



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111148762 A

(43)申请公布日 2020.05.12

(21)申请号 201880049995.7

(22)申请日 2018.05.30

(30)优先权数据

62/513,389 2017.05.31 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2020.02.03

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2018/035090 2018.05.30

(87)PCT国际申请的公布数据

W02018/222689 EN 2018.12.06

(71)申请人 斯特库伯株式会社

地址 韩国首尔

(72)发明人 斯蒂芬·成汉·柳

以斯拉·明·哲·钟 奉永植

金龙洙 安德鲁·H·帕克

(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262

代理人 武晶晶

(51)Int.Cl.

C07K 16/28(2006.01)

权利要求书17页 说明书161页

序列表96页 附图44页

(54)发明名称

免疫特异性结合至BTN1A1的抗体和分子及其治疗性用途

(57)摘要

本文提供了具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子,如抗-BTN1A1抗体。这些分子包括具有免疫特异性结合至BTN1A1二聚体的抗原结合片段的那些分子,如抗-BTN1A1二聚体抗体。还提供了制备和使用这些分子的方法,包括在癌症疗法或者作为癌症诊断使用它们的方法。



1. 包含相对于单体BTN1A1, 优先结合至二聚体BTN1A1的抗原结合片段的分子。

2. 根据权利要求1所述的分子, 其中所述抗原结合片段以小于相对于单体BTN1A1所显示的 K_D 的一半的 K_D 结合至二聚体BTN1A1, 其中任选地所述抗原结合片段以比相对于单体BTN1A1所显示的 K_D 小至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍或至少50倍的 K_D 结合至二聚体BTN1A1。

3. 根据权利要求1所述的分子, 其中相对于未糖基化的BTN1A1, 所述抗原结合片段优先结合糖基化BTN1A1。

4. 根据权利要求3所述的分子, 其中所述抗原结合片段以小于相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 的一半的 K_D 结合至糖基化BTN1A1, 其中任选地所述抗原结合片段以比相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 小至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍或至少50倍的 K_D 结合至糖基化BTN1A1。

5. 根据权利要求1所述的分子, 其中BTN1A1是人BTN1A1。

6. 根据权利要求1所述的分子, 其中所述抗原结合片段包含:

(a) 重链可变 (V_H) 区, 其包含:

- (1) 具有选自SEQ ID NO: 7、10、13、16、35、38、41和44的氨基酸序列的 V_H CDR1;
- (2) 具有选自SEQ ID NO: 8、11、14、17、36、39、42和45的氨基酸序列的 V_H CDR2; 和
- (3) 具有选自SEQ ID NO: 9、12、15、18、37、40、43和46的氨基酸序列的 V_H CDR3; 或者

(b) 轻链可变 (V_L) 区, 其包含:

- (1) 具有选自SEQ ID NO: 19、22、25、28、47、50、53和56的氨基酸序列的 V_L CDR1;
- (2) 具有选自SEQ ID NO: 20、23、26、29、48、51、54和57的氨基酸序列的 V_L CDR2; 和
- (3) 具有选自SEQ ID NO: 21、24、27、30、49、52、55和58的氨基酸序列的 V_L CDR3。

7. 根据权利要求6所述的分子, 其中所述抗原结合片段包含重链可变 (V_H) 区, 其包含:

- (1) 具有选自SEQ ID NO: 7、10、13、16、35、38、41和44的氨基酸序列的 V_H CDR1;
- (2) 具有选自SEQ ID NO: 8、11、14、17、36、39、42、45的氨基酸序列的 V_H CDR2; 和
- (2) 具有选自SEQ ID NO: 9、12、15、18、37、40、43、46的氨基酸序列的 V_H CDR3。

8. 根据权利要求6所述的分子, 其中所述重链可变 (V_H) 区包含:

- (a) (1) 具有SEQ ID NO: 7或35的氨基酸序列的 V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO: 8或36的氨基酸序列的 V_H CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO: 9或37的氨基酸序列的 V_H CDR3;
- (b) (1) 具有SEQ ID NO: 10或38的氨基酸序列的 V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO: 11或39的氨基酸序列的 V_H CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO: 12或40的氨基酸序列的 V_H CDR3;
- (c) (1) 具有SEQ ID NO: 13或41的氨基酸序列的 V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO: 14或42的氨基酸序列的 V_H CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO: 15或43的氨基酸序列的 V_H CDR3; 或
- (d) (1) 具有SEQ ID NO: 16或44的氨基酸序列的 V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO: 17或45的氨基酸序列的 V_H CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO: 18或46的氨基酸序列的 V_H CDR3。

9. 根据权利要求6所述的分子, 其中所述重链可变 (V_H) 区包含SEQ ID NO: 3或31的氨基

酸序列。

10. 根据权利要求6所述的分子,其中所述抗原结合片段包含轻链可变(V_L)区,其包含:

- (1) 具有选自SEQ ID NO:19、22、25、28、47、50、53和56的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有选自SEQ ID NO:20、23、26、29、48、51、54和57的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有选自SEQ ID NO:21、24、27、30、49、52、55和58的氨基酸序列的V_L CDR3。

11. 根据权利要求6所述的分子,其中所述轻链可变(V_L)区包含:

- (a) (1) 具有SEQ ID NO:19或47的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:20或48的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:21或49的氨基酸序列的V_L CDR3;
- (b) (1) 具有SEQ ID NO:22或50的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:23或51的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:24或52的氨基酸序列的V_L CDR3;
- (c) (1) 具有SEQ ID NO:25或53的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:26或54的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:27或55的氨基酸序列的V_L CDR3;或
- (d) (1) 具有SEQ ID NO:28或56的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:29或57的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:30或58的氨基酸序列的V_L CDR3。

12. 根据权利要求6所述的分子,其中所述轻链可变(V_L)区包含SEQ ID NO:5或33的氨基酸序列。

13. 根据权利要求6所述的分子,其中所述抗原结合片段包含:

- (a) 重链可变(V_H)区,其包含:
 - (1) 具有选自SEQ ID NO:7、10、13、16、35、38、41、44的氨基酸序列的V_H CDR1;
 - (2) 具有选自SEQ ID NO:8、11、14、17、36、39、42、45的氨基酸序列的V_H CDR2;和
 - (3) 具有选自SEQ ID NO:9、12、15、18、37、40、43、46的氨基酸序列的V_H CDR3;和
- (b) 轻链可变(V_L)区,其包含:
 - (1) 具有选自SEQ ID NO:19、22、25、28、47、50、53、56的氨基酸序列的V_L CDR1;
 - (2) 具有选自SEQ ID NO:20、23、26、29、48、51、54、57的氨基酸序列的V_L CDR2;和
 - (3) 具有选自SEQ ID NO:21、24、27、30、49、52、55、58的氨基酸序列的V_L CDR3。

14. 根据权利要求6所述的分子,其中所述抗原结合片段包含:

- (i) (a) 重链可变(V_H)区,其包含:
 - (1) 具有SEQ ID NO:7或35的氨基酸序列的V_H CDR1;
 - (2) 具有SEQ ID NO:8或36的氨基酸序列的V_H CDR2;和
 - (3) 具有SEQ ID NO:9或37的氨基酸序列的V_H CDR3;和
- (b) 轻链可变(V_L)区,其包含:
 - (1) 具有SEQ ID NO:19或47的氨基酸序列的V_L CDR1;
 - (2) 具有SEQ ID NO:20或48的氨基酸序列的V_L CDR2;和
 - (3) 具有SEQ ID NO:21或49的氨基酸序列的V_L CDR3;
- (ii) (a) 重链可变(V_H)区,其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:10或38的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:11或39的氨基酸序列的V_H CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:12或40的氨基酸序列的V_H CDR3;和
- (b) 轻链可变 (V_L) 区,其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:22或50的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:23或51的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:24或52的氨基酸序列的V_L CDR3;

(iii) (a) 重链可变 (V_H) 区,其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:13或41的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:14或42的氨基酸序列的V_H CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:15或43的氨基酸序列的V_H CDR3;和

(b) 轻链可变 (V_L) 区,其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:25或50的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:26或51的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:27或52的氨基酸序列的V_L CDR3;或

(iv) (a) 重链可变 (V_H) 区,其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:16或44的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:17或45的氨基酸序列的V_H CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:18或46的氨基酸序列的V_H CDR3;和

(b) 轻链可变 (V_L) 区,其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:28或56的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:29或57的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:30或58的氨基酸序列的V_L CDR3。

15. 根据权利要求6所述的分子,其中所述V_H区包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列,所述V_L区包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列。

16. 根据权利要求6所述的分子,其中所述V_H区包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述V_L区包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列。

17. 根据权利要求1至16中任一项所述的分子,其中所述分子是STC703或STC810。

18. 根据权利要求1至17中任一项所述的分子,其中所述抗原结合域不包括如表3a和3b所示的单克隆抗体STC810的V_H域、V_L域、V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2或V_L CDR3。

19. 根据权利要求1所述的分子,其中所述抗原结合片段包含:

(a) 重链可变 (V_H) 区,其包含:

- (1) 具有选自SEQ ID NO:231、234、237和240的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有选自SEQ ID NO:232、235、238和241的氨基酸序列的V_H CDR2;和
- (3) 具有选自SEQ ID NO:233、236、239和242的氨基酸序列的V_H CDR3;或者

(b) 轻链可变 (V_L) 区,其包含:

- (1) 具有选自SEQ ID NO:243、246、249和252的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有选自SEQ ID NO:244、247、250和253的氨基酸序列的V_L CDR2;和

(3) 具有选自SEQ ID NO:245、248、251和254的氨基酸序列的V_L CDR3。

20. 根据权利要求19所述的分子,其中所述抗原结合片段包含重链可变(V_H)区,其包含:

- (1) 具有选自SEQ ID NO:231、234、237和240的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有选自SEQ ID NO:232、235、238和241的氨基酸序列的V_H CDR2;和
- (3) 具有选自SEQ ID NO:233、236、239和242的氨基酸序列的V_H CDR3。

21. 根据权利要求19所述的分子,其中所述重链可变(V_H)区包含:

- (a) (1) 具有SEQ ID NO:231的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:232的氨基酸序列的V_H CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:233的氨基酸序列的V_H CDR3;
- (b) (1) 具有SEQ ID NO:234的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:235的氨基酸序列的V_H CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:236的氨基酸序列的V_H CDR3;
- (c) (1) 具有SEQ ID NO:237的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:238的氨基酸序列的V_H CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:239的氨基酸序列的V_H CDR3;或
- (d) (1) 具有SEQ ID NO:240的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:241的氨基酸序列的V_H CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:242的氨基酸序列的V_H CDR3。

22. 根据权利要求19所述的分子,其中所述重链可变(V_H)区包含SEQ ID NO:227的氨基酸序列。

23. 根据权利要求19所述的分子,其中所述抗原结合片段包含轻链可变(V_L)区,其包含:

- (1) 具有选自SEQ ID NO:243、246、249和252的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有选自SEQ ID NO:244、247、250和253的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有选自SEQ ID NO:245、248、251和254的氨基酸序列的V_L CDR3。

24. 根据权利要求19所述的分子,其中所述轻链可变(V_L)区包含:

- (a) (1) 具有SEQ ID NO:243的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:244的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:245的氨基酸序列的V_L CDR3;
- (b) (1) 具有SEQ ID NO:246的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:247的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:248的氨基酸序列的V_L CDR3;
- (c) (1) 具有SEQ ID NO:249的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:250的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:251的氨基酸序列的V_L CDR3;或
- (d) (1) 具有SEQ ID NO:252的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:253的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:254的氨基酸序列的V_L CDR3。

25. 根据权利要求19所述的分子,其中所述轻链可变(V_L)区包含SEQ ID NO:229的氨基酸序列。

26. 根据权利要求19所述的分子, 其中所述抗原结合片段包含:

(a) 重链可变 (V_H) 区, 其包含:

- (1) 具有选自SEQ ID NO:231、234、237和240的氨基酸序列的 V_H CDR1;
- (2) 具有选自SEQ ID NO:232、235、238和241的氨基酸序列的 V_H CDR2; 和
- (3) 具有选自SEQ ID NO:233、236、239和242的氨基酸序列的 V_H CDR3; 和

(b) 轻链可变 (V_L) 区, 其包含:

- (1) 具有选自SEQ ID NO:243、246、249和252的氨基酸序列的 V_L CDR1;
- (2) 具有选自SEQ ID NO:244、247、250和253的氨基酸序列的 V_L CDR2; 和
- (3) 具有选自SEQ ID NO:245、248、251和254的氨基酸序列的 V_L CDR3。

27. 根据权利要求19所述的分子, 其中所述抗原结合片段包含:

(i) (a) 重链可变 (V_H) 区, 其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:231的氨基酸序列的 V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:232的氨基酸序列的 V_H CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO:233的氨基酸序列的 V_H CDR3; 和

(b) 轻链可变 (V_L) 区, 其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:243的氨基酸序列的 V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:244的氨基酸序列的 V_L CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO:245的氨基酸序列的 V_L CDR3;

(ii) (a) 重链可变 (V_H) 区, 其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:234的氨基酸序列的 V_H CDR1;
- (1) 具有SEQ ID NO:235的氨基酸序列的 V_H CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO:236的氨基酸序列的 V_H CDR3; 和

(b) 轻链可变 (V_L) 区, 其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:246的氨基酸序列的 V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:247的氨基酸序列的 V_L CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO:248的氨基酸序列的 V_L CDR3;

(iii) (a) 重链可变 (V_H) 区, 其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:237的氨基酸序列的 V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:238的氨基酸序列的 V_H CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO:239的氨基酸序列的 V_H CDR3; 和

(b) 轻链可变 (V_L) 区, 其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:249的氨基酸序列的 V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:250的氨基酸序列的 V_L CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO:251的氨基酸序列的 V_L CDR3; 或

(iv) (a) 重链可变 (V_H) 区, 其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:240的氨基酸序列的 V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:241的氨基酸序列的 V_H CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO:242的氨基酸序列的 V_H CDR3; 和

(b) 轻链可变 (V_L) 区, 其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:252的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:253的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:254的氨基酸序列的V_L CDR3。

28. 根据权利要求19所述的分子,其中所述V_H区包含SEQ ID NO:227的氨基酸序列,所述V_L区包含SEQ ID NO:229的氨基酸序列。

29. 根据权利要求19至28中任一项所述的分子,其中所述分子是STC2714。

30. 根据权利要求1所述的分子,其中所述抗原结合片段包含:

(a) 重链可变 (V_H) 区,其包含:

- (1) 具有选自SEQ ID NO:203、206、209和212的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有选自SEQ ID NO:204、207、210和213的氨基酸序列的V_H CDR2;和
- (3) 具有选自SEQ ID NO:205、208、211和214的氨基酸序列的V_H CDR3;或者

(b) 轻链可变 (V_L) 区,其包含:

- (1) 具有选自SEQ ID NO:215、218、221和224的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有选自SEQ ID NO:216、219、222和225的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有选自SEQ ID NO:217、220、223和226的氨基酸序列的V_L CDR3。

31. 根据权利要求30所述的分子,其中所述抗原结合片段包含重链可变 (V_H) 区,其包含:

- (1) 具有选自SEQ ID NO:203、206、209或212的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有选自SEQ ID NO:204、207、210或213的氨基酸序列的V_H CDR2;和
- (3) 具有选自SEQ ID NO:205、208、211或214的氨基酸序列的V_H CDR3。

32. 根据权利要求30所述的分子,其中所述重链可变 (V_H) 区包含:

- (a) (1) 具有SEQ ID NO:203的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:204的氨基酸序列的V_H CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:205的氨基酸序列的V_H CDR3;

- (b) (1) 具有SEQ ID NO:206的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:207的氨基酸序列的V_H CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:208的氨基酸序列的V_H CDR3;

- (c) (1) 具有SEQ ID NO:209的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:210的氨基酸序列的V_H CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:211的氨基酸序列的V_H CDR3;或

- (d) (1) 具有SEQ ID NO:212的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:213的氨基酸序列的V_H CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:214的氨基酸序列的V_H CDR3。

33. 根据权利要求30所述的分子,其中所述重链可变 (V_H) 区包含SEQ ID NO:199的氨基酸序列。

34. 根据权利要求30所述的分子,其中所述抗原结合片段包含轻链可变 (V_L) 区,其包含:

- (1) 具有选自SEQ ID NO:215、218、221和224的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有选自SEQ ID NO:216、219、222和225的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有选自SEQ ID NO:217、220、223和226的氨基酸序列的V_L CDR3。

35. 根据权利要求30所述的分子,其中所述轻链可变 (V_L) 区包含:

- (a) (1) 具有SEQ ID NO:215的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:216的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:217的氨基酸序列的V_L CDR3;
- (b) (1) 具有SEQ ID NO:218的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:219的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:220的氨基酸序列的V_L CDR3;
- (c) (1) 具有SEQ ID NO:221的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:222的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:223的氨基酸序列的V_L CDR3;或
- (d) (1) 具有SEQ ID NO:224的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:225的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:226的氨基酸序列的V_L CDR3。

36. 根据权利要求30所述的分子, 其中所述轻链可变 (V_L) 区包含SEQ ID NO:201的氨基酸序列。

37. 根据权利要求30所述的分子, 其中所述抗原结合片段包含:

- (a) 重链可变 (V_H) 区, 其包含:
 - (1) 具有选自SEQ ID NO:203、206、209和212的氨基酸序列的V_H CDR1;
 - (2) 具有选自SEQ ID NO:204、207、210和213的氨基酸序列的V_H CDR2;和
 - (3) 具有选自SEQ ID NO:205、208、211和214的氨基酸序列的V_H CDR3;和
- (b) 轻链可变 (V_L) 区, 其包含:
 - (1) 具有选自SEQ ID NO:215、218、221和224的氨基酸序列的V_L CDR1;
 - (2) 具有选自SEQ ID NO:216、219、222和225的氨基酸序列的V_L CDR2;和
 - (3) 具有选自SEQ ID NO:217、220、223和226的氨基酸序列的V_L CDR3。

38. 根据权利要求30所述的分子, 其中所述抗原结合片段包含:

- (i) (a) 重链可变 (V_H) 区, 其包含:
 - (1) 具有SEQ ID NO:203的氨基酸序列的V_H CDR1;
 - (2) 具有SEQ ID NO:204的氨基酸序列的V_H CDR2;和
 - (3) 具有SEQ ID NO:205的氨基酸序列的V_H CDR3;和
- (b) 轻链可变 (V_L) 区, 其包含:
 - (1) 具有SEQ ID NO:215的氨基酸序列的V_L CDR1;
 - (2) 具有SEQ ID NO:216的氨基酸序列的V_L CDR2;和
 - (3) 具有SEQ ID NO:217的氨基酸序列的V_L CDR3;
- (ii) (a) 重链可变 (V_H) 区, 其包含:
 - (1) 具有SEQ ID NO:206的氨基酸序列的V_H CDR1;
 - (2) 具有SEQ ID NO:207的氨基酸序列的V_H CDR2;和
 - (3) 具有SEQ ID NO:208的氨基酸序列的V_H CDR3;和
- (b) 轻链可变 (V_L) 区, 其包含:
 - (1) 具有SEQ ID NO:218的氨基酸序列的V_L CDR1;
 - (2) 具有SEQ ID NO:219的氨基酸序列的V_L CDR2;和

(3) 具有SEQ ID NO:220的氨基酸序列的V_L CDR3;

(iii) (a) 重链可变 (V_H) 区,其包含:

(1) 具有SEQ ID NO:209的氨基酸序列的V_H CDR1;

(2) 具有SEQ ID NO:210的氨基酸序列的V_H CDR2;和

(3) 具有SEQ ID NO:211的氨基酸序列的V_H CDR3;和

(b) 轻链可变 (V_L) 区,其包含:

(1) 具有SEQ ID NO:221的氨基酸序列的V_L CDR1;

(2) 具有SEQ ID NO:222的氨基酸序列的V_L CDR2;和

(3) 具有SEQ ID NO:223的氨基酸序列的V_L CDR3;或

(iv) (a) 重链可变 (V_H) 区,其包含:

(1) 具有SEQ ID NO:212的氨基酸序列的V_H CDR1;

(2) 具有SEQ ID NO:213的氨基酸序列的V_H CDR2;和

(3) 具有SEQ ID NO:214的氨基酸序列的V_H CDR3;和

(b) 轻链可变 (V_L) 区,其包含:

(1) 具有SEQ ID NO:224的氨基酸序列的V_L CDR1;

(2) 具有SEQ ID NO:225的氨基酸序列的V_L CDR2;和

(3) 具有SEQ ID NO:226的氨基酸序列的V_L CDR3。

39. 根据权利要求30所述的分子,其中所述V_H区包含SEQ ID NO:199的氨基酸序列,所述V_L区包含SEQ ID NO:201的氨基酸序列。

40. 根据权利要求30至39中任一项所述的分子,其中所述分子是STC2602。

41. 根据权利要求1所述的分子,其中所述抗原结合片段包含:

(a) 重链可变 (V_H) 区,其包含:

(1) 具有选自SEQ ID NO:259、262、265和268的氨基酸序列的V_H CDR1;

(2) 具有选自SEQ ID NO:260、263、266和269的氨基酸序列的V_H CDR2;和

(3) 具有选自SEQ ID NO:261、264、267和270的氨基酸序列的V_H CDR3;或者

(b) 轻链可变 (V_L) 区,其包含:

(1) 具有选自SEQ ID NO:271、274、277和280的氨基酸序列的V_L CDR1;

(2) 具有选自SEQ ID NO:272、275、278和281的氨基酸序列的V_L CDR2;和

(3) 具有选自SEQ ID NO:273、276、279和282的氨基酸序列的V_L CDR3。

42. 根据权利要求41所述的分子,其中所述抗原结合片段包含重链可变 (V_H) 区,其包含:

(1) 具有选自SEQ ID NO:259、262、265和268的氨基酸序列的V_H CDR1;

(2) 具有选自SEQ ID NO:260、263、266和269的氨基酸序列的V_H CDR2;和

(3) 具有选自SEQ ID NO:261、264、267和270的氨基酸序列的V_H CDR3。

43. 根据权利要求41所述的分子,其中所述重链可变 (V_H) 区包含:

(a) (1) 具有SEQ ID NO:259的氨基酸序列的V_H CDR1;

(2) 具有SEQ ID NO:260的氨基酸序列的V_H CDR2;和

(3) 具有SEQ ID NO:261的氨基酸序列的V_H CDR3;

(b) (1) 具有SEQ ID NO:262的氨基酸序列的V_H CDR1;

(2) 具有SEQ ID NO:263的氨基酸序列的V_H CDR2;和

- (3) 具有SEQ ID NO:264的氨基酸序列的V_H CDR3;
- (c) (1) 具有SEQ ID NO:265的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:266的氨基酸序列的V_H CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:267的氨基酸序列的V_H CDR3;或
- (d) (1) 具有SEQ ID NO:268的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:269的氨基酸序列的V_H CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:270的氨基酸序列的V_H CDR3。

44. 根据权利要求41所述的分子, 其中所述重链可变 (V_H) 区包含SEQ ID NO:255的氨基酸序列。

45. 根据权利要求41所述的分子, 其中所述抗原结合片段包含轻链可变 (V_L) 区, 其包含:

- (1) 具有选自SEQ ID NO:271、274、277和280的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有选自SEQ ID NO:272、275、278和281的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有选自SEQ ID NO:273、276、279和282的氨基酸序列的V_L CDR3。

46. 根据权利要求41所述的分子, 其中所述轻链可变 (V_L) 区包含:

- (a) (1) 具有SEQ ID NO:271的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:272的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:273的氨基酸序列的V_L CDR3;
- (b) (1) 具有SEQ ID NO:274的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:275的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:276的氨基酸序列的V_L CDR3;
- (c) (1) 具有SEQ ID NO:277的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:278的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:279的氨基酸序列的V_L CDR3;或
- (d) (1) 具有SEQ ID NO:280的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:281的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:282的氨基酸序列的V_L CDR3。

47. 根据权利要求41所述的分子, 其中所述轻链可变 (V_L) 区包含SEQ ID NO:257的氨基酸序列。

48. 根据权利要求41所述的分子, 其中所述抗原结合片段包含:

- (a) 重链可变 (V_H) 区, 其包含:
 - (1) 具有选自SEQ ID NO:259、262、265和268的氨基酸序列的V_H CDR1;
 - (2) 具有选自SEQ ID NO:260、263、266和269的氨基酸序列的V_H CDR2;和
 - (3) 具有选自SEQ ID NO:261、264、267和270的氨基酸序列的V_H CDR3;和
- (b) 轻链可变 (V_L) 区, 其包含:
 - (1) 具有选自SEQ ID NO:271、274、277和280的氨基酸序列的V_L CDR1;
 - (2) 具有选自SEQ ID NO:272、275、278和281的氨基酸序列的V_L CDR2;和
 - (3) 具有选自SEQ ID NO:273、276、279和282的氨基酸序列的V_L CDR3。

49. 根据权利要求41所述的分子, 其中所述抗原结合片段包含:

- (i) (a) 重链可变 (V_H) 区, 其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:259的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:260的氨基酸序列的V_H CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:261的氨基酸序列的V_H CDR3;和
- (b) 轻链可变 (V_L) 区,其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:271的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:272的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:273的氨基酸序列的V_L CDR3;

(ii) (a) 重链可变 (V_H) 区,其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:262的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:263的氨基酸序列的V_H CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:264的氨基酸序列的V_H CDR3;和

(b) 轻链可变 (V_L) 区,其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:274的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:275的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:276的氨基酸序列的V_L CDR3;

(iii) (a) 重链可变 (V_H) 区,其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:265的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:266的氨基酸序列的V_H CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:267的氨基酸序列的V_H CDR3;和

(b) 轻链可变 (V_L) 区,其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:277的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:278的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:279的氨基酸序列的V_L CDR3;或

(iv) (a) 重链可变 (V_H) 区,其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:268的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:269的氨基酸序列的V_H CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:270的氨基酸序列的V_H CDR3;和

(b) 轻链可变 (V_L) 区,其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:280的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:281的氨基酸序列的V_L CDR2;和
- (3) 具有SEQ ID NO:282的氨基酸序列的V_L CDR3。

50. 根据权利要求41所述的分子,其中所述V_H区包含SEQ ID NO:255的氨基酸序列,所述V_L区包含SEQ ID NO:257的氨基酸序列。

51. 根据权利要求41至50中任一项所述的分子,其中所述分子是STC2739。

52. 根据权利要求1所述的分子,其中所述抗原结合片段包含:

(a) 重链可变 (V_H) 区,其包含:

- (1) 具有选自SEQ ID NO:287、290、293和296的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有选自SEQ ID NO:288、291、294和297的氨基酸序列的V_H CDR2;和
- (3) 具有选自SEQ ID NO:289、292、295和298的氨基酸序列的V_H CDR3;或者

(b) 轻链可变 (V_L) 区, 其包含:

- (1) 具有选自SEQ ID NO:299、302、305和308的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有选自SEQ ID NO:300、303、306和309的氨基酸序列的V_L CDR2; 和
- (3) 具有选自SEQ ID NO:301、304、307和310的氨基酸序列的V_L CDR3。

53. 根据权利要求52所述的分子, 其中所述抗原结合片段包含重链可变 (V_H) 区, 其包含:

- (1) 具有选自SEQ ID NO:287、290、293和296的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有选自SEQ ID NO:288、291、294和297的氨基酸序列的V_H CDR2; 和
- (3) 具有选自SEQ ID NO:289、292、295和298的氨基酸序列的V_H CDR3。

54. 根据权利要求52所述的分子, 其中所述重链可变 (V_H) 区包含:

- (a) (1) 具有SEQ ID NO:287的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:288的氨基酸序列的V_H CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO:289的氨基酸序列的V_H CDR3;
- (b) (1) 具有SEQ ID NO:290的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:291的氨基酸序列的V_H CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO:292的氨基酸序列的V_H CDR3;
- (c) (1) 具有SEQ ID NO:293的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:294的氨基酸序列的V_H CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO:295的氨基酸序列的V_H CDR3; 或
- (d) (1) 具有SEQ ID NO:296的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:297的氨基酸序列的V_H CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO:298的氨基酸序列的V_H CDR3。

55. 根据权利要求52所述的分子, 其中所述重链可变 (V_H) 区包含SEQ ID NO:283的氨基酸序列。

56. 根据权利要求52所述的分子, 其中所述抗原结合片段包含轻链可变 (V_L) 区, 其包含:

- (1) 具有选自SEQ ID NO:299、302、305和308的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有选自SEQ ID NO:300、303、306和309的氨基酸序列的V_L CDR2; 和
- (3) 具有选自SEQ ID NO:301、304、307和310的氨基酸序列的V_L CDR3。

57. 根据权利要求52所述的分子, 其中所述轻链可变 (V_L) 区包含:

- (a) (1) 具有SEQ ID NO:299的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:300的氨基酸序列的V_L CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO:301的氨基酸序列的V_L CDR3;
- (b) (1) 具有SEQ ID NO:302的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:303的氨基酸序列的V_L CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO:304的氨基酸序列的V_L CDR3;
- (c) (1) 具有SEQ ID NO:305的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:306的氨基酸序列的V_L CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO:307的氨基酸序列的V_L CDR3; 或
- (d) (1) 具有SEQ ID NO:308的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:309的氨基酸序列的V_L CDR2; 和

(3) 具有SEQ ID NO:310的氨基酸序列的V_L CDR3。

58. 根据权利要求52所述的分子, 其中所述轻链可变(V_L)区包含SEQ ID NO:285的氨基酸序列。

59. 根据权利要求52所述的分子, 其中所述抗原结合片段包含:

(a) 重链可变(V_H)区, 其包含:

- (1) 具有选自SEQ ID NO:287、290、293和296的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有选自SEQ ID NO:288、291、294和297的氨基酸序列的V_H CDR2; 和
- (3) 具有选自SEQ ID NO:289、292、295和298的氨基酸序列的V_H CDR3; 和

(b) 轻链可变(V_L)区, 其包含:

- (1) 具有选自SEQ ID NO:299、302、305和308的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有选自SEQ ID NO:300、303、306和309的氨基酸序列的V_L CDR2; 和
- (3) 具有选自SEQ ID NO:301、304、307和310的氨基酸序列的V_L CDR3。

60. 根据权利要求52所述的分子, 其中所述抗原结合片段包含:

(i) (a) 重链可变(V_H)区, 其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:287的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:288的氨基酸序列的V_H CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO:289的氨基酸序列的V_H CDR3; 和

(b) 轻链可变(V_L)区, 其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:299的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:300的氨基酸序列的V_L CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO:301的氨基酸序列的V_L CDR3; 或

(ii) (a) 重链可变(V_H)区, 其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:290的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:291的氨基酸序列的V_H CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO:292的氨基酸序列的V_H CDR3; 和

(b) 轻链可变(V_L)区, 其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:302的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:303的氨基酸序列的V_L CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO:304的氨基酸序列的V_L CDR3;

(iii) (a) 重链可变(V_H)区, 其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:293的氨基酸序列的V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:294的氨基酸序列的V_H CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO:295的氨基酸序列的V_H CDR3; 和

(b) 轻链可变(V_L)区, 其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:305的氨基酸序列的V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:306的氨基酸序列的V_L CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO:307的氨基酸序列的V_L CDR3; 或

(iv) (a) 重链可变(V_H)区, 其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:296的氨基酸序列的V_H CDR1;

(2) 具有SEQ ID NO:297的氨基酸序列的V_H CDR2;和

(3) 具有SEQ ID NO:298的氨基酸序列的V_H CDR3;和

(b) 轻链可变 (V_L) 区,其包含:

(1) 具有SEQ ID NO:308的氨基酸序列的V_L CDR1;

(2) 具有SEQ ID NO:309的氨基酸序列的V_L CDR2;和

(3) 具有SEQ ID NO:310的氨基酸序列的V_L CDR3。

61. 根据权利要求52所述的分子,其中所述V_H区包含SEQ ID NO:199的氨基酸序列,所述V_L区包含SEQ ID NO:285的氨基酸序列。

62. 根据权利要求52至61中任一项所述的分子,其中所述分子是STC2778。

63. 根据权利要求1所述的分子,其中所述抗原结合片段包含:

(a) 重链可变 (V_H) 区,其包含:

(1) 具有选自SEQ ID NO:315、318、321和324的氨基酸序列的V_H CDR1;

(2) 具有选自SEQ ID NO:316、319、322和325的氨基酸序列的V_H CDR2;和

(3) 具有选自SEQ ID NO:317、320、323和326的氨基酸序列的V_H CDR3;或者

(b) 轻链可变 (V_L) 区,其包含:

(1) 具有选自SEQ ID NO:327、330、333和336的氨基酸序列的V_L CDR1;

(2) 具有选自SEQ ID NO:328、331、334和337的氨基酸序列的V_L CDR2;和

(3) 具有选自SEQ ID NO:329、332、335和338的氨基酸序列的V_L CDR3。

64. 根据权利要求63所述的分子,其中所述抗原结合片段包含重链可变 (V_H) 区,其包含:

(1) 具有选自SEQ ID NO:315、318、321和324的氨基酸序列的V_H CDR1;

(1) 具有选自SEQ ID NO:316、319、322和325的氨基酸序列的V_H CDR2;和

(3) 具有选自SEQ ID NO:317、320、323和326的氨基酸序列的V_H CDR3。

65. 根据权利要求63所述的分子,其中所述重链可变 (V_H) 区包含:

(a) (1) 具有SEQ ID NO:315的氨基酸序列的V_H CDR1;

(2) 具有SEQ ID NO:316的氨基酸序列的V_H CDR2;和

(3) 具有SEQ ID NO:317的氨基酸序列的V_H CDR3;

(b) (1) 具有SEQ ID NO:318的氨基酸序列的V_H CDR1;

(2) 具有SEQ ID NO:319的氨基酸序列的V_H CDR2;和

(3) 具有SEQ ID NO:320的氨基酸序列的V_H CDR3;

(c) (1) 具有SEQ ID NO:321的氨基酸序列的V_H CDR1;

(2) 具有SEQ ID NO:322的氨基酸序列的V_H CDR2;和

(3) 具有SEQ ID NO:323的氨基酸序列的V_H CDR3;或

(d) (1) 具有SEQ ID NO:324的氨基酸序列的V_H CDR1;

(2) 具有SEQ ID NO:325的氨基酸序列的V_H CDR2;和

(3) 具有SEQ ID NO:326的氨基酸序列的V_H CDR3。

66. 根据权利要求63所述的分子,其中所述重链可变 (V_H) 区包含SEQ ID NO:311的氨基酸序列。

67. 根据权利要求63所述的分子,其中所述抗原结合片段包含轻链可变 (V_L) 区,其包含:

(1) 具有选自SEQ ID NO:327、330、333和336的氨基酸序列的V_L CDR1;

(2) 具有选自SEQ ID NO:328、331、334和337的氨基酸序列的V_L CDR2;和

(3) 具有选自SEQ ID NO:329、332、335和338的氨基酸序列的V_L CDR3。

68. 根据权利要求63所述的分子,其中所述轻链可变(V_L)区包含:

(a) (1) 具有SEQ ID NO:327的氨基酸序列的V_L CDR1;

(2) 具有SEQ ID NO:328的氨基酸序列的V_L CDR2;和

(3) 具有SEQ ID NO:329的氨基酸序列的V_L CDR3;

(b) (1) 具有SEQ ID NO:330的氨基酸序列的V_L CDR1;

(2) 具有SEQ ID NO:331的氨基酸序列的V_L CDR2;和

(3) 具有SEQ ID NO:332的氨基酸序列的V_L CDR3;

(c) (1) 具有SEQ ID NO:333的氨基酸序列的V_L CDR1;

(2) 具有SEQ ID NO:334的氨基酸序列的V_L CDR2;和

(3) 具有SEQ ID NO:335的氨基酸序列的V_L CDR3;或

(d) (1) 具有SEQ ID NO:336的氨基酸序列的V_L CDR1;

(2) 具有SEQ ID NO:337的氨基酸序列的V_L CDR2;和

(3) 具有SEQ ID NO:338的氨基酸序列的V_L CDR3。

69. 根据权利要求63所述的分子,其中所述轻链可变(V_L)区包含SEQ ID NO:313的氨基酸序列。

70. 根据权利要求63所述的分子,其中所述抗原结合片段包含:

(a) 重链可变(V_H)区,其包含:

(1) 具有选自SEQ ID NO:315、318、321和324的氨基酸序列的V_H CDR1;

(2) 具有选自SEQ ID NO:316、319、322和325的氨基酸序列的V_H CDR2;和

(3) 具有选自SEQ ID NO:317、320、323和326的氨基酸序列的V_H CDR3;和

(b) 轻链可变(V_L)区,其包含:

(1) 具有选自SEQ ID NO:327、330、333和336的氨基酸序列的V_L CDR1;

(2) 具有选自SEQ ID NO:328、331、334和337的氨基酸序列的V_L CDR2;和

(3) 具有选自SEQ ID NO:329、332、335和338的氨基酸序列的V_L CDR3。

71. 根据权利要求63所述的分子,其中所述抗原结合片段包含:

(i) (a) 重链可变(V_H)区,其包含:

(1) 具有SEQ ID NO:315的氨基酸序列的V_H CDR1;

(2) 具有SEQ ID NO:316的氨基酸序列的V_H CDR2;和

(3) 具有SEQ ID NO:317的氨基酸序列的V_H CDR3;和

(b) 轻链可变(V_L)区,其包含:

(1) 具有SEQ ID NO:327的氨基酸序列的V_L CDR1;

(2) 具有SEQ ID NO:328的氨基酸序列的V_L CDR2;和

(3) 具有SEQ ID NO:329的氨基酸序列的V_L CDR3;

(ii) (a) 重链可变(V_H)区,其包含:

(1) 具有SEQ ID NO:318的氨基酸序列的V_H CDR1;

(2) 具有SEQ ID NO:319的氨基酸序列的V_H CDR2;和

(3) 具有SEQ ID NO:320的氨基酸序列的V_H CDR3;和

(b) 轻链可变 (V_L) 区, 其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:330的氨基酸序列的 V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:331的氨基酸序列的 V_L CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO:332的氨基酸序列的 V_L CDR3;

(iii) (a) 重链可变 (V_H) 区, 其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:321的氨基酸序列的 V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:322的氨基酸序列的 V_H CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO:323的氨基酸序列的 V_H CDR3; 和

(b) 轻链可变 (V_L) 区, 其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:333的氨基酸序列的 V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:334的氨基酸序列的 V_L CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO:335的氨基酸序列的 V_L CDR3; 或

(iv) (a) 重链可变 (V_H) 区, 其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:324的氨基酸序列的 V_H CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:325的氨基酸序列的 V_H CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO:326的氨基酸序列的 V_H CDR3; 和

(b) 轻链可变 (V_L) 区, 其包含:

- (1) 具有SEQ ID NO:336的氨基酸序列的 V_L CDR1;
- (2) 具有SEQ ID NO:337的氨基酸序列的 V_L CDR2; 和
- (3) 具有SEQ ID NO:338的氨基酸序列的 V_L CDR3。

72. 根据权利要求63所述的分子, 其中所述 V_H 区包含SEQ ID NO:311的氨基酸序列, 所述 V_L 区包含SEQ ID NO:313的氨基酸序列。

73. 根据权利要求63至72中任一项所述的分子, 其中所述分子是STC2781。

74. 根据权利要求18所述的分子, 其中所述分子不是STC810。

75. 具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子, 其中与BTN1A1的结合竞争性阻断了根据权利要求1至74中任一项所述的分子与BTN1A1之间以剂量-依赖性方式的结合。

76. 根据权利要求1至75中任一项所述的分子, 其中所述抗原结合片段以不大于 $1\mu\text{M}$ 的解离常数 (K_D) 免疫特异性结合至二聚体BTN1A1。

77. 根据权利要求76所述的分子, 其中所述抗原结合片段以不大于 500nM 、不大于 400nM 、不大于 300nM 、不大于 200nM 、不大于 100nM 、不大于 50nM 、不大于 10nM 或者不大于 5nM 的解离常数 (K_D) 免疫特异性结合至二聚体BTN1A1。

78. 根据权利要求77所述的分子, 其中所述二聚体BTN1A1是糖基化BTN1A1。

79. 根据权利要求1至78中任一项所述的分子, 其中所述分子是抗体。

80. 根据权利要求79所述的分子, 其中所述抗体是单克隆抗体。

81. 根据权利要求80所述的分子, 其中所述抗体是人抗体或人源化抗体。

82. 根据权利要求80所述的分子, 其中所述抗体是IgG、IgM或IgA。

83. 根据权利要求1至78中任一项所述的分子, 其中所述分子是Fab'、F(ab')₂、F(ab')₃、一价scFv、二价scFv或单域抗体。

84. 根据权利要求1至83中任一项所述的分子,其中重组产生所述分子。
85. 药物组合物,其包含根据权利要求1至84中任一项所述的分子和药物可用的载体。
86. 根据权利要求85所述的药物组合物,其中所述药物组合物配制用于肠胃外施用。
87. 治疗受试者中癌症的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的根据权利要求1至84中任一项所述的分子或者根据权利要求85所述的药物组合物。
88. 根据权利要求87所述的方法,其中施用包括所述分子或药物组合物的肠胃外施用。
89. 根据权利要求87所述的方法,还包括向所述患者施用高剂量放射疗法。
90. 根据权利要求87所述的方法,其中所述癌症选自肺癌、前列腺癌、胰癌、卵巢癌、肝癌、头颈癌、乳腺癌和胃癌。
91. 根据权利要求90所述的方法,所述癌症是肺癌。
92. 根据权利要求91所述的方法,其中所述肺癌是非小细胞肺癌(NSCLC)。
93. 根据权利要求92所述的方法,其中所述NSCLC是鳞状NSCLC。
94. 激活CD8⁺细胞的方法,其包括将所述细胞与有效量的根据权利要求1至84中任一项所述的分子接触。
95. 根据权利要求94所述的方法,其中CD8⁺T细胞激活包括IFN γ 分泌的诱导或者CD8⁺细胞簇形成的诱导。
96. 产生包含相对于单体BTN1A1,优先结合二聚体BTN1A1的抗原结合片段的分子的方法,其包括
- a. 提供BTN1A1抗原以产生包含免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子,和
 - b. 对所述包含免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子筛选包含相对于单体BTN1A1,优先结合二聚体BTN1A1的抗原结合片段的分子。
97. 根据权利要求96所述的方法,其中所述BTN1A1抗原是BTN1A1单体。
98. 根据权利要求97所述的方法,其中BTN1A1-ECD-His6在所述BTN1A1单体中。
99. 根据权利要求96所述的方法,其中所述BTN1A1抗原是BTN1A1二聚体。
100. 根据权利要求99所述的方法,其中所述BTN1A1二聚体是BTN1A1-ECD-Fc。
101. 根据权利要求96所述的方法,其中筛选包括确定所述包含免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子对于单体BTN1A1或二聚体BTN1A1的结合水平或亲合力。
102. 根据权利要求101所述的方法,其中如果所述分子对二聚体BTN1A1的结合水平或亲合力比对单体BTN1A1的高,则所述分子包含相对于单体BTN1A1,优先结合二聚BTN1A1的抗原结合片段。
103. 根据权利要求101所述的方法,其中在基于细胞的测定中确定对于单体BTN1A1或二聚体BTN1A1的结合水平或亲合力。
104. 根据权利要求103所述的方法,其中所述基于细胞的测定是流式细胞术测定。
105. 根据权利要求104所述的方法,其中所述相对于单体BTN1A1,优先结合二聚体BTN1A1的抗原结合片段以比相对于单体BTN1A1所显示的MFI高至少2倍的MFI结合至二聚体BTN1A1,其中任选地所述抗原结合片段以比相对于单体BTN1A1所显示的MFI高至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍或至少50倍的MFI结合至二聚体BTN1A1。
106. 根据权利要求101所述的方法,其中使用纯化的单体或二聚体BTN1A1蛋白确定对

于单体BTN1A1或二聚体BTN1A1的结合水平或亲合力。

107. 根据权利要求106所述的方法, 其中所述纯化的单体BTN1A1蛋白是BTN1A1-ECD-His, 所述纯化的二聚体BTN1A1蛋白是BTN1A1-ECD-Fc。

108. 根据权利要求106所述的方法, 其中使用酶联免疫吸附测定 (ELISA)、荧光免疫吸附测定 (FIA)、化学发光免疫吸附测定 (CLIA)、放射免疫测定 (RIA)、酶倍增免疫测定 (EMI)、固相放射免疫分析 (SPROA)、荧光极化 (FP) 测定、荧光能量共振转移 (FRET) 测定、时间分辨荧光能量共振转移 (TR-FRET) 测定或者表面等离子共振 (SPR) 测定确定对于单体BTN1A1或二聚体BTN1A1的结合水平或亲合力。

109. 根据权利要求106所述的方法, 其中使用SPR测定确定测试分子对二聚体BTN1A1或单体BTN1A1的亲合力。

110. 根据权利要求106所述的方法, 其中所述相对于单体BTN1A1, 优先结合二聚体BTN1A1的抗原结合片段以小于相对于单体BTN1A1所显示的 K_D 的一半的 K_D 结合至二聚体BTN1A1, 其中任选地所述抗原结合片段以比相对于单体BTN1A1所显示的 K_D 小至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍或至少50倍的 K_D 结合至二聚体BTN1A1。

111. 在根据权利要求96-110中任一项所述的方法中鉴别的分子。

免疫特异性结合至BTN1A1的抗体和分子及其治疗性用途

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本发明申请主张2017年5月31日提交的美国临时专利申请No.62/513,389的权益；该专利的公开内容以其全部内容作为参考并入本文。

[0003] 序列表的引用

[0004] 本发明申请与2018年5月25日产生并且大小为118,784字节的名称为13532-018-228_ST25.txt的序列表的计算机可读形式(CRF)拷贝一起提交；该序列表以其全部内容作为参考并入本文。

1. 技术领域

[0005] 本发明一般地涉及癌症免疫学和分子生物学领域。本文提供了抗-BTN1A1抗体或者具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的其它分子及其治疗性用途。

[0006] 2. 发明背景

[0007] 人和其它哺乳动物的免疫系统保护它们抵抗感染和疾病。一些刺激性和抑制性配体和受体提供了紧密的控制系统以使抵抗感染的免疫应答最大化，同时限制自身免疫。最近，发现调节免疫应答的治疗剂，如抗-PD1或抗-PDL1抗体在一些癌症治疗中是有效的。然而，通过调节免疫系统来安全且有效治疗疾病的新的治疗剂的开发仍是急需的，特别是对于转移性癌症。本文所述的组合物和方法满足这些需要并且提供了其它相关优势。

[0008] 3. 发明概述

[0009] 本文提供了具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中，所述分子为抗-BTN1A1抗体。

[0010] 在一些实施方式中，所述分子具有免疫特异性结合至二聚体的抗原结合片段，其中相对于BTN1A1单体，所述抗原结合片段优先结合BTN1A1二聚体。在一些实施方式中，BTN1A1二聚体在BTN1A1二聚体中的BTN1A1单体中的一个或两者中的位置N55、N215或N449中的一个或多个处糖基化。

[0011] 在一些实施方式中，所述分子具有免疫特异性结合至糖基化BTN1A1的抗原结合片段。在一些实施方式中，所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55、N215和/或N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中，所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中，所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N215处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中，所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中，所述抗原结合片段免疫特异性结合至糖基化基序中的一个或多个。在一些实施方式中，所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55和N215处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中，所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N215和N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中，所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55和N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中，所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55、N215和/或N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中，所述糖基化的BTN1A1是二聚体。

[0012] 在一些实施方式中,所述分子具有免疫特异性结合至糖基化BTN1A1的抗原结合片段,其中相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合至在位置N55、N215和/或N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合至在位置N55处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合至在位置N215处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合至在位置N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段优先结合至糖基化基序中的一个或多个。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合至在位置N55和N215处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合至在位置N215和N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合至在位置N55和N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合至在位置N55、N215和N449处糖基化的BTN1A1。

[0013] 在一些实施方式中,所述抗原结合片段以小于相对于BTN1A1单体,如糖基化的BTN1A1单体所显示的 K_D 的一半的 K_D 结合至BTN1A1二聚体,如糖基化的BTN1A1二聚体。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以比相对于BTN1A1单体,如糖基化的BTN1A1单体所显示的 K_D 小至少2倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍或至少50倍的 K_D 结合至BTN1A1二聚体,如糖基化的BTN1A1二聚体。

[0014] 在一些实施方式中,所述抗原结合片段以相对于BTN1A1单体,如糖基化的BTN1A1单体所显示的荧光强度(MFI)的至少两倍的MFI结合至BTN1A1二聚体,如糖基化的BTN1A1二聚体。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以相对于BTN1A1单体,如糖基化的BTN1A1单体所显示的MFI的至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍或至少50倍的MFI结合至BTN1A1二聚体,如糖基化的BTN1A1二聚体。

[0015] 在一些实施方式中,所述抗原结合片段以小于相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 的一半的 K_D 结合至糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以比相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 小至少2倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍或至少50倍的 K_D 结合至糖基化的BTN1A1。

[0016] 在一些实施方式中,所述抗原结合片段以相对于未糖基化的BTN1A1所显示的平均荧光强度(MFI;流式细胞术中的相对测量单位)的至少两倍的MFI结合至糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以相对于未糖基化的BTN1A1所显示的MFI的至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍或至少50倍的MFI结合至糖基化的BTN1A1。

[0017] 在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N55、N215和/或N449处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N55处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N215处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N449处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽BTN1A1的一个或多个糖基化基序。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N55和N215处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N215和

N449处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N55和N449处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N55、N215和N449处的BTN1A1糖基化。

[0018] 在一些实施方式中,本文提供了具有免疫特异性结合至BTN1A1并且包括如表2a-12b所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的V_H或V_L域的抗原结合片段的分子。在一个实施方式中,所述分子可以具有包括如表2a-12b所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的V_H和V_L域两者的抗原结合片段。在另一个实施方式中,所述分子可以具有包括具有如表2a-12b所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的V_H CDR中的任一项的氨基酸序列的一个或多个V_H CDR的抗原结合片段。在另一个实施方式中,所述分子可以具有包括具有如表2a-12b所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的V_L CDR中的任一项的氨基酸序列的一个或多个V_L CDR的抗原结合片段。在另一个实施方式中,所述分子可以具有包括如表2a-12b所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的至少一个V_H CDR和至少一个V_L CDR的抗原结合片段。

[0019] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其包括:(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有选自SEQ ID NO:7、10、13、16、35、38、41和44的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有选自SEQ ID NO:8、11、14、17、36、39、42和45的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有选自SEQ ID NO:9、12、15、18、37、40、43和46的氨基酸序列的V_H CDR3;或者(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有选自SEQ ID NO:19、22、25、28、47、50、53和56的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有选自SEQ ID NO:20、23、26、29、48、51、54和57的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有选自SEQ ID NO:21、24、27、30、49、52、55和58的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0020] 在一些实施方式中,所述分子为STC703或者STC810。

[0021] 在一些实施方式中,所述分子不包括包含如表3a和3b所示的单克隆抗体STC810的V_H域、V_L域、V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2或V_L CDR3的抗原结合域。

[0022] 在一些实施方式中,所述分子不是STC810。

[0023] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其包括:(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有选自SEQ ID NO:63、66、69和72的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有选自SEQ ID NO:64、67、70和73的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有选自SEQ ID NO:65、68、71和74的氨基酸序列的V_H CDR3;或者(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有选自SEQ ID NO:75、78、81和84的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有选自SEQ ID NO:76、79、82和85的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有选自SEQ ID NO:77、80、83和86的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0024] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其包括:(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有选自SEQ ID NO:91、94、97、100、119、122、125、128、147、150、153和156的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有选自92、95、98、101、120、123、126、129、148、151、154和157的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有选自93、96、99、102、121、124、127、130、149、152、155和158的氨基酸序列的V_H CDR3;或者(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有选自103、106、

109、112、131、134、137、140、159、162、165和168的氨基酸序列的V_L CDR1；(2) 具有选自104、107、110、113、132、135、138、141、160、163、166和169的氨基酸序列的V_L CDR2；和(3) 具有选自105、108、111、114、133、136、139、142、161、164、167和170的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0025] 在一些实施方式中，本文所提供的分子具有抗原结合片段，其包括：(a) 重链可变(V_H)区，其包括：(1) 具有选自SEQ ID NO:203、206、209和212的氨基酸序列的V_H CDR1；(2) 具有选自SEQ ID NO:204、207、210和213的氨基酸序列的V_H CDR2；和(3) 具有选自SEQ ID NO:205、208、211和214的氨基酸序列的V_H CDR3；或者(b) 轻链可变(V_L)区，其包括：(1) 具有选自SEQ ID NO:215、218、221和224的氨基酸序列的V_L CDR1；(2) 具有选自SEQ ID NO:216、219、222和225的氨基酸序列的V_L CDR2；和(3) 具有选自SEQ ID NO:217、220、223和226的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0026] 在一些实施方式中，所述分子是STC2602。

[0027] 在一些实施方式中，本文所提供的分子具有抗原结合片段，其包括：(a) 重链可变(V_H)区，其包括：(1) 具有选自SEQ ID NO:231、234、237和240的氨基酸序列的V_H CDR1；(2) 具有选自SEQ ID NO:232、235、238和241的氨基酸序列的V_H CDR2；和(3) 具有选自SEQ ID NO:233、236、239和242的氨基酸序列的V_H CDR3；或者(b) 轻链可变(V_L)区，其包括：(1) 具有选自SEQ ID NO:243、246、249和252的氨基酸序列的V_L CDR1；(2) 具有选自SEQ ID NO:244、247、250和253的氨基酸序列的V_L CDR2；和(3) 具有选自SEQ ID NO:245、248、251和254的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0028] 在一些实施方式中，所述分子是STC2714。

[0029] 在一些实施方式中，本文所提供的分子具有抗原结合片段，其包括：(a) 重链可变(V_H)区，其包括：(1) 具有选自SEQ ID NO:259、262、265和268的氨基酸序列的V_H CDR1；(2) 具有选自SEQ ID NO:260、263、266和269的氨基酸序列的V_H CDR2；和(3) 具有选自SEQ ID NO:261、264、267和270的氨基酸序列的V_H CDR3；或者(b) 轻链可变(V_L)区，其包括：(1) 具有选自SEQ ID NO:271、274、277和280的氨基酸序列的V_L CDR1；(2) 具有选自SEQ ID NO:272、275、278和281的氨基酸序列的V_L CDR2；和(3) 具有选自SEQ ID NO:273、276、279和282的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0030] 在一些实施方式中，所述分子是STC2739。

[0031] 在一些实施方式中，本文所提供的分子具有抗原结合片段，其包括：(a) 重链可变(V_H)区，其包括：(1) 具有选自SEQ ID NO:287、290、293和296的氨基酸序列的V_H CDR1；(2) 具有选自SEQ ID NO:288、291、294和297的氨基酸序列的V_H CDR2；和(3) 具有选自SEQ ID NO:289、292、295和298的氨基酸序列的V_H CDR3；或者(b) 轻链可变(V_L)区，其包括：(1) 具有选自SEQ ID NO:299、302、305和308的氨基酸序列的V_L CDR1；(2) 具有选自SEQ ID NO:300、303、306和309的氨基酸序列的V_L CDR2；和(3) 具有选自SEQ ID NO:301、304、307和310的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0032] 在一些实施方式中，所述分子是STC2778。

[0033] 在一些实施方式中，本文所提供的分子具有抗原结合片段，其包括：(a) 重链可变(V_H)区，其包括：(1) 具有选自SEQ ID NO:315、318、321和324的氨基酸序列的V_H CDR1；(2) 具有选自SEQ ID NO:316、319、322和325的氨基酸序列的V_H CDR2；和(3) 具有选自SEQ ID NO:317、320、323和326的氨基酸序列的V_H CDR3；或者(b) 轻链可变(V_L)区，其包括：(1) 具有选自

SEQ ID NO:327、330、333和336的氨基酸序列的V_L CDR1; (2) 具有选自SEQ ID NO:328、331、334和337的氨基酸序列的V_L CDR2; 和 (3) 具有选自SEQ ID NO:329、332、335和338的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0034] 在一些实施方式中,所述分子是STC2781。

[0035] 本文还提供了编码本文所述的抗-BTN1A1抗体的V_H链、V_L链、V_H域、V_L域、V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和/或V_L CDR3的分离的核酸分子。还提供了包含这些核酸分子的载体和宿主细胞。

[0036] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有(例如,以剂量-依赖性方式)竞争性阻断BTN1A1表位,如STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或者STC2781的BTN1A1表位的抗原结合片段。

[0037] 在一些实施方式中,具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子为抗-BTN1A1抗体,包括抗-糖基化BTN1A1的抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。所述抗体可以是人抗体。所述抗体可以是IgG、IgM或IgA。

[0038] 在一些实施方式中,具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子为Fab'、F(ab')₂、F(ab')₃、一价scFv、二价scFv或单域抗体。

[0039] 在一些实施方式中,重组产生具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中,所述分子缀合至显象剂、化疗剂、毒素或放射性核素。

[0040] 本文还提供了包括具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子以及药物可用的载体的组合物。在一些实施方式中,所述组合物配制用于肠胃外施用。本文还提供了包括具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子以及辅助试剂的试剂盒。

[0041] 本文还提供了包括如本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子的抗体-药物缀合物(ADC)。本文还提供了通过将细胞与缀合了化合物的本文所提供的分子接触,使用本文所提供的分子来将所述化合物递送至表达BTN1A1的细胞的方法。所述化合物可以是如本文所述的显象剂、治疗剂、毒素或放射性核素。所述化合物可以缀合抗-BTN1A1抗体。所述缀合物可以是如本文所述的任何缀合物,如ADC。所述细胞可以是癌细胞。所述细胞也可以是包括癌细胞和正常细胞两者的细胞群体。

[0042] 本文还提供了通过施用有效量的本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1,包括抗-BTN1A1抗体的抗原结合片段的分子来调节受试者中免疫应答的方法。调节免疫应答可以包括(a) 提高T细胞激活; (b) 提高T细胞增殖; 和/或(c) 提高细胞因子的产生。在一些实施方式中,调节免疫应答包括CD8⁺T细胞的激活。在一些实施方式中,CD8⁺T细胞激活包括IFN γ 分泌的诱导或者T细胞簇形成的诱导。

[0043] 本文还提供了通过将细胞与有效量的本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1,包括抗-BTN1A1抗体的抗原结合片段的分子接触,提高表达BTN1A1的细胞的T细胞依赖性细胞凋亡的方法。本文还提供了通过将细胞与有效量的本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1,包括抗-BTN1A1抗体的抗原结合片段的分子接触,抑制表达BTN1A1的细胞的增殖的方法。所述细胞可以是癌细胞。

[0044] 另外,本文提供了通过向受试者施用有效量的如本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子来治疗受试者中的癌症的方法。在一些实施方式中,所述分子是抗-BTN1A1抗体。在一些实施方式中,所述分子是抗-糖基化BTN1A1的抗体。在一些实

施方式中,所述处理可以激活受试者中的免疫应答,或者促进受试者中的T细胞激活和增殖。在一些实施方式中,所述分子结合至癌细胞并且诱导免疫应答,从而导致癌细胞的破坏。在一些实施方式中,癌细胞的破坏受所述分子的ADCC活性的介导。在一些实施方式中,癌细胞的破坏受所述分子的CDC活性的介导。在一些实施方式中,将所述分子与高剂量辐射组合施用。

[0045] 在一些实施方式中,所述受试者具有转移性癌。所述癌可以是血液学癌或实体瘤。在一些实施方式中,所述癌是选自白血病、淋巴瘤和骨髓瘤的血液学癌。在一些实施方式中,所述癌是选自乳腺癌、肺癌、胸腺癌、甲状腺癌、头颈癌、前列腺癌、食道癌、气管癌、脑癌、肝癌、膀胱癌、肾癌、胃癌、胰腺癌、卵巢癌、子宫癌、宫颈癌、睾丸癌、结肠癌、直肠癌和皮肤癌的实体瘤。所述皮肤癌可以是黑素瘤或非黑素瘤皮肤癌。

[0046] 在一些实施方式中,所述方法包括向受试者全身施用如本文所述的具有免疫特异性结合BTN1A1的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中,静脉内、皮内、瘤内、肌内、腹膜内、皮下或局部施用所述分子。在一些实施方式中,所述方法包括向受试者施用第二抗癌疗法,其可以是手术疗法、化疗、生物靶向疗法、小分子靶向疗法、放射疗法、冷冻疗法、激素疗法、免疫疗法或细胞因子疗法。在一些实施方式中,肠胃外施用所述分子。

[0047] 另外,本文提供了产生包括相对于单体BTN1A1,优先结合二聚体BTN1A1的抗原结合片段的分子的方法,其包括提供产生包括免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子的BTN1A1抗原,和对包括免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子筛选相对于单体BTN1A1,包括优先结合二聚体BTN1A1的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中,所述BTN1A1抗原是BTN1A1单体。在一些实施方式中,所述BTN1A1抗原是BTN1A1二聚体。本文还提供了使用本文所提供的方法产生的分子。

4. 附图说明

[0048] 以下附图构成了本说明书的一部分并且包括以进一步表明本发明的某些实施方式。可以结合本文所提供的具体实施方式的详细说明,通过参考这些附图中的一个或多个来更好地理解本发明。

[0049] 图1-人BTN1A1的线性结构。图1显示了人BTN1A1的线性结构,其包括两个免疫球蛋白域(V-set、C2-set₂)和两个蛋白相互作用域(PRY、SPRY)。

[0050] 图2-人BTN1A1的亚克隆。使用标准克隆法,将具有C末端flag标签的人BTN1A1的整个编码序列(CD)亚克隆至pcDNA3。如图2所示,上端条带对应于载体主链,而下端条带对应于具有flag标签的人BTN1A1的CD。

[0051] 图3-293T细胞中糖基化特异性突变体和野生型BTN1A1的表达。使用定点突变,在人BTN1A1的胞外域中的糖基化位点上进行特异性突变(N55Q、N215Q和化合物N55Q和N215Q)。在图3上显示了野生型BTN1A1及其突变体形式两者的表达。如图所示,BTN1A1的复合突变体(N55Q和N215Q)不能表达,从而表明BTN1A1的糖基化对于其表达是至关重要的。

[0052] 图4A和图4B-作为免疫疗法靶标的BTN1A1。图4A和图4B显示了与阴性对照一起,相对于非辐照脾脏,来自非辐照肿瘤的shRNA序列读序的图(图4A),和相对于非辐照脾脏,来自辐照肿瘤的shRNA序列读序的图(图4B)。

[0053] 图5-激活的CD8⁺T细胞上的BTN1A1诱导。图5显示了显示流式细胞术(FACS)分析结

果的图。在伴刀豆凝集素A (ConA) 或者抗-CD3/抗-CD28激活的小鼠CD8⁺T细胞中分析了BTN1A1细胞-表面表达。

[0054] 图6A和图6B-BTN1A1可以选择性抑制CD8⁺T细胞激活。图6A和图6B显示了T细胞激活的质谱流式细胞术 (mass cytometry) 分析结果。图6A显示了通过激活的T杀伤细胞所获得的CyTOF结果。图6B显示了通过未处理过的T杀伤细胞和效应T杀伤细胞所获得的CyTOF结果。

[0055] 图7-用于鉴别BTN1A1生物活性的基于细胞的测定形式。图7显示了显示珠-基测定 (左图)、共培养测定 (中间图) 和BTN1A1涂层测定 (右图) 的图。

[0056] 图8A和图8B-用BTN1A1涂覆珠可以抑制人总T细胞增殖。图8A和图8B显示了根据图7的珠-基T细胞增殖测定的结果 (左图)。图8A显示了流式细胞术读数。图8B以柱状图显示了相对T细胞增殖。

[0057] 图9A和图9B-过表达mBTN1A1的4T1细胞可以抑制小鼠T细胞增殖。图9A和图9B显示了使用过表达BTN1A1的4T1细胞和CFSE-染色的小鼠脾细胞, 根据图7的共培养测定结果 (中间图)。图9A显示了流式细胞术读数。图9B以柱状图显示了相对T细胞增殖。

[0058] 图10-mBTN1A1可以抑制小鼠T细胞增殖。图10显示了使用涂覆的BTN1A1和CFSE-染色的小鼠脾细胞, 根据图7的异质测定 (heterogeneous assay) 结果 (右图)。

[0059] 图11-可以在肿瘤微环境中通过高剂量辐射诱导mBTN1A1。图11显示了分离自小鼠辐射处理后的小鼠肿瘤的CD8⁺细胞中的BTN1A1表达水平的流式细胞术分析结果。

[0060] 图12-可以在肿瘤微环境中通过高剂量辐射诱导mBTN1A1。图12显示了来自非辐射的对照小鼠 (顶端行) 和来自用辐射剂量的2Gyx5 (中间行) 或12Gyx3 (底端行) 辐照的小鼠的福尔马林-固定、石蜡-包埋 (FFPE) 的LLC同基因肿瘤的免疫组织化学分析图像。

[0061] 图13-BTN1A1是N-连接的糖基化的。用空白对照 (-) 或者PNGase F处理表达胞外域的重组人BTN1A1蛋白1小时, 对其进行聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE) 和考马斯染色。如图13所示, 在PNGase F处理的泳道中观察到明显的迁移, 表明了BTN1A1的N-连接的糖基化作用。对应于箭头的条带是PNGase F蛋白。

[0062] 图14-全长人BTN1A1蛋白中推定的糖基化位点。使人BTN1A1的全长序列 (SEQ ID NO:1) 进入N-连接的糖基化位点 (Nx[ST]) 模式预测软件 (<http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/GLYCOSITE/glycosite.html>)。在图14所显示的序列中以红色突出显示了如通过软件所鉴别的三个候选糖基化位点。

[0063] 图15-BTN1A1的胞外域的糖基化位点中的高度同源性。来自三个物种 (智人 (*Homo sapiens*)、小家鼠 (*Mus musculus*) 和黄牛 (*Bos taurus*)) 的验证的BTN1A1序列采集自uniprot (www.uniprot.org), 对其进行糖基化位点预测软件 (<http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/GLYCOSITE/glycosite.html>) 并使用clustal W2 (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2/>) 比对。如图15所示, 糖基化位点 (以出现的顺序分别为SEQ ID NO:189-194) 在物种间是进化保守的。

[0064] 图16A-在通过抗CD3/CD28刺激激活后的鼠T细胞中细胞表面BTN1A1的高度诱导。用空白对照刺激 (左图) 或者用抗CD3 (5mg/ml) 和抗CD28 (5mg/ml) 刺激未处理过的鼠T细胞2天, 并进行流式细胞术分析。图16A显示了与空白对照处理的细胞相比, CD3/CD28刺激的细胞中细胞表面BTN1A1的高诱导。

[0065] 图16B-在通过抗CD3/CD28刺激激活后的鼠T细胞中细胞表面BTN1A1的高度诱导。用空白对照刺激(红色)或者用抗CD3-(5 μ g/ml)和抗-CD28(5 μ g/ml)刺激(橙色)未处理过的鼠T细胞2天,并进行流式细胞术分析。将BTN1A1的表达与仅第二抗体的对照相比较。图16B显示了与空白对照处理的细胞相比,CD3/CD28刺激的细胞中细胞表面BTN1A1的高诱导。蓝色曲线是同种型对照。

[0066] 图17-骨髓细胞诱导B16-0va黑素瘤细胞中BTN1A1的表达。通过用仅抗体对照或者FITC-BTN1A1抗体染色来检测B16-0va细胞中的胞外BTN1A1,并且使用流式细胞术检查BTN1A1的表达水平。术语“BM”代表骨髓。

[0067] 图18A和图18B-BTN1A1在细胞中形成二聚体。图18A和图18B显示了用EDC(1-乙基-3-(3-二甲基氨丙基)碳二亚胺盐酸盐)或者Glu(戊二醛)交联剂处理的来自表达BTN1A1-flag的HEK293T细胞的裂解液的免疫印迹分析。图18A显示了还原、变性条件下的免疫印迹试验。图18B显示了天然条件下的免疫印迹试验。

[0068] 图19A和图19B-小鼠抗-人BTN1A1抗体的斑点印迹分析。图19A显示了斑点印迹分析的结果,其用于分析小鼠抗-人BTN1A1单克隆抗体的糖-特异性(glyco-specificity)。用PNGase F处理加6 \times His标签的抗原BTN1A1-ECD以除去N-糖基化。将多克隆抗体用于阳性对照。为了测试BTN1A1的物种特异性,使用了加入IgG1 Fc区标签的人和小鼠BTN1A1(泳道1-4是人BTN1A1-Fc,泳道5-8是小鼠BTN1A1-Fc)。术语“ECD”代表胞外域。图19B提供了如图9A所示的斑点印迹的分布。

[0069] 图20-BTN1A1-ECD-His6和BTN1A1-ECD-Fc是N-连接糖基化的。用空白对照(-)或者PNGase F处理表达胞外域的重组人BTN1A1-ECD-His6和BTN1A1-ECD-Fc蛋白构建体1小时,对其进行聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)和考马斯染色。如图20所示,在PNGase F处理的泳道2和4中观察到明显的迁移,其表示BTN1A1-ECD-His6和BTN1A1-ECD-Fc的N-连接的糖基化。对应于星号的条带是PNGase F蛋白。

[0070] 图21A-C-小鼠抗-人BTN1A1单克隆抗体的FACS分析。通过瞬时转染,在HEK293T细胞中表达人BTN1A1-2NQ(即N55Q和N215Q)和人BTN1A1 WT。使用表示为STC703(图21A)、STC810(图21B)或者STC820(图21C)的抗-BTN1A1单克隆抗体,通过FACS分析测量hBTN1A1的表面表达。将抗-BTN1A1多克隆抗体用作阳性对照。

[0071] 图22A-F-结合至固定化STC703、STC810或STC820 MAb的BTN1A1-Fc和BTN1A1-His的表面等离子共振分析。图22A、图22C和图22E:显示可溶性BTN1A1-Fc蛋白(2-64nM,2-倍稀释)与固定化在小鼠IgG捕获-CM5芯片(BIAcore)上的STC703(图22A)、STC810(图22C)或STC820(图22E)的实时结合的传感图。图22B、图22D和图22F:显示可溶性BTN1A1-His蛋白(2-64nM,2-倍稀释)与固定化在小鼠IgG捕获-CM5芯片(BIAcore)上的STC703(图22B)、STC810(图22D)或STC820(图22F)的实时结合的传感图。将没有任何固定化蛋白的流通池用作非特异性结合的对照,并将其从测试流通池中减去。

[0072] 图23A-C-BTN1A1 WT、N55Q、N215Q和2NQ突变体的免疫印迹分析。图23A显示了BTN1A1 WT及其突变体N55Q、N215Q和2NQ(即N55Q和N215Q)的示意图。图23B显示了用抗体STC810、STC812、STC819、STC820、STC821、STC838、STC848或STC859探查的BTN1A1 WT及其突变体形式的免疫印迹。图23C显示了凝胶加样对照。

[0073] 图24-BTN1A1 WT、N55Q、N215Q和2NQ突变体的免疫印迹分析。图24显示了使用抗体

STC703 (左图)、STC810 (中间图) 或STC820 (右图) 的BTN1A1 WT或其突变体形式的免疫印迹。

[0074] 图25-通过共聚焦显微镜检查的STC703和STC810抗体的免疫荧光分析。用野生型BTN1A1 (BTN1A1 WT) 和突变体BTN1A1 (BTN1A1-2NQ (即N55Q和N215Q)) 的表达载体瞬时转染HEK293T细胞。将细胞在盖玻片上铺板,并用抗BTN1A1的第一抗体 (STC703或STC810) 和抗小鼠IgG的第二抗体探查。蓝色染色是DAPI,其对核染色。

[0075] 图26A和图26B-通过过表达糖基化BTN1A1 WT的细胞使荧光标记的STC810内化。图26A显示了来自IncuCyte **ZOOM**[®] 活细胞分析的代表性图像。表示内化的phRodo[™]-标记的STC810的红色荧光在右上图中可见,但是在其它三个图中不可见。图26B显示了内化STC810-phRodo[™]荧光随时间的图。在表达糖基化BTN1A1 WT的细胞中观察到了内化STC810-phRodo[™]荧光的升高,但是在表达非糖基化BTN1A1 2NQ的细胞中未观察到。

[0076] 图27A和图27B-用抗-PD-1抗体协同强化STC810以在混合淋巴细胞反应中诱导IL-2和IFN γ 分泌。图27A和图27B显示了柱状图,其显示了相对于IL-2 (图27A) 或者IFN γ (图27B) 分泌,所指明的抗体处理对混合淋巴细胞培养的影响。

[0077] 图28A和图28B-STC810促进IFN γ 的分泌和激活的CD8⁺T细胞的簇集。图28A显示了未激活的 (左上图) 或者用IgG对照抗体 (右上图)、BTN1A1-Fc (左下图) 或BTN1A1-Fc和STC810的组合 (右下图) 处理后的抗-CD3抗体激活的T细胞培养的图像。图28B显示了如通过ELISA所确定的,通过用指定浓度的STC810处理,ConA和IL-2激活的T细胞的上清液中所检测的IFN γ 水平。

[0078] 图29A-C-结合至固定化STC1011、STC1012或STC1029 MAb的BTN1A1-Fc的表面等离子共振分析。图29A、图29B和图29C:显示可溶性BTN1A1-Fc蛋白 (2-64nM, 2-倍稀释) 对固定化在Protein A-CM5芯片 (BIAcore) 上的STC1011 (图29A)、STC1012 (图29B) 或STC1029 (图29C) 的实时结合的传感图。将没有任何固定化蛋白的流通池用作非特异性结合的对照,并将其从测试流通池中减去。

[0079] 图30A-C-通过过表达糖基化的小鼠BTN1A1 WT或者非糖基化的小鼠BTN1A1 2NQ的细胞使荧光标记的STC1012内化。图30A显示了来自IncuCyte **ZOOM**[®] 活细胞分析的代表性图像。表示内化的phRodo[™]-标记的STC1012的红色荧光在中间图的顶端行 (293T mBTN1A1 (WT)) 和右上图 (293T mBTN1A1 (2NQ)) 中可见,在对照图中不可见。图30B显示了内化STC1012-phRodo[™]荧光随时间的图。在表达糖基化BTN1A1 WT的细胞中和在表达非糖基化BTN1A1 2NQ的细胞中观察到了内化STC810-phRodo[™]荧光的升高。图30C显示了使用pHRodo[™]-标记的对照mIgG1的对照实验的结果。

[0080] 图31A和图31B-抗-mBTN1A1抗体促进与过表达mBTN1A1的4T1细胞共培养的T细胞的增殖。图31A和图31B显示了根据图7 (中间图) 的共培养实验结果。将过表达BTN1A1的4T1细胞与小鼠脾细胞和所指明的抗-小鼠BTN1A1抗体共培养。图31A显示了共培养中增殖T细胞的流式细胞术分析结果。图31B显示了柱状图,其显示了STC1011、STC1012和STC1029对共培养中的T细胞增殖的影响。

[0081] 图32A-BTN1A1-Fc的表位定位。对STC810和BTN1A1 (ECD) -Fc进行Ag-Ab交联并通过高质量 (high-mass) MALDI分析。图11显示了交联至STC810,包括R41、K42、K43、T185和K188的BTN1A1 (ECD) -Fc的氨基酸残基。

[0082] 图32B-BTN1A1-His的表位定位。对STC810和BTN1A1 (ECD) -His进行Ag-Ab交联并通

过高质量 (high-mass) MALDI 分析。图32B显示了交联至STC810, 包括R68、K78、T175、S179和T185的BTN1A1 (ECD) -His的氨基酸残基。

[0083] 图33-BTN1A1抗体的T细胞杀死效果。图33显示了在存在STC810、STC2602、STC2714或STC2781 BTN1A1抗体以及阴性对照的情况下, PC3人前列腺癌细胞的T细胞介导的细胞凋亡的图。

[0084] 图34-BTN1A1抗体的二聚体-特异性结合。图34中左数第一幅图是考马斯亮蓝染色的SDS-PAGE凝胶图, 其显示了天然和还原状态的BTN1A1蛋白的单体和二聚体形式以及尺寸标准物的位置。第二至第五幅图分别显示了使用STC810、STC2602、STC2714和STC 2781抗体, 使处于天然和还原状态的BTN1A1蛋白的单体和二聚体形式显象的免疫印迹。

[0085] 图35A-B-STC2714对BTN1A1的单体和二聚体形式的结合亲和力 (K_D)。图35A: 显示可溶性BTN1A1-Fc蛋白 (图35A) (2-64nm, 2-倍稀释) 与固定化在Protein A-CM5芯片 (Biacore) 上的STC2714的实时结合的传感图。图35B: 显示可溶性BTN1A1-His蛋白 (2-64nm, 2-倍稀释) 与固定化在Protein A-CM5芯片 (Biacore) 上的STC2714的实时结合的传感图。

[0086] 5. 详细说明

[0087] 共刺激性分子的B7家族可以驱使免疫细胞的激活和抑制。相关分子家族-嗜乳脂蛋白-也具有与B7家族成员类似的免疫调节功能。嗜乳脂蛋白亚家族1成员A1 (“BTN1A1”) 是I型膜糖蛋白并且是乳脂肪球膜的主要成分, 它与B7家族具有结构相似性。BTN1A1已知是调节脂肪滴在牛奶中形成的主要蛋白。(Ogg等人PNAS, 101 (27) :10084-10089 (2004))。BTN1A1在免疫细胞, 包括T细胞中表达。发现使用重组BTN1A1治疗抑制T细胞激活并且保护EAE动物模型。(Steffenl等人, J. Immunol. 165 (5) :2859-65 (2000))。

[0088] BTN1A1还在癌细胞中特异性且高度表达。癌细胞中的BTN1A1也是糖基化的。BTN1A1的表达可以用于辅助癌症诊断以及评价癌症治疗效力。

[0089] 本文提供了可以免疫特异性结合至BTN1A1的抗-BTN1A1抗体及其它分子, 以及它们在提供癌症诊断, 评价癌症治疗或者调节免疫细胞活性中以及在治疗癌症中的使用方法。

[0090] 5.1 定义

[0091] 如本文所使用的并且除非另外说明, 否则冠词“一个”和“所述”表示一个或大于一个所述冠词的语法对象。举例来说, 抗体是指一个抗体或大于一个抗体。

[0092] 如本文所使用的并且除非另外说明, 否则术语“嗜乳脂蛋白亚家族1成员A1”或者“BTN1A1”是指来自任何脊椎动物来源, 包括哺乳动物, 如灵长类 (例如, 人、食蟹猴 (cyno))、狗和啮齿类 (例如, 小鼠和大鼠) 的BTN1A1。除非另作说明, 否则BTN1A1还包括多种BTN1A1同工型、相关BTN1A1多肽, 包括其SNP变体, 以及BTN1A1的多种修饰形式, 其包括 (但不限于) 磷酸化BTN1A1、糖基化BTN1A1和泛素化BTN1A1。如本文所使用的, 糖基化BTN1A1包括具有N55、N215和/或N449糖基化的BTN1A1。

[0093] 以下提供了人BTN1A1的示例性氨基酸序列 (BC096314.1 GI:64654887), 其中潜在的糖基化位点加粗和加下划线表示:

MAVFPSSGLPRCLLTLLQLPKLDSAPFDVIGPPEPILAVVGEDAKL
PCRLSPNASAHELELRWFRKKVSPAVLVHRDGREQEAEQMPEYRGRAT
LVQDGIAGKGRVALRIRGVRVSDDG EYTCFFREDGSYEEALVHLKVAAL
GSDPHISMQVQENGEICLECTSVGWYPEPQVQWRTSKGEKFPSTSESRN
PDEEGLFTVAASVIIRDTSAKNVSCYIQNLLL GQEKKVEISIPASSLPRLTP
[0094] WIVAVAVILMVLGLLTIGSIFFTWRLYNERPRERRNEFSSKERLLEELKW
KKATLHAVDVTLDPDTAHPHLFLYEDSKSVRLED SRQKLPEKTERFDSW
PCVLGRETFTSGRHYWEVEVGDRTDWAIGVCRENV MKKGFDPMTPEN
GFWAVELYGNGYWALTPLRTPLPLAGPPRRVGIFLDYESGDISFYNMND
GSDIYTFSNVTFSGPLRPFFCLWSSGKKPLTICPIADGPERVTVIANAQDL
SKEIPLSPMGEDSAPRDADTLH SKLIPTQPSQGAP (SEQ ID NO: 1)

[0095] 以下提供了人BTN1A1的示例性编码核酸序列(BC096314.1GI:64654887):

[0096] ATGGCAGTTTTCCCAAGCTCCGGTCTCCCCAGATGTCTGCTCACCTCATTCTCCTCCAGCTGCCCAA
ACTGGATT CAGCTCCCTTTGACGTGATTGGACCCCCGAGCCCATCCTGGCCGTTGTGGGTGAGGACGCCAAGCTG
CCCTGTGCCTGTCTCCGAACGCGAGCGCCGAGCACTTGGAGCTACGCTGGTTCCGAAAGAAGTTTCGCCGGCCG
TGCTGGTGCATAGGGACGGGCGCGAGCAGGAAGCCGAGCAGATGCCCGAGTACCGCGGGCGGGCGACGCTGGTCCA
GGACGGCATCGCCAAGGGGCGCGTGGCCTTGAGGATCCGTGGCGTCAGAGTCTCTGACGACGGGAGTACACGTGC
TTTTTCAGGGAGGATGGAAGCTACGAAGAAGCCCTGGTGCATCTGAAGGTGGCTGCTCTGGGCTCTGACCCTCACA
TCAGTATGCAAGTTCAAGAGAATGGAGAAATCTGTCTGGAGTGCACCTCAGTGGGATGGTACCCAGAGCCCCAGGT
GCAGTGGAGA ACTTCCAAGGGAGAGAAGTTTCCATCTACATCAGAGTCCAGGAATCCTGATGAAGAAGGTTTGTTC
ACTGTGGCTGCTTCAGTGATCATCAGAGACACTTCTGCGAAAAATGTGTCCTGCTACATCCAGAATCTCCTTCTTG
GCCAGGAGAAGAAAGTAGAAAATATCCATACCAGCTTCTCCTCCCAAGGCTGACTCCCTGGATAGTGGCTGTGGC
TGTCATCCTGATGGTTCTAGGACTTCTCACCATTGGGTCCATATTTTTCACTTGGAGACTATACAACGAAAGACCC
AGAGAGAGGAGGAATGAATTCAGCTCTAAAGAGAGACTCCTGGAAGAACTCAAATGGA AAAAGGCTACCTTGCATG
CAGTTGATGTGACTCTGGACCCAGACACAGCTCATCCCCACCTCTTTCTTTATGAGGATTCAAATCTGTTGACT
GGAAGATT CACGTCAGAAACTGCCTGAGAAAACAGAGAGATTTGACTCCTGGCCCTGTGTGTTGGGCCGTGAGACC
TTCACCTCAGGAAGGCATTACTGGGAGGTGGAGGTGGGAGACAGGACTGACTGGGCAATCGGCGTGTGTAGGGAGA
ATGTGATGAAGAAAGGATTTGACCCCATGACTCCTGAGAATGGGTTCTGGGCTGTAGAGTTGTATGGAATGGGTA
CTGGGCCCTCACTCCTCTCCGGACCCCTCTCCATTGGCAGGGCCCCACGCCGGGTGGGATTTTCCTAGACTAT
GAATCAGGAGACATCTCCTTCTACAACATGAATGATGGATCTGATATCTATACTTTCTCCAATGTCACTTTCTCTG
GCCCCCTCCGGCCCTTCTTTGCCTATGGTCTAGCGGTAAAAAGCCCCTGACCATCTGCCCAATTGCTGATGGGCC
TGAGAGGGTCACAGTCATTGCTAATGCCAGGACCTTTCTAAGGAGATCCCATGTCCCCATGGGGGAGGACTCT
GCCCCTAGGGATGCAGACACTCTCCATTCTAAGCTAATCCCTACCCAACCCAGCCAAGGGGCACCTTAA (SEQ ID
NO:2) 以下提供了小鼠BTN1A1的示例性氨基酸序列(GenBank:AAH11497.1),其中潜在的糖
基化位点加粗和加下划线表示:

MAVPTNSCLLVCLLTTLTVLQLPTLDSAAPFDVTAPQEPVLALVGSD
AELTCGFSPNASSEYMELLWFRQTRSKAVLLYRDGQEQEQQMTEYRG
RATLATAGLLDGRATLLIRDVRVSDQGEYRCLFK_DNDDFEEAAVYLKV
AAVGSDPQISMTVQENGEMELECTSSGWYPEPQVQWRTGNREMLPSTS
ESKKHNEEGLFTVAVSMMIRDSSIKMMSCCIQNILLGQGKEVEISLPAPF
[0097] VPRLTPWIVAVAIILLALGFLTIGSIFFTWKLYKERSSLRKKEFGSKERLLE
ELRCKKTVLHEVDVTLDPDTAHPHLFLYEDSKSVRLEDSRQILPDRPERF
DSWPCVLGRETFTSGRHYWEVEVGDRTDWAIGVCRENVVKKGFDPM
PDNGFWAVELYGNGYWALTPLRTSLRLAGPPRRVGVFLDYDAGDISFY
NMSNGSLIYTFPSISFSGPLRPFCLWSCGKKPLTICSTANGPEKVTIVIAN
VQDDIPLSPLGEGCTSGDK_DTLHSLKLPFSPSQAAP (SEQ ID NO: 195)

[0098] 以下提供了小鼠BTN1A1的示例性编码核酸序列 (GenBank: BC011497.1):

[0099] ATGGCAGTTCCCACTCCTGCCTCCTGGTCTGTCTGCTCACCTCACTGTCCTACAGCTGCCAC
GCTGGATTTCGGCAGCTCCCTTCGATGTGACCGCACCTCAGGAGCCAGTGTGGCCCTAGTGGGCTCAGATGCCGAG
CTGACCTGTGGCTTTTCCCCAAACGCGAGCTCAGAATACATGGAGCTGCTGTGGTTTCGACAGACGAGGTCAAAG
CGGTACTTCTATACCGGGATGGCCAGGAGCAGGAGGGCCAGCAGATGACGGAGTACCGCGGGAGGGCGACGCTGGC
GACAGCCGGGCTTCTAGACGGCCGCGCTACTCTGCTGATCCGAGATGTCAGGGTCTCAGACCAGGGGGAGTACCGG
TGCCTTTTCAAAGACAACGACGACTTCGAGGAGGCCGCCGTATACCTCAAAGTGGCTGCTGTGGGTTCAGATCCTC
AAATCAGTATGACGGTTCAAGAGAATGGAGAAATGGAGCTGGAGTGCACCTCCTCTGGATGGTACCCAGAGCCTCA
GGTGCAGTGGAGAACAGGCAACAGAGAGATGCTACCATCCACGTCAGAGTCCAAGAAGCATAATGAGGAAGGCCTG
TTCAGTGTGGCAGTTTCAATGATGATCAGAGACAGCTCCATAAAGAACATGTCTCTGCTGCATCCAGAAATATCCTCC
TTGGCCAGGGGAAGGAAGTAGAGATCTCCTTACCAGCTCCCTTCGTGCCAAGGCTGACTCCCTGGATAGTAGCTGT
GGCTATCATCTTACTGGCCTTAGGATTTCTCACCATTGGGTCCATATTTTTCACTTGAAACTATACAAGGAAAGA
TCCAGTCTGCGGAAGAAGGAATTTGGCTCTAAAGAGAGACTTCTGGAAGAACTCAGATGCAAAAAGACTGTACTGC
ATGAAGTTGACGTGACTCTGGATCCAGACACAGCCCACCCACCTCTTCCTGTATGAAGATTCAAAGTCAGTTTCG
ATTGGAAGATTCACGTCAGATCCTGCCTGATAGACCAGAGAGATTTGACTCCTGGCCCTGTGTGTTGGGCCGTGAG
ACCTTTACTTCAGGGAGACATTACTGGGAGGTGGAGGTGGGAGATAGAACTGACTGGGCCATTGGTGTGTGTAGGG
AGAATGTGGTGAAGAAAGGGTTTGACCCCATGACTCCTGATAATGGGTTCTGGGCTGTGGAGTTGTATGGAAATGG
GTACTGGGCCCTCACCCCACTCAGGACCTCTCTCCGATTAGCAGGGCCCCCTCGCAGAGTTGGGGTTTTTCTGGAC
TATGACGCAGGAGACATTTCTTCTACAACATGAGTAACGGATCTCTTATCTATACTTTCCCTAGCATCTCTTTCT
CTGGCCCCCTCCGTCCCTTCTTTTGTCTGTGGTCCTGTGGTAAAAAGCCCCTGACCATCTGTTCAACTGCCAATGG
GCCTGAGAAAGTCACAGTCATTGCTAATGTCCAGGACGACATTCCCTTGTCCCCGTGGGGGAAGGCTGTACTTCT
GGAGACAAAGACACTCTCCATTCTAAACTGATCCCGTTCTCACCTAGCCAAGCGGCACCATAA (SEQ ID NO:
196)

[0100] 如本文所使用的并且除非另外说明, 否则术语“抗体”是指能够结合至特异性分子
抗原并且由两个相同的多肽链对组成的免疫球蛋白 (或“Ig”) 类多肽内的B细胞多肽产物,
其中每对具有一条重链 (约50-70kDa) 和一条轻链 (约25kDa), 并且每条链的每个氨基-末端
部分包括约100至约130个或更多个氨基酸的可变区并且每条链的每个羧基-末端部分包括
恒定区 (参见Borrebaeck (主编) (1995) *Antibody Engineering*, 第2版, Oxford University
Press.; Kuby (1997) *Immunology*, 第3版, W.H. Freeman and Company, New York)。在本文中,

所述特异性分子抗原包括靶标BTN1A1,其可以是BTN1A1多肽、BTN1A1片段或者BTN1A1表位。本文所提供的抗体包括(但不限于)单克隆抗体、合成抗体、重组产生的抗体、双重特异性抗体、多重特异性抗体、人抗体、人源化抗体、骆驼化抗体、嵌合抗体、胞内抗体、抗-独特型(抗-Id)抗体。

[0101] 如本文所使用的并且除非另外说明,否则术语“单克隆抗体”是指作为单一细胞克隆或杂交瘤或者来源于单一细胞的细胞群体的产物的抗体。单克隆抗体还旨在表示通过重组方法从重链和轻链编码免疫球蛋白基因产生单一分子免疫球蛋白物质所产生的抗体。单克隆抗体制剂内的抗体的氨基酸序列是基本均一的,并且这种制剂内的抗体的结合活性显示出基本相同的抗原结合活性。相反,多克隆抗体得自群体内不同的B细胞,它是结合特异性抗原的免疫球蛋白分子的组合。所述多克隆抗体的每个免疫球蛋白可以结合相同抗原的不同表位。用于产生单克隆抗体和多克隆抗体两者的方法在本领域中是熟知的(Harlow and Lane.,Antibodies:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)和Borrebäck(主编),Antibody Engineering:A Practical Guide,W.H.Freeman and Co.,Publishers,New York,pp.103-120(1991))。

[0102] 如本文所使用的并且除非另外说明,否则术语“人抗体”是指具有人可变区和/或人恒定区或其对应于人种系免疫球蛋白序列的部分的抗体。通过Kabat等人(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,U.S.Department of Health and Human Services,NIH Publication No.91-3242描述了这些人种系免疫球蛋白序列。在本文中,人抗体可以包括结合至BTN1A1并且由作为人种系免疫球蛋白核酸序列的天然存在的体细胞变体的核酸序列所编码的抗体。

[0103] 如本文所使用的并且除非另外说明,否则术语“嵌合抗体”是指重链和/或轻链的一部分与来源于特定物种或者属于特定抗体种类或亚类的抗体中的相应序列相同或同源,而所述链的剩余部分与来源于另一物种或者属于另一抗体种类或亚类的抗体中的相应序列相同或同源的抗体,以及这些抗体的片段,只要它们显示出所期望的生物活性(参见美国专利No.4,816,567;和Morrison等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,81:6851-6855(1984))。

[0104] 如本文所使用的并且除非另外说明,否则术语“人源化抗体”是指包括其中天然互补决定区(“CDR”)残基被具有所期望的特异性、亲合力和能力的来自非人物种,如小鼠、大鼠、兔或非人灵长类的相应CDR(例如,供体抗体)的残基替换的人免疫球蛋白(例如,受体抗体)的嵌合抗体。在一些情况下,所述人免疫球蛋白的一个或多个FR区残基被相应非人残基替换。此外,人源化抗体可以具有在受体抗体或者在供体抗体中不存在的残基。做出这些修饰以进一步改善抗体性能。人源化抗体重链或轻链可以具有基本全部的至少一个或多个可变区,其中全部或基本全部的CDR对应于非人免疫球蛋白的那些,并且全部或基本全部的FR是人免疫球蛋白序列的那些。所述人源化抗体可以具有至少部分免疫球蛋白恒定区(Fc),通常人免疫球蛋白的恒定区。有关进一步的详细内容,参见,Jones等人,Nature,321:522-525(1986);Riechmann等人,Nature,332:323-329(1988);和Presta,Curr.Op.Struct.Biol.,2:593-596(1992);Carter等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89:4285-4289(1992);和美国专利No:6,800,738,6,719,971,6,639,055,6,407,213和6,054,297。

[0105] 如本文所使用的并且除非另外说明,否则术语“重组抗体”是指通过重组方式制

备、表达、产生或分离的抗体。重组抗体可以是使用转染到宿主细胞中的重组表达载体表达的抗体、分离自重组、组合抗体文库的抗体、分离自对于人免疫球蛋白基因是转基因的和/或转染色体的动物(例如,小鼠或母牛)的抗体(参见,例如,Taylor,L.D.等人,Nucl.Acids Res.20:6287-6295(1992))或者通过涉及免疫球蛋白基因序列与其它DNA序列的剪接的任何其它方式制备、表达、产生或分离的抗体。这些重组抗体可以具有可变和恒定区,包括来源于人种系免疫球蛋白序列的那些(参见Kabat,E.A.等人(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,U.S.Department of Health and Human Services,NIH Publication No.91-3242)。还可以对所述重组抗体进行体外突变(或者,当使用对于人Ig序列是转基因的动物时,体内体细胞突变)并因此所述重组抗体的V_H和V_L区的氨基酸序列可以是尽管来源于并且与人种系V_H和V_L序列相关,但是不天然体内存在于人抗体种系组库内的序列。

[0106] 如本文所使用的并且除非另外说明,否则“中和抗体”是指阻断BTN1A1与其天然配体的结合并且抑制通过BTN1A1和/或其其它生理学活性所介导的信号通路的抗体。中和抗体的IC₅₀是指在中和测定中中和50%的BTN1A1所需的抗体浓度。在中和测定中,中和抗体的IC₅₀可以在0.01-10μg/ml的范围内。

[0107] 如本文所使用的并且除非另外说明,否则术语“抗原结合片段”和类似术语表示包括免疫特异性结合至抗原并且赋予抗体对于抗原的其特异性和亲合力的氨基酸残基的抗体部分。抗原结合片段可以称为抗体的功能性片段。抗原结合片段可以是一价、二价或多价的。

[0108] 具有抗原结合片段的分子包括(例如)Fd、Fv、Fab、F(ab')、F(ab)2、F(ab')2、单链Fv(scFv)、双链抗体、三链抗体、四链抗体、微抗体或单域抗体。scFv可以是一价scFv或者二价scFv。具有抗原结合片段的其它分子可以包括(例如)重链或轻链多肽、可变区多肽或CDR多肽或其部分,只要这些抗原结合片段保留了结合活性。这些抗原结合片段可以描述于(例如)Harlow and Lane,Antibodies:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory,New York(1989);Myers(主编),Molec.Biology and Biotechnology:A Comprehensive Desk Reference,New York:VCH Publisher,Inc.;Huston等人,Cell Biophysics,22:189-224(1993);Plückthun and Skerra,Meth.Enzymol.,178:497-515(1989)和in Day,E.D.,Advanced Immunochemistry,第2版,Wiley-Liss,Inc.,New York, NY(1990)。抗原结合片段可以是具有至少5个邻接氨基酸残基、至少10个邻接氨基酸残基、至少15个邻接氨基酸残基、至少20个邻接氨基酸残基、至少25个邻接氨基酸残基、至少40个邻接氨基酸残基、至少50个邻接氨基酸残基、至少60个邻接氨基酸残基、至少70个邻接氨基酸残基、至少80个邻接氨基酸残基、至少90个邻接氨基酸残基、至少100个邻接氨基酸残基、至少125个邻接氨基酸残基、至少150个邻接氨基酸残基、至少175个邻接氨基酸残基、至少200个邻接氨基酸残基或者至少250个邻接氨基酸残基的氨基酸序列的多肽。

[0109] 抗体的重链是指约50-70kDa的多肽链,其中氨基-末端部分包括约120至130个或更多个氨基酸的可变区并且羧基-末端部分包括恒定区。基于重链恒定区的氨基酸序列,恒定区可以是5种不同类型之一,其称为α(α)、δ(δ)、ε(ε)、γ(γ)和μ(μ)。不同的重链尺寸不同:α、δ和γ含有约450个氨基酸,而μ和ε含有约550个氨基酸。当与轻链组合时,这些不同类型的重链产生了5种熟知的抗体种类,分别为IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,其包括4种IgG亚类,

即IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。重链可以是人重链。

[0110] 抗体的轻链是指约25kDa的多肽链,其中氨基-末端部分包括约100至约110个或更多个氨基酸的可变区并且羧基-末端部分包括恒定区。轻链的大致长度为211至217个氨基酸。基于恒定域的氨基酸序列,存在两种不同的类型,其称为 κ (κ) 或 λ (λ)。轻链氨基酸序列在本领域中是熟知的。轻链可以是人轻链。

[0111] 抗体的可变域或可变区是指通常位于轻链或重链的氨基-末端并且在重链中具有约120至130个氨基酸长度,在轻链中具有约100至110个氨基酸长度,并且在每个特定抗体对于其特定抗原的结合和特异性中使用的抗体的轻链或重链部分。不同抗体之间可变域的序列广泛不同。序列的变化集中在CDR,而可变域中不太变化的部分称为框架区 (FR)。轻链和重链的CDR主要负责抗体与抗原的相互作用。本文所使用的氨基酸位置编号是根据EU指数进行的,如Kabat等人(1991) *Sequences of proteins of immunological interest*. (U.S.Department of Health and Human Services, Washington, D.C.) 第5版。可变区可以是人可变区。

[0112] CDR是指免疫球蛋白 (Ig或者抗体) VH β -折叠框架的非框架区内的三个高变区 (H1、H2或H3) 之一,或者抗体VL β -折叠框架的非框架区内的三个高变区 (L1、L2或L3) 之一。因此,CDR是散布在框架区序列内的可变区序列。CDR区对于本领域技术人员来说是熟知的并且已通过(例如)Kabat定义为抗体可变(V) 域内最高变的区域(Kabat等人, *J. Biol. Chem.* 252: 6609-6616 (1977); Kabat, *Adv. Prot. Chem.* 32:1-75 (1978))。CDR区序列还已通过Chothia在结构上定义为不是保守 β -折叠框架的部分并因此能够适应不同构象的那些残基(Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987))。两个术语在本领域中是良好承认的。已通过多个结构的比较确定了典型抗体可变域内的CDR的位置(A1-Lazikani等人, *J. Mol. Biol.* 273:927-948 (1997); Morea等人, *Methods* 20:267-279 (2000))。由于在不同的抗体中高变区内残基数目是不同的,因此通常用紧邻典型可变域编号方案中的残基编号的a、b、c等对相对于典型位置的其它残基编号(A1-Lazikani等人, 如上(1997))。这些命名类似地对于本领域技术人员来说是熟知的。

[0113] 例如,在下表1中描述了根据标准命名所定义的CDR。

[0114] 表1:CDR定义

[0115]

	示例性 (Kabat+Chothia)	IMGT	Kabat	AbM	Chothia	Contact
V _H CDR1	26-35	27-38	31-35	26-35	26-32	30-35
V _H CDR2	50-65	56-65	50-65	50-58	53-55	47-58
V _H CDR3	95-102	105-117	95-102	95-102	96-101	93-101
V _L CDR1	24-34	27-38	24-34	24-34	26-32	30-36
V _L CDR2	50-56	56-65	50-56	50-56	50-52	46-55
V _L CDR3	89-97	105-117	89-97	89-97	91-96	89-96

[0116] 还可以将一个或多个CDR共价或非共价引入分子以使其成为免疫粘附素。免疫粘附素可以作为较大的多肽链的一部分引入CDR,可以将CDR共价连接至另一多肽链,或者可以非共价引入CDR。CDR使得免疫粘附素能够结合至所关心的特定抗原。

[0117] “框架”或“FR”残基是指侧接CDR的可变域残基。FR残基存在(例如)于嵌合、人源化、人、域抗体、双链抗体、线性抗体和双重特异性抗体中。FR残基是本文所定义的高变区残

基以外的那些可变域残基。

[0118] 如本文所使用的并且除非另外说明, 否则关于抗体所使用的术语“分离的”表示抗体基本不含来自细胞或组织来源的细胞材料或其它污染蛋白和/或抗体来源的其它污染组分, 或者当化学合成时, 基本不含化学前体或者其它化学品。语言“基本不含细胞材料”包括抗体的制备, 其中所述抗体与从中分离或重组产生所述抗体的细胞的细胞组分分离。因此, 基本不含细胞材料的抗体包括具有小于约30%、20%、10%或5% (按干重计) 的异源蛋白 (在本文中也称为“污染蛋白”) 的抗体的制备。在某些实施方式中, 当重组产生抗体时, 它基本不含培养基, 例如, 培养基占蛋白制剂体积的小于约20%、10%或5%。在某些实施方式中, 当通过化学合成产生抗体时, 它基本不含化学前体或者其它化学品, 例如, 它与参与蛋白合成的化学前体或者其它化学品分离。因此, 除所关心的抗体以外, 这些抗体制剂具有小于约30%、20%、10%、5% (按干重计) 的化学前体或化合物。污染物组分还可以包括 (但不限于) 将妨碍抗体的治疗性用途的材料, 并且可以包括酶、激素及其它蛋白质或非蛋白质溶质。在某些实施方式中, 将抗体纯化 (1) 至按重量计大于95%的抗体, 如通过Lowry法 (Lowry等人, J.Bio.Chem.193:265-275, 1951) 所确定的, 如按重量计99%, (2) 足以经转杯式测序仪 (spinning cup sequenator) 获得N-末端氨基酸序列或内部氨基酸序列的至少15个残基的程度, 或者 (3) 使用考马斯蓝染色, 或优选地银染, 通过还原或非还原条件下的SDS-PAGE至均一。分离的抗体包括重组细胞内的原位抗体, 因为所述抗体的天然环境中的至少一种组分将不存在。然而, 通常, 将通过至少一步纯化步骤制备分离的抗体。在具体的实施方式中, 本文所提供的抗体是分离的。

[0119] 如本文所使用的并且除非另外说明, 否则术语“多核苷酸”、“核苷酸”、“核酸”、“核酸分子”及其它类似术语是可互换使用的并且包括DNA、RNA、mRNA等。

[0120] 如本文所使用的并且除非另外说明, 否则如关于核酸分子所使用的术语“分离的”表示所述核酸分子是与存在于所述核酸分子的天然来源中的其它核酸分子分离的核酸分子。此外, “分离的”核酸分子, 如cDNA分子当通过重组技术产生时可以基本不含其它细胞材料或者培养基, 或者当化学合成时, 可以基本不含化学前体或其它化学品。在具体的实施方式中, 分离或纯化了编码本文所提供的抗体的核酸分子。

[0121] 如本文所使用的并且除非另作说明, 否则术语“结合”是指分子之间的相互作用。相互作用可以是 (例如) 非共价相互作用, 其包括氢键、离子键、疏水相互作用和/或范德华相互作用。抗体和靶标分子, 如BTN1A1的单一表位之间的总非共价相互作用的强度是抗体对该表位的亲合力。“结合亲和力”一般地表示分子单一结合位点 (例如, 结合蛋白, 如抗体) 及其结合伴侣 (例如, 抗原) 之间的非共价相互作用的总和强度。

[0122] 通常可以通过解离常数 (K_D) 表示结合分子X, 如抗体对其结合伴侣Y, 如所述抗体的同源抗原的亲合力。低-亲合力抗体通常缓慢结合抗原并且往往容易解离, 然而高亲合力抗体通常更快速结合抗原并且往往保持更长的结合。测量结合亲和力的多种方法在本领域中是已知的, 它们中的任一种可以用于本发明公开的目的。可以通过本领域中已知的测定, 例如, 通过结合测定测量“ K_D ”或“ K_D 值”。可以在放射性标记的抗原结合测定 (RIA), 例如, 使用所关心的抗体的Fab形式及其抗原进行的放射性标记的抗原结合测定中测量 K_D (Chen等人, (1999) J.Mol.Biol.293:865-881)。还可以通过Biacore, 使用 (例如) BIAcore™-2000或者BIAcore™-3000 (BIAcore, Inc., Piscataway NJ), 通过使用表面等离子共振测定, 或者通

过使用(例如)OctetQK384系统(ForteBio, Menlo Park, CA)的生物膜干涉测量法来测量 K_D 或 K_D 值。

[0123] 如本文所使用的并且除非另外说明, 否则如果这种结合显示出抗体对其同源抗原的特异性和亲合力, 则将所述分子称为能够“免疫特异性结合”第二分子。如果这种结合涉及抗体的抗原识别位点, 则所述抗体免疫特异性结合至抗原的靶标区或构象(“表位”)。如果其它抗原具有所述抗原识别位点所识别的一定的序列或构象相似性(如通过(例如)免疫测定、**BIACORE**®测定或者本领域中已知的其它测定所确定的), 则免疫特异性结合至特定抗原的抗体可以以较低的亲合力结合至其它抗原。一般地, 抗体不结合至完全不相关的抗原。一些抗体(和它们的抗原结合片段)不与其它抗原交叉反应。由于不包括抗原识别位点的抗体的其它区/域, 如Fc区中的结合域, 抗体还可以以非免疫特异性的方式结合至其它分子, 如FcR受体。

[0124] 免疫特异性结合至抗原或包括糖基化位点的抗原表位的抗体或抗原结合片段可以结合至抗原或者处于糖基化形式或非糖基化形式两者的表位。在一些实施方式中, 相对于未糖基化的抗原或表位, 抗体或抗原结合片段优先结合糖基化抗原或表位。可以通过结合亲合力确定优先结合。例如, 相对于未糖基化的BTN1A1, 优先结合糖基化BTN1A1的抗体或抗原结合片段可以以小于相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 的 K_D 结合至糖基化BTN1A1。在一些实施方式中, 抗体或抗原结合片段以小于相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 的一半的 K_D 结合至糖基化BTN1A1。在一些实施方式中, 所述抗体或抗原结合片段以比相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 小至少10倍的 K_D 结合至糖基化BTN1A1。在一些实施方式中, 抗体或抗原结合片段以相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 的约75%、约50%、约25%、约10%、约5%、约2.5%或约1%的 K_D 结合至糖基化BTN1A1。

[0125] 免疫特异性结合至BTN1A1的抗体或抗原结合片段可以结合至BTN1A1单体或BTN1A1二聚体。在一些实施方式中, 所述抗体或抗原结合片段相对于BTN1A1单体, 优先结合BTN1A1二聚体。BTN1A1结合可以发生(例如)至细胞表面表达的BTN1A1或者可溶性BTN1A1域构建体, 如BTN1A1胞外域(ECD)构建体(例如, flag-标签的BTN1A1-ECD或BTN1A1-CED-Fc融合构建体)。在一些实施方式中, 所述BTN1A1单体或二聚体在一个或多个位置糖基化。在一些实施方式中, 抗体或抗原结合片段以小于相对于BTN1A1单体所显示的 K_D 的一半的 K_D 结合至BTN1A1二聚体。在一些实施方式中, 抗体或抗原结合片段以小于相对于BTN1A1单体所显示的 K_D 的至少10倍的 K_D 结合至BTN1A1二聚体。在一些实施方式中, 抗体或抗原结合片段以相对于BTN1A1单体所显示的 K_D 的约75%、约50%、约25%、约10%、约5%、约2.5%或约1%的 K_D 结合至BTN1A1二聚体。

[0126] 在一些实施方式中, 使用酶联免疫吸附测定(ELISA)、荧光免疫吸附测定(FIA)、化学发光免疫吸附测定(CLIA)、放射免疫测定(RIA)、酶倍增免疫测定(EMI)、固相放射免疫分析(SPROA)、荧光极化(FP)测定、荧光能量共振转移(FRET)测定、时间分辨荧光能量共振转移(TR-FRET)测定或者表面等离子共振(SPR)测定确定免疫特异性结合至BTN1A1(例如, BTN1A二聚体或糖基化BTN1A1)的抗体或抗原结合片段的 K_D 。

[0127] 在一些实施方式中, 使用SPR测定确定免疫特异性结合至BTN1A1(例如, BTN1A二聚体或糖基化BTN1A1)的抗体或抗原结合片段的 K_D 。在一些实施方式中, 通过Biacore, 如BIAcore™-2000或者BIAcore™-3000(BIAcore, Inc., Piscataway, NJ), 使用SPR仪进行SPR

测定。

[0128] 还可以通过结合测定确定优先结合,并通过(例如)平均荧光强度(“MFI”)来表示。例如,优先结合糖基化BTN1A1的抗体或抗原结合片段可以以比相对于未糖基化的BTN1A1所显示的MFI高的MFI结合至糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于未糖基化的BTN1A1所显示的MFI至少2倍的MFI结合至糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于未糖基化的BTN1A1所显示的MFI至少3倍的MFI结合至糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,抗体或抗原结合片段以高达相对于未糖基化的BTN1A1所显示的MFI的至少5倍、至少10倍、至少15倍或者至少20倍的MFI结合至糖基化BTN1A1。

[0129] 如本文所使用的并且除非另外说明,否则将分子称为“免疫特异性掩蔽”抗原或表位的糖基化或其指定的糖基化位点,这表示其以下能力:(1)阻断未糖基化的抗原或表位的糖基化位点,从而所述抗原或表位不可以糖基化,或者(2)结合至糖基化抗原或表位或者糖基化抗原或表位的指定糖基化位点并防止糖基化的生理作用,如通过糖基化介导的下游信号转导。例如,免疫特异性掩蔽BTN1A1糖基化的抗体或抗原结合片段是指(1)阻断未糖基化的BTN1A1的糖基化位点并防止其糖基化或者(2)结合至糖基化BTN1A1并防止糖基化的生理作用,如通过糖基化介导的免疫抑制作用的抗体或抗原结合片段。对于另一实例,免疫特异性掩蔽N55和N215处的BTN1A1糖基化的抗体或抗原结合片段是指(1)阻断未糖基化的BTN1A1的N55和N215并防止N55和N215的糖基化或者(2)结合至N55和N215处糖基化的BTN1A1并防止糖基化的生理作用,如通过糖基化介导的免疫抑制作用的抗体或抗原结合片段。

[0130] 如本文所使用的并且除非另外说明,否则术语“载体”是指与治疗剂一起施用的稀释剂、佐剂(例如,弗氏佐剂(完全或不完全))、赋形剂、稳定剂或媒介物。“药物可用的载体”是在所使用的剂量和浓度,对于对其所暴露的细胞或哺乳动物无毒的载体,其可以是无菌液体,如水和油剂,包括石油、动物、植物或合成来源的那些,如花生油、豆油、矿物油、芝麻油等。

[0131] 如本文所使用的并且除非另外说明,否则术语“载体”是指将核酸分子引入到宿主细胞中的物质。适合使用的载体包括(例如)表达载体、质粒、噬菌体载体、病毒载体、附加体和人造染色体,其可以包括对于向宿主细胞染色体稳定整合可操作的选择序列或标志物。另外,所述载体可以包括一个或多个可选择标志物基因和适当的表达控制序列。可以包括的可选择标志物基因(例如)提供了抗生素或毒素抗性、补充营养缺陷或者提供培养基中不存在的关键营养物。表达控制序列可以包括在本领域中熟知的组成型和诱导型启动子、转录增强子、转录终止子等。当共表达两种或更多种核酸分子(例如,抗体重链和轻链两者)时,可以将两个核酸分子插入(例如)到单一表达载体或者不同的表达载体中。对于单一载体表达,所述编码核酸可以操作性地连接至一个公共表达控制序列或者连接至不同的表达控制序列,如一个诱导型启动子和一个组成型启动子。可以使用本领域中熟知的方法确认核酸分子向宿主细胞的引入。这些方法包括(例如)核酸分析,如mRNA的RNA印迹或聚合酶链反应(PCR)扩增,或者用于基因产物表达的免疫印迹法,或者其它适合的分析方法以测试所引入的核酸序列或其相应基因产物的表达。本领域的那些技术人员应理解以足够的量表达核酸分子以产生所期望的产物(例如,本文所提供的抗-BTN1A1抗体),并且还应理解可以使

用本领域中熟知的方法优化表达水平以获得足够的表达。

[0132] 如本文所使用的并且除非另外说明,否则术语“宿主细胞”是指用核酸分子转染的特定受试者细胞或这种细胞的子代或潜在子代。由于可能在核酸分子向宿主细胞基因组的成功产生或整合中发生的突变或环境影响,这种细胞的子代可以与用核酸分子转染的亲代细胞不相同。

[0133] 如本文所使用的并且除非另外说明,否则术语“受试者”是指作为治疗、观察和/或实验对象的动物。“动物”包括脊椎动物和无脊椎动物,如鱼、贝类、爬行动物、鸟,并且具体地,哺乳动物。“哺乳动物”包括(但不限于)小鼠、大鼠、兔、豚鼠、狗、猫、绵羊、山羊、牛、马、灵长类,如猴子、黑猩猩、猿和人。

[0134] 如本文所使用的并且除非另外说明,否则术语“癌症”或“癌性的”是指通常以无限制的细胞生长为特征的哺乳动物中的生理状况。癌症的实例包括(但不限于)血液学癌症和实体瘤。

[0135] 如本文所使用的并且除非另外说明,否则当用于表示癌症患者时,术语“治疗”表示降低癌症严重程度或者延缓或减缓癌症发展,包括(a)抑制癌症生长,或者终止癌症发展,和(b)导致癌症消退或者延迟或最大程度降低与癌症存在有关的一种或多种症状的作用。

[0136] 如本文所使用的并且除非另外说明,否则术语“治疗有效量”是指足以降低和/或改善给定疾病、病症或病况和/或与之有关的症状的严重程度和/或持续时间的试剂(例如,本文所述的抗体或者本文所述的任何其它试剂)的量。试剂,包括治疗剂的治疗有效量可以是(i)给定疾病、病症或病况的进展或发展的降低或改善,(ii)给定疾病、病症或病况的复发、发展或发病的降低或改善,和/或(iii)改善或提高另一种疗法(例如,本文所提供的抗体的施用以外的疗法)的预防或治疗效果所必需的量。本发明公开所述的物质/分子/试剂(例如,抗-BTN1A1抗体)的治疗有效量可以根据以下因素而不同,如疾病状态、个体年龄、性别和体重以及所述物质/分子/试剂在个体中引起所期望的反應的能力。治疗有效量涵盖了其中所述物质/分子/试剂的治疗有益效果大于任何毒性或不利影响的量。

[0137] 如本文所使用的并且除非另外说明,否则术语“施用”是指将存在于体外的物质注射或另外物理递送到患者中的操作,如通过粘膜、皮内、静脉内、肌肉递送和/或本文所述的或者本领域中已知的任何其它物理递送方法。当正在治疗疾病、病症或病况或其症状时,所述物质的施用通常发生在所述疾病、病症或病况或其症状发病后。当正在预防疾病、病症或病况或其症状时,所述物质的施用通常发生在所述疾病、病症或病况或其症状发病前。

[0138] 5.2具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子

[0139] 本文提供了具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子,其包括抗-BTN1A1抗体。在一些实施方式中,免疫特异性结合BTN1A1的抗原结合片段结合至BTN1A1的片段或表位。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至BTN1A1二聚体。在一些实施方式中,所述抗原结合片段不是STC810的抗原结合片段。在一些实施方式中,BTN1A1表位可以是线性表位。在一些实施方式中,BTN1A1表位可以是构象表位。在一些实施方式中,所述BTN1A1表位存在于BTN1A1二聚体中,而不存在于BTN1A1单体中。在一些实施方式中,本文所提供的具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子抑制BTN1A1的免疫抑制功能。

[0140] N-糖基化是在内质网(ER)中起始并随后在高尔基体中加工的翻译后修饰(Schwarz and Aeibi, Curr. Opin. Struc. Bio., 21(5):576-582(2011))。这类修饰首先通过将寡糖所组成的预先形成的聚糖转移至位于NXT基序(-Asn-X-Ser/Thr-)内的天门冬酰胺(Asn)侧链受体的膜-相关寡糖转移酶(OST)复合物催化(Cheung and Reithmeier, Methods, 41:451-459 2007);Helenius and Aeibi, Science, 291(5512):2364-9(2001))。糖从所述预先形成的聚糖的添加或去除分别受一组糖基转移酶和糖苷酶的调节,其以细胞-和位置-依赖性方式紧密调控N-糖基化。

[0141] 在一些实施方式中,所述分子具有选择性结合至BTN1A1的一个或多个糖基化基序的抗原结合片段。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至具有糖基化基序和相邻肽的糖肽。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在三维空间中位于糖基化基序中的一个或多个附近的肽序列。在一些实施方式中,相对于BTN1A1单体的一个或多个糖基化基序,所述抗原结合片段选择性结合BTN1A1二聚体的一个或多个糖基化基序。

[0142] 在一些实施方式中,所述抗原结合片段以小于相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 的至少30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%的 K_D 结合至糖基化BTN1A1(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在某些实施方式中,所述抗原结合片段以小于相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 的50%的 K_D 结合至糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以小于相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 的1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、30%、40%、50%的 K_D 结合至糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以比相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 小至少10倍的 K_D 结合至糖基化BTN1A1。

[0143] 特定BTN1A1同工型或变体的具体糖基化位点可以不同于特定BTN1A1同工型或变体的位置55、215或449处的氨基酸。在那些情况下,本领域的常规技术人员将能够基于序列对比及本领域中的其它常识确定对应于以上举例说明的人BTN1A1的N55、N215和N449的任何特定BTN1A1同工型或变体的糖基化位点。照此,本文还提供了具有相对于未糖基化的BTN1A1同工型或变体免疫特异性结合至BTN1A1同工型或变体的糖基化形式的抗原结合片段的分子。BTN1A1同工型或变体的糖基化位点可以是如以上所提供的人BTN1A1序列的N55、N215和N449的相应位点。

[0144] 在一些实施方式中,所述分子具有免疫特异性结合至糖基化BTN1A1(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在N55、N215和/或N449位置处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N215处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至一个或多个糖基化基序。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55和N215处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N215和N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55和N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55、N215和/或N449处糖基化的BTN1A1。

[0145] 在一些实施方式中,所述分子具有免疫特异性结合至糖基化BTN1A1的抗原结合片

段,其中相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合糖基化BTN1A1(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合至在位置N55、N215和/或N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合至在位置N55处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合至在位置N215处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合至在位置N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段优先结合至糖基化基序中的一个或多个。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合在位置N55和N215处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合至在位置N215和N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合至在位置N55和N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合在位置N55、N215和N449处糖基化的BTN1A1。

[0146] 可以通过结合亲和力确定优先结合。例如,优先结合至糖基化BTN1A1(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗体或抗原结合片段可以以小于相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 的 K_D 结合至糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以小于相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 的一半的 K_D 结合至糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以比相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 小至少10倍的 K_D 结合至糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 的约75%的 K_D 结合至糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 的约50%的 K_D 结合至糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 的约25%的 K_D 结合至糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 的约10%的 K_D 结合至糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 的约5%的 K_D 结合至糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 的约2.5%的 K_D 结合至糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 的约1%的 K_D 结合至糖基化BTN1A1。

[0147] 还可以在结合测定中如通过(例如)荧光强度(“MFI”)所指示的来确定优先结合。例如,优先结合至糖基化BTN1A1(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗体或抗原结合片段可以以比相对于未糖基化的BTN1A1所显示的MFI高的MFI结合至糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于未糖基化的BTN1A1所显示的MFI至少2倍的MFI结合至糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于未糖基化的BTN1A1所显示的MFI至少3倍的MFI结合至糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于未糖基化的BTN1A1所显示的MFI至少5倍的MFI结合至糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于未糖基化的BTN1A1所显示的MFI至少10倍的MFI结合至糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于未糖基化的BTN1A1所显示的MFI至少15倍的MFI结合至糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于未糖基化的BTN1A1所显示的MFI至少20倍的MFI结合至

糖基化BTN1A1。

[0148] 在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性掩蔽位置N55、N215和/或N449处的BTN1A1糖基化(例如,在糖基化BTN1A1二聚体中)。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N55处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N215处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N449处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽BTN1A1的一个或多个糖基化基序。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N55和N215处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N215和N449处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N55和N449处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性掩蔽位置N55、N215和N449处的BTN1A1糖基化。

[0149] 在一些实施方式中,所述分子具有相对于BTN1A1单体,选择性结合至BTN1A1二聚体的抗原结合片段。在一些实施方式中,在细胞表面上表达所述BTN1A1二聚体。在一些实施方式中,所述BTN1A1二聚体是BTN1A1的可溶性蛋白片段,例如,BTN1A1的胞外域构建体,如Fc-融合蛋白构建体(例如,BTN1A1-ECD-Fc)。在一些实施方式中,所述BTN1A1单体是BTN1A1的胞外域构建体,如FLAG-标签化或His6-标签化的BTN1A1-ECD构建体。在一些实施方式中,选择性结合至BTN1A1二聚体的分子是本文所提供的选择性结合至糖基化BTN1A1的分子。在一些实施方式中,例如,使用表面等离子共振测定(例如,BIAcore),通过确定相对于BTN1A1-ECD-His6或者BTN1A1-ECD-Flag构建体,对BTN1A1-ECD-Fc构建体的优先结合来确定相对于BTN1A1单体,对BTN1A1二聚体的优先结合。在一些实施方式中,所述分子是STC703或者STC810。在一些实施方式中,所述分子不是STC810。在一些实施方式中,所述分子不包括如表3a和3b所述的单克隆抗体STC810的V_H域、V_L域、V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和/或V_L CDR3。

[0150] 在一些实施方式中,所述抗原结合片段以比相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的K_D小至少30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%的K_D结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在某些实施方式中,所述抗原结合片段以小于相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的K_D的50%的K_D结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以小于相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的K_D的1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、30%、40%、50%的K_D结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以比相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的K_D小至少10倍的K_D结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述分子是STC703或者STC810。在一些实施方式中,所述分子不是STC810。在一些实施方式中,所述分子不包括如表3a和3b所述的单克隆抗体STC810的V_H域、V_L域、V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和/或V_L CDR3。

[0151] 可以通过结合亲和力确定优先结合。例如,优先结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗体或抗原结合片段可以以小于相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的K_D的K_D结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以小于相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)

所显示的 K_D 的一半的 K_D 结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以比相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的 K_D 小至少10倍的 K_D 结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的 K_D 的约75%的 K_D 结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的 K_D 的约50%的 K_D 结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的 K_D 的约25%的 K_D 结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的 K_D 的约10%的 K_D 结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的 K_D 的约5%的 K_D 结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的 K_D 的约2.5%的 K_D 结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的 K_D 的约1%的 K_D 结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述分子是STC703或者STC810。在一些实施方式中,所述分子不是STC810。在一些实施方式中,所述分子不包括如表3a和3b所述的单克隆抗体STC810的 V_H 域、 V_L 域、 V_H CDR1、 V_H CDR2、 V_H CDR3、 V_L CDR1、 V_L CDR2和/或 V_L CDR3。

[0152] 还可以在结合测定中如通过(例如)荧光强度(“MFI”)所指示的来确定优先结合。例如,优先结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗体或抗原结合片段可以以大于相对于BTN1A1单体所显示的MFI的MFI结合至BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的MFI至少2倍的MFI结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的MFI至少3倍的MFI结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的MFI至少5倍的MFI结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的MFI至少10倍的MFI结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的MFI至少15倍的MFI结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段以相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的MFI至少20倍的MFI结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述分子是STC703或者STC810。在一些实施方式中,所述分子不是STC810。在一些实施方式中,所述分子不包括如表3a和3b所述的单克隆抗体STC810的 V_H 域、 V_L 域、 V_H CDR1、 V_H CDR2、 V_H CDR3、 V_L CDR1、 V_L CDR2和/或 V_L CDR3。

[0153] 在一些实施方式中,所述抗体或抗原结合片段相对于糖基化单体BTN1A1,优先结合糖基化二聚体BTN1A1。糖基化BTN1A1二聚体中的两个BTN1A1单体可以在相同位置或在不

同位置独立糖基化。在一些实施方式中, BTN1A1二聚体中的单体之一未糖基化。糖基化BTN1A1二聚体中的糖基化BTN1A1单体可以在位置N55、N215和/或N449糖基化。在一些实施方式中, 糖基化BTN1A1单体在位置N55糖基化。在一些实施方式中, 糖基化BTN1A1单体在位置N215糖基化。在一些实施方式中, 糖基化BTN1A1单体在位置N449糖基化。在一些实施方式中, 糖基化BTN1A1单体在位置N55和N215糖基化。在一些实施方式中, 糖基化BTN1A1单体在位置N55和N449糖基化。在一些实施方式中, 糖基化BTN1A1单体在位置N215和N449糖基化。在一些实施方式中, 糖基化BTN1A1单体在位置N55、N215和N449糖基化。

[0154] 5.2.1. 具有抗原结合片段的抗体及其它分子

[0155] 在一些实施方式中, 所述抗-BTN1A1抗体、抗-糖基化BTN1A1抗体或者抗-BTN1A1二聚体抗体可以是IgG、IgM、IgA、IgD或IgE。所述抗-BTN1A1抗体或抗-糖基化BTN1A1抗体或抗-BTN1A1二聚体抗体还可以是嵌合抗体、亲合成熟抗体、人源化抗体或者人抗体。所述抗-BTN1A1抗体、抗-糖基化BTN1A1抗体或者抗-BTN1A1二聚体抗体还可以是骆驼化抗体、胞内抗体、抗-独特型(抗-Id)抗体。在一些实施方式中, 所述抗-BTN1A1抗体、抗-糖基化BTN1A1抗体或抗-BTN1A1二聚体抗体可以是多克隆抗体或单克隆抗体。在一些实施方式中, 所述分子是STC703或者STC810。在一些实施方式中, 所述分子不是STC810。在一些实施方式中, 所述分子不包括如表3a和3b所述的单克隆抗体STC810的V_H域、V_L域、V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和/或V_L CDR3。

[0156] 可以从任何动物来源, 包括鸟和哺乳动物产生抗体。在一些实施方式中, 所述抗体是羊、鼠(例如, 小鼠和大鼠)、兔、山羊、豚鼠、骆驼、马或鸡的。另外, 新技术使得能够从人组合抗体文库中开发和筛选人抗体。例如, 噬菌体抗体表达技术使得能够在不存在动物免疫的情况下产生特异性抗体, 如美国专利No. 6, 946, 546中所述, 该专利以其全部内容作为参考并入本文。在Marks (1992); Stemmer (1994); Gram等人 (1992); Barbas等人 (1994); 和Schier等人 (1996) 中进一步描述了这些技术; 这些专利以其全部内容作为参考并入本文。

[0157] 用于在多种动物物种中产生多克隆抗体以及用于产生多种类型的单克隆抗体, 包括人源化、嵌合和完全人抗体的方法在本领域中是熟知的。例如, 以下美国专利提供了这些方法的授权描述并且作为参考并入本文: 美国专利No. 3, 817, 837; 3, 850, 752; 3, 939, 350; 3, 996, 345; 4, 196, 265; 4, 275, 149; 4, 277, 437; 4, 366, 241; 4, 469, 797; 4, 472, 509; 4, 606, 855; 4, 703, 003; 4, 742, 159; 4, 767, 720; 4, 816, 567; 4, 867, 973; 4, 938, 948; 4, 946, 778; 5, 021, 236; 5, 164, 296; 5, 196, 066; 5, 223, 409; 5, 403, 484; 5, 420, 253; 5, 565, 332; 5, 571, 698; 5, 627, 052; 5, 656, 434; 5, 770, 376; 5, 789, 208; 5, 821, 337; 5, 844, 091; 5, 858, 657; 5, 861, 155; 5, 871, 907; 5, 969, 108; 6, 054, 297; 6, 165, 464; 6, 365, 157; 6, 406, 867; 6, 709, 659; 6, 709, 873; 6, 753, 407; 6, 814, 965; 6, 849, 259; 6, 861, 572; 6, 875, 434; 6, 891, 024; 7, 407, 659; 和8, 178, 098, 以上专利以其全部内容作为参考并入本文。

[0158] 还可以通过用于多肽产生, 例如, 体外合成、重组DNA产生等的任何本领域中已知的方法产生具有免疫特异性结合BTN1A1或者特异性结合糖基化BTN1A1或者特异性结合BTN1A1二聚体, 包括抗-BTN1A1抗体或者抗-糖基化BTN1A1抗体或者抗-BTN1A1二聚体抗体(例如, STC703或STC810)的抗原结合片段的分子。可以通过DNA重组技术产生人源化抗体。还可以使用重组免疫球蛋白表达技术产生本文所述的抗体。在美国专利No. 4, 816, 397 (Boss等人)、美国专利No. 6, 331, 415和4, 816, 567 (两者均授权于Cabilly等人)、英国专利

GB 2,188,638 (Winter等人) 和英国专利GB 2,209,757中描述了免疫球蛋白分子,包括人源化抗体的重组产生;以上专利以其全部内容作为参考并入本文。用于免疫球蛋白,包括人源化免疫球蛋白重组表达的技术还可见于Goeddel等人, *Gene Expression Technology Methods in Enzymology*, 185卷, Academic Press (1991) 和Borreback, *Antibody Engineering*, W.H. Freeman (1992); 以上文献以其全部内容作为参考并入本文。有关重组抗体的产生、设计和表达的其它信息可见于Mayforth, *Designing Antibodies*, Academic Press, San Diego (1993)。

[0159] 在某些实施方式中,所述抗-BTN1A1抗体、抗-糖基化BTN1A1抗体或抗-BTN1A1二聚体抗体是人抗体。可以通过本领域中已知的多种方法,包括使用来源于人免疫球蛋白序列的抗体文库的如上所述的噬菌体展示方法来制备人抗体(参见美国专利No. 4,444,887和4,716,111; 和国际专利公开No. WO 98/46645、WO 98/50433、WO 98/24893、WO 98/16654、WO 96/34096、WO 96/33735和WO 91/10741)。可以使用不能表达功能性内源免疫球蛋白,但是可以表达人免疫球蛋白基因的转基因小鼠产生人抗体。例如,可以将人重链和轻链免疫球蛋白基因复合体随机或通过同源重组引入小鼠胚胎干细胞。作为另外一种选择,除人重链和轻链基因之外,可以将人可变区、恒定区和多变区引入小鼠胚胎干细胞。通过同源重组引入人免疫球蛋白基因座,可以单独或同时使小鼠重链和轻链免疫球蛋白基因无功能性。具体地, JH区的纯合缺失防止了内源抗体产生。将修饰的胚胎干细胞扩增并微量注射到胚囊中以产生嵌合小鼠。然后,使嵌合小鼠繁殖以产生表达人抗体的纯合子代。通过所选的抗原,例如, BTN1A1多肽的全部或部分,或者糖基化BTN1A1多肽,或者BTN1A1多肽二聚体,使用常规方法,使转基因小鼠免疫。使用常规杂交瘤技术(参见,例如,美国专利No. 5,916,771), 抗所述抗原的单克隆抗体可以得自免疫的转基因小鼠。转基因小鼠所具有的人免疫球蛋白转基因在B细胞分化期间重排,并且随后经历类别转换和体细胞突变。因此,使用这种技术,可以产生有治疗性用途的IgG、IgA、IgM和IgE抗体。对于产生人抗体的这种技术的综述,参见Lonberg and Huszar (1995, *Int. Rev. Immunol.* 13:65-93, 该文献以其全部内容作为参考并入本文)。对于产生人抗体和人单克隆抗体的这种技术的详细讨论以及产生这种抗体的规程,参见,例如,国际专利公开No. WO 98/24893、WO 96/34096和WO 96/33735; 和美国专利No. 5,413,923、5,625,126、5,633,425、5,569,825、5,661,016、5,545,806、5,814,318和5,939,598, 以上专利以其全部内容作为参考并入本文。另外,可以向公司,如Abgenix, Inc. (Freemont, Calif.) 和Medarex (Princeton, N.J.) 预定以使用类似于如上所述的技术提供抗所选抗原的人抗体。

[0160] 在一些实施方式中,所述抗-BTN1A1抗体或者抗-糖基化BTN1A1抗体或者抗-BTN1A1二聚体抗体是嵌合抗体,例如,具有来自移植到异源非人、人或人源化序列(例如,框架和/或恒定域序列)的非人供体的抗原结合序列的抗体。在一个实施方式中,所述非人供体是大鼠。在一个实施方式中,抗原结合序列是合成的,例如,通过突变(例如,人噬菌体文库的噬菌体展示筛选等)获得。在一个实施方式中,嵌合抗体可以具有鼠V区和人C区。在一个实施方式中,所述鼠轻链V区融合至人 κ 轻链。在一个实施方式中,所述鼠重链V区融合至人IgG1 C区。

[0161] 用于产生嵌合抗体的方法在本领域中是已知的。参见,例如, Morrison, 1985, *Science* 229:1202; Oi等人, 1986, *BioTechniques* 4:214; Gillies等人, 1989,

J.Immunol.Methods 125:191-202;和美国专利No.6,311,415、5,807,715、4,816,567和4,816,397;所有文献以其全部内容作为参考并入本文。可以使用本领域中已知的多种技术,包括(例如)CDR-移植(EP 239,400;国际专利公开No.WO 91/09967;和美国专利No.5,225,539、5,530,101和5,585,089)、贴面化(veneering)或表面重塑(resurfacing)(EP 592,106;EP 519,596;Padlan,1991,Molecular Immunology 28(4/5):489-498;Studnicka等人,1994,Protein Engineering 7:805;和Roguska等人,1994,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 91:969)和链替换(美国专利No.5,565,332)产生包括来自非人物种的一个或多个CDR和来自人免疫球蛋白分子的框架区的嵌合抗体;所有文献以其全部内容作为参考并入本文。

[0162] 用于产生重组嵌合抗-BTN1A1抗体的示例性方法可以包括下列:a)通过常规分子生物学方法构建编码和表达抗体重链的表达载体,其中鼠抗-BTN1A1(或者抗-糖基化BTN1A1或抗-BTN1A1二聚体)单克隆抗体的CDR和可变区融合至来源于人免疫球蛋白的Fc区,借此产生用于嵌合抗体重链表达的载体;b)通过常规分子生物学方法构建编码和表达鼠抗-BTN1A1(或者抗-糖基化BTN1A1或抗-BTN1A1二聚体)单克隆抗体的抗体轻链的表达载体,借此产生用于嵌合抗体轻链表达的载体;c)通过常规分子生物学方法将表达载体转移至宿主细胞以产生用于表达嵌合抗体的转染的宿主细胞;和d)通过常规细胞培养技术培养所述转染的细胞从而产生嵌合抗体。

[0163] 用于产生重组人源化抗-BTN1A1抗体的示例性方法可以包括下列:a)通过常规分子生物学方法构建编码和表达抗体重链的表达载体,其中保留供体抗体结合特异性所需的CDR和可变区框架的最小部分来源于非人免疫球蛋白,如鼠抗-BTN1A1(或者抗-糖基化BTN1A1,或抗-BTN1A1二聚体)单克隆抗体,而所述抗体的其余部分来源于人免疫球蛋白,借此产生用于表达人源化抗体重链的载体;b)通过常规分子生物学方法构建编码和表达抗体轻链的表达载体,其中保留供体抗体结合特异性所需的CDR和可变区框架的最小部分来源于非人免疫球蛋白,如鼠抗-BTN1A1(或者抗-糖基化BTN1A1,或抗-BTN1A1二聚体)单克隆抗体,而所述抗体的其余部分来源于人免疫球蛋白,借此产生用于人源化抗体轻链表达的载体;c)通过常规分子生物学方法将表达载体转移至宿主细胞以产生用于表达人源化抗体的转染的宿主细胞;和d)通过常规细胞培养技术培养所述转染的细胞从而产生人源化抗体。

[0164] 相对于任一种示例性方法,宿主细胞可以与这些表达载体共转染,其可以含有不同的可选择标志物,但是除所述重链和轻链编码序列外,其优选地是相同的。该程序提供了重链和轻链多肽的等同表达。作为另外一种选择,可以使用单个载体,其编码重链和轻链多肽两者。重链和轻链的编码序列可以包括cDNA或基因组DNA或两者。用于表达重组抗体的宿主细胞可以是细菌细胞,如大肠杆菌(*Escherichia coli*),或者更优选地,真核细胞(例如,中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或者HEK-293细胞)。表达载体的选择取决于宿主细胞的选择,并且可以选择以在所选的宿主细胞中具有所期望的表达和调控特征。可以使用的其它细胞系包括(但不限于)CHO-K1、NS0和PER.C6(Crucell,Leiden,Netherlands)。此外,当选择宿主细胞以导致物种特异性密码子使用偏差并提高蛋白表达时可以优化密码子使用。例如,对于CHO细胞表达,编码抗体的DNA可以引入中国仓鼠(*Cricetulus griseus*)(中国仓鼠卵巢细胞所来源的动物)优先使用的密码子。可以使用密码子优化方法以有利于改善所期望的宿主细胞的表达(参见,例如,Wohlgemuth,I.等人,Philos.Trans.R.Soc.Lond.B Biol.Sci.366(1580):2979-2986(2011);Jestin,J.L.等人,J.Mol.Evol.69(5):452-457

(2009); Bollenbach, T. 等人, *Genome Res.* 17 (4): 401-404 (2007); Kurland, C.G. 等人, *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* 31: 191-219 (1984); Grosjean, H. 等人, *Gene* 18 (3): 199-209 (1982))。

[0165] 在一些实施方式中, 所述抗-BTN1A1抗体、抗-糖基化BTN1A1抗体或抗-BTN1A1二聚体抗体可以是单克隆抗体。在一些实施方式中, 所述抗-BTN1A1抗体、抗-糖基化BTN1A1抗体或抗-BTN1A1二聚体抗体可以是多克隆抗体。可以对动物接种抗原, 如BTN1A1多肽、糖基化BTN1A1多肽或者BTN1A1二聚体多肽以产生对于BTN1A1多肽、糖基化BTN1A1多肽或者BTN1A1二聚体特异的抗体。经常地, 抗原结合或缀合至另一分子以提高免疫应答。缀合物可以是任何肽、多肽、蛋白, 或者用于在动物中引起免疫应答的结合至抗原的非蛋白质物质。动物中对抗原接种起反应所产生的抗体具有由产生多种单个抗体的B淋巴细胞所制备的多种不同的分子(多克隆抗体)。考虑到用于动物中多克隆抗体产生的正确条件, 动物血清中的大部分抗体识别动物已对其免疫的抗原性化合物上的共同表位。

[0166] 通过亲和纯化可以进一步提高这种特异性以仅选择识别所关心的抗原或表位的那些抗体。用于产生单克隆抗体(MAb)的方法可以按照制备多克隆抗体的相同方式开始。在一些实施方式中, 在产生单克隆抗体中使用啮齿类, 如小鼠和大鼠。在一些实施方式中, 在产生单克隆抗体中使用兔、绵羊或蛙细胞。大鼠的使用是熟知的并且可以提供某些优势。通常使用小鼠(例如, BALB/c小鼠), 并且小鼠通常提供了高百分比的稳定融合。

[0167] 杂交瘤技术包括来自先前用BTN1A1多肽或糖基化BTN1A1多肽或BTN1A1二聚体多肽免疫的小鼠的单个B淋巴细胞与永生骨髓瘤细胞(通常小鼠骨髓瘤)的融合。该技术提供了使产生单一抗体的细胞增殖无限代数的方法, 从而可以产生无限量的具有相同抗原或表位特异性的结构相同的抗体(单克隆抗体)。

[0168] 在一个实施方式中, 所述抗体是来源于骆驼抗体, 优选地来源于缺少轻链的重链骆驼抗体(其被称为 V_{HH} 域序列或NanobodiesTM)的免疫球蛋白单一可变域。NanobodyTM(Nb)是天然存在的单链抗体的最小功能性片段或者单一可变域(V_{HH})并且是本领域技术人员已知的。它们来源于骆驼科动物中所见的仅有重链的抗体(Hamers-Casterman等人, *Nature*, 363 (6428): 446-8 (1993); Desmyter等人, *Nat Struct Biol.*, 3 (9): 803-11. (1996))。在“骆驼”科, 存在缺少多肽轻链的免疫球蛋白。“骆驼科”包括旧世界骆驼科动物(双峰驼(*Camelus bactrianus*)和单峰驼(*Camelus dromedarius*))以及新世界骆驼科动物(例如, 羊驼(*Lama paccos*)、大羊驼(*Lama glama*)、原驼(*Lama guanicoe*)和瘦驼(*Lama vicugna*))。单一可变域重链抗体在本文中称为NanobodyTM或者 V_{HH} 抗体。对于不常见或隐藏表位的识别, 以及对于蛋白靶标的空腔或活性位点中的结合, Nbs较小的尺寸和独特的生物物理学性质优于常规抗体片段。此外, 可以将Nb设计为多重特异性和多价抗体, 连接至报告分子或人源化的。Nb是稳定的, 在胃-肠系统内存活并且可以易于产生。

[0169] 通过将具有不同特异性的两个抗原结合位点统一在单个构建体中, 双重特异性抗体具有将具有精巧特异性的两种不同的抗原集合在一起的能力并因此具有作为治疗剂的巨大潜力。可以通过融合两种杂交瘤来制备双重特异性抗体, 每种杂交瘤能够产生不同的免疫球蛋白。还可以通过连接两个scFv抗体片段, 同时省略存在于完整免疫球蛋白中的Fc部分来产生双重特异性抗体。这些构建体中的每个scFv单元可以由来自重链(V_H)和轻链(V_L)抗体中的每一个的一个可变域组成, 其通过合成多肽接头彼此连接, 后者通常是基因

工程的,从而是最小免疫原性的,同时保持对蛋白水解的最大耐受性。可以通过一些技术连接各个scFv单元,其包括将两个scFv单元桥连的短(通常小于10个氨基酸)多肽间臂的掺入,借此产生双重特异性单链抗体。因此,所得的双重特异性单链抗体是在单一多肽链上含有具有不同特异性的两个V_H/V_L对的物质,其中各个scFv单元中的V_H和V_L域通过多肽接头分隔,所述多肽接头足够长以使得这两个域之间能够分子内结合,并且其中因此所形成的scFv单元通过多肽间臂彼此连续连接,所述多肽间臂保持足够短以防止(例如)一个scFv单元的V_H域和另一个scFv单元的V_L域之间不希望的结合。

[0170] 具有免疫特异性结合至BTN1A1或糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体的抗原结合片段的分子的实例无限制地包括:(i) Fab片段,其由V_L、V_H、CL和CH1域组成;(ii) “Fd”片段,其由V_H和CH1域组成;(iii) “Fv”片段,其由单个抗体的V_L和V_H域组成;(iv) “dAb”片段,其由V_H域组成;(v) 分离的CDR区;(vi) F(ab')₂片段,包括两个连接的Fab片段的二价片段;(vii) 单链Fv分子(“scFv”),其中通过允许两个域结合以形成结合域的肽接头连接V_H域和V_L域;(viii) 双重特异性单链Fv二聚体(参见美国专利No.5,091,513);和(ix) 双链抗体,通过基因融合构建的多价或多重特异性片段(美国专利申请公开No.20050214860)。可以通过掺入连接V_H和V_L域的二硫桥键来稳定Fv、scFv或双链抗体分子。还可以制备具有连接至CH3域的scFv的微抗体(Hu等人,Cancer Res.,56(13):3055-61(1996))。

[0171] 还在实施方式中考虑了抗体-样结合拟肽。Murali等人,Cell Mol.Biol.,49(2):209-216(2003)描述了“抗体样结合拟肽”(ABiPs),它是起简化抗体作用并且具有更长血清半衰期以及不太麻烦的合成方法的某些优势的肽,该文献以其全部内容作为参考并入本文。

[0172] 5.2.2.抗-BTN1A1抗体

[0173] 克隆并表征了总计68种免疫特异性结合至人BTN1A1的小鼠单克隆抗体(参见实施例8;下表10)。另外,克隆并表征了免疫特异性结合至小鼠BTN1A1的3种小鼠单克隆抗体(参见实施例14)。发现相对于BTN1A1单体,STC703和STC820优先结合BTN1A1二聚体(通过Biacore确定STC810和hBTN1A1-Fc(二聚体)之间的K_D为0.92nM,通过Biacore确定STC810和hBTN1A1-His(单体)之间的K_D为12.4nM)。表示为STC703、STC810和STC820的抗体显示出具有高亲合力的糖基化特异性结合(参见,例如,图21A-F和图23)。用单克隆抗-BTN1A1抗体处理提高了癌细胞的T细胞依赖性细胞凋亡,抑制了癌细胞的增殖,激活了CD8⁺T细胞,并且还导致了BTN1A1向溶酶体的糖基化依赖性内化。因此,本文还提供了具有特定序列特征的抗-BTN1A1抗体、免疫特异性结合至特定表位的抗-BTN1A1抗体以及它们在癌症治疗中的使用。

[0174] 在一些实施方式中,本文所提供的抗-BTN1A1抗体包括本文所述的单克隆抗体STC703、STC810、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的V_H域、V_L域、V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和/或V_L CDR3或其人源化变体。在某些实施方式中,抗-BTN1A1抗体还可以包括人种系免疫球蛋白氨基酸序列的V_H FR1、V_H FR2、V_H FR3、V_H FR4、V_L FR1、V_L FR2、V_L FR3和/或V_L FR4或其变体。在一些实施方式中,抗-BTN1A1抗体不包括单克隆抗体STC810的V_H域、V_L域、V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和/或V_L CDR3,如表3a和3b所述。

[0175] 在一些实施方式中,所述抗-BTN1A1抗体包括小于6个CDR。在一些实施方式中,所述抗体包括选自V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和/或V_L CDR3的1、2、3、4或5个

CDR或由其组成。在具体的实施方式中,所述抗体包括选自本文所述的单克隆抗体STC703、STC810、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和/或V_L CDR3或其人源化变体的1、2、3、4或5个CDR或由其组成。在具体的实施方式中,所述抗体还包括人种系免疫球蛋白氨基酸序列的V_H FR1、V_H FR2、V_H FR3、V_H FR4、V_L FR1、V_L FR2、V_L FR3和/或V_L FR4或其变体。

[0176] 在一些实施方式中,所述抗体是人源化抗体、单克隆抗体、重组抗体、抗原结合片段或它们的任意组合。在一些实施方式中,所述抗体是人源化单克隆抗体或其抗原结合片段。

[0177] 在一些实施方式中,本文提供了抗体,其包括人源化抗体,所述抗体(i)(例如,以剂量-依赖性方式)竞争性阻断本文所提供的抗-BTN1A1抗体与BTN1A1多肽(例如,细胞表面-表达的或可溶性BTN1A1)、BTN1A1片段或BTN1A1表位的结合和/或(ii)结合至通过本文所提供的抗-BTN1A1抗体(例如,人源化抗-BTN1A1抗体)结合的BTN1A1表位。在一些实施方式中,所述抗体(例如,以剂量-依赖性方式)竞争性阻断本文所述的单克隆抗体STC703、STC810、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781或其人源化变体与BTN1A1多肽(例如,细胞表面-表达的或可溶性BTN1A1)、BTN1A1片段或BTN1A1表位的结合。在其它实施方式中,所述抗体结合至通过本文所述的单克隆抗体BTN1A1或其人源化变体(例如,人源化抗-BTN1A1抗体)所结合(例如,识别)的BTN1A1表位。

[0178] 表2a:小鼠单克隆抗-人BTN1A1抗体STC703的重链可变(V_H)区和轻链可变(V_L)区序列

[0179]	DNA 序列	蛋白质序列
--------	--------	-------

[0180]

	DNA 序列	蛋白质序列
重链	CAGGGTCAGATGCAGCAGTCTGGAGCTG AGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGA AGCTGTCCTGCAAGACTTCTGGCTTCAC CTTCAGCAGTAGGTATATAAGTTGGTTGA AGCAGAAGCCTCGACAGAGTCTTGAGT GGATTGCATGGATTTATGCTGGAAGTGGT GGCACTAGTTATAATCAGAAGTTCACAG GCAAGGCCCAACTGACTGTAGACACATC CTCCAGCACAGCCTACATGCAACTCAGC AGCCTGACATCTGAGGACTCTGCCATCTA TTACTGTGCAAGACGGAGGGGACTAGG GTACTTTGACTACTGGGGCCAAGGCACC ACTCTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 4)	QGQMQQSGAELVKPGASVK LSCKTSGFTFSSRYISWLKQK PRQSLEWIAWIYAGTGGTSY NQKFTGKAQLTVDTSSTAY MQLSSLTSEDSAIYYCARRRG LGYFDYWGQGTTTLTVSS (SEQ ID NO: 3)
κ 轻链	GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCCT CCCTATCTGTGTCTGTGGGAGAACTGT CACCATCACATGTCGAGCAAGTGAGAAT ATTTACAGTAATTTAGCATGGTATCAGCA GAAACAGGGGAAAATCTCCTCAGCTCCTG GTCTATGCTGCAACAACTTAGCAGATG GTGTGCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGG ATCAGGCACACAGTTTTCCCTCAAGATC AACAGCCTGCAGTCTGAAGATTTTGGGA ATTATTACTGTCAACATTTTGGGGTTCT CCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCACCAAG CTGGAAATCAAA (SEQ ID NO: 6)	DIQMTQSPASLSVSVGETVTI TCRASENIYSNLAWYQQKQG KSPQLLVYAATNLADGVPSRF SGSGSGTQFSLKINSLSQSEDF GNYYCQHFHWGSPWTFGGGT KLEIK (SEQ ID NO: 5)

[0181] 表2b:小鼠单克隆抗-人BTN1A1抗体STC703的CDR序列

[0182]

	区定义	CDR1	CDR2	CDR3
重链	Chothia	GFTFSSR (SEQ ID NO: 7)	YAGTGG (SEQ ID NO: 8)	RRGLGYFDY (SEQ ID NO: 9)
	AbM	GFTFSSRYIS (SEQ ID NO: 10)	WIYAGTGGTS (SEQ ID NO: 11)	RRGLGYFDY (SEQ ID NO: 12)
	Kabat	SRYIS (SEQ ID NO: 13)	WIYAGTGGTSYNQ KFTG (SEQ ID NO: 14)	RRGLGYFDY (SEQ ID NO: 15)
	Contact	SSRYIS (SEQ ID NO: 16)	WIAWIYAGTGGTS (SEQ ID NO: 17)	ARRRGLGYFD (SEQ ID NO: 18)
κ 轻链	Chothia	RASENIYSNLA (SEQ ID NO: 19)	AATNLAD (SEQ ID NO: 20)	QHFHWGSPWT (SEQ ID NO: 21)
	AbM	RASENIYSNLA (SEQ ID NO: 22)	AATNLAD (SEQ ID NO: 23)	QHFHWGSPWT (SEQ ID NO: 24)
	Kabat	RASENIYSNLA (SEQ ID NO: 25)	AATNLAD (SEQ ID NO: 26)	QHFHWGSPWT (SEQ ID NO: 27)
	Contact	YSNLAWY	LLVYAATNLA	QHFHWGSPW

[0183]

	区定义	CDR1	CDR2	CDR3
		(SEQ ID NO: 28)	(SEQ ID NO: 29)	(SEQ ID NO: 30)

[0184] 表3a:小鼠单克隆抗-人BTN1A1抗体STC810的重链可变(V_H)区和轻链可变(V_L)区序

列

[0185]

	DNA 序列	蛋白质序列
重链	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTG AGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGA AGATATCCTGCAAGGCTTCTGGATACACA TTCAC TACTACAACATGGACTGGGTGA AGCAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAAT GGATTGGATATATTTATCCTTCCAATGGTG GTACTGGCTACAACCAGAAATTCAAGAG CAGGGCCACATTGACTGTAGACAAGTCC TCCAGCACAGCCTACATGGAAGTCCACA GCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTA T TACTGTGCAAGAGGGGCTATCACTAC GGTAGTTCCTACGCCTACTGGTACTTCGA TGTCTGGGGCGCAGGGACCACGGTTCAC CGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 32)	EVQLQQSGPELVKPGASVKIS CKASGYTFTHYNMDWVKQS HGKSLEWIGYIYPSNGGTGY NQKFKSRATLTVDKSSSTAYM ELHSLTSEDSAVYYCARGAY HYGSSYAYWYFDVWGAGTT VTVSS (SEQ ID NO: 31)
κ 轻链	GATATCCAGATGACACAGACTACATCCTC CCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTC ACCATCAGTTGCAGTGCAAGTCAGGACA TTAGCAATTATTTAAACTGGTATCAGCAG AAACCAGATGAACTGTAAACTCCTGA TCTCTTACACATCAAGTTTACACTCAGGA GTCCCATCAAGATTCAGTGGCAGTGGGT CTGGGACAGATTATTCTCTCACCATCAGC AACCTGGCACCTGAAGATATTGCCACTT ACTATTGTCAGCAGTCTAGTAAGCTTCCA TTCACGTTTCGGCTCGGGGACAGAGTTGG AAATAAAACGGGCT (SEQ ID NO: 34)	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTI SCSASQDISNYLNWYQQKPD ETVKLLISYTSSLHSGVPSRFS GSGSGTDYSLTISNLPEDIAT YYCQQSSKLPFTFGSGTELEI KRA (SEQ ID NO: 33)

[0186] 表3b:小鼠单克隆抗-人BTN1A1抗体STC810的CDR序列

[0187]

	区定义	CDR1	CDR2	CDR3
重链	Chothia	GYTFTHY (SEQ ID NO: 35)	YPSNGG (SEQ ID NO: 36)	GAYHYGSSYAYW YFDV (SEQ ID NO: 37)
	AbM	GYTFTHYNMD (SEQ ID NO: 38)	YIYPSNGGTG (SEQ ID NO: 39)	GAYHYGSSYAYW YFDV (SEQ ID NO: 40)
	Kabat	HYNMD (SEQ ID NO: 41)	YIYPSNGGTGYNQ KFKS (SEQ ID NO: 42)	GAYHYGSSYAYW YFDV (SEQ ID NO: 43)
	Contact	THYNMD	WIGYIYPSNGGTG	ARGAYHYGSSYAY

[0188]

	区定义	CDR1	CDR2	CDR3
		(SEQ ID NO: 44)	(SEQ ID NO: 45)	WYFD (SEQ ID NO: 46)
κ 轻链	Chothia	SASQDISNYLN (SEQ ID NO: 47)	YTSSLHS (SEQ ID NO: 48)	QQSSKLPFT (SEQ ID NO: 49)
	AbM	SASQDISNYLN (SEQ ID NO: 50)	YTSSLHS (SEQ ID NO: 51)	QQSSKLPFT (SEQ ID NO: 52)
	Kabat	SASQDISNYLN (SEQ ID NO: 53)	YTSSLHS (SEQ ID NO: 54)	QQSSKLPFT (SEQ ID NO: 55)
	Contact	SNYLNWY (SEQ ID NO: 56)	LLISYTSSLH (SEQ ID NO: 57)	QQSSKLFP (SEQ ID NO: 58)

[0189] 表4a:小鼠单克隆抗-人BTN1A1抗体STC820的重链可变(V_H)区和轻链可变(V_L)区序列

[0190]

	DNA 序列	蛋白质序列
重链	CAGGGTCAGATGCAGCAGTCTGGAGCTG AGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGA AGCTGTCCTGCAAGACTTCTGGCTTCAC CTTCAGCAGTAGGTATATAAGTTGGTTGA AGCAGAAGCCTCGACAGAGTCTTGAGT GGATTGCATGGATTTATGCTGGAAGTGGT GGTACTAGCTATAATCAGAAGTTCACAG GCAAGGCCCAACTGACTGTAGACACATC CTCCAGCACAGCCTACATGCAACTCAGC AGCCTGACATCTGAGGACTCTGCCATCTA TTACTGTGCAAGACGAAGGGGCGGCGG TTACTTTGACTACTGGGGCCAAGGCACC ACTCTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 60)	QGQMQQSGAELVKPGASVK LSCKTSGFTFSSRYISWLKQK PRQSLEWIAWIYAGTGGTSY NQKFTGKAQLTVDTSSTAY MQLSSLTSEDSAIYYCARRRG GGYFDYWGQGTTTLTVSS (SEQ ID NO: 59)
κ 轻链	GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCCT CCCTATCTGTATCTGTGGGAGAACTGTC ACCATCACATGTCGAGCAAGTGAGAATA TTTTCAGTAATTTAGCATGGTATCAGCAG AAACAGGGAAAATCTCCTCAGCTCCTGG TCTATGCTGCAACAACTTAGCAGATGG TGTGCCATCAAGGTTTCAAGTGGCAGTGGA TCAGGCACACAGTATTCCCTCAAGATCA ACAGCCTGCAGTCTGAGGATTTTGGGAG TTATTACTGTCAACATTTTGGGGTTCTC CGTGGACGTTTCGGTGGAGGCACCAAGC TGGAATCAAA (SEQ ID NO: 62)	DIQMTQSPASLSVSVGETVTI TCRASENIFSNLAWYQQKQG KSPQLLVYAATNLADGVPSRF SGSGSGTQYSLKINSLSQSEDF GSYYCQHFVWGSPWTFGGGT KLEIK (SEQ ID NO: 61)

[0191] 表4b:小鼠单克隆抗-人BTN1A1抗体STC820的CDR序列

[0192]

	区定义	CDR1	CDR2	CDR3
重链	Chothia	GFTFSSR	YAGTGG	RRGGGYFDY

[0193]

	区定义	CDR1	CDR2	CDR3
		(SEQ ID NO: 63)	(SEQ ID NO: 64)	(SEQ ID NO: 65)
	AbM	GFTFSSRYIS (SEQ ID NO: 66)	WIYAGTGGTS (SEQ ID NO: 67)	RRGGGYFDY (SEQ ID NO: 68)
	Kabat	SRYIS (SEQ ID NO: 69)	WIYAGTGGTSYNQ KFTG (SEQ ID NO: 70)	RRGGGYFDY (SEQ ID NO: 71)
	Contact	SSRYIS (SEQ ID NO: 72)	WIAWIYAGTGGTS (SEQ ID NO: 73)	ARRRGGGYFD (SEQ ID NO: 74)
κ 轻链	Chothia	RASENIFSNLA (SEQ ID NO: 75)	AATNLAD (SEQ ID NO: 76)	QHFWGSPWT (SEQ ID NO: 77)
	AbM	RASENIFSNLA (SEQ ID NO: 78)	AATNLAD (SEQ ID NO: 79)	QHFWGSPWT (SEQ ID NO: 80)
	Kabat	RASENIFSNLA (SEQ ID NO: 81)	AATNLAD (SEQ ID NO: 82)	QHFWGSPWT (SEQ ID NO: 83)
	Contact	FSNLAW (SEQ ID NO: 84)	LLVYAATNLA (SEQ ID NO: 85)	QHFWGSPW (SEQ ID NO: 86)

[0194] 表5a:小鼠单克隆抗-小鼠BTN1A1抗体STC1011的重链可变(V_H)区和轻链可变(V_L)区序列

[0195]

	DNA 序列	蛋白质序列
重链	GAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTG AGCTGGTGAAGCCTGGGGATTCAAGTAA GATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACA TTCAGTACTACTACATGGACTGGGTGA AGCAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGT GGATTGGATATATTTCTCCTAACAATGGT GGTACTAAGTACAATCAGAAGTTCAAGG GCAAGGCCACATTGACTGTTGACAAGTC CTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCCAC AGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCT ATTACTGTGCAAGAGAGCCCGACCTGCT TTACTACTTTGACTACTGGGGCCAAGGC ACCACTCTCACAGTCTCCTCAG (SEQ ID NO: 88)	EVQLQQSGPELVKPGDSVKM SCKASGYTFTDYMDWVKQ SHGKSLEWIGYISPNNGGTKY NQKFKGKATLTVDKSSSTAY MELHSLTSEDSAVYYCAREP DLLYYFDYWGGQTTLTVSS (SEQ ID NO: 87)
κ 轻链	GACATTGTGATGTCACAGTCTCCATCCTC CCTAGCTGTGTCAAGTGGAGAGAAGGTT ATTATGAGCTGCAAGTCCAGTCAGAGCC TTTTATATTTAGCAATCAAAAGAACTAC TTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCAGGGC AGTCTCCTAGACTGCTGATTTACTGGGCA TCCACTAGGGAATCTGGGGTCCCTGATC GCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGA TTTCACTCTCACCATCAGCAGTGTGAAG GCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTC AGCAATATTATAGCTATCCGTGGACGTC GGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA	DIVMSQSPSSLAVSVGEKVM SCKSSQSLLYFSNQKNYLAW YQQKPGQSPRLLIYWASTR ESGVPDRFTGSGSGTDFLTIS SVKAEDLAVYYCQQYYSSYP WTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 89)

[0196]

	DNA 序列	蛋白质序列
	C (SEQ ID NO: 90)	

[0197] 表5b:小鼠单克隆抗-人BTN1A1抗体STC1011的CDR序列

	区定义	CDR1	CDR2	CDR3
重链	Chothia	GYTFTDY (SEQ ID NO: 91)	SPNNGGT (SEQ ID NO: 92)	EPDLLYYFDY (SEQ ID NO: 93)
	AbM	GYTFTDYMD (SEQ ID NO: 94)	YISPNNGGTK (SEQ ID NO: 95)	EPDLLYYFDY (SEQ ID NO: 96)
	Kabat	DYYMD (SEQ ID NO: 97)	YISPNNGGTKYNQ KFKG (SEQ ID NO: 98)	EPDLLYYFDY (SEQ ID NO: 99)
	Contact	TDYYMD (SEQ ID NO: 100)	SLEWIGYISPNNGG TK (SEQ ID NO: 101)	AREPDLLYYFD (SEQ ID NO: 102)
κ 轻链	Chothia	SASQDISNYLN (SEQ ID NO: 103)	YTSSLHS (SEQ ID NO: 104)	QQSSKLPFT (SEQ ID NO: 105)
	AbM	SASQDISNYLN (SEQ ID NO: 106)	YTSSLHS (SEQ ID NO: 107)	QQSSKLPFT (SEQ ID NO: 108)
	Kabat	SASQDISNYLN (SEQ ID NO: 109)	YTSSLHS (SEQ ID NO: 110)	QQSSKLPFT (SEQ ID NO: 111)
	Contact	SNYLNWY (SEQ ID NO: 112)	LLISYTSSLH (SEQ ID NO: 113)	QQSSKLFP (SEQ ID NO: 114)

[0199] 表6a:小鼠单克隆抗-小鼠BTN1A1抗体STC1012的重链可变 (V_H) 区和轻链可变 (V_L) 区序列

	DNA 序列	蛋白质序列
重链	GAAGTGATGCTGGTGGAGTCTGGGGGA GCCTTAGTGAAGCCTGGAGGGTCCCTGA AACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTAC TTTCAGCAATTATGTCATGTCTTGGGTTC GCCAGACTCCAGAGAAGAGGCTGGAGT GGGTCGCAACCATTAGTAGTGGTGGTAG TTACACCAATTATCCAGACAGTGTGAAG GGTCGATTCATCATCTCCAGAGACAATG CCAGGAACACCCTGTACCTGCAAATGAG CAGTCTGAGGTCTGAGGACACGGCCATA TATTACTGTGTAAGAGAGGGGGATGGTT TCTACGTCTTTGACTACTGGGGCCTAGGC ACCACTCTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 116)	EVMLVESGGALVKPGGSLKL SCAASGFTFSNYVMSWVRQT PEKRLEWVATISSGGSYTNYP DSVKGRFIISRDNARNTLYLQ MSSLRSEDTAIYYCVREGDGF YVFDYWGLGTTTLTVSS (SEQ ID NO: 115)
κ 轻链	GACATTGTGATGTCACAGTCTCCATCCTC CCTAGCTGTGTCAAGTTGGAGAGAAGGTT ATTATGAGCTGCAAGTCCAGTCAGAGCC	DIVMSQSPSSLAVSVGEKVM SCKSSQSLLYSGNQKNYLAW YQQKPGQSPKLLIYWASTRES

	DNA 序列	蛋白质序列
[0201]	TTTTATATAGTGGCAATCAAAAGAACTAC TTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCAGGGC AGTCTCCTAAACTGCTGATTACTGGGCA TCCACTAGGGAATCTGGGGTCCCTGATC GCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGA TTTCACTCTCACCATCAGCAGTGTGAAG GCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTC AGCAATATTATAGCTATCCGTGGACGTTT GGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA (SEQ ID NO: 118)	GVPDRFTGSGSGTDFTLTISS VKAEDLAVYYCQQYYSYPW TFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 117)

[0202] 表6b:小鼠单克隆抗-小鼠BTN1A1抗体STC1012的CDR序列

	区定义	CDR1	CDR2	CDR3
[0203]	重链			
	Chothia	GFTFSNY (SEQ ID NO: 119)	SSGGSY (SEQ ID NO: 120)	EGDGFYVFDY (SEQ ID NO: 121)
	AbM	GFTFSNYVMS (SEQ ID NO: 122)	TISSGGSYTN (SEQ ID NO: 123)	EGDGFYVFDY (SEQ ID NO: 124)
	Kabat	NYVMS (SEQ ID NO: 125)	TISSGGSYTNYPD SVKG (SEQ ID NO: 126)	EGDGFYVFDY (SEQ ID NO: 127)
	Contact	SNYVMS (SEQ ID NO: 128)	WVATISSGGSYTN (SEQ ID NO: 129)	VREGDGFYVFD (SEQ ID NO: 130)
[0203]	κ 轻链			
	Chothia	KSSQSLLYSGNQKN YLA (SEQ ID NO: 131)	WASTRES (SEQ ID NO: 132)	QQYYSYPWT (SEQ ID NO: 133)
	AbM	KSSQSLLYSGNQKN YLA (SEQ ID NO: 134)	WASTRES (SEQ ID NO: 135)	QQYYSYPWT (SEQ ID NO: 136)
	Kabat	KSSQSLLYSGNQKN YLA (SEQ ID NO: 137)	WASTRES (SEQ ID NO: 138)	QQYYSYPWT (SEQ ID NO: 139)
	Contact	LYSGNQKNYLAWY (SEQ ID NO: 140)	LLIYWASTRE (SEQ ID NO: 141)	QQYYSYPW (SEQ ID NO: 142)

[0204] 表7a:小鼠单克隆抗-小鼠BTN1A1抗体STC1029的重链可变 (V_H) 区和轻链可变 (V_L) 区序列

	DNA 序列	蛋白质序列
[0205]	重链	
	GAGGTTTCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTG AGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGA AGATATCCTGCAAGGCTTCTGGTTACTCA TTTACTGGCTACTTTATGAACTGGGTGAA ACAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTG GATTGGACGTATTAATCCTTATAATGGTG ATACTTTTACAACCAGAAGTTCAAGGA	EVQLQQSGPELVKPGASVKIS CKASGYSFTGYFMNWVKQS HGKSLEWIGRINPYNGDTFY NQKFK _D KATLTVDTSSTAHM ELRSLTSEESAVVYCARWTTV INFDYWGQGTTTLTVSS

	DNA 序列	蛋白质序列
	CAAGGCCACATTAAGTGTAGACACATCC TCTAGCACAGCCCACATGGAGCTCCGA GCCTGACATCTGAGGAGTCTGCAGTCTA TTATTGTGCAAGATGGACTACGGTAATAA ACTTTGACTACCGGGGCCAAGGCACCAC TCTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 144)	(SEQ ID NO: 143)
[0206]	κ 轻链 AGTATTGTGATGACCCAGACTCCCAAATT CCTGCTTGTGTCAGCAGGAGACAGGGTT ACCATAACCTGCAAGGCCAGTCAGAGTG TGAGTTATGATGTAGTTTGGTACCAACAG AAGCCAGGGCAGTCTCCTAAACTGCTGA TGTATTATGTATCCAATCGCTACACTGGA GTCCCTGATCGCTTCACTGGCAGTGGATA TGGGACGGATTTCACCTTCACCATCAGC ACTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTT ATTTCTGTCAGCAGGATTATAGCTCTCCT CCGACGTTTCGGTGGAGGCACCAAGCTG GAAATCAAA (SEQ ID NO: 146)	SIVMTQTPKFLLVSAGDRVTI TCKASQSVSYDVVWYQQKP GQSPKLLMYVSNRYTGVPD RFTGSGYGTDFTFITSTVQAE DLAVYFCQQDYSSPPTFGGG TKLEIK (SEQ ID NO: 145)

[0207] 表7b:小鼠单克隆抗-小鼠BTN1A1抗体STC1029的CDR序列

[0208]

	区定义	CDR1	CDR2	CDR3
重链	Chothia	GYSFTGY (SEQ ID NO: 147)	NPYNGD (SEQ ID NO: 148)	WTTVINFDY (SEQ ID NO: 149)
	AbM	GYSFTGYFMN (SEQ ID NO: 150)	RINPYNGDTF (SEQ ID NO: 151)	WTTVINFDY (SEQ ID NO: 152)
	Kabat	GYFMN (SEQ ID NO: 153)	RINPYNGDTFYNQ KFK _D (SEQ ID NO: 154)	WTTVINFDY (SEQ ID NO: 155)
	Contact	TGYFMN (SEQ ID NO: 156)	WIGRINPYNGDTF (SEQ ID NO: 157)	ARWTTVINFD (SEQ ID NO: 158)
κ 轻链	Chothia	KASQSVSYDVV (SEQ ID NO: 159)	YVSNRYT (SEQ ID NO: 160)	QQDYSSPPT (SEQ ID NO: 161)
	AbM	KASQSVSYDVV (SEQ ID NO: 162)	YVSNRYT (SEQ ID NO: 163)	QQDYSSPPT (SEQ ID NO: 164)
	Kabat	KASQSVSYDVV (SEQ ID NO: 165)	YVSNRYT (SEQ ID NO: 166)	QQDYSSPPT (SEQ ID NO: 167)
	Contact	SYDVVWY (SEQ ID NO: 168)	LLMYVSNRY (SEQ ID NO: 169)	QQDYSSPP (SEQ ID NO: 170)

[0209] 表8a:小鼠单克隆抗-小鼠BTN1A1抗体STC2602的重链可变 (V_H) 区和轻链可变 (V_L) 区序列

[0210]	DNA 序列	蛋白质序列
--------	--------	-------

[0211]

	DNA 序列	蛋白质序列
重链	gaagtcagctgcagcagctctggacctgagctggtgaagcctgg ggcttcagtgagatatacctgcaaggcttctggtttttcttcattgg ctactacatagactgggtgaagcagagctctggaaagagccttga gtggattggatataattatccttccaatggtgaaaccagctaccacc agaagtgaagggcaaggccacattgactgtagacaaatcctcc agcacagtcaacatgcagctcaacagctcgacatctgaggactct gcagctctattactgtgcaagatatgtaactacgactggttctcgat gtctggggcgagggaccaggtcaccgttctca (SEQ ID NO: 200)	EVQLQQSGPELVKPGASVKIS CKASGFSFIGYYIDWVKQSPG KSLEWIGYIYPSNGETSYHQQ CKGKATLTVDKSSSTVNMQL NSLTSEDSAVYYCARYGNYD WFFDVWGAGTTVTVSS (SEQ ID NO: 199)
κ 轻链	caaattgttctcaccagctctcagcaatcatgtctgcatctcagg ggagaaggtcaccataacctgcagtgccagtgcaagtgaagtta catgactggttccagcagaagccaggcacttctccaaatttgg attatagcacatccaacctggcttctggagtcctattcgttcagt ggcagtggtatctggacctcttactctctcacaatcagccgaatgg aggctgaagatgctgccacttattactgccagcaaggagtagtta cccgtaacgttcggaggggggaccaagctggaataaaaacgg (SEQ ID NO: 202)	QIVLTQSPAISASPGEKVTIT CSASSSVSYMHWFQKPGTS PKFWIYSTNLASGVPIRFSGS GSGTSYSLTISRMEAEDAATY YCQQRSSYPYTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 201)

[0212] 表8b:小鼠单克隆抗-小鼠BTN1A1抗体STC2602的CDR序列

[0213]

	区定义	CDR1	CDR2	CDR3
重链	Chothia	GFSIGY (SEQ ID NO: 203)	YPSNGE (SEQ ID NO: 204)	YGNVDWFFDV (SEQ ID NO: 205)
	AbM	GFSIGYYID (SEQ ID NO: 206)	YIYPSNGETS (SEQ ID NO: 207)	YGNVDWFFDV (SEQ ID NO: 208)
	Kabat	GYIID (SEQ ID NO: 209)	YIYPSNGETSYHQ KCKG (SEQ ID NO: 210)	YGNVDWFFDV (SEQ ID NO: 211)
	Contact	IGYYID (SEQ ID NO: 212)	WIGYIYPSNGETS (SEQ ID NO: 213)	ARYGNVDWFFD (SEQ ID NO: 214)
κ 轻链	Chothia	SASSSVSYMH (SEQ ID NO: 215)	STSNLAS (SEQ ID NO: 216)	QQRSSYPYT (SEQ ID NO: 217)
	AbM	SASSSVSYMH (SEQ ID NO: 218)	STSNLAS (SEQ ID NO: 219)	QQRSSYPYT (SEQ ID NO: 220)
	Kabat	SASSSVSYMH (SEQ ID NO: 221)	STSNLAS (SEQ ID NO: 222)	QQRSSYPYT (SEQ ID NO: 223)
	Contact	SYMHWF (SEQ ID NO: 224)	FWIYSTNL (SEQ ID NO: 225)	QQRSSYPY (SEQ ID NO: 226)

[0214] 表9a:小鼠单克隆抗-小鼠BTN1A1抗体STC2714的重链可变 (V_H) 区和轻链可变 (V_L) 区序列

[0215]

	DNA 序列	蛋白质序列
重链	cagatccagttggtgcagctctggacctgagctgaagaagcctgg agcgacagtcagatctctgcaaggcttctggatataccttcaca atctttggaatgaactgggtgaagcaggctccaggaagggttta	QIQLVQSGPELKKPGATVKIS CKASGYTFTIFGMNWKQAP GKGLEWMGWINTNTGEPTY

	DNA 序列	蛋白质序列
	gagtggatgggctggataaacaccaacactggagagccaacata tgctgaagagttcaaggacgggttgccttctcttggaaaccttg ccagcactgccttttgcagatcaacaacctcaaaatgaggaca cggctacatatttctgtgcaagagtgggtactacgactttgactac tggggccaaggcaccactctcacagtctcctca (SEQ ID NO: 228)	AEEFKGRFAFSLETSASTAFL QINNLNKEDTATYFCARVGY YDFDYWGQGTTTLTVSS (SEQ ID NO: 227)
[0216]	κ 轻链 gatgttgatgaccagactccactcactttgtcggttaccgttg acaaccagcctccatctcttgcagtcagtcagagcctcttagat agtgatggaaagacattttgaattgggtcttacagaggccaggcc agtctccaaagcgcctaattctatctggtgtctaaaaaggactctgg agtccctgacaggttactggcagtgaggcaggacagatttcac actgaaaatcagcagagtggaggctgaggatttggagttattat tgccggcaaggtacacatttccgtggacgttcggtggaggcacc aggctggaaatcaaa (SEQ ID NO: 230)	DVVMQTQPLTSLSVTVGQPASI SCKSSQSLDSDGKTFLNWFL QRPQGSPKRLIYLVSKK _D SGV PDRFTGSGAGTDFTLKISRVE AEDLGVYYCRQGTHTFPWTFG GGTRLEIK (SEQ ID NO: 229)

[0217] 表9b:小鼠单克隆抗-小鼠BTN1A1抗体STC2714的CDR序列

	区定义	CDR1	CDR2	CDR3
[0218]	重链 Chothia	GYTFFIF (SEQ ID NO: 231)	NTNTGE (SEQ ID NO: 232)	VGYDYDFDY (SEQ ID NO: 233)
	AbM	GYTFFIFGMN (SEQ ID NO: 234)	WINTNTGEPT (SEQ ID NO: 235)	VGYDYDFDY (SEQ ID NO: 236)
	Kabat	IFGMN (SEQ ID NO: 237)	WINTNTGEPTYAE EFKG (SEQ ID NO: 238)	VGYDYDFDY (SEQ ID NO: 239)
	Contact	TIFGMN (SEQ ID NO: 240)	WMGWINTNTGEP T (SEQ ID NO: 241)	ARVGYDYDFD (SEQ ID NO: 242)
[0218]	κ 轻链 Chothia	KSSQSLDSDGKT FLN (SEQ ID NO: 243)	LVSKK _D S (SEQ ID NO: 244)	RQGTHFPWT (SEQ ID NO: 245)
	AbM	KSSQSLDSDGKT FLN (SEQ ID NO: 246)	LVSKK _D S (SEQ ID NO: 247)	RQGTHFPWT (SEQ ID NO: 248)
	Kabat	KSSQSLDSDGKT FLN (SEQ ID NO: 249)	LVSKK _D S (SEQ ID NO: 250)	RQGTHFPWT (SEQ ID NO: 251)
	Contact	LDSDGKTFLNWFL (SEQ ID NO: 252)	RLIYLVSKK _D (SEQ ID NO: 253)	RQGTHFPW (SEQ ID NO: 254)

[0219] 表10a:小鼠单克隆抗-小鼠BTN1A1抗体STC2739的重链可变 (V_H) 区和轻链可变 (V_L) 区序列

	DNA 序列	蛋白质序列
[0220]	重链 cagggtacaactgaagcagtcaggacctggcctagtcagccctc acagagcctgtccatcacctgcacagctctctgttctcattaacta	QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTTHGVNWRQSP

[0221]

	DNA 序列	蛋白质序列
	cccatgggtgtaaactgggttcgccagctccaggaagggtctgg agtggctgggagtgatatggagtggtggaagcacagactataat gcagctttcatatccagactgagcatcagcaaggacaattccaag agccaagtgtttctttaaataaacagctctgcaagctaatacagacag ccatatattactgtgccagaccctactactatggagctatggactac tggggtcaaggaacctcagtcaccgtctcctca (SEQ ID NO: 256)	GKGLEWLGVWSGGSTDYN AAFISRLSISK _D NSKSQVFFKM NSLQANDTAIYYCARPYYYG AMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 255)
κ 轻链	caaattgttctcaccagctccatcaatcatgtctgcattccagg ggagaaggtcaccataacctgcagtgccagctcaagtgttaagtta cataactgggtccagcagaagccaggcacttctccaaactctg gatctatagcacatccaacctgggtcttgagtcctgtctgcttca gtggcagtggtatgggacctcttactctctcacaatcagccgaat ggaggctgaagatgctgccacttattactgccagcaaaggagat ttaccgctcacgttcggtgctgggaccaagctggagctgaaa (SEQ ID NO: 258)	QIVLTQSPSIMSASPGEKVTIT CSASSSVSYIHWFFQKPGTSP KLWIYSTSNLASGVPARFSGS GSGTSYSLTISRMEAEDAATY YCQQRSIYPLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO: 257)

[0222] 表10b:小鼠单克隆抗-小鼠BTN1A1抗体STC2739的CDR序列

[0223]

	区定义	CDR1	CDR2	CDR3
重链	Chothia	GFSLTTH (SEQ ID NO: 259)	WSGGS (SEQ ID NO: 260)	PYYYGAMDY (SEQ ID NO: 261)
	AbM	GFSLTTHGVN (SEQ ID NO: 262)	VIWSGGSTD (SEQ ID NO: 263)	PYYYGAMDY (SEQ ID NO: 264)
	Kabat	THGVN (SEQ ID NO: 265)	VIWSGGSTDYNAA FIS (SEQ ID NO: 266)	PYYYGAMDY (SEQ ID NO: 267)
	Contact	TTHGVN (SEQ ID NO: 268)	VWGVIWSGGSTD (SEQ ID NO: 269)	ARPYYYGAMD (SEQ ID NO: 270)
κ 轻链	Chothia	SASSSVSYIH (SEQ ID NO: 271)	STSNLAS (SEQ ID NO: 272)	QQRSIYPLT (SEQ ID NO: 273)
	AbM	SASSSVSYIH (SEQ ID NO: 274)	STSNLAS (SEQ ID NO: 275)	QQRSIYPLT (SEQ ID NO: 276)
	Kabat	SASSSVSYIH (SEQ ID NO: 277)	STSNLAS (SEQ ID NO: 278)	QQRSIYPLT (SEQ ID NO: 279)
	Contact	SYIHWFF (SEQ ID NO: 280)	LWIYSTSNLA (SEQ ID NO: 281)	QQRSIYPL (SEQ ID NO: 282)

[0224] 表11a:小鼠单克隆抗-小鼠BTN1A1抗体STC2778的重链可变 (V_H) 区和轻链可变 (V_L) 区序列

[0225]

	DNA 序列	蛋白质序列
重链	cagatccagttggtgcagctcggacctgagctgaagaagcctgg agagacagtcagatctcctgcaaggcttctgggtatagcttcaca aactatggaatgaactgggtgaagcaggctccaggaaagggttt aaagtggatgggctggataaatatctacactggagagacaacata tgggtgatgattcaaggacgggttgccttctctttggaaacctctgc	QIQLVQSGPELKKPGETVKIS CKASGYSFTNYGMNWVKQA PGKGLKWMGWINIYTGETTY GDDFKGRFAFSLETSASTAYL QINNLRSEDATYFCVRRGT

	DNA 序列	蛋白质序列
	cagcactgcctatttgcagatcaacaacctcagaagtgaggacac ggctacataatttctgtgaagaggggggactatgattatgtactgg ggccaaggcaccactctcacagtctcctca (SEQ ID NO: 284)	MIMYWGQGTTTLTVSS (SEQ ID NO: 283)
[0226]	κ 轻链 gatattgtgctaactcagctccagccacctgtctgtgactccagg agatagcgtcagctcttctgcagggccagccaaagtattagcaa caacctacactggcatcaacaaaaatcacatgagctccaaggctt ctcatcaagtatgcttccagtcctatgtctggatccctccaggtt cagtggcagtgatcaggacagattcactctcagtatcaacagt gtggagactgaagattttggaatgtatttctgtcaacagagtga gctggccgctcacgttcggtgctgggaccaagctggagctgaaa (SEQ ID NO: 286)	DIVLTQSPATLSVTPGDSVLS CRASQISNNLHWHQKKSHE SPRLLIKYASQSMGIPSRFSG SGSGTDFTLSINSVETEDFGM YFCQQSDSWPLTFGAGTKLE LK (SEQ ID NO: 285)

[0227] 表11b:小鼠单克隆抗-小鼠BTN1A1抗体STC2778的CDR序列

	区定义	CDR1	CDR2	CDR3
[0228]	重链 Chothia	GYSFTNY (SEQ ID NO: 287)	NIYTGE (SEQ ID NO: 288)	GGTMIMY (SEQ ID NO: 289)
	AbM	GYSFTNYGMN (SEQ ID NO: 290)	WINIYTGETT (SEQ ID NO: 291)	GGTMIMY (SEQ ID NO: 292)
	Kabat	NYGMN (SEQ ID NO: 293)	WINIYTGETTYGD DFKG (SEQ ID NO: 294)	GGTMIMY SEQ ID NO: 295)
	Contact	TNYGMN (SEQ ID NO: 296)	WMGWINIYTGETT (SEQ ID NO: 297)	VRGGTMIM (SEQ ID NO: 298)
κ 轻链	Chothia	RASQISNNLH (SEQ ID NO: 299)	YASQSMS (SEQ ID NO: 300)	QQSDSWPLT (SEQ ID NO: 301)
	AbM	RASQISNNLH (SEQ ID NO: 302)	YASQSMS (SEQ ID NO: 303)	QQSDSWPLT (SEQ ID NO: 304)
	Kabat	RASQISNNLH (SEQ ID NO: 305)	YASQSMS (SEQ ID NO: 306)	QQSDSWPLT (SEQ ID NO: 307)
	Contact	SNLHWH (SEQ ID NO: 308)	LLIKYASQSM (SEQ ID NO: 309)	QQSDSWPL (SEQ ID NO: 310)

[0229] 表12a:小鼠单克隆抗-小鼠BTN1A1抗体STC2781的重链可变 (V_H) 区和轻链可变 (V_L) 区序列

	DNA 序列	蛋白质序列
[0230]	重链 cagatccagttggtgcagctcggacctgagctgaagaagcctgg agagacagtcaagatctctgcaaggcttctgggtatagcttaca aactatggaatgaactgggtgaagcaggctccaggaaagggttt aaagtggatgggctggataaatactacactggagagacaacata tggtgatgattcaaggacggttgccttctcttggaaacctctgc cagcactgcctatttgcagatcaacaacctcaaaagtgaggacac ggctacataatttctgtgaagaggggggactatgattatgtactgg ggccaaggcaccactctcacagtctcctca (SEQ ID NO:	QIQLVQSGPELKKPGETVKIS CKASGYSFTNYGMNWVKQA PGKGLKWMGWINIYTGETTY GDDFKGRFAFSLETSASTAYL QINNPKSEDTATYFCVRRGT MIMYWGQGTTTLTVSS (SEQ ID NO: 311)

	DNA 序列	蛋白质序列
	312)	
[0231] κ 轻链	gacattgtgctgacacagtcctcctgcttcttagctgtatctctggg gcagagggccaccatctcatcacaggccagcaaaagtgtcagta catctggctatagttatatgcactggaaccaacagaaaccaggac agccaccagactcctcatctatctgtatccaactagaatctggg gtccctgccaggttcagtggcagtggtctgggacagacttcacc ctcaacatccatcctgtggaggaggaggatgctgcaacctattact gtcagcacattaggagagctttacacgttcggaggggggaccaag ctggaaataaaa (SEQ ID NO: 314)	DIVLTQSPASLAVSLGQRATIS YRASKSVSTSGYSYMHWNQ QKPGQPPRLIYLVSNLESGV PARFSGSGSGTDFTLNIHPVE EEDAATYYCQHIRELTFGGGT KLEIK (SEQ ID NO: 313)

[0232] 表12b: 小鼠单克隆抗-小鼠BTN1A1抗体STC2781的CDR序列

	区定义	CDR1	CDR2	CDR3
[0233] 重链	Chothia	GYSFTNY (SEQ ID NO: 315)	NIYTGE (SEQ ID NO: 316)	GGTMIMY (SEQ ID NO: 317)
	AbM	GYSFTNYGMN (SEQ ID NO: 318)	WINIYTGETT (SEQ ID NO: 319)	GGTMIMY (SEQ ID NO: 320)
	Kabat	NYGMN (SEQ ID NO: 321)	WINIYTGETTYGD DFKG (SEQ ID NO: 322)	GGTMIMY (SEQ ID NO: 323)
	Contact	TNYGMN (SEQ ID NO: 324)	WMGWINIYTGETT (SEQ ID NO: 325)	VRGGTMIM (SEQ ID NO: 326)
κ 轻链	Chothia	RASKSVSTSGYSY MH (SEQ ID NO: 327)	LVSNNLES (SEQ ID NO: 328)	QHIRELYT (SEQ ID NO: 329)
	AbM	RASKSVSTSGYSY MH (SEQ ID NO: 330)	LVSNNLES (SEQ ID NO: 331)	QHIRELYT (SEQ ID NO: 332)
	Kabat	RASKSVSTSGYSY MH (SEQ ID NO: 333)	LVSNNLES (SEQ ID NO: 334)	QHIRELYT (SEQ ID NO: 335)
	Contact	STSGYSYMHWN (SEQ ID NO: 336)	LLIYLVSNLE (SEQ ID NO: 337)	QHIRELY (SEQ ID NO: 338)

[0234] 因此, 本文提供了具有以下序列特征的具有免疫特异性结合至BTN1A1或糖基化BTN1A1的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中, 本文所提供的分子具有抗原结合片段, 其具有 (a) 重链可变 (V_H) 区, 其包括: (1) 具有SEQ ID NO: 7、10、13、16、35、38、41或44的氨基酸序列的 V_H CDR1; (2) 具有SEQ ID NO: 8、11、14、17、36、39、42或45的氨基酸序列的 V_H CDR2; 和 (3) 具有SEQ ID NO: 9、12、15、18、37、40、43或46的氨基酸序列的 V_H CDR3; 和/或 (b) 轻链可变 (V_L) 区, 其包括: (1) 具有SEQ ID NO: 19、22、25、28、47、50、53或56的氨基酸序列的 V_L CDR1; (2) 具有SEQ ID NO: 20、23、26、29、48、51、54或57的氨基酸序列的 V_L CDR2; 和 (3) 具有SEQ ID NO: 21、24、27、30、49、52、55或58的氨基酸序列的 V_L CDR3。

[0235] 在一些实施方式中, 本文提供了抗体, 其具有 (a) 重链可变 (V_H) 区, 其包括: (1) 具有SEQ ID NO: 7、10、13、16、35、38、41或44的氨基酸序列的 V_H CDR1; (2) 具有SEQ ID NO: 8、11、14、17、36、39、42或45的氨基酸序列的 V_H CDR2; 和 (3) 具有SEQ ID NO: 9、12、15、18、37、40、43或46的氨基酸序列的 V_H CDR3; 和 (b) 轻链可变 (V_L) 区, 其包括: (1) 具有SEQ ID NO: 19、22、25、28、47、50、53或56的氨基酸序列的 V_L CDR1; (2) 具有SEQ ID NO: 20、23、26、29、48、

51、54或57的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:21、24、27、30、49、52、55或58的氨基酸序列的V_L CDR3。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0236] 在另一个方面,本文提供了具有以下序列特征的具有免疫特异性结合至BTN1A1或糖基化BTN1A1的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:63、66、69或72的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:64、67、70或73的氨基酸序列的V_H CDR2;(3)具有SEQ ID NO:65、68、71或74的氨基酸序列的V_H CDR3;和/或(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:75、78、81或84的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:76、79、82或85的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:77、80、83或86的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0237] 在一些实施方式中,本文提供了抗体,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:63、66、69或72的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:64、67、70或73的氨基酸序列的V_H CDR2;(3)具有SEQ ID NO:65、68、71或74的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:75、78、81或84的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:76、79、82或85的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:77、80、83或86的氨基酸序列的V_L CDR3。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0238] 在另一个方面,本文提供了具有以下序列特征的具有免疫特异性结合至BTN1A1或糖基化BTN1A1的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:91、94、97、100、119、122、125、128、147、150、153或156的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:92、95、98、101、120、123、126、129、148、151、154或157的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:93、96、99、102、121、124、127、130、149、152、155或158的氨基酸序列的V_H CDR3;和/或(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:103、106、109、112、131、134、137、140、159、162、165或168的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:104、107、110、113、132、135、138、141、160、163、166或169的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:105、108、111、114、133、136、139、142、161、164、167或170的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0239] 在一些实施方式中,本文提供了抗体,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:91、94、97、100、119、122、125、128、147、150、153或156的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:92、95、98、101、120、123、126、129、148、151、154或157的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:93、96、99、102、121、12的氨基酸序列的V_H CDR3,其包括:(1)具有103、106、109、112、131、134、137、140、159、162、165或168的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有104、107、110、113、132、135、138、141、160、163、166或169的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有105、108、111、114、133、136、139、142、161、164、167或170的氨基酸序列的V_L CDR3。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0240] 在另一个方面,本文提供了具有以下序列特征的具有免疫特异性结合至BTN1A1或糖基化BTN1A1的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:203、206、209或212的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:204、207、210或213的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:205、208、211或214的氨基酸序列的V_H CDR3;和/或(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:215、218、221或224的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:

216、219、222或225的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:217、220、223或226的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0241] 在一些实施方式中,本文提供了抗体,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:203、206、209或212的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:204、207、210或213的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:205、208、211或214的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:215、218、221或224的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:216、219、222或225的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:217、220、223或226的氨基酸序列的V_L CDR3。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0242] 在另一个方面,本文提供了具有以下序列特征的具有免疫特异性结合至BTN1A1或糖基化BTN1A1的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:231、234、237或240的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:232、235、238或241的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:233、236、239或242的氨基酸序列的V_H CDR3;和/或(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:243、246、249或252的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:244、247、250或253的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:245、248、251或254的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0243] 在一些实施方式中,本文提供了抗体,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:231、234、237或240的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:232、235、238或241的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:233、236、239或242的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:243、246、249或252的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:244、247、250或253的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:245、248、251或254的氨基酸序列的V_L CDR3。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0244] 在另一个方面,本文提供了具有以下序列特征的具有免疫特异性结合至BTN1A1或糖基化BTN1A1的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:259、262、265或268的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:260、263、266或269的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:261、264、267或270的氨基酸序列的V_H CDR3;和/或(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:271、274、277或280的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:272、275、278或281的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:273、276、279或282的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0245] 在一些实施方式中,本文提供了抗体,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:63、66、69或72的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:64、67、70或73的氨基酸序列的V_H CDR2;(3)具有SEQ ID NO:65、68、71或74的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:75、78、81或84的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:76、79、82或85的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:77、80、83或86的氨基酸序列的V_L CDR3。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0246] 在另一个方面,本文提供了具有以下序列特征的具有免疫特异性结合至BTN1A1或

糖基化BTN1A1的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:287、290、293或296的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:288、291、294或297的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:289、292、295或298的氨基酸序列的V_H CDR3;和/或(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:299、302、305或308的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:300、303、306或309的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:301、304、307或310的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0247] 在一些实施方式中,本文提供了抗体,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:287、290、293或296的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:288、291、294或297的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:289、292、295或298的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:299、302、305或308的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:300、303、306或309的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:301、304、307或310的氨基酸序列的V_L CDR3。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0248] 在另一个方面,本文提供了具有以下序列特征的具有免疫特异性结合至BTN1A1或糖基化BTN1A1的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:315、318、321或324的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:316、319、322或325的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:317、320、323或326的氨基酸序列的V_H CDR3;和/或(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:327、330、333或336的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:328、331、334或337的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:329、332、335或338的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0249] 在一些实施方式中,本文提供了抗体,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:315、318、321或324的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:316、319、322或325的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:317、320、323或326的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:327、330、333或336的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:328、331、334或337的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:329、332、335或338的氨基酸序列的V_L CDR3。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0250] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:7、10、13、16、35、38、41或44的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:8、11、14、17、36、39、42或45的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:9、12、15、18、37、40、43或46的氨基酸序列的V_H CDR3。在一些实施方式中,所述重链可变(V_H)区包括(1)具有SEQ ID NO:7、10、13、16、35、38、41或44的氨基酸序列的V_H CDR1;和(2)具有SEQ ID NO:8、11、14、17、36、39、42或45的氨基酸序列的V_H CDR2。在一些实施方式中,所述重链可变(V_H)区包括(1)具有SEQ ID NO:7、10、13、16、35、38、41或44的氨基酸序列的V_H CDR1;和(3)具有SEQ ID NO:9、12、15、18、37、40、43或46的氨基酸序列的V_H CDR3。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(2)具有SEQ ID NO:8、11、14、17、36、39、42或45的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:9、

12、15、18、37、40、43或46的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0251] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:63、66、69或72的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:64、67、70或73的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:65、68、71或74的氨基酸序列的V_H CDR3。在一些实施方式中,所述重链可变(V_H)区包括(1)具有SEQ ID NO:63、66、69或72的氨基酸序列的V_H CDR1;和(2)具有SEQ ID NO:64、67、70或73的氨基酸序列的V_H CDR2。在一些实施方式中,所述重链可变(V_H)区包括(1)具有SEQ ID NO:63、66、69或72的氨基酸序列的V_H CDR1;和(3)具有SEQ ID NO:65、68、71或74的氨基酸序列的V_H CDR3。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(2)具有SEQ ID NO:64、67、70或73的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:65、68、71或74的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0252] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:91、94、97、100、119、122、125、128、147、150、153或156的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:92、95、98、101、120、123、126、129、148、151、154或157的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:93、96、99、102、121、124、127、130、149、152、155或158的氨基酸序列的V_H CDR3。在一些实施方式中,所述重链可变(V_H)区包括(1)具有SEQ ID NO:91、94、97、100、119、122、125、128、147、150、153或156的氨基酸序列的V_H CDR1;和(2)具有SEQ ID NO:92、95、98、101、120、123、126、129、148、151、154或157的氨基酸序列的V_H CDR2。在一些实施方式中,所述重链可变(V_H)区包括(1)具有SEQ ID NO:91、94、97、100、119、122、125、128、147、150、153或156的氨基酸序列的V_H CDR1;和(3)具有SEQ ID NO:93、96、99、102、121、124、127、130、149、152、155或158的氨基酸序列的V_H CDR3。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(2)具有SEQ ID NO:92、95、98、101、120、123、126、129、148、151、154或157的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:93、96、99、102、121、124、127、130、149、152、155或158的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0253] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:203、206、209或212的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:204、207、210或213的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:205、208、211或214的氨基酸序列的V_H CDR3。在一些实施方式中,所述重链可变(V_H)区包括(1)具有SEQ ID NO:203、206、209或212的氨基酸序列的V_H CDR1;和(2)具有SEQ ID NO:204、207、210或213的氨基酸序列的V_H CDR2。在一些实施方式中,所述重链可变(V_H)区包括(1)具有SEQ ID NO:203、206、209或212的氨基酸序列的V_H CDR1;和(3)具有SEQ ID NO:205、208、211或214的氨基酸序列的V_H CDR3。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(2)具有SEQ ID NO:204、207、210或213的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:205、208、211或214的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0254] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:231、234、237或240的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:232、235、238或241的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:233、236、239或242的氨基酸序列的V_H CDR3。在一些实施方式中,所述重链可变(V_H)区包括(1)具有SEQ

ID NO:231、234、237或240的氨基酸序列的V_H CDR1;和(2)具有SEQ ID NO:232、235、238或241的氨基酸序列的V_H CDR2。在一些实施方式中,所述重链可变(V_H)区包括(1)具有SEQ ID NO:231、234、237或240的氨基酸序列的V_H CDR1;和(3)具有SEQ ID NO:233、236、239或242的氨基酸序列的V_H CDR3。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(2)具有SEQ ID NO:232、235、238或241的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:233、236、239或242的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0255] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:259、262、265或268的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:260、263、266或269的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:261、264、267或270的氨基酸序列的V_H CDR3。在一些实施方式中,所述重链可变(V_H)区包括(1)具有SEQ ID NO:259、262、265或268的氨基酸序列的V_H CDR1;和(2)具有SEQ ID NO:260、263、266或269的氨基酸序列的V_H CDR2。在一些实施方式中,所述重链可变(V_H)区包括(1)具有SEQ ID NO:259、262、265或268的氨基酸序列的V_H CDR1;和(3)具有SEQ ID NO:261、264、267或270的氨基酸序列的V_H CDR3。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(2)具有SEQ ID NO:260、263、266或269的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:261、264、267或270的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0256] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:287、290、293或296的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:288、291、294或297的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:289、292、295或298的氨基酸序列的V_H CDR3。在一些实施方式中,所述重链可变(V_H)区包括(1)具有SEQ ID NO:287、290、293或296的氨基酸序列的V_H CDR1;和(2)具有SEQ ID NO:288、291、294或297的氨基酸序列的V_H CDR2。在一些实施方式中,所述重链可变(V_H)区包括(1)具有SEQ ID NO:287、290、293或296的氨基酸序列的V_H CDR1;和(3)具有SEQ ID NO:289、292、295或298的氨基酸序列的V_H CDR3。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(2)具有SEQ ID NO:288、291、294或297的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:289、292、295或298的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0257] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:315、318、321或324的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:316、319、322或325的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:317、320、323或326的氨基酸序列的V_H CDR3。在一些实施方式中,所述重链可变(V_H)区包括(1)具有SEQ ID NO:315、318、321或324的氨基酸序列的V_H CDR1;和(2)具有SEQ ID NO:316、319、322或325的氨基酸序列的V_H CDR2。在一些实施方式中,所述重链可变(V_H)区包括(1)具有SEQ ID NO:315、318、321或324的氨基酸序列的V_H CDR1;和(3)具有SEQ ID NO:317、320、323或326的氨基酸序列的V_H CDR3。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(2)具有SEQ ID NO:316、319、322或325的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:317、320、323或326的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0258] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,所述重链可变(V_H)区包括具有SEQ ID NO:7、10、13、16、35、38、41、44、63、66、69、72、91、94、97、100、119、122、125、128、147、150、153、156、203、206、209、212、231、234、237、240、

259、262、265、268、287、290、293、296、315、318、321或324的氨基酸序列的V_H CDR1。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:13的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:35的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:38的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:44的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:63的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:69的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:72的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:91的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:94的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:100的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:119的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:122的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:125的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:128的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:147的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:150的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:153的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:156的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:203的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:206的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:209的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:212的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:231的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:234的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:237的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:240的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:259的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:262的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:265的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:268的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:287的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:290的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:293的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:296的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:315的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:318的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:321的氨基酸序列。所述V_H CDR1可以具有SEQ ID NO:324的氨基酸序列。

[0259] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,所述重链可变(V_H)区包括具有SEQ ID NO:8、11、14、17、36、39、42、45、64、67、70、73、92、95、98、101、120、123、126、129、148、151、154、157、204、207、210、213、232、235、238、241、260、263、266、269、288、291、294、297、316、319、322或325的氨基酸序列的V_H CDR2。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:11的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:14的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:36的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:39的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:42的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:64的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:67的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:70的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:73的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:92的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:95的氨基酸序列。所述V_H

CDR2可以具有SEQ ID NO:98的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:101的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:120的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:123的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:126的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:129的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:148的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:151的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:154的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:157的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:204的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:207的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:210的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:213的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:232的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:235的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:238的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:241的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:260的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:263的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:266的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:269的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:288的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:291的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:294的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:297的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:316的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:319的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:322的氨基酸序列。所述V_H CDR2可以具有SEQ ID NO:325的氨基酸序列。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,所述重链可变(V_H)区包括具有SEQ ID NO:9、12、15、18、37、40、43、46、65、68、71、74、93、96、99、102、121、124、127、130、149、152、155、158、205、208、211、214、233、236、239、242、261、264、267、270、289、292、295、298、317、320、323或326的氨基酸序列的V_H CDR3。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:15的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:37的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:40的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:43的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:46的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:65的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:68的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:71的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:74的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:93的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:96的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:99的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:102的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:121的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:124的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:127的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:130的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:149的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:152的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:155的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:158的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:205的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:208的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:211的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:214的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:233的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:236的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:239的氨基

酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:242的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:261的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:264的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:267的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:270的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:289的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:292的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:295的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:298的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:317的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:320的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:323的氨基酸序列。所述V_H CDR3可以具有SEQ ID NO:326的氨基酸序列。

[0260] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0261] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0262] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:14的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0263] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0264] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:36的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0265] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:39的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:40的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0266] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:43的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0267] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:44的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0268] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:65的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0269] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:67的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0270] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)

区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:69的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:70的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:71的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0271] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:73的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:74的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0272] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:91的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:92的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0273] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:94的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:96的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0274] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:98的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:99的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0275] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:100的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0276] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:119的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:120的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:121的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0277] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:122的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:123的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:124的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0278] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:125的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:126的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:127的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0279] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:128的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:129的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:130的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0280] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:147的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:148的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:149的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0281] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:150的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:151的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:152的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0282] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:153的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:154的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:155的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0283] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)

区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:156的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:157的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:158的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0284] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:203的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:204的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:205的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0285] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:206的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:207的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:208的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0286] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:209的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:210的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:211的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0287] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:212的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:213的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:214的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0288] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:231的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:232的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:233的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0289] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:234的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:235的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:236的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0290] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:237的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:238的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:239的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0291] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:240的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:241的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:242的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0292] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:259的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:260的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:261的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0293] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:262的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:263的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:264的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0294] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:265的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:266的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:267的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0295] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:268的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:269的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:270的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0296] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)

区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:287的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:288的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:289的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0297] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:290的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:291的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:292的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0298] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:293的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:294的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:295的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0299] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:296的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:297的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:298的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0300] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:315的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:316的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:317的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0301] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:318的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:319的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:320的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0302] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:321的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:322的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:323的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0303] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:324的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:325的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:326的氨基酸序列的V_H CDR3。

[0304] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,所述重链可变(V_H)区具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0305] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,所述重链可变(V_H)区具有SEQ ID NO:31的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0306] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,所述重链可变(V_H)区具有SEQ ID NO:59的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0307] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,所述重链可变(V_H)区具有SEQ ID NO:87的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0308] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,所述重链可变(V_H)区具有SEQ ID NO:115的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0309] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)

区,所述重链可变(V_H)区具有SEQ ID NO:143的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0310] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,所述重链可变(V_H)区具有SEQ ID NO:199的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0311] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,所述重链可变(V_H)区具有SEQ ID NO:227的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0312] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,所述重链可变(V_H)区具有SEQ ID NO:255的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0313] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,所述重链可变(V_H)区具有SEQ ID NO:283的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0314] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有重链可变(V_H)区,所述重链可变(V_H)区具有SEQ ID NO:311的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:19、22、25、28、47、50、53或56的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:20、23、26、29、48、51、54或57的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:21、24、27、30、49、52、55或58的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0315] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:75、78、81或84的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:76、79、82或85的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:77、80、83或86的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0316] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:103、106、109、112、131、134、137、140、159、162、165或168的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:104、107、110、113、132、135、138、141、160、163、166或169的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:105、108、111、114、133、136、139、142、161、164、167或170的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0317] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:215、218、221或224的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:216、219、222或225的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:217、220、223或226的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0318] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:243、246、249或252的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:244、247、250或253的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:245、248、251或254的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0319] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)

区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:271、274、277或280的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:272、275、278或281的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:273、276、279或282的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0320] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:299、302、305或308的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:300、303、306或309的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:301、304、307或310的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0321] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:327、330、333或336的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:328、331、334或337的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:329、332、335或338的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0322] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:19、22、25、28、47、50、53或56的氨基酸序列的V_L CDR1;和(2)具有SEQ ID NO:20、23、26、29、48、51、54或57的氨基酸序列的V_L CDR2。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:19、22、25、28、47、50、53或56的氨基酸序列的V_L CDR1;和(3)具有SEQ ID NO:21、24、27、30、49、52、55或58的氨基酸序列的V_L CDR3。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(2)具有SEQ ID NO:20、23、26、29、48、51、54或57的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:21、24、27、30、49、52、55或58的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0323] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:75、78、81或84的氨基酸序列的V_L CDR1;和(2)具有SEQ ID NO:76、79、82或85的氨基酸序列的V_L CDR2。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:75、78、81或84的氨基酸序列的V_L CDR1;和(3)具有SEQ ID NO:77、80、83或86的氨基酸序列的V_L CDR3。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(2)具有SEQ ID NO:76、79、82或85的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:77、80、83或86的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0324] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:103、106、109、112、131、134、137、140、159、162、165或168的氨基酸序列的V_L CDR1;和(2)具有SEQ ID NO:104、107、110、113、132、135、138、141、160、163、166或169的氨基酸序列的V_L CDR2。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:103、106、109、112、131、134、137、140、159、162、165或168的氨基酸序列的V_L CDR1;和(3)具有SEQ ID NO:105、108、111、114、133、136、139、142、161、164、167或170的氨基酸序列的V_L CDR3。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(2)具有104、107、110、113、132、135、138、141、160、163、166或169的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:105、108、111、114、133、136、139、142、161、164、167或170的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0325] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)

区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:215、218、221或224的氨基酸序列的V_L CDR1;和(2)具有SEQ ID NO:216、219、222或225的氨基酸序列的V_L CDR2。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:215、218、221或224的氨基酸序列的V_L CDR1;和(3)具有SEQ ID NO:217、220、223或226的氨基酸序列的V_L CDR3。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(2)具有SEQ ID NO:216、219、222或225的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:217、220、223或226的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0326] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:243、246、249或252的氨基酸序列的V_L CDR1;和(2)具有SEQ ID NO:244、247、250或253的氨基酸序列的V_L CDR2。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:243、246、249或252的氨基酸序列的V_L CDR1;和(3)具有SEQ ID NO:245、248、251或254的氨基酸序列的V_L CDR3。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(2)具有SEQ ID NO:244、247、250或253的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:245、248、251或254的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0327] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:271、274、277或280的氨基酸序列的V_L CDR1;和(2)具有SEQ ID NO:272、275、278或281的氨基酸序列的V_L CDR2。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:271、274、277或280的氨基酸序列的V_L CDR1;和(3)具有SEQ ID NO:273、276、279或282的氨基酸序列的V_L CDR3。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(2)具有SEQ ID NO:272、275、278或281的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:273、276、279或282的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0328] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:299、302、305或308的氨基酸序列的V_L CDR1;和(2)具有SEQ ID NO:300、303、306或309的氨基酸序列的V_L CDR2。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:299、302、305或308的氨基酸序列的V_L CDR1;和(3)具有SEQ ID NO:301、304、307或310的氨基酸序列的V_L CDR3。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(2)具有SEQ ID NO:300、303、306或309的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:301、304、307或310的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0329] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:327、330、333或336的氨基酸序列的V_L CDR1;和(2)具有SEQ ID NO:328、331、334或337的氨基酸序列的V_L CDR2。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:327、330、333或336的氨基酸序列的V_L CDR1;和(3)具有SEQ ID NO:329、332、335或338的氨基酸序列的V_L CDR3。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有轻链可变(V_L)区,其包括:(2)具有SEQ ID NO:328、331、334或337的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:329、332、335或338的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0330] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区包括具有SEQ ID NO:19、22、25、28、47、50、53、56、75、78、81、84、103、106、109、112、131、134、137、140、159、162、165、168、215、218、221、224、243、246、249、252、271、274、277、280、299、302、305、308、327、330、333或336的氨基酸序列的V_L CDR1。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:19的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:22的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:28的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:47的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:50的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:53的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:56的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:75的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:78的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:84的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:103的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:106的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:109的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:112的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:131的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:134的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:137的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:140的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:159的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:162的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:165的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:168的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:215的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:218的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:221的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:224的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:243的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:246的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:249的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:252的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:271的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:274的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:277的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:280的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:299的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:302的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:305的氨基酸序列。所述V_L CDR1可以具有SEQ ID NO:308的氨基酸序列。

[0331] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区包括具有SEQ ID NO:20、23、26、29、48、51、54、57、76、79、82、85、104、107、110、113、132、135、138、141、160、163、166、169、204、207、210、213、232、235、238、241、260、263、266、269、288、291、294、297、316、319、322或325的氨基酸序列的V_L CDR2。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:23的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:48的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:51的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:54的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:57的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID

NO:76的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:79的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:82的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:85的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:104的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:107的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:110的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:113的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:132的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:135的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:138的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:141的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:160的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:163的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:166的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:169的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:204的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:207的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:210的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:213的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:232的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:235的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:238的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:241的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:260的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:263的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:266的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:269的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:288的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:291的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:294的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:297的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:316的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:319的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:322的氨基酸序列。所述V_L CDR2可以具有SEQ ID NO:325的氨基酸序列。

[0332] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区包括具有SEQ ID NO:21、24、27、30、49、52、55、58、77、80、83、86、105、108、111、114、133、136、139、142、161、164、167、170、217、220、223或226、245、248、251或254、273、276、279或282、301、304、307或310、329、332、335或338的氨基酸序列的V_L CDR3。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:27的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:49的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:52的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:55的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:58的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:77的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:80的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:83的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:86的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:105的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:108的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:111的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:114的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:133的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:136的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:139的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:142的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:161的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:164的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:167的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:170的氨基酸序列。所述

V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:217的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:220的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:223的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:226的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:245的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:248的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:251的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:254的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:273的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:276的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:279的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:282的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:301的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:304的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:307的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:310的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:329的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:332的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:335的氨基酸序列。所述V_L CDR3可以具有SEQ ID NO:338的氨基酸序列。

[0333] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1)具有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0334] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1)具有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0335] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1)具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0336] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1)具有SEQ ID NO:28的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0337] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1)具有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0338] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1)具有SEQ ID NO:50的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0339] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1)具有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:54的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:55的氨基

酸序列的V_L CDR3。

[0340] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1)具有SEQ ID NO:56的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:58的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0341] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1)具有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0342] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1)具有SEQ ID NO:78的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:79的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:80的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0343] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1)具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0344] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1)具有SEQ ID NO:84的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:86的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0345] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1)具有SEQ ID NO:103的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:104的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0346] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1)具有SEQ ID NO:106的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:107的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:108的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0347] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1)具有SEQ ID NO:109的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:110的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:111的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0348] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1)具有SEQ ID NO:112的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:113的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:114的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0349] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1)具有SEQ ID NO:131的氨基酸序列的V_L

CDR1; (2) 具有SEQ ID NO:132的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3) 具有SEQ ID NO:133的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0350] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1) 具有SEQ ID NO:134的氨基酸序列的V_L CDR1; (2) 具有SEQ ID NO:135的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3) 具有SEQ ID NO:136的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0351] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1) 具有SEQ ID NO:137的氨基酸序列的V_L CDR1; (2) 具有SEQ ID NO:138的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3) 具有SEQ ID NO:139的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0352] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1) 具有SEQ ID NO:140的氨基酸序列的V_L CDR1; (2) 具有SEQ ID NO:141的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3) 具有SEQ ID NO:142的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0353] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1) 具有SEQ ID NO:159的氨基酸序列的V_L CDR1; (2) 具有SEQ ID NO:160的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3) 具有SEQ ID NO:161的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0354] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1) 具有SEQ ID NO:162的氨基酸序列的V_L CDR1; (2) 具有SEQ ID NO:163的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3) 具有SEQ ID NO:164的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0355] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1) 具有SEQ ID NO:165的氨基酸序列的V_L CDR1; (2) 具有SEQ ID NO:166的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3) 具有SEQ ID NO:167的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0356] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1) 具有SEQ ID NO:168的氨基酸序列的V_L CDR1; (2) 具有SEQ ID NO:169的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3) 具有SEQ ID NO:170的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0357] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1) 具有SEQ ID NO:215的氨基酸序列的V_L CDR1; (2) 具有SEQ ID NO:216的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3) 具有SEQ ID NO:217的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0358] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1) 具有SEQ ID NO:218的氨基酸序列的V_L CDR1; (2) 具有SEQ ID NO:219的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3) 具有SEQ ID NO:220的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0359] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具

有轻链可变 (V_L) 区, 所述轻链可变 (V_L) 区具有 (1) 具有SEQ ID NO:221的氨基酸序列的V_L CDR1; (2) 具有SEQ ID NO:222的氨基酸序列的V_L CDR2; 和/或 (3) 具有SEQ ID NO:223的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0360] 在一些实施方式中, 本文所提供的分子具有抗原结合片段, 所述抗原结合片段具有轻链可变 (V_L) 区, 所述轻链可变 (V_L) 区具有 (1) 具有SEQ ID NO:224的氨基酸序列的V_L CDR1; (2) 具有SEQ ID NO:225的氨基酸序列的V_L CDR2; 和/或 (3) 具有SEQ ID NO:226的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0361] 在一些实施方式中, 本文所提供的分子具有抗原结合片段, 所述抗原结合片段具有轻链可变 (V_L) 区, 所述轻链可变 (V_L) 区具有 (1) 具有SEQ ID NO:243的氨基酸序列的V_L CDR1; (2) 具有SEQ ID NO:244的氨基酸序列的V_L CDR2; 和/或 (3) 具有SEQ ID NO:245的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0362] 在一些实施方式中, 本文所提供的分子具有抗原结合片段, 所述抗原结合片段具有轻链可变 (V_L) 区, 所述轻链可变 (V_L) 区具有 (1) 具有SEQ ID NO:246的氨基酸序列的V_L CDR1; (2) 具有SEQ ID NO:247的氨基酸序列的V_L CDR2; 和/或 (3) 具有SEQ ID NO:248的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0363] 在一些实施方式中, 本文所提供的分子具有抗原结合片段, 所述抗原结合片段具有轻链可变 (V_L) 区, 所述轻链可变 (V_L) 区具有 (1) 具有SEQ ID NO:249的氨基酸序列的V_L CDR1; (2) 具有SEQ ID NO:250的氨基酸序列的V_L CDR2; 和/或 (3) 具有SEQ ID NO:251的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0364] 在一些实施方式中, 本文所提供的分子具有抗原结合片段, 所述抗原结合片段具有轻链可变 (V_L) 区, 所述轻链可变 (V_L) 区具有 (1) 具有SEQ ID NO:252的氨基酸序列的V_L CDR1; (2) 具有SEQ ID NO:253的氨基酸序列的V_L CDR2; 和/或 (3) 具有SEQ ID NO:254的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0365] 在一些实施方式中, 本文所提供的分子具有抗原结合片段, 所述抗原结合片段具有轻链可变 (V_L) 区, 所述轻链可变 (V_L) 区具有 (1) 具有SEQ ID NO:271的氨基酸序列的V_L CDR1; (2) 具有SEQ ID NO:272的氨基酸序列的V_L CDR2; 和/或 (3) 具有SEQ ID NO:273的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0366] 在一些实施方式中, 本文所提供的分子具有抗原结合片段, 所述抗原结合片段具有轻链可变 (V_L) 区, 所述轻链可变 (V_L) 区具有 (1) 具有SEQ ID NO:274的氨基酸序列的V_L CDR1; (2) 具有SEQ ID NO:275的氨基酸序列的V_L CDR2; 和/或 (3) 具有SEQ ID NO:276的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0367] 在一些实施方式中, 本文所提供的分子具有抗原结合片段, 所述抗原结合片段具有轻链可变 (V_L) 区, 所述轻链可变 (V_L) 区具有 (1) 具有SEQ ID NO:277的氨基酸序列的V_L CDR1; (2) 具有SEQ ID NO:278的氨基酸序列的V_L CDR2; 和/或 (3) 具有SEQ ID NO:279的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0368] 在一些实施方式中, 本文所提供的分子具有抗原结合片段, 所述抗原结合片段具有轻链可变 (V_L) 区, 所述轻链可变 (V_L) 区具有 (1) 具有SEQ ID NO:280的氨基酸序列的V_L CDR1; (2) 具有SEQ ID NO:281的氨基酸序列的V_L CDR2; 和/或 (3) 具有SEQ ID NO:282的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0369] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1)具有SEQ ID NO:299的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:300的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:301的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0370] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1)具有SEQ ID NO:302的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:303的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:304的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0371] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1)具有SEQ ID NO:305的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:306的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:307的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0372] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1)具有SEQ ID NO:308的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:309的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:310的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0373] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1)具有SEQ ID NO:327的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:328的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:329的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0374] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1)具有SEQ ID NO:330的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:331的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:332的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0375] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1)具有SEQ ID NO:333的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:334的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:335的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0376] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有(1)具有SEQ ID NO:336的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:337的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:338的氨基酸序列的V_L CDR3。

[0377] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0378] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变(V_L)区,所述轻链可变(V_L)区具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0379] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具

有轻链可变 (VL) 区,所述轻链可变 (VL) 区具有SEQ ID NO:61的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0380] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变 (VL) 区,所述轻链可变 (VL) 区具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0381] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变 (VL) 区,所述轻链可变 (VL) 区具有SEQ ID NO:117的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0382] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变 (VL) 区,所述轻链可变 (VL) 区具有SEQ ID NO:145的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0383] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变 (VL) 区,所述轻链可变 (VL) 区具有SEQ ID NO:201的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0384] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变 (VL) 区,所述轻链可变 (VL) 区具有SEQ ID NO:229的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0385] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变 (VL) 区,所述轻链可变 (VL) 区具有SEQ ID NO:257的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0386] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变 (VL) 区,所述轻链可变 (VL) 区具有SEQ ID NO:285的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0387] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有轻链可变 (VL) 区,所述轻链可变 (VL) 区具有SEQ ID NO:313的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0388] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有 (a) 重链可变 (VH) 区,其包括: (1) 具有SEQ ID NO:7、10、13、16、35、38、41或44的氨基酸序列的VH CDR1; (2) 具有SEQ ID NO:8、11、14、17、36、39、42或45的氨基酸序列的VH CDR2;和/或 (3) 具有SEQ ID NO:9、12、15、18、37、40、43或46的氨基酸序列的VH CDR3;和 (b) 轻链可变 (VL) 区,其包括: (1) 具有SEQ ID NO:19、22、25、28、47、50、53或56的氨基酸序列的VL CDR1; (2) 具有SEQ ID NO:20、23、26、29、48、51、54或57的氨基酸序列的VL CDR2;和/或 (3) 具有SEQ ID NO:21、24、27、30、49、52、55或58的氨基酸序列的VL CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0389] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有 (a) 重链可变 (VH) 区,其包括: (1) 具有SEQ ID NO:63、66、69或72的氨基酸序列的VH CDR1; (2) 具有SEQ ID NO:64、67、70或73的氨基酸序列的VH CDR2;和/或 (3) 具有SEQ ID NO:65、68、71或74的氨基酸序列的VH CDR3;和 (b) 轻链可变 (VL) 区,其包括: (1) 具有SEQ ID NO:65、68、71或74的氨基酸序列的VL CDR1; (2) 具有SEQ ID NO:65、68、71或74的氨基酸序列的VL CDR2;和/或 (3) 具

有SEQ ID NO:77、80、83或86的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0390] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:91、94、97、100、119、122、125、128、147、150、153或156的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:92、95、98、101、120、123、126、129、148、151、154或157的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:93、96、99、102、121、124、127、130、149、152、155或158的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:103、106、109、112、131、134、137、140、159、162、165或168的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:104、107、110、113、132、135、138、141、160、163、166或169的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:105、108、111、114、133、136、139、142、161、164、167或170的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0391] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:203、206、209或212的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:204、207、210或213的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:205、208、211或214的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:215、218、221或224的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:216、219、222或225的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:217、220、223或226的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0392] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:231、234、237或240的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:232、235、238或241的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:233、236、239或242的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:243、246、249或252的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:244、247、250或253的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:245、248、251或254的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0393] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:259、262、265或268的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:260、263、266或269的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:261、264、267或270的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:271、274、277或280的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:272、275、278或281的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:273、276、279或282的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0394] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:287、290、293或296的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:288、291、294或297的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:289、292、295或298的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:299、302、305或308的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:300、303、306或309的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:301、304、307或310的氨基酸序列的V_L CDR3。所

述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0395] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:315、318、321或324的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:316、319、322或325的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:317、320、323或326的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:327、330、333或336的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:328、331、334或337的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:329、332、335或338的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0396] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0397] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0398] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:14的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0399] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:28的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0400] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:36的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0401] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变

(V_H) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的V_H CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:39的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:40的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b) 轻链可变(V_L) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:50的氨基酸序列的V_L CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0402] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a) 重链可变(V_H) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的V_H CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:43的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b) 轻链可变(V_L) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的V_L CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:54的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0403] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a) 重链可变(V_H) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:44的氨基酸序列的V_H CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b) 轻链可变(V_L) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:56的氨基酸序列的V_L CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:58的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0404] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a) 重链可变(V_H) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的V_H CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:65的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b) 轻链可变(V_L) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的V_L CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0405] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a) 重链可变(V_H) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的V_H CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:67的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b) 轻链可变(V_L) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:78的氨基酸序列的V_L CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:79的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:80的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0406] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a) 重链可变(V_H) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:69的氨基酸序列的V_H CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:70的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:71的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b) 轻链可变(V_L) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的V_L CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0407] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a) 重链可变(V_H) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的V_H CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:73的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:74的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b) 轻链可变(V_L) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:84的氨基酸序列的V_L CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:85的氨基

酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:86的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0408] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:91的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:92的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:103的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:104的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0409] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:94的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:96的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:106的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:107的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:108的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0410] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:98的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:99的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:109的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:110的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:111的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0411] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:100的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:112的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:113的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:114的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0412] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:1119的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:120的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:121的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:131的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:132的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:133的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0413] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:122的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:123的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:124的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:134的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:135的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:136的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0414] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变

(V_H) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:125的氨基酸序列的V_H CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:126的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:127的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b) 轻链可变(V_L) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:137的氨基酸序列的V_L CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:138的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:139的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0415] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a) 重链可变(V_H) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:128的氨基酸序列的V_H CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:129的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:130的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b) 轻链可变(V_L) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:140的氨基酸序列的V_L CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:141的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:142的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0416] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a) 重链可变(V_H) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:147的氨基酸序列的V_H CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:148的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:149的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b) 轻链可变(V_L) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:159的氨基酸序列的V_L CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:160的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:161的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0417] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a) 重链可变(V_H) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:150的氨基酸序列的V_H CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:151的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:152的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b) 轻链可变(V_L) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:162的氨基酸序列的V_L CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:163的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:164的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0418] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a) 重链可变(V_H) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:153的氨基酸序列的V_H CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:154的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:155的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b) 轻链可变(V_L) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:165的氨基酸序列的V_L CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:166的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:167的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0419] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a) 重链可变(V_H) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:156的氨基酸序列的V_H CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:157的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:158的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b) 轻链可变(V_L) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:168的氨基酸序列的V_L CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:169的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:170的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0420] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a) 重链可变(V_H) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:203的氨基酸序列的V_H CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:204的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3) 具有SEQ ID NO:205的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b) 轻链可变(V_L) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:215的氨基酸序列的V_L CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:216

的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:217的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0421] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:206的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:207的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:208的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:218的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:219的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:220的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0422] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:209的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:210的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:211的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:221的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:222的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:223的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0423] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:212的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:213的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:214的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:224的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:225的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:226的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0424] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:231的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:232的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:233的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:243的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:244的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:245的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0425] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:234的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:235的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:236的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:246的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:247的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:248的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0426] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:237的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:238的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:239的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:249的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:250的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:251的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0427] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变

(V_H) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:240的氨基酸序列的V_H CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:241的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3) 具有SEQ ID NO:242的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b) 轻链可变(V_L) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:252的氨基酸序列的V_L CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:253的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3) 具有SEQ ID NO:254的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0428] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a) 重链可变(V_H) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:259的氨基酸序列的V_H CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:260的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3) 具有SEQ ID NO:261的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b) 轻链可变(V_L) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:271的氨基酸序列的V_L CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:272的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3) 具有SEQ ID NO:273的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0429] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a) 重链可变(V_H) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:262的氨基酸序列的V_H CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:263的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3) 具有SEQ ID NO:264的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b) 轻链可变(V_L) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:274的氨基酸序列的V_L CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:275的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3) 具有SEQ ID NO:276的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0430] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a) 重链可变(V_H) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:265的氨基酸序列的V_H CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:266的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3) 具有SEQ ID NO:267的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b) 轻链可变(V_L) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:277的氨基酸序列的V_L CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:278的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3) 具有SEQ ID NO:279的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0431] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a) 重链可变(V_H) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:268的氨基酸序列的V_H CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:269的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3) 具有SEQ ID NO:270的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b) 轻链可变(V_L) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:280的氨基酸序列的V_L CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:281的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3) 具有SEQ ID NO:282的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0432] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a) 重链可变(V_H) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:287的氨基酸序列的V_H CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:288的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3) 具有SEQ ID NO:289的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b) 轻链可变(V_L) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:299的氨基酸序列的V_L CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:300的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3) 具有SEQ ID NO:301的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0433] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a) 重链可变(V_H) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:290的氨基酸序列的V_H CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:291的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3) 具有SEQ ID NO:292的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b) 轻链可变(V_L) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:302的氨基酸序列的V_L CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:303

的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:304的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0434] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:293的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:294的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:295的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:305的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:306的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:307的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0435] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:296的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:297的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:298的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:308的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:309的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:310的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0436] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:315的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:316的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:317的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:327的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:328的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:329的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0437] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:318的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:319的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:320的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:330的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:331的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:332的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0438] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:321的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:322的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:323的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:333的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:334的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:335的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0439] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:324的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:325的氨基酸序列的V_H CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:326的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:336的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:337的氨基酸序列的V_L CDR2;和/或(3)具有SEQ ID NO:338的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0440] 在一些实施方式中,本文所提供的分子是表示为STC703的小鼠单克隆抗体或其人

源化抗体形式。人源化STC703抗体可以具有如本文所述的STC703的V_H区、V_L区或V_H和V_L区两者。人源化STC703抗体还可以具有如本文所述的STC703的6个CDR区(V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和V_L CDR3)。人源化STC703抗体还可以具有少于6个STC703的CDR区。在一些实施方式中,人源化STC703抗体还可以具有1、2、3、4或5个STC703的CDR区(V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和V_L CDR3)。

[0441] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0442] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0443] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:14的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0444] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:28的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0445] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有V_H区和V_L区,所述V_H区具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列,所述V_L区具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0446] 在一些实施方式中,本文所提供的分子是表示为STC810的小鼠单克隆抗体或其人源化抗体形式。人源化STC810抗体可以具有如本文所述的STC810的V_H区、V_L区或V_H和V_L区两者。人源化STC810抗体还可以具有如本文所述的STC810的6个CDR区(V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和V_L CDR3)。人源化STC810抗体还可以具有少于6个STC810的CDR区。在一些实施方式中,人源化STC810抗体还可以具有1、2、3、4或5个STC810的CDR区(V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和V_L CDR3)。

[0447] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变

(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:36的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0448] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:39的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:40的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:50的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0449] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:43的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:54的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0450] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:44的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:56的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:58的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0451] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有V_H区和V_L区,所述V_H区具有SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述V_L区具有SEQ ID NO:35的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0452] 在一些实施方式中,本文所提供的分子是表示为STC820的小鼠单克隆抗体或其人源化抗体形式。人源化STC820抗体可以具有如本文所述的STC820的V_H区、V_L区或V_H和V_L区两者。人源化STC820抗体还可以具有如本文所述的STC820的6个CDR区(V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和V_L CDR3)。人源化STC820抗体还可以具有少于6个STC820的CDR区。在一些实施方式中,人源化STC820抗体还可以具有1、2、3、4或5个STC820的CDR区(V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和V_L CDR3)。

[0453] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:65的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0454] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:67的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:78的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:79的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:80的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0455] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:69的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:70的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:71的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0456] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:73的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:74的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:84的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:86的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0457] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有V_H区和V_L区,所述V_H区具有SEQ ID NO:59的氨基酸序列,所述V_L区具有SEQ ID NO:61的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0458] 在一些实施方式中,本文所提供的分子是表示为STC1011的小鼠单克隆抗体或其人源化抗体形式。人源化STC1011抗体可以具有如本文所述的STC1011的V_H区、V_L区或V_H和V_L区两者。人源化STC1011抗体还可以具有如本文所述的STC1011的6个CDR区(V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和V_L CDR3)。人源化STC1012抗体还可以具有少于6个STC1011的CDR区。在一些实施方式中,人源化STC1011抗体还可以具有1、2、3、4或5个STC1011的CDR区(V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和V_L CDR3)。

[0459] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:91的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:92的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:103的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:104的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0460] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:94的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:96的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:106的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:107的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:108的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗

体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0461] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:98的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:99的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:109的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:110的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:111的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0462] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:100的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:112的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:113的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:114的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0463] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有V_H区和V_L区,所述V_H区具有SEQ ID NO:87的氨基酸序列,所述V_L区具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0464] 在一些实施方式中,本文所提供的分子是表示为STC1012的小鼠单克隆抗体或其人源化抗体形式。人源化STC1012抗体可以具有如本文所述的STC1012的V_H区、V_L区或V_H和V_L区两者。人源化STC1012抗体还可以具有如本文所述的STC1012的6个CDR区(V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和V_L CDR3)。人源化STC1012抗体还可以具有少于6个STC1012的CDR区。在一些实施方式中,人源化STC1012抗体还可以具有1、2、3、4或5个STC1012的CDR区(V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和V_L CDR3)。

[0465] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:119的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:120的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:121的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:131的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:132的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:133的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0466] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:122的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:123的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:124的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:134的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:135的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:136的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0467] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:125的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:126的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:127的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:137的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:138的

氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:139的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0468] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:128的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:129的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:130的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:140的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:141的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:142的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0469] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有V_H区和V_L区,所述V_H区具有SEQ ID NO:87的氨基酸序列,所述V_L区具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0470] 在一些实施方式中,本文所提供的分子是表示为STC1029的小鼠单克隆抗体或其人源化抗体形式。人源化STC1029抗体可以具有如本文所述的STC1029的V_H区、V_L区或V_H和V_L区两者。人源化STC1029抗体还可以具有如本文所述的STC1012的6个CDR区(V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和V_L CDR3)。人源化STC1029抗体还可以具有少于6个STC1029的CDR区。在一些实施方式中,人源化STC1029抗体还可以具有1、2、3、4或5个STC1029的CDR区(V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和V_L CDR3)。

[0471] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:147的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:148的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:149的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:159的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:160的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:161的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0472] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:150的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:151的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:152的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:162的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:163的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:164的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0473] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:153的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:154的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:155的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:165的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:166的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:167的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0474] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:156的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:157的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:158的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变

(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:168的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:169的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:170的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0475] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有V_H区和V_L区,所述V_H区具有SEQ ID NO:143的氨基酸序列,所述V_L区具有SEQ ID NO:145的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0476] 在一些实施方式中,本文所提供的分子是表示为STC2602的小鼠单克隆抗体或其人源化抗体形式。人源化STC2602抗体可以具有如本文所述的STC2602的V_H区、V_L区或V_H和V_L区两者。人源化STC2602抗体还可以具有如本文所述的STC2602的6个CDR区(V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和V_L CDR3)。人源化STC2602抗体还可以具有少于6个STC2602的CDR区。在一些实施方式中,人源化STC703抗体还可以具有1、2、3、4或5个STC2602的CDR区(V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和V_L CDR3)。

[0477] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:203的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:204的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:205的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:215的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:216的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:217的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0478] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:206的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:207的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:208的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:218的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:219的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:220的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0479] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:209的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:210的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:211的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:221的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:222的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:223的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0480] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:212的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:213的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:214的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:224的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:225的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:226的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0481] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有V_H区和V_L区,所述V_H区具有SEQ ID NO:199的氨基酸序列,所述V_L区具有SEQ ID NO:201的

氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0482] 在一些实施方式中,本文所提供的分子是表示为STC2714的小鼠单克隆抗体或其人源化抗体形式。人源化STC2714抗体可以具有如本文所述的STC2714的V_H区、V_L区或V_H和V_L区两者。人源化STC2714抗体还可以具有如本文所述的STC2714的6个CDR区(V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和V_L CDR3)。人源化STC2714抗体还可以具有少于6个STC2714的CDR区。在一些实施方式中,人源化STC2714抗体还可以具有1、2、3、4或5个STC2714的CDR区(V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和V_L CDR3)。

[0483] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:231的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:232的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:233的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:243的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:244的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:245的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0484] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:234的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:235的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:236的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:246的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:247的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:248的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0485] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:237的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:238的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:239的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:249的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:250的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:251的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0486] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:240的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:241的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:242的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:252的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:253的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:254的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0487] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有V_H区和V_L区,所述V_H区具有SEQ ID NO:227的氨基酸序列,所述V_L区具有SEQ ID NO:229的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0488] 在一些实施方式中,本文所提供的分子是表示为STC2739的小鼠单克隆抗体或其人源化抗体形式。人源化STC2739抗体可以具有如本文所述的STC2739的V_H区、V_L区或V_H和V_L区两者。人源化STC2739抗体还可以具有如本文所述的STC2739的6个CDR区(V_H CDR1、V_H

CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和V_L CDR3)。人源化STC2739抗体还可以具有少于6个STC2739的CDR区。在一些实施方式中,人源化STC2739抗体还可以具有1、2、3、4或5个STC2739的CDR区(V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和V_L CDR3)。

[0489] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:259的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:260的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:261的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:271的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:272的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:273的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0490] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:262的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:263的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:264的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:274的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:275的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:276的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0491] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:265的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:266的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:267的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:277的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:278的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:279的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0492] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:268的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:269的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:270的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:280的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:281的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:282的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0493] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有V_H区和V_L区,所述V_H区具有SEQ ID NO:255的氨基酸序列,所述V_L区具有SEQ ID NO:257的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0494] 在一些实施方式中,本文所提供的分子是表示为STC2778的小鼠单克隆抗体或其人源化抗体形式。人源化STC2778抗体可以具有如本文所述的STC2778的V_H区、V_L区或V_H和V_L区两者。人源化STC2778抗体还可以具有如本文所述的STC2778的6个CDR区(V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和V_L CDR3)。人源化STC2778抗体还可以具有少于6个STC2778的CDR区。在一些实施方式中,人源化STC703抗体还可以具有1、2、3、4或5个STC2778的CDR区(V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和V_L CDR3)。

[0495] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:287的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:288的

氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:289的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:299的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:300的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:301的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0496] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:290的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:291的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:292的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:302的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:303的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:304的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0497] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:293的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:294的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:295的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:305的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:306的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:307的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0498] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:296的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:297的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:298的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:308的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:309的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:310的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0499] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有V_H区和V_L区,所述V_H区具有SEQ ID NO:283的氨基酸序列,所述V_L区具有SEQ ID NO:285的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0500] 在一些实施方式中,本文所提供的分子是表示为STC2781的小鼠单克隆抗体或其人源化抗体形式。人源化STC2781抗体可以具有如本文所述的STC2781的V_H区、V_L区或V_H和V_L区两者。人源化STC2781抗体还可以具有如本文所述的STC2781的6个CDR区(V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和V_L CDR3)。人源化STC2781抗体还可以具有少于6个STC2781的CDR区。在一些实施方式中,人源化STC2781抗体还可以具有1、2、3、4或5个STC2781的CDR区(V_H CDR1、V_H CDR2、V_H CDR3、V_L CDR1、V_L CDR2和V_L CDR3)。

[0501] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变(V_H)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:315的氨基酸序列的V_H CDR1;(2)具有SEQ ID NO:316的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:317的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b)轻链可变(V_L)区,其包括:(1)具有SEQ ID NO:327的氨基酸序列的V_L CDR1;(2)具有SEQ ID NO:328的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3)具有SEQ ID NO:329的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0502] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a)重链可变

(V_H) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:318的氨基酸序列的V_H CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:319的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:320的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b) 轻链可变(V_L) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:330的氨基酸序列的V_L CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:331的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:332的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0503] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a) 重链可变(V_H) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:321的氨基酸序列的V_H CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:322的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:323的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b) 轻链可变(V_L) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:333的氨基酸序列的V_L CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:334的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:335的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0504] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,其具有(a) 重链可变(V_H) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:324的氨基酸序列的V_H CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:325的氨基酸序列的V_H CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:326的氨基酸序列的V_H CDR3;和(b) 轻链可变(V_L) 区,其包括:(1) 具有SEQ ID NO:336的氨基酸序列的V_L CDR1;(2) 具有SEQ ID NO:337的氨基酸序列的V_L CDR2;和(3) 具有SEQ ID NO:338的氨基酸序列的V_L CDR3。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0505] 在一些实施方式中,本文所提供的分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段具有V_H区和V_L区,所述V_H区具有SEQ ID NO:311的氨基酸序列,所述V_L区具有SEQ ID NO:313的氨基酸序列。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0506] 本领域技术人员已知的标准技术可以用于在本文所提供的编码抗原结合片段的核苷酸序列或抗体中引入突变,包括(例如) 导致氨基酸替换的定点突变和PCR-介导的突变。在某些实施方式中,相对于原始分子,所述衍生物包括小于25个氨基酸替换、小于20个氨基酸替换、小于15个氨基酸替换、小于10个氨基酸替换、小于5个氨基酸替换、小于4个氨基酸替换、小于3个氨基酸替换或者小于2个氨基酸替换。在具体的实施方式中,所述衍生物具有在一个或多个预测的非必需氨基酸残基处做出的保守氨基酸替换。“保守氨基酸替换”是其中氨基酸残基被具有带类似电荷的侧链的氨基酸残基替换的替换。在本领域中定义了具有带类似电荷的侧链的氨基酸残基家族。这些家族包括具有碱性侧链(例如,赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、酸性侧链(例如,门冬氨酸、谷氨酸)、不带电的极性侧链(例如,甘氨酸、天门冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸)、非极性侧链(例如,丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸、色氨酸)、 β -支链侧链(例如,苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和芳烃侧链(例如,酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)的氨基酸。作为另外一种选择,可以沿全部编码序列或其一部分随机引入突变,如通过饱和突变,并且可以对所得突变体筛选生物活性以鉴别保留活性的突变体。在突变后,可以表达编码蛋白,并且可以确定蛋白活性。

[0507] 在一些实施方式中,本文所提供的具有免疫特异性结合至BTN1A1、二聚体BTN1A1或糖基化BTN1A1的抗原结合片段的分子可以具有与鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1012、STC1011、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781或其抗原-结合

片段,如V_H域或V_L域的氨基酸序列具有至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%的同一性的氨基酸序列。在一个实施方式中,本文所提供的分子可以具有与SEQ ID NO:3、5、31、33、59、61、87、89、115、117、143、145、199、201、227、229、255、257、283、285、311或313中所示的氨基酸序列具有至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%的同一性的氨基酸序列。在另一个实施方式中,本文所提供的分子可以具有与以上表2a-12b中的任一个中所示的V_H CDR氨基酸序列和/或V_L CDR氨基酸序列具有至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或者至少99%的同一性的V_H CDR和/或V_L CDR氨基酸序列。

[0508] 在一些实施方式中,本文所提供的分子可以具有通过在严格条件下(例如,在约45℃,在6×氯化钠/柠檬酸钠(SSC)中杂交至过滤器-结合的DNA,然后在约50-65℃,在0.2×SSC/0.1%65℃,在0.2×SSC/0.1%SDS中清洗一次或多次),在高度严格条件下(例如,在约45℃,在6×SSC中杂交至过滤器-结合的核酸,然后在约68℃,在0.1×SSC/0.2%SDS中清洗一次或多次),或者在本领域技术人员已知的其它严格杂交条件(参见,例如,Ausubel,F.M.等人主编,1989,Current Protocols in Molecular Biology,Vol.I,Green Publishing Associates,Inc.and John Wiley&Sons,Inc.,New York,6.3.1-6.3.6和2.10.3页)下杂交至编码表2a-12b中的任一个中所示的V_H和/或V_L域的任一个的核苷酸序列的互补序列的核苷酸序列所编码的V_H域的氨基酸序列和/或V_L域氨基酸序列。

[0509] 在另一个实施方式中,本文所提供的分子可以具有通过在严格条件下(例如,在约45℃,在6×SSC中杂交至过滤器-结合的DNA,然后在约50-65℃,在0.2×SSC/0.1%SDS中清洗一次或多次),在高度严格条件下(例如,在约45℃,在6×SSC中杂交至过滤器-结合的核酸,然后在约68℃,在0.1×SSC/0.2%SDS中清洗一次或多次),或者在本领域技术人员已知的其它严格杂交条件(参见,例如,Ausubel,F.M.等人主编,1989,Current Protocols in Molecular Biology,Vol.I,Green Publishing Associates,Inc.and John Wiley&Sons, Inc.,New York,6.3.1-6.3.6和2.10.3页)下杂交至编码表2a-12b中的任一个中所示的V_H CDR和/或V_L CDR的任一个的核苷酸序列的互补序列的核苷酸序列所编码的V_H CDR的氨基酸序列和/或V_L CDR的氨基酸序列。

[0510] 在一些实施方式中,本文还提供了编码表2a-12b中的任一个中所示的V_H CDR的氨基酸序列或者V_L CDR的氨基酸序列的分离的核酸或者在严格条件下(例如,在约45℃,在6×氯化钠/柠檬酸钠(SSC)中杂交至过滤器-结合的DNA,然后在约50-65℃,在0.2×SSC/0.1%SDS中清洗一次或多次),在高度严格条件下(例如,在约45℃,在6×SSC中杂交至过滤器-结合的核酸,然后在约68℃,在0.1×SSC/0.2%SDS中清洗一次或多次),或者在本领域技术人员已知的其它严格杂交条件下杂交至编码表2a-12b中的任一个中所示的V_H CDR和/或V_L CDR中的任一个的核酸序列的互补序列的分离的核酸。

[0511] 在一些实施方式中,本文还提供了编码表2a-12b中的任一个中所示的V_H域的氨基酸序列或者V_L域的氨基酸序列的分离的核酸或者在严格条件下(例如,在约45℃,在6×氯化钠/柠檬酸钠(SSC)中杂交至过滤器-结合的DNA,然后在约50-65℃,在0.2×SSC/0.1%SDS中清洗一次或多次),在高度严格条件下(例如,在约45℃,在6×SSC中杂交至过滤器-结

合的核酸,然后在约68℃,在 $0.1 \times \text{SSC}/0.2\% \text{SDS}$ 中清洗一次或多次),或者在本领域技术人员已知的其它严格杂交条件下杂交至编码表2a-12b中的任一个中所示的 V_H 和/或 V_L 域中的任一个的核苷酸序列的互补序列的分离的核酸。

[0512] 在一些实施方式中,所述分离的核酸可以具有SEQ ID NO:4的序列或者在严格条件下(例如,在约45℃,在 $6 \times \text{氯化钠}/\text{柠檬酸钠}(\text{SSC})$ 中杂交至过滤器-结合的DNA,然后在约50-65℃,在 $0.2 \times \text{SSC}/0.1\% \text{SDS}$ 中清洗一次或多次),在高度严格条件下(例如,在约45℃,在 $6 \times \text{SSC}$ 中杂交至过滤器-结合的核酸,然后在约68℃,在 $0.1 \times \text{SSC}/0.2\% \text{SDS}$ 中清洗一次或多次),或者在本领域技术人员已知的其它严格杂交条件下杂交至SEQ ID NO:4的核苷酸序列的互补序列的序列。

[0513] 在一些实施方式中,所述分离的核酸可以具有SEQ ID NO:6的序列或者在严格条件下(例如,在约45℃,在 $6 \times \text{氯化钠}/\text{柠檬酸钠}(\text{SSC})$ 中杂交至过滤器-结合的DNA,然后在约50-65℃,在 $0.2 \times \text{SSC}/0.1\% \text{SDS}$ 中清洗一次或多次),在高度严格条件下(例如,在约45℃,在 $6 \times \text{SSC}$ 中杂交至过滤器-结合的核酸,然后在约68℃,在 $0.1 \times \text{SSC}/0.2\% \text{SDS}$ 中清洗一次或多次),或者在本领域技术人员已知的其它严格杂交条件下杂交至SEQ ID NO:6的核苷酸序列的互补序列的序列。

[0514] 在一些实施方式中,所述分离的核酸可以具有SEQ ID NO:32的序列或者在严格条件下(例如,在约45℃,在 $6 \times \text{氯化钠}/\text{柠檬酸钠}(\text{SSC})$ 中杂交至过滤器-结合的DNA,然后在约50-65℃,在 $0.2 \times \text{SSC}/0.1\% \text{SDS}$ 中清洗一次或多次),在高度严格条件下(例如,在约45℃,在 $6 \times \text{SSC}$ 中杂交至过滤器-结合的核酸,然后在约68℃,在 $0.1 \times \text{SSC}/0.2\% \text{SDS}$ 中清洗一次或多次),或者在本领域技术人员已知的其它严格杂交条件下杂交至SEQ ID NO:32的核苷酸序列的互补序列的序列。

[0515] 在一些实施方式中,所述分离的核酸可以具有SEQ ID NO:36的序列或者在严格条件下(例如,在约45℃,在 $6 \times \text{氯化钠}/\text{柠檬酸钠}(\text{SSC})$ 中杂交至过滤器-结合的DNA,然后在约50-65℃,在 $0.2 \times \text{SSC}/0.1\% \text{SDS}$ 中清洗一次或多次),在高度严格条件下(例如,在约45℃,在 $6 \times \text{SSC}$ 中杂交至过滤器-结合的核酸,然后在约68℃,在 $0.1 \times \text{SSC}/0.2\% \text{SDS}$ 中清洗一次或多次),或者在本领域技术人员已知的其它严格杂交条件下杂交至SEQ ID NO:36的核苷酸序列的互补序列的序列。

[0516] 在一些实施方式中,所述分离的核酸可以具有SEQ ID NO:60的序列或者在严格条件下(例如,在约45℃,在 $6 \times \text{氯化钠}/\text{柠檬酸钠}(\text{SSC})$ 中杂交至过滤器-结合的DNA,然后在约50-65℃,在 $0.2 \times \text{SSC}/0.1\% \text{SDS}$ 中清洗一次或多次),在高度严格条件下(例如,在约45℃,在 $6 \times \text{SSC}$ 中杂交至过滤器-结合的核酸,然后在约68℃,在 $0.1 \times \text{SSC}/0.2\% \text{SDS}$ 中清洗一次或多次),或者在本领域技术人员已知的其它严格杂交条件下杂交至SEQ ID NO:60的核苷酸序列的互补序列的序列。

[0517] 在一些实施方式中,所述分离的核酸可以具有SEQ ID NO:62的序列或者在严格条件下(例如,在约45℃,在 $6 \times \text{氯化钠}/\text{柠檬酸钠}(\text{SSC})$ 中杂交至过滤器-结合的DNA,然后在约50-65℃,在 $0.2 \times \text{SSC}/0.1\% \text{SDS}$ 中清洗一次或多次),在高度严格条件下(例如,在约45℃,在 $6 \times \text{SSC}$ 中杂交至过滤器-结合的核酸,然后在约68℃,在 $0.1 \times \text{SSC}/0.2\% \text{SDS}$ 中清洗一次或多次),或者在本领域技术人员已知的其它严格杂交条件下杂交至SEQ ID NO:62的核苷酸序列的互补序列的序列。

[0518] 在一些实施方式中,所述分离的核酸可以具有SEQ ID NO:88的序列或者在严格条件下(例如,在约45℃,在6×氯化钠/柠檬酸钠(SSC)中杂交至过滤器-结合的DNA,然后在约50-65℃,在0.2×SSC/0.1%SDS中清洗一次或多次),在高度严格条件下(例如,在约45℃,在6×SSC中杂交至过滤器-结合的核酸,然后在约68℃,在0.1×SSC/0.2%SDS中清洗一次或多次),或者在本领域技术人员已知的其它严格杂交条件下杂交至SEQ ID NO:88的核苷酸序列的互补序列的序列。

[0519] 在一些实施方式中,所述分离的核酸可以具有SEQ ID NO:90的序列或者在严格条件下(例如,在约45℃,在6×氯化钠/柠檬酸钠(SSC)中杂交至过滤器-结合的DNA,然后在约50-65℃,在0.2×SSC/0.1%SDS中清洗一次或多次),在高度严格条件下(例如,在约45℃,在6×SSC中杂交至过滤器-结合的核酸,然后在约68℃,在0.1×SSC/0.2%SDS中清洗一次或多次),或者在本领域技术人员已知的其它严格杂交条件下杂交至SEQ ID NO:90的核苷酸序列的互补序列的序列。

[0520] 在一些实施方式中,所述分离的核酸可以具有SEQ ID NO:116的序列或者在严格条件下(例如,在约45℃,在6×氯化钠/柠檬酸钠(SSC)中杂交至过滤器-结合的DNA,然后在约50-65℃,在0.2×SSC/0.1%SDS中清洗一次或多次),在高度严格条件下(例如,在约45℃,在6×SSC中杂交至过滤器-结合的核酸,然后在约68℃,在0.1×SSC/0.2%SDS中清洗一次或多次),或者在本领域技术人员已知的其它严格杂交条件下杂交至SEQ ID NO:116的核苷酸序列的互补序列的序列。

[0521] 在一些实施方式中,所述分离的核酸可以具有SEQ ID NO:118的序列或者在严格条件下(例如,在约45℃,在6×氯化钠/柠檬酸钠(SSC)中杂交至过滤器-结合的DNA,然后在约50-65℃,在0.2×SSC/0.1%SDS中清洗一次或多次),在高度严格条件下(例如,在约45℃,在6×SSC中杂交至过滤器-结合的核酸,然后在约68℃,在0.1×SSC/0.2%SDS中清洗一次或多次),或者在本领域技术人员已知的其它严格杂交条件下杂交至SEQ ID NO:118的核苷酸序列的互补序列的序列。

[0522] 在一些实施方式中,所述分离的核酸可以具有SEQ ID NO:144的序列或者在严格条件下(例如,在约45℃,在6×氯化钠/柠檬酸钠(SSC)中杂交至过滤器-结合的DNA,然后在约50-65℃,在0.2×SSC/0.1%SDS中清洗一次或多次),在高度严格条件下(例如,在约45℃,在6×SSC中杂交至过滤器-结合的核酸,然后在约68℃,在0.1×SSC/0.2%SDS中清洗一次或多次),或者在本领域技术人员已知的其它严格杂交条件下杂交至SEQ ID NO:144的核苷酸序列的互补序列的序列。

[0523] 在一些实施方式中,所述分离的核酸可以具有SEQ ID NO:146的序列或者在严格条件下(例如,在约45℃,在6×氯化钠/柠檬酸钠(SSC)中杂交至过滤器-结合的DNA,然后在约50-65℃,在0.2×SSC/0.1%SDS中清洗一次或多次),在高度严格条件下(例如,在约45℃,在6×SSC中杂交至过滤器-结合的核酸,然后在约68℃,在0.1×SSC/0.2%SDS中清洗一次或多次),或者在本领域技术人员已知的其它严格杂交条件下杂交至SEQ ID NO:146的核苷酸序列的互补序列的序列。

[0524] 在一些实施方式中,所述分离的核酸可以具有SEQ ID NO:200的序列或者在严格条件下(例如,在约45℃,在6×氯化钠/柠檬酸钠(SSC)中杂交至过滤器-结合的DNA,然后在约50-65℃,在0.2×SSC/0.1%SDS中清洗一次或多次),在高度严格条件下(例如,在约45

℃,在6×SSC中杂交至过滤器-结合的核酸,然后在约68℃,在0.1×SSC/0.2%SDS中清洗一次或多次),或者在本领域技术人员已知的其它严格杂交条件下杂交至SEQ ID NO:200的核苷酸序列的互补序列的序列。

[0525] 在一些实施方式中,所述分离的核酸可以具有SEQ ID NO:202的序列或者在严格条件下(例如,在约45℃,在6×氯化钠/柠檬酸钠(SSC)中杂交至过滤器-结合的DNA,然后在约50-65℃,在0.2×SSC/0.1%SDS中清洗一次或多次),在高度严格条件下(例如,在约45℃,在6×SSC中杂交至过滤器-结合的核酸,然后在约68℃,在0.1×SSC/0.2%SDS中清洗一次或多次),或者在本领域技术人员已知的其它严格杂交条件下杂交至SEQ ID NO:202的核苷酸序列的互补序列的序列。

[0526] 在一些实施方式中,所述分离的核酸可以具有SEQ ID NO:228的序列或者在严格条件下(例如,在约45℃,在6×氯化钠/柠檬酸钠(SSC)中杂交至过滤器-结合的DNA,然后在约50-65℃,在0.2×SSC/0.1%SDS中清洗一次或多次),在高度严格条件下(例如,在约45℃,在6×SSC中杂交至过滤器-结合的核酸,然后在约68℃,在0.1×SSC/0.2%SDS中清洗一次或多次),或者在本领域技术人员已知的其它严格杂交条件下杂交至SEQ ID NO:228的核苷酸序列的互补序列的序列。

[0527] 在一些实施方式中,所述分离的核酸可以具有SEQ ID NO:230的序列或者在严格条件下(例如,在约45℃,在6×氯化钠/柠檬酸钠(SSC)中杂交至过滤器结合的DNA,然后在约50-65℃,在0.2×SSC/0.1%SDS中清洗一次或多次),在高度严格条件下(例如,在约45℃,在6×SSC中杂交至过滤器-结合的核酸,然后在约68℃,在0.1×SSC/0.2%SDS中清洗一次或多次),或者在本领域技术人员已知的其它严格杂交条件下杂交至SEQ ID NO:230的核苷酸序列的互补序列的序列。

[0528] 在一些实施方式中,所述分离的核酸可以具有SEQ ID NO:256的序列或者在严格条件下(例如,在约45℃,在6×氯化钠/柠檬酸钠(SSC)中杂交至过滤器结合的DNA,然后在约50-65℃,在0.2×SSC/0.1%SDS中清洗一次或多次),在高度严格条件下(例如,在约45℃,在6×SSC中杂交至过滤器-结合的核酸,然后在约68℃,在0.1×SSC/0.2%SDS中清洗一次或多次),或者在本领域技术人员已知的其它严格杂交条件下杂交至SEQ ID NO:256的核苷酸序列的互补序列的序列。

[0529] 在一些实施方式中,所述分离的核酸可以具有SEQ ID NO:258的序列或者在严格条件下(例如,在约45℃,在6×氯化钠/柠檬酸钠(SSC)中杂交至过滤器结合的DNA,然后在约50-65℃,在0.2×SSC/0.1%SDS中清洗一次或多次),在高度严格条件下(例如,在约45℃,在6×SSC中杂交至过滤器-结合的核酸,然后在约68℃,在0.1×SSC/0.2%SDS中清洗一次或多次),或者在本领域技术人员已知的其它严格杂交条件下杂交至SEQ ID NO:258的核苷酸序列的互补序列的序列。

[0530] 在一些实施方式中,所述分离的核酸可以具有SEQ ID NO:284的序列或者在严格条件下(例如,在约45℃,在6×氯化钠/柠檬酸钠(SSC)中杂交至过滤器结合的DNA,然后在约50-65℃,在0.2×SSC/0.1%SDS中清洗一次或多次),在高度严格条件下(例如,在约45℃,在6×SSC中杂交至过滤器-结合的核酸,然后在约68℃,在0.1×SSC/0.2%SDS中清洗一次或多次),或者在本领域技术人员已知的其它严格杂交条件下杂交至SEQ ID NO:284的核苷酸序列的互补序列的序列。

[0531] 在一些实施方式中,所述分离的核酸可以具有SEQ ID NO:286的序列或者在严格条件下(例如,在约45℃,在6×氯化钠/柠檬酸钠(SSC)中杂交至过滤器结合的DNA,然后在约50-65℃,在0.2×SSC/0.1%SDS中清洗一次或多次),在高度严格条件下(例如,在约45℃,在6×SSC中杂交至过滤器-结合的核酸,然后在约68℃,在0.1×SSC/0.2%SDS中清洗一次或多次),或者在本领域技术人员已知的其它严格杂交条件下杂交至SEQ ID NO:286的核苷酸序列的互补序列的序列。

[0532] 在一些实施方式中,所述分离的核酸可以具有SEQ ID NO:312的序列或者在严格条件下(例如,在约45℃,在6×氯化钠/柠檬酸钠(SSC)中杂交至过滤器结合的DNA,然后在约50-65℃,在0.2×SSC/0.1%SDS中清洗一次或多次),在高度严格条件下(例如,在约45℃,在6×SSC中杂交至过滤器-结合的核酸,然后在约68℃,在0.1×SSC/0.2%SDS中清洗一次或多次),或者在本领域技术人员已知的其它严格杂交条件下杂交至SEQ ID NO:312的核苷酸序列的互补序列的序列。

[0533] 在一些实施方式中,所述分离的核酸可以具有SEQ ID NO:314的序列或者在严格条件下(例如,在约45℃,在6×氯化钠/柠檬酸钠(SSC)中杂交至过滤器-结合的DNA,然后在约50-65℃,在0.2×SSC/0.1%SDS中清洗一次或多次),在高度严格条件下(例如,在约45℃,在6×SSC中杂交至过滤器-结合的核酸,然后在约68℃,在0.1×SSC/0.2%SDS中清洗一次或多次),或者在本领域技术人员已知的其它严格杂交条件下杂交至SEQ ID NO:314的核苷酸序列的互补序列的序列。

[0534] 通过连锁分析对STC810的BTN1A1表位进行定位。表13总结了BTN1A1-Fc和STC810的连锁肽,其代表了STC810的BTN1A1表位(SEQ ID NO:171-173)。图29A显示了BTN1A1(ECD)-Fc抗原对于STC810的合成表位:LELRWFRKKVSPA(SEQ ID NO:174)—EEGLFTVAASVIIRDTSAGNV(SEQ ID NO:175)

[0535] 表14总结了BTN1A1-His和STC810的连锁肽,其代表了STC810的BTN1A1表位(SEQ ID NO:176-179)。图29B显示了BTN1A1(ECD)-His抗原对于STC810的合成表位。

[0536] GRATLVQDGIAGGRV(SEQ ID NO:180)—EEGLFTVAASVIIRDTSAGNV(SEQ ID NO:181)

[0537] 表13:通过nLC-orbitrap MS/MS分析的BTN1A1-Fc与STC810的交联肽。

[0538]

蛋白质水解	序列	蛋白 1	蛋白 2	序列蛋白 1	序列蛋白 2
胰凝乳蛋白酶	RKKVSPAV _L (SEQ ID NO: 171) -YCARGAY (SEQ ID NO: 182)-a1-b1	BTN1A1-FC	STC810 HC	41-49	95-101
	RKKVSPAV _L (SEQ ID NO: 171) -YCARGAY (SEQ ID NO: 182)-a2-b1	BTN1A1-FC	STC810 HC	41-49	95-101
	RKKVSPAV _L (SEQ ID NO: 171) -YCARGAY (SEQ ID NO: 182)-a3-b1	BTN1A1-FC	STC810 HC	41-49	95-101
	TVAASVIIRDTS AKN VSCY (SEQ ID NO: 172) -TFTHY (SEQ ID NO: 183)-a11-b3	BTN1A1-FC	STC810 HC	175-193	28-32
	TVAASVIIRDTS AKN VSCY (SEQ ID NO: 172) -TFTHY (SEQ ID NO: 183)-a11-b4	BTN1A1-FC	STC810 HC	175-193	28-32
	TVAASVIIRDTS AKN VSCY (SEQ ID NO: 172) -TFTHY (SEQ ID NO: 183)-a14-b4	BTN1A1-FC	STC810 HC	175-193	28-32
嗜热菌蛋白酶	IRDTS AKN (SEQ ID NO: 173) -FTFGSGTE (SEQ ID NO: 184)-a4-b7	BTN1A1-FC	STC810 LC	182-189	96-105

[0539]

	NO : 173) -FTFGSGTE (SEQ ID NO: 184)-a4-b7				
--	--	--	--	--	--

[0540] 表14:通过nLC-orbitrap MS/MS分析的BTN1A1-His与STC810的交联肽。

[0541]

蛋白质水解	序列	蛋白 1	蛋白 2	序列蛋白 1	序列蛋白 2
胰蛋白酶	ATLVQDGIKGR (SEQ ID NO : 176) -SLEWIGYIYPSNGGT GYNQKFKSR (SEQ ID NO: 185) -a10-b11	BTN1A1 -His	STC810 HC	69-80	44-67
	NPDEEGLFTVAASVIIRD TSAK (SEQ ID NO: 177) -LLISYTSSLHSGVPSR (SEQ ID NO : 186) -a13-b6	BTN1A1 -His	STC810 LC	167-188	46-61
	NPDEEGLFTVAASVIIRD TSAK (SEQ ID NO: 177) -LLISYTSSLHSGVPSR (SEQ ID NO: 186) -a9-b6	BTN1A1 -His	STC810 LC	167-188	46-61
胰凝乳蛋白酶	TVAASVIIRDTSKENV SCY (SEQ ID NO: 178) -TFTHY (SEQ ID NO: 187) -a11-b3	BTN1A1 -His	STC810 HC	175-193	28-32
	TVAASVIIRDTSKENV SCY (SEQ ID NO: 178) -TFTHY (SEQ ID NO: 187) -a5-b3	BTN1A1 -His	STC810 HC	175-193	28-32
嗜热菌蛋白酶	AEQXPEYRGRAT (SEQ ID NO : 179) -LHSGVPSR (SEQ ID NO: 188) -a10-b2	BTN1A1 -His	STC810 LC	59-70	54-61

[0542] 因此,本文还提供了具有(例如,以剂量-依赖性方式)竞争性掩蔽本文所述的BTN1A1表位的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中,本文提供了具有(例如,以剂量-依赖性方式)竞争性阻断STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或者STC2781的BTN1A1表位的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中,本文提供了具有(例如,以剂量-依赖性方式)竞争性阻断STC703、STC810或STC820的BTN1A1表位的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中,本文提供了具有(例如,以剂量-依赖性方式)竞争性阻断STC703或STC810的BTN1A1表位的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中,本文提供了具有(例如,以剂量-依赖性方式)竞争性阻断STC810的BTN1A1表位的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中,本文提供了具有不(例如,以剂量-依赖性方式)竞争性阻断STC810的BTN1A1表位的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有免疫特异性结合至本文所述的BTN1A1的表位的抗原结合片段。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有免疫特异性结合至STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、

STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的BTN1A1表位的抗原结合片段。在一些实施方式中，本文所提供的分子具有免疫特异性结合至STC703、STC810或STC820的BTN1A1表位的抗原结合片段。在一些实施方式中，本文所提供的分子具有免疫特异性结合至STC703或STC810的BTN1A1表位的抗原结合片段。在一些实施方式中，本文所提供的分子具有免疫特异性结合至STC810的BTN1A1表位的抗原结合片段。在一些实施方式中，本文所提供的分子具有不免疫特异性结合至STC810的BTN1A1表位的抗原结合片段。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0543] 在一些实施方式中，本文提供了（例如，以剂量-依赖性方式）竞争性阻断本文所述的BTN1A1表位的抗-BTN1A1抗体。在一些实施方式中，本文提供了（例如，以剂量-依赖性方式）竞争性阻断如本文所述的STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的BTN1A1表位的抗-BTN1A1抗体。在一些实施方式中，本文提供了（例如，以剂量-依赖性方式）竞争性阻断本文所述的BTN1A1表位的抗-BTN1A1抗体。在一些实施方式中，本文提供了（例如，以剂量-依赖性方式）竞争性阻断如本文所述的STC703、STC810或STC820的BTN1A1表位的抗-BTN1A1抗体。在一些实施方式中，本文提供了（例如，以剂量-依赖性方式）竞争性阻断如本文所述的STC703或STC810的BTN1A1表位的抗-BTN1A1抗体。在一些实施方式中，本文提供了（例如，以剂量-依赖性方式）竞争性阻断如本文所述的STC810的BTN1A1表位的抗-BTN1A1抗体。在一些实施方式中，本文提供了不（例如，以剂量-依赖性方式）竞争性阻断如本文所述的STC810的BTN1A1表位的抗-BTN1A1抗体。在一些实施方式中，本文所提供的抗-BTN1A1抗体免疫特异性结合至如本文所述的BTN1A1表位。在一些实施方式中，本文所提供的抗-BTN1A1抗体免疫特异性结合至STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的BTN1A1表位。在一些实施方式中，本文所提供的抗-BTN1A1抗体免疫特异性结合至STC703、STC810或STC820的BTN1A1表位。在一些实施方式中，本文所提供的抗-BTN1A1抗体免疫特异性结合至STC703或STC810的BTN1A1表位。在一些实施方式中，本文所提供的抗-BTN1A1抗体免疫特异性结合至STC810的BTN1A1表位。在一些实施方式中，本文所提供的抗-BTN1A1抗体不免疫特异性结合至STC810的BTN1A1表位。

[0544] 在一些实施方式中，所述分子具有（例如，以剂量-依赖性方式）竞争性阻断BTN1A1表位的抗原结合片段，其中所述BTN1A1表位具有SEQ ID NO:171-181的氨基酸序列的至少5个连续氨基酸。在一些实施方式中，本文所提供的分子具有免疫特异性结合至BTN1A1表位的抗原结合片段，其中所述BTN1A1表位具有SEQ ID NO:171-181的氨基酸序列的至少5个连续氨基酸。所述BTN1A1表位可以具有SEQ ID NO:171-181的氨基酸序列的至少6、至少7、至少8、至少9、至少10、至少11、至少12、至少13、至少14或至少15个连续氨基酸。所述BTN1A1表位可以具有SEQ ID NO:171-181的氨基酸序列的至少6个连续氨基酸。所述BTN1A1表位可以具有SEQ ID NO:171-181的氨基酸序列的至少7个连续氨基酸。所述BTN1A1表位可以具有SEQ ID NO:171-181的氨基酸序列的至少8个连续氨基酸。所述BTN1A1表位可以具有SEQ ID NO:171-181的氨基酸序列的至少9个连续氨基酸。所述BTN1A1表位可以具有SEQ ID NO:171-181的氨基酸序列的至少10个连续氨基酸。所述BTN1A1表位可以具有SEQ ID NO:171-181的氨基酸序列的至少11个连续氨基酸。所述BTN1A1表位可以具有SEQ ID NO:171-181的氨基酸序列的至少12个连续氨基酸。所述BTN1A1表位可以具有SEQ ID NO:171-181的氨基

酸序列的至少13个连续氨基酸。所述BTN1A1表位可以具有SEQ ID NO:171-181的氨基酸序列的至少14个连续氨基酸。所述BTN1A1表位可以具有SEQ ID NO:171-181的氨基酸序列的至少15个连续氨基酸。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0545] 在一些实施方式中,所述分子具有(例如,以剂量-依赖性方式)竞争性阻断BTN1A1表位的抗原结合片段,其中所述BTN1A1表位具有SEQ ID NO:171-181的氨基酸序列。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有免疫特异性结合至BTN1A1表位的抗原结合片段,其中所述BTN1A1表位具有SEQ ID NO:171、172、173、174、175、176、177、178、179、180或181的氨基酸序列。所述BTN1A1表位可以具有SEQ ID NO:171的氨基酸序列。所述BTN1A1表位可以具有SEQ ID NO:172的氨基酸序列。所述BTN1A1表位可以具有SEQ ID NO:173的氨基酸序列。所述BTN1A1表位可以具有SEQ ID NO:174的氨基酸序列。所述BTN1A1表位可以具有SEQ ID NO:175的氨基酸序列。所述BTN1A1表位可以具有SEQ ID NO:176的氨基酸序列。所述BTN1A1表位可以具有SEQ ID NO:177的氨基酸序列。所述BTN1A1表位可以具有SEQ ID NO:178的氨基酸序列。所述BTN1A1表位可以具有SEQ ID NO:179的氨基酸序列。所述BTN1A1表位可以具有SEQ ID NO:180的氨基酸序列。所述BTN1A1表位可以具有SEQ ID NO:181的氨基酸序列。

[0546] 在一些实施方式中,可以(例如)通过将任何类型的分子与抗体共价连接来化学修饰本文所提供的分子。例如,但不是通过限制,所述抗体衍生物包括已(例如)通过糖基化、乙酰化、PEG化、磷酸化、酰胺化、通过已知保护/封闭基团衍生化、蛋白水解切割、与细胞配体或其它蛋白连接等化学修饰的抗体。可以通过已知技术,包括(但不限于)特异性化学切割、乙酰化、配制、衣霉素的代谢合成等来实施任何多种化学修饰。另外,所述抗体可以含有一个或多个非典型氨基酸。

[0547] 本文所提供的分子可以具有本领域技术人员已知的框架区(例如,人或非人片段)。所述框架区可以(例如)是天然存在的框架区或共有框架区。在具体的实施方式中,本文所提供的抗体的框架区是人的(对于人框架区的列表,参见,例如,Chothia等人,1998, J.Mol.Biol.278:457-479,该文献以其全部内容作为参考并入本文)。还参见Kabat等人.(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest(U.S.Department of Health and Human Services,Washington,D.C.)第5版。

[0548] 在另一个方面,本文提供了具有(例如,以剂量-依赖性方式)竞争性阻断本文所述的抗-BTN1A1抗体的BTN1A1表位的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中,本文提供了具有(例如,以剂量-依赖性方式)竞争性阻断STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的BTN1A1表位的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中,所述分子具有不(例如,以剂量-依赖性方式)竞争性阻断STC810的BTN1A1表位的抗原结合片段。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有免疫特异性结合至如本文所述的BTN1A1表位的抗原结合片段。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有免疫特异性结合至STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的BTN1A1表位的抗原结合片段。在一些实施方式中,本文所提供的分子具有不免疫特异性结合至STC810的BTN1A1表位的抗原结合片段。所述分子可以是抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。所述抗体可以是人源化抗体。

[0549] 在一些实施方式中,本文提供了(例如,以剂量-依赖性方式)竞争性阻断本文所述

的BTN1A1表位的抗-BTN1A1抗体。在一些实施方式中,本文提供了(例如,以剂量-依赖性方式)竞争性阻断抗-BTN1A1抗体,如STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的BTN1A1表位的抗-BTN1A1抗体。在一些实施方式中,所述抗-BTN1A1抗体不(例如,以剂量-依赖性方式)竞争性阻断STC810的BTN1A1表位。在一些实施方式中,本文所提供的抗-BTN1A1抗体免疫特异性结合至抗-BTN1A1抗体,如STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的表位。在一些实施方式中,所述抗-BTN1A1抗体不免疫特异性结合至STC810的表位。在一些实施方式中,本文所提供的抗-BTN1A1抗体免疫特异性结合至STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的BTN1A1表位。在一些实施方式中,所述抗-BTN1A1抗体不免疫特异性结合至STC810的BTN1A1表位。

[0550] 在某些实施方式中,本文所提供的分子对BTN1A1、糖基化BTN1A1、BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)或多肽,或其多肽片段或表位具有高亲合力。在一个实施方式中,本文所提供的分子可以是对BTN1A1抗体比对已知抗体(例如,在本文其它处所讨论的可商购的单克隆抗体)具有更高的亲合力的抗-BTN1A1抗体。在具体的实施方式中,本文所提供的分子可以是如通过本文所述的或本领域技术人员已知的技术(例如,BIAcore测定)所评价的,可以对BTN1A1抗原比对已知抗-BTN1A1抗体具有高2-至10-倍(或以上)的亲合力的抗-BTN1A1抗体。根据这些实施方式,在一个实施方式中,通过BIAcore测定评价抗体的亲合力。

[0551] 在某些实施方式中,本文所提供的分子可以具有以不大于 $1\mu\text{M}$ 、不大于 100nM 、不大于 10nM 、不大于 1nM 或者不大于 0.1nM 的解离常数(K_D)结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1、BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)或多肽,或其多肽片段或表位的抗原结合片段。在一些实施方式中,本文所提供的分子可以是 K_D 不大于 500nM 的抗-BTN1A1抗体。在一些实施方式中,本文所提供的分子可以是 K_D 不大于 200nM 的抗-BTN1A1抗体。在一些实施方式中,本文所提供的分子可以是 K_D 不大于 100nM 的抗-BTN1A1抗体。在一些实施方式中,本文所提供的分子可以是 K_D 不大于 50nM 的抗-BTN1A1抗体。在一些实施方式中,本文所提供的分子可以是 K_D 不大于 20nM 的抗-BTN1A1抗体。在一些实施方式中,本文所提供的分子可以是 K_D 不大于 10nM 的抗-BTN1A1抗体。在一些实施方式中,本文所提供的分子可以是 K_D 不大于 5nM 的抗-BTN1A1抗体。在一些实施方式中,本文所提供的分子可以是 K_D 不大于 2nM 的抗-BTN1A1抗体。在一些实施方式中,本文所提供的分子可以是 K_D 不大于 1nM 的抗-BTN1A1抗体。在一些实施方式中,本文所提供的分子可以是 K_D 不大于 0.5nM 的抗-BTN1A1抗体。在一些实施方式中,本文所提供的分子可以是 K_D 不大于 0.1nM 的抗-BTN1A1抗体。

[0552] 在某些实施方式中,本文所提供的分子可以阻断或中和BTN1A1的活性。所述分子可以是中和抗体。所述中和抗体可以阻断BTN1A1与其天然配体的结合并且抑制通过BTN1A1和/或其其它生理学活性所介导的信号通路。在中和测定中,中和抗体的 IC_{50} 可以在 $0.01-10\mu\text{g/ml}$ 的范围内。中和抗体的 IC_{50} 可以不大于 $10\mu\text{g/ml}$ 。中和抗体的 IC_{50} 可以不大于 $8\mu\text{g/ml}$ 。中和抗体的 IC_{50} 可以不大于 $6\mu\text{g/ml}$ 。中和抗体的 IC_{50} 可以不大于 $4\mu\text{g/ml}$ 。中和抗体的 IC_{50} 可以不大于 $2\mu\text{g/ml}$ 。中和抗体的 IC_{50} 可以不大于 $1\mu\text{g/ml}$ 。中和抗体的 IC_{50} 可以不大于 $0.8\mu\text{g/ml}$ 。中和抗体的 IC_{50} 可以不大于 $0.6\mu\text{g/ml}$ 。中和抗体的 IC_{50} 可以不大于 $0.4\mu\text{g/ml}$ 。中

和抗体的IC₅₀可以不大于0.2μg/ml。中和抗体的IC₅₀可以不大于0.1μg/ml。中和抗体的IC₅₀可以不大于0.08μg/ml。中和抗体的IC₅₀可以不大于0.06μg/ml。中和抗体的IC₅₀可以不大于0.04μg/ml。中和抗体的IC₅₀可以不大于0.02μg/ml。中和抗体的IC₅₀可以不大于0.01μg/ml。

[0553] 本文所提供的具有免疫特异性结合至BTN1A1或糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的分子可以是抗-BTN1A1抗体。本文所提供的抗体包括(但不限于)合成抗体、单克隆抗体、重组产生的抗体、多重特异性抗体(包括双重特异性抗体)、人抗体、人源化抗体、骆驼化抗体、嵌合抗体、胞内抗体、抗-独特型(抗-Id)抗体以及以上中任一个的功能性片段。功能性片段的非限制性实例包括单-链Fvs(scFv)(例如,包括单特异性、双重特异性等)、Fab片段、F(ab')片段、F(ab)2片段、F(ab')2片段、二硫键连接的Fvs(sdFv)、Fd片段、Fv片段、双链抗体、三链抗体、四链抗体和微抗体。

[0554] 具体地,本文所提供的分子包括免疫球蛋白分子和免疫球蛋白分子的免疫活性部分,例如,含有免疫特异性结合至BTN1A1或糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的分子。本文所提供的免疫球蛋白分子可以是任何类型(例如,IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY)、类(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或亚类的免疫球蛋白分子。

[0555] 本文所提供的分子可以是单特异性、双重特异性、三重特异性抗体或者具有更多重特异性的抗体。多重特异性抗体可以对如本文所述的BTN1A1的不同表位特异,或者可以对两个BTN1A1多肽以及对于异源表位,如异源多肽或固相载体材料特异。在具体的实施方式中,本文所提供的抗体对BTN1A1多肽的给定表位是单特异的,并且不结合至其它表位。

[0556] 5.2.3. 修饰和衍生物

[0557] 还可以通过筛选显示出所期望的性质的变体来进一步改善任何以上具有免疫特异性结合至BTN1A1或糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的分子的结合性质。例如,可以使用本领域中已知的多种噬菌体展示方法来进行这种改善。在噬菌体展示法中,在具有编码它们的多核苷酸序列的噬菌体颗粒的表面上展示功能性抗体域。在具体的实施方式中,可以使用这些噬菌体来展示从组库或组合抗体文库(例如,人或鼠)表达的抗原结合片段,如Fab和Fv或二硫键稳定的Fv。可以选择表达结合所关心的抗原的抗原结合片段的噬菌体或者使用抗原,例如,使用标记抗原或结合或捕获至固体表面或珠上的抗原鉴别所述噬菌体。在这些方法中使用的噬菌体通常是丝状噬菌体,包括fd和M13。抗原结合片段可以表达为与噬菌体基因III或基因VIII蛋白重组融合的蛋白。可以用于制备如本文所述的具有抗原结合片段的抗体或其它分子的噬菌体展示法的实例包括Brinkman等人,J Immunol Methods,182:41-50(1995);Ames等人,J.Immunol.Methods,184:177-186(1995);Kettleborough等人,Eur.J.Immunol.,24:952-958(1994);Persic等人,Gene,187:9-18(1997);Burton等人,Adv.Immunol.57:191-280(1994);PCT专利公开WO 92/001047;WO 90/02809;WO 91/10737;WO 92/01047;WO 92/18619;WO 93/11236;WO 95/15982;WO 95/20401;和美国专利No.5,698,426;5,223,409;5,403,484;5,580,717;5,427,908;5,750,753;5,821,047;5,571,698;5,427,908;5,516,637;5,780,225;5,658,727;5,733,743和5,969,108中所公开的那些;所有文献以其全部内容作为参考并入本文。

[0558] 如以上参考文献中所述的,在噬菌体选择之后,可以将来自噬菌体的抗体编码区分离并用于产生完整抗体,包括人源化抗体,或者任何其它所期望的片段,并且在任何所期望的宿主中表达,包括哺乳动物细胞、昆虫细胞、植物细胞、酵母和细菌,例如,如下详细描述。例如,使用本领域中已知的方法,还可以使用重组产生Fab、Fab'和F(ab')₂片段的技术,如PCT专利公开W0 92/22324;Mullinax,R.L.等人,BioTechniques,12(6):864-869(1992);和Sawai等人,Am.J.Reprod.Immunol.34:26-34(1995);和Better,M.等人Science 240:1041-1043(1988)中所公开的那些;所有文献以其全部内容作为参考并入本文。可以用于产生单-链Fv和抗体的技术的实例包括美国专利No.4,946,778和5,258,498;Huston,J.S.等人,Methods in Enzymology 203:46-88(1991);Shu,L.等人,Proc.Natl.Acad.Sci.(USA) 90:7995-7999;和Skerra,A.等人,Science 240:1038-1040(1988)中所述的那些;所有文献以其全部内容作为参考并入本文。

[0559] 噬菌体展示技术可以用于提高抗-BTN1A1抗体或抗-糖基化BTN1A1抗体或BTN1A1二聚体抗体的亲合力,或者提高具有免疫特异性结合如本文所述BTN1A1或糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的其它分子的亲合力。可以在获得可以在本文所述的组合方法中使用的高亲合力抗体中使用这种技术。称为亲合力成熟的这种技术使用突变或CDR行走(CDR walking)以及使用受体或配体(或它们的胞外域)或其抗原性片段的再选择来鉴别当与初始或亲代抗体相比较时,以更高亲合力结合至抗原的抗体(参见,例如,Glaser,S.M.等人,J.Immunol.149:3903-3913(1992))。对整个密码子而不是单个核苷酸进行诱变处理将导致产生氨基酸突变的半随机化组库。可以构建包括变体克隆的混合池的文库,它们中的每一个在单个CDR中相差单个氨基酸变化并且它们含有代表每个CDR残基的每个可能的氨基酸替代的变体。可以通过将固定化突变体与标记抗原接触来筛选对于抗原具有提高的结合亲合力的突变体。本领域中已知的任何筛选方法可以用于鉴别对于抗原具有提高的亲合力的突变体抗体(例如,ELISA)(参见,例如,Wu,H.等人,Proc.Natl.Acad.Sci.(USA) 95(11):6037-6042(1998);Yelton,D.E.等人,J.Immunol.155:1994-2004(1995)。还可以使用使轻链随机化的CDR行走。(参见Schier等人,J.Mol.Biol.263:551-567(1996))。

[0560] 可以与噬菌体展示法同时使用随机突变以鉴别改善的CDR和/或可变区。作为另外一种选择,噬菌体展示技术可以用于通过定向突变(例如,亲合力成熟或“CDR-行走”)提高(或降低)CDR亲合力。这种技术使用靶标抗原或其抗原性片段来鉴别具有当与初始或亲代抗体相比,以更高(或更低)的亲合力结合至抗原的CDR的抗体(参见,例如,Glaser,S.M.等人,J.Immunol.149:3903-3913(1992))。

[0561] 实现这种亲合力成熟的方法在,例如:Krause,J.C.等人,MBio.2(1)pii:e00345-10.doi:10.1128/mBio.00345-10(2011);Kuan,C.T.等人,Int.J.Cancer 10.1002/ijc.25645;Hackel,B.J.等人,J.Mol.Biol.401(1):84-96(2010);Montgomery,D.L.等人,MAbs 1(5):462-474(2009);Gustchina,E.等人,Virology 393(1):112-119(2009);Finlay,W.J.等人,J.Mol.Biol.388(3):541-558(2009);Bostrom,J.等人,Methods Mol.Biol.525:353-376(2009);Steidl,S.等人,Mol.Immunol.46(1):135-144(2008);和Barderas,R.等人,Proc.Natl.Acad.Sci.(USA) 105(26):9029-9034(2008)中进行了描述;所有文献以其全部内容作为参考并入本文。

[0562] 本文还提供了任何上述具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的分子的衍生物,其可以是抗-BTN1A1抗体、抗-糖基化BTN1A1抗体或者抗-BTN1A1二聚体抗体,但是其相对于“亲代”(或者野生型)分子,具有1、2、3、4、5或更多个氨基酸替换、添加、缺失或修饰。可以将这些氨基酸替换或添加引入天然存在的(即,DNA-编码的)或者非天然存在的氨基酸残基。这些氨基酸可以是糖基化的(例如,具有改变的甘露糖、2-N-乙酰葡萄糖胺、半乳糖、岩藻糖、葡萄糖、唾液酸、5-N-乙酰神经氨酸、5-羟乙酰神经氨酸等内容物)、乙酰化的、聚乙二醇化的、磷酸化的、酰胺化的、通过已知的保护/封闭基团衍生化的、蛋白水解切割的、连接至细胞配体或其它蛋白的等。在一些实施方式中,所述改变的碳水化合物修饰调节以下中的一种或多种:抗体的增溶、促进抗体的亚细胞转运和分泌、促进抗体组装、构象完整性和抗体-介导的效应因子功能。在一些实施方式中,相对于缺少所述碳水化合物修饰的抗体,所述改变的碳水化合物修饰提高了抗体介导的效应因子功能。导致改变的抗体介导的效应因子功能的碳水化合物修饰在本领域中是熟知的(例如,参见Shields,R.L.等人,J.Biol.Chem.277(30):26733-26740(2002);Davies J.等人,Biotechnology&Bioengineering 74(4):288-294(2001);所有文献以其全部内容作为参考并入本文)。改变碳水化合物含量的方法对于本领域的技术人员是已知的,参见,例如,Wallick,S.C.等人,J.Exp.Med.168(3):1099-1109(1988);Tao,M.H.等人,J.Immunol.143(8):2595-2601(1989);Routledge,E.G.等人,Transplantation 60(8):847-53(1995);Elliott,S.等人,Nature Biotechnol.21:414-21(2003);Shields,R.L.等人,J.Biol.Chem.277(30):26733-26740(2002);所有文献以其全部内容作为参考并入本文。

[0563] 在一些实施方式中,人源化抗体是衍生化抗体。这种人源化抗体包括一种或多种非人CDR中的氨基酸残基替换、缺失或添加。当与非衍生化人源化抗体相比时,所述人源化抗体衍生物可以具有基本相同的结合、更好的结合或者更差的结合。在一些实施方式中,CDR的1、2、3、4或5个氨基酸残基已突变,如替换、缺失或添加。

[0564] 可以使用本领域技术人员已知的技术,包括(但不限于)特异性化学切割、乙酰化、配制、衣霉素的代谢合成等,通过化学修饰来修饰如本文所述的分子和抗体。在一个实施方式中,衍生化分子或衍生化抗体具有与亲代分子或抗体类似或相同的作用。在另一个实施方式中,相对于亲代分子或亲代抗体,衍生化分子或衍生化抗体显示出改变的活性。例如,与亲代抗体相比,衍生化抗体(或其片段)可以更紧密地结合至其表位或者可以更耐受蛋白水解。

[0565] 衍生化抗体中的替换、添加或缺失可以位于抗体的Fc区,并且借此可以用于改变抗体对一种或多种Fc γ R的结合亲和力。用于改变对一种或多种Fc γ R具有改变的结合的抗体的方法在本领域中是已知的,参见,例如,PCT专利公开No.WO 04/029207、WO 04/029092、WO 04/028564、WO 99/58572、WO 99/51642、WO 98/23289、WO 89/07142、WO 88/07089和美国专利No.5,843,597和5,642,821;所有文献以其全部内容作为参考并入本文。在一些实施方式中,抗体或其它分子可以用于激活Fc γ R,例如,Fc γ RIIIA具有改变的亲和力。优选地,这些修饰还具有改变的Fc-介导的效应因子功能。影响Fc-介导的效应因子功能的修饰在本领域中是熟知的(参见美国专利No.6,194,551和WO 00/42072)。在一些实施方式中,Fc区的修饰导致产生了具有改变的抗体-介导的效应因子功能、改变的对其它Fc受体(例如,Fc激

活受体)的结合、改变的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)活性、改变的C1q结合活性、改变的补体依赖性细胞毒性活性(CDC)、吞噬活性或它们的任意组合的抗体。

[0566] ADCC是细胞-介导的反应,其中表达FcR的抗原-非特异性的细胞毒细胞(例如,自然杀伤(NK)细胞、嗜中性白细胞和巨噬细胞)识别结合至靶细胞表面的抗体并且随后导致所述靶细胞溶胞(即“杀死”)。主要的介体细胞是NK细胞。NK细胞仅表达Fc γ RIII,其中Fc γ RIIIA是激活受体,Fc γ RIIIB是抑制受体;单核细胞表达Fc γ RI、Fc γ RII和Fc γ RIII(Ravetch等人(1991) *Annu. Rev. Immunol.*, 9:457-92)。ADCC活性可以表示为靶细胞溶胞的最大浓度的一半的抗体或Fc融合蛋白的浓度。因此,在一些实施方式中,溶胞水平与野生型对照的最大溶胞水平的一半相同的本发明的抗体或Fc融合蛋白的浓度比野生型对照本身的浓度低至少2-、3-、5-、10-、20-、50-、100-倍。另外,在一些实施方式中,本发明的抗体或Fc融合蛋白可以显示出比野生型对照更高的最大靶细胞溶胞。例如,抗体或Fc融合蛋白的最大靶细胞溶胞可以比野生型对照高10%、15%、20%、25%或以上。

[0567] 可以修饰如本文所述的分子和抗体以具有提高的效力。在一些实施方式中,对于效应因子功能修饰分子和抗体,例如,以提高ADCC和/或补体依赖性细胞毒性(CDC)。在一些实施方式中,这些治疗性分子或抗体与具有Fc受体的杀伤细胞具有提高的相互作用。可以通过多种方式实现效应因子功能,如ADCC的增强,包括在Fc区引入一种或多种氨基酸替换。另外,可以在Fc区引入半胱氨酸残基,从而使得能够在该区域内形成链间二硫键。均二聚抗体还可以具有改善的内化能力和/或提高的CDC和ADCC。Caron等人, *J. Exp. Med.*, 176:1191-95 (1992) 和Shopes, B. J. *Immunol.*, 148:2918-22 (1992)。还可以使用异双功能交联剂制备具有提高的抗-癌活性的均二聚抗体。Wolff等人, *Cancer Research*, 53:2560-65 (1993)。另外,可以将具有双Fc区的抗体或分子工程设计并且其可以借此具有提高的CDC和ADCC能力。Stevenson等人, *Anti-Cancer Drug Design* 3:219-30 (1989)。

[0568] 还可以对Fc区的糖基化模式进行工程设计。已将一些抗体糖基化形式报道为对效应因子功能,包括ADCC具有积极效果。因此,Fc区的碳水化合物组成的工程设计,具体地减少核心岩藻糖基化还可以具有提高的治疗效力。Shinkawa T, 等人, *J. Biol. Chem.*, 278:3466-73 (2003); Niwa R, 等人, *Cancer Res.*, 64:2127-33 (2004); Okazaki A, 等人, *J. Mol. Biol.* 336:1239-19 (2004); 和Shields RL, 等人, *J. Biol. Chem.* 277:26733-40 (2002)。可以通过一些方式产生具有选择的糖形式的本文所述的抗体或分子,包括糖基化途径抑制剂的使用,具有糖基化途径中特定酶活力缺失或降低的突变细胞系,在糖基化途径中具有提高或敲除的基因表达并且通过糖苷酶和糖基转移酶体外重塑的工程细胞。修饰Fc区的糖基化并且提高具有抗原结合片段的抗体或其它分子的治疗效力的方法在本领域中是已知的。Rothman等人, *Molecular Immunology* 26:1113-1123 (1989); Umana等人, *Nature Biotechnology* 17:176-180 (1999); Shields等人, *JBC* 277:26733-26740 (2002); Shinkawa等人, *JBC* 278:3466-3473 (2003); Bischoff等人, *J. Biol. Chem.* 265 (26):15599-15605 (1990); 美国专利No. 6,861,242和7,138,262以及美国专利公开No. 2003/0124652; 所有文献以其全部内容作为参考并入本文。本领域的常规技术人员将理解可以通过本领域中已知的任何方法来修饰本文所提供的抗体和分子以具有提高的治疗效力。

[0569] 在哺乳动物,优选地人中,衍生物分子或抗体还可以具有改变的亲代分子或抗体的半衰期(例如,血清半衰期)。在一些实施方式中,这些变化导致产生了大于15天,优选地

大于20天,大于25天,大于30天,大于35天,大于40天,大于45天,大于2个月,大于3个月,大于4个月或者大于5个月的半衰期。在哺乳动物,优选地人中,人源化抗体或其它分子提高的半衰期导致在哺乳动物中产生了更高的所述抗体或其它分子的血清滴度,并且因此降低了所述抗体或其它分子的施用频率和/或降低了要施用的所述抗体或其它分子的浓度。可以通过本领域技术人员已知的技术产生体内半衰期提高的分子或抗体。例如,可以通过鉴别为参与Fc域和FcRn受体之间的相互作用的氨基酸残基的修饰(例如,替换、缺失或添加)来产生体内半衰期升高的分子或抗体。可以将如本文所述的人源化抗体工程设计以提高生物半衰期(参见,例如,美国专利No.6,277,375)。例如,可以在Fc-铰链域中对如本文所述的人源化抗体进行工程设计以具有提高的体内或血清半衰期。

[0570] 可以通过连接至所述抗体或抗体片段聚合物分子,如高分子量聚乙二醇(PEG)来产生体内半衰期提高的如本文所述的分子或抗体。可以使用或不使用多功能接头,通过PEG对所述分子或抗体的N-或C-末端的位点-特异性缀合或者通过赖氨酸残基上存在的 ϵ -氨基,将PEG连接至所述分子或抗体。可以使用导致生物活性最小损失的直链或支链聚合物衍生化。可以通过SDS-PAGE和质谱密切监测缀合程度以确保PEG分子对抗体的适当缀合。可以通过(例如)尺寸排阻或离子交换色谱,从抗体-PEG缀合物分离未反应的PEG。

[0571] 为了提供可以注射到哺乳动物循环系统中而无显著免疫原性反应的组合物,还可以通过Davis等人(参见美国专利No.4,179,337)所述的方法和偶联剂来修饰如本文所述的分子或抗体。Fc部分的除去可以降低抗体片段引起不希望的免疫学反应的可能性,并因此无Fc的抗体可以用于预防或治疗性治疗。如上所述,还可以构建抗体以成为嵌合、部分或完全人抗体,以降低或消除由向动物施用已在其它物种中产生或者具有来自其它物种的序列的抗体所产生的不利免疫学后果。

[0572] 5.2.3.融合和缀合物

[0573] 本文提供了具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的分子,包括抗-BTN1A1抗体、抗-糖基化BTN1A1抗体和抗-BTN1A1二聚体抗体。在一些实施方式中,这些分子可以作为与其它蛋白融合的蛋白表达或者化学缀合至另一部分。

[0574] 在一些实施方式中,所述分子是具有Fc部分的融合蛋白,其中所述Fc部分可以在同种型或亚类之间变化,可以是嵌合或杂交的,和/或可以修饰,例如以改善效应因子功能,对半衰期的控制,组织可接近性,增大生物物理学特征,如稳定性,并且改善生产效率(并且是不太昂贵的)。在所公开的融合蛋白的构建中有用的多种修饰以及制备它们的方法在本领域中是已知的,参见,例如,Mueller,J.P.等人,Mol.Immun.34(6):441-452(1997),Swann,P.G.,Curr.Opin.Immun.20:493-499(2008)和Presta,L.G.,Curr.Opin.Immun.20:460-470(2008)。在一些实施方式中,所述Fc区是天然IgG1、IgG2或IgG4 Fc区。在一些实施方式中,所述Fc区是杂交的,例如,具有IgG2/IgG4 Fc恒定区的嵌合区。对Fc区的修饰包括(但不限于)修饰以防止与Fc γ 受体和补体结合的IgG4,修饰以改善与一种或多种Fc γ 受体结合的IgG1、修饰以最大程度减小效应因子功能的IgG1(氨基酸改变),具有改变的/不具有聚糖的IgG1(通常通过改变表达宿主)和具有改变的与FcRn的pH-依赖性结合的IgG1。Fc区可以包括整个铰链区,或者小于整个铰链区。

[0575] 另一个实施方式包括与FcR的结合降低,从而提高它们的半衰期的IgG2-4杂交体

和IgG4突变体。代表性IG2-4杂交体和IgG4突变体描述于Angal等人,Molec.Immunol.30(1):105-108(1993);Mueller等人,Mol.Immun.34(6):441-452(1997);和美国专利No.6,982,323;所有文献以其全部内容作为参考并入本文。在一些实施方式中,IgG1和/或IgG2域缺失,例如,Angal等人描述了具有被脯氨酸替换的丝氨酸241的IgG1和IgG2。

[0576] 在一些实施方式中,所述分子是具有至少10、至少20、至少30、至少40、至少50、至少60、至少70、至少80、至少90或者至少100个氨基酸的多肽。

[0577] 在一些实施方式中,本文提供了具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体的抗原结合片段的分子,其连接至或共价结合至或形成具有至少一个部分的复合物。这些部分可以是,但是不局限于提高作为诊断或治疗剂的分子的效力的部分。在一些实施方式中,所述部分可以是成象剂、毒素、治疗酶、抗生素、放射性标记的核苷酸等。

[0578] 本文所提供的分子可以包括治疗部分(或者一个或多个治疗部分)。本文所提供的分子可以是缀合或重组融合至治疗部分,如细胞毒素,例如,细胞抑制或杀细胞剂、治疗剂或放射性金属离子,例如, α 发射体的抗体。细胞毒素或细胞毒性剂包括对细胞有害的任何试剂。治疗部分包括(但不限于)抗代谢物(例如,甲氨蝶呤、6-巯基嘌呤、6-硫代鸟嘌呤、阿糖胞苷、5-氟尿嘧啶氮烯咪胺);烷化剂(例如,氮芥、噻替派、苯丁酸氮芥、美法仑、卡莫司汀(BCNU)和洛莫司汀(CCNU)、环磷酰胺(cyclophosphamide)、白消安、二溴甘露醇、链脲佐菌素、丝裂霉素C和顺-二氯二胺合铂(II)(DDP)和顺铂);蒽环类抗生素(例如,柔红霉素(先前的道诺霉素)和多柔比星);抗生素(例如,d-放线菌素(先前的放线菌素)、博来霉素、普卡霉素和安曲霉素(AMC));奥瑞他汀分子(例如,奥瑞他汀PHE、奥瑞他汀F、一甲基奥瑞他汀E、苔藓抑素1和solastatin 10;参见Woyke等人Antimicrob.Agents Chemother.46:3802-8(2002),Woyke等人,Antimicrob.Agents Chemother.45:3580-4(2001),Mohammad等人,Anticancer Drugs 12:735-40(2001),Wall等人,Biochem.Biophys.Res.Commun.266:76-80(1999),Mohammad等人,Int.J.Oncol.15:367-72(1999),所有文献作为参考并入本文);激素(例如,糖皮质激素、孕酮、雄激素和雌激素)、DNA-修复酶抑制剂(例如,依托泊苷或拓扑替康)、激酶抑制剂(例如,化合物ST1571、伊马替尼甲磺酸盐(Kantarjian等人,Clin Cancer Res.8(7):2167-76(2002));细胞毒性剂(例如,紫杉醇、细胞分裂抑素B、短杆菌肽D、溴化乙锭、依米丁、丝裂霉素、依托泊苷、替尼泊苷、长春新碱、长春碱、秋水仙碱、多柔比星、柔红霉素、二羟基炭疽菌素二酮、米托蒽醌、普卡霉素、放线菌素D、1-去氢睾酮、糖皮质激素、普鲁卡因、丁卡因、利多卡因、普萘洛尔和嘌呤霉素及其类似物或同源物以及美国专利No.6,245,759、6,399,633、6,383,790、6,335,156、6,271,242、6,242,196、6,218,410、6,218,372、6,057,300、6,034,053、5,985,877、5,958,769、5,925,376、5,922,844、5,911,995、5,872,223、5,863,904、5,840,745、5,728,868、5,648,239、5,587,459中所公开的化合物);法呢基转移酶抑制剂(例如,R115777、BMS-214662,和通过(例如)美国专利No:6,458,935、6,451,812、6,440,974、6,436,960、6,432,959、6,420,387、6,414,145、6,410,541、6,410,539、6,403,581、6,399,615、6,387,905、6,372,747、6,369,034、6,362,188、6,342,765、6,342,487、6,300,501、6,268,363、6,265,422、6,248,756、6,239,140、6,232,338、6,228,865、6,228,856、6,225,322、6,218,406、6,211,193、6,187,786、6,169,096、6,159,984、6,143,766、6,133,303、6,127,366、6,124,465、6,124,295、6,103,723、6,093,737、6,090,948、6,080,870、6,077,853、6,071,935、6,066,738、6,063,930、6,054,466、6,051,

582、6,051,574和6,040,305所公开的那些);局部异构酶抑制剂(例如,喜树碱;伊立替康;SN-38;拓扑替康;9-氨基喜树碱;GG-211(GI 147211);DX-8951f;IST-622;卢比替康;吡唑啉吡啶;XR-5000;沙因托品(saintopin);UCE6;UCE1022;TAN-1518A;TAN 1518B;KT6006;KT6528;ED-110;NB-506;ED-110;NB-506;和蝴蝶霉素);bulgarein;DNA小沟结合剂,如Hoescht染料33342和Hoechst染料33258;两面针碱;法格罗宁;表小檗碱;柯喃因; β -拉帕醌;BC-4-1;二磷酸酯(例如,胺丁羟磷酸盐、英卡膦酸盐(cimadronte)、氯屈膦酸盐、替鲁膦酸盐、依替膦酸盐、伊班膦酸盐、奈立膦酸盐、奥帕膦酸盐(olpandronate)、利塞膦酸盐、吡膦酸盐、帕米膦酸盐、唑仑膦酸盐);HMG-CoA还原酶抑制剂,(例如,洛伐他汀、辛伐他汀、阿托伐他汀、普伐他汀、氟伐他汀、抑制素、西立伐他汀、来适可(lescol)、lupitor、罗素伐他汀和阿托伐他汀);反义寡核苷酸(例如,美国专利No.6,277,832、5,998,596、5,885,834、5,734,033和5,618,709中所公开的那些);腺苷脱氨酶抑制剂(例如,氟达拉滨磷酸盐和2-氯代脱氧腺苷);替伊莫单抗替坦(tiuxetan)(**Zevalin®**);托西莫单抗(**Bexxar®**)及其药物可用的盐、溶剂化物、笼形物和前体药物。

[0579] 此外,本文所提供的分子是缀合或重组融合至改变给定生物反应的治疗部分或药物部分的抗体。治疗部分或药物部分不应视为受限于经典化学治疗剂。例如,所述药物部分可以是具有所期望的生物活性的蛋白、肽或多肽。这些蛋白可以包括(例如)毒素,如相思豆毒蛋白、蓖麻毒素A、假单胞菌外毒素、霍乱毒素或白喉毒素;蛋白,如肿瘤坏死因子、 γ -干扰素、 α -干扰素、神经生长因子、血小板源生长因子、组织纤维蛋白溶酶原活化因子、凋亡因子,例如,TNF- γ 、TNF- γ 、AIMI(参见,国际专利公开No.WO 97/33899)、AIM II(参见,国际专利公开No.WO 97/34911)、Fas配体(Takahashi等人,1994,J.Immunol.,6:1567-1574)和VEGF(参见,国际专利公开No.WO 99/23105)、抗血管生成剂,例如,血管阻断素、内皮抑素或凝血途径的组分(例如,组织因子);或者,生物反应调节剂,如(例如)淋巴激活素(例如,干扰素 γ 、白介素-1("IL-1")、白介素-2("IL-2")、白介素-5("IL-5")、白介素-6("IL-6")、白介素-7("IL-7")、白介素9("IL-9")、白介素-10("IL-10")、白介素-12("IL-12")、白介素-15("IL-15")、白介素-23("IL-23")、粒性白细胞巨噬细胞集落刺激因子("GM-CSF")和粒细胞集落刺激因子("G-CSF")),或者生长因子(例如,生长激素("GH")),或者凝血因子(例如,钙、维生素K、组织因子,如(但不限于),哈格曼因子(凝血因子XII)、高分子量激肽原(HMWK)、前激肽释放酶(PK)、凝血蛋白-因子II(凝血酶原)、因子V、XIIa、VIII、XIIIa、XI、XIa、IX、IXa、X、磷脂和纤维蛋白单体)。

[0580] 另外,本文所提供的抗体可以缀合至治疗部分,如放射性金属离子,如 α 发射体,如 ^{213}Bi ,或者用于将放射性金属离子,包括(但不限于) ^{131}In 、 ^{131}Lu 、 ^{131}Y 、 ^{131}Ho 、 ^{131}Sm 缀合至多肽的大环螯合剂。在某些实施方式中,所述大环螯合剂为1,4,7,10-四氮杂环十二烷-N,N',N'',N'''-乙二醇双乙胺醚(DOTA),其可以通过接头分子连接至抗体。这些接头分子通常是本领域中已知的并且描述于Denardo等人,1998,Clin Cancer Res.4(10):2483-90;Peterson等人,1999,Bioconjug.Chem.10(4):553-7;和Zimmerman等人,1999,Nucl.Med.Biol.26(8):943-50,以上每篇文献以其全部内容作为参考并入。

[0581] 应选择缀合或重组融合至本文所提供的免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗体的治疗部分或药物以实现所期望的预防或治疗效果。在某些实施方式中,所述抗体是修饰的抗体。当决定将哪些治疗部分或药物

缀合或重组融合至本文所提供的抗体时,临床医师或其它医务人员应考虑以下情况:疾病的性质、疾病的严重程度以及受试者的状况。

[0582] 在一些实施方式中,所述部分可以是酶、激素、细胞表面受体、毒素(如相思豆毒蛋白、蓖麻毒素A、假单胞菌外毒素(即,PE-40)、白喉毒素、蓖麻毒素、白树毒素或者美洲商陆抗病毒蛋白)、蛋白(如肿瘤坏死因子、干扰素(例如, α -干扰素、 β -干扰素)、神经生长因子、血小板源生长因子、组织纤维蛋白溶酶原活化因子或者凋亡因子(例如,肿瘤坏死因子- α 、肿瘤坏死因子- β))、生物反应调节剂(如(例如)淋巴激活素(例如,白介素-1(“IL-1”)、白介素-2(“IL-2”)、白介素-6(“IL-6”)、粒性白细胞巨噬细胞集落刺激因子(“GM-CSF”)、粒细胞集落刺激因子(“G-CSF”)或者巨噬细胞集落刺激因子(“M-CSF”)或者生长因子(例如,生长激素(“GH”))、细胞毒素(例如,细胞抑制或杀细胞剂,如紫杉醇、细胞分裂抑素B、短杆菌肽D、溴化乙锭、依米丁、丝裂霉素、依托泊苷、替尼泊苷、长春新碱、长春碱、秋水仙碱、多柔比星、柔红霉素、二羟基炭疽菌素二酮、米托蒽醌、普卡霉素、放线菌素D、1-去氢睾酮、糖皮质激素、普鲁卡因、丁卡因、利多卡因、普萘洛尔、一甲基奥瑞他汀F(MMAF)、一甲基奥瑞他汀E(MMAE;例如,vedotin)和嘌呤霉素及其类似物或同系物)、抗代谢物(例如,甲氨蝶呤、6-巯基嘌呤、6-硫代鸟嘌呤、阿糖胞苷、5-氟尿嘧啶氮烯咪胺)、烷化剂(例如,氮芥、噻替派、苯丁酸氮芥、美法仑、**BiCNU®**(卡莫司汀;BSNU)和洛莫司汀(CCNU)、环磷酰胺(cyclophosphamide)、白消安、二溴甘露醇、链脲佐菌素、丝裂霉素C和顺二氯二胺合铂(II)(DDP)顺铂)、蒽环类抗生素(例如,柔红霉素(先前的道诺霉素)和多柔比星)、抗生素(例如,放线菌素D(先前的放线菌素)、博来霉素、普卡霉素和安曲霉素(AMC))或者抗有丝分裂剂(例如,长春新碱和长春碱)。

[0583] 将这些治疗部分缀合至抗体的技术是熟知的;参见,例如,Amon等人,“Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy”,in MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY,Reisfeld等人(主编),1985,243-56页,Alan R.Liss, Inc.);Hellstrom等人,“Antibodies For Drug Delivery”,in CONTROLLED DRUG DELIVERY(第2版),Robinson等人(主编),1987,623-53页,Marcel Dekker, Inc.);Thorpe, “Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy:A Review”,in MONOCLONAL ANTIBODIES’84:BIOLOGICAL AND CLINICAL APPLICATIONS,Pinchera等人(主编),1985,475-506页);“Analysis,Results,and Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy”,in MONOCLONAL ANTIBODIES FOR CANCER DETECTION AND THERAPY,Baldwin等人(主编),1985,303-16页,Academic Press;Thorpe等人,Immunol.Rev.62:119-158(1982);Carter等人,Cancer J.14(3):154-169(2008);Alley等人,Curr.Opin.Chem.Biol.14(4):529-537(2010);Carter等人,Amer.Assoc.Cancer Res.Educ.Book.2005(1):147-154(2005);Carter等人,Cancer J.14(3):154-169(2008);Chari,Acc.Chem Res.41(1):98-107(2008);Doronina等人,Nat.Biotechnol.21(7):778-784(2003);Ducry等人,Bioconj Chem.21(1):5-13(2010);Senter,Curr.Opin.Chem.Biol.13(3):235-244(2009);和Teicher,Curr Cancer Drug Targets.9(8):982-1004(2009)。

[0584] 在一些实施方式中,如本文所述的分子可以缀合至标志物,如肽,以有利于纯化。在一些实施方式中,所述标志物是六组氨酸肽、血球凝集素“HA”标签,其对应于来源于流感

血球凝集素蛋白的表位(Wilson, I.A. 等人, Cell, 37:767-778 (1984)), 或者“flag”标签(Knappik, A. 等人, Biotechniques 17(4):754-761 (1994))。

[0585] 在一些实施方式中, 所述部分可以是可以在测定中检测的成象剂。这些成象剂可以是酶、辅基、放射性标记、非放射性顺磁性金属离子、半抗原、荧光标记物、磷光分子、化学发光分子、发色团、发光分子、生物发光分子、光亲和分子、彩色颗粒或配体, 如生物素。

[0586] 在一些实施方式中, 所述酶包括(但不限于)辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶或乙酰胆碱酯酶; 所述辅基复合物包括(但不限于)抗生蛋白链菌素/生物素和抗生物素蛋白/生物素; 所述荧光物质包括(但不限于)伞形酮、荧光素、异硫氰酸荧光素、罗丹明、二氯三嗪胺荧光素、丹磺酰氯或藻红蛋白; 所述发光材料如(但不限于)鲁米诺; 所述生物发光材料包括(但不限于)荧光素酶、萤光素和水母发光蛋白; 所述放射性物质包括(但不限于)铋(^{213}Bi)、碳(^{14}C)、铬(^{51}Cr)、钴(^{57}Co)、氟(^{18}F)、钆(^{153}Gd 、 ^{159}Gd)、镓(^{68}Ga 、 ^{67}Ga)、锗(^{68}Ge)、钬(^{166}Ho)、铟(^{115}In 、 ^{113}In 、 ^{112}In 、 ^{111}In)、碘(^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{123}I 、 ^{121}I)、镧(^{140}La)、镱(^{177}Lu)、锰(^{54}Mn)、钼(^{99}Mo)、钯(^{103}Pd)、磷(^{32}P)、镨(^{142}Pr)、钷(^{149}Pm)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、铑(^{105}Rh)、钌(^{97}Ru)、钐(^{153}Sm)、钪(^{47}Sc)、硒(^{75}Se)、锶(^{85}Sr)、硫(^{35}S)、锝(^{99}Tc)、钛(^{201}Ti)、锡(^{113}Sn 、 ^{117}Sn)、氦(^3H)、氙(^{133}Xe)、镱(^{169}Yb 、 ^{175}Yb)、钇(^{90}Y)、锌(^{65}Zn); 使用多种正电子发射断层术的正电子发射金属, 和非放射性顺磁性金属离子。

[0587] 可以使用本领域中已知的技术将所述成象剂直接或通过中间产物(如(例如)本领域中已知的接头)间接缀合至具有抗原结合片段的分子。对于可以用作诊断剂的缀合至抗体及其它分子的金属离子, 参见, 例如, 美国专利No. 4,741,900。一些缀合方法包括使用(例如)连接至抗体的有机螯合剂, 如二乙烯三胺五乙酸酐(DTPA); 乙三胺四乙酸; N-氯-p-甲苯磺酰胺; 和/或四氯-3-6 α -二苯基甘脲-3的金属螯合物复合物的使用。单克隆抗体还可以在存在偶联剂, 如戊二醛或高碘酸盐的情况下与酶起反应。可以在存在这些偶联剂的情况下或者通过与异硫氰酸盐的反应制备具有荧光素标志物的缀合物。

[0588] 如本文所述的分子可以缀合至第二抗体以形成抗体异缀合物, 如通过Segal在美国专利No. 4,676,980中所述的。这些异缀合物抗体还可以结合至半抗原(例如, 荧光素), 或者细胞标志物(例如, 4-1-BB、B7-H4、CD4、CD8、CD14、CD25、CD27、CD40、CD68、CD163、CTLA4、GITR、LAG-3、OX40、TIM3、TIM4、TLR2、LIGHT、ICOS、B7-H3、B7-H7、B7-H7CR、CD70、CD47)或者细胞因子(例如, IL-7、IL-15、IL-12、IL-4TGF- β 、IL-10、IL-17、IFN γ 、Flt3、BLys)或者趋化因子(例如, CCL21)。

[0589] 如本文所述的分子可以连接至固体载体, 其可以用于靶标抗原或者能够通过结合至如本文所述的抗体或抗原结合片段结合至已固定化至载体的靶标抗原的其它分子的免疫测定或纯化。这些固体载体包括(但不限于)玻璃、纤维素、聚丙烯酰胺、尼龙、聚苯乙烯、聚氯乙烯或聚丙烯。

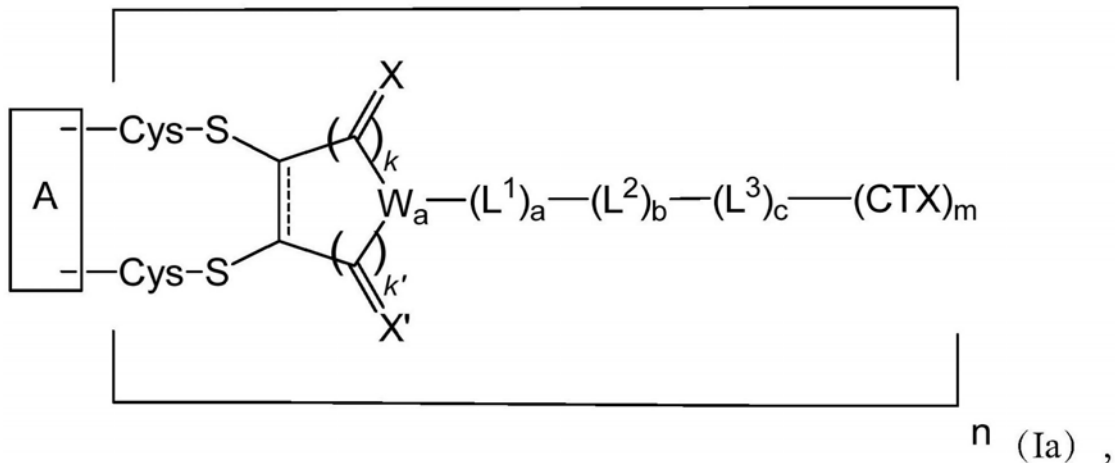
[0590] 本文还提供了编码具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体(例如, 糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的任何这些抗体、抗原结合片段和分子的核酸分子(DNA或者RNA)。本文还提供了能够转移或复制这些核酸分子的载体分子(如质粒)。所述核酸可以是单链、双链的并且可以含有单链和双链部分

[0591] 抗体-药物缀合物(ADC)

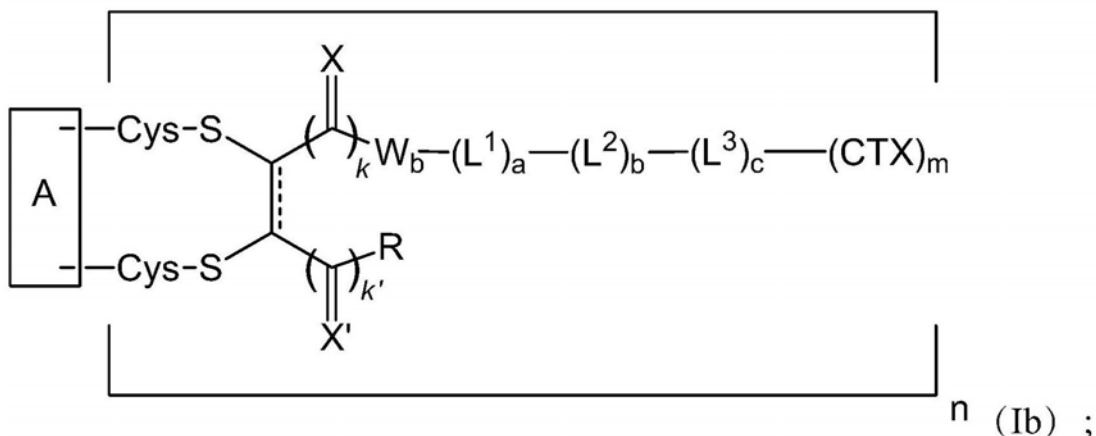
[0592] 本文所提供的分子可以导致BTN1A1向细胞的内化。本文还提供了包括本文所述的

任何抗-BTN1A1抗体的抗体-药物缀合物(ADC)。在具体的实施方式中,本文提供了具有STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781或其人源化变体作为抗体的ADC。

[0593] 在一些实施方式中,本文提供了抗体-药物缀合物,其包括以下化学式(Ia)和(Ib)所示的抗体-药物缀合物:



[0594]



[0595] 或其药物可用的盐;

[0596] 其中:

[0597] A是具有抗原结合片段的分子;

[0598] 两个所显示的半胱氨酸残基来自A中打开的半胱氨酸-半胱氨酸二硫键;

[0599] 每个X和X'独立地为O、S、NH或NR¹,其中R¹是C₁₋₆烷基;

[0600] W_a是=N-、=CH-、=CHCH₂-、=C(R²)-或=CHCH(R²)-;W_b是-NH-、-N(R¹)-、-CH₂-、-CH₂-NH-、-CH₂-N(R¹)-、-CH₂CH₂-、-CH(R²)-或-CH₂CH(R²)-;其中R¹和R²独立地为C₁₋₆烷基;

[0601] CTX是细胞毒素;

[0602] R是任何化学基团;或者R是不存在的;

[0603] 每个L¹、L²和L³独立地为接头,其选自-O-、-C(O)-、-S-、-S(O)-、-S(O)₂-、-NH-、-NCH₃-、-(CH₂)_q-、-NH(CH₂)₂NH-、-OC(O)-、-CO₂-、-NHCH₂CH₂C(O)-、-C(O)NHCH₂CH₂NH-、-NHCH₂C(O)-、-NHC(O)-、-C(O)NH-、-NCH₃C(O)-、-C(O)NCH₃-、-(CH₂CH₂O)_p-、-(CH₂CH₂O)_pCH₂CH₂-、-CH₂CH₂-(CH₂CH₂O)_p-、-OCH(CH₂O)₂-、(AA)_r-、环戊基、环己基、未取代的苯基(phenylenyl)

和被1或2个取代基取代的苯基(phenylenyl),所述取代基选自卤素、 CF_3 -、 CF_3O -、 CH_3O -、 $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OC}_{1-3}$ 烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{NH}$ -、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{O}$ -、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NHCH}_3$ 、 $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 和 C_{1-3} 烷基;

[0604] b和c分别独立地为0、1、2或3的整数,只要a、b或c中的至少一个为1;

[0605] 每个k和k'独立地为0或1的整数;

[0606] 每个p独立地为1至14的整数;

[0607] 每个q独立地为1至12的整数;

[0608] 每个AA独立地为氨基酸;

[0609] 每个r为1至12;

[0610] m为1至4的整数;

[0611] n为1至4的整数;和

[0612] =====键表示单键或双键。

[0613] 在化学式(Ib)所示的抗体-药物缀合物(ADC)的某些实施方式中,R选自 W 、 $(\text{L}^1)_a$ 、 $(\text{L}^2)_b$ 、 $(\text{L}^3)_c$ 、 Z 、 $\text{W}-(\text{L}^1)_a-(\text{L}^2)_b-(\text{L}^3)_c$ 、 $(\text{L}^1)_a-(\text{L}^2)_b-(\text{L}^3)_c-\text{Z}$ 和 $\text{W}-(\text{L}^1)_a-(\text{L}^2)_b-(\text{L}^3)_c-\text{Z}$,如本文所定义的。在某些实施方式中,R选自 W 、 $(\text{L}^1)_a$ 、 $(\text{L}^2)_b$ 、 $(\text{L}^3)_c$ 和 $\text{W}-(\text{L}^1)_a-(\text{L}^2)_b-(\text{L}^3)_c$ 。在某些实施方式中,R选自 Z 、 $(\text{L}^1)_a-(\text{L}^2)_b-(\text{L}^3)_c-\text{Z}$ 和 $\text{W}-(\text{L}^1)_a-(\text{L}^2)_b-(\text{L}^3)_c-\text{Z}$ 。

[0614] 在化学式(Ib)所示的抗体-药物缀合物(ADC)的某些实施方式中,R是可检测探针。在某些实施方式中,R是荧光团、发色团、放射性标记、酶、配体、抗体或抗体片段。在某些实施方式中,R是配体(例如,对肿瘤细胞上的受体特异的配体,如前列腺特异性膜抗原,或者病毒感染的细胞,如HIV感染的细胞)。

[0615] 在化学式(Ib)所示的抗体-药物缀合物(ADC)的某些实施方式中,R通过酰胺、N-(C_{1-6} 烷基)酰胺、氨基甲酸酯、N-(C_{1-6} 烷基)氨基甲酸酯、胺、N-(C_{1-6} 烷基)胺、醚、硫醚、脲、N-(C_{1-6} 烷基)脲或者N,N-二(C_{1-6} 烷基)脲键键合至接头分子的其余部分。

[0616] 在化学式(Ia)或(Ib)所示的抗体-药物缀合物(ADC)的某些实施方式中,每个 L^1 、 L^2 和 L^3 独立地选自 $-\text{NHC}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ 、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_p-$ 、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_p\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_p-$ 、 $-\text{OCH}(\text{CH}_2\text{O})_2-$ 、 $-(\text{AA})_r-$ 、未取代的苯基(phenylenyl)和被1或2个取代基取代的苯基(phenylenyl),所述取代基选自卤素、 CF_3 -、 CF_3O -、 CH_3O -、 $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OC}_{1-3}$ 烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{NH}$ -、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{O}$ -、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NHCH}_3$ 、 $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 和 C_{1-3} 烷基;其中a、b和c分别独立地为0或1;并且每个p和r独立地为1、2或3。在某些实施方式中, L^1 、 L^2 和 L^3 中的一个或多个为 $-(\text{AA})_r-$,其中 $-(\text{AA})_r-$ 为ValCit(例如,第一氨基酸为缬氨酸,第二氨基酸为瓜氨酸,并且r为1)。在某些实施方式中, L^1 、 L^2 和 L^3 中的一个或多个为 $-(\text{AA})_r-$,其中 $-(\text{AA})_r-$ 为ValAla(例如,第一氨基酸为缬氨酸,第二氨基酸为丙氨酸,并且r为1)。在某些实施方式中, L^1 、 L^2 和 L^3 中的一个或多个是被 $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ 和 $-\text{NH}_2$ 取代的苯基(phenylenyl)。在某些实施方式中, L^1 、 L^2 和 L^3 中的一个或多个是被 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 和 $-\text{NH}-$ 取代的苯基(phenylenyl)。在某些实施方式中, L^1 、 L^2 和 L^3 中的一个或多个是被 $-\text{OC}(\text{O})-$ 和 $-\text{NH}-$ 取代的苯基(phenylenyl)。在某些实施方式中, L^1 、 L^2 和 L^3 中的一个或多个是被 $-\text{O}-$ 和 $-\text{NH}-$ 取代的苯基(phenylenyl)。在某些实施方式中, L^1 、 L^2 和 L^3 中的一个或多个是对氨基苯甲基(PAB),其任选地被 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{OC}(\text{O})-$ 或者 $-\text{O}-$ 取代。在某些实施方式中, L^1 是 $-(\text{CH}_2)_q-$, L^2 是不存在的, L^3 是不存在的,并且CTX通过酰胺键键合至 $(\text{L}^1)_a-(\text{L}^2)_b-(\text{L}^3)_c$ 。在某些实施方式中, L^1 是 $-(\text{CH}_2)_q-$, L^2 是 $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p-$, L^3 是不存在的,并且CTX通过酰胺键键合至 $(\text{L}^1)_a-(\text{L}^2)_b-(\text{L}^3)_c$ 。在某些实施方式中, L^1 是 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_p-$, L^2 是

$(\text{CH}_2)_q-$, L^3 是不存在的,并且CTX通过酰胺键键合至 $(\text{L}^1)_a-(\text{L}^2)_b-(\text{L}^3)_c$ 。在某些实施方式中,每个 L^1 独立地选自 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_p\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 和 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_p-$, L^2 是不存在的, L^3 是不存在的,并且CTX通过酰胺键键合至 $(\text{L}^1)_a-(\text{L}^2)_b-(\text{L}^3)_c$ 。在某些实施方式中,每个 L^1 独立地选自 $-(\text{CH}_2)_q-$ 、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_p-$ 、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_p\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_p-$ 和 $-\text{C}(\text{O})-$, L^2 是Val-Cit, L^3 是PAB,并且CTX通过酰胺键键合至 $(\text{L}^1)_a-(\text{L}^2)_b-(\text{L}^3)_c$ 。在某些实施方式中,每个 L^1 独立地选自 $-(\text{CH}_2)_q-$ 、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_p-$ 、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_p\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_p-$ 和 $-\text{C}(\text{O})-$, L^2 是Val-Cit, L^3 是PAB,并且CTX通过酰胺键键合至 $(\text{L}^1)_a-(\text{L}^2)_b-(\text{L}^3)_c$ 。在某些实施方式中,每个 L^1 独立地选自 $-(\text{CH}_2)_q-$ 、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_p-$ 、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_p\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_p-$ 和 $-\text{C}(\text{O})-$, L^2 是Val-Ala, L^3 是PAB,并且CTX通过酰胺键键合至 $(\text{L}^1)_a-(\text{L}^2)_b-(\text{L}^3)_c$ 。

[0617] 在化学式(Ia)或(Ib)所示的抗体-药物缀合物(ADC)的某些实施方式中,CTX选自微管蛋白稳定剂、微管蛋白去稳定剂、DNA烷化剂、DNA小沟结合剂、DNA嵌入剂、拓扑异构酶I抑制剂、拓扑异构酶II抑制剂、促旋酶抑制剂、蛋白质合成抑制剂、蛋白体抑制剂和抗-代谢产物。

[0618] 在化学式(Ia)或(Ib)所示的抗体-药物缀合物(ADC)的某些实施方式中,所述CTX是化疗剂。本领域那些技术人员将了解如(例如)Chu, E., DeVite, V.T., 2012, Physicians' Cancer Chemotherapy Drug Manual 2012 (Jones&Bartlett Learning Oncology)以及类似文档中所公开的适当的化疗剂。

[0619] 在某些实施方式中,所述CTX可以是任何FDA-批准的化疗剂。在某些实施方式中,所述CTX可以是可用于癌症治疗的任何FDA-批准的化疗剂。

[0620] 在某些实施方式中,所述CTX选自烷化剂、蒽环类抗生素、细胞骨架破坏剂(紫杉烷)、埃博霉素、组蛋白去乙酰化酶抑制剂(HDAC)、拓扑异构酶I抑制剂、拓扑异构酶II抑制剂、激酶抑制剂、单克隆抗体、核苷酸类似物、肽抗生素、铂-基试剂、类视黄醇、长春花生物碱或其衍生物和放射性同位素。

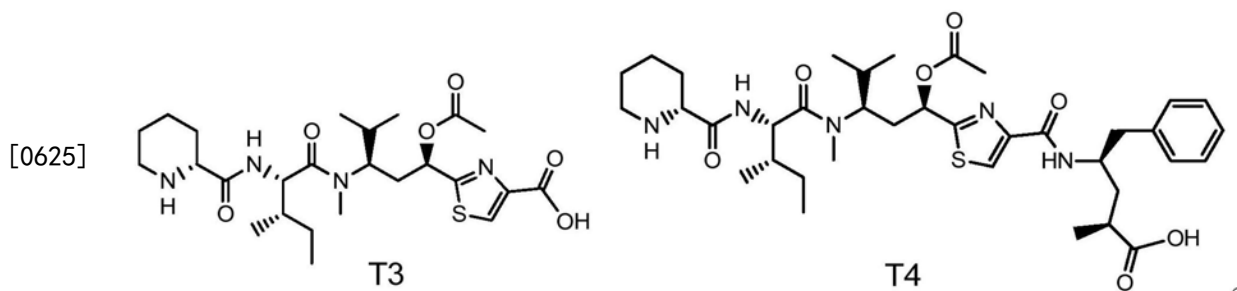
[0621] 在某些实施方式中,所述CTX选自放线菌素、全-反式视黄酸、阿扎胞苷、硫唑嘌呤、博来霉素、硼替佐米、卡铂、卡培他滨、顺铂、苯丁酸氮芥、环磷酰胺、阿糖胞苷、柔红霉素、多西他赛、去氧氟尿苷、多柔比星、表柔比星、埃博霉素、依托泊苷、氟尿嘧啶、吉西他滨、羟基脲、伊达比星、伊马替尼、伊立替康、氮芥、硫嘌呤、甲氨蝶呤、米托蒽醌、奥沙利铂、紫杉醇、培美曲唑、替尼泊苷、硫鸟嘌呤、拓扑替康、戊柔比星、长春碱、长春新碱、长春地辛和长春瑞滨。

[0622] 在某些实施方式中,所述CTX选自微管蛋白稳定剂、微管蛋白去稳定剂、DNA烷化剂、DNA小沟结合剂、DNA嵌入剂、拓扑异构酶I抑制剂、拓扑异构酶II抑制剂、促旋酶抑制剂、蛋白质合成抑制剂、蛋白体抑制剂和抗-代谢产物。

[0623] 在某些实施方式中,所述CTX选自放线菌素D、氨茶非特、奥瑞他汀、苯甲酮、苯并噻唑、卡里奇霉素(calicheamicin)、喜树碱、CC-1065 (NSC 298223)、西马多丁、秋水仙碱、考布他丁A4、尾海兔素、多柔比星、依利奈法德、美坦新(DM1)、依托泊苷、KF-12347 (雷纳霉素)、美登素、甲氨蝶呤、米托蒽醌、诺考达唑、蛋白体抑制剂1 (PSI 1)、杆孢菌素A、T-2毒素(单端孢霉烯类似物)、红豆杉醇、tubulysin、**Velcade®**和长春新碱。在某些实施方式中,所述CTX是奥瑞他汀、卡里奇霉素(calicheamicin)、美登素或tubulysin。

[0624] 在某些实施方式中,所述CTX是单甲基澳瑞他汀E (MMAE)、单甲基澳瑞他汀F

(MMAF)、吡咯并苯二氮卓(PDB)、卡里奇霉素(calicheamicin) γ 、美登素(mertansine)或者 tubulysin T2。在某些实施方式中,所述CTX是MMAE或MMAF。在某些实施方式中,所述CTX是PDB。在某些实施方式中,所述CTX是tubulysin T2。在某些实施方式中,所述CTX是 tubulysin T3或者tubulysin T4,以下提供了它们的结构:



[0626] 因此,本文所提供的缀合或融合蛋白可以包括本文所述的任何抗-BTN1A1抗体或者抗原结合片段。在一些实施方式中,本文所提供的缀合或融合蛋白包括如表2a-12b中的任一个中所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的VH或VL域。在一些实施方式中,本文所提供的缀合或融合蛋白不包括如表3a所示的鼠单克隆抗体STC810的VH或VL域。在一些实施方式中,本文所提供的缀合或融合蛋白包括如表2a-12b中的任一个中所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的VH和VL域两者。在一些实施方式中,本文所提供的缀合或融合蛋白不包括如表3a所示的鼠单克隆抗体STC810的VH和VL域两者。在一些实施方式中,本文所提供的缀合或融合蛋白包括具有如表2a-12b中的任一个中所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的VH CDR中的任一个的氨基酸序列的一个或多个VH CDR。在一些实施方式中,本文所提供的缀合或融合蛋白不包括具有如表3a所示的鼠单克隆抗体STC810的VH CDR中的任一个的氨基酸序列的一个或多个VH CDR。在一些实施方式中,缀合或融合蛋白包括具有如表2a-12b中的任一个中所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的VL CDR中的任一个的氨基酸序列的一个或多个VL CDR。在一些实施方式中,缀合或融合蛋白不包括具有如表3a所示的鼠单克隆抗体STC810的VL CDR中的任一个的氨基酸序列的一个或多个VL CDR。在一些实施方式中,本文所提供的缀合或融合蛋白包括如表2a-12b中的任一个中所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的至少一个VH CDR和至少一个VL CDR。在一些实施方式中,本文所提供的缀合或融合蛋白不包括如表3b所示的鼠单克隆抗体STC810的至少一个VH CDR和至少一个VL CDR。

[0627] 在一些实施方式中,所提供的缀合或融合蛋白可以包括(例如,以剂量-依赖性方式)竞争性阻断本文所述的BTN1A1表位的抗原结合片段。所述BTN1A1表位可以是STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的表位。在一些实施方式中,所述BTN1A1表位不是STC810的表位。在一些实施方式中,所提供的缀合或融合蛋白可以包括免疫特异性结合至如本文所述的BTN1A1抗体表位的抗原结合片段。所述BTN1A1表位可以是STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、

STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的表位。在一些实施方式中,所述表位不是STC810的表位。

[0628] 5.3组合物

[0629] 本文还提供了具有分子的组合物,所述分子具有免疫特异性结合至BTN1A1(包括糖基化BTN1A1或者二聚体BTN1A1)的抗原结合片段。在一些实施方式中,所述分子不包括包含如表3a和3b所示的单克隆抗体STC810的VH域、VL域、VH CDR1、VH CDR3、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2或VL CDR3的抗原结合域。在一些实施方式中,所述分子不是STC810。在一些实施方式中,所述组合物具有抗-BTN1A1抗体(包括抗-糖基化BTN1A1抗体和抗-BTN1A1二聚体抗体)。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在N55、N215和/或N449位置处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N215处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至一个或多个糖基化基序。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55和N215处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N215和N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55和N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55、N215和/或N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至BTN1A1二聚体,例如,在BTN1A1二聚体中的BTN1A1单体中的一个或多个的位置N55、N215和N449的一个或多个处糖基化的BTN1A1二聚体。

[0630] 在一些实施方式中,本文提供了具有分子的组合物,所述分子具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段,其中相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,所述糖基化BTN1A1是BTN1A1二聚体。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合至在位置N55、N215和/或N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合至在位置N55处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合至在位置N215处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合至在位置N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段优先结合至糖基化基序中的一个或多个。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合在位置N55和N215处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合至在位置N215和N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合至在位置N55和N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合至在位置N55、N215和N449处糖基化的BTN1A1。

[0631] 在一些实施方式中,所述本文提供的组合物包括具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子,其中相对于BTN1A1单体,所述抗原结合片段优先结合BTN1A1二聚体。在一些实施方式中,BTN1A1二聚体在BTN1A1二聚体中的BTN1A1单体中的一个或多个的一个或多个位置N55、N215和N449处糖基化。在一些实施方式中,所述组合物配制用于肠胃外(例如,皮内、肌内、腹膜内、静脉内和皮下)施用。在一些实施方式中,所述分子不包括包含如表

3a和3b所示的单克隆抗体STC810的VH域、VL域、VH CDR1、VH CDR3、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2或VL CDR3的抗原结合域。在一些实施方式中,所述分子不是STC810。

[0632] 在一些实施方式中,所述抗原结合片段以小于相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 的一半的 K_D 结合至糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以比相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 小至少2倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍或至少50倍的 K_D 结合至糖基化的BTN1A1。

[0633] 在一些实施方式中,所述抗原结合片段以小于相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的 K_D 的一半的 K_D 结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以比相对于所述BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的 K_D 小至少2倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍或至少50倍的 K_D 结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。

[0634] 在一些实施方式中,所述抗原结合片段以相对于未糖基化的BTN1A1所显示的MFI至少2倍的MFI结合至糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以相对于未糖基化的BTN1A1所显示的MFI的至少2倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍或至少50倍的MFI结合至糖基化的BTN1A1。

[0635] 在一些实施方式中,所述抗原结合片段以相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的MFI的至少2倍的MFI结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的MFI的至少2倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍或至少50倍的MFI结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。

[0636] 在另一个方面,本文提供了具有分子的组合物,所述分子具有免疫特异性掩蔽位置N55、N215和/或N449处的BTN1A1糖基化的抗原结合片段。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N55处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N215处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N449处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽BTN1A1的一个或多个糖基化基序。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N55和N215处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N215和N449处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N55和N449处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N55、N215和N449处的BTN1A1糖基化。

[0637] 在一些实施方式中,所述组合物可以具有分子,所述分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段包括如表2a-12b所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的VH或VL域。在一些实施方式中,所述组合物可以具有分子,所述分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段包括如表2a-12b所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的VH和VL域两者。在一些实施方式中,所述组合物可以具有分子,所述分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段包括具有如表2a-12b所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的VH CDR中的任一个的氨基酸序列的一个或多个VH

CDR。在另一个实施方式中,所述组合物可以具有分子,所述分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段包括具有如表2a-12b所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的VL CDR中的任一个的氨基酸序列的一个或多个VL CDR。在另一个实施方式中,所述组合物可以具有分子,所述分子具有抗原结合片段,所述抗原结合片段包括如表2a-12b所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的至少一个VH CDR和至少一个VL CDR。在一些实施方式中,所述分子不包括包含如表3a和3b所示的单克隆抗体STC810的VH域、VL域、VH CDR1、VH CDR3、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2或VL CDR3的抗原结合域。在一些实施方式中,所述分子不是STC810。

[0638] 在一些实施方式中,所述组合物可以具有分子,所述分子具有(例如,以剂量-依赖性方式)竞争性阻断本文所述的抗-BTN1A1抗体,如STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的BTN1A1表位的抗原结合片段。在一些实施方式中,所述组合物可以具有分子,所述分子具有免疫特异性结合至本文所述的抗-BTN1A1抗体,如STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的表位的抗原结合片段。

[0639] 在一些实施方式中,所述组合物可以具有至少0.1wt%的如本文所述的抗体或其它分子。在一些实施方式中,所述组合物可以具有按重量计至少0.5%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或以上的具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的抗-BTN1A1抗体或其它分子。在其它实施方式中,例如,具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的抗-BTN1A1抗体或其它分子可以占所述组合物重量的约2%至约75%,约25%至约60%,约30%至约50%或者其中的任何范围。

[0640] 所述组合物可以是药物组合物,其具有作为活性成分以及药物可用的载体的具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的抗-BTN1A1抗体或其它分子。所述药物组合物还可以包含一种或多种其它活性成分。药物可用的载体可以是联邦或州政府管理机构批准的载体,或者美国药典、欧洲药典或其它通常承认的药典中所列的在动物,并且更具体地在人使用的载体。

[0641] 根据本发明公开,作为活性成分具有如本文所述的抗体或其它分子的药物组合物的制备是本领域技术人员已知的,如通过Remington's Pharmaceutical Sciences,第18版,1990中所举例说明的,其作为参考并入本文。此外,对于动物(包括人)施用,应理解制剂应满足FDA生物标准局所要求的无菌、热原性、一般安全性和纯度标准。

[0642] 药物可用的载体包括液体、半固体,即糊状或固体载体。载体或稀释剂的实例包括脂肪、油剂、水、盐溶液、脂质、脂质体、树脂、粘结剂、填充剂等或其组合。药物可用的载体可以包括水溶剂(例如,水、醇/水溶液、乙醇、盐溶液、肠胃外媒介物,如氯化钠,林格氏葡萄糖等)、非水溶剂(例如,丙二醇、聚乙二醇、植物油和可注射有机酯,如油酸乙酯)、分散媒介、涂层(例如,卵磷脂)、表面活性剂、抗氧化剂、防腐剂(例如,抗菌或抗真菌剂、抗-氧化剂、螯合剂、惰性气体、对羟苯甲酸(例如,羟苯甲酯、羟苯丙酯)、氯代丁醇、苯酚、山梨酸、硫柳汞)、等张剂(例如,糖、氯化钠)、吸收延迟剂(例如,单硬脂酸铝、明胶)、盐、药物、药物稳定剂(例如,缓冲剂、氨基酸,如甘氨酸和赖氨酸、碳水化合物,如葡萄糖、甘露糖、半乳糖、果

糖、乳糖、蔗糖、麦芽糖、山梨糖醇、甘露糖醇等)、凝胶剂、粘结剂、赋形剂、崩解剂、润滑剂、甜味剂、调味剂、染料、流体和营养补充剂,这类材料及其组合,如本领域的技术人员将已知的。除非任何常规培养基、试剂、稀释剂或载体对受体或对其中所含的组合物的疗效有害,否则其在用于实践所述方法的可施用组合物中的使用是适当的。根据熟知参数,调整药物组合物中多种组分的pH和确切浓度。根据本发明公开的某些方面,所述组合物可以与载体以任何方便和实际的方式,即通过溶液、混悬液、乳液、混合物、包封、吸收、碾磨等混合。这些程序对于本领域技术人员是常规的。

[0643] 在一些实施方式中,药物可用的载体可以是pH缓冲的水溶液。实例包括缓冲液,如磷酸盐、柠檬酸盐及其它有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸;低分子量((例如,小于约10个氨基酸残基)多肽;蛋白,如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水聚合物,如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,如甘氨酸、谷氨酰胺、天门冬酰胺、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖及其它碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂,如EDTA;糖醇,如甘露糖醇或山梨糖醇;盐-形成反离子,如钠;和/或非离子型表面活性剂,如TWEENTM,聚乙二醇(PEG)和PLURONICSTM。

[0644] 在一些实施方式中,药物可用的载体可以是无菌液体,如水和油剂,包括石油、动物、植物或合成来源的那些,如花生油、豆油、矿物油、芝麻油等。水可以是载体,具体地当静脉内施用所述药物组合物时。盐溶液以及葡萄糖和甘油水溶液也可以用作液体载体,具体地用于可注射溶液。适合的药物赋形剂包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、水稻、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、脱脂奶粉、甘油、丙烯、乙二醇、水、乙醇、聚山梨醇酯-80等。所述组合物还可以含有少量润湿剂或乳化剂,或者pH缓冲剂。这些组合物可以采取溶液、混悬液、乳液、片剂、丸剂、胶囊剂、粉剂、缓释制剂等的形式。

[0645] 根据它是以固体、液体还是气溶胶形式施用,以及它对于施用途径,如注射是否需要是无菌的,本发明公开的某些实施方式可以具有不同类型的载体。可以将所述组合物配制用于静脉内、皮内、经皮、鞘内、动脉内、腹膜内、鼻内、阴道内、直肠内、肌内、皮下、粘膜、口服、局部、局部、通过吸入(例如,喷雾)、通过注射、通过输注、通过连续输注、通过直接经由导管、经由灌洗、在脂质组合物(例如,脂质体)中或者通过其它方法的局部灌注靶细胞浴(localized perfusion bathing target cells)或者如本领域的技术人员将已知的任何上述组合(参见,例如,Remington's Pharmaceutical Sciences,第18版,1990,其作为参考并入本文)的施用。通常,这些组合物可以制备为液体溶液或混悬液;还可以制备适合于用于在注射前,通过添加液体来制备溶液或混悬液的固体形式;和还可以使所述制剂乳化。

[0646] 具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的抗-BTN1A1抗体或其它分子可以配制成游离碱、中性或盐形式的组合物。药物可用的盐包括酸加成盐,例如,与蛋白质组成的游离氨基所形成的那些或者与无机酸,如(例如)盐酸或磷酸,或者如乙酸、草酸、酒石酸或扁桃酸的有机酸所形成的那些。与游离羧基所形成的盐还可以来源于无机碱,如(例如)氢氧化钠、钾、铵、钙或铁;或者如异丙胺、三甲胺、2-乙基氨基乙醇、组氨酸或普鲁卡因的有机碱。

[0647] 在其它实施方式中,本文提供了具有脂质的药物组合物。脂质可以广泛地包括其特征在于不溶于水并且用有机溶剂可提取的一类物质。实例包括含有长链脂肪族烃和它们的衍生物的化合物。脂质可以是天然存在的或合成的(即,通过人设计或产生的)。脂质可以是生物物质。生物脂质在本领域中是熟知的,并且包括(例如)中性脂、磷脂、磷酸甘油酯、类

固醇、鞘烯、溶血脂 (lysolipids)、鞘糖脂、糖脂、硫脂、具有醚-和酯-连接的脂肪酸的脂质、可聚合脂质及其组合。还可以使用本领域技术人员理解为脂质的除本文具体所述的那些以外的化合物。

[0648] 本领域的技术人员将熟悉可以用于在脂质媒介物中分散组合物的技术范围。例如,抗体可以分散在含有脂质的溶液中,通过脂质溶解,通过脂质乳化,与脂质混合,与脂质组合,共价键键合到脂质,作为混悬液包含在脂质中,包含或与胶束或脂质体复合,或者另外通过本领域那些技术人员已知的任何方式与脂质或脂质结构结合。所述分散体可以或不导致脂质体的形成。

[0649] 通常,单独提供组合物的成分或者将其在指明活性剂的量的密闭容器(如安瓿瓶或袋(sachette))中以单位剂量形式混合在一起,例如,作为干燥的冷冻干燥粉末或者无水浓缩物。当通过输注施用所述组合物时,可以通过含有无菌药物级水或盐水的输液瓶进行分配。当通过注射施用所述组合物时,可以提供无菌注射用水或盐水的安瓿瓶,从而可以在施用前混合所述成分。

[0650] 可以制备每个治疗有用的组合物中的活性成分的量,以这种方式使得将在任何给定单位化合物剂量中获得适合的剂量。制备这些药物制剂的本领域技术人员可以考虑因素,如溶解度、生物利用率、生物半衰期、施用途径、产品货架期以及其它药理学考虑,并且照此,多种剂量和治疗方案可以是所期望的。

[0651] 单位剂量是指适合于在受试者中使用的物理分散单元,每个单元含有预定量的计算以产生以上所讨论的与其施用,即适当的途径和治疗方案有关的所期望的药物的组合物。根据治疗次数和单位剂量,要施用的量取决于所期望的效果。可以通过物理和生理学因素,如受试者的体重、年龄、健康和性别、要治疗的疾病类型、疾病渗透程度、先前或同时治疗干预、患者的特发病、施用途径以及具体治疗物质的效力、稳定性和毒性来确定施用于患者或受试者的本发明实施方式的组合物的实际剂量。在其它非限制性实例中,剂量可以具有每次施用约1微克/kg/体重、约5微克/kg/体重、约10微克/kg/体重、约50微克/kg/体重、约100微克/kg/体重、约200微克/kg/体重、约350微克/kg/体重、约500微克/kg/体重、约1毫克/kg/体重、约5毫克/kg/体重、约10毫克/kg/体重、约50毫克/kg/体重、约100毫克/kg/体重、约200毫克/kg/体重、约350毫克/kg/体重、约500毫克/kg/体重至约1000毫克/kg/体重或以上以及其中可获得的任何范围。在从本文所列数量可获得的范围的非限制性实例中,基于如上所述的重量,可以施用约5毫克/kg/体重至约100毫克/kg/体重,约5微克/kg/体重至约500毫克/kg/体重等的范围。在任何情况下,负责施用的开业医生将确定用于个体受试者的组合物和适当剂量中的活性成分的浓度。

[0652] 如本领域的常规技术人员将理解的,本文所述的组合物不受治疗制剂的具体性质的限制。例如,可以与生理学耐受的液体、凝胶或固体载体、稀释剂和赋形剂一起在制剂中提供这些组合物。可以将这些治疗制剂施用于哺乳动物,如家畜以用于兽医使用,和以类似于其它治疗剂的方式用于人中的临床使用。一般地,根据使用类型和施用模式以及个体受试者的特殊要求,治疗效力所需的剂量是不同的。可以通过物理和生理学因素,如体重、病况的严重程度、要治疗的疾病类型、先前或同时的治疗干预、患者的特发病和施用途径来确定施用于动物患者,包括人患者的组合物的实际剂量。基于施用剂量和途径,优选的剂量和/或有效量的施用次数可以根据受试者的反应而不同。在任何情况下,负责施用的开业医

生将确定用于个体受试者的组合物和适当剂量中的活性成分的浓度。

[0653] 在另一个方面,本文提供了配制用于肠胃外施用的组合物,其包括具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子(例如,抗-BTN1A1抗体),其中相对于BTN1A1单体,所述抗原结合片段优先结合BTN1A1二聚体。在一些实施方式中,BTN1A1二聚体在BTN1A1二聚体中的一个或多个BTN1A1单体中的位置N55、N215和N449中的一个和多个处糖基化。在一些实施方式中,所述组合物用于皮内、肌内、腹膜内、静脉内或皮下施用。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以小于相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的 K_D 的一半的 K_D 结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以比相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的 K_D 小至少2倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍或至少50倍的 K_D 结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的MFI至少2倍的MFI结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的MFI的至少2倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍或至少50倍的MFI结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。

[0654] 5.4治疗性用途和治疗方法

[0655] 在癌细胞中特异性且高度表达BTN1A1。在一些实施方式中,本文提供了具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或者BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的分子中癌症治疗中的治疗性用途。在一些实施方式中,这些分子结合至BTN1A1-表达癌细胞并且诱导免疫应答,从而导致这些癌细胞的破坏。本文所提供的分子,包括抗-BTN1A1抗体(例如,STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或者STC2781或其人源化变体)可以提高癌细胞的T细胞依赖性细胞凋亡,激活CD8+T细胞并且抑制癌细胞扩散。在一些实施方式中,所述分子不包括包含如表3a和3b所示的单克隆抗体STC810的VH域、VL域、VH CDR1、VH CDR3、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2或VL CDR3的抗原结合域。在一些实施方式中,所述分子不是STC810。

[0656] 本文所提供的具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子,包括抗-BTN1A1抗体(例如,STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或者STC2781或其人源化变体)可以导致BTN1A1向溶酶体的内化。因此,本文还提供了通过将细胞与缀合了化合物的本文所提供的分子接触,使用本文所提供的分子来将所述化合物递送至表达BTN1A1的细胞的方法。所述化合物可以是如本文所述的显象剂、治疗剂、毒素或放射性核素。所述化合物可以缀合抗-BTN1A1抗体。所述缀合物可以是如本文所述的任何缀合物,如ADC。所述细胞可以是癌细胞。所述细胞也可以是包括癌细胞和正常细胞两者的细胞群体。由于癌细胞特异性且高度表达BTN1A1,因此本文所述的分子可以用于实现药物向癌细胞而不是正常细胞的特异性递送。

[0657] 本文所提供的具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子,包括抗-BTN1A1抗体(例如,STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或者STC2781或其人源化变体)可以调节受试者中的免疫应答。本文所提供的分子可以促进T细胞激活。本文所提供的分子可以促进T细胞增殖。本文所提供的分子

可以提高细胞因子的产生。本文所提供的分子还可以提高表达BTN1A1的细胞的T细胞依赖性细胞凋亡或者抑制表达BTN1A1的细胞的增殖。

[0658] 因此,通过施用有效量的本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子,包括抗-BTN1A1抗体(例如,STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781,或其人源化变体),本文提供了调节受试者中免疫应答的方法。调节免疫应答可以包括(a)提高T细胞激活(例如,CD8+T细胞激活);(b)提高T细胞增殖;和/或(c)提高细胞因子的产生。

[0659] 本文还提供了通过将细胞与有效量的本文所述的免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子,包括抗-BTN1A1抗体(例如,STC703、STC810、STC820、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781,或其人源化变体)接触,提高表达BTN1A1的细胞的T细胞依赖性细胞凋亡的方法。本文还提供了通过将细胞与有效量的本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子,包括抗-BTN1A1抗体(例如,STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781,或其人源化变体)接触,抑制表达BTN1A1的细胞的增殖的方法。所述细胞可以是癌细胞。

[0660] 在一些实施方式中,这些分子可以通过抑制BTN1A1在T细胞激活或增殖中的抑制活性来用于治疗癌症。因此,本文提供了这些分子通过抑制或阻断BTN1A1信号转导在上调受试者的免疫系统中的使用。在一些实施方式中,本文提供了这些分子在阻断BTN1A1结合T细胞中的使用。

[0661] 在一些实施方式中,这些分子通过ADCC或CDC机制导致癌细胞破坏。在一些实施方式中,这些分子工程设计以具有提高的ADCC活性。在一些实施方式中,这些分子工程设计以具有提高的CDC活性。例如,这些分子可以工程设计以具有提高的与具有Fc受体的杀伤细胞的相互作用。本文描述了产生这些工程分子,包括工程抗体或Fc-融合蛋白的方法,并且这些方法在本领域中也是已知的。

[0662] 在一些实施方式中,本文提供了具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的分子,包括抗-BTN1A1抗体、抗-糖基化BTN1A1抗体和抗-BTN1A1二聚体抗体对于治疗过表达BTN1A1的受试者中的疾病或病症的使用。在一些实施方式中,受试者中BTN1A1的表达水平高于参考水平。所述参考水平可以是健康个体群体中BTN1A1的平均或中值表达水平。还可以通过样品群体表达水平的统计分析确定参考水平。

[0663] 本文还提供了具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体的抗原结合片段的分子,包括抗-BTN1A1抗体、抗-糖基化BTN1A1抗体和抗-BTN1A1二聚体抗体的治疗性用途。在一些实施方式中,所述分子具有免疫特异性结合至糖基化BTN1A1的抗原结合片段。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在N55、N215和/或N449位置处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N215处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至一个或多个糖基化基序。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55和N215处

糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N215和N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55和N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55、N215和/或N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至BTN1A1二聚体,例如,在BTN1A1二聚体中的BTN1A1单体中的一个或多个的位置N55、N215和N449的一个或多个处糖基化的BTN1A1二聚体。

[0664] 在一些实施方式中,本文提供了具有相对于未糖基化的BTN1A1,优先结合糖基化BTN1A1的抗原结合片段的分子的治疗性用途。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合至在位置N55、N215和/或N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合至在位置N55处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合至在位置N215处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合至在位置N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段优先结合至糖基化基序中的一个或多个。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合在位置N55和N215处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合至在位置N215和N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合至在位置N55和N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合在位置N55、N215和N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述糖基化BTN1A1是BTN1A1二聚体。

[0665] 在一些实施方式中,本文提供了具有相对于BTN1A1单体,优先结合BTN1A1二聚体的抗原结合片段的分子的治疗性用途。在一些实施方式中,BTN1A1二聚体在BTN1A1二聚体中的BTN1A1单体中的一个或多个的一个或多个位置N55、N215和N449处糖基化。

[0666] 在一些实施方式中,所述抗原结合片段以小于相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 的一半的 K_D 结合至糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以比相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 小至少2倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍或至少50倍的 K_D 结合至糖基化的BTN1A1。

[0667] 在一些实施方式中,所述抗原结合片段以小于相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的 K_D 的一半的 K_D 结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以比相对于所述BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的 K_D 小至少2倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍或至少50倍的 K_D 结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。

[0668] 在一些实施方式中,所述抗原结合片段以相对于未糖基化的BTN1A1所显示的MFI至少2倍的MFI结合至糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以相对于未糖基化的BTN1A1所显示的MFI的至少2倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍或至少50倍的MFI结合至糖基化的BTN1A1。

[0669] 在一些实施方式中,所述抗原结合片段以相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的MFI的至少2倍的MFI结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显

示的MFI的至少2倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍或至少50倍的MFI结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。

[0670] 在一些实施方式中,本文提供了具有免疫特异性掩蔽位置N55、N215和/或N449处的BTN1A1糖基化的抗原结合片段的分子的治疗性用途。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N55处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N215处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N449处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽BTN1A1的一个或多个糖基化基序。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N55和N215处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N215和N449处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N55和N449处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性地掩蔽位置N55、N215和N449处的BTN1A1糖基化。

[0671] 在一些实施方式中,本文提供了具有抗原结合片段的分子的治疗性用途,所述抗原结合片段包括如表2a-12b所显示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012或STC11029的VH或VL域。在一个实施方式中,所述分子可以具有包括如表2a-12b所显示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的VH和VL域两者的抗原结合片段。在另一个实施方式中,本文提供了具有抗原结合片段的分子的治疗性用途,所述抗原结合片段包括具有如表2a-12b所显示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的VH CDR中的任一个的氨基酸序列的一个或多个VH CDR。在另一个实施方式中,所述分子可以具有包括具有如表2a-12b所显示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的VL CDR中的任一个的氨基酸序列的一个或多个VL CDR的抗原结合片段。在另一个实施方式中,所述分子可以具有包括如表2a-12b所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的至少一个VH CDR和至少一个VL CDR的抗原结合片段。

[0672] 在一些实施方式中,本文提供了具有(例如,以剂量-依赖性方式)竞争性阻断本文所述的BTN1A1表位的抗原结合片段的分子的治疗性用途。所述BTN1A1表位可以是STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的表位。在一些实施方式中,本文提供了具有免疫特异性结合至本文所述的BTN1A1抗体的BTN1A1表位的抗原结合片段的分子的治疗性用途。所述BTN1A1表位可以是STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的表位。

[0673] 5.4.1. 疾病和病症

[0674] 在一些实施方式中,本文提供了抗体或其它分子介导细胞因子,如IFN- γ 的产量增加的使用。因此,本文提供了这些抗体或其它分子在可以用细胞因子治疗的疾病和病况,如卵巢癌及其它形式的癌的治疗中的使用。在一些实施方式中,本文提供了抗体及其它分子在介导提高的T细胞(例如,CD8⁺T细胞)活性或增殖中的使用。因此,在一些实施方式中,提供了这些抗体及其它分子在通过提高T细胞活性或增殖可治疗的疾病和病况,如癌症的

治疗中的使用。在一些实施方式中,本文提供了如本文所述的抗体或其它分子介导提高的T细胞活性和提高的T细胞增殖的使用。

[0675] 在癌症的治疗中免疫系统的上调是特别希望的。另外,在癌细胞中特异性且高度表达了BTN1A1。本文所述的分子还可以结合至癌细胞并且通过直接细胞毒性,或者通过ADCC或CDC机制导致它们破坏。因此,本文提供了癌症治疗的方法。癌症是指由于细胞的异常不受控制的生长所造成的赘生物或肿瘤。癌症可以是原发癌或转移性癌。

[0676] 在一些实施方式中,本文提供了通过施用具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的分子来治疗受试者中癌症的方法。治疗方法可以对其有用的癌症包括任何恶性细胞类型,如实体瘤或血液学癌症中存在的那些。示例性实体瘤包括(但不限于)选自胰脏、结肠、盲肠、食管、胃、脑、头、颈、甲状腺、胸腺、卵巢、肾、喉、肉瘤、肺、膀胱、黑素瘤、前列腺和乳腺的器官的肿瘤。示例性的血液学癌症包括(但不限于)骨髓肿瘤、T或B细胞恶性肿瘤、白血病、淋巴瘤、胚细胞瘤、骨髓瘤等。

[0677] 可以使用本文所提供的方法治疗的癌症的其它实例包括(但不限于)癌瘤、淋巴瘤、胚细胞瘤、肉瘤、白血病、鳞状细胞癌、肺癌(包括小-细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌和肺鳞状癌、间皮瘤)、腹膜癌、肝细胞癌、胃或胃癌(包括胃肠癌和胃肠基质癌)、食道癌、胰腺癌、成胶质细胞瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、乳腺癌、结肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜或子宫癌、唾液腺癌、肾或肾癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、多种类型的头颈癌、黑素瘤、浅表分布的黑素瘤、雀斑痣样恶性黑素瘤、肢端雀斑痣样黑素瘤、结节性黑素瘤、葡萄膜黑素瘤、生殖细胞肿瘤(卵黄囊瘤、睾丸癌、绒毛膜癌)和B细胞淋巴瘤(包括低级/滤泡性非霍奇金淋巴瘤(NHL);小淋巴细胞(SL)NHL;中级/滤泡性NHL;中级扩散性NHL;高级成免疫细胞NHL;高级成淋巴细胞NHL;高级小无核裂细胞NHL;贮积病NHL;外套细胞淋巴瘤;AIDS-相关淋巴瘤;和华氏巨球蛋白血症)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、急性淋巴母细胞性白血病(ALL)、毛细胞白血病、多发性骨髓瘤、急性髓细胞性白血病(AML)和慢性髓细胞白血病。

[0678] 所述癌症还可以具有任何以下组织学类型:恶性赘生物;癌;未分化的癌;巨细胞和梭形细胞癌;小细胞癌;乳头状癌;鳞状细胞癌;淋巴上皮癌;基底细胞癌;毛母质癌;转移细胞癌;乳头状转移细胞癌;腺癌;恶性胃泌素瘤;肝胆管型肝癌;肝细胞癌;混合的肝细胞癌和肝胆管型肝癌;小梁腺癌;腺样囊性癌;腺瘤性息肉中的腺癌;家族性结肠息肉病的腺癌;实体癌;恶性类癌瘤;细支气管-肺泡腺癌;乳头状腺癌;嫌色细胞癌;嗜酸细胞癌;嗜酸腺癌;嗜碱细胞癌;透明细胞腺癌;颗粒细胞癌;滤泡状腺癌;乳头状和滤泡状腺癌;非包裹性硬化型癌;肾上腺皮质癌;子宫内膜样癌;皮肤附属器癌;大汗腺腺癌;皮脂腺癌;汗腺腺癌;粘液表皮样癌;囊腺癌;乳头状囊腺癌;乳头状浆液性囊腺癌;粘液性囊腺癌;粘液腺癌;印戒细胞癌;浸润性导管癌;髓样癌;小叶癌;炎性癌;乳腺派杰氏病;腺泡细胞癌;腺鳞癌;腺癌伴鳞状上皮化生;恶性胸腺瘤;恶性卵巢间质肿瘤;恶性泡膜细胞瘤;恶性粒层细胞瘤;恶性塞托利细胞癌;支持细胞癌;恶性睾丸非生殖细胞瘤;恶性脂质细胞肿瘤;恶性副神经节瘤;恶性乳腺外副神经节瘤;嗜铬细胞瘤;血管球肉瘤;恶性黑素瘤;无黑素性黑素瘤;浅表扩张性黑素瘤;巨大色素痣内恶性黑素瘤;上皮样细胞黑素瘤;恶性蓝痣;肉瘤;纤维肉瘤;恶性纤维组织细胞瘤;粘液肉瘤;脂肉瘤;平滑肌肉瘤;横纹肌肉瘤;胚胎性横纹肌肉瘤;腺泡性横纹肌肉瘤;间质肉瘤;恶性混合瘤;苗勒混合瘤;肾胚细胞瘤;肝胚细胞瘤;癌肉瘤;

恶性间充质瘤；恶性卵巢纤维上皮瘤；恶性叶状肿瘤；滑膜肉瘤；恶性间皮瘤；无性细胞瘤；胚胎性癌；恶性畸胎瘤；恶性卵巢甲状腺瘤；绒毛膜癌；恶性中肾瘤；血管肉瘤；恶性血管内皮细胞瘤；卡波西肉瘤；恶性血管外皮细胞瘤；淋巴管肉瘤；骨肉瘤；皮质旁骨肉瘤；软骨肉瘤；恶性成软骨细胞瘤；间充质型软骨肉瘤；骨巨细胞瘤；尤因肉瘤；恶性牙源性肿瘤；成釉细胞牙肉瘤；恶性成釉细胞瘤；成釉细胞纤维肉瘤；恶性松果体瘤；脊索瘤；恶性神经胶质瘤；室管膜瘤；星形细胞瘤；原浆性星形细胞瘤；纤维性星形细胞瘤；成星形细胞瘤；成胶质细胞瘤；寡枝神经胶质细胞瘤；成少突神经胶质细胞瘤；原始神经外胚层；小脑肉瘤；节细胞神经母细胞瘤；成神经细胞瘤；成视网膜细胞瘤；嗅神经原发性肿瘤；恶性脑膜瘤；神经纤维肉瘤；恶性神经鞘瘤；恶性颗粒细胞肿瘤；恶性淋巴瘤；霍奇金病；霍奇金淋巴瘤；类肉芽肿；小淋巴细胞恶性淋巴瘤；弥漫性大细胞恶性淋巴瘤；滤泡性恶性淋巴瘤；蕈样肉芽肿病；其它规定的非霍奇金淋巴瘤；恶性组织细胞增多症；多发性骨髓瘤；肥大细胞肉瘤；免疫增生性小肠疾病；白血病；淋巴细胞白血病；浆细胞白血病；红白血病；淋巴瘤细胞白血病；髓细胞白血病；嗜碱细胞白血病；嗜酸细胞白血病；单核细胞白血病；肥大细胞白血病；巨核细胞白血病；髓系肉瘤；和毛细胞白血病。

[0679] 在一些实施方式中，本文提供了通过施用本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体（例如，糖基化BTN1A1二聚体）的抗原结合片段的分子来治疗受试者中癌症的方法，其中所述癌症是肺癌、前列腺癌、胰癌、卵巢癌、肝癌、头颈癌、乳腺癌或胃癌。在一些实施方式中，本文提供了通过施用本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体（例如，糖基化BTN1A1二聚体）的抗原结合片段的分子来治疗受试者中癌症的方法，其中所述癌症可以是肺癌。所述肺癌可以是非小细胞肺癌（NSCLC）。所述肺癌可以是小细胞肺癌（SCLC）。所述NSCLC可以是鳞状NSCLC。用于治疗肺癌的分子可以是任何本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1或糖基化BTN1A1的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中，相对于未糖基化的BTN1A1，所述抗原结合片段优先结合糖基化BTN1A1。在一些实施方式中，所述抗原结合片段免疫特异性掩蔽位置N55、N215、N449处的或它们的任意组合处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中，用于治疗肺癌的分子是STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781。在一些实施方式中，用于治疗NSCLC的分子是STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781。在一些实施方式中，用于治疗鳞状NSCLC的分子是STC703、STC810、STC820、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781。在一些实施方式中，用于治疗NSCLC的分子不是STC810。

[0680] 在一些实施方式中，本文提供了通过施用本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体（例如，糖基化BTN1A1二聚体）的抗原结合片段的分子来治疗受试者中癌症的方法，其中所述癌症可以是前列腺癌。用于治疗前列腺癌的分子可以是任何本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或者BTN1A1二聚体的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中，相对于未糖基化的BTN1A1，所述抗原结合片段优先结合糖基化BTN1A1。在一些实施方式中，相对于BTN1A1单体（例如，糖基化BTN1A1单体），所述抗原结合片段优先结合BTN1A1二聚体（例如，糖基化BTN1A1二聚体）。在一些实施方式中，所述抗原结合片段免疫特异性掩蔽位置N55、N215、N449处的或它们的任意组合处的

BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,用于治疗前列腺癌分子是STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781。在一些实施方式中,用于治疗前列腺癌分子不是STC810。

[0681] 在一些实施方式中,本文提供了通过施用本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的分子来治疗受试者中癌症的方法,其中所述癌症可以是胰癌。用于治疗胰癌分子可以是任何本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或者BTN1A1二聚体的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体),所述抗原结合片段优先结合BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性掩蔽位置N55、N215、N449处的或它们的任意组合处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,用于治疗胰癌分子是STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781。在一些实施方式中,用于治疗胰癌分子不是STC810。

[0682] 在一些实施方式中,本文提供了通过施用本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的分子来治疗受试者中癌症的方法,其中所述癌症可以是卵巢癌。用于治疗卵巢癌分子可以是任何本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或者BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体),所述抗原结合片段优先结合BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性掩蔽位置N55、N215、N449处的或它们的任意组合处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,用于治疗卵巢癌分子是STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781。在一些实施方式中,用于治疗卵巢癌分子不是STC810。

[0683] 在一些实施方式中,本文提供了通过施用本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的分子来治疗受试者中癌症的方法,其中所述癌症可以是肝癌。用于治疗肝癌分子可以是任何本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或者BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体),所述抗原结合片段优先结合BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性掩蔽位置N55、N215、N449处的或它们的任意组合处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,用于治疗肝癌分子是STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781。在一些实施方式中,用于治疗肝癌分子不是STC810。

[0684] 在一些实施方式中,本文提供了通过施用本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的分子来治疗受试者中癌症的方法,其中所述癌症可以是头颈癌。用于治疗头颈癌分子可以

是任何本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或者BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体),所述抗原结合片段优先结合BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性掩蔽位置N55、N215、N449处的或它们的任意组合处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,用于治疗头颈癌分子是STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781。在一些实施方式中,用于治疗头颈癌分子不是STC810。

[0685] 在一些实施方式中,本文提供了通过施用本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的分子来治疗受试者中癌症的方法,其中所述癌症可以是乳腺癌。用于治疗乳腺癌分子可以是任何本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或者BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体),所述抗原结合片段优先结合BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性掩蔽位置N55、N215、N449处的或它们的任意组合处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,用于治疗乳腺癌分子是STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781。在一些实施方式中,用于治疗乳腺癌分子不是STC810。

[0686] 在一些实施方式中,本文提供了通过施用本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的分子来治疗受试者中癌症的方法,其中所述癌症可以是胃癌。用于治疗胃癌分子可以是任何本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或者BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体),所述抗原结合片段优先结合BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性掩蔽位置N55、N215、N449处的或它们的任意组合处的BTN1A1糖基化。在一些实施方式中,用于治疗胃癌分子是STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781。在一些实施方式中,用于治疗胃癌分子不是STC810。

[0687] 用于治疗癌症分子可以是任何本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或者BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中,相对于未糖基化的BTN1A1,所述抗原结合片段优先结合糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以小于相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 的一半的 K_D 结合至糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以比相对于未糖基化的BTN1A1所显示的 K_D 小至少2倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍或至少50倍的 K_D 结合至糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以相对于未糖基化的BTN1A1所显示的MFI至少2倍的MFI结合至糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以相对于未糖基化的BTN1A1所显示的MFI的至少2倍、至少5

倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍或至少50倍的MFI结合至糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体),所述抗原结合片段优先结合BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以小于相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的 K_D 的一半的 K_D 结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以比相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的 K_D 小至少2倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍或至少50倍的 K_D 结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以相对于BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)所显示的MFI至少2倍的MFI结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,所述抗原结合片段以相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的MFI的至少2倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍或至少50倍的MFI结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。

[0688] 在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性掩蔽位置N55、N215、N449处的或它们的任意组合处的BTN1A1糖基化。

[0689] 在一些实施方式中,用于癌症治疗的分子是STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781。在一些实施方式中,用于治疗癌症的分子不是STC810。

[0690] 5.4.2.施用方法

[0691] 本文还提供了通过向其有需要的患者施用治疗有效量的本文所提供的抗体或分子来作为抗肿瘤试剂使用具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的抗-BTN1A1抗体或其它分子的方法。在一些实施方式中,所述患者是癌症患者。

[0692] 多种递送系统也是已知的并且可以用于施用具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的抗-BTN1A1抗体或其它分子,或者相关药物组合物,如脂质体、微粒、微胶囊中的包封剂、能够表达所述抗体或融合蛋白的重组细胞、受体-介导的胞吞作用(参见,例如,Wu和Wu,1987,J.Biol.Chem.262:4429-4432)、作为反转录病毒或其它载体的一部分的核酸的构建等。

[0693] 如本文所提供的施用方法包括(但不限于)注射,如通过肠胃外施用(例如,皮内、肌内、腹膜内、静脉内和皮下)、硬膜外和粘膜(例如,鼻内和口服途径)。在一些实施方式中,肌内、静脉内、皮下、静脉内、腹膜内、口服、肌内、皮下、腔内、经皮或皮肤施用本文所提供的抗体、其它分子或药物组合物。可以通过任何方便的途径,例如,通过输注或弹丸注射,通过经上皮细胞或皮肤粘膜内层(例如,口腔粘膜、直肠和肠粘膜等)的吸收来施用所述组合物并且其可以与其它生物活性剂一起施用。施用可以是全身性的或局部的。另外,还可以使用肺部施用,例如,通过使用吸入器或喷雾器,以及具有雾化剂的制剂。参见,例如,美国专利No.6,019,968;5,985,20;5,985,309;5,934,272;5,874,064;5,855,913;5,290,540;和4,880,078;和PCT专利公开No.WO 92/19244;WO 97/32572;WO 97/44013;WO 98/31346;和WO 99/66903;所有专利以其全部内容作为参考并入本文。在一些实施方式中,将本文所提供的抗体、其它分子或药物组合物局部施用至需要治疗的区域,其可以通过(例如)局部输注,通

过注射,或者通过植入的方式实现,所述植入物是多孔、无孔或凝胶材料,包括膜,如硅橡胶膜或纤维。在一些实施方式中,当施用如本文所述的抗体或其它分子时,小心使用抗体或其它分子不吸收的材料。

[0694] 在一些实施方式中,将本文所提供的人源化或嵌合抗体在脂质体中配制用于靶向递送。脂质体是由同心排列的脂质双分子层组成的小囊,其包封了水相。脂质体通常具有多种类型的脂质、磷脂和/或表面活性剂。脂质体的组分以双分子层构型布置,其类似于生物膜的脂质布置。部分由于它们的生物相容性、低免疫原性和低毒性,脂质体可以是有用的递送工具。制备脂质体的方法在本领域中是已知的并且是本文所提供的,参见,例如,Epstein等人,1985, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82:3688; Hwang等人,1980 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77:4030-4; 美国专利No. 4,485,045和4,544,545; 所有文献以其全部内容作为参考并入本文。

[0695] 本文还提供了制备具有延长的血清半衰期,即提高的循环时间的脂质体的方法,如美国专利No. 5,013,556中所公开的那些。在一些实施方式中,在本文所提供的方法中使用的脂质体未从循环中快速清除,即未吸收至单核吞噬细胞系统(MPS)。本文还提供了使用本领域技术人员已知的常规方法制备的空间稳定的脂质体。空间稳定的脂质体可以含有具有大且高度柔性的亲水部分的脂质组分,其降低了脂质体与血清蛋白的不希望的反应,降低了血清组分的调理素作用并且降低了MPS的识别。可以使用聚乙二醇制备空间稳定的脂质体。对于脂质体和空间稳定的脂质体的制备,参见,例如,Bendas等人,2001 *BioDrugs*, 15(4):215-224; Allen等人,1987 *FEBS Lett.* 223:42-6; Klibanov等人,1990 *FEBS Lett.*, 268:235-7; Blum等人,1990, *Biochim. Biophys. Acta.*, 1029:91-7; Torchilin等人,1996, *J. Liposome Res.* 6:99-116; Litzinger等人,1994, *Biochim. Biophys. Acta*, 1190:99-107; Maruyama等人,1991, *Chem. Pharm. Bull.*, 39:1620-2; Klibanov等人,1991, *Biochim Biophys Acta*, 1062:142-8; Allen等人,1994, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 13:285-309, 以上文献以其全部内容作为参考并入本文。

[0696] 本文还提供了适合于特定器官靶向的脂质体,参见,例如,美国专利No. 4,544,545,或者特定细胞靶向的脂质体,参见,例如,美国专利申请公开No. 2005/0074403, 其以其全部内容作为参考并入本文。可以通过反相蒸发法,使用包括磷脂酰胆碱、胆固醇和PEG衍生化的磷脂酰乙醇胺(PEG-PE)的脂质组合物产生用于在本文所提供的组合物和方法中使用的特别有用的脂质体。可以通过具有限定孔径的过滤器挤出脂质体以获得具有所期望的直径的脂质体。在一些实施方式中,可以使用先前所述的方法将具有抗原结合片段的分子,例如,F(ab')缀合至脂质体,参见,例如,Martin等人,1982, *J. Biol. Chem.* 257:286-288, 该文献以其全部内容作为参考并入本文。

[0697] 还可以作为免疫脂质体制配如本文所述的人源化或嵌合抗体。免疫脂质体是指脂质体组合物,其中抗体或其片段共价或非共价连接至脂质体表面。将抗体连接至脂质体表面的化学方法在本领域中是已知的,参见,例如,美国专利No. 6,787,153; Allen等人,1995, *Stealth Liposomes*, Boca Roton: CRC Press, 233-44; Hansen等人,1995, *Biochim. Biophys. Acta*, 1239:133-144, 以上文献以其全部内容作为参考并入本文。在一些实施方式中,用于在本文所提供的方法和组合物中使用的免疫脂质体还是空间稳定的。在一些实施方式中,如本文所述的人源化抗体共价或非共价连接至疏水性锚点,其稳定植根

于脂质体的脂质双分子层中。疏水性锚点的实例包括(但不限于)磷脂,例如,磷脂酰乙醇胺(PE)、磷脂酰肌醇(PI)。为了实现抗体和疏水性锚点之间的共价键,可以使用本领域中任何已知的生物化学策略,参见,例如,J.Thomas August主编,1997,Gene Therapy:Advances in Pharmacology,40卷,Academic Press,San Diego,Calif.,399-435页,以上文献以其全部内容作为参考并入本文。例如,抗体分子上的官能团可以与脂质体相关疏水性锚点上的活性基团反应,例如,抗体上的赖氨酸侧链的氨基可以与通过水溶性碳二亚胺激活的脂质体相关N-戊二酰磷脂酰乙醇胺偶联;或者还原性抗体的巯基基团可以通过巯基反应性锚点,如吡啶基硫基丙酰基磷脂酰乙醇胺与脂质体偶联。参见,例如,Dietrich等人,1996,Biochemistry,35:1100-1105;Loughrey等人,1987,Biochim.Biophys.Acta,901:157-160;Martin等人,1982,J.Biol.Chem.257:286-288;Martin等人,1981,Biochemistry,20:4429-38,以上文献以其全部内容作为参考并入本文。具有抗-BTN1A1抗体或其它分子(其具有免疫特异性结合至BTN1A1或糖基化BTN1A1的抗原结合片段)的免疫脂质体制剂可以作为治疗剂是特别有效的,因为它们将活性成分递送至靶细胞的细胞质,即包括抗体所结合的受体的细胞。在一些实施方式中,所述免疫脂质体可以在血液中,具体地靶细胞中具有提高的半衰期,并且可以内化到靶细胞的细胞质中,借此避免治疗剂的损失或通过内容酶体途径的降解。

[0698] 本文提供的免疫脂质体组合物可以具有一个或多个小囊形成脂质、本发明的抗体或其它分子或其片段或衍生物,和任选地亲水聚合物。小囊形成脂质可以是具有两条烃链,如酰基链和极性头部基团的脂质。小囊形成脂质的实例包括磷脂,例如,磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酸、磷脂酰肌醇、鞘磷脂和糖脂,例如,脑苷脂、神经节糖苷。在本文所提供的制剂中有用的其它脂质是本领域技术人员已知的并且涵盖在描述内。在一些实施方式中,所述免疫脂质体组合物还包括亲水聚合物,例如,聚乙二醇,和神经节糖苷GM1,其提高了脂质体的血清半衰期。将亲水聚合物缀合至脂质体的方法在本领域中是熟知的并且涵盖在描述内。其它示例性免疫脂质体和制备它们的方法可见于(例如)美国专利申请公开No.2003/0044407;PCT国际专利公开No.WO 97/38731,Vingerhoads等人,1994,Immunomethods,4:259-72;Maruyama,2000,Biol.Pharm.Bull.23(7):791-799;Abra等人,2002,Journal of Liposome Research,12(1&2):1-3;Park,2002,Bioscience Reports,22(2):267-281;Bendas等人,2001BioDrugs,14(4):215-224,J.Thomas August主编,1997,Gene Therapy:Advances in Pharmacology,40卷,Academic Press,San Diego,Calif.,399-435页;所有文献以其全部内容作为参考并入本文。

[0699] 本文还提供了通过向患者施用单位剂量的具有免疫特异性结合至BTN1A,具体地糖基化BTN1A1,或者BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的抗-BTN1A1抗体或其它分子来治疗癌症患者的方法。单位剂量是指适合作为受试者的单位剂量的物理分散单元,每个单元含有与所需稀释剂,即载体或媒介物结合的计算以产生所期望的治疗效果的预定量的活性材料。

[0700] 以与剂量制剂相容的方式并且以治疗有效量施用抗体、分子或组合物。要施用的量取决于要治疗的受试者,使用所述活性成分的受试者系统的能力以及所期望的治疗效果程度。需要施用的活性成分的精确的量取决于开业医生的判断并且是每位个体受试者所特有的。然而,本文公开了适合于全身应用的剂量范围并且其取决于施用途径。还考虑了适合

于初始和加强施用的方案,并且其通常包括初始施用,以及之后通过连续注射或其它施用的以一个或多个小时的间隔的重复剂量。本文描述了示例性多次施用并且它对于维持多肽或抗体的持续高血清和组织水平是有用的。作为另外一种选择,考虑了足以将血液中的浓度维持在对于体内疗法所指定的范围内的持续静脉内输注。

[0701] 治疗有效量是计算以实现所期望的效果的预定量。通常,剂量将随患者的年龄、病况、性别和疾病程度而改变,并且可以通过本领域技术人员确定。如果发生任何并发症,个体医师可以调整剂量。

[0702] 在一些实施方式中,在密闭容器,如安瓿瓶或小袋中包装本文所提供的抗体、分子或药物组合物。在一个实施方式中,作为干燥的无菌冷冻干燥粉末或者无水的浓缩物在密闭容器中提供本文所提供的抗体、分子或药物组合物,并且它们可以通过(例如)水或盐水复原为适合于施用于受试者的浓度。在一些实施方式中,以至少5mg,更优选地至少10mg、至少15mg、至少25mg、至少35mg、至少45mg、至少50mg或至少75mg的单位剂量,作为干燥的无菌冷冻干燥粉末在密闭容器中提供本文所提供的抗体、分子或药物组合物。本文所提供的冷冻干燥抗体、分子或药物组合物应在它们的原始容器在2至8℃之间储存,并且应在复原后12小时内,优选地6小时内、5小时内、3小时内或者1小时内施用。在替代实施方式中,以液体形式在指明所述抗体、分子或药物组合物的量和浓度的密闭容器中提供本文所提供的抗体、分子或药物组合物。在一些实施方式中,在密闭容器中以至少1mg/ml,更优选地至少2.5mg/ml,至少5mg/ml,至少8mg/ml,至少10mg/ml,至少15mg/ml,至少25mg/ml,至少50mg/ml,至少100mg/ml,至少150mg/ml,至少200mg/ml提供本文所提供的抗体、分子或药物组合物的液体形式。

[0703] 要在所述制剂中使用的准确剂量还将取决于施用途径和病况的严重程度,并且应根据开业医生的判断和每位患者的情况来决定。可以根据来源于体外或动物模型测试系统的剂量反应曲线来外推有效剂量。对于具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的抗-BTN1A1抗体或其它分子,施用于患者的剂量通常为0.01mg/kg至100mg/kg患者体重。在一些实施方式中,施用于患者的剂量在0.01mg/kg至20mg/kg,0.01mg/kg至10mg/kg,0.01mg/kg至5mg/kg,0.01至2mg/kg,0.01至1mg/kg,0.01mg/kg至0.75mg/kg,0.01mg/kg至0.5mg/kg,0.01mg/kg至0.25mg/kg,0.01至0.15mg/kg,0.01至0.10mg/kg,0.01至0.05mg/kg或者0.01至0.025mg/kg患者体重之间。具体地,施用于患者的剂量可以是0.2mg/kg、0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg、6mg/kg或者10mg/kg。预测低至0.01mg/kg的剂量将显示出明显的药物动力学效果。预测0.10-1mg/kg的剂量水平是最适合的。还可以预计更高的剂量(例如,1-30mg/kg)是活性的。通常,由于对外源多肽的免疫应答,人抗体在人体内具有比来源于其它物种的抗体更长的半衰期。因此,可以实践较低剂量的人抗体和较低频率的施用。此外,可以通过修饰,如(例如)脂化,提高抗体的吸收和组织渗透来降低本文所提供的抗体或其它分子的施用剂量和频率。

[0704] 在另一个实施方式中,可以在控制释放或缓释系统中递送组合物。本领域技术人员已知的任何技术可以用于产生具有本文所提供的一种或多种抗体、分子或药物组合物的缓释制剂。参见,例如,美国专利No.4,526,938;PCT专利公开W0 91/05548;PCT专利公开W0 96/20698;Ning等人,Radiotherapy&Oncology 39:179-189(1996),Song等人,PDA Journal of Pharmaceutical Science&Technology 50:372-397(1995);Cleek等人,Pro.Int'l.Sy

mp.Control.Rel.Bioact.Mater.24:853-854(1997);和Lam等人,Proc.Int'l.Symp.Control Rel.Bioact.Mater.24:759-760(1997);所有文献以其全部内容作为参考并入本文。在一个实施方式中,可以在控制释放系统中使用泵(参见Langer,如上;Sefton,1987,CRC Crit.Ref Biomed.Eng.14:20;Buchwald等人,1980,Surgery 88:507;和Saudek等人,1989,N.Engl.J.Med.321:574)。在另一个实施方式中,可以使用聚合物材料以实现抗体的控制释放(参见,例如,Medical Applications of Controlled Release,Langer和Wise(主编),CRC Pres.,Boca Raton,Fla.(1974);Controlled Drug Bioavailability,Drug Product Design and Performance,Smolen and Ball(主编),Wiley,New York(1984);Ranger and Peppas,1983,J.,Macromol.Sci.Rev.Macromol.Chem.23:61;还参见Levy等人,1985,Science 228:190;During等人,1989,Ann.Neurol.25:351;Howard等人,1989,J.Neurosurg.71:105);美国专利No.5,679,377;美国专利No.5,916,597;美国专利No.5,912,015;美国专利No.5,989,463;美国专利No.5,128,326;PCT专利公开No.WO 99/15154;和PCT专利公开No.WO 99/20253);所有文献以其全部内容作为参考并入本文。

[0705] 可以在缓释制剂中使用的聚合物的实例包括(但不限于)聚(-羟基甲基丙烯酸乙酯)、聚(甲基丙烯酸甲酯)、聚(丙烯酸)、聚(亚乙基-共-醋酸乙烯酯)、聚(甲基丙烯酸)、聚乙交酯(PLG)、聚酐、聚(N-乙基吡咯烷酮)、聚(乙烯醇)、聚丙烯酰胺、聚(乙二醇)、聚交酯(PLA)、聚(丙交酯-共-乙交酯)(PLGA)和聚原酸酯。在另一个实施方式中,可以将控制释放系统置于治疗靶标(例如,肺)的附近,因此仅需要全身剂量的一部分(参见,例如,Goodson,in Medical Applications of Controlled Release,如上,2卷,115-138页(1984))。在另一个实施方式中,根据Dunn等人(参见美国专利No.5,945,155)使用作为控制释放植入物有用的聚合物组合物,该专利以其全部内容作为参考并入本文。基于生物活性材料从聚合物系统中的原位控制释放的治疗效果,所述植入通常可以发生在需要治疗性治疗的患者体内的任何位置。

[0706] 在另一个实施方式中,使用非聚合物缓释递送系统,其中将受试者体内的非聚合物植入物用作药物递送系统。一旦在体内植入,植入物的有机溶剂将从所述组合物中分散、散布或浸出到周围组织液中,并且非聚合物材料将逐渐凝聚或沉淀以形成固体、微孔基质(参见美国专利No.5,888,533)。还在Langer的综述(1990,Science 249:1527-1533)中讨论了控制释放系统。本领域技术人员已知的任何技术可以用于产生包括本文所提供的一种或多种治疗剂的缓释制剂。参见,例如,美国专利No.4,526,938;国际专利公开No.WO 91/05548和WO 96/20698;Ning等人,1996,Radiotherapy&Oncology 39:179-189;Song等人,1995,PDA Journal of Pharmaceutical Science&Technology 50:372-397;Cleek等人,1997,Proc.Int'l.Symp.Control.Rel.Bioact.Mater.24:853-854;和Lam等人,1997,Proc.Int'l.Symp.Control Rel.Bioact.Mater.24:759-760;所有文献以其全部内容作为参考并入本文。

[0707] 本文还提供了其中所述组合物具有编码如本文所提供的抗体或其它分子的核酸的实施方式,其中可以通过将其构建为适当的核酸表达载体并施用它从而使其成为胞内的来体内施用所述核酸以促进其编码抗体或其它分子的表达,例如,通过使用反转录病毒载体(参见美国专利No.4,980,286),或者通过直接注射,或者通过使用微粒轰击(例如,基因枪;Biolistic,Dupont),或者用脂质或细胞-表面受体或转染试剂涂覆,或者通过与已知进

入核的同源框-样肽连接来施用它(参见,例如,Joliot等人,1991, Proc.Natl.Acad.Sci.USA 88:1864-1868)。作为另外一种选择,可以胞内引入核酸并引入到宿主细胞DNA内以用于通过同源重组进行表达。

[0708] 使用治疗有效量的本文所提供的抗体、其它分子或药物组合物治疗受试者可以包括单一治疗或一系列治疗。考虑可以全身或局部施用本文所提供的抗体、分子或药物组合物以治疗疾病,从而抑制肿瘤细胞的生长或杀死具有局部晚期或转移性癌症的癌症患者中的癌细胞。它们可以是静脉内、鞘内和/或腹膜内施用。它们可以单独或与抗增殖药组合施用。在一个实施方式中,在手术或其它程序之前施用它们以降低患者中的癌症负荷。作为另外一种选择,在手术之后施用它们以确保任何剩余的癌症(例如,手术不能消除的癌症)不存活。在一些实施方式中,可以在原发癌消退后施用它们以防止转移。

[0709] 在另一个方面,本文提供了通过向对其有需要的患者肠胃外施用本文所提供的治疗有效量的抗-BTN1A1二聚体抗体来作为抗肿瘤试剂使用抗-BTN1A1二聚体抗体的方法。在一些实施方式中,通过皮内、肌内、腹膜内、静脉内或皮下施用来施用所述组合物。在一些实施方式中,所述患者是癌症患者。在一些实施方式中,BTN1A1二聚体在BTN1A1二聚体中的一个或多个BTN1A1单体中的位置N55、N215和N449中的一个和多个处糖基化。在一些实施方式中,抗-BTN1A1二聚体抗体以小于相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的 K_D 的一半的 K_D 结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,抗-BTN1A1二聚体抗体以比相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的 K_D 小至少2倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍或至少50倍的 K_D 结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,抗-BTN1A1二聚体抗体以相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的MFI至少2倍的MFI结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,抗-BTN1A1二聚体抗体以相对于BTN1A1单体(例如,糖基化BTN1A1单体)所显示的MFI的至少2倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍或至少50倍的MFI结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。

[0710] 5.5组合疗法

[0711] 本文还提供了组合物和方法,其包括与第二疗法结合向对其有需要的受试者施用具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的抗-BTN1A1抗体(包括抗-糖基化BTN1A1抗体和抗-BTN1A1二聚体抗体)或其它分子。在一些实施方式中,所述受试者是癌症患者,并且所述第二疗法是抗-癌或抗-过度增殖疗法。

[0712] 在一些实施方式中,当与另一种抗-癌或抗-过度增殖疗法组合使用时,本文所提供的抗体或其它分子的施用可以提高所述另一种抗-癌或抗-过度增殖疗法的治疗效力。因此,可以与第二疗法组合提供本文所述的方法和组合物以实现所期望的效果,如杀死癌细胞,抑制细胞增生和/或抑制癌症转移。

[0713] 在一些实施方式中,所述第二疗法具有直接的细胞毒作用,如化疗、靶向疗法、冷冻疗法、高热疗法、光动力学疗法、高强度聚焦超声(HIFU)疗法、放射疗法或手术疗法。所述靶向疗法可以是生物靶向疗法或者小分子靶向疗法。在其它实施方式中,所述第二疗法不具有直接的细胞毒作用。例如,所述第二疗法可以是上调免疫系统而不具有直接细胞毒作

用的试剂。

[0714] 本文提供了方法,其包括与第二或其它疗法结合向对其有需要的受试者施用具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的抗-BTN1A1抗体或其它分子。可以在相对于第二抗-癌疗法之前、期间、之后或在不同组合中施用本文所提供的抗体、其它分子或药物组合物。所述施用可以处于同时至数分钟至数天至数周的范围内的间隔中。在一些实施方式中,当相对于第二抗癌剂单独向患者提供本文所述的抗体或其它分子时,通常将确保每次递送之间的时间不达到显著的时间段,从而两种化合物仍将能够对患者发挥有利的组合作用。在这些情况下,考虑可以在彼此之间约12至24或72h内,并且更具体地,彼此之间约6-12h内,向患者提供本文所提供的抗体或其它分子以及第二抗-癌疗法。在一些情况下,可以显著延长治疗时间段,其中在各个施用之间经过了几天(2、3、4、5、6或7)至几周(1、2、3、4、5、6、7或8周)。

[0715] 在一些实施方式中,治疗过程将持续1-90天或以上(该范围包括中间天数)。考虑可以在第1天至第90天(该范围包括中间天数)的任一天或它们的任意组合施用一种试剂,并且在第1天至第90天(该范围包括中间天数)的任一天或它们的任意组合施用另一种试剂。在单一天(24小时的一段时间)内,可以向患者施用一次或多次试剂。此外,在治疗过程之后,考虑存在不施用抗-癌治疗的一段时间。根据患者状况,如他们的预后、强度、健康等,该时间段可以持续1-7天,和/或1-5周,和/或1-12个月或以上(该范围包括中间天数)。根据需要,可以重复治疗循环。

[0716] 可以使用多种组合。以下列出了作为“A”使用本文所述的抗-BTN1A1抗体或其它分子和作为“B”使用第二抗-癌疗法的治疗的一些实例:

	A/B/A	B/A/B	B/B/A	A/A/B	A/B/B	B/A/A	A/B/B/B
[0717]	B/A/B/B	B/B/B/A	B/B/A/B	A/A/B/B	A/B/A/B	A/B/B/A	
	B/B/A/A	B/A/B/A	B/A/A/B	A/A/A/B	B/A/A/A	A/B/A/A	
	A/A/B/A						

[0718] 本文所提供的任何抗体、分子或药物组合物与第二疗法组合向患者的施用将按照该第二疗法施用的常规规程,考虑所述第二疗法的毒性(如果有)。因此,在一些实施方式中,存在监测可归因于组合疗法的毒性的步骤。

[0719] 化疗

[0720] 可以根据本发明的实施方式,作为第二疗法使用多种化疗剂。化疗剂可以是在癌症治疗中施用的化合物或组合物。可以通过它们在细胞内的活性模式,例如,它们是否影响细胞周期且在哪个阶段影响细胞周期来对这些试剂或药物分类。作为另外一种选择,可以基于其直接交联DNA、插入DNA中或者通过影响核酸合成引起染色体和有丝分裂畸变的能力来鉴别所述试剂。

[0721] 化疗剂的实例包括烷化剂,如塞替派和环磷酰胺;烷基磺酸盐,如白消安、英丙舒凡和哌泊舒凡;氮丙啶,如苯并多巴、卡波醌、米特多巴(meturedopa)和尤利多巴(uredopa);氮丙啶和甲基蜜胺,包括六甲蜜胺、曲他胺、三乙烯磷酰胺、三乙烯硫代磷酰胺和三羟甲基蜜胺(trimethylolomelamine);多聚乙酰(具体地,布拉他辛(bullatacin)和布拉它辛酮(bullatacinone));喜树碱(包括合成类似物拓扑替康);苔藓抑素;卡利斯汀(callystatin);CC-1065(包括其阿多来新、卡折来新和比折来新合成类似物);念珠藻素

(具体地,念珠藻素1和念珠藻素8);尾海兔素;倍癌毒素(包括合成类似物,KW-2189和CB1-TM1);艾榴塞洛素;水鬼蕉碱(pancratistatin);葡枝珊瑚醇(sarcodictyin);海绵抑制素;氮芥类,如苯丁酸氮芥、萘氮芥、胆磷酰胺、雌莫司汀、异环磷酰胺、氮芥、氮芥氧化物盐酸盐、美法仑、新恩比星、胆甾醇对苯乙酸氮芥、泼尼莫司汀、曲磷胺和乌拉莫司汀;亚硝基脲,如卡莫司汀、吡葡亚硝脲、福莫司汀、洛莫司汀、尼莫司汀和雷莫司汀(ranimustine);抗生素,如烯二炔抗生素(例如,卡里奇霉素(calicheamicin),具体地卡里奇霉素(calicheamicin) γ II和卡里奇霉素(calicheamicin) ω II);达内霉素(dynemicin),包括达内霉素(dynemicin) A;二膦酸酯,如氯屈膦酸;埃斯培拉霉素(esperamicin);以及新制癌菌素发色团和相关色蛋白烯二炔抗生素发色团、阿克拉霉素(aclacinomycin)、放线菌素、安曲霉素(authrarnycin)、偶氮丝氨酸、博来霉素、放线菌素C、卡柔比星(carabycin)、洋红霉素、嗜癌菌素、色霉素(chromomycinis)、放线菌素D、柔红霉素、地托比星、6-重氮基-5-氧-L-正亮氨酸、多柔比星(包括吗啉代-多柔比星,氰基吗啉代-多柔比星、2-吡咯啉并-多柔比星和脱氧多柔比星)、表柔比星、依索比星、伊达比星、麻西罗霉素、丝裂霉素,如丝裂霉素C、麦考酚酸,诺加霉素(nogalarnycin)、橄榄霉素、培洛霉素、泊非霉素(potfiromycin)、嘌呤霉素、三铁阿霉素、罗多比星、链黑霉素、链佐星、杀结核菌素、乌苯美司、净司他丁和佐柔比星;抗-代谢产物,如甲氨蝶呤和5-氟尿嘧啶(5-FU);叶酸类似物,如二甲叶酸、蝶罗呤和三甲曲沙;嘌呤类似物,如氟达拉滨、6-巯基嘌呤、硫唑嘌呤胺和硫鸟嘌呤;嘧啶类似物,如安西他滨、阿扎胞苷、6-氮尿苷、卡莫氟、阿糖胞苷、二脱氧尿苷、去氧氟尿苷、依诺他滨和氮尿苷;雄激素,如卡普睾酮、屈他雄酮丙酸酯、环硫雄醇、美雄烷和睾内酯;抗-肾上腺药物,如米托坦和曲洛司坦;叶酸补充剂,如亚叶酸;醋葡醛内酯;醛磷酰胺糖苷;氨基- γ -酮戊酸;恩尿嘧啶;安吡啶;贝斯布西(bestrabucil);比生群;依达曲沙(edatraxate);地磷酰胺(defofamine);秋水仙胺;地吡醌;依氟鸟氨酸;依利醋铵;埃博霉素;依托格鲁;硝酸镓;羟基脲;蘑菇多糖;氯尼达明(lonidainine);美登素,如美登素和安丝菌素;米托胍脲;米托蒽醌;莫比达摩(mopidanmol);二胺硝吡啶(nitraerine);喷司他丁;蛋氨酸氮芥(phenamet);吡柔比星;洛索蒽醌;鬼臼酸;2-乙酰肼;丙卡巴肼;PSK多糖复合物;雷佐生;根霉素;西佐喃;锗螺胺;细交链孢菌酮酸;三亚胺醌;2,2',2''-三氯三乙胺;单端孢霉烯(具体地T-2毒素、疣孢霉素(verracurin) A,杆孢菌素A和蛇形菌素(anguidine));氨基甲酸乙酯;长春地辛;达卡巴嗪;甘露莫司汀;二溴甘露醇;二溴卫矛醇;哌泊溴烷;加西托星(gacytosine);阿糖胞苷("Ara-C");环磷酰胺;紫杉烷类,例如,紫杉醇和多西他赛、吉西他滨;6-硫代鸟嘌呤;硫嘌呤;铂配位络合物,如顺铂、奥沙利铂和卡铂;长春碱;铂;依托泊苷(VP-16);异环磷酰胺;米托蒽醌;长春新碱;长春瑞滨;诺凡特龙(novantrone);替尼泊苷;依达曲沙;道诺霉素;氨基蝶呤;希罗达;伊班膦酸;伊立替康(例如,CPT-11);局部异构酶抑制剂RFS 2000;二氟甲基鸟氨酸(DMF0);类视黄醇,如视黄酸;卡培他滨;卡铂、甲基苄肼、普卡霉素(plicomycin)、吉西他滨、长春瑞滨、法呢基蛋白转移酶抑制剂、反铂以及任何上述试剂的药物可用的盐、酸或衍生物。

[0722] 放射疗法

[0723] 可以与本文所述的方法和组合物组合使用的另一种常规抗癌疗法是放疗或者放射疗法。放射疗法包括使用 γ -射线、X射线和/或放射性同位素向肿瘤细胞的直接递送。还考虑了其它形式的DNA破坏因素,如微波、质子束辐照(美国专利No.5,760,395和4,870,

287;所有专利以其全部内容作为参考并入本文)和紫外线辐照。很可能所有这些因素影响DNA的大范围损伤、DNA前体、DNA的复制和修复以及染色体的组装和维持。

[0724] 在一些实施方式中,将本文提供的分子或组合物与高剂量放射(HDR)疗法组合施用。在一些实施方式中,通过将放射性植入物,如颗粒放置在受试者身体中的肿瘤附近或内部来向受试者施用HDR疗法(近距疗法)。在一些实施方式中,将HDR疗法与外束辐照组合施用。

[0725] 由于浸润肿瘤并且起作用以抑制免疫应答的脊髓-来源的抑制性细胞和调节性T细胞的存在,肿瘤微环境是内在抑制性的。另外,T细胞和抗原递呈细胞(APC)上某些抑制性分子的表达可以限制有效的免疫应答。辐照通过引起肿瘤细胞细胞凋亡、衰老、自噬来介导抗-肿瘤作用,并且在一些情况下,可以刺激更有效的免疫应答。

[0726] 辐照可以是将肿瘤细胞置于应激状态的方式,从而所述肿瘤细胞可以激活在所述应激下存活的机制。在这些应激状态下激活的分子可以用作与辐照组合使用的疗法的靶标。将BTN1A1鉴别为在这些条件下过表达的潜在靶标。

[0727] 如本文所述的具有免疫特异性结合BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的分子可以刺激局部和全身免疫应答。在一些实施方式中,在放射疗法之前、同时或之后施用如本文所述的治疗有效量的抗体、其它分子或药物组合物以实现协同作用。

[0728] 在一些实施方式中,施用使宿主中的肿瘤对辐照有效敏化的治疗有效量的本文所述的抗体、其它分子或药物组合物。辐照可以是电离辐照,并且具体地 γ 辐射。在一些实施方式中,通过线性加速器或者通过放射性核素发射 γ 辐射。通过放射性核素的肿瘤辐照可以是外部的或内部的。

[0729] 在一些实施方式中,在肿瘤辐照之前长达1个月,具体地长达10天或1周开始本文所述的抗体、其它分子或药物组合物的施用。另外,对肿瘤辐照分级,并且在首次和上次辐照期之间的间隔中维持本文所述的抗体、其它分子或药物组合物的施用。

[0730] 辐照还可以是X射线辐照、 γ 射线辐照或者带电粒子辐照(质子束、碳束、氦束(或者常规“辐照”)。辐照的剂量范围在对于一定时间段的间隔(2或更多天至数周),50至600伦琴的每日剂量至800至6000伦琴的单一剂量的范围内。可以每天一次、每天两次、每天三次或每天四次施用辐照。放射性同位素的剂量范围广泛不同,并且取决于同位素的半衰期,所发射的辐照的强度和类型以及赘生性细胞的吸收。

[0731] 靶向疗法

[0732] 靶向癌症疗法是通过干扰参与癌症生长、发展和扩散的特异性分子(“分子靶标”)阻断癌症生长和扩散的药物或其它物质。靶向癌症疗法也称为“分子靶向药物”、“分子靶向疗法”、“精准医疗”或类似的名称。不同于标准化疗,靶向疗法作用于与癌症有关的特异性分子靶标,然而标准化疗通常作用于所有快速分化的正常和癌性细胞。

[0733] 靶向疗法包括小分子靶向疗法和生物靶向疗法,如单克隆抗体两者。小-分子化合物通常开发用于位于细胞内部的靶标,因为这些试剂能够相对容易地进入细胞。生物靶向疗法,如单克隆抗体通常用于位于细胞外部或者细胞表面上的靶标。

[0734] 一些不同的靶向疗法已批准用于癌症治疗。这些疗法包括激素疗法、信号转导抑制剂、基因表达调节剂、细胞凋亡诱导剂、血管生成抑制剂、免疫疗法和毒素递送分子。

[0735] 激素疗法减缓或终止了需要特定激素进行生长的激素-敏感性肿瘤的生长。激素疗法通过防止身体产生激素或者通过干扰激素作用来起作用。激素疗法已批准用于乳腺癌和前列腺癌两者。

[0736] 信号转导抑制剂阻断参与信号转导的分子的活性,信号转导是细胞对来自其环境的信号应答的过程。在该过程期间,一旦细胞接收到特异性信号,则所述信号在细胞内通过最终产生适当应答的一系列生化反应进行转继。在一些癌症中,刺激恶性细胞持续分化,而无需通过外部生长因子进行促进。信号转导抑制剂干扰这种不适当的信号转导。

[0737] 基因表达调节剂改变在控制基因表达中起作用的蛋白功能。细胞凋亡诱导剂导致癌细胞经历称为细胞凋亡的受控细胞死亡过程。细胞凋亡是身体用于除去不需要或异常的细胞的一种方法,但是癌细胞具有避免细胞凋亡的策略。细胞凋亡诱导剂可以避免这些策略以导致癌细胞死亡。

[0738] 血管生成抑制剂阻断新血管向肿瘤的生长(称为肿瘤血管生成的过程)。血液供给是肿瘤生长至特定尺寸之外所必需的,因为血液提供了肿瘤持续生长所需的氧气和营养物。干扰血管生成的治疗可以阻断肿瘤生长。抑制血管生成的一些靶向疗法干扰血管内皮生长因子(VEGF)的作用,血管内皮生长因子是刺激新血管形成的物质。其它血管生成抑制剂靶向刺激新血管生长的其它分子。

[0739] 免疫疗法启动免疫系统以破坏癌细胞。一些免疫疗法是识别癌细胞表面上的特异性分子的单克隆抗体。单克隆抗体与靶标分子的结合导致表达靶标分子的细胞的免疫破坏。其它单克隆抗体结合至某些免疫细胞以帮助这些细胞更好地杀死癌细胞。

[0740] 递送毒性分子的单克隆抗体可以导致癌细胞特异性死亡。一旦抗体结合至其靶细胞,则细胞吸收与抗体相连的毒性分子一如放射性物质或有毒化学物质,从而最终杀死该细胞。毒素将不会影响缺少所述抗体靶标的细胞,即体内的绝大多数细胞。

[0741] 癌症疫苗和基因疗法也认为是靶向疗法,因为它们干扰特异性癌细胞的生长。

[0742] 为了说明,以下提供了可以根据本发明的实施方式作为第二疗法使用的FDA批准的靶向疗法的列表。

[0743] • 胃或胃食管连接部的腺癌:曲妥珠单抗(Herceptin®)、雷莫芦单抗(Cyramza®)

[0744] • 基底细胞癌:维莫德吉(Erivedge™)、索尼德吉(Odomzo®)

[0745] • 脑癌:贝伐单抗(Avastin®)、依维莫司(Afinitor®)

[0746] • 乳腺癌:依维莫司(Afinitor®)、他莫昔芬、托瑞米芬(Fareston®)、曲妥珠单抗(Herceptin®)、氟维司群(Faslodex®)、阿那曲唑(Arimidex®)、依西美坦(Aromasin®)、拉帕替尼(Tykerb®)、来曲唑(Femara®)、帕妥珠单抗(Perjeta®)、曲妥珠单抗-美坦新偶联物(Ado-trastuzumab emtansine)(Kadcyla™)、帕博西尼(Palbociclib)(Ibrance®)

[0747] • 宫颈癌:贝伐单抗(Avastin®)

[0748] • 结肠直肠癌:西妥昔单抗(Erbix®)、帕尼单抗(Vectibix®)、贝伐单抗

(Avastin®)、阿柏西普(ziv-aflibercept)(Zaltrap®)、瑞格菲尼(Stivarga®)、雷莫芦单抗(Cyramza®)

[0749] • 隆凸性皮肤纤维肉瘤:伊马替尼甲磺酸盐(Gleevec®)

[0750] • 内分泌/神经内分泌瘤:兰瑞肽乙酸盐(Somatuline®储剂)

[0751] • 头颈癌:西妥昔单抗(Erbitux®)

[0752] • 胃肠道间质瘤:伊马替尼甲磺酸盐(Gleevec®)、舒尼替尼(Sutent®)、瑞格菲尼(Stivarga®)

[0753] • 骨巨细胞瘤:地诺单抗(Xgeva®)

[0754] • 卡波西肉瘤:阿利维A酸(Panretin®)

[0755] • 肾癌:贝伐单抗(Avastin®)、索拉非尼(Nexavar®)、舒尼替尼(Sutent®)、帕唑帕尼(Votrient®)、替西罗莫司(Torisel®)、依维莫司(Afinitor®)、阿西替尼(Inlyta®)

[0756] • 白血病:维甲酸(Vesanoid®)、伊马替尼甲磺酸盐(Gleevec®)、达沙替尼(Sprycel®)、尼罗替尼(Tasigna®)、博舒替尼(Bosulif®)、利妥昔单抗(Rituxan®)、阿仑珠单抗(Campath®)、奥法木单抗(Arzerra®)、奥比妥珠单抗(Gazyva™)、依鲁替尼(Imbruvica™)、艾代拉里斯(Zydelig®)、博纳吐单抗(Blinicyto™)

[0757] • 肝癌:索拉非尼(Nexavar®)

[0758] • 肺癌:贝伐单抗(Avastin®)、克唑替尼(Crizotinib)(Xalkori®)、厄洛替尼(Tarceva®)、吉非替尼(Iressa®)、阿法替尼马来酸氢盐(Gilotrif®)、色瑞替尼(LDK378/Zykadia)、雷莫芦单抗(Cyramza®)、纳武单抗(Opdivo®)、派姆单抗(Keytruda®)

[0759] • 淋巴瘤:替伊莫单抗替坦(tiuxetan)(Zevalin®)、地尼白介素-毒素连接物(denileukin diftitox)(Ontak®)、本妥昔单抗(Adcetris®)、利妥昔单抗(Rituxan®)、伏立诺他(Zolinza®)、罗米地辛(Istodax®)、贝沙罗汀(Targretin®)、硼替佐米(Velcade®)、普拉曲沙(Folotyn®)、来那度胺(Revlimid®)、依鲁替尼(Imbruvica™)、司妥昔单抗(Sylvant™)、艾代拉里斯(Zydelig®)、贝利司他(Beleodaq™)

[0760] • 黑素瘤:普利木单抗(Yervoy®)、威罗非尼(Zelboraf®)、曲美替尼(Mekinist®)、达拉非尼(Tafinlar®)、派姆单抗(Keytruda®)、纳武单抗

(Opdivo®)

[0761] • 多发性骨髓瘤: 硼替佐米 (Velcade®)、卡非佐米 (Kyprolis®)、来那度胺 (Revlimid®)、玻马利度胺 (Pomalyst®)、帕比司他 (Farydak®)

[0762] • 脊髓发育不良病/脊髓增生病: 伊马替尼甲磺酸盐 (Gleevec®)、鲁索替尼磷酸盐 (Jakafi™)

[0763] • 成神经细胞瘤: 达妥昔单抗 (Unituxin™)

[0764] • 卵巢上皮细胞癌/输卵管癌/原发性腹膜癌: 贝伐单抗 (Avastin®)、奥拉帕尼 (Lynparza™)

[0765] • 胰腺癌: 厄洛替尼 (Tarceva®)、依维莫司 (Afinitor®)、舒尼替尼 (Sutent®)

[0766] • 前列腺癌: 卡巴他赛 (Jevtana®)、恩杂鲁胺 (Xtandi®)、阿比特龙乙酸盐 (Zytiga®)、氯化镭223 (Xofigo®)

[0767] • 软组织肉瘤: 帕唑帕尼 (Votrient®)

[0768] • 全身性肥大细胞病: 伊马替尼甲磺酸盐 (Gleevec®)

[0769] • 甲状腺癌: 卡博替尼 (Cometriq™)、凡德他尼 (Caprelsa®)、索拉非尼 (Nexavar®)、乐伐替尼甲磺酸盐 (Lenvima™)

[0770] 免疫疗法

[0771] 技术人员将理解免疫疗法可以与实施方式组合或结合使用。在癌症治疗的背景中, 免疫治疗通常依赖于免疫效应细胞以及靶向和破坏癌细胞的分子的使用。利妥昔单抗 (RITUXAN®) 是这种实例。检查点抑制剂, 如 (例如) ipilimumab 是另一种这种实例。免疫效应因子可以是 (例如) 对肿瘤细胞表面上的一些标志物特异的抗体。所述抗体可以单独用作疗法的效应因子, 或者它可以招募其它细胞来实际实施细胞杀死。抗体还可以缀合至药物或毒素 (例如, 化学治疗剂、放射性核素、蓖麻毒素A链、霍乱毒素、百日咳毒素) 并且仅用作靶向试剂。作为另外一种选择, 所述效应因子可以是具有与肿瘤细胞靶标直接或间接相互作用的表面分子的淋巴细胞。多种效应细胞包括细胞毒性T细胞和NK细胞。

[0772] 在免疫疗法的一个方面, 肿瘤细胞具有受靶向作用的一些标志物, 即不存在于大部分其它细胞上。存在多种肿瘤标志物, 并且在本发明实施方式的背景中, 任何这些可以适合于靶向。常见的肿瘤标志物包括CD20、癌胚抗原、酪氨酸酶 (p97)、gp68、TAG-72、HMFG、唾液酸化的路易斯抗原、MucA、MucB、PLAP、层粘连蛋白受体、erb B和p155。免疫疗法的替代方面将抗癌作用与免疫刺激作用相结合。还存在免疫刺激分子, 其包括: 细胞因子, 如IL-2、IL-4、IL-12、GM-CSF、 γ -IFN、趋化因子, 如MIP-1、MCP-1、IL-8和生长因子, 如FLT3配体。

[0773] 当前正在研究或使用的免疫疗法的实例为免疫佐剂, 例如, 牛型结核分枝杆菌 (*Mycobacterium bovis*)、恶性疟原虫 (*Plasmodium falciparum*)、二硝基氯苯和芳族化合物 (美国专利No. 5,801,005和5,739,169; Hui和Hashimoto, *Infect Immun.*, 66(11):5329-36(1998); Christodoulides等人, *Microbiology*, 66(11):5329-36(1998)); 细胞因子疗法,

例如,干扰素a、b和g、IL-1、GM-CSF和TNF (Bukowski等人,Clin Cancer Res.,4(10):2337-47(1998);Davidson等人,J Immunother.,21(5):389-98(1998);Hellstrand等人,Acta Oncol.37(4):347-53(1998));基因疗法,例如,TNF、IL-1、IL-2和p53(Qin等人,Proc Natl Acad Sci U S A,95(24):14411-6(1998);Austin-Ward和Villaseca,Rev Med Chil,126(7):838-45(1998);美国专利No.5,830,880和5,846,945);和单克隆抗体,例如,抗-PD1、抗-PDL1、抗-CD20、抗-神经节糖苷GM2和抗-p185(Topalian等人,The New England journal of medicine,366:2443-2454(2012);Brahmer等人,The New England journal of medicine 366:2455-2465(2012);Hollander,Front Immunol(2012):3:3.doi:10.3389/fimmu.2012.00003;Hanibuchi等人,Int J Cancer,78(4):480-5(1998);美国专利No.5,824,311);所有文献以其全部内容作为参考并入本文。考虑可以与包括具有免疫特异性结合至BTN1A1或糖基化BTN1A1的抗原结合片段的分子的使用的本文所述的疗法一起使用一种或多种抗-癌疗法。

[0774] 手术

[0775] 约60%的癌症患者将进行一些类型的手术,其包括预防性、诊断或分级、治愈性和缓解性手术。治愈性手术包括其中物理除去、切除和/或破坏全部或部分癌性组织的切除术,并且其可以结合其它疗法使用,如本发明实施方式所述的治疗、化疗、放射疗法、激素疗法、基因疗法、免疫疗法和/或替代疗法。肿瘤切除术是指物理除去至少一部分肿瘤。除肿瘤切除术之外,通过手术治疗包括激光手术、冷冻手术、电外科手术和显微镜控制手术(莫氏手术)。

[0776] 通过切除部分或全部癌性细胞、组织或肿瘤,可以在身体中形成空腔。可以通过用其它抗癌疗法灌注、直接注射或局部区域应用来完成治疗。可以重复这种治疗,例如,每1、2、3、4、5、6或7天,或者每1、2、3、4和5周,或者每1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个月。这些治疗还可以具有不同的剂量。

[0777] 其它类型的疗法

[0778] 本领域中已知的其它类型的癌症疗法可以与本文所提供的方法和组合物组合或结合使用,其包括(但不限于)冷冻疗法、高热疗法、光动力学疗法和高强度聚焦超声(HIFU)疗法。

[0779] 冷冻疗法(也称为冷冻手术)是使用通过液氮(或氩气)所产生的极度寒冷来破坏异常组织。冷冻手术用于治疗外部肿瘤,如皮肤上的那些。对于外部肿瘤,通过棉拭或喷雾装置将液氮直接应用于癌细胞。冷冻手术还可以用于治疗体内肿瘤(骨中的内部肿瘤)。对于内部肿瘤,将液氮或氩气通过与肿瘤接触放置的被称为冷冻探子的中空仪器循环。可以在手术期间将所述探子置于肿瘤中或穿过皮肤(经皮)。在冷冻手术后,冷冻组织融化并被身体天然吸收(对于内部肿瘤),或者它溶解并结痂(对于外部肿瘤)。

[0780] 高热疗法(也称为热疗或温热疗法)是其中身体组织暴露于高温(高达113°F)的一种癌症治疗。存在几种高热法,包括局部、区域和全身高热。

[0781] 在局部高热中,使用递送能量以加热肿瘤的多种技术将热应用于小区域,如肿瘤。不同类型的能量可以用于应用热,包括微波、射频和超声。根据肿瘤位置,存在几种局部高热法,包括外部法、管腔内或腔内法和间质技术。

[0782] 在区域高热中,多种方法可以用于加热大组织区域,如体腔、器官或四肢,包括深

组织法、区域灌注技术和连续高热腹膜灌注 (CHPP)

[0783] 全身高热可以用于治疗全身扩散的转移性癌症,其可以通过将体温提高至107-108°F的几种技术完成,包括热室(类似于大培育箱)或热水毯的使用。

[0784] 光动力学疗法 (PDT) 是使用称为光敏剂或光敏试剂的药物和特定类型的光的治疗。当光敏剂暴露于特定波长的光时,它们产生了将杀死附近细胞的一种形式的氧。在PDT用于癌症治疗的第一步中,将光敏试剂注入血流。所述试剂被全身细胞吸收,但是在癌细胞中保持的时间比正常细胞中更长。在注射后约24至72小时,当大部分试剂离开正常细胞,但仍保持在癌细胞中时,将肿瘤暴露于光。肿瘤中的光敏剂吸收光并产生破坏附近癌细胞的活性形式的氧。

[0785] 用于PDT的光可以来自激光器或其它来源。可以通过光纤电缆(传输光的细纤维)导向激光以将光递送至体内区域。其它光源包括发光二极管(LED),其可以用于表面肿瘤,如皮肤癌。体外光分离置换疗法(ECP)是一种类型的PDT,其中机器用于收集患者的血细胞,用光敏试剂体外处理它们,将它们暴露于光,然后将它们返回患者。

[0786] 高强度聚焦超声疗法(或者HIFU)是一种类型的癌症治疗。医生提供HIFU治疗,所述治疗使用发出高频声波的机器将强束递送至癌症的特异性部分并杀死癌细胞。

[0787] 其它试剂

[0788] 考虑其它试剂可以与本发明实施方式的某些方面组合使用以改善治疗的治疗效力。这些其它试剂包括影响细胞表面受体和间隙连接上调的试剂、细胞抑制和分化试剂、细胞粘附抑制剂、提高过度增殖细胞对凋亡诱导剂的敏感性的试剂或其它生物制剂。通过提高缝隙连接数目来提高细胞间信号转导可以提高对邻近过度增殖细胞群体的抗-过度增殖作用。在其它实施方式中,细胞抑制或分化试剂可以与本发明实施方式的某些方面组合使用以改善治疗的抗-过度增殖效力。考虑细胞粘附抑制剂来改善本发明实施方式的效力。细胞粘附抑制剂的实例为粘着斑激酶(FAKs)抑制剂和洛伐他汀。还考虑提高过度增殖细胞对细胞凋亡的敏感性的其它试剂,如抗体c225可以与本发明实施方式的某些方面组合使用以改善治疗效率。

[0789] 5.6伴随诊断

[0790] BTN1A1在癌细胞中高度且特异性表达。本文还提供了使用本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子检测来自受试者的样品中BTN1A1的表达的方法。因此,本文还提供了本文所述的分子作为癌症诊断的使用。在一些实施方式中,本文提供了通过将样品与本文所述的分子接触以在所述分子和BTN1A1之间形成复合物并检测所述样品中的所述复合物来检测来自受试者的样品中的BTN1A1的方法。在一些实施方式中,本文提供了提供或辅助受试者的癌症诊断的方法,其包括将来自所述受试者的样品与本文所述的分子接触以在所述分子和BTN1A1之间形成复合物,检测所述复合物,并且如果在所述样品中检测到所述复合物,则将所述受试者诊断为可能患有癌症。在一些实施方式中,所述方法包括使用本文所述的具有免疫特异性结合至糖基化BTN1A1的抗原结合片段的分子检测所述样品中糖基化BTN1A1的存在。

[0791] 在一些实施方式中,所述分子具有免疫特异性结合至糖基化BTN1A1的抗原结合片段。在一些实施方式中,所述分子具有免疫特异性结合至在位置N55、N215和/或N449处糖基化的BTN1A1的抗原结合片段。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在

位置N55处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N215处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至一个或多个糖基化基序。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55和N215处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N215和N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55和N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55、N215和/或N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述分子具有免疫特异性结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段。在一些实施方式中,BTN1A1二聚体在BTN1A1二聚体中的BTN1A1单体中的一个和两者中的N55、N215和N449位置中的任何一个和多个处糖基化。例如,糖基化BTN1A1二聚体可以在BTN1A1二聚体中的位置N55、N215和N449中的任何1、2、3、4、5或6个处糖基化。

[0792] 在一些实施方式中,所述分子为抗-BTN1A1抗体。在一些实施方式中,所述分子是抗-糖基化BTN1A1的抗体。在一些实施方式中,所述分子是抗-BTN1A1二聚体的抗体。

[0793] 本文还提供了使用本文所述的具有抗原结合片段的分子检测来自受试者的样品中BTN1A1的表达的方法,所述抗原结合片段包括如表2a-12b中所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的VH或VL域。在一些实施方式中,所述分子可以具有抗原结合片段,所述抗原结合片段包括如表2a-12b所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的VH和VL域两者。

[0794] 本文还提供了使用本文所述的具有抗原结合片段的分子检测来自受试者的样品中BTN1A1的表达的方法,所述抗原结合片段包括具有如表2a-12b中所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的VH CDR中的任一个的氨基酸序列的一个或多个VH CDR。在一些实施方式中,所述分子可以具有抗原结合片段,所述抗原结合片段包括具有如表2a-12b所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的VL CDR中的任一个的氨基酸序列的一个或多个VL CDR。在一些实施方式中,所述分子可以具有抗原结合片段,所述抗原结合片段包括如表2a-12b所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的至少一个VH CDR和至少一个VL CDR。

[0795] 本文还提供了使用本文所述的具有(例如,以剂量-依赖性方式)竞争性阻断本文所述的BTN1A1表位的抗原结合片段的分子检测来自受试者的样品中BTN1A1的表达的方法。所述BTN1A1表位可以是STC703、STC820、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的表位。

[0796] 本文还提供了使用本文所述的具有免疫特异性结合至本文所述的BTN1A1表位的抗原结合片段的分子检测来自受试者的样品中BTN1A1的表达的方法。所述BTN1A1表位可以是STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的表位。

[0797] 在一些实施方式中,检测样品中的BTN1A1包括使用本文所述的分子测量所述样品

中BTN1A1的表达水平。在一些实施方式中,检测BTN1A1还包括将来自受试者的样品中的BTN1A1的表达水平与参考水平相比较。在一些实施方式中,所述方法包括使用本文所述的分子测量样品中BTN1A1的表达水平,将所述样品中的BTN1A1的表达水平与参考水平相比较,并且如果所述样品中的BTN1A1的表达水平高于参考水平,则将受试者诊断为可能患有癌症。

[0798] 在一些实施方式中,测量BTN1A1水平包括使用具有免疫特异性结合至糖基化BTN1A1的抗原结合片段的分子,如抗-糖基化BTN1A1抗体测量糖基化BTN1A1的水平。在一些实施方式中,测量样品中糖基化BTN1A1的水平还包括将样品中的糖基化BTN1A1的水平与参考水平相比较,并且如果样品中的糖基化BTN1A1的水平高于参考水平,则将受试者诊断为可能患有癌症。

[0799] 在一些实施方式中,测量BTN1A1的水平包括使用具有免疫特异性结合至BTN1A1二聚体的抗原结合片段的分子,如抗-BTN1A1二聚体抗体测量BTN1A1二聚体的水平。在一些实施方式中,测量样品中BTN1A1二聚体的水平还包括将样品中的糖基化BTN1A1的水平与参考水平相比较,并且如果样品中的BTN1A1二聚体的水平高于参考水平,则将受试者诊断为可能患有癌症。

[0800] 在一些实施方式中,所述参考水平可以是来自健康个体的样品中BTN1A1的表达水平。在一些实施方式中,所述参考水平可以是来自健康个体群体的样品中BTN1A1的平均或中值表达水平。所述参考水平还可以是通过来自群体样品的BTN1A1的表达水平的统计分析所确定的截止值。可以用于确定该截止值的统计方法在本领域中是熟知的。例如,受试者工作特征(ROC)分析可以用于确定参考表达比。对于ROC分析的综述可见于Soreide, J Clin Pathol, 10:1136 (2008), 其以其全部内容作为参考并入本文。

[0801] 在一些实施方式中,所述受试者可以是经历常规健康检查的健康受试者。在一些实施方式中,所述健康受试者处于患癌风险,如通过在本领域中熟知的某些风险因子的存在所确定的。这些风险因子无限制地包括遗传倾向性、个人疾病史、家族病史、生活方式因素、环境因素、诊断指示剂等。在一些实施方式中,所述受试者是无症状的。无症状受试者还包括显示出癌症轻微早期诊断信号,但是无症状或不痛苦的癌症患者。在一些实施方式中,所述受试者患有癌症。

[0802] 在一些实施方式中,所述受试者怀疑患有癌症。在一些实施方式中,所述受试者具有出现癌症的遗传倾向性或者癌症家族史。在一些实施方式中,将所述受试者暴露于促进癌症出现的某些生活方式因素,或者所述受试者显示出癌症的临床疾病表现。在一些实施方式中,所述受试者是接受诊断癌症或评价癌症出现风险的临床检查的患者。

[0803] 所述癌症可以是转移性癌症。所述癌可以是血液学癌或实体瘤。在一些实施方式中,所述癌是选自白血病、淋巴瘤和骨髓瘤的血液学癌。在一些实施方式中,所述癌是选自乳腺癌、肺癌、胸腺癌、甲状腺癌、头颈癌、前列腺癌、食道癌、气管癌、脑癌、肝癌、膀胱癌、肾癌、胃癌、胰腺癌、卵巢癌、子宫癌、宫颈癌、睾丸癌、结肠癌、直肠癌或皮肤癌、黑素瘤和非黑素瘤皮肤癌两者的实体瘤。所述癌症还可以是如本文所述的任何其它类型的癌症。

[0804] 在一些实施方式中,所述受试者是未治疗过。在一些实施方式中,所述受试者正在经历癌症治疗(例如,化疗)。在一些实施方式中,所述受试者处于症状缓解中。在一些实施方式中,所述症状缓解是药物-引起的。在一些实施方式中,所述症状缓解是无药物的。

[0805] 在一些实施方式中,检测BTN1A1或糖基化BTN1A1的方法包括从受试者获得样品。所述受试者可以是人。所述受试者可以是癌症患者。所述样品可以是全血样品、骨髓样品、部分纯化的血液样品、PBMC、组织活组织检查、循环肿瘤细胞、循环成分,如蛋白质络合物或外来体。在一些实施方式中,所述样品是血液样品。在一些实施方式中,所述样品是组织活组织检查。

[0806] 在一些实施方式中,本文所提供的方法包括使用本文所述的分子,包括抗-BTN1A1抗体和抗-糖基化BTN1A1抗体,使用多种免疫组织化学(IHC)方法或者其它免疫测定方法检测样品中的BTN1A1。

[0807] 组织切片的IHC染色已显示是评价或检测样品中蛋白的存在的可靠方法。免疫组织化学技术通常通过发色或荧光方法,使用抗体来原位检测和使细胞抗原显象。因此,可以使用抗体或抗血清,优选地多克隆抗血清,并且最优选地对BTN1A1特异的单克隆抗体。如以下更详细地讨论的,可以通过用(例如)放射性标记物、荧光标记物、半抗原标记物,如生物素,或者酶,如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶对抗体本身直接标记来检测抗体。作为另外一种选择,将未标记的第一抗体结合标记的第二抗体,包括对于第一抗体特异的抗血清、多克隆抗血清或者单克隆抗体使用。免疫组织化学规程和试剂盒在本领域中是熟知的并且是可商购的。用于载玻片制备和IHC处理的自动化系统在商业上是可用的。Ventana® BenchMark XT系统是这种自动化系统的实例。

[0808] 标准免疫学和免疫测定程序可见于Basic和Clinical Immunology(Stites&Terr主编,第7版,1991)。此外,可以以任何几种配置进行免疫测定,其在Enzyme Immunoassay(Maggio主编,1980);和Harlow&Lane,如上中进行了广泛的综述。对于一般免疫测定的综述,还参见Methods in Cell Biology:Antibodies in Cell Biology,37卷(Asai主编,1993);Basic and Clinical Immunology(Stites&Ten主编,第7版,1991)。

[0809] 检测BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体的常用测定包括酶联免疫吸附测定(ELISA)、荧光免疫吸附测定(FIA)、化学发光免疫吸附测定(CLIA)、放射免疫测定(RIA)、酶倍增免疫测定(EMI)、固相放射免疫分析(SPROA)、荧光极化(FP)测定、荧光能量共振转移(FRET)测定、时间分辨荧光能量共振转移(TR-FRET)测定和表面等离子共振(SPR)测定。

[0810] 在一些实施方式中,ELISA是夹心ELISA。在一些实施方式中,ELISA是直接ELISA。在一些实施方式中,ELISA包括将本文所述的分子固定在固体载体(例如,微量滴定板的孔或比色皿的壁)上的初始步骤。

[0811] 检测BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体的测定包括非竞争性测定,例如,夹心测定和竞争性测定。通常,可以使用测定,如ELISA测定。ELISA测定在本领域中是已知的,例如,对于测定多种组织和样品,包括血液、血浆、血清或骨髓。

[0812] 使用这种测定形式的广泛的免疫测定技术是可用的,参见,例如,美国专利No.4,016,043、4,424,279和4,018,653,其以其全部内容作为参考并入本文。这些包括非竞争型的单位点和双位点两者或者“夹心”测定以及常规竞争性结合测定。这些测定还包括标记至靶标抗原的抗体的直接结合。夹心测定是常用的测定。夹心测定技术存在一些变化。例如,在典型的正向测定(forward assay)中,将未标记的抗-BTN1A1抗体固定在固体基底上,并且将要测试的样品与结合的抗体接触。在适合的培育期之后,对于足以使得形成抗体-抗原复合物的一段时间,然后添加用能够产生可检测信号的报告分子标记的第二抗-BTN1A1抗

体并培育,使得时间足以形成另一种抗体-抗原-标记的抗体复合物。将任何未反应的材料冲洗掉,并且通过观察报告分子所产生的信号来确定抗原的存在。结果可以通过可视信号的简单观察进行定性,或者可以通过与含有标准抗原量的对照样品相比较进行定量。

[0813] 正向测定的变化包括同时测定,其中将样品和标记抗体两者同时加入所述结合的抗体。这些技术对于本领域技术人员来说是熟知的,包括任何微小变化,如将容易地显而易见的。在典型的正向夹心测定中,例如,将第一抗-BTN1A1抗体共价或被动结合至固体表面。所述固体表面可以是玻璃或聚合物,最常用的聚合物是纤维素、聚丙烯酰胺、尼龙、聚苯乙烯、聚氯乙烯或聚丙烯。所述固体载体可以处于管、珠、微板圆盘的形式,或者适合于进行免疫测定的任何其它表面。结合过程在本领域中是熟知的,并且通常包括交联共价结合或物理吸附,在测试样品制备中清洗聚合物-抗体复合物。然后,将要测试的样品等份加入至固相复合物并且在适合的条件下(例如,室温至40℃,如25℃至32℃之间,包括端点)培育足够的时间段(例如,2-40分钟,或者如果更方便,过夜)以允许存在于抗体中的任何亚基的结合。在培育期后,将抗体亚基固相清洗并干燥,并且与对于抗原部分特异的第二抗体培育。将第二抗-BTN1A1抗体连接至用于表示第二抗体与分子标志物结合的报告分子。

[0814] 在一些实施方式中,流式细胞术(FACS)可以用于检测样品中BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体的水平。流式细胞仪检测并报告荧光物-标签抗体的强度,其表示BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体的水平。还可以通过染色透性化细胞来观察非荧光胞浆蛋白。所述染色可以是能够结合至某些分子的荧光化合物,或者是结合所选分子的荧光物-标签抗体。

[0815] 就酶免疫测定来说,通常通过戊二醛或高碘酸盐将酶缀合至第二抗体。然而,如将容易分辨的,存在多种不同的缀合技术,其对于技术人员来说是易于获得的。常用的酶包括辣根过氧化物酶、葡萄糖氧化酶、 β -半乳糖苷酶和碱性磷酸酶,并且本文讨论了其它酶。通常,将与特异性酶一起使用的底物选择用于通过相应酶的水解的可检测变色的产生。适合的酶的实例包括碱性磷酸酶和过氧化物酶。还可能使用荧光底物,其获得了荧光产物而不是以上提及的发色底物。在所有情况下,将酶-标记的抗体加入至第一抗体-分子标志物复合物,使其结合,然后清洗掉过量的试剂。然后,将含有适当底物的溶液加入至抗体-抗原-抗体复合物。底物将与连接至第二抗体的酶反应,提供定性可视信号,其通常可以通过分光光度法进行进一步定量以提供存在于样品中的BTN1A1或糖基化BTN1A1的量的指示。替代地,可以将荧光化合物,如荧光素和罗丹明化学偶联至抗体,而无需改变它们的结合能力。当通过用特定波长的光照射进行激活时,荧光物-标签抗体吸收光能,在分子中引发激发态,然后发射光学显微镜目视可检测的特征颜色的光。如在EIA中的,使荧光标签抗体结合至第一抗体-分子标志物复合物。在清洗掉未结合的试剂之后,然后将剩余的三元复合物暴露于适当波长的光,所观察到的荧光表示BTN1A1或糖基化BTN1A1的存在。免疫荧光和EIA技术均是本领域中良好建立的并且是本文所讨论的。

[0816] 照此,本文提供了癌症诊断方法,其包括使用具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的本文所述的分子检测来自受试者的样品中BTN1A1的存在或表达水平。在一些实施方式中,所述方法还包括向诊断患有癌症的受试者施用癌症治疗。所述癌症治疗可以是如本文所述或另外本领域中已知的任何癌症疗法。在一些实施方式中,所述癌症治疗包括向受试者施用治疗有效量的抗-BTN1A1抗体。

[0817] 5.7评价治疗效力

[0818] 受试者中BTN1A1的表达水平可以与癌症发展相关联。BTN1A1水平的升高可以表示癌症发展,而BTN1A1水平的降低可以表示癌症消退。因此,通过使用本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子在治疗过程中监测受试者样品中的BTN1A1水平,本文还提供了评价受试者中特定癌症治疗效力的方法。在一些实施方式中,所述方法包括检测BTN1A1的表达水平。在一些实施方式中,所述方法包括检测糖基化BTN1A1的水平。

[0819] 在一些实施方式中,所述分子具有免疫特异性结合至糖基化BTN1A1的抗原结合片段。在一些实施方式中,所述分子具有免疫特异性结合至在位置N55、N215和/或N449处糖基化的BTN1A1的抗原结合片段。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N215处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至一个或多个糖基化基序。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55和N215处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述分子是抗-BTN1A1抗体。在一些实施方式中,所述分子是抗-糖基化BTN1A1的抗体。在一些实施方式中,所述分子具有免疫特异性结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段。在一些实施方式中,BTN1A1二聚体在BTN1A1二聚体中的BTN1A1单体中的一个和两者中的N55、N215和N449位置中的任何一个和多个处糖基化。例如,糖基化BTN1A1二聚体可以在BTN1A1二聚体中的位置N55、N215和N449中的任何1、2、3、4、5或6个处糖基化。

[0820] 在一些实施方式中,通过使用本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子在治疗过程中监测受试者样品中的BTN1A1水平,本文还提供了评价受试者中特定癌症治疗效力的方法。在一个实施方式中,所述分子可以具有包括如表2a-12b所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的VH或VL域的抗原结合片段。在一个实施方式中,所述分子可以具有包括如表2a-12b所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的VH和VL域两者的抗原结合片段。在另一个实施方式中,所述分子可以具有包括具有如表2a-12b所显示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的VH CDR中的任一个的氨基酸序列的一个或多个VH CDR的抗原结合片段。在另一个实施方式中,所述分子可以具有包括具有如表2a-12b所显示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的VL CDR中的任一个的氨基酸序列的一个或多个VL CDR的抗原结合片段。在另一个实施方式中,所述分子可以具有包括如表2a-12b所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的至少一个VH CDR和至少一个VL CDR的抗原结合片段。

[0821] 在一些实施方式中,通过使用本文所述的具有抗原结合片段的分子在治疗过程中监测受试者样品中的BTN1A1水平,本文还提供了评价受试者中特定癌症治疗效力的方法。在一些实施方式中,所述分子可以具有(例如,以剂量-依赖性方式)竞争性阻断本文所述的BTN1A1表位的抗原结合片段。所述BTN1A1表位可以是STC703、STC810、STC820、STC1011、

STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的表位。在一些实施方式中,所述分子可以具有免疫特异性结合至如本文所述的BTN1A1的表位的抗原结合片段。所述BTN1A1表位可以是STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的表位。

[0822] 在一些实施方式中,本文提供了评价患者中特定癌症治疗效力的方法,其包括:a)将在整个治疗过程中,在第一和至少一个后续时间点得自所述患者的两个或更多个样品与本文所述的分子接触;b)测量所述两个或更多个样品中的BTN1A1的水平,和c)比较所述两个或更多个样品中的BTN1A1水平,当相对于第一时间点所获得的样品中的BTN1A1水平,在后续时间点所获得的样品中的BTN1A1水平降低时,则表示所述癌症治疗是有效的。所述分子可以是抗-BTN1A1抗体。在一些实施方式中,所述BTN1A1水平可以是糖基化BTN1A1水平。在一些实施方式中,所述BTN1A1水平可以是BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的水平。所述分子还可以是抗-糖基化BTN1A1抗体或者抗-BTN1A1二聚体抗体。在一些实施方式中,所述分子是STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781。

[0823] 在一些实施方式中,所述方法包括将在整个治疗过程中,在第一和至少一个后续时间点得自所述患者的两个或更多个样品与本文所述的分子接触以在所述分子和所述样品中的BTN1A1之间形成复合物,和通过测量所述样品中的复合物来测量所述两个或更多个样品中的BTN1A1的水平。

[0824] 在一些实施方式中,在一个测定中测量来自两个或更多个样品的BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体的水平。在其它实施方式中,在多个测定中测量来自两个或更多个样品的BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体的水平。在一些实施方式中,在从受试者获得样品的当天测量BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体的水平。在一些实施方式中,在不储存得自受试者的样品的情况下,测量BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体的水平。

[0825] 来自癌症患者的样品可以是全血样品、骨髓样品、部分纯化的血液样品、PBMC、组织活组织检查、循环肿瘤细胞、循环成分,如蛋白质络合物或外来体。在一些实施方式中,所述样品是血液样品。在一些实施方式中,所述样品是组织活组织检查。如本领域的常规技术人员将理解的,如本文所述或另外如本领域中已知的任何确定样品中蛋白表达水平的方法可以用于确定来自癌症患者的样品中的BTN1A1的水平。在一些实施方式中,所述方法包括免疫测定。所述免疫测定可以是免疫组织化学方法,包括使用本文所述的分子来检测BTN1A1并使其显象。所述免疫测定可以包括FIA、CLIA、RIA、EMI、SPROA、FP测定、FRET测定、TR-FRET测定或者SPR测定。

[0826] 癌症治疗或癌症疗法可以是本文所述的或者另外本领域中已知的任何疗法,其包括(但不限于):手术疗法、化疗、生物靶向疗法、小分子靶向疗法、放射疗法、冷冻疗法、激素疗法、免疫疗法或细胞因子疗法。在一些实施方式中,所述癌症治疗包括FDA批准的癌症治疗,其包括临床开发中的实验癌症治疗。在一些实施方式中,所述癌症治疗包括使用两种或更多种药物或者两种或更多种类型的疗法的组合的治疗。

[0827] 在一些实施方式中,所述癌症治疗包括向癌症患者施用抗-BTN1A1抗体。

[0828] 在一些实施方式中,在癌症治疗过程开始时获得一个或多个样品,并且在整个治疗过程中随后的时间点获得一个或多个样品。在一些实施方式中,所述后续时间点是2个或

以上,3个或以上,4个或以上,5个或以上,6个或以上,7个或以上,8个或以上,9个或以上,10个或以上,15个或以上,20个或以上,25个或以上或者30个或以上的时间点。

[0829] 在一些实施方式中,所述方法还包括如果确定治疗无效,则调整所述治疗。调整治疗可以包括(例如)调整药物治疗的剂量,提高药物治疗的频率,用不同的药物或药物组合治疗或者终止治疗。

[0830] 在一些实施方式中,所述方法还包括如果确定治疗有效,则重复所述治疗。

[0831] 在一些实施方式中,在第一时间点所获得的样品中的BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体的水平比后续时间点降低了大于10%、大于20%、大于30%、大于40%、大于50%、大于60%、大于70%、大于80%、大于90%、大于95%或大于99%。

[0832] 5.8患者选择

[0833] 通过确定来自患者的样品中BTN1A1的存在或表达水平,本文提供了具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子用于预测癌症患者对癌症治疗的反应的使用。在一些实施方式中,所述方法包括通过将来自癌症患者的样品与本文所述的分子接触以在所述分子和BTN1A1之间形成复合物来检测所述样品中的BTN1A1,和如果检测到所述复合物,则预测所述受试者将可能对癌症治疗起反应。在一些实施方式中,所述方法包括使用具有免疫特异性结合至糖基化BTN1A1的抗原-结合片段的分子检测所述样品中糖基化BTN1A1的存在。在一些实施方式中,所述方法包括使用具有免疫特异性结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段的分子检测所述样品中BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的存在。

[0834] 在一些实施方式中,所述分子具有免疫特异性结合至糖基化BTN1A1的抗原结合片段。在一些实施方式中,所述分子具有免疫特异性结合至在位置N55、N215和/或N449处糖基化的BTN1A1的抗原结合片段。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N215处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至一个或多个糖基化基序。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55和N215处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N215和N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55和N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55、N215和/或N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述分子具有免疫特异性结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)的抗原结合片段。在一些实施方式中,BTN1A1二聚体在BTN1A1二聚体中的BTN1A1单体中的一个和两者中的N55、N215和N449位置中的任何一个和多个处糖基化。例如,糖基化BTN1A1二聚体可以在BTN1A1二聚体中的位置N55、N215和N449中的任何1、2、3、4、5或6个处糖基化。

[0835] 在一些实施方式中,所述分子为抗-BTN1A1抗体。在一些实施方式中,所述分子是抗-糖基化BTN1A1的抗体。在一些实施方式中,所述分子是抗-BTN1A1二聚体的抗体。

[0836] 在一个实施方式中,本文所提供的可以用于患者选择的分子可以具有抗原结合片段,其包括如表2a-12b所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的VH或VL域。在一个实施方式中,

所述分子可以具有包括如表2a-12b所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC11012或STC1029的VH和VL域两者的抗原结合片段。在另一个实施方式中,所述分子可以具有包括具有如表2a-12b所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的VH CDR中的任一项的氨基酸序列的一个或多个VH CDR的抗原结合片段。在另一个实施方式中,所述分子可以具有包括具有如表2a-12b所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的VL CDR中的任一项的氨基酸序列的一个或多个VL CDR的抗原结合片段。在另一个实施方式中,所述分子可以具有包括如表2a-12b所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的至少一个VH CDR和至少一个VL CDR的抗原结合片段。

[0837] 在一些实施方式中,本文所提供的可以用于患者选择的分子可以具有(例如,以剂量-依赖性方式)竞争性掩蔽本文所述的BTN1A1表位的抗原结合片段。所述BTN1A1表位可以是STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的表位。在一些实施方式中,所述分子可以具有免疫特异性结合至本文所述的BTN1A1抗体的表位的抗原结合片段。所述BTN1A1表位可以是STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的表位。

[0838] 在其它实施方式中,检测样品中的BTN1A1包括使用本文所述的分子测量所述样品中BTN1A1的表达水平。在一些实施方式中,检测BTN1A1还包括将来自受试者的样品中的BTN1A1的表达水平与参考水平相比较。在一些实施方式中,所述方法包括使用抗-BTN1A1抗体测量样品中BTN1A1的表达水平,将所述样品中的BTN1A1的表达水平与参考水平相比较,和如果所述样品中的BTN1A1的表达水平高于参考水平,则预测受试者将可能对癌症治疗起反应。

[0839] 在一些实施方式中,测量BTN1A1水平包括使用抗-糖基化BTN1A1的抗体测量糖基化BTN1A1的水平。在一些实施方式中,测量样品中糖基化BTN1A1的水平还包括将样品中的糖基化BTN1A1的水平与参考水平相比较,和如果样品中的糖基化BTN1A1的水平高于参考水平,则预测受试者将可能对癌症治疗起反应。

[0840] 在一些实施方式中,测量BTN1A1水平包括使用抗-BTN1A1二聚体抗体(例如,STC703或STC810)测量BTN1A1二聚体的水平。在一些实施方式中,测量样品中BTN1A1二聚体的水平还包括将样品中的BTN1A1二聚体的水平与参考水平相比较,和如果样品中的BTN1A1二聚体的水平高于参考水平,则预测受试者将可能对癌症治疗起反应。

[0841] 来自癌症患者的样品可以是全血样品、骨髓样品、部分纯化的血液样品、PBMC、组织活组织检查、循环肿瘤细胞、循环成分,如蛋白质络合物或外来体。在一些实施方式中,所述样品是血液样品。本文描述了检测BTN1A1的存在或者测量BTN1A1的表达水平的方法,或者另外它们是本领域中已知的。

[0842] 癌症治疗或癌症疗法可以是本文所述的或者另外本领域中已知的任何疗法,其包括(但不限于):手术疗法、化疗、生物靶向疗法、小分子靶向疗法、放射疗法、冷冻疗法、激素疗法、免疫疗法或细胞因子疗法。在一些实施方式中,所述癌症治疗包括FDA-批准的癌症治疗,其包括临床开发中的实验癌症治疗。在一些实施方式中,所述癌症治疗包括使用两种或

更多种药物或者两种或更多种类型的疗法的组合的治疗。

[0843] 在一些实施方式中,所述癌症治疗包括向癌症患者施用抗-BTN1A1抗体。

[0844] 5.9试剂盒

[0845] 本文提供了含有本文所述的分子和一种或多种辅助试剂的试剂盒。在一些实施方式中,本文提供了对于制备和/或施用本文所提供的疗法的试剂盒。所述试剂盒可以具有含有任何本文所述的药物组合物的一个或多个密封的小瓶。所述试剂盒可以包括(例如)具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或者BTN1A1二聚体的抗原结合片段的分子以及制备、配制和/或施用所述分子或者实施本文所公开的方法的一个或多个步骤的试剂。

[0846] 在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至糖基化BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在N55、N215和/或N449位置处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N215处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至一个或多个糖基化基序。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55和N215处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至BTN1A1二聚体(例如,糖基化BTN1A1二聚体)。在一些实施方式中,BTN1A1二聚体在BTN1A1二聚体中的BTN1A1单体中的一个和两者中的N55、N215和N449位置中的任何一个和多个处糖基化。例如,糖基化BTN1A1二聚体可以在BTN1A1二聚体中的位置N55、N215和N449中的任何1、2、3、4、5或6处糖基化。

[0847] 在一些实施方式中,所述分子是抗-BTN1A1抗体。在一些实施方式中,所述抗-BTN1A1抗体是抗-糖基化BTN1A1的抗体。在一些实施方式中,所述抗-BTN1A1抗体是抗-BTN1A1二聚体抗体(例如,STC703或STC810)。在一些实施方式中,所述抗-BTN1A1抗体是人源化抗体或人抗体。

[0848] 在一个实施方式中,本文所提供的试剂盒可以包括具有包括如表2a-12b所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的VH或VL域的抗原结合片段的分子。在一个实施方式中,本文所提供的试剂盒可以包括具有包括如表2a-12b所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778和STC2781的VH和VL域两者的抗原结合片段的分子。在另一个实施方式中,本文所提供的试剂盒可以包括具有抗原结合片段的分子,所述抗原结合片段包括具有如表2a-12b所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的VH CDR中的任一项的氨基酸序列的一个或多个VH CDR。在另一个实施方式中,所述分子可以具有包括具有如表2a-12b所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的VL CDR中的任一项的氨基酸序列的一个或多个VL CDR的抗原结合片段。在另一个实施方式中,所述分子可以具有包括如表2a-12b所示的鼠单克隆抗体STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的至少一个VH CDR和至少一个VL CDR的抗原结合片段。

[0849] 在一些实施方式中,本文所提供的试剂盒可以包括具有(例如,以剂量-依赖性方式)竞争性掩蔽本文所述的BTN1A1表位的抗原结合片段的分子。所述BTN1A1表位可以是如本文所述的STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的表位。在一些实施方式中,本文所提供的试剂盒可以包括具有免疫特异性结合至如本文所述的BTN1A1的表位的抗原结合片段的分子。所述BTN1A1表位可以是STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012、STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781的表位。

[0850] 在一些实施方式中,所述试剂盒还包括第二抗癌剂。所述第二抗癌剂可以是化疗剂、免疫治疗因子、激素治疗剂或细胞因子。

[0851] 本文还提供了可以用作癌症的伴随诊断的试剂盒。在一些实施方式中,所述试剂盒可以用于提供或帮助癌症诊断。在一些实施方式中,所述试剂盒可以用于评价癌症治疗的效力。在一些实施方式中,所述试剂盒可以用于预测患者对癌症治疗的反应。在一些实施方式中,所述试剂盒可以用于选择用于特定癌症治疗的患者。所述试剂盒可以包括(例如)用于检测样品中BTN1A1的试剂。

[0852] 所述试剂可以是具有免疫特异性结合至BTN1A1、糖基化BTN1A1或BTN1A1二聚体的抗原结合片段的分子。在一些实施方式中,所述分子具有免疫特异性结合至糖基化BTN1A1的抗原结合片段。在一些实施方式中,所述分子具有免疫特异性结合至在位置N55、N215和/或N449处糖基化的BTN1A1的抗原结合片段。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N215处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N449处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至一个或多个糖基化基序。在一些实施方式中,所述抗原结合片段免疫特异性结合至在位置N55和N215处糖基化的BTN1A1。在一些实施方式中,所述分子为抗-BTN1A1抗体。在一些实施方式中,所述分子是抗-糖基化BTN1A1的抗体。在一些实施方式中,所述分子是抗-BTN1A1二聚体抗体(例如,STC703或STC810)。在一些实施方式中,BTN1A1二聚体在BTN1A1二聚体中的BTN1A1单体中的一个和两者中的N55、N215和N449位置中的任何一个和多个处糖基化。例如,糖基化BTN1A1二聚体可以在BTN1A1二聚体中的位置N55、N215和N449中的任何1、2、3、4、5或6个处糖基化。

[0853] 癌症疗法可以是本文所述的或者另外本领域中已知的任何疗法,其包括(但不限于):手术疗法、化疗、生物靶向疗法、小分子靶向疗法、放射疗法、冷冻疗法、激素疗法、免疫疗法或细胞因子疗法。在一些实施方式中,所述癌症疗法包括向癌症患者施用本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子,如抗-BTN1A1抗体,包括抗-糖基化BTN1A1的抗体和抗-BTN1A1二聚体的抗体。

[0854] 在一些实施方式中,用于诊断试剂盒的辅助试剂可以是第二抗体、检测试剂、固定化缓冲液、封闭缓冲液、清洗缓冲液、检测缓冲液或它们的任意组合。

[0855] 第二抗体可以包括(例如)抗-人IgA抗体、抗-人IgD抗体、抗-人IgE抗体、抗-人IgG抗体或者抗-人IgM抗体。在一些实施方式中,所述第二抗体是抗-牛抗体。第二检测抗体可以是单克隆或多克隆抗体。第二抗体可以来源于任何哺乳动物,包括小鼠、大鼠、仓鼠、山羊、骆驼、鸡、兔等。第二抗体可以缀合至酶(例如,辣根过氧化物酶(HRP)、碱性磷酸酶(AP)、

荧光素酶等)或者染料(例如,比色染料、荧光染料、荧光能量共振转移(FRET)-染料、时间分辨(TR)-FRET染料等)。在一些实施方式中,所述第二抗体是多克隆兔-抗-人IgG抗体,其是HRP-缀合的。

[0856] 在一些实施方式中,所述检测试剂含有荧光检测试剂或发光检测试剂。在一些其它实施方式中,所述发光检测试剂含有鲁米诺或萤光素。

[0857] 大量清洗缓冲液在本领域中是已知的,如三(羟甲基)氨基甲烷(Tris)-基缓冲液(例如,Tris-缓冲盐水,TBS)或者磷酸盐缓冲液(例如,磷酸盐缓冲盐水,PBS)。清洗缓冲液可以包括去污剂,如离子或非离子型去污剂。在一些实施方式中,清洗缓冲液是包括**Tween®20**(例如,约0.05% **Tween®20**)的PBS缓冲液(例如,约pH 7.4)。

[0858] 本领域中已知的任何稀释缓冲液可以包含在本发明公开的试剂盒中。稀释缓冲液可以包含载体蛋白(例如,牛血清白蛋白,BSA)和去污剂(例如, **Tween®20**)。在一些实施方式中,稀释缓冲液是包括BSA(例如,约1% BSA和**Tween®20**(例如,约0.05% **Tween®20**)的PBS(例如,约pH7.4)。

[0859] 在一些实施方式中,所述检测试剂是比色检测试剂、荧光检测试剂或化学发光检测试剂。在一些实施方式中,所述比色检测试剂包括PNPP(磷酸对-硝基苯酯)、ABTS(2,2'-联氮-双(3-乙基苯并噻唑-6-磺酸))或者OPD(o-苯二胺)。在一些实施方式中,所述荧光检测试剂包括QuantaBlu™或者QuantaRed™(Thermo Scientific,Waltham,MA)。在一些实施方式中,所述发光检测试剂包括鲁米诺或萤光素。在一些实施方式中,所述检测试剂包括引发剂(例如,H₂O₂)和示踪剂(例如,异鲁米诺-缀合物)。

[0860] 本领域中已知的任何检测缓冲液可以包含在本发明公开的试剂盒中。在一些实施方式中,所述检测缓冲液是柠檬酸盐-磷酸盐缓冲液(例如,约pH 4.2)。

[0861] 本领域中已知的任何终止溶液可以包含在本发明公开的试剂盒中。本发明公开所述的终止溶液终止或延迟了检测试剂和相应测定信号的进一步发展。终止溶液可以包括(例如)低-pH缓冲液(例如,甘氨酸-缓冲液,pH 2.0)、离液剂(例如,氯化胍、十二烷基磺酸钠(SDS))或还原剂(例如,二硫苏糖醇、巯基乙醇)等。

[0862] 在一些实施方式中,本文所提供的试剂盒包括用于自动测定系统的清洗剂。自动测定系统可以包括任何厂商的系统。在一些实施方式中,所述自动测定系统包括(例如)BIO-FLASH™、BEST 2000™、DS2™、ELx50 WASHER、ELx800 WASHER、ELx800 READER和Autoblot S20™。清洗剂可以包括本领域中已知的任何清洗剂。在一些实施方式中,所述清洗剂是自动测定系统的生产商所推荐的清洗剂。

[0863] 在一些实施方式中,所述试剂盒还可以包括适合的容器方式,它是不与试剂盒组分反应的容器,如eppendorf管、测定板、注射器、瓶或管。可以用可消毒材料,如塑料或玻璃制备所述容器。

[0864] 在一些实施方式中,所述试剂盒还包括固相载体。所述固相载体可以包括本领域中已知的其上可以固定化本发明公开的蛋白的任何载体。在一些实施方式中,固相基底是微滴孔板、载玻片(例如,玻璃载玻片)、芯片(例如,蛋白芯片、生物传感器芯片,如Biacore芯片)、微流体盒(cartridges)、比色皿、珠(例如,磁珠)或树脂。

[0865] 在一些其它实施方式中,本文所提供的试剂盒包括使用试剂盒亚单位检测来自受

试者的样品中的BTN1A1或糖基化BTN1A1的说明书。

[0866] 本文所提供的试剂盒可以用于特定测定技术进行调整。在一些实施方式中,所述试剂盒是ELISA试剂盒、斑点印迹试剂盒、化学发光免疫测定(CIA)试剂盒或多路试剂盒。在一些实施方式中,所述ELISA试剂盒可以包括清洗缓冲液、样品稀释液、第二抗体-酶缀合物、检测试剂和停止溶液。在一些实施方式中,所述斑点印迹试剂盒可以包括清洗缓冲液、样品稀释液、第二抗体-酶缀合物、检测试剂和停止溶液。在一些实施方式中,所述CIA试剂盒包括清洗缓冲液、样品稀释液、示踪剂(例如,异鲁米诺-缀合物)和引发剂(例如, H_2O_2)。在一些实施方式中,所述多路试剂盒包括清洗缓冲液、样品稀释液和第二抗体-酶缀合物。

[0867] 在一些实施方式中,本发明所述的试剂盒具有包括指示所述试剂盒用于癌症的诊断、预后或监测的标签的包装。在一些实施方式中,所述试剂盒用作癌症治疗的伴随诊断。在一些其它实施方式中,所述包装具有指示所述试剂盒与癌症药物一起使用的标签。在一些实施方式中,所述试剂盒用于对特定癌症治疗选择患者。

[0868] 在一些实施方式中,所述试剂盒的包装包括FDA批准的标签。FDA批准标签可以包括FDA批准的使用和说明书的告知。在一些实施方式中,所述试剂盒标明仅用于研究使用(RUO)或者仅用于研究性使用(IUO)。在一些实施方式中,所述试剂盒标明用于体外诊断使用(IVD)。在一些实施方式中,根据联邦法规法典标题21,809节,子部分B(21CFR 89,子部分B)对试剂盒加标签。

[0869] 5.10生产和筛选方法

[0870] 一般地,可以通过用BTN1A1单体抗原或BTN1A1二聚体抗原使生物,如小鼠免疫以产生免疫特异性结合至BTN1A1的抗体来产生本文所提供的包括相对于单体BTN1A1优先结合二聚体BTN1A1的抗原结合片段的分子。随后,可以对这些免疫特异性抗-BTN1A1抗体筛选相对于单体BTN1A1,优先结合二聚体BTN1A1的抗体。本领域中已知的任何细胞基或纯化-蛋白基筛选方法可以用于鉴别抗-BTN1A1二聚体抗体。

[0871] 在一个方面,本文提供了产生包括相对于单体BTN1A1,优先结合二聚体BTN1A1的抗原结合片段的分子的方法,其包括(a)提供BTN1A1抗原以产生包括免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子,和(b)对包括免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子筛选包括相对于单体BTN1A1,优先结合二聚体BTN1A1的抗原结合片段的分子。

[0872] 在一些实施方式中,所述BTN1A1抗原是BTN1A1单体。在一些实施方式中,所述BTN1A1单体是BTN1A1-ECD-His6。参见,例如,实施例9。

[0873] 在一些实施方式中,所述BTN1A1抗原是BTN1A1二聚体。在一些实施方式中,所述BTN1A1二聚体是BTN1A1-ECD-Fc。参见,例如,实施例9。

[0874] 在一些实施方式中,筛选包括确定所述包括免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子对于单体BTN1A1或二聚体BTN1A1的结合水平或亲合力。在一些实施方式中,如果所述分子对于二聚体BTN1A1具有比对于单体BTN1A1更高的结合水平或亲合力,则所述分子包括相对于单体BTN1A1,优先结合二聚体BTN1A1的抗原结合片段。

[0875] 在一些实施方式中,在基于细胞的测定中确定对于单体BTN1A1或二聚体BTN1A1的结合水平或亲合力。在一些实施方式中,所述基于细胞的测定是流式细胞术测定。在一些实施方式中,所述相对于单体BTN1A1优先结合二聚体BTN1A1的抗原结合片段以比相对于单体BTN1A1所显示的MFI高至少2倍的MFI结合至二聚体BTN1A1,其中任选地所述抗原结合片段

以比相对于单体BTN1A1所显示的MFI高至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍或至少50倍的MFI结合至二聚体BTN1A1。

[0876] 在一些实施方式中,使用纯化的单体或二聚体BTN1A1蛋白确定对于单体BTN1A1或二聚体BTN1A1的结合水平或亲合力。在一些实施方式中,所述纯化的单体BTN1A1蛋白是BTN1A1-ECD-His,所述纯化的二聚体BTN1A1蛋白是BTN1A1-ECD-Fc。在一些实施方式中,使用酶联免疫吸附测定(ELISA)、荧光免疫吸附测定(FIA)、化学发光免疫吸附测定(CLIA)、放射免疫测定(RIA)、酶倍增免疫测定(EMI)、固相放射免疫分析(SPROA)、荧光极化(FP)测定、荧光能量共振转移(FRET)测定、时间分辨荧光能量共振转移(TR-FRET)测定或者表面等离子共振(SPR)测定确定对于单体BTN1A1或二聚体BTN1A1的结合水平或亲合力。在一些实施方式中,使用SPR测定确定测试分子对于二聚体BTN1A1或单体BTN1A1的亲合力。在一些实施方式中,所述相对于单体BTN1A1,优先结合二聚体BTN1A1的抗原结合片段以小于相对于单体BTN1A1所显示的 K_D 的一半的 K_D 结合至二聚体BTN1A1,其中任选地所述抗原结合片段以比相对于单体BTN1A1所显示的 K_D 小至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍或至少50倍的 K_D 结合至二聚体BTN1A1。

[0877] 在另一个方面,本文提供了在本文所提供的筛选方法中鉴别的分子。

6. 实施例

[0878] 应理解还考虑了不明显改变本文所述的多种实施方式的性质和精神的修改。因此,以下实施例旨在说明,但不以任何方式限制。

[0879] 6.1 实施例1:作为癌症疗法靶标的BTN1A1的鉴别

[0880] 可以对处于应激状态下的肿瘤细胞进行辐照,从而所述肿瘤细胞可以激活在所述应激下存活的机制,并且在这些条件下激活的分子可以用作独立疗法或者与辐照的组合疗法的靶标。将BTN1A1鉴别为在这些条件下过表达的靶标。未处理过的T细胞分离自不具有肿瘤的小鼠并将其置于96孔板中。通过使用含有所关心的shRNA的慢病毒载体感染T细胞,将未处理过的T细胞工程设计以包含所关心的敲低的特定基因。每次对一个孔进行特定候选基因的敲低。

[0881] 在获得稳定表型之后,在存在抗原或抗-CD3+抗-CD28的情况下,使用两组抑制性细胞:(1)分离自辐照动物的抑制性细胞;和(2)分离自未辐照的动物的抑制性细胞,将shRNA处理的T细胞与抑制性细胞一起培育。然后,使用与Dolcetti等人,Current Protocols in Immunology,14.17.1-14.17.25(2010)中所述的那些基本类似的程序,评价单个孔中的T细胞增殖,该文献以其全部内容作为参考并入本文。

[0882] 在相同体外抑制测定中比较了分离自辐照vs.未辐照动物的T细胞的反应。在用非靶标控制的shRNA处理的T细胞中,增殖受到抑制,而负调控(抑制)免疫应答的靶标基因的失活导致反应增强(抑制降低)。当与分离自辐照动物的抑制性细胞混合时,在含有BTN1A1敲低的样品中观察到了显著更好的T细胞增殖(即,T细胞抑制降低),其支持BTN1A1参与T细胞反应的抑制。

[0883] 图4A和图4B显示了与阴性对照一起,相对于非辐照脾脏,来自非辐照肿瘤的shRNA序列读序的图(图4A),和相对于非辐照脾脏,来自辐照肿瘤的shRNA序列读序的图(图4B)。在BTN1A1敲低后,通过靶向小鼠BTN1A1的3种不同的shRNA观察到了特异性T细胞积累。短划

线通过Log2显示了与对角线的偏离。

[0884] 图5显示了在伴刀豆凝集素A (ConA) 或者抗-CD3/抗-CD28激活的小鼠CD8⁺T细胞中探查BTN1A1细胞-表面表达的FACS分析结果。发现在通过伴刀豆凝集素A (ConA) 或者抗-CD3/抗-CD28激活的CD8⁺T细胞上诱导了BTN1A1。简言之,将分离自脾的小鼠CD8⁺T细胞以 2×10^5 /孔接种。用ConA (伴刀豆凝集素A) (2 μ g/mL) 和mIL-2 (20U/mL) 或者小鼠抗-CD3/CD28 T细胞激活珠 (T细胞:珠=1:3) 处理CD8⁺T细胞。96h后,通过Alexa488缀合的抗-小鼠BTN1A1抗体 (STC1012) 对细胞进行流式细胞术分析。

[0885] 图6A和图6B显示了质谱流式细胞术 (mass cytometry) (CyTOF; Fluidigm, South San Francisco, CA) 分析的结果,表明BTN1A1可以选择性抑制细胞毒性T细胞激活。简言之,在使用或不使用重组BTN1A1涂覆的96-孔板的情况下,将人PBMC (1×10^5 /孔) 与抗-人CD3抗体 (UHCT1) 培养96h。通过人周围血液表型分型组对细胞进行CyTOF分析。通过产生FCS文件并使用FlowJo软件分析质谱流式细胞术数据。图6A显示了激活的T杀伤细胞的结果。图6B显示了未处理过的效应细胞和未处理过的T杀伤细胞的结果。发现在存在重组BTN1A1时,T杀伤细胞的激活降低。未发现BTN1A1抑制未处理过的T杀伤细胞或未处理过的T效应细胞的激活。

[0886] 图7显示了显示用于鉴别BTN1A1的生物活性的三种不同的基于细胞的测定形式的示意图。在第一种测定中,在与抗-CD3/CD28和BTN1A1涂覆珠 (左图) 培育后,可以通过流式细胞术 (CFSE染色 (羧基荧光素琥珀酰亚胺酯); 用于流式细胞术的CellTrace™ CFSE细胞增殖试剂盒, ThermoFisher, Waltham, MA; 中间图) 测量T细胞激活。在第二种测定中,可以将CFSE-染色的小鼠脾细胞与表达BTN1A1的4T1细胞共培养 (中间图)。在第三种测定中,可以将CFSE-染色的小鼠脾细胞与涂覆至表面的BTN1A1接触 (右图)。

[0887] 图8A和图8B显示了图7所示的珠-基T细胞激活测定的结果 (左图)。简言之,将甲磺酰基激活的 **Dynabeads®** (M-450; ThermoFisher, Waltham, MA) 与抗-CD3、抗-CD28和BTN1A1-Fc或PD-L1-Fc缀合。从PBMC富集T细胞,并用CFSE染色。将缀合的珠以指定比例 (T-细胞:珠=1:1、1:2、1:3和1:5) 加入至所述细胞 (1×10^5 /孔)。5天后,通过流式细胞术分析CFSE-染色的细胞以测量T细胞增殖 (图8A)。相对于IgG对照,在存在PD-L1-Fc和BTN1A1-Fc的情况下,T细胞增殖受到显著抑制 (图8B)。

[0888] 图9A和图9B显示了使用过表达BTN1A1的4T1细胞和CFSE-染色的小鼠脾细胞的共培养测定的结果。还参见,图7 (中间图)。简言之,将过表达4T1-EV或者4T1-mBTN1A1的细胞在96-孔板中铺板。12h后,用50 μ g/mL丝裂霉素C处理细胞1h。将分离自Balb/c小鼠,用CFSE染色的脾细胞加入至4T1细胞。用可溶性抗-CD3 (5 μ g/mL) 和抗-CD28 (2 μ g/mL) 激活T细胞96h。使用流式细胞术,通过CFSE评价T细胞增殖 (图9A)。发现表达mBTN1A1的4T1细胞以剂量-依赖性方式抑制T细胞增殖 (图9B)。

[0889] 图10显示了使用固定化的BTN1A1和CFSE-染色的小鼠脾细胞的异质测定结果。还参见,图7 (右图)。简言之,在96-孔板上以指定浓度涂覆抗-小鼠CD3抗体和mBTN1A1-Fc (10mg/mL) 或者小鼠IgG。小鼠T细胞分离自Balb/c小鼠脾脏,用5 μ M CFSE染色,并添加至每个孔中 (2×10^5 个细胞/孔)。96h后,将FACS分析用于确定脾细胞增殖程度。数值表示流式细胞术期间门内细胞%。发现mBTN1A1-Fc抑制CD3-激活的小鼠T细胞的增殖。

[0890] 图11和图12显示了实验结果,其显示辐照处理可以诱导在肿瘤微环境中诱导的

BTN1A1。简言之,对雌性C57BL6/J小鼠皮下注射 5×10^5 个路易斯肺癌细胞。小鼠#178、#183和#186在3天内接受3次剂量的12Gy的辐照;小鼠#180、#182和#185在5天内接受5次剂量的2Gy的辐照;小鼠#179和#184未被辐照。使用胶原酶IV分离肿瘤,并且对于mCD8和mBTN1A1,对多聚甲醛-固定的细胞进行FACS。接受放射疗法的小鼠显示相对于未辐照的小鼠,CD8⁺细胞中BTN1A1的表达水平提高。发现BTN1A1表达的诱导取决于所应用的辐照的量,其中相对于未辐照的同种型对照小鼠,接受最高辐照水平的小鼠在CD8⁺细胞中显示出超过20倍的BTN1A1的诱导(图11)。

[0891] 图12显示了来自如上所述的非辐照对照、2Gy \times 5剂量和12Gy \times 3剂量小鼠的福尔马林-固定、石蜡-包埋的(FFPE)LLC同基因肿瘤的免疫组织化学分析结果。用小鼠IgG、抗-mBTN1A1或者抗-PCNA对切片染色。发现在肿瘤微环境中通过高剂量辐照诱导了BTN1A1(图12,中间图,底端行)。

[0892] 考虑到如上所述的示例性结果,将BTN1A1鉴别为癌症疗法的靶标。具体地,据信BTN1A1抑制或中和可以通过释放由癌细胞引起的免疫抑制作用来激活患者自身的免疫系统。此外,预期BTN1A1抑制或中和使肿瘤对其它抗-癌疗法,如放射疗法敏化。

[0893] 6.2实施例2:人BTN1A1糖基化的分析

[0894] N-糖基化是翻译后修饰,这种修饰首先通过将寡糖所组成的预先形成的聚糖转移至位于NXT基序(-Asn-X-Ser/Thr-)内的天门冬酰胺(Asn)侧链受体的膜-相关寡糖转移酶(OST)复合物催化(Cheung和Reithmeier,2007;Helenius和Aebi,2001)。如图13所示,在PNGase F处理后,通过蛋白在考马斯染色的PAGE凝胶上的下移确认了人BTN1A1的N-糖基化。

[0895] 将人BTN1A1的全长序列进入N-连接的糖基化位点(Nx[ST]模式预测软件(<http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/GLYCOSITE/glycosite.html>))。通过软件鉴别出三个潜在的糖基化位点,它们是N55、N215和/或N449。如图14所示,N55和N215在BTN1A1的胞外域中,N449在胞内域中。

[0896] 为了精确定位糖基化位点,对来自不同物种的BTN1A1氨基酸序列实施了序列对比以查找进化保守的NXT基序,它们是共有N-糖基化识别序列。如图15所示,观察到BTN1A1的胞外域的糖基化位点中的高度同源性。照此,糖基化位点在物种间是进化保守的。

[0897] 本文所述的抗-BTN1A1抗体可以用于研究BTN1A1的糖基化模式。为了进一步确认通过序列对比所鉴别的潜在糖基化位点是否的确糖基化,通过nano LC-MS/MS分析了纯化的人BTN1A1的胰蛋白酶解肽。对于N-糖基化位点,可以鉴别具有复合物类型的N-聚糖的糖肽。

[0898] 6.3实施例3:人源化抗-BTN1A1抗体的产生

[0899] 使用标准技术产生了一组抗重组BTN1A1多肽的单克隆抗体(例如,通过将包含BTN1A1表位的多肽作为免疫原注入大鼠(Aurrand-Lions等人,Immunity,5(5):391-405(1996))。所述BTN1A1多肽可以是全长人BTN1A1,或其具有BTN1A1表位的片段。简要地,将与100 μ g KLH载体蛋白(钥孔血蓝素,Pierce)偶联并且与佐剂S6322(Sigma)混合的人BTN1A1多肽用于使雌性Wister大鼠免疫。总计,每9天进行三次注射。在人BTN1A1多肽的最终s.c.注射后2天,将来自引流淋巴结的胚细胞融合至Sp2/0细胞,并且选择杂交瘤。对于特异性识别人BTN1A1的单克隆抗体的产生,通过ELISA筛选生长的克隆。将阳性克隆亚克隆、再筛选

并进一步测试。根据生产商的说明,在蛋白G-Sepharose柱(GE HealthCare)上纯化抗体。可以对抗体的VH和VL链测序,并通过IMGT编号系统确定CDR(Lefranc等人,Nucleic Acids Res.,27(1):209-12(1999))。

[0900] 如上所指出,出于特定目的,包括,例如,人疾病体内治疗中的使用,优选地使用小鼠单克隆抗体的人源化衍生物。

[0901] 为了形成这些人源化抗体,首先将小鼠单克隆抗体的框架序列(“亲代”序列)与一组“受体”人抗体的框架序列进行比对以鉴别框架序列中的差异。通过替换亲代和受体之间不匹配的框架残基来实现人源化。对于预期回复突变,分析了潜在重要位置,如游标区(Vernier zone)中的那些、VH/VL链内界面或CDR典型类型确定位置的替换(参见,Foote,J.等人,J.Molec.Biol.224:487-499(1992))。

[0902] 保守域数据库(COD)(Marchler-Bauer等人,(2011)Nucleic Acids Res.39:D225-D229)可以用于确定每条氨基酸链的域含量和每个域的近似边界。根据几种常用的定义,可以精确确定可变域边界以及CDR的边界(Kabat,E.A.等人(1991)“Sequences of Proteins of Immunological Interest,”第5版.NIH专利公开No.91-3242;Chothia,C.等人,J.Mol.Biol.196:901-917(1987);Honegger,A.等人,J.Molec.Biol.309(3):657-670(2001))。

[0903] 使用MAFFT(Katoh,K.等人,Nucleic Acids Res.30:3059-3066(2002))产生了亲代序列与小鼠和人种系序列的多重比对,并且根据与亲代序列的序列同一性将每个比对中的条目排序。通过以100%序列同一性聚类并排除冗余条目,将参比组简化为独特的序列组。

[0904] 最优的受体框架选择基于两条链的框架间的整体亲代抗体与受体的序列同一性;然而,组成VH/VL链内界面的位置是特别关心的。另外,将负责已对CDR中的5种定义的典型结构的不同的组的CDR-环长度和CDR位置(Chothia,C.等人,J.Mol.Biol.196:901-917(1987);Martin,A.C.,J.Molec.Biol.263:800-815(1996);Al-Laziniki,B.等人,J.Molec.Biol.273:927-948(1997))与种系相比较,以确定哪个种系框架具有两种相同的界面残基并且已知支持类似的CDR-环构象。

[0905] 基于亲代抗体与人种系的序列对比,鉴别了最接近的匹配条目。优选的人种系的选择基于排序的标准:(1)框架间的序列同一性;(2)相同或相容的链内界面残基;(3)用亲代CDR典型构象支持环;(4)在表达抗体中存在重链和轻链种系的组合;和(5)必需除去的N-糖基化的存在。

[0906] 产生了人源化抗体的Fv-区的结构模型。对FR和CDR以及完整Fv的候选结构模板片段打分,评级并基于它们与靶标的序列同一性以及模板结构的定性晶体学测量,如分辨率(以埃(Å)为单位)从抗体数据库进行选择。

[0907] 为了在结构上将CDR与FR模板进行比对,将CDR任一侧上的5个残基包含在CDR模板中。基于所产生的重叠节段和结构序列比对产生了片段的比对。通过MODELLER处理模板片段以及比对(Sa1I,A.等人;J.Molec.Biol.234:779-815(1993))。该规程产生了来源于比对结构模板组的构象限制。通过共轭梯度和模拟退火优化程序产生了满足所述限制的结构集合体。基于能量得分,从该集合体中选择模型结构,其来源于蛋白质结构得分以及对构象限制的满足。检查模型,并且使用侧链优化算法优化靶标和模板之间不同位置处的侧链,并使

能量最小。将可视化和计算工具套件用于评价CDR构象差异度、局部堆积以及表面分析以选择一种或多种优选模型。

[0908] 构建亲代抗体的结构模型并检查缺陷,如较差的原子排列、键长中的张力、键角或二面角。这些缺陷可以表示抗体结构稳定性的潜在问题。建模规程设法使这些缺陷最小化。人源化Fv的初始结构模型含有全部安全替换(即,不应影响结合亲和力或稳定性的替换)和谨慎替换(即,进行了位置替换,但是该位置可能对于结合亲和力是重要的)。不改变认为与结合亲和力降低或者稳定性降低风险有关的位置处的替换。单独对亲代模板搜索进行模板搜索和选择以产生良好的独立模型,而不是密切匹配的亲代变体模型。由于进行了潜在替换评价,因此修正所述模型以反映优选的替换和回复突变的影响。

[0909] 6.4 实施例4:BTN1A1糖基化的功能分析

[0910] 进行突变分析以确认糖基化位点。产生了一系列天门冬酰胺(N)向谷氨酰胺(Q)的替换以确定BTN1A1的特异性糖基化位点,并且如果与野生型相比,N向Q的突变体显示出糖基化减少,则确认是糖基化位点。使用定点突变,制备了在胞外域中的糖基化位点上包含突变(N55Q、N215Q和混合的N55Q和N215Q)的人BTN1A1突变。使用标准分子生物学技术,这些糖基化特异性突变体与野生型BTN1A1一起在293T细胞中表达。裂解细胞,并且通过免疫印迹检测糖基化特异性突变体以及野生型BTN1A1的表达。如图3所示,N55Q和N215Q分别导致蛋白在印迹上向下迁移,其表明这些突变体形式上糖基化的丧失。另外,具有混合的N55Q和N215Q突变的BTN1A1突变不能在293T细胞中表达,表明BTN1A1在这两个位点中的至少一个上的糖基化对其表达至关重要。

[0911] 6.5 实施例5:通过抗-CD3/CD28刺激诱导鼠T细胞中的细胞表面BTN1A1

[0912] 用空白对照刺激(左图)或者用抗CD3 (5 μ g/ml) 和抗CD28 (5 μ g/ml) 刺激未处理过的鼠T细胞2天,并进行流式细胞术分析。如图16A和图16B所示,与空白对照处理的细胞相比,观察到CD3/CD28刺激的细胞中细胞表面BTN1A1的高诱导,表明通过CD3/CD28刺激的T细胞激活可以导致BTN1A1表达升高。还参见图5。

[0913] 6.6 实施例6:B16-Ova黑素瘤细胞中BTN1A1表达的诱导

[0914] 通过用仅抗体对照或者FITC-BTN1A1抗体染色来检测B16-Ova细胞中的胞外BTN1A1,并且使用流式细胞术检查BTN1A1的表达水平。如图17所示,骨髓细胞诱导B16-ova黑素瘤细胞中胞外BTN1A1的表达。

[0915] 6.7 实施例7:BTN1A1在细胞中形成二聚体

[0916] 如图18A和图18B所示,当在细胞中表达时BTN1A1形成二聚体。

[0917] 简言之,BTN1A1-Flag全长蛋白得自表达BTN1A1-flag的HEK293T细胞并且通过EDC(1-乙基-3-(3-二甲基氨丙基)碳二亚胺盐酸盐)或者Glu(戊二醛)交联。通过添加RIPA溶胞和提取缓冲液(Pierce)使细胞裂解并且使用BCA蛋白质测定试剂盒(ThermoFisher)确定蛋白浓度。在还原、变性条件(图18A)或天然条件(图18B)下进行免疫印迹分析。变性条件包括使免疫印迹样品在存在5% β -巯基乙醇的情况下,在95 $^{\circ}$ C保持10min。使用抗-Flag抗体和与HRP缀合的第二抗体检测BTN1A1-Flag蛋白。

[0918] 发现HEK293T-细胞来源的BTN1A1形成蛋白二聚体。如图18B所示,在天然条件下,在存在或不存在交联剂的情况下观察到BTN1A1二聚体。图18A显示在变性条件下,在存在低浓度交联剂,如1mM EDC或者0.0008%的情况下观察到BTN1A1二聚体,而在不存在交联剂的

情况下未观察到。

[0919] 6.8 实施例8:小鼠抗-人BTN1A1抗体的产生和鉴别

[0920] 根据标准规程,通过SP2/0鼠骨髓瘤细胞与分离自BTN1A1-免疫的BALB/c小鼠的脾细胞的融合,获得了产生抗BTN1A1抗体的杂交瘤。在融合之前,使用FACS验证了来自小鼠的血清与免疫原的结合。产生了总计68个单克隆抗体产生杂交瘤 (mAb)。

[0921] 通过ELISA确定了单克隆抗体的同种型并且在下表15中提供。根据ELISA技术 (Sigma-Aldrich IS02 SIGMA小鼠单克隆抗体同种型分型试剂),确定了杂交瘤培养上清液中的mAb的同种型。

[0922] 表15. 小鼠抗-人BTN1A1单克隆抗体的同种型

[0923]	STC#	同种型	STC#	同种型	STC#	同种型
	801	G1/M	823	G1	701	G2a
	802	G1/M	824	G1	704	G2a
	STC#	同种型	STC#	同种型	STC#	同种型
	803	M	825	G1	705	M
	804	G1	826	G1	706	G2a
	805	G1	827	G1	707	G2a
	806	G1	828	G1	708	G2a
	807	G1	829	G1	711	G2a
	808	G1	830	G1	712	G2a
	809	G1	831	G1	716	G2a
	810	G2a	832	G1	719	G2a
	811	G1	833	G1	720	G2a
	812	G1	834	G1	721	G2a
	[0924] 813	G1	835	G1	722	G2a
	814	G1	837	G1	723	G2a
	815	G1	839	G1	727	G2a
	816	G1	840	G1	729	G2a
	817	G1	848	G1	730	G2a
	818	G1	852	G1	732	G2a
	819	G1	858	G1	733	G2a/A
	820	G1	860	G1	734	G2a
	821	G1	861	G1	735	G2a
	822	G1	862	G1	736	G2a
			863	G1		
			866	G1		

[0925] 通过斑点印迹分析鉴别了单克隆抗-BTN1A1抗体的糖基特异性。测试了每个抗-BTN1A1 mAb (加载0.5μg/孔) 对糖基化BTN1A1 (PNGaseF“-”) 或去糖基化BTN1A1 (PNGaseF“+”) 的结合。非特异性抗体对照 (“IgG”, 加载0.25μg/孔) 也包括在测定中。如图19A-19B所示,将糖基化BTN1A1蛋白和非糖基化BTN1A1 (用PNGase F处理的BTN1A1蛋白) 两者涂覆在固

相上并且测试mAb和抗原的结合亲合力。与非糖基化BTN1A1蛋白(PNGase F处理的蛋白)相比,所有13个测试的mAb(STC703、STC709、STC710、STC713、STC715、STC717、STC725、STC738、STC810、STC819、STC820、STC822和STC838)对糖基化BTN1A1蛋白显示出更高的亲合力,如通过更高的条带强度所指示的。还通过FACS分析鉴别了单克隆抗-BTN1A1抗体的糖基特异性。将过表达BTN1A1 WT(完全糖基化的)和2NQ(完全未糖基化的)的293T细胞与抗BTN1A1一抗培育,清洗并与缀合至FITC的二抗培育。在进一步清洗后,测量荧光强度(MFI)以评价抗体与膜-结合糖基化或未糖基化的BTN1A1的相对结合。将相对于未糖基化的BTN1A1,在糖基化BTN1A1上显示出显著更高的MFI的抗体鉴别为糖基特异性抗体。例如,相对于未糖基化的BTN1A1,在糖基化BTN1A1上,STC703、STC810和STC820显示出约2-倍或更高的MFI。参见,例如,图21A-C和表16。

[0926] 表16. 小鼠抗-人BTN1A1单克隆抗体的FACS分析

	MFI		
	STC703	STC810	STC820
HEK293T	36.1	32.3	43.8
293T-hBTN1A1-2NQ (未糖基化的)	46.8	327	43.7
293T-hBTN1A1-WT (完全糖基化的)	103	826	85.4
仅第二抗体	62.1		
同种型对照	33.8		
未染色的	4.28		

[0927] 6.9实施例9:通过Biacore对STC703、STC810和STC820的K_D分析

[0929] 通过表面等离子共振(BIAcore)测量了BTN1A1与单克隆抗-BTN1A1抗体STC703、STC810和STC820之间的结合亲合力。记录了6×His标签或人IgG1-Fc-标签BTN1A1-ECD的抗体滴定的传感图和饱和曲线。

[0930] 以下提供了示例性BTN1A1-ECD-Fc构建体(BTN1A1二聚体)的氨基酸序列。

[0931] APFDVIGPPEPILAVVGEDAELPCRLSPNASAEHLELRWFRKKVSPAVLVHRDGREQEAEQMPEYRGR
ATLVQDGIAGKGRVALRIRGVRVSDDGEYTCFFREDGSYEEALVHLKVAALGSDPHISMQVQENGEICLECTSVGWY
PEPQVQWRTSKGEKFPSTSES RNPDEEGLFTVAASVIIRDTSAKNVSCYIQNLLLGQEKKEISIPASSLPRDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSSFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ
ID NO:197)

[0932] 以下提供了示例性BTN1A1-His6构建体(BTN1A1单体)的氨基酸序列。

[0933] APFDVIGPPEPILAVVGEDAELPCRLSPNASAEHLELRWFRKKVSPAVLVHRDGREQEAEQMPEYRGR
ATLVQDGIAGKGRVALRIRGVRVSDDGEYTCFFREDGSYEEALVHLKVAALGSDPHISMQVQENGEICLECTSVGWY
PEPQVQWRTSKGEKFPSTSES RNPDEEGLFTVAASVIIRDTSAKNVSCYIQNLLLGQEKKEISIPASSLPRHHHH
HH (SEQ ID NO:198)

[0934] 对于His-标签和Fc-标签BTN1A1-ECD蛋白的产生,将pFUSE-hIgG1-Fc2 (InvivoGen) 用作克隆载体。将His-标签BTN1A1-ECD和Fc-标签BTN1A1-ECD的PCR产物分别亚克隆至EcoRI-NheI和EcoRI-BglII限制性内切酶位点。将构建体转染到293F混悬细胞中5天,并且对于His-标签蛋白使用HisTrap Excel (GE Healthcare),对于Fc-标签蛋白使用MabSelect蛋白A (GE Healthcare) 通过亲和色谱法纯化分泌的蛋白。

[0935] 确认6×His-标签BTN1A1-ECD在溶液中形成单体,IgG1-Fc-标签BTN1A1-ECD形成二聚体。例如,使用天然凝胶-电泳,确定His-标签BTN1A1的分子量为25KD (计算MW=24.8kDa),确定Fc-标签BTN1A1的分子量为~100KD (对于单体形式,计算MW=49.5kDa)。这些结果表明在天然条件下,在溶液中,天然His-标签BTN1A1形成单体,天然Fc-标签BTN1A1形成二聚体。

[0936] 另外,通过PNGase处理和天然凝胶-电泳确认His-标签BTN1A1-ECD和Fc-标签BTN1A1-ECD构建体是糖基化的。图20显示了His-标签BTN1A1-ECD和Fc-标签BTN1A1-ECD的PNGase水解液的代表性结果。His-标签BTN1A1-ECD和Fc-标签BTN1A1-ECD的PNGase处理除去了寡糖部分并且减小了所处理的蛋白的尺寸。参见,例如,图20,泳道2和4。

[0937] 将mIgG捕获芯片 (BIAcore™) 用具有600个响应单位 (RU) 的抗体涂覆,并且将BTN1A1-ECD注入微流体通道。使用BIAevaluation软件 (BIAcore) 的拟合工具获得 K_D 值。图22A-F提供了显示二聚体BTN1A1-ECD-Fc (2-64nM, 2-倍稀释;图22A、C和E) 或者单体BTN1A1-ECD-His (2-64nM, 2-倍稀释;图22B、D和F) 与固定在mIgG捕获CM5芯片上的STC703、STC810或STC820的实时结合传感图。将没有任何固定化蛋白的流通池用作非特异性结合的对照,并从测试流通池信号中减去对照细胞信号以产生图22A-F中所示的传感图。

[0938] 下表17提供了如通过Biacore测定所测量的结合至STC703、STC810和STC820的BTN1A1-ECD-Fc或者BTN1A1-ECD-His的 K_D 值。发现STC703结合至二聚体BTN1A1-Fc (K_D =286nM),然而STC703与单体BTN1A1-His的特异性结合是不可检测的。发现与单体BTN1A1-ECD-His (K_D =12.4nM) 相比,STC810以高>100-倍的亲和力结合至二聚体BTN1A1-ECD-Fc (K_D =0.92nM)。发现相对于二聚体BTN1A1-ECD-Fc (K_D =501nM),STC820优选地结合至单体BTN1A1-ECD-His (K_D =16.2nM)。

[0939] 因此,该实施例显示抗-糖基化BTN1A1抗体可以分类为BTN1A1-单体-特异性抗体,如STC820,和BTN1A1-二聚体-特异性抗体,如STC703和STC810。

[0940] 表17:通过Biacore™确定的STC703、STC810或STC820的 K_D

	K_D (nM)	
	BTN1A1-Fc	BTN1A1-His
[0941] STC703	286	NC
STC810	0.92	12.4
STC820	501	16.2

[0942] NC=无曲线拟合 (无可检测的结合)。

[0943] 6.10 实施例10:STC703、STC810和STC820的鉴别

[0944] 通过免疫印迹以及共聚焦显微镜检查测试了STC703、STC810或STC820与BTN1A1 WT及其非糖基化BTN1A1变体的免疫特异性结合。用野生型BTN1A1和突变体BTN1A1,包括N55Q、N215Q和2NQ (即N55Q和N215Q) 的表达载体瞬时转染HEK293T细胞。参见,例如,图23A。

在免疫印迹分析中,在转染后48h,制备完整-细胞裂解液并在天然SDS-PAGE中分离蛋白。使用STC703、STC810、STC820或者其它所鉴别的抗体(抗体测序数据显示对于STC810和STC838的序列相同,并且对于STC819和STC820和STC821的序列相同),对凝胶进行免疫印迹分析。参见,例如,图23B和图23C(加载对照)。在图23B和图24中提供了如通过STC703、STC810、STC820或其它所测试的抗体所检测的,野生型BTN1A1和突变体BTN1A1的表达。如图24(上部分)所示,与BTN1A1相比,通过STC703、STC810或STC820可检测的BTN1A1 N55Q突变体和突变体N215Q的表达降低,并且BTN1A1 2NQ突变体的表达进一步显著降低。

[0945] 还通过用STC703和STC810染色,使用共聚焦显微镜观察到了HEK293T细胞中野生型BTN1A1的表达。如图25所示,在大部分细胞表面上,在HEK293T细胞中通过STC703和STC810两者对BTN1A1阳性染色。

[0946] 6.11实施例11:抗-糖基化BTN1A1和通过过表达糖基化BTN1A1的细胞的内化

[0947] 不受理论束缚,通常认为N-连接的糖基化提高了糖蛋白,如VEGFR、神经激肽1受体、DC-SIGN、MUC1和C-型凝集素的结合和后续内涵素-依赖性内化。BTN1A1也是膜-结合糖蛋白,并且已观察到一旦抗体结合,则内化和降解。该实施例表明了STC810的BTN1A1糖基化-依赖性内化。使用活细胞成像,使通过过表达完整糖基化BTN1A1-WT或未糖基化的BTN1A1-2NQ的HEK293T细胞的STC810的内化显像。

[0948] 简言之,将表达BTN1A1 WT或者BTN1A1 2NQ的HEK293T细胞在96-孔板中铺板,并且将pHrodo®-标签(ThermoFisher Inc., Waltham, MA) STC810或者IgG对照抗体加入至每个孔中。使用IncuCyte ZOOM®活细胞成像系统(Essen Bioscience, Inc; Ann Arbor, MI)追踪红色荧光18h。

[0949] 图26A显示了18h时内化的STC810的荧光的代表性图像。通过表达BTN1A1 WT的细胞,而不是表达BTN1A1-2NQ的细胞观察到了表示STC810内化的特异性荧光。

[0950] 图26B显示了表示内化STC810随时间的荧光计数的散点图。通过表达BTN1A1-WT的细胞,而不是表达BTN1A1-2NQ的细胞观察到了18h的一段时间内STC810稳定提高的内化。

[0951] 该实施例显示STC810向细胞的内化取决于BTN1A1的糖基化。

[0952] 6.12实施例12:抗-糖基化BTN1A1抗体与抗-PD1抗体协同增效以诱导混合淋巴细胞反应中IL-2和IFN γ 的分泌

[0953] 混合淋巴细胞反应(MLR)用于评价抗-糖基化BTN1A1抗体与抗-PD1抗体协同增效的能力。

[0954] 简言之,单独测试了300ng/mL STC810或者与20ng/mL STM418(STCube开发的抗-PD-1阻断mAb)组合测试。从PBMC富集同种异体树突状细胞和总T细胞并在存在抗体的情况下共培养(DC:T=1:10)72h。对培养上清液进行ELISA以用于IL-2和IFN γ 定量。

[0955] 如图27A和图27B所示,通过单独的20ng/mL抗-PD-1mAb STM418未观察到对IL-2或IFN γ 分泌的影响。然而,发现与抗-PD-1组合提高了STC810-诱导的IL-2和IFN γ 分泌。发现1000ng/mL的STC810将IL-2和IFN γ 分泌提高至与300ng/mL STC810相当的水平(数据未显示)。小鼠IgG用作阴性对照。通过学生氏t检验计算P值(n=3)。

[0956] 该实施例显示抗-糖基化BTN1A1抗体可以与抗-PD1抗体协同增效以诱导混合淋巴细胞反应中IL-2和IFN γ 的分泌。

[0957] 6.13实施例13:抗-糖基化BTN1A1抗体可以促进IFN γ 的分泌和激活的CD8⁺T细胞

的群集

[0958] 为了进一步阐明抗-糖基化BTN1A1抗体对CD8⁺T细胞激活作用的影响,用+/-BTN1A1-Fc (10mg/mL) 和+/-STC810 (50mg/mL) 处理抗-CD3-激活的PBMCs。用显微镜评价CD8⁺T细胞簇形成。簇直径指示T细胞激活作用。如图28A所示,发现相对于IgG对照抗体,BTN1A1-Fc降低了抗-CD3诱导的CD8⁺T细胞簇形成(右上部分vs. 左下部分)。发现STC810逆转了BTN1A1-Fc对抗-CD3诱导的CD8⁺T细胞簇形成的抑制作用(右下部分相对于左下部分)。

[0959] 在另一个实验中,用ConA激活CD8⁺T细胞,并且通过ELISA测量IL-2和IFN γ 分泌。发现用STC810处理恢复了T细胞激活作用,如通过IFN γ 分泌所测量的。

[0960] 6.14实施例14:抗-糖基化小鼠BTN1A1抗体的开发

[0961] 开发了三种不同的抗-小鼠BTN1A1抗体STC1011、STC1012和STC1029,并且通过STCube进行鉴别以有利于动物研究。

[0962] 通过表面等离子共振(BIAcore™)测量了BTN1A1与单克隆抗-BTN1A1抗体STC1011、STC1012和STC1029之间的结合亲和力。记录了人IgG1-Fc-标签小鼠BTN1A1-ECD(二聚体)的抗体滴定的传感图和饱和曲线。

[0963] 用STC1011、STC1012、STC1029或者对照IgG1抗体涂覆蛋白捕获芯片(BIAcore™)。在IgG1对照和小鼠BTN1A1-His之间未观察到相互作用。将小鼠BTN1A1-ECD-Fc注入Biacore™ X-100仪上的微流体通道。使用BIAevaluation软件(BIAcore)的拟合工具获得K_D值。图29A-C是显示二聚体BTN1A1-ECD-Fc (2-64nM, 2-倍稀释) 与固定化的STC1011、STC1012和STC1029的实时结合的传感图。从测试流通池信号中减去IgG1抗体对照细胞信号以产生图29A-C中所示的传感图。

[0964] 下表18提供了如通过Biacore™测定所测量的结合至STC1011、STC1012和STC1029的BTN1A1-ECD-Fc的K_D值。发现STC1011、STC1012和STC1029以高亲和力结合BTN1A1-ECD-Fc。

[0965] 表18:通过Biacore™确定的STC1011、STC1012或STC1029的K_D

[0966]	k _a (1/Ms)	k _d (1/s)	K _D (M)	R _{max} (RU)
STC1011				
STC1012	1.46E+05	5.99E-04	4.10E-09	98.815
STC1029	2.51E+05	4.27E-04	1.69E-09	84.753

[0967] 使用活细胞成像分析STC1012的BTN1A1-糖基化依赖性细胞内化。为了辅助该测定,开发了pHRodo-标签STC1012抗体。pHRodo是在中性pH未激活,在低pH环境,如细胞溶酶体中的酸性环境中激活的可缀合荧光标签。通常,当在与其细胞表面上的靶标结合之后,pH-Rodo-标签抗体内化到细胞中并降解,将在细胞胞液中观察到红色荧光。可以通过荧光显微术,例如,通过图像中红色目标的计数或者作为每幅图像的相对红色荧光单位来定量这种荧光。简言之,将表达BTN1A1 WT或者BTN1A1 2NQ的HEK293T细胞在96-孔板中以2000个细胞/孔铺板,并且将pHRodo®-标签(ThermoFisher Inc., Waltham, MA) STC1012 (5mg/ml) 或者IgG对照抗体 (5mg/ml) 加入至每个孔中。使用Incucyte ZOOM®活细胞成像系统(Essen Bioscience, Inc; Ann Arbor, MI) 追踪红色荧光40h。

[0968] 图30A显示了内化STC1012的代表性荧光图像。通过表达BTN1A1 WT的细胞和表达

BTN1A1-2NQ的细胞观察到了表示STC1012内化的特异性荧光。

[0969] 图30B显示了表示内化STC1012随时间的荧光计数的散点图。通过表达BTN1A1-WT的细胞和表达BTN1A1-2NQ的细胞观察到了40h的一段时间内STC810稳定提高的内化。

[0970] 图30A和图30B显示了STC1012向细胞的内化不依赖于BTN1A1糖基化作用。

[0971] 简言之,将丝裂霉素C-处理的4T1-BTN1A1细胞(4×10^4 /孔)与小鼠脾细胞(2×10^5 /孔)和抗-小鼠BTN1A1抗体(50 μ g/mL)共培养72h,并且通过流式细胞术的CFSE-染色细胞测量T-细胞增殖。如图31A和图31B所示,发现相对于IgG对照抗体,STC1011、STC1012和STC1029提高T细胞增殖。通过学生氏t检验计算P值($n=3$)。

[0972] 6.15实施例15

[0973] 本文所提供的具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子可以缀合至成像剂、治疗剂、毒素或放射性核素。所述治疗剂是化疗剂。所述治疗剂是细胞毒素。本文所提供的分子可以缀合至成像剂。

[0974] 本文提供了具有本文所提供的分子以及药物可用的载体的组合物,所述分子具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段。本文提供了具有本文所提供的分子以及辅助试剂的组合物,所述分子具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段。

[0975] 本文提供了编码本文所提供的分子的VH区或VL区的分离的核酸,所述分子具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段。所述分子可以是STC703、STC810、STC820、STC1011、STC1012或STC1029、STC2602、STC2714、STC2739、STC2778或STC2781。所述分离的核酸可以具有SEQ ID NO:4、32、60、88、116、144、200、228、256、284、312的序列。所述分离的核酸可以具有SEQ ID NO:6、34、62、90、118、146、202、230、258、286或者314的序列。

[0976] 本文还提供了具有本文所述的核酸分子的载体。本文还提供了具有本文所述的载体的宿主细胞。

[0977] 本文还提供了将化合物递送至表达BTN1A1的细胞的方法,其包括将所述细胞与本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子接触,其中所述分子与所述化合物缀合。所述细胞可以是癌细胞。所述化合物可以是显象剂、治疗剂、毒素或放射性核素。

[0978] 本文还提供了调节受试者中免疫应答的方法,其包括向所述受试者施用有效量的本文所述的分子,其中所述分子具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段,所述调节可以包括:(a)提高T细胞激活;(b)提高T细胞增殖;或者(c)提高细胞因子的产生。

[0979] 本文还提供了提高表达BTN1A1的细胞的T细胞依赖性细胞凋亡的方法,其包括将所述细胞与有效量的本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子接触。

[0980] 本文还提供了治疗患有癌症的受试者的方法,其包括向受试者施用治疗有效量的本文所述的分子,其中所述分子具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段。所述癌症是血液学癌症或实体瘤。所述癌症可以是实体瘤,如乳腺癌、肺癌、甲状腺癌、胸腺癌、头颈癌、前列腺癌、食道癌、气管癌、脑癌、肝癌、膀胱癌、肾癌、胃癌、胰腺癌、卵巢癌、子宫癌、宫颈癌、睾丸癌、结肠癌、直肠癌或皮肤癌。所述癌症可以是血液学癌症,如白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。全身施用所述分子。可以静脉内、皮内、瘤内、肌内、腹膜内、皮下或局部施用所述分子。

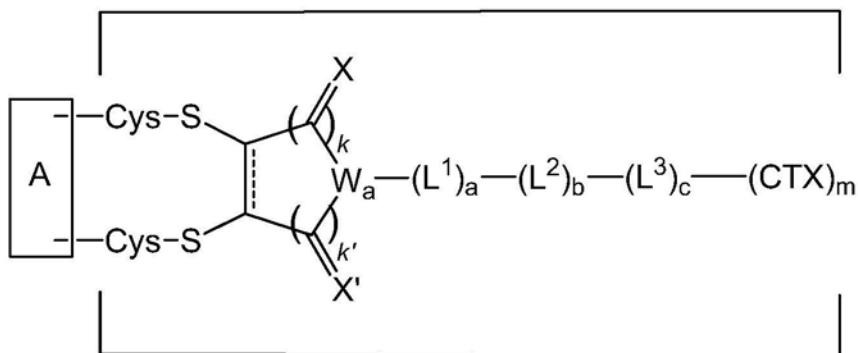
[0981] 所述方法还可以包括向受试者施用至少第二抗癌疗法。所述第二抗癌疗法可以是手术疗法、化疗、放射疗法、冷冻疗法、高热疗法、高强度聚焦超声疗法、激素疗法、免疫疗法或细胞因子疗法。所述第二抗癌疗法是放射疗法。

[0982] 本文还提供了检测来自受试者的样品中BTN1A1的方法，其包括将所述样品与本文所提供的分子接触以在所述分子和BTN1A1之间形成复合物，和检测所述样品中的复合物，其中所述分子具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段。

[0983] 所述方法还可以包括如果检测到所述复合物，则将受试者诊断为可能患有癌症。所述方法还可以包括如果检测到所述复合物，则预测受试者将可能对癌症治疗起反应。所述方法还可以包括将来自受试者的样品中的BTN1A1的表达水平与参考水平相比较，并且如果所述样品中的BTN1A1的表达水平高于参考水平，则将受试者诊断为可能患有癌症。所述参考水平可以是来自健康个体的样品中BTN1A1的表达水平。所述样品可以是(如)全血样品、骨髓样品、部分纯化的血液样品、PBMC、组织活组织检查、循环肿瘤细胞、循环蛋白质复合物或循环外来体。可以通过测定，如酶联免疫吸附测定(ELISA)、荧光免疫吸附测定(FIA)、化学发光免疫吸附测定(CLIA)、放射免疫测定(RIA)、酶倍增免疫测定、固相放射免疫分析(SPROA)、荧光极化(FP)测定、荧光能量共振转移(FRET)测定、时间分辨荧光能量共振转移(TR-FRET)测定、表面等离子共振(SPR)测定或者免疫组织化学(IHC)方法检测所述复合物。

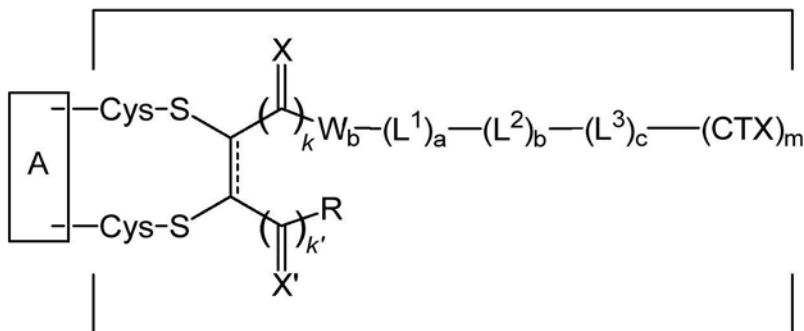
[0984] 本文还提供了评价患者中特定癌症治疗效力的方法，其包括：a)在整个治疗过程中，将在第一和至少一个后续时间点得自患者的两个或更多个样品与本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子接触；b)测量所述两个或更多个样品中BTN1A1的水平，和c)比较所述两个或更多个样品中BTN1A1的水平，其中相对于在第一时间点所获得的样品中的BTN1A1的水平，在后续时间点获得的样品中BTN1A1的水平降低则表示癌症治疗有效。

[0985] 本文还提供了以下化学式(Ia)或(Ib)所示的抗体-药物缀合物：



[0986]

n (Ia) ,



n (Ib) ;

[0987] 或其药物可用的盐；

[0988] 其中：

[0989] A是本文所述的具有免疫特异性结合至BTN1A1的抗原结合片段的分子；

[0990] 两个所显示的半胱氨酸残基来自A中打开的半胱氨酸-半胱氨酸二硫键；

[0991] 每个X和X' 独立地为O、S、NH或NR¹，其中R¹是C₁₋₆烷基；[0992] W_a是=N-、=CH-、=CHCH₂-、=C(R²)-或=CHCH(R²)-；W_b是-NH-、-N(R¹)-、-CH₂-、-CH₂-NH-、-CH₂-N(R¹)-、-CH₂CH₂-、-CH(R²)-或-CH₂CH(R²)-；其中R¹和R²独立地为C₁₋₆烷基；

[0993] CTX是细胞毒素；

[0994] R是任何化学基团；或者R是不存在的；

[0995] 每个L¹、L²和L³独立地为接头，其选自-O-、-C(O)-、-S-、-S(O)-、-S(O)₂-、-NH-、-NCH₃-、-(CH₂)_q-、-NH(CH₂)₂NH-、-OC(O)-、-CO₂-、-NHCH₂CH₂C(O)-、-C(O)NHCH₂CH₂NH-、-NHCH₂C(O)-、-NHC(O)-、-C(O)NH-、-NCH₃C(O)-、-C(O)NCH₃-、-(CH₂CH₂O)_p-、-(CH₂CH₂O)_pCH₂CH₂-、-CH₂CH₂-(CH₂CH₂O)_p-、-OCH(CH₂O-)₂-、(AA)_r-、环戊基、环己基、未取代的苯基(phenylenyl)和被1或2个取代基取代的苯基(phenylenyl)，所述取代基选自卤素、CF₃-、CF₃O-、CH₃O-、-C(O)OH、-C(O)OC₁₋₃烷基、-C(O)CH₃、-CN、-NH-、-NH₂、-O-、-OH、-NHCH₃、-N(CH₃)₂和C₁₋₃烷基；

[0996] b和c分别独立地为0、1、2或3的整数，只要a、b或c中的至少一个为1；

[0997] 每个k和k' 独立地为0或1的整数；

[0998] 每个p独立地为1至14的整数；

[0999] 每个q独立地为1至12的整数；

[1000] 每个AA独立地为氨基酸；

[1001] 每个r为1至12；

[1002] m为1至4的整数；

[1003] n为1至4的整数;和

[1004] =====键表示单键或双键。

[1005] A可以是抗-BTN1A1抗体。所述CTX可以是(如)微管蛋白稳定剂、微管蛋白去稳定剂、DNA烷化剂、DNA小沟结合剂、DNA嵌入剂、拓扑异构酶I抑制剂、拓扑异构酶II抑制剂、促旋酶抑制剂、蛋白质合成抑制剂、蛋白体抑制剂或抗-代谢产物。所述CTX可以是(如)放线菌素D、氨茶非特、奥瑞他汀、苯甲酮、苯并噻唑、卡里奇霉素(calicheamicin)、喜树碱、CC-1065(NSC 298223)、西马多丁、秋水仙碱、考布他汀A4、尾海兔素、多柔比星、依利奈法德、美坦新(DM1)、依托泊苷、KF-12347(雷纳霉素)、美登素、甲氨蝶呤、米托蒽醌、诺考达唑、蛋白体抑制剂1(PSI 1)、杆孢菌素A、T-2毒素(单端孢霉烯类似物)、红豆杉醇、tubulysin、**Velcade®**或者新长春碱。所述CTX可以是奥瑞他汀、卡里奇霉素(calicheamicin)、美登素或tubulysin。所述CTX可以是单甲基澳瑞他汀E、单甲基澳瑞他汀F、卡里奇霉素(calicheamicin) γ 、美登素(mertansine)、吡咯并苯二氮卓、tubulysin T2、tubulysin T3或者tubulysin T4。

[1006] 6.16实施例16:二聚体-特异性BTN1A1单克隆抗体的生产和筛选

[1007] 免疫。为了产生二聚体-特异性BTN1A1单克隆抗体,通过将所述基因的胞外域插入到Fc融合载体(pFUSE-hIgG1-Fc, Invivogen)中产生了二聚体形式的BTN1A1(BTN1A1-Fc)。根据标准规程,通过SP2/0鼠骨髓瘤细胞与分离自人BTN1A1-Fc-免疫的BALB/c小鼠(n=6)(Antibody Solution, Inc.)的脾细胞融合获得了产生抗二聚体形式的BTN1A1的单克隆抗体的杂交瘤。在融合之前,使用FACS分析验证了来自免疫小鼠的血清与BTN1A1免疫原的结合。再次测试产生抗体的杂交瘤的特异性。

[1008] FACS。为了鉴别对人BTN1A1-Fc抗原特异且优先结合人BTN1A1-Fc抗原的抗-BTN1A1-Fc MAbs,实施了不同类型的测定。在检测MAb与BTN1A1的优先结合的筛选测定中,通过FACS分析基于荧光强度测量确定抗体结合(使用细胞膜结合的蛋白)。举例来说,使用HEK293T人胚肾细胞系进行测定。说明性地,将过表达BTN1A1的HEK293T细胞与存在于杂交瘤培养上清液中的抗-BTN1A1抗体培育。清洗后,作为检测试剂加入与FITC缀合的二抗。通过FACS I流式细胞术分析测量荧光强度(测量的荧光强度,MFI)以评价抗-BTN1A1抗体与细胞上膜结合的BTN1A1 WT的相对结合。选择在WT BTN1A1上显示出显著更高的MFI的抗体进行进一步评价。基于结合分析,选择了67个候选产生MAb的杂交瘤,在ADCF培养基中生长并且将它们含有单克隆抗体的上清液浓缩并纯化。

[1009] ELISA。为了排除所观察到的结合是由于人Fc结合的可能性,使用人BTN1A1-Fc和人IgG1对照进行ELISA。将抗原BTN1A1-Fc和人IgG1涂覆到ELISA板上。将抗体加入至每个孔中并且通过抗所述抗原的标准直接ELISA确定每个抗体的结合。人IgG1结合抗体不包括所述候选。

[1010] Octet。为了确定结合亲合力,对在FACS和ELISA中显示出高结合活力的所选的抗体进行Octet动力学分析。使用用抗-小鼠Fc捕获抗体涂覆的生物传感器,通过 K_{on} 和 K_{off} 确定 K_D 。选择具有更高亲合力(纳摩尔范围)的抗体。表位框并也用于对抗单一靶标的抗体组的表位结合特征进行分类。这种表位框并实验设计以确定两种不同的抗体是否结合至相同表位。如果两种抗体结合至抗原的相同表位,则第一抗体的结合将阻碍第二抗体的结合。如果所测试的对中的每个抗体结合至完全独立的表位,则第一抗体的结合将对第二抗体的结合

不具有影响。通过重复测试,根据表位结合特异性对抗体分组。使用Octet Red96 System (Pall ForteBio),通过生物膜干涉技术(BLI)进行该实验以检测和分析生物分子的相互作用。抗原结合至一次性传感器,然后通过流通通过传感器的光反射的延迟变化来测量抗体与抗原的另外结合。更长的延迟指示了与传感器结合的更多的物质,并且该值用于确定蛋白-抗体相互作用的程度。在该实验中,通过不共有结合位点的5种不同类别对抗体进行分类。

[1011] 表16:通过FACS、ELISA和Octet对抗体筛选的结果。

[1012]

代码	FACS (MFI)	ELISA (天然 Ag)	ELISA (变性 Ag)	Octet (K _D)
STC2602	69.5	1.389	0.128	2.35E-09
STC2701	1091	0.777	0.519	
STC2702	1080	0.889	0.659	
STC2703	2609	0.901	0.603	
STC2704	121	1.02	1.098	
STC2705	952	0.717	0.376	
STC2706	902	0.691	0.349	
STC2707	922	0.762	0.532	
STC2708	1407	0.882	0.538	
STC2709	587	0.555	0.302	
STC2710	1410	0.856	0.517	
STC2711	31.4	1.038	1.138	
STC2712	4663	0.939	0.915	
STC2713	2811	0.87	0.863	
STC2714	4934	1.195	0.981	1.57E-09
STC2715	5936	1.213	0.912	6.24E-07
STC2716	241	1.183	1.244	
STC2717	4670	1.183	1.193	
STC2718	1803	0.937	0.645	
STC2719	827	0.814	0.47	
STC2720	605	0.743	0.343	
STC2721	2566	1.04	0.85	
STC2722	640	0.657	0.246	
STC2723	443	0.931	0.737	2.37E-06
STC2724	961	1.233	1.212	
STC2725	132	1.077	0.959	
STC2726	921	0.945	0.621	
STC2727	5173	1.291	1.003	1.90E-10
STC2728	1664	1.299	1.23	
STC2729	1324	1.015	0.504	
STC2730	985	0.932	0.395	
STC2731	1703	1.204	0.933	
STC2732	718	0.736	0.389	
STC2733	2121	1.116	0.567	
STC2734	321	0.959	0.824	
STC2735	3699	1.043	0.895	
STC2736	578	0.704	0.284	
STC2737	2658	1.074	0.849	
STC2738	832	0.897	0.417	
STC2739	841	0.956	0.418	8.85E-11
STC2740	702	0.702	0.329	
STC2741	4887	1.297	1.058	
STC2742	3615	1.385	1.278	
STC2743	926	0.927	0.383	

[1013]

STC2744	656	0.877	0.362	
STC2745	430	1.218	1.344	
STC2746	1387			
STC2747	530	0.385	0.798	
STC2748	653	0.421	0.898	
STC2749	1170	0.886	0.961	
STC2750	1173	0.892	1.339	
STC2751	4334	1.288	1.25	
STC2752	508	1.165	1.276	
STC2753	887	0.937	0.957	
STC2754	1406	0.865	1.057	
STC2755	356	1.215	1.254	
STC2756	162	1.086	1.229	
STC2757	602	1.175	1.157	
STC2758	1233	1.014	1.204	
STC2759	6077	1.047	1.289	2.42E-09
STC2760	5558	1.179	1.403	1.63E-09
STC2761	865	0.674	1.125	
STC2762	726	1.148	1.252	
STC2763	497	0.55	0.9	
STC2764	1933	1.042	1.07	
STC2765	768	0.729	1.022	
STC2766	452	1.215	1.228	
STC2767	904	0.862	1.109	
STC2768	4732	2.006	1.686	9.07E-08
STC2769	5036	2.099	1.576	4.37E-08
STC2770	5428	1.992	1.681	6.54E-09
STC2771	4965	1.932	1.643	1.81E-09
STC2772	6434	1.937	1.485	1.27E-09
STC2773	4604	2.116	1.626	4.45E-09
STC2774	6467	2.009	1.391	<1.0E-12
STC2775	6410	1.945	1.544	2.57E-09
STC2776	6480	2.195	1.695	<1.0E-12
STC2777	6780	2.039	1.634	<1.0E-12
STC2778	2341	1.799	1.442	4.36E-10
STC2779	4879	2.042	1.455	<1.0E-12
STC2780	6325	2.059	1.628	<1.0E-12
STC2781	6446	2.103	1.383	1.77E-10

[1014] 抗体测序。为了鉴别抗体的DNA序列,使用RNeasy Mini RNA试剂盒(Qiagen)从杂交瘤细胞分离总RNA,并且使用SuperScript II One-Step RT-PCR系统(ThermoFisher)产生cDNA。使用来自**SMARTer®** RACE cDNA扩增试剂盒(Takara/Clontech)的特异性引物组扩增含有互补决定区(CDR)的重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),然后将其用作PCR中的模板。将产物连接至pRACE表达载体。将连接至pRACE in-fusion载体的PCR产物转化到Top10感受态大肠杆菌(E.coli)细胞(ThermoFisher)。选择克隆的载体,并进行纯化和测序。通过abYsis网址(www.bioinf.org.uk/abysis2.7)分析测序结果。通过三种不同的预测方法证实了CDR区的肽序列。使用Clustal Omega(www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/)对每个抗体的HC和LC序列进行比对。抗体测序结果显示在重链和轻链中大部分抗体具有相同序

列。

[1015] T细胞-介导的癌细胞杀死。T细胞杀死测定是其中测试免疫检查点阻断剂的效力的有效的最小化系统,但是可以分别通过多种细胞类型表达BTN1A1及其受体并且T细胞仅是对癌症免疫应答的一种成分。因此,为了开发更好地代表其中癌细胞杀死一定发生的免疫环境的体外模型,STCube开发了使用来自完整、未处理过的周围血液单核细胞群体的T细胞的癌细胞杀死测定。为了评价通过未处理过的T细胞的癌细胞杀死,用人BTN1A1稳定转染PC3人前列腺癌细胞,然后将其在96孔板中铺板。将分离的T细胞与指定浓度的BTN1A1抗体一起加入至每个孔中。最终,作为细胞凋亡指示剂加入仅在通过半胱天冬氨酸酶3/7切割后发荧光的细胞-可渗透试剂。通过在媒介物中包含STC2714,提高了PC3细胞中的细胞凋亡,其表明在完整循环免疫组分的背景中,STC2714阻断了从癌细胞到T细胞所介导的抑制性信号(图33)。

[1016] 用于检测二聚体-特异性BTN1A1抗体的免疫印迹。为了确定构象特异性,使用二聚体形式的BTN1A1 (BTN1A1的Fc融合蛋白胞外域) 和单体形式的BTN1A1 (BTN1A1胞外域的His-标签蛋白) 两者进行免疫印迹分析。用DTT(还原剂)处理蛋白并煮沸,或者不进行还原和通过煮沸的变性。将蛋白在SDS-PAGE上电泳后,通过标准规程进行免疫印迹(图34)。在天然条件下(无还原剂和煮沸),STC2714仅识别Fc融合蛋白(BTN1A1ECD的二聚体形式),而不识别His-标签蛋白(BTN1A1 ECD的单体形式)。还可以通过STC2714检测还原的BTN1A1-Fc,表明该蛋白可以在培育期间在膜上恢复二聚体形式。该结果表明STC2714是二聚体-特异性抗体。

[1017] STC2714与二聚体形式的BTN1A1的结合亲合力。使用Biacore X-100系统(GE Healthcare Life Science)确定STC2714的 K_D 值。通过流动相中的BTN1A1-Fc(二聚体形式)和BTN1A1-His(单体形式)与结合至固定化了抗-小鼠IgG抗体的金传感器芯片的STC2714的结合和解离过程获得了 K_D 值。图35A和B显示了代表性的结合/解离图。STC2714以高亲合力($K_D=2.5\text{nM}$)结合BTN1A1-Fc;而该抗体对BTN1A1-His具有 31.4nM 的 K_D 。这表明与单体形式的BTN1A1相比,STC2714对二聚体形式的BTN1A1具有更强的亲合力。

[1018] 在整个本发明申请中,已参考了多个出版物。在本发明申请中,这些出版物的公开内容以其全部内容作为参考并入本文以更全面地描述本发明公开所属领域的技术现状。尽管本文提供了某些具体实施方式的实例,但是对于本领域技术人员显而易见的是可以做出多种改变和修改。这些修改也旨在处于所附权利要求的范围内。

序列表

<110> 斯特库伯制药公司

<120> 免疫特异性结合至BTN1A1的抗体和分子及其治疗性用途

<130> 13532-018-228

<140> TBA

<141>

<150> US 62/513,389

<151> 2017-05-31

<160> 338

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 526

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 1

```

Met Ala Val Phe Pro Ser Ser Gly Leu Pro Arg Cys Leu Leu Thr Leu
1           5           10           15
Ile Leu Leu Gln Leu Pro Lys Leu Asp Ser Ala Pro Phe Asp Val Ile
          20           25           30
Gly Pro Pro Glu Pro Ile Leu Ala Val Val Gly Glu Asp Ala Lys Leu
          35           40           45
Pro Cys Arg Leu Ser Pro Asn Ala Ser Ala Glu His Leu Glu Leu Arg
          50           55           60
Trp Phe Arg Lys Lys Val Ser Pro Ala Val Leu Val His Arg Asp Gly
65           70           75           80
Arg Glu Gln Glu Ala Glu Gln Met Pro Glu Tyr Arg Gly Arg Ala Thr
          85           90           95
Leu Val Gln Asp Gly Ile Ala Lys Gly Arg Val Ala Leu Arg Ile Arg
          100          105          110
Gly Val Arg Val Ser Asp Asp Gly Glu Tyr Thr Cys Phe Phe Arg Glu
          115          120          125
Asp Gly Ser Tyr Glu Glu Ala Leu Val His Leu Lys Val Ala Ala Leu
          130          135          140
Gly Ser Asp Pro His Ile Ser Met Gln Val Gln Glu Asn Gly Glu Ile
145          150          155          160
Cys Leu Glu Cys Thr Ser Val Gly Trp Tyr Pro Glu Pro Gln Val Gln

```

				165					170					175			
Trp	Arg	Thr	Ser	Lys	Gly	Glu	Lys	Phe	Pro	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Arg		
				180					185					190			
Asn	Pro	Asp	Glu	Glu	Gly	Leu	Phe	Thr	Val	Ala	Ala	Ser	Val	Ile	Ile		
				195					200					205			
Arg	Asp	Thr	Ser	Ala	Lys	Asn	Val	Ser	Cys	Tyr	Ile	Gln	Asn	Leu	Leu		
				210					215					220			
Leu	Gly	Gln	Glu	Lys	Lys	Val	Glu	Ile	Ser	Ile	Pro	Ala	Ser	Ser	Leu		
225																	
				230					235					240			
Pro	Arg	Leu	Thr	Pro	Trp	Ile	Val	Ala	Val	Ala	Val	Ile	Leu	Met	Val		
				245					250					255			
Leu	Gly	Leu	Leu	Thr	Ile	Gly	Ser	Ile	Phe	Phe	Thr	Trp	Arg	Leu	Tyr		
				260					265					270			
Asn	Glu	Arg	Pro	Arg	Glu	Arg	Arg	Asn	Glu	Phe	Ser	Ser	Lys	Glu	Arg		
				275					280					285			
Leu	Leu	Glu	Glu	Leu	Lys	Trp	Lys	Lys	Ala	Thr	Leu	His	Ala	Val	Asp		
				290					295					300			
Val	Thr	Leu	Asp	Pro	Asp	Thr	Ala	His	Pro	His	Leu	Phe	Leu	Tyr	Glu		
305																	
				310					315					320			
Asp	Ser	Lys	Ser	Val	Arg	Leu	Glu	Asp	Ser	Arg	Gln	Lys	Leu	Pro	Glu		
				325					330					335			
Lys	Thr	Glu	Arg	Phe	Asp	Ser	Trp	Pro	Cys	Val	Leu	Gly	Arg	Glu	Thr		
				340					345					350			
Phe	Thr	Ser	Gly	Arg	His	Tyr	Trp	Glu	Val	Glu	Val	Gly	Asp	Arg	Thr		
				355					360					365			
Asp	Trp	Ala	Ile	Gly	Val	Cys	Arg	Glu	Asn	Val	Met	Lys	Lys	Gly	Phe		
				370					375					380			
Asp	Pro	Met	Thr	Pro	Glu	Asn	Gly	Phe	Trp	Ala	Val	Glu	Leu	Tyr	Gly		
385																	
				390					395					400			
Asn	Gly	Tyr	Trp	Ala	Leu	Thr	Pro	Leu	Arg	Thr	Pro	Leu	Pro	Leu	Ala		
				405					410					415			
Gly	Pro	Pro	Arg	Arg	Val	Gly	Ile	Phe	Leu	Asp	Tyr	Glu	Ser	Gly	Asp		
				420					425					430			
Ile	Ser	Phe	Tyr	Asn	Met	Asn	Asp	Gly	Ser	Asp	Ile	Tyr	Thr	Phe	Ser		
				435					440					445			
Asn	Val	Thr	Phe	Ser	Gly	Pro	Leu	Arg	Pro	Phe	Phe	Cys	Leu	Trp	Ser		
				450					455					460			
Ser	Gly	Lys	Lys	Pro	Leu	Thr	Ile	Cys	Pro	Ile	Ala	Asp	Gly	Pro	Glu		
465																	
				470					475					480			

Arg	Val	Thr	Val	Ile	Ala	Asn	Ala	Gln	Asp	Leu	Ser	Lys	Glu	Ile	Pro		
					485						490						495
Leu	Ser	Pro	Met	Gly	Glu	Asp	Ser	Ala	Pro	Arg	Asp	Ala	Asp	Thr	Leu		
					500						505						510
His	Ser	Lys	Leu	Ile	Pro	Thr	Gln	Pro	Ser	Gln	Gly	Ala	Pro				
					515						520						525

<210> 2

<211> 1581

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 2

```

atggcagttt tcccaagctc cggctctccc agatgtctgc tcacctcat tctcctccag 60
ctgccc aaac tggattcagc tccctttgac gtgattggac ccccgagacc catcctggcc 120
gttgtgggtg aggacgcaa gctgccctgt cgcctgtctc cgaacgcgag cgccgagcac 180
ttggagctac gctggttccg aaagaaggtt tcgccggccg tgctggtgca tagggacggg 240
cgcgagcagg aagccgagca gatgcccagc taccgcgggc gggcgacgct ggtccaggac 300
ggcatcgcca aggggcgcgt ggcttggagg atccgtggcg tcagagtctc tgacgacggg 360
gagtacacgt gctttttcag ggaggatgga agctacgaag aagccctggg gcatctgaag 420
gtggctgctc tgggctctga ccctcacatc agtatgcaag ttcaagagaa tggagaaatc 480
tgtctggagt gcacctcagt gggatggtag ccagagcccc aggtgcagtg gagaacttcc 540
aaggagagaga agtttccatc tacatcagag tccaggaatc ctgatgaaga aggtttgttc 600
actgtggctg cttcagtgat catcagagac acttctgcga aaaatgtgtc ctgctacatc 660
cagaatctcc ttcttggcca ggagaagaaa gtagaaatat ccataccagc ttcctccctc 720
ccaaggctga ctccctggat agtggctgtg gctgtcatcc tgatggttct aggacttctc 780
accattgggt ccatattttt cacttggaga ctatacaac aaagaccag agagaggagg 840
aatgaattca gctctaaaga gagactcctg gaagaactca aatggaaaaa ggctaccttg 900
catgcagttg atgtgactct ggaccagac acagctcatc cccacctctt tctttatgag 960
gattcaaaat ctgttcgact ggaagattca cgtcagaaac tgcctgagaa aacagagaga 1020
tttgactcct ggccctgtgt gttgggccgt gagaccttca cctcaggaag gcattactgg 1080
gaggtggagg tgggagacag gactgactgg gcaatcggcg tgtgtaggga gaatgtgatg 1140
aagaaaggat ttgaccccat gactcctgag aatgggttct gggctgtaga gttgtatgga 1200
aatgggtact gggccctcac tcctctccg accctctcc cattggcagg gccccacgc 1260
cgggttggga ttttctaga ctatgaatca ggagacatct cttctacaa catgaatgat 1320
ggatctgata tctatacttt ctccaatgtc actttctctg gccccctccg gcccttcttt 1380
tgcctatggc ctagcggtaa aaagccctg accatctgcc caattgctga tgggcctgag 1440
agggtcacag tcattgctaa tgcccaggac ctttctaagg agatccatt gtcccccatt 1500
ggggaggact ctgcccttag ggatgcagac actctccatt ctaagctaatt ccctacccaa 1560

```

cccagccaag gggcacctta a 1581

<210> 3

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 3

Gln Gly Gln Met Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Arg

20 25 30

Tyr Ile Ser Trp Leu Lys Gln Lys Pro Arg Gln Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Ala Trp Ile Tyr Ala Gly Thr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Thr Gly Lys Ala Gln Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Arg Arg Gly Leu Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Thr Leu Thr Val Ser Ser

115

<210> 4

<211> 354

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 4

cagggtcaga tgcagcagtc tggagctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagctg 60

tcctgcaaga cttctggtt caccttcagc agtaggtata taagttggtt gaagcagaag 120

cctcgacaga gtcttgagtg gattgcatgg atttatgctg gaactggtgg cactagttat 180

aatcagaagt tcacaggcaa ggcccaactg actgtagaca catcctccag cacagcctac 240

atgcaactca gcagcctgac atctgaggac tctgccaatc attactgtgc aagacggagg 300

ggactagggt actttgacta ctggggccaa ggcaccactc tcacagtctc ctca 354

<210> 5

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 5

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val Ser Val Gly
1           5           10           15
Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn
           20           25           30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
           35           40           45
Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
           50           55           60
Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser
65           70           75           80
Glu Asp Phe Gly Asn Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Ser Pro Trp
           85           90           95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
           100          105

```

<210> 6

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 6

```

gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgtgt ctgtgggaga aactgtcacc 60
atcacatgtc gagcaagtga gaatatttac agtaatttag catggtatca gcagaaacag 120
ggaaaatctc ctcagctcct ggtctatgct gcaacaaact tagcagatgg tgtgccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc aggcacacag ttttcctca agatcaacag cctgcagtct 240
gaagattttg ggaattatta ctgtcaacat ttttgggggtt ctccgtggac gttcggtgga 300
ggcaccaagc tggaaatcaa a 321

```

<210> 7

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 7

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Arg

1 5

<210> 8

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 8

Tyr Ala Gly Thr Gly Gly

1 5

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 9

Arg Arg Gly Leu Gly Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 10

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 10

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Arg Tyr Ile Ser

1 5 10

<210> 11

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 11

Trp Ile Tyr Ala Gly Thr Gly Gly Thr Ser

1 5 10

<210> 12

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 12

Arg Arg Gly Leu Gly Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 13

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 13

Ser Arg Tyr Ile Ser

1 5

<210> 14

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 14

Trp Ile Tyr Ala Gly Thr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Thr

1 5 10 15

Gly

<210> 15

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 15

Arg Arg Gly Leu Gly Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 16

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 16

Ser Ser Arg Tyr Ile Ser

1 5

<210> 17

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 17

Trp Ile Ala Trp Ile Tyr Ala Gly Thr Gly Gly Thr Ser

1 5 10

<210> 18

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 18

Ala Arg Arg Arg Gly Leu Gly Tyr Phe Asp

1 5 10

<210> 19

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 19

Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 20

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 20

Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp

1 5

<210> 21

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 21

Gln His Phe Trp Gly Ser Pro Trp Thr

1 5

<210> 22

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 22

Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 23

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 23

Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp

1 5

<210> 24

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 24

Gln His Phe Trp Gly Ser Pro Trp Thr

1 5

<210> 25

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 25

Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 26

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 26

Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp

1 5

<210> 27

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 27

Gln His Phe Trp Gly Ser Pro Trp Thr

1 5

<210> 28

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 28

Tyr Ser Asn Leu Ala Trp Tyr

1 5

<210> 29

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 29

Leu Leu Val Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 30

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 30

Gln His Phe Trp Gly Ser Pro Trp

1 5

<210> 31

<211> 125

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 31

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr His Tyr

20 25 30

Asn Met Asp Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Pro Ser Asn Gly Gly Thr Gly Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Ser Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu His Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Ala Tyr His Tyr Gly Ser Ser Tyr Ala Tyr Trp Tyr Phe

100 105 110

Asp Val Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 32

<211> 375

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 32

```
gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata 60
tcctgcaagg cttctggata cacattcact cactacaaca tggactgggt gaagcagagc 120
catggaaaga gccttgaatg gattggatat atttatecctt ccaatgggtg tactggctac 180
aaccagaaat tcaagagcag ggccacattg actgtagaca agtcctccag cacagcctac 240
atggaactcc acagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagaggggcc 300
tatcactacg gtagttccta cgctactgg tacttcgatg tctggggcgc agggaccacg 360
gtcaccgtct cctca 375
```

<210> 33

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 33

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
           20           25           30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Glu Thr Val Lys Leu Leu Ile
           35           40           45
Ser Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
           50           55           60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Ala Pro
65           70           75           80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Lys Leu Pro Phe
           85           90           95
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Glu Leu Glu Ile Lys Arg Ala
           100          105
```

<210> 34

<211> 327

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 34

gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcacc 60
atcagttgca gtgcaagtca ggacattagc aattatttaa actggtatca gcagaaacca 120
gatgaaactg ttaaactcct gatctcttac acatcaagtt tacactcagg agtcccatca 180
agattcagtg gcagtgggtc tgggacagat tattctctca ccatcagcaa cctggcacct 240
gaagatattg ccacttacta ttgtcagcag tctagtaagc ttccattcac gttcggctcg 300
gggacagagt tggaaataaa acgggct 327

<210> 35

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 35

Gly Tyr Thr Phe Thr His Tyr

1 5

<210> 36

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 36

Tyr Pro Ser Asn Gly Gly

1 5

<210> 37

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 37

Gly Ala Tyr His Tyr Gly Ser Ser Tyr Ala Tyr Trp Tyr Phe Asp Val

1 5 10 15

<210> 38

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 38

Gly Tyr Thr Phe Thr His Tyr Asn Met Asp

1 5 10

<210> 39

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 39

Tyr Ile Tyr Pro Ser Asn Gly Gly Thr Gly

1 5 10

<210> 40

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 40

Gly Ala Tyr His Tyr Gly Ser Ser Tyr Ala Tyr Trp Tyr Phe Asp Val

1 5 10 15

<210> 41

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 41

His Tyr Asn Met Asp

1 5

<210> 42

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 42

Tyr Ile Tyr Pro Ser Asn Gly Gly Thr Gly Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Ser

<210> 43

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 43

Gly Ala Tyr His Tyr Gly Ser Ser Tyr Ala Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10 15

<210> 44

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 44

Thr His Tyr Asn Met Asp
 1 5

<210> 45

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Ser Asn Gly Gly Thr Gly
 1 5 10

<210> 46

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 46

Ala Arg Gly Ala Tyr His Tyr Gly Ser Ser Tyr Ala Tyr Trp Tyr Phe
 1 5 10 15

Asp

<210> 47

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 47

Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 48

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 48

Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser

1 5

<210> 49

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 49

Gln Gln Ser Ser Lys Leu Pro Phe Thr

1 5

<210> 50

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 50

Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 51

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 51

Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser

1 5

<210> 52

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 52

Gln Gln Ser Ser Lys Leu Pro Phe Thr

1 5

<210> 53

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 53

Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 54

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 54

Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser

1 5

<210> 55

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 55

Gln Gln Ser Ser Lys Leu Pro Phe Thr

1 5

<210> 56

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 56

Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr

1 5

<210> 57

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 57

Leu Leu Ile Ser Tyr Thr Ser Ser Leu His

1 5 10

<210> 58

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 58

Gln Gln Ser Ser Lys Leu Pro Phe

1 5

<210> 59

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 59

Gln Gly Gln Met Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala

1	5	10	15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Arg			
20	25	30	
Tyr Ile Ser Trp Leu Lys Gln Lys Pro Arg Gln Ser Leu Glu Trp Ile			
35	40	45	
Ala Trp Ile Tyr Ala Gly Thr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe			
50	55	60	
Thr Gly Lys Ala Gln Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr			
65	70	75	80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg Arg Arg Gly Gly Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr			
100	105	110	
Thr Leu Thr Val Ser Ser			
115			

<210> 60

<211> 354

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 60

cagggtcaga tgcagcagtc tggagctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagctg 60
tcctgcaaga cttctggcctt caccttcagc agtaggtata taagttgggtt gaagcagaag 120
cctcgacaga gtcttgagtg gattgcatgg atttatgctg gaactggtgg tactagctat 180
aatcagaagt tcacaggcaa ggcccaactg actgtagaca catcctccag cacagcctac 240
atgcaactca gcagcctgac atctgaggac tctgccatct attactgtgc aagacgaagg 300
ggcggcggtt actttgacta ctggggccaa ggcaccactc tcacagtctc ctca 354

<210> 61

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 61

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val Ser Val Gly			
1	5	10	15
Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Phe Ser Asn			
20	25	30	

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Gly Ser Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Ser Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 62

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 62

gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgtat ctgtgggaga aactgtcacc 60
 atcacatgtc gagcaagtga gaatatatttc agtaatttag catggtatca gcagaaacag 120
 ggaaaatctc ctcagctcct ggtctatgct gcaacaaact tagcagatgg tgtgccatca 180
 aggttcagtg gcagtgatc aggcacacag tattccctca agatcaacag cctgcagtct 240
 gaggattttg ggagttatta ctgtcaacat ttttgggggtt ctccgtggac gttcggtgga 300
 ggcaccaagc tggaaatcaa a 321

<210> 63

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 63

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Arg
 1 5

<210> 64

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 64

Tyr Ala Gly Thr Gly Gly

1 5

<210> 65

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 65

Arg Arg Gly Gly Gly Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 66

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 66

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Arg Tyr Ile Ser

1 5 10

<210> 67

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 67

Trp Ile Tyr Ala Gly Thr Gly Gly Thr Ser

1 5 10

<210> 68

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 68

Arg Arg Gly Gly Gly Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 69

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 69

Ser Arg Tyr Ile Ser

1 5

<210> 70

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 70

Trp Ile Tyr Ala Gly Thr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Thr

1 5 10 15

Gly

<210> 71

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 71

Arg Arg Gly Gly Gly Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 72

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 72

Ser Ser Arg Tyr Ile Ser

1 5

<210> 73

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 73

Trp Ile Ala Trp Ile Tyr Ala Gly Thr Gly Gly Thr Ser

1 5 10

<210> 74

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 74

Ala Arg Arg Arg Gly Gly Gly Tyr Phe Asp

1 5 10

<210> 75

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 75

Arg Ala Ser Glu Asn Ile Phe Ser Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 76

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 76

Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp

1 5

<210> 77

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 77

Gln His Phe Trp Gly Ser Pro Trp Thr

1 5

<210> 78

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 78

Arg Ala Ser Glu Asn Ile Phe Ser Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 79

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 79

Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp

1 5

<210> 80

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 80

Gln His Phe Trp Gly Ser Pro Trp Thr

1 5

<210> 81

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 81

Arg Ala Ser Glu Asn Ile Phe Ser Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 82

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 82

Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp

1 5

<210> 83

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 83

Gln His Phe Trp Gly Ser Pro Trp Thr

1 5

<210> 84

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 84

Phe Ser Asn Leu Ala Trp

1 5

<210> 85

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 85

Leu Leu Val Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 86

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 86

Gln His Phe Trp Gly Ser Pro Trp

1 5

<210> 87

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 87

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Tyr Met Asp Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Tyr Ile Ser Pro Asn Asn Gly Gly Thr Lys Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu His Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Glu Pro Asp Leu Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser

115

<210> 88

<211> 358

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 88

gaggtccagc tgcaacagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggggattc agtgaagatg 60

tcctgcaagg cttctggcta cacattcact gactactaca tggactgggt gaagcagagc 120

catggaaaga gccttgagtg gattggatat atttctccta acaatggtgg tactaagtac 180

aatcagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgttgaca agtcctccag cacagcctac 240
 atggagctcc acagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagagagccc 300
 gacctgcttt actactttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctcctcag 358

<210> 89

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 89

Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Val Gly

1 5 10 15

Glu Lys Val Ile Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Phe

20 25 30

Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

Ser Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

Tyr Tyr Ser Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile

100 105 110

Lys

<210> 90

<211> 340

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 90

gacattgtga tgtcacagtc tccatcctcc ctagctgtgt cagttggaga gaaggttatt 60

atgagctgca agtccagtc gagcctttta tatttttagca atcaaaagaa ctacttggcc 120

tggtaccagc agaaaccagg gcagtctcct agactgctga ttacttgggc atccactagg 180

gaatctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagtg tgaaggctga agacctggca gtttattact gtcagcaata ttatagctat 300

ccgtggacgt tcggtggagg caccaagctg gaaatcaaac 340

<210> 91

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 91

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

1 5

<210> 92

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 92

Ser Pro Asn Asn Gly Gly Thr

1 5

<210> 93

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 93

Glu Pro Asp Leu Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 94

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 94

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met Asp

1 5 10

<210> 95

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 95

Tyr Ile Ser Pro Asn Asn Gly Gly Thr Lys

1 5 10

<210> 96

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 96

Glu Pro Asp Leu Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 97

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 97

Asp Tyr Tyr Met Asp

1 5

<210> 98

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 98

Tyr Ile Ser Pro Asn Asn Gly Gly Thr Lys Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 99

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 99

Glu Pro Asp Leu Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 100

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 100

Thr Asp Tyr Tyr Met Asp

1 5

<210> 101

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 101

Ser Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Pro Asn Asn Gly Gly Thr Lys

1 5 10 15

<210> 102

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 102

Ala Arg Glu Pro Asp Leu Leu Tyr Tyr Phe Asp

1 5 10

<210> 103

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 103

Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 104

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 104

Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser

1 5

<210> 105

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 105

Gln Gln Ser Ser Lys Leu Pro Phe Thr

1 5

<210> 106

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 106

Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 107

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 107

Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser

1 5

<210> 108

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 108

Gln Gln Ser Ser Lys Leu Pro Phe Thr

1 5

<210> 109

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 109

Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 110

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 110

Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser

1 5

<210> 111

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 111

Gln Gln Ser Ser Lys Leu Pro Phe Thr

1 5

<210> 112

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 112

Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr

1 5

<210> 113

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 113

Leu Leu Ile Ser Tyr Thr Ser Ser Leu His

1 5 10

<210> 114

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 114

Gln Gln Ser Ser Lys Leu Pro Phe

1 5

<210> 115

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 115

Glu Val Met Leu Val Glu Ser Gly Gly Ala Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

20 25 30

Val Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Asn Tyr Pro Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys

85	90	95
Val Arg Glu Gly Asp Gly Phe Tyr	Val Phe Asp Tyr Trp Gly Leu Gly	
100	105	110
Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser		
115		
<210> 116		
<211> 357		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成多核苷酸		
<400> 116		
gaagtgatgc tggtagtc tgggggagcc ttagtgaagc ctggagggtc cctgaaactc 60		
tcctgtgcag cctctggatt cactttcagc aattatgtca tgtcttgggt tcgccagact 120		
ccagagaaga ggctggagtg ggtcgcaacc attagtagtg gtggtagtta caccaattat 180		
ccagacagtg tgaagggtcg attcatcatc tccagagaca atgccaggaa caccctgtac 240		
ctgcaaatga gcagtctgag gtctgaggac acggccatat attactgtgt aagagagggg 300		
gatggtttct acgtctttga ctactggggc ctaggcacca ctctcacagt ctctca 357		
<210> 117		
<211> 113		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成多肽		
<400> 117		
Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Val Gly		
1 5 10 15		
Glu Lys Val Ile Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser		
20 25 30		
Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln		
35 40 45		
Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val		
50 55 60		
Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr		
65 70 75 80		
Ile Ser Ser Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln		
85 90 95		
Tyr Tyr Ser Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile		
100 105 110		

Lys

<210> 118

<211> 339

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 118

```
gacattgtga tgtcacagtc tccatcctcc ctagctgtgt cagttggaga gaaggttatt 60
atgagctgca agtccagtca gagcctttta tatagtggca atcaaaagaa ctacttggcc 120
tggtaccagc agaaaccagg gcagtctcct aaactgctga tttactgggc atccactagg 180
gaatctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg ggacagattt cactctcacc 240
atcagcagtg tgaaggctga agacctggca gtttattact gtcagcaata ttatagctat 300
ccgtggacgt tcggtggagg caccaagctg gaaatcaaa 339
```

<210> 119

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 119

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

1 5

<210> 120

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 120

Ser Ser Gly Gly Ser Tyr

1 5

<210> 121

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 121

Glu Gly Asp Gly Phe Tyr Val Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 122

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 122

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Val Met Ser

1 5 10

<210> 123

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 123

Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Asn

1 5 10

<210> 124

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 124

Glu Gly Asp Gly Phe Tyr Val Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 125

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 125

Asn Tyr Val Met Ser

1 5

<210> 126

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 126

Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Asn Tyr Pro Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 127

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 127

Glu Gly Asp Gly Phe Tyr Val Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 128

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 128

Ser Asn Tyr Val Met Ser

1 5

<210> 129

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 129

Trp Val Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Asn

1 5 10

<210> 130

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 130

Val Arg Glu Gly Asp Gly Phe Tyr Val Phe Asp

1 5 10

<210> 131

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 131

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 132

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 132

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 133

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 133

Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Trp Thr

1 5

<210> 134

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 134

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 135

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 135

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 136

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 136

Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Trp Thr

1 5

<210> 137

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 137

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 138

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 138

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 139

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 139

Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Trp Thr

1 5

<210> 140

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 140

Leu Tyr Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr

1 5 10

<210> 141

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 141

Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu

1 5 10

<210> 142

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 142

Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Trp

1 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 145

```

Ser Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Lys Phe Leu Leu Val Ser Ala Gly
1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr Asp
           20           25           30
Val Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Met
           35           40           45
Tyr Tyr Val Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
           50           55           60
Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Thr Val Gln Ala
65           70           75           80
Glu Asp Leu Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Pro
           85           90           95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
           100          105

```

<210> 146

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 146

```

agtattgtga tgaccagac tcccaaattc ctgcttgtgt cagcaggaga cagggttacc 60
ataacctgca aggccagtca gagtgtgagt tatgatgtag ttggtacca acagaagcca 120
gggcagtctc ctaaactgct gatgtattat gtatccaatc gctacactgg agtcctgat 180
cgcttcaactg gcagtggata tgggacggat ttactttca ccatcagcac tgtgcaggct 240
gaagacctgg cagtttattt ctgtcagcag gattatagct ctctccgac gttcggtgga 300
ggcaccaagc tggaaatcaa a 321

```

<210> 147

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 147

```

Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr

```

1 5

<210> 148

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 148

Asn Pro Tyr Asn Gly Asp

1 5

<210> 149

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 149

Trp Thr Thr Val Ile Asn Phe Asp Tyr

1 5

<210> 150

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 150

Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Phe Met Asn

1 5 10

<210> 151

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 151

Arg Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Phe

1 5 10

<210> 152

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 152

Trp Thr Thr Val Ile Asn Phe Asp Tyr

1 5

<210> 153

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 153

Gly Tyr Phe Met Asn

1 5

<210> 154

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 154

Arg Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Asp

<210> 155

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 155

Trp Thr Thr Val Ile Asn Phe Asp Tyr

1 5

<210> 156

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 156

Thr Gly Tyr Phe Met Asn

1 5

<210> 157

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 157

Trp Ile Gly Arg Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Phe

1 5 10

<210> 158

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 158

Ala Arg Trp Thr Thr Val Ile Asn Phe Asp

1 5 10

<210> 159

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 159

Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr Asp Val Val

1 5 10

<210> 160

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 160

Tyr Val Ser Asn Arg Tyr Thr

1 5

<210> 161

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 161

Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Pro Thr

1 5

<210> 162

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 162

Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr Asp Val Val

1 5 10

<210> 163

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 163

Tyr Val Ser Asn Arg Tyr Thr

1 5

<210> 164

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 164

Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Pro Thr

1 5

<210> 165

<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<400> 165
Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr Asp Val Val
1 5 10
<210> 166
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<400> 166
Tyr Val Ser Asn Arg Tyr Thr
1 5
<210> 167
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<400> 167
Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Pro Thr
1 5
<210> 168
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<400> 168
Ser Tyr Asp Val Val Trp Tyr
1 5
<210> 169
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 169

Leu Leu Met Tyr Tyr Val Ser Asn Arg Tyr

1 5 10

<210> 170

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 170

Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Pro

1 5

<210> 171

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 171

Arg Lys Lys Val Ser Pro Ala Val Leu

1 5

<210> 172

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 172

Thr Val Ala Ala Ser Val Ile Ile Arg Asp Thr Ser Ala Lys Asn Val

1 5 10 15

Ser Cys Tyr

<210> 173

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 173

Ile Arg Asp Thr Ser Ala Lys Asn

1 5

<210> 174

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 174

Leu Glu Leu Arg Trp Phe Arg Lys Lys Val Ser Pro Ala

1 5 10

<210> 175

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 175

Glu Glu Gly Leu Phe Thr Val Ala Ala Ser Val Ile Ile Arg Asp Thr

1 5 10 15

Ser Ala Lys Asn Val

20

<210> 176

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 176

Ala Thr Leu Val Gln Asp Gly Ile Ala Lys Gly Arg

1 5 10

<210> 177

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 177

Asn Pro Asp Glu Glu Gly Leu Phe Thr Val Ala Ala Ser Val Ile Ile
1 5 10 15

Arg Asp Thr Ser Ala Lys
20

<210> 178

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 178

Thr Val Ala Ala Ser Val Ile Ile Arg Asp Thr Ser Ala Lys Asn Val
1 5 10 15

Ser Cys Tyr

<210> 179

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> misc_feature

<222> (4) .. (4)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<400> 179

Ala Glu Gln Xaa Pro Glu Tyr Arg Gly Arg Ala Thr
1 5 10

<210> 180

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 180

Gly Arg Ala Thr Leu Val Gln Asp Gly Ile Ala Lys Gly Arg Val
1 5 10 15

<210> 181

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 181

Glu Glu Gly Leu Phe Thr Val Ala Ala Ser Val Ile Ile Arg Asp Thr

1 5 10 15

Ser Ala Lys Asn Val

20

<210> 182

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 182

Tyr Cys Ala Arg Gly Ala Tyr

1 5

<210> 183

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 183

Thr Phe Thr His Tyr

1 5

<210> 184

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 184

Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Glu

1 5

<210> 185

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 185

Ser Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Ser Asn Gly Gly Thr Gly

1 5 10 15

Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Ser Arg

20

<210> 186

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 186

Leu Leu Ile Ser Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg

1 5 10 15

<210> 187

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 187

Thr Phe Thr His Tyr

1 5

<210> 188

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 188

Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg

1 5

<210> 189

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 189

Arg Leu Ser Pro Asn Ala Ser Ala Glu His

1 5 10

<210> 190

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 190

Gly Phe Ser Pro Asn Ala Ser Ser Glu Tyr

1 5 10

<210> 191

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 191

Arg Leu Ser Pro Asn Val Ser Ala Lys Gly

1 5 10

<210> 192

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 192

Thr Ser Ala Lys Asn Val Ser Cys Tyr Ile

1 5 10

<210> 193

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 193

Ser Ser Ile Lys Asn Met Ser Cys Cys Ile

1	5	10
<210> 194		
<211> 10		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成多肽		
<400> 194		
Ser Ser Met Lys Asn Val Ser Cys Cys Ile		
1	5	10
<210> 195		
<211> 524		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成多肽		
<400> 195		
Met Ala Val Pro Thr Asn Ser Cys Leu Leu Val Cys Leu Leu Thr Leu		
1	5	10 15
Thr Val Leu Gln Leu Pro Thr Leu Asp Ser Ala Ala Pro Phe Asp Val		
20	25	30
Thr Ala Pro Gln Glu Pro Val Leu Ala Leu Val Gly Ser Asp Ala Glu		
35	40	45
Leu Thr Cys Gly Phe Ser Pro Asn Ala Ser Ser Glu Tyr Met Glu Leu		
50	55	60
Leu Trp Phe Arg Gln Thr Arg Ser Lys Ala Val Leu Leu Tyr Arg Asp		
65	70	75 80
Gly Gln Glu Gln Glu Gly Gln Gln Met Thr Glu Tyr Arg Gly Arg Ala		
85	90	95
Thr Leu Ala Thr Ala Gly Leu Leu Asp Gly Arg Ala Thr Leu Leu Ile		
100	105	110
Arg Asp Val Arg Val Ser Asp Gln Gly Glu Tyr Arg Cys Leu Phe Lys		
115	120	125
Asp Asn Asp Asp Phe Glu Glu Ala Ala Val Tyr Leu Lys Val Ala Ala		
130	135	140
Val Gly Ser Asp Pro Gln Ile Ser Met Thr Val Gln Glu Asn Gly Glu		
145	150	155 160
Met Glu Leu Glu Cys Thr Ser Ser Gly Trp Tyr Pro Glu Pro Gln Val		
165	170	175

Gln Trp Arg Thr Gly Asn Arg Glu Met Leu Pro Ser Thr Ser Glu Ser			
180	185	190	
Lys Lys His Asn Glu Glu Gly Leu Phe Thr Val Ala Val Ser Met Met			
195	200	205	
Ile Arg Asp Ser Ser Ile Lys Asn Met Ser Cys Cys Ile Gln Asn Ile			
210	215	220	
Leu Leu Gly Gln Gly Lys Glu Val Glu Ile Ser Leu Pro Ala Pro Phe			
225	230	235	240
Val Pro Arg Leu Thr Pro Trp Ile Val Ala Val Ala Ile Ile Leu Leu			
245	250	255	
Ala Leu Gly Phe Leu Thr Ile Gly Ser Ile Phe Phe Thr Trp Lys Leu			
260	265	270	
Tyr Lys Glu Arg Ser Ser Leu Arg Lys Lys Glu Phe Gly Ser Lys Glu			
275	280	285	
Arg Leu Leu Glu Glu Leu Arg Cys Lys Lys Thr Val Leu His Glu Val			
290	295	300	
Asp Val Thr Leu Asp Pro Asp Thr Ala His Pro His Leu Phe Leu Tyr			
305	310	315	320
Glu Asp Ser Lys Ser Val Arg Leu Glu Asp Ser Arg Gln Ile Leu Pro			
325	330	335	
Asp Arg Pro Glu Arg Phe Asp Ser Trp Pro Cys Val Leu Gly Arg Glu			
340	345	350	
Thr Phe Thr Ser Gly Arg His Tyr Trp Glu Val Glu Val Gly Asp Arg			
355	360	365	
Thr Asp Trp Ala Ile Gly Val Cys Arg Glu Asn Val Val Lys Lys Gly			
370	375	380	
Phe Asp Pro Met Thr Pro Asp Asn Gly Phe Trp Ala Val Glu Leu Tyr			
385	390	395	400
Gly Asn Gly Tyr Trp Ala Leu Thr Pro Leu Arg Thr Ser Leu Arg Leu			
405	410	415	
Ala Gly Pro Pro Arg Arg Val Gly Val Phe Leu Asp Tyr Asp Ala Gly			
420	425	430	
Asp Ile Ser Phe Tyr Asn Met Ser Asn Gly Ser Leu Ile Tyr Thr Phe			
435	440	445	
Pro Ser Ile Ser Phe Ser Gly Pro Leu Arg Pro Phe Phe Cys Leu Trp			
450	455	460	
Ser Cys Gly Lys Lys Pro Leu Thr Ile Cys Ser Thr Ala Asn Gly Pro			
465	470	475	480
Glu Lys Val Thr Val Ile Ala Asn Val Gln Asp Asp Ile Pro Leu Ser			

485	490	495
Pro Leu Gly Glu Gly Cys Thr Ser Gly Asp Lys Asp Thr Leu His Ser		
500	505	510
Lys Leu Ile Pro Phe Ser Pro Ser Gln Ala Ala Pro		
515	520	
<210> 196		
<211> 1575		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成多核苷酸		
<400> 196		
atggcagttc ccaccaactc ctgcctcctg gtctgtctgc tcaccctcac tgtcctacag 60		
ctgcccacgc tggattcggc agtcccttc gatgtgaccg cacctcagga gccagtgttg 120		
gccctagtgg gctcagatgc cgagctgacc tgtggctttt ccccaaacgc gagctcagaa 180		
tacatggagc tgctgtgggt tcgacagacg aggtcgaaag cgggtacttct ataccgggat 240		
ggccaggagc aggaggcca gcagatgacg gactaccgcg ggaggcgac gctggcgaca 300		
gccgggcttc tagacggccg cgctactctg ctgatccgag atgtcagggt ctcagaccag 360		
ggggagtacc ggtgcctttt caaagacaac gacgacttcg aggaggccgc cgtatacctc 420		
aaagtggctg ctgtgggttc agatcctcaa atcagtatga cggttcaaga gaatggagaa 480		
atggagctgg agtgcacctc ctctggatgg taccagagc ctcagggtgca gtggagaaca 540		
ggcaacagag agatgctacc atccacgtca gactccaaga agcataatga ggaaggcctg 600		
ttcactgtgg cagtttcaat gatgatcaga gacagctcca taaagaacat gtctgtctgc 660		
atccagaata tcctccttgg ccagggaag gaagtagaga tctccttacc agtcccttc 720		
gtgccaaagg tgactccctg gatagtagct gtggctatca tcttactggc cttagattt 780		
ctcaccattg ggtccatatt ttctacttgg aaactataca aggaaagatc cagtctgcgg 840		
aagaaggaat ttggctctaa agagagactt ctggaagaac tcagatgcaa aaagactgta 900		
ctgcatgaag ttgacgtgac tctggatcca gacacagccc accccacct cttcctgtat 960		
gaagattcaa agtcagttcg attggaagat tcacgtcaga tcctgcctga tagaccagag 1020		
agatttgact cctggccctg tgtgttgggc cgtgagacct ttacttcagg gagacattac 1080		
tgggaggtgg aggtgggaga tagaactgac tgggccattg gtgtgtgtag ggagaatgtg 1140		
gtgaagaaaag ggtttgacct catgactcct gataatgggt tctgggctgt ggagttgtat 1200		
ggaaatgggt actgggccct caccacactc aggacctctc tccgattagc agggccccct 1260		
cgcagagttg gggtttttct ggactatgac gcaggagaca ttctcttcta caacatgagt 1320		
aacggatctc ttatctatac ttccctagc atctctttct ctggccccct ccgtcccttc 1380		
ttttgtctgt ggtcctgtgg taaaaagccc ctgaccatct gttcaactgc caatgggcct 1440		
gagaaagtca cagtcatgac taatgtccag gacgacattc ccttgteccc gctgggggaa 1500		
ggctgtactt ctggagacaa agacactctc cattctaaac tgatcccgtt ctcacctagc 1560		
caagcggcac cataa 1575		

<210> 197

<211> 443

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 197

Ala	Pro	Phe	Asp	Val	Ile	Gly	Pro	Pro	Glu	Pro	Ile	Leu	Ala	Val	Val
1				5					10					15	
Gly	Glu	Asp	Ala	Glu	Leu	Pro	Cys	Arg	Leu	Ser	Pro	Asn	Ala	Ser	Ala
			20					25					30		
Glu	His	Leu	Glu	Leu	Arg	Trp	Phe	Arg	Lys	Lys	Val	Ser	Pro	Ala	Val
		35					40					45			
Leu	Val	His	Arg	Asp	Gly	Arg	Glu	Gln	Glu	Ala	Glu	Gln	Met	Pro	Glu
	50					55				60					
Tyr	Arg	Gly	Arg	Ala	Thr	Leu	Val	Gln	Asp	Gly	Ile	Ala	Lys	Gly	Arg
65				70					75					80	
Val	Ala	Leu	Arg	Ile	Arg	Gly	Val	Arg	Val	Ser	Asp	Asp	Gly	Glu	Tyr
			85					90					95		
Thr	Cys	Phe	Phe	Arg	Glu	Asp	Gly	Ser	Tyr	Glu	Glu	Ala	Leu	Val	His
		100					105					110			
Leu	Lys	Val	Ala	Ala	Leu	Gly	Ser	Asp	Pro	His	Ile	Ser	Met	Gln	Val
	115					120						125			
Gln	Glu	Asn	Gly	Glu	Ile	Cys	Leu	Glu	Cys	Thr	Ser	Val	Gly	Trp	Tyr
	130					135					140				
Pro	Glu	Pro	Gln	Val	Gln	Trp	Arg	Thr	Ser	Lys	Gly	Glu	Lys	Phe	Pro
145				150					155					160	
Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Arg	Asn	Pro	Asp	Glu	Glu	Gly	Leu	Phe	Thr	Val
			165					170					175		
Ala	Ala	Ser	Val	Ile	Ile	Arg	Asp	Thr	Ser	Ala	Lys	Asn	Val	Ser	Cys
		180				185						190			
Tyr	Ile	Gln	Asn	Leu	Leu	Leu	Gly	Gln	Glu	Lys	Lys	Val	Glu	Ile	Ser
	195					200						205			
Ile	Pro	Ala	Ser	Ser	Leu	Pro	Arg	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro
	210				215					220					
Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro
225				230					235					240	
Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr
			245					250					255		

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn		
260	265	270
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg		
275	280	285
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val		
290	295	300
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser		
305	310	315
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys		
325	330	335
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu		
340	345	350
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe		
355	360	365
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu		
370	375	380
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe		
385	390	395
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly		
405	410	415
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr		
420	425	430
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
435	440	

<210> 198

<211> 222

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 198

Ala Pro Phe Asp Val Ile Gly Pro Pro Glu Pro Ile Leu Ala Val Val		
1	5	10
Gly Glu Asp Ala Glu Leu Pro Cys Arg Leu Ser Pro Asn Ala Ser Ala		
20	25	30
Glu His Leu Glu Leu Arg Trp Phe Arg Lys Lys Val Ser Pro Ala Val		
35	40	45
Leu Val His Arg Asp Gly Arg Glu Gln Glu Ala Glu Gln Met Pro Glu		
50	55	60

Tyr	Arg	Gly	Arg	Ala	Thr	Leu	Val	Gln	Asp	Gly	Ile	Ala	Lys	Gly	Arg
65					70					75					80
Val	Ala	Leu	Arg	Ile	Arg	Gly	Val	Arg	Val	Ser	Asp	Asp	Gly	Glu	Tyr
			85						90					95	
Thr	Cys	Phe	Phe	Arg	Glu	Asp	Gly	Ser	Tyr	Glu	Glu	Ala	Leu	Val	His
			100					105					110		
Leu	Lys	Val	Ala	Ala	Leu	Gly	Ser	Asp	Pro	His	Ile	Ser	Met	Gln	Val
		115						120					125		
Gln	Glu	Asn	Gly	Glu	Ile	Cys	Leu	Glu	Cys	Thr	Ser	Val	Gly	Trp	Tyr
		130					135					140			
Pro	Glu	Pro	Gln	Val	Gln	Trp	Arg	Thr	Ser	Lys	Gly	Glu	Lys	Phe	Pro
145					150					155					160
Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Arg	Asn	Pro	Asp	Glu	Glu	Gly	Leu	Phe	Thr	Val
					165					170				175	
Ala	Ala	Ser	Val	Ile	Ile	Arg	Asp	Thr	Ser	Ala	Lys	Asn	Val	Ser	Cys
			180					185					190		
Tyr	Ile	Gln	Asn	Leu	Leu	Leu	Gly	Gln	Glu	Lys	Lys	Val	Glu	Ile	Ser
		195						200					205		
Ile	Pro	Ala	Ser	Ser	Leu	Pro	Arg	His	His	His	His	His	His	His	
		210					215						220		

<210> 199

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 199

Glu	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Pro	Glu	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Phe	Ser	Phe	Ile	Gly	Tyr
			20					25					30		
Tyr	Ile	Asp	Trp	Val	Lys	Gln	Ser	Pro	Gly	Lys	Ser	Leu	Glu	Trp	Ile
		35					40					45			
Gly	Tyr	Ile	Tyr	Pro	Ser	Asn	Gly	Glu	Thr	Ser	Tyr	His	Gln	Lys	Cys
		50					55				60				
Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Ser	Ser	Thr	Val	Asn
65					70					75					80
Met	Gln	Leu	Asn	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
					85					90				95	

Ala Arg Tyr Gly Asn Tyr Asp Trp Phe Phe Asp Val Trp Gly Ala Gly
 100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 200

<211> 357

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 200

gaagtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata 60
 tcctgcaagg cttctggttt ttctttcatt ggctactaca tagactgggt gaagcagagt 120
 cctggaaaga gccttgagtg gattggatat atttatectt ccaatgggtga aaccagctac 180
 caccagaagt gcaagggcaa ggccacattg actgtagaca aatcctccag cacagtcaac 240
 atgcagctca acagtctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatatggt 300
 aactacgact ggttcttcga tgtctggggc gcagggacca cggtcaccgt ttcctca 357

<210> 201

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 201

Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
 20 25 30

His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Phe Trp Ile Tyr
 35 40 45

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ile Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Met Glu Ala Glu
 65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Tyr Thr
 85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 202

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 202

caaattgttc tcacccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc 60
ataacctgca gtgccagttc aagtgttaagt tacatgcact ggttccagca gaagccaggc 120
acttctccca aattttggat ttatagcaca tccaacctgg cttctggagt ccctattcgc 180
ttcagtggca gtggatctgg gacctettac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa 240
gatgctgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgtacacgtt cggagggggg 300
accaagctgg aaataaaaacg g 321

<210> 203

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 203

Gly Phe Ser Ile Gly Tyr

1 5

<210> 204

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 204

Tyr Pro Ser Asn Gly Glu

1 5

<210> 205

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 205

Tyr Gly Asn Tyr Asp Trp Phe Phe Asp Val

1 5 10

<210> 206

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 206

Gly Phe Ser Ile Gly Tyr Tyr Ile Asp

1 5

<210> 207

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 207

Tyr Ile Tyr Pro Ser Asn Gly Glu Thr Ser

1 5 10

<210> 208

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 208

Tyr Gly Asn Tyr Asp Trp Phe Phe Asp Val

1 5 10

<210> 209

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 209

Gly Tyr Tyr Ile Asp

1 5

<210> 210

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 210

Tyr Ile Tyr Pro Ser Asn Gly Glu Thr Ser Tyr His Gln Lys Cys Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 211

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 211

Tyr Gly Asn Tyr Asp Trp Phe Phe Asp Val

1 5 10

<210> 212

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 212

Ile Gly Tyr Tyr Ile Asp

1 5

<210> 213

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 213

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Ser Asn Gly Glu Thr Ser

1 5 10

<210> 214

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 214

Ala Arg Tyr Gly Asn Tyr Asp Trp Phe Phe Asp

1 5 10

<210> 215

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 215

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His

1 5 10

<210> 216

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 216

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser

1 5

<210> 217

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 217

Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 218

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 218

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His

1	5	10
---	---	----

<210> 219
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<400> 219
Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5
<210> 220
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<400> 220
Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5
<210> 221
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<400> 221
Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His
1 5 10
<210> 222
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<400> 222
Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5
<210> 223
<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 223

Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 224

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 224

Ser Tyr Met His Trp Phe

1 5

<210> 225

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 225

Phe Trp Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 226

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 226

Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Tyr

1 5

<210> 227

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 227

Gln	Ile	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Pro	Glu	Leu	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
1				5				10					15		
Thr	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ile	Phe
		20					25					30			
Gly	Met	Asn	Trp	Val	Lys	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
	35					40					45				
Gly	Trp	Ile	Asn	Thr	Asn	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Glu	Glu	Phe
	50				55					60					
Lys	Gly	Arg	Phe	Ala	Phe	Ser	Leu	Glu	Thr	Ser	Ala	Ser	Thr	Ala	Phe
65				70					75					80	
Leu	Gln	Ile	Asn	Asn	Leu	Lys	Asn	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Phe	Cys
			85					90					95		
Ala	Arg	Val	Gly	Tyr	Tyr	Asp	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr
		100						105					110		
Leu	Thr	Val	Ser	Ser											
			115												

<210> 228

<211> 351

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 228

```

cagatccagt tgggtgcagtc tggacctgag ctgaagaagc ctggagcgac agtcaagatc 60
tcctgcaagg cttctggata taccttcaca atctttggaa tgaactgggt gaagcaggct 120
ccaggaaagg gtttagagtg gatgggctgg ataaacacca aactggaga gccaacatat 180
gctgaagagt tcaaggacg gtttgccttc tctttggaaa cctctgccag cactgccttt 240
ttgcagatca acaacctcaa aaatgaggac acggtacat atttctgtgc aagagtgggg 300
tactacgact ttgactactg gggccaaggc accactetca cagtctctc a 351

```

<210> 229

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 229

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Val Gly

1	5	10	15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser			
20	25	30	
Asp Gly Lys Thr Phe Leu Asn Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser			
35	40	45	
Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Lys Asp Ser Gly Val Pro			
50	55	60	
Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile			
65	70	75	80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Arg Gln Gly			
85	90	95	
Thr His Phe Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys			
100	105	110	

<210> 230

<211> 336

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 230

```

gatgttgtga tgaccagac tccactcact ttgtcggta ccgttgaca accagcctcc 60
atctcttgca agtcaagtca gaggctctta gatagtgatg gaaagacatt tttgaattgg 120
ttcttacaga ggccaggcca gtctccaaag cgcctaactc atctggtgtc taaaaaggac 180
tctggagtcc ctgacagggt cactggcagt ggagcaggga cagatttcac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga tttgggagtt tattattgcc ggcaaggtac acattttccg 300
tggaacgttcg gtggaggcac caggctggaa atcaaa 336

```

<210> 231

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 231

Gly Tyr Thr Phe Phe Ile Phe

1 5

<210> 232

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 232

Asn Thr Asn Thr Gly Glu

1 5

<210> 233

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 233

Val Gly Tyr Tyr Asp Phe Asp Tyr

1 5

<210> 234

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 234

Gly Tyr Thr Phe Phe Ile Phe Gly Met Asn

1 5 10

<210> 235

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 235

Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Glu Pro Thr

1 5 10

<210> 236

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 236

Val Gly Tyr Tyr Asp Phe Asp Tyr

1 5

<210> 237

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 237

Ile Phe Gly Met Asn

1 5

<210> 238

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 238

Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Glu Glu Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 239

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 239

Val Gly Tyr Tyr Asp Phe Asp Tyr

1 5

<210> 240

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 240

Thr Ile Phe Gly Met Asn

1 5

<210> 241

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 241

Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Glu Pro Thr

1 5 10

<210> 242

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 242

Ala Arg Val Gly Tyr Tyr Asp Phe Asp

1 5

<210> 243

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 243

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Phe Leu Asn

1 5 10 15

<210> 244

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 244

Leu Val Ser Lys Lys Asp Ser

1 5

<210> 245

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 245

Arg Gln Gly Thr His Phe Pro Trp Thr

1 5

<210> 246

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 246

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Phe Leu Asn

1 5 10 15

<210> 247

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 247

Leu Val Ser Lys Lys Asp Ser

1 5

<210> 248

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 248

Arg Gln Gly Thr His Phe Pro Trp Thr

1 5

<210> 249

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 249

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Phe Leu Asn

1 5 10 15

<210> 250

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 250

Leu Val Ser Lys Lys Asp Ser

1 5

<210> 251

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 251

Arg Gln Gly Thr His Phe Pro Trp Thr

1 5

<210> 252

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 252

Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Phe Leu Asn Trp Phe Leu

1 5 10

<210> 253

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 253

Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Lys Asp

1 5 10

<210> 254

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 254

Arg Gln Gly Thr His Phe Pro Trp

1 5

<210> 255

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 255

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln

1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Thr His

20 25 30

Gly Val Asn Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

35 40 45

Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Ile

50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Phe

65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Leu Gln Ala Asn Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Pro Tyr Tyr Tyr Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 256

<211> 351

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 256

caggtacaac tgaagcagtc aggacctggc ctagtgcagc cctcacagag cctgtccatc 60
 acctgcacag tctctggttt ctcattaact acctatggtg taaactgggt tcgccagtct 120
 ccaggaaagg gtctggagtg gctgggagtg atatggagtg gtggaagcac agactataat 180
 gcagctttca tatccagact gagcatcagc aaggacaatt ccaagagcca agttttcttt 240
 aaaatgaaca gtctgcaagc taatgacaca gccatatatt actgtgccag accctactac 300
 tatggagcta tggactactg gggtaagga acctcagtca ccgtctcctc a 351

<210> 257

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 257

Gln	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ile	Met	Ser	Ala	Ser	Pro	Gly
1				5					10					15	
Glu	Lys	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Ser	Ala	Ser	Ser	Ser	Val	Ser	Tyr	Ile
			20					25					30		
His	Trp	Phe	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Thr	Ser	Pro	Lys	Leu	Trp	Ile	Tyr
		35				40						45			
Ser	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	Met	Glu	Ala	Glu
65				70					75				80		
Asp	Ala	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Arg	Ser	Ile	Tyr	Pro	Leu	Thr
			85						90				95		
Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys						
			100						105						

<210> 258

<211> 318

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 258

caaattgttc tcacccagtc tccatcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc 60
 ataacctgca gtgccagctc aagtgtagt tacatacact ggttcagca gaagccaggc 120
 acttctccca aactctggat ctatagcaca tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc 180
 tttagtgcca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa 240
 gatgctgcca cttattactg ccagcaaagg agtatttacc cgctcacgtt cggtgctggg 300

accaagctgg agctgaaa 318

<210> 259

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 259

Gly Phe Ser Leu Thr Thr His

1 5

<210> 260

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 260

Trp Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 261

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 261

Pro Tyr Tyr Tyr Gly Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 262

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 262

Gly Phe Ser Leu Thr Thr His Gly Val Asn

1 5 10

<210> 263

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 263

Val Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asp

1 5

<210> 264

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 264

Pro Tyr Tyr Tyr Gly Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 265

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 265

Thr His Gly Val Asn

1 5

<210> 266

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 266

Val Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Ile Ser

1 5 10 15

<210> 267

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 267

Pro Tyr Tyr Tyr Gly Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 268

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 268

Thr Thr His Gly Val Asn

1 5

<210> 269

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 269

Val Trp Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asp

1 5 10

<210> 270

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 270

Ala Arg Pro Tyr Tyr Tyr Gly Ala Met Asp

1 5 10

<210> 271

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 271

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Ile His

1	5	10
---	---	----

<210> 272
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<400> 272
Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5
<210> 273
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<400> 273
Gln Gln Arg Ser Ile Tyr Pro Leu Thr
1 5
<210> 274
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<400> 274
Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Ile His
1 5 10
<210> 275
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<400> 275
Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5
<210> 276
<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 276

Gln Gln Arg Ser Ile Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 277

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 277

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Ile His

1 5 10

<210> 278

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 278

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser

1 5

<210> 279

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 279

Gln Gln Arg Ser Ile Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 280

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 280

Ser Tyr Ile His Trp Phe

1 5

<210> 281

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 281

Leu Trp Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 282

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 282

Gln Gln Arg Ser Ile Tyr Pro Leu

1 5

<210> 283

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 283

Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu

1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr

20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Ile Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr Gly Asp Asp Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Val Arg Gly Gly Thr Met Ile Met Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

<210> 284

<211> 348

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 284

cagatccagt tgggtgcagtc tggacctgag ctgaagaagc ctggagagac agtcaagatc 60
 tcctgcaagg cttctgggta tagcttcaca aactatggaa tgaactgggt gaagcaggct 120
 ccaggaaagg gtttaaagtg gatgggctgg ataaatatct aacttgaga gacaacatat 180
 ggtgatgatt tcaagggacg gtttgccttc tctttggaaa cctctgccag cactgcctat 240
 ttgcagatca acaacctcag aagtgaggac acggctacat atttctgtgt aagagggggg 300
 actatgatta tgtactgggg ccaaggcacc actctcacag tctcctca 348

<210> 285

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 285

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Asp Ser Val Ser Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Asn
 20 25 30
 Leu His Trp His Gln Gln Lys Ser His Glu Ser Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Met Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Thr
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Gly Met Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Asp Ser Trp Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

100	105
<210> 286	
<211> 321	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成多核苷酸	
<400> 286	
gatattgtgc taactcagtc tccagccacc ctgtctgtga ctccaggaga tagcgtcagt 60	
ctttcctgca gggccagcca aagtatttagc aacaacctac actggcatca acaaaaatca 120	
catgagtctc caaggettct catcaagtat gcttcccagt ccatgtcttg gatccctcc 180	
aggttcagtg gcagtggatc agggacagat ttcactctca gtatcaacag tgtggagact 240	
gaagattttg gaatgtattt ctgtcaacag agtgacagct ggccgctcac gttegggtgct 300	
gggaccaagc tggagctgaa a 321	
<210> 287	
<211> 7	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成多肽	
<400> 287	
Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr	
1 5	
<210> 288	
<211> 6	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成多肽	
<400> 288	
Asn Ile Tyr Thr Gly Glu	
1 5	
<210> 289	
<211> 7	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成多肽	
<400> 289	

Gly Gly Thr Met Ile Met Tyr

1 5

<210> 290

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 290

Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn

1 5 10

<210> 291

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 291

Trp Ile Asn Ile Tyr Thr Gly Glu Thr Thr

1 5 10

<210> 292

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 292

Gly Gly Thr Met Ile Met Tyr

1 5

<210> 293

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 293

Asn Tyr Gly Met Asn

1 5

<210> 294

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 294

Trp Ile Asn Ile Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr Gly Asp Asp Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 295

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 295

Gly Gly Thr Met Ile Met Tyr

1 5

<210> 296

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 296

Thr Asn Tyr Gly Met Asn

1 5

<210> 297

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 297

Trp Met Gly Trp Ile Asn Ile Tyr Thr Gly Glu Thr Thr

1 5 10

<210> 298

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 298

Val Arg Gly Gly Thr Met Ile Met

1

5

<210> 299

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 299

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Asn Leu His

1

5

10

<210> 300

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 300

Tyr Ala Ser Gln Ser Met Ser

1

5

<210> 301

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 301

Gln Gln Ser Asp Ser Trp Pro Leu Thr

1

5

<210> 302

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 302

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Asn Leu His

1 5 10

<210> 303

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 303

Tyr Ala Ser Gln Ser Met Ser

1 5

<210> 304

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 304

Gln Gln Ser Asp Ser Trp Pro Leu Thr

1 5

<210> 305

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 305

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Asn Leu His

1 5 10

<210> 306

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 306

Tyr Ala Ser Gln Ser Met Ser

1 5

<210> 307

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 307

Gln Gln Ser Asp Ser Trp Pro Leu Thr

1 5

<210> 308

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 308

Ser Asn Asn Leu His Trp His

1 5

<210> 309

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 309

Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Met

1 5 10

<210> 310

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 310

Gln Gln Ser Asp Ser Trp Pro Leu

1 5

<210> 311

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 311

Gln	Ile	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Pro	Glu	Leu	Lys	Lys	Pro	Gly	Glu
1				5				10					15		
Thr	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ser	Phe	Thr	Asn	Tyr
			20					25					30		
Gly	Met	Asn	Trp	Val	Lys	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Lys	Trp	Met
		35					40					45			
Gly	Trp	Ile	Asn	Ile	Tyr	Thr	Gly	Glu	Thr	Thr	Tyr	Gly	Asp	Asp	Phe
	50					55					60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Ala	Phe	Ser	Leu	Glu	Thr	Ser	Ala	Ser	Thr	Ala	Tyr
65				70						75				80	
Leu	Gln	Ile	Asn	Asn	Leu	Lys	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Phe	Cys
			85						90					95	
Val	Arg	Gly	Gly	Thr	Met	Ile	Met	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Leu
			100					105					110		
Thr	Val	Ser	Ser												
			115												

<210> 312

<211> 348

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 312

```

cagatccagt tggatgcagtc tggacctgag ctgaagaagc ctggagagac agtcaagatc 60
tcctgcaagg cttctgggta tagcttcaca aactatggaa tgaactgggt gaagcaggct 120
ccaggaaagg gtttaaagtg gatgggctgg ataaatatct aactggaga gacaacatat 180
ggatgatgatt tcaagggacg gtttgcttc tctttggaaa cctctgccag cactgcctat 240
ttgcagatca acaacctcaa aagtgaggac acggctacat atttctgtgt aagagggggg 300
actatgatta tgtactgggg ccaaggcacc actctcacag tctctca 348

```

<210> 313

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 313

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Arg Ala Thr Ile Ser Tyr Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
 20 25 30
 Gly Tyr Ser Tyr Met His Trp Asn Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45
 Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
 65 70 75 80
 Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ile Arg
 85 90 95
 Glu Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 314

<211> 330

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 314

gacattgtgc tgacacagtc tcctgcttcc ttagctgtat ctctggggca gagggccacc 60
 atctcataca gggccagcaa aagtgtcagt acatctggct atagttatat gcactggaac 120
 caacagaaac caggacagcc acccagactc ctcatctatc ttgtatccaa cctagaatct 180
 ggggtccctg ccagggttcag tggcagtgagg tctgggacag acttcaccct caacatccat 240
 cctgtggagg aggaggatgc tgcaacctat tactgtcagc acattaggga gctttacacg 300
 ttcggagggg ggaccaagct ggaaataaaa 330

<210> 315

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 315

Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr
 1 5

<210> 316

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 316

Asn Ile Tyr Thr Gly Glu

1 5

<210> 317

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 317

Gly Gly Thr Met Ile Met Tyr

1 5

<210> 318

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 318

Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn

1 5 10

<210> 319

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 319

Trp Ile Asn Ile Tyr Thr Gly Glu Thr Thr

1 5 10

<210> 320

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 320

Gly Gly Thr Met Ile Met Tyr

1 5

<210> 321

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 321

Asn Tyr Gly Met Asn

1 5

<210> 322

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 322

Trp Ile Asn Ile Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr Gly Asp Asp Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 323

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 323

Gly Gly Thr Met Ile Met Tyr

1 5

<210> 324

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 324

Thr Asn Tyr Gly Met Asn

1 5

<210> 325

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 325

Trp Met Gly Trp Ile Asn Ile Tyr Thr Gly Glu Thr Thr

1 5 10

<210> 326

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 326

Val Arg Gly Gly Thr Met Ile Met

1 5

<210> 327

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 327

Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Met His

1 5 10 15

<210> 328

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 328

Leu Val Ser Asn Leu Glu Ser

1 5

<210> 329

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 329

Gln His Ile Arg Glu Leu Tyr Thr

1 5

<210> 330

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 330

Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Met His

1 5 10 15

<210> 331

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 331

Leu Val Ser Asn Leu Glu Ser

1 5

<210> 332

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 332

Gln His Ile Arg Glu Leu Tyr Thr

1 5

<210> 333

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 333

Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Met His

1 5 10 15

<210> 334

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 334

Leu Val Ser Asn Leu Glu Ser

1 5

<210> 335

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 335

Gln His Ile Arg Glu Leu Tyr Thr

1 5

<210> 336

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 336

Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Met His Trp Asn

1 5 10

<210> 337

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 337

Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Asn Leu Glu

1 5 10

<210> 338

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 338

Gln His Ile Arg Glu Leu Tyr

1 5

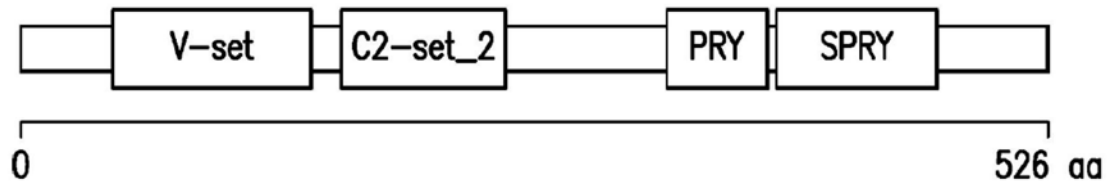


图1

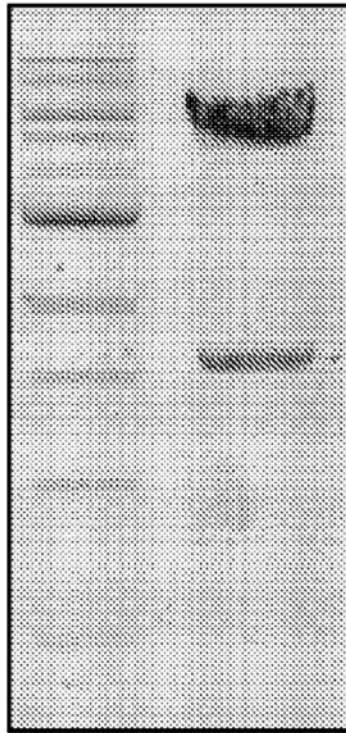


图2

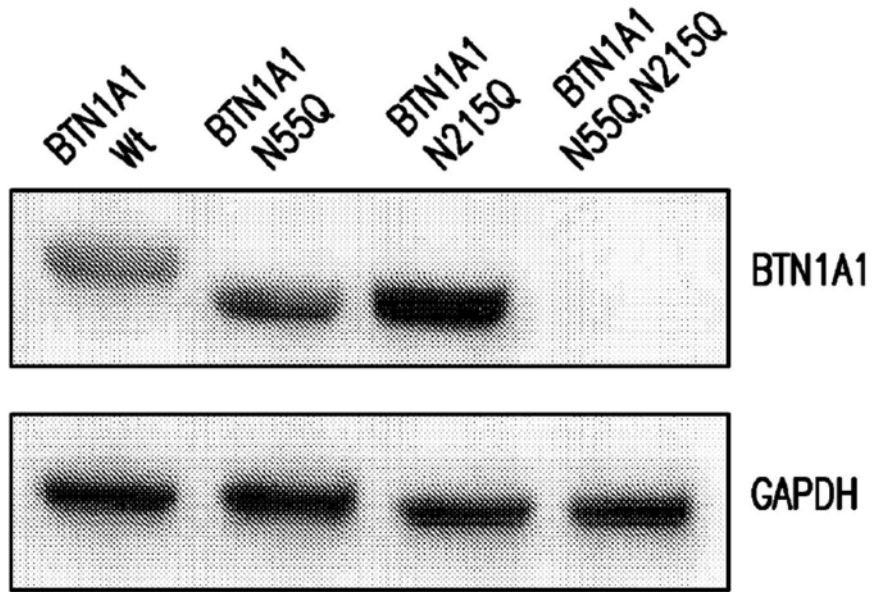


图3

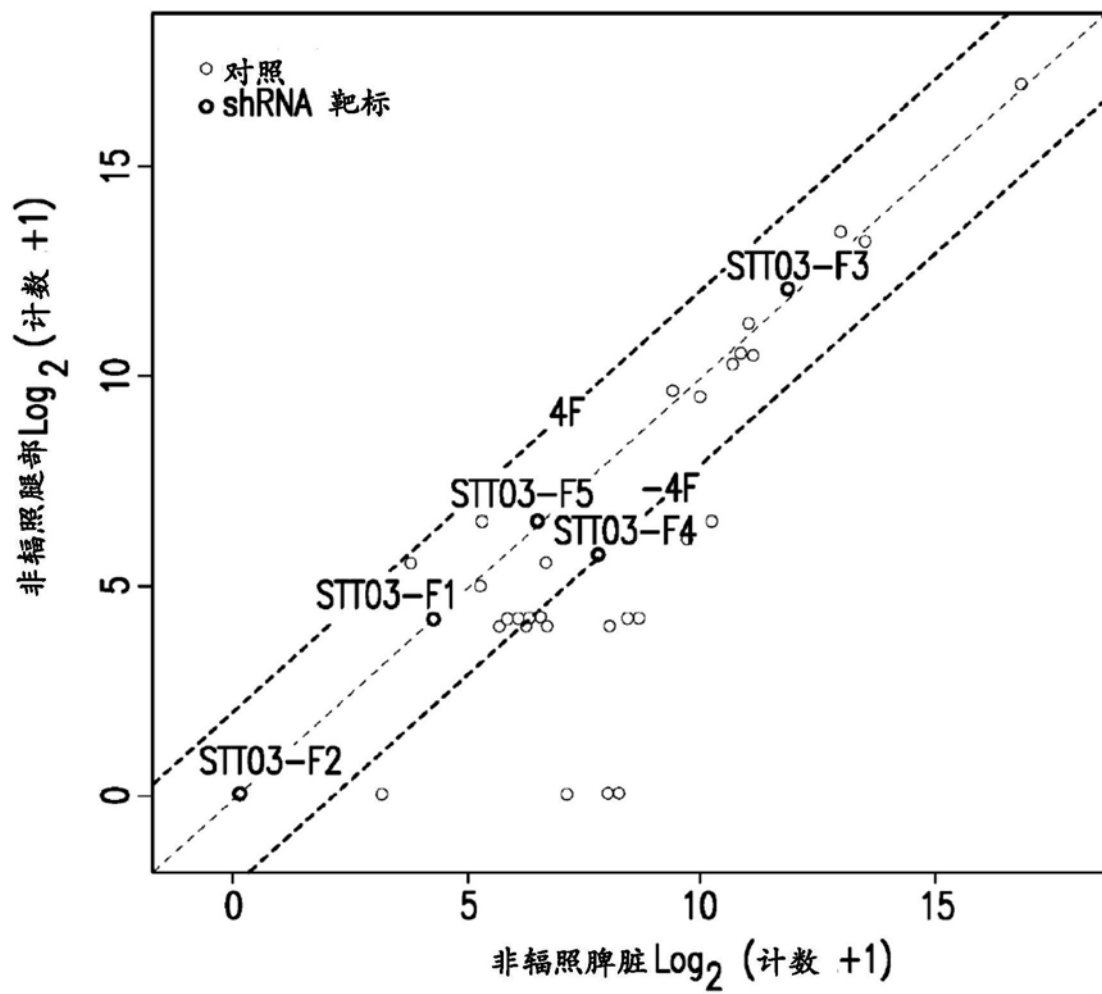


图4A

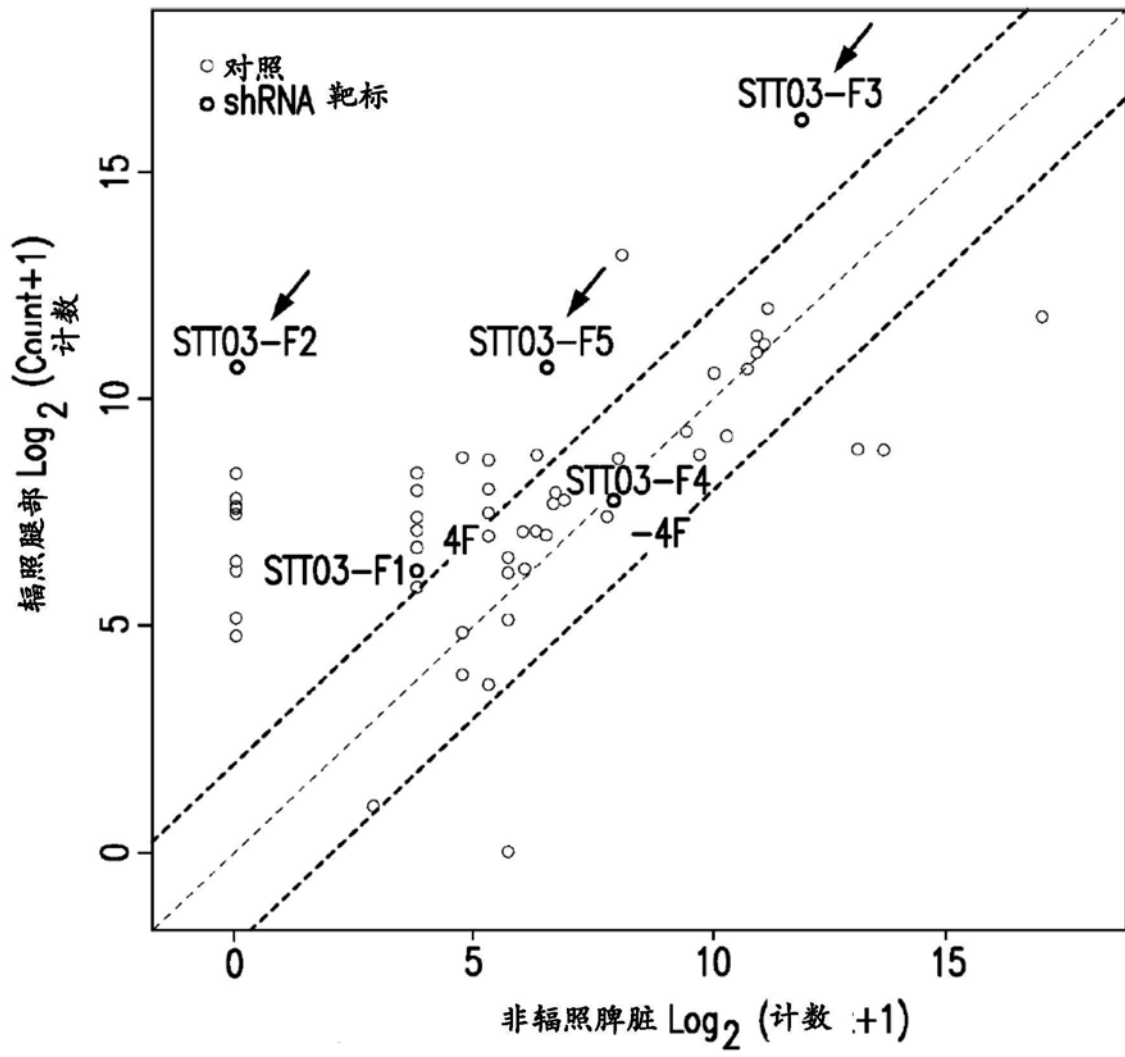


图4B

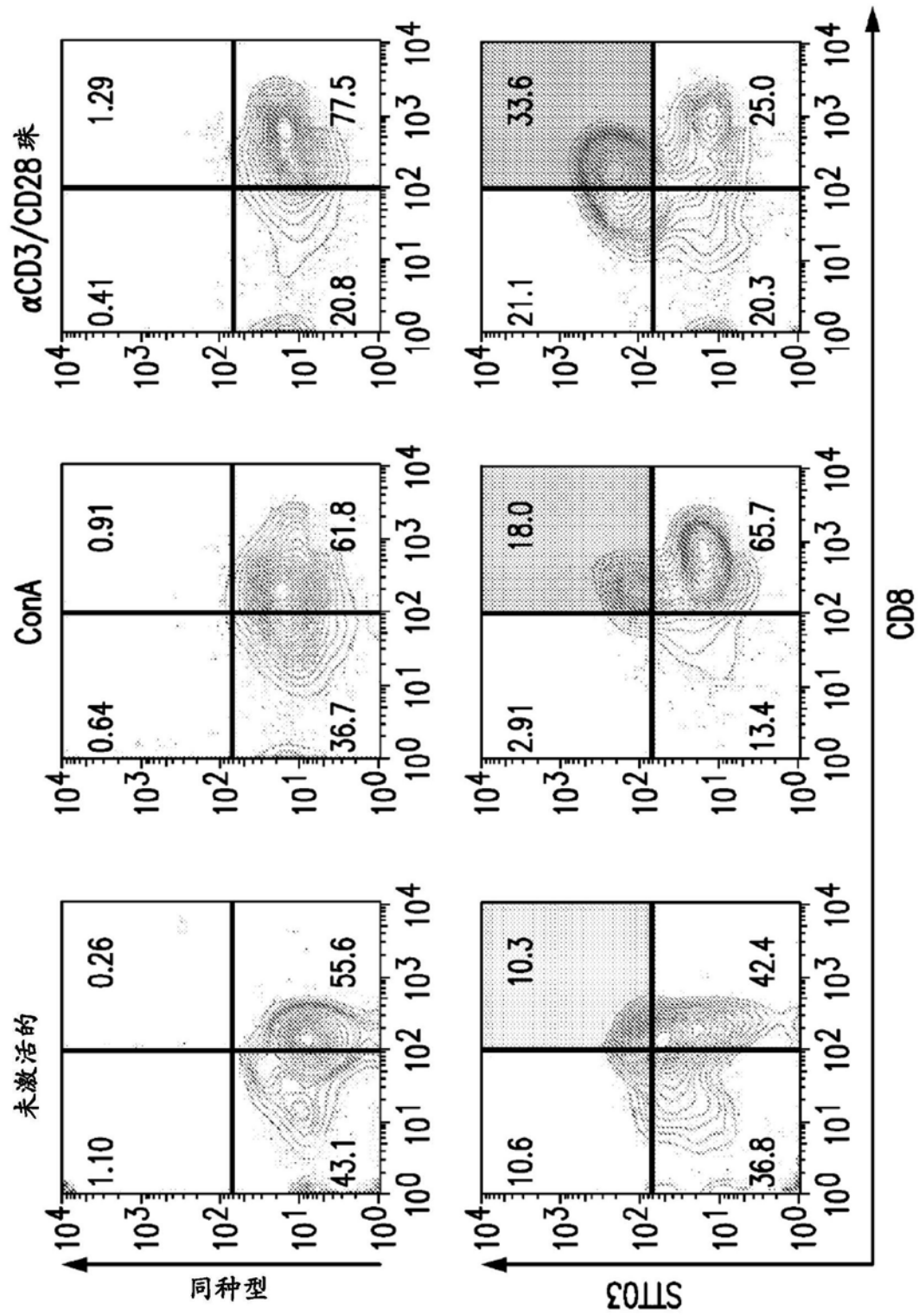


图5

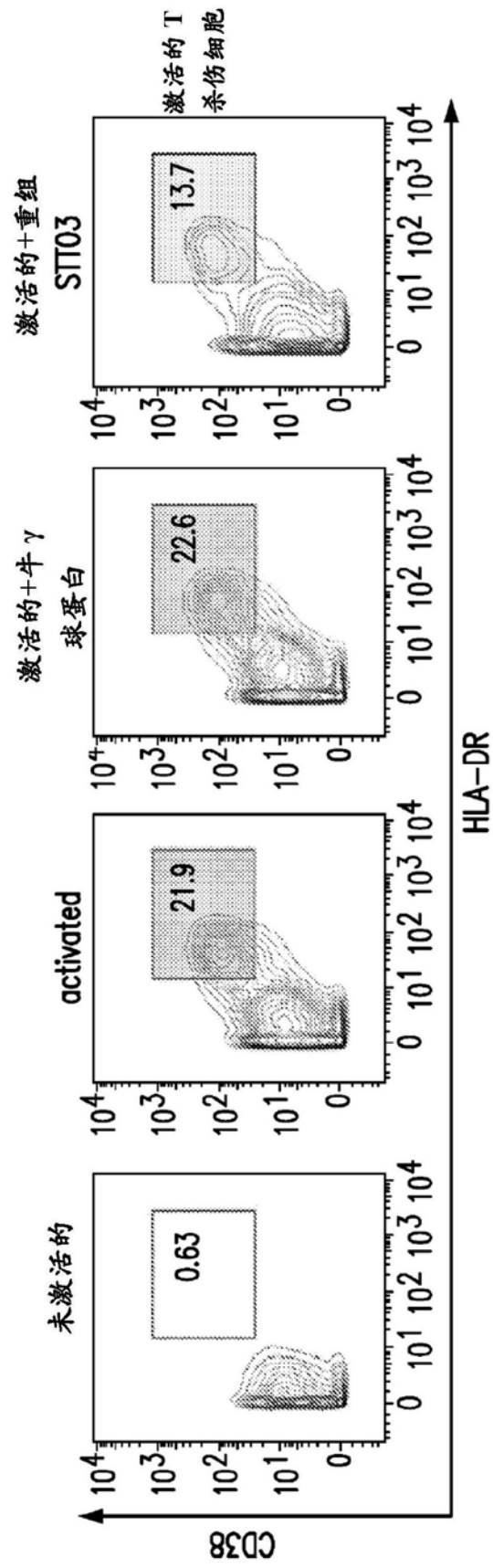


图6A

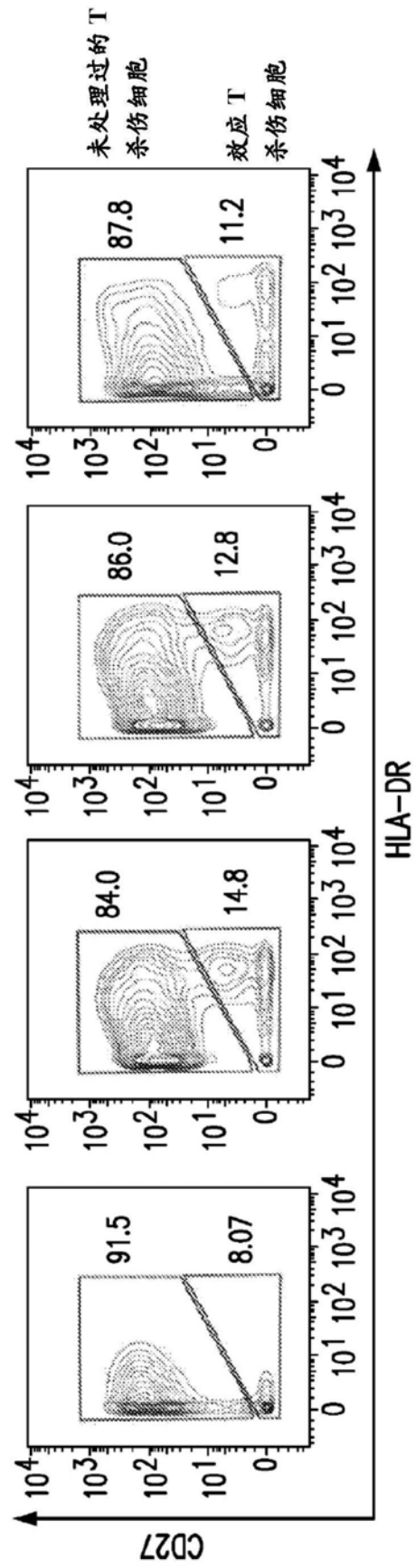


图6B

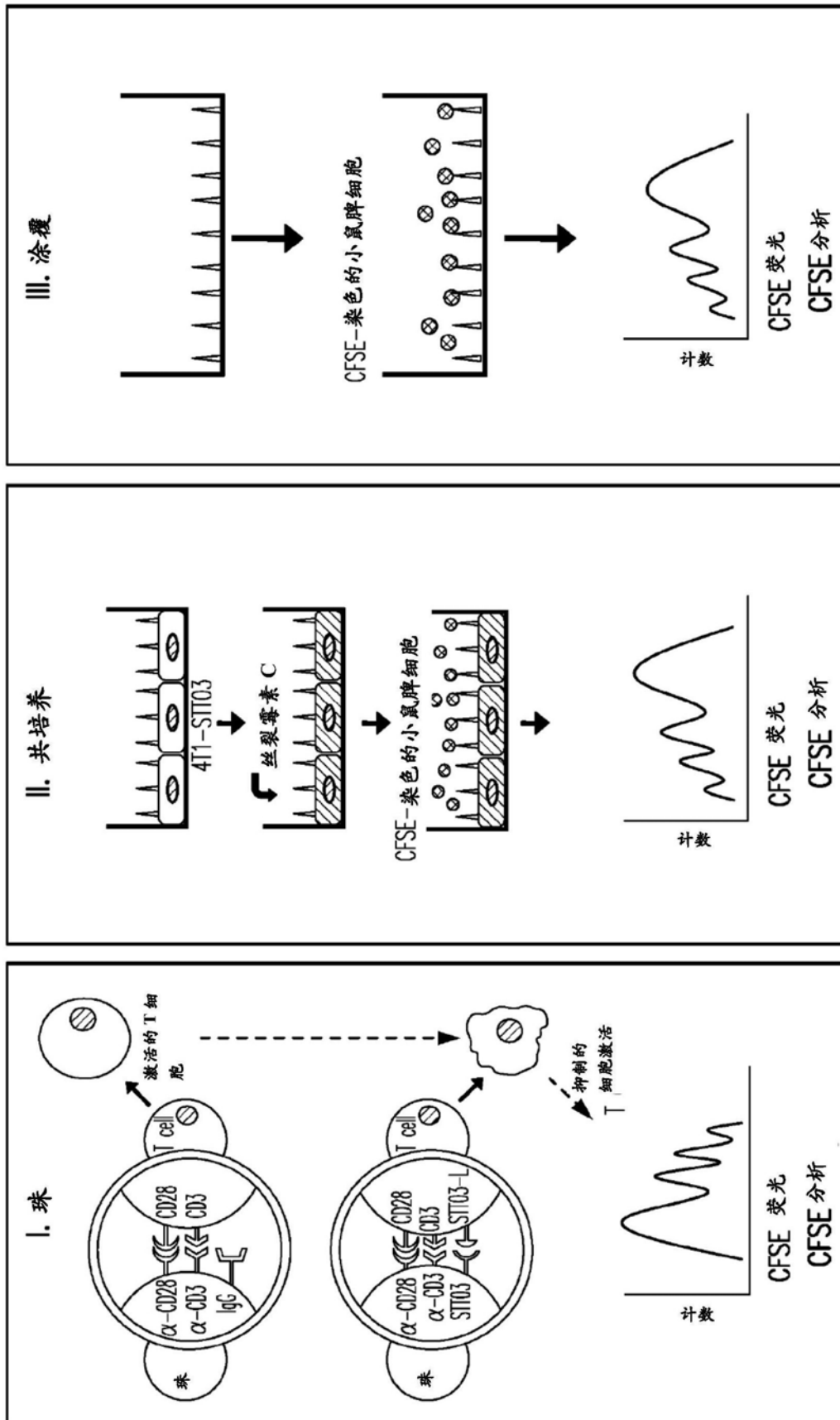


图7

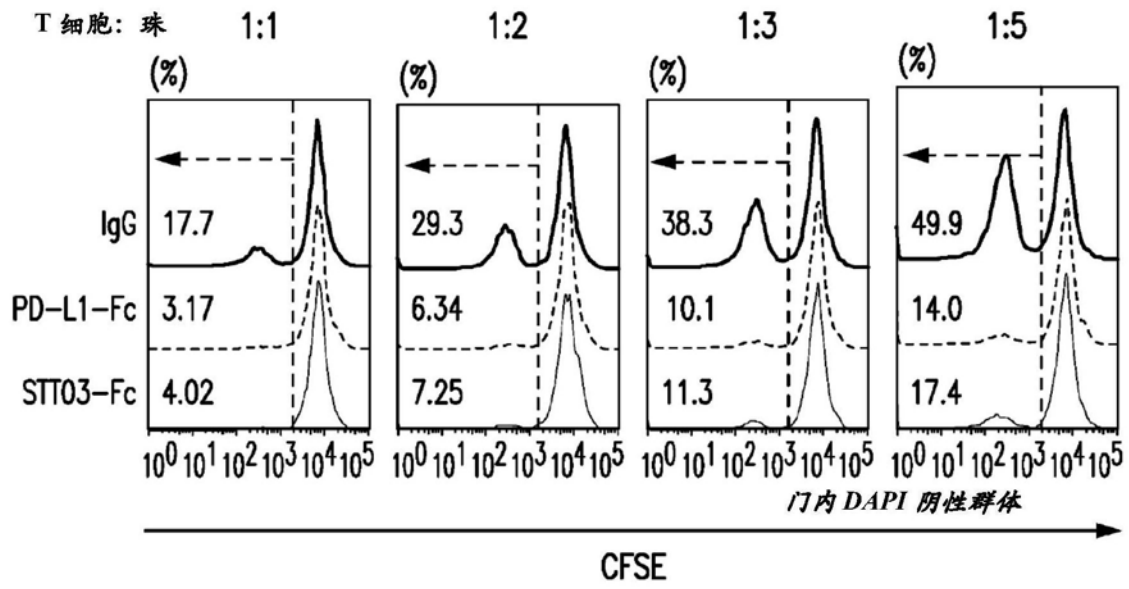


图8A

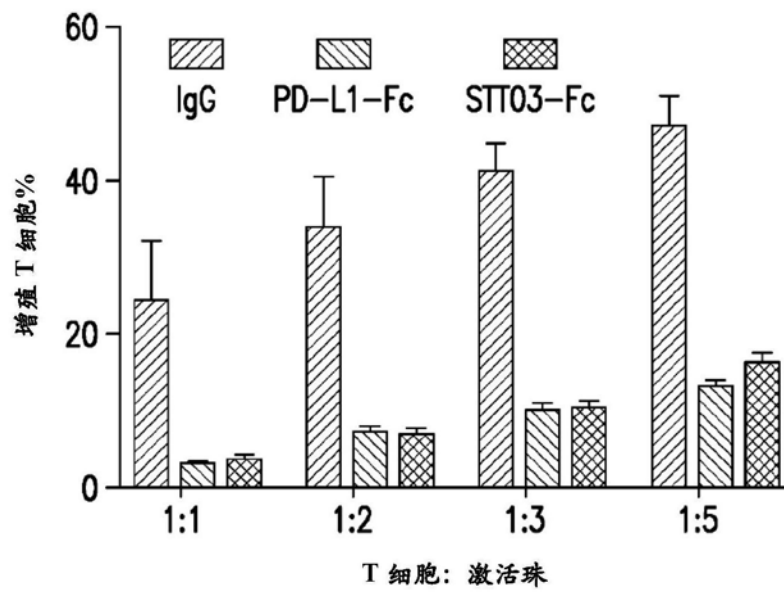


图8B

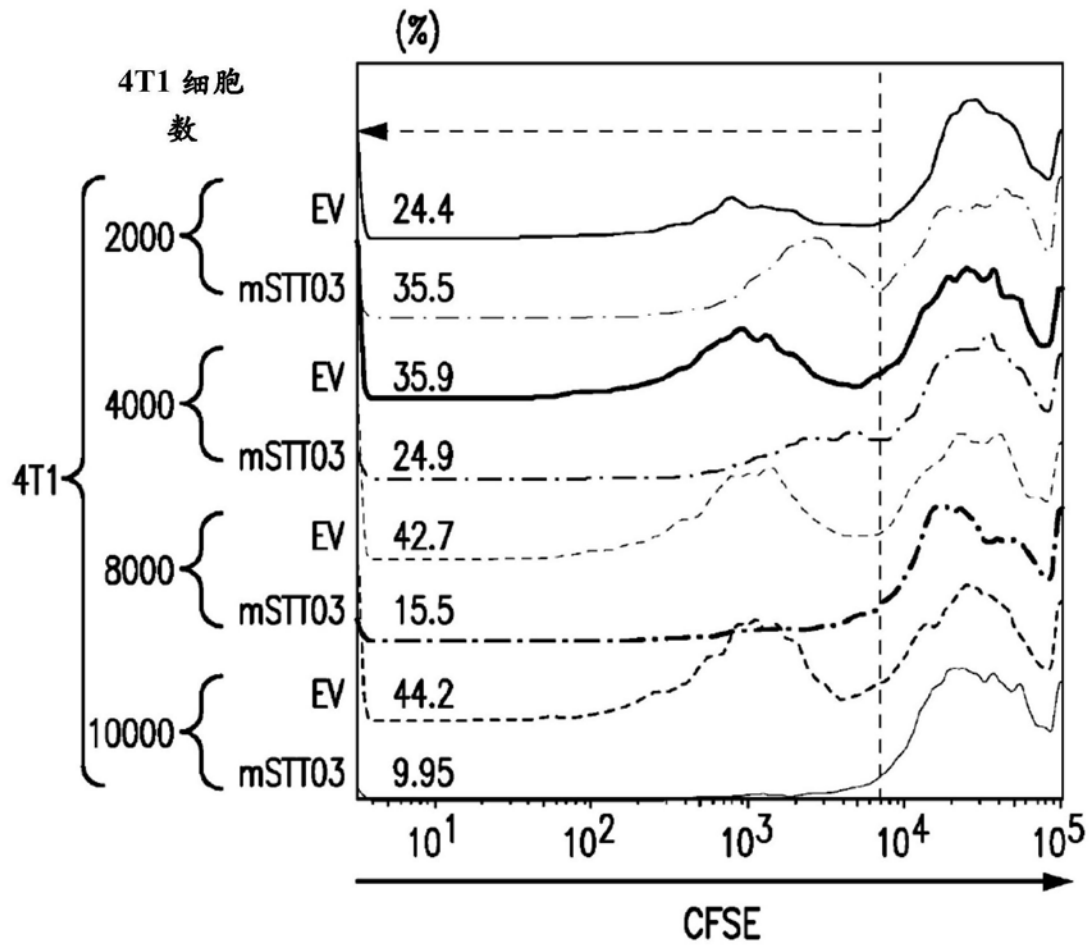


图9A

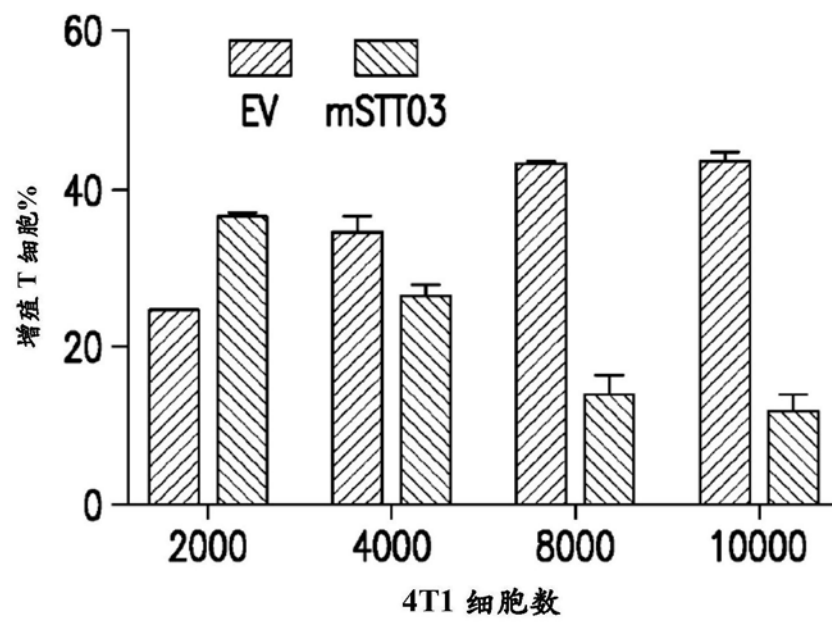


图9B

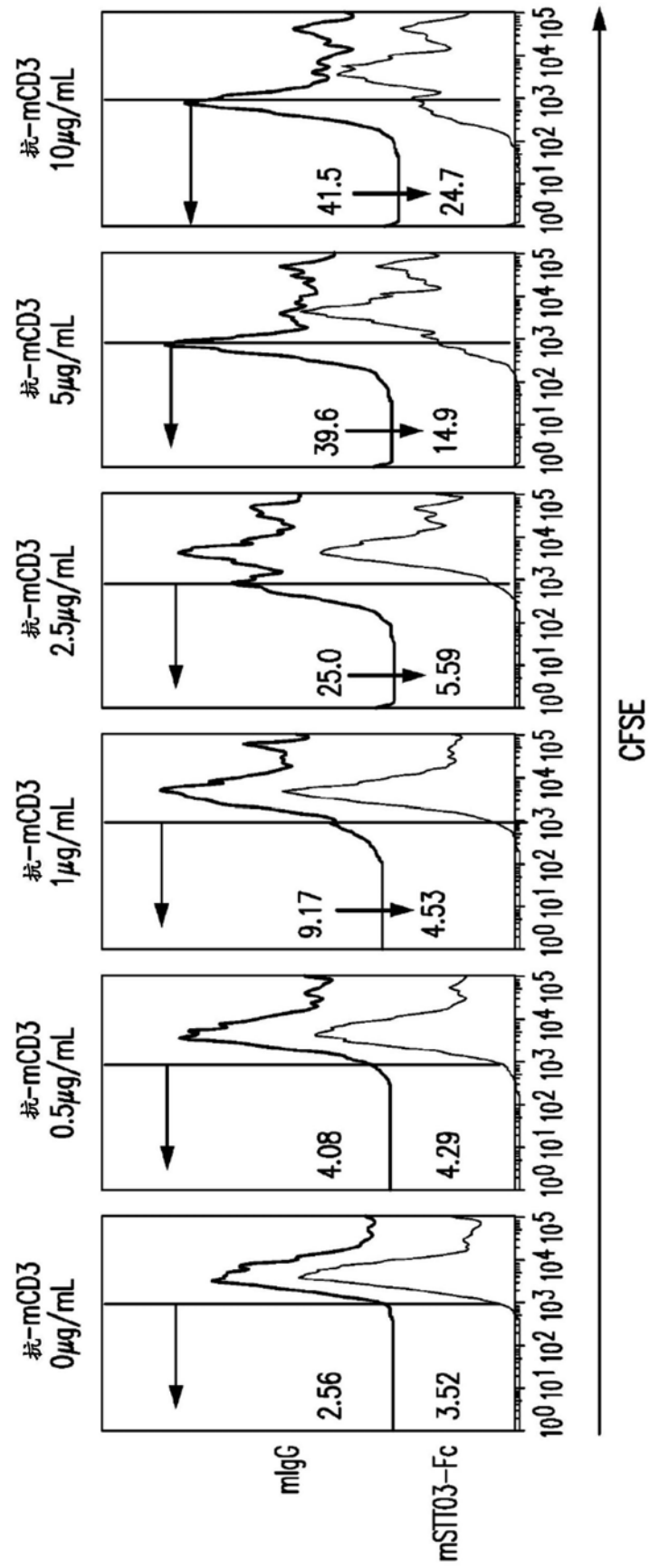


图10

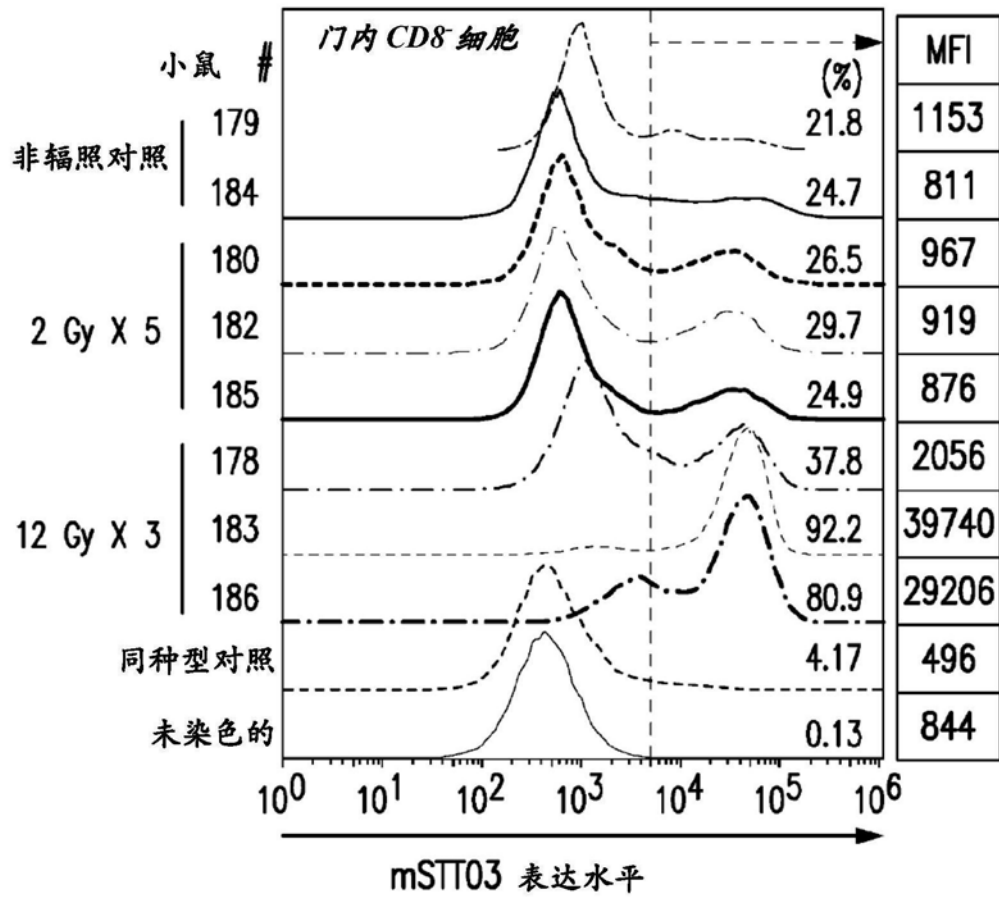


图11

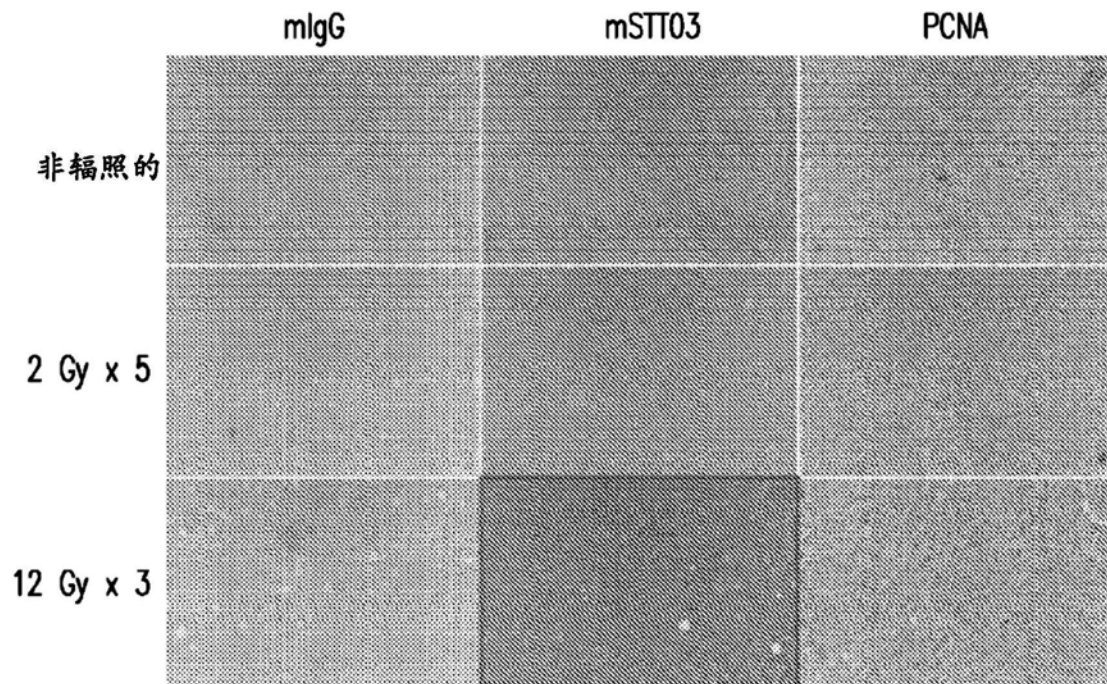


图12

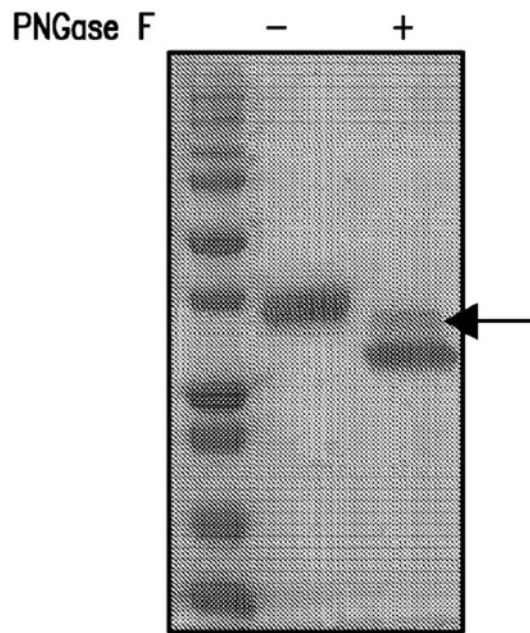


图13

MAVFPSSGLPRCLLTLILLQLPKLDSAPFDVIGPPEPILAVVGE
 DAELPCRLSPNASAEHLELRWFRKKVSPAVLVHRDGREQAEQMPEYRGRATLVQDGI
 AKGRVALRIRGVRVSDDGEYTCFFREDGSYEEALVHLKVAALGSDPHISMQVQENGEI
 CLECTSVGWYPEPQVQWRTSKGEKFPSTSES RNPDEEGLFTVAASVIIRDSTKINVSC
 YIQNLLLQGEKKVEISIPASSLPRLTPWIVAVAVILMVLGLLTIGSIFFTWRLYNERP
 RERRNEFSSKERLLEELKWKKATLHAVDVTLDPDTAHPLFLYEDSKSVRLEDSRQKL
 PEKTERFDSWPCVLGREFTTSGRHYWEVEVGDRTDWAIGVCRENVMMKGFDPMPENG
 FWAVELYGNGYWALTPLRTPLPLAGPPRRVGIFLDYESGDISFYNMNDGSDIYTFSNV
 FSGPLRPFFCLWSSGKKPLTICPIADGPVRTVIANAQDLSKEIPLSPMGEESAPRD
 ADTLHSLIPTQPSQGAP

图14

RLSPNASAHEH (N55) (智人)
 GFSPNASSEY (N56) (小家鼠)
 RLSPNVSAKG (N55) (黄牛)

TSAKNVSCYI (N215) (智人)
 SSIKNMSSCCI (N216) (小家鼠)
 SSMKNVSSCCI (N215) (黄牛)

图15

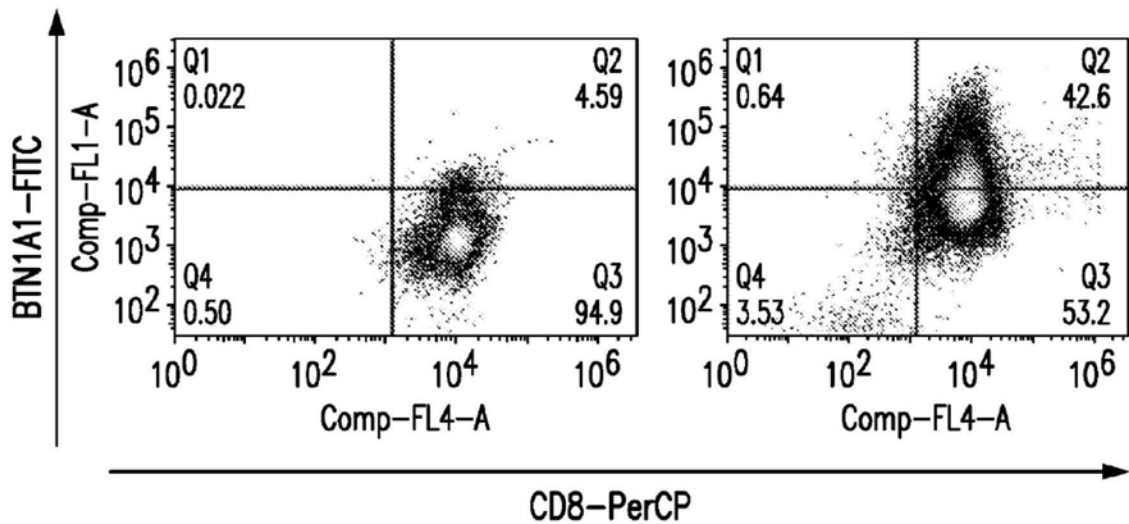


图16A

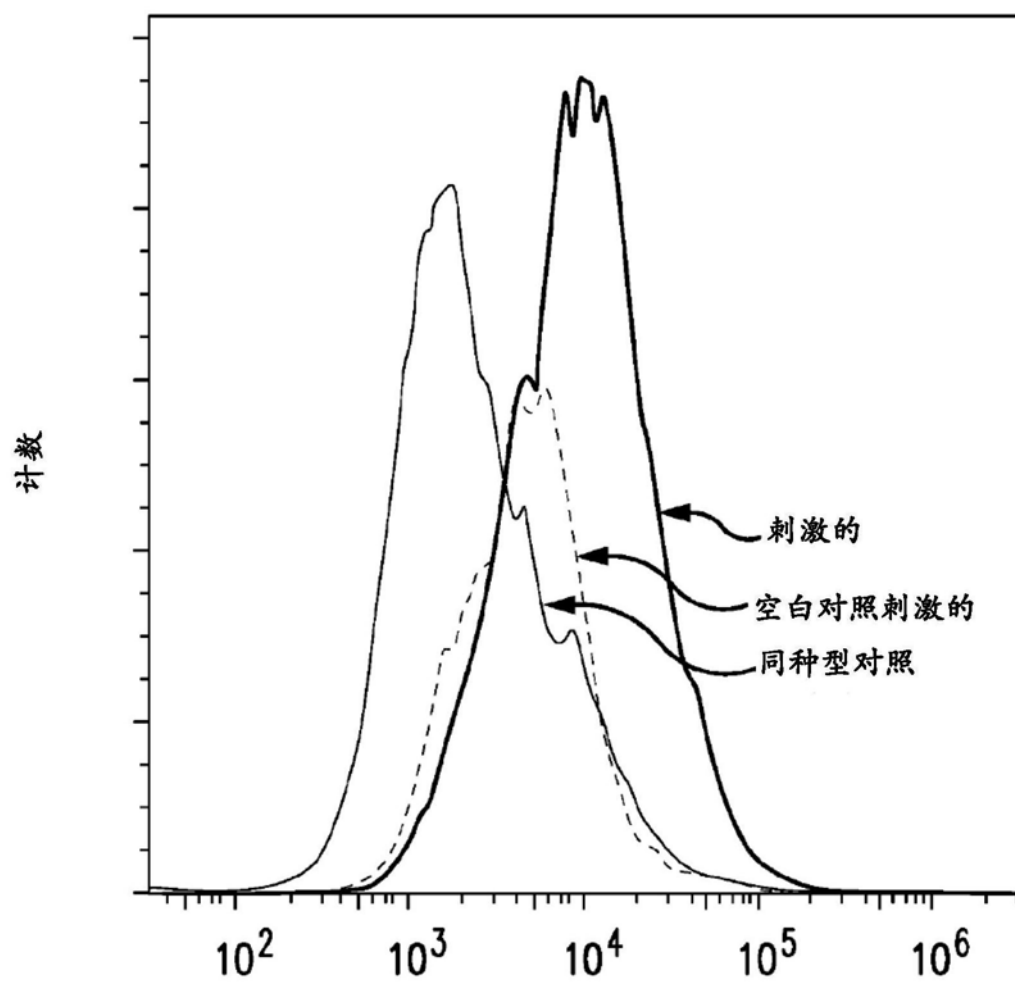


图16B

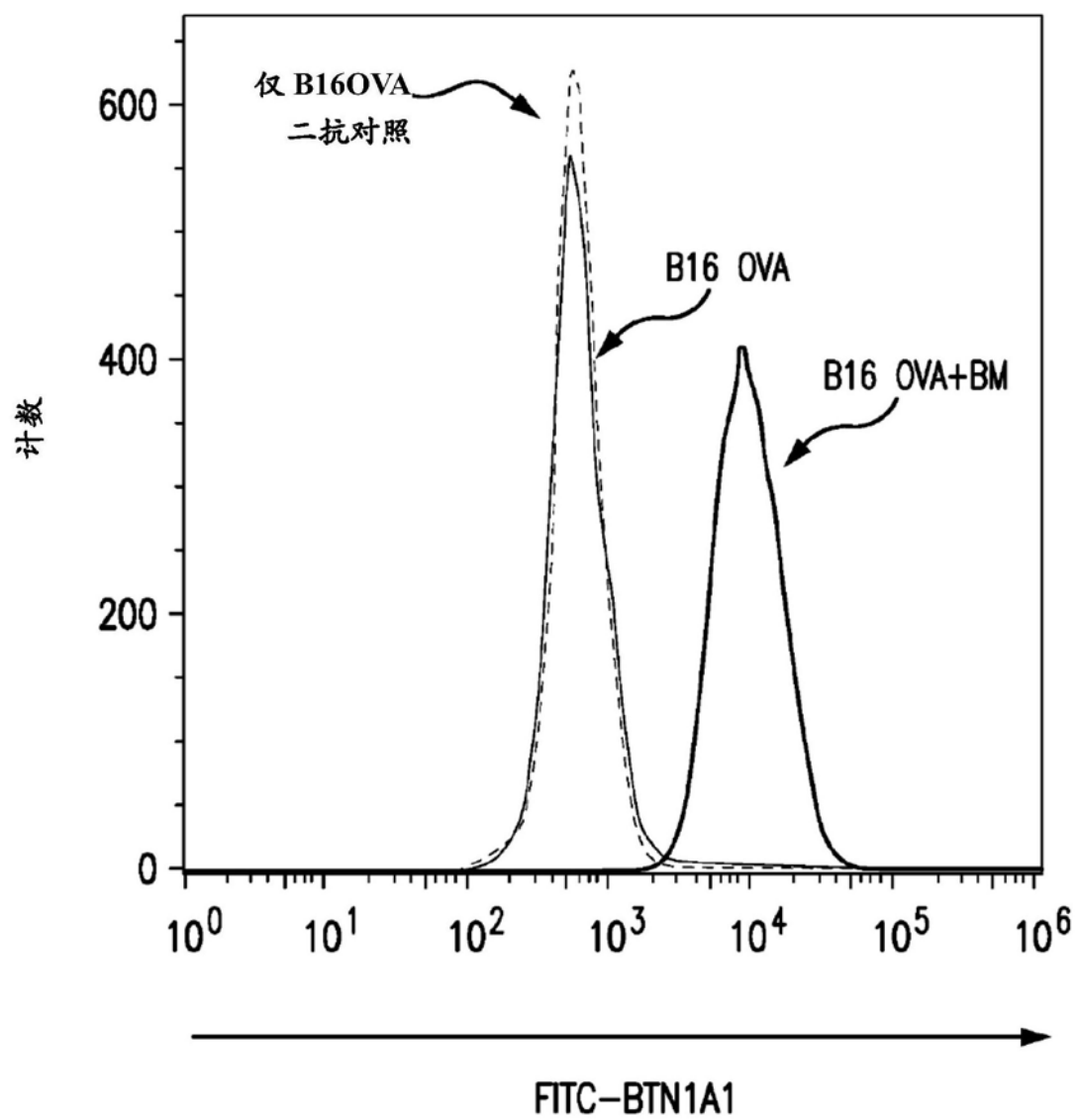


图17

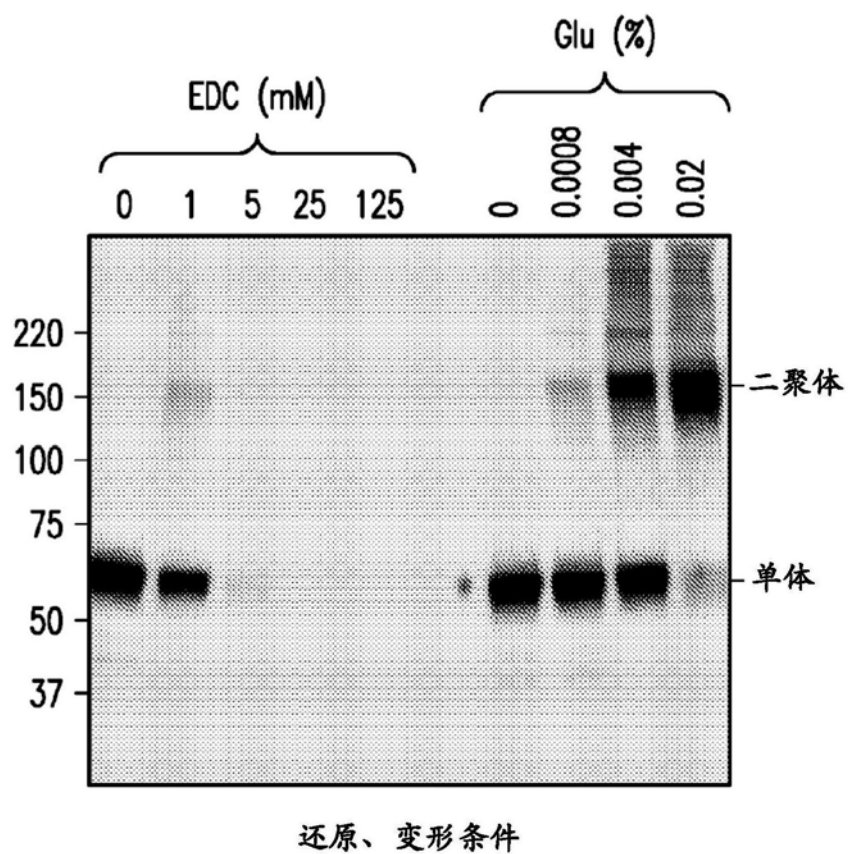


图18A

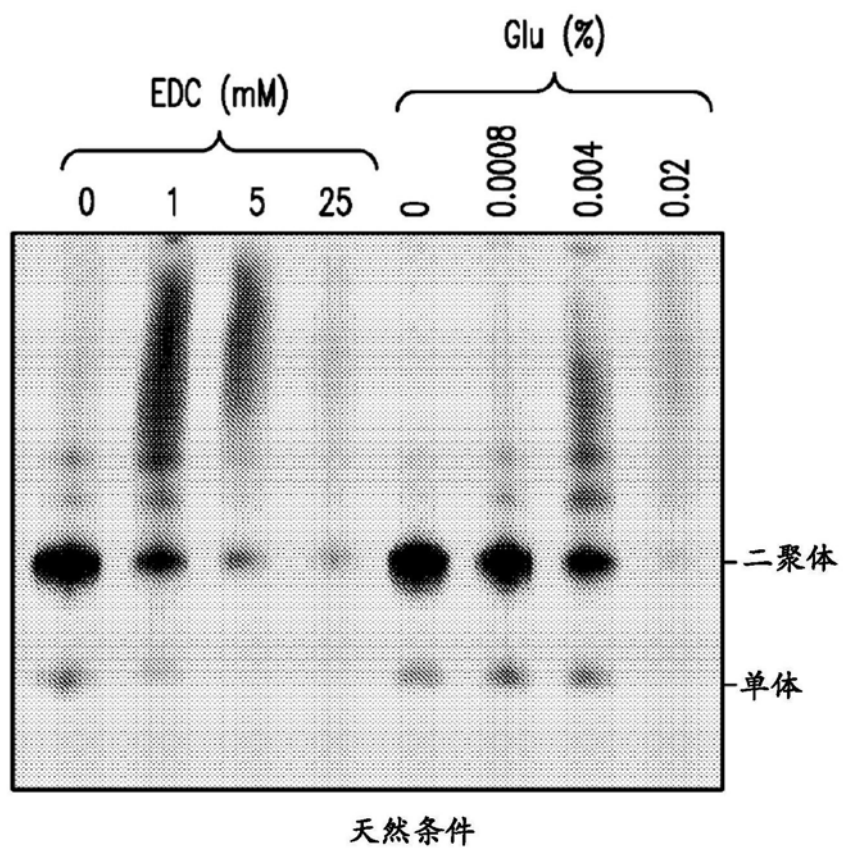


图18B

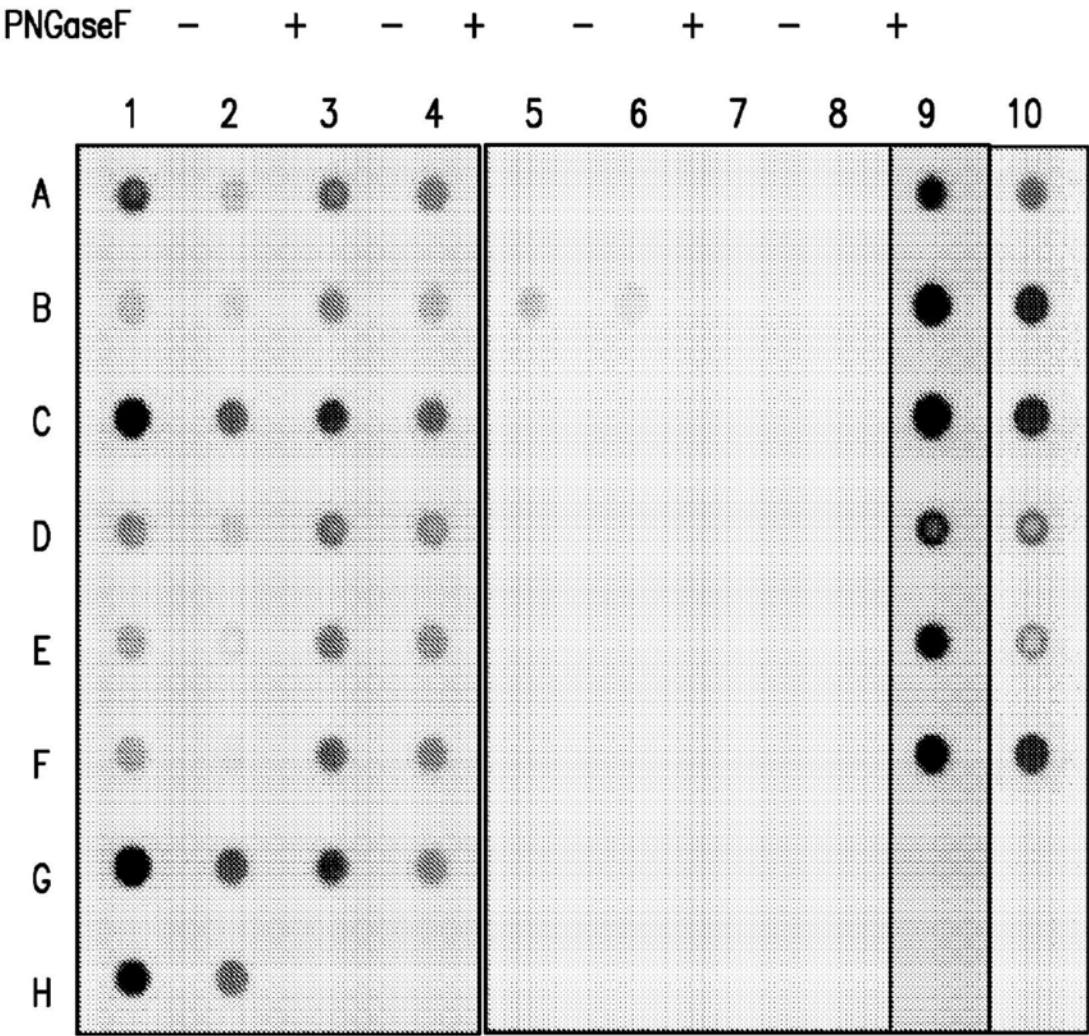


图19A

	hBTNA1A-FC				mBTNA1A-FC					
PNGaseF	-	+	-	+	-	+	-	+		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	hPolyB	hPolyB	709	709	hPolyB	hPolyB	709	709	hPolyB	hPolyB
B	mPoly	mPoly	710	710	mPoly	mPoly	710	710	810	810
C	810	810	713	713	810	810	713	713	838	838
D	819	819	715	715	819	819	715	715	822	822
E	820	820	717	717	820	820	717	717	860	860
F	822	822	725	725	822	822	725	725	738	738
G	838	838	738	738	838	838	738	738	None	None
H	703	703	IgG	IgG	703	703	IgG	IgG	IgG	IgG

图19B

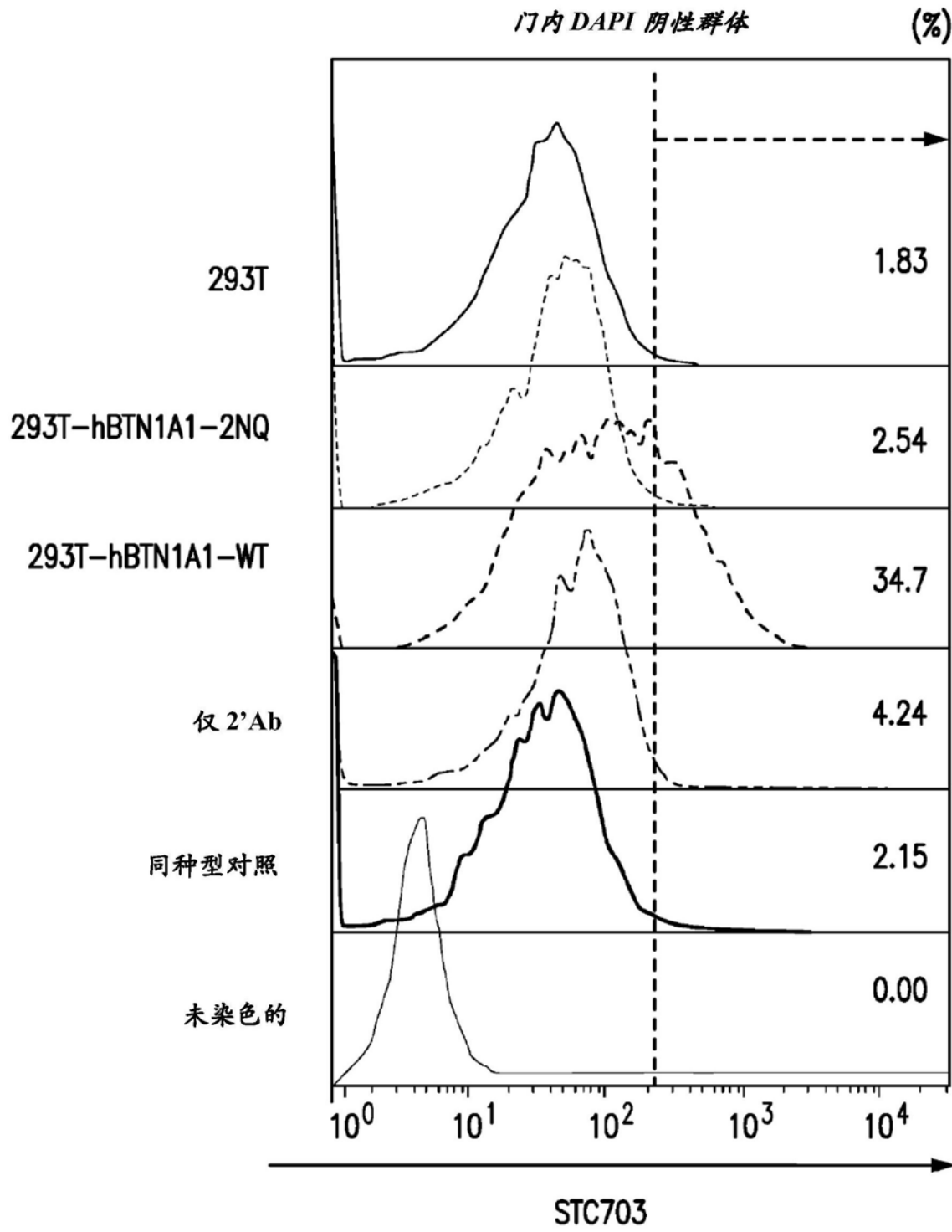


图20A

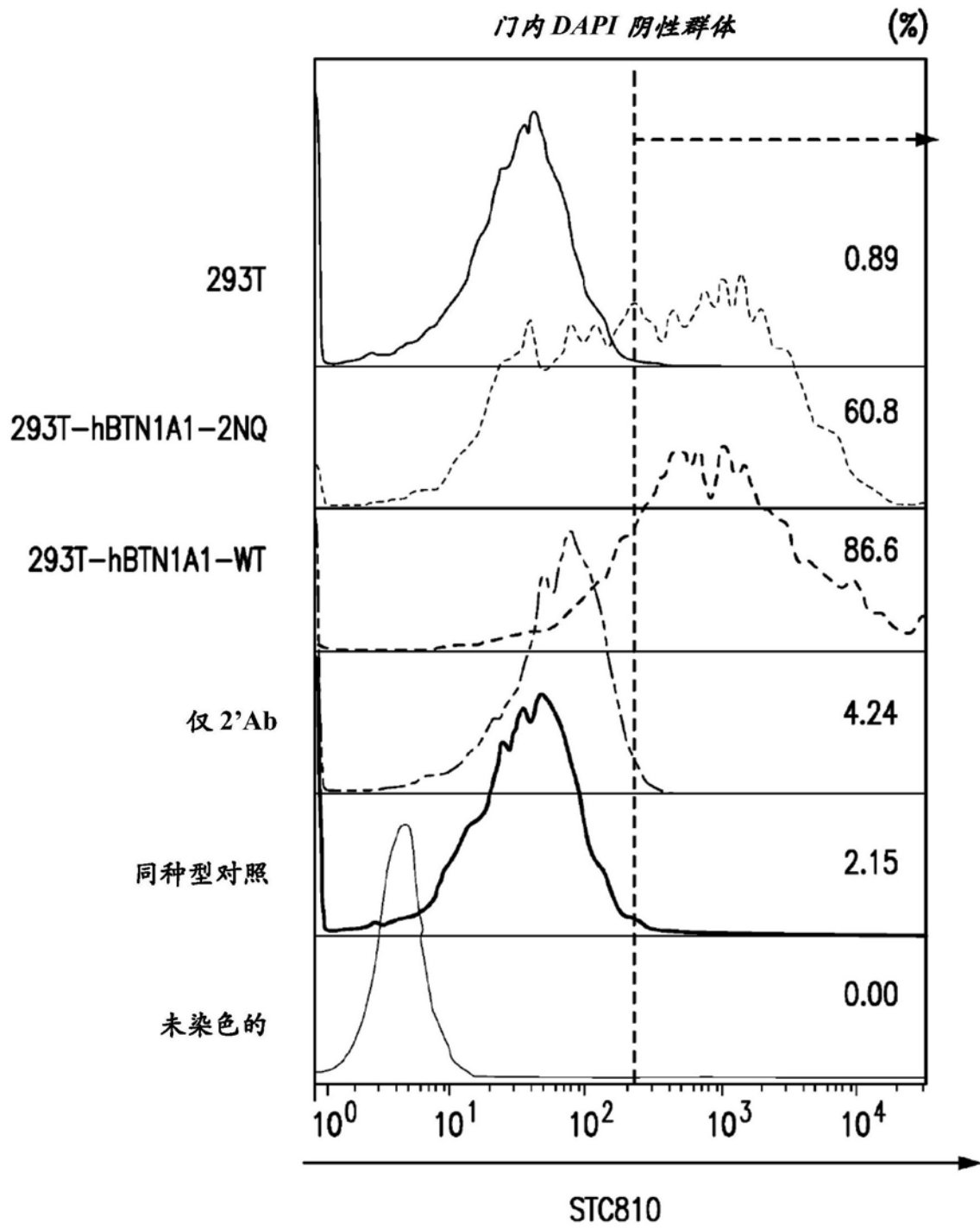


图20B

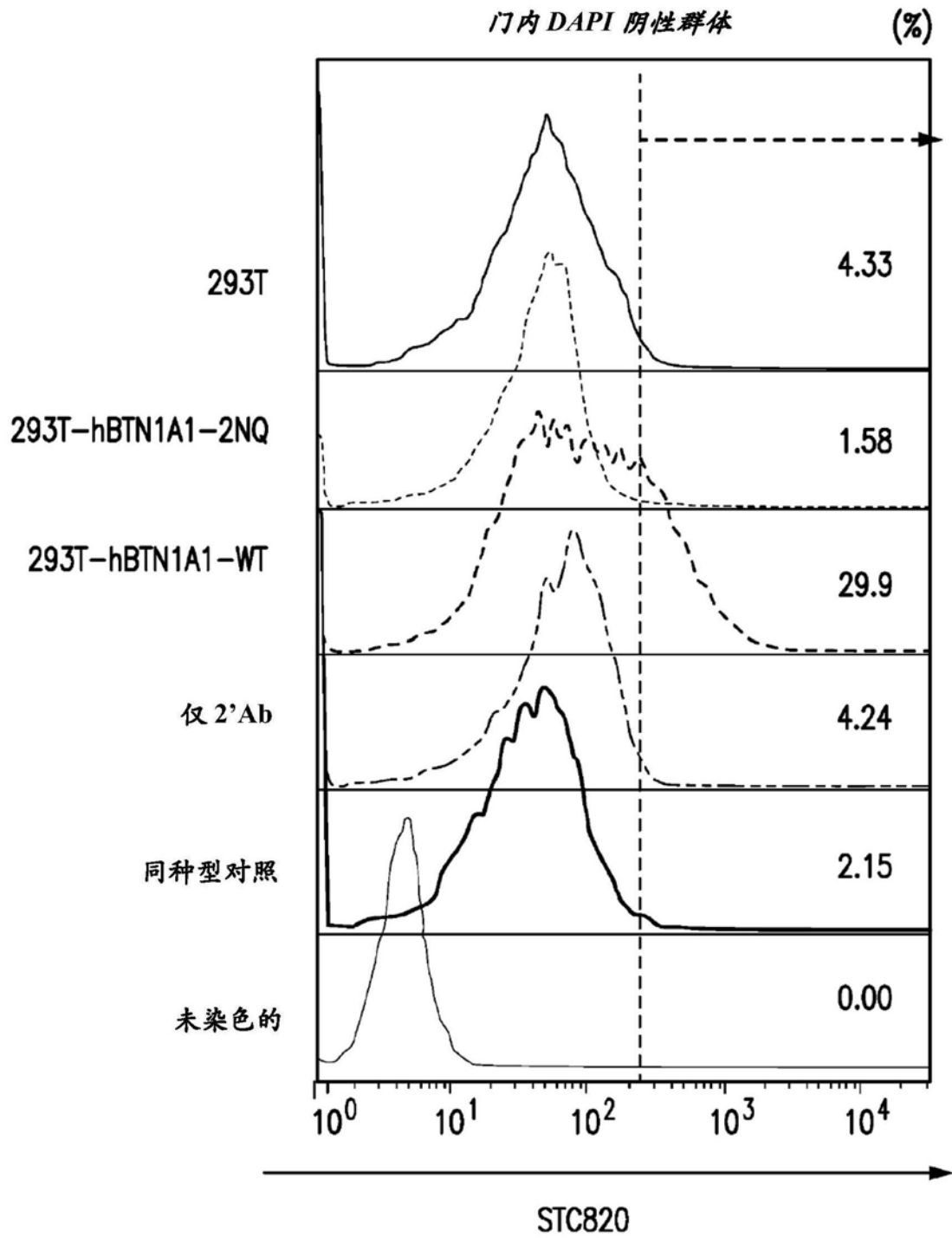


图20C

BTN1A1-ECD-His	+	+	-	-
BTN1A1-ECD-Fc	-	-	+	+
PNGase F	-	+	-	+

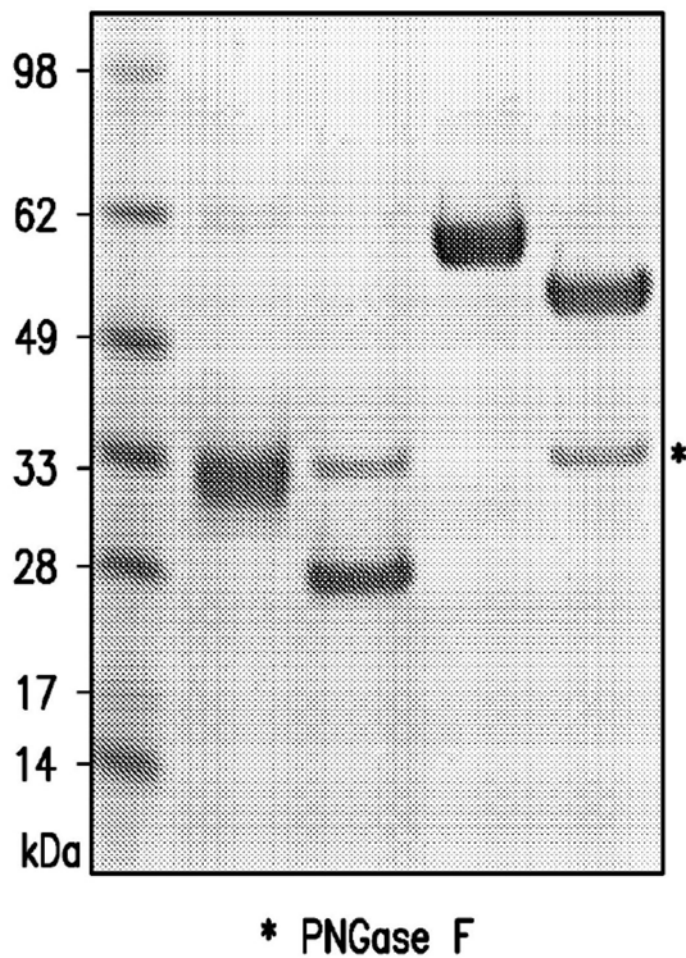


图21

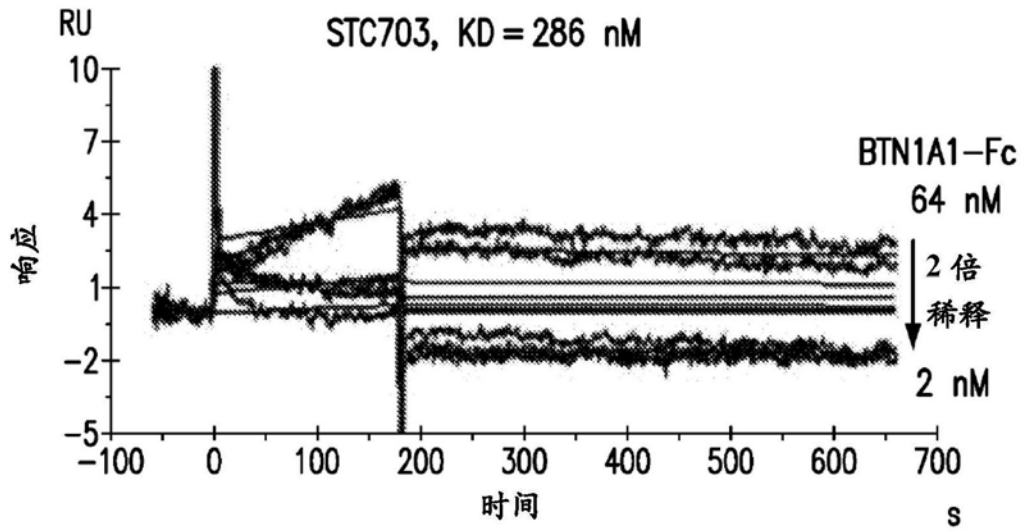


图22A

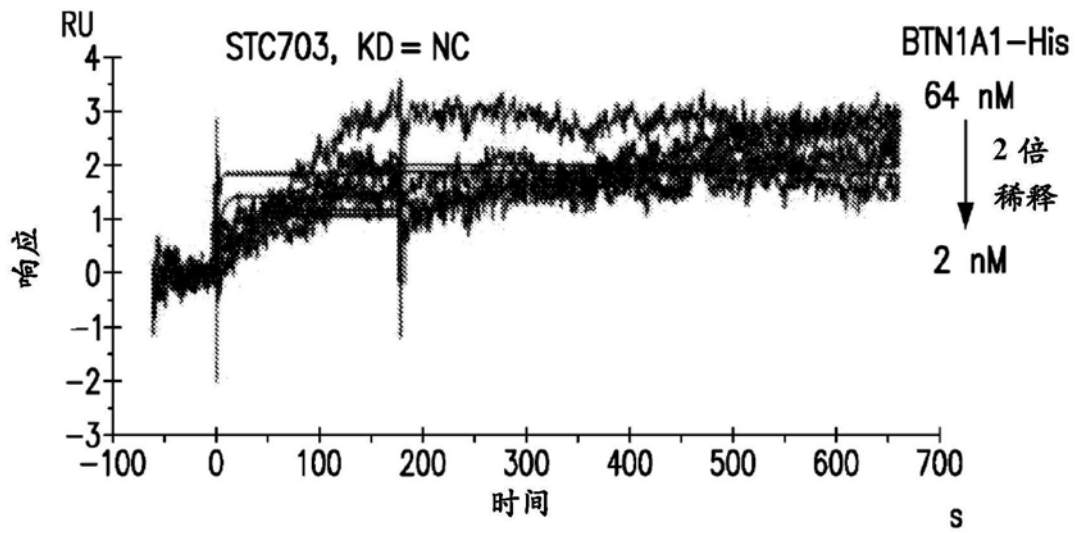


图22B

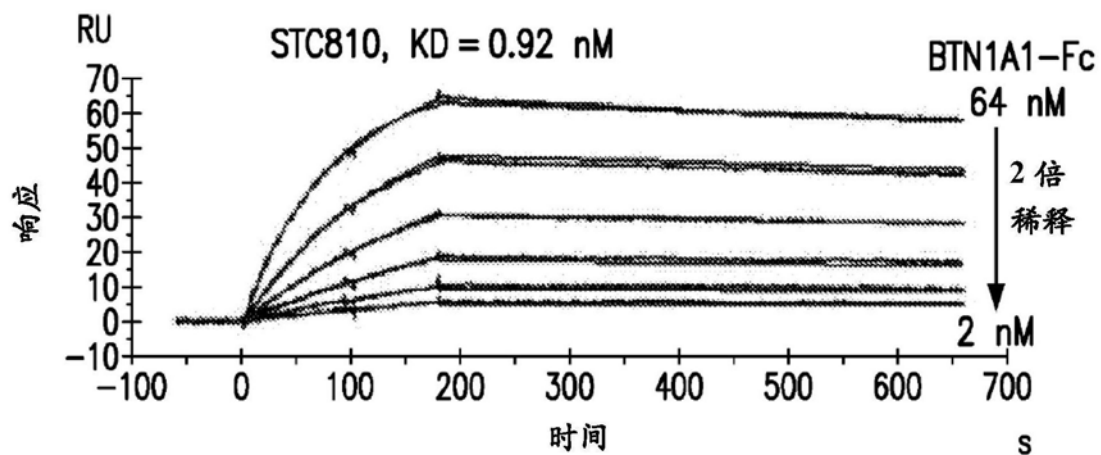


图22C

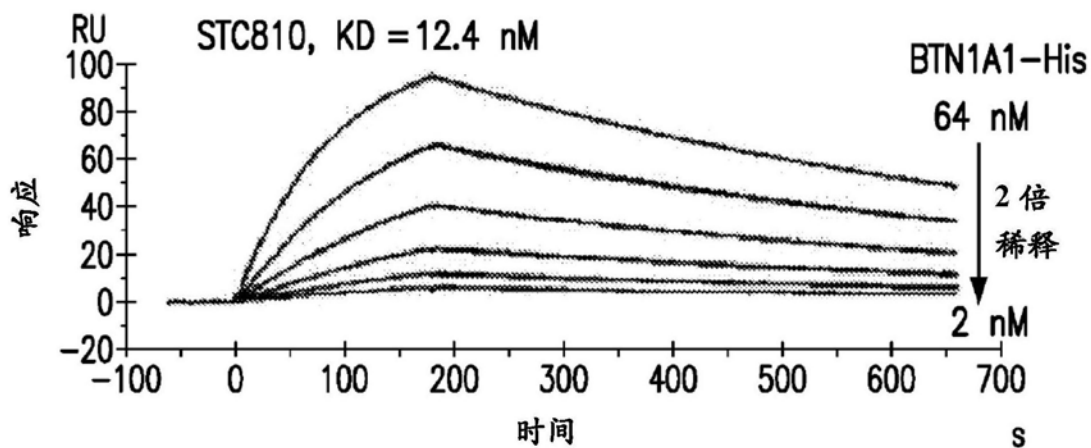


图22D

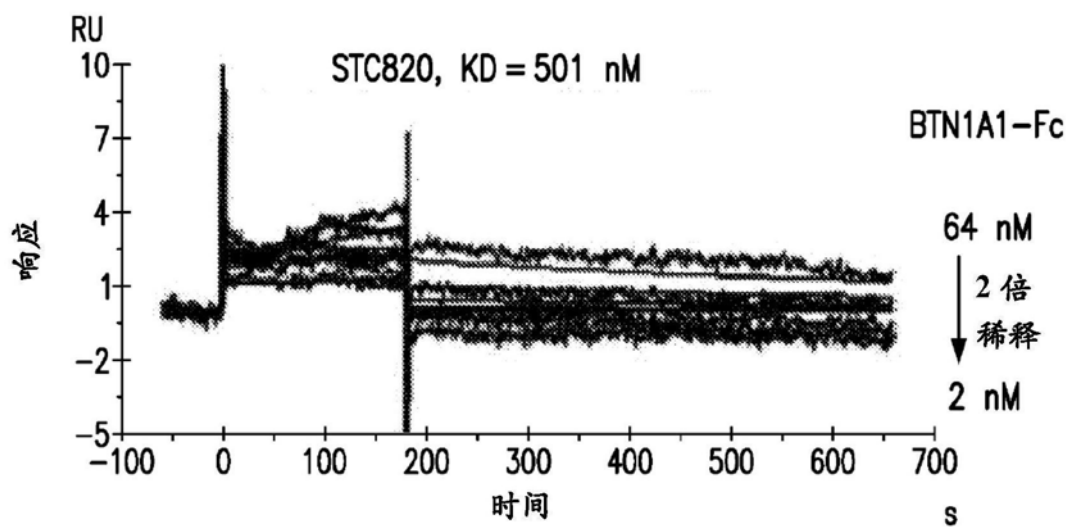


图22E

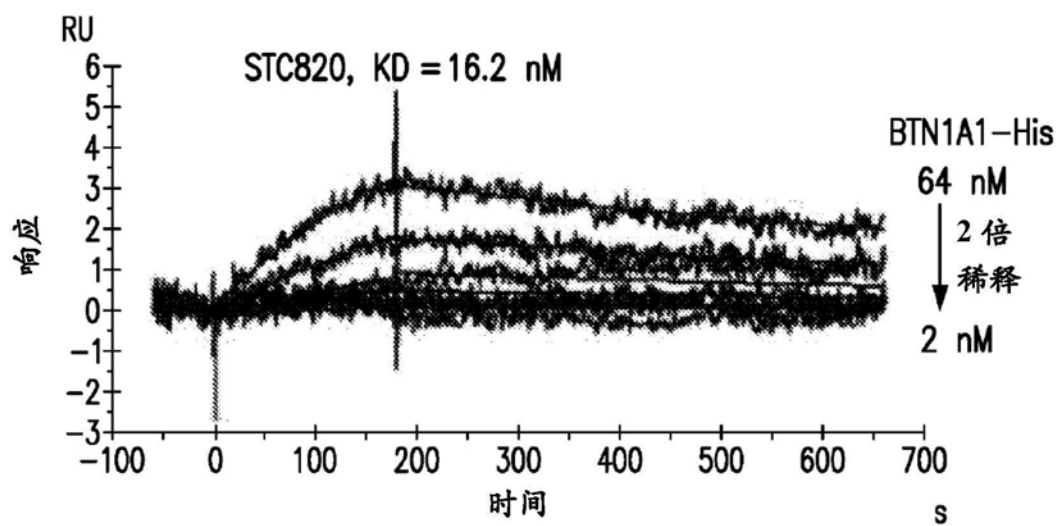


图22F

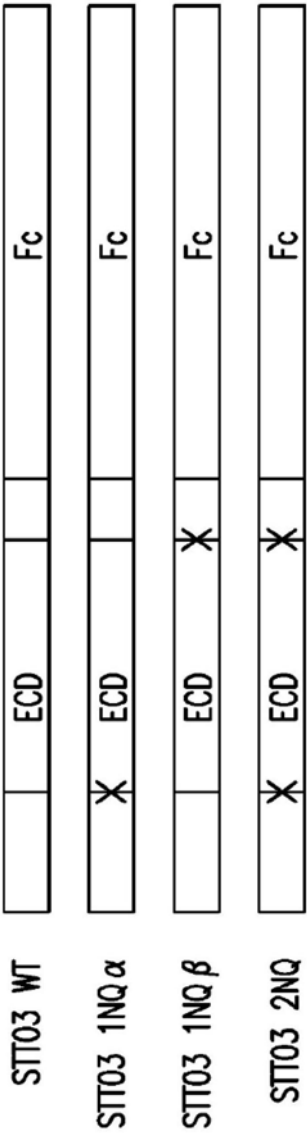


图23A

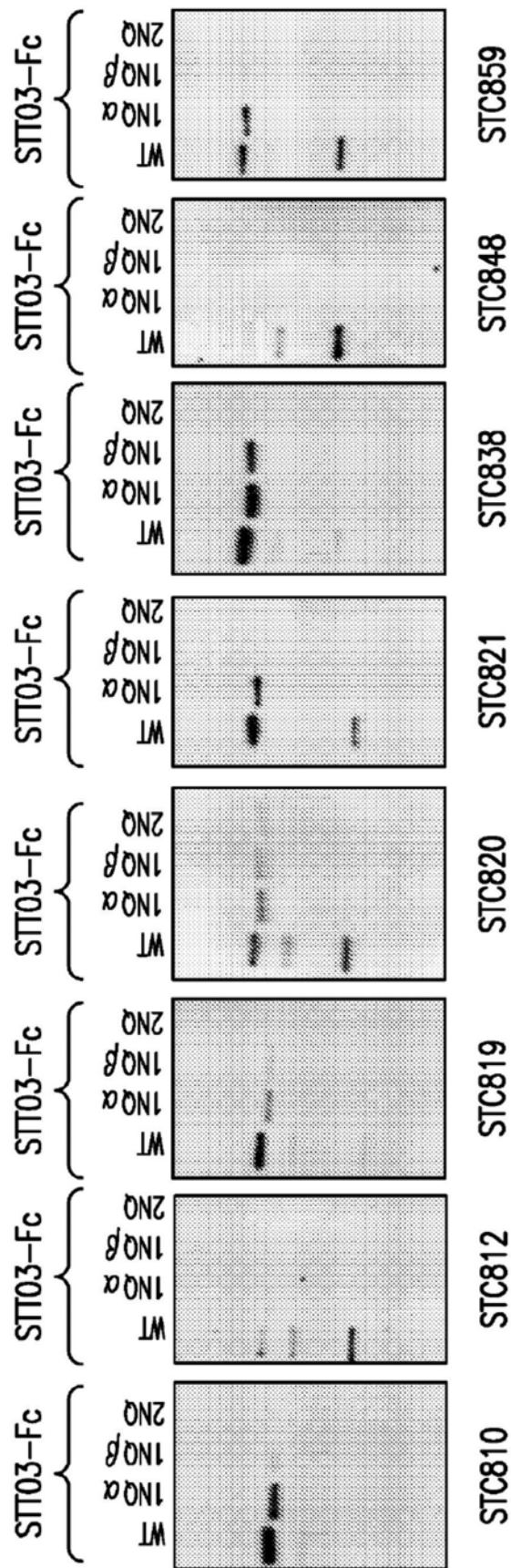


图23B

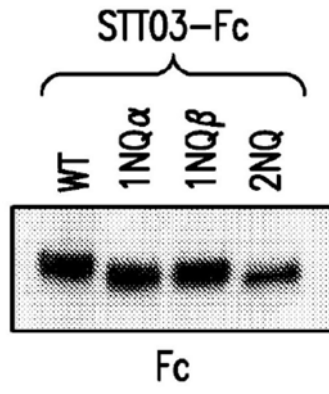


图23C

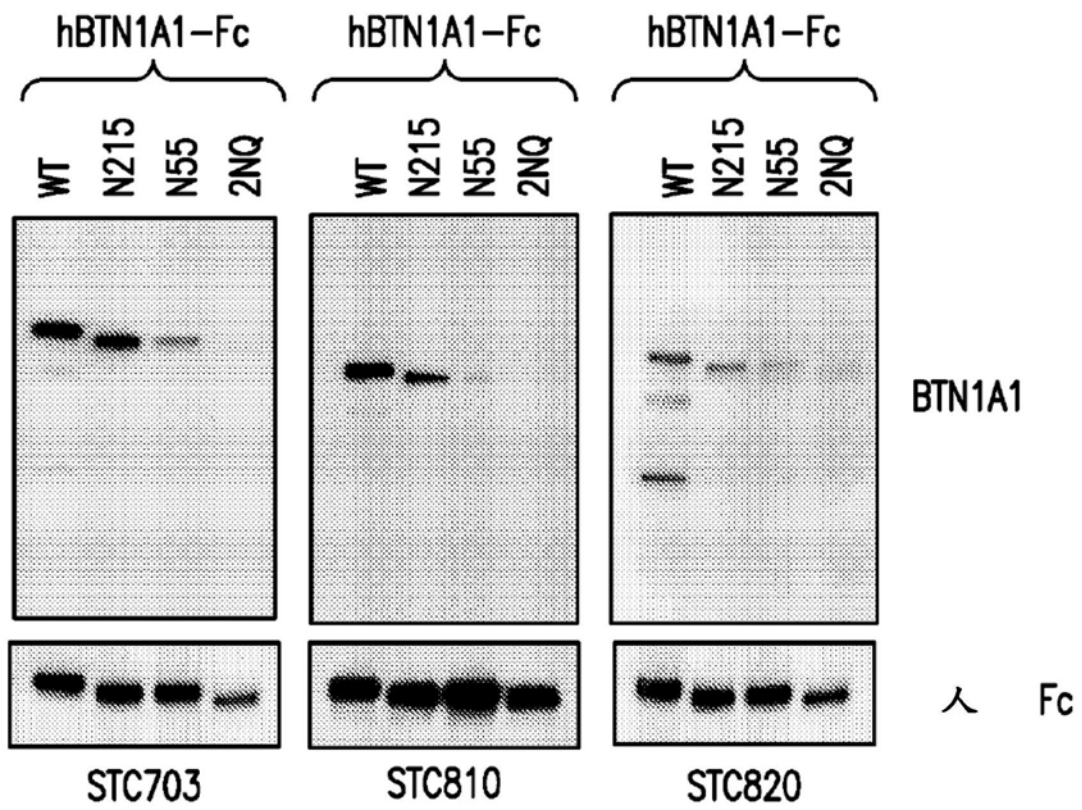


图24

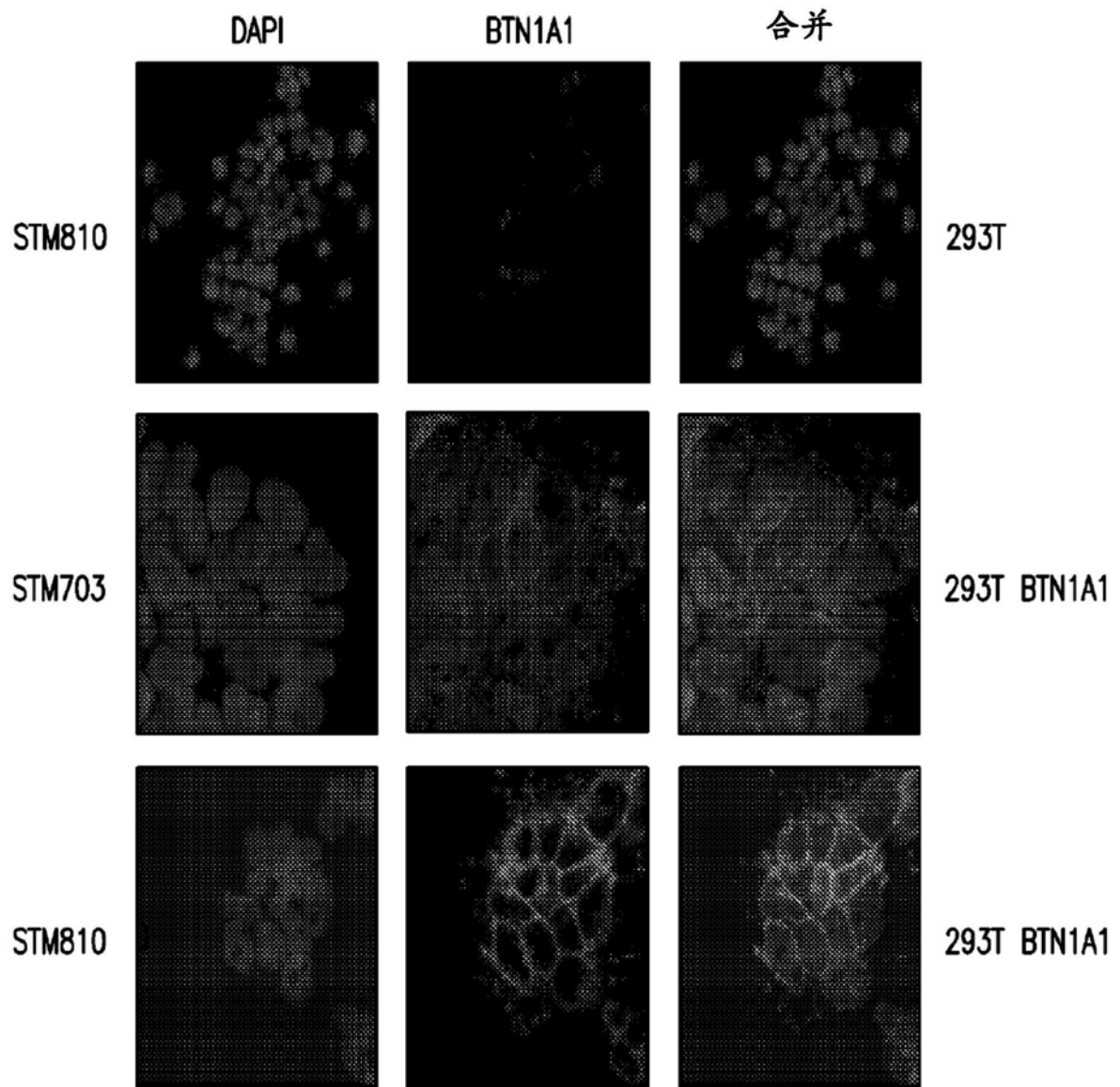


图25

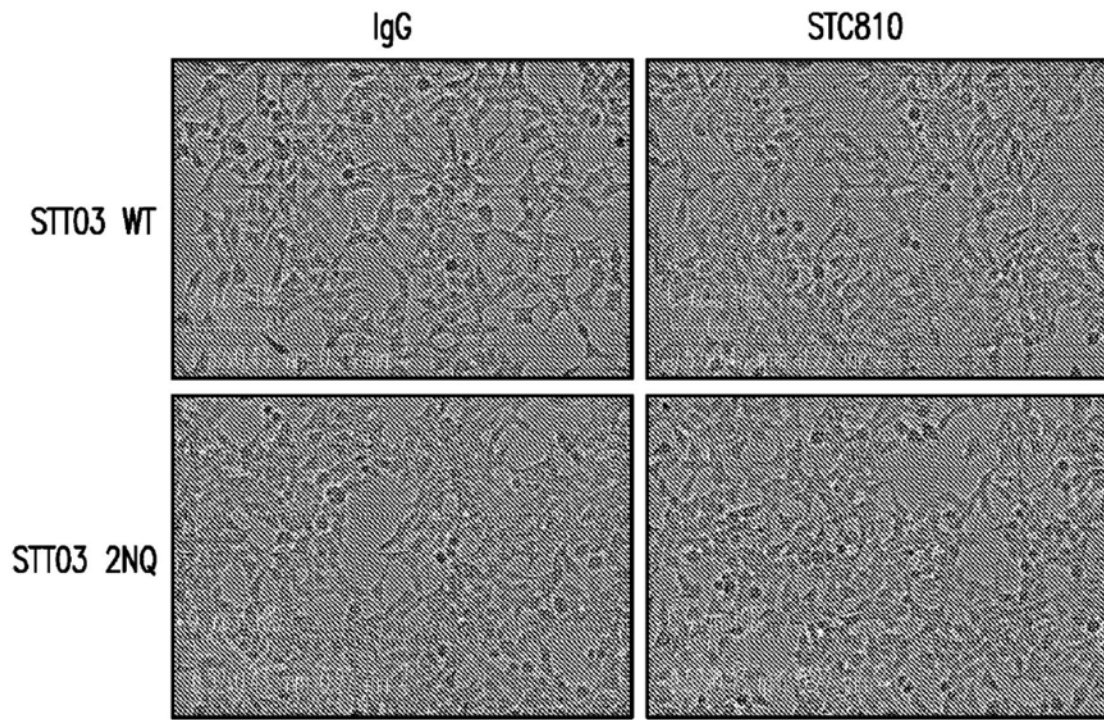


图26A

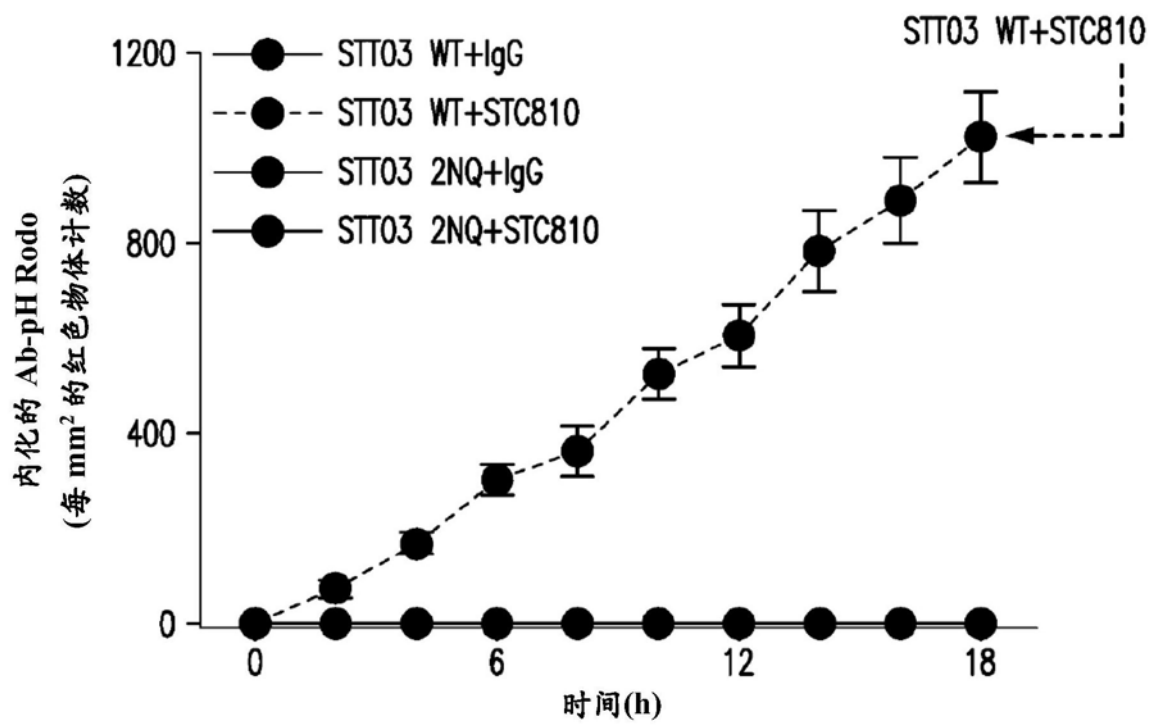


图26B

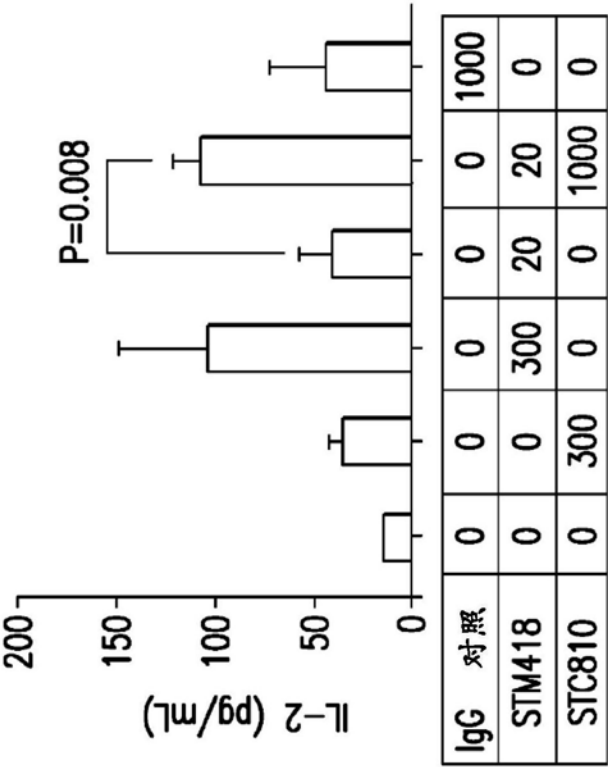


图27A

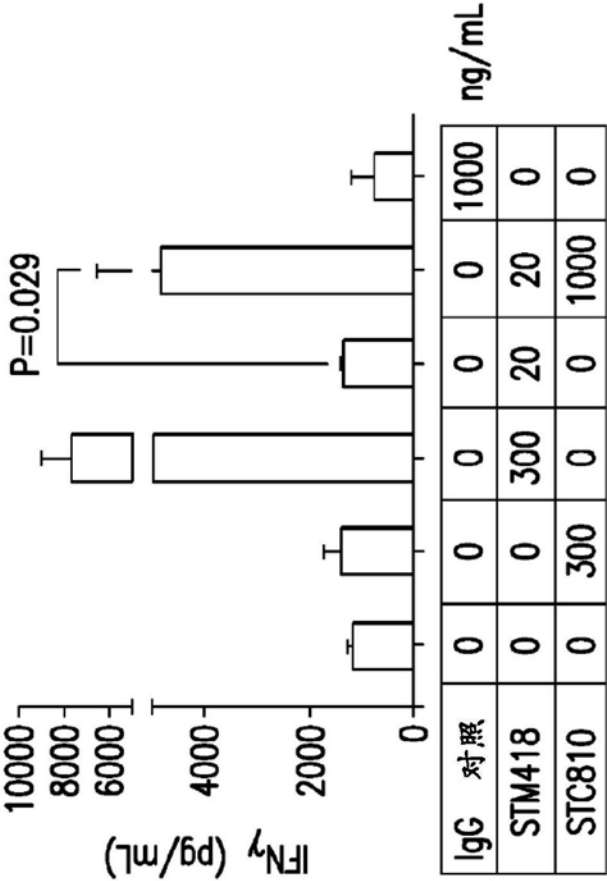


图27B

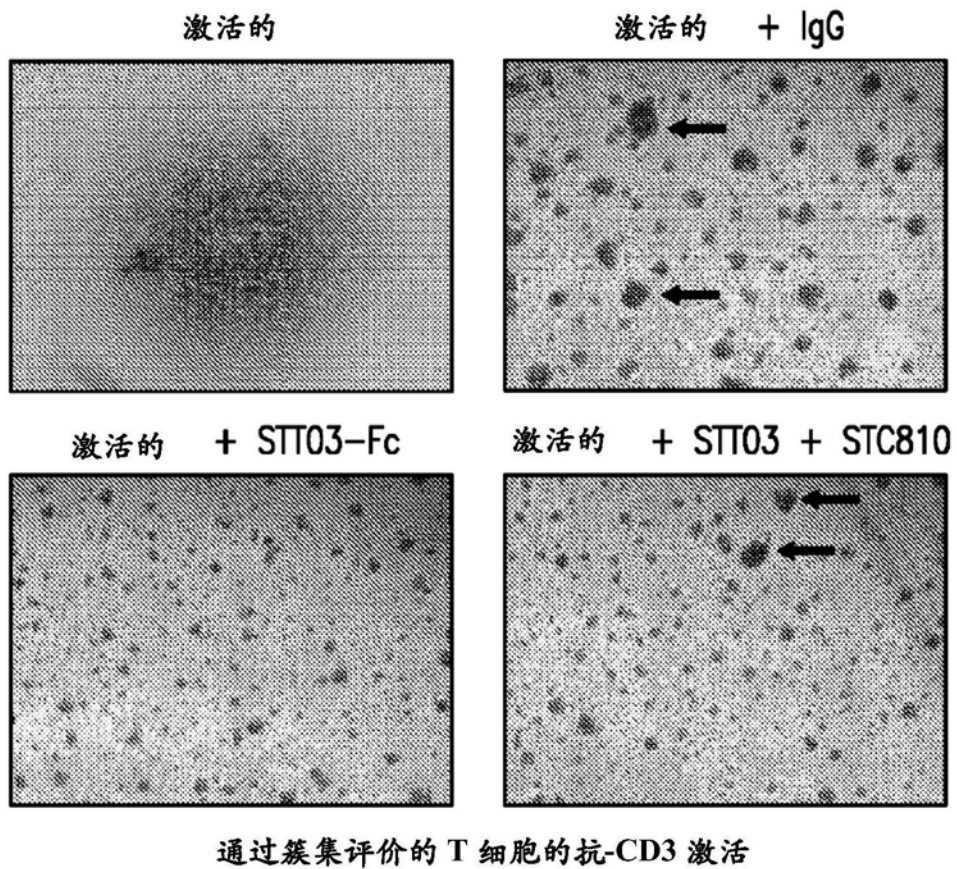


图28A

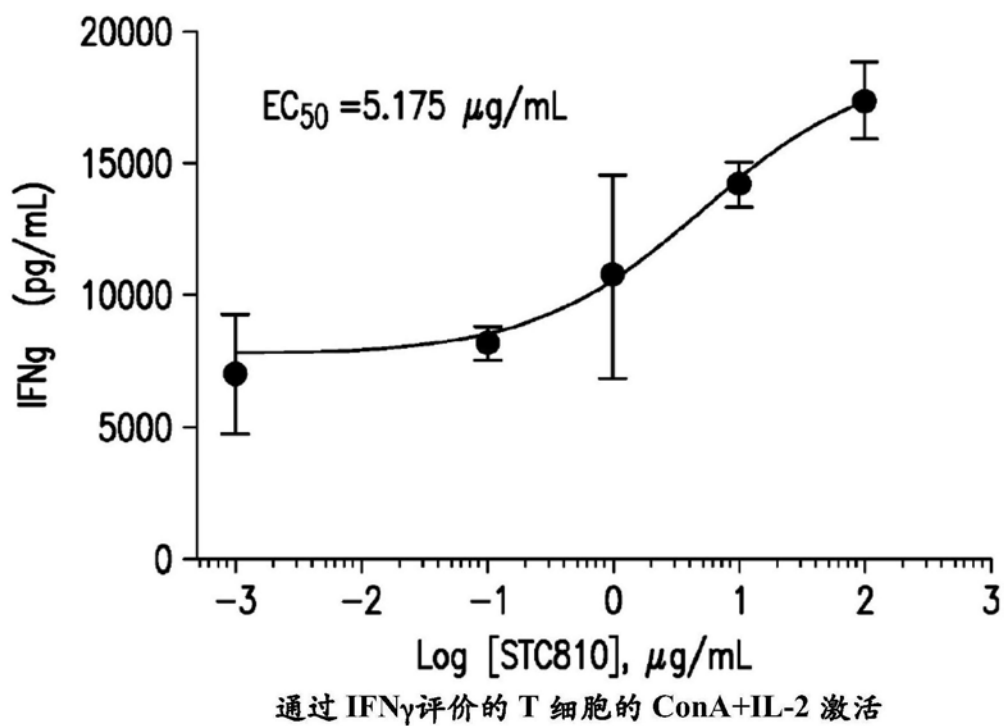


图28B

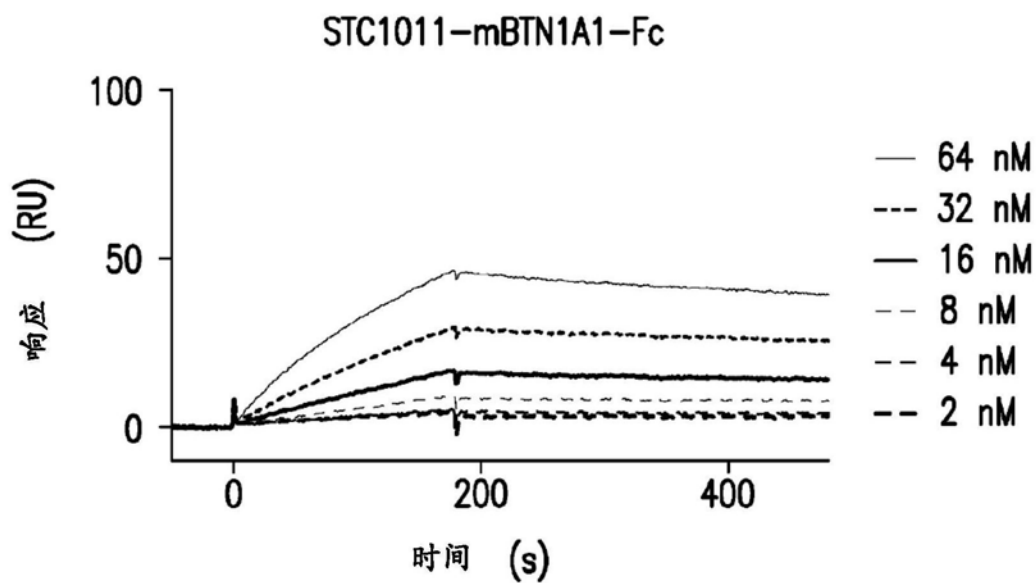


图29A

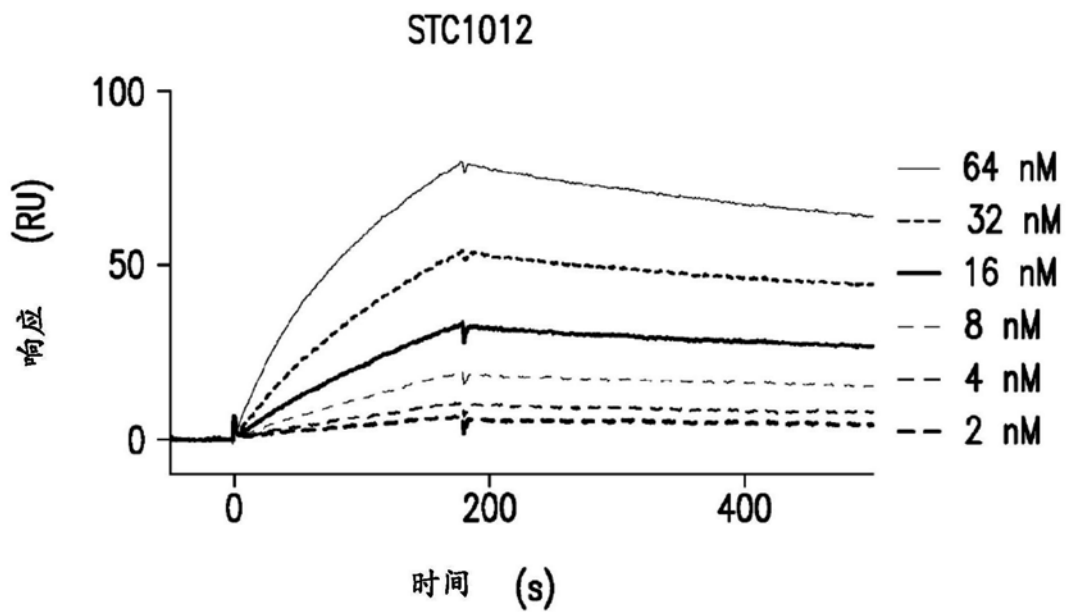


图29B

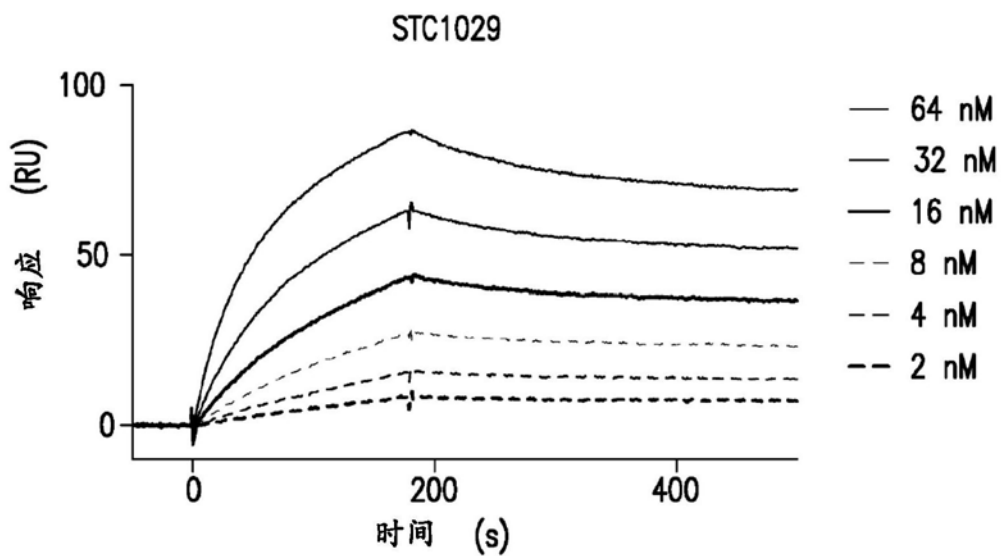


图29C

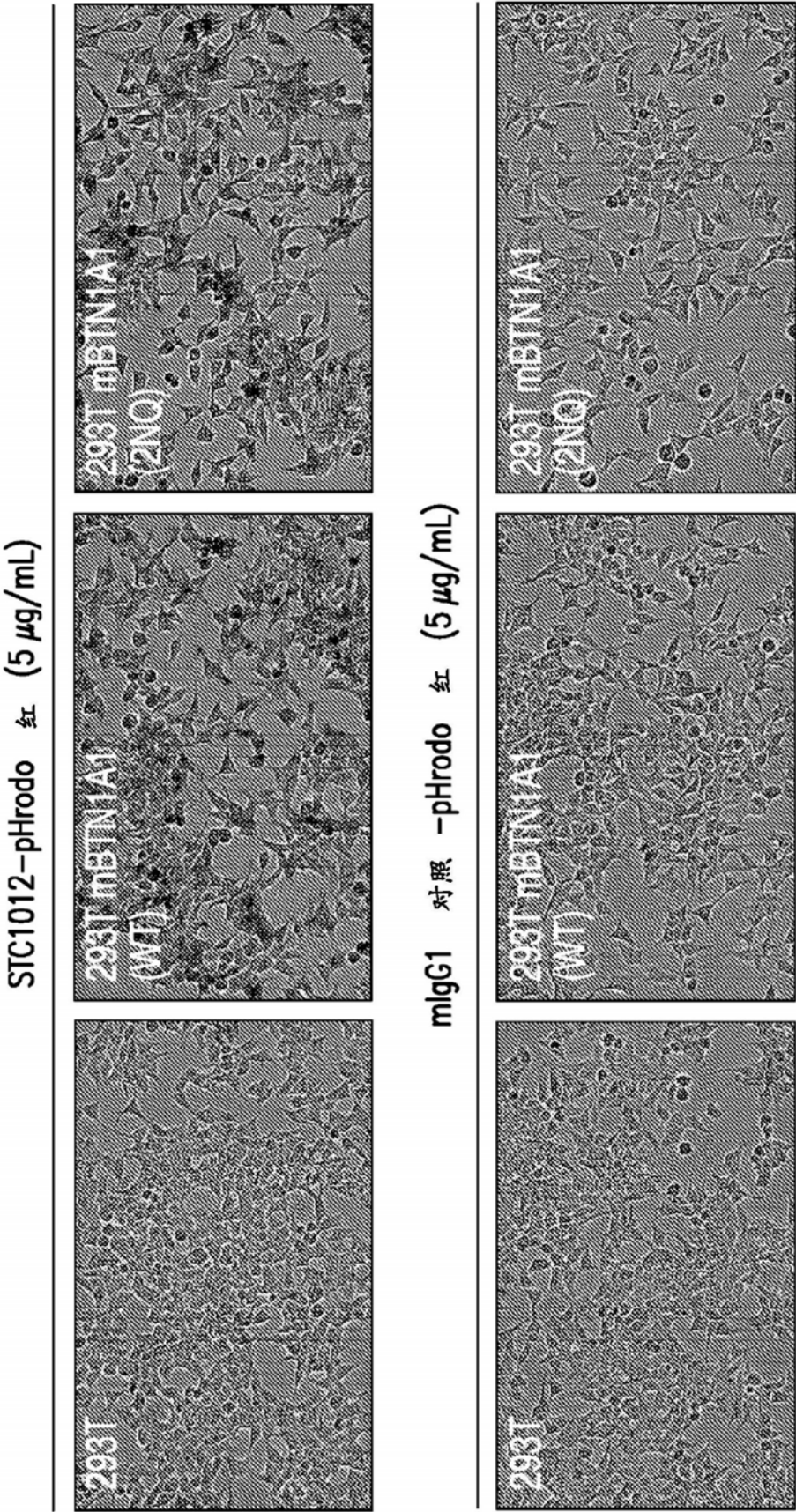


图30A

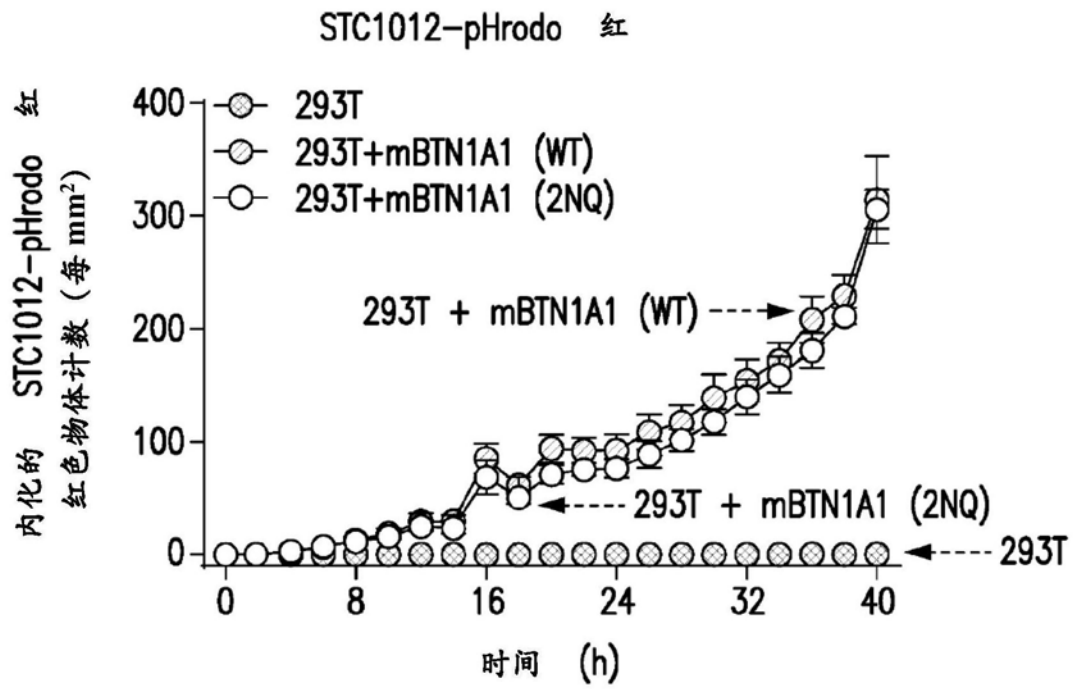


图30B

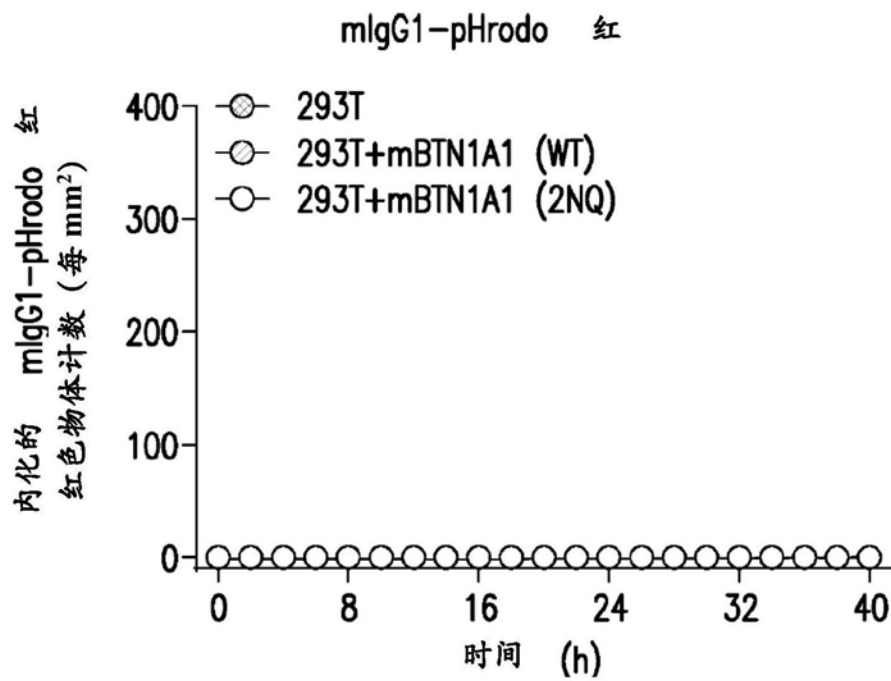


图30C

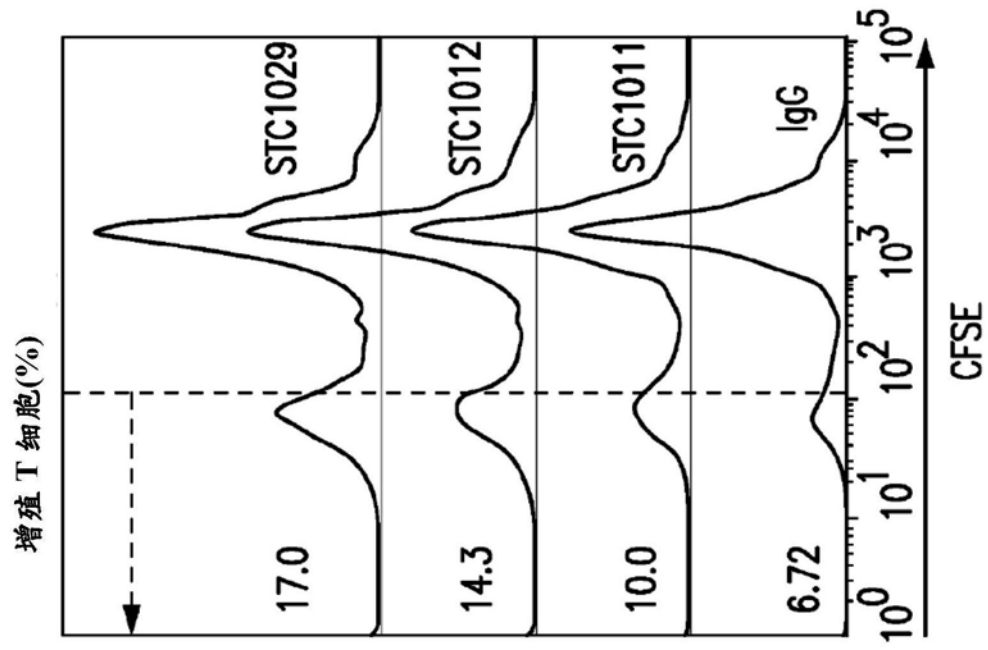


图31A

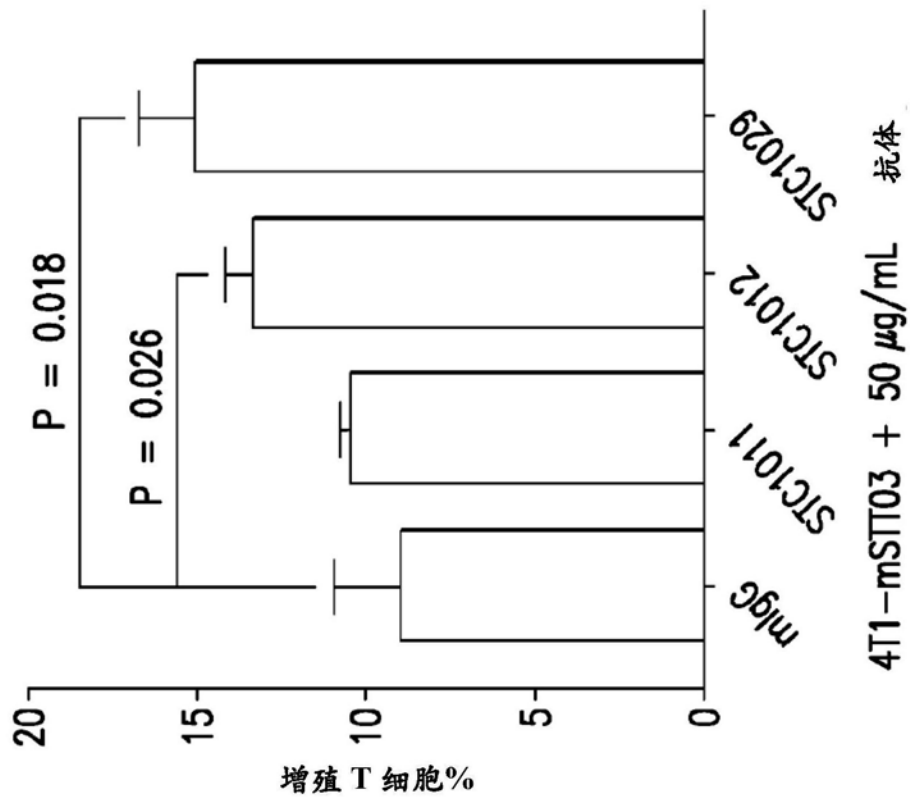


图31B

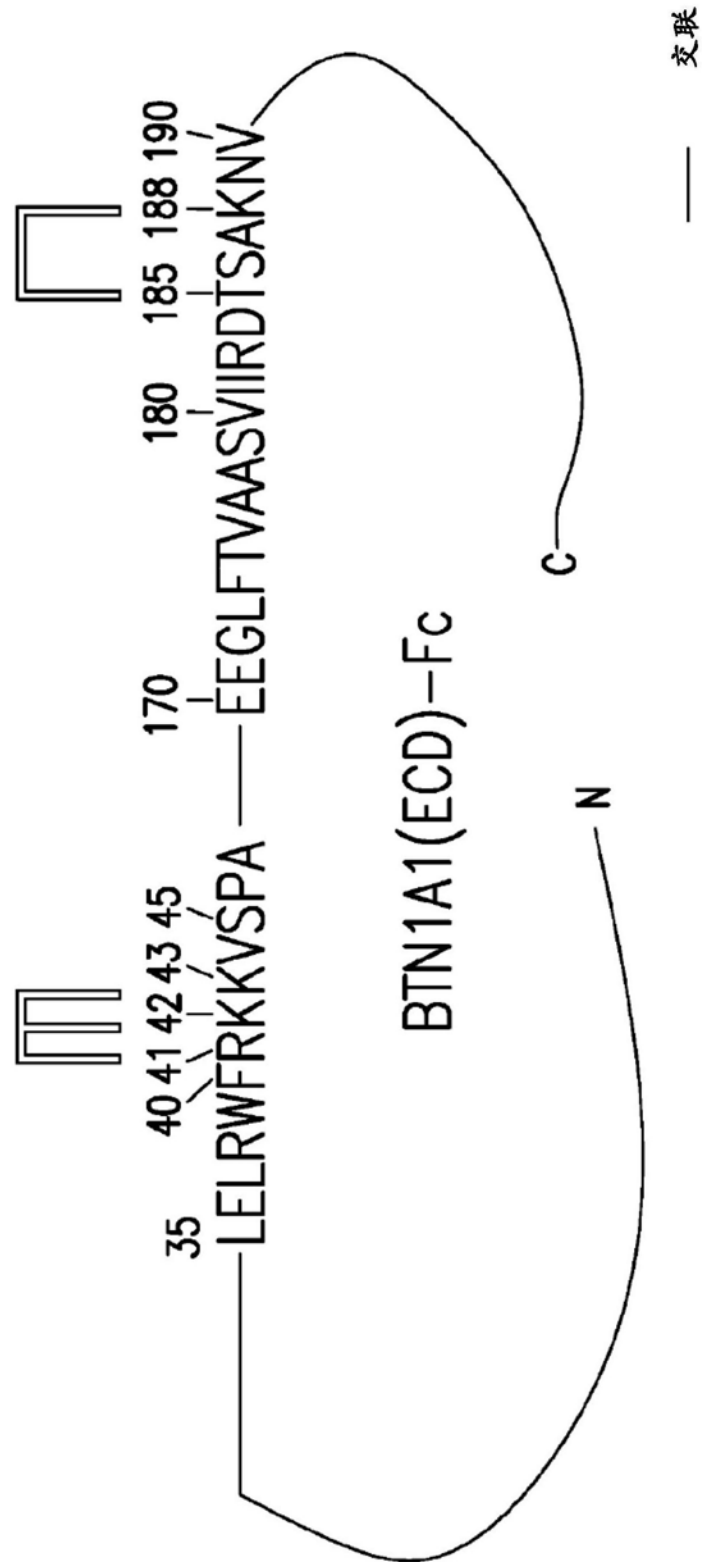


图32A

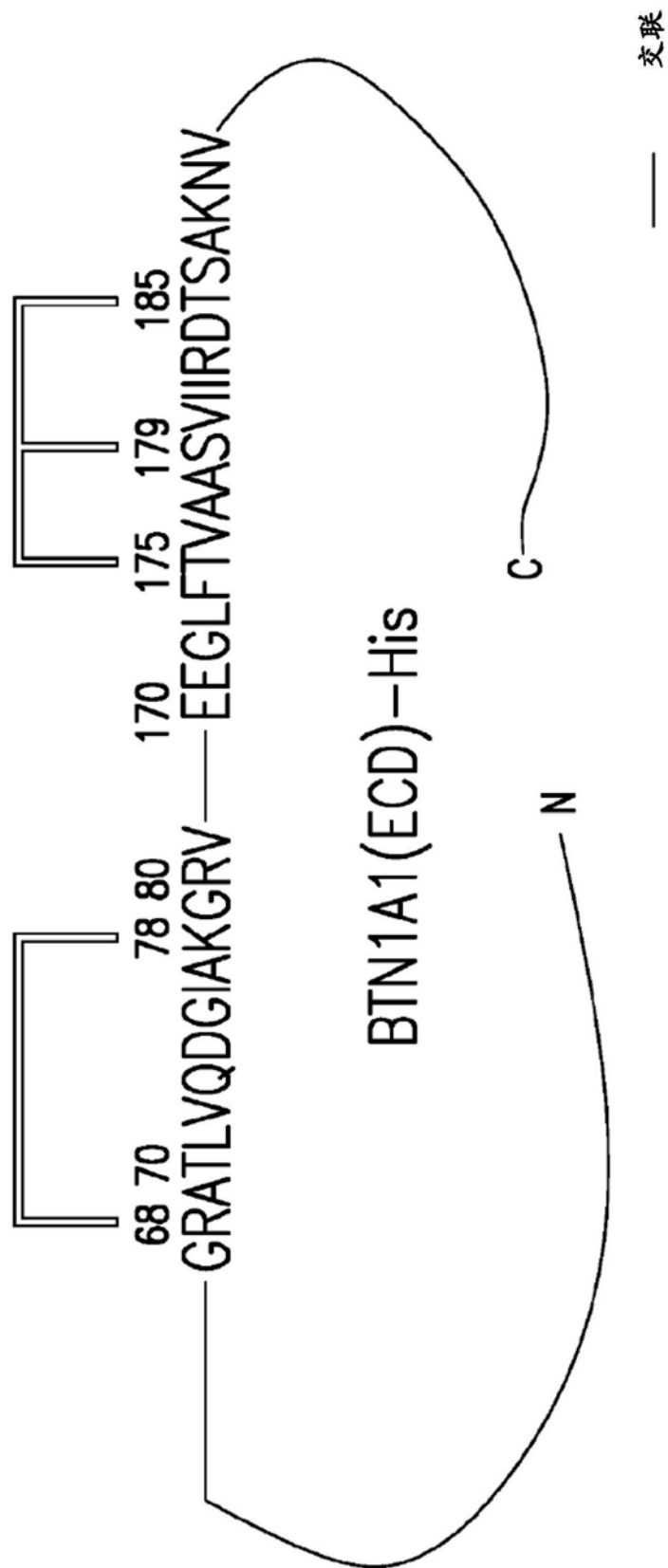


图32B

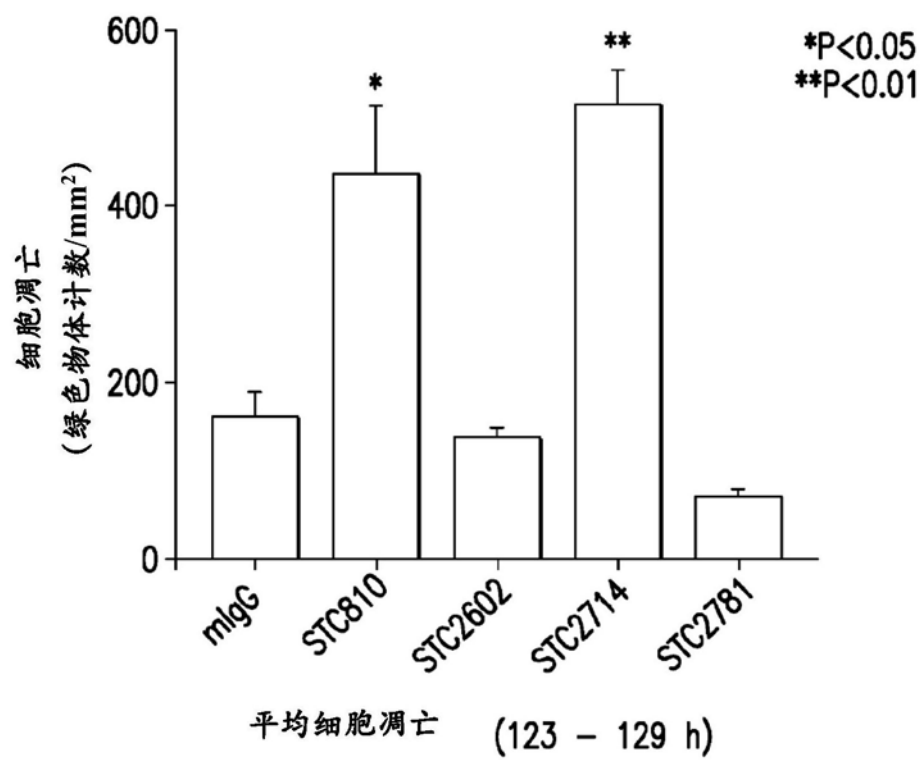


图33

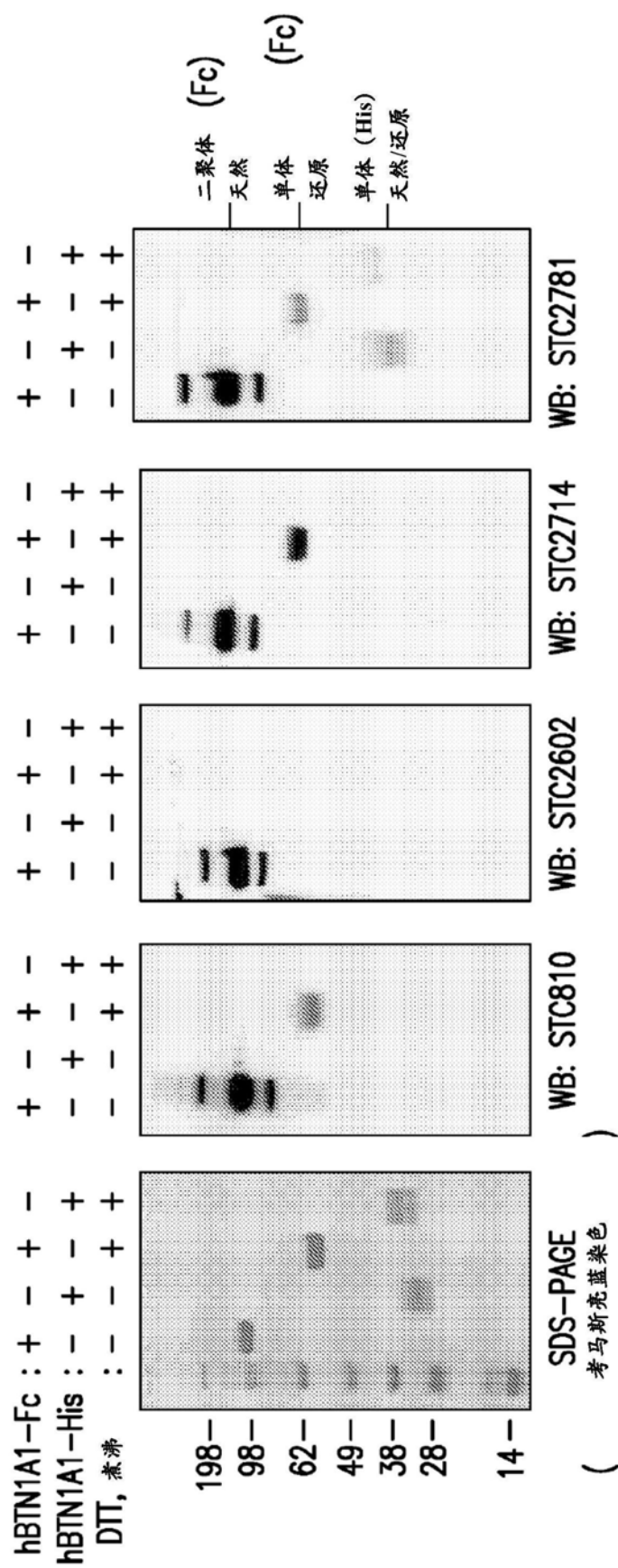


图34

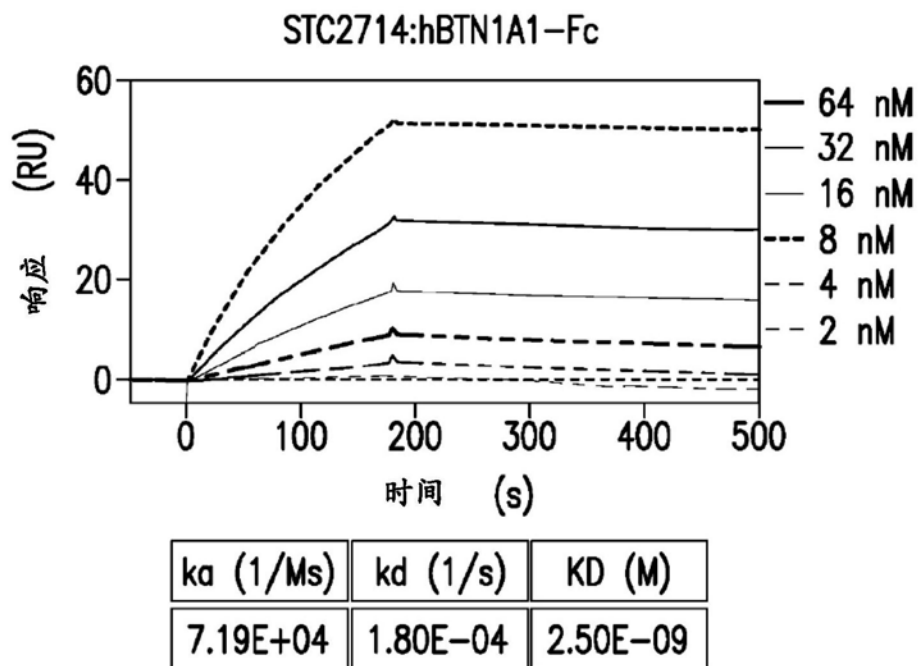


图35A

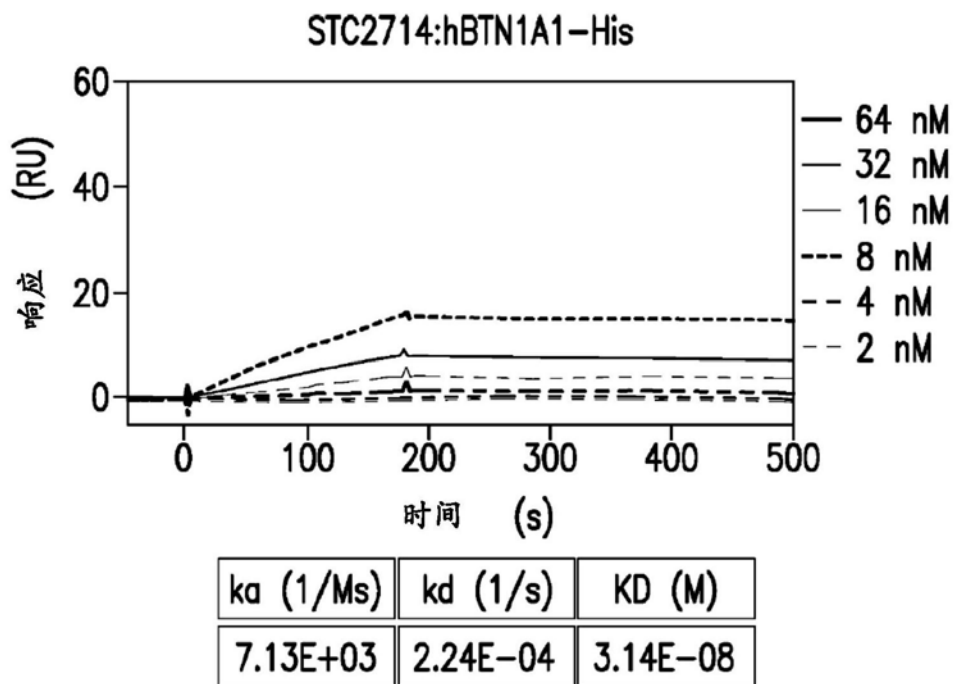


图35B