2.049	1.847	1.993
Kd	1.086	31.37	92.42

图 15续



	A 1.5	PD02 3001	PD12 3001	PD16 3001
单位点-特异性结合				
最佳拟合值				
Bmax	2.660	2.580	2.632	2.777
Kd	0.2938	2.160	2.483	5.874

图 16

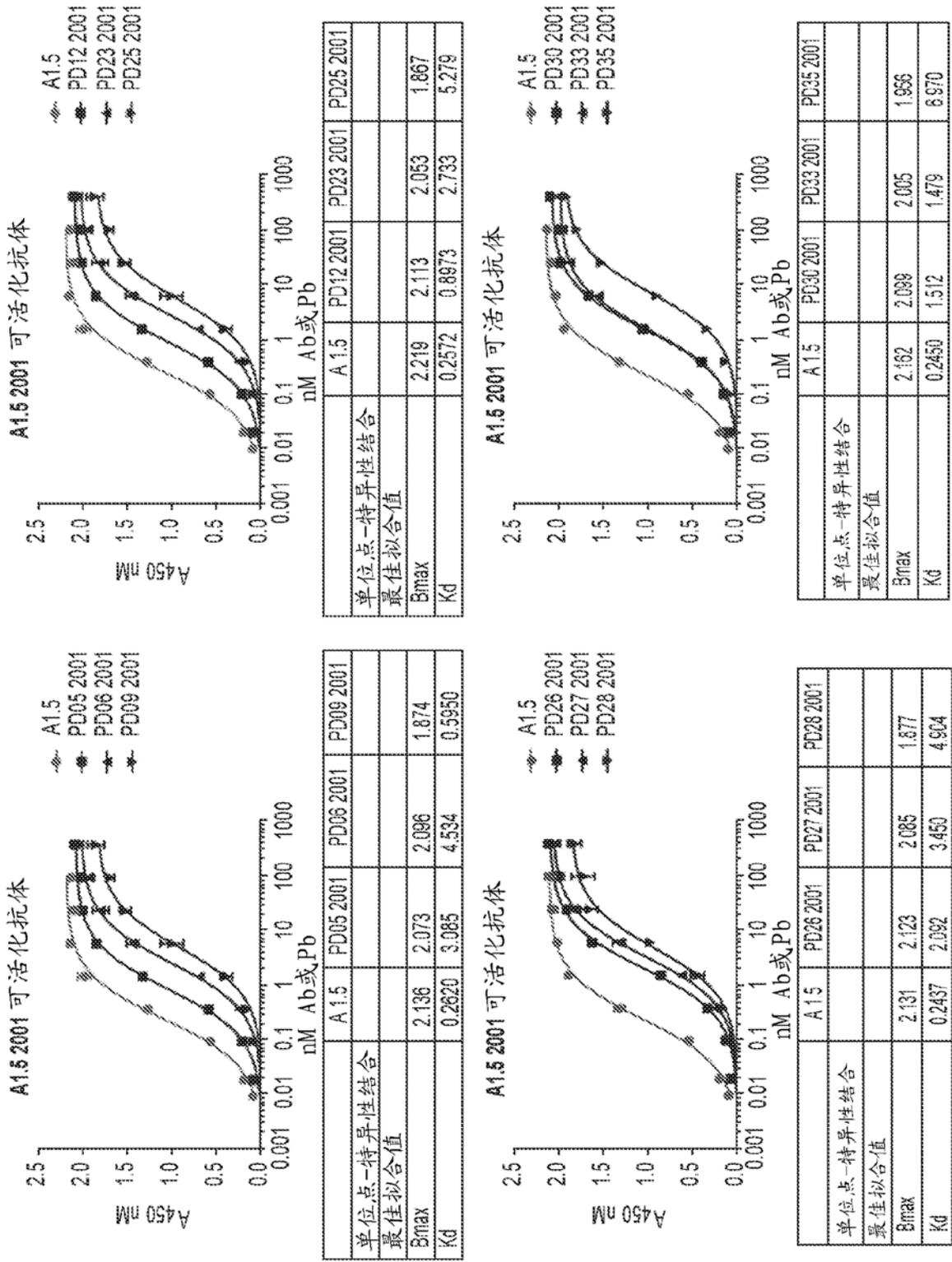


图 17

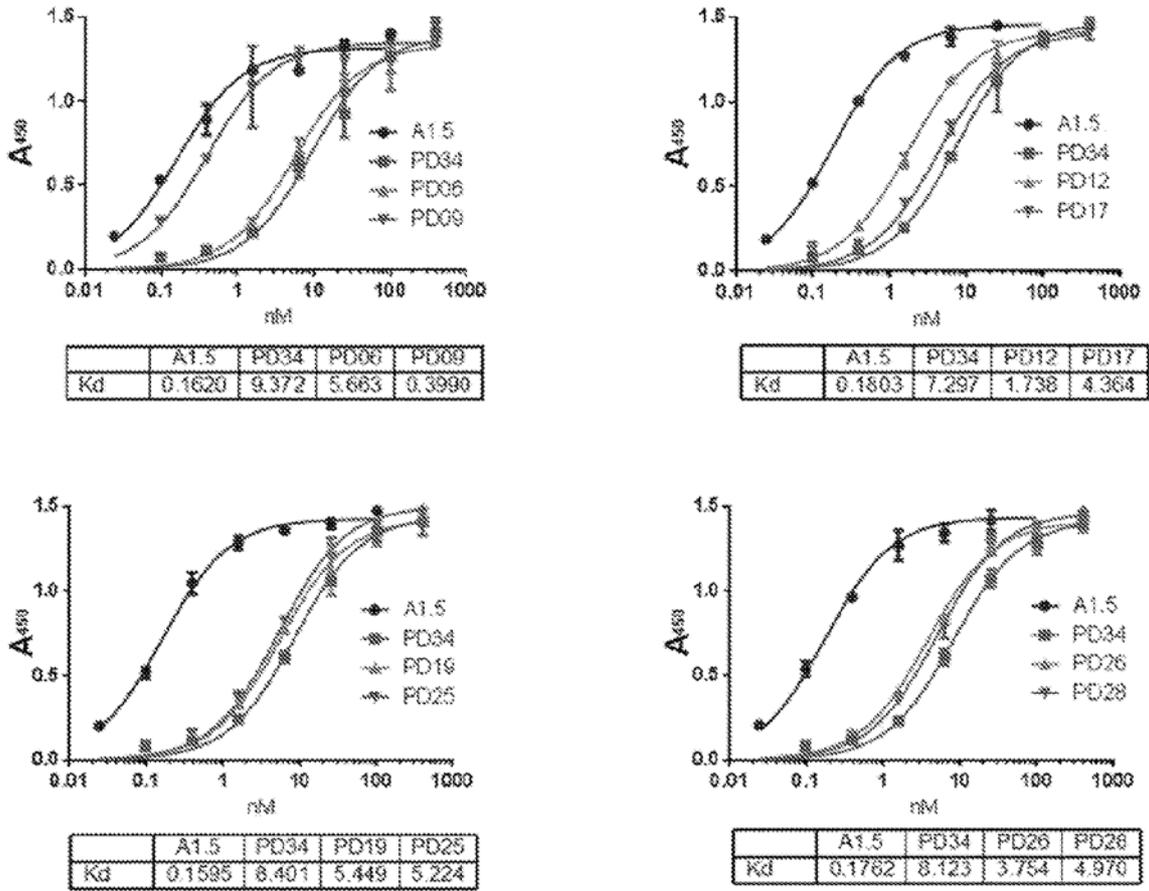


图 18

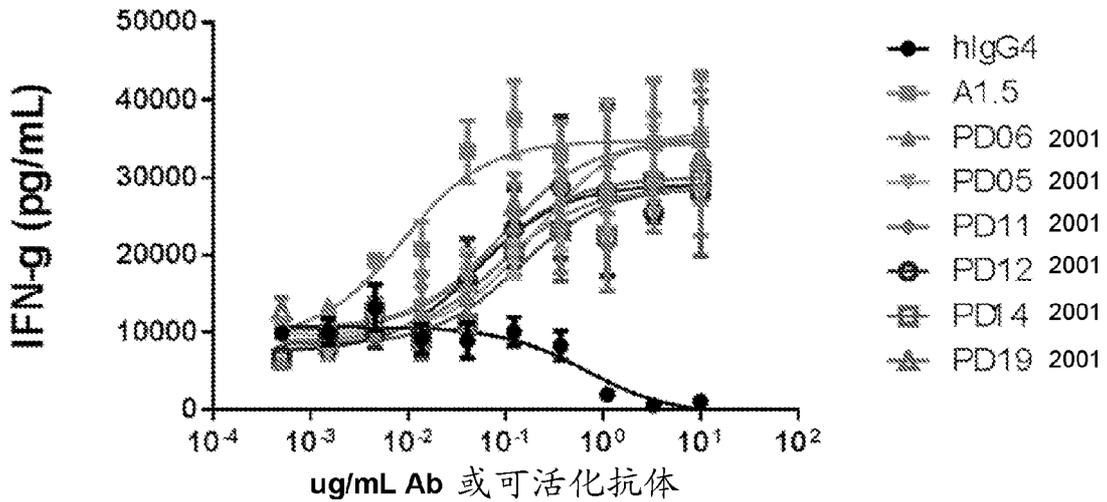
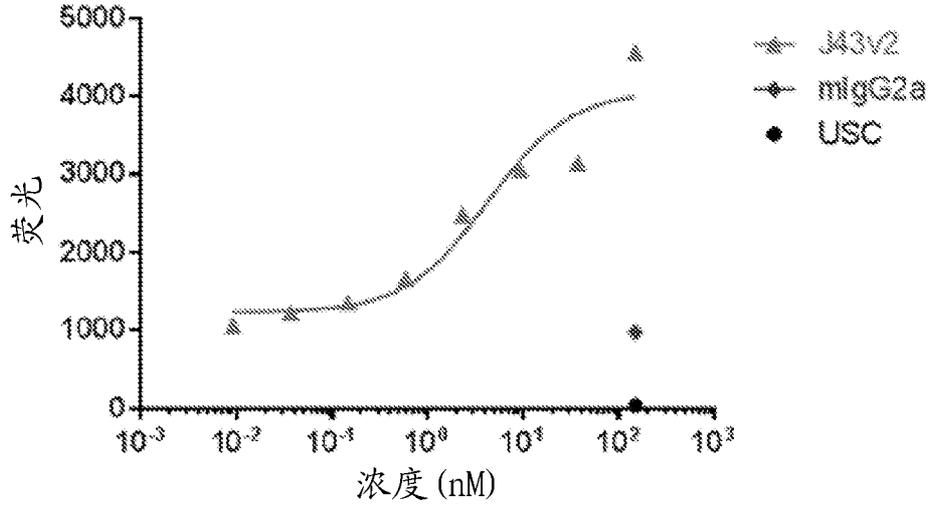


图 19

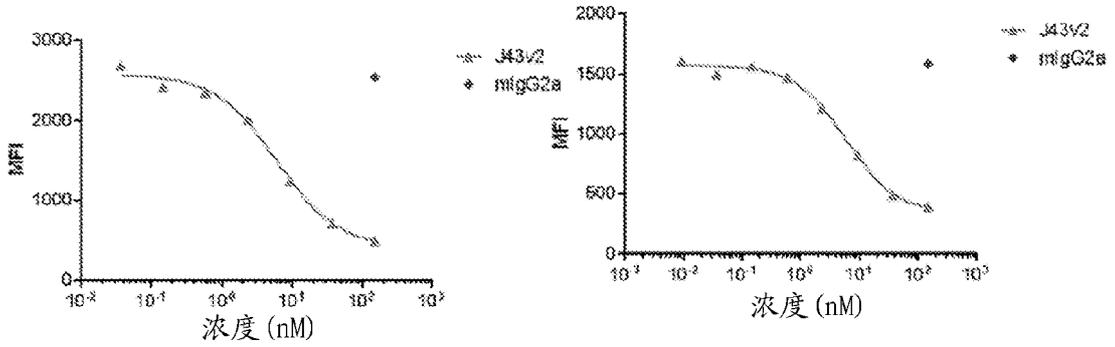
结合:



结合 EC50 (nM)
J43v2
4.308

图 20A

阻断:



	阻断 EC50 (nM)
	J43v2
生物素 -mPD-L1	6.057
生物素 -mPD-L2	5.899

图 20B

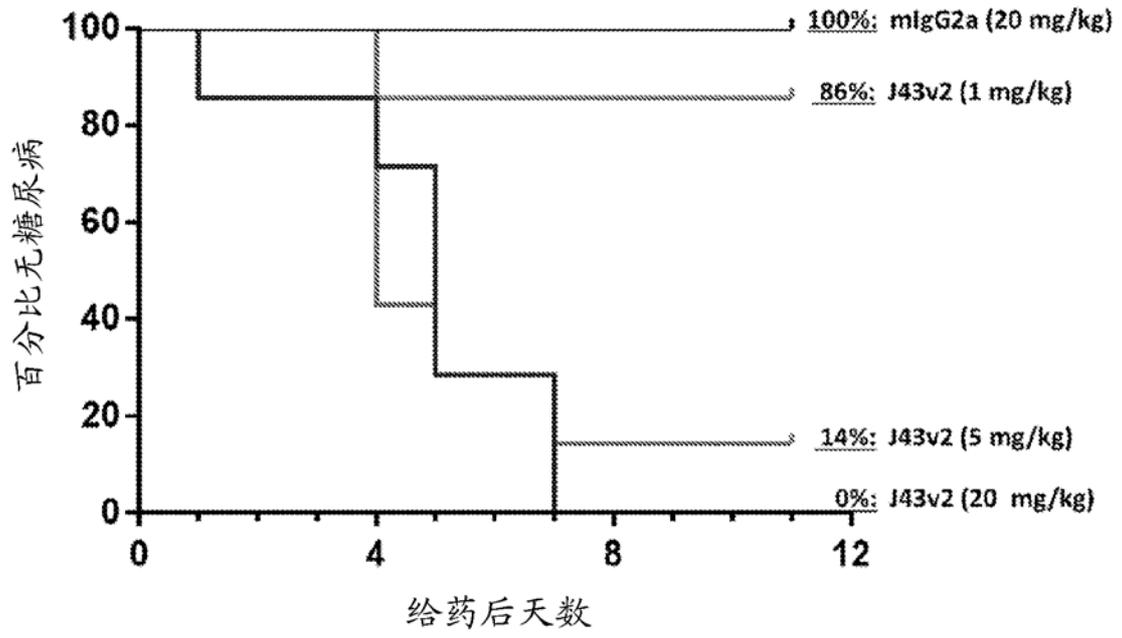


图 21

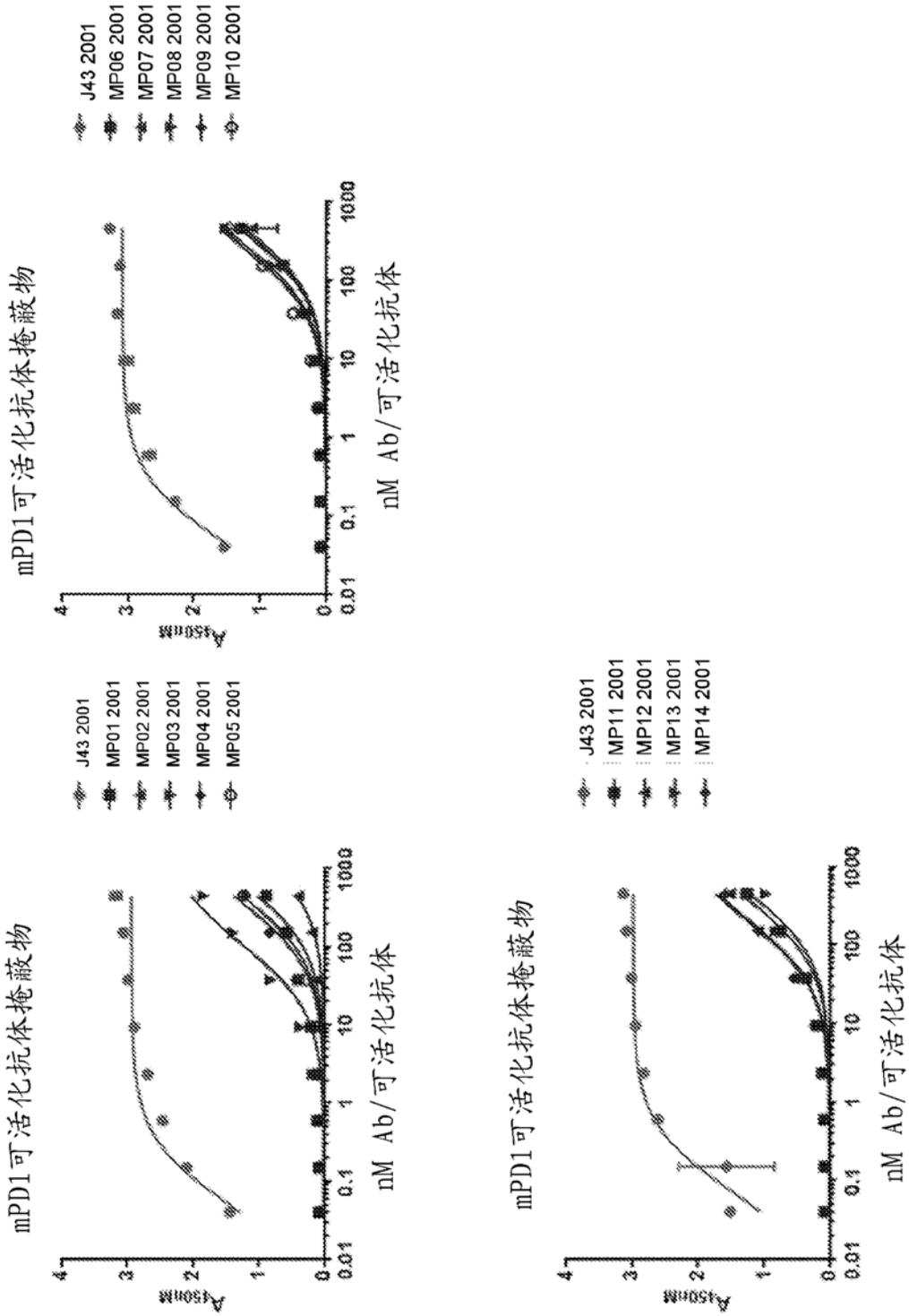


图 22

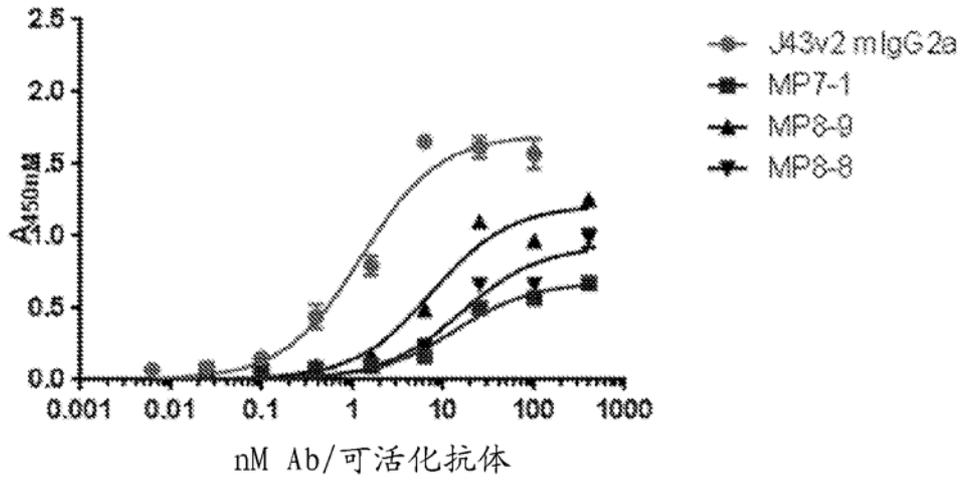
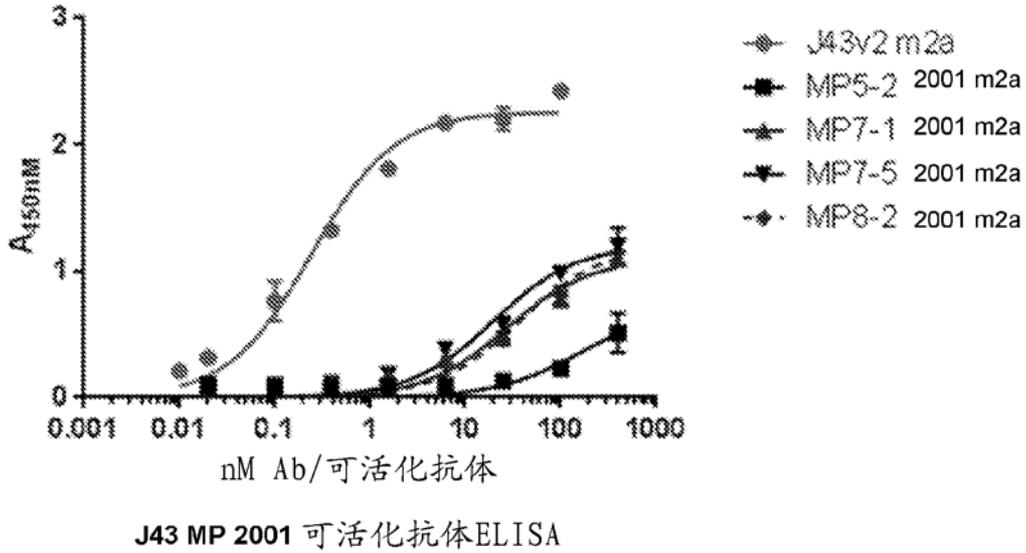


图 23

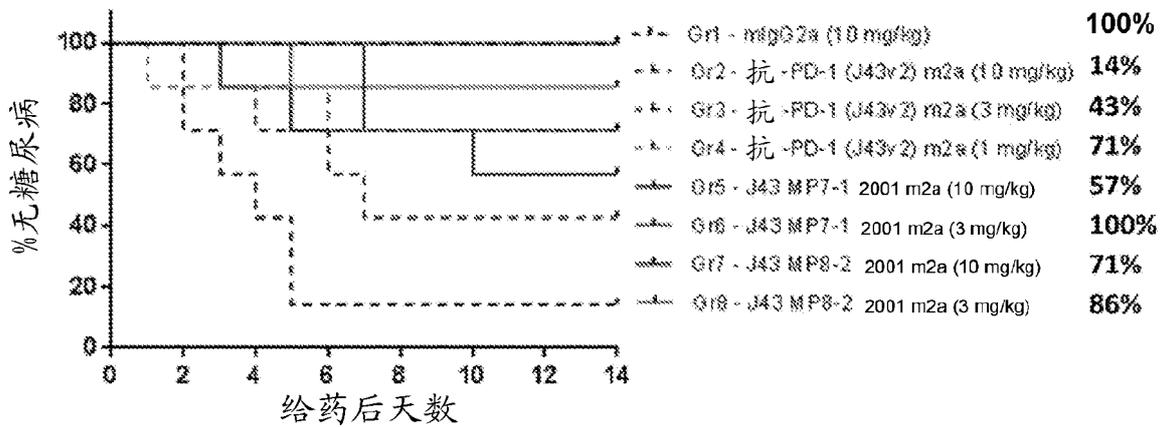


图 24

PD34底物变体 (2001, 2006, 2007, 2008, 2009) ME

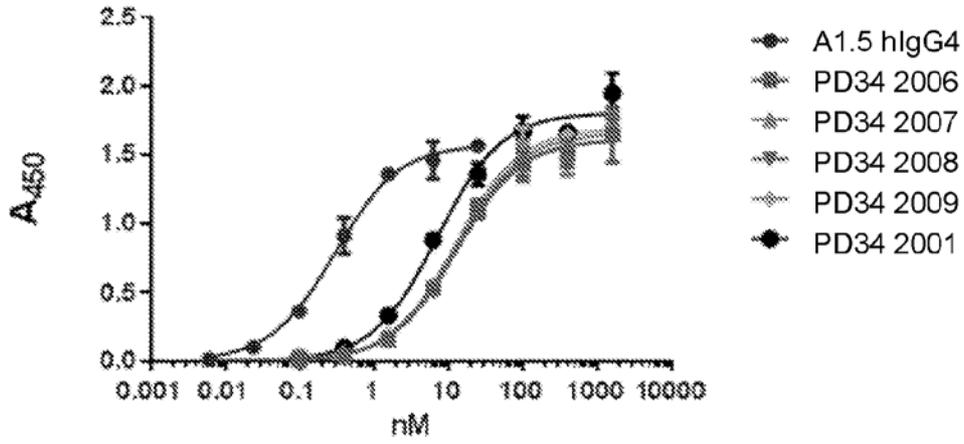


图 25A

PD34底物变体 (2001, 2003, 2009, 2011, 2012) ME

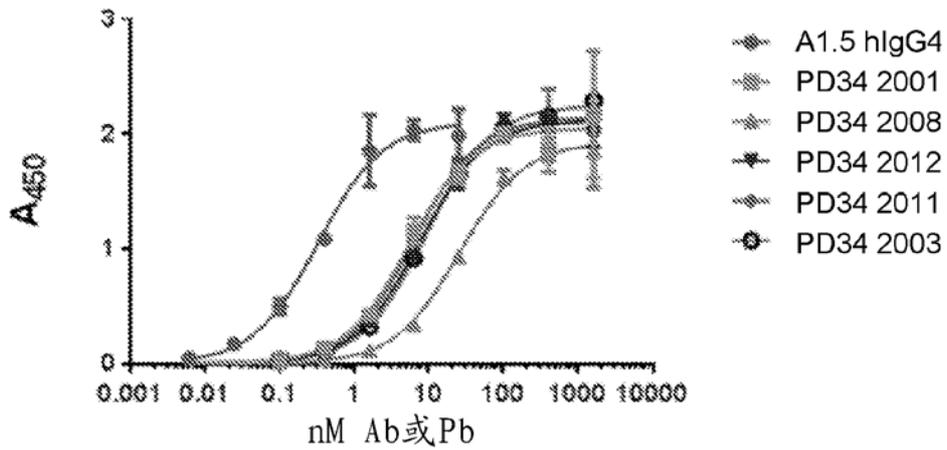


图 25B

NV0 Pb ME ELISA

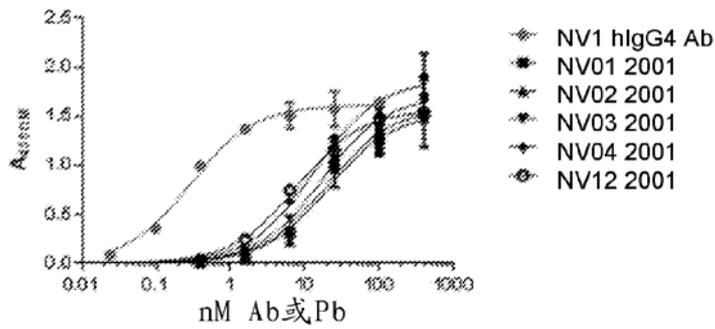


图 26A

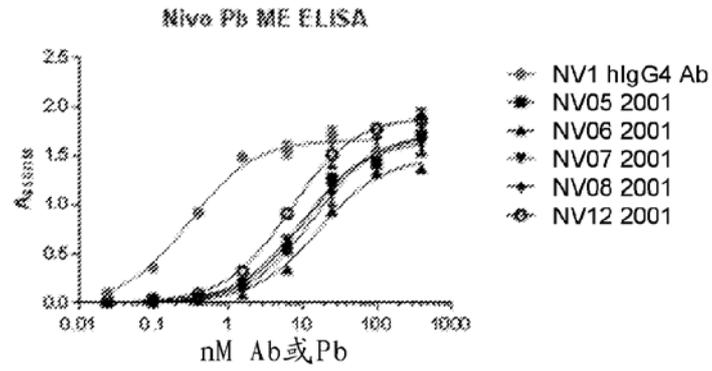


图 26B

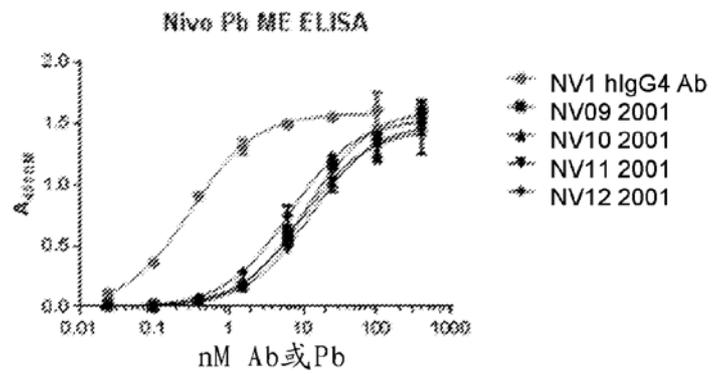


图 26C

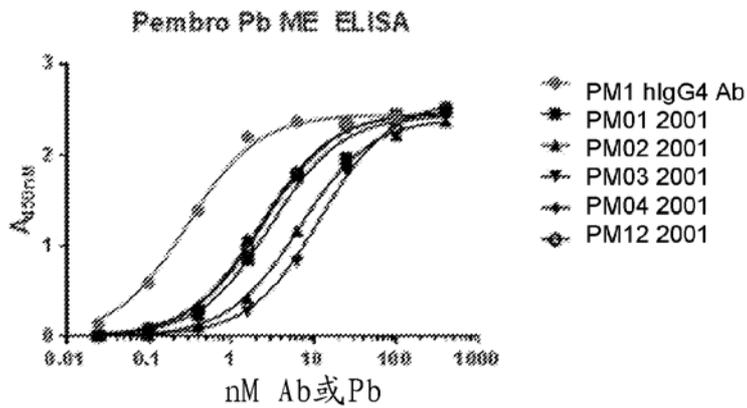


图 27A

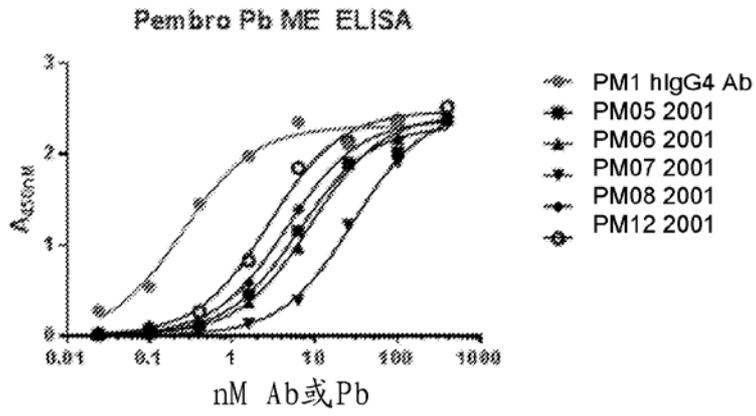


图 27B

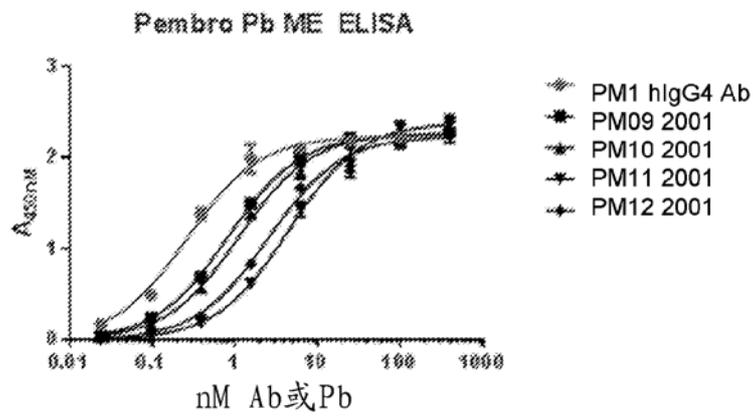


图 27C

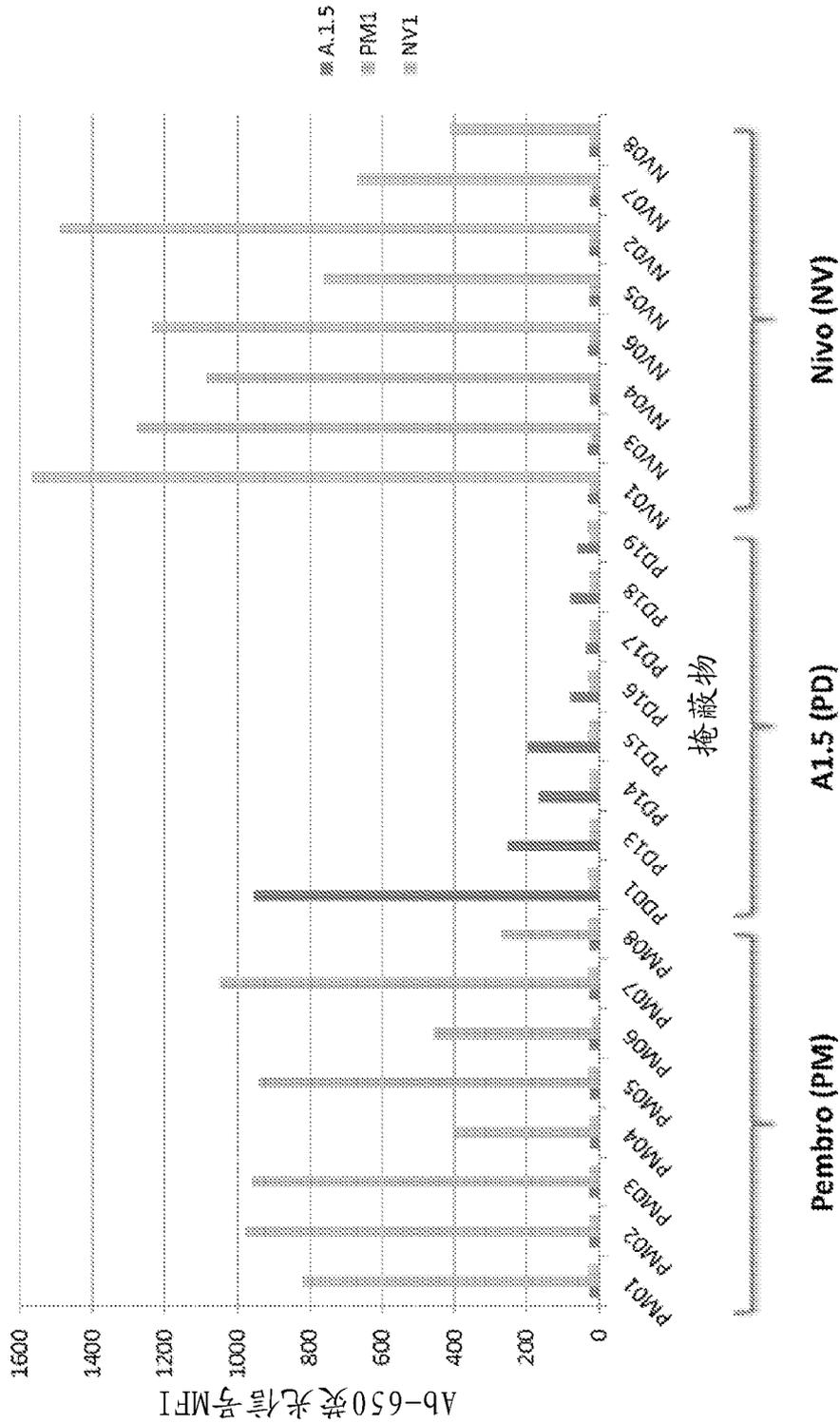


图 28

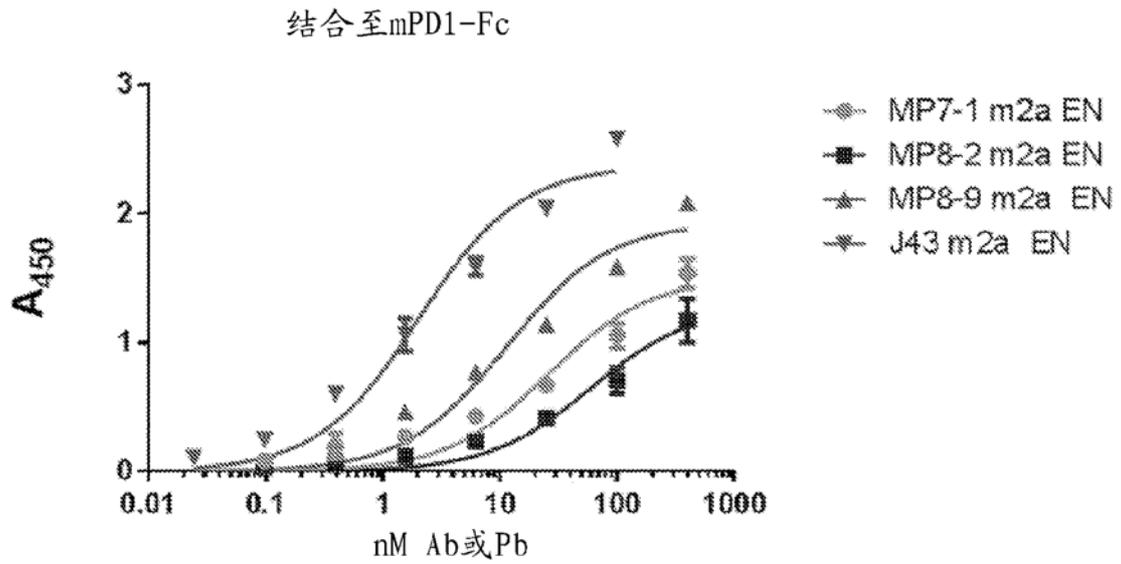


图 29A

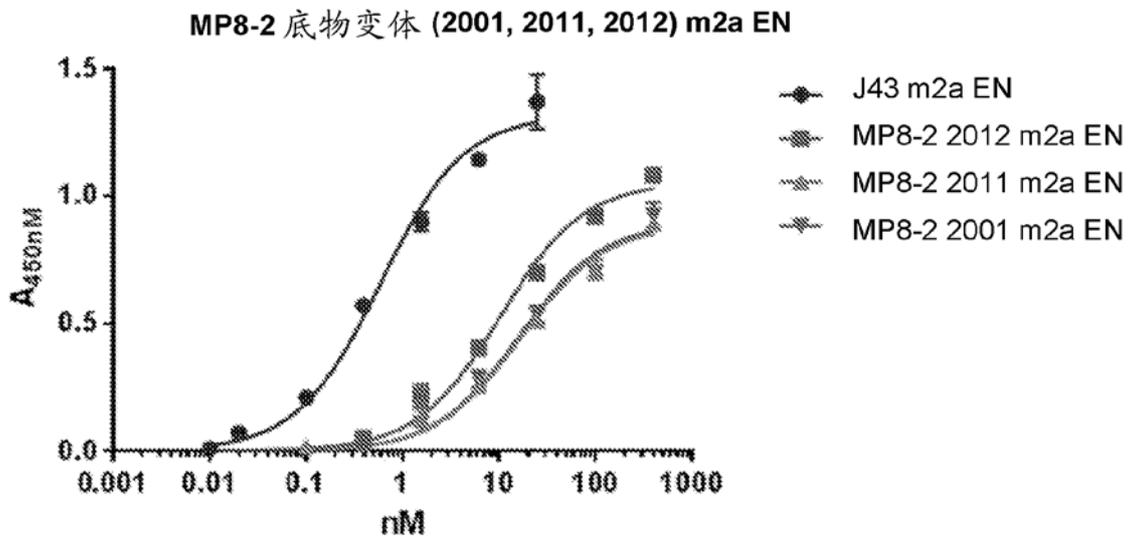


图 29B

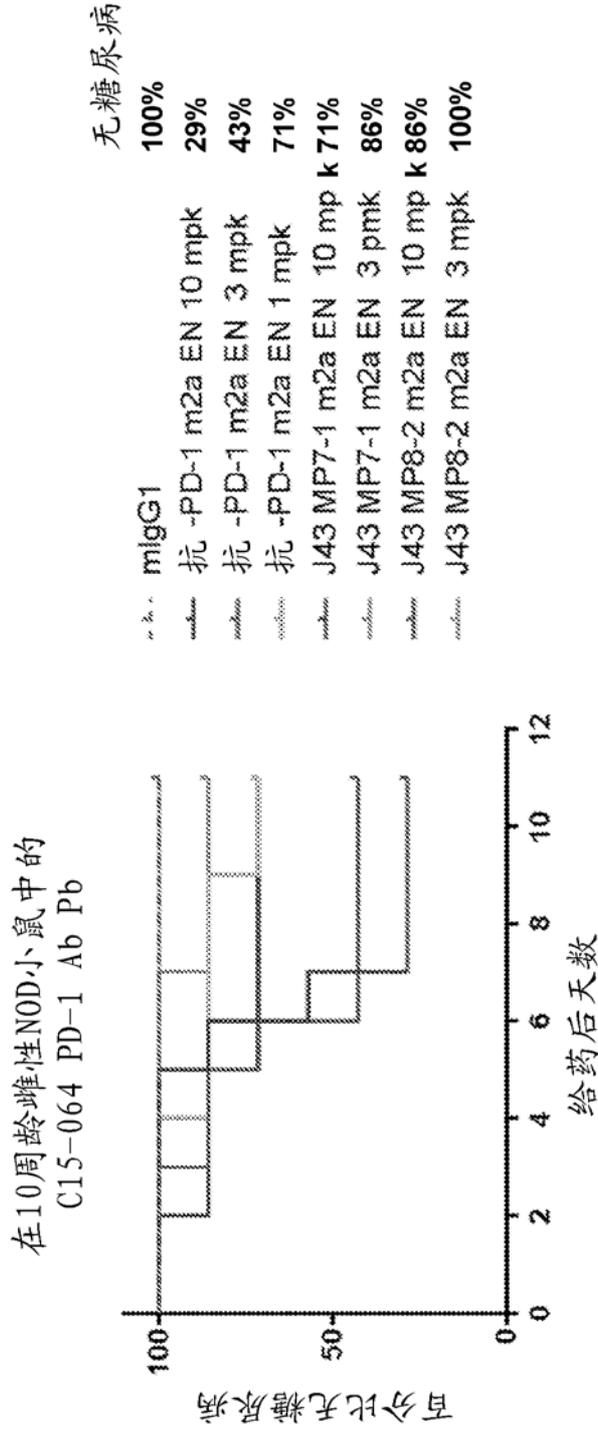


图 30

C15-052 PD1单MC38
肿瘤体积

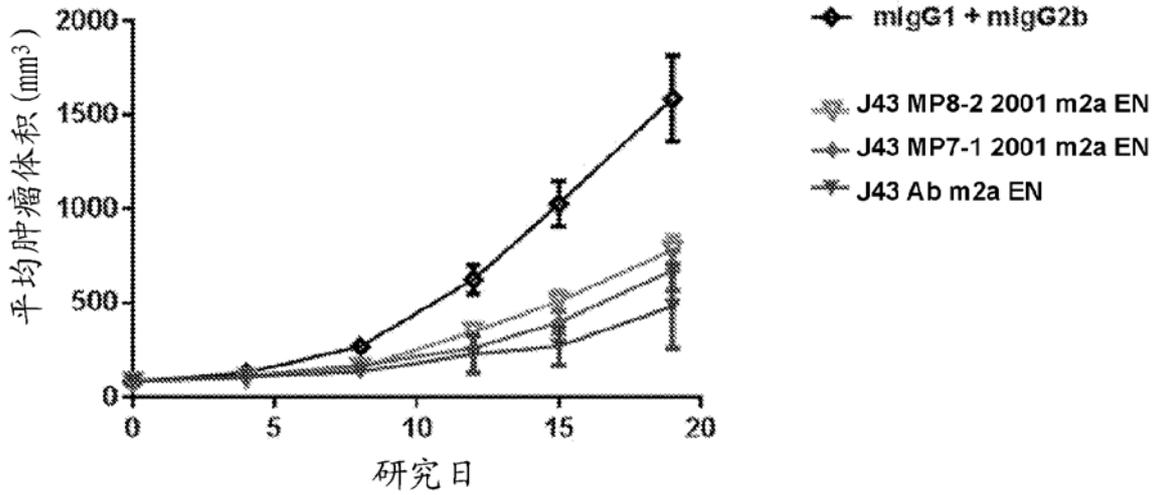


图 31A

C15-052 PD1组合MC38
肿瘤体积

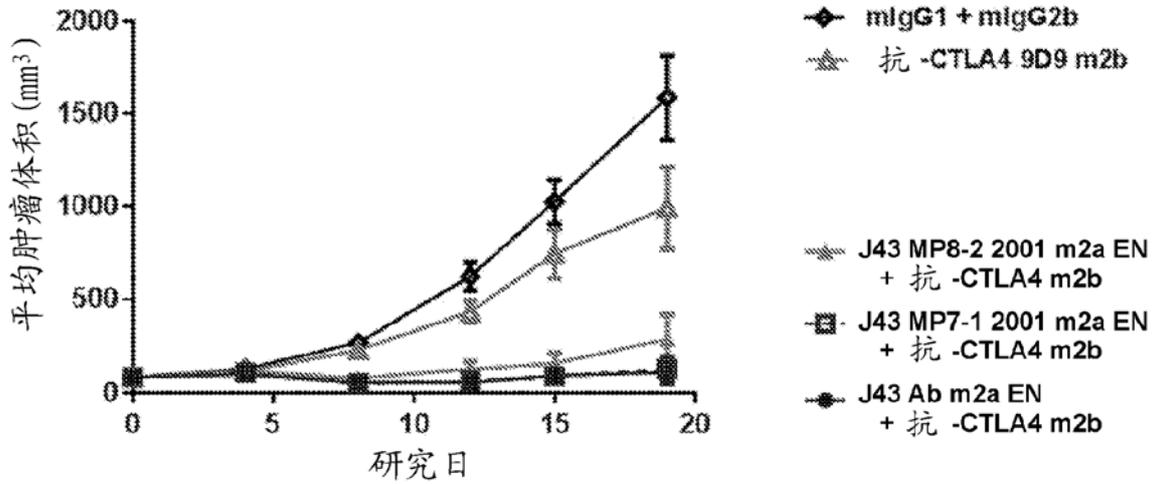


图 31B

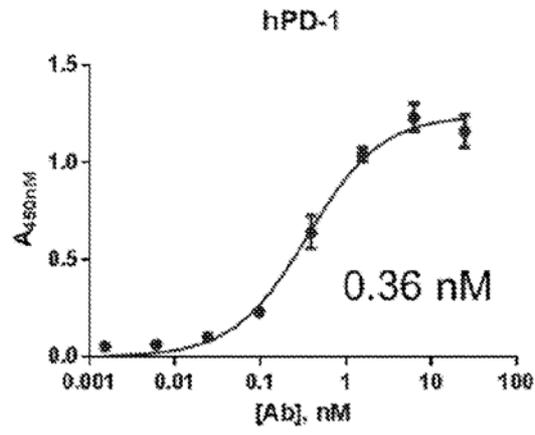


图 32A

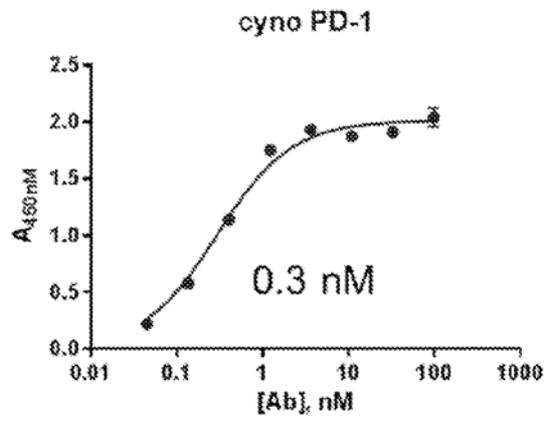


图 32B

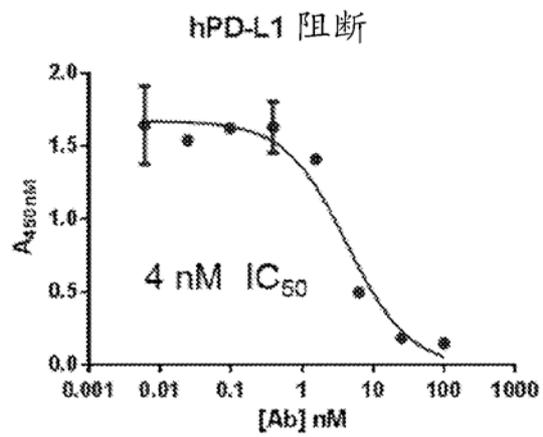


图 32C

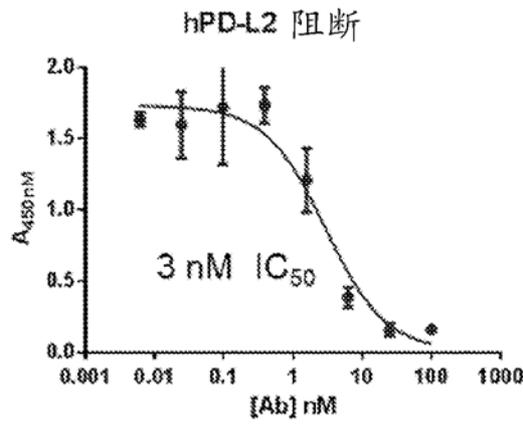


图 32D

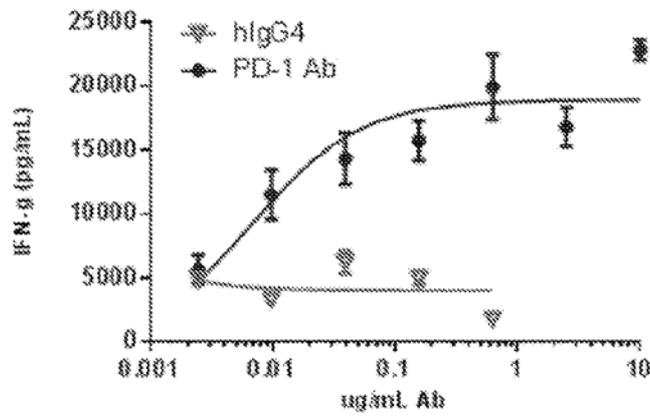


图 32E

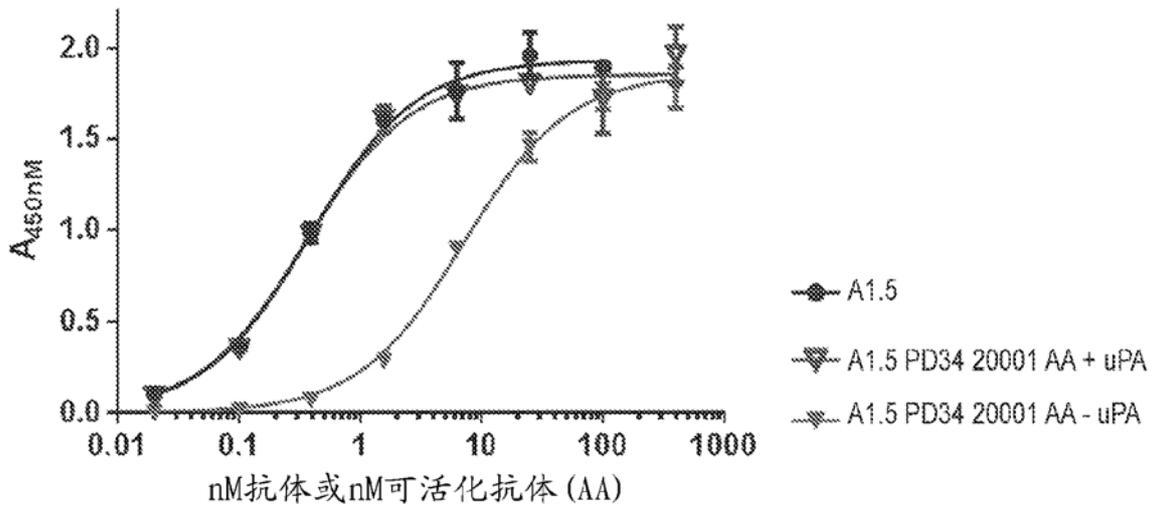


图 33A

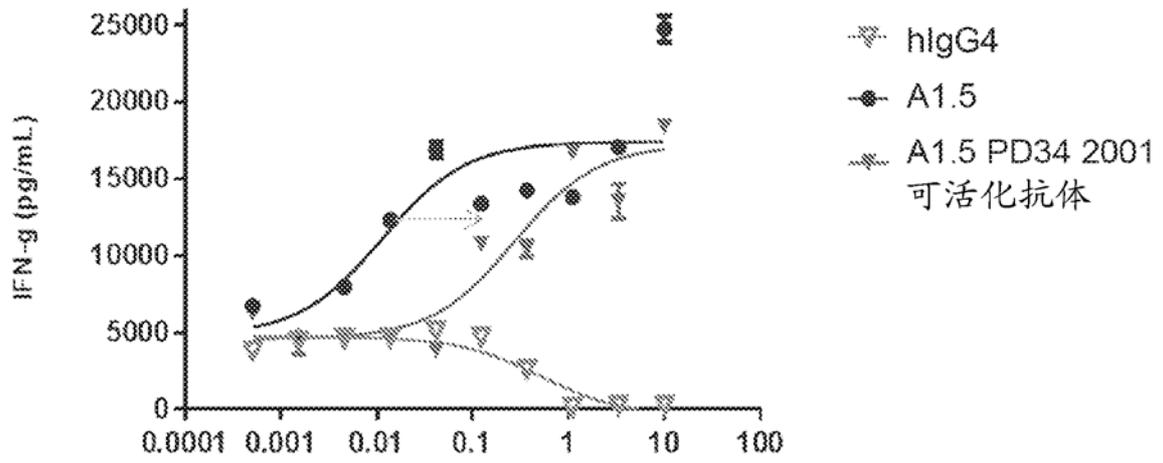
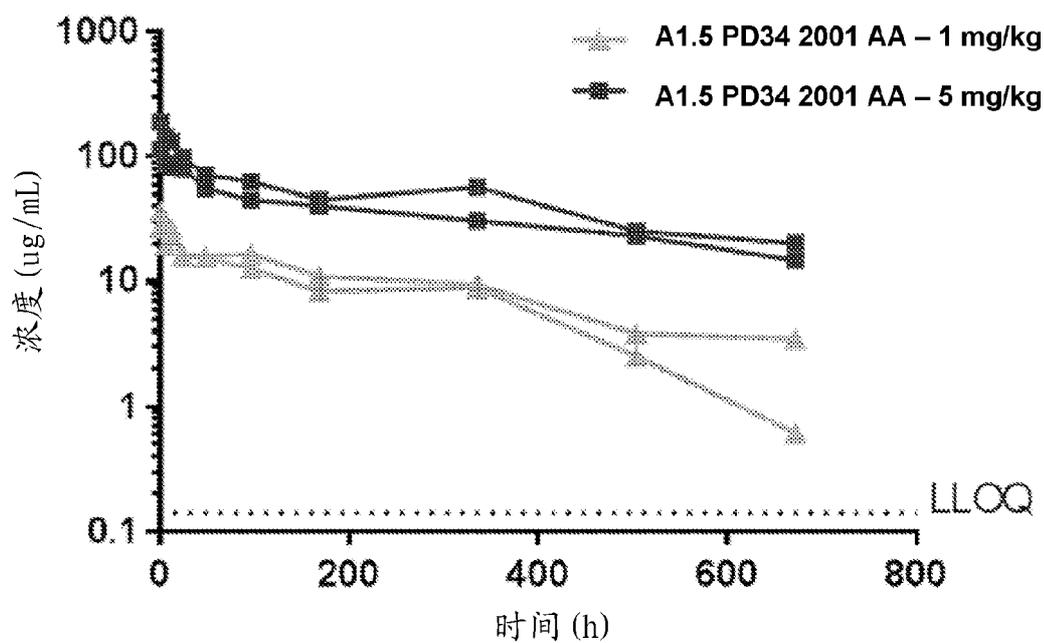


图 33B



测试物	剂量 (mg/kg)	$t_{1/2}$ (天)	C_{max} (ug/mL)	AUC _{最后} (天 * ug/mL)
A1.5 PD34 2001 可活化抗体	1	8.5	32.1	228.8
	5	14.1	153.1	1132.2
A1.5 抗体	1	8.3	34.1	184.1
	5	8.7	150.8	544.0

图 34

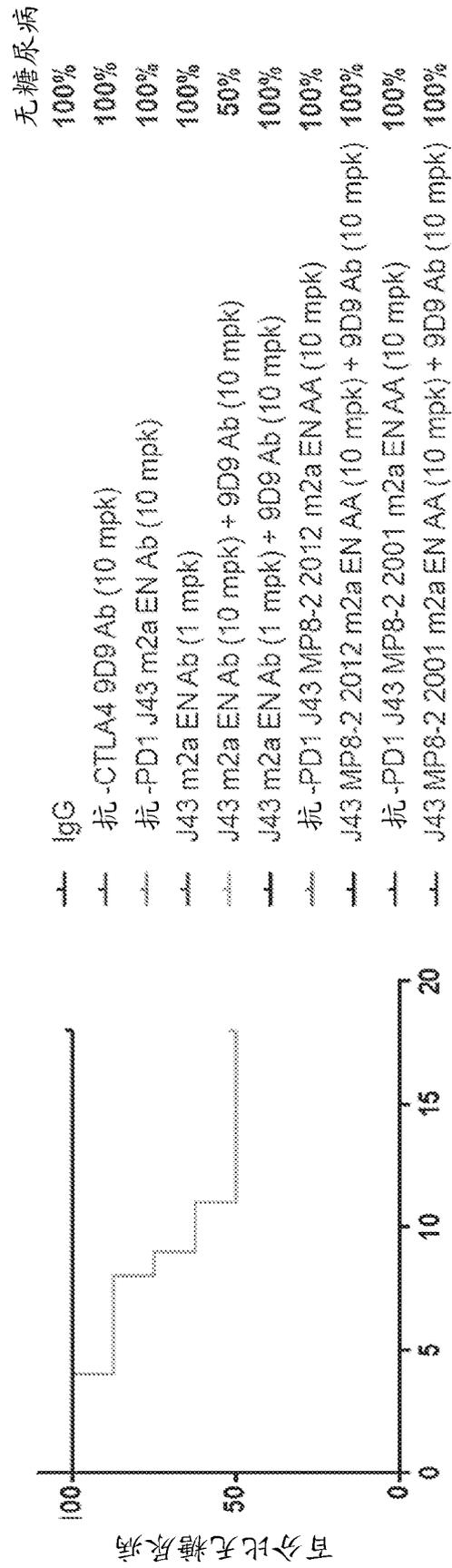


图 35

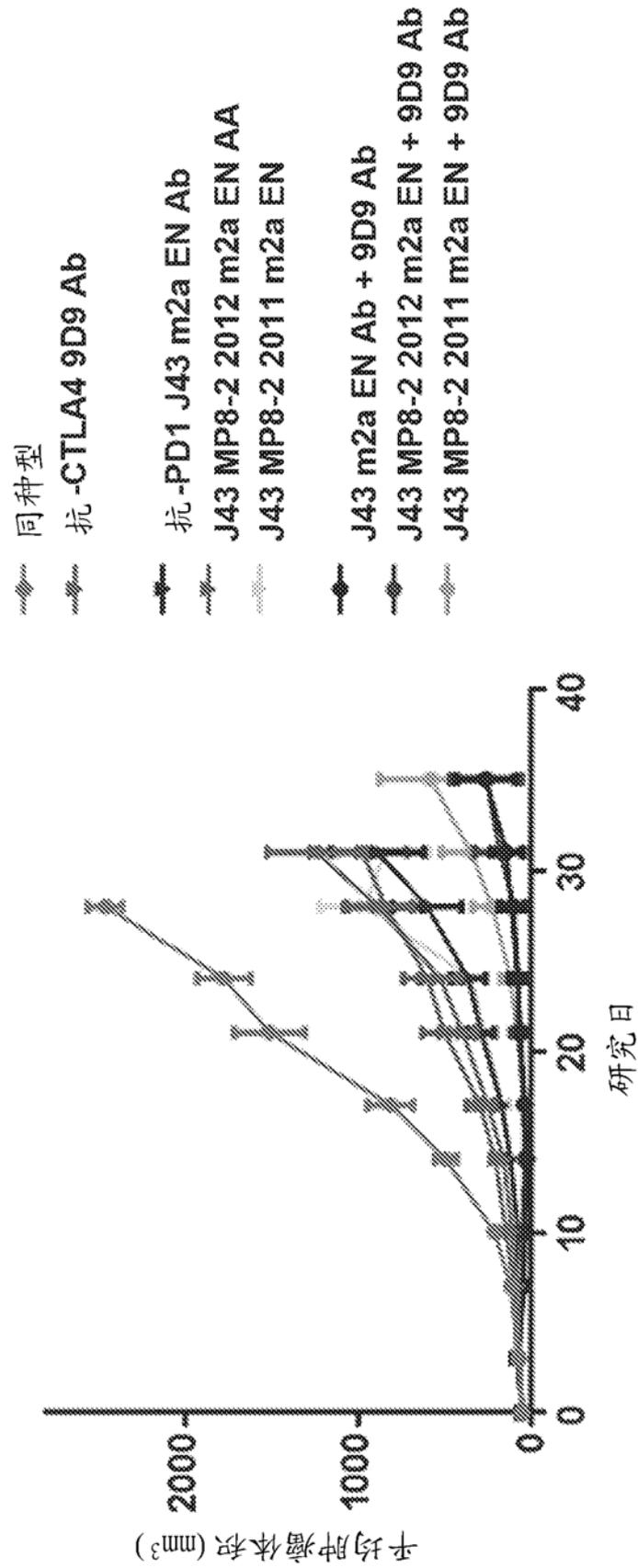


图 36

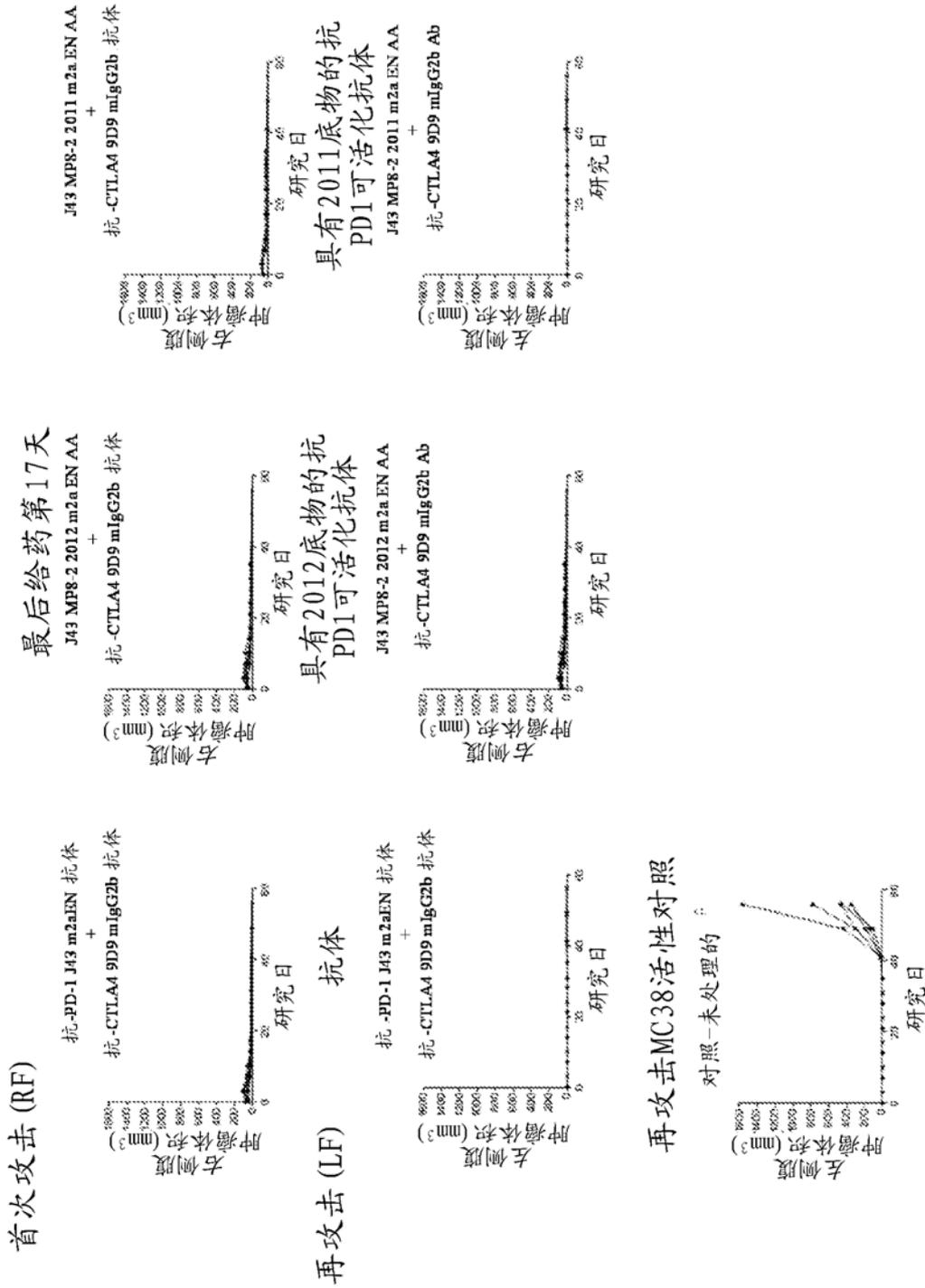


图 37

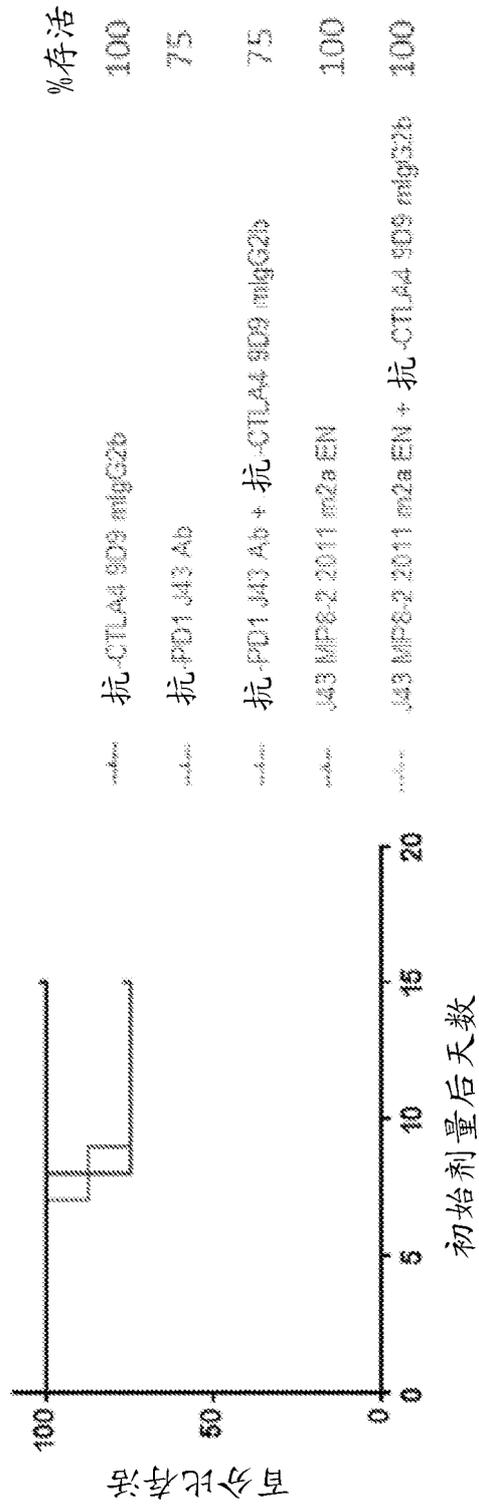


图 38

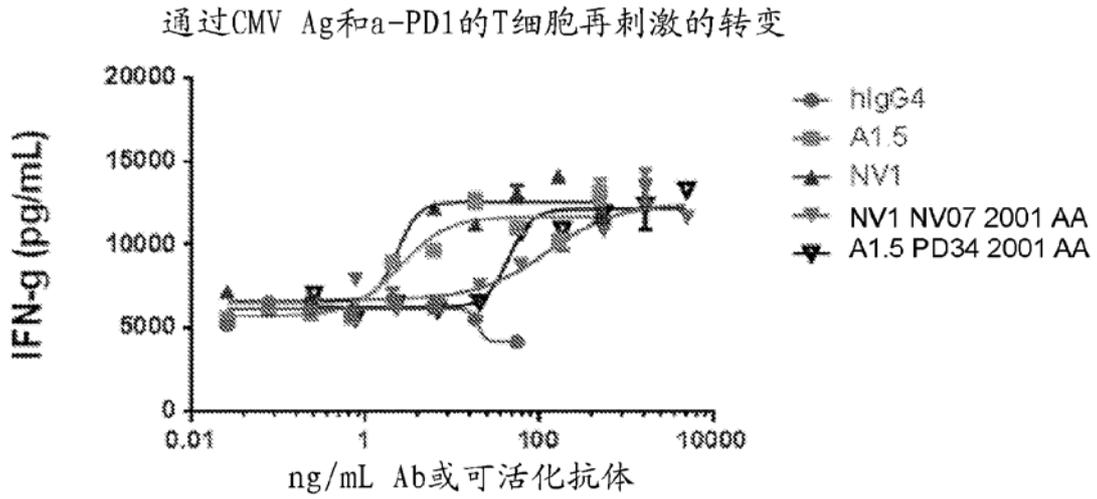


图 39

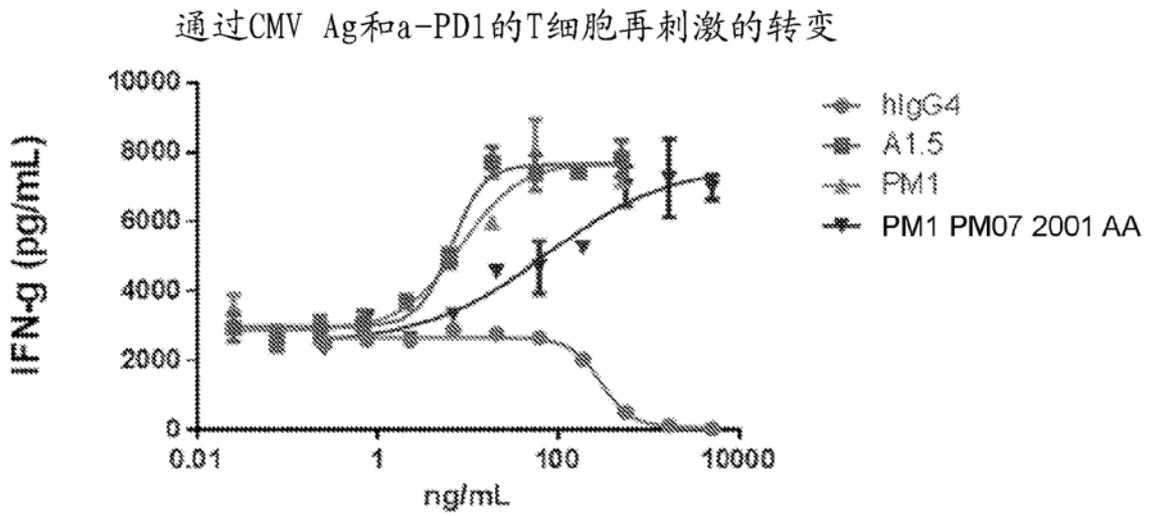


图 40