201829469

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 201829469 A

(43)公開日： 中華民國 107 (2018) 年 08 月 16 日

(21)申請案號：107100076 (22)申請日： 中華民國 107 (2018) 年 01 月 02 日

(51)Int. Cl.： *C07K16/28 (2006.01)* *A61K39/395 (2006.01)*
A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2017/01/03 歐洲專利局 17150150.5
2017/03/31 歐洲專利局 17164224.2

(71)申請人：瑞士商赫孚孟拉羅股份公司 (瑞士) F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (CH)
瑞士

(72)發明人：伏拉拉 寇勒 克勞蒂亞 FERRARA KOLLER, CLAUDIA (CH)；克勞斯 克莉絲汀娜 CLAUS, CHRISTINA (DE)；克雷恩 克里斯俊 KLEIN, CHRISTIAN (DE)；優瑪那 帕伯羅 UMANA, PABLO (CR)；徐 偉 XU, WEI (NL)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：33 項 圖式數：24 共 702 頁

(54)名稱

包含抗 4-1BB 純系 20H4.9 之雙特異性抗原結合分子

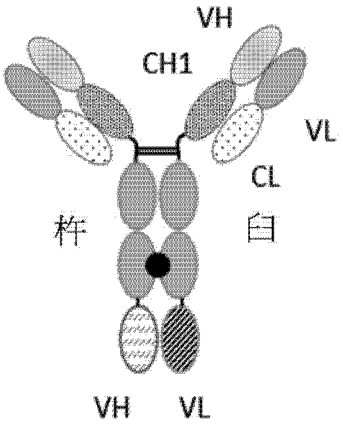
BISPECIFIC ANTIGEN BINDING MOLECULES COMPRISING ANTI-4-1BB CLONE 20H4.9

(57)摘要

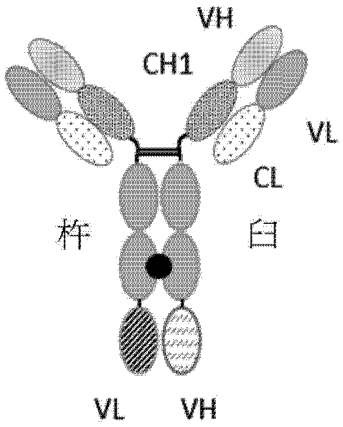
本發明係關於新的雙特異性抗原結合分子，其包含至少一個能夠特異性結合於 4-1BB 之抗原結合結構域、至少一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之部分、及由能夠穩定結合之第一及第二亞單元組成的 Fc 結構域，且關於產生此等分子之方法及其使用方法。

The invention relates to new bispecific antigen binding molecules, comprising at least one antigen binding domain capable of specific binding to 4-1BB, at least one moiety capable of specific binding to a target cell antigen, and a Fc domain composed of a first and a second subunit capable of stable association, and to methods of producing these molecules and to methods of using the same.

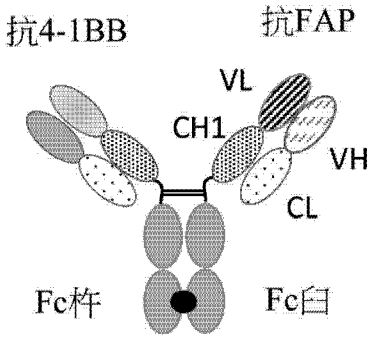
指定代表圖：


VH
CH1
VL
CL
杵
臼
VH
VL

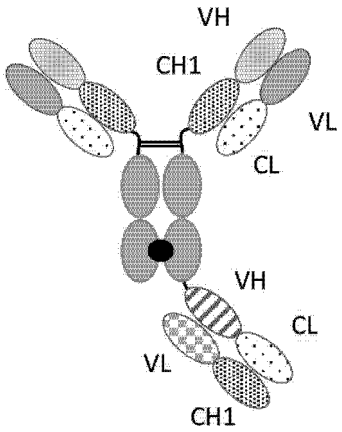
【圖1A】


VH
CH1
VL
CL
杵
臼
VL
VH

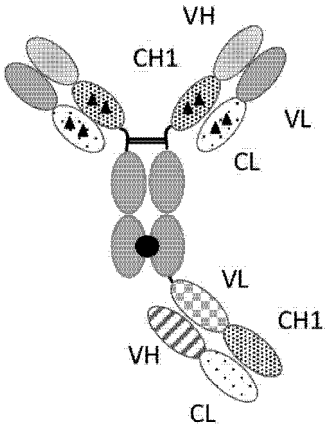
【圖1B】


抗4-1BB
抗FAP
VL
CH1
VH
CL
Fc杵
Fc臼

【圖1C】



【圖1D】



【圖1E】

【發明說明書】

【中文發明名稱】

包含抗4-1BB純系20H4.9之雙特異性抗原結合分子

【英文發明名稱】

BISPECIFIC ANTIGEN BINDING MOLECULES COMPRISING ANTI-4-1BB CLONE 20H4.9

【技術領域】

本發明係關於新的雙特異性抗原結合分子，其包含至少一個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域、至少一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之部分及由能夠穩定結合之第一及第二亞單元組成的Fc結構域。本發明進一步關於此等分子之製備方法及其使用方法。

【先前技術】

4-1BB (CD137)係TNF受體超家族之成員，已最先鑑別為由T細胞活化誘導表現之分子(Kwon Y.H.及Weissman S.M. (1989), Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 1963-1967)。後續研究證實4-1BB於T-及B-淋巴細胞(Snell L.M.等人. (2011) Immunol. Rev. 244, 197-217或Zhang X.等人(2010), J. Immunol. 184, 787-795)、NK細胞(Lin W.等人. (2008), Blood 112, 699-707)、NKT細胞(Kim D.H.等人. (2008), J. Immunol. 180, 2062-2068)、單核細胞(Kienzle G.及von Kempis J. (2000), Int. Immunol. 12, 73-82或Schwarz H.等人(1995), Blood 85, 1043-1052)、嗜中性白細胞(Heinisch I.V.等人(2000), Eur. J. Immunol. 30, 3441-3446)、肥大細胞(Nishimoto H.等人. (2005), Blood 106, 4241-4248)，及樹突狀細胞以及非造血來源之細胞，諸如內皮細胞及平滑肌細胞(Broll K.等人. (2001),

Am. J. Clin. Pathol. 115, 543-549 或 Olofsson P.S. 等人. (2008), Circulation 117, 1292-1301)中之表現。4-1BB於不同細胞類型中之表現大部分可由各種刺激信號誘導及驅動，諸如T細胞受體(TCR)或B細胞受體觸發，以及經共刺激分子或促炎性細胞激素受體誘導之信號傳導(Diehl L. 等人. (2002), J. Immunol. 168, 3755-3762；von Kempis J.等人. (1997), Osteoarthritis Cartilage 5, 394-406；Zhang X.等人. (2010), J. Immunol. 184, 787-795)。

已知CD137信號傳導刺激IFNγ分泌及NK細胞增殖(Buechele C.等人. (2012), Eur. J. Immunol. 42, 737-748；Lin W.等人. (2008), Blood 112, 699-707；Melero I.等人. (1998), Cell Immunol. 190, 167-172)以及促進DC活化，由其存活率提高及分泌細胞激素及上調共刺激分子之能力指示(Choi B. K.等人. (2009), J. Immunol. 182, 4107-4115；Futagawa T.等人. (2002), Int. Immunol. 14, 275-286；Wilcox R. A.等人. (2002), J. Immunol. 168, 4262-4267)。然而，CD137最佳表徵為共刺激分子，其調節T細胞之$CD4^+$及$CD8^+$子集中TCR誘導之活化。與TCR觸發組合，促效4-1BB特異性抗體提高T細胞之增殖、刺激淋巴激素分泌及降低T-淋巴細胞對活化誘導之細胞死亡的靈敏度(Snell L.M.等人. (2011) Immunol. Rev. 244, 197-217)。符合4-1BB抗體對T細胞之此等活體外共刺激作用，其投與腫瘤攜帶小鼠導致許多實驗腫瘤模型中的強抗腫瘤作用(Melero I. 等人. (1997), Nat. Med. 3, 682-685；Narazaki H.等人. (2010), Blood 115, 1941-1948)。活體內耗乏實驗表明$CD8^+$ T細胞在4-1BB特異性抗體之抗腫瘤作用中起最重要作用。然而，視包括抗4-1BB之腫瘤模型或組合療法而定，已報導其它類型之細胞(諸如DC、NK細胞或$CD4^+$ T細胞)的貢

獻(Murillo O.等人. (2009), Eur. J. Immunol. 39, 2424-2436；Stagg J.等人. (2011), Proc. Natl. Acad. Sci. USA 108, 7142-7147)。

4-1BB促效抗體之活體內免疫調節特性似乎需要抗體分子上存在野生型Fc部分，由此暗示Fc受體結合為此類試劑之藥理學活性所需的重要事件，如已經針對對TNFR超家族之其他細胞凋亡誘發或免疫調節成員具有特異性之促效抗體所述(Li F.及Ravetch J.V. (2011), Science 333, 1030-1034；Teng M.W.等人. (2009), J. Immunol. 183, 1911-1920)。然而，全身性投與具有功能活性Fc結構域之4-1BB特異性促效抗體亦誘發與肝臟毒性有關的$CD8^+$ T細胞之擴展(Dubrot J.等人. (2010), Cancer Immunol. Immunother. 59, 1223-1233)，此在小鼠體內在無功能性Fc受體存在下減弱或顯著改善。

優瑞路單抗(Urelumab)(BMS-666513，純系10C7)係結合於4-1BB細胞外結構域之完全人類促效非配位體阻斷單株IgG4抗體。其作為20H4.9-IgG4揭示於美國專利第7,288,638號中。在人類臨床試驗(ClinicalTrials.gov、NCT00309023及NCT00612664)中，每三週一次投與優瑞路單抗持續12週致使患有黑素瘤、卵巢癌或腎細胞癌之患者的疾病穩定。然而，試驗已終止，因為抗體引起4級肝炎，導致出現兩起肝毒性相關死亡(Simeone E.及Ascierto P.A. (2012), J. Immunotoxicology 9, 241-247)。臨床安全資料之後續詳細分析表明重度轉胺酶升高(transaminitis)之產生主要由給定優瑞路單抗劑量觸發。亦觀測到2+級嗜中性白血球減少症、白血球減少症及血小板減少症。臨床安全資料之後續詳細分析表明重度轉胺酶升高之產生主要由給定優瑞路單抗劑量觸發。在2012年，優瑞路單抗再進入臨床研發，然而在每三週給定< 1 mg/kg之劑

量條件下使用。當前推薦劑量係每三週給定0.1 mg/kg (N. Segal 等人(2016), Results From an Integrated Safety Analysis of Urelumab, an Agonist Anti-CD137 Monoclonal Antibody, Clin. Cancer Res., 2016年12月1日線上公開)。鑒於劑量限制性毒性，因此需要改良的對4-1BB具有特異性的抗原結合分子，其應僅作用於腫瘤特異性部位以便避免不可控制的副作用。本發明之雙特異性抗原結合分子結合抗原結合結構域能夠較佳結合於腫瘤特異性或腫瘤相關抗原，其中至少一個抗原結合結構域能夠促效結合於4-1BB。本發明之雙特異性抗原結合分子可能夠不僅有效地，並且極具選擇性地在所需部位觸發4-1BB，由此減少諸如優瑞路單抗之習知單特異性抗體已觀測到的非所需副作用。

【發明內容】

本發明係關於雙特異性抗原結合分子，其結合至少一個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域，尤其其中能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區(V_H4-1BB)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_L4-1BB)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之CDR-L3，其中至少一個抗原結合結構域能夠特異性結合於靶細胞抗原。此等雙特異性抗原結合分子係有利的，因為其歸因於其對靶細胞抗原之結合能力將較佳在表現靶細胞抗原之位點活化4-1BB，且減少在體內其他位點之活化，由此避免僅對4-1BB具有特異性之抗原結合分子的副作用。另外，本發明之雙特異性抗原結合分子包含

由能夠穩定結合之第一及第二亞單元組成的Fc結構域，尤其IgG Fc結構域，其增強雙特異性抗原結合分子之藥理學及藥代動力學特性。

在一個態樣中，本發明提供一種雙特異性抗原結合分子，至少一個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域、至少一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域及由能夠穩定結合之第一及第二亞單元組成的Fc結構域，

其中能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含

重鏈可變區(V_H4-1BB)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_L4-1BB)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之CDR-L3。

在一特定態樣中，雙特異性抗原結合分子包含至少一個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域，該抗原結合結構域包含重鏈可變區(V_H4-1BB)，其包含與SEQ ID NO: 7之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_L4-1BB)，其包含與SEQ ID NO: 8之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列。更特定言之，能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區(V_H4-1BB)，其包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_L4-1BB)，其包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列。

在一個態樣中，能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域係Fab片

段。

在另一態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，至少一個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域、至少一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域及由能夠穩定結合之第一及第二亞單元組成的Fc結構域，其中能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區(V_H4-1BB)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_L4-1BB)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之CDR-L3，且其中靶細胞抗原選自由以下組成之群：纖維母細胞活化蛋白(FAP)、黑素瘤相關硫酸軟骨素蛋白聚糖(MCSP)、表皮生長因子受體(EGFR)、癌胚抗原(CEA)、CD19、CD20及CD33。

在一個態樣中，本發明提供雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域係能夠特異性結合於纖維母細胞活化蛋白(FAP)之抗原結合結構域。

特定言之，提供雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於纖維母細胞活化蛋白(FAP)之抗原結合結構域包含

(a)重鏈可變區(V_HFAP)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LFAP)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 12之胺基酸序列之

CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 13之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 14之胺基酸序列之CDR-L3，或

(b)重鏈可變區(V_HFAP)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 15之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 16之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 17之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LFAP)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 18之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 19之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 20之胺基酸序列之CDR-L3。

在另一態樣中，能夠特異性結合於纖維母細胞活化蛋白(FAP)之抗原結合結構域包含

(a)重鏈可變區(V_HFAP)，其包含與SEQ ID NO: 21之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LFAP)，其包含與SEQ ID NO: 22之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，或

(b)重鏈可變區(V_HFAP)，其包含與SEQ ID NO: 23之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LFAP)，其包含與SEQ ID NO: 24之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列。

此外，提供雙特異性抗原結合分子，其中

(i)能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，且

(ii)能夠特異性結合於FAP之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該

重鏈可變區包含SEQ ID NO: 23之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 24之胺基酸序列。

在另一態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其中

(i)能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，且

(ii)能夠特異性結合於FAP之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 21之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 22之胺基酸序列。

在另一態樣中，本發明提供雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域係能夠特異性結合於癌胚抗原(CEA)之抗原結合結構域。

特定言之，提供雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於癌胚抗原(CEA)之抗原結合結構域包含

(a)重鏈可變區(V_HCEA)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 25之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 26之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 27之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCEA)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 28之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 29之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 30之胺基酸序列之CDR-L3，或

(b)重鏈可變區(V_HCEA)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 33之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 34之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 35之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區

(V_LCEA)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 37之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 38之胺基酸序列之CDR-L3，或

(c)重鏈可變區(V_HCEA)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 179之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 180之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 181之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCEA)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 182之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 183之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 184之胺基酸序列之CDR-L3，或

(d)重鏈可變區(V_HCEA)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 187之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 188之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 189之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCEA)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 190之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 191之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 192之胺基酸序列之CDR-L3。

在另一態樣中，能夠特異性結合於癌胚抗原(CEA)之抗原結合結構域包含(a)重鏈可變區(V_HCEA)，其包含與SEQ ID NO: 31之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含與SEQ ID NO: 32之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，或(b)重鏈可變區(V_HCEA)，其包含與SEQ ID NO: 39之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含與SEQ ID NO: 40之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、

99%或100%一致的胺基酸序列，或(c)重鏈可變區(V_HCEA)，其包含與SEQ ID NO: 185之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含與SEQ ID NO: 186之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，或(d)重鏈可變區(V_HCEA)，其包含與SEQ ID NO: 193之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含與SEQ ID NO: 194之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列。

在一特定態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其中

(i)能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，且

(ii)能夠特異性結合於CEA之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 31之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 32之胺基酸序列。

在另一態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其中

(i)能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，且

(ii)能夠特異性結合於CEA之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 39之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列。

在另一態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其中

(i)能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，且

(ii)能夠特異性結合於CEA之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 185之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 186之胺基酸序列。

在又一態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其中

(i)能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，且

(ii)能夠特異性結合於CEA之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 193之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 194之胺基酸序列。

在另一態樣中，本發明提供雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域係能夠特異性結合於CD19之抗原結合結構域。

特定言之，提供雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於CD19之抗原結合結構域包含

(a)重鏈可變區(V_HCD19)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 155之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 156之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 157之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCD19)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 158之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 159之胺基酸序列之CDR-L2，及

(vi)包含SEQ ID NO: 160之胺基酸序列之CDR-L3，或

(b)重鏈可變區(V_HCD19)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 163之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 164之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 165之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCD19)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 166之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 167之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 168之胺基酸序列之CDR-L3。

在另一態樣中，能夠特異性結合於CD19之抗原結合結構域包含(a)重鏈可變區(V_HCD19)，該重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 161之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，及輕鏈可變區(V_LCD19)，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 162之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，或(b)重鏈可變區(V_HCD19)，該重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 169之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，及輕鏈可變區(V_LCD19)，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 170之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列。

在一特定態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其中

(i)能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，且

(ii)能夠特異性結合於CD19之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 161之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 162之胺基酸序列。

在另一態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其中

(i)能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，且

(ii)能夠特異性結合於CD19之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 169之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 170之胺基酸序列。

在一個態樣中，雙特異性抗原結合分子係人類、人類化或嵌合抗體。特定言之，雙特異性抗原結合分子包含IgG Fc結構域，尤其IgG1 Fc結構域或IgG4 Fc結構域。

在另一態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其中Fc結構域包含一或多個降低抗體對Fc受體之結合親和力及/或效應功能的胺基酸取代。特定言之，Fc結構域係具有胺基酸突變L234A、L235A及P329G(根據Kabat EU索引編號)的人類IgG1子類。

在另一態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其中Fc結構域包含促進Fc結構域之第一及第二亞單元結合的改質。在一個特定態樣中，本發明提供雙特異性抗原結合分子，其中根據杵-臼(knobs into holes)方法，Fc結構域之第一亞單元包含杵且Fc結構域之第二亞單元包含臼。更特定言之，Fc結構域之第一亞單元包含胺基酸取代S354C及T366W(根據Kabat EU索引編號)且Fc結構域之第二亞單元包含胺基酸取代Y349C、T366S、L368A及Y407V(根據Kabat EU索引編號)。

在另一態樣中，本發明提供雙特異性抗原結合分子，其包含

多於一個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域，其中能夠特異

性結合於4-1BB之各抗原結合結構域包含

重鏈可變區(V_H4-1BB)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_L4-1BB)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之CDR-L3。

在一個態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)兩個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域，

(b)一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域，

及

(c)由能夠穩定結合之第一及第二亞單元構成的Fc結構域。

在一特定態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)兩個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域，

(b)一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域，

及

(c)包含一或多個胺基酸取代之IgG Fc結構域，該胺基酸取代降低該抗原結合分子對Fc受體之結合親和力及/或效應功能。更特定言之，IgG Fc結構域包含一或多個降低抗原結合分子對Fc受體之結合親和力及/或效應功能的胺基酸取代。

因此，提供雙特異性抗原結合分子，其中雙特異性抗原結合分子對於4-1BB兩者係二價且對於靶細胞抗原係單價。

在一個態樣中，雙特異性抗原結合分子包含

(a)抗體之兩個輕鏈及兩個重鏈，該抗體包含兩個能夠特異性結合於4-1BB之Fab片段及該Fc結構域，及

(b)能夠特異性結合於靶細胞抗原之VH及VL結構域，其中該VH結構域經由肽連接子連接至該兩個重鏈中之一者的C末端，且其中該VL結構域經由肽連接子連接至第二重鏈的C末端。

在另一態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 44之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 45之胺基酸序列之第二重鏈，或

(b)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 49之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 50之胺基酸序列之第二重鏈。

在另一態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 65之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 66之胺基酸序列之第二重鏈，或

(b)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 69之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 70之胺基酸序列之第二重鏈，或

(c)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 73之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 74之胺基酸序列之第二重鏈，或

(d)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID

NO: 77之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 78之胺基酸序列之第二重鏈。

在另一態樣中，本發明提供雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)抗體之兩個輕鏈及兩個重鏈，該抗體包含兩個能夠特異性結合於4-1BB之Fab片段及該Fc結構域，及

(b)能夠特異性結合於靶細胞抗原之互換Fab (crossFab)片段，其經由肽連接子連接至該兩個重鏈中之一者的C末端。

在一特定態樣中，互換fab片段能夠特異性結合於FAP、CEA或CD19。更特定言之，互換fab片段能夠特異性結合於CEA。

在另一態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 211之胺基酸序列之第一重鏈、包含SEQ ID NO: 212之胺基酸序列之第二重鏈及包含SEQ ID NO: 213之胺基酸序列之另一輕鏈，或

(b)各自包含SEQ ID NO: 216之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 214之胺基酸序列之第一重鏈、包含SEQ ID NO: 215之胺基酸序列之第二重鏈及包含SEQ ID NO: 217之胺基酸序列之另一輕鏈。

在另一態樣中，本發明提供雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)四個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域，

(b)一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域，

及

(c)由能夠穩定結合之第一及第二亞單元構成的Fc結構域。

因此，提供雙特異性抗原結合分子，其中雙特異性抗原結合分子對於4-1BB係四價且對於靶細胞抗原係單價。

在一特定態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於4-1BB之四個抗原結合結構域係Fab片段且其中各兩者視情況經由肽連接子彼此間融合。

在一個態樣中，本發明提供雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域包含VH及VL結構域，且其中VH結構域經由肽連接子連接至Fc結構域之第一亞單元的C末端，且VL結構域經由肽連接子連接至Fc結構域之第二亞單元的C末端。

在另一態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之四個輕鏈、包含SEQ ID NO: 57之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 58之胺基酸序列之第二重鏈，或

(b)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之四個輕鏈、包含SEQ ID NO: 61之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 62之胺基酸序列之第二重鏈。

在另一態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之四個輕鏈、包含SEQ ID NO: 81之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 82之胺基酸序列之第二重鏈，或

(b)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之四個輕鏈、包含SEQ ID NO: 85之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 86之胺基酸序列之第二重鏈，或

(c)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之四個輕鏈、包含SEQ ID NO: 89之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 90之胺基酸序列之第

二重鏈，或

(d)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之四個輕鏈、包含SEQ ID NO: 93之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 94之胺基酸序列之第二重鏈。

根據本發明之另一態樣，提供編碼如上文所述之雙特異性抗原結合分子的經分離聚核苷酸。本發明進一步提供載體，尤其表現載體，其包含本發明之經分離之聚核苷酸；及宿主細胞，其包含本發明之經分離之聚核苷酸或載體。在一些態樣中，宿主細胞係真核細胞，尤其哺乳動物細胞。

在另一態樣中，提供用於製造如上文所述之雙特異性抗原結合分子之方法，其包含步驟(i)在適於表現抗原結合分子之條件下培養本發明之宿主細胞，及(ii)回收抗原結合分子。本發明亦涵蓋藉由本發明之方法製備之雙特異性抗原結合分子。

本發明進一步提供一種醫藥組合物，其包含如上文所述之雙特異性抗原結合分子及至少一種醫藥學上可接受之賦形劑。在一個態樣中，醫藥組合物用於治療癌症或傳染病。特定言之，醫藥組合物用於治療癌症。

本發明亦涵蓋如上文所述之雙特異性抗原結合分子，或包含雙特異性抗原結合分子之醫藥組合物，其用作藥劑。

在一個態樣中，提供如上文所述之雙特異性抗原結合分子或本發明之醫藥組合物，其用於

(i)刺激T細胞反應，

(ii)支持已活化之T細胞存活，

(iii)治療感染，

(iv)治療癌症，

(v)延遲癌症進展，或

(vi)延長罹患癌症之患者的存活期。

在另一態樣中，本發明係關於雙特異性抗原結合分子，其包含至少一個能夠特異性結合於小鼠4-1BB之抗原結合結構域、至少一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域及由能夠穩定結合之第一及第二亞單元組成的Fc結構域，

其中能夠特異性結合於小鼠4-1BB之抗原結合結構域包含

重鏈可變區(V_H4-1BB)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 171之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 172之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 173之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_L4-1BB)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 174之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 175之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 176之胺基酸序列之CDR-L3。

在一個態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於小鼠4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區(V_H4-1BB)，該重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 177之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_L4-1BB)，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 178之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列。特定言之，能夠特異性結合於小鼠4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區(V_H4-1BB)，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 177之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_L4-1BB)，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 178之胺基酸序列。在另一特定態樣中，雙特異性抗原結合分子係一種，其中能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域

結合於纖維母細胞活化蛋白(FAP)且包含(a)重鏈可變區(V_HFAP)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LFAP)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 12之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 13之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 14之胺基酸序列之CDR-L3。特定言之，提供如上文所述之雙特異性抗原結合分子，其中Fc結構域之第一亞單元包含胺基酸取代K392D及K409D (根據Kabat EU索引編號)，且Fc區之第二亞單元包含胺基酸取代E356K及D399K (根據Kabat EU索引編號)。

在一特定態樣中，提供如上文所述之雙特異性抗原結合分子或本發明之醫藥組合物，其用於治療癌症。在另一特定態樣中，本發明提供如上文所述之雙特異性抗原結合分子用於治療癌症，其中雙特異性抗原結合分子與化學治療劑、放射療法及/或用於癌症免疫療法之其他藥劑組合投與。

在另一態樣中，本發明提供抑制個體中腫瘤細胞生長之方法，其包含向個體投與有效量之如上文所述之雙特異性抗原結合分子或本發明之醫藥組合物，以抑制腫瘤細胞生長。

亦提供如上文所述之雙特異性抗原結合分子之用途，其用於製造供治療有需要之個體中之疾病用之藥物，尤其用於製造供治療癌症或傳染病用之藥物，以及治療個體中疾病之方法，該方法包含向該個體投與治療有效量之包含本發明之雙特異性抗原結合分子的呈醫藥學上可接受形式的組合物。在一特定態樣中，疾病係癌症。在上述態樣中之任一者中，個體係

哺乳動物，尤其人類。

【圖式簡單說明】

圖1A及**1B**展示呈huIgG1 P329GLALA形式之雙特異性抗原結合分子之實例，其包含兩個抗4-1BB Fab片段(二價結合於-4-1BB)及能夠特異性結合於靶細胞抗原(例如抗FAP、抗CEA或抗CD19)的VH及VL結構域，分別在重鏈之C末端融合。此形式在本文亦稱為**2+1形式**。黑點象徵杵-臼突變。**圖1A**展示雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域之VL結構域融合於Fc臼鏈之C末端，稱為臼-VL，**圖1B**中展示雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域之VH結構域融合於Fc臼鏈之C末端，稱為臼-VH。**圖1C**展示雙特異性單價抗4-1BB及單價抗FAP抗原結合分子(huIgG1 P329GLALA)，亦稱為1+1形式。抗FAP係互換fab，意謂重鏈包含VL-CH1，而輕鏈包含VH-CL，且抗4-1BB係具有帶電變異體之fab。**圖1D**及**1E**展示呈huIgG1 P329GLALA形式之雙特異性抗原結合分子，其包含兩個抗4-1BB Fab片段(二價結合於-4-1BB)及能夠特異性結合於靶細胞抗原(例如抗FAP、抗CEA或抗CD19)的互換fab，在重鏈中之一者的C末端融合。此形式在本文稱為**2+1互換fab形式**。**圖1D**展示具有CHCL互換fab之變異體，**圖1E**中展示具有VHVL互換fab之變異體。**圖1E**中之三角形象征帶電變異體之可能性(123位置處之胺基酸(EU編號)之CL結構域中的突變)變成精胺酸(R)，及124位置處之胺基酸(EU編號)變成離胺酸(K)，及在147位置(EU編號)及213位置(EU編號)處之胺基酸之CH1結構域中變成麩胺酸(E))。

圖2A及**2B**係關於雙特異性2+1抗4-1BB及抗FAP抗原結合分子之同時結合。**圖2A**係分析設置之象形圖。**圖2B**展示雙特異性抗4-1BB/抗FAP抗

原結合分子(分析物1)同時結合於經固定人類4-1BB及人類FAP(分析物2)。

圖3展示基於FRET之競爭分析，以分析二價(IgG)抗41BB (20H4.9)抗體及二價(2+1)抗4-1BB(20H4.9)/抗FAP (4B9)抗原結合分子對膜結合4-1BB的結合。雙特異性二價(2+1)抗4-1BB (20H4.9)/抗FAP (4B9)抗原結合分子作為IgG對應物競爭。

圖4A及**4B**展示呈huIgG1 P329GLALA形式之雙特異性抗原結合分子之實例，其包含四個抗4-1BB Fab片段(四價結合於4-1BB)及能夠特異性結合於靶細胞抗原(例如抗FAP、抗CEA或抗CD19)之VH及VL結構域，分別在重鏈之C末端融合。此形式在本文亦稱為**4+1形式**。黑點象徵杵-臼突變。抗4-1BB Fab結構域之VHCH1結構域各兩者彼此間融合且融合於Fc結構域。**圖4A**展示雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域之VL結構域融合於Fc臼鏈之C末端，稱為臼-VL，**圖1B**中展示雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域之VH結構域融合於Fc臼鏈之C末端，稱為臼-VH。

圖5A及**5B**係關於雙特異性4+1抗4-1BB/抗FAP抗原結合分子之同時結合。**圖5A**係分析設置之象形圖。**圖5B**展示雙特異性抗4-1BB/抗FAP抗原結合分子(分析物1)同時結合於經固定人類4-1BB及人類FAP(分析物2)。

圖6展示基於FRET之競爭分析，以分析二價(IgG)抗4-1BB (20H4.9)抗體及四價(4+1)抗4-1BB(20H4.9)/抗FAP (4B9)抗原結合分子對膜結合4-1BB的結合。雙特異性四價(4+1)抗4-1BB (20H4.9)/抗FAP (4B9)抗原結合分子比IgG對應物競爭力強。

圖7A至**7D**展示結合於休眠及活化人類T細胞。抗4-1BB抗原結合分子之濃度針對PE接合之二級偵測抗體之幾何平均螢光強度(MFI)點印跡。全部值藉由減去空白對照(例如非一級偵測抗體，僅二級偵測抗體)之基線值進行基線校正。在上部圖中展示結合於休眠CD4 T細胞(**圖7A**)或活化CD4 T細胞(**圖7B**)。在下部圖中展示結合於休眠CD8 T細胞(**圖7C**)及活化CD8 T細胞(**圖7D**)。只有含4-1BB結合結構域之抗原結合分子，如4-1BB (20H4.9) huIgG1 P329G LALA (黑色實心菱形)、雙特異性抗4-1BB (20H4.9)/抗FAP (4B9) 2+1抗原結合分子(黑色實心三角形，點線)及抗4-1BB (20H4.9)/抗FAP (4B9) 4+1抗原結合分子(灰色實心正方形)有效結合於表現4-1BB之細胞。對照分子DP47 (生殖系對照) huIgG1 P329G LALA (空心黑色圓形，點線)偵測不到結合。

圖8A及**8B**中展示結合於活化人類T細胞。在此圖中顯示圖7C及7D之曲線下面積。**圖8A**中展示結合於活化$CD8^+$ T細胞，且**圖8B**說明結合於活化$CD4^+$ T細胞。分別展示抗體4-1BB (20H4.9) huIgG1 P329G LALA (黑色)、雙特異性抗原結合分子4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 2+1 (棋盤狀)、雙特異性抗原結合分子4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 4+1 (對角線條紋)及對照分子DP47 huIgG1 P329G LALA。

圖9A及**9B**中展示結合於人類FAP表現細胞。4-1BB結合分子之濃度針對PE接合之二級偵測抗體之幾何平均螢光強度(MFI)點印跡。全部值藉由減去空白對照(例如非一級偵測抗體，僅二級偵測抗體)之基線值進行基線校正。在**圖9A**中展示與中等FAP表現人類黑素瘤細胞株WM-266-4之結合且在**圖9B**中展示與高FAP表現NIH/3T3-huFAP純系19細胞的結合。只有包含FAP抗原結合結構域之抗原結合分子，如4-1BB (20H4.9) x FAP

(4B9) 2+1 (黑色實心三角形及點線)及4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 4+1 (實心灰色正方形)有效結合於FAP表現細胞。非FAP靶向分子抗4-1BB (20H4.9) huIgG1 P329G LALA(黑色實心三角形)及對照分子DP47 huIgG1 P329G LALA (空心黑色圓形，點線)偵測不到結合。

圖10A至**10C**展示在4-1BB表現報導體細胞株HeLa-hu4-1BB-NFκB-luc中NFκB介導之螢光素酶表現。4-1BB結合分子之濃度針對培育6小時後量測之釋放的光單位(URL)點印跡。全部值藉由減去空白對照(例如不添加抗體)之基線值進行基線校正。在**圖10A**中展示與FAP靶向無關之4-1BB活化，而4-1BB結合在無任何FAP介導之交聯存在下誘導報導體細胞株中之NFκB受控螢光素酶表現。**圖10B**中FAP中等表現人類黑素瘤細胞株WM-266-4及**圖10C**中高FAP表現NIH/3T3-huFAP純系19以5:1比率添加至報導體細胞株。FAP表現細胞引起靶向FAP之4-1BB結合分子之交聯，且提高其誘導4-1BB表現報導體細胞株中NFκB介導之螢光素酶活化的潛能。

圖10D及**10E**展示4-1BB表現報導體細胞株HeLa-hu4-1BB-NFκB-luc中NFκB介導之螢光素酶表現活性。靶向FAP之促效4-1BB結合構築體4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 1+1 (黑色菱形)或其對照之濃度針對培育6小時後量測之釋放的光單位(URL)點印跡。全部值藉由減去空白對照(例如不添加抗體)之基線值進行基線校正。在**圖10D**中展示與FAP靶向無關之4-1BB活化，而4-1BB結合在無任何FAP介導之交聯存在下誘導報導體細胞株中之NFκB受控螢光素酶表現。**圖10E**中FAP表面表現人類黑素瘤細胞株WM-266-4以5:1比率添加至報導體細胞株。FAP表現WM-266-4細胞引起雙特異性結合4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 1+1分子之交聯，且提高其

誘導4-1BB表現報導體細胞株中NFκB介導之螢光素酶活化的潛能。

圖11A至**11C**亦展示在4-1BB表現報導體細胞株HeLa-hu4-1BB-NFκB-luc中NFκB介導之螢光素酶表現。在此圖中顯示**圖10A**至**10C**之曲線下面積。分別展示4-1BB (20H4.9) huIgG1 P329G LALA (黑色), 4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 2+1 (棋盤狀)、4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 4+1 (對角線條紋)及對照分子DP47 huIgG1 P329G LALA (白色)。

圖12A至**12D**中展示在人類FAP表現纖維母細胞細胞株(NIH/3T3-huFAP)存在下之人類PBMC活化。在FAP表現細胞及CD3刺激存在下培育新鮮的經分離人類PBMC引起$CD4^+$ T細胞(圖12A)及$CD8^+$ T細胞(圖12B)上CD25上調，以及若存在靶向FAP之4-1BB (20H4.9)抗原結合分子(黑色實心三角形及點線及實心灰色正方形)或雙特異性抗原結合分子4-1BB (12B3) x FAP (4B9) 4+1 (黑色星形，具有另一種抗4-1BB純系之陽性對照分子)，則$CD4^+$ T細胞(圖12C)及$CD8^+$ T細胞(圖12D)增殖增加。與靶向比率(4+1對比2+1)無關，具有4-1BB結合子純系20H4.9之雙特異性抗原結合分子兩者能夠誘導CD4及CD8 T細胞之類似活化，而包含4-1BB結合子12B3之雙特異性抗原結合分子引起較低活化效能。非FAP靶向4-1BB (20H4.9) huIgG1 P329G LALA分子(實心黑色菱形)僅能夠將CD4 T細胞之活化及增殖增加至某一程度。

在**圖13**中，圖12A至12D中所展示之所有四個參數概述為曲線下面積。展示非靶向DP47 huIgG1 P329G LALA分子作為陰性對照以指示基線活化及增殖。

圖14A至14J中展示由雙特異性小鼠4-1BB/FAP抗原結合分子誘導之小鼠T細胞活化。所添加促效小鼠4-1BB抗體(x軸)之濃度針對y軸上陽性

細胞之百分比(圖14A至14H)或平均螢光強度(圖14I及14J)點印跡。左側展示$CD8^+$ T細胞之活化參數(圖14A、14C、14E、14G及14I)，且右側展示$CD4^+$ T細胞之活化參數(圖14B、14D、14F、14H及14J)。展示$CD8^+$ T細胞(**圖14A**)及$CD4^+$ T細胞(**圖14B**)上增加之4-1BB表現，$CD8^+$ T細胞(**圖14C**)及$CD4^+$ T細胞(**圖14D**)上增加之CD25-表現，$CD8^+$ T細胞(**圖14E**)及$CD4^+$ T細胞(**圖14F**)上增加之顆粒酶B表現，$CD8^+$ T細胞(**圖14G**)及$CD4^+$ T細胞(圖**14H**)增加之增殖，及藉由增加$CD8^+$ T細胞(**14I**)及$CD4^+$ T細胞(**圖14J**)中之側向散射值增加的胞溶質結構。用0.5 μg/mL促效抗小鼠CD3亞美尼亞倉鼠IgG (信號1)以及交聯共刺激促效抗小鼠4-1BB抗體(信號2)對小鼠T細胞之活化引起T細胞活化增加(由4-1BB、CD25及顆粒酶B表現增加所展示)，以及經由側向散射之平均螢光強度的增加的增殖及胞溶質結構。協同效應視結合4-1BB及同時待交聯之能力而定。促效抗小鼠4-1BB抗體之交聯可藉由FcγR結合(小鼠4-1BB (MU137-1) moIgG1 wt，黑色菱形)傳遞，或藉由同時結合於FAP (小鼠4-1BB (MU137-1 x FAP (28H1) moIgG1 DAPG 2+1，灰色星形及點線)傳遞。如例如由$CD4^+$ T細胞之增殖(圖14H)所示，經由FAP之交聯強力得多。不結合於4-1BB之抗體(非靶向moIgG1，空心灰色圓形及點線)或不結合FcγR之抗體(小鼠4-1BB (MU137-1)moIgG1 DAPG)相較於背景不能增加CD8及CD4 T細胞活化。

圖15A及**15B**展示4-1BB表現報導體細胞株中NFκB介導之螢光素酶表現活性。靶向CEA之促效4-1BB結合構築體4-1BB (20H4.9) x CEA (A5B7) 2+1之濃度針對培育6小時後量測之釋放的光單位(URL)點印跡。全部值藉由減去空白對照(例如不添加抗體)之基線值進行基線校正。在**圖**

15A中展示與CEA靶向無關之4-1BB活化，而4-1BB結合在無任何CEA介導之交聯存在下誘導報導體細胞株中之NFκB受控螢光素酶表現。**圖15B**中CEA表面表現人類胃腺癌細胞株MKN45以5:1比率添加至報導體細胞株。CEA表現MKN45細胞引起雙特異性結合4-1BB (20H4.9) x CEA (A4B7) 2+1分子之交聯，且提高其誘導4-1BB表現報導體細胞株中NFκB誘導/螢光素酶活化的潛能。AUC及EC_{50}值以墨點指示為平均值(SD)。

圖16A展示如實例8中所描述之雙特異性二價抗4-1BB/單價抗CD19抗體(稱作4-1BBxCD19)之結構2+1形式。分子係呈huIgG1 P329GLALA形式之雙特異性抗原結合分子，其包含兩個抗4-1BB Fab片段(二價結合於-4-1BB)及能夠特異性結合於CD19之VH及VL結構域，分別在重鏈之C末端融合。黑點象徵杵-臼突變。實例係4-1BB(20H4.9)xCD19(2B11)或4-1BB(20H4.9)xCD19(8B8-018)。**圖16B**展示陽性對照，含有單價CD19 4-1BBL-三聚體之抗原結合分子(huIgG1 P329G LALA)，在靠近4-1BBL (71-248)二聚體及4-1BBL (71-248)單體之CH1及CL結構域中具有修改。粗黑點表示杵-臼修改。*表示CH1及CL結構域中之胺基酸修飾(所謂的帶電殘基)。分子描述於WO 2016/075278 A1中且命名為CD19(2B11)x4-1BBL，因為其包含CD19結合子純系2B11。**圖16C**展示陰性對照，非靶向(DP47)抗原結合分子(huIgG1 P329G LALA)，其中4-1BBL (71-248)二聚體融合於Fc杵鏈之C末端，且4-1BBL (71-248)單體融合於Fc臼鏈之C末端。

圖17A中展示4-1BBxCD19構築體結合於$CD19^+$人類B細胞，如由針對人類Fc之二級抗體所偵測。4-1BB(20H4.9)xCD19(2B11)以劑量依賴性方式結合於人類B細胞，相比於CD19(2B11)x4-1BBL具有較低親和力，

而非靶向DP47x4-1BBL未結合於B細胞。**圖17B**展示不同4-1BBxCD19構築體結合於$CD19^+$ WSU-DLCL2細胞株，由針對人類Fc之二級抗體所偵測。4-1BB(20H4.9)xCD19(2B11)以如類似於原生B細胞之方式結合於$CD19^+$ WSU腫瘤細胞。4-1BB(20H4.9)xCD19(8B8-018)與4-1BB(20H4.9)xCD19(2B11)相比展示相同的結合特性。

圖18A及18B展示4-1BBxCD19構築體結合於活化$CD4^+$ T細胞(圖18A)或活化$CD8^+$ T細胞(圖18B)。特異性結合閘控於純CD4及CD8細胞群。4-1BB(20H4.9)xCD19(2B11)展示以劑量依賴性方式對4-1BB表現CD4或CD8 T細胞之極佳結合，但相比於CD19 (2B11)-4-1BBL具有略微較低的親和力。4-1BB(20H4.9)xCD19(018)與4-1BB(20H4.9)xCD19(2B11)相比展示相同的結合特性。

圖19中展示藉由4-1BBxCD19構築體引起之活化PBMC的IFN-γ釋放。總人類PBMC與抗CD3及抗CD28微珠且與滴定濃度之4-1BBxCD19構築體一起培育。兩天後收集清液層用於藉由ELISA量測IFN-γ。

圖20A至20C係指單價結合CEA之2+1雙特異性促效4-1BB抗體同時結合於尤其抗原N(A2-B2)A之抗原決定基區及hu4-1BB。圖20A展示分析設置。**圖20B**中展示具有CHCL互換fab之2+1 4-1BB(20H4.9)/CEA(A5B7P)人類IgG1 PGLALA構築體(分析物1)同時結合於經固定N(A2-B2)A及人類4-1BB (分析物2)。**圖20C**展示具有VHVL互換fab之2+1 4-1BB (20H4.9)/CEA(A5B7P)人類IgG1 PGLALA構築體(分析物1)同時結合於經固定N(A2-B2)A及人類4-1BB(分析物2)。

圖21A至21D中分別展示雙特異性分子結合於人類4-1BB或人類CEA表現細胞。雙特異性CEA及4-1BB結合分子之濃度針對PE接合之二級偵測

抗體之幾何平均螢光強度(MFI)點印跡。全部值藉由減去空白對照(例如非一級偵測抗體，僅二級偵測抗體)之基線值進行基線校正。**圖21A**中展示結合於人類4-1BB表現報導體細胞株Jurkat-hu4-1BB-NFκB-luc，且**圖21B**中展示結合於人類CEA表現人類胃癌細胞株MKN45。只有包含4-1BB抗原結合結構域或CEA抗原結合結構域之抗原結合分子分別有效結合於人類4-1BB表現報導體細胞株Jurkat-hu4-1BB-NFκB-luc細胞或人類CEA表現MKN45細胞。使用非特異性DP47 huIgG P329G LALA抗體作為陰性對照傳遞基線。**圖21C**中展示結合於Jurkat-hu4-1BB-NFκB-luc之結合曲線之曲線下面積(AUC)，且**圖21D**中展示結合於MKN45細胞之結合曲線之AUC。

圖22A至22C展示NFκB介導之螢光素酶表現，及因此4-1BB表現報導體細胞株(Jurkat-hu4-1BB-NFkB-luc2)中之活性。雙特異性CEA靶向促效4-1BB雙特異性抗體之濃度針對培育6小時後量測之釋放的光單位(URL)點印跡。全部值藉由減去空白對照(例如不添加抗體)之基線值進行基線校正。在**圖22A**中展示與CEA靶向無關之4-1BB活化，而4-1BB結合在無任何CEA介導之交聯存在下誘導報導體細胞株中之NFκB受控螢光素酶表現。**圖22B**中CEA表面表現人類胃腺癌細胞株MKN45以5:1比率添加至報導體細胞株。CEA表現MKN45細胞引起雙特異性4-1BB及CEA抗原結合分子之交聯，且提高其誘導4-1BB表現報導體細胞株中NFκB誘導之螢光素酶活化的潛能。視CEA靶向純系及雙特異性形式而定，分子顯示不同活化潛能。純系A5B7P已以三種不同形式使用，從而A5B7P純系之C末端VH/VL融合(灰色三角形)展示作為雙特異性形式之較小活性，其中A5B7P經C末端融合為CH/CL互換Fab (黑色菱形)。若A5B7P經C末端融

合為VH/VL互換Fab (黑色空心正方形)，則可見最高活化潛能。因此純系A5B7P屈服於形式限制，產生不同活化潛能。在CEA結合子純系A5B7(黑色倒三角形)之情況下可見最強活化。非靶向4-1BB (20H4.9)分子，如4-1BB (20H4.9) x DP47 2+1 (空心灰色圓形，點線)或4-1BB (20H4.9) huIgG1 P329G LALA (灰色實心圓形)，展示與CEA交聯無關之基線活性。經計算AUC彙總於**圖22C**中。所用CEA結合純系及形式在X軸及作為圖片在條柱上方指示。

圖23A至**23D**展示在CEA表現腫瘤細胞(MKN45)存在下之人類PBMC活化。在CEA表現MKN45細胞及CD3刺激存在下培育新鮮的經分離人類PBMC引起$CD4^+$ T細胞(**圖23A**)及$CD8^+$ T細胞(**圖23B**)上CD25上調，以及若存在靶向CEA之4-1BB (20H4.9)抗原結合分子(黑色實心三角形及線)，則$CD4^+$ T細胞(**圖23C**)增殖增加，及$CD8^+$ T細胞(**圖23D**)增殖增加較小程度。非CEA靶向4-1BB (20H4.9) x DP47 2+1 (灰色空心圓，點線)或4-1BB (20H4.9) huIgG1 P329G LALA (實心灰色圓形，實線)分子僅得到有限基線活化，而DP47 huIgG1 P329G LALA作為陰性對照傳遞真實基線。

在**圖24A**至**24D**中，來自不同供體之人類PBMC如圖23A至23D中所示在CEA表現腫瘤細胞(MKN45)存在下活化。在CEA表現細胞及CD3刺激存在下培育新鮮的經分離人類PBMC引起$CD4^+$ T細胞(**圖24A**)及$CD8^+$ T細胞(**圖24B**)上CD25上調，以及若存在靶向CEA之4-1BB (20H4.9)抗原結合分子，則$CD4^+$ T細胞(**圖24C**)增殖增加，及$CD8^+$ T細胞(**圖24D**)增殖增加較小程度。

【實施方式】

定義

除非以其他方式定義，否則本文所使用之技術及科學術語具有與本發明所屬領域中通常所使用相同之含義。出於解釋本說明書之目的，將應用以下定義且只要合適，以單數形式使用之術語亦將包括複數且反之亦然。

如本文所用，術語「**抗原結合分子**」在其最廣泛的意義上係指特異性結合抗原決定子的分子。抗原結合分子之實例係抗體、抗體片段及骨架抗原結合蛋白。

如本文所用，術語「**能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域**」或「能夠特異性結合於靶細胞抗原之部分」係指特異性結合於抗原決定子之多肽分子。在一個態樣中，抗原結合結構域能夠經由其靶細胞抗原活化信號傳導。在一特定態樣中，抗原結合結構域能夠將其所連接之實體(例如4-1BB促效劑)引導至標靶位點，例如引導至特定類型之攜帶抗原決定子之腫瘤細胞或腫瘤基質。能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域包括如本文進一步定義之抗體及其片段。另外，能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域包括如本文進一步定義之骨架抗原結合蛋白，例如基於所設計重複蛋白質或所設計重複結構域(參見例如WO 2002/020565)之結合結構域。

關於抗體或其片段，術語「能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域」係指包含特異性結合於抗原之部分或所有及與抗原之部分或所有互補的區域的分子的一部分。可例如藉由一或多種抗體可變結構域(亦稱作抗體可變區)提供能夠特異性結合抗原之抗原結合結構域。特定言之，能夠特異性結合抗原之抗原結合結構域包含抗體輕鏈可變區(VL)及

抗體重鏈可變區(VH)。在另一態樣中，「能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域」亦可為Fab片段或互換Fab片段。

術語「**抗體**」在本文中以最廣泛意義使用且涵蓋各種抗體結構，包括但不限於單株抗體、多株抗體、單特異性及多特異性抗體(例如雙特異性抗體)及抗體片段，只要其呈現所需抗原結合活性即可。

如本文所用之術語「**單株抗體**」係指獲自一群大體上均質抗體之抗體，亦即構成該群體之個別抗體相同及/或結合相同抗原決定基，可能的變異體抗體除外，例如含有天然存在之突變或在產生單株抗體製備物期間產生，此類變異體一般以少量存在。相比於通常包括針對不同決定子(抗原決定基)之不同抗體的多株抗體製備物，單株抗體製備物中之各單株抗體係針對抗原上之單一決定子。

如本文所用之術語「**單特異性**」抗體表示具有一或多個結合位點之抗體，該一或多個結合位點中之每一者結合於相同抗原之相同抗原決定基。術語「**雙特異性**」意謂抗原結合分子能夠特異性結合於至少兩個不同的抗原決定子。通常，雙特異性抗原結合分子包含兩個抗原結合位點，其中每一者對不同抗原性決定子具有特異性。在某些實施例中，雙特異性抗原結合分子能夠同時結合兩個抗原決定子，特定言之兩個不同細胞上所表現的兩個抗原決定子。

如本申請案中所用的術語「**價**」指示存在對抗原結合分子中一個獨特抗原決定子具有特異性的指定數目的結合位點，其對一個獨特抗原決定子具有特異性。因此，術語「二價」、「四價」及「六價」分別表示抗原結合分子中存在對某一抗原決定子具有特異性的兩個結合位點、四個結合位點及六個結合位點。在本發明之特定態樣中，根據本發明之雙特異性抗原

結合分子對於某一抗原決定子可為單價，意謂其具有僅一個針對該抗原決定子之結合位點，或其對於某一抗原決定子可為二價或四價，意謂其針對該抗原決定子分別具有兩個結合位點或四個結合位點。

術語“全長抗體”、“完整抗體”及“完全抗體”在本文中可互換使用，其係指具有與原生抗體結構大體上類似之結構的抗體。「**原生抗體**」係指具有不同結構之天然產生之免疫球蛋白分子。舉例而言，原生IgG類抗體係約150,000道爾頓(dalton)之雜四聚體醣蛋白，其由二硫鍵鍵結之兩個輕鏈及兩個重鏈構成。自N端至C端，各重鏈具有可變區(VH)，亦稱為可變重鏈域或重鏈可變結構域，之後係三個恆定結構域(CH1、CH2及CH3)，亦稱為重鏈恆定區。類似地，自N端至C端，各輕鏈具有可變區(VL)，亦稱為可變輕鏈域或輕鏈可變結構域，之後係輕鏈恆定結構域(CL)，亦稱為輕鏈恆定區。抗體之重鏈歸屬於五種類型中之一者，該五種類型稱為α (IgA)、δ (IgD)、ε (IgE)、γ (IgG)或μ (IgM)，其中一些可進一步分成亞型，例如γ1 (IgG1)、γ2 (IgG2)、γ3 (IgG3)、γ4 (IgG4)、α1 (IgA1)及α2 (IgA2)。抗體之輕鏈可基於其恆定結構域之胺基酸序列歸為兩種類型中之一種，稱為κ及λ。

「**抗體片段**」係指不同於完整抗體，包含完整抗體之一部分，結合完整抗體所結合之抗原的分子。抗體片段之實例包括但不限於Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、$F(ab')_2$；雙功能抗體、三功能抗體、四功能抗體、互換Fab片段；線性抗體；單鏈抗體分子(例如scFv)；及單結構域抗體。欲回顧某些抗體片段，參見Hudson等人, Nat Med 9, 129-134 (2003)。關於scFv片段之綜述，參見例如Plückthun, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, 第113卷, Rosenburg及Moore編, Springer-Verlag, New York,

第269-315頁 (1994)；亦參見WO93/16185；及美國專利第5,571,894號及第5,587,458號。關於包含救助受體結合抗原決定基殘基及具有延長之活體內半衰期之Fab及$F(ab')_2$片段的論述，參見美國專利第5,869,046號。雙功能抗體係具有兩個抗原結合位點之抗體片段，其可為二價或雙特異性，參見例如EP 404,097；WO 1993/01161；Hudson等人, Nat Med 9, 129-134 (2003)；及Hollinger等人, Proc Natl Acad Sci USA 90, 6444-6448 (1993)。三功能抗體及四功能抗體亦描述於Hudson等人, Nat Med 9, 129-134 (2003)中。單結構域抗體係包含抗體之重鏈可變結構域之全部或一部分或輕鏈可變結構域之全部或一部分的抗體片段。在某些實施例中，單結構域抗體係人類單結構域抗體(Domantis, Inc., Waltham, MA；參見例如美國專利第6,248,516 B1號)。抗體片段可藉由各種技術製得，包括但不限於蛋白分解消化完整抗體以及藉由重組宿主細胞(例如大腸桿菌(E. coli)或噬菌體)產生，如本文所述。

完整抗體之番木瓜蛋白酶消化產生兩個相同的抗原結合片段，稱為「Fab」片段，其各自含有重鏈及輕鏈可變結構域以及輕鏈之恆定結構域及重鏈之第一恆定結構域(CH1)。因此，如本文所用，術語「**Fab片段**」係指包含有包含輕鏈之VL結構域及恆定結構域(CL)之輕鏈片段，及重鏈之VH結構域及第一恆定結構域(CH1)的抗體片段。Fab'片段與Fab片段之不同之處在於，在包括一或多個來自抗體鉸鏈區之半胱胺酸之重鏈CH1結構域的羧基端處添加幾個殘基。Fab'-SH係其中恆定結構域之半胱胺酸殘基具有游離硫醇基之Fab'片段。胃蛋白酶處理產生$F(ab')_2$片段，其具有兩個抗原結合位點(兩個Fab片段)及Fc區之一部分。根據本發明，術語「Fab片段」亦包括如下文所定義之「互換Fab片段」或「互換型Fab片段」。

術語「**互換Fab片段**」或「xFab片段」或「互換型Fab片段」係指其中重鏈及輕鏈之可變區或恆定區互換之Fab片段。互換Fab分子之兩種不同鏈組成係可能的且包含於本發明之雙特異性抗體中：一方面，Fab重鏈及輕鏈之可變區經互換，即互換Fab分子包含由輕鏈可變區(VL)及重鏈恆定區(CH1)構成之肽鏈以及由重鏈可變區(VH)及輕鏈恆定區(CL)構成之肽鏈。此互換型Fab分子亦稱為互換Fab (VLVH)。另一方面，當Fab重鏈及輕鏈之恆定區互換時，互換型Fab分子包含由重鏈可變區(VH)及輕鏈恆定區(CL)構成之肽鏈，及由輕鏈可變區(VL)及重鏈恆定區(CH1)構成之肽鏈。此互換型Fab分子亦稱為互換Fab (CLCH1)。

「單鏈Fab片段」或「**scFab**」係由抗體重鏈可變結構域(VH)、抗體恆定結構域1 (CH1)、抗體輕鏈可變結構域(VL)、抗體輕鏈恆定結構域(CL)及連接子組成之多肽，其中該抗體結構域及該連接子按N端至C端方向之次序具有以下中之一者：a) VH-CH1-連接子-VL-CL，b) VL-CL-連接子-VH-CH1，c) VH-CL-連接子-VL-CH1或d) VL-CH1-連接子-VH-CL；且其中該連接子係至少30個胺基酸，較佳32與50個胺基酸之間的多肽。該單鏈Fab片段經由CL結構域與CH1結構域之間的天然二硫鍵穩定化。另外，此等單鏈Fab分子可經由插入半胱胺酸殘基(例如可變重鏈中之位置44及可變輕鏈中之位置100，根據Kabat編號)而產生鏈間二硫鍵來進一步穩定化。

「互換單鏈Fab片段」或「**x-scFab**」係由抗體重鏈可變結構域(VH)、抗體恆定結構域1 (CH1)、抗體輕鏈可變結構域(VL)、抗體輕鏈恆定結構域(CL)及連接子組成之多肽，其中該等抗體結構域及該連接子按N端至C端方向之次序具有以下中之一者：a) VH-CL-連接子-VL-CH1及b)

VL-CH1-連接子-VH-CL；其中VH及VL共同形成抗原結合位點，其特異性結合於抗原且其中該連接子為至少30個胺基酸之多肽。另外，此等x-scFab分子可經由插入半胱胺酸殘基(例如可變重鏈中之位置44及可變輕鏈中之位置100，根據Kabat編號)而產生鏈間二硫鍵來進一步穩定化。

「單鏈可變片段(scFv)」為抗體之重鏈(V_H)及輕鏈(V_L)之可變區之融合蛋白，其與具有十至約25個胺基酸之短連接肽連接。連接子通常富含甘胺酸以具有可撓性，以及絲胺酸或蘇胺酸以具有可溶性，且可使V_H之N端與V_L之C端連接，或反之亦然。儘管移除恆定區且引入連接子，但此蛋白質保留初始抗體之特異性。scFv抗體例如描述於Houston, J.S., Methods in Enzymol. 203 (1991) 46-96)中。另外，抗體片段包含單鏈多肽，其具有VH結構域(亦即能夠與VL結構域一起組裝成功能性抗原結合位點)或VL結構域(亦即能夠與VH結構域一起組裝成功能性抗原結合位點)之特徵，且由此提供全長抗體之抗原結合特性。

「骨架抗原結合蛋白」在此項技術中已知，例如纖維結合蛋白及經設計錨蛋白重複蛋白質(DARPins)已用作抗原結合域之替代骨架，參見例如Gebauer及Skerra, Engineered protein scaffolds as next-generation antibody therapeutics.Curr Opin Chem Biol 13:245-255 (2009)及Stumpp等人, Darpins: A new generation of protein therapeutics. Drug Discovery Today 13: 695-701 (2008)。在本發明之一個態樣中，骨架抗原結合蛋白係選自由以下組成之群：CTLA-4 (艾維伯迪(Evibody))；脂質運載蛋白(抗運載蛋白)；蛋白質A衍生之分子，諸如蛋白質A之Z結構域(親和抗體)；A結構域(高親和性多聚體/最大抗體)；血清運鐵蛋白(反式體)；經設計之錨蛋白重複蛋白質(DARPin)；抗體輕鏈或重鏈之可變結構域(單結構

域抗體，sdAb)；抗體重鏈之可變結構域(奈米抗體，aVH)；V_{NAR}片段；纖維結合蛋白(阿耐克汀(AdNectin))；C型凝集素結構域(四連接素)；新型抗原受體β-內醯胺酶之可變結構域(V_{NAR}片段)；人類γ-晶狀體球蛋白或泛素(阿菲林(Affilin)分子)；人類蛋白酶抑制劑之kunitz型結構域，微體，諸如來自knottin家族之蛋白質、肽適體及纖維結合蛋白(阿耐克汀)。CTLA-4 (細胞毒性T淋巴細胞相關抗原4)係表現於大部分CD4+ T細胞上之CD28家族受體。其細胞外結構域具有可變域類Ig摺疊。對應於抗體之CDR之環可經異源序列取代以賦予不同結合特性。經工程改造以具有不同結合特異性之CTLA-4分子亦稱為艾維伯迪(Evibodies)(例如US7166697B1)。艾維伯迪與抗體(例如結構域抗體)之經分離之可變區之尺寸大致相同。關於其他細節，參見Journal of Immunological Methods 248 (1-2), 31-45 (2001)。脂質運載蛋白為細胞外蛋白質之家族，其傳遞小型疏水性分子，諸如類固醇、後色膽素、類視黃素及脂質。其具有剛性β-片二級結構，其在圓錐結構之開放端具有許多環，其可經工程改造以結合於不同目標抗原。抗運載蛋白之尺寸在160-180個胺基酸之間，且來源於脂質運載蛋白。關於其他細節，參見Biochim Biophys Acta 1482: 337-350 (2000)、US7250297B1及US20070224633。親和抗體係來源於金黃色葡萄球菌(Staphylococcus aureus)之蛋白質A之骨架，其可經工程改造以結合於抗原。結構域由具有約58個胺基酸之三螺旋束組成。已藉由表面殘基之隨機化產生庫。關於其他細節，參見Protein Eng. Des. Sel. 2004, 17, 455-462及EP 1641818A1。高親合性多聚體為來源於A-結構域骨架家族之多域蛋白質。約35個胺基酸之原生結構域採用既定二硫鍵鍵結之結構。藉由改組由A-結構域之家族呈現之天然變化來產生多樣性。關於其他

細節，參見Nature Biotechnology 23(12), 1556 - 1561 (2005)及Expert Opinion on Investigational Drugs 16(6), 909-917 (2007年6月)。運鐵蛋白係單體血清傳遞醣蛋白。運鐵蛋白可藉由在允許的表面環中插入肽序列而經工程改造，以結合不同目標抗原。經工程改造之運鐵蛋白骨架之實例包括反式體。關於其他細節，參見J. Biol. Chem 274, 24066-24073 (1999)。經設計之錨蛋白重複蛋白質(DARPins)來源於錨蛋白，其為介導整合膜蛋白質與細胞骨架之連接的蛋白質之家族。單一錨蛋白重複為由兩個α螺旋及β回旋(beta-turn)組成之33殘基主結構。其可藉由隨機化各重複之第一個α螺旋及β回旋中之殘基而經工程改造以結合不同目標抗原。可藉由增加模組數目來增加其結合界面(親和力成熟方法)。關於其他細節，參見J. Mol. Biol. 332, 489-503 (2003), PNAS 100(4), 1700-1705 (2003)及J. Mol. Biol. 369, 1015-1028 (2007)以及US20040132028A1。單結構域抗體係由單一單體可變抗體結構域組成之抗體片段。第一個單結構域來源於來自駱駝之抗體重鏈之可變結構域(奈米抗體或V_HH片段)。此外，術語單結構域抗體包括自主人類重鏈可變域(aVH)或來源於鯊魚之V_{NAR}片段。纖維結合蛋白為可經工程改造以結合於抗原之骨架。纖連蛋白由III型人類纖維結合蛋白(FN3)之15個重複單元之第10個結構域之天然胺基酸序列之主鏈組成。β-夾層結構之一端處的三個環可經工程改造以使阿德奈汀能夠特異性識別相關治療目標。關於其他細節，參見Protein Eng. Des. Sel. 18, 435- 444 (2005)、US20080139791、WO2005056764及US6818418B1。肽適體係組合性識別分子，其由恆定骨架蛋白質(通常為硫氧還蛋白(TrxA))組成，該恆定骨架蛋白質含有在活性位點處插入之限制性可變肽環。關於其他細節，參見Expert Opin. Biol. Ther. 5, 783-797

(2005)。微體來源於天然存在之長度為25-50個胺基酸之微型蛋白質，其含有3-4個半胱胺酸橋，微型蛋白質之實例包括KalataBI及芋螺毒素(conotoxin)及打結素。微型蛋白質具有環，其可經工程改造以包括至多25個胺基酸而不影響微型蛋白質之整體摺疊。關於經工程改造之打結素結構域之其他細節，參見WO2008098796。

與參考分子「**結合於相同抗原決定基之抗原結合分子**」係指一種抗原結合分子，其在競爭分析中阻斷參考分子與其抗原之結合達50%或更大，且相反，參考分子在競爭分析中阻斷抗原結合分子與其抗原之結合達50%或更大。

術語「**抗原結合結構域**」或「**抗原結合位點**」係指包含特異性結合於部分或全部抗原且與部分或全部抗原互補之區域的抗原結合分子的部分。當抗原較大時，抗原結合分子可僅結合於抗原之特定部分，該部分稱為抗原決定基。抗原結合結構域可由例如一或多個可變域(亦稱為可變區)提供。較佳地，抗原結合域包含抗體輕鏈可變區(VL)及抗體重鏈可變區(VH)。

如本文所用，術語「**抗原決定子**」與「抗原」及「抗原決定基」同義且係指多肽大分子上與抗原結合部分結合，形成抗原結合部分-抗原複合物的位點(例如鄰近胺基酸區段或由非鄰近胺基酸之不同區域組成的構形組態)。適用的抗原決定子可發現於例如腫瘤細胞表面上、病毒所感染細胞之表面上、其他病變細胞表面上、免疫細胞表面上、游離於血清中及/或細胞外基質(ECM)中。除非另有指示，否則本文中適用作抗原之蛋白質可為來自任何脊椎動物來源(包括哺乳動物，諸如靈長類動物(例如人類)及嚙齒動物(例如小鼠及大鼠))之蛋白質的任何原生形式。在一特定實

施例中，抗原係人類蛋白質。在本文中提及特定蛋白質的情況下，該術語涵蓋「全長」的未經處理的蛋白質，以及由細胞中之處理所產生的任何形式的蛋白質。該術語亦涵蓋天然存在之蛋白質變異體，例如剪接變異體或對偶基因變異體。

「**特異性結合**」意謂結合對於抗原而言具選擇性且可與非所需或非特異性相互作用區分。抗原結合分子結合於特異性抗原之能力可經由酶聯結免疫吸附分析(ELISA）或熟習此項技術者熟悉之其他技術(例如表面電漿子共振(SPR)技術(在BIAcore儀器上分析)(Liljeblad等人, Glyco J 17, 323-329 (2000))及傳統結合分析(Heeley, Endocr Res 28, 217-229 (2002))量測。在一個實施例中，抗原結合分子結合於不相關蛋白質之程度小於抗原結合分子結合於抗原的約10%，如例如藉由SPR量測。在某些實施例中，結合於抗原之分子具有≤ 1 μM、≤ 100 nM、≤ 10 nM、≤ 1 nM、≤ 0.1 nM、≤ 0.01 nM或≤ 0.001 nM (例如10^{-8} M或更小，例如10^{-8} M至10^{-13} M，例如10^{-9} M至10^{-13} M)之解離常數(Kd)。

「**親和力**」或「結合親和力」係指分子(例如抗體)之單個結合位點與其結合搭配物(例如抗原)之間的非共價相互作用的強度總和。除非另外指明，否則如本文所使用之「結合親和力」係指反映結合對(例如抗體與抗原)成員之間的1:1相互作用的固有結合親和力。分子X對其搭配物Y的親和力一般可由解離常數(Kd)表示，解離常數係解離速率常數與結合速率常數(分別係koff及kon)之比率。因此，等效親和力可包含不同速率常數，只要速率常數之比率保持相同即可。可藉由此項技術中已知之常用方法(包括本文所述之該等方法)來量測親和力。一種用於量測親和力的特定方法係表面電漿子共振(SPR)。

「**親和力成熟**」抗體係指相較於在一或多個高變區(HVR)中不具有一或多個改變之親本抗體，在一或多個高變區中具有一或多個改變之抗體，此類改變使抗體對抗原之親和力得到提高。

如本文所用，「**靶細胞抗原**」係指靶細胞(例如腫瘤細胞，諸如癌細胞或腫瘤基質細胞)表面上所呈遞的抗原決定子。在某些實施例中，靶細胞抗原係腫瘤細胞表面上的抗原。在一個實施例中，靶細胞抗原係選自由以下組成之群：纖維母細胞活化蛋白(FAP)、癌胚抗原(CEA)、黑素瘤相關軟骨素硫酸鹽蛋白聚糖(MCSP)、表皮生長因子受體(EGFR)、CD19、CD20及CD33。特定言之，靶細胞抗原係纖維母細胞活化蛋白(FAP)。

除非另有指示，否則術語「**纖維母細胞活化蛋白(FAP)**」，亦稱為脯胺醯基內肽酶FAP或Seprase (EC 3.4.21)，係指來自任何脊椎動物來源（包括哺乳動物，諸如靈長類動物(例如人類)、非人類靈長類動物(例如食蟹獼猴)及嚙齒動物(例如小鼠及大鼠))之任何原生FAP。該術語涵蓋「全長」的未經處理的FAP以及由細胞中之處理產生的FAP的任何形式。該術語亦涵蓋FAP之天然存在之變異體，例如剪接變異體或對偶基因變異體。在一個實施例中，本發明之抗原結合分子能夠特異性結合於人類、小鼠及/或獼猴FAP。人類FAP之胺基酸序列展示於UniProt (www.uniprot.org)寄存編號Q12884 (版本149，SEQ ID NO: 95)或NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/) RefSeq NP_004451.2中。人類FAP之細胞外結構域(ECD)自胺基酸位置26延伸至胺基酸位置760。His標記之人類FAP ECD之胺基酸序列展示於SEQ ID NO 96中。小鼠FAP之胺基酸序列展示於UniProt寄存編號P97321 (版本126，SEQ ID NO: 97)或NCBI RefSeq NP_032012.1中。小鼠FAP之細胞外結構域(ECD)自胺基酸位置26延伸至

胺基酸位置761。SEQ ID NO: 98展示His標記之小鼠FAP ECD之胺基酸序列。SEQ ID NO: 99展示His標記之食蟹獼猴FAP ECD之胺基酸序列。本發明之抗FAP結合分子較佳結合於FAP之細胞外結構域。

除非另有指示，否則術語「**癌胚抗原(CEA)**」，亦稱為癌胚抗原相關細胞黏附分子5 (CEACAM5)，係指來自任何脊椎動物來源(包括哺乳動物，諸如靈長類動物(例如人類)、非人類靈長類動物(例如食蟹獼猴)及嚙齒動物(例如小鼠及大鼠))之任何原生CEA。人類CEA之胺基酸序列展示於UniProt寄存編號P06731 (版本151，SEQ ID NO: 100)中。長期將CEA鑑別為腫瘤相關抗原(Gold及Freedman, J Exp Med., 121:439-462, 1965；Berinstein N. L., J Clin Oncol., 20:2197-2207, 2002)。最初歸類為僅表現於胎兒組織中之蛋白質，現今在若干正常成年人組織中發現CEA。此等組織之來源主要係上皮，包括胃腸道、呼吸道及尿道之細胞，及結腸、子宮頸、汗腺及前列腺之細胞(Nap等人, Tumour Biol., 9(2-3):145-53, 1988；Nap等人, Cancer Res., 52(8):2329-23339, 1992)。上皮來源之腫瘤以及其癌轉移含有CEA作為腫瘤相關抗原。儘管存在CEA本身並不指示轉型成癌細胞，但表明CEA之分佈。在正常組織中，CEA通常表現於細胞之頂端表面上(Hammarström S., Semin Cancer Biol. 9(2):67-81 (1999))，使其不可接近血流中之抗體。與正常組織相反，CEA傾向於在癌細胞之整個表面上表現(Hammarström S., Semin Cancer Biol. 9(2):67-81 (1999))。此表現模式之變化使得CEA可實現癌細胞中之抗體結合。另外，CEA表現在癌細胞中增加。此外，增加之CEA表現促進增加之細胞間黏附，其可引起轉移(Marshall J., Semin Oncol., 30(增刊8):30-6, 2003)。多種腫瘤實體中之CEA表現之發生率通常極高。根據公

開之資料，組織樣品中進行之自身分析證實其高發生率，在結腸直腸癌(CRC)中為約95%，在胰臟癌中為90%，在胃癌中為80%，在非小細胞肺癌(NSCLC，其中其與HER3共表現)中為60%且在乳癌中為40%；在小細胞肺癌及神經膠母細胞瘤中發現低表現。

CEA易於自細胞表面裂解且自腫瘤直接或經由淋巴管進入血流。由於此性質，已使用血清CEA之含量作為用於診斷癌症及篩檢癌症(特定言之結腸直腸癌)復發之臨床標記物(Goldenberg D M., The International Journal of Biological Markers, 7:183-188, 1992；Chau I.等人, J Clin Oncol., 22:1420-1429, 2004；Flamini等人, Clin Cancer Res; 12(23):6985-6988, 2006)。

除非另有指示，否則術語「**黑素瘤相關軟骨素硫酸鹽蛋白聚糖(MCSP)**」，亦稱為軟骨素硫酸鹽蛋白聚糖4 (CSPG4)，係指來自任何脊椎動物來源(包括哺乳動物，諸如靈長類動物(例如人類)、非人類靈長類動物(例如食蟹獼猴)及嚙齒動物(例如小鼠及大鼠))之任何原生MCSP。人類MCSP之胺基酸序列展示於UniProt寄存編號Q6UVK1 (版本103，SEQ ID NO: 101)中。除非另有指示，否則術語「**表皮生長因子受體(EGFR)**」，亦稱為原癌基因c-ErbB-1或受體酪胺酸-蛋白質激酶erbB-1，係指來自任何脊椎動物來源(包括哺乳動物，諸如靈長類動物(例如人類)、非人類靈長類動物(例如食蟹獼猴)及嚙齒動物(例如小鼠及大鼠))之任何原生EGFR。人類EGFR之胺基酸序列展示於UniProt寄存編號P00533 (版本211，SEQ ID NO: 102)中。除非另有指示，否則術語「**CD19**」係指B-淋巴細胞抗原CD19，亦稱為B-淋巴細胞表面抗原B4或T細胞表面抗原Leu-12且包括來自任何脊椎動物來源(包括哺乳動物，諸如靈長類動物(例如人

類)、非人類靈長類動物(例如食蟹獼猴)及嚙齒動物(例如小鼠及大鼠))之任何原生CD19。人類CD19之胺基酸序列展示於UniProt寄存編號P15391(版本160，SEQ ID NO: 103)中。除非另外指示，否則「**CD20**」係指B淋巴細胞抗原CD20，亦稱為跨膜4-結構域子族A成員1 (MS4A1)、B-淋巴細胞表面抗原B1或白細胞表面抗原Leu-16，且包括來自任何脊椎動物來源(包括哺乳動物，諸如靈長類動物(例如人類)、非人類靈長類動物(例如食蟹獼猴)及嚙齒動物(例如小鼠及大鼠))之任何原生CD20。人類CD20之胺基酸序列展示於Uniprot寄存編號P11836 (版本149，SEQ ID NO: 104)中。除非另有指示，否則「**CD33**」係指骨髓細胞表面抗原CD33，亦稱為SIGLEC3或gp67，且包括來自任何脊椎動物來源(包括哺乳動物，諸如靈長類動物(例如人類)、非人類靈長類動物(例如食蟹獼猴)及嚙齒動物(例如小鼠及大鼠))之任何原生CD33。人類CD33之胺基酸序列展示於Uniprot寄存編號P20138 (版本157，SEQ ID NO: 105)中。

術語「**可變區**」或「可變結構域」係指抗體重鏈或輕鏈中涉及抗原結合分子與抗原之結合的結構域。天然抗體之重鏈及輕鏈(分別為VH及VL)可變結構域通常具有類似的結構，其中各結構域包含四個保守性構架區(FR)及三個高變區(HVR)。參見例如Kindt等人, Kuby Immunology, 第6版, W.H. Freeman and Co., 第91頁 (2007)。單一VH或VL結構域可足以賦予抗原結合特異性。

如本文所用，術語「**高變區**」或「HVR」係指抗體可變結構域中在序列上具有高變性及/或形成結構上定義之環(「高變環」)的各區。通常，原生四鏈抗體包含六個HVR；三個位於VH中(H1、H2、H3)，且三個位於VL中(L1、L2、L3)。HVR一般包含來自高變環及/或來自「互補決定

區」(CDR)的胺基酸殘基，後者具有最高的序列可變性及/或與抗原識別相關。例示性高變環出現在胺基酸殘基26-32 (L1)、50-52 (L2)、91-96 (L3)、26-32 (H1)、53-55 (H2)及96-101 (H3)處。(Chothia及Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)。) 例示性CDR (CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3)出現在L1之胺基酸殘基24-34、L2之胺基酸殘基50-56、L3之胺基酸殘基89-97、H1之胺基酸殘基31-35B、H2之胺基酸殘基50-65及H3之胺基酸殘基95-102處。(Kabat等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版. 公共衛生服務(Public Health Service), 美國國家衛生研究院(National Institutes of Health), Bethesda, MD (1991)。)高變區(HVR)亦稱為互補決定區(CDR)，且此等術語在本文中、在提及形成抗原結合區之可變區之一部分時可互換使用。此特定區已由Kabat等人, U.S. Dept. of Health and Human Services,「Sequences of Proteins of Immunological Interest」(1983)及Chothia等人, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)描述，其中在對照彼此比較時，定義包括胺基酸殘基之重疊或子群。然而，涉及抗體或其變異體之CDR之任何定義的應用意欲處於如本文中所定義及所用之術語的範疇內。涵蓋如上文所引用之參考文獻中之每一者所定義之CDR的適當胺基酸殘基闡述於下表A中作為比較。包含特定CDR的確切殘基數目將視CDR序列及大小而變。在抗體之可變區胺基酸序列指定的情況下，熟習此項技術者可以常規方式測定哪些殘基包含特定CDR。

表A. CDR定義[1]

CDR	Kabat	Chothia	AbM[2]
V_H CDR1	31-35	26-32	26-35
V_H CDR2	50-65	52-58	50-58
V_H CDR3	95-102	95-102	95-102

V_L CDR1	24-34	26-32	24-34
V_L CDR2	50-56	50-52	50-56
V_L CDR3	89-97	91-96	89-97

[1]表A中之所有CDR定義之編號皆依據Kabat等人所闡述之編號約定(參見下文)。

[2] 如表A中所用之含有小寫字母「b」的「AbM」係指如藉由Oxford Molecular之「AbM」抗體模型化軟體所定義的CDR。

Kabat等人亦定義適用於任何抗體的可變區序列編號系統。一般熟習此項技術者可將此「Kabat編號」系統明確地分配給任何可變區序列，而不依賴於超過序列本身的任何實驗資料。如本文所用，「Kabat編號」係指由Kabat等人, U.S. Dept. of Health and Human Services, 「Sequence of Proteins of Immunological Interest」 (1983)所闡述之編號系統。除非另外說明，否則提及抗體可變區中之特異性胺基酸殘基位置的編號係根據Kabat編號系統。

除VH中之CDR1以外，CDR通常包含形成高變環之胺基酸殘基。CDR亦包含「特異性決定殘基」或「SDR」，其為接觸抗原之殘基。SDR含於簡稱為-CDR或a-CDR之CDR區內。例示性a-CDR (a-CDR-L1、a-CDR-L2、a-CDR-L3、a-CDR-H1、a-CDR-H2及a-CDR-H3)出現於L1之胺基酸殘基31-34、L2之胺基酸殘基50-55、L3之胺基酸殘基89-96、H1之胺基酸殘基31-35B、H2之胺基酸殘基50-58及H3之胺基酸殘基95-102處。(參見Almagro及Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)。) 除非另外指示，否則在本文中，根據Kabat等人, 同前文獻對可變結構域中之HVR殘基及其他殘基(例如FR殘基)進行編號。

「構架」或「FR」係指除高變區(HVR)殘基以外的可變結構域殘基。可變結構域之FR通常由四個結構域組成：FR1、FR2、FR3及FR4。因此，在VH (或VL)中，HVR及FR序列一般依以下序列呈現：FR1-

H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

術語「**嵌合**」抗體係指重鏈及/或輕鏈之一部分衍生自特定來源或物種，同時重鏈及/或輕鏈之其餘部分衍生自不同來源或物種的抗體。

抗體之「**類別**」係指其重鏈所具有之恆定結構域或恆定區的類型。存在五種主要類別之抗體：IgA、IgD、IgE、IgG及IgM，且此等類別中之若干者可進一步分成子類(同型)，例如IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1及IgA_2。對應於不同類別之免疫球蛋白之重鏈恆定域分別稱為α、δ、ε、γ及μ。

「**人類化**」抗體係指包含來自非人類HVR之胺基酸殘基及來自人類FR之胺基酸殘基之嵌合抗體。在某些實施例中，人類化抗體將包含至少一個且通常兩個可變結構域之實質上所有者，其中所有或實質上所有HVR (例如CDR)皆對應於非人類抗體之HVR，且所有或實質上所有FR皆對應於人類抗體之FR。人類化抗體視情況可包含源自人類抗體之抗體恆定區的至少一部分。抗體(例如非人類抗體)之「**人類化形式**」係指已經歷人類化之抗體。本發明涵蓋之「人類化抗體」之其他形式為其中恆定區已經額外修飾或自原始抗體發生變化以產生根據本發明之特性(尤其在C1q結合及/或Fc受體(FcR)結合方面)之抗體。

「**人類**」抗體係胺基酸序列對應於由人類或人類細胞產生或來源於利用人類抗體譜系或其他人類抗體編碼序列之非人類來源之抗體之胺基酸序列的抗體。人類抗體之此定義特定排除包含非人類抗原結合殘基之人類化抗體。

術語「Fc結構域」或「**Fc區**」在本文中用於定義抗體重鏈中含有恆定區之至少一部分的C末端區。該術語包括原生序列Fc區及變異型Fc區。

IgG Fc區包含IgG CH2及IgG CH3結構域。人類IgG Fc區之「CH2結構域」通常自約位置231處之胺基酸殘基延伸至約位置340處之胺基酸殘基。在一個實施例中，碳水化合物鏈連接至CH2結構域。本文中，CH2結構域可為原生序列CH2結構域或變異型CH2結構域。「CH3結構域」包含Fc區中殘基C末端延伸至CH2結構域(亦即自約IgG位置341處之胺基酸殘基至約位置447處之胺基酸殘基)。本文之CH3區可為原生序列CH3結構域或變異型CH3結構域(例如在其一個鏈內具有引入的「突起」(「杵」)，及在它的其他鏈內具有相對應引入的「凹穴」(「臼」)的CH3結構域；參見美國專利第5,821,333號，其明確地以引用之方式併入本文中)。此類變異型CH3結構域可用於促進如本文中所描述之兩個非一致抗體重鏈之雜二聚化。在一個實施例中，人類IgG重鏈Fc區自Cys226或自Pro230延伸至重鏈之羧基端。然而，Fc區之C末端離胺酸(Lys447)可存在或可能不存在。除非本文另外說明，否則Fc區或恆定區中胺基酸殘基之編號係根據EU編號系統，亦稱為EU索引，如Kabat等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版. 公共衛生服務(Public Health Service), 美國國家衛生研究院(National Institutes of Health), Bethesda, MD, 1991中所述。

「杵-臼」技術描述於例如US 5,731,168；US 7,695,936；Ridgway等人, Prot Eng 9, 617-621 (1996)及Carter, J Immunol Meth 248, 7-15 (2001)中。一般而言，方法包括在第一多肽之界面處引入突起(「杵」)及在第二多肽之界面處引入相應凹穴(「臼」)，使得突起可定位於凹穴中以便促進雜二聚體形成且阻礙均二聚體形成。藉由用較大側鏈(例如酪胺酸或色胺酸)置換第一多肽界面中之小胺基酸側鏈來構建突起。尺寸與突起

相同或相似的補償性凹穴藉由用較小胺基酸側鏈(例如丙胺酸或蘇胺酸)置換大胺基酸側鏈而形成於第二多肽之界面中。突起及凹穴可藉由改變編碼多肽之核酸產生，例如藉由位點特異性突變誘發或藉由肽合成。在一特定實施例中，杵修飾包含Fc結構域之兩個亞單元中之一者中之胺基酸取代T366W，且臼修飾包含Fc結構域之兩個亞單元中之另一者中的胺基酸取代T366S、L368A及Y407V。在另一特定實施例中，包含杵修飾之Fc結構域之亞單元額外包含胺基酸取代S354C，且包含臼修飾之Fc結構域之亞單元額外包含胺基酸取代Y349C。引入此等兩個半胱胺酸殘基使得Fc區之兩個亞單元之間形成二硫橋鍵，由此進一步穩定二聚體(Carter, J Immunol Methods 248, 7-15 (2001))。

「與免疫球蛋白之Fc區等效之區」意欲包括免疫球蛋白之Fc區之天然存在之對偶基因變異體以及具有變化之變異體，該等變化產生取代、添加或缺失，但不實質上降低免疫球蛋白介導效應功能(諸如抗體依賴性細胞毒性)之能力。舉例而言，免疫球蛋白之Fc區之N-末端或C末端可缺失一或多個胺基酸而不實質性損失生物功能。此類變異體可根據此項技術中已知的一般法則選擇以對活性具有最小影響(參見例如Bowie, J. U.等人, Science 247:1306-10 (1990))。

術語「**效應功能**」係指可歸因於抗體之Fc區之彼等生物活性，其因抗體同型而異。抗體效應功能之實例包括：C1q結合及補體依賴性細胞毒性(CDC)、Fc受體結合、抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)、抗體依賴性細胞吞噬(ADCP)、細胞激素分泌、免疫複合物介導之抗原呈遞細胞攝入抗原、細胞表面受體(例如B細胞受體)下調及B細胞活化。

可藉由抗體之Fc-區與Fc受體(FcR)相互作用來調節Fc受體結合依賴

性效應功能，其為造血細胞上經特殊化之細胞表面受體。Fc受體屬於免疫球蛋白超家族，且已展示經由抗體依賴性細胞毒性(ADCC)其調節包被抗體之病原體之移除(藉由免疫複合體吞噬作用)，及紅血球及包被相對應抗體的不同其他細胞靶(例如腫瘤細胞)之裂解兩者 (參見例如，Van de Winkel, J.G.及Anderson, C.L., J. Leukoc. Biol. 49 (1991) 511-524)。FcR由其針對免疫球蛋白同型之特異性定義：針對IgG抗體之Fc受體稱為FcγR。例如Ravetch, J.V.及Kinet, J.P., Annu. Rev. Immunol. 9 (1991) 457-492；Capel, P.J.等人, Immunomethods 4 (1994) 25-34；de Haas, M.等人., J. Lab. Clin. Med. 126 (1995) 330-341；及Gessner, J.E.等人, Ann. Hematol. 76 (1998) 231-248描述Fc受體結合。

IgG抗體之Fc區(FcγR)的受體交聯觸發多種效應功能，包括噬菌作用、抗體依賴性細胞毒性及炎性介質釋放，以及免疫複合物清除及抗體產量之調節。在人類中，已表徵三種類別之FcγR，其為：

-FcγRI (CD64)以高親和力結合單體IgG，並在巨噬細胞、單核細胞、嗜中性白細胞及嗜酸性細胞上表現。Fc區IgG中胺基酸殘基E233-G236、P238、D265、N297、A327及P329 (根據Kabat EU索引編號)中之一者的修改降低在位置233-236處對FcγRI. IgG2殘基的結合，取代至IgG1及IgG4中，將對FcγRI之結合減少10^3倍且消除對抗體敏化紅細胞的人類單核細胞反應(Armour, K.L., 等人, Eur. J. Immunol. 29 (1999) 2613-2624)。

-FcγRII (CD32)以中至低親和力結合複合型IgG，並廣泛表現。此受體可分為兩種子類型：FcγRIIA及FcγRIIB。在許多涉及殺滅之細胞(例如，巨噬細胞、單核細胞、嗜中性白細胞)上發現FcγRIIA，且其似乎能夠

激活殺滅程序。FcγRIIB似乎在抑製程序中起一定作用，且在B細胞、巨噬細胞上及肥大細胞及嗜酸性細胞上發現FcγRIIB。在B細胞上，其似乎起到遏制進一步產生免疫球蛋白及同型轉換至例如IgE類別之功能。在巨噬細胞上，當調節至FcγRIIA時，FcγRIIB用以抑制吞噬作用。在嗜酸性細胞及肥大細胞上，在IgE結合至其獨立受體的整個過程中，B形態可有助於遏制此等細胞。發現FcγRIIA結合減小，例如對於包含至少在胺基酸殘基E233-G236、P238、D265、N297、A327、P329、D270、Q295、A327、R292及K414中之一者處具有突變之IgG Fc-區的抗體(根據Kabat之EU索引編號)。

-FcγRIII (CD16)以中至低低親和力結合IgG，並以兩種類型存在。在NK細胞、巨噬細胞、嗜酸性細胞及一些單核細胞及T細胞上發現FcγRIIIA，且FcγRIIIA調節ADCC。FcγRIIIB在嗜中性白細胞上高度表現。發現FcγRIIIA結合減小，例如對於包含至少在胺基酸殘基E233-G236、P238、D265、N297、A327、P329、D270、Q295、A327、S239、E269、E293、Y296、V303、A327、K338及D376中之一者處具有突變之IgG Fc-區的抗體(根據Kabat之EU索引編號)。

Shields, R.L.,等人 J. Biol. Chem. 276 (2001) 6591-6604中描述人類IgG1上對Fc受體之結合位點的映射、上述突變位點及用於量測對FcγRI及FcγRIIA結合的方法。

術語「**ADCC**」或「抗體依賴性細胞毒性」係藉由Fc受體結合調節之功能，且係指在效應細胞存在下的情況下藉由如本文所報導之抗體裂解靶細胞。藉由量測抗體結合Fcγ受體表現細胞，諸如以重組方式表現FcγRI及/或FcγRIIA或NK細胞(基本上表現FcγRIIIA)之細胞，來研究引起

調節ADCC之最初步驟的抗體含量。特定言之，量測NK細胞上與FcγR之結合。

「**活化Fc受體**」係一種Fc受體，其與抗體之Fc區接合之後，引發信號傳導事件，其刺激攜帶受體之細胞執行效應功能。活化Fc受體包括FcγRIIIa (CD16a)、FcγRI (CD64)、FcγRIIa (CD32)及FcαRI (CD89)。特定活化Fc受體係人類FcγRIIIa (參見UniProt寄存編號P08637，版本141)。

「腫瘤壞死因子受體超家族」或「**TNF受體超家族**」目前由27種受體組成。其為一群特徵為經富含半胱胺酸之胞外結構域(CRD)結合腫瘤壞死因子(TNF)之能力的細胞激素受體。此等偽重複由受體鏈內高度保守半胱胺酸殘基產生之鏈內二硫化物定義。除神經生長因子(NGF)以外，全部TNF與原型TNF-α同源。大部分TNF受體以其活性形式在漿膜中形成三聚複合物。因此，大部分TNF受體含有跨膜結構域(TMD)。若干此等受體亦含有胞內死亡結構域(DD)，其在配位體結合之後募集卡斯蛋白酶相互作用蛋白以起始卡斯蛋白酶活化之外源路徑。缺乏死亡結構域之其他TNF超家族受體結合TNF受體相關因子且活化可導致增殖或分化之胞內信號傳導路徑。此等受體亦可起始細胞凋亡，但其經間接機制進行。除了調節細胞凋亡之外，若干TNF超家族受體涉及調節免疫細胞功能(諸如B細胞穩定及活化)、自然殺手細胞活化及T細胞共刺激。若干其他受體調節細胞類型特異性反應，諸如毛囊發育及蝕骨細胞發育。TNF受體超家族之成員包括以下：腫瘤壞死因子受體1 (1A) (TNFRSF1A、CD120a)、腫瘤壞死因子受體2 (1B) (TNFRSF1B、CD120b)、淋巴毒素β受體(LTBR、CD18)、OX40 (TNFRSF4、CD134)、CD40 (Bp50)、Fas受體(Apo-1、CD95、

FAS)、誘餌受體3 (TR6、M68、TNFRSF6B)、CD27 (S152、Tp55)、CD30 (Ki-1、TNFRSF8)、4-1BB (CD137、TNFRSF9)、DR4 (TRAILR1、Apo-2、CD261、TNFRSF10A)、DR5 (TRAILR2、CD262、TNFRSF10B)、誘餌受體1 (TRAILR3、CD263、TNFRSF10C)、誘餌受體2 (TRAILR4、CD264、TNFRSF10D)、RANK (CD265、TNFRSF11A)、骨保護素(OCIF、TR1、TNFRSF11B)、TWEAK受體(Fn14、CD266、TNFRSF12A)、TACI (CD267、TNFRSF13B)、BAFF受體(CD268、TNFRSF13C)、疱疹病毒侵入介體(HVEM、TR2、CD270、TNFRSF14)、神經生長因子受體(p75NTR、CD271、NGFR)、B細胞成熟抗原(CD269、TNFRSF17)、糖皮質激素誘導之TNFR相關(GITR、AITR、CD357、TNFRSF18)、TROY (TNFRSF19)、DR6 (CD358、TNFRSF21)、DR3 (Apo-3、TRAMP、WS-1、TNFRSF25)以及外異蛋白A2受體(XEDAR、EDA2R)。

腫瘤壞死因子受體(TNFR)家族之若干成員在初始T細胞活化之後用於維持T細胞反應。術語「**共刺激TNF受體家族成員**」或「共刺激TNF家族受體」係指能夠共刺激T細胞之增殖及細胞激素產生的TNF受體家族成員之子群。除非另外指示，否則該術語係指來自任何脊椎動物來源(包括哺乳動物，諸如靈長類動物(例如人類)、非人類靈長類動物(例如食蟹獼猴)及嚙齒動物(例如小鼠及大鼠))之任何原生TNF家族受體。在本發明之具體實施例中，共刺激TNF受體家族成員係選自由以下組成之群：OX40 (CD134)、4-1BB (CD137)、CD27、HVEM (CD270)、CD30及GITR，其均可對T細胞具有共刺激作用。更特定言之，共刺激TNF受體家族成員係4-1BB。

除非另外指示，否則如本文所用之術語「**4-1BB**」係指來自任何脊椎動物來源(包括哺乳動物，諸如靈長類動物(例如人類)及嚙齒動物(例如小鼠及大鼠))之任何原生4-1BB。該術語涵蓋「全長」未經處理之4-1BB以及由細胞中之處理產生的4-1BB之任何形式。該術語亦涵蓋天然存在之4-1BB變異體，例如剪接變異體或對偶基因變異體。例示性人類4-1BB之胺基酸序列顯示於SEQ ID NO: 106 (Uniprot寄存編號Q07011)中，例示性鼠類4-1BB之胺基酸序列顯示於SEQ ID NO: 107 (Uniprot寄存編號P20334)中且例示性獼猴4-1BB (來自恆河猴)之胺基酸序列顯示於SEQ ID NO:108 (Uniprot寄存編號F6W5G6)中。

術語「**抗4-1BB抗體**」、「抗4-1BB」、「4-1BB抗體」及「特異性結合於4-1BB之抗體」係指能夠以足夠親和力結合4-1BB以使得抗體在靶向4-1BB時適用作診斷劑及/或治療劑之抗體。在一個實施例中，抗4-1BB抗體結合於不相關非4-1BB蛋白質之程度小於抗體結合於4-1BB的約10%，如例如藉由放射免疫分析(RIA)或流式細胞量測術(FACS)所量測。在某些實施例中，結合於4-1BB之抗體具有≤ 1μM、≤ 100 nM、≤ 10 nM、≤ 1 nM、≤ 0.1 nM、≤ 0.01 nM或≤ 0.001 nM (例如10^{-6} M或更小，例如10^{-68} M至10^{-13} M，例如10^{-8} M至10^{-10} M)之解離常數(K_D)。特定言之，抗4-1BB抗體係如揭示於美國專利第7,288,638中之純系20H4.9。

術語「**肽連接子**」係指包含一或多個胺基酸(通常約2至20個胺基酸)的肽。肽連接子在此項技術中已知或描述於本文中。適合之非免疫原性連接肽係例如$(G_4S)_n$、$(SG_4)_n$或$G_4(SG_4)_n$肽連接子，其中「n」一般係介於1與10之間，通常介於2與4之間，具體而言為2的數字，亦即肽選自由以下組成之群：GGGGS (SEQ ID NO: 109)、GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:

110)、SGGGGSGGGG (SEQ ID NO: 111)及GGGGSGGGGSGGGG (SEQ ID NO: 112)，但亦包括序列GSPGSSSSGS (SEQ ID NO: 113)、$(G4S)_3$ (SEQ ID NO: 114)、$(G4S)_4$ (SEQ ID NO: 115)、GSGSGSGS (SEQ ID NO: 116)、GSGSGNGS (SEQ ID NO: 117)、GGSGSGSG (SEQ ID NO: 118)、GGSGSG (SEQ ID NO: 119)、GGSG (SEQ ID NO: 120)、GGSGNGSG (SEQ ID NO: 121)、GGNGSGSG (SEQ ID NO: 122)以及GGNGSG (SEQ ID NO: 123)。備受關注之肽連接子係(G4S) (SEQ ID NO: 109)、$(G_4S)_2$或GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 110)、$(G4S)_3$ (SEQ ID NO: 114)及$(G4S)_4$ (SEQ ID NO: 115)。

如本申請案內所用，術語「**胺基酸**」表示天然產生之羧基α-胺基酸之群，其包含丙胺酸(三字母代碼：ala，一字母代碼：A)、精胺酸(arg，R)、天冬醯胺(asn，N)、天冬胺酸(asp，D)、半胱胺酸(cys，C)、麩醯胺酸(gln，Q)、麩胺酸(glu，E)、甘胺酸(gly，G)、組胺酸(his，H)、異白胺酸(ile，I)、白胺酸(leu，L)、離胺酸(lys，K)、甲硫胺酸(met，M)、苯丙胺酸(phe，F)、脯胺酸(pro，P)、絲胺酸(ser，S)、蘇胺酸(thr，T)、色胺酸(trp，W)、酪胺酸(tyr，Y)及纈胺酸(val，V)。

「**融合**」或「**連接**」意謂組分(例如抗體及Fab片段之重鏈)藉由肽鍵直接或經由一或多個肽連接子鍵聯。

相對於參考多肽(蛋白質)序列之「**胺基酸序列一致性百分比(%)**」定義為在比對序列且視需要引入間隙以達成最大序列一致性百分比之後，且在不將任何保守性取代視為序列一致性之一部分的情況下，候選序列中與參考多肽序列中之胺基酸殘基一致的胺基酸殘基的百分比。出於測定胺基酸序列一致性百分比之目的之比對可以此項技術內之各種方式實現，例如

使用公開可用之電腦軟體，如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign (DNASTAR)軟體。熟習此項技術者可確定適用於比對序列之參數，包括在所比較序列之全長內達成最大比對所需的任何算法。然而，出於本文之目的，使用序列比較電腦程式ALIGN-2產生胺基酸序列一致性%值。ALIGN-2序列比較電腦程式由Genentech, Inc.設計，且原始程式碼已隨使用者文件一起提交於美國版權局(U.S. Copyright Office, Washington D.C.,20559), 其以美國版權登記號TXU510087登記。ALIGN-2程式公開可獲自Genentech, Inc., South San Francisco, California或可自原始程式碼編輯。ALIGN-2程式經編譯可用於UNIX操作系統，包括數位UNIX V4.0D。所有序列比較參數均由ALIGN-2程序設定且不變化。在使用ALIGN-2進行胺基酸序列比較之情形下，給定胺基酸序列A與給定胺基酸序列B之胺基酸序列一致性% (或者，其可表述為與給定胺基酸序列B具有或包含一定胺基酸序列一致性%的給定胺基酸序列A)如下計算：

$$100 \times \text{分數} X/Y$$

其中X係在A與B之比對程式中藉由序列比對程程式ALIGN-2評為一致匹配之胺基酸殘基的數目，且其中Y係B中之胺基酸殘基的總數目。應瞭解，在胺基酸序列A之長度與胺基酸序列B之長度不相等之情況下，A相對於B之胺基酸序列一致性%與B相對於A之胺基酸序列一致性%將不相等。除非另外特定陳述，否則本文所用之所有胺基酸序列一致性%值係如前一段落中剛剛所述使用ALIGN-2電腦程式獲得。

在某些實施例中，涵蓋本文中提供之含有TNF配位三聚體之抗原結合分子的**胺基酸序列變異體**。舉例而言，可能需要改良含有TNF配位三聚體之抗原結合分子之結合親和力及/或其他生物特性。含有TNF配位三聚

體之抗原結合分子之胺基酸序列變異體可藉由將適合的修飾引入編碼核苷酸序列之分子或藉由肽合成來製備。此類修飾包括例如在抗體之胺基酸序列內殘基之缺失及/或插入及/或取代。可進行缺失、插入及取代之任何組合以獲得最終構築體，其限制條件為最終構築體具有所需特徵，例如抗原結合。用於取代性突變誘發之相關位點包括HVR及構架(FR)。保守性取代以標題「較佳取代」提供於表B中且在下文中參考胺基酸側鏈分類(1)至(6)進一步描述。胺基酸取代可引入至所關注分子中，且對產物篩查所需活性，例如保留/提高的抗原結合、免疫原性減小或提高的ADCC或CDC。

表B

原始殘基	例示性取代	較佳取代
Ala (A)	Val；Leu；Ile	Val
Arg (R)	Lys；Gln；Asn	Lys
Asn (N)	Gln；His；Asp，Lys；Arg	Gln
Asp (D)	Glu；Asn	Glu
Cys (C)	Ser；Ala	Ser
Gln (Q)	Asn；Glu	Asn
Glu (E)	Asp；Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn；Gln；Lys；Arg	Arg
Ile (I)	Leu；Val；Met；Ala；Phe；正白胺酸	Leu
Leu (L)	正白胺酸；Ile；Val；Met；Ala；Phe	Ile
Lys (K)	Arg；Gln；Asn	Arg
Met (M)	Leu；Phe；Ile	Leu
Phe (F)	Trp；Leu；Val；Ile；Ala；Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val；Ser	Ser
Trp (W)	Tyr；Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp；Phe；Thr；Ser	Phe
Val (V)	Ile；Leu；Met；Phe；Ala；正白胺酸	Leu

胺基酸可根據共有側鏈特性進行分組：

(1) 疏水性：正白胺酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；

(2) 中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；

(3) 酸性：Asp、Glu；

(4) 鹼性：His、Lys、Arg；

(5) 影響鏈取向之殘基：Gly、Pro；

(6) 芳族：Trp、Tyr、Phe。

非保守取代將必然伴有將此等類別中之一者之成員換成另一個類別。

術語「**胺基酸序列變異體**」包括其中在親本抗原結合分子(例如人類化或人類抗體)之一或多個高變區殘基中存在胺基酸取代的大致變異體。通常，所選擇之用於進一步研究之所得變異體與親本抗原結合分子相比將具有某些生物特性之修改(例如改良)(例如提高之親和力、降低之免疫原性)及/或將大體上保留親本抗原結合分子之某些生物特性。一種例示性取代型變異體係親和力成熟抗體，其可例如使用基於噬菌體呈現之親和力成熟技術(諸如本文所描述之技術)便利地產生。簡言之，一或多個HVR殘基發生突變且變異型抗原結合分子呈現於噬菌體上且針對特定生物活性(例如結合親和力)進行篩檢。在某些實施例中，一或多個HVR內可存在取代、插入或缺失，只要此類變化不實質上降低抗原結合分子結合抗原之能力即可。舉例而言，可在HVR中進行不實質上降低結合親和力之保守改變(例如如本文所提供之保守取代)。一種適用於鑑別突變誘發可靶向之抗體殘基或區的方法稱為「丙胺酸掃描突變誘發」，如Cunningham及Wells (1989) Science, 244:1081-1085所述。在此方法中，鑑別殘基或一組靶殘

基(例如帶電殘基，諸如Arg、Asp、His、Lys及Glu)且經中性或帶負電胺基酸(例如丙胺酸或聚丙胺酸)置換以判定抗體與抗原之相互作用是否受到影響。可在對初始取代展現功能敏感性之胺基酸位置處引入其他取代。或者或另外，抗原-抗原結合分子之晶體結構複合以鑑別抗體與抗原之間的接觸點。此類接觸殘基及鄰近殘基可作為取代候選物之標靶或排除在取代候選物之外。可篩選變異體以確定其是否含有所需特性。

胺基酸序列插入包括長度在一個殘基至含有一百個或多於一百個殘基之多肽範圍內的胺基端及/或羧基端融合，以及單個或多個胺基酸殘基之序列內插入。末端插入的實例包括具有N端甲硫胺醯基殘基的本發明之雙特異性抗原結合分子。分子之其他插入型變異體包括N或C端與多肽之融合，此延長雙特異性抗原結合分子之血清半衰期。

在某些實施例中，本文提供之雙特異性抗原結合分子經改變以提高或降低抗體經糖基化之程度。可藉由改變胺基酸序列使得創造或移除之一或多個糖基化位點便利地獲得分子之糖基化變異體。當含有TNF配位三聚體之抗原結合分子包含Fc區時，可改變與其連接之碳水化合物。由哺乳動物細胞產生之原生抗體通常包含分支鏈、雙觸角寡醣，其通常藉由N鍵連接至Fc區之CH2域之Asn297。參見例如Wright等人, TIBTECH 15:26-32 (1997)。寡醣可包括各種碳水化合物，例如甘露糖、N-乙醯基葡糖胺(GlcNAc)、半乳糖及唾液酸，以及連接至雙觸寡醣結構之「主幹」中之GlcNAc的海藻糖。在一些實施例中，可進行含有TNF家族配位三聚體之抗原結合分子中寡醣之修飾以產生具有某些改良之特性的變異體。在一個態樣中，提供本發明之雙特異性抗原結合分子或抗體的變異體，其具有碳水化合物結構且不具有連接(直接或間接)至Fc區的海藻糖。此類海藻糖基

化變異體可具有改良之ADCC功能，參見例如美國專利公開案第US 2003/0157108號(Presta, L.)或US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)。在另一態樣中，本發明之雙特異性抗原結合分子或抗體的變異體具有對分寡醣，例如其中連接至Fc區的二觸角寡醣經GlcNAc對分。此類變異體可具有降低之海藻糖基化及/或改良之ADCC功能，參見例如WO 2003/011878 (Jean-Mairet等人)；美國專利第6,602,684號(Umana等人)；及US 2005/0123546 (Umana等人)。亦提供寡醣中之至少一個半乳糖殘基與Fc區連接之抗體變異體。此類抗體變異體可具有改良之CDC功能且描述於例如WO 1997/30087 (Patel等人)；WO 1998/58964 (Raju, S.)；及WO 1999/22764 (Raju, S.)中。

在某些態樣中，可能需要產生本發明之雙特異性抗原結合分子之經半胱胺酸工程改造變異體，例如「thioMAb」，其中分子之一或多個殘基經半胱胺酸殘基取代。在特定態樣中，經取代之殘基存在於分子之可達位點處。藉由用半胱胺酸取代此等殘基，藉此將反應性硫醇基安置於抗體之可達位點處且可用於使抗體與其他部分(諸如藥物部分或連接子-藥物部分)結合以產生免疫結合物。在某些態樣中，以下殘基中之任一者或多者可經半胱胺酸取代：輕鏈之V205 (Kabat編號)；重鏈之A118 (EU編號)；及重鏈Fc區之S400 (EU編號)。半胱胺酸工程改造之抗原結合分子可如在例如美國專利第7,521,541號中所述產生。

術語「**聚核苷酸**」係指經分離核酸分子或構築體，例如信使RNA (mRNA)、病毒源性RNA或質體DNA (pDNA)。聚核苷酸可包含習知磷酸二酯鍵或非習知鍵(例如醯胺鍵，諸如肽核酸(PNA)中所發現)。術語「核酸分子」係指聚核苷酸中存在之任一或多個核酸區段，例如DNA或RNA

片段。

「**分離**」之核酸分子或聚核苷酸意指已自原生環境中移除的核酸分子、DNA或RNA。舉例而言，出於本發明之目的，編碼載體中所含之多肽的重組性聚核苷酸視為分離。分離之聚核苷酸之其他實例包括異質宿主細胞中所維持的重組聚核苷酸或溶液中經純化(部分或實質上)之聚核苷酸。經分離之聚核苷酸包括通常含有聚核苷酸分子之細胞中所含的聚核苷酸分子，但聚核苷酸分子存在於染色體外或與其天然染色體位置不同的染色體位置處。經分離之RNA分子包括本發明之活體內或活體外RNA轉錄物，以及正股及負股形式，及雙股形式。本發明之經分離之聚核苷酸或核酸進一步包括以合成方式產生的此類分子。另外，聚核苷酸或核酸可為或可包括調節元件，諸如啟動子、核糖體結合位點或轉錄終止子。

一種核酸或聚核苷酸的核苷酸序列與本發明之參考核苷酸序列至少例如95%「一致」意指該聚核苷酸之核苷酸序列與參考序列一致，但該聚核苷酸序列相對於參考核苷酸序列可每100個核苷酸中包括至多五個點突變。換言之，為了獲得核苷酸序列與參考核苷酸序列至少95%一致的聚核苷酸，參考序列中至多5%的核苷酸可缺失或經另一核苷酸取代，或參考序列中可插入佔參考序列核苷酸總數至多5%的多個核苷酸。參考序列之此等變化可發生於參考核苷酸序列之5'或3'末端位置或此等末端位置之間的任何位置，此等位置個別地散佈於參考序列中之殘基中或參考序列內之一或多個相鄰基團中。作為實務問題，可習知地使用已知電腦程式，諸如如上文針對多肽所述之電腦程式(例如ALIGN-2)判定任何特定聚核苷酸序列是否與本發明之核苷酸序列至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致。

術語「**表現卡匣**」係指以重組或合成方式產生之聚核苷酸，其具有允許靶細胞中之特定核酸發生轉錄的一系列特定核酸元件。重組表現卡匣可併入質體、染色體、粒線體DNA、質體DNA、病毒或核酸片段中。通常，表現載體之重組表現卡匣部分包括待轉錄的核酸序列及啟動子，以及其他序列。在某些實施例中本發明之表現卡匣包含編碼本發明之雙特異性抗原結合分子或其片段的聚核苷酸序列。

術語「**載體**」或「表現載體」與「表現構築體」同義且係指用於引入特定基因且引導該基因表現的DNA分子，該DNA分子與該基因在靶細胞中可操作地連接。該術語包括作為自我複製核酸結構之載體以及併入其已引入之宿主細胞之基因組中的載體。本發明之表現載體包含表現卡匣。表現載體允許大量的穩定mRNA之轉錄。一旦表現載體進入靶細胞內，則藉由細胞轉錄及/或轉譯機構產生由該基因編碼的核糖核酸分子或蛋白質。在一個實施例中，本發明之表現載體包含表現卡匣，該表現卡匣包含編碼本發明之雙特異性抗原結合分子或其片段的聚核苷酸序列。

術語「**宿主細胞**」、「宿主細胞株」及「宿主細胞培養物」可互換使用且係指已引入外源核酸之細胞，包括此類細胞之後代。宿主細胞包括「轉型體」及「轉型細胞」，其包括初級轉型細胞及自其衍生之子代(不考慮繼代次數)。後代之核酸含量與母細胞可能不完全相同，但可能含有突變。本文包括針對原始轉型細胞篩選或選擇具有相同功能或生物活性之突變型後代。宿主細胞為可用於產生本發明之雙特異性抗原結合分子的任何類型之細胞系統。宿主細胞包括培養細胞，例如哺乳動物培養細胞，諸如CHO細胞、BHK細胞、NS0細胞、SP2/0細胞、YO骨髓瘤細胞、P3X63小鼠骨髓瘤細胞、PER細胞、PER.C6細胞或融合瘤細胞、酵母細胞、昆

蟲細胞及植物細胞(僅舉數例)，而且包括轉殖基因動物、轉殖基因植物或培養植物或動物組織內所含的細胞。

藥劑之「**有效量**」係指在所投與之細胞或組織中產生生理變化所需的量。

藥劑(例如醫藥組合物)之「**治療有效量**」係指達成所需治療或預防結果所必需的以劑量計並且持續一段時間的有效量。舉例而言，治療有效量之藥劑可消除、減少、延遲、最小化或預防疾病之副作用。

「**個體**(individual)」或「個體(subject)」係哺乳動物。哺乳動物包括但不限於馴養動物(例如牛、綿羊、貓、狗及馬)、靈長類動物(例如人類及非人類靈長類動物，諸如猴)、兔及嚙齒動物(例如小鼠及大鼠)。特定言之，個體係人類。

術語「**醫藥組合物**」係指所呈形式允許其中所含活性成分之生物活性有效發揮的製劑，且其不含對調配物將投與之個體具有不可接受毒性之其他組分。

「**醫藥學上可接受之賦形劑**」係指醫藥組合物中除活性成分以外之對個體無毒的成分。醫藥學上可接受之賦形劑包括但不限於緩衝劑、穩定劑或防腐劑。

術語「**藥品說明書**」用以指通常包括於治療性產品之商業包裝中的說明書，其含有關於與使用此類治療性產品有關之適應症、用法、劑量、投藥、組合療法、禁忌症及/或警告的資訊。

如本文所用，「**治療(treatment)**」(及其語法變化形式，諸如「治療(treat)」或「治療(treating)」)係指試圖改變所治療個體之自然病程的臨床介入且可出於防治目的或在臨床病理學之病程期間進行。所需治療效果

包括但不限於預防疾病發生或復發，緩解症狀，減輕疾病之任何直接或間接病理性結果，預防癌轉移，減緩疾病進展速率，改善或緩和疾病病況及緩解或改良預後。在一些實施例中，本發明之分子用於延遲疾病發展或減慢疾病之進程。

如本文所用之術語「**癌症**」係指增殖性疾病，諸如淋巴瘤、淋巴球性白血病、肺癌、非小細胞肺(NSCL)癌、支氣管肺泡細胞肺癌、骨癌、胰腺癌、皮膚癌、頭癌或頸癌、皮膚或眼內黑素瘤、子宮癌、卵巢癌、直腸癌、肛門區癌、胃癌(stomach cancer)、胃癌(gastric cancer)、結腸癌、乳癌、子宮癌、輸卵管癌、子宮內膜癌、子宮頸癌、陰道癌、外陰癌、霍奇金氏病(Hodgkin's Disease)、食道癌、小腸癌、內分泌系統癌、甲狀腺癌、副甲狀腺癌、腎上腺癌、軟組織肉瘤、尿道癌、陰莖癌、前列腺癌、膀胱癌、腎癌或輸尿管癌、腎細胞癌、腎盂癌、間皮瘤、肝細胞癌、膽道癌、中樞神經系統(CNS)贅瘤、脊軸腫瘤、腦幹神經膠質瘤、多形性膠質母細胞瘤、星形細胞瘤、神經鞘瘤、室管膜瘤、神經管胚細胞瘤、腦膜瘤、鱗狀細胞癌、垂體腺瘤及尤文氏肉瘤(Ewing's sarcoma)，包括任何上述癌症之難治癒型式，或上述癌症中之一或多者的組合。

本發明之雙特異性抗體

本發明提供具有尤其有利特性之新穎生物特異性抗原結合分子，諸如生產能力、穩定性、結合親和力、生物活性、靶向效率及降低之毒性。

例示性雙特異性抗原結合分子

在一個態樣中，本發明提供一種雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)至少一個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域，

(b)至少一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域，及

(c)由能夠穩定結合之第一及第二亞單元構成的Fc結構域，

其中能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含

重鏈可變區(V_H4-1BB)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_L4-1BB)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之CDR-L3。

在一特定態樣中，此等雙特異性抗原結合分子之特徵在於靶向促效結合於4-1BB。特定言之，雙特異性抗原結合分子係4-1BB促效劑，其定向針對腫瘤相關靶細胞抗原。

在一個態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其包含至少一個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域，其中該抗原結合結構域包含重鏈可變區(V_H4-1BB)，該重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 7之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_L4-1BB)，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 8之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列。在一特定態樣中，能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區(V_H4-1BB)，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_L4-1BB)，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列。

在一個態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其包含至少一個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域，其中能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域係Fab片段。

在另一態樣中，本發明之雙特異性抗原結合分子包含至少兩個能夠特異性結合於如前文所定義之4-1BB之抗原結合結構域。特定言之，本發明之雙特異性抗原結合分子包含兩個能夠特異性結合於如前文所定義之4-1BB之抗原結合結構域。在另一特定態樣中，本發明之雙特異性抗原結合分子包含四個能夠特異性結合於如前文所定義之4-1BB之抗原結合結構域。

本發明之雙特異性抗原結合分子之特徵進一步在於包含至少一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域。雙特異性抗原結合分子因此相較於能夠特異性結合於4-1BB之習知抗體具有優勢，其在靶細胞(通常癌細胞)處選擇性誘發共刺激T細胞反應。在一個態樣中，靶細胞抗原係選自由以下組成之群：纖維母細胞活化蛋白(FAP)、黑素瘤相關軟骨素硫酸鹽蛋白聚糖(MCSP)、表皮生長因子受體(EGFR)、癌胚抗原(CEA)、CD19、CD20及CD33。特定言之，靶細胞抗原選自纖維母細胞活化蛋白(FAP)、癌胚抗原(CEA)及CD19。在一個特定態樣中，靶細胞抗原選自纖維母細胞活化蛋白(FAP)及癌胚抗原(CEA)。在另一特定態樣中，靶細胞抗原係CD19。

靶細胞抗原為FAP之雙特異性抗原結合分子

在一特定態樣中，靶細胞抗原係纖維母細胞活化蛋白(FAP)。FAP結合部分已經描述於WO 2012/02006中，其以全文引用之方式包括在內。下文描述尤其受關注之FAP結合部分。

在一個態樣中，本發明提供雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於纖維母細胞活化蛋白(FAP)之抗原結合結構域包含

(a)重鏈可變區(V_HFAP)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 9之

胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LFAP)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 12之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 13之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 14之胺基酸序列之CDR-L3，或

(b)重鏈可變區(V_HFAP)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 15之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 16之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 17之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LFAP)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 18之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 19之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 20之胺基酸序列之CDR-L3。

特定言之，提供雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於FAP之抗原結合結構域包含重鏈可變區(V_HFAP)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 15之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 16之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 17之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LFAP)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 18之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 19之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 20之胺基酸序列之CDR-L3。

在另一態樣中，能夠特異性結合於FAP之抗原結合結構域包含重鏈可變區(V_HFAP)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LFAP)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 12之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含

SEQ ID NO: 13之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 14之胺基酸序列之CDR-L3。

特定言之，提供雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於纖維母細胞活化蛋白(FAP)之抗原結合結構域包含

(a)重鏈可變區(V_HFAP)，其包含與SEQ ID NO: 21之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LFAP)，其包含與SEQ ID NO: 22之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，或

(b)重鏈可變區(V_HFAP)，其包含與SEQ ID NO: 23之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LFAP)，其包含與SEQ ID NO: 24之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列。

在一個態樣中，能夠特異性結合於FAP之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 21之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 22之胺基酸序列，或能夠特異性結合於FAP之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 23之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 24之胺基酸序列。

結合於4-1BB及FAP之雙特異性抗原結合分子

在另一態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其中

(i)能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，且

(ii)能夠特異性結合於FAP之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 23之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 24之胺基酸序列。

在另一態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其中

(i)能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，且

(ii)能夠特異性結合於FAP之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 21之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 22之胺基酸序列。

結合於小鼠4-1BB之雙特異性抗原結合分子

在另一態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其包含至少一個能夠特異性結合於小鼠4-1BB之抗原結合結構域、至少一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域及由能夠穩定結合之第一及第二亞單元組成的Fc結構域，

其中能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含

重鏈可變區(V_H4-1BB)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 171之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 172之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 173之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_L4-1BB)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 174之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 175之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 176之胺基酸序列之CDR-L3。

在另一態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其包含至少一個能夠

特異性結合於小鼠4-1BB之抗原結合結構域、至少一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域及由能夠穩定結合之第一及第二亞單元組成的Fc結構域，

其中能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含

重鏈可變區(V_H4-1BB)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 171之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 172之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 173之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_L4-1BB)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 174之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 175之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 176之胺基酸序列之CDR-L3，且

其中能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域結合於纖維母細胞活化蛋白(FAP)，且包含

(a)重鏈可變區(V_HFAP)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LFAP)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 12之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 13之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 14之胺基酸序列之CDR-L3。

在一個態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其中

(i)能夠特異性結合於小鼠4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 177之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 178之胺基酸序列，且

(ii)能夠特異性結合於FAP之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該

重鏈可變區包含SEQ ID NO: 21之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 22之胺基酸序列。

在一特定態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其包含至少一個能夠特異性結合於小鼠4-1BB之抗原結合結構域，其中Fc結構域之第一亞單元包含胺基酸取代K392D及K409D (根據Kabat EU索引編號)，且Fc區之第二亞單元包含胺基酸取代E356K及D399K (根據Kabat EU索引編號)。

靶細胞抗原為CEA之雙特異性抗原結合分子

在一特定態樣中，靶細胞抗原係癌胚抗原(CEA)。CEA結合部分已描述於例如WO 2016/075278 A2或WO 2007/071426中，其以全文引用之方式包括於此。下文描述尤其受關注之CEA結合部分。

在一個態樣中，本發明提供雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於癌胚抗原(CEA)之抗原結合結構域包含

(a)重鏈可變區(V_HCEA)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 25之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 26之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 27之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCEA)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 28之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 29之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 30之胺基酸序列之CDR-L3，或

(b)重鏈可變區(V_HCEA)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 33之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 34之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 35之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCEA)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 37之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含

SEQ ID NO: 38之胺基酸序列之CDR-L3，或

(c)重鏈可變區(V_HCEA)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 179之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 180之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 181之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCEA)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 182之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 183之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 184之胺基酸序列之CDR-L3，或

(d)重鏈可變區(V_HCEA)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 187之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 188之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 189之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCEA)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 190之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 191之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 192之胺基酸序列之CDR-L3。

特定言之，提供雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於CEA之抗原結合結構域包含重鏈可變區(V_HCEA)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 25之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 26之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 27之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCEA)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 28之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 29之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 30之胺基酸序列之CDR-L3。

在另一態樣中，能夠特異性結合於CEA之抗原結合結構域包含重鏈可變區(V_HCEA)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 33之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 34之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包

含SEQ ID NO: 35之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCEA)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 37之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 38之胺基酸序列之CDR-L3。

在另一態樣中，能夠特異性結合於CEA之抗原結合結構域包含重鏈可變區(V_HCEA)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 179之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 180之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 181之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCEA)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 182之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 183之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 184之胺基酸序列之CDR-L3。

在另一態樣中，能夠特異性結合於CEA之抗原結合結構域包含重鏈可變區(V_HCEA)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 187之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 188之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 189之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCEA)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 190之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 191之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 192之胺基酸序列之CDR-L3。

特定言之，提供雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於癌胚抗原(CEA)之抗原結合結構域包含(a)重鏈可變區(V_HCEA)，其包含與SEQ ID NO: 31之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含與SEQ ID NO: 32之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基

酸序列，或(b)重鏈可變區(V_HCEA)，其包含與SEQ ID NO: 39之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含與SEQ ID NO: 40之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，或(c)重鏈可變區(V_HCEA)，其包含與SEQ ID NO: 185之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含與SEQ ID NO: 186之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，或(d)重鏈可變區(V_HCEA)，其包含與SEQ ID NO: 193之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含與SEQ ID NO: 194之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列。

在一個態樣中，能夠特異性結合於CEA之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 31之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 32之胺基酸序列，或能夠特異性結合於FAP之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 39之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列。

在另一態樣中，能夠特異性結合於CEA之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 185之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 186之胺基酸序列，或能夠特異性結合於FAP之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 193之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ

ID NO: 194之胺基酸序列。

結合於4-1BB及CEA之雙特異性抗原結合分子

在另一態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其中

(i)能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，且

(ii)能夠特異性結合於FAP之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 31之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 32之胺基酸序列。

在另一態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其中

(i)能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，且

(ii)能夠特異性結合於FAP之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 39之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列。

在另一態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其中

(i)能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，且

(ii)能夠特異性結合於FAP之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 185之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 186之胺基酸序列。

在另一態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其中

(i)能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，且

(ii)能夠特異性結合於FAP之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 193之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 194之胺基酸序列。

靶細胞抗原為CD19之雙特異性抗原結合分子

在一特定態樣中，靶細胞抗原係CD19。CD19結合部分已描述於例如WO 2016/075278 A1中，其以全文引用之方式包括於此。下文描述尤其受關注之CD19結合部分。

在一個態樣中，本發明提供雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於CD19之抗原結合結構域包含

(a)重鏈可變區(V_HCD19)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 155之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 156之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 157之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCD19)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 158之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 159之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 160之胺基酸序列之CDR-L3，或

(b)重鏈可變區(V_HCD19)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 163之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 164之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 165之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCD19)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 166之胺基酸

序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 167之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 168之胺基酸序列之CDR-L3。

特定言之，提供雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於CD19之抗原結合結構域包含重鏈可變區(V_HCD19)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 155之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 156之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 157之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCD19)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 158之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 159之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 160之胺基酸序列之CDR-L3。

在另一態樣中，能夠特異性結合於CD19之抗原結合結構域包含重鏈可變區(V_HCD19)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 163之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 164之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 165之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCD19)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 166之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 167之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 168之胺基酸序列之CDR-L3。

特定言之，提供雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於CD19之抗原結合結構域包含(a)重鏈可變區(V_HCD19)，其包含與SEQ ID NO: 161之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，及輕鏈可變區(V_LCD19)，其包含與SEQ ID NO: 162之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，或(b)重鏈可變區(V_HCD19)，其包含與SEQ ID NO: 169之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，及輕

鏈可變區(V_LCD19)，其包含與SEQ ID NO: 170之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列。

在一個態樣中，能夠特異性結合於CD19之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 161之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 162之胺基酸序列，或能夠特異性結合於FAP之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 169之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 170之胺基酸序列。

結合於4-1BB及CD19之雙特異性抗原結合分子

在另一態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其中

(i)能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，且

(ii)能夠特異性結合於FAP之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 161之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 162之胺基酸序列。

在另一態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其中

(i)能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，且

(ii)能夠特異性結合於FAP之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 169之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 170之胺基酸序列。

雙特異性單價抗原結合分子(1+1形式)

在一個態樣中，本發明係關於雙特異性抗原結合分子，其包含(a)一個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域，(b)一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域，及(c)由能夠穩定結合之第一及第二亞單元組成的Fc結構域。

在一個特定態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其中該分子包含

(a)能夠特異性結合於4-1BB之第一Fab片段，

(b)能夠特異性結合於靶細胞抗原之第二Fab片段，及

(c)由能夠穩定結合之第一及第二亞單元構成的Fc結構域；

其中能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含

重鏈可變區(V_H4-1BB)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_L4-1BB)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之CDR-L3。

在一個態樣中，靶細胞抗原係FAP。在一個態樣中，本發明係關於一種雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)能夠特異性結合於4-1BB之第一Fab片段，

(b)能夠特異性結合於FAP之第二Fab片段，及

(c)由能夠穩定結合之第一及第二亞單元構成的Fc結構域；

其中能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含

重鏈可變區(V_H4-1BB)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 1之

胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_L4-1BB)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之CDR-L3。

在一特定態樣中，本發明提供雙特異性抗原結合分子，其包含有包含SEQ ID NO: 126之胺基酸序列之第一輕鏈、包含SEQ ID NO: 127之胺基酸序列之第二輕鏈、包含SEQ ID NO: 124之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 125之胺基酸序列之第二重鏈。

二價結合於4-1BB且單價結合於靶細胞抗原之雙特異性抗原結合分子(2+1形式)

在另一態樣中，本發明提供雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)兩個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域，

(b)一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域，

及

(c)由能夠穩定結合之第一及第二亞單元構成的Fc結構域；

其中能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含

重鏈可變區(V_H4-1BB)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_L4-1BB)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之CDR-L3。

因此，提供雙特異性抗原結合分子，其中雙特異性抗原結合分子對於4-1BB係二價且對於靶細胞抗原係單價。

在一個態樣中，雙特異性抗原結合分子包含

(a)抗體之兩個輕鏈及兩個重鏈，該抗體包含兩個能夠特異性結合於4-1BB之Fab片段及該Fc結構域，及

(b)能夠特異性結合於靶細胞抗原之VH及VL結構域，其中VH結構域及VL結構域各自經由肽連接子連接至兩個重鏈之C末端中的一者。

在一特定態樣中，肽連接子包含選自SEQ ID NO: 109、SEQ ID NO: 110、SEQ ID NO: 114及SEQ ID NO: 115之胺基酸序列。更特定言之，肽連接子包含SEQ ID NO: 115。

在一個特定態樣中，雙特異性抗原結合分子包含

(a)抗體之兩個輕鏈及兩個重鏈，該抗體包含兩個能夠特異性結合於4-1BB之Fab片段及該Fc結構域，及

(b)能夠特異性結合於靶細胞抗原之VH及VL結構域，其中VH結構域經由肽連接子連接至重鏈中之一者的C末端，且其中VL結構域經由肽連接子連接至第二重鏈的C末端。

在另一特定態樣中，雙特異性抗原結合分子包含

(a)抗體之兩個輕鏈及兩個重鏈，該抗體包含兩個能夠特異性結合於4-1BB之Fab片段及該Fc結構域，及

(b)能夠特異性結合於靶細胞抗原之VH及VL結構域，其中VH結構域經由肽連接子連接於Fc杵重鏈之C末端且其中VL結構域經由肽連接子連接於Fc臼重鏈之C末端。

在一個態樣中，本發明係關於一種雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)兩個能夠特異性結合於4-1BB之Fab片段，(b)能夠特異性結合於FAP之VH及VL結構域，及(c)由能夠穩定結合之第一及第二亞單元構成的Fc結構域。

在一個特定態樣中，本發明提供一種雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 44之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 45之胺基酸序列之第二重鏈，或

(b)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 49之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 50之胺基酸序列之第二重鏈。

在另一態樣中，本發明係關於雙特異性抗原結合分子，其包含(a)兩個能夠特異性結合於4-1BB之Fab片段，(b)能夠特異性結合於CEA之VH及VL結構域，及(c)由能夠穩定結合的第一及第二亞單元構成的Fc結構域。

在一個特定態樣中，本發明提供一種雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 65之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 66之胺基酸序列之第二重鏈，或

(b)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 69之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 70之胺基酸序列之第二重鏈，或

(c)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 73之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 74之胺基酸序列之第二重鏈，或

(d)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 77之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 78之胺基酸序列之第二重鏈。

在另一特定態樣中，本發明提供雙特異性抗原結合分子，其包含

(e)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 137之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 74之胺基酸序列之第二重鏈，或

(f)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 138之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 78之胺基酸序列之第二重鏈。

在另一態樣中，本發明提供雙特異性抗原結合分子，其包含

(g)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 195之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 196之胺基酸序列之第二重鏈，或

(h)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 197之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 198之胺基酸序列之第二重鏈，或

(i)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 199之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 200之胺基酸序列之第二重鏈，或

(j)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 201之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 202之胺基酸序列之第二重鏈。

在另一態樣中，本發明係關於雙特異性抗原結合分子，其包含(a)兩個能夠特異性結合於4-1BB之Fab片段，(b)能夠特異性結合於CD19之VH及VL結構域，及(c)由能夠穩定結合的第一及第二亞單元構成的Fc結構域。

在一個特定態樣中，本發明提供一種雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 139之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 140之胺基酸序列之第二重鏈，或

(b)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 141之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 142之胺基酸序列之第二重鏈，或

(c)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 143之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 144之胺基酸序列之第二重鏈，或

(d)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 145之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 146之胺基酸序列之第二重鏈。

二價結合於4-1BB且單價結合於靶細胞抗原之雙特異性抗原結合分子(2+1互換Fab形式)

在另一態樣中，本發明提供雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)兩個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域，

(b)一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域，

及

(c)由能夠穩定結合之第一及第二亞單元構成的Fc結構域；

其中能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域係互換Fab片段；且

其中能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含

重鏈可變區(V_H4-1BB)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_L4-1BB)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之CDR-L3。

在一個態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其中兩個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域係Fab片段，且能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域係互換Fab片段。

在一個態樣中，雙特異性抗原結合分子包含

(a)抗體之兩個輕鏈及兩個重鏈，該抗體包含兩個能夠特異性結合於4-1BB之Fab片段及該Fc結構域，及

(b)能夠特異性結合於靶細胞抗原之互換Fab (crossFab)片段，其經由肽連接子連接至該兩個重鏈中之一者的C末端。

在一特定態樣中，肽連接子包含選自SEQ ID NO: 109、SEQ ID

NO: 110、SEQ ID NO: 114及SEQ ID NO: 115之胺基酸序列。更特定言之，肽連接子包含SEQ ID NO: 115。

在一個態樣中，包含兩個能夠特異性結合於4-1BB之Fab片段之抗體的兩個重鏈包含杵-臼突變，且能夠特異性結合於靶細胞抗原之互換Fab片段經由肽連接子連接至包含杵突變之重鏈的C末端。在另一態樣中，能夠特異性結合於靶細胞抗原之互換Fab片段經由肽連接子連接至包含臼突變之重鏈的C末端。

在一個特定態樣中，雙特異性抗原結合分子包含

(a)抗體之兩個輕鏈及兩個重鏈，該抗體包含兩個能夠特異性結合於4-1BB之Fab片段及該Fc結構域，及

(b)能夠特異性結合於靶細胞抗原之互換Fab (CHCL)片段，該片段經由肽連接子連接至兩個重鏈中之一者的C末端。

在另一特定態樣中，雙特異性抗原結合分子包含

(a)抗體之兩個輕鏈及兩個重鏈，該抗體包含兩個能夠特異性結合於4-1BB之Fab片段及該Fc結構域，及

(b)能夠特異性結合於靶細胞抗原之互換Fab (VHVL)片段，該片段經由肽連接子連接至兩個重鏈中之一者的C末端。

在一特定態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其中在結合於4-1BB之兩個Fab片段之CL結構域中，123位置處之胺基酸(EU編號)已經精胺酸(R)置換，且124位置處之胺基酸(EU編號)已經離胺酸(K)取代，且其中在結合於4-1BB之兩個Fab片段之CH1結構域中，147位置(EU編號)及213位置處之胺基酸(EU編號)已經麩胺酸(E)取代。

在一個態樣中，本發明係關於一種雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)兩個能夠特異性結合於4-1BB之Fab片段，(b)能夠特異性結合於FAP之互換Fab片段，及(c)由能夠穩定結合之第一及第二亞單元構成的Fc結構域。

在另一態樣中，本發明係關於雙特異性抗原結合分子，其包含(a)兩個能夠特異性結合於4-1BB之Fab片段，(b)能夠特異性結合於CEA之互換Fab片段，及(c)由能夠穩定結合之第一及第二亞單元構成的Fc結構域。

在另一態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 211之胺基酸序列之第一重鏈、包含SEQ ID NO: 212之胺基酸序列之第二重鏈及包含SEQ ID NO: 213之胺基酸序列之另一輕鏈，或

(b)各自包含SEQ ID NO: 216之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 214之胺基酸序列之第一重鏈、包含SEQ ID NO: 215之胺基酸序列之第二重鏈及包含SEQ ID NO: 217之胺基酸序列之另一輕鏈。

在另一態樣中，本發明係關於雙特異性抗原結合分子，其包含(a)兩個能夠特異性結合於4-1BB之Fab片段，(b)能夠特異性結合於CD19之互換Fab片段，及(c)由能夠穩定結合的第一及第二亞單元構成的Fc結構域。

四價結合於4-1BB且單價結合於靶細胞抗原之雙特異性抗原結合分子(4+1形式)

在另一態樣中，本發明提供雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)四個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域，

(b)一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域，

及

(c)由能夠穩定結合之第一及第二亞單元構成的Fc結構域；

其中能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含

重鏈可變區(V_H4-1BB)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_L4-1BB)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之CDR-L3。

因此，提供雙特異性抗原結合分子，其中雙特異性抗原結合分子對於4-1BB係四價且對於靶細胞抗原係單價。

在一個態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其中四個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域係Fab片段，且其各兩者視情況經由肽連接子彼此間融合。在一特定態樣中，肽連接子包含SEQ ID NO: 110之胺基酸序列。更特定言之，抗原結合分子包含兩個重鏈，該等重鏈各自包含VHCH1-肽連接子-VHCH1片段。在一特定態樣中，肽連接子具有SEQ ID NO: 110之胺基酸序列。

在另一態樣中，提供雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域包含VH及VL結構域，且其中VH結構域經由肽連接子連接至Fc結構域之第一亞單元的C末端，且VL結構域經由肽連接子連接至Fc結構域之第二亞單元的C末端。

在一個特定態樣中，雙特異性抗原結合分子包含

(a)抗體之四個輕鏈及兩個重鏈，該抗體包含兩個能夠特異性結合於4-1BB之Fab片段及Fc結構域，及

(b)能夠特異性結合於靶細胞抗原之VH及VL結構域，其中VH結構域

經由肽連接子連接至重鏈中之一者的C末端，且其中VL結構域經由肽連接子連接至第二重鏈的C末端。

在一個態樣中，本發明係關於一種雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)四個能夠特異性結合於4-1BB之Fab片段，(b)能夠特異性結合於FAP之VH及VL結構域，及(c)由能夠穩定結合之第一及第二亞單元構成的Fc結構域。

在一個特定態樣中，本發明提供一種雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之四個輕鏈、包含SEQ ID NO: 57之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 58之胺基酸序列之第二重鏈，或

(b)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之四個輕鏈、包含SEQ ID NO: 61之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 62之胺基酸序列之第二重鏈。

在另一態樣中，本發明係關於雙特異性抗原結合分子，其包含(a)四個能夠特異性結合於4-1BB之Fab片段，(b)能夠特異性結合於CEA之VH及VL結構域，及(c)由能夠穩定結合之第一及第二亞單元構成的Fc結構域。

在一個特定態樣中，本發明提供一種雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之四個輕鏈、包含SEQ ID NO: 81之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 82之胺基酸序列之第二重鏈，或

(b)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之四個輕鏈、包含SEQ ID NO: 85之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 86之胺基酸序列之第二重鏈，或

(c)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之四個輕鏈、包含SEQ ID NO: 89之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 90之胺基酸序列之第二重鏈，或

(d)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之四個輕鏈、包含SEQ ID NO: 93之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 94之胺基酸序列之第二重鏈。

在另一態樣中，本發明提供雙特異性抗原結合分子，其包含

(e)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之四個輕鏈、包含SEQ ID NO: 203之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 204之胺基酸序列之第二重鏈，或

(f)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之四個輕鏈、包含SEQ ID NO: 205之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 206之胺基酸序列之第二重鏈，或

(g)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之四個輕鏈、包含SEQ ID NO: 207之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 208之胺基酸序列之第二重鏈，或

(h)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之四個輕鏈、包含SEQ ID NO: 209之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 210之胺基酸序列之第二重鏈。

在另一態樣中，本發明係關於雙特異性抗原結合分子，其包含(a)四

個能夠特異性結合於4-1BB之Fab片段，(b)能夠特異性結合於CD19之VH及VL結構域，及(c)由能夠穩定結合之第一及第二亞單元構成的Fc結構域。

在一個特定態樣中，本發明提供一種雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之四個輕鏈、包含SEQ ID NO: 147之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 148之胺基酸序列之第二重鏈，或

(b)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之四個輕鏈、包含SEQ ID NO: 149之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 150之胺基酸序列之第二重鏈，或

(c)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之四個輕鏈、包含SEQ ID NO: 151之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 152之胺基酸序列之第二重鏈，或

(d)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之四個輕鏈、包含SEQ ID NO: 153之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 154之胺基酸序列之第二重鏈。

降低Fc受體結合及/或效應功能之Fc結構域修飾

本發明之雙特異性抗原結合分子進一步包含由能夠穩定結合之第一及第二亞單元構成之Fc結構域。

在某些態樣中，可將一或多個胺基酸修飾引入至本文所提供之抗體的Fc區中，從而產生Fc區變異體。Fc區變異體可包含人類Fc區序列(例如人類IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc區)，其在一或多個胺基酸位置處包含

胺基酸修飾(例如取代)。

Fc結構域賦予本發明之雙特異性抗體有利的藥物動力學特性，包括長血清半衰期，其促進目標組織中之良好累積及有利的組織-血液分佈率。然而，其同時可引起本發明之雙特異性抗體不合需要地靶向表現Fc受體之細胞並非較佳的攜有抗原之細胞。因此，在特定實施例中，本發明之雙特異性抗體之Fc結構域與原生IgG Fc結構域(尤其IgG1 Fc結構域或IgG4 Fc結構域)相比展現降低之對Fc受體的結合親和力及/或降低之效應功能。更特定言之，Fc結構域係IgG1 Fc結構域。

在一個此類態樣中，Fc結構域(或包含該Fc結構域之本發明之雙特異性抗原結合分子)與原生IgG1 Fc結構域(或包含原生IgG1 Fc結構域之本發明之雙特異性抗原結合分子)相比展現低於50%，較佳低於20%，更佳低於10%且最佳低於5%的與Fc受體之結合親和力，及/或與原生IgG1 Fc結構域(或包含原生IgG1 Fc結構域之本發明之雙特異性抗原結合分子)相比低於50%、較佳低於20%、更佳低於10%且最佳低於5%效應功能。在一個態樣中，Fc結構域(或包含該Fc結構域之本發明之雙特異性抗原結合分子)不會實質上結合於Fc受體及/或誘發效應功能。在一個特定態樣中，Fc受體係Fcγ受體。在一個態樣中，Fc受體係人類Fc受體。在一個態樣中，Fc受體係活化Fc受體。在一個特定態樣中，Fc受體係活化人類Fcγ受體，更特定言之，人類FcγRIIIa、FcγRI或FcγRIIa，最特定言之，人類FcγRIIIa。在一個態樣中，Fc受體係抑制性Fc受體。在一特定態樣中，Fc受體係抑制性人類Fcγ受體，更具體言之人類FcγRIIB。在一個態樣中，效應功能係CDC、ADCC、ADCP及細胞激素分泌中之一或多者。在一個特定態樣中，效應功能係ADCC。在一個態樣中，Fc結構域對新生兒Fc受

體(FcRn)展現的結合親和力與原生IgG1 Fc結構域相比大體上類似。當Fc結構域(或包含該Fc結構域之本發明之雙特異性抗原結合分子)展現比原生IgG1 Fc結構域(或包含原生IgG1 Fc結構域之本發明之雙特異性抗原結合分子)大於約70%、特定言之大於約80%、更特定言之大於約90%的與FcRn的結合親和力時，實現大體上類似的與FcRn之結合。

在一個特定態樣中，相較於未經工程改造之Fc結構域，Fc結構域經工程改造，從而對Fc受體之結合親和力減小及/或效應功能降低。在一個特定態樣中，本發明之雙特異性抗原結合分子的Fc結構域包含一或多個降低Fc結構域對Fc受體之結合親和力及/或效應功能的胺基酸突變。通常，Fc結構域之兩個亞單元中之每一者中存在相同的一或多個胺基酸突變。在一個態樣中，胺基酸突變使Fc結構域對Fc受體的結合親和力減小。在另一態樣中，胺基酸突變使Fc結構域對Fc受體之結合親和力減小至少2倍、至少5倍或至少10倍。在一個態樣中，包含經工程改造之Fc結構域之本發明之雙特異性抗原結合分子與包含未經工程改造之Fc結構域的本發明的雙特異性抗體相比展現小20%，尤其小10%，更尤其小5%的對Fc受體的結合親和力。在一特定態樣中，Fc受體係Fcγ受體。在其他態樣中，Fc受體係人類Fc受體。在一個態樣中，Fc受體係抑制性Fc受體。在一特定態樣中，Fc受體係抑制性人類Fcγ受體，更具體言之人類FcγRIIB。在一些態樣中Fc受體係活化Fc受體。在一個特定態樣中，Fc受體係活化人類Fcγ受體，更特定言之，人類FcγRIIIa、FcγRI或FcγRIIa，最特定言之，人類FcγRIIIa。較佳地，與此等受體中之每一者的結合減少。在一些態樣中，對補體組分之結合親和力，即對C1q之特異性結合親和力，亦減小。在一個態樣中，對新生兒Fc受體(FcRn)的結合親和力未減小。大體上類似結合

於FcRn，亦即當Fc結構域(或包含該Fc結構域之本發明之雙特異性抗原結合分子)展現比非工程改造形式之Fc結構域(或包含該非工程改造形式之Fc結構域之本發明之雙特異性抗原結合分子)大於約70%的對FcRn的結合親和力時，實現保留Fc結構域對該受體之結合親和力。Fc結構域或包含該Fc結構域之本發明之雙特異性抗原結合分子可展現大於約80%以及甚至大於約90%的此類親和力。在某些實施例中，本發明之雙特異性抗原結合分子的Fc結構域經工程改造以具有與非工程改造之Fc結構域相比降低之效應功能。降低之效應功能可包括但不限於以下中之一或多者：降低之補體依賴性細胞毒性(CDC)、降低之抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)、降低之抗體依賴性細胞吞噬(ADCP)、降低之細胞激素分泌、降低之免疫複合物介導之抗原呈現細胞之抗原捕捉、降低之與NK細胞之結合、降低之與巨噬細胞之結合、降低之與單核細胞之結合、降低之與多形核細胞之結合、降低之誘導細胞凋亡之直接信號傳導、降低之樹突狀細胞成熟或降低之T細胞激活。

具有降低之效應功能之抗體包括具有Fc區殘基238、265、269、270、297、327及329中之一或多者的取代的彼等(美國專利第6,737,056號)。此類Fc突變體包括具有胺基酸位置265、269、270、297及327中之兩者或多於兩者之取代的Fc突變體，包括殘基265及297取代為丙胺酸的所謂「DANA」 Fc突變體(美國專利第7,332,581號)。描述具有提高或降低之與FcR之結合的某些抗體變異體。(例如美國專利第6,737,056號；WO 2004/056312，及Shields, R.L.等人, J. Biol. Chem. 276 (2001) 6591-6604)。

在本發明之一個態樣中，Fc結構域包含在位置E233、L234、L235、

N297、P331及P329之胺基酸取代。在一些態樣中，Fc結構域包含胺基酸取代L234A及L235A（「LALA」）。在一個此類實施例中，Fc結構域係IgG_1 Fc結構域，特定言之人類IgG_1 Fc結構域。在一個態樣中，Fc結構域包含在位置P329處之胺基酸取代。在一更特定態樣中，胺基酸取代係P329A或P329G，尤其P329G。在一個實施例中，Fc結構域包含在位置P329之胺基酸取代及選自由以下組成之群的另一胺基酸取代：E233P、L234A、L235A、L235E、N297A、N297D或P331S。在更特定實施例中，Fc結構域包含胺基酸突變L234A、L235A及P329G（「P329G LALA」）。胺基酸取代之「P329G LALA」組合幾乎完全消除人類IgG1 Fc結構域之Fcγ受體結合，如PCT專利申請案第WO 2012/130831 A1號中所述。該文獻亦描述製備此類突變Fc結構域之方法及測定其特性(諸如Fc受體結合或效應功能)的方法。此類抗體係具有突變L234A及L235A或具有突變L234A、L235A及P329G之IgG1（編號係根據Kabat等人之EU索引，Kabat等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版. 公共衛生服務(Public Health Service), 美國國家衛生研究院(National Institutes of Health), Bethesda, MD ,1991)。

在一個態樣中，Fc結構域係IgG_4 Fc結構域。在一更特定實施例中，Fc結構域係包含位置S228 (Kabat編號)之胺基酸取代(特定言之，胺基酸取代S228P)的IgG_4 Fc結構域。在一更特定實施例中，Fc結構域係IgG4 Fc結構域，其包含胺基酸取代L235E及S228P及P329G。此胺基酸取代減少活體內IgG_4抗體之Fab臂交換(參見Stubenrauch等人, Drug Metabolism and Disposition 38, 84-91 (2010))。

已延長半衰期且改良與負責將母體IgG轉移至胎兒之新生兒Fc受體

(FcRn) (Guyer, R.L.等人, J. Immunol. 117 (1976) 587-593；及Kim, J.K.等人, J. Immunol. 24 (1994) 2429-2434)之結合性的抗體描述於US 2005/0014934中。彼等抗體包含具有一或多個取代之Fc區，其已改良Fc區與FcRn之結合性。此類Fc變異體包括彼等在Fc區殘基：238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424或434中之一或多處具有取代者，例如Fc區殘基434之取代(美國專利第7,371,826號)。關於Fc區變異體之其他實例，亦參見Duncan, A.R.及Winter, G., Nature 322 (1988) 738-740；US 5,648,260；US 5,624,821；及WO 94/29351。

與Fc受體的結合很容易測定，例如藉由ELISA，或藉由表面電漿子共振(SPR)，使用標準儀器，諸如BIAcore儀器(GE Healthcare)，且可藉由諸如重組表現來獲得Fc受體。適合的此類結合分析法描述於本文中。或者，Fc結構域或包含Fc結構域之細胞活化雙特異性抗原結合分子對Fc受體的結合親和力可使用已知表現特定Fc受體的細胞株(諸如表現FcγIIIa受體的人類NK細胞)評估。可藉由此項技術中已知之方法量測Fc結構域、或包含Fc結構域之本發明之雙特異性抗原結合分子的效應功能。適用於量測ADCC之分析法描述於本文中。評定相關分子之ADCC活性的活體外分析法之其他實例描述於美國專利第5,500,362號；Hellstrom等人 Proc Natl Acad Sci USA 83, 7059-7063 (1986)及Hellstrom等人, Proc Natl Acad Sci USA 82, 1499-1502 (1985)；美國專利第5,821,337號；Bruggemann等人, J Exp Med 166, 1351-1361 (1987)中。或者，可採用非放射性分析方法(參見例如流動式細胞量測術用的ACTI™非放射性細胞毒性分析(CellTechnology, Inc. Mountain View, CA)；及CytoTox 96®非放射性細

胞毒性分析(Promega, Madison, WI))。適用於此類分析法之效應細胞包括周邊血液單核細胞(PBMC)及天然殺手(NK)細胞。或者或另外，可例如在動物模型中，諸如Clynes等人, Proc Natl Acad Sci USA 95, 652-656 (1998)中所揭示之動物模型中，於活體內評估相關分子之ADCC活性。

以下部分描述本發明之雙特異性抗原結合分子的較佳態樣，其包含降低Fc受體結合及/或效應功能之Fc結構域修飾。在一個態樣中，本發明係關於雙特異性抗原結合分子，(a)至少一個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域，(b)至少一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域，及(c)由能夠穩定結合的第一及第二亞單元構成的Fc結構域，其中Fc結構域包含一或多個胺基酸取代，其減小抗體對Fc受體，尤其針對Fcγ受體的結合親和力。在另一態樣中，本發明係關於雙特異性抗原結合分子，其包含(a)至少一個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域，(b)至少一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域，及(c)由能夠穩定結合的第一及第二亞單元構成的Fc結構域，其中Fc結構域包含一或多個降低效應功能的胺基酸取代。在特定態樣中，Fc結構域係具有胺基酸突變L234A、L235A及P329G(根據Kabat EU索引編號)的人類IgG1子類。

促進雜二聚化之Fc結構域修飾

本發明之雙特異性抗原結合分子包含融合至Fc結構域之兩個亞單元的一個或另一個的不同抗原結合位點，因此Fc結構域之兩個亞單元可包含兩個不相同多肽鏈。此等多肽之重組型共表現及隨後的二聚化引起兩種多肽之若干種可能的組合。為提高重組產生中本發明之雙特異性抗原結合分子的產量及純度，因此將適宜在本發明之雙特異性抗原結合分子的Fc結構域中引入促進所需多肽結合之修飾。

因此，在特定態樣中，本發明係關於雙特異性抗原結合分子，其包含(a)至少一個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域，(b)至少一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域，及(c)由能夠穩定結合的第一及第二亞單元構成的Fc結構域，其中Fc結構域包含促進Fc結構域之第一及第二亞單元結合的修飾。人類IgG Fc結構域中之兩個亞單元之間最廣泛蛋白質-蛋白質相互作用的位點位於Fc結構域之CH3結構域中。因此，在一個態樣中，該修飾存在於Fc結構域之CH3結構域中。

在一特定態樣中，該修飾係所謂的「杵-臼」修飾，其包含Fc結構域之兩個亞單元中之一者中的「杵」修飾及Fc結構域之兩個亞單元之另一者中的「臼」修飾。因此，本發明係關於雙特異性抗原結合分子，其包含(a)至少一個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域，(b)至少一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域，及(c)由能夠穩定結合的第一及第二亞單元構成的Fc結構域，其中根據杵臼方法，Fc結構域之第一亞單元包含杵，且Fc結構域之第二亞單元包含臼。在一特定態樣中，Fc結構域之第一亞單元包含胺基酸取代S354C及T366W (EU編號)，且Fc結構域之第二亞單元包含胺基酸取代Y349C、T366S及Y407V (根據Kabat EU索引編號)。

杵-臼技術描述於例如US 5,731,168；US 7,695,936；Ridgway等人, Prot Eng 9, 617-621 (1996)及Carter, J Immunol Meth 248, 7-15 (2001)中。一般而言，方法包括在第一多肽之界面處引入突起(「杵」)及在第二多肽之界面處引入相應凹穴(「臼」)，使得突起可定位於凹穴中以便促進雜二聚體形成且阻礙均二聚體形成。藉由用較大側鏈(例如酪胺酸或色胺酸)置換第一多肽界面中之小胺基酸側鏈來構建突起。尺寸與突起相同或

相似的補償性凹穴藉由用較小胺基酸側鏈(例如丙胺酸或蘇胺酸)置換大胺基酸側鏈而形成於第二多肽之界面中。

因此，在一個態樣中，在本發明之雙特異性抗原結合分子的Fc結構域的第一亞單元的CH3結構域中，胺基酸殘基置換為具有較大側鏈體積之胺基酸殘基，由此在第一亞單元之CH3結構域內產生突起，其可定位於第二亞單元之CH3結構域內的凹穴中，且在Fc結構域之第二亞單元的CH3結構域中，胺基酸殘基置換為具有較小側鏈體積之胺基酸殘基，由此在第二亞單元之CH3結構域內產生凹穴，第一亞單元之CH3結構域內的突起可定位於該凹穴中。突起及凹穴可藉由改變編碼多肽之核酸產生，例如藉由位點特異性突變誘發或藉由肽合成。在一個特定態樣中，在Fc結構域之第一亞單元之CH3結構域中，位置366處之蘇胺酸殘基經色胺酸殘基(T366W)置換，且在Fc結構域之第二亞單元之CH3結構域中，位置407處之酪胺酸殘基經纈胺酸殘基(Y407V)置換。在一個態樣中，在Fc結構域之第二亞單元中，另外，位置366之蘇胺酸殘基經絲胺酸殘基(T366S)置換且位置368之白胺酸殘基經丙胺酸殘基(L368A)置換。

在另一態樣中，在Fc結構域之第一亞單元中，位置354之絲胺酸殘基另外經半胱胺酸殘基(S354C)置換，且在Fc結構域之第二亞單元中，位置349之酪胺酸殘基另外經半胱胺酸殘基(Y349C)置換。引入此等兩個半胱胺酸殘基使得Fc結構域之兩個亞單元之間形成二硫橋鍵，進一步穩定二聚體(Carter (2001), J Immunol Methods 248, 7-15)。在一特定態樣中，Fc結構域之第一亞單元包含胺基酸取代S354C及T366W (EU編號)，且Fc結構域之第二亞單元包含胺基酸取代Y349C、T366S及Y407V (根據Kabat EU索引編號)。

在一個替代性態樣中，促進Fc結構域之第一及第二亞單元之結合的修飾包含調節靜電導引作用之修飾，例如PCT公開案WO 2009/089004中所描述。通常，此方法涉及用帶電胺基酸殘基置換兩個Fc結構域亞單元之界面處之一或多個胺基酸殘基，使得均二聚體形成變成在靜電上不利的，但雜二聚在靜電上為有利的。

如本文所報導之雙特異性抗體之重鏈的C末端可為以胺基酸殘基PGK結束之完整C末端。重鏈之C末端可為縮短C末端，其中已移除一或兩個C末端胺基酸殘基。在一個較佳態樣中，重鏈之C末端係以PG結束之縮短C末端。在如本文所報導之所有態樣之一個態樣中，如本文所規定之包含包括C末端CH3結構域之重鏈的雙特異性抗體包含C末端甘胺酸-離胺酸二肽(G446及K447，根據Kabat EU索引編號)。在如本文所報導之全部態樣中之一個實施例中，如本文所規定之包含包括C末端CH3結構域之重鏈的雙特異性抗體包含C末端甘胺酸殘基(G446，根據KabatEU索引編號)。

CH1/CL結構域中之修飾

為進一步改良正確配對，雙特異性抗原結合分子可含有不同帶電胺基酸取代(所謂的「帶電殘基」)。將此等修飾引入互換或非互換CH1及CL結構域中。在一特定態樣中，本發明係關於一種雙特異性抗原結合分子，其中在CL結構域中之至少一者中，位置123 (EU編號)處之胺基酸經精胺酸(R)置換且位置124 (EU編號)處之胺基酸經離胺酸(K)取代，且其中在CH1結構域中之至少一者中，位置147 (EU編號)及位置213 (EU編號)處之胺基酸經麩胺酸(E)取代。

更特定言之，本發明係關於雙特異性抗原結合分子，其中在結合至4-1BB之Fab結構域之CL結構域中，位置123處(EU編號)之胺基酸已經精

胺酸(R)置換且位置124處(EU編號)之胺基酸已經離胺酸(K)取代，且其中在結合至4-1BB之Fab結構域之CH1結構域中，位置147處(EU編號)及位置213處(EU編號)之胺基酸已經麩胺酸(E)取代。

Fab結構域中之修飾

在一個態樣中，本發明係關於雙特異性抗原結合分子，其包含(a)能夠特異性結合於4-1BB之第一Fab片段，(b)能夠特異性結合於靶細胞抗原之第二Fab片段，及(c)由能夠穩定結合的第一及第二亞單元構成的Fc結構域，其中在Fab片段中之一者中可變結構域VH及VL或恆定結構域CH1及CL互換。根據互換單抗(Crossmab)技術製備雙特異性抗體。

在一個結合臂中具有結構域置換/互換的多特異性抗體(互換單抗VH-VL或互換單抗CH-CL)詳細描述於WO2009/080252及Schaefer, W.等人, PNAS, 108 (2011) 11187-1191中。其明顯地減少由針對第一抗原之輕鏈與針對第二抗原之錯誤重鏈失配(與沒有此類結構域互換之方法相比較)而造成的副產物。

在一個態樣中，本發明係關於雙特異性抗原結合分子，其包含(a)能夠特異性結合於4-1BB之第一Fab片段，(b)能夠特異性結合於靶細胞抗原之第二Fab片段，及(c)由能夠穩定結合的第一及第二亞單元構成的Fc結構域，其中在Fab片段中之一者中恆定結構域CL及CH1經彼此置換，使得CH1結構域係輕鏈的一部分且CL結構域係重鏈的一部分(CH-CL互換單抗)。在另一態樣中，在Fab片段中之一者中可變結構域VL及VH經彼此置換，使得VH結構域係輕鏈的一部分且VL結構域係重鏈的一部分(VH-VL互換單抗)。更特定言之，在能夠特異性結合於靶細胞抗原之第二Fab片段中，恆定結構域CL及CH1彼此置換使得CH1結構域係輕鏈之部分且CL結

構域係重鏈之部分。

在一特定態樣中，本發明係關於雙特異性抗原結合分子，其包含(a)能夠特異性結合於4-1BB之第一Fab片段，(b)能夠特異性結合於靶細胞抗原之第二Fab片段，其中恆定結構域CL及CH1經彼此置換，使得CH1結構域係輕鏈的一部分且CL結構域係重鏈的一部分。此類分子稱為單價雙特異性抗原結合分子。

在另一態樣中，本發明係關於雙特異性抗原結合分子，其包含(a)抗體之兩個輕鏈及兩個重鏈，該抗體包含兩個能夠特異性結合於4-1BB之Fab片段及Fc結構域，及(b)兩個能夠特異性結合於靶細胞抗原之額外Fab片段，其中該等額外Fab片段各自經由肽連接子連接至(a)之重鏈的C末端。在一特定態樣中，額外Fab片段係Fab片段，其中可變結構域VL及VH經彼此置換，使得VH結構域係輕鏈的一部分且VL結構域係重鏈的一部分。

因此，在一個態樣中，本發明包含雙特異性抗原結合分子，其包含(a)抗體之兩個輕鏈及兩個重鏈，該抗體包含兩個能夠特異性結合於4-1BB之Fab片段及Fc結構域，及(b)兩個能夠特異性結合於靶細胞抗原之額外Fab片段，其中該兩個能夠特異性結合於靶細胞抗原之額外Fab片段係互換型Fab片段，其中可變結構域VL及VH經彼此置換，且VL-CH鏈各自經由肽連接子連接至(a)之重鏈的C末端。

在另一態樣中，本發明係關於雙特異性抗原結合分子，其包含(a)抗體之兩個輕鏈及兩個重鏈，該抗體包含兩個能夠特異性結合於4-1BB之Fab片段及Fc結構域，及(b)一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之額外Fab片段，其中該額外Fab片段經由肽連接子連接至(a)之重鏈中之一者的C末

端。在一特定態樣中，額外Fab片段係Fab片段，其中可變結構域VL及VH經彼此置換，使得VH結構域係輕鏈的一部分且VL結構域係重鏈的一部分。在另一態樣中，額外Fab片段係Fab片段，其中恆定結構域CL及CH1經彼此置換，使得CH1結構域係輕鏈的一部分且CL結構域係重鏈的一部分。

聚核苷酸

本發明進一步提供編碼如本文所述之雙特異性抗原結合分子的經分離之聚核苷酸或其片段。

編碼本發明之雙特異性抗原結合分子之經分離聚核苷酸可表現為編碼整個抗原結合分子之單個聚核苷酸或共表現的多個(例如兩個或更多個)聚核苷酸。由共表現之聚核苷酸編碼之多肽可經由例如二硫鍵或其他手段結合，以形成功能性抗原結合分子。舉例而言，免疫球蛋白之輕鏈部分可由來自免疫球蛋白之重鏈部分的單獨聚核苷酸編碼。當共表現時，重鏈多肽與輕鏈多肽結合以形成免疫球蛋白。

在一些態樣中，經分離之聚核苷酸編碼如本文所述的根據本發明之雙特異性分子中所包含之多肽。

在一個態樣中，本發明係關於編碼雙特異性抗原結合分子之經分離聚核苷酸，其包含(a)至少一個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域，(b)至少一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域，及(c)由能夠穩定結合的第一及第二亞單元構成的Fc結構域，其中能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含

重鏈可變區(V_H4-1BB)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之CDR-

H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_L4-1BB)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之CDR-L3。

在某些實施例中，該聚核苷酸或核酸係DNA。在其他實施例中，本發明之聚核苷酸係RNA，例如呈信使RNA (mRNA)形式。本發明之RNA可為單股或雙股RNA。

重組方法

本發明之雙特異性抗原結合分子可例如藉由重組製造獲得。對於重組製造，提供一或多個編碼雙特異性抗原結合分子或其多肽片段之聚核苷酸。編碼雙特異性抗原結合分子之該一或多個聚核苷酸經分離且插入至一或多個載體中用於進一步複製及/或在宿主細胞中表現。此類聚核苷酸可使用習知程序容易地分離及測序。在本發明之一個態樣中，提供包含本發明之聚核苷酸中之一或多者的載體，較佳表現載體。可使用熟習此項技術者熟知的方法構築含有活化T細胞之雙特異性抗原結合分子(片段)之編碼序列與適當轉錄/轉譯控制信號的表現載體。此等方法包括活體外重組DNA技術、合成技術及活體內重組/基因重組。參見例如Maniatis等人, MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, Cold Spring Harbor Laboratory, N.Y. (1989)；及Ausubel等人, CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, Greene Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y. (1989)中所描述之技術。表現載體可為質體、病毒之一部分，或可為核酸片段。表達載體包括表現卡匣，編碼雙特異性抗原結合分子或其多肽片段之聚核苷酸(亦即編碼區)可操作

地與啟動子及/或其他轉錄或轉譯控制元件結合選殖至表現卡匣中。如本文所用，「編碼區」係由轉譯成胺基酸之密碼子組成之核酸的一部分。雖然「終止密碼子」(TAG、TGA或TAA)未轉譯成胺基酸，但其可視為編碼區(若存在)之一部分，但任何側接序列(例如啟動子、核糖體結合位點、轉錄終止子、內含子、5'及3'未轉譯區及類似序列)不為編碼區之一部分。單個聚核苷酸構築體中可存在兩個或多於兩個編碼區，例如在單個載體上，或在獨立聚核苷酸構築體中，例如在獨立(不同)載體上。此外，任何載體可含有單一編碼區，或可包含兩個或多於兩個編碼區，例如本發明之載體可編碼一或多個多肽，其經由蛋白水解分裂而轉譯後或共轉譯分離成最終蛋白質。另外，本發明之載體、聚核苷酸或核酸可編碼異源編碼區，其融合或未融合至編碼本發明之雙特異性抗原結合分子或其多肽片段的聚核苷酸，或其變異體或衍生物。異源編碼區包括(但不限於)專用元件或基元，諸如分泌性信號肽或異源功能性結構域。可操作結合係在基因產物(例如多肽)之編碼區以一定方式與一或多個調節序列結合時，將基因產物之表現置於調節序列之影響或控制下。若誘導啟動子功能導致編碼所要基因產物之mRNA轉錄且若兩個DNA片段之間連接的性質不干擾表現調節序列導引基因產物表現的能力或不干擾DNA模板轉錄的能力，則兩個DNA片段(諸如多肽編碼區及與其相關聯的啟動子)為「可操作地結合」。因此，若啟動子能夠實現核酸轉錄，則啟動子區域與編碼多肽之核酸可操作地結合。啟動子可為僅引導預定細胞中之DNA實質性轉錄的細胞特異性啟動子。除啟動子以外的其他轉錄控制元件(例如強化子、操縱子、抑制子及轉錄終止信號)可與引導細胞特異性轉錄之聚核苷酸可操作地結合。

適合的啟動子及其他轉錄控制區揭示於本文中。多個轉錄控制區已為熟習此項技術者所知。此等區域包括但不限於在脊椎動物細胞中起作用的轉錄控制區，諸如但不限於啟動子及增強子區段，其來自巨細胞病毒(例如即刻早期啟動子，連同內含子-A)、猴病毒40 (例如早期啟動子)及逆轉錄病毒(諸如勞斯肉瘤病毒(Rous sarcoma virus))。其他轉錄控制區包括來源於脊椎動物基因(諸如肌動蛋白、熱休克蛋白、牛生長激素及兔â-血球蛋白)之區域，以及能夠控制真核細胞中之基因表現的其他序列。其他適合的轉錄控制區包括組織特異性啟動子及增強子以及誘導性啟動子(例如啟動子誘導性四環素(tetracyclins))。類似地，多種轉譯控制元件已為一般熟習此項技術者所知。此等元件包括但不限於核糖體結合位點、轉譯起始及終止密碼子，以及來源於病毒系統的元件(特定言之，內部核糖體入口位點或IRES，亦稱為CITE序列)。表現卡匣亦可包括其他特徵，諸如複製起點，及/或染色體整合元件，諸如逆轉錄病毒長末端重複序列(LTR)，或腺相關聯病毒(AAV)反向末端重複序列(ITR)。

本發明之聚核苷酸及核酸編碼區可與編碼分泌肽或信號肽的其他編碼區結合，從而引導由本發明之聚核苷酸編碼的多肽之分泌。舉例而言，若需要分泌雙特異性抗原結合分子或其多肽片段，則編碼信號序列之DNA可置於編碼本發明之雙特異性抗原結合分子的核酸或其多肽片段上游。根據信號假設，哺乳動物細胞所分泌的蛋白質具有自成熟蛋白質裂解(一旦生長蛋白質鏈跨越粗糙內質網輸出已起始)的信號肽或分泌性前導序列。一般熟習此項技術者認識到，脊椎動物細胞分泌的多肽通常具有與多肽之N端融合的信號肽，該信號肽自所轉譯之多肽裂解而產生呈分泌或「成熟」形式的多肽。在某些實施例中，使用原生信號肽(例如免疫球蛋

白重鏈或輕鏈信號肽)，或保持直接分泌可操作地與原生信號肽結合之多肽之能力的序列的功能衍生物。或者，可使用異源哺乳動物信號肽或其功能衍生物。舉例而言，野生型前導序列可經人類組織纖維蛋白溶酶原活化因子(TPA)或小鼠β-葡糖醛酸酶之前導序列取代。

編碼可用於促進隨後純化(例如組胺酸標記)或有助於標記融合蛋白質之短蛋白質序列的DNA可包括於編碼本發明之雙特異性抗原結合分子或其多肽片段之聚核苷酸的內部處於末端。

在本發明之另一態樣中，提供包含一或多種本發明之聚核苷酸的宿主細胞。在某些態樣中，提供包含一或多種本發明之載體的宿主細胞。聚核苷酸及載體可合併本文分別關於聚核苷酸及載體所述之任一特徵(單個或組合)。在一個態樣中，宿主細胞包含(例如已轉型或轉染有)載體，該載體包含編碼本發明之雙特異性抗原結合分子(的一部分)的聚核苷酸。如本文所用，術語「宿主細胞」係指任何類型之可經工程改造以產生本發明之融合蛋白或其片段的細胞系統。適用於複製及支持抗原結合分子之表現的宿主細胞為此項技術中熟知。此類細胞可視需要經特定表現載體轉染或轉導，且可生長含有大量載體之細胞以用於接種大型醱酵槽，以獲得足量的抗原結合分子以用於臨床應用。適合的宿主細胞包括原核微生物，諸如大腸桿菌，或各種真核細胞，諸如中國倉鼠卵巢細胞(CHO)、昆蟲細胞或其類似物。舉例而言，可在細菌中產生多肽，尤其在不需要糖基化時。在表現之後，多肽可以可溶性部分自細菌細胞糊狀物中分離且可進一步純化。除原核生物外，諸如絲狀真菌或酵母之真核微生物為適用於編碼多肽之載體的選殖或表現宿主，包括糖基化路徑已經「人類化」，從而產生具有部分或完全人類糖基化型態之多肽的真菌及酵母菌株。參見Gerngross,

Nat Biotech 22, 1409-1414 (2004)，及Li等人, Nat Biotech 24, 210-215 (2006)。

適用於表現(糖基化)多肽的宿主細胞亦來源於多細胞生物體(無脊椎動物及脊椎動物)。無脊椎動物細胞之實例包括植物及昆蟲細胞。已鑑別出眾多可與昆蟲細胞聯合使用，尤其用於轉染草地黏蟲(Spodoptera frugiperda)細胞之桿狀病毒株。植物細胞培養物亦可用作宿主。參見例如美國專利第5,959,177號、第6,040,498號、第6,420,548號、第7,125,978號及第6,417,429號(描述利用轉殖基因植物產生抗體的PLANTIBODIES^{TM}技術)。脊椎動物細胞亦可用作宿主。舉例而言，適於在懸浮液中生長之哺乳動物細胞株可為適用的。適用哺乳動物宿主細胞株之其他實例係經SV40轉型的猴腎CV1株(COS-7)；人類胚腎細胞株(293或293T細胞，如例如Graham等人, J Gen Virol 36, 59 (1977)中所述)；幼倉鼠腎細胞(BHK)；小鼠塞特利氏細胞(mouse sertoli cells)(TM4細胞，如例如Mather, Biol Reprod 23, 243-251 (1980)中所述)；猴腎細胞(CV1)；非洲綠猴腎細胞(VERO-76)；人類子宮頸癌細胞(海拉細胞(HELA))；犬腎細胞(MDCK)；水牛鼠肝細胞(buffalo rat liver cells)(BRL 3A)；人類肺細胞(W138)；人類肝細胞(Hep G2)；小鼠乳腺腫瘤細胞(MMT 060562)；TRI細胞(如例如Mather等人, Annals N. Y. Acad Sci 383, 44-68 (1982)中所述)；MRC 5細胞及FS4細胞。其他適用的哺乳動物宿主細胞株包括中國倉鼠卵巢(CHO)細胞，包括dhfr- CHO細胞(Urlaub等人, Proc Natl Acad Sci USA 77, 4216 (1980))；及骨髓瘤細胞株，諸如YO、NS0、P3X63及Sp2/0。關於適用於產生蛋白質的某些哺乳動物宿主細胞株之綜述，參見例如Yazaki及Wu, Methods in Molecular Biology, 第248

卷(B.K.C. Lo編, Humana Press, Totowa, NJ), 第255-268頁 (2003)。宿主細胞包括經培養細胞，例如經培養之哺乳動物細胞、酵母細胞、昆蟲細胞、細菌細胞及植物細胞(僅舉數例)，而且包括轉殖基因動物、轉殖基因植物或經培養之植物或動物組織中所包含的細胞。在一個實施例中，宿主細胞係真核細胞，較佳係哺乳動物細胞，諸如中國倉鼠卵巢(CHO)細胞、人類胚腎(HEK)細胞或淋巴細胞(例如Y0、NS0、Sp20細胞)。此項技術中已知在此等系統中表現外源基因的標準技術。表現包含免疫球蛋白之重鏈或輕鏈之多肽的細胞可經工程改造以亦表現免疫球蛋白鏈中之另一者，使得所表現產物為具有重鏈及輕鏈的免疫球蛋白。

在一個態樣中，提供製造本發明之雙特異性抗原結合分子或其多肽片段的方法，其中該方法包含在適於表現本發明之雙特異性抗原結合分子或其多肽片段的條件下培養如本文所提供的包含編碼本發明之雙特異性抗原結合分子的聚核苷酸或其多肽片段的宿主細胞，且自宿主細胞(或宿主細胞培養基)回收本發明之雙特異性抗原結合分子或其多肽片段。

如本文所述製備的本發明之雙特異性分子可藉由此項技術中已知的技術(諸如高效液相層析法、離子交換層析法、凝膠電泳、親和力層析法、尺寸排阻層析法等)純化。用於純化特定蛋白質的實際條件部分地視諸如淨電荷、疏水性、親水性等因素而定，且對於熟習此項技術者而言為顯而易見的。對於親和力層析純化，可使用雙特異性抗原結合分子結合之抗體、配位體、受體或抗原。舉例而言，關於本發明之融合蛋白之親和層析純化，可使用具有蛋白質A或蛋白質G之基質。可使用序列蛋白質A或G親和層析及尺寸排阻層析來分離實質上如實例中所描述之抗原結合分子。雙特異性抗原結合分子或其片段之純度可藉由多種眾所周知的分析方法中

之任一者測定，包括凝膠電泳、高壓液相層析法等。舉例而言，如實例中所述表現之雙特異性抗原結合分子顯示為完整的且如還原及非還原SDS-PAGE所證實適當地裝配。

分析

可藉由此項技術中已知之各種分析對本文中提供之抗原結合分子針對其物理/化學特性及/或生物活性進行鑑別、篩選或表徵。

1. 親和力分析

本文提供之雙特異性抗原結合分子、抗體及抗體片段對4-1BB及靶細胞抗原之親和力可根據實例中闡述之方法，藉由表面電漿子共振(SPR)，使用諸如BIAcore儀器(GE Healthcare)之標準儀器來測定，且受體或靶蛋白諸如可藉由重組表現獲得。雙特異性抗原結合分子對目標細胞抗原之親和力亦可藉由表面電漿子共振(SPR)，使用諸如BIAcore儀器(GE Healthcare)之標準儀器測定，且受體或目標蛋白諸如可藉由重組表現獲得。用於量測結合親和力之特定說明性及例示性實施例描述於實例1.2中。根據一個態樣，藉由表面電漿子共振、使用BIACORE® T100機器(GE Healthcare)、在25℃量測K_D。

2. 結合分析及其他分析

本文提供之雙特異性抗原結合分子與表現相應受體之細胞的結合可例如藉由流動式細胞量測術(FACS)使用表現具體受體或靶抗原之細胞株評估。在一個態樣中，在結合分析中使用表現4-1BB之外周血液單核細胞(PBMC)。此等細胞在分離後(未處理PMBC)或在刺激後(經活化之PMBC)直接使用。在另一態樣中，使用活化小鼠脾細胞(表現4-1BB)展現本發明之雙特異性抗原結合分子或抗體對4-1BB表現細胞之結合。在另一態樣

中，自健康食蟹獼猴之肝素化血液分離之PBMC用於顯示相應食蟹獼猴4-1BB表現細胞的雙特異性抗原結合分子或抗體。

在另一態樣中，表現靶細胞抗原(例如FAP或CEA)之癌細胞株用於展現抗原結合分子對靶細胞抗原的結合。

在另一態樣中，可使用競爭分析來鑑別分別與特定抗體或抗原結合分子競爭結合於目標或4-1BB之抗原結合分子。在某些實施例中，該競爭抗原結合分子結合於由特定抗標靶抗體或特定抗4-1BB抗體結合的相同抗原決定基(例如線性或構形抗原決定基)。用於對抗體所結合之抗原決定基進行定位的詳細例示性方法提供於Morris (1996)「Epitope Mapping Protocols,」, Methods in Molecular Biology第66卷(Humana Press, Totowa, NJ)中。

3. 活性分析

在一個態樣中，提供用於鑑定結合於具有生物活性之特異性靶細胞抗原及4-1BB之雙特異性抗原結合分子的分析。生物活性可包括例如經由表現靶細胞抗原之細胞上的4-1BB進行的促效性信號傳導。亦提供由該等分析鑑別為在活體外具有此類生物活性的雙特異性抗原結合分子。

在某些態樣中，測試本發明之雙特異性抗原結合分子的此類生物活性。此外，用於偵測細胞溶解(例如藉由量測LDH釋放)、誘導之細胞凋亡動力學(例如藉由量測卡斯蛋白酶3/7活性)或細胞凋亡(例如使用TUNEL分析)之分析為此項技術中熟知的。此外，此類複合物之生物活性可藉由評估其對多種淋巴細胞子集(諸如NK細胞、NKT細胞或γδ T細胞)之存活、增殖及淋巴激素分泌之作用或評估其調節抗原呈現細胞(諸如樹突狀細胞、單核細胞/巨噬細胞或B細胞)之表現型及功能的能力來評估。

醫藥組合物、調配物及投與途徑

在另一態樣中，本發明提供醫藥組合物，其包含本文提供之雙特異性抗原結合分子中之任一者，例如用於以下治療方法中之任一者。在一個實施例中，醫藥組合物包含本文提供之雙特異性抗原結合分子中之任一者及至少一種醫藥學上可接受之賦形劑。在另一實施例中，醫藥組合物包含本文提供之雙特異性抗原結合分子中之任一者及至少一種額外治療劑，例如如下所述。

本發明之醫藥組合物包含治療有效量之一或多種雙特異性抗原結合分子，其溶解或分散於醫藥學上可接受之賦形劑中。片語「醫藥學上或藥理學上可接受」係指分子實體及組合物在所用劑量及濃度下對於接受者而言一般為無毒性的，亦即當適當時投與至動物(諸如人類)時，不會產生有害的過敏反應或其他不良反應。熟習此項技術者依據本發明將知曉製備含有至少一種根據本發明之雙特異性抗原結合分子及視情況存在之額外活性成分的醫藥組合物，如由Remington's Pharmaceutical Sciences, 第18版 Mack Printing Company, 1990例示，其以引用之方式併入本文中。特定言之，組合物係凍乾調配物或水溶液。如本文所用，「醫藥學上可接受之賦形劑」包括任何及所有溶劑、緩衝液、分散介質、塗料、界面活性劑、抗氧化劑、防腐劑(例如抗菌劑、抗真菌劑)、等張劑、鹽、穩定劑及其組合，如一般熟習此項技術者已知。

非經腸組合物包括為藉由注射(例如皮下、皮內、病灶內、靜脈內、動脈內、肌肉內、鞘內或腹膜內注射)投藥所設計的彼等組合物。注射時，本發明之雙特異性抗原結合分子可於水溶液中調配，較佳於生理上相容的緩衝液(諸如漢克氏溶液(Hanks' solution)、林格氏溶液(Ringer's

solution)或生理鹽水緩衝液)中調配。溶液可含有調配劑，諸如懸浮劑、穩定劑及/或分散劑。替代地，雙特異性抗原結合分子可呈用於在使用之前用適合之媒劑(例如無菌無熱原質水)復原的粉末形式。無菌可注射溶液藉由將所需量之本發明之抗原結合分子視需要與下文列舉的多種其他成分一起併入適當溶劑中來製備。無菌性可容易地藉由例如用無菌過濾膜過濾來實現。一般而言，分散液係藉由將各種經滅菌之活性成分併入含有基本分散介質及/或其他成分的無菌媒劑中來製備。在用於製備無菌可注射溶液、懸浮液或乳液之無菌粉末情況下，較佳製備方法係真空乾燥及冷凍乾燥技術，其利用預先無菌過濾之液體介質產生活性成分加任何其他所需成分之粉末。視需要，液體介質宜經緩衝，且在與足量生理食鹽水或葡萄糖一起注射之前，首先使液體稀釋劑呈等張性。該組合物在製造及儲存條件下必須為穩定的，且必須避免諸如細菌及真菌之微生物的污染作用。應瞭解，內毒素污染應最低限度地保持在安全水準，例如低於0.5 ng/mg蛋白質。適合之醫藥學上可接受之賦形劑包括但不限於：緩衝液，諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，包括抗壞血酸及甲硫胺酸；防腐劑(諸如氯化十八烷基二甲基苯甲基銨；氯化六羥季銨；苯紮氯銨；苄索氯銨；酚、丁醇或苯甲醇；對羥苯甲酸烷基酯，諸如對羥基苯甲酸甲酯或丙酯；鄰苯二酚；間苯二酚；環己醇；3-戊醇；及間甲酚；低分子量(小於約10個殘基)多肽；蛋白質，諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚乙烯吡咯啶酮；胺基酸，諸如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺、組胺酸、精胺酸或離胺酸；單醣、雙醣及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑，諸如EDTA；糖，諸如蔗糖、甘露糖醇、海藻糖或山梨糖醇；成鹽相對離子，諸如鈉；金屬錯合物(例如Zn-蛋

白質錯合物)；及/或非離子型界面活性劑，諸如聚乙二醇(PEG)。水性注射懸浮液可含有增加懸浮液黏度之化合物，諸如羧甲基纖維素鈉、山梨糖醇、聚葡萄糖或其類似物。視情況，懸浮液亦可含有適合穩定劑或增加化合物溶解性以允許製備高度濃溶液之藥劑。另外，活性化合物之懸浮液可視需要製備成油性注射懸浮液。適合親脂性溶劑或媒劑包括脂肪油，諸如芝麻油；或合成脂肪酸酯，諸如油酸乙酯或三酸甘油酯；或脂質體。

活性成分可包覆於微膠囊中，例如藉由凝聚技術或藉由界面聚合法所製備之微膠囊，例如分別為羥基甲基纖維素或明膠微膠囊及聚(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊；包覆於膠態藥物傳遞系統(例如脂質體、白蛋白微球體、微乳液、奈米粒子及奈米膠囊)中或巨乳液中。此類技術揭示於Remington's Pharmaceutical Sciences (第18版, Mack Printing Company, 1990)中。可製備延釋製劑。持續釋放型製劑之適合實例包括含有多肽之固體疏水性聚合物之半滲透基質，該等基質呈成形物品形式，例如膜或微膠囊。在特定實施例中，可注射組合物之延長吸收可藉由在組合物中使用延遲吸收劑(諸如單硬脂酸鋁、明膠或其組合)來達成。

本文中之例示性醫藥學上可接受之賦形劑進一步包括間質藥物分散劑，諸如可溶性中性活性玻尿酸酶糖蛋白(sHASEGP)，例如人類可溶性PH-20玻尿酸酶糖蛋白，諸如rHuPH20 (HYLENEX®, Baxter International, Inc.)。某些例示性sHASEGP (包括rHuPH20)及使用方法描述於美國專利公開案第2005/0260186號及第2006/0104968號中。在一個態樣中，sHASEGP與一或多種其他葡萄糖胺聚糖酶(諸如軟骨素酶)組合。

例示性凍乾抗體調配物描述於美國專利第6,267,958號中。水性抗體

調配物包括美國專利案第6,171,586號及WO 2006/044908中所述之調配物，後一者中之調配物包括組胺酸-乙酸鹽緩衝液。

除了事先描述的組合物之外，抗原結合分子亦可調配為儲槽製劑。此類長效調配物可藉由植入(例如皮下或肌肉內植入)或藉由肌肉內注射來投與。因此，舉例而言，融合蛋白可用適合的聚合或疏水性材料(例如呈可接受之油中的乳液形式)或離子交換樹脂調配，或調配成微溶性衍生物，例如微溶性鹽。

包含本發明之雙特異性抗原結合分子的醫藥組合物可藉助於習知混合、溶解、乳化、囊封、包覆或凍乾法製造。醫藥組合物可使用一或多種有利於將蛋白質處理成可在醫藥學上使用之製劑的生理學上可接受之載劑、稀釋劑、賦形劑或助劑、以習知方式調配。適合調配物視所選擇之投與途徑而定。

雙特異性抗原結合分子可以調配成游離酸或鹼、中性或鹽形式之組合物。醫藥學上可接受之鹽為實質上保持游離酸或鹼之生物活性的鹽。此等鹽包括酸加成鹽，例如與蛋白質組合物之游離胺基形成的鹽，或與無機酸(諸如鹽酸或磷酸)或有機酸(諸如乙酸、乙二酸、酒石酸或杏仁酸)形成的鹽。與自由羧基形成的鹽亦可衍生自無機鹼，諸如氫氧化鈉、氫氧化鉀、氫氧化銨、氫氧化鈣或氫氧化鐵；或有機鹼，諸如異丙胺、三甲胺、組胺酸或普魯卡因(procaine)。相較於相應的游離鹼形式，醫藥鹽傾向於更可溶於水性及其他質子溶劑中。

本文中之組合物亦可含有一種以上為所治療之特定適應症所必需之活性成分，較佳為具有不會對彼此產生不利影響之互補活性的活性成分。此類活性成分宜以有效達成預期目的之量的組合存在。

用於活體內投與之調配物通常為無菌的。無菌性可容易地藉由例如用無菌過濾膜過濾來實現。

治療方法及組合物

本文提供之雙特異性抗原結合分子中之任一者可用於治療方法中。

為了用於治療方法中，本發明之雙特異性抗原結合分子可以符合良好醫學實踐的方式調配、給藥及投與。在此情形中考慮之因素包括所治療之特定病症、所治療之特定哺乳動物、個別患者之臨床病狀、病症起因、藥劑遞送位點、投與方法、投與時程及醫學從業者已知之其他因素。

在一個態樣中，提供本發明之抗原結合分子，其係用作藥劑。

在其他態樣中，提供本發明之雙特異性抗原結合分子，其用於(i)刺激或提高T細胞反應，(ii)用於支持經活化之T細胞存活，(iii)用於治療感染，(iv)用於治療癌症，(v)用於延遲癌症進展，或(vi)用於延長罹患癌症之患者的存活。在一特定態樣中，提供本發明之雙特異性抗原結合分子，其用於治療疾病，尤其用於治療癌症。

在某些態樣中，提供本發明之雙特異性抗原結合分子，其用於治療方法中。在一個態樣中，本發明提供如本文所述之雙特異性抗原結合分子，其用於治療有需要之個體的疾病。在某些態樣中，本發明提供雙特異性抗原結合分子，其用於治療患有疾病之個體的方法中，包含向該個體投與治療有效量之雙特異性抗原結合分子。在某些態樣中，待治療之疾病係癌症。需要治療之個體、患者或「個體」通常係哺乳動物，更特定言之係人類。

在一個態樣中，提供一種方法，其用於(i)刺激或提高T細胞反應，(ii)支持經活化之T細胞存活，(iii)治療感染，(iv)治療癌症，(v)延遲癌症

進展或(vi)延長罹患癌症之患者的存活，其中該方法包含向有需要之個體投與治療有效量的本發明之雙特異性抗原結合分子。

在另一態樣中，本發明提供本發明之雙特異性抗原結合分子的用途，其用於製造或製備供治療有需要之個體中的疾病用的藥劑。在一個態樣中，藥劑用於治療疾病之方法中，其包含投與患有疾病之個體治療有效量之藥劑。在某些態樣中，待治療之疾病係增生性病症，尤其癌症。癌症的實例包括但不限於膀胱癌、腦癌、頭頸癌、胰臟癌、肺癌、乳癌、卵巢癌、子宮癌、子宮頸癌、子宮內膜癌、食道癌、結腸癌、結腸直腸癌、直腸癌、胃癌、前列腺癌、血液癌、皮膚癌、鱗狀細胞癌、骨癌及腎癌。癌症之其他實例包括癌瘤、淋巴瘤(例如霍奇金氏及非霍奇金氏淋巴瘤)、母細胞瘤、肉瘤及白血病。可使用本發明之雙特異性抗原結合分子或抗體治療的其他細胞增殖病症包括但不限於定位於以下部位中之贅瘤：腹部、骨骼、乳房、消化系統、肝臟、胰臟、腹膜、內分泌腺體(腎上腺、副甲狀腺、垂體、睾丸、卵巢、胸腺、甲狀腺)、眼部、頭部及頸部、神經系統(中樞及周邊)、淋巴系統、骨盆、皮膚、軟組織、脾臟、胸部以及泌尿生殖系統。亦包括癌前病狀或病灶及癌症轉移。在某些實施例中，癌症係選自由以下組成之群：腎細胞癌、皮膚癌、肺癌、結腸直腸癌、乳癌、腦癌、頭頸癌。熟習此項技術者容易認識到在多數情況下，本發明之雙特異性抗原結合分子或抗體可能不提供治癒但可提供益處。在一些實施例中，具有一些益處之生理學變化亦視為治療上有利的。因此，在一些態樣中，提供生理學改變的本發明之雙特異性抗原結合分子或抗體之量視為「有效量」或「治療有效量」。

對於預防或治療疾病，本發明之雙特異性抗原結合分子(當單獨或與

一或多種其他額外治療劑組合使用時)之合適劑量將視以下而定：待治療之疾病類型、投與途徑、患者體重、特定分子、疾病嚴重程度及病程、本發明之雙特異性抗原結合分子或抗體是否投與用於預防性或治療性目的、預先或同時的治療性干預、患者之臨床病史及對融合蛋白質之反應、及主治醫師判斷。負責投藥的從業者將在任何情況下確定組合物中活性成分之濃度及適用於單獨個體的劑量。本文涵蓋各種給藥時程，包括但不限於單次投與或經各個時間點多次投與、快速投與及脈衝式輸注。

本發明之雙特異性抗原結合分子適合一次性或經一連串治療向患者投與。視疾病類型及嚴重程度而定，約1 μg/kg至15 mg/kg (例如0.1 mg/kg - 10 mg/kg)之含TNF家族配位三聚體之抗原結合分子可為用於投與患者之初始候選劑量，不論例如藉由一或多次獨立投與或藉由連續輸注。視上文所提及之因素而定，一種典型的日劑量可在約1 μg/kg至100 mg/kg或大於100 mg/kg之範圍內。對於歷經數日或更長時間之重複投與，治療一般將視病況而定持續至發生疾病症狀之所需抑制為止。本發明之雙特異性抗原結合分子或抗體的一個例示性劑量將在約0.005mg/kg至約10mg/kg範圍內。在其他實例中，劑量亦可包含每次投藥約1 μg/kg體重、約5 μg/kg體重、約10 μg/kg體重、約50 μg/kg體重、約100 μg/kg體重、約200 μg/kg體重、約350 μg/kg體重、約500 μg/kg體重、約1 mg/kg體重、約5 mg/kg體重、約10 mg/kg體重、約50 mg/kg體重、約100 mg/kg體重、約200 mg/kg體重、約350 mg/kg體重、約500 mg/kg體重至約1000 mg/kg體重或多於1000 mg/kg體重，及其中可衍生之任何範圍。在來自本文中列舉之數值之可衍生範圍之實例中，基於上述數值，可投與約0.1 mg/kg體重至約20 mg/kg體重、約5 μg/kg體重至約1 mg/kg體重等之範

圍。因此，可向患者投與約0.5 mg/kg、2.0 mg/kg、5.0 mg/kg或10 mg/kg (或其任何組合)之一或多種劑量。此類劑量可間歇性地投與，例如每週或每三週(例如使得患者接受約二至約二十次、或例如約六次劑量融合蛋白質)。在一特定態樣中，將每三週投與雙特異性抗原結合分子。可投與初始較高起始劑量，接著可投與一或多種較低劑量。然而，其他給藥方案可為適用的。此療法之進程易於藉由習知技術及分析法來監測。

本發明之雙特異性抗原結合分子一般將以有效實現預期目的之量使用。為了用於治療或預防疾病病狀，本發明之雙特異性抗原結合分子或抗體或其醫藥組合物以治療有效量投與或施用。治療有效量之判定完全在熟習此項技術者之能力範圍內，尤其根據本文所提供之詳細揭示內容。

全身性投藥時，可首先利用活體外分析(諸如細胞培養分析)估算治療有效劑量。接著可在動物模型中調配劑量以實現循環濃度範圍，包括如在細胞培養物中測定的IC_{50}。此類資訊可用於更準確地判定適用於人類之劑量。

初始劑量亦可自活體內資料(例如動物模型)、使用此項技術中熟知的技術估算。一般熟習此項技術者可基於動物資料容易地最佳化人類投藥。

可以獨立地調整劑量及間隔以提供足以維持治療作用的本發明之雙特異性抗原結合分子或抗體的血漿含量。常見的患者注射投藥劑量在約0.1至50毫克/公斤/天，通常約0.1至1毫克/公斤/天範圍內。治療有效血漿含量可藉由每天投與多次劑量來達成。血漿含量可藉由例如HPLC量測。

在局部投與或選擇性攝入之情況下，本發明之雙特異性抗原結合分子或抗體的有效局部濃度可能與血漿濃度無關。熟習此項技術者能夠最佳化治療有效局部劑量而無需不當實驗。

本文所述的本發明之雙特異性抗原結合分子的治療有效劑量一般將提供治療益處而不引起實質毒性。可在細胞培養物或實驗動物中藉由標準醫藥學程序測定融合蛋白質之毒性及治療功效。可使用細胞培養分析法及動物研究來測定LD_{50} (50%群體致死劑量)及ED_{50} (50%群體治療有效劑量)。毒性作用與治療作用之間的劑量比為治療指數，其可表示為比率LD_{50}/ED_{50}。較佳為呈現較大治療指數之雙特異性抗原結合分子。在一個態樣中，本發明之雙特異性抗原結合分子或抗體展現高治療指數。自細胞培養分析法及動物研究獲得之資料可用於調配適用於人類的劑量範圍。劑量較佳在循環濃度範圍內，其包括毒性極小或無毒性的ED_{50}。該劑量可視各種因素而定在此範圍內變化，該等因素係例如所採用之劑型、所採用之投藥途徑、個體之病狀及其類似因素。準確調配物、投藥途徑及劑量可由個別醫師鑒於患者之病況加以選擇(參見例如Fingl等人，1975, The Pharmacological Basis of Therapeutics, 第1章第1頁，其以全文引用之方式併入本文中)。

用本發明之雙特異性抗體治療之患者的主治醫師將知曉如何及何時因毒性、器官功能異常及其類似物而終止、中斷或調整投藥。相反，主治醫師亦知曉若臨床反應不充足(排除毒性)，則將治療調節至較高水準。管理所關注病症時所投與劑量之量值將因所治療之病狀之嚴重度及投藥途徑及其類似因素而不同。病狀之嚴重度可例如部分地藉由標準預後評估方法來評估。此外，劑量及可能的給藥頻率亦將根據個別患者之年齡、體重及反應而變。

其他藥劑及治療

本發明之雙特異性抗原結合分子在療法中可單獨或與一或多種其他

藥劑組合投與。舉例而言，本發明之雙特異性抗原結合分子或抗體可與至少一種額外治療劑共投與。術語「治療劑」涵蓋可投與以用於治療需要此類治療之個體中之症狀或疾病的任何藥劑。此類其他治療劑可包含適於治療特定適應症的任何活性成分，較佳為具有互補活性、彼此間無不利影響的彼等活性成分。在某些實施例中，另一種治療劑係另一種抗癌劑或化學治療劑，例如微管瓦解劑、抗代謝產物、拓樸異構酶抑制劑、DNA嵌入劑、烷化劑、蒽環黴素、激素療法、激酶抑制劑、受體拮抗劑、腫瘤細胞細胞凋亡活化劑或抗血管生成劑。在某些態樣中，額外治療劑為免疫調節劑、細胞抑制劑、細胞黏附抑制劑、細胞毒性或細胞生長抑制劑、細胞凋亡活化因子或提高細胞對細胞凋亡誘導劑之靈敏度的藥劑。

在一個態樣中，本發明之雙特異性抗原結合分子與化學治療劑、放射療法及/或用於癌症免疫療法之其他藥劑組合投與。化學治療劑係如上文所定義之抗癌劑。替代地，化學治療劑選自由以下組成之群：核苷酸類似物(例如阿紮胞苷、卡培他濱(capecitabine)、去氧氟尿苷、氟尿嘧啶、吉西他濱(gemcitabine)、羥基尿素或甲胺喋呤)、鉑基藥劑(例如卡鉑(carboplatin)、順鉑(cisplatin)或奧沙利鉑(oxaliplatin))、紫杉烷(例如太平洋紫杉醇、多烯紫杉醇、阿布拉生(abraxane)或克癌易(taxotere))、烷基化劑(例如環磷醯胺、苯丁酸氮芥、達卡巴嗪或替莫唑胺)、蒽環黴素(例如小紅莓或艾達黴素)、拓樸異構酶I抑制劑(例如伊立替康(irinotecan)或拓朴替康(topotecan))、拓樸異構酶II抑制劑(例如依託泊苷(etoposide)或替尼泊苷(teniposide))、激酶抑制劑(例如埃羅替尼(erlotinib)、加以域(imatinib)、維羅非尼(vemurafenib)或維莫德吉(vismodegib))、類視黃素、組蛋白脫乙醯基酶抑制劑及長春花生物鹼。其他用於癌症免疫療法之

藥劑包括例如阻斷PD-L1/PD-1相互作用之藥劑，諸如PD1抗體(例如派立珠單抗(pembrolizumab)或尼沃單抗(nivolumab))或PD-L1抗體(例如阿特珠單抗(atezolizumab))。本發明之雙特異性抗原結合分子亦可用於與放射療法組合。

此類其他藥劑宜以有效達成所欲目的之量組合存在。此類其他藥劑之有效量視所使用之融合蛋白之量、病症或治療之類型及上文所論述之其他因素而定。本發明之雙特異性抗原結合分子或抗體一般以相同劑量及如本文所述之投與途徑，或約1%至99%本文所述的劑量，或經驗上/臨床上確定為適當的任何劑量及任何途徑使用。

上文提及之此類組合療法涵蓋組合投與(其中相同或不同組合物中包括兩種或更多種治療劑)以及分別投與，在此情況下，本發明之雙特異性抗原結合分子或抗體的投與可在額外治療劑及/或助劑投與之前、同時及/或之後進行。在一個態樣中，投與雙特異性抗原結合分子及投與另一種治療劑在彼此約一個月內、或約一、二或三週內、或約一、二、三、四、五或六天內進行。

製品

在本發明之另一態樣中，提供一種含有適用於治療、預防及/或診斷上文所述之病症之物質的製品。製品包含容器及容器上或容器隨附之標籤或藥品說明書。適合之容器包括例如瓶子、小瓶、注射器、IV溶液袋等。容器可由各種材料形成，諸如玻璃或塑膠。容器容納單獨或與可有效治療、預防及/或診斷病狀之另一組合物組合之組合物，且可具有無菌接取口(例如容器可為具有可由皮下注射針刺穿之塞子的靜脈內溶液袋或小瓶)。組合物中的至少一種活性劑為本發明之雙特異性抗原結合分子或抗

體。

標籤或藥品說明書表明組合物用於治療所選病況。此外，製品可包含(a)其中含有組合物的第一容器，其中該組合物包含本發明之雙特異性抗原結合分子；及(b)其中含有組合物的第二容器，其中該組合物包含另一種細胞毒性劑或其他治療劑。本發明之此實施例中之製品可進一步包含指示組合物可用於治療特定病況之藥品說明書。

或者或另外，製品可進一步包含第二(或第三)容器，其包含醫藥學上可接受之緩衝液，諸如抑菌性注射用水(BWFI)、磷酸鹽緩衝鹽水、林格氏溶液(Ringer's solution)及右旋糖溶液。其可進一步包括就商業及使用者觀點而言所需之其他物質，包括其他緩衝劑、稀釋劑、過濾器、針及注射器。

表C (序列)：

SEQ ID NO:	名稱	序列
1	4-1BB (20H4.9) CDR-H1	GYYWS
2	4-1BB (20H4.9) CDR-H2	EINHGGYVTYNPSLES
3	4-1BB (20H4.9) CDR-H3	DYGPGNYDWYFDL
4	4-1BB (20H4.9) CDR-L1	RASQSVSSYLA
5	4-1BB (20H4.9) CDR-L2	DASNRAT
6	4-1BB (20H4.9) CDR-L3	QQRSNWPPALT
7	4-1BB (20H4.9) VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGRGTLVTVSS
8	4-1BB (20H4.9) VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPALTFGGGTKVEIK
9	FAP (28H1) CDR-H1	SHAMS
10	FAP (28H1) CDR-H2	AIWASGEQYYADSVKG

SEQ ID NO:	名稱	序列
11	FAP (28H1) CDR-H3	GWLGNFDY
12	FAP (28H1) CDR-L1	RASQSVSRSYLA
13	FAP (28H1) CDR-L2	GASTRAT
14	FAP (28H1) CDR-L3	QQGQVIPPT
15	FAP(4B9) CDR-H1	SYAMS
16	FAP(4B9) CDR-H2	AIIGSGASTYYADSVKG
17	FAP(4B9) CDR-H3	GWFGGFNY
18	FAP(4B9) CDR-L1	RASQSVTSSYLA
19	FAP(4B9) CDR-L2	VGSRRAT
20	FAP(4B9) CDR-L3	QQGIMLPPT
21	FAP(28H1) VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SHAMSWVRQAPGKGLEWVSAIWASGEQY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCAKGWLGNFDYWGQGTLVTVSS
22	FAP(28H1) VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSR SYLAWYQQKPGQAPRLLIIGASTRATGIPD RFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQG QVIPPTFGQGTKVEIK
23	FAP(4B9) VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYAMSWVRQAPGKGLEWVSAIIGSGASTY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGTLVTVSS
24	FAP(4B9) VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVTSS YLAWYQQKPGQAPRLLINVGSRRATGIPDR FSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQGI MLPPTFGQGTKVEIK
25	CEA (T84.66-LCHA)- CDR-H1	DTYMH
26	CEA (T84.66-LCHA)- CDR-H2	RIDPANGNSKYVPKFQG
27	CEA (T84.66-LCHA)- CDR-H3	FGYYVSDYAMAY
28	CEA (T84.66-LCHA)- CDR-L1	RAGESVDIFGVGFLH
29	CEA (T84.66-LCHA)- CDR-L2	RASNRAT
30	CEA (T84.66-LCHA)- CDR-L3	QQTNEDPYT
31	CEA (T84.66-LCHA) VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFNI KDTYMHWVRQAPGQGLEWMGRIDPANG NSKYVPKFQGRVTITADTSTSTAYMELSSL RSEDTAVYYCAPFGYYVSDYAMAYWGQG TLVTVSS

SEQ ID NO:	名稱	序列
32	CEA (T84.66-LCHA) VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAGESVDIF GVGFLHWYQQKPGQAPRLLIYRASNRATG IPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQ QTNEDPYTFGQGTKLEIK
33	CEA (A5B7)- CDR-H1	SYWMH
34	CEA (A5B7)- CDR-H2	FIRNKANGGTTEYAAS
35	CEA (A5B7)- CDR-H3	DRGLRFYFDY
36	CEA (A5B7)- CDR-L1	TLRRGINVGAYSIY
37	CEA (A5B7)- CDR-L2	YKSDSDKQQGS
38	CEA (A5B7)- CDR-L3	MIWHSGASAV
39	CEA (A5B7) VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTVS SYWMHWVRQAPGKGLEWVGFIRNKANG GTTEYAASVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARDRGLRFYFDYWGQGT TVTVSS
40	CEA (A5B7) VL	QAVLTQPASLSASPGASASLTCTLRRGINVG AYSIYWYQQKPGSPPQYLLRYKSDSDKQQ GSGVSSRFSASKDASANAGILLISGLQSEDE ADYYCMIWHSGASAVFGGGTKLTVL
41	VHCH1 (20H4.9)- 重鏈臼 -VL (4B9) (核苷酸序列)	參見表1
42	VHCH1 (20H4.9)- 重鏈杵 -VH (4B9) (核苷酸序列)	參見表1
43	VLCL-輕鏈(20H4.9) (核苷酸序列)	參見表1
44	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL (4B9)	參見表1
45	VHCH1 (20H4.9)- 重鏈杵 -VH (4B9)	參見表1
46	VLCL-輕鏈(20H4.9)	參見表1
47	VHCH1 (20H4.9)- 重鏈臼 -VH (4B9) (核苷酸序列)	參見表2
48	VHCH1 (20H4.9)- 重鏈杵 -VL (4B9) (核苷酸序列)	參見表2

SEQ ID NO:	名稱	序列
49	VHCH1 (20H4.9)- 重 鏈 臼 -VH (4B9)	參見表2
50	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (4B9)	參見表2
51	核苷酸序列Fc臼鏈	參見表4
52	核苷酸序列人類4-1BB抗原Fc杵鏈	參見表4
53	Fc臼鏈	參見表4
54	人類4-1BB抗原Fc杵鏈	參見表4
55	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL(4B9) (核苷酸序列)	參見表6
56	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH(4B9) (核苷酸序列)	參見表6
57	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL (4B9)	參見表6
58	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (4B9)	參見表6
59	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (4B9) (核苷酸序列)	參見表7
60	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (4B9) (核苷酸序列)	參見表7
61	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (4B9)	參見表7
62	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (4B9)	參見表7
63	VHCH1 (20H4.9)- 重 鏈 臼 -VL (T84.66-LCHA) (核苷酸序列)	參見表22
64	VHCH1 (20H4.9)- 重 鏈 杵 -VH (T84.66-LCHA) (核苷酸序列)	參見表22
65	VHCH1 (20H4.9)- 重 鏈 臼 -VL (T84.66-LCHA)	參見表22
66	VHCH1 (20H4.9)- 重 鏈 杵 -VH (T84.66-LCHA)	參見表22
67	VHCH1 (20H4.9)- 重 鏈 臼 -VH (T84.66-LCHA) (核苷酸序列)	參見表23
68	VHCH1 (20H4.9)- 重 鏈 杵 -VL (T84.66-LCHA) (核苷酸序列)	參見表23
69	VHCH1 (20H4.9)- 重 鏈 臼 -VH (T84.66-LCHA)	參見表23

SEQ ID NO:	名稱	序列
70	VHCH1 (20H4.9)- 重 鏈 杵 -VL (T84.66-LCHA)	參見表23
71	VHCH1 (20H4.9)- 重 鏈 臼 -VL (A5B7) (核苷酸序列)	參見表24
72	VHCH1 (20H4.9)- 重 鏈 杵 -VH (A5B7) (核苷酸序列)	參見表24
73	VHCH1 (20H4.9)- 重 鏈 臼 -VL (A5B7)	參見表24
74	VHCH1 (20H4.9)- 重 鏈 杵 -VH (A5B7)	參見表24
75	VHCH1 (20H4.9)- 重 鏈 臼 -VH (A5B7) (核苷酸序列)	參見表25
76	VHCH1 (20H4.9)- 重 鏈 杵 -VL (A5B7) (核苷酸序列)	參見表25
77	VHCH1 (20H4.9)- 重 鏈 臼 -VH (A5B7)	參見表25
78	VHCH1 (20H4.9)- 重 鏈 杵 -VL (A5B7)	參見表25
79	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL(T84.66-LCHA) (核苷酸序列)	參見表40
80	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH(T84.66-LCHA) (核苷酸序列)	參見表40
81	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL (T84.66-LCHA)	參見表40
82	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (T84.66-LCHA)	參見表40
83	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (T84.66-LCHA) (核苷酸序列)	參見表41
84	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (T84.66-LCHA) (核苷酸序列)	參見表41
85	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (T84.66-LCHA)	參見表41
86	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (T84.66-LCHA)	參見表41
87	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL(A5B7) (核苷酸序列)	參見表42
88	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-	參見表42

SEQ ID NO:	名稱	序列
	VH(A5B7) (核苷酸序列)	
89	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL (A5B7)	參見表42
90	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (A5B7)	參見表42
91	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (A5B7) (核苷酸序列)	參見表43
92	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (A5B7) (核苷酸序列)	參見表43
93	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (A5B7)	參見表43
94	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (A5B7)	參見表43
95	人類(hu) FAP	UniProt編號Q12884
96	hu FAP胞外域+聚-lys-tag+his_6-標記	RPSRVHNSEENTMRALTLKDILNGTFSYKT FFPNWISGQEYLHQSADNNIVLYNIETGQS YTILSNRTMKSVNASNYGLSPDRQFVYLES DYSKLWRYSYTATYYIYDLSNGEFVRGNE LPRPIQYLCWSPVGSKLAYVYQNNIYLKQR PGDPPFQITFNGRENKIFNGIPDWVYEEEM LATKYALWWSPNGKFLAYAEFNDTDIPVIA YSYYGDEQYPRTINIPYPKAGAKNPVVRIFI IDTTYPAYVGPQEVPVPAMIASSDYYFSWL TWVTDERVCLQWLKRVQNVSVLSICDFRE DWQTWDCPKTQEHIEESRTGWAGGFFVST PVFSYDAISYYKIFSDKDGYKHIHYIKDTV ENAIQITSGKWEAINIFRVTQDSLFYSSNEF EEYPGRRNIYRISIGSYPPSKKCVTCHLRKE RCQYYTASFSDYAKYYALVCYGPGIPISTL HDGRTDQEIKILEENKELENALKNIQLPKE EIKKLEVDEITLWYKMILPPQFDRSKKYPL LIQVYGGPCSQSVRSVFAVNWISYLASKEG MVIALVDGRGTAFQGDKLLYAVYRKLGVY EVEDQITAVRKFIEMGFIDEKRIAIWGWSY GGYVSSLALASGTGLFKCGIAVAPVSSWEY YASVYTERFMGLPTKDDNLEHYKNSTVM ARAEYFRNVDYLLIHGTADDNVHFQNSAQ

SEQ ID NO:	名稱	序列
		IAKALVNAQVDFQAMWYSDQNHGLSGLS TNHLYTHMTHFLKQCFSLSDGKKKKKKG HHHHHH
97	小鼠FAP	UniProt編號P97321
98	鼠FAP胞外域+聚-lys-tag+his_6-標記	RPSRVYKPEGNTKRALTLKDILNGTFSYKT YFPNWISEQEYLHQSEDDNIVFYNIETRES YIILSNSTMKSVNATDYGLSPDRQFVYLES DYSKLWRYSYTATYYIYDLQNGEFVRGYE LPRPIQYLCWSPVGSKLAYVYQNNIYLKQR PGDPPFQITYTGRENRIFNGIPDWVYEEEM LATKYALWWSPDGKFLAYVEFNDSDIPIIA YSYYGDGQYPRTINIPYPKAGAKNPVVRVF IVDTTYPHHVGPMEVPVPEMIASSDYYFS WLTWVSSERVCLQWLKRVQNVSVLSICDF REDWHAWECPKNQEHVEESRTGWAGGFF VSTPAFSQDATSYYKIFSDKDGYKHIHYIK DTVENAIQITSGKWEAIYIFRVTQDSLFYSS NEFEGYPGRRNIYRISIGNSPPSKKCVTCHL RKERCQYYTASFSYKAKYYALVCYGPGLPI STLHDGRTDQEIQVLEENKELENSLRNIQL PKVEIKKLKDGGLTFWYKMILPPQFDRSKK YPLLIQVYGGPCSQSVKSVFAVNWITYLAS KEGIVIALVDGRGTAFQGDKFLHAVYRKLG VYEVEDQLTAVRKFIEMGFIDEERIAIWGW SYGGYVSSLALASGTGLFKCGIAVAPVSSW EYYASIYSERFMGLPTKDDNLEHYKNSTV MARAEYFRNVDYLLIHGTADDNVHFQNSA QIAKALVNAQVDFQAMWYSDQNHGILSG RSQNHLYTHMTHFLKQCFSLSDGKKKKKK GHHHHHH
99	食蟹獼猴FAP胞外域+聚-lys-tag+his_6-標記	RPPRVHNSEENTMRALTLKDILNGTFSYKT FFPNWISGQEYLHQSADNNIVLYNIETGQS YTILSNRTMKSVNASNYGLSPDRQFVYLES DYSKLWRYSYTATYYIYDLSNGEFVRGNE LPRPIQYLCWSPVGSKLAYVYQNNIYLKQR PGDPPFQITFNGRENKIFNGIPDWVYEEEM LATKYALWWSPNGKFLAYAEFNDTDIPVIA

SEQ ID NO:	名稱	序列
		YSYYGDEQYPRTINIPYPKAGAKNPFVRIFI IDTTYPAYVGPQEVPVPAMIASSDYYFSWL TWVTDERVCLQWLKRVQNVSVLSICDFRE DWQTWDCPKTQEHIEESRTGWAGGFFVST PVFSYDAISYYKIFSDKDGYKHIHYIKDTV ENAIQITSGKWEAINIFRVTQDSLFYSSNEF EDYPGRRNIYRISIGSYPPSKKCVTCHLRKE RCQYYTASFSDYAKYYALVCYGPGIPISTL HDGRTDQEIKILEENKELENALKNIQLPKE EIKKLEVDEITLWYKMILPPQFDRSKKYPL LIQVYGGPCSQSVRSVFAVNWISYLASKEG MVIALVDGRGTAFQGDKLLYAVYRKLGVY EVEDQITAVRKFIEMGFIDEKRIAIWGWSY GGYVSSLALASGTGLFKCGIAVAPVSSWEY YASVYTERFMGLPTKDDNLEHYKNSTVM ARAEYFRNVDYLLIHGTADDNVHFQNSAQ IAKALVNAQVDFQAMWYSDQNHGLSGLS TNHLYTHMTHFLKQCFSLSDGKKKKKKG HHHHHH
100	人類CEA	UniProt編號P06731
101	人類MCSP	UniProt編號Q6UVK1
102	人類EGFR	UniProt編號P00533
103	人類CD19	UniProt編號P15391
104	人類CD20	Uniprot編號P11836
105	人類CD33	UniProt編號P20138
106	人類4-1BB	UniProt編號Q07011
107	鼠4-1BB	UniProt 編號P20334
108	食蟹獼猴4-1BB	Uniprot編號F6W5G6
109	肽連接子(G4S)	GGGGS
110	肽連接子$(G4S)_2$	GGGGSGGGGS
111	肽連接子$(SG4)_2$	SGGGGSGGGG
112	肽連接子G4$(SG4)_2$	GGGGSGGGGSGGGG
113	肽連接子	GSPGSSSSGS
114	$(G4S)_3$肽連接子	$GGGGSGGGGSGGGGS_3$
115	$(G4S)_4$肽連接子	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
116	肽連接子	GSGSGSGS
117	肽連接子	GSGSGNGS

SEQ ID NO:	名稱	序列
118	肽連接子	GGSGSGSG
119	肽連接子	GGSGSG
120	肽連接子	GGSG
121	肽連接子	GGSGNGSG
122	肽連接子	GGNGSGSG
123	肽連接子	GGNGSG
124	VHCH1(EE) 4-1BB(20H4.9)-重鏈杵	參見表14
125	VLCH1 FAP (4B9)-重鏈臼	參見表14
126	VLCL(RK)-輕鏈4-1BB (20H4.9)	參見表14
127	VHCL-輕鏈FAP(4B9)	參見表14
128	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL (DP47)	參見表17
129	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (DP47)	參見表17
130	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (DP47)	參見表18
131	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (DP47)	參見表18
132	VHCH1 (MU137-1)-重鏈臼-VL (28H1)	參見表19
133	VHCH1 (MU137-1)-重鏈杵-VH (28H1)	參見表19
134	VLCL-輕鏈(MU137-1)	參見表19
135	VHCH1 (MU137-1)-重鏈Fc-DD-VH (28H1)	參見表20
136	VHCH1 (MU137-1)-重鏈Fc-KK-VL (28H1)	參見表20
137	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL (A5B7) (G4S)2	參見表26
138	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (A5B7) (G4S)2	參見表27
139	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL (2B11)	參見表48
140	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (2B11)	參見表48
141	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH	參見表49

SEQ ID NO:	名稱	序列
	(2B11)	
142	VHCH1 (20H4.9)- 重 鏈 杵 -VL (2B11)	參見表49
143	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL (8B8-018)	參見表50
144	VHCH1 (20H4.9)- 重 鏈 杵 -VH (8B8-018)	參見表50
145	VHCH1 (20H4.9)- 重 鏈 臼 -VH (8B8-018)	參見表51
146	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (8B8-018)	參見表51
147	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fc臼-VL (2B11)	參見表53
148	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fc杵-VH (2B11)	參見表53
149	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (2B11)	參見表54
150	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (2B11)	參見表54
151	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fc臼-VL (8B8-018)	參見表55
152	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fc杵-VH (8B8-018)	參見表55
153	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (8B8-018)	參見表56
154	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (8B8-018)	參見表56
155	CD19 (8B8-2B11) CDR-H1	DYIMH
156	CD19 (8B8-2B11) CDR-H2	YINPYNDGSKYTEKFQG
157	CD19 (8B8-2B11) CDR-H3	GTYYYGPQLFDY
158	CD19 (8B8-2B11) CDR-L1	KSSQSLETSTGTTYLN
159	CD19 (8B8-2B11) CDR-L2	RVSKRFS
160	CD19 (8B8-2B11) CDR-L3	LQLLEDPYT
161	CD19 (8B8-2B11) VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TDYIMHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDG SKYTEKFQGRVTMTSDTSISTAYMELSRLR SDDTAVYYCARGTYYYGPQLFDYWGQGT

SEQ ID NO:	名稱	序列
		TVTVSS
162	CD19 (8B8-2B11) VL	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLET STGTTYLNWYLQKPGQSPQLLIYRVSKRFS GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVY YCLQLLEDPYTFGQGTKLEIK
163	CD19 (8B8-018) CDR-H1	DYIMH
164	CD19 (8B8-018) CDR-H2	YINPYNDGSKYTEKFQG
165	CD19 (8B8-018) CDR-H3	GTYYYGSALFDY
166	CD19 (8B8-018) CDR-L1	KSSQSLENPNGNTYLN
167	CD19 (8B8-018) CDR-L2	RVSKRFS
168	CD19 (8B8-018) CDR-L3	LQLTHVPYT
169	CD19 (8B8-018) VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TDYIMHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDG SKYTEKFQGRVTMTSDTSISTAYMELSRLR SDDTAVYYCARGTYYYGSALFDYWGQGT TVTVSS
170	CD19 (8B8-018) VL	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLEN PNGNTYLNWYLQKPGQSPQLLIYRVSKRFS GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVY YCLQLTHVPYTFGQGTKLEIK
171	4-1BB (MU137-1) CDR-H1	YFDMA
172	4-1BB (MU137-1) CDR-H2	SISPSGDIPYYRDSVKG
173	4-1BB (MU137-1) CDR-H3	RSYGGYSELDY
174	4-1BB (MU137-1) CDR-L1	QASQDIGNWLA
175	4-1BB (MU137-1) CDR-L2	GTSSLAD
176	4-1BB (MU137-1) CDR-L3	LQAYGAPWT
177	4-1BB (MU137-1) VH	DVQLVESGGGLVQPGRSLKLSCAASGFIFS YFDMAWVRQAPTKGLEWVASISPSGDIPY YRDSVKGRFTVSRENAKSSLYLQMDSLRS EDTATYYCARRSYGGYSELDYWGQGVMV TVSS
178	4-1BB (MU137-1) VL	DIQMTQSPASLSASLEEIVTITCQASQDIGN WLAWYHQKPGKSPQLLIYGTSSLADGVPS RFSGSSSGSQYSLKISRLQVEDIGIYYCLQA YGAPWTFGGGTKLELK
179	CEA (A5B7P)- CDR-H1	DYYMN
180	CEA (A5B7P)- CDR-H2	FIGNKANGYTTEYSASVKG

SEQ ID NO:	名稱	序列
181	CEA (A5B7P)- CDR-H3	DRGLRFYFDY
182	CEA (A5B7P)- CDR-L1	RASSSVTYIH
183	CEA (A5B7P)- CDR-L2	ATSNLAS
184	CEA (A5B7P)- CDR-L3	QHWSSKPPT
185	CEA (A5B7P) VH	EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTFT DYYMNWVRQPPGKALEWLGFIGNKANGY TTEYSASVKGRFTISRDKSQSILYLQMNTL RAEDSATYYCTRDRGLRFYFDYWGQGTTL TVSS
186	CEA (A5B7P) VL	QTVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVT YIHWYQQKPGSSPKSWIYATSNLASGVPAR FSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQHW SSKPPTFGGGTKLEIK
187	CEA (431/26)- CDR-H1	SGYSWH
188	CEA (431/26)- CDR-H2	YIQYSGITNYNPSLKS
189	CEA (431/26)- CDR-H3	EDYDYHWYFDV
190	CEA (431/26)- CDR-L1	STSSSVSYMH
191	CEA (431/26)- CDR-L2	STSNLAS
192	CEA (431/26)- CDR-L3	HQWSSYPT
193	CEA (431/26) VH	QVQLQESGPGLVRPSQTLSLTCTVSGFTISS GYSWHWVRQPPGRGLEWIGYIQYSGITNY NPSLKSRVTMLVDTSKNQFSLRLSSVTAAD TAVYYCAREDYDYHWYFDVWGQGSLVTV SS
194	CEA (431/26) VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSTSSSVSY MHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNLASGVPSR FSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCHQWS SYPTFGQGTKVEIK
195	VHCH1 (20H4.9)- 重鏈臼-VL (A5B7P)	參見表28
196	VHCH1 (20H4.9)- 重鏈杵-VH (A5B7P)	參見表28
197	VHCH1 (20H4.9)- 重鏈臼-VH (A5B7P)	參見表29
198	VHCH1 (20H4.9)- 重鏈杵-VL (A5B7P)	參見表29
199	VHCH1 (20H4.9)- 重鏈臼-VL	參見表30

SEQ ID NO:	名稱	序列
	(431/26)	
200	VHCH1 (20H4.9)- 重 鏈 杵 -VH (431/26)	參見表30
201	VHCH1 (20H4.9)- 重 鏈 臼 -VH (431/26)	參見表31
202	VHCH1 (20H4.9)- 重 鏈 杵 -VL (431/26)	參見表31
203	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL (A5B7P)	參見表44
204	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (A5B7P)	參見表44
205	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (A5B7P)	參見表45
206	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (A5B7P)	參見表45
207	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL (431/26)	參見表46
208	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (431/26)	參見表46
209	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (431/26)	參見表47
210	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (431/26)	參見表47
211	VHCH1 (20H4.9)- 重 鏈 杵 -VHCL (A5B7P)	參見表33
212	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼	參見表33
213	VLCH1-輕鏈(A5B7P)	參見表33
214	VHCH1 (20H4.9)- 重 鏈 杵 -VLCH (A5B7P) (EE 突變)	參見表34
215	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼(EE突變)	參見表34
216	VLCL-輕鏈(20H4.9) (RK 突變)	參見表34
217	VHCL-輕鏈(A5B7P)	參見表34

呈現的全部核苷酸序列不具有各別終止密碼子序列。

本發明之態樣

以下編號段落(段)描述本發明之態樣。

1. 一種雙特異性抗原結合分子，其包含至少一個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域、至少一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域及由能夠穩定結合之第一及第二亞單元組成的Fc結構域，

其中能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含

重鏈可變區(V_H4-1BB)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_L4-1BB)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之CDR-L3。

2. 如第1段之雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區(V_H4-1BB)，該重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 7之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_L4-1BB)，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 8之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列。

3. 如第1段或第2段之雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區(V_H4-1BB)，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_L4-1BB)，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列。

4. 如第1至3段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域係Fab片段。

5. 如第1至4段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其中該靶細胞抗

原係選自由以下組成之群：纖維母細胞活化蛋白(FAP)、黑素瘤相關之硫酸軟骨素蛋白聚糖(MCSP)、表皮生長因子受體(EGFR)、癌胚抗原(CEA)、CD19、CD20及CD33。

6. 如第1至5段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於靶細胞抗原之該抗原結合結構域係能夠特異性結合於纖維母細胞活化蛋白(FAP)之抗原結合結構域。

7. 如第1至6段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於纖維母細胞活化蛋白(FAP)之抗原結合結構域包含

(a)重鏈可變區(V_HFAP)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LFAP)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 12之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 13之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 14之胺基酸序列之CDR-L3，或

(b)重鏈可變區(V_HFAP)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 15之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 16之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 17之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LFAP)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 18之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 19之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 20之胺基酸序列之CDR-L3。

8. 如第1至7段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於纖維母細胞活化蛋白(FAP)之抗原結合結構域包含

(a)重鏈可變區(V_HFAP)，其包含與SEQ ID NO: 21之胺基酸序列至

少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LFAP)，其包含與SEQ ID NO: 22之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，或

(b)重鏈可變區(V_HFAP)，其包含與SEQ ID NO: 23之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LFAP)，其包含與SEQ ID NO: 24之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列。

9. 如第1至8段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其中

(i)能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，且

(ii)能夠特異性結合於FAP之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 23之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 24之胺基酸序列。

10. 如第1至8段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其中

(i)能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，且

(ii)能夠特異性結合於FAP之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 21之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 22之胺基酸序列。

11. 如第1至5段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於靶細胞抗原之該抗原結合結構域係能夠特異性結合於癌胚抗原

(CEA)之抗原結合結構域。

12. 如第1至5段或第11段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於癌胚抗原(CEA)之抗原結合結構域包含

(a)重鏈可變區(V_HCEA)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 25之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 26之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 27之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCEA)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 28之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 29之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 30之胺基酸序列之CDR-L3，或

(b)重鏈可變區(V_HCEA)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 33之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 34之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 35之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCEA)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 37之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 38之胺基酸序列之CDR-L3，或

(c)重鏈可變區(V_HCEA)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 179之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 180之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 181之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCEA)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 182之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 183之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 184之胺基酸序列之CDR-L3，或

(d)重鏈可變區(V_HCEA)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 187之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 188之胺基酸序列之CDR-

H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 189之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCEA)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 190之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 191之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 192之胺基酸序列之CDR-L3。

13. 如第1至5段或第11或12段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於癌胚抗原(CEA)之該抗原結合結構域包含(a)重鏈可變區(V_HCEA)，其包含與SEQ ID NO: 31之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含與SEQ ID NO: 32之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，或(b)重鏈可變區(V_HCEA)，其包含與SEQ ID NO: 39之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含與SEQ ID NO: 40之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，或(c)重鏈可變區(V_HCEA)，其包含與SEQ ID NO: 185之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含與SEQ ID NO: 186之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，或(d)重鏈可變區(V_HCEA)，其包含與SEQ ID NO: 193之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含與SEQ ID NO: 194之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列。

14. 如第1至5段或第11至13段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其中

(i)能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，且

(ii)能夠特異性結合於CEA之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 31之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 32之胺基酸序列。

15. 如第1至5段或第11至13段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其中

(i)能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，且

(ii)能夠特異性結合於CEA之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 39之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列。

16. 如第1至5段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於靶細胞抗原之該抗原結合結構域係能夠特異性結合於CD19之抗原結合結構域。

17. 如第1至5段或第16段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於CD19之抗原結合結構域包含

(a)重鏈可變區(V_HCD19)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 155之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 156之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 157之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCD19)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 158之胺基酸

序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 159之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 160之胺基酸序列之CDR-L3，或

(b)重鏈可變區(V_HCD19)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 163之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 164之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 165之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCD19)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 166之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 167之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 168之胺基酸序列之CDR-L3。

18. 如第1至5段或第16或17段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於CD19之抗原結合結構域包含(a)重鏈可變區(V_HCD19)，其包含與SEQ ID NO: 161之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，及輕鏈可變區(V_LCD19)，其包含與SEQ ID NO: 162之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，或(b)重鏈可變區(V_HCD19)，其包含與SEQ ID NO: 169之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，及輕鏈可變區(V_LCD19)，其包含與SEQ ID NO: 170之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列。

19. 如第1至5段或第16至18段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其中

(i)能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，且

(ii)能夠特異性結合於CEA之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 161之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 162之胺基酸序列。

20. 如第1至5段或第16至18段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其中

(i)能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，且

(ii)能夠特異性結合於CEA之抗原結合結構域包含重鏈可變區VH，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 169之胺基酸序列；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 170之胺基酸序列。

21. 如第1至20段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其中該雙特異性抗原結合分子包含IgG Fc結構域，尤其IgG1 Fc結構域或IgG4 Fc結構域。

22. 如第1至21段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其中該Fc結構域包含一或多個胺基酸取代，其減小抗原結合分子對Fc受體之結合親和力及/或效應功能。

23. 如第1至22段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其中該Fc結構域具有含胺基酸突變L234A、L235A及P329G (根據Kabat EU索引編號)之人類IgG1子類。

24. 如第1至23段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其中該Fc結構域包含促進該Fc結構域之第一及第二亞單元結合的修飾。

25. 如第1至24段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其中該Fc結構

域之該第一亞單元包含胺基酸取代S354C及T366W (根據Kabat EU索引編號)且該Fc結構域之該第二亞單元包含胺基酸取代Y349C、T366S、L368A及Y407V (根據Kabat EU索引編號)。

26. 如第1至25段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其包含

多於一個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域，其中能夠特異性結合於4-1BB之各抗原結合結構域包含

重鏈可變區(V_H4-1BB)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_L4-1BB)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之CDR-L3。

27. 如第1至26段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)兩個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域，

(b)一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域，

及

(c)由能夠穩定結合之第一及第二亞單元構成的Fc結構域。

28. 如第1至26段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其中該雙特異性抗原結合分子對於4-1BB係二價且對於靶細胞抗原係單價。

29. 如第1至26段之雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)抗體之兩個輕鏈及兩個重鏈，該抗體包含兩個能夠特異性結合於4-1BB之Fab片段及該Fc結構域，及

(b)能夠特異性結合於靶細胞抗原之VH及VL結構域，其中VH結構域

經由肽連接子連接至重鏈中之一者的C末端，且其中VL結構域經由肽連接子連接至第二重鏈的C末端。

30. 如第27至29段之雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 44之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 45之胺基酸序列之第二重鏈，或

(b)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 49之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 50之胺基酸序列之第二重鏈。

31. 如第27至29段之雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 65之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 66之胺基酸序列之第二重鏈，或

(b)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 69之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 70之胺基酸序列之第二重鏈，或

(c)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 73之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 74之胺基酸序列之第二重鏈，或

(d)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之兩個輕鏈、包含SEQ ID NO: 77之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 78之胺基酸序列之第二重鏈。

32. 如第1至26段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)四個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域，

(b)一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域，

及

(c)由能夠穩定結合之第一及第二亞單元構成的Fc結構域。

33. 如第1至26段或第32段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其中該雙特異性抗原結合分子對於4-1BB係四價且對於靶細胞抗原係單價。

34. 如第1至26段或第32或33段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於4-1BB之四個抗原結合結構域係Fab片段，且其各兩者視情況經由肽連接子彼此間融合。

35. 如第1至26段或第32至34段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域包含VH及VL結構域，且其中VH結構域經由肽連接子連接至Fc結構域之第一亞單元的C末端，且VL結構域經由肽連接子連接至Fc結構域之第二亞單元的C末端。

36. 如第32至35段中任一段之雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之四個輕鏈、包含SEQ ID NO: 57之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 58之胺基酸序列之第二重鏈，或

(b)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之四個輕鏈、包含SEQ ID NO: 61之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 62之胺基酸序列之第二重鏈。

37. 如第27至30段之雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之四個輕鏈、包含SEQ ID NO: 81之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 82之胺基酸序列之第

二重鏈，或

(b)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之四個輕鏈、包含SEQ ID NO: 85之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 86之胺基酸序列之第二重鏈，或

(c)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之四個輕鏈、包含SEQ ID NO: 89之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 90之胺基酸序列之第二重鏈，或

(d)各自包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列之四個輕鏈、包含SEQ ID NO: 93之胺基酸序列之第一重鏈及包含SEQ ID NO: 94之胺基酸序列之第二重鏈。

38. 一種聚核苷酸，其編碼如第1至37段中任一段之雙特異性抗原結合分子。

39. 一種醫藥組合物，其包含如第1至37段中任一段之雙特異性抗原結合分子及至少一種醫藥學上可接受之賦形劑。

40. 如第1至37段中任一段之雙特異性抗原結合分子，或如第39段之醫藥組合物，其用作藥物。

41. 如第1至37段中任一段之雙特異性抗原結合分子，或如第39段之醫藥組合物，其用於

(i)刺激T細胞反應，

(ii)支持已活化之T細胞存活，

(iii)治療感染，

(iv)治療癌症，

(v)延遲癌症進展，或

(vi)延長罹患癌症之患者的存活期。

42. 如第1至37段中任一段之雙特異性抗原結合分子，或如第39段之醫藥組合物，其用於治療癌症。

43. 如第1至37段中任一段之雙特異性抗原結合分子，或如第39段之醫藥組合物，其用於治療癌症，其中該雙特異性抗原結合分子與化學治療劑、輻射及/或用於癌症免疫療法之其他藥劑組合投與。

44. 一種抑制個體腫瘤細胞生長之方法，其包含向個體投與有效量之如第1至37段中任一段之雙特異性抗原結合分子，或如第39段之醫藥組合物，以抑制腫瘤細胞生長。

實例

以下係本發明之方法及組合物之實例。應瞭解，考慮到上文提供之一般描述，可實施各種其他實施例。

重組DNA技術

使用標準方法以如Sambrook, J.等人, Molecular cloning: A laboratory manual; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989中所描述操作DNA。根據製造商之說明書使用分子生物試劑。關於人類免疫球蛋白輕鏈及重鏈之核苷酸序列之總體資訊在以下給出：Kabat, E.A.等人, (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第五版, NIH出版物第91-3242號。

DNA測序

藉由雙股定序法測定DNA序列。

基因合成

所需基因區段係使用適當模板藉由PCR產生，或藉由自動化基因合

成法，藉由Geneart AG (Regensburg, Germany)自合成寡核苷酸及PCR產物合成。在無法獲得確切基因序列的情況下，根據來自最近同源物的序列來設計寡核苷酸引子且藉由RT-PCR自來源於適當組織之RNA分離基因。將側接有單數個限制性核酸內切酶裂解位點的基因區段選殖至標準選殖/定序載體中。自經轉型之細菌純化質體DNA且藉由UV光譜學來測定濃度。經次選殖之基因片段之DNA序列藉由DNA定序來證實。基因區段經設計以具有允許次選殖至各別表現載體中的適合的限制位點。所有構築體經設計具有5'端DNA序列，該序列編碼靶向真核細胞中分泌之蛋白質的前導肽。

蛋白質純化

參考標準方案，自經過濾之細胞培養物清液層純化蛋白質。簡言之，將抗體施用於蛋白質A瓊脂糖凝膠管柱(GE healthcare)且用PBS洗滌。在pH 2.8下實現抗體之溶離，接著立即中和樣品。在PBS或20 mM組胺酸、150 mM NaCl pH 6.0中藉由尺寸排阻層析(Superdex 200，GE Healthcare)自單體抗體分離聚集之蛋白質。單體抗體溶離份經合併、使用例如MILLIPORE Amicon Ultra (30 MWCO)離心濃縮器濃縮(必要時)、凍結且在-20℃或-80℃下儲存。提供部分樣品用於例如藉由SDS-PAGE、尺寸排阻層析(SEC)或質譜進行後續蛋白質分析及分析型表徵。

SDS-PAGE

根據製造商說明書使用NuPAGE® Pre-Cast凝膠系統(Invitrogen)。特定言之，使用10%或4%至12% NuPAGE® Novex® Bis-TRIS Pre-Cast凝膠(pH 6.4)及NuPAGE® MES (還原性凝膠，具有NuPAGE® Antioxidant操作緩衝液添加劑)或MOPS (非還原性凝膠)操作緩衝液。

分析型尺寸排阻層析

藉由HPLC層析進行用於測定抗體之聚集及寡聚狀態之尺寸排阻層析(SEC)。簡言之，將蛋白質A純化抗體施用於Agilent HPLC 1100系統上300 mM NaCl、50 mM KH_2PO_4/K_2HPO_4，pH 7.5中之Tosoh TSKgel G3000SW管柱或Dionex HPLC系統上2×PBS中之Superdex 200管柱(GE Healthcare)。藉由UV吸光度及峰值面積之積分來定量溶離之蛋白質。BioRad Gel過濾標準151-1901用作標準。

質譜

此部分描述具有VH/VL或CH/CL互換(互換單抗)之多特異性抗體之表徵，其中強調其正確組裝。藉由去糖基化完整互換單抗及去糖基化/纖維蛋白溶酶消化或以其他方式去糖基化/受限LysC消化互換單抗之電噴霧電離質譜(ESI-MS)來分析預期主要結構。

在蛋白質濃度為1 mg/ml下，互換單抗在磷酸鹽或Tris緩衝液中，在37℃下用N-糖苷酶去糖基化17小時。纖維蛋白溶酶或受限LysC (Roche)消化用100 µg去糖基化VH/VL互換單抗分別在Tris緩衝液pH8中，在室溫下進行120小時及在37℃下進行40分鐘。在質譜分析之前，在Sephadex G25管柱(GE Healthcare)上經由HPLC將樣品去鹽。在配備有TriVersa NanoMate來源(Advion)之maXis 4G UHR-QTOF MS系統(Bruker Daltonik)上經由ESI-MS測定總質量。

實例1

二價結合於4-1BB且單價結合於FAP之雙特異性抗體之製備、純化及特徵化

1.1 產生二價結合於4-1BB且單價結合於FAP之雙特異性抗體

二價結合4-1BB且單價結合FAP之雙特異性促效4-1BB抗體(亦稱為2+1)如**圖1A及圖1B**中所描繪製備。藉由在第一重鏈HC1 (Fc杵重鏈)中引入S354C/T366W突變及在第二重鏈HC2 (Fc臼重鏈)中引入Y349C/T366S/L368A/Y407V突變來施用杵-臼技術，以允許產生雜二聚體。

在此實例中，構築體之第一重鏈HC1包含以下組分：抗4-1BB結合子(純系20H4.9)之VHCH1，隨後Fc杵，在該C末端融合有抗FAP結合子之VL或VH。第二重鏈HC2包含抗-4-1BB之VHCH1，隨後Fc臼，在該C末端分別融合有抗FAP結合子(純系4B9)之VH或VL。FAP結合子4B9之產生及製備描述於WO 2012/020006 A2中，其以引用之方式併入本文中。對於4-1BB結合子，根據US 7,288,638 B2或US 7,659,384 B2獲得純系20H4.9之VH及VL序列。兩個重鏈之組合允許產生雜二聚體，其包括FAP結合部分及兩個4-1BB結合Fab (**圖1A及圖1B**)。

根據國際專利申請公開案第WO2012/130831A1號中描述之方法，將Pro329Gly、Leu234Ala及Leu235Ala突變引入杵及臼重鏈之恆定區以消除與Fcγ受體之結合。

使用聚乙烯亞胺藉由用哺乳動物表現載體共轉染HEK293-EBNA細胞來製造雙特異性2+1抗4-1BB抗FAP huIgG1 P329GLALA抗體。細胞用相應表現載體以1:1:1比率(「載體杵重鏈」:「載體輕鏈」:「載體臼重鏈」)轉染。

a-FAP VH融合於Fc杵重鏈且VL融合於Fc臼重鏈之2+1抗4-1BB、抗FAP構築體之鹼基對及胺基酸序列可分別在**表1**中發現。

表1：雙特異性二價抗**4-1BB**/單價抗FAP人類IgG1 P329GLALA抗原結合

分子(a-FAP VL融合於Fc臼鏈且VH融合於Fc杵鏈之構築體，下文表3中稱為臼-VL)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
41	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL (4B9) (核苷酸序列)	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGAGCCGGACTGCTG AAGCCTAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCGCCGTG TACGGCGGCAGCTTCAGCGGCTACTACTGGTCCTGGA TCAGACAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAATGGATCG GCGAGATCAACCACGGCGGCTACGTGACCTACAACC CCAGCCTGGAAAGCAGAGTGACCATCAGCGTGGACA CCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCG TGACAGCCGCCGACACAGCCGTGTACTACTGCGCCA GAGATTACGGCCCTGGCAACTACGACTGGTACTTCGA CCTGTGGGGCAGAGGCACCCTCGTGACCGTGTCTAG CGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCG GTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGC GGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAG GACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA AAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACAT GCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGAC CGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACAC CCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAG TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATG CCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGC ACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGG TCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAA CCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAC AGGTGTGCACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGAC CAAGAACCAGGTCAGCCTCTCGTGCGCAGTCAAAGG CTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCT CCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCGTGA

		GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAG GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTC TGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGT CTCCGGGTGGAGGCGGCGGAAGCGGAGGAGGAGGA TCCGGCGGCGGAGGTTCCGGAGGCGGAGGATCCGAG ATCGTGCTGACCCAGTCTCCCGGCACCCTGTCTCTGA GCCCTGGCGAGAGAGCCACCCTGTCCTGCAGAGCCT CCCAGTCCGTGACCTCCTCCTACCTCGCCTGGTATCA GCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCTCGGCTGCTGATCAA CGTGGGCAGTCGGAGAGCCACCGGCATCCCTGACCG GTTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTG ACCATCTCCCGGCTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGT ACTACTGCCAGCAGGGCATCATGCTGCCCCCCACCTT TGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAG
42	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (4B9) (核苷酸序列)	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGAGCCGGACTGCTG AAGCCTAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCGCCGTG TACGGCGGCAGCTTCAGCGGCTACTACTGGTCCTGGA TCAGACAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAATGGATCG GCGAGATCAACCACGGCGGCTACGTGACCTACAACC CCAGCCTGGAAAGCAGAGTGACCATCAGCGTGGACA CCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCG TGACAGCCGCCGACACAGCCGTGTACTACTGCGCCA GAGATTACGGCCCTGGCAACTACGACTGGTACTTCGA CCTGTGGGGCAGAGGCACCCTCGTGACCGTGTCTAG CGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCG GTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGC GGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAG GACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA AAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACAT GCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGAC CGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACAC CCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAG TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATG CCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGC

		ACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGG TCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAA CCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAC AGGTGTACACCCTGCCCCCCTGCAGAGATGAGCTGA CCAAGAACCAGGTGTCCCTGTGGTGTCTGGTCAAGG GCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGAG CAACGGCCAGCCTGAGAACAACTACAAGACCACCCC CCCTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTAC TCCAAACTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGCAG GGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCC CTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTG AGCCCCGGCGGAGGCGGCGGAAGCGGAGGAGGAGG ATCTGGGGGCGGAGGTTCCGGAGGCGGTGGATCTGA GGTGCAGCTGCTCGAAAGCGGCGGAGGACTGGTGCA GCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAG CGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGTC CGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCC GCCATCATCGGCTCTGGCGCCAGCACCTACTACGCCG ACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACA ACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCC TGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCA AGGGATGGTTCGGCGGCTTCAACTACTGGGGACAGG GCACCCTGGTCACCGTGTCCAGC
43	VLCL-輕鏈(20H4.9)(核苷酸序列)	GAGATCGTGCTGACCCAGAGCCCCGCCACCCTGTCTC TGAGCCCTGGCGAGAGAGCCACCCTGAGCTGCAGAG CCAGCCAGAGCGTGTCCAGCTACCTGGCTTGGTATCA GCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCCAGACTGCTGATCTA CGACGCCAGCAACCGGGCCACCGGCATCCCTGCCAG ATTTTCTGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTG ACCATCAGCAGCCTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTG TACTACTGCCAGCAGCGGAGCAACTGGCCCCCTGCC CTGACCTTCGGCGGCGGCACCAAGGTGGAAATCAAG CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGC CATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGT TGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC AAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCG GGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGC AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACG

		CTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTAC GCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCC GTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
44	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL (4B9)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRA SQSVTSSYLAWYQQKPGQAPRLLINVGSRRATGIPDRFS GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQGIMLPPTFGQGT KVEIK
45	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (4B9)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAIIGSGASTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKG WFGGFNYWGQGTLVTVSS
46	VLCL-輕鏈 (20H4.9)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEP EDFAVYYCQQRSNWPPALTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL

		QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

a-FAP VL融合於Fc杵重鏈且VH融合於Fc臼重鏈之2+1抗4-1BB、抗FAP構築體之鹼基對及胺基酸序列可分別在**表2**中發現。

表2：雙特異性二價抗**4-1BB**/單價抗FAP人類IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-FAP VH融合於Fc臼重鏈且VL融合於Fc杵鏈之構築體，下文表3中稱為臼-VH)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
47	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (4B9) (核苷酸序列)	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGAGCCGGCCTGCTG AAGCCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCGCCGTG TACGGCGGCAGCTTCAGCGGCTACTACTGGTCCTGGA TCCGGCAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAATGGATCG GCGAGATCAACCACGGCGGCTACGTGACCTACAACC CCAGCCTGGAAAGCAGAGTGACCATCAGCGTGGACA CCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCG TGACAGCCGCCGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCA GAGACTACGGCCCTGGCAACTACGACTGGTACTTCG ACCTGTGGGGCAGAGGCACCCTGGTGACAGTGTCCA GCGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGC ACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGC CCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC GGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAG CGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCA GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCT CCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACG TGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA AAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACAT GCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGAC CGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACAC CCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAG TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATG CCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGC ACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGG

		TCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAA CCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAC AGGTGTGCACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGAC CAAGAACCAGGTCAGCCTCTCGTGCGCAGTCAAAGG CTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCT CCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCGTGA GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAG GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTC TGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGT CTCCGGGTGGAGGCGGCGGAAGCGGAGGAGGAGGA TCCGGCGGCGGAGGTTCCGGAGGCGGAGGATCCGAG GTGCAGCTGCTCGAAAGCGGCGGAGGACTGGTGCAG CCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGC GGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGTCC GCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCG CCATCATCGGCTCTGGCGCCAGCACCTACTACGCCGA CAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAA CAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCT GCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAA GGGATGGTTCGGCGGCTTCAACTACTGGGGACAGGG CACCCTGGTCACCGTGTCCAGC
48	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (4B9) (核苷酸序列)	AGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGAGCCGGCCTGCTGA AGCCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCGCCGTGT ACGGCGGCAGCTTCAGCGGCTACTACTGGTCCTGGAT CCGGCAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAATGGATCGG CGAGATCAACCACGGCGGCTACGTGACCTACAACCC CAGCCTGGAAAGCAGAGTGACCATCAGCGTGGACAC CAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGT GACAGCCGCCGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAG AGACTACGGCCCTGGCAACTACGACTGGTACTTCGAC CTGTGGGGCAGAGGCACCCTGGTGACAGTGTCCAGC GCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCAC CCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCC TGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGT GACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGG CGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGA CTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCA GCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGA

		ATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAA GTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCC CACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGT CAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCT CATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTG GTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTC AACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC AAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAC GTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAG GACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTC TCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACC ATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG GTGTACACCCTGCCCCCCTGCAGAGATGAGCTGACC AAGAACCAGGTGTCCCTGTGGTGTCTGGTCAAGGGC TTCTACCCCAGCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA ACGGCCAGCCTGAGAACAACTACAAGACCACCCCCC CTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACTC CAAACTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGCAGG GCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCC TGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGA GCCCCGGCGGAGGCGGCGGAAGCGGAGGAGGAGGA TCTGGGGGCGGAGGTTCCGGAGGCGGTGGATCTGAG ATCGTGCTGACCCAGTCTCCCGGCACCCTGTCTCTGA GCCCTGGCGAGAGAGCCACCCTGTCCTGCAGAGCCT CCCAGTCCGTGACCTCCTCCTACCTCGCCTGGTATCA GCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCTCGGCTGCTGATCAA CGTGGGCAGTCGGAGAGCCACCGGCATCCCTGACCG GTTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTG ACCATCTCCCGGCTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGT ACTACTGCCAGCAGGGCATCATGCTGCCCCCCACCTT TGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAG
43	VLCL-輕鏈 (20H4.9) (核苷酸序列)	參見表1
49	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (4B9)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT

		VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAIIGSGASTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKG WFGGFNYWGQGTLVTVSS
50	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (4B9)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRA SQSVTSSYLAWYQQKPGQAPRLLINVGSRRATGIPDRFS GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQGIMLPPTFGQGT KVEIK
46	VLCL-輕鏈 (20H4.9)	參見表1

關於在500 mL搖瓶中製造，在轉染之前24小時接種4億個HEK293 EBNA細胞。關於轉染，使細胞在210×g下離心5分鐘，且用預溫熱之CD CHO培養基替換清液層。表現載體於20 mL CD CHO培養基中混合至200 μg DNA之最終量。在添加540 μL PEI之後，溶液渦旋15秒且在室溫下培育10分鐘。隨後，將細胞與DNA/PEI溶液混合，轉移至500 mL搖瓶中且在具有5% CO_2氛圍的培育箱中在37℃下培育3小時。在培育之後，添加

160 mL F17培養基且培養細胞24小時。轉染一天後,添加1 mM丙戊酸及7%進料。在培養7天之後，藉由在210×g下離心15分鐘來收集細胞清液層。將溶液無菌過濾(0.22 μm過濾器)，補充疊氮化鈉至最終濃度係0.01% (w/v)，且保持在4℃下。

藉由親和層析，使用蛋白A，隨後尺寸排阻層析，自細胞培養物清液層純化所分泌之蛋白質。對於親和層析，將清液層裝載於用40 mL 20 mM磷酸鈉、20 mM檸檬酸鈉(pH 7.5)平衡之HiTrap蛋白A HP管柱(CV=5 mL，GE Healthcare)上。藉由用至少10倍管柱體積之含有20 mM磷酸鈉、20 mM檸檬酸鈉、0.5 M氯化鈉之緩衝液(pH 7.5)洗滌來移除未結合之蛋白質。使用經20倍管柱體積之20 mM檸檬酸鈉、0.01% (v/v)Tween-20 (pH 3.0)產生之氯化鈉之線性pH梯度(0至500 mM)來溶離結合之蛋白質。接著用10倍管柱體積之20 mM檸檬酸鈉、500 mM氯化鈉、0.01% (v/v) Tween-20 (pH 3.0)洗滌管柱。藉由添加1/40 (v/v) 2 M Tris，pH 8.0來調節所收集之溶離份之pH值。濃縮且過濾蛋白質，隨後裝載於用2 mM MOPS、150 mM氯化鈉、0.02% (w/v)疊氮化鈉溶液(pH 7.4)平衡之HiLoad Superdex 200管柱(GE Healthcare)上。濃縮且過濾蛋白質，隨後裝載於用20 mM組胺酸、140 mM NaCl溶液(pH 6.0)平衡之HiLoad Superdex 200管柱（GE Healthcare）上。

藉由使用基於胺基酸序列計算之莫耳消光係數量測280 nm下的OD來測定經純化的雙特異性構築體的蛋白質濃度。使用LabChipGXII (Caliper)在有及無還原劑(Invitrogen, USA)存在下藉由CE-SDS分析雙特異性構築體之純度及分子量。在25℃下，使用在25 mM K_2HPO_4、125 mM NaCl、200 mM L-精胺酸單鹽酸鹽、0.02% (w/v) NaN_3、pH 6.7操作

緩衝液中平衡之TSKgel G3000 SW XL分析型尺寸排阻管柱(Tosoh)分析雙特異性構築體之聚集物含量(表3)。

表3：二價結合於4-1BB且單價結合於FAP之雙特異性抗原結合分子(2+1 4-1BB/FAP人類IgG1 P329GLALA)的生物化學分析

分子	單體[%]	產量[mg/l]	CE-SDS (非還原性)
4-1BB (20H4.9)/FAP (4B9) P329GLALA IgG1 2+1 (臼-VH)	97.7	14	90

製備抗原及篩檢工具人類4-1BB Fc (kih)：

框內次選殖編碼人類IgG1重鏈CH2及CH3結構域在杵上之人類4-1BB (根據Q07011合成)的胞外域的DNA序列。在抗原胞外域與人類IgG1之Fc之間引入AcTEV蛋白酶裂解位點。在抗原-Fc杵之C末端入用於引導生物素化之Avi標籤。含有S354C/T366W突變之抗原-Fc杵鏈與含有Y349C/T366S/L368A/Y407V突變之Fc臼鏈之組合允許產生雜二聚體，其包括含有4-1BB胞外域之鏈之單一複本，因此產生Fc連接之抗原之單體形式。**表4**展示抗原Fc-融合物構築體之cDNA及胺基酸序列。

表4：單體抗原Fc(kih)融合分子之cDNA及胺基酸序列(藉由組合一個Fc臼鏈與一個抗原Fc杵鏈製備)

SEQ ID NO:	抗原	序列
51	核苷酸序列Fc臼鏈	GACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCT GAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCC CAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCC CTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACG AAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCA AGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCC CAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAG GGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTGCACCCTGCCCC

SEQ ID NO:	抗原	序列
		CATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCC TCTCGTGCGCAGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACAT CGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGA ACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCG ACGGCTCCTTCTTCCTCGTGAGCAAGCTCACCGTGGA CAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATG CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACG CAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA
52	核苷酸序列人類4-1BB抗原Fc杵鏈	CTGCAGGACCCCTGCAGCAACTGCCCTGCCGGCACC TTCTGCGACAACAACCGGAACCAGATCTGCAGCCCC TGCCCCCCCCAACAGCTTCAGCTCTGCCGGCGGACAG CGGACCTGCGACATCTGCAGACAGTGCAAGGGCGTG TTCAGAACCCGGAAAGAGTGCAGCAGCACCAGCAAC GCCGAGTGCGACTGCACCCCCGGCTTCCATTGTCTGG GAGCCGGCTGCAGCATGTGCGAGCAGGACTGCAAGC AGGGCCAGGAACTGACCAAGAAGGGCTGCAAGGAC TGCTGCTTCGGCACCTTCAACGACCAGAAGCGGGGC ATCTGCCGGCCCTGGACCAACTGTAGCCTGGACGGC AAGAGCGTGCTGGTCAACGGCACCAAAGAACGGGA CGTCGTGTGCGGCCCCAGCCCTGCTGATCTGTCTCCT GGGGCCAGCAGCGTGACCCCTCCTGCCCCTGCCAGA GAGCCTGGCCACTCTCCTCAGGTCGACGAACAGTTAT ATTTTCAGGGCGGCTCACCCAAATCTGCAGACAAAA CTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCT GGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCC AAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCA CATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTG AGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGG TGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGT ACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCG TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACA AGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCA TCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCC GAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATGCCGGG ATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGTGGTGCC TGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGA GTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAA GACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTC

SEQ ID NO:	抗原	序列
		TTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGG TGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGC ATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCC TCTCCCTGTCTCCGGGTAAATCCGGAGGCCTGAACGA CATCTTCGAGGCCCAGAAGATTGAATGGCACGAG
53	Fc臼鏈	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
54	人類4-1BB抗原Fc杵鏈	LQDPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRTC DICRQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGCS MCEQDCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRPWT NCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASSVTPP APAREPGHSPQVDEQLYFQGGSPKSADKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGLNDIFEAQK IEWHE

1.2 靶向4-1BB二價及FAP單價之雙特異性抗體(2+1抗原結合分子)之結合

1.2.1 表面電漿子共振(同時結合)

藉由表面電漿子共振(SPR)評估同時結合人類4-1BB Fc (kih)及人類FAP之能力。所有SPR實驗均在Biacore T200上在25℃下以HBS-EP作為操作緩衝液（0.01 M HEPES pH 7.4、0.15 M NaCl、3 mM EDTA、0.005%界面活性劑P20, Biacore, Freiburg/Germany）來進行。

生物素化人類4-1BB Fc (kih)與抗生蛋白鏈菌素(SA)感測器晶片之流動細胞直接偶合。使用至多400個共振單位(RU)之固定程度。靶向4-1BB及FAP之雙特異性抗體在200 nM範圍內之濃度下以30 μL/分鐘之流速經

90秒穿過流槽且解離設為零秒。以500 nM之濃度，以30 μL/分鐘之流速，經流槽經90秒注射人類FAP作為第二分析物。監測解離120秒。藉由減去在參考流動細胞(其中未固定蛋白質)中獲得之反應來校正整體折射率差異。分析之設定展示於**圖2A**中。

所有雙特異性構築體均可同時結合於人類4-1BB及人類FAP（**圖2B**)。

1.2.2 結合於人類4-1BB-二價抗4-1BB抗原結合分子之競爭分析

為確認吾人之2+1抗4-1BB抗原結合分子結合於hu 4-1BB之能力，施用基於細胞之FRET分析(TagLite)。因此，用hu4-1BB-SNAP融合體轉染2500個Hek293 EBNA細胞/孔且用FRET供體鋱(Cisbio)標記，並與用FRET受體d2 (Cisbio)標記之任意0.6 nM抗4-1BB 20H4.9混合。另外，添加濃度稀釋範圍0.006-1000 nM之未標記IgG (20H4.9)或二價(20H4.9/4B9 2+1)雙特異性抗體且在RT下培育2-4小時。在620 nm下量測螢光供體(鋱)之螢光信號且在665nm下量測螢光受體染料(M100Pro, Tecan)之螢光信號。計算665/620*1000之比率，且減去參考值(僅細胞)。對於EC_{50}值測定，在Graph Pad Prism6中分析結果。4小時培育之後的觀測EC_{50}值顯示於表5中。雙特異性2+1抗4-1BB及抗FAP抗原結合分子(20H4.9/4B9 2+1)之競爭係針對親本IgG觀測之競爭(圖3)。

表5：二價4-1BB抗原結合分子之競爭結合的EC_{50}值

構築體	EC_{50} (nM)
20H4.9 IgG	1.5 (0.9-2.5)
4-1BB(20H4.9)/ FAP(4B9) 2+1	1.6 (1.2-2.3)

實例2

四價結合於4-1BB且單價結合於FAP之雙特異性抗體之製備、純化及特徵

化

2.1 產生四價結合於4-1BB且單價結合於FAP之雙特異性抗體

四價結合4-1BB且單價結合FAP之雙特異性促效4-1BB抗體(亦稱為4+1)如**圖4A及圖4B**中所描繪製備。藉由在第一重鏈HC1 (Fc杵重鏈)中引入S354C/T366W突變及在第二重鏈HC2 (Fc臼重鏈)中引入Y349C/T366S/L368A/Y407V突變來施用杵-臼技術，以允許產生雜二聚體。

在此實例中，構築體之第一重鏈HC1包含以下組分：抗4-1BB結合子(純系20H4.9)之VHCH1_VHCH1，隨後Fc臼，在該C末端融合有抗FAP結合子(純系4B9)之VL或VH。第二重鏈HC2包含抗4-1BB結合子(純系20H4.9)之VHCH1_VHCH1，隨後Fc杵，在該C末端融合有抗FAP結合子(純系4B9)之各別VH或VL。FAP結合子4B9之產生及製備描述於WO 2012/020006 A2中，其以引用之方式併入本文中。對於4-1BB結合子，根據US 7,288,638 B2或US 7,659,384 B2獲得純系20H4.9之VH及VL序列。兩個重鏈之組合允許產生雜二聚體，其包括FAP結合部分及四個4-1BB結合Fab。

根據國際專利申請公開案第WO2012/130831A1號中描述之方法，將Pro329Gly、Leu234Ala及Leu235Ala突變引入杵及臼重鏈之恆定區以消除與Fcγ受體之結合。

使用聚乙烯亞胺，藉由用哺乳動物表現載體共轉染HEK293-EBNA細胞製備雙特異性4+1抗4-1BB抗FAP huIgG1 P329GLALA抗原結合分子。細胞用相應表現載體以1:1:1比率(「載體杵重鏈」:「載體輕鏈」:「載體臼重鏈」)轉染。

抗原結合分子如針對雙特異性二價抗4-1BB及抗FAP huIgG1 P329GLALA所述產生及純化(參見實例1.1)。

a-FAP VH融合於Fc杵重鏈且VL融合於Fc臼重鏈之4+1抗4-1BB、抗FAP構築體之鹼基對及胺基酸序列可分別在**表6**中發現。a-FAP VL融合於Fc杵重鏈且VH融合於Fc臼重鏈之4+1抗4-1BB、抗FAP構築體之鹼基對及胺基酸序列可分別在**表7**中發現。

表6：雙特異性四價抗**4-1BB**/單價抗FAP人類IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-FAP VL融合於Fc臼鏈且VH融合於Fc杵鏈之構築體，稱為臼-VL)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
55	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL(4B9) (核苷酸序列)	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGAGCCGGACTGCTG AAGCCTAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCGCCGTG TACGGCGGCAGCTTCAGCGGCTACTACTGGTCCTGGA TCAGACAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAATGGATCG GCGAGATCAACCACGGCGGCTACGTGACCTACAACC CCAGCCTGGAAAGCAGAGTGACCATCAGCGTGGACA CCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCG TGACAGCCGCCGACACAGCCGTGTACTACTGCGCCA GAGATTACGGCCCTGGCAACTACGACTGGTACTTCGA CCTGTGGGGCAGAGGCACCCTCGTGACCGTGTCTAG CGCTTCTACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCC CCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCC CTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCCG TGACAGTGTCCTGGAACTCTGGCGCCCTGACAAGCG GCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCG GCCTGTACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACTGTGCCCAG CAGCAGCCTGGGAACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA AGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACGGCGGAGGCGGA TCTGGCGGCGGAGGATCCCAGGTGCAGCTGCAGCAG TGGGGCGCTGGCCTGCTGAAACCCTCTGAGACTCTG TCCCTGACATGTGCTGTGTATGGCGGCTCCTTCTCCG

		GCTACTATTGGAGCTGGATTCGGCAGTCCCCTGAGAA AGGACTGGAATGGATTGGGGAAATCAATCATGGGGG ATATGTGACATACAATCCCTCACTGGAATCCCGCGTG ACCATCTCCGTGGATACCTCTAAGAATCAGTTCTCTCT GAAGCTGTCCTCCGTGACCGCCGCTGATACCGCTGTG TATTACTGTGCCCGGGACTACGGACCCGGCAATTATG ATTGGTATTTTGATCTGTGGGGACGGGGCACACTCGT GACTGTGTCCTCTGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTC TTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGG GCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACT TCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCG CCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCT ACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTG ACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTAC ATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAG GTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAA ACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCT GCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAA CCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGG TCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACC CTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGG AGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGC AGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCA CCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGT ACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCC CCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGC CCCGAGAACCACAGGTGTGCACCCTGCCCCCATCCC GGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTCTCGT GCGCAGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGT GGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACT ACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCGTGAGCAAGCTCACCGTGGACAAGA GCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCG TGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGA AGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTGGAGGCGGCGGAA GCGGAGGAGGAGGATCCGGCGGCGGAGGTTCCGGA GGCGGTGGATCTGAGATCGTGCTGACCCAGTCTCCCG GCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAGAGAGCCACCC TGTCCTGCAGAGCCTCCCAGTCCGTGACCTCCTCCTA

		CCTCGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCC TCGGCTGCTGATCAACGTGGGCAGTCGGAGAGCCAC CGGCATCCCTGACCGGTTCTCCGGCTCTGGCTCCGGC ACCGACTTCACCCTGACCATCTCCCGGCTGGAACCCG AGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGGGCATCAT GCTGCCCCCCACCTTTGGCCAGGGCACCAAGGTGGA AATCAAG
56	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH(4B9) (核苷酸序列)	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGAGCCGGACTGCTG AAGCCTAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCGCCGTG TACGGCGGCAGCTTCAGCGGCTACTACTGGTCCTGGA TCAGACAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAATGGATCG GCGAGATCAACCACGGCGGCTACGTGACCTACAACC CCAGCCTGGAAAGCAGAGTGACCATCAGCGTGGACA CCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCG TGACAGCCGCCGACACAGCCGTGTACTACTGCGCCA GAGATTACGGCCCTGGCAACTACGACTGGTACTTCGA CCTGTGGGGCAGAGGCACCCTCGTGACCGTGTCTAG CGCTTCTACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCC CCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCC CTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCCG TGACAGTGTCCTGGAACTCTGGCGCCCTGACAAGCG GCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCG GCCTGTACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACTGTGCCCAG CAGCAGCCTGGGAACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA AGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACGGCGGAGGCGGA TCTGGCGGCGGAGGATCCCAGGTGCAGCTGCAGCAG TGGGGCGCTGGCCTGCTGAAACCCTCTGAGACTCTG TCCCTGACATGTGCTGTGTATGGCGGCTCCTTCTCCG GCTACTATTGGAGCTGGATTCGGCAGTCCCCTGAGAA AGGACTGGAATGGATTGGGGAAATCAATCATGGGGG ATATGTGACATACAATCCCTCACTGGAATCCCGCGTG ACCATCTCCGTGGATACCTCTAAGAATCAGTTCTCTCT GAAGCTGTCCTCCGTGACCGCCGCTGATACCGCTGTG TATTACTGTGCCCGGGACTACGGACCCGGCAATTATG ATTGGTATTTTGATCTGTGGGGACGGGGCACACTCGT GACTGTGTCCTCTGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTC TTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGG GCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACT

		TCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCG CCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCT ACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTG ACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTAC ATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAG GTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAA ACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCT GCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAA CCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGG TCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACC CTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGG AGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGC AGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCA CCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGT ACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCC CCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGC CCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCCTGCA GAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGTGGT GTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGT GGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTGAGAACAACT ACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCA GCTTCTTCCTGTACTCCAAACTGACCGTGGACAAGAG CCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGT GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGCGGAGGCGGCGGAAG CGGAGGAGGAGGATCTGGGGGCGGAGGTTCCGGAG GCGGAGGATCCGAGGTGCAGCTGCTCGAAAGCGGCG GAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGT CTTGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGC CATGAGCTGGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACT GGAATGGGTGTCCGCCATCATCGGCTCTGGCGCCAGC ACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACC ATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTG CAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTG TACTACTGCGCCAAGGGATGGTTCGGCGGCTTCAACT ACTGGGGACAGGGCACCCTGGTCACCGTGTCCAGC
43	VLCL-輕鏈 (20H4.9) (核苷酸序列)	參見表1

57	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL (4B9)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGE RATLSCRASQSVTSSYLAWYQQKPGQAPRLLINVGSRR ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQGIML PPTFGQGTKVEIK
58	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (4B9)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS

		KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAIIGS GASTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKGWFGGFNYWGQGTLVTVSS
46	VLCL-輕鏈 (20H4.9)	參見表1

表7：雙特異性四價抗**4-1BB**/單價抗FAP人類IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-FAP VH融合於Fc臼鏈且VL融合於Fc杵鏈之構築體，稱為臼-VH)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
59	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (4B9) (核苷酸序列)	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGAGCCGGACTGCTG AAGCCTAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCGCCGTG TACGGCGGCAGCTTCAGCGGCTACTACTGGTCCTGGA TCAGACAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAATGGATCG GCGAGATCAACCACGGCGGCTACGTGACCTACAACC CCAGCCTGGAAAGCAGAGTGACCATCAGCGTGGACA CCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCG TGACAGCCGCCGACACAGCCGTGTACTACTGCGCCA GAGATTACGGCCCTGGCAACTACGACTGGTACTTCGA CCTGTGGGGCAGAGGCACCCTCGTGACCGTGTCTAG CGCTTCCACAAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCC CCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCC CTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCCG TGACAGTGTCCTGGAACTCTGGCGCCCTGACAAGCG GCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCG GCCTGTACTCTCTGTCCAGCGTCGTGACTGTGCCCAG CAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA AGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACGGCGGAGGCGGA TCTGGCGGCGGAGGATCCCAGGTGCAGCTGCAGCAG TGGGGCGCTGGCCTGCTGAAACCCTCTGAGACTCTG TCCCTGACATGTGCTGTGTATGGCGGCTCCTTCTCCG GCTACTATTGGAGCTGGATTCGGCAGTCCCCTGAGAA AGGACTGGAATGGATTGGGGAAATCAATCATGGGGG ATATGTGACATACAATCCCTCACTGGAATCCCGCGTG

		ACCATCTCCGTGGATACCTCTAAGAATCAGTTCTCTCT GAAGCTGTCCTCCGTGACCGCCGCTGATACCGCTGTG TATTACTGTGCCCGGGACTACGGACCCGGCAATTATG ATTGGTATTTTGATCTGTGGGGACGGGGCACACTCGT GACTGTGTCCTCTGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTC TTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGG GCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACT TCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCG CCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCT ACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTG ACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTAC ATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAG GTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAA ACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCT GCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAA CCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGG TCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACC CTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGG AGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGC AGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCA CCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGT ACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCC CCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGC CCCGAGAACCACAGGTGTGCACCCTGCCCCCATCCC GGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTCTCGT GCGCAGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGT GGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACT ACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCGTGAGCAAGCTCACCGTGGACAAGA GCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCG TGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGA AGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTGGAGGCGGCGGAA GCGGAGGAGGAGGATCCGGCGGCGGAGGTTCCGGA GGCGGAGGATCCGAGGTGCAGCTGCTCGAAAGCGGC GGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTG TCTTGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACG CCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGAC TGGAATGGGTGTCCGCCATCATCGGCTCTGGCGCCAG CACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCAC

		CATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCT GCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGT GTACTACTGCGCCAAGGGATGGTTCGGCGGCTTCAAC TACTGGGGACAGGGCACCCTGGTCACCGTGTCCAGC
60	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (4B9) (核苷酸序列)	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGAGCCGGACTGCTG AAGCCTAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCGCCGTG TACGGCGGCAGCTTCAGCGGCTACTACTGGTCCTGGA TCAGACAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAATGGATCG GCGAGATCAACCACGGCGGCTACGTGACCTACAACC CCAGCCTGGAAAGCAGAGTGACCATCAGCGTGGACA CCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCG TGACAGCCGCCGACACAGCCGTGTACTACTGCGCCA GAGATTACGGCCCTGGCAACTACGACTGGTACTTCGA CCTGTGGGGCAGAGGCACCCTCGTGACCGTGTCTAG CGCTTCCACAAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCC CCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCC CTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCCG TGACAGTGTCCTGGAACTCTGGCGCCCTGACAAGCG GCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCG GCCTGTACTCTCTGTCCAGCGTCGTGACTGTGCCCAG CAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA AGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACGGCGGAGGCGGA TCTGGCGGCGGAGGATCCCAGGTGCAGCTGCAGCAG TGGGGCGCTGGCCTGCTGAAACCCTCTGAGACTCTG TCCCTGACATGTGCTGTGTATGGCGGCTCCTTCTCCG GCTACTATTGGAGCTGGATTCGGCAGTCCCCTGAGAA AGGACTGGAATGGATTGGGGAAATCAATCATGGGGG ATATGTGACATACAATCCCTCACTGGAATCCCGCGTG ACCATCTCCGTGGATACCTCTAAGAATCAGTTCTCTCT GAAGCTGTCCTCCGTGACCGCCGCTGATACCGCTGTG TATTACTGTGCCCGGGACTACGGACCCGGCAATTATG ATTGGTATTTTGATCTGTGGGGACGGGGCACACTCGT GACTGTGTCCTCTGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTC TTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGG GCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACT TCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCG CCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCT ACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTG

		ACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTAC ATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAG GTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAA ACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCT GCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAA CCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGG TCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACC CTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGG AGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGC AGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCA CCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGT ACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCC CCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGC CCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCCTGCA GAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGTGGT GTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGT GGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTGAGAACAACT ACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCA GCTTCTTCCTGTACTCCAAACTGACCGTGGACAAGAG CCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGT GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGCGGAGGCGGCGGAAG CGGAGGAGGAGGATCTGGGGGCGGAGGTTCCGGAG GCGGTGGATCTGAGATCGTGCTGACCCAGTCTCCCGG CACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAGAGAGCCACCCT GTCCTGCAGAGCCTCCCAGTCCGTGACCTCCTCCTAC CTCGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCT CGGCTGCTGATCAACGTGGGCAGTCGGAGAGCCACC GGCATCCCTGACCGGTTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCA CCGACTTCACCCTGACCATCTCCCGGCTGGAACCCGA GGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGGGCATCATG CTGCCCCCCACCTTTGGCCAGGGCACCAAGGTGGAA ATCAAG
43	VLCL-輕鏈 (20H4.9) (核苷酸序列)	參見表1
61	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (4B9)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR

		GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAIIGS GASTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKGWFGGFNYWGQGTLVTVSS
62	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (4B9)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGE RATLSCRASQSVTSSYLAWYQQKPGQAPRLLINVGSRR

		ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQGIML PPTFGQGTKVEIK
46	VLCL- 輕 鏈 (20H4.9)	參見表1

表8：四價結合於4-1BB且單價結合於FAP之雙特異性抗原結合分子(**4+1** 4-1BB/FAP人類IgG1 P329GLALA)之生物化學分析

分子	單體[%]	產量[mg/l]	CE-SDS (非還原性)
4-1BB (20H4.9)/FAP (4B9) P329GLALA IgG1 4+1 (臼-VH)	95.6	6	97.2

2.2 靶向4-1BB四價及FAP單價之雙特異性抗體(4+1抗原結合分子)之結合

2.2.1 表面電漿子共振(同時結合)

藉由表面電漿子共振(SPR)評估同時結合人類4-1BB Fc (kih)及人類FAP之能力。所有SPR實驗均在Biacore T200上在25℃下以HBS-EP作為操作緩衝液（0.01 M HEPES pH 7.4、0.15 M NaCl、3 mM EDTA、0.005%界面活性劑P20, Biacore, Freiburg/Germany）來進行。

生物素化人類4-1BB Fc (kih)與抗生蛋白鏈菌素(SA)感測器晶片之流動細胞直接偶合。使用至多400個共振單位(RU)之固定程度。靶向4-1BB及FAP之雙特異性抗體在200 nM範圍內之濃度下以30 μL/分鐘之流速經90秒穿過流槽且解離設為零秒。以500 nM之濃度，以30 μL/分鐘之流速，經流槽經90秒注射人類FAP作為第二分析物。監測解離120秒。藉由減去在參考流動細胞(其中未固定蛋白質)中獲得之反應來校正整體折射率差異。所有雙特異性構築體均可同時結合於人類4-1BB及人類FAP（**圖5B**)。

2.3 結合於人類4-1BB-二價與四價抗4-1BB構築體之競爭分析

為了確認全部四個抗4-1BB Fab結構域結合於hu4-1BB之能力，施用

基於細胞之FRET分析(TagLite)。因此，用hu4-1BB-SNAP融合體轉染2500個Hek293 EBNA細胞/孔且用FRET供體鋱(Cisbio)標記，並與用FRET受體d2 (Cisbio)標記之任意0.6 nM抗4-1BB純系20H4.9 IgG混合。另外，添加濃度稀釋範圍0.006-1000 nM之未標記抗4-1-BB IgG (20H4.9)、二價(20H4.9/4B9 2+1)或四價(20H4.9/4B9 4+1)雙特異性抗體且在RT下培育2-4小時。在620 nm下量測螢光供體(鋱)之螢光信號且在665nm下量測螢光受體染料(M100Pro, Tecan)之螢光信號。計算665/620*1000之比率，且減去參考值(僅細胞)。對於EC_{50}測定，在Graph Pad Prism6中分析結果。4小時培育之後的觀測EC_{50}值顯示於表9中。四價4+1 20H4.9抗原結合分子相比於IgG對應物競爭較好(**圖6**)。

表9：二價與四價4-1BB結合分子之競爭結合的EC_{50}值

分子	EC_{50} [nM]
20H4.9 IgG	1.5 (0.9-2.4)
4-1BB(20H4.9)/ FAP(4B9) 4+1	0.5 (0.3-0.7)

2.4 結合於細胞

2.4.1 結合於人類4-1BB表現細胞：休眠及經活化之人類周邊單核血液白細胞(PBMC)

休眠(原生)人類T細胞上不存在人類4-1BB之表現(Kienzle G.及von Kempis J (2000), Int. Immunol. 12(1):, 73-82, Wen T.等人. (2002), J. Immunol. 168, 4897-4906)。用經固定之抗人類CD3促效抗體活化後，$CD4^+$及$CD8^+$ T細胞上的4-1BB上調。亦報導經活化之人類NK細胞上之4-1BB表現(Baessler T.等人. (2010) Blood 115(15), 3058-3069)、經活化之人類NKT細胞上之4-1BB表現(Cole S.L.等人. (2014) J. Immunol. 192(8), 3898-3907)、經活化之人類B細胞上之4-1BB表現(Zhang等人. (2010) J.

Immunol. 184(2), 787-795)、經活化之人類嗜酸性細胞上之4-1BB表現(Heinisch等人. 2001)、人類嗜中性白細胞上之組成性4-1BB表現(Heinisch I.V. (2000) J Allergy Clin Immunol. 108(1), 21-28)、經活化之人類單核細胞上之4-1BB表現(Langstein J.等人. (1998) J Immunol. 160(5), 2488-2494, Kwajah M.及Schwarz H. (2010) Eur J Immunol. 40(7), 1938-1949)、人類調節T細胞上之組成性4-1BB表現(Bacher P.等人. (2014) Mucosal Immunol. 7(4), 916-928)、人類濾泡樹突狀細胞上之4-1BB表現(Pauly S. 等人. (2002) J Leukoc Biol. 72(1), 35-42)、經活化之人類樹突狀細胞上之4-1BB表現(Zhang L.等人. (2004) Cell Mol Immunol. 1(1), 71-76)以及惡性人類腫瘤之血管上之4-1BB表現(Broll K. 等人. (2001) Am J Clin Pathol. 115(4), 543-549)。

為了測試吾人抗-4-1BB抗原結合分子對天然細胞表現之人類4-1BB的結合，使用休眠周邊血液單核細胞(PBMC)或PHA-L/Proleukin預活化及CD3/CD28再活化PBMC。來自獲自Zurich血液供給中心之白血球層的PBMC使用Histopaque 1077 (SIGMA Life Science, 目錄號10771, 聚蔗糖及泛影酸鈉，調整至密度1.077 g/mL)藉由ficoll密度離心分離，且再懸浮於由供應有10%胎牛血清(FBS,Life Technology之Gibco, 目錄號16000-044, 批號941273, γ照射，無支原體且在56℃下熱滅活35分鐘)、1% (v/v) GlutaMAX-I (Life Technologies之GIBCO, 目錄號35050 038)、1 mM丙酮酸鈉(SIGMA, 目錄號S8636)、1 % (v/v) MEM非必需胺基酸(SIGMA, 目錄號M7145)以及50 μM β-巰基乙醇(SIGMA, M3148)之RPMI 1640培養基(Life Technology之Gibco, 目錄號42401-042)組成的T細胞培養基中。PBMC在分離之後直接使用(休眠細胞)或經刺激以藉由在37℃及5%

CO_2下，在6孔組織培養盤中在補充有200 U/mL Proleukin(Novartis Pharma Schweiz AG，CHCLB-P-476-700-10340)及2 μg/mL PHA-L (SIGMA，目錄號L2769)之T細胞培養基中培養3至5天且接著在塗有含10 μg/mL抗人類CD3 (純系OKT3，BioLegend，目錄號317315)及2 μg/mL抗人類CD28 (純系CD28.2，BioLegend，目錄號：302928)之6孔組織培養盤中在T細胞培養基中培養2天來誘導4-1BB表現。

為了測定與人類PBMC表現之人類4-1BB之結合，向圓底懸浮細胞96孔盤(Greiner bio-one, cellstar, 目錄號650185)之各孔中添加0.1-0.2 × 10^6新鮮分離(例如休眠或活化)之PBMC。培養盤用400×g且在4℃下離心4分鐘，且棄去清液層。細胞用200 μL/孔DPBS洗滌，接著在4℃下用100 μL/mL含有1:5000倍稀釋之可固定活力染料eFluor 660 (eBioscience，目錄號65-0864-18)之DPBS培育30分鐘。隨後，細胞用200 μL/孔冷FACS緩衝液(具有2% (v/v) FBS、5 mM EDTA pH8 (Amresco, 目錄號E177)及7.5 mM疊氮化鈉(Sigma-Aldrich S2002)之DPBS)洗滌一次。隨後，添加50 μL/孔之含有滴定雙特異性FAP靶向抗人類4-1BB抗體之4℃低溫FACS緩衝液，且在4℃下培育細胞120分鐘。細胞用200 μL/孔4℃ FACS緩衝液洗滌四次，以移除未結合之分子。隨後，細胞進一步用50 μL/孔含有2.5 μg/mL PE接合之親和純化抗人類IgG Fcγ-片段-特異性山羊F(ab`)2片段(Jackson ImmunoResearch, 目錄號109-116-098)、抗人類CD45 AF488 (純系HI30，BioLegend，目錄號304019)、0.67 μg/mL PerCP/Cy5.5結合之抗人類CD3小鼠IgG1 κ (純系UCHT1，BioLegend，目錄號300430)、0.125 μg/mL BV421接合之抗人類CD4 moIgG1κ (純系RPA-T4, BioLegend, 目錄號300532)或0.23 μg/mL BV421接合之抗人類CD4小鼠

IgG2b κ (純系OKT4, BioLegend, 目錄號317434, 0.33 μg/mL抗人類CD8-BV510 (moIgG1κ, 純系SK1, BioLegend, 目錄號344732)及0.67 μg/mL抗人類CD19-PE/Cy7 (moIgG1κ, 純系HIB19, BioLegend, 目錄號302216)之4℃冷FACS緩衝液培育且在4℃下培育30分鐘。細胞用200 μL FACS緩衝液/孔洗滌兩次且藉由再懸浮固定於50 μL/孔含有1%甲醛(Sigma, HT501320-9.5L)之DPBS中。同一天或第二天使用3雷射MACSQuant分析器10 (Miltenyi Biotech)獲取細胞。閘設於$CD8^+$及$CD4^+$ T細胞上且使用二次偵測抗體之螢光強度(MFI)的幾何平均值分析一級抗體之結合。使用Graph Pad Prism (Graph Pad Software Inc.)，藉由減去空白值(未添加一級抗體)將資料基線化且使用非線性回歸曲線擬合(穩固擬合)計算EC50值。

人類CD4及CD8 T細胞在休眠狀態缺乏4-1BB表現，但在活化人類$CD8^+$ T細胞之後的上調4-1BB展示在所描述之活化條件下相比於$CD4^+$ T細胞更強的上調。所產生之抗人類4-1BB特異性抗體可結合於經活化人類T細胞表現之人類4-1BB (**圖7C及7D**)，而在休眠CD4及CD8 T細胞上，偵測不到顯著結合(**圖7A及7B**)。結合受細胞之4-1BB表現量影響，例如4-1BB特異性分子相比於活化CD4 T細胞(**圖7C**)更強地結合於活化CD8 T細胞(圖7D)，且受形式影響，例如二價4-1BB結合子(huIgG P329G LALA及2+1形式)與四價4-1BB結合子(4+1形式)相比不同地結合。四價4-1BB結合歸因於內部競爭4-1BB特異性抗原決定基而引起MFI減少。未見EC_{50}改變(列於表10中)，大概由於方法相關受限靈敏度。Taglite分析(圖6)更加靈敏(無洗滌步驟)且明確展示二價與四價4-1BB結合之間的EC50差異。

圖8A及圖8B中展示結合曲線下面積(AUC)。在活化CD8 T細胞上可

見以下次序之清晰的4-1BB結合減小：4-1BB (20H4.9) huIgG1 P329G LALA > 4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 2+1 > 4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 4+1。FAP結合結構域融合於Fc結構域藉由遮蔽抗原決定基可妨礙多株PE接合之親和純化抗人類IgG Fcγ-片段-特異性山羊F(ab`)2片段之結合且導致較弱檢測。此可解釋4-1BB (20H4.9) huIgG1 P329G LALA與4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 2+1之間的結合特性降低，不管兩種分子顯示二價4-1BB結合側之事實。4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 2+1 > 4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 4+1之間的AUC差異可由如上所解釋之內部競爭4-1BB特異性抗原決定基解釋。

表10：經由流式細胞量測術測定之活化及4-1BB表現人類$CD4^+$ T細胞及$CD8^+$ T細胞的結合曲線EC_{50}值。

	4-1BB (20H4.9) huIgG1 P329G LALA	4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 2+1	4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 4+1
活化 $CD4^+$ T細胞之EC_{50} [nM]	0.1	0.1	0.1
活化 $CD8^+$ T細胞之EC_{50} [nM]	0.1	0.1	0.1

2.4.2 結合於人類FAP表現細胞

為了結合於細胞表面表現之人類纖維母細胞活化蛋白(FAP)，使用NIH/3T3-huFAP純系19細胞或人類黑素瘤細胞株WM-266-4 (ATCC CRL-1676)。藉由在CMV啟動子下用編碼人類FAP之表現pETR4921質體轉染小鼠胚胎纖維母細胞NIH/3T3細胞(ATCC CRL-1658)來產生NIH/3T3-huFAP純系19。在1.5 μg/mL嘌呤黴素(InvivoGen，目錄號：ant-pr-5)存在下維持細胞。2×10^5個FAP表現腫瘤細胞添加至圓底懸浮細胞96孔培養盤(Greiner bio-one, cellstar, 目錄號650185)的各孔中。細胞用200 μL

DPBS洗滌一次且糰粒再懸浮於100 μL/孔含有1:5000倍稀釋之可固定活力染料eFluor 450 (eBioscience，目錄號65 0863 18)或可固定活力染料eFluor 660 (eBioscience, 目錄號65-0864-18)的4℃低溫DPBS緩衝液中。盤在4℃下培育30分鐘且用200 μL 4℃低溫DPBS緩衝液洗滌一次。隨後，細胞再懸浮於50 μL/孔含有不同滴定濃度之4-1BB特異性FAP靶向及非靶向抗體之4℃低溫FACS緩衝液中，隨後在4℃下培育1小時。在用200 μL/孔洗滌四次之後，細胞在4℃下用50 μL/孔含有2.5 μg/mL PE接合之親和純化抗人類IgG Fcγ-片段-特異性山羊F(ab`)2片段(Jackson ImmunoResearch，目錄號109-116-098)之4℃低溫FACS緩衝液染色30分鐘。細胞用200 μL 4℃ FACS緩衝液洗滌兩次且接著再懸浮於50 μL/孔含有1%甲醛之DPBS中以供固定。在同一天或第二天將細胞再懸浮於100 μL FACS緩衝液中且使用MACSQuant分析器10(Miltenyi Biotec)收集。

如**圖9**中所示，FAP靶向分子，但不為非FAP靶向huIgG1 P293G LALA分子有效結合於人類FAP表現WM-266-4(圖9A)及NIH/3T3-huFAP純系19細胞(圖9B)。因此，包括FAP結合側誘導對人類FAP表現細胞之高效靶向作用。結合曲線之EC_{50}值以及曲線下的值列於**表11**中。

表11：結合於FAP表現細胞株NIH/3T3-huFAP純系19及WM-266 -4之EC50值及曲線下面積(AUC)值

	4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 4+1	4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 2+1
WM-266-4上之**EC_{50}** [nM]	1.6	0.7
NIH/3T3-huFAP 純系19上之**EC_{50}** [nM]	2	1.7
AUC WM-266-4	4565	5424

AUC NIH/3T3-huFAP 純系19	6793	8024

2.5 NFκB活化

2.5.1 產生表現人類4-1BB及NFκB-螢光素酶之HeLa細胞

子宮頸癌瘤細胞株HeLa (ATCC CCL-2)在CMV啟動子及嘌呤黴素抗性基因之控制下用基於表現載體pETR10829之質體轉導，該質體含有人類4-1BB (Uniprot寄存號Q07011)之序列。細胞在補充有10% (v/v)FBS、1% (v/v) GlutaMAX-I及3 μg/mL嘌呤黴素之DMEM培養基中培養。

藉由流式細胞量測術測試經4-1BB轉導之HeLa細胞之4-1BB表現：0.2 × 10^6個活細胞再懸浮於含有0.1 μg PerCP/Cy5.5結合之抗人類4-1BB小鼠IgG1κ純系4B4-1 (BioLegend目錄號309814)或其同型對照物(PerCP/Cy5.5結合之小鼠IgG1κ同型對照抗體純系MOPC-21，BioLegend目錄號400150)之100 μL FACS緩衝液中且在4℃下培育30分鐘。細胞用FACS緩衝劑洗滌兩次，再懸浮於含有0.06 μg DAPI (SantaCruzBiotec，目錄號Sc-3598)之300 μL FACS緩衝液中且使用5-雷射LSR-Fortessa (BD Bioscience, DIVA軟體)獲取。如所描述進行有限稀釋以產生單一純系：經人類4-1BB轉導之HeLa細胞再懸浮於培養基中達到10、5及2.5個細胞/毫升之密度且將200 μl細胞懸浮液轉移至經組織培養物處理之圓底96孔培養盤(6個盤/細胞濃度，TPP目錄號92697)中。收集單一純系，擴增且如上文所述測試4-1BB表現。選擇具有最高4-1BB表現之純系(純系5)用於隨後用NF-κB-螢光素酶表現載體5495p Tranlucent HygB進行之轉染。載體賦予經轉染細胞對濕黴素B之耐藥性及在NF-kB反應元件(Panomics, 目錄號LR0051)之控制下表現螢光素酶之能力。對於轉染，培養人類4-1BB HeLa純系5細胞達到70%匯合。50 μg (40 μL)線性化(限制酶AseI及

SalI)5495p Tranlucent HygB表現載體添加至無菌0.4 cm Gene Pulser/MicroPulser光析管(Biorad，目錄號165-2081)中。添加含2.5×10^6個人類4-1BB HeLa純系5細胞之400 μl不含補充劑之DMEM培養基且與質體溶液小心混合。使用Gene Pulser Xcell完全系統(Biorad，目錄號1652660)在以下設置下進行細胞之轉染：指數脈衝，電容500 μF，電壓160 V，電阻∞。在脈衝之後立即將經轉染之細胞轉移至具有15 mL 37℃溫熱的具有10% (v/v) FBS及1% (v/v) GlutaMAX I之DMEM培養基的75 cm^2組織培養燒瓶(TPP，目錄號90075)中。第二天，添加含有3 μg/mL嘌呤黴素及200 μg/mL潮黴素B (Roche，目錄號10843555001)之培養基。擴增活細胞且如上文所描述進行有限稀釋以產生單一純系。

如上文所描述測試純系之4-1BB表現且如下測試NF-κB-螢光素酶活性：在選擇培養基中收集純系且使用Cell Counter Vi-細胞xr 2.03 (Beckman Coulter，目錄號731050)計數。細胞設為細胞密度0.33×10^6個細胞/毫升且將150 μL此細胞懸浮液轉移至具有蓋子的無菌白色96孔平底組織培養盤(greiner bio one, 目錄號655083)之各孔中。細胞在37℃及5% CO_2下在細胞培育箱(Hera Cell)中培育隔夜。第二天，50 μL含有不同濃度之重組型人類腫瘤壞死因子α (rhTNFα，PeproTech，目錄號300 01A)之培養基添加至96孔培養盤之各孔中達到100、50、25、12.5、6.25及0 ng/孔之rhTNFα之最終濃度。細胞在37℃及5% CO_2下培育6小時且接著用200 μL/孔DPBS洗滌三次。報導體裂解緩衝液(Promega，目錄號：E3971)添加至各孔(40 μl)中且培養盤在-20℃下儲存隔夜。第二天，將冷凍細胞及偵測緩衝液(Luciferase 1000分析系統，Promega，目錄號E4550)解凍至室溫。100 μL偵測緩衝液添加至各孔中且使用SpectraMax

M5/M5e微板讀取器及SoftMax Pro軟體(Molecular Devices)儘可能快地量測盤。所量測之釋放光超過對照物(未添加rhTNFα)500毫秒/孔(URL)之單元視為螢光素酶活性。選擇呈現最高螢光素酶活性及大量4-1BB表現之HeLa-hu4-1BB-NF-κB-luc純系26用於進一步使用。

2.5.2 與FAP表現腫瘤細胞共培養之表現人類4-1BB及螢光素酶之HeLa報導體細胞株中之NFκB活化

採集HeLa-hu4-1BB-NF-κB-luc純系26細胞且再懸浮於具有10% (v/v) FBS及1% (v/v) GlutaMAX-I之DMEM培養基中達到0.2×10^6個細胞/毫升之濃度。將100 µl此細胞懸浮液(2×10^4個細胞)轉移至具有蓋子之無菌白色96孔平底組織培養盤(greiner bio one，目錄號655083)之各孔中且培養盤在37℃及5% CO_2下培育隔夜。第二天，添加50 µL含有經滴定FAP靶向抗人類4-1BB構築體或其親本huIgG1 P329G LALA抗體之培養基。將FAP表現NIH/3T3-huFAP純系19或WM-266-4再懸浮於具有10 % (v/v) FBS及1 % (v/v) GlutaMAX-I之DMEM培養基中達到濃度2×10^6細胞/毫升。

FAP表現腫瘤細胞之懸浮液(50 µl) 或作為陰性對照之培養基添加至各孔中且培養板在37℃及5% CO_2下在細胞培育箱中培育6小時。細胞用200 µL/孔DPBS洗滌兩次。40 µl新鮮製備之報導體裂解緩衝液(Promega，目錄號：E3971)添加至各孔中且盤在-20℃下儲存隔夜。第二天，在室溫下解凍冷凍細胞培養盤及偵測緩衝液(Luciferase 1000分析系統，Promega，目錄號E4550)。100 µL偵測緩衝液添加至各孔中且使用SpectraMax M5/M5e微板讀取器及SoftMax Pro軟體(Molecular Devices)儘可能快地量測螢光素酶活性。

圖10中展示使用4-1BB表現報導體細胞株之不同FAP靶向4-1BB特異性構築體的活化特性。**圖10A**中展示FAP表現細胞不存在之情況下的活化特性。只有含有四價4-1BB結合側之分子4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 4+1 (灰色實心正方形)可引發強活化。僅含有二價4-1BB結合側之分子未能引發此強活化，顯示4-1BB活化視效應細胞表面上之4-1BB分子的強交聯而定。在隨後印記中添加呈人類黑素瘤細胞株WM-266-4形式之FAP表現腫瘤細胞，其表現中等量之FAP (**圖10B**)，或經轉染小鼠fibrosoma細胞株NIH/3T3，以表現高含量人類FAP (**圖10C**)。一旦FAP靶向分子經由此FAP表現腫瘤細胞交聯時，4-1BB結合側引起4-1BB在報導體細胞株表面上之強交聯且誘發NKkB介導之螢光素酶表現的強活化。與4-1BB結合側之部分無關，4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 2+1與4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 4+1之活化相當類似。在不存在FAP表現腫瘤細胞之情況下可見2+1與4+1形式之間的唯一明顯差異。擬合曲線下面積(AUC)展示於**圖11**中，且EC_{50}值如列於**表12**中。

表12：在FAP表現細胞存在下NFκB信號傳導路徑之活化的EC_{50}值

EC_{50} [nM]	4-1BB (20H4.9) huIgG1 P329G LALA	4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 2+1	4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 4+1
無FAP^+細胞	1.07	0.73	0.13
WM-266-4	0.64	0.08	0.05
3T3-huFAP	2.17	0.07	0.04

2.6 在FAP表現細胞存在下之人類PBMC的活化分析

對於FAP結合性介導之促效4-1BB結合子20H4.9的交聯，使用表現FAP之黏附細胞株NIH/3T3-huFAP純系19。NIH/3T3-huFAP純系19細胞使用DPBS(Gibco，Life Technologies，目錄號14190 326)洗滌且在37℃下，用無酶之基於PBS之細胞解離緩衝液(Gibco，Life Technologies，目

錄號13151-014)處理10分鐘。收集細胞且再懸浮於由補充10%胎牛血清(FBS，US-origin，PAN biotech，P30-2009，批號P150307GI，經過γ照射，無黴漿菌，在56℃下熱滅活35分鐘)、1% L-GlutaMAX-I (GIBCO，Life Technologies，目錄號35050-038)、1 mM丙酮酸鈉(SIGMA-Aldrich，目錄號S8636)、1% MEM非必需胺基酸溶液(SIGMA-Aldrich，目錄號M7145)、50 μM β-巰基乙醇(Sigma-Aldrich，目錄號M3148)之RPMI 1640 (GIBCO，Life Technologies，目錄號42401-042)組成的T細胞培養基中，且用50 Gy (X射線照射器RS 2000，Rad source)照射。向圓底組織培養96孔盤(TTP，目錄號92697)之各孔接種含在50 μL T細胞培養基中之2 × 10^4個NIH/3T3-huFAP純系19細胞。分別添加50 μL含有不同滴定濃度之4-1BB (20H4.9) huIgG1 P329G LALA、4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 2+1、4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 2+1或對照分子4-1BB (12B3) x FAP (4B9) 4+1 (如描述於PCT專利申請案第PCT/EP2016/073198號中)及DP47 huIgG1 P329G LALA的T細胞培養基。在37℃下，在37℃之含有40 nM CFDA-SE (SIGMA-Aldrich，目錄號21888-25MG-F)之溫熱DPBS中標記人類PBMC 15分鐘。藉由添加FBS停止CFSE標記，將PBMC洗滌兩次且再懸浮於T細胞培養基中達到1.5×10^6個細胞/毫升之最終濃度。將50 μL此PBMC細胞溶液接種至各孔，以充分添加7.5 × 10^4 CFSE標記之PBMC。最終，製備含有2 mM促效抗人類CD3人類IgG1純系V9之T細胞培養基之儲備溶液且在各孔中添加50 μL/孔，達到0.5 mM抗人類CD3人類IgG1純系V9之最終濃度。

培養盤在37℃下培育4天。細胞用DPBS洗滌且在4℃下，使用100 μL/孔之DPBS(其含有以1:1000稀釋之LIVE/DEAD Fixable Aqua Dead

Cell Stain Kit染料套組(Molecular Probes，Life Technology，目錄號L34957))染色30分鐘。細胞用200 μL/孔之DPBS洗滌一次且在4℃下用50 μL含有0.1 μg/mL之PerCP-Cy5.5接合之抗人類CD137小鼠IgG1κ (純系4B4-1，BioLegend，目錄號309814)、0.1 μg/mL之PE/Cy7接合之抗人類PD-1小鼠IgG1κ (純系EH12.2H7，BioLegend，目錄號329918)、0.03 μg/mL之APC接合之抗人類CD25小鼠IgG1κ (純系BC96，BioLegend，目錄號302610)、0.06 μg/mL之APC/Cy7接合之抗人類CD8小鼠IgG1κ (純系RPA-T8，BioLegend，目錄號3301016)、BV421接合之抗人類CD4小鼠IgG1κ (純系RPA-T4，BioLegend，目錄號300532)之FACS緩衝液(補充2% FBS、5 mM EDTA pH 8 (Amresco，目錄號E177)及7.5 mM疊氮化鈉(Sigma-Aldrich S2002)之DPBS)染色30分鐘。細胞用200 μL/孔之DPBS洗滌兩次且在4℃下與50 μL/孔之新鮮製備之FoxP3 Perm/Fix緩衝液(eBioscience，目錄號00-5123)一起培育30分鐘。細胞用200 μL/孔之DPBS洗滌兩次，再懸浮於50 μL/孔之新鮮製備之Perm緩衝液(eBioscience，目錄號00-8333)(補充PE接合之以1:250稀釋之抗人類顆粒酶B小鼠IgG1κ (純系GB11，批號4269803，BD Pharmingen，目錄號561142))中，且在4℃下培育1小時。培養盤用200 μL/孔之DPBS洗滌兩次且細胞用含有1%甲醛(Sigma，HT501320-9.5L)之DPBS固定15分鐘。使細胞再懸浮於100 μL/孔之FACS緩衝劑中且使用MACS Quant分析器10 (Miltenyi Biotech)讀取。使用FlowJo V10 (FlowJo,LLC)及GraphPad Prism 6.04 (GraphPad Software, Inc)分析資料。

如**圖12**中所示，FAP靶向促效4-1BB (20H4.9)2+1及4+1抗原結合分子在次最佳CD3刺激存在下能夠誘發CD25上調以及CD4及CD8 T細胞增

殖增加。兩種分子相比於分子4-1BB (12B3) x FAP (4B9) 4+1展示較好效果，已添加該分子作為陽性對照且先前已描述於PCT專利申請案第PCT/EP2016/073198號中。因此，在FAP表現細胞及次最佳TCR刺激存在下，FAP靶向4-1BB (20H4.9)促效劑可誘發T細胞活化及增殖，與其形式無關，例如4+1雙特異性抗原結合分子相比於2+1雙特異性抗原結合分子並未更加有效。

圖13中展示圖12中曲線之曲線下面積(AUC)值。作為基線活化，展示對照分子(非靶向DP47 huIgG1 P329G LALA)之AUC。擬合EC_{50}值列於表13中。

表13：人類PBMC活化曲線之EC_{50}值

EC_{50} [nM]	huIgG1 4-1BB (20H4.9) P329G LALA	4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 2+1	4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 4+1	4-1BB (12B3) x FAP (4B9) 4+1
% CD25+ CD4	0.1	0.005	0.006	0.009
% CD25+ CD8	n.d.	0.02	0.009	0.012
%增殖性CD4	0.07	0.004	0.003	0.008
%增殖性CD8	n.d.	0.001	0.002	0.0001

實例3

單價結合於4-1BB且單價結合於FAP之雙特異性抗體之製備、純化及特徵化

3.1 產生單價結合於4-1BB且單價結合於FAP之雙特異性抗體

單價結合4-1BB且單價結合FAP之雙特異性促效4-1BB抗體(亦稱為1+1)如**圖1C**中所描繪製備。藉由在第一重鏈HC1 (Fc杵重鏈)中引入S354C/T366W突變及在第二重鏈HC2 (Fc臼重鏈)中引入Y349C/T366S/L368A/Y407V突變來施用杵-臼技術，以允許產生雜二聚體。

在此實例中構築體之第一重鏈HC1包含以下組分：抗4-1BB (純系20H4.9)之VHCH1，隨後Fc杵。第二重鏈HC2包含抗FAP (純系4B9)之VLCH1，隨後Fc臼。為改良正確配對，已在抗4-1BB之CH-CL (Fc杵鏈)中引入以下突變(帶電變異體)：CL中之E123R及Q124K，及CH1中之K147E及K213E。對於4-1BB結合子，純系20H4.9之VH及VL序列獲自US7659384(B2)。Fc杵與Fc臼鏈之組合允許產生雜二聚體，其包括一個FAP結合Fab及一個4-1BB結合Fab。

根據國際專利申請公開案第WO2012/130831A1號中描述之方法，將Pro329Gly、Leu234Ala及Leu235Ala突變引入杵及臼重鏈之恆定區以消除與Fcγ受體之結合。

1+1抗4-1BB、抗FAP huIgG1 PGLALA之胺基酸序列可發現於**表14**中。

表14：雙特異性單價抗**4-1BB**/單價抗FAP人類IgG1 P329GLALA抗原結合分子之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
124	VHCH1(EE) 4-1BB(20H4.9)-重鏈杵	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVED YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
125	VLCH1 FAP (4B9)-重鏈臼	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVTSSYLAWYQQ KPGQAPRLLINVGSRRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL

		EPEDFAVYYCQQGIMLPPTFGQGTKVEIKSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPP SRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
126	VLCL(RK)-輕鏈 4-1BB (20H4.9)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEP EDFAVYYCQQRSNWPPALTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDRKLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
127	VHCL-輕鏈 FAP(4B9)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVR QAPGKGLEWVSAIIGSGASTYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGTL VTVSSASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

藉由使用eviFect (Evitria AG)共轉染懸浮液中生長之CHO-K1細胞及哺乳動物表現載體來製備雙特異性1+1抗4-1BB、抗FAP huIgG1 PGLALA。細胞用相應表現載體以1:1:1:1比率(「載體杵重鏈」:「載體臼重鏈」:「載體輕鏈1」:「載體輕鏈2」)轉染。

為了轉染，將CHO-K1細胞以不含血清之懸浮液培養於eviMake (Evitria AG)培養基中。在培育箱中在37℃下5% CO_2氛圍下7天後，收集培養清液層用於藉由離心純化，且將溶液無菌過濾(0.22 mm過濾器)並保持於4℃下。

藉由親和層析，使用蛋白A，隨後尺寸排阻層析，自細胞培養物清液層純化所分泌之蛋白質。對於親和層析，將清液層加載至用40 mL 20 mM

磷酸鈉、20 mM檸檬酸鈉pH 7.5平衡之蛋白A MabSelectSure管柱(CV = 5 mL，GE Healthcare)上。藉由用至少10管柱體積之含有20 mM磷酸鈉、20 mM檸檬酸鈉(pH 7.5)的緩衝液洗滌來移除未結合之蛋白質。結合之蛋白質使用超過15管柱體積之20 mM檸檬酸鈉、100 mM氯化鈉、100 mM甘胺酸，pH 3.0產生之線性pH梯度之氯化鈉(20至100 mM)溶離。隨後用10管柱體積之20 mM檸檬酸鈉、100 mM NaCl、100 mM甘胺酸，pH 3.0洗滌管柱。藉由添加1/40 (v/v) 2 M Tris，pH 8.0來調節所收集之溶離份之pH。將蛋白質進行濃縮且過濾，隨後加載至用20 mM組胺酸、140 mM氯化鈉，pH 6.0平衡之HiLoad Superdex 16/600 S200管柱(GE Healthcare)上。

藉由使用基於胺基酸序列計算之莫耳消光係數量測280 nm下的OD來測定經純化的雙特異性構築體的蛋白質濃度。使用LabChipGXII (Caliper)在有及無還原劑(Invitrogen, USA)存在下藉由CE-SDS分析雙特異性構築體之純度及分子量。在25℃下，使用在25 mM K_2HPO_4、125 mM NaCl、200 mM L-精胺酸單鹽酸鹽、0.02% (w/v) NaN_3，pH 6.7操作緩衝液中平衡之TSKgel G3000 SW XL分析型尺寸排阻管柱(Tosoh)分析雙特異性構築體之聚集物含量。

表15：單價結合於4-1BB且單價結合於FAP之雙特異性抗原結合分子(1+1 4-1BB/FAP人類IgG1 P329GLALA)的生物化學分析

分子	單體[%]	產量[mg/l]	CE-SDS (非還原性)
4-1BB (20H4.9)/FAP (4B9) P329GLALA IgG1 1+1	99	120	99

3.2 功能性活體外特徵化：經由4-1BB及FAP同時結合誘導NFκB活化的能力

3.2.1 產生表現人類4-1BB及NFκB-螢光素酶之HeLa細胞

子宮頸癌瘤細胞株HeLa (ATCC CCL-2)在CMV啟動子及嘌呤黴素抗性基因之控制下用基於表現載體pETR10829之質體轉導，該質體含有人類4-1BB (Uniprot寄存號Q07011)之序列。細胞在補充有10% (v/v)FBS、1% (v/v) GlutaMAX-I及3 μg/mL嘌呤黴素之DMEM培養基中培養。

藉由流式細胞量測術測試經4-1BB轉導之HeLa細胞之4-1BB表現：0.2 × 10^6個活細胞再懸浮於含有0.1 μg PerCP/Cy5.5結合之抗人類4-1BB小鼠IgG1κ純系4B4-1 (BioLegend目錄號309814)或其同型對照物(PerCP/Cy5.5結合之小鼠IgG1κ同型對照抗體純系MOPC 21，BioLegend目錄號400150)之100 μL FACS緩衝液中且在4℃下培育30分鐘。細胞用FACS緩衝劑洗滌兩次，再懸浮於含有0.06 μg DAPI (Santa Cruz Biotec，目錄號Sc-3598)之300 μL FACS緩衝液中且使用5-雷射LSR-Fortessa (BD Bioscience, DIVA軟體)獲取。如所描述進行有限稀釋以產生單一純系：經人類4-1BB轉導之HeLa細胞再懸浮於培養基中達到10、5及2.5個細胞/毫升之密度且將200 μl細胞懸浮液轉移至經組織培養物處理之圓底96孔培養盤(6個盤/細胞濃度，TPP目錄號92697)中。收集單一純系，擴增且如上文所述測試4-1BB表現。選擇具有最高4-1BB表現之純系(純系5)用於隨後用NFκB-螢光素酶表現載體5495p Tranlucent HygB進行之轉染。載體賦予經轉染細胞對濕黴素B之耐藥性及在NFκB反應元件(Panomics, 目錄號LR0051)之控制下表現螢光素酶之能力。為了轉染，將人類4-1BB HeLa純系5細胞培養至70%彙聚。將50 μg (40 μL)線性化(限制酶AseI及SalI) 5495p Tranlucent HygB表現載體添加至無菌0.4 cm Gene Pulser/MicroPulser光析管(Biorad, 目錄號165-2081)。添加含2.5×10^6個人類4-1BB HeLa純系5細胞之400 μl不含補充劑之DMEM培養

基且與質體溶液小心混合。使用Gene Pulser Xcell完全系統(Biorad，目錄號165 2660)在以下設置下進行細胞之轉染：指數脈衝，電容500 μF，電壓160 V，電阻無限。在脈衝之後立即將經轉染之細胞轉移至具有15 mL 37℃溫熱的具有10% (v/v) FBS及1% (v/v) GlutaMAX-I之DMEM培養基的75 cm^2組織培養燒瓶(TPP，目錄號90075)中。第二天，添加含有3 μg/mL嘌呤黴素及200 μg/mL潮黴素B (Roche，目錄號10843555001)之培養基。擴增活細胞且如上文所描述進行有限稀釋以產生單一純系。

如上文所描述測試純系之4-1BB表現且如下測試NFκB-螢光素酶活性：在選擇培養基中收集純系且使用Cell Counter Vi-細胞xr 2.03 (Beckman Coulter，目錄號731050)計數。細胞設為細胞密度0.33×10^6個細胞/毫升且將150 μL此細胞懸浮液轉移至具有蓋子的無菌白色96孔平底組織培養盤(greiner bio one, 目錄號655083)之各孔中。細胞在37℃及5% CO_2下在細胞培育箱(Hera Cell)中培育隔夜。第二天，50 μL含有不同濃度之重組型人類腫瘤壞死因子α (rhTNFα，PeproTech，目錄號30001A)之培養基添加至96孔培養盤之各孔中達到100、50、25、12.5、6.25及0 ng/孔之rhTNFα之最終濃度。細胞在37℃及5% CO_2下培育6小時且接著用200 μL/孔DPBS洗滌。報導體裂解緩衝液(Promega，目錄號：E3971)添加至各孔(40 μL)中且培養盤在-20℃下儲存隔夜。第二天，將冷凍細胞培養盤及偵測緩衝液(Luciferase 1000分析系統，Promega，目錄號E4550)解凍至室溫。100 μL偵測緩衝液添加至各孔中且使用SpectraMax M5/M5e微板讀取器及SoftMax Pro軟體(Molecular Devices)儘可能快地量測盤。所量測之釋放光超過對照物(未添加rhTNFα)500毫秒/孔(URL)之單元視為螢光素酶活性。選擇呈現最高螢光素酶活性及大量4-1BB表現之HeLa-hu4-

1BB-NFκB-luc純系26用於進一步使用。

3.2.2 與FAP表現腫瘤細胞共培養之表現人類4-1BB報導體細胞株之HeLa細胞中之NFκB活化

採集HeLa-hu4-1BB-NFκB-luc純系26細胞且再懸浮於具有10% (v/v) FBS及1% (v/v) GlutaMAX-I之DMEM培養基中達到0.2×10^6個細胞/毫升之濃度。將100 μl此細胞懸浮液(2×10^4個細胞)轉移至具有蓋子之無菌白色96孔平底組織培養盤(greiner bio one，目錄號655083)之各孔中且培養盤在37℃及5% CO_2下培育隔夜。第二天添加50 μL含有滴定濃度之4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 1+1、4-1BB (20H4.9) huIgG4、4-1BB (20H4.9) huIgG1 P329G LALA或非靶向DP47 huIgG1 P329G LALA的培養基。將FAP表現人類黑素瘤細胞株WM-266-4(ATCC CRL-1676)再懸浮於供應有10 % (v/v) FBS及1 % (v/v) GlutaMAX-I之DMEM培養基中達2 × 10^6個細胞/毫升濃度。FAP表現WM-266-4細胞之懸浮液(50 μl)或培養基作為陰性對照添加至各孔，且將培養盤在細胞培育箱中在37℃及5% CO_2下培育6小時。細胞用200 μL/孔DPBS洗滌。40 μL新鮮製備之報導體裂解緩衝液(Promega，目錄號：E3971)添加至各孔中且盤在-20℃下儲存隔夜。第二天，在室溫下解凍冷凍細胞培養盤及偵測緩衝液(Luciferase 1000分析系統，Promega，目錄號E4550)。100 μL偵測緩衝液添加至各孔中且使用SpectraMax M5/M5e微板讀取器及SoftMax Pro軟體(Molecular Devices)儘可能快地量測螢光素酶活性。

圖10D及10E中使用4-1BB表現報導體細胞株展示4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 1+1 (黑色實心菱形)、4-1BB (20H4.9) huIgG4 (空心黑色六邊形，點線)、4-1BB (20H4.9) huIgG1 P329G LALA (實心灰色正方形)或

非靶向DP47 huIgG1 P329G LALA (空心灰色圓形，點線)之活化特性。**圖10D**中測試不存在FAP表現WM-266-4之情況下之活化特性，且**圖10E**中測試存在WM-266-4細胞之情況下的活化特性。在不存在任何交聯之情況下，僅在4-1BB (20H4.9) huIgG4 (空心黑色六邊形)可見活化，且對於含有惰性FcγR-結合Fc部分之4-1BB (20H4.9) huIgG1 P329G LALA (實心灰色正方形)達更小程度。在FAP交聯4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 1+1 (黑色菱形)存在下歸因於其同時結合之能力及因此FAP介導之報導體細胞株HeLa-hu4-1BB-NFκB-Luc純系26細胞表面上的4-1BB受體的交聯而展示最強活化潛能。EC_{50}值及曲線下面積(AUC)列於**表16**中，且AUC值亦在**圖11A至11C**中展示。

表16：FAP表現腫瘤細胞存在下之NFκB信號傳導路徑之活化的EC_{50}值及曲線下面積(AUC)

	4-1BB (20H4.9) huIgG4	4-1BB (20H4.9) x FAP (4B9) 1+1	4-1BB (20H4.9) huIgG1 P329G LALA	非靶向DP47 huIgG1 P329G LALA
無細胞EC_{50}平均(SD)，nM	0.33 (0.003)	n.d.	1.26 (0.96)	n.d.
WM-266-4 EC_{50}平均(SD)，nM	1.06 (0.79)	0.50 (0.12)	n.d.	n.d.
無細胞AUC平均(SD)	10581 (1069)	4453 (1356)	4279 (281)	5375 (149)
WM-266-4 AUC平均(SD)	6108 (896)	12451 (718)	6269 (1206)	5880 (502)

實例4

二價結合於4-1BB及具有非靶向VH及VL部分之雙特異性抗原結合分子(對照分子)之製備、純化及特徵化

4.1 產生二價結合於4-1BB及具有非靶向VH及VL部分之雙特異性抗體(DP47生殖系對照)

二價結合4-1BB及含有非靶向(DP47)VH及VL部分之雙特異性促效4-

1BB抗體類似於實例1中之2+1形式且如**圖1A**及**圖1B**中所描繪製備。

在此實例中構築體之HC1之第一重鏈包含以下組分：抗4-1BB (純系20H4.9)之VHCH1，隨後Fc臼，在該C末端融合有非結合純系(DP47)之VL或VH。第二重鏈HC2包含抗-4-1BB (純系20H4.9)之VHCH1，隨後Fc杵，在該C末端融合有非結合純系(DP47)之VH或VL。對於4-1BB結合子，純系20H4.9之VH及VL序列獲自US7659384(B2)。Fc杵與Fc臼鏈之組合允許產生雜二聚體，其包括非結合部分(DP47)及兩個4-1BB結合Fab (圖1A及圖1B)。

根據國際專利申請公開案第WO2012/130831A1號中描述之方法，將Pro329Gly、Leu234Ala及Leu235Ala突變引入杵及臼重鏈之恆定區以消除與Fcγ受體之結合。

2+1 抗4-1BB、融合於杵之非靶向(DP47)VH及融合於臼鏈之VL的胺基酸序列可分別發現於表17中。2+1 抗4-1BB、融合於杵之非靶向(DP47)VL及融合於臼鏈之VH的胺基酸序列可分別發現於表18中。

表17：雙特異性二價抗**4-1BB**/非靶向DP47人類IgG1 P329GLALA抗原結合分子(DP47 VL融合於Fc臼鏈且VH融合於Fc杵鏈之構築體，下文稱為臼-VL)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
128	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL (DP47)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK

		AKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTL TISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGQGTKVEIK
129	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (DP47)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GSGFDYWGQGTLVTVSS
46	VLCL-輕鏈 (20H4.9)	參見表1

表18：雙特異性二價抗**4-1BB**/單價DP47人類IgG1 P329GLALA抗原結合分子(DP47 VH融合於Fc臼鏈且VL融合於Fc杵鏈之構築體，稱為臼-VH)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
130	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (DP47)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY

		RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAM SWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGSGFDYWGQG TLVTVSS
131	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵- VL (DP47)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRA SQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFS GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGQGT KVEIK
46	VLCL- 輕 鏈 (20H4.9)	參見表1

使用聚乙烯亞胺，藉由用哺乳動物表現載體共轉染HEK293-EBNA細胞製備雙特異性2+1抗4-1BB DP47 huIgG1 P329GLALA抗原結合分子。細胞用相應表現載體以1:1:1比率(「載體杵重鏈」:「載體輕鏈」:「載體臼重鏈」)轉染。如實例1中所述進行製造。

實例5

二價結合於小鼠4-1BB且單價結合於FAP之雙特異性抗原結合分子之製備、純化及特徵化

5.1 產生二價結合於小鼠4-1BB且單價結合於FAP之雙特異性抗體

二價結合4-1BB且單價結合FAP之雙特異性促效小鼠4-1BB抗體(亦稱為2+1)已類似於**圖1A**及**圖1B**製備。在此實例中，構築體之第一重鏈HC1包含以下組分：抗4-1BB (純系MU137-1)之VHCH1，隨後含有突變Lys392Asp及Lys409Asp之Fc (稱為Fc-DD)，在該C末端融合有抗FAP結合子(純系28H1)之VL或VH。第二重鏈HC2包含抗4-1BB (純系MU137-1)之VHCH1，隨後含有突變Glu356Lys及Asp399Lys之Fc (稱為Fc-KK)，在該C末端融合有抗FAP結合子(純系28H1)之VH或VL。用於促進抗體Fc雜二聚體形成之DDKK突變尤其描述於Gunasekaran等人, J. Biol. Chem. 2010,19637-19646。靶向抗FAP-Fc DD與抗4-1BB-Fc KK鏈之組合允許產生雜二聚體，其包括FAP結合部分及兩個鼠類小鼠4-1BB結合Fab (圖1A及圖1B)。

根據例如Baudino等人 J. Immunol. (2008), 181, 6664-6669或WO 2016/030350 A1中所描述之方法在重鏈之恆定區中引入DAPG突變以消除與小鼠Fc γ受體之結合。簡言之，已在Fc-DD及Fc-KK重鏈之恆定區中引入Asp265Ala及Pro329Gly突變以消除與Fc γ受體之結合(根據Kabat EU索引編號；亦即D265A，P329G)。

a-FAP(28H1) VH融合於Fc-KK且VL融合於Fc-DD鏈之2+1 抗4-1BB (MU137-1)、抗FAP (28H1)構築體之胺基酸序列可分別發現於**表19**中。a-FAP(28H1) VL融合於Fc-KK且VH融合於Fc-DD鏈之2+1 抗4-1BB (MU137-1)、抗FAP (28H1)構築體之胺基酸序列可分別發現於**表20**中。

表19：雙特異性二價抗**4-1BB** (MU137-1)/抗FAP (28H1)小鼠IgG1 DAPG抗原結合分子(FAP VL融合於Fc-DD鏈且VH融合於Fc-KK鏈之構築體，下文亦稱為Fc-DD-VL)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
132	VHCH1 (MU137-1)- 重 鏈 Fc-DD-VL (28H1)	DVQLVESGGGLVQPGRSLKLSCAASGFIFSYFDMAWVR QAPTKGLEWVASISPSGDIPYYRDSVKGRFTVSRENAK SSLYLQMDSLRSEDTATYYCARRSYGGYSELDYWGQG VMVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVK GYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVT VPSSTWPSQTVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCI CTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVAISKDDP EVQFSWFVDDVEVHTAQTKPREEQINSTFRSVSELPIM HQDWLNGKEFKCRVNSAAFGAPIEKTISKTKGRPKAPQ VYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITNFFPEDITVEWQWNG QPAENYDNTQPIMDTDGSYFVYSDLNVQKSNWEAGNT FTCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSRSY LAWYQQKPGQAPRLLIIGASTRATGIPDRFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYCQQGQVIPPTFGQGTKVEIK
133	VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fc-KK-VH (28H1)	DVQLVESGGGLVQPGRSLKLSCAASGFIFSYFDMAWVR QAPTKGLEWVASISPSGDIPYYRDSVKGRFTVSRENAK SSLYLQMDSLRSEDTATYYCARRSYGGYSELDYWGQG VMVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVK GYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVT VPSSTWPSQTVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCI CTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVAISKDDP EVQFSWFVDDVEVHTAQTKPREEQINSTFRSVSELPIM HQDWLNGKEFKCRVNSAAFGAPIEKTISKTKGRPKAPQ VYTIPPPKKQMAKDKVSLTCMITNFFPEDITVEWQWNG QPAENYKNTQPIMKTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNT FTCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS HAMSWVRQAPGKGLEWVSAIWASGEQYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGWLGNFD YWGQGTLVTVSS
134	VLCL- 輕 鏈 (MU137-1)	DIQMTQSPASLSASLEEIVTITCQASQDIGNWLAWYHQ KPGKSPQLLIYGTSSLADGVPSRFSGSSSGSQYSLKISRL QVEDIGIYYCLQAYGAPWTFGGGTKLELKRADAAPTV SIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSE

		RQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNS YTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC

表20：雙特異性二價抗**4-1BB** (MU137-1)/單價抗FAP (28H1)小鼠IgG1 DAPG抗原結合分子(FAP VH融合於Fc-DD鏈且VL融合於Fc-KK鏈之構築體，稱為Fc-DD-VH)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
135	VHCH1 (MU137-1)- 重鏈 Fc-DD-VH (28H1)	DVQLVESGGGLVQPGRSLKLSCAASGFIFSYFDMAWVR QAPTKGLEWVASISPSGDIPYYRDSVKGRFTVSRENAK SSLYLQMDSLRSEDTATYYCARRSYGGYSELDYWGQG VMVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVK GYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVT VPSSTWPSQTVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCI CTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVAISKDDP EVQFSWFVDDVEVHTAQTKPREEQINSTFRSVSELPIM HQDWLNGKEFKCRVNSAAFGAPIEKTISKTKGRPKAPQ VYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITNFFPEDITVEWQWNG QPAENYDNTQPIMDTDGSYFVYSDLNVQKSNWEAGNT FTCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS HAMSWVRQAPGKGLEWVSAIWASGEQYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGWLGNFD YWGQGTLVTVSS
136	VHCH1 (MU137-1)- 重鏈 Fc-KK-VL (28H1)	DVQLVESGGGLVQPGRSLKLSCAASGFIFSYFDMAWVR QAPTKGLEWVASISPSGDIPYYRDSVKGRFTVSRENAK SSLYLQMDSLRSEDTATYYCARRSYGGYSELDYWGQG VMVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVK GYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVT VPSSTWPSQTVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCI CTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVAISKDDP EVQFSWFVDDVEVHTAQTKPREEQINSTFRSVSELPIM HQDWLNGKEFKCRVNSAAFGAPIEKTISKTKGRPKAPQ VYTIPPPKKQMAKDKVSLTCMITNFFPEDITVEWQWNG QPAENYKNTQPIMKTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNT FTCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSRSY LAWYQQKPGQAPRLLIIGASTRATGIPDRFSGSGSGTDF

		TLTISRLEPEDFAVYYCQQGQVIPPTFGQGTKVEIK
134	VLCL-輕鏈 (MU137-1)	參見表19

藉由使用eviFect (Evitria AG)共轉染懸浮液中生長之CHO-K1細胞及哺乳動物表現載體來製備雙特異性2+1抗4-1BB抗FAP muIgG1 DAPG。細胞用相應表現載體以1:1:1比率(「載體Fc-DD重鏈」:「載體輕鏈」:「載體Fc-KK重鏈」)轉染。

為了轉染，將CHO-K1細胞以不含血清之懸浮液培養於eviMake (Evitria AG)培養基中。在培育箱中在37℃下5% CO_2氛圍下7天後，收集培養清液層用於藉由離心純化，且將溶液無菌過濾(0.22 mm過濾器)並保持於4℃下。

藉由親和層析，使用蛋白A，隨後尺寸排阻層析，自細胞培養物清液層純化所分泌之蛋白質。對於親和層析，將清液層加載至用40 mL 20 mM磷酸鈉、20 mM檸檬酸鈉pH 7.5平衡之蛋白A MabSelectSure管柱(CV = 5 mL，GE Healthcare)上。藉由用至少10管柱體積之含有20 mM磷酸鈉、20 mM檸檬酸鈉(pH 7.5)的緩衝液洗滌來移除未結合之蛋白質。結合之蛋白質使用超過15管柱體積之20 mM檸檬酸鈉、100 mM NaCl、100 mM甘胺酸，pH 3.0產生之線性pH梯度之氯化鈉(20至100 mM)溶離。隨後用10管柱體積之20 mM檸檬酸鈉、100 mM NaCl、100 mM甘胺酸，pH 3.0洗滌管柱。藉由添加1/40 (v/v) 2 M Tris，pH 8.0來調節所收集之溶離份之pH值。將蛋白質進行濃縮且過濾，隨後加載至用20 mM組胺酸、140 mM NaCl，pH 6.0平衡之HiLoad Superdex 16/600 S200管柱(GE Healthcare)上。

藉由使用基於胺基酸序列計算之莫耳消光係數量測280 nm下的OD來測定經純化的雙特異性構築體的蛋白質濃度。使用LabChipGXII

(Caliper)在有及無還原劑(Invitrogen, USA)存在下藉由CE-SDS分析雙特異性構築體之純度及分子量。在25℃下，使用在25 mM K_2HPO_4、125 mM NaCl、200 mM L-精胺酸單鹽酸鹽、0.02% (w/v) NaN_3，pH 6.7操作緩衝液中平衡之TSKgel G3000 SW XL分析型尺寸排阻管柱(Tosoh)分析雙特異性構築體之聚集物含量。

表21-二價結合於4-1BB且單價結合於FAP之雙特異性抗原結合分子(2+1)抗4-1BB (MU137-1)、抗FAP (28H1)小鼠IgG1 DAPG的生物化學分析

分子	單體[%]	產量[mg/l]	CE-SDS (非還原性)
4-1BB (MU137-1)/ FAP(28H1) DAPG IgG1 2+1 (Fc-DD-VL)	98	3.6	92

5.2 使用小鼠脾細胞活化分析之功能性活體外特徵化

對於功能性分析，將小鼠脾細胞與小鼠纖維母細胞細胞株NIH/3T3-小鼠FAP純系36共培養。藉由用在CMV啟動子下編碼小鼠FAP之表現質體轉染親本NIH/3T3細胞株(ATCC-美國典型培養物保藏中心(American Type Culture Collection)，CRL-1658)獲得小鼠纖維母細胞細胞株NIH/3T3-小鼠FAP純系36。細胞NIH/3T3-小鼠FAP純系36在1.5 μg/mL嘌呤黴素(InvivoGen，目錄號：ant-pr-5)存在下保持於供應有10% FBS (Gibco，Life Technologies，γ照射，加熱滅活)及1% (v/v)GlutaMAX-I (GIBCO，Life Technologies，目錄號35050-038)的DMEM (GIBCO，Life Technologies，目錄號42430-082)中。對於功能性分析，自6-8週齡雌性C57BL/6小鼠分離小鼠脾置於無菌DPBS (Gibco，Life Technologies，目錄號14190136)中。藉由70 μm Falcon®細胞過濾器(Corning，目錄號352350)分離脾且在供應有10%胎牛血清(FBS，Gibco，Life Technologies，γ照射，加熱滅活)、1% (v/v) GlutaMAX-I

(GIBCO，Life Technologies，目錄號35050-038)、1 mM丙酮酸鈉(SIGMA-Aldrich，目錄號S8636)及50 μM β-巰基乙醇之RPMI 1640培養基(Gibco，Life Technologies，目錄號42401-042)中濾過30 μm預分離過濾器(Miltenyi Biotec，目錄號130-041-407)來製備單個細胞脾細胞懸浮液。藉由將細胞再懸浮於ACK裂解緩衝液(0.15M NH4CL，10 mM KHCO3，0.1mM EDTA於雙蒸餾水(ddH_2O，pH 7.2)中且在RT下培育10分鐘裂解紅血球。用FBS停止裂解，用無菌DPBS洗滌細胞且用0.5 μM CellTrace紫色細胞增殖染料-標記(Cell tracer，目錄號C34557)在37℃ PBS中標記10分鐘。用FBS停止標記。在96孔組織培養圓底盤(TTP，目錄號92097)中將0.15×10^6紫色細胞增殖染料標記之脾細胞與0.02×10^6黏附50 Gy輻射NIH/3T3-小鼠FAP純系36細胞、0.5 μg/mL (約3.57 nM)促效抗小鼠CD3亞美尼亞倉鼠IgG (純系145-2C11，BD，目錄號553057)及不同滴定濃度之促效小鼠4-1BB抗體抗體(純系MU137-1)或對照(LEAF純化之小鼠IgG1 k同型對照純系MOPC-21，BioLegend，目錄號400153)在200 μL/孔供應有10%胎牛血清(FBS，Gibco，Life Technologies，γ照射，加熱滅活)、1% (v/v) GlutaMAX-I (GIBCO，Life Technologies，目錄號35050-038)、1 mM丙酮酸鈉(SIGMA-Aldrich，目錄號S8636)及50 μM β-巰基乙醇之RPMI 1640培養基(Gibco，Life Technologies，目錄號42401-042)中共培養四天。

四天後，細胞用FACS緩衝液洗滌且在4℃下在50 μL/孔含有1:5000稀釋之LIVE/DEAD Fixable Aqua死細胞染料之低溫DPBS中染色30分鐘。在用PBS洗滌細胞後，將細胞在4℃下在50 μL/孔含有抗小鼠CD8a 大鼠IgG2a-APC/Cy7 (BioLegend，目錄號100714，純系53-6.7)、抗小鼠

CD4大鼠IgG2b，κ-APC (BioLegend，目錄號100412，純系GK1.5)、抗小鼠CD137 (4-1BB)敍利亞倉鼠IgG-PE (BioLegend，目錄號106106，純系17B5)及抗小鼠CD25-PErCP-Cy5.5 大鼠IgG2b (BioLegend，目錄號1019112)之低溫FACS緩衝液中染色30分鐘。洗滌細胞且在4℃下在新鮮製備之Fix/Perm緩衝液(Foxp3/轉錄因子染色緩衝液組合，eBioscience，目錄號00-5523-00)中培育30分鐘。洗滌之後，細胞在4℃下用50 μL/孔含有抗小鼠顆粒酶B-大鼠IgG2b-PE (eBioscience，目錄號128822，純系16G6)之Perm-緩衝液染色1小時。隨後洗滌細胞，再懸浮於FACS緩衝液中且使用3雷射MACSQuant分析器10 (Miltenyi Biotech)收集並使用FlowJo v10.0.7 (FlowJo LLC)分析。

如**圖14A**至**14J**中所示，用0.5 μg/mL促效抗小鼠CD3亞美尼亞倉鼠IgG(信號1)以及交聯促效抗小鼠4-1BB抗體活化小鼠T細胞引起增殖增加，引起$CD8^+$ T細胞(**圖14A**)及$CD4^+$ T細胞(**圖14B**)中4-1BB表現增加，$CD8^+$ T細胞(**圖14C**)及$CD4^+$ T細胞(**圖14D**)中CD25表現增加，$CD8^+$ T細胞(**圖14E**)及$CD4^+$ T細胞(**圖14F**)中表現顆粒酶B，$CD8^+$ T細胞(**圖14G**)及$CD4^+$ T細胞(**圖14H**)中增殖及尺寸增大，由$CD8^+$ T細胞(**圖14I**)及$CD4^+$ T細胞(**圖14J**)中側向散射值增加所展示。為了4-1BB協同性，促效抗小鼠純系MU137-1必須交聯。此藉由FcγR交聯(實心黑色菱形，小鼠4-1BB (MU137-1) moIgG1)介導，如**圖14H**中由CD4增殖略微增加所示，或以強得多的方式經由雙特異性FAP結合(灰色星形，點線，小鼠4-1BB (MU137-1) x FAP (28H1) moIgG1 DAPG 2+1)介導，如**圖14A至14F**及**圖14H至14J**中所示。小鼠4-1BB (MU137-1) moIgG1 DAP抗體(空心黑色菱形，點線)不結合FcγR，且因此交聯現相較於背景具有協同效應。

實例6

二價結合於4-1BB且單價結合於CEA之雙特異性抗原結合分子之製備、純化及特徵化

6.1 產生二價結合於4-1BB且單價結合於CEA之雙特異性抗體

二價結合4-1BB且單價結合CEA之雙特異性促效4-1BB抗體(亦稱為2+1)如**圖1A及圖1B**中所描繪製備。藉由在第一重鏈HC1 (Fc杵重鏈)中引入S354C/T366W突變及在第二重鏈HC2 (Fc臼重鏈)中引入Y349C/T366S/L368A/Y407V突變來施用杵-臼技術，以允許產生雜二聚體。

在此實例中，構築體之第一重鏈HC1包含以下組分：抗4-1BB結合子(純系20H4.9)之VHCH1，隨後Fc杵，在該C末端融合有抗CEA結合子(純系T84.66-LCHA或A5B7)之VL或VH。第二重鏈HC2包含抗4-1BB之VHCH1，隨後Fc臼，在該C末端融合有抗CEA結合子(純系T84.66-LCHA或A5B7)之各別VH或VL。CEA結合子T84.66-LCHA之產生及製備描述於WO 2016/075278 A2中，其以引用之方式併入本文中。CEA純系A5B7之VH及VL序列獲自WO 2007/071426且衍生自鼠類抗CEA純系A5B7。對於4-1BB結合子，根據US 7,288,638 B2或US 7,659,384 B2獲得純系20H4.9之VH及VL序列。兩個重鏈之組合允許產生雜二聚體，其包括CEA結合部分及兩個4-1BB結合Fab (**圖1A及圖1B**)。

根據國際專利申請公開案第WO2012/130831A1號中描述之方法，將Pro329Gly、Leu234Ala及Leu235Ala突變引入杵及臼重鏈之恆定區以消除與Fcγ受體之結合。

使用聚乙烯亞胺藉由用哺乳動物表現載體共轉染HEK293-EBNA細

胞來製造雙特異性2+1抗4-1BB抗CEA huIgG1 P329GLALA抗體。細胞用相應表現載體以1:1:1比率(「載體杵重鏈」:「載體輕鏈」:「載體臼重鏈」)轉染。

a-CEA (T84.66-LCHA) VH融合於Fc杵重鏈且VL融合於Fc臼重鏈之2+1抗4-1BB、抗CEA構築體之鹼基對及胺基酸序列可分別在**表22**中發現。

表22：雙特異性二價抗**4-1BB/**單價抗CEA (T84.66-LCHA)人類IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-CEA VL融合於Fc臼鏈且VH融合於Fc杵鏈之構築體，稱為臼-VL)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
63	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL (T84.66-LCHA) (核苷酸序列)	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGAGCCGGCCTGCTG AAGCCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCGCCGTG TACGGCGGCAGCTTCAGCGGCTACTACTGGTCCTGGA TCCGGCAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAATGGATCG GCGAGATCAACCACGGCGGCTACGTGACCTACAACC CCAGCCTGGAAAGCAGAGTGACCATCAGCGTGGACA CCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCG TGACAGCCGCCGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCA GAGACTACGGCCCTGGCAACTACGACTGGTACTTCG ACCTGTGGGGCAGAGGCACCCTGGTGACAGTGTCCA GCGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGC ACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGC CCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC GGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAG CGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCA GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCT CCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACG TGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA AAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACAT GCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGAC CGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACAC CCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAG TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATG CCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGC ACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGG TCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAA CCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAC AGGTGTGCACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGAC CAAGAACCAGGTCAGCCTCTCGTGCGCAGTCAAAGG CTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCT CCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCGTGA GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAG GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTC TGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGT

		CTCCGGGTGGAGGCGGCGGAAGCGGAGGAGGAGGA TCCGGCGGCGGAGGTTCCGGAGGCGGAGGATCCGAG ATCGTGCTGACCCAGAGCCCTGCCACCCTGTCACTGT CTCCAGGCGAGAGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCG GCGAGAGCGTGGACATCTTCGGCGTGGGATTTCTGCA CTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCCAGACT GCTGATCTACAGAGCCAGCAACCGGGCCACAGGCAT CCCCGCCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGAC TTCACCCTGACAATCAGCAGCCTGGAACCCGAGGAC TTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGACCAACGAGGAC CCCTACACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATC AAG
64	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (T84.66-LCHA) (核苷酸序列)	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGAGCCGGCCTGCTG AAGCCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCGCCGTG TACGGCGGCAGCTTCAGCGGCTACTACTGGTCCTGGA TCCGGCAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAATGGATCG GCGAGATCAACCACGGCGGCTACGTGACCTACAACC CCAGCCTGGAAAGCAGAGTGACCATCAGCGTGGACA CCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCG TGACAGCCGCCGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCA GAGACTACGGCCCTGGCAACTACGACTGGTACTTCG ACCTGTGGGGCAGAGGCACCCTGGTGACAGTGTCCA GCGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGC ACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGC CCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC GGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAG CGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCA GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCT CCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACG TGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA AAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACAT GCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGAC CGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACAC CCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAG TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATG CCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGC ACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGG

		TCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAA CCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAC AGGTGTACACCCTGCCCCCCTGCAGAGATGAGCTGA CCAAGAACCAGGTGTCCCTGTGGTGTCTGGTCAAGG GCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGAG CAACGGCCAGCCTGAGAACAACTACAAGACCACCCC CCCTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTAC TCCAAACTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGCAG GGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCC CTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTG AGCCCCGGCGGAGGCGGCGGAAGCGGAGGAGGAGG ATCTGGGGGCGGAGGTTCCGGAGGCGGTGGATCTCA GGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAA ACCCGGCAGCAGCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCAG CGGCTTCAACATCAAGGACACCTACATGCACTGGGTG CGCCAGGCCCCTGGACAGGGACTGGAATGGATGGGC AGAATCGACCCCGCCAACGGCAACAGCAAATACGTG CCCAAGTTCCAGGGCAGAGTGACCATCACCGCCGAC ACCAGCACCTCCACCGCCTACATGGAACTGAGCAGC CTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCC CCCTTCGGCTACTACGTGTCCGACTACGCCATGGCCTA TTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTGTCCTCT
43	VLCL-輕鏈 (20H4.9) (核苷酸序列)	參見表1
65	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼- VL (T84.66- LCHA)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA GESVDIFGVGFLHWYQQKPGQAPRLLIYRASNRATGIP

		ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQTNEDPYTF GQGTKLEIK
66	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (T84.66-LCHA)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCK ASGFNIKDTYMHWVRQAPGQGLEWMGRIDPANGNSK YVPKFQGRVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAP FGYYVSDYAMAYWGQGTLVTVSS
46	VLCL-輕鏈 (20H4.9)	參見表1

a-CEA (T84.66-LCHA) VL融合於Fc杵重鏈且VH融合於Fc臼重鏈之2+1抗4-1BB、抗CEA (T84.66-LCHA)構築體之鹼基對及胺基酸序列可分別在**表23**中發現。

表23：雙特異性二價抗**4-1BB/**單價抗CEA (T84.66-LCHA)人類IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-CEA VH融合於Fc臼鏈且VL融合於Fc杵鏈之構築體，稱為臼-VH)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
67	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (T84.66-LCHA) (核苷酸序列)	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGAGCCGGCCTGCTG AAGCCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCGCCGTG TACGGCGGCAGCTTCAGCGGCTACTACTGGTCCTGGA TCCGGCAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAATGGATCG GCGAGATCAACCACGGCGGCTACGTGACCTACAACC CCAGCCTGGAAAGCAGAGTGACCATCAGCGTGGACA CCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCG

		TGACAGCCGCCGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCA GAGACTACGGCCCTGGCAACTACGACTGGTACTTCG ACCTGTGGGGCAGAGGCACCCTGGTGACAGTGTCCA GCGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGC ACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGC CCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC GGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAG CGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCA GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCT CCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACG TGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA AAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACAT GCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGAC CGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACAC CCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAG TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATG CCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGC ACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGG TCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAA CCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAC AGGTGTGCACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGAC CAAGAACCAGGTCAGCCTCTCGTGCGCAGTCAAAGG CTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCT CCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCGTGA GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAG GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTC TGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGT CTCCGGGTGGAGGCGGCGGAAGCGGAGGAGGAGGA TCCGGCGGCGGAGGTTCCGGAGGCGGAGGATCCCAG GTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAA CCCGGCAGCAGCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGC GGCTTCAACATCAAGGACACCTACATGCACTGGGTGC GCCAGGCCCCTGGACAGGGACTGGAATGGATGGGCA GAATCGACCCCGCCAACGGCAACAGCAAATACGTGC CCAAGTTCCAGGGCAGAGTGACCATCACCGCCGACA CCAGCACCTCCACCGCCTACATGGAACTGAGCAGCC

		TGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCC CCTTCGGCTACTACGTGTCCGACTACGCCATGGCCTAT TGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTGTCCTCT
68	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (T84.66-LCHA) (核苷酸序列)	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGAGCCGGCCTGCTG AAGCCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCGCCGTG TACGGCGGCAGCTTCAGCGGCTACTACTGGTCCTGGA TCCGGCAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAATGGATCG GCGAGATCAACCACGGCGGCTACGTGACCTACAACC CCAGCCTGGAAAGCAGAGTGACCATCAGCGTGGACA CCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCG TGACAGCCGCCGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCA GAGACTACGGCCCTGGCAACTACGACTGGTACTTCG ACCTGTGGGGCAGAGGCACCCTGGTGACAGTGTCCA GCGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGC ACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGC CCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC GGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAG CGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCA GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCT CCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACG TGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA AAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACAT GCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGAC CGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACAC CCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAG TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATG CCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGC ACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGG TCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAA CCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAC AGGTGTACACCCTGCCCCCCTGCAGAGATGAGCTGA CCAAGAACCAGGTGTCCCTGTGGTGTCTGGTCAAGG GCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGAG CAACGGCCAGCCTGAGAACAACTACAAGACCACCCC CCCTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTAC TCCAAACTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGCAG GGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCC

		CTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTG AGCCCCGGCGGAGGCGGCGGAAGCGGAGGAGGAGG ATCTGGGGGCGGAGGTTCCGGAGGCGGTGGATCTGA GATCGTGCTGACCCAGAGCCCTGCCACCCTGTCACTG TCTCCAGGCGAGAGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCC GGCGAGAGCGTGGACATCTTCGGCGTGGGATTTCTGC ACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCCAGAC TGCTGATCTACAGAGCCAGCAACCGGGCCACAGGCA TCCCCGCCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGA CTTCACCCTGACAATCAGCAGCCTGGAACCCGAGGA CTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGACCAACGAGGA CCCCTACACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAAT CAAG
43	VLCL-輕鏈(20H4.9)(核苷酸序列)	參見表1
69	VHCH1(20H4.9)-重鏈臼-VH (T84.66-LCHA)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCK ASGFNIKDTYMHWVRQAPGQGLEWMGRIDPANGNSK YVPKFQGRVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAP FGYYVSDYAMAYWGQGTLVTVSS
70	VHCH1(20H4.9)-重鏈杵-VL (T84.66-LCHA)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV

		DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA GESVDIFGVGFLHWYQQKPGQAPRLLIYRASNRATGIP ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQTNEDPYTF GQGTKLEIK
46	VLCL-輕鏈(20H4.9)	參見表1

a-CEA (A5B7) VH融合於Fc杵重鏈且VL融合於Fc臼重鏈之2+1抗4-1BB、抗CEA構築體之鹼基對及胺基酸序列可分別發現於**表24**中。分子稱為2+1 4-1BB (20H4.9)/CEA(A5B7)人類IgG1 PGLALA $(G_4S)_4$，臼VL。

表24：雙特異性二價抗**4-1BB**/單價抗CEA (A5B7)人類IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-CEA VL融合於Fc臼鏈且VH融合於Fc杵鏈之構築體，稱為臼-VL)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
71	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL (A5B7) (核苷酸序列)	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGAGCCGGCCTGCTG AAGCCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCGCCGTG TACGGCGGCAGCTTCAGCGGCTACTACTGGTCCTGGA TCCGGCAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAATGGATCG GCGAGATCAACCACGGCGGCTACGTGACCTACAACC CCAGCCTGGAAAGCAGAGTGACCATCAGCGTGGACA CCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCG TGACAGCCGCCGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCA GAGACTACGGCCCTGGCAACTACGACTGGTACTTCG ACCTGTGGGGCAGAGGCACCCTGGTGACAGTGTCCA GCGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGC ACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGC CCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC GGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAG CGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCA GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCT

		CCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACG TGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA AAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACAT GCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGAC CGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACAC CCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAG TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATG CCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGC ACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGG TCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAA CCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAC AGGTGTGCACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGAC CAAGAACCAGGTCAGCCTCTCGTGCGCAGTCAAAGG CTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCT CCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCGTGA GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAG GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTC TGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGT CTCCGGGTGGAGGCGGCGGAAGCGGAGGAGGAGGA TCCGGCGGCGGAGGTTCCGGAGGCGGAGGATCCCAG GCCGTGCTGACACAGCCTGCCAGCCTGTCTGCTTCTC CTGGCGCCTCTGCCTCCCTGACCTGCACACTGAGAA GAGGCATCAACGTGGGCGCCTACAGCATCTACTGGTA TCAGCAGAAGCCCGGCAGCCCCCCTCAGTACCTGCT GAGATACAAGAGCGACAGCGACAAGCAGCAGGGCA GCGGCGTGTCCAGCAGATTCAGCGCCAGCAAGGACG CCTCTGCCAACGCCGGAATCCTGCTGATCAGCGGCCT GCAGTCTGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCATGATC TGGCACTCTGGCGCCAGCGCCGTGTTTGGCGGAGGC ACAAAACTGACCGTGCTG
72	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (A5B7) (核苷酸序列)	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGAGCCGGCCTGCTG AAGCCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCGCCGTG TACGGCGGCAGCTTCAGCGGCTACTACTGGTCCTGGA TCCGGCAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAATGGATCG GCGAGATCAACCACGGCGGCTACGTGACCTACAACC CCAGCCTGGAAAGCAGAGTGACCATCAGCGTGGACA

		CCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCG TGACAGCCGCCGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCA GAGACTACGGCCCTGGCAACTACGACTGGTACTTCG ACCTGTGGGGCAGAGGCACCCTGGTGACAGTGTCCA GCGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGC ACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGC CCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC GGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAG CGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCA GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCT CCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACG TGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA AAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACAT GCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGAC CGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACAC CCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAG TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATG CCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGC ACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGG TCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAA CCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAC AGGTGTACACCCTGCCCCCCTGCAGAGATGAGCTGA CCAAGAACCAGGTGTCCCTGTGGTGTCTGGTCAAGG GCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGAG CAACGGCCAGCCTGAGAACAACTACAAGACCACCCC CCCTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTAC TCCAAACTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGCAG GGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCC CTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTG AGCCCCGGCGGAGGCGGCGGAAGCGGAGGAGGAGG ATCTGGGGGCGGAGGTTCCGGAGGCGGTGGATCTGA AGTGCAGCTGGTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCA GCCTGGCAGAAGCCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAG CGGCTTTACCGTGTCCAGCTACTGGATGCACTGGGTC CGACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTCGGA TTCATCAGAAACAAGGCCAACGGCGGCACCACCGAG TACGCCGCCTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCC

		GGGACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGA ACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACT GCGCCAGAGACAGAGGCCTGCGGTTCTACTTCGACT ACTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACAGTCTCTTCC
43	VLCL-輕鏈 (20H4.9) (核苷酸序列)	參見表1
73	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼- VL (A5B7)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSQAVLTQPASLSASPGASASLTCTL RRGINVGAYSIYWYQQKPGSPPQYLLRYKSDSDKQQGS GVSSRFSASKDASANAGILLISGLQSEDEADYYCMIWH SGASAVFGGGTKLTVL
74	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵- VH (A5B7)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCA ASGFTVSSYWMHWVRQAPGKGLEWVGFIRNKANGGT TEYAASVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARDRGLRFYFDYWGQGTTVTVSS

46	VLCL-輕鏈 (20H4.9)	參見表1

a-CEA (A5B7) VL融合於Fc杵重鏈且VH融合於Fc臼重鏈之2+1抗4-1BB、抗CEA (A5B7)構築體之鹼基對及胺基酸序列可分別發現於**表25**中。分子稱為2+1 4-1BB (20H4.9)/CEA(A5B7)人類IgG1 PGLALA $(G_4S)_4$，臼VH。

表25：雙特異性二價抗**4-1BB**/單價抗CEA (A5B7)人類IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-CEA VH融合於Fc臼鏈且VL融合於Fc杵鏈之構築體，稱為臼-VH)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
75	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (A5B7) (核苷酸序列)	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGAGCCGGCCTGCTG AAGCCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCGCCGTG TACGGCGGCAGCTTCAGCGGCTACTACTGGTCCTGGA TCCGGCAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAATGGATCG GCGAGATCAACCACGGCGGCTACGTGACCTACAACC CCAGCCTGGAAAGCAGAGTGACCATCAGCGTGGACA CCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCG TGACAGCCGCCGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCA GAGACTACGGCCCTGGCAACTACGACTGGTACTTCG ACCTGTGGGGCAGAGGCACCCTGGTGACAGTGTCCA GCGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGC ACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGC CCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC GGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAG CGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCA GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCT CCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACG TGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA AAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACAT GCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGAC CGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACAC CCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAG

		TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATG CCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGC ACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGG TCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAA CCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAC AGGTGTGCACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGAC CAAGAACCAGGTCAGCCTCTCGTGCGCAGTCAAAGG CTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCT CCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCGTGA GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAG GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTC TGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGT CTCCGGGTGGAGGCGGCGGAAGCGGAGGAGGAGGA TCCGGCGGCGGAGGTTCCGGAGGCGGAGGATCCGAA GTGCAGCTGGTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAG CCTGGCAGAAGCCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGC GGCTTTACCGTGTCCAGCTACTGGATGCACTGGGTCC GACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTCGGAT TCATCAGAAACAAGGCCAACGGCGGCACCACCGAGT ACGCCGCCTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCC GGGACGACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGA ACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACT GCGCCAGAGACAGAGGCCTGCGGTTCTACTTCGACT ACTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACAGTCTCTTCC
76	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (A5B7) (核苷酸序列)	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGAGCCGGCCTGCTG AAGCCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCGCCGTG TACGGCGGCAGCTTCAGCGGCTACTACTGGTCCTGGA TCCGGCAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAATGGATCG GCGAGATCAACCACGGCGGCTACGTGACCTACAACC CCAGCCTGGAAAGCAGAGTGACCATCAGCGTGGACA CCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCG TGACAGCCGCCGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCA GAGACTACGGCCCTGGCAACTACGACTGGTACTTCG ACCTGTGGGGCAGAGGCACCCTGGTGACAGTGTCCA GCGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGC ACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGC CCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC

		GGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAG CGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCA GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCT CCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACG TGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA AAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACAT GCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCTGCAGGGGGAC CGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACAC CCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAG TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATG CCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGC ACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGG TCTCCAACAAAGCCCTCGGCGCCCCCATCGAGAAAA CCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAC AGGTGTACACCCTGCCCCCCTGCAGAGATGAGCTGA CCAAGAACCAGGTGTCCCTGTGGTGTCTGGTCAAGG GCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGAG CAACGGCCAGCCTGAGAACAACTACAAGACCACCCC CCCTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTAC TCCAAACTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGCAG GGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCC CTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTG AGCCCCGGCGGAGGCGGCGGAAGCGGAGGAGGAGG ATCTGGGGGCGGAGGTTCCGGAGGCGGTGGATCTCA GGCCGTGCTGACACAGCCTGCCAGCCTGTCTGCTTCT CCTGGCGCCTCTGCCTCCCTGACCTGCACACTGAGAA GAGGCATCAACGTGGGCGCCTACAGCATCTACTGGTA TCAGCAGAAGCCCGGCAGCCCCCCTCAGTACCTGCT GAGATACAAGAGCGACAGCGACAAGCAGCAGGGCA GCGGCGTGTCCAGCAGATTCAGCGCCAGCAAGGACG CCTCTGCCAACGCCGGAATCCTGCTGATCAGCGGCCT GCAGTCTGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCATGATC TGGCACTCTGGCGCCAGCGCCGTGTTTGGCGGAGGC ACAAAACTGACCGTGCTG
43	VLCL-輕鏈 (20H4.9) (核苷酸序列)	參見表1

77	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (A5B7)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCA ASGFTVSSYWMHWVRQAPGKGLEWVGFIRNKANGGT TEYAASVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARDRGLRFYFDYWGQGTTVTVSS
78	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (A5B7)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSQAVLTQPASLSASPGASASLTCTL RRGINVGAYSIYWYQQKPGSPPQYLLRYKSDSDKQQGS GVSSRFSASKDASANAGILLISGLQSEDEADYYCMIWH SGASAVFGGGTKLTVL
46	VLCL-輕鏈 (20H4.9)	參見表1

a-CEA (A5B7) VH融合於Fc杵重鏈且VL融合於Fc臼重鏈之2+1抗4-1BB、抗CEA構築體之胺基酸序列可分別發現於**表26**中。分子稱為2+1 4-1BB (20H4.9)/CEA(A5B7)人類IgG1 PGLALA $(G_4S)_2$，臼VL。

表26：雙特異性二價抗**4-1BB**/單價抗CEA (A5B7)人類IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-CEA VL融合於Fc臼鏈且VH融合於Fc杵鏈之構築體，稱為臼-VL)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
137	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL (A5B7) (G4S)2	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSQAVLTQPASLSASPGASASLTCTLRRGINVGAYSI YWYQQKPGSPPQYLLRYKSDSDKQQGSGVSSRFSASK DASANAGILLISGLQSEDEADYYCMIWHSGASAVFGGG TKLTVL
74	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (A5B7)	參見表24
46	VLCL-輕鏈 (20H4.9)	參見表1

a-CEA (A5B7) VL融合於Fc杵重鏈且VH融合於Fc臼重鏈之2+1抗4-1BB、抗CEA (A5B7)構築體之胺基酸序列可分別發現於**表27**中。分子稱為2+1 4-1BB (20H4.9)/CEA(A5B7)人類IgG1 PGLALA $(G_4S)_2$，臼VH。

表27：雙特異性二價抗**4-1BB**/單價抗CEA (A5B7)人類IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-CEA VH融合於Fc臼鏈且VL融合於Fc杵鏈之構築體，稱為臼-VH)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
138	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (A5B7) (G4S)2	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTVSSYW MHWVRQAPGKGLEWVGFIRNKANGGTTEYAASVKGR FTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGLRFY FDYWGQGTTVTVSS
78	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (A5B7)	參見表25
46	VLCL-輕鏈 (20H4.9)	參見表1

用鼠類CEA純系A5B7P (如進一步描述於WO 92/01059中)及CEA純系431/26 (如進一步描述於EP 501215 A2中)製備其他實例。親本a-CEA (A5B7P) VH融合於Fc杵重鏈且VL融合於Fc臼重鏈之2+1抗4-1BB、抗CEA構築體之胺基酸序列可分別發現於**表28**中。分子稱為2+1 4-1BB (20H4.9)/CEA(A5B7P)人類IgG1 PGLALA，臼VL。

表28：雙特異性二價抗**4-1BB/**單價抗CEA (A5B7P)人類IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-CEA VL融合於Fc臼鏈且VH融合於Fc杵鏈之構築體，稱為$(G_4S)_4$臼-VL)之序列

SEQ ID	描述	序列

NO:		
195	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL (A5B7P)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSQTVLSQSPAILSASPGEKVTMTCR ASSSVTYIHWYQQKPGSSPKSWIYATSNLASGVPARFSG SGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQHWSSKPPTFGGGTK LEIK
196	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (A5B7P)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSEVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCA TSGFTFTDYYMNWVRQPPGKALEWLGFIGNKANGYTT EYSASVKGRFTISRDKSQSILYLQMNTLRAEDSATYYCT RDRGLRFYFDYWGQGTTLTVSS
46	VLCL-輕鏈 (20H4.9)	參見表1

a-CEA (A5B7P) VL融合於Fc杵重鏈且VH融合於Fc臼重鏈之2+1抗4-1BB、抗CEA (A5B7P)構築體之胺基酸序列可分別發現於**表29**中。分子

稱為2+1 4-1BB (20H4.9)/CEA(A5B7P)人類IgG1 PGLALA，$(G_4S)_4$，臼VH。

表 29：雙特異性二價抗**4-1BB/**單價抗CEA (A5B7P)人類IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-CEA VH融合於Fc臼鏈且VL融合於Fc杵鏈之構築體，稱為臼-VH)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
197	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (A5B7P)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSEVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCA TSGFTFTDYYMNWVRQPPGKALEWLGFIGNKANGYTT EYSASVKGRFTISRDKSQSILYLQMNTLRAEDSATYYCT RDRGLRFYFDYWGQGTTLTVSS
198	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (A5B7P)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSQTVLSQSPAILSASPGEKVTMTCR

		ASSSVTYIHWYQQKPGSSPKSWIYATSNLASGVPARFSG SGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQHWSSKPPTFGGGTK LEIK
46	VLCL-輕鏈(20H4.9)	參見表1

a-CEA (431/26) VH融合於Fc杵重鏈且VL融合於Fc臼重鏈之2+1抗4-1BB、抗CEA構築體之胺基酸序列可分別發現於**表30**中。分子稱為2+1 4-1BB (20H4.9)/CEA(431/26)人類IgG1 PGLALA，$(G_4S)_4$，臼VL。

表30：雙特異性二價抗**4-1BB/**單價抗CEA (431/26)人類IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-CEA VL融合於Fc臼鏈且VH融合於Fc杵鏈之構築體，稱為臼-VL)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
199	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL (431/26)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCS TSSSVSYMHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNLASGVPSRFS GSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCHQWSSYPTFGQGTK VEIK
200	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (431/26)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT

		CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVRPSQTLSLTCTV SGFTISSGYSWHWVRQPPGRGLEWIGYIQYSGITNYNPS LKSRVTMLVDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCAREDY DYHWYFDVWGQGSLVTVSS
46	VLCL-輕鏈(20H4.9)	參見表1

a-CEA (A5B7P) VL融合於Fc杵重鏈且VH融合於Fc臼重鏈之2+1抗4-1BB、抗CEA (431/26)構築體之胺基酸序列可分別發現於**表31**中。分子稱為2+1 4-1BB (20H4.9)/CEA(431/26)人類IgG1 PGLALA，$(G_4S)_4$，臼VH。

表31：雙特異性二價抗**4-1BB/**單價抗CEA (431/26)人類IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-CEA VH融合於Fc臼鏈且VL融合於Fc杵鏈之構築體，稱為臼-VH)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
201	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (431/26)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVRPSQTLSLTCTV

		SGFTISSGYSWHWVRQPPGRGLEWIGYIQYSGITNYNPS LKSRVTMLVDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCAREDY DYHWYFDVWGQGSLVTVSS
202	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (431/26)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCS TSSSVSYMHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNLASGVPSRFS GSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCHQWSSYPTFGQGTK VEIK
46	VLCL-輕鏈 (20H4.9)	參見表1

如針對雙特異性二價抗4-1BB及抗FAP huIgG1 P329GLALA(參見實例1.1)所描述製造及純化雙特異性抗4-1BB/抗CEA抗原結合分子。關於在500 mL搖瓶中製造，在轉染之前24小時接種4億個HEK293 EBNA細胞。關於轉染，使細胞在210×g下離心5分鐘，且用預溫熱之CD CHO培養基替換清液層。表現載體於20 mL CD CHO培養基中混合至200 µg DNA之最終量。在添加540 µL PEI之後，溶液渦旋15秒且在室溫下培育10分鐘。隨後，將細胞與DNA/PEI溶液混合，轉移至500 mL搖瓶中且在具有5% CO_2氛圍的培育箱中在37℃下培育3小時。在培育之後，添加160 mL F17培養基且培養細胞24小時。轉染一天後,添加1 mM丙戊酸及7%進料。在培養7天之後，藉由在210×g下離心15分鐘來收集細胞清液層。將溶液無菌過濾(0.22 µm過濾器)，補充疊氮化鈉至最終濃度係0.01% (w/v)，且保

持在4℃下。

藉由親和層析，使用蛋白A，隨後尺寸排阻層析，自細胞培養物清液層純化所分泌之蛋白質。對於親和層析，將清液層加載至用40 mL 20 mM磷酸鈉、20 mM檸檬酸鈉pH 7.5平衡之蛋白A MabSelectSure管柱(CV = 5 mL，GE Healthcare)上。藉由用至少10管柱體積之含有20 mM磷酸鈉、20 mM檸檬酸鈉(pH 7.5)的緩衝液洗滌來移除未結合之蛋白質。結合之蛋白質使用超過15管柱體積之20 mM檸檬酸鈉、100 mM氯化鈉、100 mM甘胺酸，pH 3.0產生之線性pH梯度之氯化鈉(20至100 mM)溶離。隨後用10管柱體積之20 mM檸檬酸鈉、100 mM NaCl、100 mM甘胺酸，pH 3.0洗滌管柱。藉由添加1/40 (v/v) 2 M Tris，pH 8.0來調節所收集之溶離份之pH值。將蛋白質進行濃縮且過濾，隨後加載至用20 mM組胺酸、140 mM氯化鈉，pH 6.0平衡之HiLoad Superdex 16/600 S200管柱(GE Healthcare)上。

藉由使用基於胺基酸序列計算之莫耳消光係數量測280 nm下的OD來測定經純化的雙特異性構築體的蛋白質濃度。使用LabChipGXII (Caliper)在有及無還原劑(Invitrogen, USA)存在下藉由CE-SDS分析雙特異性構築體之純度及分子量。在25℃下，使用在25 mM K_2HPO_4、125 mM NaCl、200 mM L-精胺酸單鹽酸鹽、0.02% (w/v) NaN_3，pH 6.7操作緩衝液中平衡之TSKgel G3000 SW XL分析型尺寸排阻管柱(Tosoh)分析雙特異性構築體之聚集物含量。

表32：2+1抗4-1BB、抗CEA人類IgG1 P329GLALA之生物化學分析

分子	單體[%]	產量[mg/l]	CE-SDS (非還原性)
2+1 4-1BB (20H4.9)/ CEA(T84.66-LCHA) 人類IgG1 PGLALA, $(G_4S)_4$,臼-VH (序列參見表23)	95.2	0.1	81
2+1 4-1BB (20H4.9)/ CEA(A5B7)人類 IgG1 PGLALA, $(G_4S)_2$,臼VH (序列參見表27)	99	5.1	82
2+1 4-1BB (20H4.9)/ CEA(A5B7)人類 IgG1 PGLALA $(G_4S)_4$,臼-VH (序列參見表25)	95.5	8.4	97.4
2+1 4-1BB (20H4.9)/ CEA(A5B7P)人類 IgG1 PGLALA, $(G_4S)_4$,臼-VH (序列參見表29)	95.5	54	97.6

6.2 功能性活體外特徵化：經由同時結合於4-1BB及CEA誘導NFκB活化的能力

6.2.1 產生表現人類4-1BB及NFκB-螢光素酶之HeLa細胞

子宮頸癌瘤細胞株HeLa (ATCC CCL-2)在CMV啟動子及嘌呤黴素抗性基因之控制下用基於表現載體pETR10829之質體轉導，該質體含有人類4-1BB (Uniprot寄存號Q07011)之序列。細胞在補充有10% (v/v)FBS、1% (v/v) GlutaMAX-I及3 μg/mL嘌呤黴素之DMEM培養基中培養。

藉由流式細胞量測術測試經4-1BB轉導之HeLa細胞之4-1BB表現：0.2×10^6個活細胞再懸浮於含有0.1 μg PerCP/Cy5.5結合之抗人類4-1BB小鼠IgG1κ純系4B4-1 (BioLegend目錄號309814)或其同型對照物(PerCP/Cy5.5結合之小鼠IgG1κ同型對照抗體純系MOPC 21，BioLegend目錄號400150)之100 μL FACS緩衝液中且在4℃下培育30分鐘。細胞用FACS緩衝劑洗滌兩次，再懸浮於含有0.06 μg DAPI (Santa Cruz Biotec，目錄號Sc-3598)之300 μL FACS緩衝液中且使用5-雷射LSR-

Fortessa (BD Bioscience, DIVA軟體)獲取。如所描述進行有限稀釋以產生單一純系：經人類4-1BB轉導之HeLa細胞再懸浮於培養基中達到10、5及2.5個細胞/毫升之密度且將200 μl細胞懸浮液轉移至經組織培養物處理之圓底96孔培養盤(6個盤/細胞濃度，TPP目錄號92697)中。收集單一純系，擴增且如上文所述測試4-1BB表現。選擇具有最高4-1BB表現之純系(純系5)用於隨後用NFκB-螢光素酶表現載體5495p Tranlucent HygB進行之轉染。載體賦予經轉染細胞對濕黴素B之耐藥性及在NFκB反應元件(Panomics, 目錄號LR0051)之控制下表現螢光素酶之能力。對於轉染，培養人類4-1BB HeLa純系5細胞達到70%匯合。50 μg (40 μL)線性化(限制酶AseI及SalI)5495p Tranlucent HygB表現載體添加至無菌0.4 cm Gene Pulser/MicroPulser光析管(Biorad，目錄號165-2081)中。添加含2.5×10^6個人類4-1BB HeLa純系5細胞之400 μl不含補充劑之DMEM培養基且與質體溶液小心混合。使用Gene Pulser Xcell完全系統(Biorad，目錄號1652660)在以下設置下進行細胞之轉染：指數脈衝，電容500 μF，電壓160 V，電阻無限。在脈衝之後立即將經轉染之細胞轉移至具有15 mL 37℃溫熱的具有10% (v/v) FBS及1% (v/v) GlutaMAX-I之DMEM培養基的75 cm^2組織培養燒瓶(TPP，目錄號90075)中。第二天，添加含有3 μg/mL嘌呤黴素及200 μg/mL潮黴素B (Roche，目錄號10843555001)之培養基。擴增活細胞且如上文所描述進行有限稀釋以產生單一純系。

如上文所描述測試純系之4-1BB表現且如下測試NFκB-螢光素酶活性：在選擇培養基中收集純系且使用Cell Counter Vi-細胞xr 2.03 (Beckman Coulter，目錄號731050)計數。細胞設為細胞密度0.33×10^6個細胞/毫升且將150 μL此細胞懸浮液轉移至具有蓋子的無菌白色96孔平底

組織培養盤(greiner bio one, 目錄號655083)之各孔中。細胞在37℃及5% CO_2下在細胞培育箱(Hera Cell)中培育隔夜。第二天，50 μL含有不同濃度之重組型人類腫瘤壞死因子α (rhTNFα，PeproTech，目錄號30001A)之培養基添加至96孔培養盤之各孔中達到100、50、25、12.5、6.25及0 ng/孔之rhTNFα之最終濃度。細胞在37℃及5% CO_2下培育6小時且接著用200 μL/孔DPBS洗滌。報導體裂解緩衝液(Promega，目錄號：E3971)添加至各孔(40 μL)中且培養盤在-20℃下儲存隔夜。第二天，將冷凍細胞培養盤及偵測緩衝液(Luciferase 1000分析系統，Promega，目錄號E4550)解凍至室溫。100 μL偵測緩衝液添加至各孔中且使用SpectraMax M5/M5e微板讀取器及SoftMax Pro軟體(Molecular Devices)儘可能快地量測盤。所量測之釋放光超過對照物(未添加rhTNFα)500毫秒/孔(URL)之單元視為螢光素酶活性。選擇呈現最高螢光素酶活性及大量4-1BB表現之HeLa-hu4-1BB-NFκB-luc純系26用於進一步使用。

6.2.2 與FAP表現腫瘤細胞共培養之表現人類4-1BB報導體細胞株之HeLa細胞中之NFκB活化

採集HeLa-hu4-1BB-NFκB-luc純系26細胞且再懸浮於具有10% (v/v) FBS及1% (v/v) GlutaMAX-I之DMEM培養基中達到0.2×10^6個細胞/毫升之濃度。將100 μl此細胞懸浮液(2×10^4個細胞)轉移至具有蓋子之無菌白色96孔平底組織培養盤(greiner bio one，目錄號655083)之各孔中且培養盤在37℃及5% CO_2下培育隔夜。第二天添加50 μL含有滴定4-1BB (20H4.9) x CEA (A5B7) 2+1之培養基。將CEA表現人類胃腺癌細胞株MKN45 (DSMZ ACC 409)再懸浮於供應有10 % (v/v) FBS及1 % (v/v) GlutaMAX-I之DMEM培養基中達2 × 10^6個細胞/毫升濃度。CEA表現

MKN45細胞之懸浮液(50 μl)或培養基作為陰性對照添加至各孔中，且將盤在細胞培育箱中在37℃及5% CO_2下培育6小時。細胞用200 μL/孔DPBS洗滌。40 μL新鮮製備之報導體裂解緩衝液(Promega，目錄號：E3971)添加至各孔中且盤在-20℃下儲存隔夜。第二天，在室溫下解凍冷凍細胞培養盤及偵測緩衝液(Luciferase 1000分析系統，Promega，目錄號E4550)。100 μL偵測緩衝液添加至各孔中且使用SpectraMax M5/M5e微板讀取器及SoftMax Pro軟體(Molecular Devices)儘可能快地量測螢光素酶活性。

圖15A及**15B**中使用4-1BB表現報導體細胞株展示4-1BB (20H4.9) x CEA (A5B7) 2+1 ($(G_4S)_2$，臼VH)之活化特性。**圖15A**中測試不存在CEA表現MKN45之情況下之活化特性，且**圖15B**中測試存在MKN45細胞之情況下的活化特性。在不存在任何交聯之情況下，僅在高濃度下可見活化且具有有限最大值。在MKN45細胞存在下EC_{50}值可減小且活化最大值增大。因此僅在CEA介導之交聯存在下可見4-1BB (20H4.9) x CEA (A5B7) 2+1之全部潛能。EC_{50}值及曲線下面積(AUC)在圖15A及15B中之圖中指定。

6.3 產生二價結合於4-1BB且單價結合於CEA，包含C-末端鍵聯互換fab之雙特異性抗體

二價結合4-1BB且單價結合CEA之雙特異性促效4-1BB抗體(亦稱為2+1互換fab)如**圖1D**及**圖1E**中所描繪製備。藉由在第一重鏈HC1 (Fc杵重鏈)中引入S354C/T366W突變及在第二重鏈HC2 (Fc臼重鏈)中引入Y349C/T366S/L368A/Y407V突變來施用杵-臼技術，以允許產生雜二聚體。

在此實例中，構築體之HC1包含以下組分：抗4-1BB (純系20H4.9)之VHCH1，隨後Fc杵及抗CEA純系(純系A5B7P)之互換VHCL或VLCH1。HC2包含抗4-1BB (純系20H4.9)之VHCH1，隨後Fc臼。構築體之LC1包含抗4-1BB (純系20H4.9)之VHCH1。構築體之LC2包含抗CEA結合子(純系A5B7P)之互換VLCH1或VHCL。

在抗原結合分子中之一者中，為改良輕鏈之正確配對，已在抗4-1BB Fab之CH-CL中引入以下突變：CL結構域中之E123R及Q124K及CH1結構域中之K147E及K213E。

根據國際專利申請公開案第WO2012/130831A1號中描述之方法，將Pro329Gly、Leu234Ala及Leu235Ala突變引入杵及臼重鏈之恆定區以消除與Fcγ受體之結合。

a-CEA (A5B7P) CHCL互換fab融合於Fc杵重鏈之2+1互換fab抗4-1BB、抗CEA構築體之胺基酸序列可分別發現於**表33**中。

表33：雙特異性二價抗**4-1BB/**單價抗CEA (A5B7P)人類IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-CEA CHCL互換fab融合於Fc杵鏈之構築體，稱為杵-CHCL互換fab)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
211	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VHCL (A5B7P)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD

		IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSEVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCA TSGFTFTDYYMNWVRQPPGKALEWLGFIGNKANGYTT EYSASVKGRFTISRDKSQSILYLQMNTLRAEDSATYYCT RDRGLRFYFDYWGQGTTLTVSSASVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
212	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVED YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
46	VLCL-輕鏈 (20H4.9)	參見表1
213	VLCH1-輕鏈 (A5B7P)	QTVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVTYIHWYQQK PGSSPKSWIYATSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISRVE AEDAATYYCQHWSSKPPTFGGGTKLEIKSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSC

a-CEA (A5B7P) CHCL互換fab融合於Fc杵重鏈之2+1互換fab抗4-1BB、抗CEA構築體之胺基酸序列可分別發現於**表34**中。

表34：具有帶電變異體之雙特異性二價抗**4-1BB**/單價抗CEA (A5B7P)人類IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-CEA VHVL互換fab融合於Fc杵鏈之構築體，稱為杵-VHVL互換fab)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
214	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VLCH (A5B7P) (EE突變)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVED YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSQTVLSQSPAILSASPGEKVTMTCR ASSSVTYIHWYQQKPGSSPKSWIYATSNLASGVPARFSG SGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQHWSSKPPTFGGGTK LEIKSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC
215	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼 (EE突變)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVED YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
216	VLCL-輕鏈 (20H4.9) (RK突變)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEP EDFAVYYCQQRSNWPPALTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDRKLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY

		ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
217	VHCL-輕鏈(A5B7P)	EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTFTDYYMNWV RQPPGKALEWLGFIGNKANGYTTEYSASVKGRFTISRD KSQSILYLQMNTLRAEDSATYYCTRDRGLRFYFDYWG QGTTLTVSSASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC

包含互換fab之雙特異性抗體藉由瞬時轉染HEK293 EBNA細胞產生。將細胞離心且藉由預溫熱CD CHO培養基替代培養基。在CD CHO培養基中混合表現載體，添加PEI，渦旋溶液且在室溫下培育10分鐘。隨後，將細胞與DNA/PEI溶液混合，轉移至搖瓶中且在具有5% CO_2氛圍的培育箱中在37℃下培育3小時。培育後，添加具有補充劑之Excell培養基。在轉染之後一天，添加12%進料。在7天後收穫細胞清液層且藉由標準方法純化。

參考標準方案，自經過濾之細胞培養物清液層純化蛋白質。簡言之，藉由親和層析使用蛋白A自細胞培養清液層純化含有Fc之蛋白質。在pH 3.0下實現溶離，隨後立即中和樣品。濃縮蛋白質，且聚集之蛋白質藉由尺寸排阻層析在20 mM組胺酸、140 mM氯化鈉，pH 6.0中自單體蛋白質分離。

藉由使用基於胺基酸序列計算之莫耳消光係數，根據Pace,等人, Protein Science, 1995, 4, 2411-1423量測280 nm下的光密度(OD)來測定經純化構築體之蛋白質濃度。蛋白質之純度及分子量在存在及不存在還原劑之情況下使用LabChipGXII藉由CE-SDS分析。在25℃下，藉由HPLC層析使用在25 mM K_2HPO_4、125 mM NaCl、200 mM L-精胺酸單鹽酸鹽，pH 6.7操作緩衝液中平衡之分析型尺寸排阻管柱(TSKgel G3000 SW XL)進行聚集物含量之測定。

表35：2+1抗4-1BB、抗CEA互換fab人類IgG1 PGLALA抗原結合分子之生物化學分析

分子	單體[%]	產量[mg/l]	CE-SDS (非還原性)
2+1 4-1BB (20H4.9)/ CEA(A5B7P)人類IgG1 PGLALA，具有CHCL互換fab之CEA (序列參見表33)	99.2	6.1	95
2+1 4-1BB (20H4.9)/ CEA(A5B7P)人類IgG1 PGLALA，具有VHVL互換fab之CEA (序列參見表34)	99.5	2.1	98.3

6.3.1 包含C末端鍵聯CEA互換fab之2+1雙特異性4-1BB抗體之功能性特徵化

藉由表面電漿子共振(SPR)評估使用抗原N(A2-B2)A (其係指CEA上之特異性抗原決定基區)同時結合人類4-1BB Fc(kih)及人類CEA的能力。所有SPR實驗均在Biacore T200上在25℃下以HBS-EP作為操作緩衝液（0.01 M HEPES pH 7.4、0.15 M NaCl、3 mM EDTA、0.005%界面活性劑P20, Biacore, Freiburg/Germany）來進行。人類N(A2-B2)A藉由胺偶合(CM5感測器晶片)直接偶合至流動細胞。使用750共振單位(RU)之固定層級。

CEA靶向4-1BB抗體以200 nM濃度範圍以30 μL/分鐘流速歷經90秒流過流動細胞，且解離設定為零秒。以500 nM之濃度，以30 μL/分鐘之流動速率，經由流動細胞歷經90秒注射人類4-1BB Fc(kih)作為第二分析物(**圖20A**)。監測解離120秒。藉由減去在參考流動細胞(其中未固定蛋白質)中獲得之反應來校正整體折射率差異。

如**圖20B**及**20C**之圖中可見，單價結合CEA之2+1雙特異性促效4-1BB抗體可同時結合人類N(A2-B2)A及人類4-1BB。

6.4. 結合於細胞

6.4.1. 結合於表現人類4-1BB之細胞株Jurkat-hu4-1BB-NFκB-luc2

為測定結合於表現4-1BB之細胞，使用Jurkat-hu4-1BB-NFκB-luc2 (Promega，CS196004)細胞。因此將0.2 × 10^6 Jurkat-hu4-1BB-NFκB-luc細胞添加至圓底懸浮細胞96孔盤(Greiner bio-one，cellstar，目錄號650185)之各孔。培養盤用400×g且在4℃下離心4分鐘，且棄去清液層。細胞用200 μL/孔DPBS洗滌，接著在4℃下用100 μL/mL含有1:5000倍稀釋之可固定活力染料eFluor 450 (eBioscience，目錄號65-0863-18)之DPBS培育30分鐘。其後用200 μL/孔低溫DPBS洗滌細胞一次。隨後，添加50 μL/孔之含有滴定雙特異性CEA靶向抗人類4-1BB分子之4℃低溫FACS緩衝液，且在4℃下培育細胞60分鐘。細胞用200 μL/孔4℃低溫FACS緩衝液洗滌四次，以移除未結合之分子。其後，細胞用50 μL/孔含有2.5 μg/mL PE接合之親和純化抗人類IgG Fcγ-片段-特異性山羊F(ab`)$_2$片段(Jackson ImmunoResearch，目錄號109-116-098)之4℃低溫FACS緩衝液進一步培育，且在4℃下培育30分鐘。細胞用200 μL FACS緩衝液/孔洗滌兩次且藉由再懸浮固定於50 μL/孔含有1%甲醛(Sigma, HT501320-9.5L)之DPBS中。同一天或第二天使用3雷射MACSQuant分析器10 (Miltenyi Biotech)獲取細胞。閘設於活細胞上，使用二級偵測抗體之幾何平均螢光強度(MFI)分析一級抗體之結合。使用Graph Pad Prism (Graph Pad Software Inc.)，藉由減去空白值(未添加一級抗體)使資料基線化，使用非線性回歸曲線擬合(穩健擬合(robust fit))以及曲線下面積(AUC)計算EC50值。

圖21A中展示雙特異性CEA靶向4-1BB促效分子結合於Jurkat-hu4-1BB-NFκB-luc2。所有分子含有二價4-1BB抗原結合純系20H4.9部分且展

示類似的對人類4-1BB表現細胞的結合，與其CEA結合部分(不同之處在於純系或融合)無關。僅4-1BB (20H4.9) x CEA (A5B7) 2+1 (黑色三角形)展示稍微較低EC50值(**表36**)及略微增加的AUC (**圖21C**)。所包括陰性對照，例如非靶向DP47 huIgG1 P329G LALA (空心黑色圓形)顯示基線。**表36**中列出EC50值。

表36：人類4-1BB表現轉殖基因細胞株Jurkat-hu4-1BB-NFkB-luc2之結合曲線的EC_{50}值

	Jurkat-hu4-1BB-NFκB-luc2上之EC_{50} [nM]
4-1BB (20H4.9) x DP47 2+1	0.05
4-1BB (20H4.9) x CEA(A5B7) 2+1	0.01
4-1BB (20H4.9) x CEA (A5B7P) 2+1	0.06
4-1BB (20H4.9) x CEA (A5B7P) 2+1 CHCL 互換fab	0.06
4-1BB (20H4.9) x CEA (A5B7P) 2+1 VHVL 互換fab	0.05
4-1BB (20H4.9) x CEA (T84.66-LCHA) 2+1	0.07

6.4.2. 結合於人類CEA表現腫瘤細胞株

為測定結合於表現CEA之細胞，使用人類胃癌細胞株MKN45 (DSMZ ACC 409)。因此0.2 × 10^6 MKN45細胞添加至圓底懸浮細胞96孔盤(Greiner bio-one，cellstar，目錄號650185)之各孔。培養盤用400×g且在4℃下離心4分鐘，且棄去清液層。細胞用200 µL/孔DPBS洗滌，接著在4℃下用100 µL/mL含有1:5000倍稀釋之可固定活力染料eFluor 450 (eBioscience，目錄號65-0863-18)之DPBS培育30分鐘。其後用200 µL/孔低溫DPBS洗滌細胞一次。隨後，添加50 µL/孔之含有滴定雙特異性CEA靶向抗人類4-1BB分子之4℃低溫FACS緩衝液，且在4℃下培育細胞60分鐘。細胞用200 µL/孔4℃ FACS緩衝液洗滌四次，以移除未結合之分子。其後，細胞用50 µL/孔含有2.5 µg/mL PE接合之親和純化抗人類IgG Fcγ-

片段-特異性山羊F(ab`)$_2$片段(Jackson ImmunoResearch，目錄號109-116-098)之4℃低溫FACS緩衝液進一步培育，且在4℃下培育30分鐘。細胞用200 μL FACS緩衝液/孔洗滌兩次且藉由再懸浮固定於50 μL/孔含有1%甲醛(Sigma, HT501320-9.5L)之DPBS中。同一天或第二天使用3雷射MACSQuant分析器10 (Miltenyi Biotech)獲取細胞。閘設於活細胞上，使用二級偵測抗體之幾何平均螢光強度(MFI)分析一級抗體之結合。使用Graph Pad Prism (Graph Pad Software Inc.)，藉由減去空白值(未添加一級抗體)使資料基線化，使用非線性回歸曲線擬合(穩健擬合(robust fit))以及曲線下面積(AUC)計算EC50值。

圖21B中展示雙特異性CEA靶向4-1BB促效分子結合於CEA表現人類胃癌細胞株MKN45。由**圖21D**中所示之8.9 nM之最低EC_{50}值及最高AUC值所顯示，分子4-1BB (20H4.9) x CEA (A5B7) 2+1 (黑色三角形)可見最強親和力。所有其他結合曲線在測試濃度下未達成平穩段且因此未指示進一步EC_{50}。視形式及分子中整合之CEA結合純系而定，如**圖21D**中之AUC中亦顯示，雙特異性CEA靶向4-1BB促效分子顯示不同的對CEA表現MKN45細胞的親和力。

6.5 NFκB活化

6.5.1 與CEA表現腫瘤細胞共培養之表現人類4-1BB及螢光素酶之HeLa或Jurkat報導體細胞株中之NFκB活化

HeLa-hu4-1BB-NFκB-luc純系26 (如同圖15中，其製法描述於2.5.1.下)或Jurkat-hu4-1BB-NFκB-luc2 (購自Promega，CS196004)用作報導體細胞株。採集HeLa-hu4-1BB-NFκB-luc純系26細胞且再懸浮於具有10% (v/v) FBS及1% (v/v) GlutaMAX-I之DMEM培養基中達到0.2×10^6個細胞/

毫升之濃度。在Jurkat-hu4-1BB-NFκB-luc2細胞用作報導體細胞株之情況下，採集細胞且再懸浮於具有10% (v/v) FBS及1% (v/v) GlutaMAX-I之RPMI 1640培養基中達到0.2×10^6個細胞/毫升之濃度。將100 µl (2×10^4個細胞)此細胞懸浮液轉移至具有蓋子的無菌白色96孔平底組織培養盤(greiner bio one，目錄號655083)的各孔。在HeLa-hu4-1BB-NFκB-luc純系26細胞之情況下，盤在37℃及5% CO_2下培育隔夜。為進行分析，添加50 µL含有滴定雙特異性CEA靶向抗人類4-1BB分子之培養基。將CEA表現人類胃腺癌細胞株MKN45 (DSMZ ACC 409)再懸浮於具有10% (v/v) FBS及1% (v/v) GlutaMAX-I之DMEM培養基(若HeLa-hu4-1BB-NFκB-luc純系26用作報導體細胞株)或RPMI 1640培養基(若Jurkat-hu4-1BB-NFκB-luc2用作報導體細胞株)中達2×10^6個細胞/毫升濃度。CEA表現MKN45細胞之懸浮液(50 µl)或培養基作為陰性對照添加至各孔中，且將盤在細胞培育箱中在37℃及5% CO_2下培育6小時。細胞用200 µL/孔DPBS洗滌。40 µL新鮮製備之報導體裂解緩衝液(Promega，目錄號：E3971)添加至各孔中且盤在-20℃下儲存隔夜。第二天，在室溫下解凍冷凍細胞培養盤及偵測緩衝液(Luciferase 1000分析系統，Promega，目錄號E4550)。100 µL偵測緩衝液添加至各孔中且使用SpectraMax M5/M5e微板讀取器及SoftMax Pro軟體(Molecular Devices)儘可能快地量測螢光素酶活性。

圖23A及**23B**中使用4-1BB表現報導體細胞株Jurkat-hu4-1BB-NFκB-luc2展示不同CEA靶向4-1BB (20H4.9)分子之活化特性。**圖23A**中測試不存在CEA表現MKN45之情況下之活化特性，且**圖23B**中測試存在MKN45細胞之情況下的活化特性。在不存在任何交聯之情況下，僅在高濃度下可

見活化且具有有限最大值。在MKN45細胞存在下在CEA靶向4-1BB (20H4.9)分子存在下EC_{50}值減小且活化最大值增大。**圖23C**中顯示AUC值。圖21B中展示活化特性與對CEA表現MKN45細胞之結合親和力正性相關。EC_{50}值列於**表37**中。

表37：在CEA表現MKN45腫瘤細胞存在下Jurkat-hu4-1BB-NFκB-luc2報導體細胞株活化曲線的EC_{50}值

	EC_{50} [nM]
4-1BB (20H4.9) x CEA(A5B7P) 2+1 CHCL 互換fab	0.09
4-1BB (20H4.9) x CEA(A5B7P) 2+1 VHVL 互換fab	0.05
4-1BB (20H4.9) x CEA(A5B7P) 2+1	0.16
4-1BB (20H4.9) x CEA(T84.66-LCHA) 2+1	0.19
4-1BB (20H4.9) x CEA(A5B7) 2+1	0.03
4-1BB (20H4.9) x DP47 2+1	0.09
4-1BB (20H4.9) huIgG1 P329G LALA	0.02

6.6 在CEA表現腫瘤細胞存在下之人類PBMC的活化分析

CEA表現人類胃癌細胞株MKN45用DPBS (Gibco，Life Technologies，目錄號14190 326)洗滌且在37℃下用不含酶、基於PBS之細胞解離緩衝液(Gibco，Life Technologies，目錄號13151-014)處理10分鐘。收集細胞且再懸浮於由具有10%胎牛血清(FBS，US-origin，PAN biotech，P30-2009，批號P150307GI，γ照射，無黴漿菌，在56℃下熱滅活35分鐘)、1% L-GlutaMAX-I (GIBCO，Life Technologies，目錄號35050-038)、1 mM丙酮酸鈉(SIGMA-Aldrich，目錄號S8636)、1% MEM非必需胺基酸溶液(SIGMA-Aldrich，目錄號M7145)、50 μM β-巰基乙醇(Sigma-Aldrich，目錄號M3148)之RPMI 1640 (GIBCO，Life Technologies，目錄號42401-042)組成的T細胞培養基中，且用50 Gy (X射線照射器RS 2000，Rad source)照射。將50 μL T細胞培養基中2×10^4

個MKN45細胞接種至圓底組織培養96孔盤(TTP，目錄號92697)之各孔。分別添加50 μL含有不同滴定濃度之CEA靶向4-1BB促效分子或對照的T細胞培養基。在37℃下，在37℃溫熱的含有40 nM CFDA-SE (SIGMA-Aldrich，目錄號21888-25MG-F)之DPBS中標記人類PBMC 15分鐘。藉由添加FBS停止CFSE標記，將PBMC洗滌兩次且再懸浮於T細胞培養基中達到1.5×10^6個細胞/毫升之最終濃度。將50 μL此PBMC細胞溶液接種至各孔以充分添加7.5×10^4 CFSE標記之PBMC。最終，製備含有2 mM促效抗人類CD3人類IgG1純系V9之T細胞培養基之儲備溶液且以50 μL/孔添加至各孔中，達到0.5 mM抗人類CD3人類IgG1純系V9之最終濃度。

盤在37℃下培育4天。細胞用DPBS洗滌且在4℃下用含有以1:1000稀釋之LIVE/DEAD Fixable Aqua死細胞染料套組(Molecular Probes，Life Technology，目錄號L34957)的100 μL/孔之DPBS染色30分鐘。細胞用200 μL/孔之DPBS洗滌一次且在4℃下用50 μL含有0.1 μg/mL之PerCP-Cy5.5結合之抗人類CD137小鼠IgG1κ (純系4B4-1，BioLegend，目錄號309814)、0.1 μg/mL之PE/Cy7結合之抗人類PD-1小鼠IgG1κ (純系EH12.2H7，BioLegend，目錄號329918)、0.03 μg/mL之APC接合之抗人類CD25小鼠IgG1κ (純系BC96，BioLegend，目錄號302610)、0.06 μg/mL之APC/Cy7接合之抗人類CD8小鼠IgG1κ (純系RPA-T8，BioLegend，目錄號3301016)、BV421接合之抗人類CD4小鼠IgG1κ (純系RPA-T4，BioLegend，目錄號300532)之FACS緩衝液(具有2% FBS、5 mM EDTA pH 8 (Amresco，目錄號E177)及7.5 mM疊氮化鈉(Sigma-Aldrich S2002)之DPBS)染色30分鐘。盤用200 μL/孔之DPBS洗滌兩次且細胞用含有1%甲醛(Sigma，HT501320-9.5L)之DPBS固定15分鐘。使細

胞再懸浮於100 μL/孔之FACS緩衝劑中且使用MACS Quant分析器10 (Miltenyi Biotech)收集。使用FlowJo V10 (FlowJo, LLC)及GraphPad Prism 6.04 (GraphPad Software, Inc)分析資料。

如**圖23A至23D**中所示，4-1BB (20H4.9) x CEA (A5B7) 2+1 (G4S)2分子能夠在次最佳CD3刺激存在下誘導CD25上調以及CD4及CD8 T細胞增殖增加。非靶向4-1BB (20H4.9) x DP47 2+1或4-1BB (20H4.9) huIgG1 P329G LALA分子僅誘導有限的T細胞活化。因此，在CEA表現細胞及次最佳TCR刺激存在下，4-1BB (20H4.9) x CEA (A5B7) 2+1 (G4S)2促效劑與非靶向分子相比可誘導更強的T細胞活化及增殖。**表38**中列出EC_{50}值。

表38：在CEA表現MKN45腫瘤細胞存在下PBMC活化曲線之EC_{50}值。

	4-1BB (20H4.9) x CEA (A5B7) 2+1 (G4S)2	4-1BB (20H4.9) x DP47 2+1	4-1BB (20H4.9) huIgG1 P329G LALA
EC50 % $CD25^+$ CD4	0.06	1.63	0.29
EC50 % $CD25^+$ CD8	0.11	1.70	0.67
EC50 %增殖性CD4	0.03	0.73	0.28

如**圖24A至24D**中所示，監測來自如圖23中所示之另一供體的PBMC的活化。相較於非靶向4-1BB (20H4.9)分子，所有CEA靶向4-1BB (20H4.9)促效分子能夠在次最佳CD3刺激存在下誘導CD25上調以及CD4及CD8 T細胞增殖增加。**表39**中列出EC_{50}值。

表39：在CEA表現MKN45腫瘤細胞存在下PBMC活化曲線之EC_{50}值。

	4-1BB (20H4.9) x DP47 2+1	4-1BB (20H4.9) huIgG1 P329G LALA	4-1BB (20H4.9) x CEA(A5B7P) 2+1	4-1BB (20H4.9) x CEA (A5B7P) 2+1 CHCL 互換	4-1BB (20H4.9) x CEA (A5B7P) 2+1 VHVL 互換
EC50 % $CD25^+$ CD4	1.64	0.61	0.24	0.19	0.14
EC50 % $CD25^+$ CD8	1.80	1.48	0.70	0.24	0.29

EC50 %增殖性CD4	1.10	0.09	0.13	0.23	0.14
EC50 %增殖性CD8	1.10	0.06	0.09	0.20	0.15

實例7

四價結合於4-1BB且單價結合於CEA之雙特異性抗體之製備、純化及特徵化

7.1 產生四價結合於4-1BB且單價結合於CEA之雙特異性抗體

四價結合4-1BB且單價結合CEA之雙特異性促效4-1BB抗體(亦稱為4+1)如**圖4A及圖4B**中所描繪製備。藉由在第一重鏈HC1 (Fc杵重鏈)中引入S354C/T366W突變及在第二重鏈HC2 (Fc臼重鏈)中引入Y349C/T366S/L368A/Y407V突變來施用杵-臼技術，以允許產生雜二聚體。

在此實例中，構築體之第一重鏈HC1包含以下組分：抗4-1BB結合子(純系20H4.9)之VHCH1_VHCH1，隨後Fc臼，在該C末端融合有抗CEA結合子(純系T84.66-LCHA或A5B7)之VL或VH。第二重鏈HC2包含抗4-1BB結合子(純系20H4.9)之VHCH1_VHCH1，隨後Fc杵，在該C末端融合有抗FAP結合子(純系T84.66-LCHA或A5B7)之各別VH或VL。CEA結合子T84.66-LCHA之產生及製備描述於WO 2016/075278 A2中，其以引用之方式併入本文中。CEA純系A5B7之VH及VL序列獲自WO 2007/071426且衍生自鼠類抗CEA純系A5B7。對於4-1BB結合子，根據US 7,288,638 B2或US 7,659,384 B2獲得純系20H4.9之VH及VL序列。兩個重鏈之組合允許產生雜二聚體，其包括CEA結合部分及四個4-1BB結合Fab。

根據國際專利申請公開案第WO2012/130831A1號中描述之方法，將Pro329Gly、Leu234Ala及Leu235Ala突變引入杵及臼重鏈之恆定區以消除與Fcγ受體之結合。

使用聚乙烯亞胺，藉由用哺乳動物表現載體共轉染HEK293-EBNA細胞製備雙特異性4+1抗4-1BB抗FAP huIgG1 P329GLALA抗原結合分子。細胞用相應表現載體以1:1:1比率(「載體杵重鏈」:「載體輕鏈」:「載體臼重鏈」)轉染。

抗原結合分子如針對雙特異性二價抗4-1BB及抗FAP huIgG1 P329GLALA所述產生及純化(參見實例1.1)。

a-CEA VH融合於Fc杵重鏈且VL融合於Fc臼重鏈之4+1抗4-1BB、抗CEA (T84.66-LCHA)構築體之鹼基對及胺基酸序列可分別在**表40**中發現。a-CEA VL融合於Fc杵重鏈且VH融合於Fc臼重鏈之4+1抗4-1BB、抗CEA (T84.66-LCHA)構築體之鹼基對及胺基酸序列可分別在**表41**中發現。

表40：雙特異性四價抗**4-1BB**/單價抗CEA (T84.66-LCHA)人類IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-CEA VL融合於Fc臼鏈且VH融合於Fc杵鏈之構築體，稱為臼-VL)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
79	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL(T84.66-LCHA) (核苷酸序列)	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGAGCCGGCCTGCTG AAGCCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCGCCGTG TACGGCGGCAGCTTCAGCGGCTACTACTGGTCCTGGA TCCGGCAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAATGGATCG GCGAGATCAACCACGGCGGCTACGTGACCTACAACC CCAGCCTGGAAAGCAGAGTGACCATCAGCGTGGACA CCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCG TGACAGCCGCCGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCA GAGACTACGGCCCTGGCAACTACGACTGGTACTTCG ACCTGTGGGGCAGAGGCACCCTGGTGACAGTGTCCA GCGCTTCTACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGC CCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGC CCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCC GTGACAGTGTCCTGGAACTCTGGCGCCCTGACAAGC

		GGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGC GGCCTGTACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACTGTGCCCA GCAGCAGCCTGGGAACCCAGACCTACATCTGCAACG TGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAG AAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACGGCGGAGGCGG ATCTGGCGGCGGAGGATCCCAGGTGCAGCTGCAGCA GTGGGGAGCCGGCCTGCTGAAGCCCAGCGAGACACT GAGCCTGACCTGCGCCGTGTACGGCGGCAGCTTCAG CGGCTACTACTGGTCCTGGATCCGGCAGAGCCCCGAG AAGGGCCTGGAATGGATCGGCGAGATCAACCACGGC GGCTACGTGACCTACAACCCCAGCCTGGAAAGCAGA GTGACCATCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTC AGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGACACC GCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACTACGGCCCTGGC AACTACGACTGGTACTTCGACCTGTGGGGCAGAGGC ACCCTGGTGACAGTGTCCAGCGCTAGCACCAAGGGC CCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCA CCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGA ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCC CGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAG CAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAG CAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATC TTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGC ACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTC CCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGG ACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTG GACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCG CGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTC AGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAAT GGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCC CTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCC AAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTGCACCCTG CCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTC AGCCTCTCGTGCGCAGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCG ACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGG AGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACT

		CCGACGGCTCCTTCTTCCTCGTGAGCAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTC ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTAC ACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTGGAGGC GGCGGAAGCGGAGGAGGAGGATCCGGCGGCGGAGG TTCCGGAGGCGGAGGATCCGAGATCGTGCTGACCCA GAGCCCTGCCACCCTGTCACTGTCTCCAGGCGAGAG AGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCGGCGAGAGCGTGGA CATCTTCGGCGTGGGATTTCTGCACTGGTATCAGCAG AAGCCCGGCCAGGCCCCCAGACTGCTGATCTACAGA GCCAGCAACCGGGCCACAGGCATCCCCGCCAGATTT TCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAA TCAGCAGCCTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGTACT ACTGCCAGCAGACCAACGAGGACCCCTACACCTTTG GCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAG
80	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH(T84.66-LCHA)（核苷酸序列)	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGAGCCGGCCTGCTG AAGCCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCGCCGTG TACGGCGGCAGCTTCAGCGGCTACTACTGGTCCTGGA TCCGGCAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAATGGATCG GCGAGATCAACCACGGCGGCTACGTGACCTACAACC CCAGCCTGGAAAGCAGAGTGACCATCAGCGTGGACA CCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCG TGACAGCCGCCGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCA GAGACTACGGCCCTGGCAACTACGACTGGTACTTCG ACCTGTGGGGCAGAGGCACCCTGGTGACAGTGTCCA GCGCTTCTACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGC CCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGC CCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCC GTGACAGTGTCCTGGAACTCTGGCGCCCTGACAAGC GGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGC GGCCTGTACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACTGTGCCCA GCAGCAGCCTGGGAACCCAGACCTACATCTGCAACG TGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAG AAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACGGCGGAGGCGG ATCTGGCGGCGGAGGATCCCAGGTGCAGCTGCAGCA GTGGGGAGCCGGCCTGCTGAAGCCCAGCGAGACACT GAGCCTGACCTGCGCCGTGTACGGCGGCAGCTTCAG CGGCTACTACTGGTCCTGGATCCGGCAGAGCCCCGAG AAGGGCCTGGAATGGATCGGCGAGATCAACCACGGC

		GGCTACGTGACCTACAACCCCAGCCTGGAAAGCAGA GTGACCATCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTC AGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGACACC GCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACTACGGCCCTGGC AACTACGACTGGTACTTCGACCTGTGGGGCAGAGGC ACCCTGGTGACAGTGTCCAGCGCTAGCACCAAGGGC CCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCA CCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGA ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCC CGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAG CAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAG CAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATC TTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGC ACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTC CCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGG ACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTG GACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCG CGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTC AGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAAT GGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCC CTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCC AAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTG CCCCCCTGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTG TCCCTGTGGTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCAGCG ATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTG AGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACA GCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACTCCAAACTGACCGT GGACAAGAGCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCA GCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACT ACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGCGGAG GCGGCGGAAGCGGAGGAGGAGGATCTGGGGGCGGA GGTTCCGGAGGCGGTGGATCTCAGGTGCAGCTGGTG CAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCAGCAGC GTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGCGGCTTCAACATC AAGGACACCTACATGCACTGGGTGCGCCAGGCCCCT GGACAGGGACTGGAATGGATGGGCAGAATCGACCCC

		GCCAACGGCAACAGCAAATACGTGCCCAAGTTCCAG GGCAGAGTGACCATCACCGCCGACACCAGCACCTCC ACCGCCTACATGGAACTGAGCAGCCTGCGGAGCGAG GACACCGCCGTGTACTACTGTGCCCCCTTCGGCTACT ACGTGTCCGACTACGCCATGGCCTATTGGGGCCAGGG CACACTCGTGACCGTGTCCTCT
43	VLCL-輕鏈(20H4.9)(核苷酸序列)	參見表1
81	VHCH1-VHCH1(20H4.9)-重鏈臼-VL (T84.66-LCHA)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGE RATLSCRAGESVDIFGVGFLHWYQQKPGQAPRLLIYRA SNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQT NEDPYTFGQGTKLEIK
82	VHCH1-VHCH1(20H4.9)-重鏈杵-VH (T84.66-LCHA)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS

		VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPG SSVKVSCKASGFNIKDTYMHWVRQAPGQGLEWMGRI DPANGNSKYVPKFQGRVTITADTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAPFGYYVSDYAMAYWGQGTLVTVSS
46	VLCL-輕鏈(20H4.9)	參見表1

表41：雙特異性四價抗**4-1BB/**單價抗CEA (T84.66-LCHA)人類IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-CEA VH融合於Fc臼鏈且VL融合於Fc杵鏈之構築體，稱為臼-VH)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
83	VHCH1-VHCH1(20H4.9)-重鏈臼-VH (T84.66-LCHA) (核苷酸序列)	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGAGCCGGCCTGCTG AAGCCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCGCCGTG TACGGCGGCAGCTTCAGCGGCTACTACTGGTCCTGGA TCCGGCAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAATGGATCG GCGAGATCAACCACGGCGGCTACGTGACCTACAACC CCAGCCTGGAAAGCAGAGTGACCATCAGCGTGGACA CCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCG TGACAGCCGCCGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCA GAGACTACGGCCCTGGCAACTACGACTGGTACTTCG ACCTGTGGGGCAGAGGCACCCTGGTGACAGTGTCCA GCGCTTCCACAAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGG CCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCG CCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCC CGTGACAGTGTCCTGGAACTCTGGCGCCCTGACAAG CGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAG CGGCCTGTACTCTCTGTCCAGCGTCGTGACTGTGCCC

		AGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC GTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAA GAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACGGCGGAGGCG GATCTGGCGGCGGAGGATCCCAGGTGCAGCTGCAGC AGTGGGGAGCCGGCCTGCTGAAGCCCAGCGAGACAC TGAGCCTGACCTGCGCCGTGTACGGCGGCAGCTTCA GCGGCTACTACTGGTCCTGGATCCGGCAGAGCCCCGA GAAGGGCCTGGAATGGATCGGCGAGATCAACCACGG CGGCTACGTGACCTACAACCCCAGCCTGGAAAGCAG AGTGACCATCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTT CAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGACAC CGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACTACGGCCCTGGC AACTACGACTGGTACTTCGACCTGTGGGGCAGAGGC ACCCTGGTGACAGTGTCCAGCGCTAGCACCAAGGGC CCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCA CCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGA ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCC CGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAG CAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAG CAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATC TTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGC ACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTC CCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGG ACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTG GACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCG CGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTC AGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAAT GGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCC CTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCC AAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTGCACCCTG CCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTC AGCCTCTCGTGCGCAGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCG ACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGG AGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACT CCGACGGCTCCTTCTTCCTCGTGAGCAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTC

		ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTAC ACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTGGAGGC GGCGGAAGCGGAGGAGGAGGATCCGGCGGCGGAGG TTCCGGAGGCGGAGGATCCCAGGTGCAGCTGGTGCA GTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCAGCAGCGT GAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGCGGCTTCAACATCAA GGACACCTACATGCACTGGGTGCGCCAGGCCCCTGG ACAGGGACTGGAATGGATGGGCAGAATCGACCCCGC CAACGGCAACAGCAAATACGTGCCCAAGTTCCAGGG CAGAGTGACCATCACCGCCGACACCAGCACCTCCAC CGCCTACATGGAACTGAGCAGCCTGCGGAGCGAGGA CACCGCCGTGTACTACTGTGCCCCCTTCGGCTACTAC GTGTCCGACTACGCCATGGCCTATTGGGGCCAGGGCA CACTCGTGACCGTGTCCTCT
84	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (T84.66-LCHA) (核苷酸序列)	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGAGCCGGCCTGCTG AAGCCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCGCCGTG TACGGCGGCAGCTTCAGCGGCTACTACTGGTCCTGGA TCCGGCAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAATGGATCG GCGAGATCAACCACGGCGGCTACGTGACCTACAACC CCAGCCTGGAAAGCAGAGTGACCATCAGCGTGGACA CCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCG TGACAGCCGCCGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCA GAGACTACGGCCCTGGCAACTACGACTGGTACTTCG ACCTGTGGGGCAGAGGCACCCTGGTGACAGTGTCCA GCGCTTCCACAAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGG CCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCG CCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCC CGTGACAGTGTCCTGGAACTCTGGCGCCCTGACAAG CGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAG CGGCCTGTACTCTCTGTCCAGCGTCGTGACTGTGCCC AGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC GTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAA GAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACGGCGGAGGCG GATCTGGCGGCGGAGGATCCCAGGTGCAGCTGCAGC AGTGGGGAGCCGGCCTGCTGAAGCCCAGCGAGACAC TGAGCCTGACCTGCGCCGTGTACGGCGGCAGCTTCA GCGGCTACTACTGGTCCTGGATCCGGCAGAGCCCCGA GAAGGGCCTGGAATGGATCGGCGAGATCAACCACGG CGGCTACGTGACCTACAACCCCAGCCTGGAAAGCAG

		AGTGACCATCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTT CAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGACAC CGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACTACGGCCCTGGC AACTACGACTGGTACTTCGACCTGTGGGGCAGAGGC ACCCTGGTGACAGTGTCCAGCGCTAGCACCAAGGGC CCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCA CCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGA ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCC CGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAG CAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAG CAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATC TTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGC ACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTC CCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGG ACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTG GACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCG CGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTC AGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAAT GGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCC CTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCC AAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTG CCCCCCTGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTG TCCCTGTGGTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCAGCG ATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTG AGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACA GCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACTCCAAACTGACCGT GGACAAGAGCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCA GCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACT ACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGCGGAG GCGGCGGAAGCGGAGGAGGAGGATCTGGGGGCGGA GGTTCCGGAGGCGGTGGATCTGAGATCGTGCTGACC CAGAGCCCTGCCACCCTGTCACTGTCTCCAGGCGAG AGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCGGCGAGAGCGTG GACATCTTCGGCGTGGGATTTCTGCACTGGTATCAGC AGAAGCCCGGCCAGGCCCCCAGACTGCTGATCTACA GAGCCAGCAACCGGGCCACAGGCATCCCCGCCAGAT

		TTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGAC AATCAGCAGCCTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGTA CTACTGCCAGCAGACCAACGAGGACCCCTACACCTTT GGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAG
43	VLCL-輕鏈 (20H4.9) (核苷酸序列)	參見表1
85	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼- VH (T84.66- LCHA)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPG SSVKVSCKASGFNIKDTYMHWVRQAPGQGLEWMGRI DPANGNSKYVPKFQGRVTITADTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAPFGYYVSDYAMAYWGQGTLVTVSS
86	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵- VL (T84.66- LCHA)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL

		GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGE RATLSCRAGESVDIFGVGFLHWYQQKPGQAPRLLIYRA SNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQT NEDPYTFGQGTKLEIK
46	VLCL-輕鏈(20H4.9)	參見表1

a-CEA VH融合於Fc杵重鏈且VL融合於Fc臼重鏈之4+1抗4-1BB、抗CEA (A5B7)構築體之鹼基對及胺基酸序列可分別發現於**表42**中。a-CEA VL融合於Fc杵重鏈且VH融合於Fc臼重鏈之4+1抗4-1BB、抗CEA (A5B7)構築體之鹼基對及胺基酸序列可分別發現於**表43**中。

表42：雙特異性四價抗**4-1BB**/單價抗CEA (A5B7)人類IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-CEA VL融合於Fc臼鏈且VH融合於Fc杵鏈之構築體，稱為臼-VL)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
87	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL(A5B7) (核苷酸序列)	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGAGCCGGCCTGCTG AAGCCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCGCCGTG TACGGCGGCAGCTTCAGCGGCTACTACTGGTCCTGGA TCCGGCAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAATGGATCG GCGAGATCAACCACGGCGGCTACGTGACCTACAACC CCAGCCTGGAAAGCAGAGTGACCATCAGCGTGGACA CCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCG TGACAGCCGCCGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCA GAGACTACGGCCCTGGCAACTACGACTGGTACTTCG ACCTGTGGGGCAGAGGCACCCTGGTGACAGTGTCCA GCGCTTCTACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGC CCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGC CCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCC GTGACAGTGTCCTGGAACTCTGGCGCCCTGACAAGC GGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGC GGCCTGTACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACTGTGCCCA GCAGCAGCCTGGGAACCCAGACCTACATCTGCAACG TGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAG AAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACGGCGGAGGCGG ATCTGGCGGCGGAGGATCCCAGGTGCAGCTGCAGCA GTGGGGAGCCGGCCTGCTGAAGCCCAGCGAGACACT GAGCCTGACCTGCGCCGTGTACGGCGGCAGCTTCAG CGGCTACTACTGGTCCTGGATCCGGCAGAGCCCCGAG AAGGGCCTGGAATGGATCGGCGAGATCAACCACGGC GGCTACGTGACCTACAACCCCAGCCTGGAAAGCAGA GTGACCATCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTC AGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGACACC GCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACTACGGCCCTGGC AACTACGACTGGTACTTCGACCTGTGGGGCAGAGGC ACCCTGGTGACAGTGTCCAGCGCTAGCACCAAGGGC CCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCA CCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGA ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCC CGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAG CAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAG

		CAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATC TTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGC ACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTC CCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGG ACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTG GACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCG CGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTC AGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAAT GGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCC CTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCC AAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTGCACCCTG CCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTC AGCCTCTCGTGCGCAGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCG ACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGG AGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACT CCGACGGCTCCTTCTTCCTCGTGAGCAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTC ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTAC ACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTGGAGGC GGCGGAAGCGGAGGAGGAGGATCCGGCGGCGGAGG TTCCGGAGGCGGAGGATCCCAGGCCGTGCTGACACA GCCTGCCAGCCTGTCTGCTTCTCCTGGCGCCTCTGCC TCCCTGACCTGCACACTGAGAAGAGGCATCAACGTG GGCGCCTACAGCATCTACTGGTATCAGCAGAAGCCCG GCAGCCCCCCTCAGTACCTGCTGAGATACAAGAGCG ACAGCGACAAGCAGCAGGGCAGCGGCGTGTCCAGC AGATTCAGCGCCAGCAAGGACGCCTCTGCCAACGCC GGAATCCTGCTGATCAGCGGCCTGCAGTCTGAGGAC GAGGCCGACTACTACTGCATGATCTGGCACTCTGGCG CCAGCGCCGTGTTTGGCGGAGGCACAAAACTGACCG TGCTG
88	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH(A5B7) (核苷酸序列)	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGAGCCGGCCTGCTG AAGCCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCGCCGTG TACGGCGGCAGCTTCAGCGGCTACTACTGGTCCTGGA TCCGGCAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAATGGATCG GCGAGATCAACCACGGCGGCTACGTGACCTACAACC CCAGCCTGGAAAGCAGAGTGACCATCAGCGTGGACA CCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCG

		TGACAGCCGCCGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCA GAGACTACGGCCCTGGCAACTACGACTGGTACTTCG ACCTGTGGGGCAGAGGCACCCTGGTGACAGTGTCCA GCGCTTCTACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGC CCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGC CCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCC GTGACAGTGTCCTGGAACTCTGGCGCCCTGACAAGC GGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGC GGCCTGTACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACTGTGCCCA GCAGCAGCCTGGGAACCCAGACCTACATCTGCAACG TGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAG AAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACGGCGGAGGCGG ATCTGGCGGCGGAGGATCCCAGGTGCAGCTGCAGCA GTGGGGAGCCGGCCTGCTGAAGCCCAGCGAGACACT GAGCCTGACCTGCGCCGTGTACGGCGGCAGCTTCAG CGGCTACTACTGGTCCTGGATCCGGCAGAGCCCCGAG AAGGGCCTGGAATGGATCGGCGAGATCAACCACGGC GGCTACGTGACCTACAACCCCAGCCTGGAAAGCAGA GTGACCATCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTC AGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGACACC GCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACTACGGCCCTGGC AACTACGACTGGTACTTCGACCTGTGGGGCAGAGGC ACCCTGGTGACAGTGTCCAGCGCTAGCACCAAGGGC CCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCA CCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGA ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCC CGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAG CAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAG CAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATC TTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGC ACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTC CCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGG ACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTG GACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCG CGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTC AGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAAT

		GGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCC CTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCC AAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTG CCCCCCTGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTG TCCCTGTGGTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCAGCG ATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTG AGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACA GCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACTCCAAACTGACCGT GGACAAGAGCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCA GCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACT ACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGCGGAG GCGGCGGAAGCGGAGGAGGAGGATCTGGGGGCGGA GGTTCCGGAGGCGGTGGATCTGAAGTGCAGCTGGTG GAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCAGAAGC CTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTTACCGTGT CCAGCTACTGGATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTG GCAAGGGACTGGAATGGGTCGGATTCATCAGAAACA AGGCCAACGGCGGCACCACCGAGTACGCCGCCTCTG TGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACGACAGCA AGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGG CCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACA GAGGCCTGCGGTTCTACTTCGACTACTGGGGCCAGG GCACCACCGTGACAGTCTCTTCC
43	VLCL-輕鏈 (20H4.9) (核苷酸序列)	參見表1
89	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼- VL (A5B7)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE

		VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQAVLTQPASLSASPGA SASLTCTLRRGINVGAYSIYWYQQKPGSPPQYLLRYKS DSDKQQGSGVSSRFSASKDASANAGILLISGLQSEDEA DYYCMIWHSGASAVFGGGTKLTVL
90	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (A5B7)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGR SLRLSCAASGFTVSSYWMHWVRQAPGKGLEWVGFIRN KANGGTTEYAASVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARDRGLRFYFDYWGQGTTVTVSS
46	VLCL-輕鏈 (20H4.9)	參見表1

表43：雙特異性四價抗**4-1BB**/單價抗CEA (A5B7)人類IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-CEA VH融合於Fc臼鏈且VL融合於Fc杵鏈之構築體，稱為臼-VH)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
91	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (A5B7) (核苷酸序列)	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGAGCCGGCCTGCTG AAGCCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCGCCGTG TACGGCGGCAGCTTCAGCGGCTACTACTGGTCCTGGA TCCGGCAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAATGGATCG GCGAGATCAACCACGGCGGCTACGTGACCTACAACC CCAGCCTGGAAAGCAGAGTGACCATCAGCGTGGACA CCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCG TGACAGCCGCCGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCA GAGACTACGGCCCTGGCAACTACGACTGGTACTTCG ACCTGTGGGGCAGAGGCACCCTGGTGACAGTGTCCA GCGCTTCCACAAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGG CCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCG CCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCC CGTGACAGTGTCCTGGAACTCTGGCGCCCTGACAAG CGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAG CGGCCTGTACTCTCTGTCCAGCGTCGTGACTGTGCCC AGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC GTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAA GAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACGGCGGAGGCG GATCTGGCGGCGGAGGATCCCAGGTGCAGCTGCAGC AGTGGGGAGCCGGCCTGCTGAAGCCCAGCGAGACAC TGAGCCTGACCTGCGCCGTGTACGGCGGCAGCTTCA GCGGCTACTACTGGTCCTGGATCCGGCAGAGCCCCGA GAAGGGCCTGGAATGGATCGGCGAGATCAACCACGG CGGCTACGTGACCTACAACCCCAGCCTGGAAAGCAG AGTGACCATCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTT CAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGACAC CGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACTACGGCCCTGGC AACTACGACTGGTACTTCGACCTGTGGGGCAGAGGC ACCCTGGTGACAGTGTCCAGCGCTAGCACCAAGGGC CCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCA CCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGA ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCC CGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAG CAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAG

		CAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATC TTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGC ACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTC CCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGG ACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTG GACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCG CGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTC AGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAAT GGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCC CTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCC AAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTGCACCCTG CCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTC AGCCTCTCGTGCGCAGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCG ACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGG AGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACT CCGACGGCTCCTTCTTCCTCGTGAGCAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTC ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTAC ACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTGGAGGC GGCGGAAGCGGAGGAGGAGGATCCGGCGGCGGAGG TTCCGGAGGCGGAGGATCCGAAGTGCAGCTGGTGGA ATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCAGAAGCCT GAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTTACCGTGTCC AGCTACTGGATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGC AAGGGACTGGAATGGGTCGGATTCATCAGAAACAAG GCCAACGGCGGCACCACCGAGTACGCCGCCTCTGTG AAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACGACAGCAAG AACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCC GAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACAGA GGCCTGCGGTTCTACTTCGACTACTGGGGCCAGGGCA CCACCGTGACAGTCTCTTCC
92	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (A5B7) (核苷酸序列)	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGAGCCGGCCTGCTG AAGCCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCGCCGTG TACGGCGGCAGCTTCAGCGGCTACTACTGGTCCTGGA TCCGGCAGAGCCCCGAGAAGGGCCTGGAATGGATCG GCGAGATCAACCACGGCGGCTACGTGACCTACAACC CCAGCCTGGAAAGCAGAGTGACCATCAGCGTGGACA CCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCG

		TGACAGCCGCCGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCA GAGACTACGGCCCTGGCAACTACGACTGGTACTTCG ACCTGTGGGGCAGAGGCACCCTGGTGACAGTGTCCA GCGCTTCCACAAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGG CCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCG CCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCC CGTGACAGTGTCCTGGAACTCTGGCGCCCTGACAAG CGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAG CGGCCTGTACTCTCTGTCCAGCGTCGTGACTGTGCCC AGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC GTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAA GAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACGGCGGAGGCG GATCTGGCGGCGGAGGATCCCAGGTGCAGCTGCAGC AGTGGGGAGCCGGCCTGCTGAAGCCCAGCGAGACAC TGAGCCTGACCTGCGCCGTGTACGGCGGCAGCTTCA GCGGCTACTACTGGTCCTGGATCCGGCAGAGCCCCGA GAAGGGCCTGGAATGGATCGGCGAGATCAACCACGG CGGCTACGTGACCTACAACCCCAGCCTGGAAAGCAG AGTGACCATCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTT CAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGACAC CGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACTACGGCCCTGGC AACTACGACTGGTACTTCGACCTGTGGGGCAGAGGC ACCCTGGTGACAGTGTCCAGCGCTAGCACCAAGGGC CCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCA CCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGA ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCC CGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAG CAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAG CAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATC TTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGC ACCTGAAGCTGCAGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTC CCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGG ACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTG GACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCG CGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTC AGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAAT

		GGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCC CTCGGCGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCC AAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTG CCCCCCTGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTG TCCCTGTGGTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCAGCG ATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTG AGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACA GCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACTCCAAACTGACCGT GGACAAGAGCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCA GCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACT ACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGCGGAG GCGGCGGAAGCGGAGGAGGAGGATCTGGGGGCGGA GGTTCCGGAGGCGGTGGATCTCAGGCCGTGCTGACA CAGCCTGCCAGCCTGTCTGCTTCTCCTGGCGCCTCTG CCTCCCTGACCTGCACACTGAGAAGAGGCATCAACG TGGGCGCCTACAGCATCTACTGGTATCAGCAGAAGCC CGGCAGCCCCCCTCAGTACCTGCTGAGATACAAGAG CGACAGCGACAAGCAGCAGGGCAGCGGCGTGTCCA GCAGATTCAGCGCCAGCAAGGACGCCTCTGCCAACG CCGGAATCCTGCTGATCAGCGGCCTGCAGTCTGAGG ACGAGGCCGACTACTACTGCATGATCTGGCACTCTGG CGCCAGCGCCGTGTTTGGCGGAGGCACAAAACTGAC CGTGCTG
43	VLCL-輕鏈 (20H4.9) (核苷酸序列)	參見表1
93	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼- VH (A5B7)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE

		VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGR SLRLSCAASGFTVSSYWMHWVRQAPGKGLEWVGFIRN KANGGTTEYAASVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARDRGLRFYFDYWGQGTTVTVSS
94	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (A5B7)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQAVLTQPASLSASPGA SASLTCTLRRGINVGAYSIYWYQQKPGSPPQYLLRYKS DSDKQQGSGVSSRFSASKDASANAGILLISGLQSEDEA DYYCMIWHSGASAVFGGGTKLTVL
46	VLCL-輕鏈 (20H4.9)	參見表1

a-CEA VH融合於Fc杵重鏈且VL融合於Fc臼重鏈之4+1抗4-1BB、抗CEA (A5B7P)構築體之鹼基對及胺基酸序列可分別發現於**表44**中。a-CEA VL融合於Fc杵重鏈且VH融合於Fc臼重鏈之4+1抗4-1BB、抗CEA

(A5B7P)構築體之鹼基對及胺基酸序列可分別發現於**表45**中。

表 44 ：雙特異性四價抗 **4-1BB/** 單價抗 CEA (A5B7P) 人類 IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-CEA VL融合於Fc臼鏈且VH融合於Fc杵鏈之構築體，稱為臼-VL)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
203	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL (A5B7P)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQTVLSQSPAILSASPGE KVTMTCRASSSVTYIHWYQQKPGSSPKSWIYATSNLAS GVPARFSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQHWSSKP PTFGGGTKLEIK
204	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (A5B7P)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS

		VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVKLVESGGGLVQPG GSLRLSCATSGFTFTDYYMNWVRQPPGKALEWLGFIG NKANGYTTEYSASVKGRFTISRDKSQSILYLQMNTLRA EDSATYYCTRDRGLRFYFDYWGQGTTLTVSS
46	VLCL-輕鏈(20H4.9)	參見表1

表 45：雙特異性四價抗 **4-1BB/** 單價抗 CEA (A5B7P) 人類 IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-CEA VH融合於Fc臼鏈且VL融合於Fc杵鏈之構築體，稱為臼-VH)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
205	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (A5B7P)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAV

		KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVKLVESGGGLVQPG GSLRLSCATSGFTFTDYYMNWVRQPPGKALEWLGFIG NKANGYTTEYSASVKGRFTISRDKSQSILYLQMNTLRA EDSATYYCTRDRGLRFYFDYWGQGTTLTVSS
206	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (A5B7 P)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQTVLSQSPAILSASPGE KVTMTCRASSSVTYIHWYQQKPGSSPKSWIYATSNLAS GVPARFSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQHWSSKP PTFGGGTKLEIK
46	VLCL-輕鏈 (20H4.9)	參見表1

a-CEA VH融合於Fc杵重鏈且VL融合於Fc臼重鏈之4+1抗4-1BB、抗CEA (431/26)構築體之鹼基對及胺基酸序列可分別發現於**表46**中。a-CEA VL融合於Fc杵重鏈且VH融合於Fc臼重鏈之4+1抗4-1BB、抗CEA (431/26)構築體之鹼基對及胺基酸序列可分別發現於**表47**中。

表46：雙特異性四價抗**4-1BB/**單價抗CEA (431/26)人類IgG1

P329GLALA抗原結合分子(a-CEA VL融合於Fc臼鏈且VH融合於Fc杵鏈之構築體，稱為臼-VL)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
207	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL (431/26)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVG DRVTITCSTSSSVSYMHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNLA SGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCHQWSSYP TFGQGTKVEIK
208	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (431/26)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK

		SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVRPSQ TLSLTCTVSGFTISSGYSWHWVRQPPGRGLEWIGYIQYS GITNYNPSLKSRVTMLVDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVY YCAREDYDYHWYFDVWGQGSLVTVSS
46	VLCL-輕鏈(20H4.9)	參見表1

表 47：雙特異性四價抗 **4-1BB/** 單價抗 CEA (431/26) 人類 IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-CEA VH融合於Fc臼鏈且VL融合於Fc杵鏈之構築體，稱為臼-VH)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
209	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (431/26)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVRPSQ TLSLTCTVSGFTISSGYSWHWVRQPPGRGLEWIGYIQYS

		GITNYNPSLKSRVTMLVDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVY YCAREDYDYHWYFDVWGQGSLVTVSS
210	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (431/26)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVG DRVTITCSTSSSVSYMHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNLA SGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCHQWSSYP TFGQGTKVEIK
46	VLCL-輕鏈 (20H4.9)	參見表1

實例8

二價結合於4-1BB且單價結合於CD19之雙特異性抗原結合分子之製備、純化及特徵化

8.1 產生二價結合於4-1BB且單價結合於CD19之雙特異性抗體

二價結合4-1BB且單價結合CD19之雙特異性促效4-1BB抗體(亦稱為2+1)如**圖1A及圖1B**中所描繪製備。藉由在第一重鏈HC1 (Fc杵重鏈)中引入S354C/T366W突變及在第二重鏈HC2 (Fc臼重鏈)中引入Y349C/T366S/L368A/Y407V突變來施用杵-臼技術，以允許產生雜二聚

體。

在此實例中，構築體之第一重鏈HC1包含以下組分：抗4-1BB結合子(純系20H4.9)之VHCH1，隨後Fc臼，在該C末端融合有抗CD19結合子(純系2B11或8B8-018)之VL或VH。第二重鏈HC2包含抗4-1BB之VHCH1，隨後Fc杵，在該C末端融合有抗CD19結合子(純系2B11或8B8-018)之各別VH或VL。CD19結合子純系2B11或8B8-018之產生及製備描述於WO 2016/075278 A2中，其以引用之方式併入本文中。對於4-1BB結合子，根據US 7,288,638 B2或US 7,659,384 B2獲得純系20H4.9之VH及VL序列。兩個重鏈之組合允許產生雜二聚體，其包括CD19結合部分及兩個4-1BB結合Fab (**圖1A及圖1B**)。

根據國際專利申請公開案第WO2012/130831A1號中描述之方法，將Pro329Gly、Leu234Ala及Leu235Ala突變引入杵及臼重鏈之恆定區以消除與Fcγ受體之結合。

a-CD19 (2B11) VH融合於杵且VL融合於臼鏈之2+1抗4-1BB、抗CD19構築體之胺基酸序列可分別發現於**表48**中。a-CD19 VL融合於杵且VH融合於臼鏈之2+1抗4-1BB、抗CD19 (2B11)構築體之胺基酸序列可分別發現於**表49**中。

表48：雙特異性二價抗**4-1BB/**單價抗CD19 (2B11)人類IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-CD19 VL融合於Fc臼鏈且VH融合於Fc杵鏈之構築體，亦稱為臼-VL)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
139	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL (2B11)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD

		YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKS SQSLETSTGTTYLNWYLQKPGQSPQLLIYRVSKRFSGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCLQLLEDPYT FGQGTKLEIK
140	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵- VH (2B11)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDGS KYTEKFQGRVTMTSDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYC ARGTYYYGPQLFDYWGQGTTVTVSS
46	VLCL-輕鏈 (20H4.9)	參見表1

表 49：雙特異性二價抗 **4-1BB/** 單價抗 CD19 (2B11) 人類 IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-CD19 VH融合於Fc臼鏈且VL融合於Fc杵鏈之構築體，稱為臼-VH)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
141	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN

	VH (2B11)	QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDGS KYTEKFQGRVTMTSDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYC ARGTYYYGPQLFDYWGQGTTVTVSS
142	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵- VL (2B11)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKS SQSLETSTGTTYLNWYLQKPGQSPQLLIYRVSKRFSGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCLQLLEDPYT FGQGTKLEIK
46	VLCL- 輕 鏈 (20H4.9)	參見表1

a-CD19 (8B8-018) VH融合於杵且VL融合於臼鏈之2+1抗4-1BB、抗CD19構築體之胺基酸序列可分別發現於**表50**中。a-CD19 VL融合於杵且VH融合於臼鏈之2+1抗4-1BB、抗CD19 (8B8-018)構築體之胺基酸序列可分別發現於**表51**中。

表 50：雙特異性二價抗 **4-1BB/** 單價抗 CD19 (8B8-018) 人類 IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-CD19 VL融合於Fc臼鏈且VH融合於Fc杵鏈之構築體，亦稱為臼-VL)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
143	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL (8B8-018)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKS SQSLENPNGNTYLNWYLQKPGQSPQLLIYRVSKRFSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCLQLTHVPY TFGQGTKLEIK
144	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (8B8-018)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDGS KYTEKFQGRVTMTSDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYC ARGTYYYGSALFDYWGQGTTVTVSS

46	VLCL-輕鏈 (20H4.9)	參見表1

表51：雙特異性二價抗**4-1BB/**單價抗CD19 (8B8-018)人類IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-CD19 VH融合於Fc臼鏈且VL融合於Fc杵鏈之構築體，稱為臼-VH)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
145	VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (8B8-018)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDGS KYTEKFQGRVTMTSDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYC ARGTYYYGSALFDYWGQGTTVTVSS
146	VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (8B8-018)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKS SQSLENPNGNTYLNWYLQKPGQSPQLLIYRVSKRFSGV

		PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCLQLTHVPY TFGQGTKLEIK
46	VLCL- 輕 鏈 (20H4.9)	參見表1

使用聚乙烯亞胺藉由用哺乳動物表現載體共轉染HEK293-EBNA細胞來製造雙特異性2+1抗4-1BB 抗CD19 huIgG1 P329GLALA。細胞用相應表現載體以1:1:1比率(「載體杵重鏈」:「載體輕鏈」:「載體臼重鏈」)轉染。

關於在500 mL搖瓶中製造，在轉染之前24小時接種4億個HEK293 EBNA細胞。關於轉染，使細胞在210×g下離心5分鐘，且用預溫熱之CD CHO培養基替換清液層。表現載體於20 mL CD CHO培養基中混合至200 μg DNA之最終量。在添加540 μL PEI之後，溶液渦旋15秒且在室溫下培育10分鐘。隨後，將細胞與DNA/PEI溶液混合，轉移至500 mL搖瓶中且在具有5% CO_2氛圍的培育箱中在37℃下培育3小時。在培育之後，添加160 mL F17培養基且培養細胞24小時。轉染一天後,添加1 mM丙戊酸及7%進料。在培養7天之後，藉由在210×g下離心15分鐘來收集細胞清液層。將溶液無菌過濾(0.22 μm過濾器)，補充疊氮化鈉至最終濃度係0.01% (w/v)，且保持在4℃下。

藉由親和層析，使用蛋白A，隨後尺寸排阻層析，自細胞培養物清液層純化所分泌之蛋白質。對於親和層析，將清液層加載至用40 mL 20 mM磷酸鈉、20 mM檸檬酸鈉pH 7.5平衡之蛋白A MabSelectSure管柱(CV = 5 mL，GE Healthcare)上。藉由用至少10管柱體積之含有20 mM磷酸鈉、20 mM檸檬酸鈉(pH 7.5)的緩衝液洗滌來移除未結合之蛋白質。結合之蛋白質使用超過15管柱體積之20 mM檸檬酸鈉、100 mM氯化鈉、100 mM甘胺酸，pH 3.0產生之線性pH梯度之氯化鈉(20至100 mM)溶離。隨後用

10管柱體積之20 mM檸檬酸鈉、100 mM NaCl、100 mM甘胺酸，pH 3.0洗滌管柱。藉由添加1/40 (v/v) 2 M Tris，pH 8.0來調節所收集之溶離份之pH值。將蛋白質進行濃縮且過濾，隨後加載至用20 mM組胺酸、140 mM氯化鈉，pH 6.0平衡之HiLoad Superdex 16/600 S200管柱(GE Healthcare)上。

藉由使用基於胺基酸序列計算之莫耳消光係數量測280 nm下的OD來測定經純化的雙特異性構築體的蛋白質濃度。使用LabChipGXII (Caliper)在有及無還原劑(Invitrogen, USA)存在下藉由CE-SDS分析雙特異性構築體之純度及分子量。在25℃下，使用在25 mM K_2HPO_4、125 mM NaCl、200 mM L-精胺酸單鹽酸鹽、0.02% (w/v) NaN_3，pH 6.7操作緩衝液中平衡之TSKgel G3000 SW XL分析型尺寸排阻管柱(Tosoh)分析雙特異性構築體之聚集物含量。

表52：二價結合於4-1BB且單價結合於CD19之雙特異性抗原結合分子(2+1抗4-1BB、抗CD19(2B11)人類IgG1 P329GLALA及2+1抗4-1BB、抗CD19(8B8-018)人類IgG1 P329GLALA)之生物化學分析

分子	單體[%]	產量[mg/l]	CE-SDS (非還原性)
4-1BB (20H4.9)/CD19 (2B11) P329GLALA IgG1 2+1 (臼-VL)	99	3	100
4-1BB (20H4.9)/CD19 (8B8-018) P329GLALA IgG1 2+1 (臼-VL)	92	2	92

實例9

四價結合於4-1BB且單價結合於CD19之雙特異性抗體之製備、純化及特徵化

9.1 產生四價結合於4-1BB且單價結合於CD19之雙特異性抗體

四價結合4-1BB且單價結合CD19之雙特異性促效4-1BB抗體(亦稱為4+1)如**圖4A及圖4B**中所描繪製備。藉由在第一重鏈HC1 (Fc杵重鏈)中引入S354C/T366W突變及在第二重鏈HC2 (Fc臼重鏈)中引入Y349C/T366S/L368A/Y407V突變來施用杵-臼技術，以允許產生雜二聚體。

在此實例中，構築體之第一重鏈HC1包含以下組分：抗4-1BB結合子(純系20H4.9)之VHCH1_VHCH1，隨後Fc臼，在該C末端融合有抗CD19結合子(純系2B11或8B8-018)之VL或VH。第二重鏈HC2包含抗4-1BB結合子(純系20H4.9)之VHCH1_VHCH1，隨後Fc杵，在該C末端融合有抗CD19結合子(純系2B11或8B8-018)之各別VH或VL。CD19結合子純系2B11或8B8-018之產生及製備描述於WO 2016/075278 A1中，其以引用之方式併入本文中。對於4-1BB結合子，根據US 7,288,638 B2或US 7,659,384 B2獲得純系20H4.9之VH及VL序列。兩個重鏈之組合允許產生雜二聚體，其包括CD19結合部分及四個4-1BB結合Fab。

根據國際專利申請公開案第WO2012/130831A1號中描述之方法，將Pro329Gly、Leu234Ala及Leu235Ala突變引入杵及臼重鏈之恆定區以消除與Fcγ受體之結合。

使用聚乙烯亞胺，藉由用哺乳動物表現載體共轉染HEK293-EBNA細胞製備雙特異性4+1抗4-1BB抗CD19 huIgG1 P329GLALA抗原結合分子。細胞用相應表現載體以1:1:1比率(「載體杵重鏈」:「載體輕鏈」:「載體臼重鏈」)轉染。

抗原結合分子如針對雙特異性二價抗4-1BB及抗CD19 huIgG1 P329GLALA所述產生及純化(參見實例8.1)。

a-CD19 VH融合於Fc杵重鏈且VL融合於Fc臼重鏈之4+1抗4-1BB、抗CD19 (2B11)構築體之胺基酸序列可分別發現於**表53**中。a-CD19 VL融合於Fc杵重鏈且VH融合於Fc臼重鏈之4+1抗4-1BB、抗CD19 (2B11)構築體之胺基酸序列可分別發現於**表54**中。

表53：雙特異性四價抗4-1BB/單價抗CD19人類IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-CD19 VL融合於Fc臼鏈且VH融合於Fc杵鏈之4+1構築體，稱為臼-VL)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
147	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fc臼-VL (2B11)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPG QPASISCKSSQSLETSTGTTYLNWYLQKPGQSPQLLIYR VSKRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC LQLLEDPYTFGQGTKLEIK
148	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fc杵-VH (2B11)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR

		GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGYI NPYNDGSKYTEKFQGRVTMTSDTSISTAYMELSRLRSD DTAVYYCARGTYYYGPQLFDYWGQGTTVTVSS
46	VLCL-輕鏈(20H4.9)	參見表1

表 54：雙特異性四價抗 4-1BB/單價抗 CD19 (2B11) 人類 IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-CD19 VH融合於Fc臼鏈且VL融合於Fc杵鏈之構築體，稱為臼-VH)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
149	VHCH1-VHCH1(20H4.9)-重鏈臼-VH (2B11)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY

		SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGYI NPYNDGSKYTEKFQGRVTMTSDTSISTAYMELSRLRSD DTAVYYCARGTYYYGPQLFDYWGQGTTVTVSS
150	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (2B11)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPG QPASISCKSSQSLETSTGTTYLNWYLQKPGQSPQLLIYR VSKRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC LQLLEDPYTFGQGTKLEIK
46	VLCL-輕鏈 (20H4.9)	參見表1

a-CD19 VH融合於Fc杵重鏈且VL融合於Fc臼重鏈之4+1抗4-1BB、抗CD19 (8B8-018)構築體之胺基酸序列可分別發現於**表55**中。a-CD19

VL融合於Fc杵重鏈且VH融合於Fc臼重鏈之4+1抗4-1BB、抗CD19 (8B8-018)構築體之胺基酸序列可分別發現於**表56**中。

表55：雙特異性四價抗4-1BB/單價抗CD19人類IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-CD19 (8B8-018) VL融合於Fc臼鏈且VH融合於Fc杵鏈之4+1構築體，稱為臼-VL)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
151	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fc臼-VL (8B8-018)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPG QPASISCKSSQSLENPNGNTYLNWYLQKPGQSPQLLIYR VSKRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC LQLTHVPYTFGQGTKLEIK
152	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fc杵-VH (8B8-018)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG

		YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGYI NPYNDGSKYTEKFQGRVTMTSDTSISTAYMELSRLRSD DTAVYYCARGTYYYGSALFDYWGQGTTVTVSS
46	VLCL-輕鏈(20H4.9)	參見表1

表 56：雙特異性四價抗 4-1BB/單價抗 CD19 (8B8-018) 人類 IgG1 P329GLALA抗原結合分子(a-CD19 VH融合於Fc臼鏈且VL融合於Fc杵鏈之構築體，稱為臼-VH)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
153	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (8B8-018)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA

		PIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGYI NPYNDGSKYTEKFQGRVTMTSDTSISTAYMELSRLRSD DTAVYYCARGTYYYGSALFDYWGQGTTVTVSS
154	VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (8B8-018)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGG SGGGGSQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPG QPASISCKSSQSLENPNGNTYLNWYLQKPGQSPQLLIYR VSKRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC LQLTHVPYTFGQGTKLEIK
46	VLCL-輕鏈 (20H4.9)	參見表1

實例10

結合於4-1BB及CD19之雙特異性抗原結合分子之功能性特徵化

10.1 結合於CD19

在原生人類B細胞或CD19陽性腫瘤細胞株(WSU-DLCL2細胞，DSMZ編號ACC 575)上量測雙特異性二價抗4-1BB/單價抗CD19抗體(稱

作4-1BBxCD19)對CD19的結合特性。簡言之，由來自健康供體之膚色血球層(buffycoat)純化總PBMC。將再懸浮於DPBS (Gibco，Life Technologies，目錄號14190 326)中之細胞添加至圓底懸浮細胞96孔盤(greiner bio-one，cellstar，目錄號650185)之各孔。細胞用200 µL DPBS洗滌一次。細胞再懸浮於100 µL/孔之含有1:5000稀釋之可固定存活力染料eFluor 660 (eBioscience，目錄號65-0864-18)的4℃低溫DPBS緩衝劑中且在4℃下培育盤30分鐘。細胞用200 µL/孔4℃低溫DPBS緩衝液洗滌一次，且再懸浮於50 µL/孔含有一系列濃度之構築體4-1BB(20H4.9)xCD19(2B11) 2+1、4 1BB(20H4.9)xCD19(8B8-018) 2+1(兩者之結構展示於**圖16A**中)、CD19(2B11)x4-1BBL (**圖16B**，描述於WO 2016/075278 A1中)及DP-47x4-1BBL (**圖16C**，描述於WO 2016/075278 A1中)的4℃低溫FACS緩衝液(具有2% FBS、5 mM EDTA pH8 (Amresco，目錄號E177)及7.5 mM疊氮化鈉(Sigma-Aldrich S2002)之DPBS)中，隨後在4℃下培育1小時。在徹底洗滌後，細胞用50 µL/孔含有5 µg/mL PE接合之親和純化抗人類IgG F(ab`)2-片段-特異性山羊F(ab`)2片段(Jackson ImmunoResearch，目錄號109 116 098)之4℃低溫FACS緩衝液進一步染色，且在4℃下與APC-H7接合之CD20 Ab (BD，目錄號560734)及APC接合之抗CD3 Ab (Biolegend，目錄號300312)及/或FITC接合之抗CD19抗體(BD)一起30分鐘。細胞用200 µL/孔之4℃ FACS緩衝液洗滌兩次且細胞固定於50 µL/孔之含有1%甲醛(Sigma，HT501320-9.5L)之DPBS中。將細胞再懸浮於100 µL/孔FACS緩衝液中且使用FACS LSR II (BD Biosciences)收集。使用FlowJo V10 (FlowJo，LLC)及GraphPad Prism 6.04 (GraphPad Software, Inc)分析資料。

細胞閘控於CD3-CD20$^+$活群體上，且針對滴定濃度之構築體標繪PE接合之親和純化抗人類IgG IgG Fcγ-片段-特異性山羊F(ab`)2片段的幾何平均螢光強度。如**圖17A**及**17B**中所示，4-1BB(20H4.9)xCD19(2B11)以劑量依賴性方式結合於人類B細胞，相比於CD19(2B11)x4-1BBL具有較低親和力，而非靶向DP47x4-1BBL未結合於B細胞(**圖17A**)。類似地，4-1BB(20H4.9)xCD19(2B11)構築體以與原生B細胞類似之方式結合於CD19$^+$ WSU腫瘤細胞。(**圖17B**)。 4-1BB(20H4.9)xCD19(8B8-018)與4-1BB(20H4.9)xCD19(2B11)相比展示相同的結合特性。表57中列出CD19$^+$腫瘤結合曲線之EC_{50}值。

表57：對CD19$^+$腫瘤細胞之結合曲線之EC_{50}值

EC_{50} (nM)	**4-1BB(20H4.9) xCD19(2B11)**	**4-1BB(20H4.9) xCD19(8B8-018)**	**CD19(2B11) x4-1BBL**
B細胞結合	5.01	5.72	0.37
WSU結合	2.26	3.56	0.30

10.2 結合於活化T細胞上之4-1BB

為檢驗4-1BBxCD19對4-1BB表現T細胞之結合，藉由TCR刺激預活化人類PBMC 48小時，以便使T細胞上之4-1BB上調。將稀釋成2.8 × 10^6/ml濃度之經純化PBMC再懸浮於RPMI培養基(Gibco，目錄號72400-054) +10% FBS (Gibco，目錄號20012-068)及1%青黴素-鏈黴素(Gibco，目錄號15070-063)及50 μM之2-巰基乙醇(Gibco，目錄號31350-010)中。將90 μl細胞添加至圓底96孔盤(greiner bio-one，cellstar，目錄號650185)之各孔。隨後將額外50 μl抗CD3及抗CD28微珠(Life Technologies，目錄號11131D)以8 × 10^5個珠粒/毫升添加至孔。兩天後，細胞用低溫PBS (Gibco，20012-068)洗滌一次，且用90 μl低溫PBS再懸

浮，並在4℃下與10 μl含有構築體(4-1BB(20H4.9)xCD19(2B11)、4-1BB(20H4.9)xCD19(018)及CD19(2B11)x4-1BBL)之溶液一起培育1小時。在徹底洗滌後，細胞用50 μL/孔含有5 μg/mL PE接合之親和純化抗人類IgG F(ab`)2-片段-特異性山羊F(ab`)2片段(Jackson ImmunoResearch，目錄號109 116 098)之低溫FACS緩衝液進一步染色，且另外在4℃下與抗人類CD3 (Biolegend，目錄號300312)、CD4 (Biolegend，目錄號317434)及CD8 (Biolegend，目錄號344710) Ab一起30分鐘。細胞用200 μL/孔之4℃ FACS緩衝液洗滌兩次且細胞固定於50 μL/孔之含有1%甲醛(Sigma，HT501320-9.5L)之DPBS中。將細胞再懸浮於100 μL/孔FACS緩衝液中且使用FACS LSR II (BD Biosciences)收集。使用FlowJo V10 (FlowJo，LLC)及GraphPad Prism 6.04 (GraphPad Software, Inc)分析資料。

特異性結合閘控於純CD4及CD8細胞群。4-1BB(20H4.9)xCD19(2B11)展示以劑量依賴性方式對4-1BB表現CD4或CD8 T細胞的極佳結合，但相比於CD19 (2B11)-4-1BBL具有略微較低親和力(**圖18A及18B**)。4-1BB(20H4.9)xCD19(018)與4-1BB(20H4.9)xCD19(2B11)相比展示相同的結合特性。表58中列出$CD4^+$或$CD8^+$ T細胞結合曲線之EC_{50}值。

表58：對$CD4^+$或$CD8^+$腫瘤細胞之結合曲線之EC_{50}值

EC_{50} (nM)	**4-1BB(20H4.9) xCD19(2B11)**	**4-1BB(20H4.9) xCD19(018)**	**CD19(2B11)x4-1BBL**
CD4結合	2.05	2.63	0.37
CD8結合	0.86	0.55	0.90

10.3 4-1BBxCD19展示生物活性

為量測生理設置中之生物活性，使用活化人類PBMC檢驗藉由協同刺激T細胞及NK細胞釋放效應功能分子IFNγ。簡言之，與構築體(4-1BB(20H4.9)xCD19(2B11)、4-1BB(20H4.9)xCD19(018)、CD19(2B11)x4-1BBL及DP-47x4-1BBL)共培養之經純化PBMC以一系列濃度添加至孔，且以8 × 10^5個珠粒/毫升用額外50 μl抗CD3及抗CD28微珠(Life Technologies，目錄號11131D)。48小時培育後，收集清液層用於藉由ELISA (DuoSet人類IFNg ELISA套組，R&D Systems，目錄號DY285)量測IFN-γ。**圖19**展示4-1BB(20H4.9)xCD19(2B11)及CD19(2B11)x4-1BBL構築體刺激之PBMC均以劑量依賴性方式產生類似量的IFNγ，而非靶向DP47x4-1BBL (陰性對照)歸因於缺乏交聯未活化T或NK細胞。4-1BB(20H4.9)xCD19(018)相比於4-1BB(20H4.9)xCD19(2B11)展示類似的生物活性。表59中列出產生IFN-γ之EC_{50}值。

表59：產生IFN-γ之EC_{50}值

EC_{50} (nM)	**4-1BB(20H4.9) xCD19(2B11)**	**4-1BB(20H4.9) xCD19(018)**	**CD19(2B11)x4-1BBL**
IFNγ生成	0.10	0.06	0.03

***

【序列表】

<110> 瑞士商赫孚孟拉羅股份公司

<120> 包含抗4-1BB純系20H4.9之雙特異性抗原結合分子

<130> P34053-WO

<150> EP17164224.2
<151> 2017-03-31

<150> EP17150150.5
<151> 2017-01-03

<160> 217

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4-1BB (20H4.9) CDR-H1

<400> 1

Gly Tyr Tyr Trp Ser
1 5

<210> 2
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4-1BB (20H4.9) CDR-H2

<400> 2

Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser
1 5 10 15

<210> 3
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4-1BB (20H4.9) CDR-H3

<400> 3

Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 4
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4-1BB (20H4.9) CDR-L1

<400> 4

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4-1BB (20H4.9) CDR-L2

<400> 5

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 6
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4-1BB (20H4.9) CDR-L3

<400> 6

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Ala Leu Thr
1 5 10

<210> 7
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4-1BB (20H4.9) VH

<400> 7

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 8
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4-1BB (20H4.9) VL

<400> 8

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
85 90 95

Ala Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 9
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(28H1) CDR-H1

<400> 9

Ser His Ala Met Ser
1 5

<210> 10
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(28H1) CDR-H2

<400> 10

Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 11
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(28H1) CDR-H3

<400> 11

Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr
1 5

<210> 12
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(28H1) CDR-L1

<400> 12

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 13
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(28H1) CDR-L2

<400> 13

Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr
1 5

<210> 14
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(28H1) CDR-L3

<400> 14

Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro Pro Thr
1 5

<210> 15
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(4B9) CDR-H1

<400> 15

Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 16
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(4B9) CDR-H2

<400> 16

Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 17
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(4B9) CDR-H3

<400> 17

Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr
1 5

<210> 18
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(4B9) CDR-L1

<400> 18

Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 19
<211> 7
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(4B9) CDR-L2

<400> 19

Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr
1 5

<210> 20
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(4B9) CDR-L3

<400> 20

Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro Pro Thr
1 5

<210> 21
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(28H1) VH

<400> 21

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 22
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(28H1) VL

<400> 22

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Ile Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 23
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(4B9) VH

<400> 23

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 24
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(4B9) VL

<400> 24

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 25
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (T84.66-LCHA)- CDR-H1

<400> 25

Asp Thr Tyr Met His
1 5

<210> 26
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (T84.66-LCHA)- CDR-H2

<400> 26

Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser Lys Tyr Val Pro Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 27
<211> 12
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (T84.66-LCHA)- CDR-H3

<400> 27

Phe Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Tyr Ala Met Ala Tyr
1 5 10

<210> 28
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (T84.66-LCHA)- CDR-L1

<400> 28

Arg Ala Gly Glu Ser Val Asp Ile Phe Gly Val Gly Phe Leu His
1 5 10 15

<210> 29
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (T84.66-LCHA)- CDR-L2

<400> 29

Arg Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 30
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (T84.66-LCHA)- CDR-L3

<400> 30

Gln Gln Thr Asn Glu Asp Pro Tyr Thr
1 5

<210> 31
<211> 121

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (T84.66-LCHA) VH

<400> 31

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser Lys Tyr Val Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Pro Phe Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Tyr Ala Met Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 32
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (T84.66-LCHA) VL

<400> 32

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Gly Glu Ser Val Asp Ile Phe

20 25 30

Gly Val Gly Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 33
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (A5B7)- CDR-H1

<400> 33

Ser Tyr Trp Met His
1 5

<210> 34
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (A5B7)- CDR-H2

<400> 34

Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Gly Thr Thr Glu Tyr Ala Ala Ser
1 5 10 15

<210> 35
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (A5B7)- CDR-H3

<400> 35

Asp Arg Gly Leu Arg Phe Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 36
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (A5B7)- CDR-L1

<400> 36

Thr Leu Arg Arg Gly Ile Asn Val Gly Ala Tyr Ser Ile Tyr
1 5 10

<210> 37
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (A5B7)- CDR-L2

<400> 37

Tyr Lys Ser Asp Ser Asp Lys Gln Gln Gly Ser
1 5 10

<210> 38
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (A5B7)- CDR-L3

<400> 38

Met Ile Trp His Ser Gly Ala Ser Ala Val
1 5 10

<210> 39
<211> 121
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (A5B7) VH

<400> 39

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Gly Thr Thr Glu Tyr Ala Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Gly Leu Arg Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 40
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (A5B7) VL

<400> 40

Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Ala Ser Leu Thr Cys Thr Leu Arg Arg Gly Ile Asn Val Gly Ala
20 25 30

Tyr Ser Ile Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Pro Pro Gln Tyr
35 40 45

Leu Leu Arg Tyr Lys Ser Asp Ser Asp Lys Gln Gln Gly Ser Gly Val
50 55 60

Ser Ser Arg Phe Ser Ala Ser Lys Asp Ala Ser Ala Asn Ala Gly Ile
65 70 75 80

Leu Leu Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
85 90 95

Met Ile Trp His Ser Gly Ala Ser Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys
100 105 110

Leu Thr Val Leu
115

<210> 41
<211> 1734
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fd-VL (4B9) (核苷酸序列)

<400> 41
caggtgcagc tgcagcagtg gggagccgga ctgctgaagc ctagcgagac actgagcctg 60

acctgcgccg tgtacggcgg cagcttcagc ggctactact ggtcctggat cagacagagc 120

cccgagaagg gcctggaatg gatcggcgag atcaaccacg gcggctacgt gacctacaac 180

cccagcctgg aaagcagagt gaccatcagc gtggacacca gcaagaacca gttcagcctg 240

aagctgagca gcgtgacagc cgccgacaca gccgtgtact actgcgccag agattacggc 300

cctggcaact acgactggta cttcgacctg tggggcagag gcaccctcgt gaccgtgtct 360

agcgctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 420

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaagttgag 660

cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg 720

ggaccgtcag tcttcctctt cccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc 780

cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 840

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac 900

aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 960

aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcggcg ccccatcga gaaaaccatc 1020

tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtgca ccctgccccc atcccgggat 1080

gagctgacca agaaccaggt cagcctctcg tgcgcagtca aaggcttcta tcccagcgac 1140

atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacgcctccc 1200

gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc gtgagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 1260

tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 1320

acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt ggaggcggcg gaagcggagg aggaggatcc 1380

ggcggcggag gttccggagg cggaggatcc gagatcgtgc tgacccagtc tccggcacc 1440

ctgtctctga gccctggcga gagagccacc ctgtcctgca gagcctccca gtccgtgacc 1500

tcctcctacc tcgcctggta tcagcagaag cccggccagg ccccтcggct gctgatcaac 1560

gtgggcagtc ggagagccac cggcatccct gaccggttct ccggctctgg ctccggcacc 1620

gacttcaccc tgaccatctc ccggctggaa cccgaggact tcgccgtgta ctactgccag 1680

cagggcatca tgctgccccc cacctttggc cagggcacca aggtggaaat caag 1734

<210> 42
<211> 1761
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (4B9) (核苷酸序列)

<400> 42
caggtgcagc tgcagcagtg gggagccgga ctgctgaagc ctagcgagac actgagcctg 60

acctgcgccg tgtacggcgg cagcttcagc ggctactact ggtcctggat cagacagagc 120

cccgagaagg gcctggaatg gatcggcgag atcaaccacg gcggctacgt gacctacaac 180

cccagcctgg aaagcagagt gaccatcagc gtggacacca gcaagaacca gttcagcctg 240

aagctgagca gcgtgacagc cgccgacaca gccgtgtact actgcgccag agattacggc 300
cctggcaact acgactggta cttcgacctg tggggcagag gcaccctcgt gaccgtgtct 360
agcgctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 420
gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480
tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540
tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 600
acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaagttgag 660
cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg 720
ggaccgtcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca cctcatgat ctcccggacc 780
cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 840
tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac 900
aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 960
aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcggcg ccccatcga gaaaaccatc 1020
tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccctgccccc ctgcagagat 1080
gagctgacca agaaccaggt gtccctgtgg tgtctggtca agggcttcta ccccagcgat 1140
atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cctgagaaca actacaagac cacccccct 1200
gtgctggaca gcgacggcag cttcttcctg tactccaaac tgaccgtgga caagagccgg 1260
tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgcagc gtgatgcacg aggccctgca caaccactac 1320
acccagaagt ccctgagcct gagccccggc ggaggcggcg gaagcggagg aggaggatct 1380
gggggcggag gttccggagg cggtggatct gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga 1440
ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg tcttgcgccg ccagcggctt caccttcagc 1500
agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc 1560
atcatcggct ctggcgccag cacctactac gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc 1620
agccgggaca acagcaagaa caccctgtac ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac 1680
accgccgtgt actactgcgc caagggatgg ttcggcggct tcaactactg gggacagggc 1740
accctggtca ccgtgtccag c 1761

<210> 43

<211> 648
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> VLCL-輕鏈(20H4.9) (核苷酸序列)

<400> 43
gagatcgtgc tgacccagag ccccgccacc ctgtctctga gccctggcga gagagccacc 60

ctgagctgca gagccagcca gagcgtgtcc agctacctgg cttggtatca gcagaagccc 120

ggccaggccc ccagactgct gatctacgac gccagcaacc gggccaccgg catccctgcc 180

agattttctg gcagcggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctggaaccc 240

gaggacttcg ccgtgtacta ctgccagcag cggagcaact ggccccctgc cctgaccttc 300

ggcggcggca ccaaggtgga aatcaagcgt acggtggctg caccatctgt cttcatcttc 360

ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac 420

ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aaggtggata acgccctcca atcgggtaac 480

tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc 540

ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa cacaaagtct acgcctgcga agtcacccat 600

cagggcctga gctcgcccgt cacaaagagc ttcaacaggg gagagtgt 648

<210> 44
<211> 578
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fd-VL (4B9)

<400> 44

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

275 280 285

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr
465 470 475 480

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser
485 490 495

Gln Ser Val Thr Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
500 505 510

Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly
515 520 525

Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
530 535 540

Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln
545 550 555 560

Gln Gly Ile Met Leu Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
565 570 575

Ile Lys

<210> 45
<211> 587
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (4B9)

<400> 45

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly
465 470 475 480

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
485 490 495

Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
500 505 510

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr
515 520 525

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
530 535 540

Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
545 550 555 560

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr
565 570 575

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
580 585

<210> 46
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VLCL-輕鏈(20H4.9)

<400> 46

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
85 90 95

Ala Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys
115 120 125

Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
130 135 140

Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
145 150 155 160

Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
165 170 175

Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
180 185 190

Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
195 200 205

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 47
<211> 1761
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (4B9) (核苷酸序列)

<400> 47
caggtgcagc tgcagcagtg gggagccggc ctgctgaagc ccagcgagac actgagcctg 60

acctgcgccg tgtacggcgg cagcttcagc ggctactact ggtcctggat ccggcagagc 120

cccgagaagg gcctggaatg gatcggcgag atcaaccacg gcggctacgt gacctacaac 180

cccagcctgg aaagcagagt gaccatcagc gtggacacca gcaagaacca gttcagcctg 240

aagctgagca gcgtgacagc cgccgacacc gccgtgtact actgcgccag agactacggc 300

cctggcaact acgactggta cttcgacctg tggggcagag gcaccctggt gacagtgtcc 360

agcgctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 420

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaagttgag 660

cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg 720

ggaccgtcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc 780

cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 840

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac 900

aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 960

aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcggcg ccccccatcga gaaaaccatc 1020

tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtgca ccctgccccc atcccgggat 1080

gagctgacca agaaccaggt cagcctctcg tgcgcagtca aaggcttcta tcccagcgac 1140

atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacgcctccc 1200

gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc gtgagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 1260

tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 1320

acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt ggaggcggcg gaagcggagg aggaggatcc 1380

ggcggcggag gttccggagg cggaggatcc gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga 1440

ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg tcttgcgccg ccagcggctt caccttcagc 1500

agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc 1560

atcatcggct ctggcgccag cacctactac gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc 1620

agccgggaca acagcaagaa caccctgtac ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac 1680

accgccgtgt actactgcgc caagggatgg ttcggcggct tcaactactg gggacagggc 1740

accctggtca ccgtgtccag c 1761

<210> 48
<211> 1733
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (4B9)

<400> 48
aggtgcagct gcagcagtgg ggagccggcc tgctgaagcc cagcgagaca ctgagcctga 60

cctgcgccgt gtacggcggc agcttcagcg gctactactg gtcctggatc cggcagagcc 120

ccgagaaggg cctggaatgg atcggcgaga tcaaccacgg cggctacgtg acctacaacc 180

ccagcctgga aagcagagtg accatcagcg tggacaccag caagaaccag ttcagcctga 240

agctgagcag cgtgacagcc gccgacaccg ccgtgtacta ctgcgccaga gactacggcc 300

ctggcaacta cgactggtac ttcgacctgt ggggcagagg caccctggtg acagtgtcca 360

gcgctagcac caagggccca tcggtcttcc ccctggcacc ctcctccaag agcacctctg 420

ggggcacagc ggccctgggc tgcctggtca aggactactt ccccgaaccg gtgacggtgt 480

cgtggaactc aggcgccctg accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc ctacagtcct 540

caggactcta ctccctcagc agcgtggtga ccgtgccctc cagcagcttg ggcacccaga 600

cctacatctg caacgtgaat cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag aaagttgagc 660

ccaaatcttg tgacaaaact cacacatgcc caccgtgccc agcacctgaa gctgcagggg 720

gaccgtcagt cttcctcttc cccccaaaac ccaaggacac cctcatgatc tcccggaccc 780

ctgaggtcac atgcgtggtg gtggacgtga gccacgaaga ccctgaggtc aagttcaact 840

ggtacgtgga cggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagtaca 900

acagcacgta ccgtgtggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaatggca 960

aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag ccctcggcgc ccccatcgag aaaaccatct 1020

ccaaagccaa agggcagccc cgagaaccac aggtgtacac cctgcccccc tgcagagatg 1080

agctgaccaa gaaccaggtg tccctgtggt gtctggtcaa gggcttctac cccagcgata 1140

tcgccgtgga gtgggagagc aacggccagc ctgagaacaa ctacaagacc acccccccctg 1200

tgctggacag cgacggcagc ttcttcctgt actccaaact gaccgtggac aagagccggt 1260

ggcagcaggg caacgtgttc agctgcagcg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca 1320

cccagaagtc cctgagcctg agccccggcg gaggcggcgg aagcggagga ggaggatctg 1380

ggggcggagg ttccggaggc ggtggatctg agatcgtgct gacccagtct ccccggcaccc 1440

tgtctctgag ccctggcgag agagccaccc tgtcctgcag agcctcccag tccgtgacct 1500

cctcctacct cgcctggtat cagcagaagc ccggccaggc ccctcggctg ctgatcaacg 1560

tgggcagtcg gagagccacc ggcatccctg accggttctc cggctctggc tccggcaccg 1620

acttcaccct gaccatctcc cggctggaac ccgaggactt cgccgtgtac tactgccagc 1680

agggcatcat gctgcccccc acctttggcc agggcaccaa ggtggaaatc aag 1733

<210> 49
<211> 587
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈區-VH (4B9)

<400> 49

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly
465 470 475 480

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
485 490 495

Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
500 505 510

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr
515 520 525

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
530 535 540

Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
545 550 555 560

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr
565 570 575

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
580 585

<210> 50
<211> 578
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (4B9)

<400> 50

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr
465 470 475 480

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser
485 490 495

Gln Ser Val Thr Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
500 505 510

Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly
515 520 525

Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
530 535 540

Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln
545 550 555 560

Gln Gly Ile Met Leu Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
565 570 575

Ile Lys

<210> 51
<211> 681
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 核苷酸序列Fc白鏈

<400> 51
gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc 60

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 120

tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 180

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 240

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 300

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 360

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtgcacc ctgccccccat cccgggatga gctgaccaag 420

aaccaggtca gcctctcgtg cgcagtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 480

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 540

gacggctcct tcttcctcgt gagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 600

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 660

ctctccctgt ctccgggtaa a 681

<210> 52
<211> 1266
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 核苷酸序列人類4-1BB抗原Fc杵鏈

<400> 52
ctgcaggacc cctgcagcaa ctgccctgcc ggcaccttct gcgacaacaa ccggaaccag 60

atctgcagcc cctgcccccc caacagcttc agctctgccg gcggacagcg gacctgcgac 120

atctgcagac agtgcaaggg cgtgttcaga acccggaaag agtgcagcag caccagcaac 180

gccgagtgcg actgcacccc cggcttccat tgtctgggag ccggctgcag catgtgcgag 240

caggactgca agcagggcca ggaactgacc aagaagggct gcaaggactg ctgcttcggc 300

accttcaacg accagaagcg gggcatctgc cggccctgga ccaactgtag cctggacggc 360

aagagcgtgc tggtcaacgg caccaaagaa cgggacgtcg tgtgcggccc cagccctgct 420

gatctgtctc ctggggccag cagcgtgacc cctcctgccc ctgccagaga gcctggccac 480

tctcctcagg tcgacgaaca gttatatttt cagggcggct cacccaaatc tgcagacaaa 540

actcacacat gcccaccgtg cccagcacct gaactcctgg ggggaccgtc agtcttcctc 600

ttccccccaa aacccaagga caccctcatg atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg 660

gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg 720

gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg 780

gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag 840

gtctccaaca aagccctccc agcccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag 900

ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatgccggg atgagctgac caagaaccag 960

gtcagcctgt ggtgcctggt caaaggcttc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag 1020

agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc 1080

tccttcttcc tctacagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1140

ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc 1200

ctgtctccgg gtaaatccgg aggcctgaac gacatcttcg aggcccagaa gattgaatgg 1260

cacgag 1266

<210> 53
<211> 227
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Fc白鏈

<400> 53

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

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

100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

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

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 54
<211> 422
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類4-1BB抗原Fc杵鏈

<400> 54

Leu Gln Asp Pro Cys Ser Asn Cys Pro Ala Gly Thr Phe Cys Asp Asn
1 5 10 15

Asn Arg Asn Gln Ile Cys Ser Pro Cys Pro Pro Asn Ser Phe Ser Ser
20 25 30

Ala Gly Gly Gln Arg Thr Cys Asp Ile Cys Arg Gln Cys Lys Gly Val
35 40 45

Phe Arg Thr Arg Lys Glu Cys Ser Ser Thr Ser Asn Ala Glu Cys Asp
50 55 60

Cys Thr Pro Gly Phe His Cys Leu Gly Ala Gly Cys Ser Met Cys Glu
65 70 75 80

Gln Asp Cys Lys Gln Gly Gln Glu Leu Thr Lys Lys Gly Cys Lys Asp
85 90 95

Cys Cys Phe Gly Thr Phe Asn Asp Gln Lys Arg Gly Ile Cys Arg Pro
100 105 110

Trp Thr Asn Cys Ser Leu Asp Gly Lys Ser Val Leu Val Asn Gly Thr
115 120 125

Lys Glu Arg Asp Val Val Cys Gly Pro Ser Pro Ala Asp Leu Ser Pro
130 135 140

Gly Ala Ser Ser Val Thr Pro Pro Ala Pro Ala Arg Glu Pro Gly His
145 150 155 160

Ser Pro Gln Val Asp Glu Gln Leu Tyr Phe Gln Gly Gly Ser Pro Lys
165 170 175

Ser Ala Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
180 185 190

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
195 200 205

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
210 215 220

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
225 230 235 240

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
245 250 255

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

260 265 270

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Scr Asn Lys Ala Leu Pro Ala
275 280 285

Pro Ilc Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
290 295 300

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
305 310 315 320

Val Ser Leu Trp Cys Lcu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
325 330 335

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
340 345 350

Pro Pro Val Leu Asp Scr Asp Gly Scr Phc Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
355 360 365

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
370 375 380

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
385 390 395 400

Leu Ser Pro Gly Lys Ser Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln
405 410 415

Lys Ile Glu Trp His Glu
420

<210> 55
<211> 2439
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fd-VL(4B9) (核苷酸序列)

<400> 55
caggtgcagc tgcagcagtg gggagccgga ctgctgaagc ctagcgagac actgagcctg 60

acctgcgccg tgtacggcgg cagcttcagc ggctactact ggtcctggat cagacagagc 120

cccgagaagg gcctggaatg gatcggcgag atcaaccacg gcggctacgt gacctacaac 180

cccagcctgg aaagcagagt gaccatcagc gtggacacca gcaagaacca gttcagcctg 240

aagctgagca gcgtgacagc cgccgacaca gccgtgtact actgcgccag agattacggc 300

cctggcaact acgactggta cttcgacctg tggggcagag gcaccctcgt gaccgtgtct 360

agcgcttcta ccaagggccc cagcgtgttc cctctggccc ctagcagcaa gagcacatct 420

ggcggaacag ccgccctggg ctgcctcgtg aaggactact tccccgagcc cgtgacagtg 480

tcctggaact ctggcgccct gacaagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 540

agcggcctgt actctctgag cagcgtcgtg actgtgccca gcagcagcct gggaacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 660

cccaagagct gcgacggcgg aggcggatct ggcggcggag gatcccaggt gcagctgcag 720

cagtggggcg ctggcctgct gaaaccctct gagactctgt ccctgacatg tgctgtgtat 780

ggcggctcct tctccggcta ctattggagc tggattcggc agtcccctga gaaaggactg 840

gaatggattg gggaaatcaa tcatggggga tatgtgacat acaatccctc actggaatcc 900

cgcgtgacca tctccgtgga tacctctaag aatcagttct ctctgaagct gtcctccgtg 960

accgccgctg ataccgctgt gtattactgt gcccgggact acggacccgg caattatgat 1020

tggtattttg atctgtgggg acggggcaca ctcgtgactg tgtcctctgc tagcaccaag 1080

ggcccatcgg tcttcccccc ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 1140

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc 1200

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 1260

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 1320

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac 1380

aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaagctg cagggggacc gtcagtcttc 1440

ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc 1500

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 1560

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 1620

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 1680

aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1740

cagccccgag aaccacaggt gtgcaccctg cccccatccc gggatgagct gaccaagaac 1800

caggtcagcc tctcgtgcgc agtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1860

gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1920

ggctccttct tcctcgtgag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1980

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 2040

tccctgtctc cgggtggagg cggcggaagc ggaggaggag gatccggcgg cggaggttcc 2100

ggaggcggtg gatctgagat cgtgctgacc cagtctcccg gcaccctgtc tctgagccct 2160

ggcgagagag ccaccctgtc ctgcagagcc tcccagtccg tgacctcctc ctacctcgcc 2220

tggtatcagc agaagcccgg ccaggcccct cggctgctga tcaacgtggg cagtcggaga 2280

gccaccggca tccctgaccg gttctccggc tctggctccg gcaccgactt caccctgacc 2340

atctcccggc tggaacccga ggacttcgcc gtgtactact gccagcaggg catcatgctg 2400

ccccccacct ttggccaggg caccaaggtg gaaatcaag 2439

<210> 56
<211> 2466
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈柞-VH(4B9) (核苷酸序列)

<400> 56
caggtgcagc tgcagcagtg gggagccgga ctgctgaagc ctagcgagac actgagcctg 60

acctgcgccg tgtacggcgg cagcttcagc ggctactact ggtcctggat cagacagagc 120

cccgagaagg gcctggaatg gatcggcgag atcaaccacg gcggctacgt gacctacaac 180

cccagcctgg aaagcagagt gaccatcagc gtggacacca gcaagaacca gttcagcctg 240

aagctgagca gcgtgacagc cgccgacaca gccgtgtact actgcgccag agattacggc 300

cctggcaact acgactggta cttcgacctg tggggcagag gcaccctcgt gaccgtgtct 360

agcgcttcta ccaagggccc cagcgtgttc cctctggccc ctagcagcaa gagcacatct 420

ggcggaacag ccgccctggg ctgcctcgtg aaggactact tccccgagcc cgtgacagtg 480

tcctggaact ctggcgccct gacaagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 540

agcggcctgt actctctgag cagcgtcgtg actgtgccca gcagcagcct gggaacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 660

cccaagagct gcgacggcgg aggcggatct ggcggcggag gatcccaggt gcagctgcag 720

cagtggggcg ctggcctgct gaaaccctct gagactctgt ccctgacatg tgctgtgtat 780

ggcggctcct tctccggcta ctattggagc tggattcggc agtcccctga gaaaggactg 840

gaatggattg gggaaatcaa tcatggggga tatgtgacat acaatccctc actggaatcc 900

cgcgtgacca tctccgtgga tacctctaag aatcagttct ctctgaagct gtcctccgtg 960

accgccgctg ataccgctgt gtattactgt gccccgggact acggacccgg caattatgat 1020

tggtattttg atctgtgggg acggggcaca ctcgtgactg tgtcctctgc tagcaccaag 1080

ggcccatcgg tcttcccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 1140

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc 1200

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 1260

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 1320

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac 1380

aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaagctg caggggggacc gtcagtcttc 1440

ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccccctga ggtcacatgc 1500

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 1560

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 1620

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 1680

aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1740

cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg cccccctgca gagatgagct gaccaagaac 1800

caggtgtccc tgtggtgtct ggtcaagggc ttctacccca gcgatatcgc cgtggagtgg 1860

gagagcaacg gccagcctga gaacaactac aagaccaccc ccctgtgct ggacagcgac 1920

ggcagcttct tcctgtactc caaactgacc gtggacaaga gccggtggca gcagggcaac 1980

gtgttcagct gcagcgtgat gcacgaggcc ctgcacaacc actacaccca gaagtccctg 2040

agcctgagcc ccggcggagg cggcggaagc ggaggaggag gatctggggg cggaggttcc 2100

ggaggcggag gatccgaggt gcagctgctc gaaagcggcg gaggactggt gcagcctggc 2160

ggcagcctga gactgtcttg cgccgccagc ggcttcacct tcagcagcta cgccatgagc 2220

tgggtccgcc aggcccctgg caagggactg gaatgggtgt ccgccatcat cggctctggc 2280

gccagcacct actacgccga cagcgtgaag ggccggttca ccatcagccg ggacaacagc 2340

aagaacaccc tgtacctgca gatgaacagc ctgcgggccg aggacaccgc cgtgtactac 2400

tgcgccaagg gatggttcgg cggcttcaac tactggggac agggcaccct ggtcaccgtg 2460

tccagc 2466

<210> 57
<211> 813
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fd-VL (4B9)

<400> 57

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His
275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
340 345 350

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

355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
370 375 380

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro
705 710 715 720

Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser
725 730 735

Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu
740 745 750

Leu Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe
755 760 765

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu
770 775 780

Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu
785 790 795 800

Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
805 810

<210> 58
<211> 822
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈柄-VH (4B9)

<400> 58

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His
275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
340 345 350

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
370 375 380

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
705 710 715 720

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser
725 730 735

Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
740 745 750

Val Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
755 760 765

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu
770 775 780

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
785 790 795 800

Cys Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
805 810 815

Leu Val Thr Val Ser Ser

820

<210> 59
<211> 2466
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈區-VH (4B9) (核苷酸序列)

<400> 59
caggtgcagc tgcagcagtg gggagccgga ctgctgaagc ctagcgagac actgagcctg 60
acctgcgccg tgtacggcgg cagcttcagc ggctactact ggtcctggat cagacagagc 120
cccgagaagg gcctggaatg gatcggcgag atcaaccacg gcggctacgt gacctacaac 180
cccagcctgg aaagcagagt gaccatcagc gtggacacca gcaagaacca gttcagcctg 240
aagctgagca gcgtgacagc cgccgacaca gccgtgtact actgcgccag agattacggc 300
cctggcaact acgactggta cttcgacctg tggggcagag gcaccctcgt gaccgtgtct 360
agcgcttcca caaagggccc cagcgtgttc cctctggccc ctagcagcaa gagcacatct 420
ggcggaacag ccgccctggg ctgcctcgtg aaggactact tccccgagcc cgtgacagtg 480
tcctggaact ctggcgccct gacaagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 540
agcggcctgt actctctgtc cagcgtcgtg actgtgccca gcagcagcct gggcacccag 600
acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 660
cccaagagct gcgacggcgg aggcggatct ggcggcggag gatcccaggt gcagctgcag 720
cagtggggcg ctggcctgct gaaaccctct gagactctgt ccctgacatg tgctgtgtat 780
ggcggctcct tctccggcta ctattggagc tggattcggc agtcccctga gaaaggactg 840
gaatggattg gggaaatcaa tcatggggga tatgtgacat acaatccctc actggaatcc 900
cgcgtgacca tctccgtgga tacctctaag aatcagttct ctctgaagct gtcctccgtg 960
accgccgctg ataccgctgt gtattactgt gcccgggact acggacccgg caattatgat 1020
tggtattttg atctgtgggg acggggcaca ctcgtgactg tgtcctctgc tagcaccaag 1080
ggcccatcgg tcttcccccc tggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 1140
ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc 1200
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 1260

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 1320

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac 1380

aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaagctg caggggggacc gtcagtcttc 1440

ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc 1500

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 1560

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 1620

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 1680

aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1740

cagccccgag aaccacaggt gtgcaccctg ccccatccc gggatgagct gaccaagaac 1800

caggtcagcc tctcgtgcgc agtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1860

gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1920

ggctccttct tcctcgtgag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1980

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 2040

tccctgtctc cgggtggagg cggcggaagc ggaggaggag gatccggcgg cggaggttcc 2100

ggaggcggag gatccgaggt gcagctgctc gaaagcggcg gaggactggt gcagcctggc 2160

ggcagcctga gactgtcttg cgccgccagc ggcttcacct tcagcagcta cgccatgagc 2220

tgggtccgcc aggccccctgg caagggactg gaatgggtgt ccgccatcat cggctctggc 2280

gccagcacct actacgccga cagcgtgaag ggccggttca ccatcagccg ggacaacagc 2340

aagaacaccc tgtacctgca gatgaacagc ctgcgggccg aggacaccgc cgtgtactac 2400

tgcgccaagg gatggttcgg cggcttcaac tactggggac agggcaccct ggtcaccgtg 2460

tccagc 2466

<210> 60
<211> 2439
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (4B9) (核苷酸序列)

<400> 60
caggtgcagc tgcagcagtg gggagccgga ctgctgaagc ctagcgagac actgagcctg 60

acctgcgccg tgtacggcgg cagcttcagc ggctactact ggtcctggat cagacagagc 120
cccgagaagg gcctggaatg gatcggcgag atcaaccacg gcggctacgt gacctacaac 180
cccagcctgg aaagcagagt gaccatcagc gtggacacca gcaagaacca gttcagcctg 240
aagctgagca gcgtgacagc cgccgacaca gccgtgtact actgcgccag agattacggc 300
cctggcaact acgactggta cttcgacctg tggggcagag gcaccctcgt gaccgtgtct 360
agcgcttcca caaagggccc cagcgtgttc cctctggccc ctagcagcaa gagcacatct 420
ggcggaacag ccgccctggg ctgcctcgtg aaggactact tccccgagcc cgtgacagtg 480
tcctggaact ctggcgccct gacaagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 540
agcggcctgt actctctgtc cagcgtcgtg actgtgccca gcagcagcct gggcacccag 600
acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 660
cccaagagct gcgacggcgg aggcggatct ggcggcggag gatcccaggt gcagctgcag 720
cagtggggcg ctggcctgct gaaaccctct gagactctgt ccctgacatg tgctgtgtat 780
ggcggctcct tctccggcta ctattggagc tggattcggc agtcccctga gaaaggactg 840
gaatggattg gggaaatcaa tcatggggga tatgtgacat acaatccctc actggaatcc 900
cgcgtgacca tctccgtgga tacctctaag aatcagttct ctctgaagct gtcctccgtg 960
accgccgctg ataccgctgt gtattactgt gcccgggact acggacccgg caattatgat 1020
tggtattttg atctgtgggg acggggcaca ctcgtgactg tgtcctctgc tagcaccaag 1080
ggcccatcgg tcttcccccc tggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 1140
ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc 1200
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 1260
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 1320
gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac 1380
aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaagctg caggggggacc gtcagtcttc 1440
ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc 1500
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 1560
gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 1620
gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 1680
aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1740

cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg cccccctgca gagatgagct gaccaagaac 1800

caggtgtccc tgtggtgtct ggtcaagggc ttctacccca gcgatatcgc cgtggagtgg 1860

gagagcaacg gccagcctga gaacaactac aagaccaccc ccctgtgct ggacagcgac 1920

ggcagcttct tcctgtactc caaactgacc gtggacaaga gccggtggca gcagggcaac 1980

gtgttcagct gcagcgtgat gcacgaggcc ctgcacaacc actacaccca gaagtccctg 2040

agcctgagcc ccggcggagg cggcggaagc ggaggaggag gatctggggg cggaggttcc 2100

ggaggcggtg gatctgagat cgtgctgacc cagtctcccg gcaccctgtc tctgagccct 2160

ggcgagagag ccaccctgtc ctgcagagcc tcccagtccg tgacctcctc ctacctcgcc 2220

tggtatcagc agaagcccgg ccaggccct cggctgctga tcaacgtggg cagtcggaga 2280

gccaccggca tccctgaccg gttctccggc tctggctccg gcaccgactt caccctgacc 2340

atctcccggc tggaacccga ggacttcgcc gtgtactact gccagcaggg catcatgctg 2400

ccccccacct ttggccaggg caccaaggtg gaaatcaag 2439

<210> 61
<211> 822
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈白-VH (4B9)

<400> 61

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His
275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
340 345 350

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
370 375 380

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
705 710 715 720

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser
725 730 735

Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
740 745 750

Val Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
755 760 765

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu
770 775 780

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
785 790 795 800

Cys Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
805 810 815

Leu Val Thr Val Ser Ser
820

<210> 62
<211> 813
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (4B9)

<400> 62

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His
275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
340 345 350

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
370 375 380

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro
705 710 715 720

Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser
725 730 735

Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu
740 745 750

Leu Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe
755 760 765

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu
770 775 780

Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu
785 790 795 800

Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
805 810

<210> 63
<211> 1743
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fd-VL (T84.66-LCHA) (核苷酸序列)

<400> 63
caggtgcagc tgcagcagtg gggagccggc ctgctgaagc ccagcgagac actgagcctg 60

acctgcgccg tgtacggcgg cagcttcagc ggctactact ggtcctggat ccggcagagc 120

cccgagaagg gcctggaatg gatcggcgag atcaaccacg gcggctacgt gacctacaac 180

cccagcctgg aaagcagagt gaccatcagc gtggacacca gcaagaacca gttcagcctg 240

aagctgagca gcgtgacagc cgccgacacc gccgtgtact actgcgccag agactacggc 300

cctggcaact acgactggta cttcgacctg tggggcagag gcaccctggt gacagtgtcc 360

agcgctagca ccaagggccc atcggtcttc ccccctggcac cctcctccaa gagcacctct 420

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaagttgag 660

cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg 720

ggaccgtcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc 780

cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 840

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac 900

aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 960

aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcggcg ccccatcga gaaaaccatc 1020

tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtgca ccctgccccc atcccgggat 1080

gagctgacca agaaccaggt cagcctctcg tgcgcagtca aaggcttcta tcccagcgac 1140

atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacgcctccc 1200

gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc gtgagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 1260

tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 1320

acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt ggaggcggcg gaagcggagg aggaggatcc 1380

ggcggcggag gttccggagg cggaggatcc gagatcgtgc tgacccagag ccctgccacc 1440

ctgtcactgt ctccaggcga gagagccacc ctgagctgta gagccggcga gagcgtggac 1500

atcttcggcg tgggatttct gcactggtat cagcagaagc ccggccaggc ccccagactg 1560

ctgatctaca gagccagcaa ccgggccaca ggcatccccg ccagattttc tggctctggc 1620

agcggcaccg acttcaccct gacaatcagc agcctggaac ccgaggactt cgccgtgtac 1680

tactgccagc agaccaacga ggaccccctac acctttggcc agggcaccaa gctggaaatc 1740

aag 1743

<210> 64
<211> 1773
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (T84.66-LCHA) (核苷酸序列)

<400> 64
caggtgcagc tgcagcagtg gggagccggc ctgctgaagc ccagcgagac actgagcctg 60

acctgcgccg tgtacggcgg cagcttcagc ggctactact ggtcctggat ccggcagagc 120

cccgagaagg gcctggaatg gatcggcgag atcaaccacg gcggctacgt gacctacaac 180

cccagcctgg aaagcagagt gaccatcagc gtggacacca gcaagaacca gttcagcctg 240

aagctgagca gcgtgacagc cgccgacacc gccgtgtact actgcgccag agactacggc 300

cctggcaact acgactggta cttcgacctg tggggcagag gcaccctggt gacagtgtcc 360

agcgctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 420

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaagttgag 660

cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg 720

ggaccgtcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc 780

cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 840

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac 900

aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 960

aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcggcg ccccccatcga gaaaaccatc 1020

tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccctgccccc ctgcagagat 1080

gagctgacca agaaccaggt gtccctgtgg tgtctggtca agggcttcta ccccagcgat 1140

atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cctgagaaca actacaagac cacccccccct 1200

gtgctggaca gcgacggcag cttcttcctg tactccaaac tgaccgtgga caagagccgg 1260

tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgcagc gtgatgcacg aggccctgca caaccactac 1320

acccagaagt ccctgagcct gagccccggc ggaggcggcg gaagcggagg aggaggatct 1380

gggggcggag gttccggagg cggtggatct caggtgcagc tggtgcagtc tggcgccgaa 1440

gtgaagaaac ccggcagcag cgtgaaggtg tcctgcaagg ccagcggctt caacatcaag 1500

gacacctaca tgcactgggt gcgccaggcc cctggacagg gactggaatg gatgggcaga 1560

atcgaccccg ccaacggcaa cagcaaatac gtgcccaagt tccagggcag agtgaccatc 1620

accgccgaca ccagcacctc caccgcctac atggaactga gcagcctgcg gagcgaggac 1680

accgccgtgt actactgtgc ccccttcggc tactacgtgt ccgactacgc catggcctat 1740

tggggccagg gcacactcgt gaccgtgtcc tct 1773

<210> 65
<211> 581
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈H-VL (T84.66-LCHA)

<400> 65

```
Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1               5                  10                  15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
    50                  55                  60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65                  70                  75                  80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
            100                 105                 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

420 425 430

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr
465 470 475 480

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Gly
485 490 495

Glu Ser Val Asp Ile Phe Gly Val Gly Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln
500 505 510

Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Arg
515 520 525

Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
530 535 540

Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr
545 550 555 560

Tyr Cys Gln Gln Thr Asn Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr
565 570 575

Lys Leu Glu Ile Lys
580

<210> 66
<211> 591
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈件-VH (T84.66-LCHA)

<400> 66

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly

225 230 235 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
465 470 475 480

Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
485 490 495

Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
500 505 510

Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser
515 520 525

Lys Tyr Val Pro Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr
530 535 540

Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
545 550 555 560

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Pro Phe Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Tyr
565 570 575

Ala Met Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
580 585 590

<210> 67
<211> 1773
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (T84.66-LCHA) (核苷酸序列)

<400> 67
caggtgcagc tgcagcagtg gggagccggc ctgctgaagc ccagcgagac actgagcctg 60

acctgcgccg tgtacggcgg cagcttcagc ggctactact ggtcctggat ccggcagagc 120

cccgagaagg gcctggaatg gatcggcgag atcaaccacg gcggctacgt gacctacaac 180

cccagcctgg aaagcagagt gaccatcagc gtggacacca gcaagaacca gttcagcctg 240

aagctgagca gcgtgacagc cgccgacacc gccgtgtact actgcgccag agactacggc 300

cctggcaact acgactggta cttcgacctg tggggcagag gcaccctggt gacagtgtcc 360

agcgctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 420

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaagttgag 660

cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg 720

ggaccgtcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc 780

cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 840

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac 900

aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 960

aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcggcg ccccatcga gaaaaccatc 1020

tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtgca ccctgccccc atcccgggat 1080

gagctgacca agaaccaggt cagcctctcg tgcgcagtca aaggcttcta tcccagcgac 1140

atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacgcctccc 1200

gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc gtgagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 1260

tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 1320

acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt ggaggcggcg gaagcggagg aggaggatcc 1380

ggcggcggag gttccggagg cggaggatcc caggtgcagc tggtgcagtc tggcgccgaa 1440

gtgaagaaac ccggcagcag cgtgaaggtg tcctgcaagg ccagcggctt caacatcaag 1500

gacacctaca tgcactgggt gcgccaggcc cctggacagg gactggaatg gatgggcaga 1560

atcgaccccg ccaacggcaa cagcaaatac gtgcccaagt tccagggcag agtgaccatc 1620

accgccgaca ccagcacctc caccgcctac atggaactga gcagcctgcg gagcgaggac 1680

accgccgtgt actactgtgc ccccttcggc tactacgtgt ccgactacgc catggcctat 1740

tggggccagg gcacactcgt gaccgtgtcc tct 1773

<210> 68
<211> 1743
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈柝-VL (T84.66-LCHA) (核苷酸序列)

<400> 68

caggtgcagc tgcagcagtg gggagccggc ctgctgaagc ccagcgagac actgagcctg 60

acctgcgccg tgtacggcgg cagcttcagc ggctactact ggtcctggat ccggcagagc 120

cccgagaagg gcctggaatg gatcggcgag atcaaccacg gcggctacgt gacctacaac 180

cccagcctgg aaagcagagt gaccatcagc gtggacacca gcaagaacca gttcagcctg 240

aagctgagca gcgtgacagc cgccgacacc gccgtgtact actgcgccag agactacggc 300

cctggcaact acgactggta cttcgacctg tggggcagag gcaccctggt gacagtgtcc 360

agcgctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 420

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaagttgag 660

cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg 720

ggaccgtcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc 780

cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 840

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac 900

aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 960

aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcggcg cccccatcga gaaaaccatc 1020

tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccctgccccc ctgcagagat 1080

gagctgacca agaaccaggt gtccctgtgg tgtctggtca agggcttcta ccccagcgat 1140

atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cctgagaaca actacaagac cacccccccc 1200

gtgctggaca gcgacggcag cttcttcctg tactccaaac tgaccgtgga caagagccgg 1260

tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgcagc gtgatgcacg aggccctgca caaccactac 1320

acccagaagt ccctgagcct gagccccggc ggaggcggcg gaagcggagg aggaggatct 1380

gggggcggag gttccggagg cggtggatct gagatcgtgc tgacccagag ccctgccacc 1440

ctgtcactgt ctccaggcga gagagccacc ctgagctgta gagccggcga gagcgtggac 1500

atcttcggcg tgggatttct gcactggtat cagcagaagc ccggccaggc ccccagactg 1560

ctgatctaca gagccagcaa ccgggccaca ggcatccccg ccagattttc tggctctggc 1620

agcggcaccg acttcaccct gacaatcagc agcctggaac ccgaggactt cgccgtgtac 1680

tactgccagc agaccaacga ggaccccctac acctttggcc agggcaccaa gctggaaatc 1740

aag 1743

<210> 69
<211> 591
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈白-VH (T84.66-LCHA)

<400> 69

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
465 470 475 480

Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
485 490 495

Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
500 505 510

Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser
515 520 525

Lys Tyr Val Pro Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr
530 535 540

Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
545 550 555 560

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Pro Phe Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Tyr
565 570 575

Ala Met Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
580 585 590

<210> 70
<211> 581
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈桿-VL (T84.66-LCHA)

<400> 70

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr
465 470 475 480

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Gly
485 490 495

Glu Ser Val Asp Ile Phe Gly Val Gly Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln
500 505 510

Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Arg
515 520 525

Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
530 535 540

Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr
545 550 555 560

Tyr Cys Gln Gln Thr Asn Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr
565 570 575

Lys Leu Glu Ile Lys
580

<210> 71

<211> 1758
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL (A5B7) (核苷酸序列)

<400> 71
caggtgcagc tgcagcagtg gggagccggc ctgctgaagc ccagcgagac actgagcctg 60

acctgcgccg tgtacggcgg cagcttcagc ggctactact ggtcctggat ccggcagagc 120

cccgagaagg gcctggaatg gatcggcgag atcaaccacg gcggctacgt gacctacaac 180

cccagcctgg aaagcagagt gaccatcagc gtggacacca gcaagaacca gttcagcctg 240

aagctgagca gcgtgacagc cgccgacacc gccgtgtact actgcgccag agactacggc 300

cctggcaact acgactggta cttcgacctg tggggcagag gcaccctggt gacagtgtcc 360

agcgctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 420

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaagttgag 660

cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg 720

ggaccgtcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc 780

cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 840

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac 900

aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 960

aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcggcg ccccccatcga gaaaaccatc 1020

tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtgca ccctgccccc atcccgggat 1080

gagctgacca agaaccaggt cagcctctcg tgcgcagtca aaggcttcta tcccagcgac 1140

atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacgcctccc 1200

gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc gtgagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 1260

tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 1320

acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt ggaggcggcg gaagcggagg aggaggatcc 1380

ggcggcggag gttccggagg cggaggatcc caggccgtgc tgacacagcc tgccagcctg 1440

tctgcttctc ctggcgcctc tgcctccctg acctgcacac tgagaagagg catcaacgtg 1500

ggcgcctaca gcatctactg gtatcagcag aagcccggca gccccctca gtacctgctg 1560

agatacaaga gcgacagcga caagcagcag ggcagcggcg tgtccagcag attcagcgcc 1620

agcaaggacg cctctgccaa cgccggaatc ctgctgatca gcggcctgca gtctgaggac 1680

gaggccgact actactgcat gatctggcac tctggcgcca gcgccgtgtt tggcggaggc 1740

acaaaactga ccgtgctg 1758

<210> 72
<211> 1773
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (A5B7) (核苷酸序列)

<400> 72
caggtgcagc tgcagcagtg gggagccggc ctgctgaagc ccagcgagac actgagcctg 60

acctgcgccg tgtacggcgg cagcttcagc ggctactact ggtcctggat ccggcagagc 120

cccgagaagg gcctggaatg gatcggcgag atcaaccacg gcggctacgt gacctacaac 180

cccagcctgg aaagcagagt gaccatcagc gtggacacca gcaagaacca gttcagcctg 240

aagctgagca gcgtgacagc cgccgacacc gccgtgtact actgcgccag agactacggc 300

cctggcaact acgactggta cttcgacctg tggggcagag gcaccctggt gacagtgtcc 360

agcgctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 420

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaagttgag 660

cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg 720

ggaccgtcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc 780

cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 840

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac 900

aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 960

aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcggcg cccccatcga gaaaaccatc 1020

tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccctgccccc ctgcagagat 1080

gagctgacca agaaccaggt gtccctgtgg tgtctggtca agggcttcta ccccagcgat 1140

atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cctgagaaca actacaagac cacccccct 1200

gtgctggaca gcgacggcag cttcttcctg tactccaaac tgaccgtgga caagagccgg 1260

tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgcagc gtgatgcacg aggccctgca caaccactac 1320

acccagaagt ccctgagcct gagccccggc ggaggcggcg gaagcggagg aggaggatct 1380

gggggcggag gttccggagg cggtggatct gaagtgcagc tggtggaatc tggcggcgga 1440

ctggtgcagc ctggcagaag cctgagactg agctgtgccg ccagcggctt taccgtgtcc 1500

agctactgga tgcactgggt ccgacaggcc cctggcaagg gactggaatg ggtcggattc 1560

atcagaaaca aggccaacgg cggcaccacc gagtacgccg cctctgtgaa gggccggttc 1620

accatcagcc gggacgacag caagaacacc ctgtacctgc agatgaacag cctgcgggcc 1680

gaggacaccg ccgtgtacta ctgcgccaga gacagaggcc tgcggttcta cttcgactac 1740

tggggccagg gcaccaccgt gacagtctct tcc 1773

<210> 73
<211> 586
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fd-VL (A5B7)

<400> 73

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Leu
465 470 475 480

Ser Ala Ser Pro Gly Ala Ser Ala Ser Leu Thr Cys Thr Leu Arg Arg
485 490 495

Gly Ile Asn Val Gly Ala Tyr Ser Ile Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
500 505 510

Gly Ser Pro Pro Gln Tyr Leu Leu Arg Tyr Lys Ser Asp Ser Asp Lys
515 520 525

Gln Gln Gly Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Ser Ala Ser Lys Asp Ala
530 535 540

Ser Ala Asn Ala Gly Ile Leu Leu Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp
545 550 555 560

Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Met Ile Trp His Ser Gly Ala Ser Ala Val
565 570 575

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
580 585

<210> 74
<211> 591
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (A5B7)

<400> 74

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
465 470 475 480

Leu Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
485 490 495

Phe Thr Val Ser Ser Tyr Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
500 505 510

Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Gly
515 520 525

Thr Thr Glu Tyr Ala Ala Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg

530 535 540

Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala
545 550 555 560

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Gly Leu Arg Phe
565 570 575

Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
580 585 590

<210> 75
<211> 1773
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈區-VH (A5B7) (核苷酸序列)

<400> 75
caggtgcagc tgcagcagtg gggagccggc ctgctgaagc ccagcgagac actgagcctg 60

acctgcgccg tgtacggcgg cagcttcagc ggctactact ggtcctggat ccggcagagc 120

cccgagaagg gcctggaatg gatcggcgag atcaaccacg gcggctacgt gacctacaac 180

cccagcctgg aaagcagagt gaccatcagc gtggacacca gcaagaacca gttcagcctg 240

aagctgagca gcgtgacagc cgccgacacc gccgtgtact actgcgccag agactacggc 300

cctggcaact acgactggta cttcgacctg tggggcagag gcaccctggt gacagtgtcc 360

agcgctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 420

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaagttgag 660

cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg 720

ggaccgtcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc 780

cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 840

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac 900

aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 960

aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcggcg cccccatcga gaaaaccatc 1020

tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtgca ccctgccccc atcccgggat 1080

gagctgacca agaaccaggt cagcctctcg tgcgcagtca aaggcttcta tcccagcgac 1140

atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacgcctccc 1200

gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc gtgagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 1260

tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 1320

acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt ggaggcggcg gaagcggagg aggaggatcc 1380

ggcggcggag gttccggagg cggaggatcc gaagtgcagc tggtggaatc tggcggcgga 1440

ctggtgcagc ctggcagaag cctgagactg agctgtgccg ccagcggctt taccgtgtcc 1500

agctactgga tgcactgggt ccgacaggcc cctggcaagg gactggaatg ggtcggattc 1560

atcagaaaca aggccaacgg cggcaccacc gagtacgccg cctctgtgaa gggccggttc 1620

accatcagcc gggacgacag caagaacacc ctgtacctgc agatgaacag cctgcgggcc 1680

gaggacaccg ccgtgtacta ctgcgccaga gacagaggcc tgcggttcta cttcgactac 1740

tggggccagg gcaccaccgt gacagtctct tcc 1773

<210> 76
<211> 1758
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (A5B7) (核苷酸序列)

<400> 76
caggtgcagc tgcagcagtg gggagccggc ctgctgaagc ccagcgagac actgagcctg 60

acctgcgccg tgtacggcgg cagcttcagc ggctactact ggtcctggat ccggcagagc 120

cccgagaagg gcctggaatg gatcggcgag atcaaccacg gcggctacgt gacctacaac 180

cccagcctgg aaagcagagt gaccatcagc gtggacacca gcaagaacca gttcagcctg 240

aagctgagca gcgtgacagc cgccgacacc gccgtgtact actgcgccag agactacggc 300

cctggcaact acgactggta cttcgacctg tggggcagag gcaccctggt gacagtgtcc 360

agcgctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 420

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaagttgag 660

cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg 720

ggaccgtcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc 780

cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 840

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac 900

aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 960

aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcggcg ccccccatcga gaaaaccatc 1020

tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccctgccccc ctgcagagat 1080

gagctgacca agaaccaggt gtccctgtgg tgtctggtca agggcttcta ccccagcgat 1140

atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cctgagaaca actacaagac cacccccct 1200

gtgctggaca gcgacggcag cttcttcctg tactccaaac tgaccgtgga caagagccgg 1260

tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgcagc gtgatgcacg aggccctgca caaccactac 1320

acccagaagt ccctgagcct gagccccggc ggaggcggcg gaagcggagg aggaggatct 1380

gggggcggag gttccggagg cggtggatct caggccgtgc tgacacagcc tgccagcctg 1440

tctgcttctc ctggcgcctc tgcctccctg acctgcacac tgagaagagg catcaacgtg 1500

ggcgcctaca gcatctactg gtatcagcag aagcccggca gccccctca gtacctgctg 1560

agatacaaga gcgacagcga caagcagcag ggcagcggcg tgtccagcag attcagcgcc 1620

agcaaggacg cctctgccaa cgccggaatc ctgctgatca gcggcctgca gtctgaggac 1680

gaggccgact actactgcat gatctggcac tctggcgcca gcgccgtgtt tggcggaggc 1740

acaaaactga ccgtgctg 1758

<210> 77
<211> 591
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈Ｆ-VH (A5B7)

<400> 77

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
465 470 475 480

Leu Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
485 490 495

Phe Thr Val Ser Ser Tyr Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
500 505 510

Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Gly
515 520 525

Thr Thr Glu Tyr Ala Ala Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
530 535 540

Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala
545 550 555 560

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Gly Leu Arg Phe
565 570 575

Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
580 585 590

<210> 78
<211> 586
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈枠-VL (A5B7)

<400> 78

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Leu

465 470 475 480

Ser Ala Ser Pro Gly Ala Ser Ala Ser Leu Thr Cys Thr Leu Arg Arg
485 490 495

Gly Ile Asn Val Gly Ala Tyr Ser Ile Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
500 505 510

Gly Ser Pro Pro Gln Tyr Leu Leu Arg Tyr Lys Ser Asp Ser Asp Lys
515 520 525

Gln Gln Gly Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Ser Ala Ser Lys Asp Ala
530 535 540

Ser Ala Asn Ala Gly Ile Leu Leu Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp
545 550 555 560

Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Met Ile Trp His Ser Gly Ala Ser Ala Val
565 570 575

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
580 585

<210> 79
<211> 2448
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈Ｃ-VL(T84.66-LCHA) (核苷酸序列)

<400> 79
caggtgcagc tgcagcagtg gggagccggc ctgctgaagc ccagcgagac actgagcctg 60

acctgcgccg tgtacggcgg cagcttcagc ggctactact ggtcctggat ccggcagagc 120

cccgagaagg gcctggaatg gatcggcgag atcaaccacg gcggctacgt gacctacaac 180

cccagcctgg aaagcagagt gaccatcagc gtggacacca gcaagaacca gttcagcctg 240

aagctgagca gcgtgacagc cgccgacacc gccgtgtact actgcgccag agactacggc 300

cctggcaact acgactggta cttcgacctg tggggcagag gcaccctggt gacagtgtcc 360

agcgcttcta ccaagggccc cagcgtgttc cctctggccc ctagcagcaa gagcacatct 420

ggcggaacag ccgccctggg ctgcctcgtg aaggactact ttcccgagcc cgtgacagtg 480

tcctggaact ctggcgccct gacaagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 540

agcggcctgt actctctgag cagcgtcgtg actgtgccca gcagcagcct gggaacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 660

cccaagagct gcgacggcgg aggcggatct ggcggcggag gatcccaggt gcagctgcag 720

cagtggggag ccggcctgct gaagcccagc gagacactga gcctgacctg cgccgtgtac 780

ggcggcagct tcagcggcta ctactggtcc tggatccggc agagccccga gaagggcctg 840

gaatggatcg gcgagatcaa ccacggcggc tacgtgacct acaaccccag cctggaaagc 900

agagtgacca tcagcgtgga caccagcaag aaccagttca gcctgaagct gagcagcgtg 960

acagccgccg acaccgccgt gtactactgc gccagagact acggccctgg caactacgac 1020

tggtacttcg acctgtgggg cagaggcacc ctggtgacag tgtccagcgc tagcaccaag 1080

ggcccatcgg tcttcccccc ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 1140

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc 1200

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 1260

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 1320

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac 1380

aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaagctg cagggggacc gtcagtcttc 1440

ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccccctga ggtcacatgc 1500

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 1560

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 1620

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 1680

aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1740

cagccccgag aaccacaggt gtgcaccctg cccccatccc gggatgagct gaccaagaac 1800

caggtcagcc tctcgtgcgc agtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1860

gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1920

ggctccttct tcctcgtgag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1980

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 2040

tccctgtctc cgggtggagg cggcggaagc ggaggaggag gatccggcgg cggaggttcc 2100

ggaggcggag gatccgagat cgtgctgacc cagagccctg ccaccctgtc actgtctcca 2160

ggcgagagag ccaccctgag ctgtagagcc ggcgagagcg tggacatctt cggcgtggga 2220

tttctgcact ggtatcagca gaagccccggc caggccccca gactgctgat ctacagagcc 2280

agcaaccggg ccacaggcat ccccgccaga ttttctggct ctggcagcgg caccgacttc 2340

accctgacaa tcagcagcct ggaacccgag gacttcgccg tgtactactg ccagcagacc 2400

aacgaggacc cctacacctt tggccagggc accaagctgg aaatcaag 2448

<210> 80
<211> 2478
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH(T84.66-LCHA) (核苷酸序列)

<400> 80
caggtgcagc tgcagcagtg gggagccggc ctgctgaagc ccagcgagac actgagcctg 60

acctgcgccg tgtacggcgg cagcttcagc ggctactact ggtcctggat ccggcagagc 120

cccgagaagg gcctggaatg gatcggcgag atcaaccacg gcggctacgt gacctacaac 180

cccagcctgg aaagcagagt gaccatcagc gtggacacca gcaagaacca gttcagcctg 240

aagctgagca gcgtgacagc cgccgacacc gccgtgtact actgcgccag agactacggc 300

cctggcaact acgactggta cttcgacctg tggggcagag gcaccctggt gacagtgtcc 360

agcgcttcta ccaagggccc cagcgtgttc cctctggccc ctagcagcaa gagcacatct 420

ggcggaacag ccgccctggg ctgcctcgtg aaggactact tccccgagcc cgtgacagtg 480

tcctggaact ctggcgccct gacaagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 540

agcggcctgt actctctgag cagcgtcgtg actgtgccca gcagcagcct gggaacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 660

cccaagagct gcgacggcgg aggcggatct ggcggcggag gatcccaggt gcagctgcag 720

cagtggggag ccggcctgct gaagcccagc gagacactga gcctgacctg cgccgtgtac 780

ggcggcagct tcagcggcta ctactggtcc tggatccggc agagccccga gaagggcctg 840

gaatggatcg gcgagatcaa ccacggcggc tacgtgacct acaaccccag cctggaaagc 900

agagtgacca tcagcgtgga caccagcaag aaccagttca gcctgaagct gagcagcgtg 960

acagccgccg acaccgccgt gtactactgc gccagagact acggccctgg caactacgac 1020

tggtacttcg acctgtgggg cagaggcacc ctggtgacag tgtccagcgc tagcaccaag 1080

ggcccatcgg tcttcccccc ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 1140

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc 1200

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 1260

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 1320

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac 1380

aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaagctg caggggggacc gtcagtcttc 1440

ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc 1500

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 1560

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 1620

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 1680

aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1740

cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg cccccctgca gagatgagct gaccaagaac 1800

caggtgtccc tgtggtgtct ggtcaagggc ttctacccca gcgatatcgc cgtggagtgg 1860

gagagcaacg gccagcctga gaacaactac aagaccaccc cccctgtgct ggacagcgac 1920

ggcagcttct tcctgtactc caaactgacc gtggacaaga gccggtggca gcagggcaac 1980

gtgttcagct gcagcgtgat gcacgaggcc ctgcacaacc actacaccca gaagtccctg 2040

agcctgagcc ccggcggagg cggcggaagc ggaggaggag gatctggggg cggaggttcc 2100

ggaggcggtg gatctcaggt gcagctggtg cagtctggcg ccgaagtgaa gaaacccggc 2160

agcagcgtga aggtgtcctg caaggccagc ggcttcaaca tcaaggacac ctacatgcac 2220

tgggtgcgcc aggccccctgg acagggactg gaatggatgg gcagaatcga ccccgccaac 2280

ggcaacagca aatacgtgcc caagttccag ggcagagtga ccatcaccgc cgacaccagc 2340

acctccaccg cctacatgga actgagcagc ctgcggagcg aggacaccgc cgtgtactac 2400

tgtgcccccct tcggctacta cgtgtccgac tacgccatgg cctattgggg ccagggcaca 2460

ctcgtgaccg tgtcctct 2478

<210> 81

<211> 816
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈區-VL (T84.66-LCHA)

<400> 81

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His
275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
340 345 350

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
370 375 380

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser

405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro
705 710 715 720

Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Gly Glu Ser Val Asp Ile
725 730 735

Phe Gly Val Gly Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
740 745 750

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro
755 760 765

Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
770 775 780

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr
785 790 795 800

Asn Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
805 810 815

<210> 82
<211> 826
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (T84.66-LCHA)

<400> 82

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His
275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
340 345 350

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
370 375 380

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly
705 710 715 720

Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp
725 730 735

Thr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp
740 745 750

Met Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser Lys Tyr Val Pro Lys
755 760 765

Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala
770 775 780

Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
785 790 795 800

Cys Ala Pro Phe Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Tyr Ala Met Ala Tyr Trp
805 810 815

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
820 825

<210> 83
<211> 2478
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fd-VH (T84.66-LCHA) (核苷酸序列)

<400> 83

caggtgcagc tgcagcagtg gggagccggc ctgctgaagc ccagcgagac actgagcctg 60

acctgcgccg tgtacggcgg cagcttcagc ggctactact ggtcctggat ccggcagagc 120

cccgagaagg gcctggaatg gatcggcgag atcaaccacg gcggctacgt gacctacaac 180

cccagcctgg aaagcagagt gaccatcagc gtggacacca gcaagaacca gttcagcctg 240

aagctgagca gcgtgacagc cgccgacacc gccgtgtact actgcgccag agactacggc 300

cctggcaact acgactggta cttcgacctg tggggcagag gcaccctggt gacagtgtcc 360

agcgcttcca caaagggccc cagcgtgttc cctctggccc ctagcagcaa gagcacatct 420

ggcggaacag ccgccctggg ctgcctcgtg aaggactact tccccgagcc cgtgacagtg 480

tcctggaact ctggcgccct gacaagcggc gtgcacacct tccagccgt gctgcagagc 540

agcggcctgt actctctgtc cagcgtcgtg actgtgccca gcagcagcct gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 660

cccaagagct gcgacggcgg aggcggatct ggcggcggag gatcccaggt gcagctgcag 720

cagtggggag ccggcctgct gaagcccagc gagacactga gcctgacctg cgccgtgtac 780

ggcggcagct tcagcggcta ctactggtcc tggatccggc agagcccccga gaagggcctg 840

gaatggatcg gcgagatcaa ccacggcggc tacgtgacct acaaccccag cctggaaagc 900

agagtgacca tcagcgtgga caccagcaag aaccagttca gcctgaagct gagcagcgtg 960

acagccgccg acaccgccgt gtactactgc gccagagact acggccctgg caactacgac 1020

tggtacttcg acctgtgggg cagaggcacc ctggtgacag tgtccagcgc tagcaccaag 1080

ggcccatcgg tcttcccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 1140

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc 1200

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 1260

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 1320

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac 1380

aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaagctg caggggggacc gtcagtcttc 1440

ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc 1500

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 1560

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 1620

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 1680

aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1740

cagccccgag aaccacaggt gtgcaccctg cccccatccc gggatgagct gaccaagaac 1800

caggtcagcc tctcgtgcgc agtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1860

gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1920

ggctccttct tcctcgtgag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1980

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 2040

tccctgtctc cgggtggagg cggcggaagc ggaggaggag gatccggcgg cggaggttcc 2100

ggaggcggag gatcccaggt gcagctggtg cagtctggcg ccgaagtgaa gaaacccggc 2160

agcagcgtga aggtgtcctg caaggccagc ggcttcaaca tcaaggacac ctacatgcac 2220

tgggtgcgcc aggcccctgg acagggactg gaatggatgg gcagaatcga ccccgccaac 2280

ggcaacagca aatacgtgcc caagttccag ggcagagtga ccatcaccgc cgacaccagc 2340

acctccaccg cctacatgga actgagcagc ctgcggagcg aggacaccgc cgtgtactac 2400

tgtgcccgct tcggctacta cgtgtccgac tacgccatgg cctattgggg ccagggcaca 2460

ctcgtgaccg tgtcctct 2478

<210> 84
<211> 2448
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (T84.66-LCHA) (核苷酸序列)

<400> 84
caggtgcagc tgcagcagtg gggagccggc ctgctgaagc ccagcgagac actgagcctg 60

acctgcgccg tgtacggcgg cagcttcagc ggctactact ggtcctggat ccggcagagc 120

cccgagaagg gcctggaatg gatcggcgag atcaaccacg gcggctacgt gacctacaac 180

cccagcctgg aaagcagagt gaccatcagc gtggacacca gcaagaacca gttcagcctg 240

aagctgagca gcgtgacagc cgccgacacc gccgtgtact actgcgccag agactacggc 300

cctggcaact acgactggta cttcgacctg tggggcagag gcaccctggt gacagtgtcc 360

agcgcttcca caaagggccc cagcgtgttc cctctggccc ctagcagcaa gagcacatct 420

ggcggaacag ccgccctggg ctgcctcgtg aaggactact ttcccgagcc cgtgacagtg 480

tcctggaact ctggcgccct gacaagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 540

agcggcctgt actctctgtc cagcgtcgtg actgtgccca gcagcagcct gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 660

cccaagagct gcgacggcgg aggcggatct ggcggcggag gatcccaggt gcagctgcag 720

cagtggggag ccggcctgct gaagcccagc gagacactga gcctgacctg cgccgtgtac 780

ggcggcagct tcagcggcta ctactggtcc tggatccggc agagccccga gaagggcctg 840

gaatggatcg gcgagatcaa ccacggcggc tacgtgacct acaaccccag cctggaaagc 900

agagtgacca tcagcgtgga caccagcaag aaccagttca gcctgaagct gagcagcgtg 960

acagccgccg acaccgccgt gtactactgc gccagagact acggccctgg caactacgac 1020

tggtacttcg acctgtgggg cagaggcacc ctggtgacag tgtccagcgc tagcaccaag 1080

ggcccatcgg tcttcccccc ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 1140

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc 1200

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 1260

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 1320

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac 1380

aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaagctg caggggggacc gtcagtcttc 1440

ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccccctga ggtcacatgc 1500

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 1560

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 1620

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 1680

aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1740

cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg cccccctgca gagatgagct gaccaagaac 1800

caggtgtccc tgtggtgtct ggtcaagggc ttctacccca gcgatatcgc cgtggagtgg 1860

gagagcaacg gccagcctga gaacaactac aagaccaccc ccctgtgct ggacagcgac 1920

ggcagcttct tcctgtactc caaactgacc gtggacaaga gccggtggca gcagggcaac 1980

gtgttcagct gcagcgtgat gcacgaggcc ctgcacaacc actacaccca gaagtccctg 2040

agcctgagcc ccggcggagg cggcggaagc ggaggaggag gatctggggg cggaggttcc 2100

ggaggcggtg gatctgagat cgtgctgacc cagagccctg ccaccctgtc actgtctcca 2160

ggcgagagag ccaccctgag ctgtagagcc ggcgagagcg tggacatctt cggcgtggga 2220

tttctgcact ggtatcagca gaagcccggc caggccccca gactgctgat ctacagagcc 2280

agcaaccggg ccacaggcat ccccgccaga ttttctggct ctggcagcgg caccgacttc 2340

accctgacaa tcagcagcct ggaacccgag gacttcgccg tgtactactg ccagcagacc 2400

aacgaggacc cctacacctt tggccagggc accaagctgg aaatcaag 2448

<210> 85
<211> 826
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fd-VH (T84.66-LCHA)

<400> 85

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His
275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
340 345 350

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
370 375 380

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

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

565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly
705 710 715 720

Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp
725 730 735

Thr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp
740 745 750

Met Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser Lys Tyr Val Pro Lys
755 760 765

Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala
770 775 780

Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
785 790 795 800

Cys Ala Pro Phe Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Tyr Ala Met Ala Tyr Trp
805 810 815

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
820 825

<210> 86
<211> 816
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈柞-VL (T84.66-LCHA)

<400> 86

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

130 135 140

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

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

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

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

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

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His
275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
340 345 350

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
370 375 380

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro
705 710 715 720

Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Gly Glu Ser Val Asp Ile
725 730 735

Phe Gly Val Gly Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
740 745 750

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro
755 760 765

Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
770 775 780

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr
785 790 795 800

Asn Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
805 810 815

<210> 87
<211> 2463
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL(A5B7) (核苷酸序列)

<400> 87
caggtgcagc tgcagcagtg gggagccggc ctgctgaagc ccagcgagac actgagcctg 60

acctgcgccg tgtacggcgg cagcttcagc ggctactact ggtcctggat ccggcagagc 120

cccgagaagg gcctggaatg gatcggcgag atcaaccacg gcggctacgt gacctacaac 180

cccagcctgg aaagcagagt gaccatcagc gtggacacca gcaagaacca gttcagcctg 240

aagctgagca gcgtgacagc cgccgacacc gccgtgtact actgcgccag agactacggc 300

cctggcaact acgactggta cttcgacctg tggggcagag gcaccctggt gacagtgtcc 360

agcgcttcta ccaagggccc cagcgtgttc cctctggccc ctagcagcaa gagcacatct 420

ggcggaacag ccgccctggg ctgcctcgtg aaggactact tccccgagcc cgtgacagtg 480

tcctggaact ctggcgccct gacaagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 540

agcggcctgt actctctgag cagcgtcgtg actgtgccca gcagcagcct gggaacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 660

cccaagagct gcgacggcgg aggcggatct ggcggcggag gatcccaggt gcagctgcag 720

cagtggggag ccggcctgct gaagcccagc gagacactga gcctgacctg cgccgtgtac 780

ggcggcagct tcagcggcta ctactggtcc tggatccggc agagccccga gaagggcctg 840

gaatggatcg gcgagatcaa ccacggcggc tacgtgacct acaaccccag cctggaaagc 900

agagtgacca tcagcgtgga caccagcaag aaccagttca gcctgaagct gagcagcgtg 960

acagccgccg acaccgccgt gtactactgc gccagagact acggccctgg caactacgac 1020

tggtacttcg acctgtgggg cagaggcacc ctggtgacag tgtccagcgc tagcaccaag 1080

ggcccatcgg tcttcccccc tggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 1140

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc 1200

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 1260

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 1320

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac 1380

aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaagctg caggggggacc gtcagtcttc 1440

ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc 1500

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 1560

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 1620

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 1680

aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1740

cagccccgag aaccacaggt gtgcaccctg ccccatccc gggatgagct gaccaagaac 1800

caggtcagcc tctcgtgcgc agtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1860

gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1920

ggctccttct tcctcgtgag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1980

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 2040

tccctgtctc cgggtggagg cggcggaagc ggaggaggag gatccggcgg cggaggttcc 2100

ggaggcggag gatcccaggc cgtgctgaca cagcctgcca gcctgtctgc ttctcctggc 2160

gcctctgcct ccctgacctg cacactgaga agaggcatca acgtgggcgc ctacagcatc 2220

tactggtatc agcagaagcc cggcagcccc cctcagtacc tgctgagata caagagcgac 2280

agcgacaagc agcagggcag cggcgtgtcc agcagattca gcgccagcaa ggacgcctct 2340

gccaacgccg gaatcctgct gatcagcggc ctgcagtctg aggacgaggc cgactactac 2400

tgcatgatct ggcactctgg cgccagcgcc gtgtttggcg gaggcacaaa actgaccgtg 2460

ctg 2463

<210> 88
<211> 2478
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH(A5B7) (核苷酸序列)

<400> 88

caggtgcagc tgcagcagtg gggagccggc ctgctgaagc ccagcgagac actgagcctg 60

acctgcgccg tgtacggcgg cagcttcagc ggctactact ggtcctggat ccggcagagc 120

cccgagaagg gcctggaatg gatcggcgag atcaaccacg gcggctacgt gacctacaac 180

cccagcctgg aaagcagagt gaccatcagc gtggacacca gcaagaacca gttcagcctg 240

aagctgagca gcgtgacagc cgccgacacc gccgtgtact actgcgccag agactacggc 300

cctggcaact acgactggta cttcgacctg tggggcagag gcaccctggt gacagtgtcc 360

agcgcttcta ccaagggccc cagcgtgttc cctctggccc ctagcagcaa gagcacatct 420

ggcggaacag ccgccctggg ctgcctcgtg aaggactact tccccgagcc cgtgacagtg 480

tcctggaact ctggcgccct gacaagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 540

agcggcctgt actctctgag cagcgtcgtg actgtgccca gcagcagcct gggaacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 660

cccaagagct gcgacggcgg aggcggatct ggcggcggag gatcccaggt gcagctgcag 720

cagtggggag ccggcctgct gaagcccagc gagacactga gcctgacctg cgccgtgtac 780

ggcggcagct tcagcggcta ctactggtcc tggatccggc agagccccga gaagggcctg 840

gaatggatcg gcgagatcaa ccacggcggc tacgtgacct acaaccccag cctggaaagc 900

agagtgacca tcagcgtgga caccagcaag aaccagttca gcctgaagct gagcagcgtg 960

acagccgccg acaccgccgt gtactactgc gccagagact acggccctgg caactacgac 1020

tggtacttcg acctgtgggg cagaggcacc ctggtgacag tgtccagcgc tagcaccaag 1080

ggcccatcgg tcttcccccc tggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 1140

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc 1200

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 1260

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 1320

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac 1380

aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaagctg caggggggacc gtcagtcttc 1440

ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc 1500

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 1560

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 1620

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 1680

aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1740

cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg cccccctgca gagatgagct gaccaagaac 1800

caggtgtccc tgtggtgtct ggtcaagggc ttctacccca gcgatatcgc cgtggagtgg 1860

gagagcaacg gccagcctga gaacaactac aagaccaccc ccctgtgct ggacagcgac 1920

ggcagcttct tcctgtactc caaactgacc gtggacaaga gccggtggca gcagggcaac 1980

gtgttcagct gcagcgtgat gcacgaggcc ctgcacaacc actacaccca gaagtccctg 2040

agcctgagcc ccggcggagg cggcggaagc ggaggaggag gatctggggg cggaggttcc 2100

ggaggcggtg gatctgaagt gcagctggtg gaatctggcg gcggactggt gcagcctggc 2160

agaagcctga gactgagctg tgccgccagc ggctttaccg tgtccagcta ctggatgcac 2220

tgggtccgac aggcccctgg caagggactg gaatgggtcg gattcatcag aaacaaggcc 2280

aacggcggca ccaccgagta cgccgcctct gtgaagggcc ggttcaccat cagccgggac 2340

gacagcaaga acaccctgta cctgcagatg aacagcctgc gggccgagga caccgccgtg 2400

tactactgcg ccagagacag aggcctgcgg ttctacttcg actactgggg ccagggcacc 2460

accgtgacag tctcttcc 2478

<210> 89
<211> 821
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fl-VL (A5B7)

<400> 89

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His

275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
340 345 350

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
370 375 380

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Pro Gly
705 710 715 720

Ala Ser Ala Ser Leu Thr Cys Thr Leu Arg Arg Gly Ile Asn Val Gly
725 730 735

Ala Tyr Ser Ile Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Pro Pro Gln
740 745 750

Tyr Leu Leu Arg Tyr Lys Ser Asp Ser Asp Lys Gln Gln Gly Ser Gly
755 760 765

Val Ser Ser Arg Phe Ser Ala Ser Lys Asp Ala Ser Ala Asn Ala Gly
770 775 780

Ile Leu Leu Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr
785 790 795 800

Cys Met Ile Trp His Ser Gly Ala Ser Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr
805 810 815

Lys Leu Thr Val Leu
820

<210> 90
<211> 826
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (A5B7)

<400> 90

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His
275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
340 345 350

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
370 375 380

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
705 710 715 720

Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser Ser

725 730 735

Tyr Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
740 745 750

Val Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Gly Thr Thr Glu Tyr Ala
755 760 765

Ala Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn
770 775 780

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
785 790 795 800

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Gly Leu Arg Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp
805 810 815

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
820 825

<210> 91
<211> 2478
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈區-VH (A5B7) (核苷酸序列)

<400> 91
caggtgcagc tgcagcagtg gggagccggc ctgctgaagc ccagcgagac actgagcctg 60

acctgcgccg tgtacggcgg cagcttcagc ggctactact ggtcctggat ccggcagagc 120

cccgagaagg gcctggaatg gatcggcgag atcaaccacg gcggctacgt gacctacaac 180

cccagcctgg aaagcagagt gaccatcagc gtggacacca gcaagaacca gttcagcctg 240

aagctgagca gcgtgacagc cgccgacacc gccgtgtact actgcgccag agactacggc 300

cctggcaact acgactggta cttcgacctg tggggcagag gcaccctggt gacagtgtcc 360

agcgcttcca caaagggccc cagcgtgttc cctctggccc ctagcagcaa gagcacatct 420

ggcggaacag ccgccctggg ctgcctcgtg aaggactact tccccgagcc cgtgacagtg 480

tcctggaact ctggcgccct gacaagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 540

agcggcctgt actctctgtc cagcgtcgtg actgtgccca gcagcagcct gggcacccag 600
acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 660
cccaagagct gcgacggcgg aggcggatct ggcggcggag gatcccaggt gcagctgcag 720
cagtggggag ccggcctgct gaagcccagc gagacactga gcctgacctg cgccgtgtac 780
ggcggcagct tcagcggcta ctactggtcc tggatccggc agagccccga gaagggcctg 840
gaatggatcg gcgagatcaa ccacggcggc tacgtgacct acaaccccag cctggaaagc 900
agagtgacca tcagcgtgga caccagcaag aaccagttca gcctgaagct gagcagcgtg 960
acagccgccg acaccgccgt gtactactgc gccagagact acggccctgg caactacgac 1020
tggtacttcg acctgtgggg cagaggcacc ctggtgacag tgtccagcgc tagcaccaag 1080
ggcccatcgg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 1140
ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc 1200
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 1260
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 1320
gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac 1380
aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaagctg caggggggacc gtcagtcttc 1440
ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc 1500
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 1560
gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 1620
gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 1680
aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1740
cagccccgag aaccacaggt gtgcaccctg ccccatccc gggatgagct gaccaagaac 1800
caggtcagcc tctcgtgcgc agtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1860
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1920
ggctccttct tcctcgtgag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1980
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 2040
tccctgtctc cgggtggagg cggcggaagc ggaggaggag gatccggcgg cggaggttcc 2100
ggaggcggag gatccgaagt gcagctggtg gaatctggcg gcggactggt gcagcctggc 2160
agaagcctga gactgagctg tgccgccagc ggctttaccg tgtccagcta ctggatgcac 2220

tgggtccgac aggcccctgg caagggactg gaatgggtcg gattcatcag aaacaaggcc 2280

aacggcggca ccaccgagta cgccgcctct gtgaagggcc ggttcaccat cagccgggac 2340

gacagcaaga acaccctgta cctgcagatg aacagcctgc gggccgagga caccgccgtg 2400

tactactgcg ccagagacag aggcctgcgg ttctacttcg actactgggg ccagggcacc 2460

accgtgacag tctcttcc 2478

<210> 92
<211> 2463
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (A5B7) (核苷酸序列)

<400> 92
caggtgcagc tgcagcagtg gggagccggc ctgctgaagc ccagcgagac actgagcctg 60

acctgcgccg tgtacggcgg cagcttcagc ggctactact ggtcctggat ccggcagagc 120

cccgagaagg gcctggaatg gatcggcgag atcaaccacg gcggctacgt gacctacaac 180

cccagcctgg aaagcagagt gaccatcagc gtggacacca gcaagaacca gttcagcctg 240

aagctgagca gcgtgacagc cgccgacacc gccgtgtact actgcgccag agactacggc 300

cctggcaact acgactggta cttcgacctg tggggcagag gcaccctggt gacagtgtcc 360

agcgcttcca caaagggccc cagcgtgttc cctctggccc ctagcagcaa gagcacatct 420

ggcggaacag ccgccctggg ctgcctcgtg aaggactact tccccgagcc cgtgacagtg 480

tcctggaact ctggcgccct gacaagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 540

agcggcctgt actctctgtc cagcgtcgtg actgtgccca gcagcagcct gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 660

cccaagagct gcgacggcgg aggcggatct ggcggcggag gatcccaggt gcagctgcag 720

cagtggggag ccggcctgct gaagcccagc gagacactga gcctgacctg cgccgtgtac 780

ggcggcagct tcagcggcta ctactggtcc tggatccggc agagccccga gaagggcctg 840

gaatggatcg gcgagatcaa ccacggcggc tacgtgacct acaaccccag cctggaaagc 900

agagtgacca tcagcgtgga caccagcaag aaccagttca gcctgaagct gagcagcgtg 960

acagccgccg acaccgccgt gtactactgc gccagagact acggccctgg caactacgac 1020

tggtacttcg acctgtgggg cagaggcacc ctggtgacag tgtccagcgc tagcaccaag 1080

ggcccatcgg tcttcccccc ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 1140

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc 1200

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 1260

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 1320

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac 1380

aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaagctg caggggggacc gtcagtcttc 1440

ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc 1500

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 1560

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 1620

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 1680

aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1740

cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg cccccctgca gagatgagct gaccaagaac 1800

caggtgtccc tgtggtgtct ggtcaagggc ttctacccca gcgatatcgc cgtggagtgg 1860

gagagcaacg gccagcctga gaacaactac aagaccaccc ccctgtgct ggacagcgac 1920

ggcagcttct tcctgtactc caaactgacc gtggacaaga gccggtggca gcagggcaac 1980

gtgttcagct gcagcgtgat gcacgaggcc ctgcacaacc actacaccca gaagtccctg 2040

agcctgagcc ccggcggagg cggcggaagc ggaggaggag gatctggggg cggaggttcc 2100

ggaggcggtg gatctcaggc cgtgctgaca cagcctgcca gcctgtctgc ttctcctggc 2160

gcctctgcct ccctgacctg cacactgaga agaggcatca acgtgggcgc ctacagcatc 2220

tactggtatc agcagaagcc cggcagcccc cctcagtacc tgctgagata caagagcgac 2280

agcgacaagc agcagggcag cggcgtgtcc agcagattca gcgccagcaa ggacgcctct 2340

gccaacgccg gaatcctgct gatcagcggc ctgcagtctg aggacgaggc cgactactac 2400

tgcatgatct ggcactctgg cgccagcgcc gtgtttggcg gaggcacaaa actgaccgtg 2460

ctg 2463

<210> 93
<211> 826
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fd-VH (A5B7)

<400> 93

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His
275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
340 345 350

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
370 375 380

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
705 710 715 720

Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser Ser
725 730 735

Tyr Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
740 745 750

Val Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Gly Thr Thr Glu Tyr Ala
755 760 765

Ala Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn
770 775 780

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
785 790 795 800

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Gly Leu Arg Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp
805 810 815

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
820 825

<210> 94
<211> 821
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (A5B7)

<400> 94

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His
275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
340 345 350

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
370 375 380

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Pro Gly
705 710 715 720

Ala Ser Ala Ser Leu Thr Cys Thr Leu Arg Arg Gly Ile Asn Val Gly
725 730 735

Ala Tyr Ser Ile Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Pro Pro Gln
740 745 750

Tyr Leu Leu Arg Tyr Lys Ser Asp Ser Asp Lys Gln Gln Gly Ser Gly
755 760 765

Val Ser Ser Arg Phe Ser Ala Ser Lys Asp Ala Ser Ala Asn Ala Gly
770 775 780

Ile Leu Leu Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr
785 790 795 800

Cys Met Ile Trp His Ser Gly Ala Ser Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr
805 810 815

Lys Leu Thr Val Leu
820

<210> 95
<211> 760
<212> PRT
<213> 智人

<400> 95

Met Lys Thr Trp Val Lys Ile Val Phe Gly Val Ala Thr Ser Ala Val
1 5 10 15

Leu Ala Leu Leu Val Met Cys Ile Val Leu Arg Pro Ser Arg Val His
20 25 30

Asn Ser Glu Glu Asn Thr Met Arg Ala Leu Thr Leu Lys Asp Ile Leu
35 40 45

Asn Gly Thr Phe Ser Tyr Lys Thr Phe Phe Pro Asn Trp Ile Ser Gly
50 55 60

Gln Glu Tyr Leu His Gln Ser Ala Asp Asn Asn Ile Val Leu Tyr Asn
65 70 75 80

Ile Glu Thr Gly Gln Ser Tyr Thr Ile Leu Ser Asn Arg Thr Met Lys
85 90 95

Ser Val Asn Ala Ser Asn Tyr Gly Leu Ser Pro Asp Arg Gln Phe Val
100 105 110

Tyr Leu Glu Ser Asp Tyr Ser Lys Leu Trp Arg Tyr Ser Tyr Thr Ala
115 120 125

Thr Tyr Tyr Ile Tyr Asp Leu Ser Asn Gly Glu Phe Val Arg Gly Asn
130 135 140

Glu Leu Pro Arg Pro Ile Gln Tyr Leu Cys Trp Ser Pro Val Gly Ser
145 150 155 160

Lys Leu Ala Tyr Val Tyr Gln Asn Asn Ile Tyr Leu Lys Gln Arg Pro
165 170 175

Gly Asp Pro Pro Phe Gln Ile Thr Phe Asn Gly Arg Glu Asn Lys Ile
180 185 190

Phe Asn Gly Ile Pro Asp Trp Val Tyr Glu Glu Glu Met Leu Ala Thr
195 200 205

Lys Tyr Ala Leu Trp Trp Ser Pro Asn Gly Lys Phe Leu Ala Tyr Ala
210 215 220

Glu Phe Asn Asp Thr Asp Ile Pro Val Ile Ala Tyr Ser Tyr Tyr Gly
225 230 235 240

Asp Glu Gln Tyr Pro Arg Thr Ile Asn Ile Pro Tyr Pro Lys Ala Gly
245 250 255

Ala Lys Asn Pro Val Val Arg Ile Phe Ile Ile Asp Thr Thr Tyr Pro
260 265 270

Ala Tyr Val Gly Pro Gln Glu Val Pro Val Pro Ala Met Ile Ala Ser
275 280 285

Ser Asp Tyr Tyr Phe Ser Trp Leu Thr Trp Val Thr Asp Glu Arg Val
290 295 300

Cys Leu Gln Trp Leu Lys Arg Val Gln Asn Val Ser Val Leu Ser Ile
305 310 315 320

Cys Asp Phe Arg Glu Asp Trp Gln Thr Trp Asp Cys Pro Lys Thr Gln
325 330 335

Glu His Ile Glu Glu Ser Arg Thr Gly Trp Ala Gly Gly Phe Phe Val
340 345 350

Ser Thr Pro Val Phe Ser Tyr Asp Ala Ile Ser Tyr Tyr Lys Ile Phe
355 360 365

Ser Asp Lys Asp Gly Tyr Lys His Ile His Tyr Ile Lys Asp Thr Val
370 375 380

Glu Asn Ala Ile Gln Ile Thr Ser Gly Lys Trp Glu Ala Ile Asn Ile
385 390 395 400

Phe Arg Val Thr Gln Asp Ser Leu Phe Tyr Ser Ser Asn Glu Phe Glu
405 410 415

Glu Tyr Pro Gly Arg Arg Asn Ile Tyr Arg Ile Ser Ile Gly Ser Tyr
420 425 430

Pro Pro Ser Lys Lys Cys Val Thr Cys His Leu Arg Lys Glu Arg Cys
435 440 445

Gln Tyr Tyr Thr Ala Ser Phe Ser Asp Tyr Ala Lys Tyr Tyr Ala Leu
450 455 460

Val Cys Tyr Gly Pro Gly Ile Pro Ile Ser Thr Leu His Asp Gly Arg
465 470 475 480

Thr Asp Gln Glu Ile Lys Ile Leu Glu Glu Asn Lys Glu Leu Glu Asn
485 490 495

Ala Leu Lys Asn Ile Gln Leu Pro Lys Glu Glu Ile Lys Lys Leu Glu
500 505 510

Val Asp Glu Ile Thr Leu Trp Tyr Lys Met Ile Leu Pro Pro Gln Phe
515 520 525

Asp Arg Ser Lys Lys Tyr Pro Leu Leu Ile Gln Val Tyr Gly Gly Pro
530 535 540

Cys Ser Gln Ser Val Arg Ser Val Phe Ala Val Asn Trp Ile Ser Tyr
545 550 555 560

Leu Ala Ser Lys Glu Gly Met Val Ile Ala Leu Val Asp Gly Arg Gly
565 570 575

Thr Ala Phe Gln Gly Asp Lys Leu Leu Tyr Ala Val Tyr Arg Lys Leu
580 585 590

Gly Val Tyr Glu Val Glu Asp Gln Ile Thr Ala Val Arg Lys Phe Ile
595 600 605

Glu Met Gly Phe Ile Asp Glu Lys Arg Ile Ala Ile Trp Gly Trp Ser
610 615 620

Tyr Gly Gly Tyr Val Ser Ser Leu Ala Leu Ala Ser Gly Thr Gly Leu
625 630 635 640

Phe Lys Cys Gly Ile Ala Val Ala Pro Val Ser Ser Trp Glu Tyr Tyr
645 650 655

Ala Ser Val Tyr Thr Glu Arg Phe Met Gly Leu Pro Thr Lys Asp Asp

660 665 670

Asn Leu Glu His Tyr Lys Asn Ser Thr Val Met Ala Arg Ala Glu Tyr
675 680 685

Phe Arg Asn Val Asp Tyr Leu Leu Ile His Gly Thr Ala Asp Asp Asn
690 695 700

Val His Phe Gln Asn Ser Ala Gln Ile Ala Lys Ala Leu Val Asn Ala
705 710 715 720

Gln Val Asp Phe Gln Ala Met Trp Tyr Ser Asp Gln Asn His Gly Leu
725 730 735

Ser Gly Leu Ser Thr Asn His Leu Tyr Thr His Met Thr His Phe Leu
740 745 750

Lys Gln Cys Phe Ser Leu Ser Asp
755 760

<210> 96
<211> 748
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hu FAP胞外域+聚-lys-tag+his6-標記

<400> 96

Arg Pro Ser Arg Val His Asn Ser Glu Glu Asn Thr Met Arg Ala Leu
1 5 10 15

Thr Leu Lys Asp Ile Leu Asn Gly Thr Phe Ser Tyr Lys Thr Phe Phe
20 25 30

Pro Asn Trp Ile Ser Gly Gln Glu Tyr Leu His Gln Ser Ala Asp Asn
35 40 45

Asn Ile Val Leu Tyr Asn Ile Glu Thr Gly Gln Ser Tyr Thr Ile Leu
50 55 60

Ser Asn Arg Thr Met Lys Ser Val Asn Ala Ser Asn Tyr Gly Leu Ser
65 70 75 80

Pro Asp Arg Gln Phe Val Tyr Leu Glu Ser Asp Tyr Ser Lys Leu Trp
85 90 95

Arg Tyr Ser Tyr Thr Ala Thr Tyr Tyr Ile Tyr Asp Leu Ser Asn Gly
100 105 110

Glu Phe Val Arg Gly Asn Glu Leu Pro Arg Pro Ile Gln Tyr Leu Cys
115 120 125

Trp Ser Pro Val Gly Ser Lys Leu Ala Tyr Val Tyr Gln Asn Asn Ile
130 135 140

Tyr Leu Lys Gln Arg Pro Gly Asp Pro Pro Phe Gln Ile Thr Phe Asn
145 150 155 160

Gly Arg Glu Asn Lys Ile Phe Asn Gly Ile Pro Asp Trp Val Tyr Glu
165 170 175

Glu Glu Met Leu Ala Thr Lys Tyr Ala Leu Trp Trp Ser Pro Asn Gly
180 185 190

Lys Phe Leu Ala Tyr Ala Glu Phe Asn Asp Thr Asp Ile Pro Val Ile
195 200 205

Ala Tyr Ser Tyr Tyr Gly Asp Glu Gln Tyr Pro Arg Thr Ile Asn Ile
210 215 220

Pro Tyr Pro Lys Ala Gly Ala Lys Asn Pro Val Val Arg Ile Phe Ile
225 230 235 240

Ile Asp Thr Thr Tyr Pro Ala Tyr Val Gly Pro Gln Glu Val Pro Val
245 250 255

Pro Ala Met Ile Ala Ser Ser Asp Tyr Tyr Phe Ser Trp Leu Thr Trp
260 265 270

Val Thr Asp Glu Arg Val Cys Leu Gln Trp Leu Lys Arg Val Gln Asn
275 280 285

Val Ser Val Leu Ser Ile Cys Asp Phe Arg Glu Asp Trp Gln Thr Trp

290 295 300

Asp Cys Pro Lys Thr Gln Glu His Ile Glu Glu Ser Arg Thr Gly Trp
305 310 315 320

Ala Gly Gly Phe Phe Val Ser Thr Pro Val Phe Ser Tyr Asp Ala Ile
325 330 335

Ser Tyr Tyr Lys Ile Phe Ser Asp Lys Asp Gly Tyr Lys His Ile His
340 345 350

Tyr Ile Lys Asp Thr Val Glu Asn Ala Ile Gln Ile Thr Ser Gly Lys
355 360 365

Trp Glu Ala Ile Asn Ile Phe Arg Val Thr Gln Asp Ser Leu Phe Tyr
370 375 380

Ser Ser Asn Glu Phe Glu Glu Tyr Pro Gly Arg Arg Asn Ile Tyr Arg
385 390 395 400

Ile Ser Ile Gly Ser Tyr Pro Pro Ser Lys Lys Cys Val Thr Cys His
405 410 415

Leu Arg Lys Glu Arg Cys Gln Tyr Tyr Thr Ala Ser Phe Ser Asp Tyr
420 425 430

Ala Lys Tyr Tyr Ala Leu Val Cys Tyr Gly Pro Gly Ile Pro Ile Ser
435 440 445

Thr Leu His Asp Gly Arg Thr Asp Gln Glu Ile Lys Ile Leu Glu Glu
450 455 460

Asn Lys Glu Leu Glu Asn Ala Leu Lys Asn Ile Gln Leu Pro Lys Glu
465 470 475 480

Glu Ile Lys Lys Leu Glu Val Asp Glu Ile Thr Leu Trp Tyr Lys Met
485 490 495

Ile Leu Pro Pro Gln Phe Asp Arg Ser Lys Lys Tyr Pro Leu Leu Ile
500 505 510

Gln Val Tyr Gly Gly Pro Cys Ser Gln Ser Val Arg Ser Val Phe Ala
515 520 525

Val Asn Trp Ile Ser Tyr Leu Ala Ser Lys Glu Gly Met Val Ile Ala
530 535 540

Leu Val Asp Gly Arg Gly Thr Ala Phe Gln Gly Asp Lys Leu Leu Tyr
545 550 555 560

Ala Val Tyr Arg Lys Leu Gly Val Tyr Glu Val Glu Asp Gln Ile Thr
565 570 575

Ala Val Arg Lys Phe Ile Glu Met Gly Phe Ile Asp Glu Lys Arg Ile
580 585 590

Ala Ile Trp Gly Trp Ser Tyr Gly Gly Tyr Val Ser Ser Leu Ala Leu
595 600 605

Ala Ser Gly Thr Gly Leu Phe Lys Cys Gly Ile Ala Val Ala Pro Val
610 615 620

Ser Ser Trp Glu Tyr Tyr Ala Ser Val Tyr Thr Glu Arg Phe Met Gly
625 630 635 640

Leu Pro Thr Lys Asp Asp Asn Leu Glu His Tyr Lys Asn Ser Thr Val
645 650 655

Met Ala Arg Ala Glu Tyr Phe Arg Asn Val Asp Tyr Leu Leu Ile His
660 665 670

Gly Thr Ala Asp Asp Asn Val His Phe Gln Asn Ser Ala Gln Ile Ala
675 680 685

Lys Ala Leu Val Asn Ala Gln Val Asp Phe Gln Ala Met Trp Tyr Ser
690 695 700

Asp Gln Asn His Gly Leu Ser Gly Leu Ser Thr Asn His Leu Tyr Thr
705 710 715 720

His Met Thr His Phe Leu Lys Gln Cys Phe Ser Leu Ser Asp Gly Lys
725 730 735

Lys Lys Lys Lys Lys Gly His His His His His His
740 745

<210> 97
<211> 761
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 97

Met Lys Thr Trp Leu Lys Thr Val Phe Gly Val Thr Thr Leu Ala Ala
1 5 10 15

Leu Ala Leu Val Val Ile Cys Ile Val Leu Arg Pro Ser Arg Val Tyr
20 25 30

Lys Pro Glu Gly Asn Thr Lys Arg Ala Leu Thr Leu Lys Asp Ile Leu
35 40 45

Asn Gly Thr Phe Ser Tyr Lys Thr Tyr Phe Pro Asn Trp Ile Ser Glu
50 55 60

Gln Glu Tyr Leu His Gln Ser Glu Asp Asp Asn Ile Val Phe Tyr Asn
65 70 75 80

Ile Glu Thr Arg Glu Ser Tyr Ile Ile Leu Ser Asn Ser Thr Met Lys
85 90 95

Ser Val Asn Ala Thr Asp Tyr Gly Leu Ser Pro Asp Arg Gln Phe Val
100 105 110

Tyr Leu Glu Ser Asp Tyr Ser Lys Leu Trp Arg Tyr Ser Tyr Thr Ala
115 120 125

Thr Tyr Tyr Ile Tyr Asp Leu Gln Asn Gly Glu Phe Val Arg Gly Tyr
130 135 140

Glu Leu Pro Arg Pro Ile Gln Tyr Leu Cys Trp Ser Pro Val Gly Ser
145 150 155 160

Lys Leu Ala Tyr Val Tyr Gln Asn Asn Ile Tyr Leu Lys Gln Arg Pro
165 170 175

Gly Asp Pro Pro Phe Gln Ile Thr Tyr Thr Gly Arg Glu Asn Arg Ile
180 185 190

Phe Asn Gly Ile Pro Asp Trp Val Tyr Glu Glu Glu Met Leu Ala Thr
195 200 205

Lys Tyr Ala Leu Trp Trp Ser Pro Asp Gly Lys Phe Leu Ala Tyr Val
210 215 220

Glu Phe Asn Asp Ser Asp Ile Pro Ile Ile Ala Tyr Ser Tyr Tyr Gly
225 230 235 240

Asp Gly Gln Tyr Pro Arg Thr Ile Asn Ile Pro Tyr Pro Lys Ala Gly
245 250 255

Ala Lys Asn Pro Val Val Arg Val Phe Ile Val Asp Thr Thr Tyr Pro
260 265 270

His His Val Gly Pro Met Glu Val Pro Val Pro Glu Met Ile Ala Ser
275 280 285

Ser Asp Tyr Tyr Phe Ser Trp Leu Thr Trp Val Ser Ser Glu Arg Val
290 295 300

Cys Leu Gln Trp Leu Lys Arg Val Gln Asn Val Ser Val Leu Ser Ile
305 310 315 320

Cys Asp Phe Arg Glu Asp Trp His Ala Trp Glu Cys Pro Lys Asn Gln
325 330 335

Glu His Val Glu Glu Ser Arg Thr Gly Trp Ala Gly Gly Phe Phe Val
340 345 350

Ser Thr Pro Ala Phe Ser Gln Asp Ala Thr Ser Tyr Tyr Lys Ile Phe
355 360 365

Ser Asp Lys Asp Gly Tyr Lys His Ile His Tyr Ile Lys Asp Thr Val
370 375 380

Glu Asn Ala Ile Gln Ile Thr Ser Gly Lys Trp Glu Ala Ile Tyr Ile
385 390 395 400

Phe Arg Val Thr Gln Asp Ser Leu Phe Tyr Ser Ser Asn Glu Phe Glu
405 410 415

Gly Tyr Pro Gly Arg Arg Asn Ile Tyr Arg Ile Ser Ile Gly Asn Ser
420 425 430

Pro Pro Ser Lys Lys Cys Val Thr Cys His Leu Arg Lys Glu Arg Cys
435 440 445

Gln Tyr Tyr Thr Ala Ser Phe Ser Tyr Lys Ala Lys Tyr Tyr Ala Leu
450 455 460

Val Cys Tyr Gly Pro Gly Leu Pro Ile Ser Thr Leu His Asp Gly Arg
465 470 475 480

Thr Asp Gln Glu Ile Gln Val Leu Glu Glu Asn Lys Glu Leu Glu Asn
485 490 495

Ser Leu Arg Asn Ile Gln Leu Pro Lys Val Glu Ile Lys Lys Leu Lys
500 505 510

Asp Gly Gly Leu Thr Phe Trp Tyr Lys Met Ile Leu Pro Pro Gln Phe
515 520 525

Asp Arg Ser Lys Lys Tyr Pro Leu Leu Ile Gln Val Tyr Gly Gly Pro
530 535 540

Cys Ser Gln Ser Val Lys Ser Val Phe Ala Val Asn Trp Ile Thr Tyr
545 550 555 560

Leu Ala Ser Lys Glu Gly Ile Val Ile Ala Leu Val Asp Gly Arg Gly
565 570 575

Thr Ala Phe Gln Gly Asp Lys Phe Leu His Ala Val Tyr Arg Lys Leu
580 585 590

Gly Val Tyr Glu Val Glu Asp Gln Leu Thr Ala Val Arg Lys Phe Ile
595 600 605

Glu Met Gly Phe Ile Asp Glu Glu Arg Ile Ala Ile Trp Gly Trp Ser

610 615 620

Tyr Gly Gly Tyr Val Ser Ser Leu Ala Leu Ala Ser Gly Thr Gly Leu
625 630 635 640

Phe Lys Cys Gly Ile Ala Val Ala Pro Val Ser Ser Trp Glu Tyr Tyr
645 650 655

Ala Ser Ile Tyr Ser Glu Arg Phe Met Gly Leu Pro Thr Lys Asp Asp
660 665 670

Asn Leu Glu His Tyr Lys Asn Ser Thr Val Met Ala Arg Ala Glu Tyr
675 680 685

Phe Arg Asn Val Asp Tyr Leu Leu Ile His Gly Thr Ala Asp Asp Asn
690 695 700

Val His Phe Gln Asn Ser Ala Gln Ile Ala Lys Ala Leu Val Asn Ala
705 710 715 720

Gln Val Asp Phe Gln Ala Met Trp Tyr Ser Asp Gln Asn His Gly Ile
725 730 735

Ser Ser Gly Arg Ser Gln Asn His Leu Tyr Thr His Met Thr His Phe
740 745 750

Leu Lys Gln Cys Phe Ser Leu Ser Asp
755 760

<210> 98
<211> 749
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鼠FAP胞外域+聚-lys-tag+his6-標記

<400> 98

Arg Pro Ser Arg Val Tyr Lys Pro Glu Gly Asn Thr Lys Arg Ala Leu
1 5 10 15

Thr Leu Lys Asp Ile Leu Asn Gly Thr Phe Ser Tyr Lys Thr Tyr Phe
20 25 30

Pro Asn Trp Ile Ser Glu Gln Glu Tyr Leu His Gln Ser Glu Asp Asp
35 40 45

Asn Ile Val Phe Tyr Asn Ile Glu Thr Arg Glu Ser Tyr Ile Ile Leu
50 55 60

Ser Asn Ser Thr Met Lys Ser Val Asn Ala Thr Asp Tyr Gly Leu Ser
65 70 75 80

Pro Asp Arg Gln Phe Val Tyr Leu Glu Ser Asp Tyr Ser Lys Leu Trp
85 90 95

Arg Tyr Ser Tyr Thr Ala Thr Tyr Tyr Ile Tyr Asp Leu Gln Asn Gly
100 105 110

Glu Phe Val Arg Gly Tyr Glu Leu Pro Arg Pro Ile Gln Tyr Leu Cys
115 120 125

Trp Ser Pro Val Gly Ser Lys Leu Ala Tyr Val Tyr Gln Asn Asn Ile
130 135 140

Tyr Leu Lys Gln Arg Pro Gly Asp Pro Pro Phe Gln Ile Thr Tyr Thr
145 150 155 160

Gly Arg Glu Asn Arg Ile Phe Asn Gly Ile Pro Asp Trp Val Tyr Glu
165 170 175

Glu Glu Met Leu Ala Thr Lys Tyr Ala Leu Trp Trp Ser Pro Asp Gly
180 185 190

Lys Phe Leu Ala Tyr Val Glu Phe Asn Asp Ser Asp Ile Pro Ile Ile
195 200 205

Ala Tyr Ser Tyr Tyr Gly Asp Gly Gln Tyr Pro Arg Thr Ile Asn Ile
210 215 220

Pro Tyr Pro Lys Ala Gly Ala Lys Asn Pro Val Val Arg Val Phe Ile
225 230 235 240

Val Asp Thr Thr Tyr Pro His His Val Gly Pro Met Glu Val Pro Val

245 250 255

Pro Glu Met Ile Ala Ser Ser Asp Tyr Tyr Phe Ser Trp Leu Thr Trp
260 265 270

Val Ser Ser Glu Arg Val Cys Leu Gln Trp Leu Lys Arg Val Gln Asn
275 280 285

Val Ser Val Leu Ser Ile Cys Asp Phe Arg Glu Asp Trp His Ala Trp
290 295 300

Glu Cys Pro Lys Asn Gln Glu His Val Glu Glu Ser Arg Thr Gly Trp
305 310 315 320

Ala Gly Gly Phe Phe Val Ser Thr Pro Ala Phe Ser Gln Asp Ala Thr
325 330 335

Ser Tyr Tyr Lys Ile Phe Ser Asp Lys Asp Gly Tyr Lys His Ile His
340 345 350

Tyr Ile Lys Asp Thr Val Glu Asn Ala Ile Gln Ile Thr Ser Gly Lys
355 360 365

Trp Glu Ala Ile Tyr Ile Phe Arg Val Thr Gln Asp Ser Leu Phe Tyr
370 375 380

Ser Ser Asn Glu Phe Glu Gly Tyr Pro Gly Arg Arg Asn Ile Tyr Arg
385 390 395 400

Ile Ser Ile Gly Asn Ser Pro Pro Ser Lys Lys Cys Val Thr Cys His
405 410 415

Leu Arg Lys Glu Arg Cys Gln Tyr Tyr Thr Ala Ser Phe Ser Tyr Lys
420 425 430

Ala Lys Tyr Tyr Ala Leu Val Cys Tyr Gly Pro Gly Leu Pro Ile Ser
435 440 445

Thr Leu His Asp Gly Arg Thr Asp Gln Glu Ile Gln Val Leu Glu Glu
450 455 460

Asn Lys Glu Leu Glu Asn Ser Leu Arg Asn Ile Gln Leu Pro Lys Val
465 470 475 480

Glu Ile Lys Lys Leu Lys Asp Gly Gly Leu Thr Phe Trp Tyr Lys Met
485 490 495

Ile Leu Pro Pro Gln Phe Asp Arg Ser Lys Lys Tyr Pro Leu Leu Ile
500 505 510

Gln Val Tyr Gly Gly Pro Cys Ser Gln Ser Val Lys Ser Val Phe Ala
515 520 525

Val Asn Trp Ile Thr Tyr Leu Ala Ser Lys Glu Gly Ile Val Ile Ala
530 535 540

Leu Val Asp Gly Arg Gly Thr Ala Phe Gln Gly Asp Lys Phe Leu His
545 550 555 560

Ala Val Tyr Arg Lys Leu Gly Val Tyr Glu Val Glu Asp Gln Leu Thr
565 570 575

Ala Val Arg Lys Phe Ile Glu Met Gly Phe Ile Asp Glu Glu Arg Ile
580 585 590

Ala Ile Trp Gly Trp Ser Tyr Gly Gly Tyr Val Ser Ser Leu Ala Leu
595 600 605

Ala Ser Gly Thr Gly Leu Phe Lys Cys Gly Ile Ala Val Ala Pro Val
610 615 620

Ser Ser Trp Glu Tyr Tyr Ala Ser Ile Tyr Ser Glu Arg Phe Met Gly
625 630 635 640

Leu Pro Thr Lys Asp Asp Asn Leu Glu His Tyr Lys Asn Ser Thr Val
645 650 655

Met Ala Arg Ala Glu Tyr Phe Arg Asn Val Asp Tyr Leu Leu Ile His
660 665 670

Gly Thr Ala Asp Asp Asn Val His Phe Gln Asn Ser Ala Gln Ile Ala
675 680 685

Lys Ala Leu Val Asn Ala Gln Val Asp Phe Gln Ala Met Trp Tyr Ser
690 695 700

Asp Gln Asn His Gly Ile Leu Ser Gly Arg Ser Gln Asn His Leu Tyr
705 710 715 720

Thr His Met Thr His Phe Leu Lys Gln Cys Phe Ser Leu Ser Asp Gly
725 730 735

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Gly His His His His His His
740 745

<210> 99
<211> 748
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 食蟹獼猴FAP胞外域+聚-lys-tag+his6-標記

<400> 99

Arg Pro Pro Arg Val His Asn Ser Glu Glu Asn Thr Met Arg Ala Leu
1 5 10 15

Thr Leu Lys Asp Ile Leu Asn Gly Thr Phe Ser Tyr Lys Thr Phe Phe
20 25 30

Pro Asn Trp Ile Ser Gly Gln Glu Tyr Leu His Gln Ser Ala Asp Asn
35 40 45

Asn Ile Val Leu Tyr Asn Ile Glu Thr Gly Gln Ser Tyr Thr Ile Leu
50 55 60

Ser Asn Arg Thr Met Lys Ser Val Asn Ala Ser Asn Tyr Gly Leu Ser
65 70 75 80

Pro Asp Arg Gln Phe Val Tyr Leu Glu Ser Asp Tyr Ser Lys Leu Trp
85 90 95

Arg Tyr Ser Tyr Thr Ala Thr Tyr Tyr Ile Tyr Asp Leu Ser Asn Gly
100 105 110

Glu Phe Val Arg Gly Asn Glu Leu Pro Arg Pro Ile Gln Tyr Leu Cys
115 120 125

Trp Ser Pro Val Gly Ser Lys Leu Ala Tyr Val Tyr Gln Asn Asn Ile
130 135 140

Tyr Leu Lys Gln Arg Pro Gly Asp Pro Pro Phe Gln Ile Thr Phe Asn
145 150 155 160

Gly Arg Glu Asn Lys Ile Phe Asn Gly Ile Pro Asp Trp Val Tyr Glu
165 170 175

Glu Glu Met Leu Ala Thr Lys Tyr Ala Leu Trp Trp Ser Pro Asn Gly
180 185 190

Lys Phe Leu Ala Tyr Ala Glu Phe Asn Asp Thr Asp Ile Pro Val Ile
195 200 205

Ala Tyr Ser Tyr Tyr Gly Asp Glu Gln Tyr Pro Arg Thr Ile Asn Ile
210 215 220

Pro Tyr Pro Lys Ala Gly Ala Lys Asn Pro Phe Val Arg Ile Phe Ile
225 230 235 240

Ile Asp Thr Thr Tyr Pro Ala Tyr Val Gly Pro Gln Glu Val Pro Val
245 250 255

Pro Ala Met Ile Ala Ser Ser Asp Tyr Tyr Phe Ser Trp Leu Thr Trp
260 265 270

Val Thr Asp Glu Arg Val Cys Leu Gln Trp Leu Lys Arg Val Gln Asn
275 280 285

Val Ser Val Leu Ser Ile Cys Asp Phe Arg Glu Asp Trp Gln Thr Trp
290 295 300

Asp Cys Pro Lys Thr Gln Glu His Ile Glu Glu Ser Arg Thr Gly Trp
305 310 315 320

Ala Gly Gly Phe Phe Val Ser Thr Pro Val Phe Ser Tyr Asp Ala Ile
325 330 335

Ser Tyr Tyr Lys Ile Phe Ser Asp Lys Asp Gly Tyr Lys His Ile His
340 345 350

Tyr Ile Lys Asp Thr Val Glu Asn Ala Ile Gln Ile Thr Ser Gly Lys
355 360 365

Trp Glu Ala Ile Asn Ile Phe Arg Val Thr Gln Asp Ser Leu Phe Tyr
370 375 380

Ser Ser Asn Glu Phe Glu Asp Tyr Pro Gly Arg Arg Asn Ile Tyr Arg
385 390 395 400

Ile Ser Ile Gly Ser Tyr Pro Pro Ser Lys Lys Cys Val Thr Cys His
405 410 415

Leu Arg Lys Glu Arg Cys Gln Tyr Tyr Thr Ala Ser Phe Ser Asp Tyr
420 425 430

Ala Lys Tyr Tyr Ala Leu Val Cys Tyr Gly Pro Gly Ile Pro Ile Ser
435 440 445

Thr Leu His Asp Gly Arg Thr Asp Gln Glu Ile Lys Ile Leu Glu Glu
450 455 460

Asn Lys Glu Leu Glu Asn Ala Leu Lys Asn Ile Gln Leu Pro Lys Glu
465 470 475 480

Glu Ile Lys Lys Leu Glu Val Asp Glu Ile Thr Leu Trp Tyr Lys Met
485 490 495

Ile Leu Pro Pro Gln Phe Asp Arg Ser Lys Lys Tyr Pro Leu Leu Ile
500 505 510

Gln Val Tyr Gly Gly Pro Cys Ser Gln Ser Val Arg Ser Val Phe Ala
515 520 525

Val Asn Trp Ile Ser Tyr Leu Ala Ser Lys Glu Gly Met Val Ile Ala
530 535 540

Leu Val Asp Gly Arg Gly Thr Ala Phe Gln Gly Asp Lys Leu Leu Tyr
545 550 555 560

Ala Val Tyr Arg Lys Leu Gly Val Tyr Glu Val Glu Asp Gln Ile Thr
565 570 575

Ala Val Arg Lys Phe Ile Glu Met Gly Phe Ile Asp Glu Lys Arg Ile
580 585 590

Ala Ile Trp Gly Trp Ser Tyr Gly Gly Tyr Val Ser Ser Leu Ala Leu
595 600 605

Ala Ser Gly Thr Gly Leu Phe Lys Cys Gly Ile Ala Val Ala Pro Val
610 615 620

Ser Ser Trp Glu Tyr Tyr Ala Ser Val Tyr Thr Glu Arg Phe Met Gly
625 630 635 640

Leu Pro Thr Lys Asp Asp Asn Leu Glu His Tyr Lys Asn Ser Thr Val
645 650 655

Met Ala Arg Ala Glu Tyr Phe Arg Asn Val Asp Tyr Leu Leu Ile His
660 665 670

Gly Thr Ala Asp Asp Asn Val His Phe Gln Asn Ser Ala Gln Ile Ala
675 680 685

Lys Ala Leu Val Asn Ala Gln Val Asp Phe Gln Ala Met Trp Tyr Ser
690 695 700

Asp Gln Asn His Gly Leu Ser Gly Leu Ser Thr Asn His Leu Tyr Thr
705 710 715 720

His Met Thr His Phe Leu Lys Gln Cys Phe Ser Leu Ser Asp Gly Lys
725 730 735

Lys Lys Lys Lys Lys Gly His His His His His His
740 745

<210> 100
<211> 702
<212> PRT
<213> 智人

<400> 100

Met Glu Ser Pro Ser Ala Pro Pro His Arg Trp Cys Ile Pro Trp Gln
1 5 10 15

Arg Leu Leu Leu Thr Ala Ser Leu Leu Thr Phe Trp Asn Pro Pro Thr
20 25 30

Thr Ala Lys Leu Thr Ile Glu Ser Thr Pro Phe Asn Val Ala Glu Gly
35 40 45

Lys Glu Val Leu Leu Leu Val His Asn Leu Pro Gln His Leu Phe Gly
50 55 60

Tyr Ser Trp Tyr Lys Gly Glu Arg Val Asp Gly Asn Arg Gln Ile Ile
65 70 75 80

Gly Tyr Val Ile Gly Thr Gln Gln Ala Thr Pro Gly Pro Ala Tyr Ser
85 90 95

Gly Arg Glu Ile Ile Tyr Pro Asn Ala Ser Leu Leu Ile Gln Asn Ile
100 105 110

Ile Gln Asn Asp Thr Gly Phe Tyr Thr Leu His Val Ile Lys Ser Asp
115 120 125

Leu Val Asn Glu Glu Ala Thr Gly Gln Phe Arg Val Tyr Pro Glu Leu
130 135 140

Pro Lys Pro Ser Ile Ser Ser Asn Asn Ser Lys Pro Val Glu Asp Lys
145 150 155 160

Asp Ala Val Ala Phe Thr Cys Glu Pro Glu Thr Gln Asp Ala Thr Tyr
165 170 175

Leu Trp Trp Val Asn Asn Gln Ser Leu Pro Val Ser Pro Arg Leu Gln
180 185 190

Leu Ser Asn Gly Asn Arg Thr Leu Thr Leu Phe Asn Val Thr Arg Asn
195 200 205

Asp Thr Ala Ser Tyr Lys Cys Glu Thr Gln Asn Pro Val Ser Ala Arg

210 215 220

Arg Ser Asp Ser Val Ile Leu Asn Val Leu Tyr Gly Pro Asp Ala Pro
225 230 235 240

Thr Ile Ser Pro Leu Asn Thr Ser Tyr Arg Ser Gly Glu Asn Leu Asn
245 250 255

Leu Ser Cys His Ala Ala Ser Asn Pro Pro Ala Gln Tyr Ser Trp Phe
260 265 270

Val Asn Gly Thr Phe Gln Gln Ser Thr Gln Glu Leu Phe Ile Pro Asn
275 280 285

Ile Thr Val Asn Asn Ser Gly Ser Tyr Thr Cys Gln Ala His Asn Ser
290 295 300

Asp Thr Gly Leu Asn Arg Thr Thr Val Thr Thr Ile Thr Val Tyr Ala
305 310 315 320

Glu Pro Pro Lys Pro Phe Ile Thr Ser Asn Asn Ser Asn Pro Val Glu
325 330 335

Asp Glu Asp Ala Val Ala Leu Thr Cys Glu Pro Glu Ile Gln Asn Thr
340 345 350

Thr Tyr Leu Trp Trp Val Asn Asn Gln Ser Leu Pro Val Ser Pro Arg
355 360 365

Leu Gln Leu Ser Asn Asp Asn Arg Thr Leu Thr Leu Leu Ser Val Thr
370 375 380

Arg Asn Asp Val Gly Pro Tyr Glu Cys Gly Ile Gln Asn Lys Leu Ser
385 390 395 400

Val Asp His Ser Asp Pro Val Ile Leu Asn Val Leu Tyr Gly Pro Asp
405 410 415

Asp Pro Thr Ile Ser Pro Ser Tyr Thr Tyr Tyr Arg Pro Gly Val Asn
420 425 430

Leu Ser Leu Ser Cys His Ala Ala Ser Asn Pro Pro Ala Gln Tyr Ser
435 440 445

Trp Leu Ile Asp Gly Asn Ile Gln Gln His Thr Gln Glu Leu Phe Ile
450 455 460

Ser Asn Ile Thr Glu Lys Asn Ser Gly Leu Tyr Thr Cys Gln Ala Asn
465 470 475 480

Asn Ser Ala Ser Gly His Ser Arg Thr Thr Val Lys Thr Ile Thr Val
485 490 495

Ser Ala Glu Leu Pro Lys Pro Ser Ile Ser Ser Asn Asn Ser Lys Pro
500 505 510

Val Glu Asp Lys Asp Ala Val Ala Phe Thr Cys Glu Pro Glu Ala Gln
515 520 525

Asn Thr Thr Tyr Leu Trp Trp Val Asn Gly Gln Ser Leu Pro Val Ser
530 535 540

Pro Arg Leu Gln Leu Ser Asn Gly Asn Arg Thr Leu Thr Leu Phe Asn
545 550 555 560

Val Thr Arg Asn Asp Ala Arg Ala Tyr Val Cys Gly Ile Gln Asn Ser
565 570 575

Val Ser Ala Asn Arg Ser Asp Pro Val Thr Leu Asp Val Leu Tyr Gly
580 585 590

Pro Asp Thr Pro Ile Ile Ser Pro Pro Asp Ser Ser Tyr Leu Ser Gly
595 600 605

Ala Asn Leu Asn Leu Ser Cys His Ser Ala Ser Asn Pro Ser Pro Gln
610 615 620

Tyr Ser Trp Arg Ile Asn Gly Ile Pro Gln Gln His Thr Gln Val Leu
625 630 635 640

Phe Ile Ala Lys Ile Thr Pro Asn Asn Asn Gly Thr Tyr Ala Cys Phe
645 650 655

Val Ser Asn Leu Ala Thr Gly Arg Asn Asn Ser Ile Val Lys Ser Ile
660 665 670

Thr Val Ser Ala Ser Gly Thr Ser Pro Gly Leu Ser Ala Gly Ala Thr
675 680 685

Val Gly Ile Met Ile Gly Val Leu Val Gly Val Ala Leu Ile
690 695 700

<210> 101
<211> 2322
<212> PRT
<213> 智人

<400> 101

Met Gln Ser Gly Pro Arg Pro Pro Leu Pro Ala Pro Gly Leu Ala Leu
1 5 10 15

Ala Leu Thr Leu Thr Met Leu Ala Arg Leu Ala Ser Ala Ala Ser Phe
20 25 30

Phe Gly Glu Asn His Leu Glu Val Pro Val Ala Thr Ala Leu Thr Asp
35 40 45

Ile Asp Leu Gln Leu Gln Phe Ser Thr Ser Gln Pro Glu Ala Leu Leu
50 55 60

Leu Leu Ala Ala Gly Pro Ala Asp His Leu Leu Leu Gln Leu Tyr Ser
65 70 75 80

Gly Arg Leu Gln Val Arg Leu Val Leu Gly Gln Glu Glu Leu Arg Leu
85 90 95

Gln Thr Pro Ala Glu Thr Leu Leu Ser Asp Ser Ile Pro His Thr Val
100 105 110

Val Leu Thr Val Val Glu Gly Trp Ala Thr Leu Ser Val Asp Gly Phe
115 120 125

Leu Asn Ala Ser Ser Ala Val Pro Gly Ala Pro Leu Glu Val Pro Tyr
130 135 140

Gly Leu Phe Val Gly Gly Thr Gly Thr Leu Gly Leu Pro Tyr Leu Arg
145 150 155 160

Gly Thr Ser Arg Pro Leu Arg Gly Cys Leu His Ala Ala Thr Leu Asn
165 170 175

Gly Arg Ser Leu Leu Arg Pro Leu Thr Pro Asp Val His Glu Gly Cys
180 185 190

Ala Glu Glu Phe Ser Ala Ser Asp Asp Val Ala Leu Gly Phe Ser Gly
195 200 205

Pro His Ser Leu Ala Ala Phe Pro Ala Trp Gly Thr Gln Asp Glu Gly
210 215 220

Thr Leu Glu Phe Thr Leu Thr Thr Gln Ser Arg Gln Ala Pro Leu Ala
225 230 235 240

Phe Gln Ala Gly Gly Arg Arg Gly Asp Phe Ile Tyr Val Asp Ile Phe
245 250 255

Glu Gly His Leu Arg Ala Val Val Glu Lys Gly Gln Gly Thr Val Leu
260 265 270

Leu His Asn Ser Val Pro Val Ala Asp Gly Gln Pro His Glu Val Ser
275 280 285

Val His Ile Asn Ala His Arg Leu Glu Ile Ser Val Asp Gln Tyr Pro
290 295 300

Thr His Thr Ser Asn Arg Gly Val Leu Ser Tyr Leu Glu Pro Arg Gly
305 310 315 320

Ser Leu Leu Leu Gly Gly Leu Asp Ala Glu Ala Ser Arg His Leu Gln
325 330 335

Glu His Arg Leu Gly Leu Thr Pro Glu Ala Thr Asn Ala Ser Leu Leu
340 345 350

Gly Cys Met Glu Asp Leu Ser Val Asn Gly Gln Arg Arg Gly Leu Arg
355 360 365

Glu Ala Leu Leu Thr Arg Asn Met Ala Ala Gly Cys Arg Leu Glu Glu
370 375 380

Glu Glu Tyr Glu Asp Asp Ala Tyr Gly His Tyr Glu Ala Phe Ser Thr
385 390 395 400

Leu Ala Pro Glu Ala Trp Pro Ala Met Glu Leu Pro Glu Pro Cys Val
405 410 415

Pro Glu Pro Gly Leu Pro Pro Val Phe Ala Asn Phe Thr Gln Leu Leu
420 425 430

Thr Ile Ser Pro Leu Val Val Ala Glu Gly Gly Thr Ala Trp Leu Glu
435 440 445

Trp Arg His Val Gln Pro Thr Leu Asp Leu Met Glu Ala Glu Leu Arg
450 455 460

Lys Ser Gln Val Leu Phe Ser Val Thr Arg Gly Ala Arg His Gly Glu
465 470 475 480

Leu Glu Leu Asp Ile Pro Gly Ala Gln Ala Arg Lys Met Phe Thr Leu
485 490 495

Leu Asp Val Val Asn Arg Lys Ala Arg Phe Ile His Asp Gly Ser Glu
500 505 510

Asp Thr Ser Asp Gln Leu Val Leu Glu Val Ser Val Thr Ala Arg Val
515 520 525

Pro Met Pro Ser Cys Leu Arg Arg Gly Gln Thr Tyr Leu Leu Pro Ile
530 535 540

Gln Val Asn Pro Val Asn Asp Pro Pro His Ile Ile Phe Pro His Gly
545 550 555 560

Ser Leu Met Val Ile Leu Glu His Thr Gln Lys Pro Leu Gly Pro Glu
565 570 575

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

580 585 590

Gln Val Leu Gly Thr Ser Ser Gly Leu Pro Val Glu Arg Arg Asp Gln
595 600 605

Pro Gly Glu Pro Ala Thr Glu Phe Ser Cys Arg Glu Leu Glu Ala Gly
610 615 620

Ser Leu Val Tyr Val His Arg Gly Gly Pro Ala Gln Asp Leu Thr Phe
625 630 635 640

Arg Val Ser Asp Gly Leu Gln Ala Ser Pro Pro Ala Thr Leu Lys Val
645 650 655

Val Ala Ile Arg Pro Ala Ile Gln Ile His Arg Ser Thr Gly Leu Arg
660 665 670

Leu Ala Gln Gly Ser Ala Met Pro Ile Leu Pro Ala Asn Leu Ser Val
675 680 685

Glu Thr Asn Ala Val Gly Gln Asp Val Ser Val Leu Phe Arg Val Thr
690 695 700

Gly Ala Leu Gln Phe Gly Glu Leu Gln Lys Gln Gly Ala Gly Gly Val
705 710 715 720

Glu Gly Ala Glu Trp Trp Ala Thr Gln Ala Phe His Gln Arg Asp Val
725 730 735

Glu Gln Gly Arg Val Arg Tyr Leu Ser Thr Asp Pro Gln His His Ala
740 745 750

Tyr Asp Thr Val Glu Asn Leu Ala Leu Glu Val Gln Val Gly Gln Glu
755 760 765

Ile Leu Ser Asn Leu Ser Phe Pro Val Thr Ile Gln Arg Ala Thr Val
770 775 780

Trp Met Leu Arg Leu Glu Pro Leu His Thr Gln Asn Thr Gln Gln Glu
785 790 795 800

Thr Leu Thr Thr Ala His Leu Glu Ala Thr Leu Glu Glu Ala Gly Pro
805 810 815

Ser Pro Pro Thr Phe His Tyr Glu Val Val Gln Ala Pro Arg Lys Gly
820 825 830

Asn Leu Gln Leu Gln Gly Thr Arg Leu Ser Asp Gly Gln Gly Phe Thr
835 840 845

Gln Asp Asp Ile Gln Ala Gly Arg Val Thr Tyr Gly Ala Thr Ala Arg
850 855 860

Ala Ser Glu Ala Val Glu Asp Thr Phe Arg Phe Arg Val Thr Ala Pro
865 870 875 880

Pro Tyr Phe Ser Pro Leu Tyr Thr Phe Pro Ile His Ile Gly Gly Asp
885 890 895

Pro Asp Ala Pro Val Leu Thr Asn Val Leu Leu Val Val Pro Glu Gly
900 905 910

Gly Glu Gly Val Leu Ser Ala Asp His Leu Phe Val Lys Ser Leu Asn
915 920 925

Ser Ala Ser Tyr Leu Tyr Glu Val Met Glu Arg Pro Arg His Gly Arg
930 935 940

Leu Ala Trp Arg Gly Thr Gln Asp Lys Thr Thr Met Val Thr Ser Phe
945 950 955 960

Thr Asn Glu Asp Leu Leu Arg Gly Arg Leu Val Tyr Gln His Asp Asp
965 970 975

Ser Glu Thr Thr Glu Asp Asp Ile Pro Phe Val Ala Thr Arg Gln Gly
980 985 990

Glu Ser Ser Gly Asp Met Ala Trp Glu Glu Val Arg Gly Val Phe Arg
995 1000 1005

Val Ala Ile Gln Pro Val Asn Asp His Ala Pro Val Gln Thr Ile
1010 1015 1020

Ser Arg Ile Phe His Val Ala Arg Gly Gly Arg Arg Leu Leu Thr
1025 1030 1035

Thr Asp Asp Val Ala Phe Ser Asp Ala Asp Ser Gly Phe Ala Asp
1040 1045 1050

Ala Gln Leu Val Leu Thr Arg Lys Asp Leu Leu Phe Gly Ser Ile
1055 1060 1065

Val Ala Val Asp Glu Pro Thr Arg Pro Ile Tyr Arg Phe Thr Gln
1070 1075 1080

Glu Asp Leu Arg Lys Arg Arg Val Leu Phe Val His Ser Gly Ala
1085 1090 1095

Asp Arg Gly Trp Ile Gln Leu Gln Val Ser Asp Gly Gln His Gln
1100 1105 1110

Ala Thr Ala Leu Leu Glu Val Gln Ala Ser Glu Pro Tyr Leu Arg
1115 1120 1125

Val Ala Asn Gly Ser Ser Leu Val Val Pro Gln Gly Gly Gln Gly
1130 1135 1140

Thr Ile Asp Thr Ala Val Leu His Leu Asp Thr Asn Leu Asp Ile
1145 1150 1155

Arg Ser Gly Asp Glu Val His Tyr His Val Thr Ala Gly Pro Arg
1160 1165 1170

Trp Gly Gln Leu Val Arg Ala Gly Gln Pro Ala Thr Ala Phe Ser
1175 1180 1185

Gln Gln Asp Leu Leu Asp Gly Ala Val Leu Tyr Ser His Asn Gly
1190 1195 1200

Ser Leu Ser Pro Arg Asp Thr Met Ala Phe Ser Val Glu Ala Gly
1205 1210 1215

Pro Val His Thr Asp Ala Thr Leu Gln Val Thr Ile Ala Leu Glu
1220 1225 1230

Gly Pro Leu Ala Pro Leu Lys Leu Val Arg His Lys Lys Ile Tyr
1235 1240 1245

Val Phe Gln Gly Glu Ala Ala Glu Ile Arg Arg Asp Gln Leu Glu
1250 1255 1260

Ala Ala Gln Glu Ala Val Pro Pro Ala Asp Ile Val Phe Ser Val
1265 1270 1275

Lys Ser Pro Pro Ser Ala Gly Tyr Leu Val Met Val Ser Arg Gly
1280 1285 1290

Ala Leu Ala Asp Glu Pro Pro Ser Leu Asp Pro Val Gln Ser Phe
1295 1300 1305

Ser Gln Glu Ala Val Asp Thr Gly Arg Val Leu Tyr Leu His Ser
1310 1315 1320

Arg Pro Glu Ala Trp Ser Asp Ala Phe Ser Leu Asp Val Ala Ser
1325 1330 1335

Gly Leu Gly Ala Pro Leu Glu Gly Val Leu Val Glu Leu Glu Val
1340 1345 1350

Leu Pro Ala Ala Ile Pro Leu Glu Ala Gln Asn Phe Ser Val Pro
1355 1360 1365

Glu Gly Gly Ser Leu Thr Leu Ala Pro Pro Leu Leu Arg Val Ser
1370 1375 1380

Gly Pro Tyr Phe Pro Thr Leu Leu Gly Leu Ser Leu Gln Val Leu
1385 1390 1395

Glu Pro Pro Gln His Gly Ala Leu Gln Lys Glu Asp Gly Pro Gln
1400 1405 1410

Ala Arg Thr Leu Ser Ala Phe Ser Trp Arg Met Val Glu Glu Gln
1415 1420 1425

Leu Ile Arg Tyr Val His Asp Gly Ser Glu Thr Leu Thr Asp Ser

1430 1435 1440

Phe Val Leu Met Ala Asn Ala Ser Glu Met Asp Arg Gln Ser His
1445 1450 1455

Pro Val Ala Phe Thr Val Thr Val Leu Pro Val Asn Asp Gln Pro
1460 1465 1470

Pro Ile Leu Thr Thr Asn Thr Gly Leu Gln Met Trp Glu Gly Ala
1475 1480 1485

Thr Ala Pro Ile Pro Ala Glu Ala Leu Arg Ser Thr Asp Gly Asp
1490 1495 1500

Ser Gly Ser Glu Asp Leu Val Tyr Thr Ile Glu Gln Pro Ser Asn
1505 1510 1515

Gly Arg Val Val Leu Arg Gly Ala Pro Gly Thr Glu Val Arg Ser
1520 1525 1530

Phe Thr Gln Ala Gln Leu Asp Gly Gly Leu Val Leu Phe Ser His
1535 1540 1545

Arg Gly Thr Leu Asp Gly Gly Phe Arg Phe Arg Leu Ser Asp Gly
1550 1555 1560

Glu His Thr Ser Pro Gly His Phe Phe Arg Val Thr Ala Gln Lys
1565 1570 1575

Gln Val Leu Leu Ser Leu Lys Gly Ser Gln Thr Leu Thr Val Cys
1580 1585 1590

Pro Gly Ser Val Gln Pro Leu Ser Ser Gln Thr Leu Arg Ala Ser
1595 1600 1605

Ser Ser Ala Gly Thr Asp Pro Gln Leu Leu Leu Tyr Arg Val Val
1610 1615 1620

Arg Gly Pro Gln Leu Gly Arg Leu Phe His Ala Gln Gln Asp Ser
1625 1630 1635

Thr Gly Glu Ala Leu Val Asn Phe Thr Gln Ala Glu Val Tyr Ala
1640 1645 1650

Gly Asn Ile Leu Tyr Glu His Glu Met Pro Pro Glu Pro Phe Trp
1655 1660 1665

Glu Ala His Asp Thr Leu Glu Leu Gln Leu Ser Ser Pro Pro Ala
1670 1675 1680

Arg Asp Val Ala Ala Thr Leu Ala Val Ala Val Ser Phe Glu Ala
1685 1690 1695

Ala Cys Pro Gln Arg Pro Ser His Leu Trp Lys Asn Lys Gly Leu
1700 1705 1710

Trp Val Pro Glu Gly Gln Arg Ala Arg Ile Thr Val Ala Ala Leu
1715 1720 1725

Asp Ala Ser Asn Leu Leu Ala Ser Val Pro Ser Pro Gln Arg Ser
1730 1735 1740

Glu His Asp Val Leu Phe Gln Val Thr Gln Phe Pro Ser Arg Gly
1745 1750 1755

Gln Leu Leu Val Ser Glu Glu Pro Leu His Ala Gly Gln Pro His
1760 1765 1770

Phe Leu Gln Ser Gln Leu Ala Ala Gly Gln Leu Val Tyr Ala His
1775 1780 1785

Gly Gly Gly Gly Thr Gln Gln Asp Gly Phe His Phe Arg Ala His
1790 1795 1800

Leu Gln Gly Pro Ala Gly Ala Ser Val Ala Gly Pro Gln Thr Ser
1805 1810 1815

Glu Ala Phe Ala Ile Thr Val Arg Asp Val Asn Glu Arg Pro Pro
1820 1825 1830

Gln Pro Gln Ala Ser Val Pro Leu Arg Leu Thr Arg Gly Ser Arg
1835 1840 1845

Ala Pro Ile Ser Arg Ala Gln Leu Ser Val Val Asp Pro Asp Ser
1850 1855 1860

Ala Pro Gly Glu Ile Glu Tyr Glu Val Gln Arg Ala Pro His Asn
1865 1870 1875

Gly Phe Leu Ser Leu Val Gly Gly Gly Leu Gly Pro Val Thr Arg
1880 1885 1890

Phe Thr Gln Ala Asp Val Asp Ser Gly Arg Leu Ala Phe Val Ala
1895 1900 1905

Asn Gly Ser Ser Val Ala Gly Ile Phe Gln Leu Ser Met Ser Asp
1910 1915 1920

Gly Ala Ser Pro Pro Leu Pro Met Ser Leu Ala Val Asp Ile Leu
1925 1930 1935

Pro Ser Ala Ile Glu Val Gln Leu Arg Ala Pro Leu Glu Val Pro
1940 1945 1950

Gln Ala Leu Gly Arg Ser Ser Leu Ser Gln Gln Gln Leu Arg Val
1955 1960 1965

Val Ser Asp Arg Glu Glu Pro Glu Ala Ala Tyr Arg Leu Ile Gln
1970 1975 1980

Gly Pro Gln Tyr Gly His Leu Leu Val Gly Gly Arg Pro Thr Ser
1985 1990 1995

Ala Phe Ser Gln Phe Gln Ile Asp Gln Gly Glu Val Val Phe Ala
2000 2005 2010

Phe Thr Asn Phe Ser Ser Ser His Asp His Phe Arg Val Leu Ala
2015 2020 2025

Leu Ala Arg Gly Val Asn Ala Ser Ala Val Val Asn Val Thr Val
2030 2035 2040

Arg Ala Leu Leu His Val Trp Ala Gly Gly Pro Trp Pro Gln Gly
2045 2050 2055

Ala Thr Leu Arg Leu Asp Pro Thr Val Leu Asp Ala Gly Glu Leu
2060 2065 2070

Ala Asn Arg Thr Gly Ser Val Pro Arg Phe Arg Leu Leu Glu Gly
2075 2080 2085

Pro Arg His Gly Arg Val Val Arg Val Pro Arg Ala Arg Thr Glu
2090 2095 2100

Pro Gly Gly Ser Gln Leu Val Glu Gln Phe Thr Gln Gln Asp Leu
2105 2110 2115

Glu Asp Gly Arg Leu Gly Leu Glu Val Gly Arg Pro Glu Gly Arg
2120 2125 2130

Ala Pro Gly Pro Ala Gly Asp Ser Leu Thr Leu Glu Leu Trp Ala
2135 2140 2145

Gln Gly Val Pro Pro Ala Val Ala Ser Leu Asp Phe Ala Thr Glu
2150 2155 2160

Pro Tyr Asn Ala Ala Arg Pro Tyr Ser Val Ala Leu Leu Ser Val
2165 2170 2175

Pro Glu Ala Ala Arg Thr Glu Ala Gly Lys Pro Glu Ser Ser Thr
2180 2185 2190

Pro Thr Gly Glu Pro Gly Pro Met Ala Ser Ser Pro Glu Pro Ala
2195 2200 2205

Val Ala Lys Gly Gly Phe Leu Ser Phe Leu Glu Ala Asn Met Phe
2210 2215 2220

Ser Val Ile Ile Pro Met Cys Leu Val Leu Leu Leu Leu Ala Leu
2225 2230 2235

Ile Leu Pro Leu Leu Phe Tyr Leu Arg Lys Arg Asn Lys Thr Gly
2240 2245 2250

Lys His Asp Val Gln Val Leu Thr Ala Lys Pro Arg Asn Gly Leu

2255 2260 2265

Ala Gly Asp Thr Glu Thr Phe Arg Lys Val Glu Pro Gly Gln Ala
2270 2275 2280

Ile Pro Leu Thr Ala Val Pro Gly Gln Gly Pro Pro Pro Gly Gly
2285 2290 2295

Gln Pro Asp Pro Glu Leu Leu Gln Phe Cys Arg Thr Pro Asn Pro
2300 2305 2310

Ala Leu Lys Asn Gly Gln Tyr Trp Val
2315 2320

<210> 102
<211> 1210
<212> PRT
<213> 智人

<400> 102

Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Gly Ala Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala
1 5 10 15

Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln
20 25 30

Gly Thr Ser Asn Lys Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe
35 40 45

Leu Ser Leu Gln Arg Met Phe Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn
50 55 60

Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys
65 70 75 80

Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val
85 90 95

Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Met Tyr
100 105 110

Tyr Glu Asn Ser Tyr Ala Leu Ala Val Leu Ser Asn Tyr Asp Ala Asn

115 120 125

Lys Thr Gly Leu Lys Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu
130 135 140

His Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ala Leu Cys Asn Val Glu
145 150 155 160

Ser Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Ser Ser Asp Phe Leu Ser Asn Met
165 170 175

Ser Met Asp Phe Gln Asn His Leu Gly Ser Cys Gln Lys Cys Asp Pro
180 185 190

Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Ala Gly Glu Glu Asn Cys Gln
195 200 205

Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser Gly Arg Cys Arg
210 215 220

Gly Lys Ser Pro Ser Asp Cys Cys His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys
225 230 235 240

Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Arg Lys Phe Arg Asp
245 250 255

Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro
260 265 270

Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly
275 280 285

Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His
290 295 300

Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser Tyr Glu Met Glu Glu
305 310 315 320

Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly Pro Cys Arg Lys Val
325 330 335

Cys Asn Gly Ile Gly Ilc Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn
340 345 350

Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp
355 360 365

Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr
370 375 380

Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu
385 390 395 400

Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp
405 410 415

Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln
420 425 430

His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn Ile Thr Ser Leu
435 440 445

Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser
450 455 460

Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu
465 470 475 480

Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu
485 490 495

Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His Ala Leu Cys Ser Pro
500 505 510

Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Arg Asn
515 520 525

Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn Leu Leu Glu Gly
530 535 540

Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro
545 550 555 560

Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro
565 570 575

Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val
580 585 590

Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp
595 600 605

Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys
610 615 620

Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro Gly Leu Glu Gly Cys Pro Thr Asn Gly
625 630 635 640

Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala Thr Gly Met Val Gly Ala Leu Leu Leu
645 650 655

Leu Leu Val Val Ala Leu Gly Ile Gly Leu Phe Met Arg Arg Arg His
660 665 670

Ile Val Arg Lys Arg Thr Leu Arg Arg Leu Leu Gln Glu Arg Glu Leu
675 680 685

Val Glu Pro Leu Thr Pro Ser Gly Glu Ala Pro Asn Gln Ala Leu Leu
690 695 700

Arg Ile Leu Lys Glu Thr Glu Phe Lys Lys Ile Lys Val Leu Gly Ser
705 710 715 720

Gly Ala Phe Gly Thr Val Tyr Lys Gly Leu Trp Ile Pro Glu Gly Glu
725 730 735

Lys Val Lys Ile Pro Val Ala Ile Lys Glu Leu Arg Glu Ala Thr Ser
740 745 750

Pro Lys Ala Asn Lys Glu Ile Leu Asp Glu Ala Tyr Val Met Ala Ser
755 760 765

Val Asp Asn Pro His Val Cys Arg Leu Leu Gly Ile Cys Leu Thr Ser
770 775 780

Thr Val Gln Leu Ile Thr Gln Leu Met Pro Phe Gly Cys Leu Leu Asp
785 790 795 800

Tyr Val Arg Glu His Lys Asp Asn Ile Gly Ser Gln Tyr Leu Leu Asn
805 810 815

Trp Cys Val Gln Ile Ala Lys Gly Met Asn Tyr Leu Glu Asp Arg Arg
820 825 830

Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Lys Thr Pro
835 840 845

Gln His Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Leu Ala Lys Leu Leu Gly Ala
850 855 860

Glu Glu Lys Glu Tyr His Ala Glu Gly Gly Lys Val Pro Ile Lys Trp
865 870 875 880

Met Ala Leu Glu Ser Ile Leu His Arg Ile Tyr Thr His Gln Ser Asp
885 890 895

Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val Trp Glu Leu Met Thr Phe Gly Ser
900 905 910

Lys Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala Ser Glu Ile Ser Ser Ile Leu Glu
915 920 925

Lys Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro Pro Ile Cys Thr Ile Asp Val Tyr
930 935 940

Met Ile Met Val Lys Cys Trp Met Ile Asp Ala Asp Ser Arg Pro Lys
945 950 955 960

Phe Arg Glu Leu Ile Ile Glu Phe Ser Lys Met Ala Arg Asp Pro Gln
965 970 975

Arg Tyr Leu Val Ile Gln Gly Asp Glu Arg Met His Leu Pro Ser Pro
980 985 990

Thr Asp Ser Asn Phe Tyr Arg Ala Leu Met Asp Glu Glu Asp Met Asp

995 1000 1005

Asp Val Val Asp Ala Asp Glu Tyr Leu Ile Pro Gln Gln Gly Phe
1010 1015 1020

Phe Ser Ser Pro Ser Thr Ser Arg Thr Pro Leu Leu Ser Ser Leu
1025 1030 1035

Ser Ala Thr Ser Asn Asn Ser Thr Val Ala Cys Ile Asp Arg Asn
1040 1045 1050

Gly Leu Gln Ser Cys Pro Ile Lys Glu Asp Ser Phe Leu Gln Arg
1055 1060 1065

Tyr Ser Ser Asp Pro Thr Gly Ala Leu Thr Glu Asp Ser Ile Asp
1070 1075 1080

Asp Thr Phe Leu Pro Val Pro Glu Tyr Ile Asn Gln Ser Val Pro
1085 1090 1095

Lys Arg Pro Ala Gly Ser Val Gln Asn Pro Val Tyr His Asn Gln
1100 1105 1110

Pro Leu Asn Pro Ala Pro Ser Arg Asp Pro His Tyr Gln Asp Pro
1115 1120 1125

His Ser Thr Ala Val Gly Asn Pro Glu Tyr Leu Asn Thr Val Gln
1130 1135 1140

Pro Thr Cys Val Asn Ser Thr Phe Asp Ser Pro Ala His Trp Ala
1145 1150 1155

Gln Lys Gly Ser His Gln Ile Ser Leu Asp Asn Pro Asp Tyr Gln
1160 1165 1170

Gln Asp Phe Phe Pro Lys Glu Ala Lys Pro Asn Gly Ile Phe Lys
1175 1180 1185

Gly Ser Thr Ala Glu Asn Ala Glu Tyr Leu Arg Val Ala Pro Gln
1190 1195 1200

Ser Ser Glu Phe Ile Gly Ala
1205 1210

<210> 103
<211> 556
<212> PRT
<213> 智人

<400> 103

Met Pro Pro Pro Arg Leu Leu Phe Phe Leu Leu Phe Leu Thr Pro Met
1 5 10 15

Glu Val Arg Pro Glu Glu Pro Leu Val Val Lys Val Glu Glu Gly Asp
20 25 30

Asn Ala Val Leu Gln Cys Leu Lys Gly Thr Ser Asp Gly Pro Thr Gln
35 40 45

Gln Leu Thr Trp Ser Arg Glu Ser Pro Leu Lys Pro Phe Leu Lys Leu
50 55 60

Ser Leu Gly Leu Pro Gly Leu Gly Ile His Met Arg Pro Leu Ala Ile
65 70 75 80

Trp Leu Phe Ile Phe Asn Val Ser Gln Gln Met Gly Gly Phe Tyr Leu
85 90 95

Cys Gln Pro Gly Pro Pro Ser Glu Lys Ala Trp Gln Pro Gly Trp Thr
100 105 110

Val Asn Val Glu Gly Ser Gly Glu Leu Phe Arg Trp Asn Val Ser Asp
115 120 125

Leu Gly Gly Leu Gly Cys Gly Leu Lys Asn Arg Ser Ser Glu Gly Pro
130 135 140

Ser Ser Pro Ser Gly Lys Leu Met Ser Pro Lys Leu Tyr Val Trp Ala
145 150 155 160

Lys Asp Arg Pro Glu Ile Trp Glu Gly Glu Pro Pro Cys Leu Pro Pro
165 170 175

Arg Asp Ser Leu Asn Gln Ser Leu Ser Gln Asp Leu Thr Met Ala Pro
180 185 190

Gly Ser Thr Leu Trp Leu Ser Cys Gly Val Pro Pro Asp Ser Val Ser
195 200 205

Arg Gly Pro Leu Ser Trp Thr His Val His Pro Lys Gly Pro Lys Ser
210 215 220

Leu Leu Ser Leu Glu Leu Lys Asp Asp Arg Pro Ala Arg Asp Met Trp
225 230 235 240

Val Met Glu Thr Gly Leu Leu Leu Pro Arg Ala Thr Ala Gln Asp Ala
245 250 255

Gly Lys Tyr Tyr Cys His Arg Gly Asn Leu Thr Met Ser Phe His Leu
260 265 270

Glu Ile Thr Ala Arg Pro Val Leu Trp His Trp Leu Leu Arg Thr Gly
275 280 285

Gly Trp Lys Val Ser Ala Val Thr Leu Ala Tyr Leu Ile Phe Cys Leu
290 295 300

Cys Ser Leu Val Gly Ile Leu His Leu Gln Arg Ala Leu Val Leu Arg
305 310 315 320

Arg Lys Arg Lys Arg Met Thr Asp Pro Thr Arg Arg Phe Phe Lys Val
325 330 335

Thr Pro Pro Pro Gly Ser Gly Pro Gln Asn Gln Tyr Gly Asn Val Leu
340 345 350

Ser Leu Pro Thr Pro Thr Ser Gly Leu Gly Arg Ala Gln Arg Trp Ala
355 360 365

Ala Gly Leu Gly Gly Thr Ala Pro Ser Tyr Gly Asn Pro Ser Ser Asp
370 375 380

Val Gln Ala Asp Gly Ala Leu Gly Ser Arg Ser Pro Pro Gly Val Gly
385 390 395 400

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Glu Gly Tyr Glu Glu Pro Asp Ser Glu Glu
405 410 415

Asp Ser Glu Phe Tyr Glu Asn Asp Ser Asn Leu Gly Gln Asp Gln Leu
420 425 430

Ser Gln Asp Gly Ser Gly Tyr Glu Asn Pro Glu Asp Glu Pro Leu Gly
435 440 445

Pro Glu Asp Glu Asp Ser Phe Ser Asn Ala Glu Ser Tyr Glu Asn Glu
450 455 460

Asp Glu Glu Leu Thr Gln Pro Val Ala Arg Thr Met Asp Phe Leu Ser
465 470 475 480

Pro His Gly Ser Ala Trp Asp Pro Ser Arg Glu Ala Thr Ser Leu Gly
485 490 495

Ser Gln Ser Tyr Glu Asp Met Arg Gly Ile Leu Tyr Ala Ala Pro Gln
500 505 510

Leu Arg Ser Ile Arg Gly Gln Pro Gly Pro Asn His Glu Glu Asp Ala
515 520 525

Asp Ser Tyr Glu Asn Met Asp Asn Pro Asp Gly Pro Asp Pro Ala Trp
530 535 540

Gly Gly Gly Gly Arg Met Gly Thr Trp Ser Thr Arg
545 550 555

<210> 104
<211> 297
<212> PRT
<213> 智人

<400> 104

Met Thr Thr Pro Arg Asn Ser Val Asn Gly Thr Phe Pro Ala Glu Pro
1 5 10 15

Met Lys Gly Pro Ile Ala Met Gln Ser Gly Pro Lys Pro Leu Phe Arg
20 25 30

Arg Met Ser Ser Leu Val Gly Pro Thr Gln Ser Phe Phe Met Arg Glu
35 40 45

Ser Lys Thr Leu Gly Ala Val Gln Ile Met Asn Gly Leu Phe His Ile
50 55 60

Ala Leu Gly Gly Leu Leu Met Ile Pro Ala Gly Ile Tyr Ala Pro Ile
65 70 75 80

Cys Val Thr Val Trp Tyr Pro Leu Trp Gly Gly Ile Met Tyr Ile Ile
85 90 95

Ser Gly Ser Leu Leu Ala Ala Thr Glu Lys Asn Ser Arg Lys Cys Leu
100 105 110

Val Lys Gly Lys Met Ile Met Asn Ser Leu Ser Leu Phe Ala Ala Ile
115 120 125

Ser Gly Met Ile Leu Ser Ile Met Asp Ile Leu Asn Ile Lys Ile Ser
130 135 140

His Phe Leu Lys Met Glu Ser Leu Asn Phe Ile Arg Ala His Thr Pro
145 150 155 160

Tyr Ile Asn Ile Tyr Asn Cys Glu Pro Ala Asn Pro Ser Glu Lys Asn
165 170 175

Ser Pro Ser Thr Gln Tyr Cys Tyr Ser Ile Gln Ser Leu Phe Leu Gly
180 185 190

Ile Leu Ser Val Met Leu Ile Phe Ala Phe Phe Gln Glu Leu Val Ile
195 200 205

Ala Gly Ile Val Glu Asn Glu Trp Lys Arg Thr Cys Ser Arg Pro Lys
210 215 220

Ser Asn Ile Val Leu Leu Ser Ala Glu Glu Lys Lys Glu Gln Thr Ile
225 230 235 240

Glu Ile Lys Glu Glu Val Val Gly Leu Thr Glu Thr Ser Ser Gln Pro
245 250 255

Lys Asn Glu Glu Asp Ile Glu Ile Ile Pro Ile Gln Glu Glu Glu Glu
260 265 270

Glu Glu Thr Glu Thr Asn Phe Pro Glu Pro Pro Gln Asp Gln Glu Ser
275 280 285

Ser Pro Ile Glu Asn Asp Ser Ser Pro
290 295

<210> 105
<211> 364
<212> PRT
<213> 智人

<400> 105

Met Pro Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Trp Ala Gly Ala Leu Ala
1 5 10 15

Met Asp Pro Asn Phe Trp Leu Gln Val Gln Glu Ser Val Thr Val Gln
20 25 30

Glu Gly Leu Cys Val Leu Val Pro Cys Thr Phe Phe His Pro Ile Pro
35 40 45

Tyr Tyr Asp Lys Asn Ser Pro Val His Gly Tyr Trp Phe Arg Glu Gly
50 55 60

Ala Ile Ile Ser Arg Asp Ser Pro Val Ala Thr Asn Lys Leu Asp Gln
65 70 75 80

Glu Val Gln Glu Glu Thr Gln Gly Arg Phe Arg Leu Leu Gly Asp Pro
85 90 95

Ser Arg Asn Asn Cys Ser Leu Ser Ile Val Asp Ala Arg Arg Arg Asp
100 105 110

Asn Gly Ser Tyr Phe Phe Arg Met Glu Arg Gly Ser Thr Lys Tyr Ser
115 120 125

Tyr Lys Ser Pro Gln Leu Ser Val His Val Thr Asp Leu Thr His Arg
130 135 140

Pro Lys Ile Leu Ile Pro Gly Thr Leu Glu Pro Gly His Ser Lys Asn
145 150 155 160

Leu Thr Cys Ser Val Ser Trp Ala Cys Glu Gln Gly Thr Pro Pro Ile
165 170 175

Phe Ser Trp Leu Ser Ala Ala Pro Thr Ser Leu Gly Pro Arg Thr Thr
180 185 190

His Ser Ser Val Leu Ile Ile Thr Pro Arg Pro Gln Asp His Gly Thr
195 200 205

Asn Leu Thr Cys Gln Val Lys Phe Ala Gly Ala Gly Val Thr Thr Glu
210 215 220

Arg Thr Ile Gln Leu Asn Val Thr Tyr Val Pro Gln Asn Pro Thr Thr
225 230 235 240

Gly Ile Phe Pro Gly Asp Gly Ser Gly Lys Gln Glu Thr Arg Ala Gly
245 250 255

Val Val His Gly Ala Ile Gly Gly Ala Gly Val Thr Ala Leu Leu Ala
260 265 270

Leu Cys Leu Cys Leu Ile Phe Phe Ile Val Lys Thr His Arg Arg Lys
275 280 285

Ala Ala Arg Thr Ala Val Gly Arg Asn Asp Thr His Pro Thr Thr Gly
290 295 300

Ser Ala Ser Pro Lys His Gln Lys Lys Ser Lys Leu His Gly Pro Thr
305 310 315 320

Glu Thr Ser Ser Cys Ser Gly Ala Ala Pro Thr Val Glu Met Asp Glu
325 330 335

Glu Leu His Tyr Ala Ser Leu Asn Phe His Gly Met Asn Pro Ser Lys
340 345 350

Asp Thr Ser Thr Glu Tyr Ser Glu Val Arg Thr Gln

355 360

<210> 106
<211> 255
<212> PRT
<213> 智人

<400> 106

Met Gly Asn Ser Cys Tyr Asn Ile Val Ala Thr Leu Leu Leu Val Leu
1 5 10 15

Asn Phe Glu Arg Thr Arg Ser Leu Gln Asp Pro Cys Ser Asn Cys Pro
20 25 30

Ala Gly Thr Phe Cys Asp Asn Asn Arg Asn Gln Ile Cys Ser Pro Cys
35 40 45

Pro Pro Asn Ser Phe Ser Ser Ala Gly Gly Gln Arg Thr Cys Asp Ile
50 55 60

Cys Arg Gln Cys Lys Gly Val Phe Arg Thr Arg Lys Glu Cys Ser Ser
65 70 75 80

Thr Ser Asn Ala Glu Cys Asp Cys Thr Pro Gly Phe His Cys Leu Gly
85 90 95

Ala Gly Cys Ser Met Cys Glu Gln Asp Cys Lys Gln Gly Gln Glu Leu
100 105 110

Thr Lys Lys Gly Cys Lys Asp Cys Cys Phe Gly Thr Phe Asn Asp Gln
115 120 125

Lys Arg Gly Ile Cys Arg Pro Trp Thr Asn Cys Ser Leu Asp Gly Lys
130 135 140

Ser Val Leu Val Asn Gly Thr Lys Glu Arg Asp Val Val Cys Gly Pro
145 150 155 160

Ser Pro Ala Asp Leu Ser Pro Gly Ala Ser Ser Val Thr Pro Pro Ala
165 170 175

Pro Ala Arg Glu Pro Gly His Ser Pro Gln Ile Ile Ser Phe Phe Leu

180 185 190

Ala Leu Thr Ser Thr Ala Leu Leu Phe Leu Leu Phe Phe Leu Thr Leu
195 200 205

Arg Phe Ser Val Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe
210 215 220

Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly
225 230 235 240

Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
245 250 255

<210> 107
<211> 256
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 107

Met Gly Asn Asn Cys Tyr Asn Val Val Val Ile Val Leu Leu Leu Val
1 5 10 15

Gly Cys Glu Lys Val Gly Ala Val Gln Asn Ser Cys Asp Asn Cys Gln
20 25 30

Pro Gly Thr Phe Cys Arg Lys Tyr Asn Pro Val Cys Lys Ser Cys Pro
35 40 45

Pro Ser Thr Phe Ser Ser Ile Gly Gly Gln Pro Asn Cys Asn Ile Cys
50 55 60

Arg Val Cys Ala Gly Tyr Phe Arg Phe Lys Lys Phe Cys Ser Ser Thr
65 70 75 80

His Asn Ala Glu Cys Glu Cys Ile Glu Gly Phe His Cys Leu Gly Pro
85 90 95

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

Lys Gln Gly Cys Lys Thr Cys Ser Leu Gly Thr Phe Asn Asp Gln Asn

115 120 125

Gly Thr Gly Val Cys Arg Pro Trp Thr Asn Cys Ser Leu Asp Gly Arg
130 135 140

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

Pro Val Val Ser Phe Ser Pro Ser Thr Thr Ile Ser Val Thr Pro Glu
165 170 175

Gly Gly Pro Gly Gly His Ser Leu Gln Val Leu Thr Leu Phe Leu Ala
180 185 190

Leu Thr Ser Ala Leu Leu Leu Ala Leu Ile Phe Ile Thr Leu Leu Phe
195 200 205

Ser Val Leu Lys Trp Ile Arg Lys Lys Phe Pro His Ile Phe Lys Gln
210 215 220

Pro Phe Lys Lys Thr Thr Gly Ala Ala Gln Glu Glu Asp Ala Cys Ser
225 230 235 240

Cys Arg Cys Pro Gln Glu Glu Glu Gly Gly Gly Gly Gly Tyr Glu Leu
245 250 255

<210> 108
<211> 254
<212> PRT
<213> 食蟹獼猴

<400> 108

Met Gly Asn Ser Cys Tyr Asn Ile Val Ala Thr Leu Leu Leu Val Leu
1 5 10 15

Asn Phe Glu Arg Thr Arg Ser Leu Gln Asp Leu Cys Ser Asn Cys Pro
20 25 30

Ala Gly Thr Phe Cys Asp Asn Asn Arg Ser Gln Ile Cys Ser Pro Cys
35 40 45

Pro Pro Asn Ser Phe Ser Ser Ala Gly Gly Gln Arg Thr Cys Asp Ile

50 55 60

Cys Arg Gln Cys Lys Gly Val Phe Lys Thr Arg Lys Glu Cys Ser Ser
65 70 75 80

Thr Ser Asn Ala Glu Cys Asp Cys Ile Ser Gly Tyr His Cys Leu Gly
85 90 95

Ala Glu Cys Ser Met Cys Glu Gln Asp Cys Lys Gln Gly Gln Glu Leu
100 105 110

Thr Lys Lys Gly Cys Lys Asp Cys Cys Phe Gly Thr Phe Asn Asp Gln
115 120 125

Lys Arg Gly Ile Cys Arg Pro Trp Thr Asn Cys Ser Leu Asp Gly Lys
130 135 140

Ser Val Leu Val Asn Gly Thr Lys Glu Arg Asp Val Val Cys Gly Pro
145 150 155 160

Ser Pro Ala Asp Leu Ser Pro Gly Ala Ser Ser Ala Thr Pro Pro Ala
165 170 175

Pro Ala Arg Glu Pro Gly His Ser Pro Gln Ile Ile Phe Phe Leu Ala
180 185 190

Leu Thr Ser Thr Val Val Leu Phe Leu Leu Phe Phe Leu Val Leu Arg
195 200 205

Phe Ser Val Val Lys Arg Ser Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
210 215 220

Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
225 230 235 240

Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
245 250

<210> 109
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接子

<400> 109

Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 110
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接子

<400> 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 111
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接子

<400> 111

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
1 5 10

<210> 112
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接子

<400> 112

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
1 5 10

<210> 113
<211> 10
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接子

<400> 113

Gly Ser Pro Gly Ser Ser Ser Ser Gly Ser
1 5 10

<210> 114
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接子

<400> 114

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 115
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接子

<400> 115

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser
20

<210> 116
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接子

<400> 116

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser
1 5

<210> 117
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接子

<400> 117

Gly Ser Gly Ser Gly Asn Gly Ser
1 5

<210> 118
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接子

<400> 118

Gly Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly
1 5

<210> 119
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接子

<400> 119

Gly Gly Ser Gly Ser Gly
1 5

<210> 120
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接子

<400> 120

Gly Gly Ser Gly

1

<210> 121
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接子

<400> 121

Gly Gly Ser Gly Asn Gly Ser Gly
1 5

<210> 122
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接子

<400> 122

Gly Gly Asn Gly Ser Gly Ser Gly
1 5

<210> 123
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接子

<400> 123

Gly Gly Asn Gly Ser Gly
1 5

<210> 124
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1(EE) 4-1BB(20H4.9)-重鏈杵

<400> 124

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Lys
450

<210> 125
<211> 440
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VLCH1 FAP(4B9)-重鏈區

<400> 125

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Ser Ala Ser
100 105 110

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

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
130 135 140

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
145 150 155 160

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

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

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
195 200 205

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
210 215 220

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
225 230 235 240

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
245 250 255

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
260 265 270

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
275 280 285

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
290 295 300

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
305 310 315 320

Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
325 330 335

Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
340 345 350

Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
355 360 365

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

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val
385 390 395 400

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
405 410 415

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
420 425 430

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 126
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VLCL(RK)-輕鏈4-1BB (20H4.9)

<400> 126

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
85 90 95

Ala Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg Lys Leu Lys
115 120 125

Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
130 135 140

Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
145 150 155 160

Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
165 170 175

Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
180 185 190

Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
195 200 205

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 127
<211> 224
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCL-輕鏈FAP(4B9)

<400> 127

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
115 120 125

Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
130 135 140

Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
145 150 155 160

Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
165 170 175

Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
180 185 190

Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
195 200 205

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 128
<211> 568
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈區-VL (DP47)

<400> 128

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr

20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu
450 455 460

Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr
465 470 475 480

Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala Trp
485 490 495

Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala
500 505 510

Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
515 520 525

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe
530 535 540

Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu Thr Phe Gly
545 550 555 560

Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
565

<210> 129
<211> 585
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈枠-VH (DP47)

<400> 129

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly
465 470 475 480

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
485 490 495

Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
500 505 510

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
515 520 525

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
530 535 540

Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
545 550 555 560

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Gly Ser Gly Phe Asp Tyr Trp Gly
565 570 575

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
580 585

<210> 130
<211> 575
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fd-VH (DP47)

<400> 130

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
450 455 460

Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu
465 470 475 480

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser Trp
485 490 495

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile Ser
500 505 510

Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
515 520 525

Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn

530 535 540

Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Gly Ser
545 550 555 560

Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
565 570 575

<210> 131
<211> 578
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈柙-VL (DP47)

<400> 131

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

355 360 365

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

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

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

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr
465 470 475 480

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser
485 490 495

Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
500 505 510

Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly
515 520 525

Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
530 535 540

Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln
545 550 555 560

Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
565 570 575

Ile Lys

<210> 132
<211> 571
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (MU137-1)-重鏈Fc-DD-VL (28H1)

<400> 132

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Tyr Phe
20 25 30

Asp Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Thr Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Ser Ile Ser Pro Ser Gly Asp Ile Pro Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Glu Asn Ala Lys Ser Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Ser Tyr Gly Gly Tyr Ser Glu Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr
130 135 140

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

Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

165 170 175

Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Thr Trp Pro Ser Gln Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala
195 200 205

Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys
210 215 220

Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe
260 265 270

Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Lys Pro
275 280 285

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

Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val
305 310 315 320

Asn Ser Ala Ala Phe Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr
325 330 335

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

Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asn
355 360 365

Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro
370 375 380

Ala Glu Asn Tyr Asp Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser
385 390 395 400

Tyr Phe Val Tyr Ser Asp Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala
405 410 415

Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His
420 425 430

His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser
435 440 445

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
450 455 460

Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu
465 470 475 480

Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser Tyr
485 490 495

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
500 505 510

Ile Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
515 520 525

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro
530 535 540

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro Pro
545 550 555 560

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
565 570

<210> 133
<211> 579
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fc-KK-VH (28H1)

<400> 133

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Tyr Phe
20 25 30

Asp Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Thr Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Ser Ile Ser Pro Ser Gly Asp Ile Pro Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Glu Asn Ala Lys Ser Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Ser Tyr Gly Gly Tyr Ser Glu Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr
130 135 140

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

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

Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Thr Trp Pro Ser Gln Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala
195 200 205

Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys
210 215 220

Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe
260 265 270

Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Lys Pro
275 280 285

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

Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val
305 310 315 320

Asn Ser Ala Ala Phe Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr
325 330 335

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

Lys Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asn
355 360 365

Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro
370 375 380

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

Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala
405 410 415

Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His
420 425 430

His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser
435 440 445

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
450 455 460

Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
465 470 475 480

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Ala
485 490 495

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
500 505 510

Ala Ilc Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
515 520 525

Arg Phe Thr Ilc Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
530 535 540

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys
545 550 555 560

Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
565 570 575

Val Ser Ser

<210> 134
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VLCL-輕鏈(MU137-1)

<400> 134

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Leu Glu
1 5 10 15

Glu Ile Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asn Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Thr Ser Ser Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Ser Ser Gly Ser Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Val
65 70 75 80

Glu Asp Ile Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Ala Tyr Gly Ala Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala
100 105 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
115 120 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
130 135 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145 150 155 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
180 185 190

Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210

<210> 135
<211> 579
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (MU137-1)-重鏈Fc-DD-VH (28H1)

<400> 135

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Tyr Phe
20 25 30

Asp Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Thr Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Ser Ile Ser Pro Ser Gly Asp Ile Pro Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Glu Asn Ala Lys Ser Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Ser Tyr Gly Gly Tyr Ser Glu Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr
130 135 140

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

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

Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Thr Trp Pro Ser Gln Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala
195 200 205

Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys
210 215 220

Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe
260 265 270

Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Lys Pro
275 280 285

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

Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val
305 310 315 320

Asn Ser Ala Ala Phe Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr
325 330 335

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

Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asn
355 360 365

Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro
370 375 380

Ala Glu Asn Tyr Asp Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser
385 390 395 400

Tyr Phe Val Tyr Ser Asp Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala
405 410 415

Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His
420 425 430

His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser
435 440 445

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
450 455 460

Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
465 470 475 480

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Ala
485 490 495

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
500 505 510

Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
515 520 525

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
530 535 540

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys
545 550 555 560

Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
565 570 575

Val Ser Ser

<210> 136
<211> 571
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (MU137-1)-重鏈Fc-KK-VL (28H1)

<400> 136

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Tyr Phe
20 25 30

Asp Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Thr Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Ser Ile Ser Pro Ser Gly Asp Ile Pro Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Glu Asn Ala Lys Ser Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Ser Tyr Gly Gly Tyr Ser Glu Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr
130 135 140

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

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

Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Thr Trp Pro Ser Gln Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala
195 200 205

Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys
210 215 220

Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe
260 265 270

Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Lys Pro
275 280 285

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

Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val
305 310 315 320

Asn Ser Ala Ala Phe Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr
325 330 335

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

Lys Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asn
355 360 365

Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro
370 375 380

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

Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala
405 410 415

Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His
420 425 430

His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser
435 440 445

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
450 455 460

Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu
465 470 475 480

Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser Tyr
485 490 495

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
500 505 510

Ile Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
515 520 525

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro
530 535 540

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro Pro
545 550 555 560

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
565 570

<210> 137
<211> 576
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈區-VL (A5B7) (G4S)2

<400> 137

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Leu
450 455 460

Thr Gln Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Pro Gly Ala Ser Ala Ser Leu
465 470 475 480

Thr Cys Thr Leu Arg Arg Gly Ile Asn Val Gly Ala Tyr Ser Ile Tyr

485 490 495

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Pro Pro Gln Tyr Leu Leu Arg Tyr
500 505 510

Lys Ser Asp Ser Asp Lys Gln Gln Gly Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe
515 520 525

Ser Ala Ser Lys Asp Ala Ser Ala Asn Ala Gly Ile Leu Leu Ile Ser
530 535 540

Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Met Ile Trp His
545 550 555 560

Ser Gly Ala Ser Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
565 570 575

<210> 138
<211> 581
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fd-VH (A5B7) (G4S)2

<400> 138

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305 310 315 320

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
450 455 460

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu
465 470 475 480

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser Ser Tyr Trp Met His Trp
485 490 495

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Phe Ile Arg
500 505 510

Asn Lys Ala Asn Gly Gly Thr Thr Glu Tyr Ala Ala Ser Val Lys Gly
515 520 525

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
530 535 540

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
545 550 555 560

Asp Arg Gly Leu Arg Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
565 570 575

Val Thr Val Ser Ser
580

<210> 139
<211> 582
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL (2B11)

<400> 139

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser

115 120 125

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser
465 470 475 480

Leu Ser Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser
485 490 495

Gln Ser Leu Glu Thr Ser Thr Gly Thr Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu
500 505 510

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Lys
515 520 525

Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
530 535 540

Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val
545 550 555 560

Tyr Tyr Cys Leu Gln Leu Leu Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly
565 570 575

Thr Lys Leu Glu Ile Lys
580

<210> 140
<211> 591
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (2B11)

<400> 140

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
465 470 475 480

Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
485 490 495

Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
500 505 510

Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser
515 520 525

Lys Tyr Thr Glu Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr
530 535 540

Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp
545 550 555 560

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Pro Gln
565 570 575

Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
580 585 590

<210> 141
<211> 591
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (2B11)

<400> 141

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
465 470 475 480

Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
485 490 495

Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
500 505 510

Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser
515 520 525

Lys Tyr Thr Glu Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr
530 535 540

Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp
545 550 555 560

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Pro Gln
565 570 575

Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
580 585 590

<210> 142
<211> 582
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (2B11)

<400> 142

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

420 425 430

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser
465 470 475 480

Leu Ser Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser
485 490 495

Gln Ser Leu Glu Thr Ser Thr Gly Thr Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu
500 505 510

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Lys
515 520 525

Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
530 535 540

Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val
545 550 555 560

Tyr Tyr Cys Leu Gln Leu Leu Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly
565 570 575

Thr Lys Leu Glu Ile Lys
580

<210> 143
<211> 582
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈-VL (8B8-018)

<400> 143

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly

225 230 235 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser
465 470 475 480

Leu Ser Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser
485 490 495

Gln Ser Leu Glu Asn Pro Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu
500 505 510

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Lys
515 520 525

Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
530 535 540

Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val
545 550 555 560

Tyr Tyr Cys Leu Gln Leu Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly
565 570 575

Thr Lys Leu Glu Ile Lys
580

<210> 144
<211> 591
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (8B8-018)

<400> 144

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
465 470 475 480

Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
485 490 495

Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
500 505 510

Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser
515 520 525

Lys Tyr Thr Glu Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr
530 535 540

Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp
545 550 555 560

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ala
565 570 575

Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
580 585 590

<210> 145
<211> 591
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈區-VH (8B8-018)

<400> 145

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
465 470 475 480

Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
485 490 495

Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
500 505 510

Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser
515 520 525

Lys Tyr Thr Glu Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr
530 535 540

Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp
545 550 555 560

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ala
565 570 575

Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
580 585 590

<210> 146
<211> 582
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (8B8-018)

<400> 146

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser
465 470 475 480

Leu Ser Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser
485 490 495

Gln Ser Leu Glu Asn Pro Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu
500 505 510

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Lys
515 520 525

Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr

530 535 540

Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val
545 550 555 560

Tyr Tyr Cys Leu Gln Leu Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly
565 570 575

Thr Lys Leu Glu Ile Lys
580

<210> 147
<211> 817
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fc區-VL (2B11)

<400> 147

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His
275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val

340 345 350

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
370 375 380

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro
705 710 715 720

Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Thr
725 730 735

Ser Thr Gly Thr Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
740 745 750

Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser Gly Val
755 760 765

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys
770 775 780

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln
785 790 795 800

Leu Leu Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
805 810 815

Lys

<210> 148
<211> 826
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fc杵-VH (2B11)

<400> 148

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His
275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
340 345 350

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
370 375 380

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly
705 710 715 720

Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp
725 730 735

Tyr Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp
740 745 750

Met Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys
755 760 765

Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala
770 775 780

Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

785 790 795 800

Cys Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Pro Gln Leu Phe Asp Tyr Trp
805 810 815

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
820 825

<210> 149
<211> 826
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈區-VH (2B11)

<400> 149

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His
275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
340 345 350

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

355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
370 375 380

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly
705 710 715 720

Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp
725 730 735

Tyr Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp
740 745 750

Met Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys
755 760 765

Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala
770 775 780

Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
785 790 795 800

Cys Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Pro Gln Leu Phe Asp Tyr Trp
805 810 815

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
820 825

<210> 150
<211> 817
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (2B11)

<400> 150

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His
275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
340 345 350

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
370 375 380

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro
705 710 715 720

Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Thr
725 730 735

Ser Thr Gly Thr Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
740 745 750

Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser Gly Val
755 760 765

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys
770 775 780

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln
785 790 795 800

Leu Leu Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile

805 810 815

Lys

<210> 151
<211> 817
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fc臼-VL (8B8-018)

<400> 151

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His
275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
340 345 350

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

370 375 380

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro
705 710 715 720

Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn
725 730 735

Pro Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
740 745 750

Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser Gly Val
755 760 765

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys
770 775 780

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln
785 790 795 800

Leu Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
805 810 815

Lys

<210> 152
<211> 826
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fc杵-VH (8B8-018)

<400> 152

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His
275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
340 345 350

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
370 375 380

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly
705 710 715 720

Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp
725 730 735

Tyr Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp
740 745 750

Met Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys
755 760 765

Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala
770 775 780

Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
785 790 795 800

Cys Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ala Leu Phe Asp Tyr Trp
805 810 815

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

820 825

<210> 153
<211> 826
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fd-VH (8B8-018)

<400> 153

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His
275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
340 345 350

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
370 375 380

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

385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly
705 710 715 720

Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp
725 730 735

Tyr Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp
740 745 750

Met Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys
755 760 765

Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala
770 775 780

Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
785 790 795 800

Cys Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ala Leu Phe Asp Tyr Trp
805 810 815

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
820 825

<210> 154
<211> 817
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (8B8-018)

<400> 154

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His
275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
340 345 350

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
370 375 380

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro
705 710 715 720

Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn
725 730 735

Pro Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
740 745 750

Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser Gly Val
755 760 765

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys
770 775 780

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln
785 790 795 800

Leu Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
805 810 815

Lys

<210> 155

<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD19 (8B8-2B11) CDR-H1

<400> 155

Asp Tyr Ile Met His
1 5

<210> 156
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD19 (8B8-2B11) CDR-H2

<400> 156

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 157
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD19 (8B8-2B11) CDR-H3

<400> 157

Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Pro Gln Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 158
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD19 (8B8-2B11) CDR-L1

<400> 158

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Thr Ser Thr Gly Thr Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15

<210> 159
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD19 (8B8-2B11) CDR-L2

<400> 159

Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser
1 5

<210> 160
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD19 (8B8-2B11) CDR-L3

<400> 160

Leu Gln Leu Leu Glu Asp Pro Tyr Thr
1 5

<210> 161
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD19 (8B8-2B11) VH

<400> 161

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Pro Gln Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 162
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD19 (8B8-2B11) VL

<400> 162

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Thr Ser
20 25 30

Thr Gly Thr Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Leu
85 90 95

Leu Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 163
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD19 (8B8-018) CDR-H1

<400> 163

Asp Tyr Ile Met His
1 5

<210> 164
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD19 (8B8-018) CDR-H2

<400> 164

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 165
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD19 (8B8-018) CDR-H3

<400> 165

Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ala Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 166
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD19 (8B8-018) CDR-L1

<400> 166

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Pro Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15

<210> 167
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD19 (8B8-018) CDR-L2

<400> 167

Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser
1 5

<210> 168
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD19 (8B8-018) CDR-L3

<400> 168

Leu Gln Leu Thr His Val Pro Tyr Thr
1 5

<210> 169
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD19 (8B8-018) VH

<400> 169

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ala Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 170
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD19 (8B8-018) VL

<400> 170

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Pro
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Leu
85 90 95

Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 171
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4-1BB (MU137-1) CDR-H1

<400> 171

Tyr Phe Asp Met Ala
1 5

<210> 172
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4-1BB (MU137-1) CDR-H2

<400> 172

Ser Ile Ser Pro Ser Gly Asp Ile Pro Tyr Tyr Arg Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 173
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4-1BB (MU137-1) CDR-H3

<400> 173

Arg Ser Tyr Gly Gly Tyr Ser Glu Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 174
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4-1BB (MU137-1) CDR-L1

<400> 174

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asn Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 175
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4-1BB (MU137-1) CDR-L2

<400> 175

Gly Thr Ser Ser Leu Ala Asp
1 5

<210> 176
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4-1BB (MU137-1) CDR-L3

<400> 176

Leu Gln Ala Tyr Gly Ala Pro Trp Thr
1 5

<210> 177
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4-1BB (MU137-1) VH

<400> 177

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Tyr Phe
20 25 30

Asp Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Thr Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Ser Ile Ser Pro Ser Gly Asp Ile Pro Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Glu Asn Ala Lys Ser Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Ser Tyr Gly Gly Tyr Ser Glu Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 178
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 4-1BB (MU137-1) VL

<400> 178

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Leu Glu
1 5 10 15

Glu Ile Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asn Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Thr Ser Ser Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Ser Ser Gly Ser Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Val
65 70 75 80

Glu Asp Ile Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Ala Tyr Gly Ala Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 179
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (A5B7P)- CDR-H1

<400> 179

Asp Tyr Tyr Met Asn
1 5

<210> 180
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (A5B7P)- CDR-H2

<400> 180

Phe Ile Gly Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 181
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (A5B7P)- CDR-H3

<400> 181

Asp Arg Gly Leu Arg Phe Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 182

<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (A5B7P)- CDR-L1

<400> 182

Arg Ala Ser Ser Ser Val Thr Tyr Ile His
1 5 10

<210> 183
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (A5B7P)- CDR-L2

<400> 183

Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 184
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (A5B7P)- CDR-L3

<400> 184

Gln His Trp Ser Ser Lys Pro Pro Thr
1 5

<210> 185
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (A5B7P) VH

<400> 185

Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Phe Ile Gly Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Lys Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Arg Ala Glu Asp Ser Ala Thr Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Arg Asp Arg Gly Leu Arg Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 186
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (A5B7P) VL

<400> 186

Gln Thr Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Thr Tyr Ile
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Ser Trp Ile Tyr
35 40 45

Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Trp Ser Ser Lys Pro Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 187
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (431/26)- CDR-H1

<400> 187

Ser Gly Tyr Ser Trp His
1 5

<210> 188
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (431/26)- CDR-H2

<400> 188

Tyr Ile Gln Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 189
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (431/26)- CDR-H3

<400> 189

Glu Asp Tyr Asp Tyr His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 190
<211> 10

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (431/26)- CDR-L1

<400> 190

Ser Thr Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His
1 5 10

<210> 191
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (431/26)- CDR-L2

<400> 191

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 192
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (431/26)- CDR-L3

<400> 192

His Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Thr
1 5

<210> 193
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (431/26) VH

<400> 193

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Thr Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Tyr Ser Trp His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Gln Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Asp Tyr Asp Tyr His Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Ser Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 194
<211> 105
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA (431/26) VL

<400> 194

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Thr Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
35 40 45

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
65 70 75 80

Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Thr Phe
85 90 95

Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 195
<211> 576
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VL (A5B7P)

<400> 195

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile
465 470 475 480

Leu Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser
485 490 495

Ser Ser Val Thr Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser
500 505 510

Pro Lys Ser Trp Ile Tyr Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
515 520 525

Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile
530 535 540

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Trp
545 550 555 560

Ser Ser Lys Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
565 570 575

<210> 196

<211> 591
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (A5B7P)

<400> 196

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

405 410 415

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

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

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
465 470 475 480

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly
485 490 495

Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly
500 505 510

Lys Ala Leu Glu Trp Leu Gly Phe Ile Gly Asn Lys Ala Asn Gly Tyr
515 520 525

Thr Thr Glu Tyr Ser Ala Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
530 535 540

Asp Lys Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Arg Ala
545 550 555 560

Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Thr Arg Asp Arg Gly Leu Arg Phe
565 570 575

Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
580 585 590

<210> 197
<211> 591
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈門-VH (A5B7P)

<400> 197

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

210 215 220

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
465 470 475 480

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly
485 490 495

Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly
500 505 510

Lys Ala Leu Glu Trp Leu Gly Phe Ile Gly Asn Lys Ala Asn Gly Tyr
515 520 525

Thr Thr Glu Tyr Ser Ala Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
530 535 540

Asp Lys Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Arg Ala
545 550 555 560

Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Thr Arg Asp Arg Gly Leu Arg Phe
565 570 575

Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
580 585 590

<210> 198
<211> 576
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (A5B7P)

<400> 198

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr

20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile
465 470 475 480

Leu Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser
485 490 495

Ser Ser Val Thr Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser
500 505 510

Pro Lys Ser Trp Ile Tyr Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
515 520 525

Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile
530 535 540

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Trp
545 550 555 560

Ser Ser Lys Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
565 570 575

<210> 199
<211> 575
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fd-VL (431/26)

<400> 199

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
465 470 475 480

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Thr Ser
485 490 495

Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
500 505 510

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Prc
515 520 525

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile
530 535 540

Ser Scr Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Trp
545 550 555 560

Scr Ser Tyr Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
565 570 575

<210> 200
<211> 590
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (431/26)

<400> 200

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Scr Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly
465 470 475 480

Leu Val Arg Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly
485 490 495

Phe Thr Ile Ser Ser Gly Tyr Ser Trp His Trp Val Arg Gln Pro Pro
500 505 510

Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Gln Tyr Ser Gly Ile Thr
515 520 525

Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Val Asp Thr
530 535 540

Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp

545 550 555 560

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Asp Tyr Asp Tyr His Trp Tyr
565 570 575

Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Ser Leu Val Thr Val Ser Ser
580 585 590

<210> 201
<211> 590
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈-VH (431/26)

<400> 201

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

355 360 365

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly
465 470 475 480

Leu Val Arg Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly
485 490 495

Phe Thr Ile Ser Ser Gly Tyr Ser Trp His Trp Val Arg Gln Pro Pro
500 505 510

Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Gln Tyr Ser Gly Ile Thr
515 520 525

Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Val Asp Thr
530 535 540

Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp
545 550 555 560

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Asp Tyr Asp Tyr His Trp Tyr
565 570 575

Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Ser Leu Val Thr Val Ser Ser
580 585 590

<210> 202
<211> 575
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (431/26)

<400> 202

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

```
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385                 390                 395                 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
                405                 410                 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
            420                 425                 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
        435                 440                 445

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
    450                 455                 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
465                 470                 475                 480

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Thr Ser
                485                 490                 495

Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
            500                 505                 510

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
        515                 520                 525

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile
    530                 535                 540

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Trp
545                 550                 555                 560

Ser Ser Tyr Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
                565                 570                 575
```

<210> 203
<211> 811
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈區-VL (A5B7P)

<400> 203

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His
275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
340 345 350

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
370 375 380

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Gln Thr Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Ala Ser Pro
705 710 715 720

Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Thr Tyr
725 730 735

Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Ser Trp Ile
740 745 750

Tyr Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly
755 760 765

Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala
770 775 780

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Trp Ser Ser Lys Pro Pro
785 790 795 800

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
805 810

<210> 204
<211> 826
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (A5B7P)

<400> 204

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His
275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
340 345 350

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
370 375 380

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
705 710 715 720

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp
725 730 735

Tyr Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp
740 745 750

Leu Gly Phe Ile Gly Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser
755 760 765

Ala Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Lys Ser Gln Ser
770 775 780

Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Arg Ala Glu Asp Ser Ala Thr
785 790 795 800

Tyr Tyr Cys Thr Arg Asp Arg Gly Leu Arg Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp
805 810 815

Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
820 825

<210> 205
<211> 826
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈臼-VH (A5B7P)

<400> 205

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr

20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His
275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
340 345 350

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
370 375 380

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
705 710 715 720

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp
725 730 735

Tyr Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp
740 745 750

Leu Gly Phe Ile Gly Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser
755 760 765

Ala Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Lys Ser Gln Ser
770 775 780

Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Arg Ala Glu Asp Ser Ala Thr
785 790 795 800

Tyr Tyr Cys Thr Arg Asp Arg Gly Leu Arg Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp
805 810 815

Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
820 825

<210> 206
<211> 811
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (A5B7 P)

<400> 206

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His
275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
340 345 350

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
370 375 380

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe

465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Gln Thr Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Ala Ser Pro
705 710 715 720

Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Thr Tyr
725 730 735

Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Ser Trp Ile
740 745 750

Tyr Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly
755 760 765

Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala
770 775 780

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Trp Ser Ser Lys Pro Pro
785 790 795 800

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
805 810

<210> 207
<211> 810
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈門-VL (431/26)

<400> 207

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His
275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
340 345 350

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
370 375 380

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
705 710 715 720

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Thr Ser Ser Ser Val Ser Tyr
725 730 735

Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
740 745 750

Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
755 760 765

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
770 775 780

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Thr
785 790 795 800

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
805 810

<210> 208
<211> 825
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VH (431/26)

<400> 208

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His
275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
340 345 350

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
370 375 380

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser
705 710 715 720

Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Thr Ile Ser Ser
725 730 735

Gly Tyr Ser Trp His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu
740 745 750

Trp Ile Gly Tyr Ile Gln Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser
755 760 765

Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
770 775 780

Ser Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
785 790 795 800

Cys Ala Arg Glu Asp Tyr Asp Tyr His Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly
805 810 815

Gln Gly Ser Leu Val Thr Val Ser Ser
820 825

<210> 209
<211> 825
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈區-VH (431/26)

<400> 209

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His
275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
340 345 350

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
370 375 380

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser
705 710 715 720

Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Thr Ile Ser Ser
725 730 735

Gly Tyr Ser Trp His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu
740 745 750

Trp Ile Gly Tyr Ile Gln Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser
755 760 765

Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
770 775 780

Ser Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
785 790 795 800

Cys Ala Arg Glu Asp Tyr Asp Tyr His Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly
805 810 815

Gln Gly Ser Leu Val Thr Val Ser Ser
820 825

<210> 210
<211> 810
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1-VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VL (431/26)

<400> 210

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
225 230 235 240

Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr
245 250 255

Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile
260 265 270

Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His
275 280 285

Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser Arg Val Thr Ile
290 295 300

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
305 310 315 320

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Pro
325 330 335

Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val
340 345 350

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
355 360 365

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
370 375 380

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
385 390 395 400

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
405 410 415

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
435 440 445

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
450 455 460

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
465 470 475 480

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
485 490 495

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
500 505 510

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
515 520 525

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

530 535 540

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
545 550 555 560

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
565 570 575

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
580 585 590

Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
595 600 605

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
610 615 620

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
625 630 635 640

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
645 650 655

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
660 665 670

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
690 695 700

Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
705 710 715 720

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Thr Ser Ser Ser Val Ser Tyr
725 730 735

Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
740 745 750

Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
755 760 765

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
770 775 780

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Thr
785 790 795 800

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
805 810

<210> 211
<211> 698
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈柞-VHCL (A5B7P)

<400> 211

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser

115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
465 470 475 480

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly
485 490 495

Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly
500 505 510

Lys Ala Leu Glu Trp Leu Gly Phe Ile Gly Asn Lys Ala Asn Gly Tyr
515 520 525

Thr Thr Glu Tyr Ser Ala Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
530 535 540

Asp Lys Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Arg Ala
545 550 555 560

Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Thr Arg Asp Arg Gly Leu Arg Phe
565 570 575

Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala
580 585 590

Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
595 600 605

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
610 615 620

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
625 630 635 640

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
645 650 655

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
660 665 670

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
675 680 685

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
690 695

<210> 212
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fd

<400> 212

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 213
<211> 211

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VLCH1-輕鏈(A5B7P)

<400> 213

Gln Thr Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Thr Tyr Ile
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Ser Trp Ile Tyr
35 40 45

Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Trp Ser Ser Lys Pro Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Ser Ser Ala Ser Thr Lys
100 105 110

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
115 120 125

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
130 135 140

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
145 150 155 160

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
165 170 175

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
180 185 190

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
195 200 205

Lys Ser Cys
210

<210> 214
<211> 681
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈杵-VLCH (A5B7P)

<400> 214

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile
465 470 475 480

Leu Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser
485 490 495

Ser Ser Val Thr Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser
500 505 510

Pro Lys Ser Trp Ile Tyr Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
515 520 525

Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile
530 535 540

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Trp
545 550 555 560

Ser Ser Lys Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
565 570 575

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
580 585 590

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
595 600 605

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
610 615 620

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
625 630 635 640

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
645 650 655

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
660 665 670

Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
675 680

<210> 215
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈區

<400> 215

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 216
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VLCL-輕鏈(20H4.9) (RK突變)

<400> 216

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
85 90 95

Ala Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg Lys Leu Lys
115 120 125

Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
130 135 140

Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
145 150 155 160

Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
165 170 175

Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
180 185 190

Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
195 200 205

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 217
<211> 228

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCL 輕鏈(A5B7P)

<400> 217

Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Phe Ile Gly Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Lys Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Arg Ala Glu Asp Ser Ala Thr Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Arg Asp Arg Gly Leu Arg Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser
115 120 125

Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala
130 135 140

Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val
145 150 155 160

Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser
165 170 175

Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr
180 185 190

Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys
195 200 205

Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn
210 215 220

Arg Gly Glu Cys
225

201829469
專利案號：107100076

201829469

【發明摘要】

【中文發明名稱】

包含抗4-1BB純系20H4.9之雙特異性抗原結合分子

【英文發明名稱】

BISPECIFIC ANTIGEN BINDING MOLECULES COMPRISING ANTI-4-1BB CLONE 20H4.9

【中文】

本發明係關於新的雙特異性抗原結合分子，其包含至少一個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域、至少一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之部分、及由能夠穩定結合之第一及第二亞單元組成的Fc結構域，且關於產生此等分子之方法及其使用方法。

【英文】

The invention relates to new bispecific antigen binding molecules, comprising at least one antigen binding domain capable of specific binding to 4-1BB, at least one moiety capable of specific binding to a target cell antigen, and a Fc domain composed of a first and a second subunit capable of stable association, and to methods of producing these molecules and to methods of using the same.

【指定代表圖】

圖1A-1E

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種雙特異性抗原結合分子，其包含至少一個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域、至少一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域及由能夠穩定結合之第一及第二亞單元組成的Fc結構域，

其中能夠特異性結合於4-1BB之該抗原結合結構域包含重鏈可變區(V_H4-1BB)，該重鏈可變區包含(i) 包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_L4-1BB)，該輕鏈可變區包含(iv) 包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之CDR-L3。

【第2項】

如請求項1之雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於4-1BB之該抗原結合結構域包含重鏈可變區(V_H4-1BB)，該重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 7之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_L4-1BB)，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 8之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列。

【第3項】

如請求項1或2之雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域係Fab片段。

【第4項】

如請求項1或2之雙特異性抗原結合分子，其中該靶細胞抗原係選自由以下組成之群：纖維母細胞活化蛋白(FAP)、黑素瘤相關之硫酸軟骨素蛋白聚糖(MCSP)、表皮生長因子受體(EGFR)、癌胚抗原(CEA)、CD19、CD20及CD33。

【第5項】

如請求項1或2之雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於靶細胞抗原之該抗原結合結構域係能夠特異性結合於纖維母細胞活化蛋白(FAP)之抗原結合結構域。

【第6項】

如請求項5之雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於纖維母細胞活化蛋白(FAP)之該抗原結合結構域包含

(a)重鏈可變區(V_HFAP)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LFAP)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 12之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 13之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 14之胺基酸序列之CDR-L3，或

(b)重鏈可變區(V_HFAP)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 15之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 16之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 17之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LFAP)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 18之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 19之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 20之胺基酸序列之CDR-L3。

【第7項】

如請求項5之雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於纖維母細胞活化蛋白(FAP)之該抗原結合結構域包含

(a)重鏈可變區(V_HFAP)，其包含與SEQ ID NO: 21之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LFAP)，其包含與SEQ ID NO: 22之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，或

(b)重鏈可變區(V_HFAP)，其包含與SEQ ID NO: 23之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LFAP)，其包含與SEQ ID NO: 24之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列。

【第8項】

如請求項1或2之雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於靶細胞抗原之該抗原結合結構域係能夠特異性結合於癌胚抗原(CEA)之抗原結合結構域。

【第9項】

如請求項8之雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於癌胚抗原(CEA)之該抗原結合結構域包含

(a)重鏈可變區(V_HCEA)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 25之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 26之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 27之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCEA)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 28之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 29之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含

SEQ ID NO: 30之胺基酸序列之CDR-L3，或

(b)重鏈可變區(V_HCEA)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 33之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 34之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 35之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCEA)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 37之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 38之胺基酸序列之CDR-L3，或

(c)重鏈可變區(V_HCEA)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 179之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 180之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 181之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCEA)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 182之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 183之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 184之胺基酸序列之CDR-L3，或

(d)重鏈可變區(V_HCEA)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 187之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 188之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 189之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCEA)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 190之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 191之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 192之胺基酸序列之CDR-L3。

【第10項】

如請求項8之雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於癌胚抗原(CEA)之該抗原結合結構域包含(a)重鏈可變區(V_HCEA)，其包含與SEQ ID NO: 31之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一

致的胺基酸序列，及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含與SEQ ID NO: 32之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，或(b)重鏈可變區(V_HCEA)，其包含與SEQ ID NO: 39之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含與SEQ ID NO: 40之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，或(c)重鏈可變區(V_HCEA)，其包含與SEQ ID NO: 185之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含與SEQ ID NO: 186之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，或(d)重鏈可變區(V_HCEA)，其包含與SEQ ID NO: 193之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含與SEQ ID NO: 194之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列。

【第11項】

如請求項1或2之雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於靶細胞抗原之該抗原結合結構域係能夠特異性結合於CD19之抗原結合結構域。

【第12項】

如請求項11之雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於CD19之該抗原結合結構域包含

(a)重鏈可變區(V_HCD19)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 155之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 156之胺基酸序列之

CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 157之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCD19)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 158之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 159之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 160之胺基酸序列之CDR-L3，或

(b)重鏈可變區(V_HCD19)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 163之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 164之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 165之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LCD19)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 166之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 167之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 168之胺基酸序列之CDR-L3。

【第13項】

如請求項11之雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於CD19之該抗原結合結構域包含(a)重鏈可變區(V_HCD19)，其包含與SEQ ID NO: 161之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，及輕鏈可變區(V_LCD19)，其包含與SEQ ID NO: 162之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，或(b)重鏈可變區(V_HCD19)，其包含與SEQ ID NO: 169之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列，及輕鏈可變區(V_LCD19)，其包含與SEQ ID NO: 170之胺基酸序列至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%一致的胺基酸序列。

【第14項】

如請求項1或2之雙特異性抗原結合分子，其中該雙特異性抗原結合分子包含IgG Fc結構域，尤其IgG1 Fc結構域或IgG4 Fc結構域。

【第15項】

如請求項14之雙特異性抗原結合分子，其中該Fc結構域包含一或多個降低該抗原結合分子對Fc受體之結合親和力及/或效應功能的胺基酸取代，尤其胺基酸突變L234A、L235A及P329G（根據Kabat EU索引編號）。

【第16項】

如請求項1或2之雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)兩個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域，

(b)一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域，及

(c)包含一或多個胺基酸取代之IgG Fc結構域，該胺基酸取代降低該抗原結合分子對Fc受體之結合親和力及/或效應功能。

【第17項】

如請求項1或2之雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)抗體之兩個輕鏈及兩個重鏈，該抗體包含兩個能夠特異性結合於4-1BB之Fab片段及該Fc結構域，及

(b)能夠特異性結合於靶細胞抗原之VH及VL結構域，其中該VH結構域經由肽連接子連接至該兩個重鏈中之一者的C末端，且其中該VL結構域經由肽連接子連接至第二重鏈的C末端。

【第18項】

如請求項1或2之雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)抗體之兩個輕鏈及兩個重鏈，該抗體包含兩個能夠特異性結合於4-1BB之Fab片段及該Fc結構域，及

(b)能夠特異性結合於靶細胞抗原之互換Fab片段，其經由肽連接子

連接至該兩個重鏈中之一者的C末端。

【第19項】

如請求項1或2之雙特異性抗原結合分子，其包含

(a)四個能夠特異性結合於4-1BB之抗原結合結構域，

(b)一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域，及

(c)包含一或多個胺基酸取代之IgG Fc結構域，該胺基酸取代降低該抗原結合分子對Fc受體之結合親和力及/或效應功能。

【第20項】

一種聚核苷酸，其編碼如請求項1至19中任一項之雙特異性抗原結合分子。

【第21項】

一種宿主細胞，其包含如請求項20之聚核苷酸。

【第22項】

一種產生如請求項1至19中任一項之雙特異性抗原結合分子之方法，其包含在適用於表現該雙特異性抗原結合分子之條件下培養如請求項21之宿主細胞。

【第23項】

一種醫藥組合物，其包含如請求項1至19中任一項之雙特異性抗原結合分子及至少一種醫藥學上可接受之賦形劑。

【第24項】

如請求項23之醫藥組合物，其用於治療癌症或傳染病。

【第25項】

如請求項1或2之雙特異性抗原結合分子或如請求項23之醫藥組合

物，其用作藥劑。

【第26項】

如請求項1或2之雙特異性抗原結合分子，其用於

(i)刺激T細胞反應，

(ii)支持已活化之T細胞之存活，

(iii)治療感染，

(iv)治療癌症，

(v)延遲癌症進展，或

(vi)延長罹患癌症之患者的存活期。

【第27項】

如請求項1或2之雙特異性抗原結合分子或如請求項23之醫藥組合物，其用於治療癌症。

【第28項】

如請求項1或2之雙特異性抗原結合分子，其用於治療癌症，其中該雙特異性抗原結合分子與化學治療劑、放射療法及/或用於癌症免疫療法之其他藥劑組合投與。

【第29項】

如請求項1至19中任一項之雙特異性抗原結合分子或如請求項23之醫藥組合物之用途，其用於製造供治療癌症或傳染病用之藥物。

【第30項】

如請求項1至19中任一項之雙特異性抗原結合分子或如請求項23之醫藥組合物之用途，其用於製造供抑制腫瘤細胞生長用之藥物。

【第31項】

一種雙特異性抗原結合分子，其包含至少一個能夠特異性結合於小鼠4-1BB之抗原結合結構域、至少一個能夠特異性結合於靶細胞抗原之抗原結合結構域及由能夠穩定結合之第一及第二亞單元組成的Fc結構域，

其中能夠特異性結合於4-1BB之該抗原結合結構域包含重鏈可變區(V_H4-1BB)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 171之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 172之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 173之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_L4-1BB)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 174之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 175之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 176之胺基酸序列之CDR-L3。

【第32項】

如請求項31之雙特異性抗原結合分子，其中能夠特異性結合於靶細胞抗原之該抗原結合結構域結合於纖維母細胞活化蛋白(FAP)且包含

(a)重鏈可變區(V_HFAP)，該重鏈可變區包含(i)包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列之CDR-H1，(ii)包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列之CDR-H2，及(iii)包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列之CDR-H3；及輕鏈可變區(V_LFAP)，該輕鏈可變區包含(iv)包含SEQ ID NO: 12之胺基酸序列之CDR-L1，(v)包含SEQ ID NO: 13之胺基酸序列之CDR-L2，及(vi)包含SEQ ID NO: 14之胺基酸序列之CDR-L3。

【第33項】

如請求項31或請求項32之雙特異性抗原結合分子，其中該Fc結構域之該第一亞單元包含胺基酸取代K392D及K409D (根據Kabat EU索引編號)，且該Fc區之該第二亞單元包含胺基酸取代E356K及D399K (根據Kabat EU索引編號)。