



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 114106181 B

(45) 授权公告日 2025. 04. 01

(21) 申请号 202111521126.X

(22) 申请日 2015.08.28

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 114106181 A

(43) 申请公布日 2022.03.01

(30) 优先权数据  
62/043,273 2014.08.28 US  
62/078,942 2014.11.12 US

(62) 分案原申请数据  
201580058785.0 2015.08.28

(73) 专利权人 朱诺治疗学股份有限公司  
地址 美国华盛顿州

(72) 发明人 Y·陈 S·沙马 C·帕兹玛尼  
J·都塔-西蒙斯

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494  
专利代理师 封新琴

(51) Int.Cl.  
C07K 16/28 (2006.01)  
C07K 19/00 (2006.01)  
C12N 15/13 (2006.01)  
C12N 15/62 (2006.01)  
C12N 5/10 (2006.01)  
A61K 39/395 (2006.01)  
A61K 39/00 (2006.01)  
A61K 47/68 (2017.01)  
A61P 35/00 (2006.01)  
A61P 35/02 (2006.01)

(56) 对比文件  
CN 106922147 B, 2021.12.21  
审查员 陈晓真

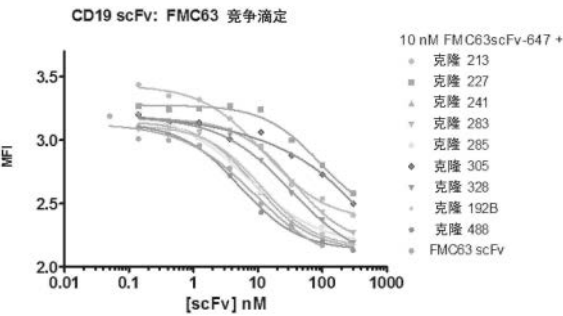
权利要求书7页 说明书118页  
序列表135页 附图27页

(54) 发明名称

CD19特异性抗体和嵌合抗原受体

(57) 摘要

提供了CD19结合分子,包括抗CD19抗体,包括抗体片段(例如单链片段),和包括所述抗体的嵌合受体,例如嵌合抗原受体(CAR)。所述抗体包括人抗体,包括与参比抗体(例如鼠抗体)竞争结合CD19的那些。在一些实施方式中,所述抗体展示与所述参比抗体相似的功能性质,例如相当的结合亲和性和/或竞争性抑制性质。还提供表达所述嵌合受体的经遗传工程改造的细胞,以及所述结合分子和细胞在过继细胞疗法的应用。



1. 一种抗CD19抗体或其抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段包含重链可变(VH)区和轻链可变(VL)区,其中:

(a) 所述VH区包含重链互补决定区1(CDR-H1)、CDR-H2和CDR-H3,所述CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3分别由如SEQ ID NO:18、19和20所示的氨基酸序列组成;和

所述VL区包含轻链互补决定区1(CDR-L1)、CDR-L2和CDR-L3,所述CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别由如SEQ ID NO:74、94和103所示的氨基酸序列组成;分别由如SEQ ID NO:73、93和101所示的氨基酸序列组成;或,分别由如SEQ ID NO:75、95和104所示的氨基酸序列组成;或者

(b) 所述VH区包含CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,所述CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3分别由如SEQ ID NO:18、72和20所示的氨基酸序列组成;和

所述VL区包含CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,所述CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别由如SEQ ID NO:80、100和109所示的氨基酸序列组成;分别由如SEQ ID NO:77、97和106所示的氨基酸序列组成;或,分别由如SEQ ID NO:78、98和107所示的氨基酸序列组成。

2. 如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中:

所述抗体或其抗原结合片段的VH和VL区包含与SEQ ID NO:63和71所示的序列分别具有至少90%相同性的氨基酸序列;

所述抗体或其抗原结合片段的VH和VL区包含与SEQ ID NO:11和65所示的序列分别具有至少90%相同性的氨基酸序列;

所述抗体或其抗原结合片段的VH和VL区包含与SEQ ID NO:60和64所示的序列分别具有至少90%相同性的氨基酸序列;

所述抗体或其抗原结合片段的VH和VL区包含与SEQ ID NO:61和66所示的序列分别具有至少90%相同性的氨基酸序列;

所述抗体或其抗原结合片段的VH和VL区包含与SEQ ID NO:62和69所示的序列分别具有至少90%相同性的氨基酸序列;或

所述抗体或其抗原结合片段的VH和VL区包含与SEQ ID NO:63和90所示的序列分别具有至少90%相同性的氨基酸序列。

3. 如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中:

所述抗体或其抗原结合片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:63和71的氨基酸序列;

所述抗体或其抗原结合片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:11和65的氨基酸序列;

所述抗体或其抗原结合片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:60和64的氨基酸序列;

所述抗体或其抗原结合片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:61和66的氨基酸序列;

所述抗体或其抗原结合片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:62和69的氨基酸序列;或

所述抗体或其抗原结合片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:63和90的氨基酸序列。

4. 如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述抗体或其抗原结合片段能特异性结合至人CD19。

5. 如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述抗体或其抗原结合片段的结合亲和性与参考抗CD19抗体对CD19的结合亲和性一样高,所述参考抗CD19抗体选自下组:FMC63和SJ25C1。

6. 如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述抗体或其抗原结合片

段对人CD19的结合亲和性EC50和/或解离常数低于100nM。

7.如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述抗体或其抗原结合片段对人CD19的结合亲和性EC50和/或解离常数低于50nM。

8.如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述抗体或其抗原结合片段对人CD19的结合亲和性EC50和/或解离常数低于40nM。

9. 如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段, 其中, 所述抗体或其抗原结合片段对人CD19的结合亲和性EC50和/或解离常数低于30nM。

10.如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述抗体或其抗原结合片段对人CD19的结合亲和性EC50和/或解离常数低于25nM。

11.如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述抗体或其抗原结合片段对人CD19的结合亲和性EC50和/或解离常数低于20nM。

12.如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述抗体或其抗原结合片段对人CD19的结合亲和性EC50和/或解离常数低于19nM。

13.如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述抗体或其抗原结合片段对人CD19的结合亲和性EC50和/或解离常数低于18nM。

14.如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述抗体或其抗原结合片段对人CD19的结合亲和性EC50和/或解离常数低于17nM。

15. 如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段, 其中, 所述抗体或其抗原结合片段对人CD19的结合亲和性EC50和/或解离常数低于16nM。

16.如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述抗体或其抗原结合片段对人CD19的结合亲和性EC50和/或解离常数低于15nM。

17.如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述抗体或其抗原结合片段对人CD19的结合亲和性EC50和/或解离常数低于14nM。

18.如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述抗体或其抗原结合片段对人CD19的结合亲和性EC50和/或解离常数低于13nM。

19.如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述抗体或其抗原结合片段对人CD19的结合亲和性EC50和/或解离常数低于12nM。

20. 如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段, 其中, 所述抗体或其抗原结合片段对人CD19的结合亲和性EC50和/或解离常数低于11nM。

21.如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述抗体或其抗原结合片段对人CD19的结合亲和性EC50和/或解离常数低于10nM。

22.如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述抗体或其抗原结合片段对人CD19的结合亲和性EC50和/或解离常数低于9nM。

23. 如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段, 其中, 所述抗体或其抗原结合片段对人CD19的结合亲和性EC50和/或解离常数低于8nM。

24.如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述抗体或其抗原结合片段对人CD19的结合亲和性EC50和/或解离常数低于7nM。

25. 如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段, 其中, 所述抗体或其抗原结合片段对人CD19的结合亲和性EC50和/或解离常数低于6nM。

26. 如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述抗体或其抗原结合片段对人CD19的结合亲和性EC50和/或解离常数低于5nM。

27. 如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述抗体或其抗原结合片段对人CD19的结合亲和性EC50和/或解离常数低于4nM。

28. 如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述抗体或其抗原结合片段对人CD19的结合亲和性EC50和/或解离常数低于3nM。

29. 如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述抗体或其抗原结合片段对人CD19的结合亲和性EC50和/或解离常数低于2nM。

30. 如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述抗体或其抗原结合片段对人CD19的结合亲和性EC50和/或解离常数低于1nM。

31. 如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述抗体或其抗原结合片段是人抗体或片段。

32. 如权利要求3所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述抗体或其抗原结合片段是人抗体或片段。

33. 如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其为单链片段。

34. 如权利要求3所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其为单链片段。

35. 如权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其为包含由柔性接头接合的抗体可变区的抗原结合片段。

36. 如权利要求33所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述抗原结合片段包含scFv。

37. 如权利要求34所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述抗原结合片段包含scFv。

38. 如权利要求36所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述scFv以VH-VL取向。

39. 如权利要求37所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述scFv以VH-VL取向。

40. 如权利要求36所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述scFv包含接头,所述接头含有SEQ ID NO:34所示的序列。

41. 如权利要求37所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述scFv包含接头,所述接头含有SEQ ID NO:34所示的序列。

42. 如权利要求36所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述scFv包含与SEQ ID NO:45,49,51,53,57,或89中任一所示的氨基酸序列具有至少95%序列相同性的序列。

43. 如权利要求36所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段,其中,所述scFv包含SEQ ID NO:45,49,51,53,57,或89中任一所示的氨基酸序列。

44. 一种偶联物,其包含

a) 抗CD19抗体或其抗原结合片段,包含重链可变(VH)区和轻链可变(VL)区,其中:

(i) 所述VH区包含重链互补决定区1(CDR-H1)、CDR-H2和CDR-H3,所述CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3分别具有如SEQ ID NO:18、19和20所示的氨基酸序列,并且

所述VL区包含轻链互补决定区1(CDR-L1)、CDR-L2和CDR-L3,所述CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别具有如SEQ ID NO:21、22和23所示的氨基酸序列;分别具有如SEQ ID NO:21、22和24所示的氨基酸序列;分别具有如SEQ ID NO:25、26和27所示的氨基酸序列;分别具有如



SEQ ID NO:28、29和30所示的氨基酸序列;分别具有如SEQ ID NO:31、32和33所示的氨基酸序列;分别具有如SEQ ID NO:74、94和103所示的氨基酸序列;分别具有如SEQ ID NO:73、93和101所示的氨基酸序列;或分别具有如SEQ ID NO:75、95和104所示的氨基酸序列;或

(ii) 所述VH区包含CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,所述CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3分别由如SEQ ID NO:18、72和20所示的氨基酸序列组成;并且

所述VL区包含CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,所述CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别由如SEQ ID NO:80、100和109所示的氨基酸序列组成;分别由如SEQ ID NO:77、97和106所示的氨基酸序列组成;或分别由如SEQ ID NO:78、98和107所示的氨基酸序列组成;并且

b) 细胞毒剂、成像剂、酶或其片段,或多聚化结构域。

45. 如权利要求44所述的偶联物,其中,所述偶联物包含所述抗CD19抗体或其抗原结合片段,和细胞毒剂。

46. 如权利要求45所述的偶联物,其中,所述细胞毒剂选自下组:化疗剂、生长抑制剂、酶、毒素和放射性同位素。

47. 如权利要求45所述的偶联物,其中,所述细胞毒剂是化疗剂,其选自下组:美登木素、澳瑞他汀、多拉司他汀、卡奇霉素、蒽环类抗生素、甲氨蝶呤、紫杉烷、单端孢霉烯、CC1065,和长春花生物碱。

48. 如权利要求45所述的偶联物,其中,所述细胞毒剂是长春地辛。

49. 如权利要求47所述的偶联物,其中:

(a) 所述澳瑞他汀是单甲基澳瑞他汀E或单甲基澳瑞他汀F;和/或

(b) 所述蒽环类抗生素是道诺霉素或阿霉素;和/或

(c) 所述紫杉烷选自下组:多西他赛、紫杉醇、莱龙太素、泰斯它赛和奥它塔赛;和/或

(d) 所述长春花生物碱选自下组:长春新碱和长春花碱。

50. 如权利要求45所述的偶联物,其中,所述细胞毒剂是依托泊苷。

51. 如权利要求45所述的偶联物,其中,所述细胞毒剂是化疗剂,其选自下组:甲氨蝶呤、长春新碱、长春花碱、依托泊苷、多柔比星、美法仑、丝裂霉素C、苯丁酸氮芥和正定霉素。

52. 如权利要求45所述的偶联物,其中,所述细胞毒剂是阿霉素。

53. 如权利要求45所述的偶联物,其中,所述细胞毒剂是毒素或其片段,其选自下组:白喉A链、白喉毒素的非结合活性片段、外毒素A链、蓖麻毒蛋白A链、相思豆毒蛋白A链、蒴莲根毒素A链、 $\alpha$ -帚曲菌素、油桐蛋白、石竹素蛋白、美洲商陆蛋白、苦瓜抑制剂、麻疯树毒蛋白、巴豆毒蛋白、肥皂草抑制剂、白树毒素、分裂毒素、局限曲菌素、酚霉素、依诺霉素和单端孢霉烯族毒素。

54. 如权利要求45所述的偶联物,其中,所述细胞毒剂是放射性同位素,其选自下组:At<sup>211</sup>, I<sup>131</sup>, I<sup>125</sup>, Y<sup>90</sup>, Re<sup>186</sup>, Re<sup>188</sup>, Sm<sup>153</sup>, Bi<sup>212</sup>, P<sup>32</sup>, Pb<sup>212</sup>, 和Lu的放射性同位素。

55. 如权利要求44所述偶联物,其中所述偶联物包含所述抗CD19抗体或其抗原结合片段和成像剂。

56. 如权利要求55所述的偶联物,其中,所述成像剂是放射性核素。

57. 如权利要求56所述的偶联物,其中,所述放射性核素选自下组:<sup>111</sup>In, <sup>99</sup>Tc, <sup>14</sup>C, <sup>131</sup>I, <sup>125</sup>I和<sup>3</sup>H。

58. 如权利要求44所述的偶联物,其中所述偶联物包含所述抗CD19抗体或其抗原结合



且所述胞内信号转导结构域包含ITAM。

70. 如权利要求68所述的嵌合抗原受体,其中,所述胞内信号转导结构域包含CD3- $\zeta$ 链的信号转导结构域。

71. 如权利要求68所述的嵌合抗原受体,其还包含跨膜结构域,所述跨膜结构域连接所述胞外部分和所述胞内信号转导结构域。

72. 如权利要求71所述的嵌合抗原受体,其中,所述跨膜结构域包含CD28的跨膜部分。

73. 如权利要求68-72中任一项所述的嵌合抗原受体,其还包含T细胞共刺激分子的胞内信号转导结构域。

74. 如权利要求73所述的嵌合抗原受体,其中,所述T细胞共刺激分子选自下组:CD28和41BB。

75. 一种核酸,其编码如权利要求1-43中任一项所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段或如权利要求68-74中任一项所述的嵌合抗原受体。

76. 一种工程改造的细胞,其表达受体,所述受体包含如权利要求1-43中任一项所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段、如权利要求44-67中任一项所述的偶联物或如权利要求68-74中任一项所述的嵌合抗原受体。

77. 如权利要求76所述的工程改造的细胞,其中所述工程改造的细胞是T细胞。

78. 一种组合物,其包含如权利要求1-43中任一项所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段、如权利要求44-67中任一项所述的偶联物或如权利要求68-74中任一项所述的嵌合抗原受体。

79. 如权利要求78所述的组合物,其还包含药学上可接受的赋形剂。

80. 如权利要求1-43中任一项所述的抗CD19抗体或其抗原结合片段、如权利要求44-67中任一项所述的偶联物或如权利要求68-74中任一项所述的嵌合抗原受体在制备用于治疗B细胞恶性肿瘤的药物中的用途。

81. 如权利要求80所述的用途,其中,所述B细胞恶性肿瘤是白血病或淋巴瘤。

82. 如权利要求80所述的用途,其中,所述B细胞恶性肿瘤选自下组:B细胞慢性淋巴细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、幼淋巴细胞性白血病、毛细胞白血病、非急性淋巴细胞性白血病、非霍奇金淋巴瘤、多发性骨髓瘤、惰性B细胞淋巴瘤和霍奇金淋巴瘤。

83. 如权利要求80所述的用途,其中,所述B细胞恶性肿瘤是急性淋巴细胞性白血病。

84. 如权利要求80所述的用途,其中,所述B细胞恶性肿瘤选自下组:弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、脾边缘带淋巴瘤和套细胞淋巴瘤。

85. 如权利要求78或权利要求79所述的组合物在制备用于治疗B细胞恶性肿瘤的药物中的用途。

86. 如权利要求85所述的用途,其中,所述B细胞恶性肿瘤是白血病或淋巴瘤。

87. 如权利要求85所述的用途,其中,所述B细胞恶性肿瘤选自下组:B细胞慢性淋巴细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、幼淋巴细胞性白血病、毛细胞白血病、非急性淋巴细胞性白血病、非霍奇金淋巴瘤、多发性骨髓瘤、惰性B细胞淋巴瘤和霍奇金淋巴瘤。

88. 如权利要求85所述的用途,其中,所述B细胞恶性肿瘤是常见急性淋巴细胞性白血病。

89. 如权利要求85所述的用途,其中,所述B细胞恶性肿瘤选自下组:弥漫性大B细胞淋

巴瘤、滤泡性淋巴瘤、脾边缘带淋巴瘤和套细胞淋巴瘤。

## CD19特异性抗体和嵌合抗原受体

### [0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2014年8月28日提交的题为“CD19特异性抗体和嵌合抗原受体”的美国临时申请号62/043,273,和2014年11月12日提交的题为“CD19特异性抗体和嵌合抗原受体”的美国临时申请号62/078,942的优先权,其内容通过引用其全文纳入本文。

### [0003] 通过引用纳入序列表

[0004] 本申请与电子格式的序列表一同提交。所提供的序列表名称为735042000740seqlist.txt,创建于2015年4月28日,其文件大小为215kb。该序列表的电子格式的信息通过引用其全文纳入本文。

## 技术领域

[0005] 本发明在一些方面中涉及CD19结合分子,具体地,涉及抗CD19抗体,包括抗体片段。本发明还涉及包含所述抗体的重组受体,包括含有所述抗体的嵌合抗原受体(CAR)。本发明还涉及表达所述受体和抗体的经遗传工程改造的细胞,及其在过继细胞疗法中的应用。

## 背景

[0006] CD19在正常B细胞上表达,并由各种疾病和病症(包括大多数B细胞恶性肿瘤)的细胞和组织表达。大多数B细胞恶性肿瘤患者未能通过现有疗法(包括靶向CD19和/或其它B细胞标志物的疗法)治愈。各种CD19-结合分子,包括抗CD19抗体,和含抗CD19抗体部分的嵌合抗原受体,以及表达所述嵌合受体的细胞,是可及的。需要改进的CD19-结合分子和经工程改造的CD19靶向性细胞。例如,需要具有免疫原性降低的分子和细胞,和/或,人抗体,其包括特异性地结合至CD19的抗体片段,以及表达所述人抗体的嵌合受体,以用于过继细胞疗法。提供了满足上述需求的实施方式。

## 发明概述

[0007] 提供了CD19-结合分子,包括多肽,例如抗CD19抗体,包括抗原结合性抗体片段,例如包括scFv片段在内的单链片段,以及包含所述抗体的多肽,包括融合蛋白、受体,例如重组受体,包括嵌合受体例如含有所述抗体作为抗原识别部分的嵌合抗原受体(CAR)。在具体实施方式中,所述抗体是人抗体,例如包括scFv在内的人单链片段。

[0008] 提供了抗体或其抗原结合片段,包括特异性地结合至CD19的那些。在一些实施方式中,所述抗体包含具体的互补决定区(CDR),包括重链CDR(CDR-H)和轻链CDR(CDR-L)。在一些实施方式中,所述CDR具有或包括参比抗体或其链或序列的CDR的氨基酸序列。

[0009] 在一些实施方式中,所述抗体或其抗原结合片段包括重链可变(VH)区和轻链可变(VL)区。在一些实施方式中,所述抗体,例如,其VH区,包括重链互补决定区3(CDR-H3),其包含示于SEQ ID NO:20的氨基酸序列。在一些实施方式中,所述VH区与示于SEQ ID NO:11、12、60、61、63或62的VH区氨基酸序列具有至少是或约90%的序列相同性,例如,与其具有至

少是或约91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的序列相同性。在一些实施方式中,所述抗体或片段包括SEQ ID NO:18的CDR-H1和SEQ ID NO:20的CDR-H3。在一些实施方式中,所述抗体或片段还包括含有SEQ ID NO:81、82、19或72的CDR-H2序列。

[0010] 在一些实施方式中,所述抗体具有CDR-H1、CDR-H2和/或CDR-H3,其分别包括所述参比抗体的重链可变(VH)区中所含的CDR 1、2和3序列的氨基酸序列。在一些实施方式中,所述参比抗体的VH区具有SEQ ID NO:11或12所示的氨基酸序列。在一些实施方式中,其具有SEQ ID NO:11、12、60、61、63或62所示的氨基酸序列。

[0011] 在一些实施方式中,所述抗体具有,例如,还包括,CDR-L1、CDR-L2和/或CDR-L3、其分别包含参比抗体的轻链可变(V<sub>L</sub>)区中所含的CDR 1、2和3序列的氨基酸序列。在一些实施方式中,所述参比抗体的V<sub>L</sub>具有SEQ ID NO:13、14、15、16或17所示的氨基酸序列。在一些实施方式中,所述参比抗体的VL具有SEQ ID NO:13、14、15、16、17、71、65、64、66、70、69、67、90或91所示的氨基酸序列。

[0012] 在一些实施方式中,所述参比抗体、VH或VL中的CDR指,通过任何编号方案定义的CDR,例如,本文中定义的那些。在一些实施方式中,所述参比抗体或VH或VL中的CDR指,通过本文所述的Kabat编号方案定义的CDR、通过本文所述的Chothia方案或本文所述的Contact方案定义的CDR。

[0013] 在一些实施方式中,所述抗体包含VH链,其包括CDR-H1、CDR-H2和/或CDR-H3,其中CDR-H1包含氨基酸序列DYAMH(SEQ ID NO:18)或与SEQ ID NO:18具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列;CDR-H2包含SEQ ID NO:81或82或19或72的氨基酸序列或与SEQ ID NO:81或与SEQ ID NO:82或与SEQ ID NO:19或与SEQ ID NO:72具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列;和/或CDR-H3包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列或与SEQ ID NO:20具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0014] 在一些实施方式中,所述抗体包含:含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:81或82的氨基酸序列的CDR-H2,和含有示于SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR-H3。

[0015] 在一些实施方式中,所述抗体具有CDR-1、其包含如下氨基酸序列:X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>X<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>X<sub>13</sub>X<sub>14</sub>(SEQ ID NO:110),其中X<sub>1</sub>是T、W、S或R;X<sub>2</sub>是G或A;X<sub>3</sub>是I、T、D或S;X<sub>4</sub>是S、R、T或Q;X<sub>5</sub>为空或是S;X<sub>6</sub>为空、是D、N或G;X<sub>7</sub>为空、是V或L;X<sub>8</sub>是X或为空;X<sub>9</sub>是X或为空;X<sub>10</sub>是X;X<sub>11</sub>是X;X<sub>12</sub>是Y、F、D或W;X<sub>13</sub>是V、A或L、且X<sub>14</sub>是S、N或A。例如,在一些实施方式中,所述抗体具有CDR-L1、该CDR-L1包含如下氨基酸序列:X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>X<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>X<sub>13</sub>X<sub>14</sub>(SEQ ID NO:111),其中X<sub>1</sub>是T、Q、S或R;X<sub>2</sub>是G或A;X<sub>3</sub>是I、T、D或S;X<sub>4</sub>是S、R、T或Q;X<sub>5</sub>为空或是S;X<sub>6</sub>是G、D、N或为空;X<sub>7</sub>为空、是V或L;X<sub>8</sub>是D、G、I、L、S或为空;X<sub>9</sub>是S、G、A、I、R或为空;X<sub>10</sub>是H、Y、F、S或N;X<sub>11</sub>是R、N、D、H或Y;X<sub>12</sub>是Y、F、D或W;X<sub>13</sub>是V、A或L;并且X<sub>14</sub>是S、N或A;和/或

[0016] CDR-L2、该CDR-L2包含如下氨基酸序列:X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>(SEQ ID NO:112),其中X<sub>1</sub>是D或S;X<sub>2</sub>是F、V、N、K或A;X<sub>3</sub>是S、T、D或N;X<sub>4</sub>是K、V、N、Q或R;X<sub>5</sub>是R、V或L;X<sub>6</sub>是P、K、A或E;并且X<sub>7</sub>是S、P、A或T,和/或

[0017] CDR-L3、该CDR-L3包含如下氨基酸序列:X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>X<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>(SEQ ID NO:

115), 其中 $X_1$ 是X; $X_2$ 是S、Q、A或T; $X_3$ 是Y、S、W、R; $X_4$ 是A、D、R、T或Y; $X_5$ 是X; $X_6$ 是X; $X_7$ 是S、P、L、Y、G; $X_8$ 是X或为空; $X_9$ 是X或为空; $X_{10}$ 是L或为空; $X_{11}$ 是X;并且 $X_{12}$ 是V、T或L。例如, 在一些实施方式中, 所述抗体具有CDR-L3、该CDR-L3包含如下氨基酸序列: $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$  (SEQ ID NO: 114), 其中 $X_1$ 是S、G、T、A、Q、C或N; $X_2$ 是S、Q、A或T; $X_3$ 是Y、S、W、R; $X_4$ 是A、D、R、T或Y; $X_5$ 是A、S、P、G、N或D; $X_6$ 是I、S、G、T、A、L、H、R、N; $X_7$ 是S、P、L、Y、G; $X_8$ 是P、T、S、Q、M、R、N或为空; $X_9$ 是S、L、N、A、M或为空; $X_{10}$ 是L或为空; $X_{11}$ 是Y、W、F、V、A或L;并且 $X_{12}$ 是V、T或L。

[0018] 在一些所述实施方式中, 在所述CDR-L1中,  $X_3$ 是I、T或S; $X_4$ 是S、T或Q; $X_8$ 是D、G、I、S或为空; $X_9$ 是S、G、I或为空; $X_{10}$ 是H、Y、S或N; $X_{11}$ 是R、N、D或H; $X_{12}$ 是Y或D;并且 $X_{13}$ 是V或L;和/或, 在所述CDR-L2中,  $X_1$ 是D; $X_4$ 是K、V、N、Q或R; $X_6$ 是P、K或A;并且 $X_7$ 是S、A或T;和/或, 在所述CDR-L3中,  $X_1$ 是S、G、T、A、Q、C或N; $X_5$ 是A、S、P、G、N或D; $X_6$ 是I、S、G、T、A、L、H、R或N; $X_8$ 是P、T、S、Q、M、R、N或为空; $X_9$ 是S、L、N、A、M或为空;并且 $X_{11}$ 是Y、W、F、V、A或L。在一些实施方式中, 在所述CDR-L3中,  $X_1$ 是S、G、Q或N; $X_2$ 是S、Q或T; $X_4$ 是A、D、T或Y; $X_5$ 是A、S或G;并且 $X_6$ 是I、S、N、R、A、H或T。

[0019] 在一些实施方式中, 所述CDR-H2包含SEQ ID NO: 19 (GISWNSGRIGYADSVKG) 所示的氨基酸序列;或所述CDR-H2包含SEQ ID NO: 72 (GISWNSGSIGYADSVKG) 所示的氨基酸序列。

[0020] 在一些实施方式中, 所述CDR-L1包含SEQ ID NO: 80、77、74、73、75、79、78、76、21、25、28或31所示的氨基酸序列。在一些实施方式中, 所述CDR-L1包含SEQ ID NO: 80、77、74、73、78、21或28所示的氨基酸序列。

[0021] 在一些实施方式中, 所述CDR-L2包含SEQ ID NO: 100、97、94、93、95、99、98、96、22、26、29或32所示的氨基酸序列。在一些实施方式中, 所述CDR-L2包含SEQ ID NO: 100、97、94、93、98、22或29所示的氨基酸序列。

[0022] 在一些实施方式中, 所述CDR-L3包含SEQ ID NO: 109、106、103、101、104、108、107、105、102、23、24、27、30或33所示的氨基酸序列。在一些实施方式中, 所述CDR-L3包含SEQ ID NO: 109、106、103、101、107、24或30所示的氨基酸序列。

[0023] 在一些实施方式中, 所述CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO: 21、22和23的序列, 或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO: 21、22和24的序列, 或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO: 25、26和27的序列, 或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO: 28、29和30的序列, 或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO: 31、32和33的序列, 或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO: 80、100和109的序列, 或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO: 77、97和106的序列, 或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列;CDR-L1、CDR-L2和

CDR-L3分别包含SEQ ID NO:74、94和103的序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:73、93和101的序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:75、95和104的序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:79、99和108的序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:78、98和107的序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:76、96和105的序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:73、93和102的序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列;或者,CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:77、97和106的序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0024] 在一些实施方式中,所述CDR-L3包含SEQ ID NO:116、117、118、119、120或121所示的氨基酸序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0025] 在一些实施方式中,所述CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3分别包含SEQ ID NO:18、81和20的序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列;CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3分别包含SEQ ID NO:18、19和20的序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列;CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3分别包含SEQ ID NO:18、82和20的序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列;或者,CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3分别包含SEQ ID NO:18、72和20的序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0026] 在一些实施方式中,所述抗体具有CDR-L1、该CDR-L1包含氨基酸序列 $X_1GX_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}S$ (SEQ ID NO:36),其中 $X_1$ 是T、S或Q, $X_3$ 是T、S或D, $X_4$ 是T或S, $X_5$ 为空或是S, $X_6$ 为空、是D或N, $X_7$ 为空或是V, $X_8$ 为空、是G或I, $X_9$ 为空、是G或R, $X_{10}$ 是S、Y或N, $X_{11}$ 是D或N, $X_{12}$ 是D或Y, $X_{13}$ 是V或A;CDR-L2包含氨基酸序列 $X_1X_2X_3X_4RPS$ (SEQ ID NO:37),其中 $X_1$ 是D或S, $X_2$ 是V、N或K, $X_3$ 是S、N或D和 $X_4$ 是K、Q或N;和/或,CDR-L3包含氨基酸序列 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (SEQ ID NO:113),其中 $X_1$ 是C、S、A、G或N; $X_2$ 是S、A或T; $X_3$ 是Y、W或R; $X_4$ 是A或D; $X_5$ 是G、D或S; $X_6$ 是R、S或N; $X_7$ 是Y、L或G; $X_8$ 是N或S; $X_9$ 是S、N或为空; $X_{10}$ 为空; $X_{11}$ 是V、A或W;并且 $X_{12}$ 是L或V。

[0027] 在一些实施方式中,所述抗体具有CDR-L1、该CDR-L1包含氨基酸序列 $X_1GX_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}S$ (SEQ ID NO:36),其中 $X_1$ 是T、S或Q, $X_3$ 是T、S或D, $X_4$ 是T或S, $X_5$ 为



空或是S,  $X_6$ 为空、是D或N,  $X_7$ 为空或是V,  $X_8$ 为空、是G或I,  $X_9$ 为空、是G或R,  $X_{10}$ 是S、Y或N,  $X_{11}$ 是D或N,  $X_{12}$ 是D或Y,  $X_{13}$ 是V或A; CDR-L2包含氨基酸序列 $X_1X_2X_3X_4$ RPS (SEQ ID NO:37), 其中 $X_1$ 是D或S,  $X_2$ 是V、N或K,  $X_3$ 是S、N或D和 $X_4$ 是K、Q或N; 和/或CDR-L3包含氨基酸序列 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$  (SEQ ID NO:38), 其中 $X_1$ 是C、S、A、G或N;  $X_2$ 是S、A或T;  $X_3$ 是Y、W或R;  $X_4$ 是A或D;  $X_5$ 是G、D或S;  $X_6$ 是R、S或N;  $X_7$ 是Y、L或G;  $X_8$ 是N或S;  $X_9$ 是S或为空;  $X_{10}$ 是V、A或N;  $X_{11}$ 是W或为空; 并且 $X_{12}$ 是L或V。

[0028] 在一些所述实施方式中, 在所述CDR-L1中,  $X_1$ 是T或S,  $X_3$ 是T或S,  $X_{11}$ 是D或N和 $X_{13}$ 是V; 和/或, 在所述CDR-L2中,  $X_2$ 是V或N且 $X_4$ 是K或Q。

[0029] 在一些实施方式中, 所述CDR-H2包含SEQ ID NO:19 (GISWNSGRIGYADSVKG) 所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO:19具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0030] 在一些实施方式中, 所述CDR-L1包含SEQ ID NO:21、25、28或31所示的序列, 或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列; 和/或, 所述CDR-L2包含SEQ ID NO:22、26、29或32所述的序列, 或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列; 和/或, 所述CDR-L3包含SEQ ID NO:23、24、27、30或33所示的序列, 或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0031] 在一些实施方式中, 所述CDR-L1、CDR-L2和/或CDR-L3分别包含SEQ ID NO:21、22和/或23的序列, 或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0032] 在一些实施方式中, 所述CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:21、22和24的序列, 或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0033] 在一些实施方式中, 所述CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:25、26和27的序列, 或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0034] 在一些实施方式中, 所述CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:28、29和30的序列, 或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。在一些实施方式中, 所述CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:31、32和33的序列, 或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0035] 在一些实施方式中, 所述重链和轻链CDR是前述CDR-L和CDR-H序列的任何组合, 包括与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列的任何组合。

[0036] 在具体实施方式中, 所述抗体或片段包含VH区, 其含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列, 或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0037] 在具体实施方式中, 所述抗体或片段包含VH区, 其含有SEQ ID NO:12的氨基酸序

列,或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0038] 在具体实施方式中,所述抗体或片段包含VL区,其含有SEQ ID NO:13的氨基酸序列,或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0039] 在具体实施方式中,所述抗体或片段包含VL区,其含有SEQ ID NO:14的氨基酸序列,或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0040] 在具体实施方式中,所述抗体或片段包含VL区,其含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列,或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0041] 在具体实施方式中,所述抗体或片段包含VL区,其含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列,或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0042] 在具体实施方式中,所述抗体或片段包含VL区,其含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列,或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0043] 在具体实施方式中,所述抗体或片段包含VH区,其含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列,或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0044] 在具体实施方式中,所述抗体或片段包含VH区,其含有SEQ ID NO:60的氨基酸序列,或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0045] 在具体实施方式中,所述抗体或片段包含VH区,其含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列,或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0046] 在具体实施方式中,所述抗体或片段包含VH区,其含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列,或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0047] 在具体实施方式中,所述抗体或片段包含VH区,其含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列,或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0048] 在具体实施方式中,所述抗体或片段包含VL区,其含有SEQ ID NO:71的氨基酸序列,或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0049] 在具体实施方式中,所述抗体或片段包含VL区,其含有SEQ ID NO:90的氨基酸序列,或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0050] 在具体实施方式中,所述抗体或片段包含VL区,其含有SEQ ID NO:91的氨基酸序

列,或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0051] 在具体实施方式中,所述抗体或片段包含VL区,其含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列,或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0052] 在具体实施方式中,所述抗体或片段包含VL区,其含有SEQ ID NO:65的氨基酸序列,或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0053] 在具体实施方式中,所述抗体或片段包含VL区,其含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列,或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0054] 在具体实施方式中,所述抗体或片段包含VL区,其含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列,或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0055] 在具体实施方式中,所述抗体或片段包含VL区,其含有SEQ ID NO:70的氨基酸序列,或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0056] 在具体实施方式中,所述抗体或片段包含VL区,其含有SEQ ID NO:69的氨基酸序列,或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0057] 在具体实施方式中,所述抗体或片段包含VL区,其含有SEQ ID NO:67的氨基酸序列,或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0058] 在具体实施方式中,所述抗体或片段的VH区包含SEQ ID NO:11、60、63或62的氨基酸序列,或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列;和/或所述抗体或片段的VL区包含SEQ ID NO:14、16、71、90、65、64或69的氨基酸序列,或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0059] 在一些实施方式中,所述抗体或片段的VH和VL区包含SEQ ID NO:12和17的氨基酸序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列;

[0060] 所述抗体或片段的VH和VL区包含SEQ ID NO:12和15的氨基酸序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列;

[0061] 所述抗体或片段的VH和VL区包含SEQ ID NO:11和13的氨基酸序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列;

[0062] 所述抗体或片段的VH和VL区包含SEQ ID NO:11和14的氨基酸序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列

相同性的序列；

[0063] 所述抗体或片段的VH和VL区包含SEQ ID NO:11和16的氨基酸序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列；

[0064] 所述抗体或片段的VH和VL区包含SEQ ID NO:63和71的氨基酸序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列；

[0065] 所述抗体或片段的VH和VL区包含SEQ ID NO:62和68的氨基酸序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列；

[0066] 所述抗体或片段的VH和VL区包含SEQ ID NO:11和65的氨基酸序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列；

[0067] 所述抗体或片段的VH和VL区包含SEQ ID NO:60和64的氨基酸序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列；

[0068] 所述抗体或片段的VH和VL区包含SEQ ID NO:61和66的氨基酸序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列；

[0069] 所述抗体或片段的VH和VL区包含SEQ ID NO:63和70的氨基酸序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列；

[0070] 所述抗体或片段的VH和VL区包含SEQ ID NO:62和69的氨基酸序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列；

[0071] 所述抗体或片段的VH和VL区包含SEQ ID NO:12和67的氨基酸序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列；

[0072] 所述抗体或片段的VH和VL区包含SEQ ID NO:12和91的氨基酸序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列；或者

[0073] 所述抗体或片段的VH和VL区包含SEQ ID NO:63和90的氨基酸序列,或分别与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0074] 在一些实施方式中,所述VH区包含SEQ ID NO:11且所述VL区包含SEQ ID NO:13；在一些实施方式中,所述VH区包含SEQ ID NO:11且所述VL区包含SEQ ID NO:14；在一些实施方式中,所述VH区包含SEQ ID NO:11且所述VL区包含SEQ ID NO:15；在一些实施方式中,所述VH区包含SEQ ID NO:11且所述VL区包含SEQ ID NO:16、或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列；在

一些实施方式中,所述VH区包含SEQ ID NO:11且所述VL区包含SEQ ID NO:17、或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0075] 在一些实施方式中,所述VH区包含SEQ ID NO:12且所述VL区包含SEQ ID NO:13;在一些实施方式中,所述VH区包含SEQ ID NO:12且所述VL区包含SEQ ID NO:14;在一些实施方式中,所述VH区包含SEQ ID NO:12且所述VL区包含SEQ ID NO:15;在一些实施方式中,所述VH区包含SEQ ID NO:12且所述VL区包含SEQ ID NO:16、或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列;在一些实施方式中,所述VH区包含SEQ ID NO:12且所述VL区包含SEQ ID NO:16、或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0076] 在一些实施方式中,所述抗体是单链片段,例如具有由一个或多个柔性免疫球蛋白接头接合的两个或更多个可变区的单链片段。在一些实施方式中,所述抗体是scFv。在一些实施方式中,所述scFv包含富含丝氨酸和/或甘氨酸的接头,例如包含GGGS (SEQ ID NO:122) 或GGGGS (SEQ ID NO:123) 重复的接头,例如包含SEQ ID NO:34所示序列的接头。在一些实施方式中,所述接头包含SEQ ID NO:43的序列。

[0077] 在一些实施方式中,所述抗体片段,例如,scFv,包含V<sub>H</sub>区或其部分,然后是接头,然后是V<sub>L</sub>或其部分。在一些实施方式中,所述抗体片段,例如,scFv,包含V<sub>L</sub>区或其部分,然后是接头,然后是V<sub>H</sub>区或其部分。

[0078] 在一些实施方式中,所述scFv包含SEQ ID NO:2、4、6、8或10所示的氨基酸序列,或与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列相同性的序列。

[0079] 在一些实施方式中,所述scFv包含SEQ ID NO:2、4、6、8、10、45、47、49、51、53、55、57、59、87或89所示的氨基酸序列,或与所述序列具有至少是或约90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同性的序列。

[0080] 在一些实施方式中,所述抗体或片段特异性地结合至CD19的相同、相似和/或重叠表位,因为该表位由参比抗体特异性结合,和/或,所述抗体与所述参比抗体竞争结合至CD19。在一些方面中,所述参比抗体是鼠或嵌合或人或人源化抗CD19抗体、FMC63、SJ25C1、具有SEQ ID NO:39和/或40的可变区序列的抗体,或具有SEQ ID NO:41和/或42的可变区序列。在一些方面中,所述参比抗体包括本文所述的序列的抗体,其包括前述实施方式所述的一种或多种序列。例如,在一些实施方式中,所述参比抗体可以是scFv,其包含SEQ ID NO:2、4、6、8、10、45、47、49、51、53、55、57、59、87或89所示的氨基酸序列。在一些实施方式中,所提供的抗体或片段包含的一个或多个或全部CDR与所述参比抗体中的那些不同。例如,在一些实施方式中,所提供的抗体或片段包含的一个或多个或全部CDR与称为FMC63或SJ25C1的抗体中的对应CDR不同。

[0081] 例如,提供了人抗体和抗原结合片段,其特异性地结合至CD19的相同或重叠表位,而所述表位被所述参比抗体特异性结合,所述参比抗体例如,FMC63、SJ25C1、具有SEQ ID NO:39和/或40的可变区序列的抗体,或具有SEQ ID NO:41和/或42的可变区序列的抗体,并且包含与所述参比抗体中存在的CDR不同的重链和轻链CDR。

[0082] 在一些实施方式中,所述抗体与参比抗体竞争结合的程度至少和参比抗体与自身竞争结合至CD19的程度相同,或者,竞争的程度比被所述参比抗体竞争的程度低不多于1.5倍或2倍、3倍、4倍、5倍或10倍,和/或,测得的IC50不高于所述参比抗体与自身竞争结合的IC50的1.5倍或2倍或3倍或4倍或5倍或10倍,例如,如在相同试验中检测。

[0083] 在一些实施方式中,所述抗体的结合亲和性至少或基本和所述参比抗体与CD19的结合亲和性一样高。在一些方面中,所述抗体的结合亲和性的EC50大致等于或低于参比抗体的EC50、或者比参比抗体的EC50大不超过约1.5倍或不超过约2倍、不超过3倍,和/或不超过10倍。在一些实施方式中,所述抗体的结合亲和性与所述参比抗体的对应形式相比较。比较是一般通过相同或相似试验进行。

[0084] 在任何所述实施方式的一些中,CD19是人CD19。在任何所述实施方式的一些中,所述抗体或片段特异性地结合,显示结合亲和性和/或竞争结合人CD19。

[0085] 在一些实施方式中,所述抗体是人抗体。在一些实施方式中,所述抗体是重组抗体。在一些实施方式中,所述抗体是单克隆抗体。在一些实施方式中,所述抗体是分离的。

[0086] 在一些实施方式中,所述抗体或片段还包括免疫球蛋白恒定区的至少部分。所述恒定区可包括人或其它抗体的CH1、CH2、CH3和/或CH4和/或CL中的任何一种或多种,并且具有任何类型,包括IgG、IgM、IgA、IgE和IgD,例如,包括人IgG,例如,IgG1或IgG4、恒定区结构域。在一些实施方式中,所述恒定区包含或是Fc区,例如人IgG Fc区。

[0087] 还提供分子,例如嵌合和/或融合分子,包括受体,例如重组受体,其包括任何实施方式的抗体(例如,包含在胞外结构域中或是胞外结构域的部分)和其它结构域,例如胞内信号转导结构域、间隔物、接头,和/或跨膜结构域。在一些实施方式中,所述受体是嵌合抗原受体,包含含有任何实施方式所述的抗体或片段的胞外部分和胞内信号转导结构域。

[0088] 在一些实施方式中,所述抗体或片段包含scFv。在一些实施方式中,所述胞内信号转导结构域包含ITAM和/或信号转导结构域,其能够递送信号接近含ITAM的分子或受体复合物(例如TCR受体复合物)的天然连接。在一些方面中,胞内信号转导结构域包含CD3-泽塔(CD3 $\zeta$ )链的信号转导结构域。

[0089] 在一些实施方式中,所述受体还包括一个或多个结构域,例如跨膜结构域,其连接抗体跨膜结构域,其连接胞外结构域和胞内信号转导结构域。在一些方面中,所述跨膜结构域包含共刺激分子的跨膜部分,所述共刺激分子例如T细胞共刺激分子,例如,CD28和/或41BB。在一些实施方式中,所述T细胞共刺激分子选自下组:CD28和41BB和在一些实施方式中,所述受体包括CD28和41BB的信号转导结构域。

[0090] 还提供核酸,所述核酸编码任何实施方式所述的抗体(包括片段),或受体,例如,任何实施方式所述的嵌合抗原受体,包括所述核酸的载体,和包含所述载体和/或核酸的细胞,例如,用于所述抗体和/或分子的表达。

[0091] 因此,还提供细胞和载体,其用于产生和表达所述分子,包括所述抗体和分子,例如受体,例如,嵌合抗原受体(CAR)。例如,提供了经工程改造的细胞,其表达任何实施方式所述的嵌合抗原受体。在一些方面中,所述细胞是T细胞。在一些方面中,所述细胞是NK细胞。在一些方面中,所述细胞是干细胞。

[0092] 还提供组合物,其包含所述抗体、受体、分子和/或细胞,包括药物组合物,例如,还包含药学上可接受的物质例如运载体。

[0093] 还提供给予方法,包括治疗方法,所述方法通过将任何实施方式所述的细胞、抗体、受体、组合物或其它分子给予对象来进行,例如,以有效量,例如,以治疗有效量给予。在一些实施方式中,所述对象具有或疑似具有与CD19相关联的疾病或紊乱,例如B细胞恶性肿瘤,例如B细胞慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、急性淋巴细胞性白血病 (ALL)、幼淋巴细胞性白血病、毛细胞白血病、常见急性淋巴细胞性白血病、非急性淋巴母细胞性白血病、非霍奇金淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤 (DLBCL)、多发性骨髓瘤、滤泡性淋巴瘤、脾、边缘带淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、惰性B细胞淋巴瘤或霍奇金淋巴瘤,或其中涉及B细胞的自身免疫或炎症性疾病。

[0094] 在一些实施方式中,相较于与所述抗体竞争结合至重叠表位的参比抗体(或包含所述参比抗体的受体)的给予而言,所述抗体或受体的给予与较低程度的免疫原性相关联。在一些方面中,所述参比抗体是人源化的、嵌合或非人抗体。

### 附图简要说明

[0095] 图1:图1A和1B显示来自结合试验的结果,所述结合试验比较,示例性的人scFv与表达CD19的HEK293细胞的结合,和,与不表达CD19的HEK293细胞的结合。MFI=平均荧光强度。

[0096] 图2显示SDS凝胶,其评估示例性的抗CD19抗体(scFv片段)的纯化。

[0097] 图3:图3A、3B和3C显示研究结果,该研究评估不同示例性scFv抗体(scFv片段),包括抗CD19抗体,的结合亲和性。MFI=平均荧光强度。

[0098] 图4显示研究结果,该研究评估不同示例性scFv抗体,包括抗CD19 scFv抗体片段,的结合亲和性。MFI=平均荧光强度。

[0099] 图5:图5A和5B显示来自竞争性结合试验的结果,其评估在不同浓度的竞争抗体的存在下,相应地标记的抗体的结合。MFI=平均荧光强度。

[0100] 图6显示来自竞争性结合试验的结果,其评估在不同浓度的竞争scFv抗体的存在下,标记的参比scFv抗体的结合。MFI=平均荧光强度。

[0101] 图7:图7A显示来自尺寸排阻色谱排阻色谱的结果;柱经校准,注射标准蛋白质,并且收集分离组分以产生参比。图7B显示在将抗CD19 scFv(克隆18B)注入相同柱并在相同条件下收集分离组分之后获得的结果。

[0102] 图8A显示来自结合试验的结果,其评估示例性人scFv克隆与表达CD19的细胞的结合,以从左到右的顺序,如下:仅细胞、拟上清液(Moc.Supe.)、阴性对照抗体(Neg.Ctrl.)、克隆18、克隆200至287、仅细胞、Moc.Supe、Neg.Ctrl.和克隆18。显示CD19特异性结合(以星号显示)的示例性命为(以从左到右的顺序):克隆213、克隆227、克隆241、克隆255、克隆272、克隆278、克隆283和克隆285。MFI=平均荧光强度。

[0103] 图8B显示来自结合试验的结果,其评估示例性人scFv克隆与表达CD19的细胞的结合,以从左到右的顺序,如下:仅细胞、拟上清液(Moc.Supe.)、阴性对照抗体(Neg.Ctrl.)、克隆18B、克隆300至387、仅细胞、Moc.Supe、Neg.Ctrl.和克隆18B。显示CD19特异性结合(以星号显示)的示例性命为(以从左到右的顺序):克隆302、克隆305、克隆313、克隆314、克隆318、克隆324、克隆327、克隆328、克隆336、克隆339、克隆377、克隆379和克隆382。MFI=平均荧光强度。

[0104] 图8C显示来自结合试验的结果,其评估示例性人scFv克隆与表达CD19的细胞的结合,以从左到右的顺序,如下:仅细胞、拟上清液(Moc.Supe.)、阴性对照抗体(Neg.Ctrl.)、克隆18B、克隆400至487、仅细胞、Moc.Supe.、Neg.Ctrl.和克隆18B。显示CD19特异性结合(以星号显示)的示例性命数为(以从左到右的顺序):克隆440和克隆448。

[0105] 图8D显示来自结合试验的结果,其比较示例性人scFv与表达CD19的K562细胞的结合,与不表达CD19的K562细胞相比较。MFI=平均荧光强度。

[0106] 图9显示SDS凝胶,其评估示例性的抗CD19抗体(scFv片段)的纯化。

[0107] 图10:图10A-E显示来自分开的结合试验的结果,所述试验评估不同示例性的scFv抗体,包括抗CD19 scFv抗体片段,的结合亲和性。MFI=平均荧光强度。

[0108] 图11显示来自竞争性结合试验的结果,其评估在不同浓度的竞争scFv抗体的存在下,标记的参比scFv抗体的结合。MFI=平均荧光强度。

[0109] 图12A显示不同CAR、以VH-VL(HL)取向(HL;深色线)或VL-VH取向(LH;灰色线),在转导的CD8<sup>+</sup>T细胞中的细胞表面表达,通过富集之前(pre)和在用抗EGFR抗体分选并利用CD19<sup>+</sup>B-LCL刺激来扩增后进行富集之后(post)的细胞的EGFR<sup>t</sup>表达来检测。

[0110] 图12B显示SDS凝胶,其评估示例性的人抗CD19 CAR在转导的原代人T细胞中的表达。

[0111] 图13A和13B显示针对表达CD19的细胞而表达不同抗CD19特异性CAR的原代人CD8<sup>+</sup>T细胞的溶细胞活性。C是仅EGFR<sup>t</sup>(阴性对照);FM是FMC63scFvCAR、18是克隆18 scFv CAR、17是克隆17 scFv CAR、76是克隆76scFvCAR、5是克隆5scFv CAR、且18B是克隆18B scFv CAR。

[0112] 图14A和14B显示与表达CD19的细胞共培养之后,表达不同抗CD19特异性CAR的原代人CD8<sup>+</sup>T细胞的细胞因子分泌。C是仅EGFR<sup>t</sup>(阴性对照);FM是FMC63 scFvCAR、18是克隆18 scFv CAR、17是克隆17 scFv CAR、76是克隆76scFvCAR、5是克隆5scFv CAR、且18B是克隆18B scFv CAR。

[0113] 图15显示与表达CD19的细胞共培养之后,表达不同抗CD19特异性CAR的原代人CD4<sup>+</sup>T细胞的细胞因子分泌。C是仅EGFR<sup>t</sup>(阴性对照);FM是FMC63scFvCAR、18是克隆18 scFv CAR、17是克隆17 scFv CAR、76是克隆76scFvCAR、5是克隆5scFv CAR、且18B是克隆18B scFv CAR。

[0114] 图16A和16B分别显示与表达CD19的细胞共培养之后,针对表达CD19的细胞而表达不同抗CD19特异性CAR的原代人CD8<sup>+</sup>T细胞或CD4<sup>+</sup>T细胞的增殖。

[0115] 图17:图17A显示,在给予用表达萤火虫荧光素酶的Raji细胞移植的NSG小鼠之后,表达不同抗CD19特异性CAR的原代人CD8<sup>+</sup>T细胞的抗肿瘤活性。图17B显示,表达不同抗CD19特异性CAR并以1:1的比例给予用Raji细胞移植的NSG小鼠的原代人CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞的抗肿瘤活性。

[0116] 图18:图18A显示,三种不同嵌合CD19分子各自的74-残基或75-残基近膜区的氨基酸序列。在图18A所示的全部三种序列下方,所述区域的各比对位置处,人和恒河猴序列包含相同氨基酸,用星号标记("\*")。在相比人序列,恒河猴序列包含不相同但保守的氨基酸取代的位置处,用":"标记。在相比人序列,恒河猴序列包含不相同但半保守的氨基酸取代的位置处,用"."标记。相比人序列,恒河猴序列包含插入或不相同、非保守/半保守取代的



位置处不用符号标记。图18B显示,与表达人CD19、恒河猴CD19或嵌合恒河猴/人CD19分子(V1、V2或V3)的细胞共培养之后,表达不同抗CD19特异性CAR的原代人CD8<sup>+</sup>T细胞的细胞因子分泌。C是仅EGFRt(阴性对照);FM是FMC63 scFvCAR、18是克隆18scFv CAR、17是克隆17scFv CAR、76是克隆76scFvCAR、5是克隆5scFv CAR、且18B是克隆18B scFv CAR。

## 发明详述

[0117] 提供了CD19-结合分子,包括抗体(包括抗原结合性抗体片段,例如单链片段,包括scFv)和重组受体,包括含有所述抗体和片段的嵌合受体,编码所述抗体和片段的核酸,以及细胞,例如重组细胞,其表达这些抗体和片段并用于生产这些抗体和片段。还提供制造和使用所述抗体和片段的方法,以及表达或包含所述抗体和片段的细胞。

### [0118] I. CD19结合分子

[0119] 在一些方面中,提供CD19结合分子,例如CD19-结合多肽。所述结合分子包括特异性地结合至CD19,例如人CD19分子的抗体,包括其抗原结合片段。所述结合分子包括重组受体,例如包含所述抗体的嵌合抗原受体。

### [0120] A. CD19抗体

[0121] 提供了抗CD19抗体,包括功能抗体片段,包括含有可变重链和可变轻链的那些,例如scFv。还提供包含所述抗体的分子,例如,融合蛋白和/或重组受体例如嵌合受体,包括抗原受体。提供的抗CD19抗体包括人抗体。在一些实施方式中,所述抗体,例如人抗体,特异性地结合至CD19的特定表位或区域,一般是胞外表位或区域。在一些实施方式中,所述抗体结合至CD19的相同或相似表位或区域,如同被另一抗体(例如小鼠抗体、FMC63或SJ25C1中的一种或多种)结合那样。在一些实施方式中,所述抗体结合至CD19的重叠表位,如同其被这些已知抗体之一结合那样,和/或与此类抗体竞争结合。所述抗体包括分离的抗体。所述分子包括分离的分子。

[0122] 本文术语“抗体”以最广义使用并且包括多克隆和单克隆抗体,包括完整抗体和功能性(抗原结合)抗体片段,包括片段抗原结合(Fab)片段、F(ab')<sub>2</sub>片段、Fab'片段、Fv片段、重组IgG(rIgG)片段、单链抗体片段,包括单链可变片段(scFv),和单结构域抗体(例如,sdAb、sdFv、纳米抗体)片段。该术语包括免疫球蛋白的遗传工程改造和/或其他修饰的形式,如胞内抗体、肽抗体、嵌合抗体、全人抗体、人源化抗体,和异源偶联抗体、多特异性例如,双特异性抗体、双抗体、三抗体,和四抗体、串联二-scFv、串联三-scFv。除非另外说明,术语“抗体”应理解为包括其功能性抗体片段。该术语也包括完整或全长抗体,包括任意类型或亚型的抗体,包括IgG及其亚型,IgM、IgE、IgA,和IgD。

[0123] 术语“互补决定区”和“CDR”与“高变区”或“HVR”同义,是本领域已知的,指抗体可变区内非连续的氨基酸序列,其赋予抗体特异性和/或结合亲和性。通常,在各重链可变区中存在三种CDR(CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3)且在各轻链可变区中存在三种CDR(CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3)。“框架区”和“FR”是本领域已知的,其指所述重链和轻链的可变区的非CDR部分。一般,在各全长重链可变区中存在四个FR(FR-H1、FR-H2、FR-H3和FR-H4),并且在各全长轻链可变区中存在四个FR(FR-L1、FR-L2、FR-L3和FR-L4)。

[0124] 可以使用多种熟知的方案中的任一种容易地确定给定CDR的准确氨基酸序列边界,包括以下文献:Kabat等(1991) Sequences of Proteins of immunological Interest

(《免疫学感兴趣蛋白的序列》),第5版,马里兰州贝塞斯达的国立卫生研究院公共卫生服务部(Public Health Service) (“Kabat”编号方案),Al-Lazikani等(1997) JMB 273,927-948 (“Chothia”编号方案),MacCallum等,J.Mol.Biol.262:732-745(1996) ,“Antibody-antigen interactions:Contact analysis and binding site topography(抗体-抗原相互作用:接触分析和结合位点拓扑学)”,J.Mol.Biol.262,732-745 (“接触”编号方案),Lefranc MP等,“IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains(免疫球蛋白和T细胞受体可变结构域和Ig超家族V样结构域的IMGT独特编号)”,Dev Comp immunol,2003年1月;27(1):55-77 (“IMGT”编码方案)以及Honegger A和Plückthun A,“Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains:an automatic modeling and analysis tool(免疫球蛋白可变结构域的另一编号方案:自动建模和分析工具)”,J Mol Biol,2001年6月8日;309(3):657-70(AHo编号方案)。

[0125] 给定CDR或FR的边界可能随鉴定所用方案而变化。例如,Kabat方案基于结构比对,而Chothia方案基于结构信息。Kabat和Chothia方案的编号都基于最常见的抗体区序列长度,其中通过插入字母表示插入,例如“30a”,并且在一些抗体中出现缺失。这两种方案在不同位点放置某些插入和缺失 (“插入缺失标记(indel)”),导致不同的编号。Contact方案基于复杂晶体结构的分析且在许多方面与Chothia编号方案类似。

[0126] 下文中的表1列举了分别由Kabat、Chothia和Contact方案鉴定的CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3和CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3的示例位置边界。对于CDR-H1,使用Kabat和Chothia编号方案列出残基编号。FR位于CDR之间,例如,FR-L1位于CDR-L1和CDR-L2之间等等。注意到,因为所示的Kabat编号方案将插入置于H35A和H35B之间,Chothi CDR-H1环的末端在采用所示Kabat编号规则编号时在H32和H34之间存在差异,这取决于所述环的长度。

[0127] 表1

CDR	Kabat	Chothia	Contact
CDR-L1	L24--L34	L24--L34	L30--L36
CDR-L2	L50--L56	L50--L56	L46--L55
CDR-L3	L89--L97	L89--L97	L89--L96
CDR-H1 (Kabat编号 <sup>1</sup> )	H31--H35 B	H26--H32..3 4	H30--H35 B
CDR-H1 (Chothia编号 <sup>2</sup> )	H31--H35	H26--H32	H30--H35
CDR-H2	H50--H65	H52--H56	H47--H58
CDR-H3	H95--H10 2	H95--H102	H93--H101

[0129] 1-Kabat等.(1991) ,“热门免疫学蛋白质序列(Sequences of Proteins of

immunological Interest)”,第5版.公共卫生署,国立卫生研究院,马里兰州贝塞斯达

[0130] 2-Al-Lazikani等,(1997) JMB 273,927-948

[0131] 因此,除非另有说明,应理解,给定抗体或其区域(例如其可变区)的“CDR”或“互补决定区”或个别特定的CDR(例如,“CDR-H1、CDR-H2)涵盖任何前述方案中定义的某(或该特定)互补决定区。例如,当述及特定CDR(例如,CDR-H3)包含给定 $V_H$ 或 $V_L$ 氨基酸序列中对应CDR的氨基酸序列时,应理解,所述CDR具有所述可变区中对应CDR(例如,CDR-H3)的序列,如任何前述方案所定义。在一些实施方式中,特定CDR序列是经指明的。

[0132] 同样地,除非另有说明,应理解,给定抗体或其区域(例如其可变区)的FR或个别特定FR(例如,FR-H1、FR-H2)涵盖如任何已知方案定义的某(或该特定)框架区。在一些情况下,指明用于鉴定某一或某些具体CDR或FR的方案,如CDR按Kabat、Chothia或Contact法限定。在其他情况下,给出了CDR或FR的具体氨基酸序列。

[0133] 术语“可变区”或“可变结构域”指涉及抗体与抗原结合的抗体重链或轻链结构域。原始抗体的重链和轻链(分别为 $V_H$ 和 $V_L$ )的可变结构域一般具有相似结构,其中各结构域包含四个保守框架区(FR)和三个CDR。(参见,例如,Kindt等.《免疫学》(Kuby Immunology),第6版,WHF公司,第91页(2007))。单个 $V_H$ 或 $V_L$ 结构域可足以赋予抗原结合特异性。此外,可使用来自结合特定抗原的抗体的 $V_H$ 或 $V_L$ 结构域分离结合该抗原的抗体以分别筛选互补 $V_L$ 或 $V_H$ 结构域文库。参见例如,Portolano等,J. immunol. 150:880-887(1993);Clarkson等,Nature 352:624-628(1991)。

[0134] 提供的抗体包括抗体片段。“抗体片段”指除完整抗体以外的分子,所述分子包含完整抗体的部分,该部分结合与所述完整抗体结合的抗原。抗体片段的示例包括但不限于,Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')<sub>2</sub>;双抗体;线性抗体;单链抗体分子(例如scFv);和由抗体片段形成的多特异性抗体。在特定实施方式中,抗体是包含可变重链区和/或可变轻链区的单链抗体片段,如scFv。

[0135] 单结构域抗体是包含抗体的全部或部分重链可变结构域或者全部或部分轻链可变结构域的抗体片段。在某些实施方式中,单结构域抗体是人单结构域抗体。

[0136] 可通过各种技术制备抗体片段,包括但不限于对完整抗体的蛋白酶水解消化以及通过重组宿主细胞产生。在一些实施方式中,抗体是重组产生的片段,如包含非天然产生的排列的片段,如具有两个或更多个通过合成接头,例如肽接头连接的抗体区域或链,和/或可能不通过对天然产生的完整抗体的酶促水解消化产生的那些。在一些方面中,抗体片段是scFv。

[0137] “人源化”抗体是其中全部或基本全部CDR氨基酸残基衍生自非人CDR并且全部或基本全部FR氨基酸参加衍生自人FR的抗体。人源化的抗体可任选地包含源自人抗体的抗体恒定区的至少一部分。非人抗体的“人源化形式”是指经过人源化,一般为了降低针对人的免疫原性,同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和性的非人抗体的变体。在一些实施方式中,人源化抗体中的一些FR残基被来自非人抗体(例如,CDR残基所衍生自的抗体)的相应残基取代,例如,为了恢复或改善抗体特异性或亲和性。

[0138] 提供的抗CD19抗体包括人抗体。“人抗体”是具有与通过人或人细胞或使用人抗体谱或其它人抗体编码序列的非人来源(包括人抗体文库)产生的抗体相对应的氨基酸序列的抗体。该术语不包括包含非人抗原结合区的非人抗体的人源化形式,例如其中全部或基

本全部CDR是非人的那些。

[0139] 人抗体可通过如下方式制备：将免疫原给予至转基因动物，其已经修饰以产生完整人抗体或具有响应抗原性攻击的人可变区的完整抗体。所述动物通常包含人免疫球蛋白基因座的全部或部分，其替代了内源性免疫球蛋白基因座或其存在于染色体外或随机整合进入所述动物的染色体。在所述转基因动物中，所述内源性免疫球蛋白基因座一般已被失活。人抗体还可以源自人抗体文库，包括噬菌体展示和无细胞文库，其包含源自人谱的抗体编码序列。

[0140] 所提供的抗体包括单克隆抗体，包括单克隆抗体片段。本文所用的术语“单克隆抗体”指获自或存在于基本均一抗体群的抗体，即，除包含天然发生的突变或在单克隆抗体制备生产过程中出现的可能的变体（所述变体一般以少量存在）以外，所述群包含的个体抗体是相同的。不同于通常包含针对不同表位的不同抗体的多克隆抗体制剂，单克隆抗体制剂中的各单克隆抗体均针对抗原上的单一表位。该术语并不理解为要求通过任何特定方法来产生抗体。单克隆抗体可通过多种技术制备，包括但不限于由杂交瘤、重组DNA法、噬菌体展示和其它抗体展示方法产生。

[0141] 术语“多肽”和“蛋白质”可互换使用，表示氨基酸残基的聚合物，并且不限于最小长度。多肽，包括所提供的抗体和抗体链以及其它肽，例如，接头和CD19结合肽，可包括含天然和/或非天然氨基酸残基的氨基酸残基。该术语还包括所述多肽的表达后修饰，例如，糖基化、唾液酸化、乙酰化、磷酸化等。在一些方面中，所述多肽可包含对原始或天然序列进行的修饰，只要该蛋白质保留所需活性即可。这些修饰可以是有意的，例如通过定点诱变或者可以是意外的，例如通过产生蛋白质的宿主突变或PCR扩增所致的误差。

[0142] 示例性的抗CD19抗体

[0143] 在一些实施方式中，所述抗CD19抗体（例如，抗原结合性抗体片段）包含特定重链和/或轻链CDR序列和/或重链和/或轻链可变（ $V_H$ 或 $V_L$ ）区序列。所提供的抗体还包括与所述序列具有至少是或约90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同性的序列。

[0144] 在一些实施方式中，所述抗体（例如，其抗原结合片段）包括重链互补决定区3（CDR-H3），其包含参比抗体中存在的CDR-H3的氨基酸序列，例如存在于参比抗体中，具有含SEQ ID NO:11、12、60、61、63 62、167或185，例如SEQ ID NO:11、12、60、61、63或62所示的氨基酸序列的VH区。在一些实施方式中，该CDR-H3包含SEQ ID NO:20。在一些实施方式中，所述抗体（例如，其抗原结合片段）具有VH区，其与所述参比抗体的VH区氨基酸序列（例如与SEQ ID NO:11、12、60、61、63 62、167或185，例如SEQ ID NO:11、12、60、61、63或62所示的VH区氨基酸序列）具有至少90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%的序列相同性（或100%相同性）。

[0145] 在一些实施方式中，所述CDR-H1包含氨基酸序列DYAMH（SEQ ID NO:18），所述CDR-H2包含氨基酸序列GISWNSGRIG（SEQ ID NO:81），GISWNSGSIG（SEQ ID NO:82），SEQ ID NO:19（GISWNSGRIGYADSVKG）所示的氨基酸序列或SEQ ID NO:72（GISWNSGSIGYADSVKG）所示的氨基酸序列，和/或所述CDR-H3包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列。

[0146] 在一些实施方式中，所提供的抗体包含具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR-H3。

[0147] 在一些实施方式中，所述抗体包含，具有SEQ ID NO:11或12所示的氨基酸序列或

与所述序列具有至少是或约90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同性的序列的V<sub>H</sub>。在一些实施方式中,所述抗体(例如,其抗原结合片段)包含,具有SEQ ID NO:11、12、60、61、63或62所示的氨基酸序列或与所述序列具有至少是或约90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同性的序列的VH区。在一些实施方式中,所述抗体(例如,其抗原结合片段)包含,具有SEQ ID NO:11、12、60、61、63、62、167或185所示的氨基酸序列或与所述序列具有至少是或约90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同性的序列的VH区。

[0148] 在一些实施方式中,所述抗体包含SEQ ID NO:11、12、60、61、63、62、167或185的残基1-119的序列,或包含SEQ ID NO:11、12、60、61、63、62、167或185的部分的序列,其包括前三个框架区和三个重链CDR。在一些实施方式中,所述抗体包含SEQ ID NO:11、12、60、61、63或62的残基1-119的序列,或包含SEQ ID NO:11、12、60、61、63或62的部分的序列,其包括前三个框架区和三个重链CDR。

[0149] 在一些实施方式中,所述抗CD19抗体包括轻链互补决定区1、2和/或3(CDR-L1、CDR-L2和/或CDR-L3),其分别具有SEQ ID NO:13、14、15、16、17、71、65、64、66、70、69、67、90、91或187-205,例如SEQ ID NO:13、14、15、16或17或SEQ ID NO:13、14、15、16、17、71、90、91、68、65、64、66、70、69或67所示的轻链可变(V<sub>L</sub>)区氨基酸序列中所含的CDR 1、2和/或3序列的氨基酸序列。

[0150] 在一些实施方式中,所述抗CD19抗体包括CDR-L1、CDR-L2和/或CDR-L3,其中:

[0151] 在一些实施方式中,CDR-L1包含如下氨基酸序列:X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>X<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>X<sub>13</sub>X<sub>14</sub>(SEQ ID NO:110),其中X<sub>1</sub>是T、W、S或R;X<sub>2</sub>是G或A;X<sub>3</sub>是I、T、D或S;X<sub>4</sub>是S、R、T或Q;X<sub>5</sub>为空或是S;X<sub>6</sub>为空、是D、N或G;X<sub>7</sub>为空、是V或L;X<sub>8</sub>是X或为空;X<sub>9</sub>是X或为空;X<sub>10</sub>是X;X<sub>11</sub>是X;X<sub>12</sub>是Y、F、D或W;X<sub>13</sub>是V、A或L,且X<sub>14</sub>是S、N或A。例如,在一些实施方式中,所述CDR-L1包含如下氨基酸序列:X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>X<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>X<sub>13</sub>X<sub>14</sub>(SEQ ID NO:226),其中X<sub>1</sub>是T、Q、S或R;X<sub>2</sub>是G、A或E;X<sub>3</sub>是I、T、A、D或S;X<sub>4</sub>是S、R、T、Q、G或I;X<sub>5</sub>为空、是S、R或T;X<sub>6</sub>是G、D、N或为空;X<sub>7</sub>为空、是V、L或I;X<sub>8</sub>是D、G、I、L、S或为空;X<sub>9</sub>是S、G、A、I、D、R或为空;X<sub>10</sub>是H、Y、F、S或N;X<sub>11</sub>是R、N、D、H、Y或T;X<sub>12</sub>是Y、F、D、W、H、T或S;X<sub>13</sub>是V、A或L;并且X<sub>14</sub>是S、N或A。在一些实施方式中,所述CDR-L1包含如下氨基酸序列:X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>X<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>X<sub>13</sub>X<sub>14</sub>(SEQ ID NO:111),其中X<sub>1</sub>是T、Q、S或R;X<sub>2</sub>是G或A;X<sub>3</sub>是I、T、D或S;X<sub>4</sub>是S、R、T或Q;X<sub>5</sub>为空或是S;X<sub>6</sub>是G、D、N或为空;X<sub>7</sub>为空、是V或L;X<sub>8</sub>是D、G、I、L、S或为空;X<sub>9</sub>是S、G、A、I、R或为空;X<sub>10</sub>是H、Y、F、S或N;X<sub>11</sub>是R、N、D、H或Y;X<sub>12</sub>是Y、F、D或W;X<sub>13</sub>是V、A或L;并且X<sub>14</sub>是S、N或A。

[0152] 在一些实施方式中,所述CDR-L2包含如下氨基酸序列:X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>(SEQ ID NO:227),其中X<sub>1</sub>是D、S或G;X<sub>2</sub>是F、V、N、K或A;X<sub>3</sub>是S、T、D或N;X<sub>4</sub>是K、V、N、Q或R;X<sub>5</sub>是R、V或L;X<sub>6</sub>是P、K、A或E;并且X<sub>7</sub>是S、P、A或T。在一些实施方式中,所述CDR-L2包含如下氨基酸序列:X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>(SEQ ID NO:112),其中X<sub>1</sub>是D或S;X<sub>2</sub>是F、V、N、K或A;X<sub>3</sub>是S、T、D或N;X<sub>4</sub>是K、V、N、Q或R;X<sub>5</sub>是R、V或L;X<sub>6</sub>是P、K、A或E;并且X<sub>7</sub>是S、P、A或T。

[0153] 在一些实施方式中,所述CDR-L3包含如下氨基酸序列:X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>X<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>(SEQ ID NO:228),其中X<sub>1</sub>是S、G、T、A、Q、C或N;X<sub>2</sub>是S、Q、A或T;X<sub>3</sub>是Y、S、W、R;X<sub>4</sub>是A、D、R、T或Y;X<sub>5</sub>是A、S、P、G、N或D;X<sub>6</sub>是I、S、G、T、A、L、H、R或N;X<sub>7</sub>是S、P、L、Y、G;X<sub>8</sub>是P、T、S、Q、M、R、N或为空;X<sub>9</sub>是S、L、N、A、M、R或为空;X<sub>10</sub>是L、D或为空;X<sub>11</sub>是Y、W、F、V、A或L;并且X<sub>12</sub>是V、T、P或L。在一些实施方式中,所述CDR-L3包含如下氨基酸序列:X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>X<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>(SEQ ID NO:

115), 其中 $X_1$ 是X; $X_2$ 是S、Q、A或T; $X_3$ 是Y、S、W、R; $X_4$ 是A、D、R、T或Y; $X_5$ 是X; $X_6$ 是X; $X_7$ 是S、P、L、Y、G; $X_8$ 是X或为空; $X_9$ 是X或为空; $X_{10}$ 是L或为空; $X_{11}$ 是X;并且 $X_{12}$ 是V、T或L。例如, 在一些实施方式中, 所述抗体具有CDR-L3, 该CDR-L3包含如下氨基酸序列: $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$  (SEQ ID NO: 114), 其中 $X_1$ 是S、G、T、A、Q、C或N; $X_2$ 是S、Q、A或T; $X_3$ 是Y、S、W、R; $X_4$ 是A、D、R、T或Y; $X_5$ 是A、S、P、G、N或D; $X_6$ 是I、S、G、T、A、L、H、R、N; $X_7$ 是S、P、L、Y、G; $X_8$ 是P、T、S、Q、M、R、N或为空; $X_9$ 是S、L、N、A、M或为空; $X_{10}$ 是L或为空; $X_{11}$ 是Y、W、F、V、A或L;并且 $X_{12}$ 是V、T或L。

[0154] 在一些实施方式中, 在所述CDR-L1中, 例如示于SEQ ID NO: 110、226或111的CDR-L1中,  $X_3$ 是I、T或S; $X_4$ 是S、T或Q; $X_8$ 是D、G、I、S或为空; $X_9$ 是S、G、I或为空; $X_{10}$ 是H、Y、S或N; $X_{11}$ 是R、N、D或H; $X_{12}$ 是Y或D;并且 $X_{13}$ 是V或L;和/或在所述CDR-L2中, 例如示于SEQ ID NO: 227或112的CDR-L2中,  $X_1$ 是D; $X_4$ 是K、V、N、Q或R; $X_6$ 是P、K或A;并且 $X_7$ 是S、A或T;和/或在所述CDR-L3中, 例如示于SEQ ID NO: 228、114或115的CDR-L3中,  $X_1$ 是S、G、T、A、Q、C或N; $X_5$ 是A、S、P、G、N或D; $X_6$ 是I、S、G、T、A、L、H、R或N; $X_8$ 是P、T、S、Q、M、R、N或为空; $X_9$ 是S、L、N、A、M或为空;并且 $X_{11}$ 是Y、W、F、V、A或L。在一些实施方式中, 在所述CDR-L3中,  $X_1$ 是S、G、Q或N; $X_2$ 是S、Q或T; $X_4$ 是A、D、T或Y; $X_5$ 是A、S或G;并且 $X_6$ 是I、S、N、R、A、H或T。

[0155] 在一些实施方式中, 所述抗体包括含有示于SEQ ID NO: 83的CDR-L1、示于SEQ ID NO: 84的CDR-L2和/或示于SEQ ID NO: 85的CDR-L3的氨基酸序列。

[0156] 在一些实施方式中, 所述抗体, 例如, 所述抗体片段包含含有SEQ ID NO: 21、25、28或31所示的氨基酸序列的CDR-L1。在一些实施方式中, 所述抗体或片段包含含有SEQ ID NO: 80、77、74、73、75、79、78、76、21、25、28、31或146-152所示的氨基酸序列, 例如含有SEQ ID NO: 80、77、74、73、75、79、78、76、21、25、28或31所示的氨基酸序列的CDR-L1。在一些实施方式中, 所述抗体或片段包含含有SEQ ID NO: 80、77、74、73、78、21或28所示的氨基酸序列的CDR-L1。

[0157] 在一些实施方式中, 所述抗体或片段包含含有SEQ ID NO: 22、26、29或32所示的氨基酸序列的CDR-L2。在一些实施方式中, 所述抗体或片段包含含有氨基酸序列SEQ ID NO: 100、97、94、93、95、99、98、96、22、26、29、32或153-157的CDR-L2, 例如含有SEQ ID NO: 100、97、94、93、95、99、98、96、22、26、29或32所示的氨基酸序列的CDR-L2。在一些实施方式中, 所述抗体或片段包含含有SEQ ID NO: 100、97、94、93、98、22或29所示的氨基酸序列的CDR-L2。

[0158] 在一些实施方式中, 所述抗体或片段包含含有SEQ ID NO: 23、24、27、30或33所示序列的CDR-L3。在一些实施方式中, 所述抗体或片段包含含有SEQ ID NO: 109、106、103、101、104、108、107、105、102、23、24、27、30、33、158或159所示序列的CDR-L3, 例如含有SEQ ID NO: 109、106、103、101、104、108、107、105、102、23、24、27、30或33所示的氨基酸序列的CDR-L3。在一些实施方式中, 所述抗体或片段包含含有SEQ ID NO: 109、106、103、101、107、24或30所示序列的CDR-L3。

[0159] 在一些实施方式中, 所述CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO: 21、22和23的序列; CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO: 21、22和24的序列; CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO: 25、26和27的序列; CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO: 28、29和30的序列; 或CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO: 31、32和33的序列。

[0160] 在一些实施方式中, 所述CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO: 21、22和23的序列; CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO: 21、22和24的序列; CDR-L1、CDR-L2和

CDR-L3分别包含SEQ ID NO:25、26和27的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:28、29和30的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:31、32和33的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:80、100和109的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:77、97和106的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:74、94和103的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:73、93和101的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:75、95和104的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:79、99和108的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:78、98和107的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:76、96和105的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:73、93和102的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:77、97和106的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:163、164和165的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:80、100和109的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:146、97和106的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:28、153和158的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:74、94和103的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:147、154和121的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:148、94和103的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:75、95和104的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:149、155和119的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:150、22和120的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:21、22和159的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:151、26和118的序列;CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:28、156和116的序列;或CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:152、157和117的序列。

[0161] 还提供,具有与所述序列有至少是或约90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同性的序列的抗体。

[0162] 在一些实施方式中,所述CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3分别包含SEQ ID NO:18、81和20的序列;所述CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3分别包含SEQ ID NO:18、19和20的序列;所述CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3分别包含SEQ ID NO:18、82和20的序列;或所述CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3分别包含SEQ ID NO:18、72和20的序列。

[0163] 还提供,具有与所述序列有至少是或约90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同性的序列的抗体。

[0164] 在一些实施方式中,所述抗体或片段的VH区包含SEQ ID NO:11、12、60、61、63、62、167或185的氨基酸序列,例如SEQ ID NO:11、12、60、61、63或62的氨基酸序列;和/或所述抗体或片段的VL区包含SEQ ID NO:13、14、15、16、17、71、90、91、68、65、64、66、70、69、67或187-205的氨基酸序列,例如SEQ ID NO:13、14、15、16、17、71、90、91、68、65、64、66、70、69或67的氨基酸序列。在一些实施方式中,所述抗体或片段的VH区包含SEQ ID NO:11、60、63或62的氨基酸序列;和/或所述抗体或片段的VL区包含SEQ ID NO:14、16、71、90、65、64或69的氨基酸序列。

[0165] 还提供,具有与所述序列有至少是或约90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同性的序列的抗体。

[0166] 在一些实施方式中,所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:12和17的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:12和15的氨基酸序列;所述抗

体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:11和13的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:11和14的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:11和16的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:63和71的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:62和68的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:11和65的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:60和64的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:61和66的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:63和70的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:62和69的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:12和67的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:12和91的氨基酸序列;或所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:63和90的氨基酸序列。在一些实施方式中,所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:11和14的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:11和16的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:63和71的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:11和65的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:60和64的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:62和69的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:63和90的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:167和207的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:168或63和208的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:169或11和209的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:170或61和210的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:171或61和211的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:172和212的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:173或11和213的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:174或11和214的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:175或11和215的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:176或61和216的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:177或61和217的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:178或61和218的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:179或61和219的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:180或12和220的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:181或12和221的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:182或11和222的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:183或60和223的氨基酸序列;所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:184或11和224的氨基酸序列;或所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:185和225的氨基酸序列。

[0167] 还提供,具有与所述序列有至少是或约90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同性的序列的抗体。

[0168] 在一些实施方式中,所述抗体或片段包含V<sub>H</sub>区,其包括SEQ ID NO:11或12的氨基酸序列,或所述序列的残基1-119,或与所述序列具有至少是或约90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同性的序列。

[0169] 在一些实施方式中,所述抗体包括或还包括V<sub>L</sub>区,其包括SEQ ID NO:13、14、15、



16、17的氨基酸序列,或与所述序列具有至少是或约90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同性的序列。

[0170] 在一些实施方式中,所述抗体是单链抗体片段,例如scFv,或双特异抗体。在一些实施方式中,所述单链抗体包括一个或多个接头,其接合两个抗体结构域或区域,例如可变重链(VH)区和可变轻链(VL)。所述接头通常是肽接头,例如,柔性和/或可溶性肽接头。所述接头包括富含甘氨酸和丝氨酸的那些,和/或在一些情况中,富含苏氨酸的那些。在一些实施方式中,所述接头还包括带电残基,例如赖氨酸和/或谷氨酸,其可提高可溶性。在一些实施方式中,所述接头还包括一个或多个脯氨酸。

[0171] 因此,还提供单链抗体片段,例如scFv和双特异性抗体,具体是人单链片段,其通常包含将两个抗体结构域或区域(例如V<sub>H</sub>和V<sub>L</sub>结构域)接合在一起的一个或多个接头。所述接头通常是肽接头,例如,柔性和/或可溶性肽接头,例如富含甘氨酸和丝氨酸的接头。

[0172] 在一些方面中,所述富含甘氨酸和丝氨酸(和/或苏氨酸)的接头包括至少80、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%的此类氨基酸。在一些实施方式中,它们包括至少或至少约50%、55%、60%、70%或75%的甘氨酸、丝氨酸和/或苏氨酸。在一些实施方式中,所述接头基本完全由甘氨酸、丝氨酸和/或苏氨酸组成。所述接头的长度一般是约5和约50个氨基酸,通常是或约是10且是或约30个,例如,10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个氨基酸,且在一些示例中,长度为10-25个氨基酸。示例性的接头包括,具有不同数量个序列GGGGS(4GS;SEQ ID NO:123)或GGGS(3GS;SEQ ID NO:122)重复,例如此类序列的2、3、4和5个重复的接头。示例性的接头包括具有或由示于SEQ ID NO:34(GGGSGGGSGGGGS)的序列组成的那些。示例性的接头还包括具有或由示于SEQ ID NO:43(GSTSGSGKPGSGEGSTKG)的序列组成的那些。

[0173] 因此,在一些实施方式中,还提供单链片段,例如,scFv,其包含一个或多个前述接头,例如富含甘氨酸/丝氨酸的接头,包括具有重复个GGGS(SEQ ID NO:122)或GGGGS(SEQ ID NO:123)的接头,例如示于SEQ ID NO:34的接头。在一些实施方式中,所述接头具有包含SEQ ID NO:34所示序列的氨基酸序列。

[0174] 所述片段,例如,scFv,可包括V<sub>H</sub>区或其部分,然后是所述接头,然后是V<sub>L</sub>或其部分。所述片段,例如,scFv,可包括所述V<sub>L</sub>,然后是所述接头,然后是V<sub>H</sub>。

[0175] 在一些方面中,所述scFv具有SEQ ID NO:2、4、6、8或10所示的氨基酸序列,或具有与所述序列具有至少是或约90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同性的序列。

[0176] 在一些方面中,所述scFv具有SEQ ID NO:2、4、6、8、10、45、47、49、51、53、55、57、59、87或89所示的氨基酸序列,或与所述序列具有至少是或约90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同性的序列。

[0177] 在一些方面中,所述scFv具有SEQ ID NO:2、4、6、8、10、45、47、49、51、53、55、57、59、87、89或207-225所示的氨基酸序列,或与所述序列具有至少是或约90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同性的序列。

[0178] 在一些方面中,所述scFv包含VH、接头和VL,其如SEQ ID NO:2、4、6、8、10、45、47、49、51、53、55、57、59、87 89或207-225所示,或与所述序列具有至少是或约90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同性的序列,但其中,所述VH和VL以相较于所述序列相反的取向设置,即VL-VH。

[0179] 所述抗体,例如,抗体片段,可包含免疫球蛋白恒定区的至少部分,例如一个或多个恒定区结构域。在一些实施方式中,所述恒定区包括轻链恒定区和/或重链恒定区1(CH1)。在一些实施方式中,所述抗体包括CH2和/或CH3结构域,例如Fc区。在一些实施方式中,所述Fc区是人IgG(例如IgG1或IgG4)的Fc区。

[0180] 在一些实施方式中,任何上述抗体(例如,抗体片段)是人抗体或抗体片段。例如,本文提供特异性结合CD19(例如特异性结合人CD19)的人抗CD19抗体。

[0181] 在提供的人抗CD19抗体的一些实施方式中,所述人抗体包含V<sub>H</sub>区,其含有与种系核苷酸人重链V区段编码的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%的序列相同性的部分,部分与种系核苷酸人重链D区段编码的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%相同性的部分,和/或,与种系核苷酸人重链J区段编码的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%相同性的部分;和/或,包含V<sub>L</sub>区,其含有与种系核苷酸人κ或λ链V区段编码的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%相同性的部分,和/或与种系核苷酸人κ或λ链J区段编码的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%相同性的部分。在一些实施方式中,所述V<sub>H</sub>区的部分对应于CDR-H1、CDR-H2和/或CDR-H3。在一些实施方式中,所述V<sub>H</sub>区的部分对应于框架区1(FR1)、FR2、FR2和/或FR4。在一些实施方式中,所述V<sub>L</sub>区的部分对应于CDR-L1、CDR-L2和/或CDR-L3。在一些实施方式中,所述V<sub>L</sub>区的部分对应于FR1、FR2、FR2和/或FR4。

[0182] 在一些实施方式中,所述人抗体包含CDR-H1,其与由种系核苷酸人重链V区段编码的序列中的对应CDR-H1区的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%的序列相同性。例如,所述人抗体在一些实施方式中包含CDR-H1,其具有与由种系核苷酸人重链V区段编码的序列中的对应CDR-H1区相比100%相同或具有不多于一个、两个或三个氨基酸差异的序列。

[0183] 在一些实施方式中,所述人抗体包含CDR-H2,其与由种系核苷酸人重链V区段编码的序列中的对应CDR-H2区的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%的序列相同性。例如,所述人抗体在一些实施方式中包含CDR-H2,其具有与由种系核苷酸人重链V区段编码的序列中的对应CDR-H2区相比100%相同或具有不多于一个、两个或三个氨基酸差异的序列。

[0184] 在一些实施方式中,所述人抗体包含CDR-H3,其与由种系核苷酸人重链V区段、D区段和J区段编码的序列中的对应的CDR-H3区的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%的序列相同性。例如,所述人抗体在一些实施方式中包含CDR-H3,其具有与由种系核苷酸人重链V区段、D区段和J区段编码的序列中的对应CDR-H3区相比100%相同或具有不多于一个、两个或三个氨基酸差异的序列。

[0185] 在一些实施方式中,所述人抗体包含CDR-L1,其与由种系核苷酸人轻链V区段编码的序列中的对应CDR-L1区的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%的序列相同性。例如,所述人抗体在一些实施方式中包含CDR-L1,其具有与由种系核苷酸人轻链V区段编码的序列中的对应CDR-L1区相比100%相同或具有不多于一个、两个或三个氨基酸差异的序列。

[0186] 在一些实施方式中,所述人抗体包含CDR-L2,其与由种系核苷酸人轻链V区段编码的序列中的对应CDR-L2区的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%的序

列相同性。例如,所述人抗体在一些实施方式中包含CDR-L2,其具有与由种系核苷酸人轻链V区段编码的序列中的对应CDR-L2区相比100%相同或具有不多于一个、两个或三个氨基酸差异的序列。

[0187] 在一些实施方式中,所述人抗体包含CDR-L3,其与由种系核苷酸人轻链V区段和J区段编码的序列中的对应CDR-L3区的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%的序列相同性。例如,所述人抗体在一些实施方式中包含CDR-L3,其具有与由种系核苷酸人轻链V区段和J区段编码的序列中的对应CDR-L3区相比100%相同或具有不多于一个、两个或三个氨基酸差异的序列。

[0188] 在一些实施方式中,所述人抗体包含框架区,其含有人种系基因区段序列。例如,在一些实施方式中,所述人抗体包含V<sub>H</sub>区,其中,所述框架区,例如FR1、FR2、FR3和FR4,与人种系抗体区段(例如V和/或J区段)编码的框架区具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%的序列相同性。在一些实施方式中,所述人抗体包含V<sub>L</sub>区,其中,所述框架区,例如FR1、FR2、FR3和FR4,与人种系抗体区段(例如V和/或J区段)编码的框架区具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%的序列相同性。例如,在一些所述实施方式中,所述V<sub>H</sub>和/或V<sub>L</sub>序列的框架序列,与由人种系抗体区段编码的框架区相比,相差不多于10个氨基酸,例如不多于9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸。

[0189] 所述抗体,例如,抗体片段,可包含免疫球蛋白恒定区的至少部分,例如一个或多个恒定区结构域。在一些实施方式中,所述恒定区包括轻链恒定区和/或重链恒定区1(CH1)。在一些实施方式中,所述抗体包括CH2和/或CH3结构域,例如Fc区。在一些实施方式中,所述Fc区是人IgG(例如IgG1或IgG4)的Fc区。

[0190] 还提供编码所述抗体和/或其部分(例如,链)的核酸。所提供的核酸包括编码所述本文所述的抗CD19抗体的那些。核酸可包括涵盖天然和/或非天然产生的核苷酸和碱基的那些,例如,包括具有主链修饰的那些。术语“核酸分子”、“核酸”和“多核苷酸”可互换使用,并且指核苷酸的聚合物。所述核苷酸的聚合物可包含天然和/或非天然核苷酸,并且包括但不限于,DNA、RNA和PNA。“核酸序列”指,包含所述核酸分子或多核苷酸的核苷酸线性序列。示例性的核酸和载体是具有SEQ ID NO:1、3、5、7、9、44、46、48、50、52、54、56、58、86和88所示序列及其CDR编码部分,以及与所述序列具有至少是或约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同性的序列的那些。所述核酸可编码包含所述抗体(例如,所述抗体的轻和/或重链)的V<sub>L</sub>的氨基酸序列和/或包含所述抗体(例如,所述抗体的轻和/或重链)的V<sub>H</sub>的氨基酸序列。

[0191] 还提供包含所述核酸的载体,包含所述载体的宿主细胞,例如,用于产生所述抗体。还提供用于产生所述抗体的方法。在另一个实施方式中,提供了包含所述核酸的一种或多种载体(例如,表达载体)。在另一个实施方式中,提供了包含所述核酸的宿主细胞。在一个所述实施方式中,宿主细胞包含如下物质(例如,已用如下物质转化):(1)载体,其包含编码含所述抗体的V<sub>L</sub>的氨基酸序列和含所述抗体的V<sub>H</sub>的氨基酸序列的核酸,或(2)第一载体,其包含编码含所述抗体的V<sub>L</sub>的氨基酸序列的核酸,和,第二载体,其包含编码含所述抗体的V<sub>H</sub>的氨基酸序列的核酸。在一些实施方式中,提供制备所述抗CD19抗体的方法,其中,所述方法包括:在适于表达所述抗体的条件下,培养包含如上提供的编码所述抗体的核酸的宿主细胞,和,任选地从所述宿主细胞(或宿主细胞培养基)回收所述抗体。

[0192] 还提供制备所述抗CD19抗体(包括抗原结合片段)的方法。对于所述抗CD19抗体的重组生成,编码抗体的核酸,例如,如上所述的那些,可经分离并插入一个或多个载体,以供进一步克隆和/或在宿主细胞中表达。所述核酸可用常规方法(例如,利用能特异性结合编码所述抗体重链和轻链基因的寡核苷酸探针)容易地分离并测序。

[0193] 除原核生物以外,真核微生物,例如丝状真菌或酵母,也适于作为抗体编码载体的克隆或表达宿主,包括其糖基化途径已经修饰以模拟或贴近人细胞中的那些的真菌和酵母株,由此产生具有部分或完全人糖基化特征的抗体。参见GerngrosS, Nat. Biotech. 22: 1409-1414(2004), 和Li等., Nat. Biotech. 24:210-215(2006)。

[0194] 可用于表达多肽的示例性的真核细胞包括但不限于, COS细胞, 包括COS 7细胞; 293细胞, 包括293-6E细胞; CHO细胞, 包括CHO-S、DG44、Lec13 CHO细胞, 和FUT8 CHO细胞; PER.C6<sup>®</sup>细胞; 和, NS0细胞。在一些实施方式中, 所述抗体重链和/或轻链可在酵母中表达。参见例如美国公开号US 2006/0270045A1。在一些实施方式中, 具体的真核宿主细胞基于其对所述重链和/或轻链产生所需的翻译后修饰的能力来选择。例如, 在一些实施方式中, CHO细胞产生的多肽的唾液酸化水平高于293细胞中产生的相同多肽。

[0195] 在一些实施方式中, 所述抗体在无细胞系统中产生。示例性的无细胞系统描述于, 例如, Sitaraman等, Methods Mol. Biol. 498:229-44(2009); Spirin, Trends Biotechnol. 22:538-45(2004); Endo等, Biotechnol. Adv. 21:695-713(2003)。

[0196] 提供的实施方式还包括载体和宿主细胞以及用于表达和产生所述抗体及其它结合蛋白的其它表达系统, 包括真核和原核宿主细胞, 包括细菌、丝状真菌和酵母, 以及哺乳动物细胞, 例如人细胞, 以及无细胞表达系统。

[0197] 示例性的特征

[0198] 在一些方面中, 所提供的抗体, 包括抗原结合片段, 具有一种或多种特定的功能特征, 例如结合性质, 包括结合至特定表位, 例如与其它抗体的表位相似或重叠的表位, 与其它抗体竞争结合的能力, 和/或特定结合亲和性。

[0199] 在一些实施方式中, 所述抗体特异性地结合至CD19蛋白。在本文所述的实施方式的一些方面中, CD19指人CD19。一般而言, 关于抗体或其它结合分子结合至CD19或特异性地结合至CD19的观察结果并不一定表示其结合至所有物种的CD19。例如, 在一些实施方式中, 结合至CD19的特征, 例如与其特异性结合的能力和/或与参比抗体竞争与其结合的能力, 和/或以特定亲和性结合或以特定程度竞争的能力, 在一些实施方式中, 指的是, 关于人CD19蛋白的能力, 并且, 该抗体可能对其它物种(例如猴或小鼠)的CD19不具有该特征。

[0200] 在一些实施方式中, 所提供的抗体, 包括抗原结合片段, 结合至人CD19, 例如结合至人CD19(例如结合至示于92(登录号P15391)的人CD19或其等位基因变体或剪接变体)的表位或区域。在某些实施方式中, 所述抗CD19抗体结合至在不同物种的CD19之间保守的CD19表位。在一些实施方式中, 所述抗CD19抗体结合至在不同物种的CD19之间, 例如在人和猕猴(Macaca mulatta)(恒河猴(rhesus))CD19之间, 不保守或不完全保守的CD19表位。

[0201] 在一些实施方式中, 所述抗体结合至这样的表位, 所述表位包含处于(或完全处于)CD19的胞外结构域内的, 和/或, 处于(或完全处于)CD19的胞外部分的近膜区之内的一个或多个氨基酸的表位。在一些实施方式中, 所述抗体结合至这样的表位, 所述表位包含位于或完全位于如下部分中的一个或多个氨基酸: CD19的Ig样结构域2、由CD19的第四外显子

编码的部分、与示于SEQ ID NO:92的人CD19序列的位置176-277相对应的部分,和/或,CD19的胞外部分的最靠近膜的100、90、80、75、70、65、60、55、50、45、44、43、43、41或40个氨基酸的部分。在一些实施方式中,所述部分或结构域所述抗体与CD19结合所需的。在一些实施方式中,所述表位包含(或还包含)位于或完全位于如下部分之内的一个或多个氨基酸:CD19的Ig样结构域1、由CD19的第二外显子编码的部分,和/或,与SEQ ID NO:92所示的人CD19序列的位置20-117相对应的部分。在一些实施方式中,所述部分或结构域所述抗体与CD19结合所需的。在一些实施方式中,所述抗体特异性地结合至这样的肽:所述肽包含所述部分的序列或由所述部分的序列组成或基本由所述部分的序列组成,并且不包含全长CD19的整个序列。

[0202] 在一些实施方式中,所述表位包含位于与SEQ ID NO:92所示的人CD19序列的残基218-249相对应的CD19的部分(例如具有SEQ ID NO:143所示序列的部分)中的一个或多个氨基酸,或者包含这样的CD19的部分。

[0203] 在一些实施方式中,所述表位包括,与SEQ ID NO:92所示的人CD19序列的一个或多个位置处的如下氨基酸相对应的一个或多个CD19位置对应的位置处的氨基酸:位置218处的组氨酸(H)、位置236处的丙氨酸(A)、位置242处的甲硫氨酸(M)、位置243处的谷氨酸(E)、位置249处的脯氨酸(P),和/或位置223和224处的赖氨酸(K)和/或丝氨酸(S)。在一些实施方式中,所述一个或多个位置处的氨基酸对于所述抗体与CD19的结合而言是重要的。在一些实施方式中,所述一个或多个位置处的表位中的氨基酸与SEQ ID NO:92所示的人CD19序列中的对应位置处的氨基酸相对应。

[0204] 在一些实施方式中,所述表位在与SEQ ID NO:92所示的人CD19序列的位置218处的组氨酸相对应的CD19位置处包括氨基酸(例如组氨酸);在一些实施方式中,所述氨基酸对于所述抗体与CD19的结合而言是重要的。

[0205] 在一些实施方式中,所述表位在与SEQ ID NO:92所示的人CD19序列的位置236处的丙氨酸相对应的CD19位置处包括氨基酸(例如丙氨酸);在一些实施方式中,所述氨基酸对于所述抗体与CD19的结合而言是重要的。

[0206] 在一些实施方式中,所述表位在与SEQ ID NO:92所示的人CD19序列的位置242处的甲硫氨酸相对应的CD19位置处包括氨基酸(例如甲硫氨酸);在一些实施方式中,所述氨基酸对于所述抗体与CD19的结合而言是重要的。

[0207] 在一些实施方式中,所述表位在与SEQ ID NO:92所示的人CD19序列的位置243处的谷氨酸相对应的CD19位置处包括氨基酸(例如谷氨酸);在一些实施方式中,所述氨基酸对于所述抗体与CD19的结合而言是重要的。

[0208] 在一些实施方式中,所述表位在与SEQ ID NO:92所示的人CD19序列的位置249处的脯氨酸相对应的CD19位置处包括氨基酸(例如脯氨酸);在一些实施方式中,所述氨基酸对于所述抗体与CD19的结合而言是重要的。

[0209] 在一些实施方式中,所述表位在SEQ ID NO:92所示的人CD19序列的位置223和224处的赖氨酸和/或丝氨酸相对应的一个或两个位置处包含氨基酸(例如赖氨酸和/或丝氨酸);在一些实施方式中,所述氨基酸对于所述抗体与CD19的结合而言是重要的。

[0210] 在一些实施方式中,所述表位等于、相似于、重叠于或包含与参比抗体(例如FMC63或SJ25C1)特异性结合的表位相同的氨基酸中的一个或多个。在一些实施方式中,相同的一

个或多个氨基酸对于所提供的抗体与所述参比抗体的结合而言是重要的。

[0211] 在一些实施方式中,抗CD19抗体与不相关的、非CD19蛋白(例如非人CD19或其它非CD19蛋白)的结合程度低于所述抗体与人CD19的(例如,通过放射免疫检定法(RIA))测得的结合的约40%。在一些实施方式中,所提供的抗体包括这样的抗体:其中与非人CD19或其它非CD19蛋白的结合少于约或少于所述抗体与人CD19的结合的30%、少于约或少于20%,或,少于约或少于10%。

[0212] 在一些实施方式中,所提供的抗体(包括抗原结合片段)的性质就相对于另一抗体(例如,参比抗体)观察到的性质来描述。在一些实施方式中,所述参比抗体是非人抗CD19抗体,例如鼠或嵌合或人源化抗CD19抗体。在一些方面中,所述参比抗体是称为FMC63的抗体或称为SJ25C1的抗体(参见,例如,Zola H等,Immunol Cell Biol.1991年12月;69(Pt 6):411-22;美国专利7,446,190),和/或,源自其中的片段,例如其scFv片段,和/或,包含如下部分的抗体:所述抗体的V<sub>H</sub>和V<sub>L</sub>序列,和/或,所述抗体的重链和轻链CDR。

[0213] 例如,在一些实施方式中,所述参比抗体具有这样的V<sub>H</sub>区,其包含SEQ ID NO:39或41所示序列,或包含所述序列中的CDR1、CDR2和/或CDR3,和/或具有这样的V<sub>L</sub>,其包含SEQ ID NO:40或42所示序列,或包含所述序列中的CDR1、CDR2和/或CDR3。因此,在一些实施方式中,所述抗体与FMC63或SJ25C1或其抗原结合片段竞争结合和/或结合至CD19的相同或重叠表位。

[0214] 在一些实施方式中,所述参比抗体具有存在于本文所述的抗体或其部分中的序列。例如,在一些实施方式中,所述参比抗体具有示于SEQ ID NO:13、14、15、16或17和/或示于SEQ ID NO:13、14、15、16、17、71、90、91、68、65、64、66、70、69或67中的轻链可变(V<sub>L</sub>)区氨基酸序列,和/或具有示于SEQ ID NO:11、12、60、61、63或62中的重链可变(V<sub>H</sub>)区。在一些实施方式中,所述抗体具有存在于所述抗体中的重链和/或轻链CDR 1、2和/或3。在一些实施方式中,所述参比抗体可以是scFv,其包含SEQ ID NO:2、4、6、8、10、45、47、49、51、53、55、57、59、87或89所示的氨基酸序列。

[0215] 在一些实施方式中,所述抗体还包含与存在于一种或多种参比抗体(例如FMC63和SJ25C1)中的CDR不同的重链和轻链CDR。例如,所提供的抗体包括,竞争结合和/或结合至与一种或多种参比抗体所结合的那些相同或重叠的CD19表位,但包含不同的CDR,例如,不同的重链和/或轻链CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方式中,所提供的抗体包含与称为FMC63的抗体中存在的CDR(例如,存在于SEQ ID NO:39所示的V<sub>H</sub>区中和/或SEQ ID NO:40所示的V<sub>L</sub>区中)不同的重链和轻链CDR。在一些实施方式中,所提供的抗体包含与称为SJ25C1的抗体中存在的CDR(例如,存在于SEQ ID NO:41所示的V<sub>H</sub>区中和/或SEQ ID NO:42所示的V<sub>L</sub>区中)不同的重链和轻链CDR。

[0216] 例如,在一些实施方式中,所述抗体特异性地结合至与参比抗体所结合的CD19表位重叠的表位,例如与所述参比抗体结合至相同或相似表位的抗体。在一些实施方式中,所述抗体与所述参比抗体竞争结合至CD19。

[0217] 在一些实施方式中,相较于CD19阴性细胞(例如本领域已知的和/或本文所述的具体细胞),所述抗体显示对于表达CD19的细胞的结合优先性。在一些实施方式中,所述结合优先性在如下情况中观察到:检测到对于表达CD19的细胞的结合程度显著大于非CD19表达细胞。在一些实施方式中,例如,通过基于流式细胞术的试验中的平均荧光强度和/或对于

表达CD19的细胞相比不表达CD19的细胞的解离常数或EC50来检测的结合程度的倍数变化至少是或约1.5、2、3、4、5、6或更多,和/或大致等大、大致相同、至少等大或至少约等大或大于,所述参比抗体(例如所述参比抗体的对应形式)所观察到的倍数变化。在一些情况中,观察到的结合至CD19或结合至表达CD19的细胞的总程度是大致相同的、至少等大或大于对于参比抗体所观察到的情况。在任何所提供的实施方式中,结合性质(例如亲和性或竞争)的比较,可通过以相同或相似试验检测来进行。

[0218] 如果抗体以竞争方式抑制参比抗体与CD19的结合,和/或,如果所述参比抗体以竞争方式抑制所述抗体与CD19的结合,则该抗体与参比抗体“竞争结合”至CD19。如果抗体以过量存在会以可检测程度抑制(阻遏)其它抗体与其抗原的结合,则抗体以竞争方式抑制参比抗体与抗原的结合。可确定具体抑制程度。

[0219] 在一些实施方式中,相较于参比抗体的量或浓度,所提供的抗体的过量添加,例如,1、2、5、10、50或100倍,能抑制抗原与参比抗体的结合(或反之亦然)。在一些实施方式中,结合的抑制达至少50%,而在一些实施方式中,达至少75%、90%或99%。在一些方面中,在竞争性结合试验中检测竞争性抑制(参见,例如,Junghans等,Cancer Res.1990:50:1495-1502)。

[0220] 在一些实施方式中,若参比抗体以10nM的浓度存在,则所提供的抗体以如下IC50抑制参比抗体的结合:少于约或少于100、50、40、30、25、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11或10nM或少于约或少于9、8、7、6或5nM。在一些实施方式中,若所提供的抗体以10nM的浓度存在,则参比抗体以如下IC50抑制所提供的抗体的结合:少于约或少于100、50、40、30、25、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11或10nM或少于约或少于9、8、7、6或5nM。

[0221] 在一些实施方式中,所提供的抗体对于参比抗体的结合的竞争性抑制(或反之亦然)是或约或至少是或约在与参比抗体本身(例如,未标记的参比抗体)对于参比抗体的结合的竞争性抑制相同的程度。在一些实施方式中,所提供的抗体使参比抗体(例如FMC63或SJ25C1)与人CD19的结合被抑制至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%。竞争性抑制试验是已知的,并且包括基于ELISA的、基于流式细胞术的试验,和基于RIA的试验。在一些方面中,竞争性抑制试验通过如下方式进行:纳入过量的未标记形式的抗体之一,并评估其遏制其它抗体的结合的能力,所述其它抗体用可检测标志物标记,从而其结合和减少的程度可通过检测该标记物或标志物来评估。

[0222] 在一些实施方式中,使一种抗体的结合减少或消除的抗原中的全部或基本全部氨基酸突变使另一抗体的结合减少或消除,则两种抗体特异性地结合至相同表位。在一些实施方式中,如果使抗原与一种抗体结合减少或消除的该抗原中的氨基酸突变中的至少一些还能减少或消除该抗原与另一抗体的结合,则两种抗体特异性地结合至重叠表位。

[0223] 在一些实施方式中,所提供的抗体能够以至少一定的亲和性(通过多种已知方法中的任一种测得)结合CD19,例如人CD19。在一些实施方式中,所述亲和性由解离常数(Kd)表示;在一些实施方式中,所述亲和性由EC50表示。在某些实施方式中,所述抗体与CD19的结合亲和性(EC50)和/或解离常数是或约是或少于约或少于100nM、50nM、40nM、30nM、25nM、20nM、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1nM,例如是或约1nM~是或约15nM,例如,是或约5~是或约10nM。在一个实施方式中,抗CD19抗体与不相关的非CD19蛋白的结合程度是少于约或少于所述抗体与CD19的结合的10%,例如,通过放射免疫测定法

(RIA) 检测。

[0224] 在一些方面中,所述亲和性是或约是相比参比抗体(例如鼠CD19抗体,例如FMC63或SJ25C1)的亲和性的相同程度或基本相同程度。在一些方面中,亲和性与参比抗体的亲和性至少80、85、90、95或99%相同。在一些实施方式中,将结合亲和性与参比抗体的对应形式相比较。

[0225] 在一些实施方式中,所述抗体的亲和性,例如,EC50或Kd,大致等于或低于参比抗体(例如参比抗体的对应形式)的亲和性,例如,不超过约1.5倍或不超过约2倍大于、不超过3倍大于、和/或不超过10倍大于所述参比抗体的EC50,例如,以相同或相似试验检测。

[0226] 本文提供的抗CD19抗体可通过不同已知试验,就它们的物理/化学性质和/或生物活性进行鉴定、筛选或表征。在一方面中,测试所述抗体的抗原结合活性,例如,通过已知方法,例如ELISA、Western印迹和/或流式细胞试验,包括基于细胞的结合试验,例如,评估所述抗体(例如,偶联至荧光标志物或带上标签)与表达靶抗原(例如,CD19)的细胞的结合,在一些情况中,与采用不表达靶抗原(例如,CD19)的细胞的结果做比较。结合亲和性以Kd或EC50形式检测。

[0227] 竞争试验可用于鉴定与本文所述的任何抗体竞争的抗体。还可采用用于定位被所述抗体和参比抗体结合的表位的试验,并且它们是已知的。

[0228] 免疫偶联物

[0229] 在一些实施方式中,所述抗体是免疫偶联物或其部分,其中,所述抗体偶联至一种或多种异源分子,例如但不限于,细胞毒剂、成像剂、可检测部分、多聚化结构域或其它异源分子。细胞毒剂包括但不限于,放射性同位素(例如,At211、I131、I125、Y90、Re186、Re188、Sm153、Bi212、P32、Pb212和Lu的放射性同位素);化疗剂(例如,甲氨蝶呤、阿霉素、长春花生物碱(长春新碱、长春花碱、依托泊苷)、阿霉素、美法仑、丝裂霉素C、苯丁酸氮芥、正定霉素或其它嵌入剂);生长抑制剂;酶及其片段,例如溶核酶;抗生素;毒素,例如小分子毒素或酶活毒素。在一些实施方式中,所述抗体偶联至一种或多种细胞毒剂,例如化疗剂或药物,生长抑制剂、毒素(例如,细菌、真菌、植物或动物来源的蛋白质毒素、酶活毒素或其片段)或放射性同位素。

[0230] 所述免疫偶联物包括抗体-药物偶联物(ADC),其中,抗体偶联至一种或多种药物,包括但不限于美登木素(参见美国专利号5,208,020、5,416,064和欧洲专利EP 0 425 235 B1);澳瑞他汀例如单甲基澳瑞他汀药物部分DE和DF(MMAE和MMAF)(参见美国专利号5,635,483和5,780,588和7,498,298);多拉司他汀;卡奇霉素或其衍生物(参见美国专利号5,712,374、5,714,586、5,739,116、5,767,285、5,770,701、5,770,710、5,773,001和5,877,296;Hinman等,Cancer Res.53:3336-3342(1993);和Lode等,Cancer Res.58:2925-2928(1998));蒽环类抗生素,例如道诺霉素或阿霉素(参见Kratz等,Current Med.Chem.13:477-523(2006);Jeffrey等,Bioorganic&Med.Chem.Letters 16:358-362(2006);Torgov等,BioconJ.Chem.16:717-721(2005);Nagy等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 97:829-834(2000);Dubowchik等,Bioorg.&Med.Chem.Letters 12:1529-1532(2002);King等,J.Med.Chem.45:4336-4343(2002);和美国专利号6,630,579);甲氨蝶呤;长春地辛;紫杉烷,例如多西他赛、紫杉醇、莱龙太素、泰斯它赛(Tesetaxel)和奥它塔赛(Ortaxel);单端孢霉烯;和CC1065。



[0231] 所述免疫偶联物还包括其中,所述抗体偶联至酶活毒素或其片段的那些,包括但不限于:白喉A链、白喉毒素的非结合活性片段、外毒素A链(来自绿脓假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*))、蓖麻毒蛋白A链、相思豆毒蛋白A链、蒴莲根毒素A链、 $\alpha$ -帚曲菌素、油桐(*Aleurites fordii*)蛋白、石竹素蛋白、美洲商陆(*Phytolaca americana*)蛋白(PAPI、PAPII和PAP-S)、苦瓜(*Momordica charantia*)抑制剂、麻疯树毒蛋白、巴豆毒蛋白、肥皂草(*Saponaire officinalis*)抑制剂、白树毒素、分裂毒素(mitogellin)、局限曲菌素、酚霉素、依诺霉素和单端孢霉烯族毒素(tricothecenes)。

[0232] 所述免疫偶联物还包括其中,所述抗体偶联至放射性原子以形成放射性偶联物的那些。示例性的放射性同位素包括 $\text{At}^{211}$ 、 $\text{I}^{131}$ 、 $\text{I}^{125}$ 、 $\text{Y}^{90}$ 、 $\text{Re}^{186}$ 、 $\text{Re}^{188}$ 、 $\text{Sm}^{153}$ 、 $\text{Bi}^{212}$ 、 $\text{P}^{32}$ 、 $\text{Pb}^{212}$ 和Lu的放射性同位素。

[0233] 抗体和细胞毒剂的偶联物可采用多种已知蛋白质偶联剂中的任一种,例如,接头来制备(参见Vitetta等,Science 238:1098(1987)),W094/11026。所述接头可以是促进细胞毒性药物在所述细胞中的释放的“可切割接头”,例如酸不稳定接头、肽酶敏感性接头、光不稳定接头、二甲基接头,和含二硫化物的接头(Chari等,Cancer Res.52:127-131(1992);美国专利号5,208,020)。

[0234] 偶联物还可包括融合蛋白,例如Fc-融合物和嵌合分子。

[0235] 多特异的抗体

[0236] 在某些实施方式中,所述CD19-结合分子,例如,抗体,是多特异的。所述多特异的结合分子包括多特异的抗体,包括,例如双特异的。多特异的结合伴侣,例如,抗体,具有对于至少两个不同位点的结合特异性,所述位点可位于相同或不同抗原中。在某些实施方式中,所述结合特异性之一是针对CD19的,而另一结合特异性是针对另一抗原。在某些实施方式中,双特异性抗体可结合至两个不同CD19表位。也可利用双特异性抗体将细胞毒剂定位于表达CD19的细胞。双特异性抗体可制备为全长抗体或抗体片段。所述双特异性抗体包括多特异性单链抗体,例如,双特异性抗体、三特异性抗体,和四特异性抗体、串联双-scFv,和串联三-scFv。还提供多特异性嵌合受体,例如多特异性CAR,包含所述抗体。

[0237] 示例性的其它抗原包括其它B细胞特异性抗原和在T细胞上表达的抗原。示例性的抗原包括CD4、CD5、CD8、CD14、CD15、CD20、CD21、CD22、CD23、CD25、CD33、CD37、CD38、CD40、CD40L、CD46、CD52、CD54、CD74、CD80、CD126、CD138、B7、MUC-1、Ia、HM1.24、HLA-DR、腱生蛋白、血管生成因子、VEGF、PIGF、ED-B纤连蛋白、致癌基因、致癌基因产物、CD66a-d、坏死抗原、Ii、IL-2、T101、TAC、IL-6、TRAIL-R1(DR4)和TRAIL-R2(DR5)。

[0238] 变体

[0239] 在某些实施方式中,相比本文所述的抗原序列,所述抗体包括一种或多种氨基酸变化形式,例如,取代、缺失、插入和/或突变。示例性的变体包括经设计以改善所述抗体的结合亲和性和/或其它生物性质的那些。抗体的氨基酸序列变体可通过将合适修饰引入编码所述抗体的核苷酸序列或通过肽合成来制备。所述修饰包括,例如,从所述抗体的氨基酸序列缺失,和/或插入所述抗体的氨基酸序列中和/或所述抗体的氨基酸序列中的残基的取代。可形成缺失、插入和取代的任何组合以获得最终构建体,前提条件是,该最终构建体具有所需特点,例如,抗原结合。

[0240] 在某些实施方式中,例如,相较于本文所述的抗体序列和/或相比天然谱(例如,人

谱)序列,所述抗体包括一个或多个氨基酸取代。用于取代诱变的感兴趣位点包括CDR和FR。可将氨基酸取代引入感兴趣的抗体,并筛选产物的所需活性,例如,保留的/改善的抗原结合、减少的免疫原性、改善的半衰期,和/或改善的效应物功能,例如,促进抗体依赖性细胞毒性(ADCC)或互补依赖性细胞毒性(CDC)的能力。在一些实施方式中,所述变体抗体显示保留或改善的CD19结合性。

[0241] 在一些实施方式中,亲代抗体(例如人源化的或人抗体)的CDR中的一个或多个残基可被取代。在一些实施方式中,进行所述取代以恢复序列中的序列或位置至种系序列,例如种系(例如,人种系)中存在的抗体序列,例如,以在给予人对象之后,例如,减少免疫原性的可能性。

[0242] 在一些实施方式中,在CDR“热点”:体成熟过程中以高频经历突变的密码子编码的残基(参见,例如,Chowdhury,Methods Mol.Biol..207:179-196(2008))和/或接触抗原的残基中,制造变化,其中,测试所得变体 $V_H$ 或 $V_L$ 的结合亲和性。通过构建并从二级文库再次选择进行的亲和性成熟化已经描述,例如,参见Hoogenboom等,刊于《分子生物学方法》(Methods in Molecular Biology)178:1-37(O'Brien等编,人类出版社(Human Press),新泽西州托托华(2001))。在亲和性成熟化的一些实施方式中,通过多种方法(例如,易错PCR、链改组或寡核苷酸导向的诱变)中的任一种,将多样性引入选择用于成熟化的可变基因。然后产生二级文库。然后,筛选该文库以鉴定具有所需亲和性的任何抗体变体。用于引入多样性的另一方法涉及CDR导向的方法,其中,使若干CDR残基(例如,一次4-6个残基)随机化。可具体鉴定抗原结合中涉及的CDR残基,例如,采用丙氨酸扫描诱变法或建模来进行。具体而言,CDR-H3和CDR-L3常被靶标。

[0243] 在某些实施方式中,取代、插入或缺失可在一个或多个CDR中出现,只要此类变化基本不减少该抗体结合抗原的能力即可。例如,可在CDR中产生基本不减少结合亲和性的保守变化(例如,本文中提供的保守取代)。此类变化可以,例如,在接触CDR中的残基的抗原之外。在上述提供的变体 $V_H$ 和 $V_L$ 序列的某些实施方式中,各CDR未改变或包含不多于一个、两个或三个氨基酸取代。

[0244] 氨基酸序列插入包括氨基-和/或羧基-末端融合,长度范围从一个残基到含一百或更多残基的多肽,以及序列内插入单个或多个氨基酸残基。末端插入的实例包括具有N末端甲硫氨酰基残基的抗体。所述抗体分子的其它插入变体包括,将所述抗体的N-或C末端融合至酶或多肽,这增加所述抗体的血清半衰期。

[0245] 修饰

[0246] 在某些实施方式中,所述抗体经改变以增加或减少该抗体糖基化的程度,例如,通过移除或插入一个或多个糖基化位点,这通过改变氨基酸序列和/或通过修饰连接至糖基化位点的寡糖(例如,采用某些细胞系)来进行。糖基化位点包括所述重链的天冬酰胺297(按Kabat编号)。

[0247] 示例性的修饰,变体,和细胞系描述于,例如,专利公开号US2003/0157108、US2004/0093621、US2003/0157108;WO 2000/61739;WO 2001/29246;US 2003/0115614;US2002/0164328;US2004/0093621;US2004/0132140;US 2004/0110704;US2004/0110282;US2004/0109865;WO 2003/085119;WO 2003/084570;WO 2005/035586;WO 2005/035778;WO2005/053742;WO2002/031140;Okazaki等.J.Mol.Biol.336:1239-1249(2004);Yamane-

Ohnuki等.Biotech.Bioeng.87:614(2004);Yamane-Ohnuki等.Biotech.Bioeng.87:614(2004);Ripka等.Arch.Biochem.Biophys.249:533-545(1986);美国专利申请号US2003/0157108A1,Presta,L;和WO 2004/056312A1,Yamane-Ohnuki等.Biotech.Bioeng.87:614(2004);Kanda,Y.等,Biotechnol.Bioeng.,94(4):680-688(2006);和WO2003/085107;WO 2003/011878(Jean-Mairet等);美国专利号6,602,684(Umana等);和US2005/0123546(Umana等);WO 1997/30087(Patel等);WO 1998/58964(Raju,S.);和WO 1999/22764(Raju,S.)。

[0248] 这些经修饰的抗体包括Fc区中具有一个或多个氨基酸修饰的那些,例如,具有在一个或多个氨基酸位置包含氨基酸修饰(例如取代)的人Fc区序列或恒定区的其它部分(例如,人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc区)的那些。

[0249] 可进行所述修饰,例如,以改善半衰期,改变与一种或多种类型的Fc受体的结合,和/或改变效应物功能。

[0250] 所述变体还包括经半胱氨酸工程改造的抗体,例如“含硫MAb”及其它经半胱氨酸工程改造的变体,其中,所述抗体的一个或多个残基用半胱氨酸残基取代,以在可及位点产生反应性的巯基基团,例如,用于与试剂和接头-试剂偶联,以产生免疫偶联物。经半胱氨酸工程改造的抗体描述于,例如,美国专利号7,855,275和7,521,541。

[0251] 在一些实施方式中,所述抗体经修饰以包含其它非蛋白质部分,包括水可溶性聚合物。示例性的聚合物包括但不限于,聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纤维素、右旋糖酐、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚-1,3-二氧戊环、聚-1,3,6-三氧杂环己烷、乙烯/马来酸酐共聚物、多聚氨基酸(均聚物或无规共聚物),和,右旋糖酐或聚(乙烯基吡咯烷酮)聚乙二醇、聚丙二醇均聚物、聚环氧丙烷/环氧乙烷共聚物、聚氧乙基化的多元醇(例如,丙三醇)、聚乙烯醇,及其混合物。聚乙二醇丙醛因其在水中的稳定性而可能有利于制造。所述聚合物可具有任何分子量,并且可以是支化或非支化的。连接至所述抗体的聚合物的数量可不同,并且如果连接了多于一个聚合物,则它们可以是相同或不同分子。一般而言,用于衍生化的聚合物的数量和/或类型可基于如下考虑来确定,包括但不限于,待改善的抗体的特定性质或功能,所述抗体衍生物是否将用于特定条件下的疗法等。

[0252] B. 重组受体

[0253] 提供的CD19结合分子包括重组受体,例如抗原受体和其它嵌合受体,其特异性地结合至CD19,例如包含所提供的抗CD19抗体(例如,抗体片段)的受体。抗原受体包括功能性非-TCR抗原受体,如嵌合抗原受体(CAR)。还提供表达所述重组受体的细胞,及其在过继细胞疗法中的应用,例如治疗与CD19表达相关联的疾病和紊乱。

[0254] 示例性的抗原受体,包括CAR,以及用于工程改造和将受体导入细胞中的方法,包括例如,在国际专利申请公开号W0200014257、W02013126726、W02012/129514、W02014031687、W02013/166321、W02013/071154、W02013/123061,美国专利申请公开号US2002131960、US2013287748、US20130149337,美国专利号6,451,995、7,446,190、8,252,592、8,339,645、8,398,282、7,446,179、6,410,319、7,070,995、7,265,209、7,354,762、7,446,191、8,324,353、和8,479,118,和欧洲专利申请号EP2537416中所述的那些,和/或Sadellain等,Cancer Discov.2013年4月;3(4):388-398;Davila等,(2013)PLoS ONE 8(4):e61338;Turtle等,Curr.Opin.Immunol.,2012年10月;24(5):633-39;Wu等,Cancer,2012年

3月18(2):160-75中所述的那些。在一些方面中,所述抗原受体包括美国专利号7,446,190中所述的CAR,和国际专利申请公开号W0/2014055668A1中所述的那些。示例性的CAR包括前述任何公开文件中所述的CAR,例如W02014031687、US 8,339,645、US 7,446,179、US2013/0149337、美国专利号7,446,190、美国专利号:8,389,282,例如,并且其中,所述抗原结合部分(例如,scFv)被本文中提供的抗体替代。

[0255] 所述嵌合受体包括嵌合抗原受体(CAR)。所述嵌合受体,例如CAR,一般包括胞外抗原结合结构域,其包括、是或包含在提供的抗CD19抗体之一中。因此,所述嵌合受体,例如,CAR,通常在它们的胞外部分中包括一种或多种CD19-结合分子,例如一种或多种抗原结合片段、结构域或部分或一种或多种抗体可变结构域,和/或抗体分子,例如本文所述那些。在一些实施方式中,所述CAR包括所述抗体分子的一个或多个CD19-结合部分,例如所述抗体的可变重( $V_H$ )链区和/或可变轻( $V_L$ )链区,例如,scFv抗体片段。

[0256] CD19-靶向CAR描述于,例如,Kochenderfer等,2013,Nature Reviews Clinical Oncology,10,267-276(2013);Wang等.(2012)J.Immunother.35(9):689-701;和Brentjens等,Sci Transl Med.2013 5(177)。还参见W02014031687、US 8,339,645、US 7,446,179、US2013/0149337、美国专利号7,446,190和美国专利号:8,389,282。

[0257] 在一些实施方式中,所述重组受体,例如CAR,例如其抗体部分,还包括间隔物,其可以是或包括免疫球蛋白恒定区或其变体或修饰形式的至少部分,例如铰链区,例如,IgG4铰链区,和/或CH1/CL和/或Fc区。在一些方面中,恒定区的部分作为抗原-识别部分,例如,scFv,和跨膜结构域之间的间隔物区域。所述间隔物可具有这样的长度,相较于该间隔物不存在的情况,该长度在抗原结合之后提供增加细胞响应性。在一些示例中,所述间隔物的长度是或约是12个氨基酸,或者不多于12个氨基酸。示例性的间隔物包括具有如下长度的那些:至少约10-229个氨基酸、约10-200个氨基酸、约10-175个氨基酸、约10-150个氨基酸、约10-125个氨基酸、约10-100个氨基酸、约10-75个氨基酸、约10-50个氨基酸、约10-40个氨基酸、约10-30个氨基酸、约10-20个氨基酸或约10-15个氨基酸,并且包括上述所列范围的任何端点之间的整数。在一些实施方式中,间隔物区具有约12个氨基酸或更短,约119个氨基酸或更短或约229个氨基酸或更短。示例性的间隔物包括单独IgG4铰链,连接至CH2和CH3结构域的IgG4铰链或连接至CH3结构域的IgG4铰链。示例性的间隔物包括但不限于,描述于如下文献的那些:Hudecek等.(2013)Clin.Cancer Res.,19:3153,国际专利申请公开号W02014031687,美国专利号8,822,647或公开申请号US2014/0271635。

[0258] 在一些实施方式中,所述恒定区或部分是人IgG的,例如IgG4或IgG1的。在一些实施方式中,所述间隔物具有序列ESKYGPPCPPCP(示于SEQ ID NO:124),并且由示于SEQ ID NO:125的序列编码。在一些实施方式中,所述间隔物具有示于SEQ ID NO:126的序列。在一些实施方式中,所述间隔物具有示于SEQ ID NO:127的序列。在一些实施方式中,所述恒定区或部分是人IgD的。在一些实施方式中,所述间隔物具有示于SEQ ID NO:128的序列。在一些实施方式中,所述间隔物具有与SEQ ID NO:124、126、127或128显示至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多序列相同性的氨基酸序列。

[0259] 抗原识别结构域一般连接至一个或多个胞内信号转导部分,例如在CAR的情况中,通过抗原受体复合物(例如TCR复合物)模拟活化的信号转导部分,和/或通过另一细胞表面

受体的信号。因此,在一些实施方式中,所述CD19特异性结合部分(例如,抗体)连接至一个或多个跨膜和胞内信号转导结构域。在一些实施方式中,所述跨膜结构域融合至所述胞外结构域。在一个实施方式中,使用天然关联受体(例如CAR)中的结构域之一的跨膜结构域。在一些情况中,所述跨膜结构域通过氨基酸取代来选择或修饰,以避免所述结构域结合至相同或不同表面膜蛋白的跨膜结构域,以使与受体复合物的其它成员的相互作用最小化。

[0260] 在一些实施方式中,所述跨膜结构域源自天然或合成来源。当所述来源是天然来源时,在一些方面中,所述结构域源自任何膜结合或跨膜蛋白。跨膜区包括源自T-细胞受体的 $\alpha$ 、 $\beta$ 或 $\zeta$ 链,CD28,CD3 $\epsilon$ ,CD45,CD4,CD5,CD8,CD9,CD 16,CD22,CD33,CD37,CD64,CD80,CD86,CD 134,CD137,CD 154,和/或跨膜区包含其功能变体(例如基本保留其结构部分(例如,跨膜结构部分)、性质的那些)的那些(即包含至少它们的跨膜区域)。在一些实施方式中,所述跨膜结构域是源自CD4、CD28或CD8的跨膜结构域,例如,CD8 $\alpha$ 或其功能变体。在一些实施方式中,所述跨膜结构域在一些实施方式中是合成的。在一些方面中,所述合成跨膜结构域主要包含疏水残基例如亮氨酸和缬氨酸。在一些方面中,苯丙氨酸、色氨酸和缬氨酸的三聚体将出现在合成的跨膜结构域的各末端。在一些实施方式中,所述连接通过接头、间隔物和/或跨膜结构域发生。

[0261] 所述胞内信号转导结构域包括模拟或近似通过天然抗原受体的信号、通过此类受体联合共刺激受体的信号,和/或通过单独共刺激受体的信号的那些。在一些实施方式中,存在短的寡肽或多肽接头,例如,长度为2-10个氨基酸的接头,例如包含甘氨酸和丝氨酸,例如,甘氨酸-丝氨酸双联体的接头,并在CAR的胞质信号转导结构域和跨膜结构域之间形成连接。

[0262] 所述受体,例如,CAR,一般包括至少一种的一个或多个胞内信号转导部分。在一些实施方式中,所述受体包括TCR复合物的胞内组分,例如介导T-细胞活化和细胞毒性的TCR CD3<sup>+</sup>链,例如,CD3 $\zeta$ 链。因此,在一些方面中,所述CD19结合抗体连接至一种或多种细胞信号转导模块。在一些实施方式中,细胞信号转导模块包括CD3跨膜结构域、CD3胞内信号转导结构域,和/或其它CD跨膜结构域。在一些实施方式中,所述受体,例如,CAR,还包括一种或多种其它分子的部分,例如Fc受体 $\gamma$ 、CD8、CD4、CD25或CD16。例如,在一些方面中,所述CAR包括CD3- $\zeta$ (CD3- $\zeta$ )或Fc受体 $\gamma$ 和CD8、CD4、CD25或CD16之间的嵌合分子。

[0263] 在一些实施方式中,在CAR的连接之后,该CAR的胞质结构域或胞内信号转导结构域活化免疫细胞的正常效应功能或应答的至少一种,例如,工程改造的T细胞以表达该CAR。例如,在一些情况中,CAR诱导T细胞的功能,例如溶细胞活性或辅助性T细胞活性,例如细胞因子或其它因子的分泌。在一些实施方式中,采用抗原受体部分或共刺激分子的胞内信号转导结构域的截短部分来替代完整免疫刺激链,例如,如果其转导效应物功能信号的话。在一些实施方式中,所述一种或多种胞内信号转导结构域包括T细胞受体(TCR)的胞质序列,且在一些方面中,在天然情况下与此类受体一起作用以在抗原受体衔接之后起始信号转导的共同受体的那些,和/或此类分子的任何衍生物或变体,和/或具有相同功能性能的任何合成序列。

[0264] 在天然TCR的情况中,完全活化一般不仅需要通过TCR的信号转导,而且需要共刺激信号。因此,在一些实施方式中,为了促进完全活化,用于产生第二或共刺激信号的组分也包括在所述CAR中。在其他实施方式中,CAR不包括用于生成共刺激信号的组分。在一些方

面中,其他CAR在同一细胞中表达并且提供用于生成第二或共刺激信号的组分。

[0265] 在一些方面中,T细胞活化描述为通过两类胞质信号转导序列介导:通过TCR起始抗原依赖性第一活化的那些(第一胞质信号转导序列),和以抗原非依赖性方式作用以提供第二或共刺激信号的那些(第二胞质信号转导序列)。在一些方面中,所述CAR包括此类信号转导组分之一或两者。

[0266] 在一些方面中,所述CAR包括主要胞质信号转导序列,其调节TCR复合物的初始活化。以刺激方式作用的第一胞质信号转导序列可包含信号转导基序,其已知是免疫受体基于酪氨酸的活化基序或ITAM。ITAM的实例包括第一胞质信号转导序列,其包括源自如下的那些:TCR $\zeta$ ,FcR $\gamma$ ,FcR $\beta$ ,CD3 $\gamma$ ,CD3 $\delta$ ,CD3 $\epsilon$ ,CD8、CD22、CD79a、CD79b,和CD66d。在一些实施方式中,CAR中的胞质信号转导分子包含胞质信号转导结构域,其部分或源自CD3 $\zeta$ 的序列。

[0267] 在一些实施方式中,所述CAR包括共刺激受体的跨膜部分和/或信号转导结构域,例如CD28、4-1BB、OX<sub>40</sub>、DAP10,或ICOS或CD27。在一些方面中,同一CAR同时包括活化和共刺激部分。

[0268] 在一些实施方式中,所述活化结构域(例如CD3 $\zeta$ )包括在一个CAR之内,而共刺激部分(例如CD28或4-1BB)由识别另一抗原的另一CAR提供。在一些实施方式中,所述CAR包括活化或刺激CAR、共刺激CAR,其均表达在同一细胞上(参见W02014/055668)。在一些方面中,CD19-靶向CAR是刺激性或活化性CAR;在其它方面中,其是共刺激CAR。在一些实施方式中,所述细胞还包括抑制性CAR(iCAR,参见Fedorov等,Sci.Transl.Medicine,5(215)(2013年12月),例如识别非CD19抗原的CAR,由此通过CD19-靶向CAR递送的活化信号被抑制性CAR与其配体的结合而减弱或抑制,例如,以减少脱靶效应。

[0269] 在一些实施方式中,所述重组受体的胞内信号转导部分,例如CAR,包含CD3 $\zeta$ 胞内结构域和共刺激信号转导区。在某些实施方式中,所述胞内信号转导结构域包含CD28跨膜和信号转导结构域,其连接至CD3(例如,CD3- $\zeta$ )胞内结构域。在一些实施方式中,所述胞内信号转导结构域包含嵌合CD28和/或CD137(4-1BB、TNFRSF9)共刺激结构域,其连接至CD3 $\zeta$ 胞内结构域。

[0270] 在一些实施方式中,所述CAR涵盖一个或多个,例如,两个或更多个,共刺激结构域和活化结构域,例如,胞质部分中的初始活化结构域。示例性的CAR包括CD3- $\zeta$ 、CD28和4-1BB的胞内部分。

[0271] 在一些实施方式中,所述CAR或其它抗原受体还包括标志物,例如细胞表面标志物,其可用于确定所述细胞用于表达所述受体的转导或工程改造,例如细胞表面受体的截短形式,例如截短的EGFR(tEGFR)。在一些方面中,所述标志物包括CD34、NGFR或表皮生长因子受体(例如,tEGFR)或其功能变体的全部或部分(例如,截短形式)。在一些实施方式中,编码所述标志物的核酸经操作性地连接至编码接头序列(例如可切割接头序列,例如,T2A)的多核苷酸。例如,标志物,和任选地,接头序列,可以是公开的专利申请号W02014031687中描述的任意种。例如,所述标志物可以是截短的EGFR(tEGFR),即任选地连接至接头序列,例如T2A可切割接头序列。用于截短的EGFR(例如tEGFR)的示例性的多肽包含示于SEQ ID NO:138的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:138显示至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多序列相同性的氨基酸序列。示例性的T2A接头序列包含示于SEQ ID NO:137的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:137显示至少85%、

86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多序列相同性的氨基酸序列。

[0272] 在一些实施方式中,所述标志物是分子,例如,细胞表面蛋白质,其非天然见于T细胞上的或非天然见于T细胞表面或其部分。

[0273] 在一些实施方式中,所述分子是非自体分子,例如,非自体蛋白质,即,不被待向其过继转移所述细胞的宿主的免疫系统识别为“自身”的蛋白质。

[0274] 在一些实施方式中,所述标志物无治疗性功能和/或除了用作遗传工程改造的标志物(例如,用于选择成功地工程改造的细胞)之外没有任何作用。在其它实施方式中,所述标志物可以是治疗性分子或在其它情况中发挥一些所需效果的分子,例如用于待在体内遇到的细胞的配体,例如共刺激或免疫检查点分子,以增强和/或抑制所述细胞在过继转移和遇到配体之后的响应。

[0275] 在一些情况中,CAR被称为第一、第二和/或第三代CAR。在一些方面中,第一代CAR是仅在抗原结合后提供CD3-链诱导的信号信号的CAR;在一些方面中,第二代CAR是提供信号和共刺激信号的CAR、如包含来自共刺激受体如CD28或CD137的共刺激受体的胞内信号转导结构域的CAR;在一些方面中,第三代CAR在一些方面中是包含不同共刺激受体的多种共刺激结构域的CAR。

[0276] 在一些实施方式中,所述嵌合抗原受体包括胞外部分,其包含本文所述的抗体或片段。在一些方面中,所述嵌合抗原受体包括胞外部分,其包含本文所述的抗体或片段和胞内信号转导结构域。在一些实施方式中,所述抗体或片段包括scFv,且所述胞内结构域包含ITAM。在一些方面中,所述胞内信号转导结构域包括CD3- $\zeta$ 链的 $\zeta$ 链的信号转导结构域。在一些实施方式中,所述嵌合抗原受体包括跨膜结构域,其连接胞外结构域和胞内信号转导结构域。在一些方面中,所述跨膜结构域包含CD28的跨膜部分。胞外结构域和跨膜结构域可直接或间接相连。在一些实施方式中,所述胞外结构域和跨膜通过间隔物,例如本文所述的任何间隔物连接。在一些实施方式中,所述受体包含作为跨膜结构域的衍生来源的分子的胞外部分,例如CD28胞外部分。在一些实施方式中,所述嵌合抗原受体包含源自T细胞共刺激分子或其功能变体的胞内结构域,例如在跨膜结构域和胞内信号转导结构域之间。在一些方面中,T细胞共刺激分子是CD28或41BB。

[0277] 例如,在一些实施方式中,所述CAR包含本文中提供的抗体(例如,抗体片段)、是或包含CD28或其功能变体的跨膜部分的跨膜结构域,和包含CD28或其功能变体的信号转导部分和CD3 $\zeta$ 或其功能变体的信号转导部分的胞内信号转导结构域。在一些实施方式中,所述CAR包含本文中提供的抗体(例如抗体片段)、是或包含CD28或其功能变体的跨膜部分的跨膜结构域,和,包含4-1BB或其功能变体的信号转导部分和CD3 $\zeta$ 或其功能变体的信号转导部分的胞内信号转导结构域。在一些所述实施方式中,所述受体还包括间隔物,其包含Ig分子(例如人Ig分子)的部分,例如Ig铰链,例如IgG4铰链,例如仅铰链间隔物。

[0278] 在一些实施方式中,所述重组受体(例如,CAR)的跨膜结构域是或包括人CD28(例如登录号P01747.1)或其变体的跨膜结构域,例如包含示于SEQ ID NO:129的氨基酸序列的跨膜结构域,或与SEQ ID NO:129显示至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多序列相同性的氨基酸序列;在一些实施方式中,包含重组受体的部分的跨膜-结构域包含示于SEQ ID NO:130的氨基酸序列,或与其具

有至少是或约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多序列相同性的氨基酸序列。

[0279] 在一些实施方式中,所述重组受体(例如CAR)的胞内信号转导部分包含人CD28或其功能变体或部分的胞内共刺激信号转导结构域,例如在原始CD28蛋白的位置186-187处具有LL-GG取代的结构域。例如,胞内信号转导结构域可包含示于SEQ ID NO:131或132的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:131或132显示至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多序列相同性的氨基酸序列。在一些实施方式中,所述胞内结构域包含4-1BB(例如(登录号Q07011.1)或功能变体或其部分的胞内共刺激信号转导结构域,例如示于SEQ ID NO:133的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:133显示至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多序列相同性的氨基酸序列。

[0280] 在一些实施方式中,所述重组受体(例如CAR)的胞内信号转导结构域包含人CD3 $\zeta$ 刺激信号转导结构域或其功能变体,例如人CD3 $\zeta$ (登录号:P20963.2)同种型3的112AA胞质结构域,或CD3 $\zeta$ 信号转导结构域,其描述于美国专利号:7,446,190或美国专利号8,911,993。例如,在一些实施方式中,所述胞内信号转导结构域包含氨基酸序列134、135或136或与SEQ ID NO:134、135或136显示至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多序列相同性的氨基酸序列。

[0281] 在一些方面中,所述间隔物仅包含IgG的铰链区,例如仅IgG4或IgG1的铰链,例如仅示于SEQ ID NO:124的间隔物铰链。在其它实施方式中,所述间隔物是或包含Ig铰链,例如,IgG4源性的铰链,其任选地连接至CH2和/或CH3结构域。在一些实施方式中,所述间隔物是Ig铰链,例如,IgG4铰链,其连接至CH2和CH3结构域,例如示于SEQ ID NO:127。在一些实施方式中,所述间隔物是Ig铰链,例如,IgG4铰链,其仅连接至CH3结构域,例如示于SEQ ID NO:126。在一些实施方式中,所述间隔物是或包含富含甘氨酸-丝氨酸的序列或其它柔性接头,例如已知柔性接头。

[0282] 例如,在一些实施方式中,所述CAR包括抗CD19抗体例如抗CD19抗体片段,例如提供的任何人抗CD19抗体,例如,包括本文所述的scFv的单链抗体、间隔物,例如包含免疫球蛋白分子的部分的间隔物,例如铰链区和/或一个或多个重链分子恒定区,例如包含间隔物的Ig-铰链、包含CD28源性的跨膜结构域的全部或部分的跨膜结构域、CD28源性的胞内信号转导结构域,和CD3 $\zeta$ 信号转导结构域。在一些实施方式中,所述CAR包括抗CD19抗体或片段,例如任何所述人抗CD19抗体,包括本文所述的scFv,间隔物,例如包含间隔物的任何所述Ig-铰链、CD28源性的跨膜结构域、4-1BB源性的胞内信号转导结构域,和CD3 $\zeta$ 源性的信号转导结构域。

[0283] 在一些实施方式中,所述CAR构建体还包括T2A核糖体跳过元件和/或tEGFR序列,例如,CAR下游,例如分别示于SEQ ID NO:137和/或138,或,与SEQ ID NO:137或138显示至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多序列相同性的氨基酸序列。

[0284] C. 经工程改造的细胞

[0285] 还提供细胞、细胞群和包含所述细胞的组合物,例如,经工程改造的细胞,例如其包含经工程改造的抗原受体,例如,其包含含有所述抗CD19抗体或片段的胞外结构域,如本



文所述。组合物包括用于给药的药物组合物和制剂,如用于过继细胞治疗。还提供治疗方法,例如,将所述细胞和组合物给予对象(例如患者)的治疗方法。

[0286] 因此,还提供经遗传工程改造的细胞,其表达包含所述抗体的重组受体,例如,包含所述CAR的细胞。所述细胞一般是真核细胞,例如哺乳动物细胞,并且通常是人细胞。在一些实施方式中,细胞衍生自血液、骨髓、淋巴或淋巴器官,是免疫系统的细胞,如先天或适应性免疫的细胞,例如,骨髓或淋巴样细胞,包括淋巴细胞,一般是T细胞和/或NK细胞。其他示例性的细胞包括干细胞,如专能(multipotent)和多能(pluripotent)干细胞,包括诱导性多能干细胞(iPSC)。细胞一般是原代细胞,如直接从对象分离和/或从对象分离并冷冻的那些细胞。在一些实施方式中,细胞包括T细胞或其他细胞类型的一个或多个亚组,如全T细胞群、CD4<sup>+</sup>细胞、CD8<sup>+</sup>细胞及其亚群,如由功能、活化状态、成熟、分化潜力、扩增、再循环、定位,和/或持久能力、抗原特异性、抗原受体类型、特定器官或隔室中的存在、标志物或细胞因子分泌概况,和/或分化程度限定的那些。关于待治疗的对象,细胞可以是同种异体和/或自体的。方法包括现成的方法。在一些方面中,如对于现成的技术,细胞是多能和/或专能的,如干细胞,如诱导性多能干细胞(iPSC)。在一些实施方式中,该方法包括从对象分离细胞,对其进行制备、处理、培养和/或工程改造,如本文所述,并且在冷冻保存前或后将其再导入同一患者。

[0287] T细胞和/或CD4<sup>+</sup>和/或CD8<sup>+</sup>T细胞的亚型和亚群包括:原初T(TN)细胞、效应T细胞(TEFF)、记忆T细胞及其亚型,例如干细胞记忆T(TSCM)、中心记忆T(T<sub>CM</sub>)、效应记忆T(TEM)、或最终分化的效应记忆T细胞、肿瘤-浸润性淋巴细胞(TIL)、不成熟T细胞、成熟T细胞、辅助性T细胞、细胞毒性T细胞、粘膜相关的非变体T(MAIT)细胞、天然产生的和过继性调节T(Treg)细胞、辅助性T细胞,例如TH1细胞、TH2细胞、TH3细胞、TH17细胞、TH9细胞、TH22细胞、滤泡辅助性T细胞、 $\alpha/\beta$ T细胞,和 $\delta/\gamma$ T细胞。

[0288] 在一些实施方式中,所述细胞是自然杀伤(NK)细胞。在一些实施方式中,所述细胞是单核细胞或粒细胞,例如,骨髓细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、树突细胞、肥大细胞、嗜酸性粒细胞,和/或嗜碱性粒细胞。

[0289] 在一些实施方式中,所述细胞包括通过遗传工程改造导入的一种或多种核酸,并,由此表达所述核酸的重组或经遗传工程改造的产物。在一些实施方式中,核酸是异源性的,即,通常不存在于细胞或从该细胞获得的样品中,如从另一个生物体或细胞获得的样品,其例如通常不在工程改造中的细胞和/或这类细胞来源的生物体中发现。在一些实施方式中,核酸不是天然存在的,如核酸不是自然中发现的,包括包含编码来自多种不同细胞类型的各种结构域的核酸的嵌合组合。

[0290] 用于遗传工程改造的方法和载体

[0291] 还提供方法、核酸、组合物,和试剂盒,其用于表达所述结合分子,包括含有所述抗体的受体,且用于产生表达所述结合分子的经遗传工程改造的细胞。遗传工程改造一般涉及将编码所述重组或经工程改造的部分的核酸导入细胞,例如,通过逆转录病毒转导、转染或转化进行。

[0292] 在一些实施方式中,基因转移通过如下方式进行:首先,刺激细胞,例如,通过将其与刺激物合并,所述刺激物诱导响应,例如增殖、存活和/或活化,例如,通过细胞因子或活化标志物的表达来检测,然后转导该活化的细胞,并且在培养物中扩增至足以供于临床应

用的数量。

[0293] 在一些情况中,刺激因子(例如,淋巴因子或细胞因子)的过表达可能对对象具有毒性。因此,在一些情况中,工程改造的细胞包括,例如在过继免疫治疗中给予之后,使细胞对体内负选择易感的基因区段。例如在一些方面中,所述细胞经工程改造,从而它们可因它们所给予的患者的体内状况的变化而被消除。可负选择的表型可通过将提供对给予的试剂(例如,化合物)的敏感性的基因来产生。可负选择的基因包括:单纯疱疹病毒I型胸苷激酶(HSV-I TK)基因(Wigler等,Cell 11:223,1977),其提供更昔洛韦敏感性;细胞次黄嘌呤磷酸核糖基转移酶(HPRT)基因,细胞腺嘌呤磷酸核糖基转移酶(APRT)基因,细菌胞嘧啶脱氨酶(Mullen等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA.89:33(1992))。

[0294] 在一些方面中,细胞还经工程改造以促进细胞因子或其他因子的表达。用于引入遗传工程改造的组分,例如,抗原受体(例如,CAR)的各种方法是熟知的,并可采用本文提供的方法和组合物。示例性方法包括用于转移编码受体的核酸的那些,包括通过病毒,例如,逆转录病毒或慢病毒,转导,转座子,和电穿孔。

[0295] 在一些实施方式中,采用重组感染性病毒颗粒将重组核酸转移进入细胞,例如,源自猿病毒40(SV40)、腺病毒、腺相关病毒(AAV)的载体。在一些实施方式中,采用重组慢病毒载体或逆转录病毒载体,例如 $\gamma$ -逆转录病毒载体,将重组核酸转移进入T细胞(参见例如,Koste等,(2014)Gene Therapy 2014年4月3日.doi:10.1038/gt.2014.25;Carlens等,(2000)Exp Hematol 28(10):1137-46;Alonso-Camino等,(2013)Mol Ther Nucl Acids 2,e93;Park等,Trends Biotechnol.2011年11月;29(11):550-557)。

[0296] 在一些实施方式中,所述逆转录病毒载体具有长末端重复序列(LTR),例如,源自莫洛尼鼠白血病病毒(MoMLV),骨髓增生性肉瘤病毒(MPSV),鼠胚胎干细胞病毒(MESV),鼠干细胞病毒(MSCV),脾病灶形成病毒(SFFV)或腺相关病毒(AAV)的逆转录病毒载体。大多数逆转录病毒载体源自鼠逆转录病毒。在一些实施方式中,所述逆转录病毒包括源自任何禽或哺乳动物细胞来源的那些。逆转录病毒通常是双嗜性的,这意味着它们能够感染数种物种(包括人类)的宿主细胞。在一个实施方式中,用待表达的基因替代逆转录病毒gag、pol和/或env序列。已描述许多示例性逆转录病毒系统(例如,美国专利号5,219,740;6,207,453;5,219,740;Miller和Rosman(1989)BioTechniques 7:980-990;Miller,A.D.(1990)Human Gene Therapy 1:5-14;Scarpa等(1991)Virology180:849-852;Burns等(1993)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:8033-8037;和Boris-Lawrie和Temin(1993)Cur.Opin.Genet.Develop.3:102-109。

[0297] 慢病毒转导方法是已知的。示例性方法描述于,例如,Wang等,(2012)J.Immunother.35(9):689-701;Cooper等,(2003)Blood.101:1637-1644;Verhoeyen等,(2009)Methods Mol Biol.506:97-114;和Cavaliere等,(2003)Blood.102(2):497-505。

[0298] 在一些实施方式中,通过电穿孔将重组核酸转移进入T细胞(参见例如,Chicaybam等,(2013)PLoS ONE 8(3):e60298和Van Tedeloo等,(2000)Gene疗法7(16):1431-1437)。在一些实施方式中,通过转位将重组核酸转移进入T细胞(参见例如,Manuri等(2010)Hum Gene Ther 21(4):427-437;Sharma等,(2013)Molec Ther Nucl Acids 2,e74;和Huang等,(2009)Methods Mol Biol 506:115-126)。在免疫细胞中引入和表达遗传物质的其它方法包括磷酸钙转染(例如,描述于《分子生物学方案新编》(Current Protocols in Molecular

Biology), 约翰威利父子公司(John Wiley&Sons), 纽约州纽约)、原生质体融合、阳离子脂质体介导的转染; 钨颗粒促进的微粒轰击(Johnston, Nature, 346:776-777(1990)); 和磷酸锆DNA共沉淀(Brash等, Mol. Cell Biol., 7:2031-2034(1987))。

[0299] 用于转移编码重组产物的核酸的其他方法和载体是描述于, 例如, 国际专利申请公开号W02014055668和美国专利号7,446,190的那些。

[0300] 用于引入的其他核酸(例如基因)包括用以例如通过促进转移的细胞的活力和/或功能改善治疗功效的那些; 用以提供遗传标志物以供选择和/或评价细胞的基因, 例如以评估体内存活或定位; 用以改善安全性的基因, 例如, 通过使细胞对体内负选择易感, 如Lupton S.D.等, Mol. and Cell Biol., 11:6(1991); 和Riddell等, Human Gene Therapy 3:319-338(1992)所述; 也参见Lupton的公开号PCT/US91/08442和PCT/US94/05601等, 其描述显性阳性可选择的标志物与阴性可选择的标志物的融合衍生的双功能可选择的融合基因的应用。参见例如Riddell等, 美国专利号6,040,177, 第14-17栏处。

[0301] 用于工程改造的细胞的制备

[0302] 在一些实施方式中, 经工程改造的细胞的制备包括一种或多种培养和/或一个或多个制备步骤。用于导入CD19-结合分子(例如, CAR)的细胞可从样品(例如生物样品, 例如获自或源自对象的样品)分离。在一些实施方式中, 从中分离细胞的对象是患有特定疾病或病症或需要细胞治疗或将给予细胞治疗的对象。在一些实施方式中, 对象是需要特定治疗性介入的人, 例如, 需要过继细胞疗法的人, 用于该疗法的细胞是经分离、加工和/或经工程改造的。

[0303] 因此, 在一些实施方式中, 所述细胞是原代细胞, 例如, 原代人细胞。所述样品包括直接取自对象的组织、体液和其它样品, 以及获自一个或多个处理步骤, 例如分离、离心、遗传工程改造(例如采用病毒载体的转导)、清洗和/或孵育的样品。所述生物样品可以是直接获自生物来源的样品或经处理的样品。生物样品包括但不限于, 体液, 例如血液、血浆、血清、脑脊髓液、滑膜液、尿液和汗液, 组织和器官样品, 包括源自它们的经处理的样品。

[0304] 在一些方面中, 从中衍生或分离细胞的样品是血液或血液源性的样品或者, 是或源自单采或白细胞去除术产物。示例性样品包括全血、外周血单核细胞(PBMC)、白细胞、骨髓、胸腺、组织活检物、肿瘤、白血病、淋巴瘤、淋巴结、肠相关的淋巴样组织、粘膜相关的淋巴样组织、脾、其它淋巴样组织、肝、肺、胃、肠、结肠、肾、胰腺、乳腺、骨、前列腺、子宫、卵巢、扁桃体或其它器官, 和/或源自其中的细胞。在细胞治疗(例如, 过继细胞治疗)的情况下, 样品包括来自自体 and 同种异体来源的样品。

[0305] 在一些实施方式中, 所述细胞源自细胞系, 例如, T细胞系。在一些实施方式中, 细胞获自异种异体来源, 例如, 获自小鼠、大鼠、非人灵长类, 和猪。

[0306] 在一些实施方式中, 细胞的分离包括一个或多个制备和/或不基于亲和性的细胞分离步骤。在一些实例中, 细胞在一种或多种物质的存在下经清洗、离心和/或孵育, 例如, 以移除不需要的组分, 富集所需组分, 裂解或移除对具体物质敏感的细胞。在一些实例中, 细胞基于一种或多种性质, 例如密度、粘附性质、尺寸、对具体组分的敏感性和/或抗性被分离。

[0307] 在一些实例中, 例如, 通过单采或白细胞去除术, 获得来自对象循环血液的细胞。在一些方面中, 所述样品包括淋巴细胞, 包括T细胞、单核细胞、粒细胞、B细胞、其它有核血

液白细胞、血红细胞,和/或血小板,和,在一些方面中包括与血红细胞和血小板不同的细胞。

[0308] 在一些实施方式中,从所述对象收集的血液细胞经清洗,例如,以移除血浆部分,并将该细胞置于合适的缓冲液或培养基中以供后续处理步骤。在一些实施方式中,所述细胞用磷酸盐缓冲盐水(PBS)清洗。在一些实施方式中,清洗溶液缺乏钙和/或镁和/或许多或全部二价阳离子。在一些方面中,清洗步骤按照生产商说明,通过半自动化的“流通”离心法(例如,Cobe 2991细胞处理器,百特公司(Baxter))完成。在一些方面中,清洗步骤按照生产商说明,通过内切流过滤(TFF)完成。在一些实施方式中,在清洗后,所述细胞在多种生物相容缓冲液中重悬,例如,无 $\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$  PBS。在某些实施方式中,移除血液细胞样品组分,并将细胞直接重悬于培养基中。

[0309] 在一些实施方式中,所述方法包括基于密度的细胞分离方法,例如,通过裂解血红细胞并通过Percoll或Ficoll梯度离心来从外周血制备血液白细胞。

[0310] 在一些实施方式中,所述分离方法包括,基于细胞中一种或多种特定分子,例如表面标志物,例如,表面蛋白质、胞内标志物或核酸的表达或存在来分离不同的细胞类型。在一些实施方式中,可采用基于此类标志物进行分离的任何已知方法。在一些实施方式中,所述分离是基于亲和性或基于免疫亲和性的分离。例如,在一些方面中,所述分离包括基于细胞的一种或多种标志物(通常是细胞表面标志物)的表达或表达水平来分离细胞和细胞群,例如,通过与特异性地结合至此类标志物的抗体或结合伴侣孵育,随后通常是清洗步骤,和从尚未结合至所述抗体或结合伴侣的那些细胞分离已结合所述抗体或结合伴侣的细胞。

[0311] 此类分离步骤可基于正选择,其中已结合所述试剂的细胞被保留用于进一步应用,和/或,负选择,其中尚未结合至所述抗体或结合伴侣的细胞被保留。在一些实例中,两种部分均保留用于进一步应用。在一些方面中,当没有可用于在异质群中特异性地鉴定细胞类型的抗体时,负选择可能是特别有用的,从而分离最好基于通过与所需群不同的细胞表达的标志物进行。

[0312] 所述分离不需导致具体细胞群或表达具体标志物的细胞的100%的富集或移除。例如,正选择或富集具体类型的细胞,例如表达标志物的那些,指的是,增加所述细胞的数量或百分数,但不需要导致不表达所述标志物的细胞完全不存在。同样地,负选择、移除或消耗具体类型的细胞,例如表达标志物的那些,指的是,减少所述细胞的数量或百分数,但不需要导致所有此类细胞的完全移除。

[0313] 在一些实例中,进行多轮分离步骤,其中,对来自一个步骤的正或负选择的部分进行另一分离步骤,例如后续正或负选择。在一些实例中,单一分离步骤同时消耗表达多重标志物的细胞,例如通过孵育使细胞与各自对负选择靶向的标志物具有特异性的多种抗体或结合伴侣孵育。同样地,可通过将细胞与各种细胞类型上表达的多种抗体或结合伴侣孵育来对多重细胞类型进行同时正选择。

[0314] 例如,在一些方面中,T细胞的特定亚群,例如一种或多种表面标志物阳性细胞或表达高水平的一种或多种表面标志物的细胞,例如, $\text{CD}28^{+}$ 、 $\text{CD}62\text{L}^{+}$ 、 $\text{CCR}7^{+}$ 、 $\text{CD}27^{+}$ 、 $\text{CD}127^{+}$ 、 $\text{CD}4^{+}$ 、 $\text{CD}8^{+}$ 、 $\text{CD}45\text{RA}^{+}$ 和/或 $\text{CD}45\text{RO}^{+}$  T细胞,通过正或负选择技术分离。

[0315] 例如, $\text{CD}3^{+}$ 、 $\text{CD}28^{+}$  T细胞可以采用 $\text{CD}3/\text{CD}28$ 连接的磁珠(例如,DYNA珠®M-450  $\text{CD}3/\text{CD}28$  T细胞扩增器)来正选择。

[0316] 在一些实施方式中,分离通过如下方式进行:通过正选择富集具体细胞群或通过负选择消耗具体细胞群。在一些实施方式中,正或负选择通过将细胞与特异性地结合至一种或多种表面标志物的一种或多种抗体或其它结合试剂孵育来完成,所述一种或多种表面标志物分别在正选择或负选择的细胞上表达(标志物<sup>+</sup>)或以相对较高水平表达(标志物高)。

[0317] 在一些实施方式中,T细胞通过对在非T细胞(例如B细胞、单核细胞或其它血液白细胞)上表达的标志物(例如CD14)进行负选择来从PBMC样品分离。在一些方面中,使用CD4<sup>+</sup>或CD8<sup>+</sup>选择步骤来分离辅助性CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>细胞毒性T细胞。通过针对一种或多种原初、记忆和/或效应T细胞亚群上表达或以相对较高的程度表达的标志物进行正或负选择,可将此类CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>群进一步分选成亚群。

[0318] 在一些实施方式中,CD8<sup>+</sup>细胞针对原初、中心记忆、效应记忆和/或中心记忆干细胞进行进一步富集或消耗,例如通过基于与对应亚群相关联的表面抗原进行正或负选择。在一些实施方式中,进行针对中心记忆T(T<sub>CM</sub>)细胞的富集,以增加功效,例如以改善长期存活、扩增和/或给予后的植入,在一些方面中,其在此类亚群中特别强健。参见Terakura等.(2012) Blood. 1:72-82;Wang等(2012) J Immunother. 35(9):689-701。在一些实施方式中,将T<sub>CM</sub>-富集的CD8<sup>+</sup>T细胞与CD4<sup>+</sup>T细胞合并以进一步增强功效。

[0319] 在实施方式中,记忆T细胞在CD8<sup>+</sup>外周血淋巴细胞的CD62L<sup>+</sup>和CD62L<sup>-</sup>亚组中存在。PBMC可以针对CD62L-CD8<sup>+</sup>和/或CD62L<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>部分进行富集或消耗,例如采用抗CD8和抗CD62L抗体。

[0320] 在一些实施方式中,针对中心记忆T(T<sub>CM</sub>)细胞的富集基于CD45R0、CD62L、CCR7、CD28、CD3、和/或CD127阳性或高表面表达;在一些方面中,其基于CD45RA和/或粒酶B表达或高度表达的细胞进行负选择。在一些方面中,针对T<sub>CM</sub>细胞富集的CD8<sup>+</sup>群的分离通过如下方式进行:消耗表达CD4、CD14、CD45RA的细胞,和正选择或针对表达CD62L的细胞进行富集。一方面,针对中心记忆T(T<sub>CM</sub>)细胞的富集通过如下方式进行:由基于CD4表达选择的细胞的阴性部分起始,其基于CD14和CD45RA的表达进行负选择,和基于CD62L进行正选择。在一些方面中,此类选择同时进行,且在其它方面中,此类选择以某一顺序依次进行。在一些方面中,相同的基于CD4表达的选择步骤用于制备CD8<sup>+</sup>细胞群或亚群,也用以产生CD4<sup>+</sup>细胞群或亚群,从而保留来自基于CD4分离的阳性和阴性部分,并任选地在一种或多种进一步正或负选择步骤之后,用于所述方法的后续步骤。

[0321] 在具体实例中,对PBMC样品或其它血液白细胞样品进行CD4<sup>+</sup>细胞选择,其中保留阴性和阳性部分。然后,基于CD14和CD45RA或CD19的表达对阴性部分进行负选择,并基于中心记忆T细胞特征性标志物,例如CD62L或CCR7、进行正选择,其中,所述正和负选择以某一顺序进行。

[0322] 通过鉴定具有细胞表面抗原的细胞群,将辅助性CD4<sup>+</sup>T细胞分选成原初、中心记忆和效应细胞。CD4<sup>+</sup>淋巴细胞可通过标准方法获得。在一些实施方式中,原初CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞是CD45R0<sup>-</sup>、CD45RA<sup>+</sup>、CD62L<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>T细胞。在一些实施方式中,中心记忆CD4<sup>+</sup>细胞是CD62L<sup>+</sup>和CD45R0<sup>+</sup>。在一些实施方式中,效应CD4<sup>+</sup>细胞是CD62L<sup>-</sup>和CD45R0<sup>-</sup>。

[0323] 在一个实例中,为了通过负选择对CD4<sup>+</sup>细胞进行富集,单克隆抗体混合物通常包括针对CD14、CD20、CD11b、CD16、HLA-DR,和CD8的抗体。在一些实施方式中,使所述抗体或结

合伴侣结合至固体支持物或基质,例如磁珠或顺磁珠,以允许分离用于正和/或负选择的细胞。例如,在一些实施方式中,所述细胞和细胞群采用免疫磁性(或亲和性磁性)分离技术分开(separated)或分离(isolated)(综述参见《分子医学方法》(Methods in Molecular Medicine),第58卷:代谢研究方法(Metastasis Research Protocols),第2卷:细胞体外和体内性能(Cell Behavior In Vitro and In Vivo),第17-25页,S.A.Brooks和U.Schumacher编©新泽西州托托华的胡玛纳出版社(Humana Press Inc.))。

[0324] 在一些方面中,使待分离的样品或细胞组合物与较小的可磁化或磁响应性材料(如磁响应性颗粒或微粒,例如顺磁珠(例如,Dynalbeads珠或MACS珠))孵育。所述磁响应性材料(例如,颗粒)一般直接或间接连接至结合伴侣(例如,抗体),其特异性地结合至某一分子,例如,需要分离(例如需要进行负或正选择)的一种或多种细胞或细胞群上存在的表面标志物。

[0325] 在一些实施方式中,所述磁性颗粒或珠包含磁响应性材料,其结合至特异性的结合部分,例如抗体或其它结合伴侣。有多种熟知的磁响应性材料用于磁性分离方法。合适的磁性颗粒包括描述于Molday,美国专利号4,452,773和欧洲专利说明书EP 452342B中的那些,其通过引用纳入本文。胶体定形的颗粒,例如描述于Owen美国专利号4,795,698的那些,而Liberti等,美国专利号5,200,084是其它实例。

[0326] 孵育一般在一定条件下进行,由此,所述抗体或结合伴侣或分子,例如二抗或其它试剂,其特异性地结合至所述抗体或结合伴侣,其连接至所述磁性颗粒或珠,特异性地结合至所述样品中的细胞上(如果)存在的细胞表面分子。

[0327] 在一些方面中,将所述样品置于磁场中,并且,具有与其连接的磁性响应或可磁化颗粒的那些细胞将被磁铁吸引,并与未标记的细胞分离。对于正选择而言,保留被磁铁吸引的细胞;对于负选择而言,保留不被吸引的细胞(未标记的细胞)。在一些方面中,在相同选择步骤中进行正和负选择的组合,其中,保留阳性和阴性部分,并进一步处理或进行进一步分离步骤。

[0328] 在某些实施方式中,所述磁响应性颗粒在一抗或其它结合伴侣、二抗、凝集素、酶或链霉亲和素中被覆。在某些实施方式中,所述磁性颗粒通过对一种或多种标志物具有特异性的一抗的覆层连接至细胞。在某些实施方式中,所述细胞,而非珠,用一抗或结合伴侣标记,然后,添加细胞类型特异性的二抗或其它结合伴侣(例如,链霉亲和素)被覆的磁性颗粒。在某些实施方式中,链霉亲和素被覆的磁性颗粒与生物素化一抗或二抗联用。

[0329] 在一些实施方式中,使所述磁响应性颗粒保留连接至待经后续孵育、培养和/或工程改造的细胞;在一些方面中,保留所述颗粒连接至用于给予患者的细胞。在一些实施方式中,从所述细胞移去可磁化的或磁响应性颗粒。用于从细胞移去可磁化颗粒的方法是已知的,并且包括,例如,采用竞争性非标记的抗体、可磁化颗粒或连接至可切割接头的抗体等。在一些实施方式中,所述可磁化颗粒是生物可降解的。

[0330] 在一些实施方式中,所述基于亲和性的选择通过磁性活化的细胞分选(MACS)(加利福尼亚奥本的美天旆生物技术公司(Miltenyi Biotech))进行。磁性活化的细胞分选(MACS)系统能够高纯度选择其上连接有磁化的颗粒的细胞。在某些实施方式中,MACS以如下模式操作,其中在施加外部磁场之后,依次洗脱非靶标和靶标物质。即,使附接至磁化的颗粒的细胞保持在原位,而洗脱未附接的物质。然后,在该第一洗脱步骤完成后,将滞留在

磁场中且防止被洗脱的物质以某种方式解放,从而它们可以被洗脱和回收。在某些实施方式中,所述非靶细胞带标记并从异质细胞群消耗。

[0331] 在某些实施方式中,所述分离(isolation)或分开(separation)采用进行所述方法的分离、细胞制备、分离、处理、孵育、培养和/或配制步骤中的一种或多种的系统、装置或设备来进行。在一些方面中,所述系统用以在封闭或为空菌环境中进行这些步骤中的各个步骤,例如,以使错误、用户处理和/或污染最小化。在一个实例中,所述系统是国际专利申请公开号W02009/072003或US 20110003380A1中描述的系统。

[0332] 在一些实施方式中,所述系统或设备在整合或独立系统中,和/或以自动化的或可编程的形式,进行分离、处理、工程改造和配制步骤中的一个或多个,例如,全部。在一些方面中,所述系统或设备包括与所述系统或设备信息连通的计算机和/或计算机程序,其允许用户编程、控制、评估处理、分离、工程改造和配制步骤的结果,和/或调节处理、分离、工程改造和配制步骤的各方面。

[0333] 在一些方面中,进行所述分离和/或其它步骤使用CliniMACS系统(美天旎生物技术公司(Miltenyi Biotec))进行,例如,以供在封闭和无菌系统中进行临床级别水平的细胞的自动化分离。组件可包括整合的微型计算机、磁性分离单元、蠕动泵,和各种夹管阀。在一些方面中,整合的计算机控制所述仪器的所有组件,并指示所述系统以标准化的顺序进行重复的步骤。在一些方面中,所述磁性分离单元包括可移动的永久磁铁和用于所述选择柱的支持物(holder)。所述蠕动泵控制通过管组的流速,并且,与夹管阀一起,确保通过所述系统的缓冲液的受控流和细胞的连续悬液。

[0334] 在一些方面中,CliniMACS系统使用以无菌、无热源溶液的形式提供的抗体-偶联的可磁化颗粒。在一些实施方式中,在用磁性颗粒标记细胞之后,所述细胞经清洗以移除过量的颗粒。然后,将细胞制备袋连接至管组,其进一步连接至包含缓冲液的袋和细胞收集袋。所述管组由预组装的无菌管道组成,包括前置柱和分离柱,并且仅用于单一使用。在分离程序起始之后,所述系统自动化地将所述细胞样品施加至分离柱上。使带标记的细胞保留在柱中,而通过一系列清洗步骤移除未标记的细胞。在一些实施方式中,用于本文所述方法的细胞群是未标记的,并且不被保留在柱中。在一些实施方式中,用于本文所述方法的细胞群是经标记的,并且被保留在柱中。在一些实施方式中,在移除磁场之后,从所述柱洗脱用于本文所述方法的细胞群,并收集在细胞收集袋中。

[0335] 在一些实施方式中,分离和/或其它步骤采用CliniMACS Prodigy系统(美天旎生物技术公司)进行。在一些方面中,CliniMACS Prodigy系统装配有细胞处理单元,所述细胞处理单元允许自动化清洗和通过离心分级分离细胞。CliniMACS Prodigy系统还可包括内置摄像机和图像识别软件,其通过识别来源细胞产物的肉眼可见层来确定最优选细胞分级分离终点。例如,外周血被自动化地分离成红细胞、血液白细胞和血浆层。CliniMACS Prodigy系统还可包括整合的细胞培育腔室,其完成细胞培养方案,例如,细胞分化和扩增、抗原加载和长期细胞培养。输入端口可允许无菌移除和补充培养基,并且细胞可采用整合显微镜来监测。参见例如Klebanoff等.(2012)J Immunother.35(9):651-660,Terakura等.(2012)Blood.117:72-82,和Wang等.(2012)J Immunother.35(9):689-701。

[0336] 在一些实施方式中,本文所述的细胞群通过流式细胞术收集和富集(或消耗),其中针对多重细胞表面标志物被染色的细胞携带于流体中。在一些实施方式中,本文所述的

细胞群通过制备规模 (FACS) - 分选法收集和富集 (或消耗)。在某些实施方式中, 本文所述的细胞群通过采用微电机系统 (MEMS) 芯片联合基于 FACS 的检测系统来收集和富集 (或消耗) (参见例如, WO 2010/033140, Cho 等 (2010) Lab Chip 10, 1567-1573; 和 Godin 等 (2008) J Biophoton. 1 (5): 355-376。在这两种情况中, 细胞可以用多重标志物标记, 以允许以高纯度分离明确界定的 T 细胞亚组。

[0337] 在一些实施方式中, 所述抗体或结合伴侣用一种或多种可检测标志物标记, 以促进用于正和/或负选择的分离。例如, 分离可基于与荧光标记的抗体的结合。在一些实例中, 将基于抗体或对一种或多种细胞表面标志物具有特异性的其它结合伴侣的结合所进行的细胞分离携载于流体流中, 例如通过荧光活化的细胞分选 (FACS) (其包括制备规模 (FACS) 和/或微电机系统 (MEMS) 芯片), 例如, 与流式细胞术检测系统联合。此类方法允许进行基于多重标志物的同时正和负选择。

[0338] 在一些实施方式中, 制备方法包括: 冷冻步骤, 例如, 在分离、孵育和/或工程改造之前或之后, 冻存所述细胞。在一些实施方式中, 所述冷冻和后续融化步骤移除粒细胞, 并且, 在某种程度上, 移除细胞群中的单核细胞。在一些实施方式中, 例如, 在清洗步骤以移除血浆和血小板之后, 将所述细胞悬浮于冷冻溶液中。在一些方面中, 可采用任何各种已知冷冻溶液和参数。一个实例涉及采用包含 20% DMSO 和 8% 人血清白蛋白 (HAS) 的 PBS 或其它合适的细胞冷冻培养基。然后, 其用培养基 1:1 稀释, 从而 DMSO 和 HSA 的终浓度分别是 10% 和 4%。然后, 以 1°/分钟的速率将细胞冷冻至 -80°C, 并贮存在液氮储罐的汽相中。

[0339] 在一些实施方式中, 提供的方法包括培育、孵育、培养, 和/或遗传工程改造步骤。例如, 在一些实施方式中, 提供了用于对消耗的细胞群和培养起始组合物进行孵育和/或工程改造的方法。

[0340] 因此, 在一些实施方式中, 所述细胞群在培养起始组合物中孵育。可在培养器皿, 如单元、腔室、孔、柱、管、管组、阀、小瓶、培养皿、袋或用于培养或培育细胞的其它容器中进行孵育和/或工程改造。

[0341] 在一些实施方式中, 在遗传工程改造之前或与遗传工程改造一起孵育和/或培养细胞。孵育步骤可包括培养、培育、刺激、活化, 和/或增殖。在一些实施方式中, 在刺激条件或刺激性试剂存在下孵育细胞或组合物。这类条件包括设计成在群中诱导细胞增殖、繁殖、活化, 和/或存活以模拟抗原接触, 和/或引发细胞用于遗传工程改造, 如用于导入重组抗原受体的那些。

[0342] 所述条件可包括如下一种或多种: 具体培养基、温度、含氧量、二氧化碳含量、时间、试剂, 例如, 营养物、氨基酸、抗生素、离子, 和/或刺激因子, 例如细胞因子、趋化因子、抗原、结合伴侣、融合蛋白、重组可溶性受体, 和经设计以活化细胞的任何其它物质。

[0343] 在一些实施方式中, 刺激条件或试剂包括一种或多种物质, 例如, 配体, 其能够活化 TCR 复合物的胞内信号转导结构域。在一些方面中, 所述物质开启或启动 T 细胞中的 TCR/CD3 胞内信号转导级联。此类物质可包括抗体, 例如对 TCR 组分和/或共刺激受体具有特异性的那些, 例如, 抗 CD3、抗 CD28, 例如, 其结合至固体支持物, 例如珠, 和/或一种或多种细胞因子。任选地, 扩增方法还可包括如下步骤: 向培养基 (例如, 以至少约 0.5 ng/ml 的浓度) 添加抗 CD3 和/或抗 CD28 抗体。在一些实施方式中, 刺激剂包括 IL-2 和/或 IL-15, 例如, 至少约 10 单位/mL 浓度的 IL-2。



[0344] 在一些方面中, 孵育按照一些技术, 例如授予Riddell等的美国专利号6,040,177,Klebanoff等.(2012)J Immunother.35(9):651-660,Terakura等.(2012)Blood.1:72-82和/或Wang等.(2012)J Immunother.35(9):689-701中所述的那些进行。

[0345] 在一些实施方式中,T细胞群通过如下方式扩增:添加至培养起始组合物饲养层细胞,例如非分裂型外周血单核细胞(PBMC), (例如,从而针对待扩增的初始群中的各T淋巴细胞,所得细胞群包含至少约5、10、20或40或更多PBMC饲养层细胞);并孵育所述培养物(例如足以扩增所述数量的T细胞的时间)。在一些方面中,所述非分裂型饲养层细胞可包括 $\gamma$ -辐照的PBMC饲养层细胞。在一些实施方式中,所述PBMC用约3000-3600拉德范围内的 $\gamma$ 射线辐照以防止细胞分裂。在一些方面中,所述饲养层细胞在添加T细胞的群之前添加至培养基。

[0346] 在一些实施方式中,所述刺激条件包括适于人T淋巴细胞生长的温度,例如,至少约25摄氏度,一般至少约30度,且一般是或约是37摄氏度。任选地,孵育还可包括添加非分裂型EBV-转化的类淋巴母细胞(LCL)作为饲养层细胞。LCL可以用约6000-10000拉德范围内的 $\gamma$ 射线辐照。在一些方面中,LCL饲养层细胞以任何合适的量提供,例如LCL饲养层细胞与初始T淋巴细胞的比率是至少约10:1。

[0347] 在实施方式中,通过用抗原刺激天然或抗原特异性T淋巴细胞来获得抗原特异性T细胞,如抗原特异性CD4+和/或CD8+T细胞。例如,抗原特异性T细胞系或克隆可针对巨细胞病毒抗原产生,通过从感染的对象分离T细胞并采用相同抗原体外刺激细胞来进行。

[0348] II.组合物、方法和应用

[0349] 还提供组合物,其包括所述CD19结合分子和经工程改造的细胞,包括药物组合物和制剂,和,应用所述分子和组合物的方法,和所述分子和组合物的应用,例如,用于治疗其中表达CD19的疾病、病症和紊乱,和/或检测,诊断性方法和预后性方法。

[0350] A.药物组合物和制剂

[0351] 提供了药物制剂,其包括所述CD19-结合分子,例如,抗体或嵌合受体,和/或表达所述分子的经工程改造的细胞。所述药物组合物和制剂一般包括一种或多种任选的药学上可接受的运载体或赋形剂。在一些实施方式中,所述组合物包括至少一种其它治疗剂。

[0352] 术语“药物制剂”指此类形式的制剂:所述制剂允许其中所含活性成分的生物学活性有效,并且不含具有待给予该制剂的对象不可接受的毒性的额外成分。

[0353] “药学上可接受的运载体”指,药物制剂中的一种成分,其不是活性成分,其对于对象无毒性。药学上可接受的运载体包括但是不限于,缓冲剂、赋形剂、稳定剂或防腐剂。

[0354] 在一些方面中,运载体的选择部分通过特定细胞、结合分子和/或抗体来确定,和/或通过给予方法来确定。因此,存在多种合适的配方。例如,所述药物组合物可包含防腐剂。合适的防腐剂可包括,例如,对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、苯甲酸钠和苯扎氯铵。在一些方面中,采用两种或更多种防腐剂的混合物。防腐剂或其混合物的存在量通常是约0.0001%至约2%(以组合物总重量计)。运载体描述于,例如,《雷明顿药物科学》(Remington's Pharmaceutical Sciences),第16版,Osol,A.编(1980)。在所用剂量和浓度下,药学上可接受的运载体通常是对受者无毒的,包括但不限于:缓冲剂如磷酸盐、柠檬酸盐和其它有机酸缓冲剂;抗氧化剂,包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(如十八烷基二甲基苄基氯化铵;氯化六烃季铵;苯扎氯铵;苄索氯铵;苯酚、丁基或苄基醇;对羟基苯甲酸烷酯,如对羟基苯甲酸甲酯或丙酯;邻苯二酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;和间甲酚);低分子量

(小于约10个残基)的多肽;蛋白质,如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖和其它糖,包括葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂,如EDTA;糖,如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨糖醇;形成盐的抗衡离子,如钠;金属络合物(如Zn-蛋白质络合物);和/或非离子型表面活性剂,例如聚乙二醇(PEG)。

[0355] 在一些方面中,所述组合物包含缓冲剂。合适的缓冲剂包括,例如,柠檬酸、柠檬酸钠、磷酸、磷酸钾和多种其他酸和盐。在一些方面中,采用两种或更多种缓冲剂的混合物。缓冲剂或其混合物的存在量通常是约0.001%至约4%(以组合物总重量计)。用于制备可给予的药物组合物的方法是已知的。示例性方法具体描述于,例如,《雷明顿:药物科学与实践》(Remington:The Science and Practice of Pharmacy),LWW公司(Lippincott Williams&Wilkins);第21版(2005年5月1日)。

[0356] 所述抗体的制剂可包括冻干的制剂和水性溶液。

[0357] 所述制剂或组合物还可包含多于一种活性成分,该活性成分有利于待用所述结合分子或细胞治疗的特定适应症、疾病或病症,优选对所述结合分子或细胞具有补充活性的那些,其中相应活性剂彼此不产生负面影响。这类活性成分适合以有效用于所需目的的用量联合存在。因此,在一些实施方式中,所述药物组合物还包含其它药学活性物质或药物,例如化疗剂,例如,天冬酰胺酶,白消安,卡铂,顺铂,柔红霉素,多柔比星,氟尿嘧啶,吉西他滨,羟基脲,甲氨蝶呤,紫杉醇,利妥昔单抗,长春碱,长春新碱等。在一些实施方式中,所述细胞或抗体以盐,例如,药学上可接受的盐,的形式给予。合适的药学上可接受的酸加成盐包括源自无机酸的那些,例如盐酸、氢溴酸、磷酸、偏磷酸、硝酸和硫酸,和有机酸,例如酒石酸、乙酸、柠檬酸、苹果酸、乳酸、富马酸、苯甲酸、乙醇酸、葡萄糖酸、琥珀酸和芳基磺酸,例如,对甲苯磺酸。

[0358] 活性成分可包封在微囊剂中,在胶体药物递送系统(例如,脂质体、白蛋白微球、微乳液、纳米颗粒和纳米胶囊)中或在大乳液(macroemulsion)中。在某些实施方式中,所述药物组合物配制为包合复合物,例如环糊精包合复合物或配制为脂质体。脂质体可用以靶向宿主细胞(例如,T-细胞或NK细胞)至具体组织。许多方法可用于制备脂质体,例如描述于,例如,Szoka等,Ann.Rev.Biophys.Bioeng.,9:467(1980)和美国专利4,235,871、4,501,728、4,837,028和5,019,369中的那些。

[0359] 在一些方面中,所述药物组合物采用时间-释放、延迟释放和持续释放递送系统,从而所述组合物的递送在待治疗的部位敏化之前发生,并且具有足够的时间造成该部位敏化。许多类型的释放递送系统是可得并已知的。此类系统能避免重复给予所述组合物,由此提高对象和医师的便利度。

[0360] 在一些实施方式中,药物组合物包含有效治疗或预防疾病或病症的量,如治疗有效或预防有效量的结合分子和/或细胞。在一些实施方式中,通过定期评估治疗的对象来监测治疗或预防性功效。对于经数天或更长时间的重复给药,可根据所述病症使治疗重复直至疾病症状得到所需阻遏。然而,其它剂量方案可能是有用的并可以确定。所需剂量可以通过单药丸给予所述组合物,通过多药丸给予所述组合物或通过连续输注给予组合物来递送。

[0361] 在某些实施方式中,在包含所述结合分子的经遗传工程改造的细胞的情况下,以

如下范围给予所述对象：约100万-约1000亿细胞，例如，100万-约500亿细胞（例如，约5百万细胞，约2500万细胞，约500亿细胞，约10亿细胞，约50亿细胞，约200亿细胞，约300亿细胞，约400亿细胞或前述任何两个值之间确定的范围），例如约1000万-约1000亿细胞（例如，约2000万细胞，约3000万细胞，约4000万细胞，约6000万细胞，约7000万细胞，约8000万细胞，约9000万细胞，约100亿细胞，约250亿细胞，约500亿细胞，约750亿细胞，约900亿细胞或前述任何两个值之间确定的范围），和在一些情况中，约1亿细胞-约500亿细胞（例如，约1.2亿细胞，约2.5亿细胞，约3.5亿细胞，约4.5亿细胞，约6.5亿细胞，约8亿细胞，约9亿细胞，约30亿细胞，约300亿细胞，约450亿细胞）或这些范围之间任何值，和/或该数量的细胞/千克对象体重。

[0362] 它们可采用标准给予技术、制剂和/或装置给予。提供了用于组合物储存和给予的制剂和装置，如注射器和瓶。所述细胞的给予可以是自体同源或异源的。例如，免疫抑制细胞或祖细胞可获自一个对象，并给予相同对象或不同的相容对象。外周血衍生的免疫抑制细胞或其后代（例如，体内、离体或体外衍生的）可通过局部注射给予，包括导管给药、全身注射、局部注射、静脉注射、或胃肠外给药。当给予治疗性组合物（例如，含有遗传修饰的免疫抑制细胞的药物组合物）时，其通常被配制成单位剂型的可注射形式（溶液、悬液、乳液）。

[0363] 制剂包括用于口服、静脉内、腹膜内、皮下、肺、透皮、肌肉内、鼻内、粘膜、舌下或栓剂给药的那些。在一些实施方式中，所述细胞群胃肠外给予。本文所用的术语“胃肠外”，包括静脉内、肌内、皮下、直肠、阴道和腹膜内给予。在一些实施方式中，所述细胞群通过静脉内、腹膜内或皮下注射采用外围全身递送给予对象。

[0364] 在一些实施方式中，组合物以无菌液体制剂的形式提供，例如，等渗水性溶液、悬液、乳液、分散体或粘性组合物，其一些方面中可缓冲至选择的pH。液体制剂通常比凝胶、其他粘性组合物和固体组合物更容易制备。另外，液体组合物多少更便于给药，尤其是通过注射。在另一方面，粘性组合物可在合适的粘度范围内配制以提供与特定组织更长的接触时间。液体或粘性组合物可包括运载体，其可以是溶剂或分散介质，其含有，例如，水、盐水、磷酸盐缓冲盐水、多羟基化合物（例如，甘油、丙二醇、液体聚乙二醇）及其合适混合物。

[0365] 可通过将所述结合分子纳入溶剂中，如与合适运载体、稀释剂、或赋形剂如无菌水、生理盐水、葡萄糖、右旋糖等来制备无菌可注射溶液。该组合物也可被冻干。组合物可含有辅助性物质，如润湿、分散、或乳化剂（例如，甲基纤维素）、pH缓冲剂、胶凝或粘度增强添加剂、防腐剂、风味剂、色素等，取决于所需的给药和制备途径。在一些方面中，可查阅标准教科书来制备合适制备物。

[0366] 可添加增强组合物稳定性和无菌性的各种添加剂，包括抗微生物防腐剂、抗氧化剂、螯合剂和缓冲剂。也可通过各种抗细菌剂和抗真菌剂，如对羟基苯甲酸酯类、氯丁醇、苯酚、山梨酸等确保防止微生物的作用。可通过使用延迟吸收的物质，如单硬脂酸铝和明胶演唱可注射药物形式的吸收。

[0367] 可制备缓释制剂。缓释制剂的合适例子包括含有抗体的固体疏水性聚合物的半渗透基质，其中该基质是成型制品形式，例如膜或微胶囊。

[0368] 用于体内给药的制剂一般为无菌的。无菌可例如通过无菌滤膜过滤来容易地实现。

[0369] B. 治疗和预防方法及应用

[0370] 还提供采用所述CD19结合分子的方法以及所述CD19结合分子的应用,所述CD19结合分子包括抗CD19抗体,例如,抗体片段,和/或表达所述重组受体的经工程改造的细胞。所述方法和应用包括治疗性方法和应用,例如,涉及将所述分子、包含所述分子的细胞或组合物给予具有疾病、病症或紊乱的对象,所述疾病、病症或紊乱表达或与CD19表达相关联,和/或其中细胞或组织表达CD19。在一些实施方式中,所述分子、细胞和/或组合物以有效量于治疗所述疾病或紊乱的有效量给予。应用包括所述抗体和细胞在所述方法和治疗中的应用,以及在用于进行所述治疗性方法的药物的制备中的应用。在一些实施方式中,所述方法通过将所述抗体或细胞或包含它们的组合物给予具有或疑似具有所述疾病或病症的对象来进行。在一些实施方式中,所述方法由此治疗所述对象中的所述疾病或病症或紊乱。

[0371] 本文中所用的术语“治疗”(及其语法变化形式例如“治疗的”和“治疗性”)指完全或部分减轻或减少疾病或病症或紊乱或与其相关的症状、不利作用或结果或表型。所需的治疗效果包括但不限于,预防疾病的发生或复发、减轻症状、减少疾病的任何直接或间接病理学结果、防止转移、减缓疾病进展速率、改善或减轻疾病状态,和减轻或改善预后。该术语不表示完全治愈疾病或完全消除任何症状或对所有症状或结果具有效果。

[0372] 本文中所用的“延迟疾病的发展”表示推迟、阻碍、减缓、减慢、稳定、遏制和/或拖延所述疾病(例如癌症)的发展。该延迟可具有不同的时间长度,这取决于疾病史和/或待治疗的个体。本领域技术人员应明了,实际上,充分或显著的延迟可涵盖预防(对于未发展所述疾病的个体而言)。例如,晚期癌症,例如转移的发展,可被延迟。

[0373] 本文中所用的“预防”包括对于疾病在倾向于发展疾病但尚未被诊断患病的对象中的发生或复发提供预防方法。在一些实施方式中,所提供的分子和组合物用于延迟疾病发展或减缓疾病进展。

[0374] 本文中所用的“遏制”功能或活性意指,在与其它情况下的相同(除感兴趣病症或参数)病症相比时或者相较于另一病症,功能或活性的减少。例如,遏制肿瘤生长的抗体或组合物或细胞减少肿瘤的生长速率,相较于在不存在所述抗体或组合物或细胞的情况下的肿瘤的生长速率而言。

[0375] 试剂,例如,药物制剂、结合分子、抗体或细胞或组合物,在给予情况下的“有效量”,指某一个量,其在一定剂量/量下且作用必要的时间长度时,有效于实现所需结果,例如治疗或预防结果。

[0376] 试剂,例如,药物制剂、抗体或细胞的“治疗有效量”,指某一个量,其在剂量上和必需时程上,有效于实现所需治疗结果,例如疾病、病症或紊乱的治疗,和/或该治疗的药物动力学或药代动力学效果。治疗有效量可根据多种因素变化,例如,疾病状态、年龄、性别,和对象体重,以及给予的细胞群。在一些实施方式中,所提供的方法涉及给予有效量(例如,治疗有效量)的所述分子、细胞和/或组合物。

[0377] “预防有效量”指,某一个量,其对于一定剂量和必要时程而言,有效于实现所需预防结果。通常而言(但不一定),由于预防剂量在疾病的早期或之前用于对象,预防有效量将小于治疗有效量。

[0378] 本文中所用的“对象”是哺乳动物,例如人或其它动物,并且通常是人。所述疾病和紊乱包括:B细胞恶性肿瘤,例如B细胞白血病和淋巴瘤,包括B细胞慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、急性淋巴细胞性白血病(ALL)、幼淋巴细胞性白血病、毛细胞白血病、常见急性淋巴

细胞性白血病、非急性淋巴母细胞性白血病、非霍奇金淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、多发性骨髓瘤、滤泡性淋巴瘤、脾、边缘带淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、惰性B细胞淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤。所述疾病和病症还包括自身免疫和炎性疾病,包括与不适当或增强的B细胞数量和/或活化相关联的那些。示例性的疾病和病症包括多发性硬化、类风湿性关节炎,和全身性红斑狼疮(SLE)。

[0379] 在一些实施方式中,所述对象具有持久的或复发的疾病,例如,在用另一CD19特异性抗体和/或表达CD19-靶向嵌合受体的细胞和/或其它疗法(包括化疗、放疗和/或造血干细胞移植(HSCT),例如,同种异体HSCT)处理之后。在一些实施方式中,所述给予有效地治疗对象,无论该对象是否已对另一种CD19靶向的疗法具有抗性。在一些实施方式中,所述对象尚未复发但是经测定具有复发风险,例如处于复发高风险中,由此预防性地给予所述化合物或组合物,例如,以减小复发可能性或预防复发。

[0380] 在一些实施方式中,所述治疗不诱导对象对于所述疗法的免疫应答,和/或不诱导此类应答至阻止有效治疗疾病或病症的程度。在一些方面中,免疫原性的程度和/或移植针对性的宿主应答低于采用不同但相当的治疗所观察到的情况。例如,在采用细胞表达CAR(包括所提供的抗CD19抗体)的过继细胞疗法的情况中,免疫原性的程度相较于包括结合至相似(例如,重叠表位)和/或与所提供的抗体竞争结合至CD19的不同抗体(例如小鼠抗体)的CAR而言是减少的。

[0381] 在一些实施方式中,所述方法包括过继细胞疗法,由此将表达包含所提供的抗CD19的受体(例如,CD19靶向的CAR)的经遗传工程改造的细胞给予对象。此类给予能促进所述细胞以CD19靶向的方式的活化(例如,T细胞活化),从而靶向所述疾病或紊乱的细胞并破坏它们。

[0382] 因此,所提供的方法和应用包括用于过继细胞疗法的方法和应用。在一些实施方式中,该方法包括向对象、组织或细胞,如具有疾病、病症或紊乱风险或疑似具有疾病、病症或紊乱的对象、组织或细胞给予细胞或含有该细胞的组合物。在一些实施方式中,将所述细胞、群和组合物给予具有具体待治疗(例如,通过过继细胞治疗,例如过继T细胞治疗)的疾病或病症的对象。在一些实施方式中,向对象,如具有疾病或病症或者处于疾病或病症风险中的对象给予细胞或组合物。在一些方面中,所述方法由此治疗,例如,减轻所述疾病或病症的一种或多种症状,例如通过减小表达CD19的癌症中的肿瘤负荷。

[0383] 用于给予用于过继细胞治疗的细胞的方法是已知的,并可与本文提供的方法和组合物联用。例如,过继T细胞治疗方法描述于,例如,Gruenberg等的美国专利申请公开号2003/0170238;Rosenberg的美国专利号4,690,915;Rosenberg(2011)Nat Rev Clin Oncol.8(10):577-85)。参见例如Themeli等.(2013)Nat Biotechnol.31(10):928-933;Tsukahara等.(2013)Biochem Biophys Res Commun438(1):84-9;Davila等.(2013)PLoS ONE 8(4):e61338。

[0384] 在一些实施方式中,所述细胞治疗,例如,过继T细胞治疗,通过如下方式进行:自体转移,其中,所述细胞经分离和/或在其它情况中从接受所述细胞治疗的对象或从源自此类对象的样品制备。因此,在一些方面中,所述细胞源自需要治疗和所述细胞的对象(例如,患者),其在分离和处理之后给予同一对象。

[0385] 在一些实施方式中,所述细胞治疗,例如,过继T细胞治疗,通过如下方式进行:同

种异体转移,其中,所述细胞分离和/或在其它情况中从对象制备,该对象与待接受或最终接受所述细胞治疗的对象(例如,第一对象)不同。在此类实施方式中,然后将所述细胞给予相同物种的不同对象,例如,第二对象。在一些实施方式中,所述第一和第二对象是遗传学相同的。在一些实施方式中,所述第一和第二对象是遗传学相似的。在一些实施方式中,所述第二对象表达与第一对象相同的HLA类别或超类型。

[0386] 在一些实施方式中,待给予所述细胞、细胞群或组合物的对象是灵长类动物,例如人。在一些实施方式中,所述灵长类是猴子或猿。所述对象可以是男性或女性,并且可以是任何合适的年龄,包括婴儿,少年,青少年,成人,和老年对象。在一些实施方式中,所述对象是非灵长类哺乳动物,例如啮齿类。在一些示例中,患者或对象是针对疾病、过继细胞治疗,和/或评价毒性结果如细胞因子释放综合征(CRS)的验证的动物模型。

[0387] 所述CD19-结合分子,例如抗体和包含所述抗体的嵌合受体,和表达它们的细胞,可通过任何合适的方式给予,例如,通过注射,例如,静脉内或皮下注射、眼内注射、眼底注射、视网膜下注射、玻璃体内注射、反间隔注射、巩膜下注射、脉络膜内注射、前房注射、结膜下(subconjunctival)注射、结膜下(subconjunctival)注射、巩膜上腔注射、球后注射、眼周注射或球周递送。在一些实施方式中,它们通过胃肠外、肺内的和鼻内,以及如果希望局部治疗,病灶内给予。腹膜外输注包括肌内、静脉内、动脉内、腹膜内或皮下给予。给药和给予可部分取决于该给予是短期还是长期的。不同给药方案包括但不限于在不同时间点单次或多次给予、大丸药给予和脉冲输注。

[0388] 对于疾病的预防或治疗,结合分子或细胞的合适剂量可取决于待治疗的疾病类型、结合分子的类型、疾病严重性和病程、结合分子是以预防还是治疗目的给予、先前疗法、患者的临床史和对所述结合分子的响应,以及主治医师的考虑判断。在一些实施方式中,所述组合物和分子和细胞适合在一个时间点或以一系列治疗来给予患者。

[0389] 取决于疾病的类型和严重性,抗体剂量可包括约1 $\mu$ g/kg-15mg/kg(例如0.1mg/kg-10mg/kg)、约1 $\mu$ g/kg-100mg/kg或更多、约0.05mg/kg-约10mg/kg、0.5mg/kg、2.0mg/kg、4.0mg/kg或10mg/kg。多重剂量可间歇给予,例如每周或每三周给予。可以先给予较高的加载剂量,然后给予一次或多次较低剂量。

[0390] 在某些实施方式中,在包含所述结合分子的经遗传工程改造的细胞的情况中,以如下范围给予所述对象:约100万-约1000亿细胞,和/或该数量的细胞/千克体重,例如,100万-约500亿细胞(例如,约5百万细胞,约2500万细胞,约500亿细胞,约10亿细胞,约50亿细胞,约200亿细胞,约300亿细胞,约400亿细胞或前述任何两个值之间确定的范围),例如约1000万-约1000亿细胞(例如,约2000万细胞,约3000万细胞,约4000万细胞,约6000万细胞,约7000万细胞,约8000万细胞,约9000万细胞,约100亿细胞,约250亿细胞,约500亿细胞,约750亿细胞,约900亿细胞或前述任何两个值之间确定的范围),和在一些情况中,约1亿细胞-约500亿细胞(例如,约1.2亿细胞,约2.5亿细胞,约3.5亿细胞,约4.5亿细胞,约6.5亿细胞,约8亿细胞,约9亿细胞,约30亿细胞,约300亿细胞,约450亿细胞)或这些范围之间任何值,和/或该数量的细胞/千克体重。同样,剂量可取决于所述疾病或紊乱和/或患者和/或其它治疗的具体属性。

[0391] 在一些实施方式中,所述细胞或抗体作为联合治疗的部分给予,例如,与另一治疗性介入,例如另一抗体或经工程改造的细胞或受体或试剂,例如细胞毒性或治疗剂,同时或

依次地,以任何顺序给予。

[0392] 在一些实施方式中,细胞或抗体与一种或多种其它治疗剂共同给予或与另一治疗剂联合,同时或以任何顺序依次进行。在一些情况中,所述细胞与另一治疗剂在足够接近的时间共同给予,从而所述细胞群增强一种或多种其它治疗剂的作用,反之亦然。在一些实施方式中,所述细胞或抗体在一种或多种其它治疗剂之前给予。在一些实施方式中,所述细胞或抗体在一种或多种其它治疗剂之后给予。

[0393] 一旦向哺乳动物(例如,人)给予细胞,在一些方面中,通过多种已知方法中的任一种来测量工程改造的细胞群和/或抗体的生物活性。用以评估的参数包括:工程改造的或天然T细胞或其它免疫细胞与抗原的特异性结合,体内方式(例如,通过成像)或离体方式(例如,通过ELISA或流式细胞术)。在某些实施方式中,工程改造的细胞破坏靶细胞的能力可采用本领域已知的任何合适的方法来检测,例如描述于如下文献的细胞毒性试验,例如,Kochenderfer等,J.Immunotherapy,32(7):689-702(2009),和Herman等.J.Immunological Methods,285(1):25-40(2004)。在某些实施方式中,也可通过测定某些细胞因子,例如CD107a,IFN $\gamma$ ,IL-2和TNF的表达和/或分泌,来测量细胞的生物活性。在一些方面中,生物活性通过评估临床结果,例如肿瘤负荷或负载的减少,来检测。

[0394] 在某些实施方式中,工程改造的细胞以任何数量的方式修饰,从而增加其治疗或预防性功效。例如,通过所述群表达的工程改造的CAR或TCR可通过接头直接或间接连接靶向部分。连接化合物,例如,将CAR或TCR连接至靶向部分的实践是本领域已知的。参见例如,Wadwa等,J.Drug Targeting 3:111(1995),和美国专利5,087,616。

[0395] C. 诊断性和检测方法

[0396] 还提供涉及所提供的结合分子,例如抗体,包括抗体片段,和包含所述抗体中的一种或多种的分子(例如偶联物和复合物),用于检测、预后、诊断、分级、确定具体治疗与一种或多种组织或细胞类型的结合,和/或了解对象中的治疗决策(例如通过检测CD19和/或由所述抗体识别的其表位的存在)的应用的方法。在一些实施方式中,所述方法是与表达CD19的疾病或病症相关联的诊断和/或预后方法。在一些实施方式中,所述方法包括用所述抗体孵育和/或探测生物样品,和/或给予所述抗体至对象。在某些实施方式中,生物样品包括细胞或组织或其部分,例如肿瘤或癌组织或活检物或其切片。在某些实施方式中,所述接触在允许所述抗CD19抗体与样品中存在的CD19结合的条件下进行。在一些实施方式中,所述方法还包括检测所述抗CD19抗体和样品中的CD19之间是否形成复合物,例如检测所述结合的存在或不存在或水平。所述方法可以是体外或体内方法。在一个实施方式中,抗CD19抗体用于选择适于用抗CD19抗体或经工程改造的抗原受体来治疗的对象,例如其中CD19是用于选择患者的生物标志物。

[0397] 在一些实施方式中,使样品,例如细胞、组织样品、裂解物、组合物或原子其中的其它样品,与抗CD19抗体接触,并测定或检测所述抗体与所述样品(例如,样品中的CD19)的结合或复合物的形成。如果相较于相同组织类型的参比细胞,观察到或检测到测试样品中的结合,则指示相关疾病或病症的存在,和/或包含所述抗体(例如,抗体片段)的治疗物将特异性地结合至与所述样品来源的组织或细胞或其它生物物质相同或属于相同类型的组织或细胞。在一些实施方式中,所述样品来自人组织且可来自患病和/或正常组织,例如,来自具有待治疗的疾病或病症的对象和/或来自与所述对象相同物种但未患该待治疗疾病或病

症的对象。在一些情况中,正常组织或细胞来自患待治疗疾病或病症的对象但其本身不是患病细胞或组织,例如来自不是给定对象中存在的癌的不同器官的正常组织。

[0398] 可采用本领域已知检测特异性抗体-抗原结合的不同方法。示例性的免疫分析包括荧光极化免疫分析(FPIA)、荧光免疫分析(FIA)、酶免疫分析(EIA)、抑制免疫散射浊度分析(NIA)、酶联免疫吸附测定(ELISA),和放射免疫检定法(RIA)。可使指示部分或标记物基团连接至对象抗体,并且可经选择从而满足常由试验器具和相容的免疫分析操作支配的不同方法应用的需要。示例性的标记物包括放射性核素(例如 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^3\text{H}$ 或 $^{32}\text{P}$ 和/或铬( $^{51}\text{Cr}$ )、钴( $^{57}\text{Co}$ )、氟( $^{18}\text{F}$ )、钆( $^{153}\text{Gd}$ 、 $^{159}\text{Gd}$ )、锗( $^{68}\text{Ge}$ )、钬( $^{166}\text{Ho}$ )、铟( $^{115}\text{In}$ 、 $^{113}\text{In}$ 、 $^{112}\text{In}$ 、 $^{111}\text{In}$ )、碘( $^{125}\text{I}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{121}\text{I}$ )、镧( $^{140}\text{La}$ )、镥( $^{177}\text{Lu}$ )、锰( $^{54}\text{Mn}$ )、钼( $^{99}\text{Mo}$ )、钯( $^{103}\text{Pd}$ )、磷( $^{32}\text{P}$ )、镨( $^{142}\text{Pr}$ )、钷( $^{149}\text{Pm}$ )、铼( $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ )、铑( $^{105}\text{Rh}$ )、钌( $^{97}\text{Ru}$ )、钐( $^{153}\text{Sm}$ )、钪( $^{47}\text{Sc}$ )、硒( $^{75}\text{Se}$ )、( $^{85}\text{Sr}$ )、硫( $^{35}\text{S}$ )、锝( $^{99}\text{Tc}$ )、铈( $^{201}\text{Ti}$ )、锡( $^{113}\text{Sn}$ 、 $^{117}\text{Sn}$ )、氚( $^3\text{H}$ )、氙( $^{133}\text{Xe}$ )、镱( $^{169}\text{Yb}$ 、 $^{175}\text{Yb}$ )、钇( $^{90}\text{Y}$ )、酶(例如、碱性磷酸酶、辣根过氧化物酶、荧光素酶或 $\beta$ -半乳糖苷酶)、荧光部分或蛋白质(例如、荧光素、罗丹明、藻红蛋白、GFP或BFP)或发光部分(例如,加利福尼亚州帕洛阿尔托的量子点公司(Quantum Dot Corporation)供应的Qdot<sup>TM</sup>纳米颗粒)。上述用于允许不同免疫分析的不同通用技术是已知的。

[0399] 对于诊断目的,抗体可用可检测部分标记,包括但不限于放射性同位素、荧光标记物,和本领域已知的不同酶-底物标记物。用于偶联标记物和抗体的方法是本领域已知的。

[0400] 在一些实施方式中,抗体不需被标记,但其存在可用结合至任何所述抗体的带标记的抗体来检测。

[0401] 本文提供的抗体可用于任何已知试验方法,例如竞争性结合试验、直接和间接夹心试验,和免疫沉淀试验。Zola,《单克隆抗体:技术手册》(Monoclonal Antibodies:A Manual of Techniques),第147-158页(CRC出版公司,1987)。

[0402] 所述抗体和多肽还可用于体内诊断试验,例如体内成像。一般而言,所述抗体用放射性核素(例如 $^{111}\text{In}$ 、 $^{99}\text{Tc}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 或 $^3\text{H}$ )标记,从而感兴趣的细胞或组织可在给予对象后体内定位。

[0403] 所述抗体还可用作病理学染色试剂,例如,采用已知技术。

[0404] III. 制品

[0405] 还提供包含所提供的结合分子,例如,抗体和CAR,和/或经遗传工程改造的细胞,和/或组合物的制品。所述制品可包括容器和标记物或所述容器上或与所述容器相关的包装说明书。合适的容器包括,例如,瓶、小瓶、注射器、IV溶液袋等。该容器可由各种材料如玻璃或塑料制成。所述容器在一些实施方式中容纳组合物本身或与有效于治疗、预防和/或诊断所述病症的另一组合物的合并物。在一些实施方式中,所述容器具有无菌入口。示例性的容器包括静脉内溶液袋、小瓶,包括具有可通过注射用针头穿破的塞盖的那些。所述标记物或包装说明书可指示所述组合物用于治疗表达CD19的或与CD19相关的疾病或病症。所述制品可包括(a)其中包含组合物第一容器,其中该组合物包括所述抗体或经工程改造的抗原受体;和(b)其中包含组合物的第二容器,其中该组合物包括其它试剂,例如细胞毒剂或其它治疗剂。所述制品还可包括包装说明书,其指示所述组合物可用于治疗特定病症。或者或此外,所述制品还可包括包含药学上可接受的缓冲剂的另一或相同容器。其还可包括其它材料,例如其它缓冲剂、稀释剂、滤器、针头,和/或注射器。



[0406] 本文中所用的,述及抗体的“对应形式”,表示当比较两种抗体的性质或活性时,所比较的性质采用的是所述抗体的相同形式。例如,若述及某一抗体相较于第一抗体的对应形式具有较大活性,则表示该抗体的特定形式,例如scFv,的活性大于第一抗体的scFv形式。

[0407] 本文中所用的,述及核苷酸或氨基酸位置“对应于”公开(例如示于序列表中)的序列中的核苷酸或氨基酸位置,表示在采用标准比对算法(例如GAP算法)与该公开序列比对至最大相同性时鉴定的核苷酸或氨基酸位置。例如,在一些实施方式中,CD19蛋白(例如人CD19蛋白)的示例性的对应残基可通过将序列与示于SEQ ID NO:92的示例性的VpX序列比对来鉴定。通过比对序列,本领域技术人员能够鉴定对应残基,例如,采用保守和相同氨基酸残基作为导向来鉴定。一般而言,为了鉴定对应位置,将氨基酸序列比对,从而得到最高程度的匹配(参见,例如:《计算机分子生物学》(Computational Molecular Biology),Lesk,A.M.编,纽约,牛津大学出版社,1988;《生物运算:信息学和基因组工程》(Biocomputing:Informatics and Genome Projects),Smith,D.W.编,学术出版社,纽约,1993;《序列数据的计算机分析》(Computer Analysis of Sequence Data),部分I,Griffin,A.M.,和Griffin,H.G.编,新泽西州胡马纳出版公司,1994;《分子生物学的序列分析》(Sequence Analysis in Molecular Biology),von Heinje,G.,学术出版社,1987;和,《序列分析引物》(Sequence Analysis Primer),Gribskov,M.和Devereux,J.编,M斯托克顿出版社,纽约,1991;Carrillo等.(1988)SIAM JApplied Math 48:1073)。

[0408] “效应(物)功能”指归因于抗体的Fc区的那些生物活性,其随抗体同种型而变化。示例性的“效应(物)功能”包括:C1q结合和补体依赖性细胞毒性(CDC);Fc受体结合;抗体-依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC);吞噬作用;细胞表面受体(例如,B细胞受体)的下调;和B细胞活化。

[0409] 本文中术语“Fc区”用于定义包含至少一部分恒定区的免疫球蛋白重链的C端区。所述术语包括天然序列Fc区和变体Fc区。在一个实施方式中,人IgG重链Fc区从Cys226或Pro230延伸至该重链的羧基末端。然而,Fc区的C末端赖氨酸(Lys447)可以存在或可以不存在。除非本文中另有定义,Fc区或恒定区中氨基酸残基的编号根据EU编号系统(也称为EU索引,参见Kabat等,Sequences of Proteins of Immunological Interest(《免疫学感兴趣的蛋白质序列》),第5版,公共健康服务部(Public Health Services),国立卫生研究院(National Institutes of Health),马里兰州贝塞斯达,1991)。

[0410] 术语“全长抗体”、“完整抗体”和“全抗体”在本文中可互换使用,以表示具有与天然抗体结构基本类似的结构或者具有包含本文所定义的Fc区的重链的抗体。

[0411] “分离的”抗体是已从其天然环境部分分离的抗体。在一些实施方式中,抗体经纯化至高于95%或99%纯度,通过例如电泳(例如,SDS-PAGE、等电聚焦(IEF)、毛细管电泳)或色谱(例如,离子交换或反相HPLC)测定。用于评估抗体纯度的方法的综述参见,例如,Flatman等,J.Chromatogr.B 848:79-87(2007)。

[0412] “分离的”核酸指,已从其天然环境部分分离的核酸分子。分离的核酸包括包含在通常含有该核酸分子但该核酸分子存在于染色体外或存在于与其天然染色体位置不同的染色体位置处的细胞中的核酸分子。

[0413] “编码抗CD19抗体的分离的核酸”指,一种或多种核酸分子,其编码抗体重链和轻

链(或其片段),包括单一载体或分开的载体中的所述核酸分子,并且所述核酸分子存在于宿主细胞中的一个或多个位置处。

[0414] 术语“宿主细胞”、“宿主细胞系”和“宿主细胞培养物”可互换使用,并且指已引入外源核酸的细胞,包括此类细胞的子代。宿主细胞包括“转化株”和“转化细胞”,其包括最初转化的细胞及其衍生的子代,不计传代次数。子代的核酸含量可不与亲本细胞完全相同,并可包含突变。本文包括功能或生物活性与在初始转化细胞中筛选或选择的功能或生物活性相同的突变子代。

[0415] 当用于氨基酸序列(参照多肽序列)时,本文中所用的“氨基酸序列相同性百分数(%)”和“相同性百分数”定义为,序列比对和引入间隙(必要时)以实现最大序列相同性百分比之后,候选序列(例如,对象抗体或片段)中与参照多肽序列的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分数,且不考虑任何保守取代作为序列相同性的部分。以测定氨基酸序列相同性百分率为目的的比对可以本领域技术范围内的不同方式实现,例如,使用公共渠道可获得的计算机软件如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign(DNASTAR)软件。本领域技术人员能够确定用于比对的合适参数,包括使比较的序列实现全长最大对齐所需的任何算法。

[0416] 氨基酸取代可包括多肽中的一种氨基酸被另一种氨基酸替代。示例性取代示于表1:可将氨基酸取代导入结合分子,例如,感兴趣的抗体,并且筛选所得产物的所需活性,例如,保留的/改善的抗原结合、降低的免疫原性或改善的ADCC或CDC。

[0417] 氨基酸一般可以根据如下常规侧链性质分类:

[0418] (1) 疏水性:正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile;

[0419] (2) 中性亲水性:Cys、Ser、Thr、Asn、Gln;

[0420] (3) 酸性:Asp、Glu;

[0421] (4) 碱性:His、Lys、Arg;

[0422] (5) 影响链取向的残基:Gly、Pro;

[0423] (6) 芳族:Trp、Tyr、Phe。

[0424] 非保守性氨基酸取代将涉及这些类别之一的成员与另一类别交换。

[0425] 本文所用术语“载体”指一种核酸分子,所述核酸分子能够增殖其连接的另一核酸。该术语包括自复制核酸结构形式的载体,以及被导入已将其导入的宿主细胞基因组的载体。某些载体能够引导与其操作性连接的核酸的表达。所述载体在本文中称为“表达载体”。

[0426] 术语“包装插页”指治疗性产品的商品包装中常包括的说明书,所述说明书包含关于这类治疗性产品使用的说明、用法、剂量、给药、联合治疗、禁忌症和/或警告的信息。

[0427] 如本文所用,单数形式的“一个”、“一种”和“该”包括复数指代对象,除非文本中另有明确说明。例如,“一种”或“一个”指“至少一种或一个”或“一种(个)或多种(个)”。应理解本文中所述的方面和变化形式包括:“由(这些方面和变化形式)组成”和/或“基本由(这些方面和变化形式)组成”。

[0428] 本公开内容中,请求保护的主题的各个方面均以范围形式呈现。应当理解,范围形式的描述仅仅是为了方便和简洁,并且不应被解释为对所要求保护的主题的范围的硬性限制。因此,范围的描述应当被认为已经具体公开了所有可能的子范围以及该范围内的单个数值。例如,在提供值的范围的情况下,应当理解,在该范围的上限和下限之间的每个中间

值以及在所述范围内的任何其他所述的或中间的值均被包括在要求保护的主题内。所述较小范围内可独立地包含这些较小范围的上下限,它们也属于请求保护的主题的范围,除非明确地排除所述范围的上下限。设定范围包含一个或两个限值时,请求保护的主体也包括排除所述限值之一或两个的范围。这适用而无关范围的宽度。

[0429] 本文使用的术语约摄是指本技术领域技术人员容易知晓的各值的通常误差范围。本文中述及“约”值或参数,包括(并描述)指向该值或参数本身的实施方式。例如,关于“约X”的描述包括“X”的描述。

[0430] 本文中所用的组合物指,两种或更多种产物、物质或化合物,包括细胞,的任何混合物。其可以是溶液、悬液、液体、粉末、糊剂、水性、非水性或其任何组合。

[0431] 本文中所用的,称细胞或细胞群针对具体标志物呈“阳性”指,所述细胞上或细胞中具体标志物(通常是表面标志物)的可检测的存在。当述及表面标志物时,该术语指,通过流式细胞术检测到存在表面表达,例如,通过用特异性地结合至所述标志物的抗体染色,并检测所述抗体,其中,所述染色可被流式细胞术以一定水平检测到,所述水平显著高于采用同种型匹配的对照在其它条件相同的情况下进行相同步骤时检测到的染色的水平,和/或基本相似于已知对所述标志物呈阳性的细胞的水平,和/或显著高于已知对所述标志物呈阴性的细胞的水平。

[0432] 本文中所用的,称细胞或细胞群针对具体标志物呈“阴性”指,所述细胞上或细胞中具有具体标志物,通常是表面标志物,的基本可检测的不存在。当述及表面标志物时,该术语指,通过流式细胞术检测到存在表面表达,例如,通过用特异性地结合至所述标志物的抗体染色,并检测所述抗体,其中,所述染色可被流式细胞术以一定水平检测到,所述水平显著高于采用同种型匹配的对照在其它条件相同的情况下进行相同步骤时检测到的染色的水平,和/或显著低于已知对所述标志物呈阳性的细胞的水平,和/或基本相似于已知对所述标志物呈阴性的细胞的水平。

[0433] 除非另外定义,本文使用的所有专业术语、符号和其它技术和科学术语或专有词汇旨在具有本发明所属领域技术人员通常所理解的含义。在一些情况中,本文出于阐明和/或便于引用目的对具有常规理解含义的术语加以限定,本文中包括此类限定不应理解为表示与本领域常规理解的有显著差异。

[0434] 本发明中提及的所有出版物,包括专利文件、学术论文和数据库,均以各个体出版物好似独立地通过引用纳入的相同程度通过引用其全文纳入本文用于所有目的。如果本文所示的定义与通过引用纳入本文的专利、公开申请和其它出版物中所示的定义不同或其它情况下不一致,则相对于通过引用纳入本文的文件中的定义,以本文所示的定义为主。

[0435] 本文所用章节标题仅用于组织目的,而不应理解为限制所述客体。

[0436] IV. 示例性实施方式

[0437] 本文中提供的实施方式包括:

[0438] 1. 抗CD19抗体或其抗原结合片段,所述抗体或抗原结合片段包含重链可变(VH)区和轻链可变(VL)区,其中:

[0439] 所述VH区包含重链互补决定区3(CDR-H3),其包含SEQ ID NO:20所示的氨基酸序列,或

[0440] 所述VH区包含与SEQ ID NO:11、12、60、61、63或62所示的VH区氨基酸序列至少

90%的序列相同性。

[0441] 2. 抗体或其抗原结合片段, 包含:

[0442] CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3, 其分别包含SEQ ID NO: 11、12、60、61、63或62所示的VH区氨基酸序列中所含的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3序列的氨基酸序列; 和/或

[0443] 轻链互补决定区1、2和3 (CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3), 其分别包含SEQ ID NO: 13、14、15、16、17、71、65、64、66、70、69、67、90或91所示的轻链可变 (VL) 区氨基酸序列中所含的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3序列的氨基酸序列。

[0444] 3. 抗体或其抗原结合片段, 包含:

[0445] 含有SEQ ID NO: 18的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO: 81或82的氨基酸序列的CDR-H2, 和含有示于SEQ ID NO: 20的氨基酸序列的CDR-H3; 和/或

[0446] CDR-L1, 该CDR-L1包含如下氨基酸序列:  $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$  (SEQ ID NO: 111), 其中 $X_1$ 是T、Q、S或R;  $X_2$ 是G或A;  $X_3$ 是I、T、D或S;  $X_4$ 是S、R、T或Q;  $X_5$ 为空或是S;  $X_6$ 是G、D、N或为空;  $X_7$ 为空、是V或L;  $X_8$ 是D、G、I、L、S或为空;  $X_9$ 是S、G、A、I、R或为空;  $X_{10}$ 是H、Y、F、S或N;  $X_{11}$ 是R、N、D、H或Y;  $X_{12}$ 是Y、F、D或W;  $X_{13}$ 是V、A或L; 并且 $X_{14}$ 是S、N或A;

[0447] CDR-L2, 该CDR-L2包含如下氨基酸序列:  $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$  (SEQ ID NO: 112), 其中 $X_1$ 是D或S;  $X_2$ 是F、V、N、K或A;  $X_3$ 是S、T、D或N;  $X_4$ 是K、V、N、Q或R;  $X_5$ 是R、V或L;  $X_6$ 是P、K、A或E; 并且 $X_7$ 是S、P、A或T, 和

[0448] CDR-L3, 该CDR-L3包含如下氨基酸序列:  $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$  (SEQ ID NO: 115), 其中 $X_1$ 是X;  $X_2$ 是S、Q、A或T;  $X_3$ 是Y、S、W、R;  $X_4$ 是A、D、R、T或Y;  $X_5$ 是X;  $X_6$ 是X;  $X_7$ 是S、P、L、Y、G;  $X_8$ 是X或为空;  $X_9$ 是X或为空;  $X_{10}$ 是L或为空;  $X_{11}$ 是X; 并且 $X_{12}$ 是V、T或L。

[0449] 4. 如实施方式3所述的抗体或其抗原结合片段, 其中:

[0450] 在所述CDR-L1中,  $X_3$ 是I、T或S;  $X_4$ 是S、T或Q;  $X_8$ 是D、G、I、S或为空;  $X_9$ 是S、G、I或为空;  $X_{10}$ 是H、Y、S或N;  $X_{11}$ 是R、N、D或H;  $X_{12}$ 是Y或D; 并且 $X_{13}$ 是V或L; 和/或

[0451] 在所述CDR-L2中,  $X_1$ 是D;  $X_4$ 是K、V、N、Q或R;  $X_6$ 是P、K或A; 并且 $X_7$ 是S、A或T; 和/或

[0452] 在所述CDR-L3中,  $X_1$ 是S、G、T、A、Q、C或N;  $X_5$ 是A、S、P、G、N或D;  $X_6$ 是I、S、G、T、A、L、H、R或N;  $X_8$ 是P、T、S、Q、M、R、N或为空;  $X_9$ 是S、L、N、A、M或为空; 并且 $X_{11}$ 是Y、W、F、V、A或L。

[0453] 5. 如实施方式3或实施方式4所述的抗体或抗原结合片段, 其中, 在所述CDR-L3中,  $X_1$ 是S、G、Q或N;  $X_2$ 是S、Q或T;  $X_4$ 是A、D、T或Y;  $X_5$ 是A、S或G; 并且 $X_6$ 是I、S、N、R、A、H或T。

[0454] 6. 如实施方式1-5中任一项所述的抗体或片段, 其中:

[0455] 所述CDR-H2包含SEQ ID NO: 19所示的氨基酸序列 (GISWNSGRIGYADSVKG); 或者

[0456] 所述CDR-H2包含SEQ ID NO: 72所示的氨基酸序列 (GISWNSGSIGYADSVKG)。

[0457] 7. 如实施方式1-6中任一项所述的抗体或片段, 其中, 所述CDR-L1包含SEQ ID NO: 80、77、74、73、75、79、78、76、21、25、28或31所示的氨基酸序列。

[0458] 8. 如实施方式7所述的抗体或片段, 其中, 所述CDR-L1包含SEQ ID NO: 80、77、74、73、78、21或28所示的氨基酸序列。

[0459] 9. 如实施方式1-8中任一项所述的抗体或片段, 其中, 所述CDR-L2包含SEQ ID NO: 100、97、94、93、95、99、98、96、22、26、29或32所示的氨基酸序列。

[0460] 10. 如实施方式9所述的抗体或片段, 其中, 所述CDR-L2包含SEQ ID NO: 100、97、94、93、98、22或29所示的氨基酸序列。

[0461] 11.如实施方式1-10中任一项所述的抗体或片段,其中,所述CDR-L3包含SEQ ID NO:109、106、103、101、104、108、107、105、102、23、24、27、30或33所示的氨基酸序列。

[0462] 12.如实施方式11所述的抗体或片段,其中,所述CDR-L3包含SEQ ID NO:109、106、103、101、107、24或30所示的氨基酸序列。

[0463] 13.如实施方式1-12中任一项所述的抗体或片段,其中:

[0464] 所述CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:21、22和23;

[0465] 所述CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:21、22和24;

[0466] 所述CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:25、26和27;

[0467] 所述CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:28、29和30;

[0468] 所述CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:31、32和33;

[0469] 所述CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:80、100和109;

[0470] 所述CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:77、97和106;

[0471] 所述CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:74、94和103;

[0472] 所述CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:73、93和101;

[0473] 所述CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:75、95和104;

[0474] 所述CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:79、99和108;

[0475] 所述CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:78、98和107;

[0476] 所述CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:76、96和105;

[0477] 所述CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:73、93和102;或

[0478] 所述CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID NO:77、97和106。

[0479] 14.如实施方式1-13中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中:

[0480] 所述CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3分别包含SEQ ID NO:18、81和20;

[0481] 所述CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3分别包含SEQ ID NO:18、19和20;

[0482] 所述CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3分别包含SEQ ID NO:18、82和20;或

[0483] 所述CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3分别包含SEQ ID NO:18、72和20。

[0484] 15.如实施方式1-14中任一项所述的抗体或片段,其中:

[0485] 所述抗体或片段的VH区包含SEQ ID NO:11、12、60、61、63或62的氨基酸序列;和/或

[0486] 所述抗体或片段的VL区包含SEQ ID NO:13、14、15、16、17、71、90、91、68、65、64、66、70、69或67的氨基酸序列。

[0487] 16.如实施方式15所述的抗体或片段,其中:

[0488] 所述抗体或片段的VH区包含SEQ ID NO:11、60、63或62的氨基酸序列;和/或

[0489] 所述抗体或片段的VL区包含SEQ ID NO:14、16、71、90、65、64或69的氨基酸序列。

[0490] 17.如实施方式1-16中任一项所述的抗体或片段,其中:

[0491] 所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:12和17的氨基酸序列;

[0492] 所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:12和15的氨基酸序列;

[0493] 所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:11和13的氨基酸序列;

[0494] 所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:11和14的氨基酸序列;

[0495] 所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:11和16的氨基酸序列;

- [0496] 所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:63和71的氨基酸序列;
- [0497] 所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:62和68的氨基酸序列;
- [0498] 所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:11和65的氨基酸序列;
- [0499] 所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:60和64的氨基酸序列;
- [0500] 所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:61和66的氨基酸序列;
- [0501] 所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:63和70的氨基酸序列;
- [0502] 所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:62和69的氨基酸序列;
- [0503] 所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:12和67的氨基酸序列;
- [0504] 所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:12和91的氨基酸序列;或
- [0505] 所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:63和90的氨基酸序列。
- [0506] 18. 如实施方式17所述的抗体或片段,其中:
- [0507] 所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:11和14的氨基酸序列;
- [0508] 所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:11和16的氨基酸序列;
- [0509] 所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:63和71的氨基酸序列;
- [0510] 所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:11和65的氨基酸序列;
- [0511] 所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:60和64的氨基酸序列;
- [0512] 所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:62和69的氨基酸序列;或
- [0513] 所述抗体或片段的VH和VL区分别包含SEQ ID NO:63和90的氨基酸序列。
- [0514] 19. 如实施方式1-18中任一项所述的抗体或片段,其中,所述抗体特异性地结合至CD19。
- [0515] 20. 如实施方式19所述的抗体或片段,其中,所述抗体特异性地结合至与参比抗CD19抗体特异性结合的表位相同或重叠的CD19表位,所述参比抗CD19抗体选自FMC63和SJ25C1。
- [0516] 21. 所述的抗体或片段如实施方式19,其中,所述抗体与选自FMC63和SJ25C1的抗CD19抗体竞争结合至CD19。
- [0517] 22. 一种人抗体片段,其特异性地结合至与参比抗体特异性结合的表位相同或重叠的CD19表位,其是如实施方式1-21中任一项所述的抗体或其片段,或是选自FMC63和SJ25C1的抗CD19抗体,所述人抗体片段包含与FMC63和SJ25C1中存在的CDR不同的重链和轻链CDR。
- [0518] 23. 一种人抗体片段,其特异性地结合至CD19,并与参比抗体竞争结合至CD19,其是如实施方式1-21中任一项所述的抗体或片段,或是选自FMC63和SJ25C1的抗CD19抗体,所述抗体片段包含与FMC63和SJ25C1中存在的CDR不同的重链和轻链CDR。
- [0519] 24. 如实施方式21或23所述的抗体或片段,其与参比抗体竞争结合至CD19的程度至少和参比抗体与自身竞争结合至CD19的程度相同,或竞争的程度比被所述参比抗体竞争的程度低不多于1.5倍或2倍。
- [0520] 25. 如实施方式1-24中任一项所述的抗体或片段,其中,所述抗体的结合亲和性至少与参比抗体对CD19的结合亲和性相同,或至少基本相同,所述参比抗体选自FMC63和SJ25C1。
- [0521] 26. 如实施方式25所述的抗体或片段,其结合亲和性的EC50约等于或低于所述参

比抗体的EC50,或比所述参比抗体的EC50大不多于约1.5倍或不多于约2倍、不多于3倍,和/或不多于10倍。

[0522] 27.如实施方式1-26中任一项所述的抗体或片段,其中,所述抗体或片段是人抗体或片段。

[0523] 28.如实施方式1-27中任一项所述的抗体或片段,其中,所述抗体或片段是重组抗体或片段。

[0524] 29.如实施方式1-28中任一项所述的抗体或片段,是单克隆的。

[0525] 30.如实施方式1-29中任一项所述的抗体或片段,是单链片段。

[0526] 31.如实施方式1-30中任一项所述的抗体或片段,其是包含由柔性免疫球蛋白接头接合的抗体可变区的片段。

[0527] 32.如实施方式30或31所述的抗体或片段,其中,所述片段包含scFv。

[0528] 33.如实施方式32所述的抗体或片段,其中,所述scFv包含含有SEQ ID NO:34所示序列的接头。

[0529] 34.如实施方式32所述的抗体或片段,其中所述scFv包含SEQ ID NO:2、4、6、8、10、45、47、49、51、53、55、57、59、87或89所示的氨基酸序列。

[0530] 35.如实施方式1-34中任一项所述的抗体或片段,其还包含免疫球蛋白恒定区的至少部分。

[0531] 36.如实施方式35所述的抗体或片段,其中,所述免疫球蛋白恒定区的至少部分包含Fc区。

[0532] 37.如实施方式36所述的抗体或片段,其中,所述Fc区是人IgG的Fc区。

[0533] 38.如实施方式1-37中任一项所述的抗体或片段,其中CD19是人CD19。

[0534] 39.一种嵌合抗原受体(CAR),其包含胞外部分,所述胞外部分包含如实施方式1-38中任一项所述的抗体或片段,和胞内信号转导结构域。

[0535] 40.如实施方式38所述的嵌合抗原受体,其中,所述抗体或片段包含scFv,并且所述胞内信号转导结构域包含ITAM。

[0536] 41.如实施方式39或40所述的嵌合抗原受体,其中,所述胞内信号转导结构域包含CD3- $\zeta$  (CD3 $\zeta$ ) 链的 $\zeta$ 链的信号转导结构域。

[0537] 42.如实施方式39-41中任一项所述的嵌合抗原受体,还包含连接所述胞外结构域和所述胞内信号转导结构域的跨膜结构域。

[0538] 43.如实施方式42所述的嵌合抗原受体,其中,所述跨膜结构域包含CD28的跨膜部分。

[0539] 44.如实施方式39-43中任一项所述的嵌合抗原受体,还包含T细胞共刺激分子的胞内信号转导结构域。

[0540] 45.如实施方式44所述的嵌合抗原受体,其中,所述T细胞共刺激分子选自下组:CD28和41BB。

[0541] 46.表达如实施方式39-45中任一项所述的嵌合抗原受体的经工程改造的细胞。

[0542] 47.如实施方式46所述的经工程改造的细胞,其是T细胞。

[0543] 48.一种治疗方法,包括:将如实施方式46或47所述的细胞给予具有与CD19相关联的疾病或紊乱的对象。

[0544] 49. 一种治疗方法,其包括将如实施方式1-38中任一项所述的抗体给予具有与CD19相关联的疾病或紊乱的对象。

[0545] 50. 如实施方式48或49所述的方法,其中,所述疾病或紊乱是B细胞恶性肿瘤。

[0546] 51. 如实施方式50所述的方法,其中,所述B细胞恶性肿瘤选自下组: B细胞慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、急性淋巴细胞性白血病(ALL)、幼淋巴细胞性白血病、毛细胞白血病、常见急性淋巴细胞性白血病、非急性淋巴母细胞性白血病、非霍奇金淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、多发性骨髓瘤、滤泡性淋巴瘤、脾、边缘带淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、惰性B细胞淋巴瘤和霍奇金淋巴瘤。

[0547] 52. 编码如实施方式1-38中任一项所述的抗体或其片段或如实施方式39-45中任一项所述的嵌合抗原受体的核酸。

[0548] 53. 一种组合物,其包含如实施方式1-38中任一项所述的抗体或其片段、如实施方式39-45中任一项所述的CAR或如实施方式46或47所述的细胞。

[0549] 54. 一种治疗方法,包括:将如实施方式53所述的组合物给予具有与CD19相关联的疾病或紊乱的对象。

[0550] 55. 抗体或其抗原结合片段,包含:

[0551] 重链互补决定区1、2和3(CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3),其分别包含SEQ ID NO:11或12所示的重链可变(VH)区氨基酸序列中所含的CDR 1、2和3序列的氨基酸序列;和

[0552] 轻链互补决定区1、2和3(CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3),其分别包含SEQ ID NO:13、14、15、16或17所示的轻链可变(VL)区氨基酸序列中所含的CDR 1、2和3序列的氨基酸序列。

[0553] 56. 如实施方式55所述的抗体或片段,其中:

[0554] 所述CDR-H1包含氨基酸序列DYAMH(SEQ ID NO:18);

[0555] 所述CDR-H2包含氨基酸序列GISWNSGRIGY(SEQ ID NO:35);

[0556] 所述CDR-H3包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列;

[0557] 所述CDR-L1包含氨基酸序列 $X_1GX_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}S$ (SEQ ID NO:36),其中 $X_1$ 是T、S或Q, $X_3$ 是T、S或D, $X_4$ 是T或S, $X_5$ 为空或是S, $X_6$ 为空、是D或N, $X_7$ 为空或是V, $X_8$ 为空、是G或I, $X_9$ 为空、是G或R, $X_{10}$ 是S、Y或N, $X_{11}$ 是D或N, $X_{12}$ 是D或Y, $X_{13}$ 是V或A;

[0558] 所述CDR-L2包含氨基酸序列 $X_1X_2X_3X_4RPS$ (SEQ ID NO:37),其中 $X_1$ 是D或S, $X_2$ 是V、N或K, $X_3$ 是S、N或D,且 $X_4$ 是K、Q或N;和

[0559] 所述CDR-L3包含氨基酸序列 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (SEQ ID NO:38),其中 $X_1$ 是C、S、A、G或N, $X_2$ 是S、A或T, $X_3$ 是Y、W或R, $X_4$ 是A或D, $X_5$ 是G、D或S, $X_6$ 是R、S或N, $X_7$ 是Y、L或G, $X_8$ 是N或S, $X_9$ 是S或为空, $X_{10}$ 是V、A或N, $X_{11}$ 是W或为空,并且 $X_{12}$ 是L或V。

[0560] 57. 如实施方式56所述的抗体或片段,其中:在所述CDR-L1中, $X_1$ 是T或S, $X_3$ 是T或S, $X_{11}$ 是D或N和 $X_{13}$ 是V;在所述CDR-L2中, $X_2$ 是V或N和 $X_4$ 是K或Q;和/或在所述CDR-L3中, $X_1$ 是C、S、A或G, $X_3$ 是Y或W, $X_5$ 是G或D, $X_7$ 是Y或L, $X_{10}$ 是V或A,且 $X_{11}$ 为空。

[0561] 58. 如实施方式55-57中任一项所述的抗体或片段,其中,所述CDR-H2包含SEQ ID NO:19所示的氨基酸序列(GISWNSGRIGYADSVKG)。

[0562] 59. 如实施方式55-58中任一项所述的抗体或片段,其中,所述CDR-L1包含SEQ ID NO:21、25、28或31所示的序列。

[0563] 60. 如实施方式55-59中任一项所述的抗体或片段,其中,所述CDR-L2包含SEQ ID



N0:22、26、29或32所示的序列。

[0564] 61.如实施方式55-60中任一项所述的抗体或片段,其中,所述CDR-L3包含SEQ ID N0:23、24、27、30或33所示的序列。

[0565] 62.如实施方式55-61中任一项所述的抗体或片段,其中:

[0566] 所述CDRL1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID N0:21、22和23;

[0567] 所述CDRL1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID N0:21、22和24;

[0568] 所述CDRL1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID N0:25、26和27;

[0569] 所述CDRL1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID N0:28、29和30;或

[0570] 所述CDRL1、CDR-L2和CDR-L3分别包含SEQ ID N0:31、32和33。

[0571] 63.如实施方式55-62中任一项所述的抗体或片段,其中,所述抗体或片段包含:

[0572] 包含SEQ ID N0:11或12的氨基酸序列的VH区;和

[0573] 包含SEQ ID N0:13、14、15、16或17的氨基酸序列的VL区。

[0574] 64.如实施方式63所述的抗体或片段,其中,所述VH区包含SEQ ID N0:11的氨基酸序列。

[0575] 65.如实施方式63所述的抗体或片段,其中,所述VH区包含SEQ ID N0:12的氨基酸序列。

[0576] 66.如实施方式55-65中任一项所述的抗体或片段,其中,所述抗体特异性地结合至CD19。

[0577] 67.如实施方式66所述的抗体或片段,其中,所述抗体特异性地结合至与参比抗CD19抗体特异性结合的表位相同或重叠的CD19表位,所述参比抗CD19抗体选自FMC63和SJ25C1。

[0578] 68.如实施方式66所述的抗体或片段,其中,所述抗体与选自FMC63和SJ25C1的抗CD19抗体竞争结合至CD19。

[0579] 69.一种人抗体片段,其特异性地结合至与参比抗体特异性结合的表位相同或重叠的CD19表位,其是如实施方式55-68中任一项所述的抗体或其片段,或由选自FMC63和SJ25C1的抗CD19抗体,所述人抗体片段包含与FMC63和SJ25C1中存在的CDR不同的重链和轻链CDR。

[0580] 70.一种人抗体片段,其特异性地结合至CD19,并与参比抗体竞争结合至CD19,其是如实施方式55-68中任一项所述的抗体或片段,或是选自FMC63和SJ25C1的抗CD19抗体,所述抗体片段包含与FMC63和SJ25C1中存在的CDR不同的重链和轻链CDR。

[0581] 71.如实施方式68或70所述的抗体,其与参比抗体竞争结合至CD19的程度至少和参比抗体与自身竞争结合至CD19的程度相同,或竞争的程度比被所述参比抗体竞争的程度低不多于1.5倍或2倍,。

[0582] 72.如实施方式55-71中任一项所述的抗体,其中,所述抗体的结合亲和性至少与参比抗体对CD19的结合亲和性相同,或至少基本相同,所述参比抗体选自FMC63和SJ25C1。

[0583] 73.如实施方式72所述的抗体,其结合亲和性的EC50大致等于或低于参比抗体的EC50,或者比所述参比抗体的EC50大不超过约1.5倍或不超过约2倍、不超过3倍,和/或不超过10倍。

[0584] 74.如实施方式55-73中任一项所述的抗体或片段,其中,所述抗体是人抗体。

- [0585] 75. 如实施方式55-74中任一项所述的抗体或片段,其中,所述抗体是重组抗体。
- [0586] 76. 如实施方式55-75中任一项所述的抗体或片段,其是单克隆抗体或片段。
- [0587] 77. 如实施方式55-76中任一项所述的抗体或片段,是单链片段。
- [0588] 78. 如实施方式55-77中任一项所述的抗体或片段,其是包含由柔性免疫球蛋白接头接合的抗体可变区的片段。
- [0589] 79. 如实施方式77或78所述的抗体或片段,其中,所述片段包含scFv。
- [0590] 80. 如实施方式79所述的抗体或片段,其中,所述scFv包含含有SEQ ID NO:34所示序列的接头。
- [0591] 81. 如实施方式80所述的抗体或片段,其中,所述scFv包含SEQ ID NO:2、4、6、8或10所示的氨基酸序列。
- [0592] 82. 如实施方式55-81中任一项所述的抗体或片段,其还包含免疫球蛋白恒定区的至少部分。
- [0593] 83. 如实施方式82所述的抗体或片段,其中,所述免疫球蛋白恒定区的至少部分包含Fc区。
- [0594] 84. 如实施方式83所述的抗体或片段,其中,所述Fc区是人IgG的Fc区。
- [0595] 85. 如实施方式55-84中任一项所述的抗体或片段,其中,所述CD19是人CD19。
- [0596] 86. 一种嵌合抗原受体,其包含胞外部分,所述胞外部分包含如实施方式55-85中任一项所述的抗体或片段,和胞内信号转导结构域。
- [0597] 87. 如实施方式86所述的嵌合抗原受体,其中,所述抗体或片段包含scFv,并且所述胞内信号转导结构域包含ITAM。
- [0598] 88. 如实施方式87所述的嵌合抗原受体,其中,所述胞内信号转导结构域包含CD3- $\zeta$  (CD3 $\zeta$ ) 链的 $\zeta$ 链的信号转导结构域。
- [0599] 89. 如实施方式86-88中任一项所述的嵌合抗原受体,还包含连接所述胞外结构域和所述胞内信号转导结构域的跨膜结构域。
- [0600] 90. 如实施方式89所述的嵌合抗原受体,其中,所述跨膜结构域包含CD28的跨膜部分。
- [0601] 91. 如实施方式86-90中任一项所述的嵌合抗原受体,还包含T细胞共刺激分子的胞内信号转导结构域。
- [0602] 92. 如实施方式91所述的嵌合抗原受体,其中,所述T细胞共刺激分子选自下组:CD28和41BB。
- [0603] 93. 表达如实施方式86-92中任一项所述的嵌合抗原受体的经工程改造的细胞。
- [0604] 94. 如实施方式93所述的经工程改造的细胞,其是T细胞。
- [0605] 95. 一种治疗方法,包括:将如实施方式93或94所述的细胞给予具有与CD19相关联的疾病或紊乱的对象。
- [0606] 96. 一种治疗方法,其包括将如实施方式55-85中任一项所述的细胞给予具有与CD19相关联的疾病或紊乱的对象。
- [0607] 97. 如实施方式95或96所述的方法,其中,所述疾病或紊乱是B细胞恶性肿瘤。
- [0608] 98. 如实施方式97所述的方法,其中,所述B细胞恶性肿瘤选自下组:B细胞慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、急性淋巴细胞性白血病 (ALL)、幼淋巴细胞性白血病、毛细胞白血

病、常见急性淋巴细胞性白血病、非急性淋巴母细胞性白血病、非霍奇金淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、多发性骨髓瘤、滤泡性淋巴瘤、脾、边缘带淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、惰性B细胞淋巴瘤和霍奇金淋巴瘤。

[0609] 99. 编码如实施方式55-85中任一项所述的抗体或如实施方式86-92中任一项所述的嵌合抗原受体的核酸。

[0610] 100. 一种组合物, 其包含如实施方式55-85中任一项所述的抗体、如实施方式86-92中任一项所述的CAR或如实施方式93或94所述的细胞。

[0611] 101. 一种治疗方法, 包括: 将如实施方式100所述的组合物给予具有与CD19相关联的疾病或紊乱的对象。

[0612] 102. 如实施方式1-38或55-85中任一项所述的抗体或片段、如实施方式39-45或86-92中任一项所述的CAR、如实施方式46、47、93和94中任一项所述的细胞、如实施方式48-51、54、95-98和101中任一项所述的方法、如实施方式52或99所述的核酸, 或如实施方式53和100中任一项所述的组合物, 其中, 所述抗体或片段特异性地结合至包含CD19的胞外部分的区域中的一个或多个氨基酸的表位。

[0613] 103. 如实施方式1-38或55-85中任一项所述的抗体或片段、如实施方式39-45或86-92中任一项所述的CAR、如实施方式46、47、93和94中任一项所述的细胞、如实施方式48-51、54、95-98和101中任一项所述的方法、如实施方式52或99所述的核酸, 或如实施方式53和100中任一项所述的组合物, 其中, 所述抗体或片段特异性地结合至位于CD19的胞外部分的区域内的表位。

[0614] 103. 如实施方式1-38或55-85中任一项所述的抗体或片段、如实施方式39-45或86-92中任一项所述的CAR、如实施方式46、47、93和94中任一项所述的细胞、如实施方式48-51、54、95-98和101中任一项所述的方法、如实施方式52或99所述的核酸, 或如实施方式53和100中任一项所述的组合物, 其中, 所述抗体或片段特异性地结合至由CD19的胞外部分的区域组成或基本由其组成的多肽, 或包含CD19的胞外部分的区域但不包含或基本不包含CD19的其它部分的多肽。

[0615] 104. 如实施方式102-103中任一项所述的抗体、片段、细胞、方法、核酸或组合物, 其中, 所述CD19的胞外部分的区域是近膜区。

[0616] 105. 如实施方式102-104中任一项所述的抗体、片段、细胞、方法、核酸或组合物, 其中所述CD19的胞外部分的区域是由CD19的第四外显子编码的部分或对应于SEQ ID NO: 92所示的人CD19序列的位置176-277的部分。

[0617] 106. 如实施方式102-105中任一项所述的抗体、片段、细胞、方法、核酸或组合物, 其中所述CD19的胞外部分的区域包含所述CD19的胞外部分的最靠近膜的100、90、80、75、70、65、60、55、50、45、44、43、43、41或40个氨基酸部分或由其组成。

[0618] 107. 如实施方式102-106中任一项所述的抗体、片段、细胞、方法、核酸或组合物, 其中所述胞外部分的区域包含: CD19的Ig样结构域、由所述CD19的第二外显子编码的部分和/或对应于SEQ ID NO: 92所示的人CD19序列的位置20-117的部分, 或由其组成。

[0619] 108. 如实施方式102-106中任一项所述的抗体、片段、细胞、方法、核酸或组合物, 其任选地是如实施方式105-107中任一项所描述的胞外区域的部分中的任一种。

[0620] 109. 如实施方式1-38或55-85中任一项所述的抗体或片段、如实施方式39-45或

86-92中任一项所述的CAR、如实施方式46、47、93和94中任一项所述的细胞、如实施方式48-51、54、95-98和101中任一项所述的方法、如实施方式52或99所述的核酸,或如实施方式53和100中任一项所述的组合物,其中,所述抗体或片段特异性地结合至包含CD19的表位,该表位包含位于、存在于或包括对应于SEQ ID NO:92所示的人CD19序列的残基218-249的CD19部分的一个或多个氨基酸。

[0621] 110.如实施方式109所述的抗体、片段、细胞、方法、核酸或组合物,其中,所述部分包含SEQ ID NO:143所示的序列。

[0622] 111.如实施方式1-38或55-85中任一项所述的抗体或片段、如实施方式39-45或86-92中任一项所述的CAR、如实施方式46、47、93和94中任一项所述的细胞、如实施方式48-51、54、95-98和101中任一项所述的方法、如实施方式52或99所述的核酸,或如实施方式53和100中任一项所述的组合物,其中,所述抗体或片段特异性地结合至CD19表位,其包含处于与SEQ ID NO:92所示的人CD19序列的选自下组位置处相对应的位置处的氨基酸:位置218处的组氨酸(H)、位置236处的丙氨酸(A)、位置242处的甲硫氨酸(M)、位置243处的谷氨酸(E)、位置249处的脯氨酸(P),和/或位置223和224处的赖氨酸(K)和/或丝氨酸(S),及其组合。

[0623] 112.如实施方式1-38或55-85中任一项所述的抗体或片段、如实施方式39-45或86-92中任一项所述的CAR、如实施方式46、47、93和94中任一项所述的细胞、如实施方式48-51、54、95-98和101中任一项所述的方法、如实施方式52或99所述的核酸,或如实施方式53和100中任一项所述的组合物,其中,处于与SEQ ID NO:92所示的人CD19序列的选自下组的位置处相对应的位置处的氨基酸对于所述抗体与人CD19的结合而言是重要的:位置218处的组氨酸(H)、位置236处的丙氨酸(A)、位置242处的甲硫氨酸(M)、位置243处的谷氨酸(E)、位置249处的脯氨酸(P),和/或位置223和224处的赖氨酸(K)和/或丝氨酸(S),及其组合。

[0624] 113.如实施方式111或112所述的抗体、片段、细胞、方法、核酸或组合物,其中,所述氨基酸与SEQ ID NO:92中对应位置处存在的氨基酸相同。

[0625] 114.如实施方式111-113中任一项所述的抗体、片段、细胞、方法、核酸或组合物,其中,所述氨基酸是或包含位于与人CD19的位置218处的组氨酸相对应的位置处的氨基酸,任选地,其中,位于所述位置的氨基酸是组氨酸。

[0626] 115.如实施方式111-114中任一项所述的抗体、片段、细胞、方法、核酸或组合物,其中,所述氨基酸是或包含位于与人CD19序列的位置236处的丙氨酸相对应的位置处的氨基酸,任选地,其中,位于所述位置的氨基酸是丙氨酸。

[0627] 116.如实施方式111-115中任一项所述的抗体、片段、细胞、方法、核酸或组合物,其中,所述氨基酸是或包含位于与人CD19的位置242处的甲硫氨酸相对应的位置处的氨基酸,任选地,其中,位于所述位置的氨基酸是甲硫氨酸。

[0628] 117.如实施方式111-116中任一项所述的抗体、片段、细胞、方法、核酸或组合物,其中,所述氨基酸是或包含位于与人CD19的位置243处的谷氨酸相对应的位置处的氨基酸,任选地,其中,位于所述位置的氨基酸是谷氨酸。

[0629] 118.如实施方式111-117中任一项所述的抗体、片段、细胞、方法、核酸或组合物,其中,所述氨基酸是或包含位于与人CD19的位置249处的脯氨酸相对应的位置处的氨基酸,任选地,其中,位于所述位置的氨基酸是脯氨酸。

[0630] 119. 如实施方式111-118中任一项所述的抗体、片段、细胞、方法、核酸或组合物, 其中, 所述氨基酸是或包含位于与人CD19的位置223和224处的赖氨酸和/或丝氨酸相对应的位置之一或两者处的一个或多个氨基酸。

[0631] 120. 如实施方式1-38或55-85中任一项所述的抗体或片段、如实施方式39-45或86-92中任一项所述的CAR、实施方式46、47、93和94中任一项所述的细胞、如实施方式48-51、54、95-98和101中任一项所述的方法、如实施方式52或99所述的核酸, 或如实施方式53和100中任一项所述的组合物, 其中, 所述抗体或片段特异性地结合至一表位, 该表位重叠于或等于或包含由参比抗体特异性结合的表位, 其中, 该重叠部分包含或位于CD19的如下部分中: (a) 包含SEQ ID NO:143, (b) 对应于SEQ ID NO:92所示的人CD19序列的残基218-249, 或 (c) 对应于由人CD19的外显子4编码的CD19区域, 或 (d) 处于人CD19的75最近膜或80最近膜残基所对应的部分。

[0632] 121. 如实施方式120所述的抗体、片段、细胞、方法、核酸或组合物, 其中, 所述参比抗体是FMC63, 或者其中, 所述参比抗体是SJ25C1。

## 实施例

[0633] 下面的实施例仅是为了阐述, 而不是用来限制本发明的范围。

### [0634] 实施例1: 抗CD19抗体的制备和评估

[0635] 生成并评估了, 特异性地结合至表达CD19的细胞的、与鼠抗CD19参比抗体具有相似结合性质的, 和/或与鼠抗CD19参比抗体竞争结合的, 示例性的抗CD19抗体。

#### [0636] 1A. 文库选择、抗体制备

[0637] 示例性的抗CD19抗体(scFv)通过一系列选择步骤产生, 所述步骤对无细胞系统中展示的编码dsDNA的人原初抗体文库进行。通过三轮连续选择, 针对与活细胞的结合选择 $V_H$ 文库成员, 富集特异性地结合至稳定转染的表达CD19的HEK293细胞但非亲代HEK293细胞和/或结合至不表达CD19的CHOK1细胞的成员。在各轮选择终末时, 通过如下方式产生三个分开的洗脱池: (a) 表面剥离, 以从靶细胞回收结合物, (b) 竞争性洗脱, 其采用鼠抗CD19抗体, FMC63 IgG进行, 和 (c) 竞争性洗脱, 其采用另一鼠抗CD19抗体, SJ25C1进行 (进行 (b) 和 (c) 以富集与FMC63和/或SJ25C1竞争结合至CD19的结合物)。

[0638] 在三轮选择终末时, 将这些富集的 $V_H$ 文库转化至scFv文库, 通过将这些相应池中的 $V_H$ 成员和 $V_H-(G4S)_3-V_L$ 形式的原初人 $V_L$ 文库改组来进行。所得的scFv文库进行第四轮, 富集特异性地结合至表达CD19的HEK293细胞但不结合至亲代细胞的成员, 然后进行表面剥离法。

[0639] 进行第五轮以进一步富集结合至另一表达CD19的细胞 (CD19/K562) 的成员。选择之后产生分开的洗脱池, 采用 (a) 表面剥离法、(b) FMC63竞争性洗脱或 (c) SJ25C1竞争性洗脱进行。在第六轮中, 这三个池各自经负选择进一步富集未结合亲代细胞 (HEK293, 两次, K562) 的成员, 然后经正选择富集结合表达CD19的HEK293细胞的成员, 然后用识别HEK293细胞上表达的CD19上的C末端标签的抗Myc抗体免疫沉淀。

[0640] 在一个研究中, 来自各三个R6 scFv所得池的四十八 (48) 个克隆用正向和反向引物测序以确定氨基酸序列。测定的scFv序列中的130个显示全长读数。所述序列中观察到趋同 (convergence)。在这130个scFv序列 (代表这130个克隆中的四十六 (46) 个) 中鉴定出十

八(18)个复制物。在该研究中,在所述不同池中的两个中检测包含CDR 1-3和FR 1-3一个 $V_H$ 部分序列十四(14)次(10个拷贝来自一个而4个拷贝来自另一个),与5种不同 $V_L$ 配对。在不同池中鉴定其它复制物2-5次;其它为单拷贝序列。在另一研究中,其它CD19-结合克隆经鉴定和测序。它们之间显示相同的 $V_H$ 部分,具有不同 $V_L$ 序列。

[0641] 1B. 与表达CD19的细胞的特异性结合

[0642] 与不表达CD19的细胞相比,测序的克隆与表达CD19的HEK293细胞和对照HEK293细胞的结合,用体外翻译的粗制细胞裂解物或用细菌产生的上清液,通过流式细胞术来评估。简言之,各克隆的RNA经标准化并体外翻译作为带有C末端FLAG标签的粗制scFv。表达CD19的HEK293和对照(拟转染的)HEK293细胞用于所述试验。个体scFv与CD19和对照细胞的结合用二级抗FLAG-A1eXa647偶联物来检测。或者,将scFv结合池克隆进入大肠杆菌表达载体,并产出为带HIS标签的scFv,其用抗HIS-A1eXa647偶联物在流式细胞试验中检测。鼠抗CD19抗体(FMC63 scFv和FMC63 IgG)用作阳性对照;还使用对照scFv。平均荧光强度(MFI)由流式细胞术评估。结果示于图1A和1B,显示鉴定的克隆与表达CD19的细胞的结合。评估的克隆包括scFv,包括克隆5、17、18(用体外翻译的裂解物鉴定)和76(用细菌上清液鉴定),相较于CD19阴性细胞,其清楚显示对于表达CD19的细胞的结合优先性。

[0643] 如图1A和1B所示,对于一些克隆,该例中通过平均荧光强度检测的与表达CD19的细胞的结合程度的倍数变化相较于不表达CD19的细胞而言,是大约等大,至少等大或大于对阳性对照参比抗体,鼠抗CD19抗体FMC63 scFv和/或FMC63 IgG观察到的倍数变化。在一些情况中,观察到的结合至CD19或结合至表达CD19的细胞的总程度是大致相同的,至少等大或大于对一种或多种阳性对照参比抗体所观察到的情况。

[0644] 对相对于不表达CD19的细胞清楚显示对于表达CD19的细胞的结合优先性的四个(4)scFv克隆(“克隆18,”“克隆17,”“克隆5,”和“克隆76”)进行进一步分析。测序显示,这些克隆共有它们的 $V_H$ 序列中的CDR序列,并且具有不同 $V_L$ 序列和不同CDR-L。对应于这四个克隆的多个序列,包括示例性的scFv, $V_H$ 、 $V_L$ 和CDR(Kabat)氨基酸序列和scFv序列编码核苷酸的序列标识物列于表2。克隆18的种系变体(称为“克隆18B”)通过Kabat位置89处的半胱氨酸(C)→丝氨酸(S)取代产生;该克隆的序列也列于表2。这些克隆各自具有 $V_H$ 3链序列。克隆18包括源自 $V\lambda 2$ 序列的轻链框架(其中克隆18B具有 $V\lambda 2$ 种系框架序列);克隆17和76具有 $V\lambda 1$ 序列,并且克隆5包括 $V\lambda 3$ 序列。克隆18和17源自多个批次和文库,包括 $V_H$ - $V_L$ 改组和scFv。克隆76源自 $V_H$ - $V_L$  SJ25C1竞争性洗脱(第6轮);克隆5源自 $V_H$ - $V_L$  FMC63竞争性洗脱(第6轮)。

表2：示例性的克隆的序列(SEQ ID NO.)

克隆编号	重链可变(VH)区 (氨基酸)	轻链可变(VL)区 (氨基酸)	ScFv序列 (氨基酸, 核苷酸)	CDR-H (1、2、3) (Kabat) (氨基酸)	CDR-L (1、2、3) (Kabat) (氨基酸)
5	12	17	10	18、19、20	31、32、33
17	12	15	6	18、19、20	25、26、27
18	11	13	2	18、19、20	21、22、23
18B	11	14	4	18、19、20	21、22、24
76	11	16	8	18、19、20	28、29、30

[0646] 1C. 结合亲和性、与参比抗体的竞争

[0647] 克隆5、17、18、18B和76通过单步纯化,并通过SDS凝胶进行纯化评估。示例性的研究的凝胶示于图2(泳道1和2=克隆5、非还原、还原;泳道3和4=克隆17、非还原,还原;泳道5和6=克隆18、非还原和还原;泳道7和8=克隆76、非还原和还原)。在该研究中,对于克隆5、17、18和76,等电点分别测为5.36、5.32、7.11和5.32。

[0648] 解链温度( $T_m$ )测量采用BioTad CFX<sub>9</sub>6仪器进行,以分析Sypro Orange蛋白质在增加温度的纳入,显示与对于参比抗体FMC63 scFv观察到的那些相似的 $T_m$ 值。结果示于表3。

表3:  $T_m$ 评估

克隆, 条件	$T_m$ (°C)
5, 咪唑	53
5, pH 6	61
5, pH 7	57
5, pH 8	57
17	51
18	59
18B	59
FMC63 scFv	56

[0650] 克隆经滴定,且通过流式细胞术评估它们与表达CD19的K562细胞的的结合亲和性( $EC_{50}$ ),采用参比鼠CD19抗体,FMC63 scFv,用作阳性对照。三个分开的试验的结果,各自包括并比较其它结合亲和性与克隆18的结果,示于图3A-3C。

[0651] 在结果示于图3A的试验中,克隆18、克隆17、通过该研究鉴定的另一克隆(称为克隆192;序列见表6),和参比抗体(FMC63 scFv)的 $EC_{50}$ 值分别测为3.79nM、14.86nM、12.80nM

和7.37nM。在结果示于图3B的试验中,克隆18、克隆18B和克隆76的EC<sub>50</sub>值分别测为7.1nM和9.3nM和7.9nM。在结果示于图3C的试验中,克隆18和克隆76的EC<sub>50</sub>值分别测为4.1nM和8.8nM。

[0652] 因此,测试的各克隆以与参比抗体相似的亲和性特异性地结合至表达CD19的细胞,例如,具有的EC<sub>50</sub>约等于或低于参比抗体,或不多于约1.5倍或不多于约2倍或不多于约3倍大于所述参比抗体的EC<sub>50</sub>。

[0653] 在另一试验中,克隆18、5、17、鉴定的其它克隆(161、170、1(参见表6中的序列信息)),和阳性对照参比抗体FMC63 scFv(一板)和克隆18、鉴定的其它克隆(177、184、192、198),和阳性对照参比抗体FMC63 scFv(另一板)通过相同试验评估。所得结果见图4。两板上观察到的EC<sub>50</sub>值示于表4A和4B。如其所示,观察到克隆与参比抗体具有相当的结合亲和性。

[0654]	<b>表4A</b>					
		<b>克隆18</b>	<b>克隆5</b>	<b>克隆17</b>	<b>示例性的其它克隆 (克隆161、170、1)</b>	<b>FMC63 scFv</b>
	<b>EC<sub>50</sub>(nM)</b>	4.79	15.84	8.32	52.26、96.68、213.80	5.06
	<b>表4B</b>					
		<b>克隆18</b>	<b>示例性的其它克隆 (克隆177、184、192、198)</b>		<b>FMC63 scFv</b>	
	<b>EC<sub>50</sub>(nM)</b>	3.11	53.33、113.90、12.02、 13.21		5.83	

[0655] 进行竞争结合试验以评估竞争不同抗体与表达CD19的细胞的结合。在一个试验中,在不同浓度的未偶联竞争者FMC63 IgG或对照IgG的存在或不存在的条件下,评估0.5nM (~ EC<sub>50</sub>) FITC标记的SJ25C1与Ramos细胞的结合;结合通过流式细胞术评估(平均荧光强度)。结果示于图5A,指示在该研究中,FMC63 IgG与SJ25C1 IgG1竞争结合至CD19,表明SJ25C1和FMC63结合至CD19的重叠表位例如,共有表位。在另一试验中,表达CD19的细胞与带标记的FMC63 IgG在存在不同浓度的(或不存在的)克隆18scFv、FMC63 scFv(阳性对照)和对照cFv(阴性对照)的情况下孵育。结果见图5B。如其所示,克隆18scFv和FMC63 scFv(但非阴性对照cFv)均显示与FMC63 IgG竞争结合至表达CD19的细胞,具有相当的IC<sub>50</sub>值(分别为24.0nM和19.8nM),指示克隆18所结合的CD19表位与由通过FMC63识别的表位重叠,并且与所述参比抗体竞争结合至相似程度。

[0656] 在另一试验中,10nM(EC<sub>50</sub>) AleXa647标记的FMC63 scFv与表达CD19的K562细胞在存在或不存在的不同浓度的克隆18scFv、克隆18BscFv、克隆17 scFv、克隆76scFv、参比抗体(FMC63 scFv)和阴性对照抗体(R12)的情况下孵育。结果显示在图6中。克隆和参比抗体,但非阴性对照抗体,显示与FMC63 scFv竞争结合至CD19,并且通过所述参比抗体与其自身的



竞争与对于测试的克隆观察到的竞争相似。

[0657] 总之,在多项研究中,对不同克隆观察到以下EC<sub>50</sub> (结合亲和性)和IC<sub>50</sub> (竞争)值,列于表5。如其所示,鉴定的人CD19抗体包括具有相似的对CD19的结合亲和性程度和相似的竞争性抑制鼠抗CD19参比抗体的程度(相较于所述参比抗体本身),例如,大约相同,少于或不多于1.5倍、2倍或3倍更大的EC<sub>50</sub>和/或IC<sub>50</sub>。

表5: 来自示例性的结合研究的数据汇总		
克隆/抗体	EC <sub>50</sub> ( 表达 CD19 的 细胞)(nM)	IC <sub>50</sub> (nM) (与FMC63的竞争结合)
克隆18	4.1 ± .57 (n=7)	20.1 ± 9.8 (n=3)
[0658] 克隆18B	5.4 ± 1.3 (n=5)	28 (n=1)
克隆76	8.04 ± 0.3	18.2 ± 1.5 (n=2)
克隆17	11.7 ± 1.9	35.4 ± 3.9 (n=2)
克隆5	15.8 (n=1)	50 (n=1)
FMC63	6.1 ± 1.2 (n=6)	20.5 ± 6.7 (n=3)

[0659] 1D. 尺寸排阻色谱

[0660] 克隆18B的生物物理性质通过尺寸排阻色谱评估。HiLoad 16/600Superdex200柱经校准并注射Bio-Rad凝胶过滤标准150-190kDa蛋白质,并以1.5mL/分钟收集分离组分以产生参比。将770ug的克隆18B scFv注入柱并在相同条件下收集分离组分。结果示于图7(图7A=标准;图7B=克隆18B)。克隆18BscFv的结果显示单峰,观察到最小大尺寸聚集体。

[0661] 实施例2:其它抗CD19抗体的制备和评估

[0662] 产生并评估了与鼠抗CD19参比抗体具有相似结合性质(和/或竞争与其结合)的其它示例性的抗CD19抗体(scFv片段)。

[0663] 2A. 文库选择、抗体制备

[0664] 其它示例性的抗CD19 scFv通过两个不同选择方案产生,其各自涉及对无细胞系统中展示的编码dsDNA的人抗体文库进行的一系列选择步骤。

[0665] 在一个方案中(称作“克隆18CDR3移接”),将存在于实施例1中鉴定的克隆中的重链CDR3(CDR-H3)序列(SEQ ID NO:20,DQGYHYDSEAEHAFDI)移接进入人原初V<sub>H</sub>文库框架。所得的CDR3移接的V<sub>H</sub>文库的成员经与原初人V<sub>L</sub>文库成员改组以产生V<sub>H</sub>-(G4S)3-V<sub>L</sub>形式的scFv文库。所得的scFv文库经历三轮选择,以富集特异性地结合至表达CD19的HEK293细胞且不结合至亲代细胞的成员,然后对第1轮(R1)进行表面剥离法,对第2轮(R2)进行免疫沉淀和解离。

[0666] 在另一个方式中(称作“FMC63导向的选择”),产生两个初始scFv文库,分别通过(a)改组原初V<sub>H</sub>文库的成员与FMC63的V<sub>L</sub>区,和(b)改组原初V<sub>L</sub>文库的成员与FMC63的V<sub>H</sub>区。在两轮和三轮选择之后,在亲代FMC63 V<sub>H</sub>或V<sub>L</sub>的引导下,分别就CD19-结合而言富集来自(a)和(b)的文库成员。结合分子通过表面剥离法从CD19/HEK293细胞(R1)洗脱,FMC63从CD19/K562细胞(R2和R3)洗脱。第三scFv文库通过如下方式产生:改组来自(a)中的选择的V<sub>H</sub>序列和获自(b)中选择的V<sub>L</sub>序列。对CD19/HEK293细胞另进行三轮选择,采用表面剥离法(R1),然后CD19/K562细胞用FMC63洗脱(R2),且CD19/HEK293细胞用免疫沉淀(R3)。选择的scFv克隆

与表达CD19的细胞的结合通过流式细胞术采用细菌产生的上清液证实。选择的scFv池克隆进入大肠杆菌表达载体并以带HIS标签的scFv形式产生。个体克隆与CD19-转染的HEK293细胞的结合用抗HIS-Alexa647偶联物通过流式细胞术检测。克隆18或克隆18B用作阳性对照,伴随不同阴性对照。结果示于图8A-C(MFI=平均荧光强度)。

[0667] 示于图8D的结果证实示例性的二十三(23)个命中的CD19特异性结合(图8A-C中以星号标记,代表通过CDR3移接法鉴定的4个匹配和通过FMC63导向的选择鉴定的19个匹配)。相较于对照(拟转染的)K562细胞,体外翻译的带FLAG标签的scFv与表达CD19的K562细胞的结合如同实施例1描述那样通过流式细胞术评估。如其所示,这些克隆特异性地结合至表达CD19的细胞。

[0668] 通过实施例1和2的选择方案产生的这些和其它CD19特异性scFv克隆经进一步评估。测序显示若干CD19特异性结合抗体(scFv),其具有各种不同轻链序列并共有同样存在于实施例1所述的scFv中的CDR-H3序列(SEQ ID NO:20)。对应于其它CD19-结合scFv的不同序列的序列标识物列于表6,包括scFv,  $V_H$ 、 $V_L$ 和CDR(Kabat)氨基酸序列(和编码scFv核苷酸序列)。所述CD19特异性scFv克隆包括具有若干不同轻链可变和CDR序列的那些,其中一些具有SEQ ID NO:11所示的CDR-H1、CDR-H2和/或CDR-H3、具有SEQ ID NO:18、19和/或20的序列的CDR-H1、CDR-H2和/或CDR-H3,和/或具有18、72和20的序列的CDR-H1、CDR-H2和/或CDR-H3。列于表6的各克隆源自人 $V_H3$ 框架(指示具有所述克隆来源的 $\kappa$ 和 $\lambda$ 基因V区段)。

[0669]

表6: 示例性的克隆的序列(SEQ ID NO.)						
克隆编号	重链可变(V <sub>H</sub> )区 (氨基酸)	轻链可变(V <sub>L</sub> )区 (氨基酸)	ScFv序列 (氨基酸, 核苷酸)	CDR-H (1、2、3) (Kabat) (氨基酸)	CDR-L (1、2、3) (Kabat) (氨基酸)	轻链框架源自
488	63	71	45、44	18、72、 20	80、100、 109	V <sub>κ</sub> 3
1304	62	68	47、46	18、72、 20	77、97、 106	V <sub>κ</sub> 1
285	11	65	49、48	18、19、 20	74、94、 103	V <sub>λ</sub> 2
192B	60	64	51、50	18、19、 20	73、93、 101	V <sub>λ</sub> 2
328	61	66	53、52	18、19、 20	75、95、 104	V <sub>λ</sub> 2
227	63	70	55、54	18、72、 20	79、99、 108	V <sub>κ</sub> 1
1300	62	69	57、56	18、72、 20	78、98、 107	V <sub>κ</sub> 1
1	12	67	59、58	18、19、 20	76、96、 105	V <sub>λ</sub> 1
192	12	91	87、86	18、19、 20	73、93、 102	V <sub>λ</sub> 2
241	63	90	89、88	18、72、 20	77、97、 106	V <sub>κ</sub> 1

[0670] 2B. 纯化和评估

[0671] 上述克隆, 包括列于表6和/或描述于实施例1的克隆, 通过单步纯化法纯化, 并通过SDS凝胶评估纯化。结果示于图9 (泳道1=MW标志物; 泳道2、9和10=克隆5 (1530、2880、1130μg/mL); 泳道3=克隆18B (660μg/mL); 泳道4、11、12和13=克隆17 (300、1060、180、1440 μg/mL); 泳道5=克隆192B (1580μg/mL); 泳道6和14=克隆76 (1340、3220μg/mL); 泳道7=克隆835 (470μg/mL); 泳道8=克隆488 (340μg/mL))。解链温度 ( $T_m$ ) 测量如实施例1所述进行, 揭示与实施例1中的参比抗体和克隆观察到的那些相似的 $T_m$ 值 (表7)。

[0672]

表7: T <sub>m</sub> 评估	
克隆	T <sub>m</sub> (°C)
5	58
18B	57
17	52
192B	64
76	51/59
488	63
285	68
227	60

[0673] 不同克隆经滴定和它们对不同表达CD19的细胞的结合亲和性 (EC<sub>50</sub>) 通过流式细胞术评估。FMC63 scFv参比抗体用作阳性对照。来自五个分开的试验, 评估不同CD19特异性scFv克隆的结合亲和性的结果示于图10A-10E。如其所示, 选择导致具有不同结合亲和性和一定范围的可饱和结合活性的若干CD19特异性scFv克隆。

[0674] 如实施例1所述竞争结合试验以评估不同鉴定的抗体 (scFv克隆) 与鼠参比抗体竞争结合至表达CD19的细胞的能力。在一个示例中, 表达CD19的细胞用10nM带标记的FMC63 scFv在不同浓度的指示的具有不同轻链序列并共有重链的CDR3scFv克隆 (或FMC63 scFv (阳性对照)) 的存在下孵育。示于图11的结果显示这些克隆与FMC63 scFv竞争结合至表达CD19的细胞, 有不同IC<sub>50</sub>值。进行相似研究以评估描述于实施例1和2中的筛选方案中鉴定的其它克隆的性质。不同CD19-结合抗体 (scFv) 显示的EC<sub>50</sub> (结合亲和性) 和IC<sub>50</sub> (竞争) 值列于表8。克隆79、835、184、505、506和305的CDR-L3序列分别示于SEQ ID NO: 116、117、118、119、120、121。

表8: 不同结合和竞争试验的结果

克隆/抗体	EC <sub>50</sub> (表达CD19的细胞)(nM)	IC <sub>50</sub> (nM) (与FMC63竞争结合)
克隆18B	4.9 ± 0.8 (n=7)	32.9 ± 3.2 (n=3)
克隆17	11.6 ± 1.1 (n=5)	35.4 ± 3.9 (n=2)
克隆76	7.0 ± 1.4 (n=5)	18.2 ± 1.5 (n=2)
克隆5	15.8 (n=1)	50 (n=1)
克隆192B	7.7 ± 1.4 (n=3)	15.7 ± 2.5 (n=3)
克隆488	2.9 ± 0.4 (n=4)	6.1 ± 0.7 (n=6)
克隆79	65.7 (n=1)	102.5 (n=1)
克隆835	71.8 (n=1)	>200
克隆184	113.9 (n=1)	N/A
克隆505	138.9 (n=1)	N/A
克隆506	179.3 (n=1)	N/A
克隆1	213.8 (n=1)	N/A
克隆241	5.2 ± 0.1 (n=2)	14.6 ± 2.7 (n=3)
1300	1.3 ± 0.1 (n=3)	3.9 ± 0.5 (n=2)
227	31.8 ± 5.3 (n=3)	56.1 ± 3.9 (n=2)
285	2.5 ± 0.5 (n=4)	9.4 ± 1.4 (n=3)
305	32.2 ± 6.9 (n=2)	> 500 (n=2)
328	10.9 ± 4.6 (n=4)	32.9 (n=1)
FMC63	6.0 ± 0.8 (n=9)	15.0 ± 2.8 (n=10)

[0675]

[0676] 鉴定的人CD19抗体(scFv片段)中,许多显示相较于鼠抗CD19参比抗体,FMC63的,相似或更大程度的对于CD19的结合亲和性(例如,相似或更低EC<sub>50</sub>值)。许多还显示,相较于所述参比抗体的与其自身竞争的能力,以相似或更大程度地与鼠抗CD19参比抗体竞争(例如,相似或更低IC<sub>50</sub>值)与CD19结合。

[0677] 例如,观察到克隆的EC<sub>50</sub>值小于,约等于或不多于约或不多于1.5倍大于,2倍大于或3倍大于所述参比抗体。同样地,若干鉴定的抗CD19抗体(scFv)显示,与带标记的FMC63 scFv竞争结合至表达CD19的细胞,其IC<sub>50</sub>值低于FMC63scFv显示的IC<sub>50</sub>值,约等于FMC63显示的IC<sub>50</sub>值或不多于1.5倍或2倍或3倍更高(例如,竞争的程度比被参比抗体竞争的程度低不多于1.5倍或2倍或3倍)。这些指示,这些研究鉴定了一组抗体,其结合至与被FMC63特异性结合的表位重叠的CD19表位。

[0678] 实施例3:针对CD19的嵌合抗原受体(CAR)的制备和表达所述CAR的细胞的工程改造

[0679] 产生不同示例性的嵌合抗原受体(CAR),其具有实施例1所述的包含人抗CD19 scFv的抗原结合区。具体而言,产生的核酸分子编码带有源自如下克隆的scFv(VH-VL形式)

且具有指示的序列标识物所示的氨基酸序列的CAR:克隆18 (SEQ ID NO:2),克隆18B (SEQ ID NO:4),克隆17 (SEQ ID NO:6),克隆76 (SEQ ID NO:8)和克隆5 (SEQ ID NO:10)。此外,对于各克隆,还产生编码具有相同VH和VL序列,但以反向取向 (VL-VH) 存在的CAR的构建体。包含源自FMC63的鼠抗CD19 scFv (以VH-VL取向) 的CAR用作对照。各CAR还包含Ig源性的间隔物;人CD28源性的跨膜结构域;人4-1BB源性的胞内信号转导结构域;和人CD3 $\zeta$ 源性的信号转导结构域,截短的EGFR (EGFRt) 序列,用作转导标志物,其通过自切割T2A序列从CAR序列分离。

[0680] 产生表达不同CAR的原代人T细胞群。编码各CAR的核酸分子分别克隆进入慢病毒载体,其用于转导从获自健康供者的人PBMC样品分离的群中的CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞 (由其如Yam等所述。(2002)Mol. Ther. 5:479;W02015/095895)。

[0681] 转导和扩增后,用抗EGFR抗体染色,以通过流式细胞术确认EGFRt转导标志物在CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞表面上的表达。图12A提供不同CAR在CD8<sup>+</sup>细胞中的表达的代表性结果;相似结果见于CD4<sup>+</sup>细胞。CAR蛋白质表达通过western印迹采用抗CD247 (CD3 $\zeta$ ) 抗体 (其在各例中检测为大致50kD处的条带,代表CAR,和大致18kDa处的条带,代表所述细胞中存在的内源性CD3 $\zeta$ 链) 证实 (图12B)。结果显示各不同含人scFv的CAR构建体 (包括VH-VL和VL-VH取向) 和对照 (鼠,FMC63源性) CAR构建体在原代T细胞群中的相当的转导程度和CAR蛋白质表达。未经历转导的细胞中未检测到EGFRt表达。western印迹结果证实,源自克隆76、以VH-VL取向的CAR以不同糖基化形式存在。

[0682] 如图12A所示,T细胞群经成功富集,对于转导的细胞 (处于或接近100%EGFRt<sup>+</sup>,通过流式细胞术证实),通过用抗EGFR抗体染色,在流式细胞仪上分选,并且在来自CD19<sup>+</sup>B-淋巴细胞系 (B-LCL) 的经辐照的 (8000拉德) 细胞的存在下刺激,由其如Yam等。(2002)Mol. Ther. 5:479;W02015/095895所述。

[0683] 实施例4:评估经工程改造以体外表达抗CD19嵌合抗原受体 (CAR) 的T细胞的效应功能

[0684] 评估表达不同CAR包含人抗CD19 scFv的,如实施例3所述产生的、经遗传工程改造的人T细胞 (CD8<sup>+</sup>或CD4<sup>+</sup>) 在与表达CD19的细胞共培养之后的不同响应。

[0685] A. 溶细胞活性

[0686] 表达CD19的靶细胞与表达不同CAR的CD8<sup>+</sup>T细胞孵育,并分开与仅用EGFRt转导的细胞 (阴性对照) 孵育。孵育后,监测靶细胞裂解。具体而言,测试CD19<sup>+</sup>-转导的K562细胞 (K562/CD19)、Raji (CD19<sup>+</sup>B细胞淋巴瘤系) 细胞,和非转导的K562对照细胞 (阴性对照) (图13A) 和原代人慢性淋巴细胞性白血病细胞 (CLL;图13B) 的裂解。

[0687] 靶细胞 (K562/CD19 Raji非转导的K562对照细胞或CLL) 用<sup>51</sup>Cr标记过夜。标记的细胞经清洗并以三个重复与效应T细胞 (CAR-表达型和阴性对照CD8<sup>+</sup>细胞) 以效应:靶标 (E:T) 比为30:1孵育。为检测自发裂解,靶细胞与等体积的培养基但不与效应细胞孵育,并在靶细胞和去污剂孵育以完全裂解靶细胞之后测定最大裂解。4小时孵育后,上清液收获用于 $\gamma$ -计数。实验条件的具体裂解百分数计算为:[(实验释放-自发释放)/(最大释放-自发释放)]X100。

[0688] 结果示于图13A和13B。如图13A所示,表达含不同人抗CD19 scFv的CAR的经工程改造的CD8<sup>+</sup>T细胞显示了针对CD19<sup>+</sup>细胞的抗原特异性溶细胞活性,其程度与表达包含鼠抗

CD19 (FMC63) scFv的CAR的细胞相当。针对不表达CD19的对照K562细胞未显示该细胞毒性活性。对于表达具有VH-VL取向 (HL) 的人scFv的CAR的细胞的溶细胞活性的程度显示相当于或大于表达含鼠scFv的CAR的细胞的程度。表达具有以VH-VL (HL) 取向的给定的人scFv的CAR的细胞显示的溶细胞活性的程度一般大于表达具有以反向VL-VH取向 (LH) 的对应scFv的CAR的细胞。如图13B所示,结果还显示通过表达包含不同人抗CD19 scFv的CAR (VH-VL取向) 的经工程改造的CD8<sup>+</sup>细胞,还观察到针对原代人CLL细胞的抗原特异性溶细胞活性。

#### [0689] B. 细胞因子释放

[0690] 在CAR-表达型细胞于抗原-表达型细胞和对照靶细胞孵育后评估细胞因子释放。转导的CD8<sup>+</sup>和CD4<sup>+</sup>T细胞以三个重复与靶细胞 (K562、K562/CD19、Raji) 以2:1的效应:靶标 (E:T) 比共培养。类似地检测转导的CD8<sup>+</sup>细胞与原代人慢性淋巴细胞性白血病细胞 (CLL) 共培养后的细胞因子分泌。共培养细胞孵育约24小时,然后收集上清液用于检测IFN- $\gamma$  (CD8<sup>+</sup>细胞) 或IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 或IL-2 (CD4<sup>+</sup>细胞),采用多重细胞因子免疫分析(LumineX®)。

[0691] CD8<sup>+</sup>细胞的结果示于图14A和14B。表达包含不同人抗CD19 scFv的CAR的经工程改造的CD8<sup>+</sup>T细胞显示在与CD19<sup>+</sup>细胞孵育后以抗原特异性方式分泌IFN- $\gamma$ ,其程度与表达包含鼠抗CD19 (FMC63) scFv的CAR的细胞显示的相当。在孵育不表达CD19的对照K562细胞之后未见细胞因子分泌。对于具有以VH-VL取向的测试的人抗CD19 scFv的CAR的细胞观察到的细胞因子分泌水平是相当的,并且在一些情况中,大于表达包含鼠抗CD19 scFv的CAR的细胞显示的结果。对于表达具有以VH-VL取向的给定的人scFv的CAR的细胞观察到的IFN $\gamma$ 分泌程度一般大于对于表达具有以反向 (VL-VH) 取向的对应scFv的CAR的细胞观察到的结果。如图14B所示,表达包含不同人抗CD19 scFv (VH-VL取向) 的CAR的CD8<sup>+</sup>经工程改造的T细胞分泌的抗原特异性细胞因子分泌还在与CLL细胞共培养之后被观察到。

[0692] CD4<sup>+</sup>CAR-表达型T细胞的结果示于图15。表达包含不同人抗CD19 scFv的CAR (VH-VL取向) 的经工程改造的CD4<sup>+</sup>T细胞显示在与CD19<sup>+</sup>靶细胞孵育后以抗原特异性方式分泌细胞因子,其水平相当于且一般高于对表达包含鼠-scFv (FMC63) CAR的细胞观察到的结果。在CD19阴性对照细胞之后未见细胞因子分泌。

#### [0693] C. T细胞增殖

[0694] 通过流式细胞术评估不同CAR-表达型T细胞在与表达CD19的靶细胞孵育后的增殖。CD8<sup>+</sup>或CD4<sup>+</sup>CAR-表达型T细胞用0.2 $\mu$ M羧基荧光素琥珀酰亚胺基酯 (CFSE) 标记。细胞经清洗并以三个重复与靶细胞 (K562、K562/CD19或Raji) 在不含外源细胞因子的含血清培养基中孵育72小时。活的T细胞的分裂通过CFSE稀释指示,如通过流式细胞术所评估。

[0695] CD8<sup>+</sup>CAR-表达型T细胞和CD4<sup>+</sup>CAR-表达型T细胞的结果分别示于图16A和16B。如图16A所示,表达各测试的含人抗CD19 scFv的CAR构建体的CD8<sup>+</sup>T细胞在与表达CD19的K562/CD19或Raji靶细胞共培养之后增殖,但与K562对照细胞共培养一般无此结果。表达具有测试的人抗CD19 scFv的CAR的T细胞的增殖程度与表达包含鼠抗CD19 scFv的CAR的细胞所见结果相当。表达具有以VH-VL取向的给定的人scFv的CAR的细胞的增殖程度一般显示大于表达具有以反向 (VL-VH) 取向的对应scFv的CAR的细胞。

[0696] 对于CD4<sup>+</sup>细胞还观察到CAR-表达型T细胞的抗原特异性增殖。如图16B所示,表达包含各测试的人抗CD19 scFv的CAR构建体的CD4<sup>+</sup>T细胞在与表达CD19的K562/CD19或Raji靶细胞共培养之后增殖。表达具有测试的人抗CD19scFv的CAR的CD4<sup>+</sup>T细胞的增殖程度与表

达包含鼠抗CD19 scFv的CAR的细胞所见结果相当。

**[0697] 实施例5: CAR-表达型T细胞在体内过继转移之后的抗肿瘤作用**

**[0698]** 通过在将细胞过继转移至患者源性的异种移植物(PDX)肿瘤模型动物对象之后监测肿瘤,评估表达CAR的经工程改造的原代人T细胞的抗肿瘤作用。对六至八周龄的雌性NOD.Cg.Prkdc<sup>scid</sup>IL2rg<sup>tm1Wjl</sup>/SzJ(NSG)小鼠静脉内(i.v.)注射用萤火虫荧光素酶(Raji-ffluc)转染的 $0.5 \times 10^6$  Raji淋巴瘤肿瘤细胞。允许肿瘤移植存在6天并采用生物发光成像验证。在第7天,小鼠接收次优剂量(在该研究中, $1 \times 10^6$ 表达CAR的T细胞)的不同的经工程改造的原代人T细胞(仅CD8<sup>+</sup>细胞(图17A)或以1:1比例合并的CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>细胞(图17B))的单一静脉内(i.v.)注射,描述于实施例3。作为对照,对小鼠给予仅用EGFRt转导的细胞(阴性对照)。采用次优剂量以更好地观察抗肿瘤作用的差异。

**[0699]** 过继转移的表达CAR的细胞的抗肿瘤活性在第6、9、13、20、27和34天通过生物发光成像来监测。对于生物发光成像,小鼠接受重悬于PBS中的荧光素底物(CaliperLife Sciences公司,马萨诸塞州霍普金顿)(15 $\mu$ g/g体重)腹膜内(i.p.)注射。小鼠经麻醉并基本按W02015/095895描述成像。测定平均发光(radiance)(p/s/cm<sup>2</sup>/sr)。

**[0700]** 如图17A和17B所示,在过继转移对照T细胞(仅CD8<sup>+</sup>细胞(图17A)或CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>细胞的组合(图17B),仅用EGFRt转导)之后,对照小鼠中的肿瘤在该研究时程中持续生长。相较于对照小鼠,已给予表达各个不同的测试的包含抗CD19 scFv的CAR的经工程改造的T细胞的过继转移的小鼠显示生物发光信号较低,指示肿瘤尺寸随时间的减小和/或经处理动物中肿瘤生长的程度较低。一般而言,如图17A所示,仅表达测试的人抗CD19 scFvCAR的CD8<sup>+</sup>T细胞的过继转移导致相当的肿瘤尺寸的减小,其程度至少等于表达包含小鼠抗CD19scFv的CAR的细胞的过继转移(FMC63)。如图17B所示,表达测试的人抗CD19CAR的CD4<sup>+</sup>T细胞和CD8<sup>+</sup>细胞的组合的过继转移显示随时间减小肿瘤尺寸。此类人抗CD19表达型CAR的细胞的过继转移之后观察到肿瘤尺寸(如通过生物发光信号指示)相对低于在表达小鼠-scFv源性的CAR的细胞的过继转移之后检测到的结果。

**[0701] 实施例6:通过抗CD19抗体识别的人CD19中的区域的鉴定**

**[0702]** 评估包含描述于实施例1中的某抗CD19抗体(scFv)或鼠抗CD19(FMC63)scFv的CAR对于不同CD19分子的结合。K562细胞经工程改造以表达(a)人CD19(具有SEQ ID NO:92所示的氨基酸序列)、(b)猕猴(Macaca mulatta)(恒河猴(rhesus))CD19(具有SEQ ID NO:139所示的氨基酸序列;登录号F7F486)或(c)三种不同人/恒河猴嵌合CD19分子V1、V2和V3之一,其包含具有图18A所示序列的近膜区。除示于图18A的区域以外,各嵌合分子的剩余区域的序列与恒河猴CD19的对应区域相同。

**[0703]** 嵌合CD19 V1:称为V1的嵌合分子的示于图18A的74-氨基酸近膜区具有SEQ ID NO:140所示的氨基酸序列,其与具有SEQ ID NO:92所示序列的人CD19分子的对应区域(残基218-291)的序列相同。

**[0704]** 嵌合CD19 V2:称为V2的嵌合CD19分子的示于图18A的75-氨基酸近膜区具有SEQ ID NO:141所示的氨基酸序列。在该区域内,27-氨基酸近膜部分的序列与人CD19的对应部分(残基265-291)相同。所示区域的剩余部分序列与SEQ ID NO:139所示恒河猴CD19序列的对应部分相同。相较于对应的人序列的具有取代或插入的该剩余部分中的位置有下划线。

**[0705]** 嵌合CD19 V3:称为V3的嵌合CD19分子的示于图18A的74-氨基酸区域具有SEQ ID



N0:142所示的氨基酸序列。在该指示区域中,47-氨基酸部分序列与SEQ ID N0:92所示的人CD19序列的对应部分(残基218-264)相同。剩余27-氨基酸近膜部分序列与SEQ ID N0:139所示的恒河猴CD19序列的对应部分相同。相较于对应的人序列具有取代的该剩余27-氨基酸部分中的位置有下划线。

[0706] 表达包含不同人抗CD19 scFv的CAR或包含鼠抗CD19 scFv(FMC63)的CAR的原代人T细胞按实施例3描述产生,并与用编码所述不同CD19分子的核酸分子转染的不同K562靶细胞共培养,效应物与靶标(E:T)比为2:1。细胞孵育24小时,并且上清液经收集用于采用细胞因子免疫分析检测IFN- $\gamma$ ,作为包含抗CD19scFv的CAR与靶细胞表面上的相应CD19分子的功能结合的指标。结果示于图18B。

[0707] 各个测试的抗CD19 CAR在与表达人CD19分子的细胞共培养之后显示可检测水平的细胞因子(指示与其功能结合),但在与表达恒河猴CD19的细胞共培养之后未显示该结果。对于各个测试的抗CD19 CAR,在与表达称为V1(整个近膜74-氨基酸区,人源性)和V3(27-氨基酸近膜部分,恒河猴源性)的恒河猴/人嵌合分子的细胞共孵育之后,观察到可检测水平的分泌,但对于表达称为V2(27-氨基酸近膜部分,人源性)的恒河猴/人嵌合分子的细胞而言并非如此。

[0708] 这些结果指示,人CD19分子的至少部分的32-氨基酸部分(SEQ ID N0:143 (HPKGP KSLLSLELKDDRPARDMWVMTGLLLP)(对应于SEQ ID N0:92的残基218-249)对于各个测试的抗CD19 CAR与CD19的功能结合而言是重要的。具体而言,然而,各V1和V3包含该32-氨基酸序列(以粗体示于图18A),V2的对应部分包含示于SEQ ID N0:144的33-残基氨基酸序列(RPK GPKSSLLSLELKDDRPDRDMWVVDTGLLLT),它们序列与恒河猴CD19分子的对应部分相同,但相较于对应人序列,包含五个氨基酸取代(在SEQ ID N0:92的人CD19序列的位置218、236、242、243和249处)和一个插入(在SEQ ID N0:92的人CD19序列的位置223和224之间),各在图18A中有下划线。因此,结果表明,在人序列中的这些位置(SEQ ID N0:92的位置218、236、242、243、249和/或223-224)的至少一处存在的氨基酸对于各测试的CAR特异性地结合至人CD19而言是重要的。因此,这些结果支持了如下结论:相较于包含小鼠scFv的CAR(FMC63),各测试的包含人scFv的CAR结合至相似和/或重叠表位。

[0709] 本发明并不意在将范围限制于具体公开的实施方式,这些实施方式仅为提供,例如,对于本发明不同方面的说明。根据本文的描述和教导,对于所述组合物和方法的各种修改形式是显而易见的。这些变化形式可以不偏离本发明实际范围和精神的方式被实施,并且落在本发明范围内。

[0710] 序列表

[0711]

表9		
SE Q ID NO.	序列	描述
1	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGG GTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGT CTCAGGTATTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTA TGCGGACTCTGTAAAGGGCCGATTCACCATCTCCAG AGACAACGCCAAGAAGTCCCTGTTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTG TGCGAGAGATCAGGGGTATCATTACTATGATAGTGC CGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAGT GGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGG AGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCCCT GACTCAGCCTCGCTCAGTGTCCGGCTTTCCTGGACA ATCAGTCACCATCTCCTGCACTGGAACCACCAGTGA TGATGTCTCCTGGTACCAACAACACCCAGGCAAAGC CCCCCAACTTATGCTTTTATGATGTCAGTAAGCGGCC CTCCGGGGTCCCTCATCGCTTCTCTGGCTCCAGGTCT GGCAGAGCGGCCTCCCTGATCATCTCTGGGCTCCAG ACTGAGGATGAGGCTGATTATTTCTGCTGCTCATAT GCAGGCCGATACAAGTCTGTCCTTTTCGGCGGAGGG ACCAAGCTGACCGTCCTA	克隆18 scFv (nt)
2	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR	克隆18 scFv (aa)

[0712]

	NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT VVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALT QPRSVSGFPGQSVTISCTGTTSDDVSWYQQHPGKAPQ LMLYDVSKRPSGVPHRFSGSRSGRAASLIISGLQTEDE ADYFCCSYAGRYNSVLFGGGTKLTVL	
3	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGG GTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGT CTCAGGTATTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTA TGCGGACTCTGTAAAGGGCCGATTCACCATCTCCAG AGACAACGCCAAGA AACTCCCTGTTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTG TGCGAGAGATCAGGGGTATCATTACTATGATAGTGC CGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAGT GGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTT CAGGCGG AGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCCCT GACTCAGCCTCGCTCAGTGTCCGGCTTTCCTGGACA ATCAGTCACCATCTCCTGCACTGGAACCACCAGTGA TGATGTCTCCTGGTACCAACAACACCCAGGCAAAGC CCCCCAACTTATGCTTTATGATGT CAGTAAGCGGCC CTCCGGGGTCCCTCATCGCTTCTCTGGCTCCAGGTCT GGCAGAGCGGCCTCCCTGATCATCTCTGGGCTCCAG ACTGAGGATGAGGCTGATTATTTCTGCAGCTCATAT GCAGGCCGATACA AACTCTGTCTTTTCGGCGGAGGG ACCAAGCTGACCGTCCTA	克 隆 18B scFv (nt)
4	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT VVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALT	克 隆 18B scFv (aa)

[0713]

	QPRSVSGFPGQSVTISCTGTTSDDVSWYQQHPGKAPQ LMLYDVSKRPSGVPHRFSGSRSGRAASLIISGLQTEDE ADYFCSSYAGRYNSVLFGGGTKLTVL	
5	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGG GTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGT CTCAGGTATTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTA TGCGGACTCTGTAAAGGGCCGATTCACCATCTCCAG AGACAACGCCAAGAAGTCCCTGTTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTG TGCGAGAGATCAGGGGTATCATTACTATGATAGTGC CGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGG AGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCCCT GACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACA GTCGATCACCATCTTCTGCACTGGAACCAGCAGTGA CGTTGGTGGTTATAACTATGTCTCCTGGTACCAGCA GCTCCCAGGAACGGCCCCCAAAGTCCCTCATCTATAG TAATAATCAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATT CTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGC CATCAGTGGGCTCCGGTCCGAGGATGAGGCTGATTA TACTGTGCAGCATGGGATGACAGCCTGAGTGTGGT ATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTC	克隆17 scFv (nt)
6	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGTMTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSQSALT QPASVSGSPGQSITIFCTGTSSDVGGYNYVSWYQQLPG TAPKLLIYSNNQRPSGVPPDRFSGSKSGTSASLAISGLRS	克隆17 scFv (aa)

[0714]

	EDEADYYCAAWDDSLSVVFGGGTKLTVL	
7	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGG GTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGT CTCAGGTATTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTA TGCGGACTCTGTAAAGGGCCGATTACCATCTCCAG AGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTG TGCGAGAGATCAGGGGTATCATTACTATGATAGTGC CGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAGT GGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGG AGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGTGCT GACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGCGGCCCCAGGACA GGAGGTCACCATCTCCTGCTCTGGAAGCAGCTCCAA CATTGGGAATAATTATGTATCCTGGTACCAGCAACT CCCAGGAACAGCCCCCAAACCTCCTCATTTATGACAA TGATAAGCGACCCTCAGGGATTCTGACCGATTCTC TGGCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCACCCTGGGCAT CACCGGACTCCAGACTGGGGACGAGGCCGATTATTA CTGCGGAACATGGGATGGCAATCTGAGTGCTGTATT CGGCGGAGGGACCAAGGTGACCGTCCTA	克隆76 scFv (nt)
8	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT VTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSQSVLT QPPSVSAAPGQEVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLP GTAPKLLIYDNDKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGL QTGDEADYYCGTWDGNLSAVFGGGTKVTVL	克隆76 scFv (aa)
9	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT	克隆5 scFv

[0715]

	ACAGCCTGGCAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGG GTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGT CTCAGGTATTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTA TGCGGACTCTGTAAAGGGCCGATTCACCATCTCCAG AGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTG TGCGAGAGATCAGGGGTATCATTACTATGATAGTGC CGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGG AGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGTCCTATGAGCT GACTCAGGACCCTGCTGTGTCTGTGGCCTTGGGACA GACAGTCAGGATCACATGCCAAGGAGACAGCCTCA GAAGCTATTATGCAAGCTGGTACCAGCAGAAGCCA GGACAGGCCCCTGTACTTGTTCATCTATGATAAAAC AACCGGCCCTCAGGGATCCCAGACCGATTCTCTGGC TCCAGCTCAGGAAACACAGCTTCCTTGACCATCACT GGGGCTCAGGCGGAAGATGAGGCTGACTACTACTG CAACTCCCGGGACAGCAGTGGTAACAATTGGGTGTT CGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA	(nt)
10	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYELT QDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQ APVLVIYDKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAE DEADYYCNSRDSSGNNWVFGGGTKLTVL	克隆 5 scFv (aa)
11	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE	VH (克隆 18, 18B逆转, 76,

[0716]

	HAFDIWGQGTVVTVSS	285) (aa)
12	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGTMTVTVSS	VH (克隆17, 5, 1, 192) (aa)
13	QSALTQPRSVSGFPGQSVTISCTGTTSDDVSWYQQHPG KAPQLMLYDVSKRPSGVPHRFSGSRSGRAASLIISGLQ TEDEADYFCCSYAGRYNSVLFGGGTKLTVL	VL 克隆 18 (aa)
14	QSALTQPRSVSGFPGQSVTISCTGTTSDDVSWYQQHPG KAPQLMLYDVSKRPSGVPHRFSGSRSGRAASLIISGLQ TEDEADYFCSSYAGRYNSVLFGGGTKLTVL	VL, 克隆 18B (aa)
15	QSALTQPASVSGSPGQSITIFCTGTSSDVGGYNYVSWY QQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAI SGLRSEDEADYYCAAWDDSLSVVFGGGTKLTVL	VL, 克隆 17 (aa)
16	QSVLTQPPSVSAAPGQEVITISCSGSSSNIGNNYVSWYQ QLPGTAPKLLIYDNDKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGIT GLQTGDEADYYCGTWDGNLSAVFGGGTKVTVL	VL, 克隆 76 (aa)
17	SYELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQ KPGQAPVLVIYDKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITG AQAEDADYYCNSRDSSGNNWVFGGGTKLTVL	VL, 克隆 5 (aa)
18	DYAMH	CDR-H1 (aa)
19	GISWNSGRIGYADSVKG	CDR-H2 (aa)
20	DQGYHYYDSAEHAFDI	CDR-H3 (aa)
21	TGTTSDDVS	克隆 18, 18B CDR-L1 (aa)
22	DVSKRPS	克隆 18, 18B CDR-L2 (aa)
23	CSYAGRYNSVL	克隆 18 CDR-L3 (aa)

[0717]

24	SSYAGRYNSVL	克 隆 18B CDR-L3 (aa)
25	TGTSSDVGGYNYVS	克 隆 17 CDR-L1 (aa)
26	SNNQRPS	克 隆 17 CDR-L2 (aa)
27	AAWDDSLSVV	克 隆 17 CDR-L3 (aa)
28	SGSSSNIGNNYVS	克 隆 76 CDR-L1 (aa)
29	DNDKRPS	克 隆 76 CDR-L2 (aa)
30	GTWDGNLSAV	克 隆 76 CDR-L3 (aa)
31	QGDSLRSYYAS	克 隆 5 CDR-L1 (aa)
32	DKNNRPS	克 隆 5 CDR-L2 (aa)
33	NSRDSSGNNWV	克 隆 5 CDR-L3 (aa)
34	GGGGSGGGGSGGGGS	接头(aa)
35	GISWNSGRIGY	CDR-H2
36	X <sub>1</sub> GX <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> X <sub>8</sub> X <sub>9</sub> X <sub>10</sub> X <sub>11</sub> X <sub>12</sub> X <sub>13</sub> S X <sub>1</sub> = T, S,或Q; X <sub>3</sub> = T, S,或D; X <sub>4</sub> = T或S; X <sub>5</sub> = 空或S; X <sub>6</sub> = 空, D,或N; X <sub>7</sub> = 空或V; X <sub>8</sub> = 空, G,或I; X <sub>9</sub> = 空, G,或R; X <sub>10</sub> = S, Y,或N; X <sub>11</sub> = D或N; X <sub>12</sub> =D或Y; X <sub>13</sub> = V或A	CDR-L1 共 有
37	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> RPS X <sub>1</sub> = D或S; X <sub>2</sub> = V, N,或K; X <sub>3</sub> = S, N,或D; X <sub>4</sub> = K, Q,或N	CDR-L2 共 有
38	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> X <sub>8</sub> X <sub>9</sub> X <sub>10</sub> X <sub>11</sub> X <sub>12</sub> X <sub>1</sub> = C, S, A, G,或N; X <sub>2</sub> = S, A,或T; X <sub>3</sub> = Y, W,或R; X <sub>4</sub> =	CDR-L3



[0718]

	A或D; X <sub>5</sub> = G, D,或S; X <sub>6</sub> = R, S,或N; X <sub>7</sub> = Y, L,或G; X <sub>8</sub> = N或S; X <sub>9</sub> = S或空; X <sub>10</sub> = V, A,或N; X <sub>11</sub> = W或空; X <sub>12</sub> = L或V.	
39	EVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIR QPPRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLTIKDNSKS QVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWG QGTSVTVSS	FMC63 VH
40	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQ KPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISN LEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEIT	FMC63 VL
41	EVKLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNW VKQRPQGQLEWIGQIYPGDGDTNYNGKFKGQATLTA DKSSSTAYMQLSGLTSEDSAVYFCARKTISSVVDYFD YWGQGTTVTVSS	SJ25C1 VH
42	DIELTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVAWYQ QKPGQSPKPLIYSATYRNSGVDPDRFTGSGSGTDFTLTIT NVQSKDLADYFCQQYNRYPYTSGGGTKLEI	SJ25C1 VL
43	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	接头
44	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGG GTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGT CTCAGGTATTAGTTGGAATAGTGGTAGCATAGGCTA TGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAG AGACAACGCCAAGAAGTCCCTGTATCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACCGCCGTGTATTACTG TGCGAGAGATCAGGGGTATCATTACTATGATAGTGC CGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAGT GGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGG AGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGGAAATTGTGTT	克 隆 488 scFv (nt)

[0719]

	GACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGG GGAGACCGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAG TATTAACCACTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACC TGGCCAGGCTCCCCGGCTCCTCATCTATGATGCCTC CAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAAGTGG CAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAG CAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTG TCAACAGAGTTACAGTCACCCTCGAATGTACACTTT TGGCCAGGGGACCAAACCTGGATATCAAA	
45	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISR NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSA EHAFDIWGQGT VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLT QSPATLSLSPGETATLSCRASQSINHYLAWYQQKPGQ APRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSEPED FATYYCQQSYSHPRMYTFGQGTKLDIK	克 隆 488 scFv (aa)
46	CAGATGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGG GTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGT CTCAGGTATTAGTTGGAATAGTGGTAGCATAGGCTA TGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAG AGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTG TGCGAGAGATCAGGGGTATCATTACTATGATAGTGC CGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAGT GGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAAGCGG AGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGGCCATCCGGAT GACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCGTCACTTGCCAGGCGAGTCAGG	克 隆 1304 scFv (nt)

[0720]

	ACATTAGCAACTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAAC CAGGAAGAGCCCCTAAGCTCCTGATCTACGATGCAT CCAATGTGAAAGCAGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTG GGGGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCA GCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACT GTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCAGGCGTACACTT TTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA	
47	QMQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISR NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSA EHAFDIWGQGT VVTVSSGGGGSGGGSGGGGSAIRM TQSPSSLSASVGDRVTVTCQASQDISNYLNWYQQKPG RAPKLLIYDASN VKAGVPSRFSGGGSGTDFTLTISLQ P EDFATYYCQQSYSTPQAYTFGQGTKLEIK	克 隆 1304 scFv (aa)
48	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGG GTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGT CTCAGGTATTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTA TGCGGACTCTGTAAAGGGCCGATTACCATCTCCAG AGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTG TGCGAGAGATCAGGGGTATCATTACTATGATAGTGC CGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAGT GGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGG AGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCCCT GACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACA GTCGATCACCATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGA CCTTGGTGGTTACAATTATGTCTCCTGGTATCAACAC CGCCCAGGCAAAGCCCCCAAACATCATTTTATGAT	克 隆 285 scFv (nt)

[0721]

	GTCACTGTTCGGCCCTCAGGGGTTTCTGATCGCTTCT CTGGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACCA TCTCTGGGCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATT ACTGCGGCTCATATACAAGCAGTAGCACTCTTCTTT GGGTGTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTCACCGTCCTA	
49	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT VVT VSSGGGSGGGGSGGGGSQSALT QPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPG KAPKLIHYDVTVRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQA EDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL	克 隆 285 scFv (aa)
50	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGG GTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGT CTCAGGTATTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTA TGCGGACTCTGTAAAGGGCCGATTCACCATCTCCAG AGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTG TGCGAGAGATCAGGGGTATCATTACTATGATAGTGC CGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGG AGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGCAGGCTGTGCT GACTCAGCCTCGCTCAGTGTCCGGGTCTCCTGGACA GTCAGTCACCATCTCCTGCACTGGAATCAGCAGTGG TGTTGATAGTCATAGGTATGTCTCCTGGTACCAACA CCACCCAGGCAAAGCCCCAACTCATGATTTATGA TTTCAGTAAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGATCGTTT CTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTGAC	克 隆 192B scFv (nt)

[0722]

	CATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTA CTATTGCAGCTCATATGCAGCCATCTCCCCTAATTAT GTCTTCGGAAGTGGGACCAAGCTCACCGTCCTA	
51	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQAVLT QPRSVSGSPGQSVTISCTGISSGVDSHRYVSWYQHHPG KAPKLMIYDFSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTISGLQ AEDEADYYCSSYAAISPNYVFGTGTKLTVL	克 隆 192B scFv (aa)
52	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGG GTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGT CTCAGGTATTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTA TGCGGACTCTGTAAAGGGCCGATTCACCATCTCCAG AGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTG TGCGAGAGATCAGGGGTATCATTACTATGATAGTGC CGAACATGCTTTTGTATCTGGGGCCAAGGGACAGT GGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGG AGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCCCT GACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACA TTCGATCACCATCTCCTGCACTGGAACCAGAAGTGA CGTCGGTGGTTTTGATTATGTCTCCTGGTACCAGCAT AACCAGGCAAAGCCCCCAAACCTCATAATTTATGAT GTCATAAGCGGCCCTCAGGGGTCTCTAATCGCTTC TCTGGCGCCAAGTCTGGCATCACGGCCTCCCTGACC ATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTAT TACTGCACCTCATATAGACCCGGTCCAACATTTGTC	克 隆 328 scFv (nt)

[0723]

	TTCGGCACCGGGACCAAGCTCACCGTCCTA	
53	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT VVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALT QPASVSGSPGHSITISCTGTRSDVGGFDYVSWYQHNP G KAPKLIHYDVTKRPSGVSNRFSGAKSGITASLTISGLQA EDEADYYCTSYRPGPTFVFGTGTKLTVL	克 隆 328 scFv (aa)
54	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGG GTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGT CTCAGGTATTAGTTGGAATAGTGGTAGCATAGGCTA TGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAG AGACAACGCCAAGAAGTCCCTGTATCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTG TGCGAGAGATCAGGGGTATCATTACTATGATAGTGC CGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAGT GGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGG AGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGGACATCCAGTT GACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGA GTATTAGTAGGTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAAC CAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTACGATGCAT CCAATTTGGAAACAGGGGTCCCATCCAGGTTCAGTG GAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTTTCACCATCA GCAGCCTGCAGCCTGAAGATATTGCAACATATTACT GTCAACAGTATGATAATCTCCCTCTCACTTTCGGCG GAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA	克 隆 227 scFv (nt)
55	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW	克 隆 227

[0724]

	VRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSA EHAFDIWGQGT VVT VSSGGGSGGGGSGGGGSDIQLT QSPSTLSASVGDRVITICRASQSISRWLAWYQQKPGK APKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISLQPE DIATYYCQQYDNLPLTFGGGTKVEIK	scFv (aa)
56	CAGATGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGG GTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGT CTCAGGTATTAGTTGGAATAGTGGTAGCATAGGCTA TGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAG AGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTG TGCGAGAGATCAGGGGTATCATTACTATGATAGTGC CGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAGT GGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGG AGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGGCCATCCGGAT GACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTGGG AGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGA GCATTAGTCACTACTTGGCCTGGTATCAACAGAAAC CAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTTTGATGCCT CCCGTTTGGCAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTG GCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCA GCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCGACATACTACT GTCAACAGAGTTACGGTGCCCCTATGTTCACTTTTCG GCCCTGGGACCAGAGTGGATCTCAAA	克 隆 1300 scFv (nt)
57	QMQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSA	克 隆 1300 scFv (aa)

[0725]

	EHAFDIWGQGTVVTVSSGGGSGGGGSGGGGSAIRM TQSPSTLSASVGDRVITICRASQSISHYLAWYQQKPKG APKLLIFDASRLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQSYGAPMFTFGPGTRVDLK	
58	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGG GTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGT CTCAGGTATTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTA TGCGGACTCTGTAAAGGGCCGATTCACCATCTCCAG AGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTG TGCGAGAGATCAGGGGTATCATTACTATGATAGTGC CGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACAGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGG AGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCCCT GACTCAGCCCGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACA GTCGATCACCATCTCCTGCACTGGGACCAGCAGTGA CGTTGGTGCTTATAACTTTGTCTCCTGGTACCAGCAG CTCCCAGGAACAGCCCCCAAATTCCTCATTTATGAC AATAATAAACGACCCCCAGGGATTCCTGACCGATTC TCTGGCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCACCCTGGGC ATCACCGGACTCCAGACTGGGGACGAGGCCGATTAT TACTGCGCAACATGGGATAGCGGCCTGAGTGCTGTG GTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA	克 隆 1 scFv (nt)
59	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGTMTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSQSALT QPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGAYNFVSWYQQLP	克 隆 1 scFv (aa)



[0726]

	TAPKFLIYDNNKRPPGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQT GDEADYYCATWDSGLSAVVFGGGTKLTVL	
60	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGTMTVTVSS	VH 克隆192B (aa)
61	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGTMTVTVSS	VH 克隆328 (aa)
62	QMQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISR NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSA EHAFDIWGQGTMTVTVSS	VH 克隆1304 克隆1300 (aa)
63	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISR NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSA EHAFDIWGQGTMTVTVSS	VH 克隆 227, 488, 241 (aa)
64	QAVLTQPRSVSGSPGQSVTISCTGISSGVDSHRYVSWY QHHPGKAPKLMYDFSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLT ISGLQAEDEADYYCSSYAAISPNYVFGTGTKLTVL	VL 克隆192B (aa)
65	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWY QHRPGKAPKLIYDVTVRPSGVSDRFSGSKSGNTASLT SGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL	VL 克隆285 (aa)
66	QSALTQPASVSGSPGHSITISCTGTRSDVGGFDYVSWY QHNPAGKAPKLIYDVTKRPSGVSNRFSGAKSGITASLT SGLQAEDEADYYCTSYRPGPTFVFGTGTKLTVL	VL 克隆328 (aa)
67	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGAYNFVSWY QQLPGTAPKFLIYDNNKRPPGIPDRFSGSKSGTSATLGI TGLQTGDEADYYCATWDSGLSAVVFGGGTKLTVL	VL 克隆1 (aa)

[0727]

68	AIRMTQSPSSLSASVGDRVTVTCQASQDISNYLNWYQ QKPGRAPKLLIYDASN VKAGVPSRFSGGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQSYSTPQAYTFGQGTKLEIK	VL 克隆1304 (aa)
69	AIRMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISHYLAWYQQ KPGKAPKLLIFDASRLASGVPSRFSGSGSGTDFLTISS LQPEDFATYYCQQSYGAPMFTFGPGTRVDLK	VL 克隆1300 (aa)
70	DIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQISRWLAWYQQ KPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFFTISS LQPEDIATYYCQQYDNLPLTFGGGTKVEIK	VL 克隆227 (aa)
71	EIVLTQSPATLSLSPGETATLSCRASQSINHYLAWYQQ KPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFLTISS LEPEDFATYYCQQSYSHPRMYTFGQGTKLDIK	VL 克隆488 (aa)
72	GISWNSGSIGYADSVKG	CDR-H2 克隆1304 克隆1300 克隆227 克隆488 克隆241 (aa)
73	TGISSGVDSHRYVS	CDR-L1 克隆192B 克隆192 (aa)
74	TGTSSDLGGYNYVS	CDR-L1 克隆285 (aa)
75	TGTRSDVGGFDYVS	CDR-L1 克隆328 (aa)
76	TGTSSDVGAYNFVS	CDR-L1

[0728]

		克隆1 (aa)
77	QASQDISNYLN	CDR-L1 克隆1304 克隆241 (aa)
78	RASQSISHYLA	CDR-L1 克隆1300 (aa)
79	RASQSISRWLA	CDR-L1 克隆227 (aa)
80	RASQSINHLYA	CDR-L1 克隆488 (aa)
81	GISWNSGRIG	CDR-H2
82	GISWNSGSIG	CDR-H2
83	$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ $X_1 = T, Q, \text{或} R; X_2 = G \text{或} A; X_3 = I, T, \text{或} S; X_4 = S, R, \text{或} Q;$ $X_5 = \text{空或} S; X_6 = \text{空}, D, \text{或} G; X_7 = \text{空}, V, \text{或} L; X_8 = D, G,$ $\text{或} S; X_9 = S, G, A, \text{或} I; X_{10} = H, Y, F, S, \text{或} N; X_{11} = R, N,$ $D, \text{或} H; X_{12} = Y, F, \text{或} W; X_{13} = V \text{或} L; X_{14} = S, N, \text{或} A$	CDR-L1 共有
84	$DX_2X_3X_4X_5X_6X_7$ $X_2 = F, V, N, \text{或} A; X_3 = S, T, \text{或} N; X_4 = K, V, N, \text{或} R; X_5$ $= R, V, \text{或} L; X_6 = P, K, A, \text{或} E; X_7 = S, P, A, \text{或} T$	CDR-L2 共有
85	$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ $X_1 = S, G, T, A, \text{或} Q; X_2 = S, T, \text{或} Q; X_3 = Y, W, \text{或} S; X_4 =$ $A, T, R, D, \text{或} Y; X_5 = A, S, P, G, \text{或} N; X_6 = I, S, G, T, L, A,$ $\text{或} H; X_7 = S, P, \text{或} L; X_8 = P, T, S, Q, M, R, \text{或} \text{空}; X_9 = N, L,$ $A, M, \text{或} \text{空}; X_{10} = L \text{或} \text{空}; X_{11} = Y, W, F, V, \text{或} L; X_{12} = V \text{或}$	CDR-L3 共有

[0729]

	T	
86	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGG GTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGT CTCAGGTATTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTA TGCGGACTCTGTAAAGGGCCGATTACCATCTCCAG AGACAACGCCAAGAAGTCCCTGTTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTG TGCGAGAGATCAGGGGTATCATTACTATGATAGTGC CGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGG AGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGCAGGCTGTGCT GACTCAGCCTCGCTCAGTGTCCGGGTCTCCTGGACA GTCAGTCACCATCTCCTGCACTGGAATCAGCAGTGG TGTTGATAGTCATAGGTATGTCTCCTGGTACCAACA CCACCCAGGCAAAGCCCCCAAACATGATTTATGA TTTCAGTAAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGATCGTTT CTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTGAC CATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTA CTATTGCTGCTCATATGCAGCCATCTCCCCTAATTAT GTCTTCGGAAGTGGGACCAAGCTGACCGTCCTA	克 隆 192 scFv (nt)
87	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGTMTVSSGGGSGGGGSGGGGSQAVLT QPRSVSGSPGQSVTISCTGISSGVDSHRYVSWYQHHPG KAPKLMIYDFSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTISGLQ AEDEADYYCCSYAAISPNYVFGTGTKLTVL	克 隆 192 scFv (aa)
88	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGT	克 隆 241

[0730]

	ACAGCCTGGCAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGG GTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGT CTCAGGTATTAGTTGGAATAGTGGTAGCATAGGCTA TGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAG AGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTG TGCGAGAGATCAGGGGTATCATTACTATGATAGTGC CGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAGT GGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGG AGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGGCCATCCGGAT GACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCGTCACTTGCCAGGCGAGTCAGG ACATTAGCAACTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAAC CAGGGAGAGCCCCTAAGCTCCTGATCTACGATGCAT CCAATGTGAAAGCAGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTG GGGGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCA GCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACT GTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCAGGCGTACACTT TTGGCCAGGGGACCAAGCTGGATATCAAA	scFv (nt)
89	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIQYADSVKGRFTISR NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSA EHAFDIWGQGTIVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSAIRM TQSPSSLSASVGDRVTVCQASQDISNYLNWYQQKPG RAPKLLIYDASNVKAGVPSRFSGGGSGTDFTLTISLQ EDFATYYCQQSYSTPQAYTFGQGTKLDIK	克 隆 241 scFv (aa)
90	AIRMTQSPSSLSASVGDRVTVCQASQDISNYLNWYQ QKPGRAPKLLIYDASNVKAGVPSRFSGGGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQSYSTPQAYTFGQGTKLDIK	VL 克隆241 (aa)

[0731]

91	QAVLTQPRSVSGSPGQSVTISCTGISSGVDSHRYVSWY QHHPGKAPKLMYDFSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLT ISGLQAEDEADYYCCSYAAISPNYVFGTGTKLTVL	VL 克隆192
92	MPPPRLLFFLLFLTPMEVRPEEPLVVKVEEGDNAVLQC LKGTS DGPTQQLTWSRESPLKPFLKLSLGLPGLGIHMR PLAIWLFIFNVSQQMGGFYLCQPGPPSEKAWQPGWTV NVEGSGELFRWNVSDLGGLGCGLKNRSSEGPSSPSGK LMSPKLYVWAKDRPEIWEGEPPCLPPRDSL NQSLSQD LTMAPGSTLWLSCGVPPDSVSRGPLSWTHVHPKGPKS LLSLELKDDRPARDMWVMETGLLLPRATAQDAGKYY CHRGNTMSFHLEITARPVLWHWLLRTGGWKVSAVT LAYLIFCLCSLVGILHLQRALVLRKRKRMTDPTRRFF KVTPPPGSGPQNQYGNVLSLPTPTSGLGRAQRWAAGL GGTAPSYGNPSSDVQADGALGSRSPPGVGPEEEEEGEG YEEP DSEEDSEFYENDSNLGQDQLSQD GSGYENPEDEP LGPEDEDSFSNAESYENEDEELTQPVARTMDFLSPHGS AWDPSREATSLGSQSYEDMRGILYAAPQLRSIRGQPGP NHEEDADSYENMDNPDGPDPAWGGGGGRMG TWSTR	CD19  登 录 号 P15391  智 人 (Homo Sapiens)
93	DFSKRPS	CDR-L2 克 隆 192B, 克隆192
94	DVTVRPS	CDR-L2 克隆285
95	DVTKRPS	CDR-L2 克隆328
96	DNNKRPP	CDR-L2 克隆1
97	DASNVKA	CDR-L2 克隆1304

[0732]

		克隆241
98	DASRLAS	CDR-L2 克隆1300
99	DASNLET	CDR-L2 克隆227
100	DASNRAT	CDR-L2 克隆488
101	SSYAAISPNYV	CDR-L3 克隆192B
102	CSYAAISPNYV	CDR-L3 克隆192
103	GSYTSSSTLLWV	CDR-L3 克隆285
104	TSYRPGPTFV	CDR-L3 克隆328
105	ATWDSGLSAVV	CDR-L3 克隆1
106	QQSYSTPQAYT	CDR-L3 克隆1304 克隆241
107	QQSYGAPMFT	CDR-L3 克隆1300
108	QQYDNLPLT	CDR-L3 克隆227
109	QQSYSHPRMYT	CDR-L3 克隆488
110	$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ $X_1 = T, Q, S, \text{或} R;$ $X_2 = G \text{或} A;$ $X_3 = I, T, D, \text{或} S;$	CDR-L1 共有

[0733]

	$X_4 = S, R, T, \text{或} Q;$ $X_5 = \text{空或} S;$ $X_6 = \text{空}, D, D, \text{或} G;$ $X_7 = \text{空}, V, \text{或} L;$ $X_8 = X \text{或空};$ $X_9 = X \text{或空};$ $X_{10} = X;$ $X_{11} = X;$ $X_{12} = Y, F, D, \text{或} W;$ $X_{13} = V, A, \text{或} L;$ $X_{14} = S, N, \text{或} A$	
111	$X_1 X_2 X_3 X_4 X_5 X_6 X_7 X_8 X_9 X_{10} X_{11} X_{12} X_{13} X_{14}$ $X_1 = T, Q, S, \text{或} R;$ $X_2 = G \text{或} A;$ $X_3 = I, T, D, \text{或} S;$ $X_4 = S, R, T, \text{或} Q;$ $X_5 = \text{空或} S;$ $X_6 = G, D, N, \text{或空};$ $X_7 = \text{空}, V, \text{或} L;$ $X_8 = D, G, I, L, S, \text{或空};$ $X_9 = S, G, A, I, R, \text{或空};$ $X_{10} = H, Y, F, S, \text{或} N;$ $X_{11} = R, N, D, H, \text{或} Y;$ $X_{12} = Y, F, D, \text{或} W;$ $X_{13} = V, A, \text{或} L;$ $X_{14} = S, N, \text{或} A$	CDR-L1 共有
112	$X_1 X_2 X_3 X_4 X_5 X_6 X_7$ $X_1 = D \text{或} S;$ $X_2 = F, V, N, K, \text{或} A;$ $X_3 = S, T, D, \text{或} N;$	CDR-L2 共有



[0734]

	$X_4 = K, V, N, Q, \text{或} R;$ $X_5 = R, V, \text{或} L;$ $X_6 = P, K, A, \text{或} E;$ $X_7 = S, P, A, \text{或} T$	
113	$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ $X_1 = C, S, A, G, \text{或} N;$ $X_2 = S, A, \text{或} T;$ $X_3 = Y, W, \text{或} R;$ $X_4 = A \text{或} D;$ $X_5 = G, D, \text{或} S;$ $X_6 = R, S, \text{或} N;$ $X_7 = Y, L, \text{或} G;$ $X_8 = N \text{或} S;$ $X_9 = S, N, \text{或空};$ $X_{10} = \text{空};$ $X_{11} = V, A, \text{或} W;$ $X_{12} = L \text{或} V.$	CDR-L3
114	$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ $X_1 = S, G, T, A, Q, C, \text{或} N;$ $X_2 = S, Q, A, \text{或} T;$ $X_3 = Y, S, W, R;$ $X_4 = A, D, R, T, \text{或} Y;$ $X_5 = A, S, P, G, N, \text{或} D;$ $X_6 = I, S, G, T, A, L, H, R, N;$ $X_7 = S, P, L, Y, G;$ $X_8 = P, T, S, Q, M, R, N \text{或空};$ $X_9 = S, L, N, A, M \text{或空};$ $X_{10} = L \text{或空};$ $X_{11} = Y, W, F, V, A, \text{或} L;$ $X_{12} = V, T, \text{或} L$	CDR-L3 共有

[0735]

115	$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ $X_1 = X$ ; $X_2 = S, Q, A, \text{或} T$ ; $X_3 = Y, S, W, R$ ; $X_4 = A, D, R, T, \text{或} Y$ ; $X_5 = X$ $X_6 = X$ $X_7 = S, P, L, Y, G$ ; $X_8 = X \text{或空}$ $X_9 = X \text{或空}$ $X_{10} = L \text{或空}$ ; $X_{11} = X$ $X_{12} = V, T, \text{或} L$	CDR-L3 共有
116	GTWDISLRFGV	CDR-L3 克隆79
117	CSYEAPHTHTYV	CDR-L3 克隆835
118	AAWDDSLNVV	CDR-L3 克隆184
119	CSYAGSYTFEV	CDR-L3 克隆505
120	CSFAGYYTYWL	CDR-L3 克隆506
121	SSXAGRKYV	CDR-L3 克隆305
122	GGGS	接头  人工
123	GGGGS	接头

[0736]

		人工
124	ESKYGPPCPPCP	间隔物(IgG4 铰链) (aa)  智 人 (homo sapien)
125	GAATCTAAGTACGGACCGCCCTGCCCCCCTTGCCCT	间隔物(IgG4 铰链) (nt)  智 人 (homo sapien)
126	ESKYGPPCPPCPGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSLGK	铰 链 -CH3 间隔物  智 人 (Homo sapien)
127	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVTCTVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP SSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSLGK	铰 链 -CH2-CH3 间隔物  智 人 (Homo sapien)
128	RWPESPKAQASSVPTAQQAEGSLAKATTAPATTRNT GRGGEEKKKEKEKEEQEERETKTPECPSHTQPLGVYL LTPAVQDLWLRDKATFTCFVVGSDLKDAHLTWEVAG KVPTGGVEEGLLERHSNGSQSQHSRLTLPRSL WNAGTSVTCTLNHPSLPPQRLMALREPAAQAPVKLSL NLLASSDPPEAASWLLCEVSGFSPNILLMWLEDQREV NTSGFAPARPPPQPGSTTFWAWSVLRVPAPPSPQPATY	IgD-铰链-Fc  智 人 (Homo sapien)

[0737]

	TCVVSHEDSRTLLNASRSLEVSYVTDH	
129	FWVLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 (登录号 P10747 的氨基酸 153-179)  智人 (Homo sapien)
130	IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKP FWVLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 (登录号 P10747 的氨基酸 114-179)  智人 (Homo sapien) 智人 (Homo sapien)
131	RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFA AYRS	CD28 (P10747 的氨基酸 180-220)  智人 (Homo sapien)
132	RSKRSRGGHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFA AYRS	CD28 (LL-GG)  智人 (Homo sapien)
133	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEG	4-1BB

[0738]

	GCEL	(7Q07011.1 的 氨 基 酸 214-255)  智 人 (Homo sapien)
134	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLD KRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN ELQKDKMAEA YSEIGMKGER RRGKGHDGLY QGLSTATKDTYDALHMQALP PR	CD3ζ  智 人 (Homo sapien)
135	RVKFSRSAEPPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDK RGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN ELQKDKMAEA YSEIGMKGER RRGKGHDGLY QGLSTATKDTYDALHMQALP PR	CD3ζ  智 人 (Homo sapien)
136	RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLD KRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN ELQKDKMAEA YSEIGMKGER RRGKGHDGLY QGLSTATKDTYDALHMQALP PR	CD3ζ  智 人 (Homo sapien)
137	LEGGGEGRGSLLTCDGVEENPGPR	T2A  人 工
138	MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPRKVCNGIGIGEFKDSL NATNIKHFKNCTSSISGDLHILPVAFRGDSFTHTPPLDPQ ELDILKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAFENLEIRGR TKQHGGFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVIISGNKN LCYANTINWKKLFGTSGQKTKIISNRGENSCKATGQV CHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRNVSRGRECVDKCNLL EGEPREFVENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCI QCAHYIDGPHCVKTCPAGVMGENNTLVWKYADAGH VCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCP TNGPKIPSIATGMVG	tEGFR  人 工

[0739]

	ALLLLLVVALGIGLFM	
139	MPPPCLLFFLLFLTPMEVRPQEPLVVKVEEGDNAVLQ CLEGTSDGPTQQLVWCRDSPFEPFLNLSLGLPGMGIR MGPLGIWLLIFNVSNQTGGFYLCQPGLPSEKAWQPGW TVSVEGSGELFRWNVSDLGGLGCGLKNRSSEGPSSPS GKLNSSQLYVWAKDRPEMWEGEPVCGPPRDSL NQSL SQDLTMAPGSTLWLSCGVPPDSVSRGPLSWTHVRPKG PKSSLLSLELKDDRPDRDMWVVD TG LLLTRATAQDA GKYYCHRGNWTKSFYLEITARPALWHWLLRIGGWKV PAVTLTYLIFCLCSLVGILQLQRALVLRKRKRMTDPT RRFFKVT PPPGSGPQNQYGNVLSLPTPTSGLGRAQRW AAGLGGTAPSYGNPSSDVQVDGAVGSRSPPGAGPEEE EGEGYEEP DSEEGSEFYENDSNFGQDQLSQDGSYEN PEDEPLGPEDEDSFSNAESYENEDEELTQPVARTMDFL SPHGSAWDPSREATSLGSQSYEDMRGLLYAAPQLRTI RGQPGPNHEEDADSYENMDNPDGPDPAWGGGGRMG TWSAR	恒河猴 (Rhesus macaque) CD19  登 录 号 F7F486
140	HPKGPKSLLSLELKDDRPARDMWV METG LLLPRATA QDAGKYYCHRGNL TMSFHLEITARPVLWHWLLRTGG WK	V1 嵌合/恒 河猴人，对 应于人CD19 的 残 基 218-291
141	RPKGPKSLLSLELKDDRPDRDMWVVD TG LLLTRATA QDAGKYYCHRGNL TMSFHLEITARPVLWHWLLRTGG WK	V2 嵌合/恒 河猴人，对 应于人CD19 的 残 基 218-291
142	HPKGPKSLLSLELKDDRPARDMWV METG LLLPRATA QDAGKYYCHRGNWTKSFYLEITARPALWHWLLRIGG WK	V3 嵌合/恒 河猴人，对 应于人CD19

[0740]

		的 残 基 218-291
143	HPKGPKSLLSLELKDDRPARDMWVMTGLLLP	人工
144	RPKGPKSSLLSLELKDDRPDRDMWVVDTGLLLT	人工
145	DQGXHXYDSAEHAFXI	CDR-H3 克隆305
146	QASQDISNYLN	CDR-L1 克隆255
147	TGTGRDIGAYDYVS	CDR-L1 克隆305
148	TETSSDLGGYNYVS	CDR-L1 克隆327
149	TGASTDVGGYNYVS	CDR-L1 克隆505
150	TGASSDVGGYDHVS	CDR-L1 克隆506
151	SGSSSNIGSNTVN	CDR-L1 克隆184
152	TGPISGVGDYTSVS	CDR-L1 克隆835
153	DNNKRPS	CDR-L2 克隆272
154	GVNKRPS	CDR-L2 克隆305
155	DVNRPS	CDR-L2 克隆505
156	DNNKRPS	CDR-L2 克隆79
157	DVTQRPS	CDR-L2 克隆835

[0741]

158	GTWDSSLNRDWV	CDR-L3 克隆272
159	CSYAGRYNSVP	CDR-L3 克隆508
160	TSGVGVG	CDR-H1 克隆1265
161	LIYWDDDKRYSPSLKS	CDR-H2 克隆1265
162	IDYGSGSYSPTSYYYYMSV	CDR-H3 克隆1265
163	RASQGISSYLN	CDR-L1 克隆1265
164	AASNLS	CDR-L2 克隆1265
165	QQGDAFPLT	CDR-L3 克隆1265
166	QITLKESGPTLVKPTQTLTLCTFSGFSLSTSGVGVGWI RQPPGKALEWLALIWDDDKRYSPSLKSRLTITKDT KNQVVLMTNMDPVDATYCAHIDYGSGSYSPTS YYYYMSVWGKGTTVTVSS	VH 克隆1265
167	QVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISR NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSA EHAFDIWGQGTVVTVSS	VH 克隆213
168	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISR NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSA EHAFDIWGQGTVVTVSS	VH 克隆255
169	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR	VH 克隆272



[0742]

	NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT VVT VSS	
170	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT VVT VSS	VH 克隆283
171	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT VVT VSS	VH 克隆302
172	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSXXGRXXISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAXYYCAXDQGXHXYDSAE HAFXIWGQGT VVT VSS	VH 克隆305
173	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT VVT VSS	VH 克隆314
174	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT VVT VSS	VH 克隆379
175	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT VVT VSS	VH 克隆324
176	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAXNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT VVT VSS	VH 克隆327

[0743]

177	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT VVT VSS	VH 克隆336
178	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT VVT VSS	VH 克隆440
179	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT VVT VSS	VH 克隆448
180	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT MVT VSS	VH 克隆505
181	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT MVT VSS	VH 克隆506
182	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT VVT VSS	VH 克隆508
183	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT MVT VSS	VH 克隆184
184	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR	VH 克隆79

[0744]

	NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGTVTVTVSS	
185	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRLAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAKDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGTMTVTVSS	VH 克隆835
186	AIQLTQSPSFLSASVGDRVITTCRASQGISSYLNWYQQ RAGKAPELLIYAASNLSQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTITS VQPEDFATYFCQQGDAFPLTFGPGTKVTIR	VL 克隆1265
187	EIVLTQSPATLSLSPGETATLSCRASQSINHLYAWYQQ KPGQAPRLLIYDASNRAITGIPARFSGSGSGTDFTLTIS LEPEDFATYYCQQSYSHPRMYTFGQGTKLEIK	VL 克隆213
188	AIRMTQSPSSLSASVGDRVTVTCQASQDISNYLNWYQ QKPGRAPKLLIYDASNKAGVPSRFSGGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQSYSTPQAYTFGQGTKLDIK	VL 克隆255
189	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQ QLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSGSKSGTSATLGIT GLQTGDEADYYCGTWDSNLNRDWVFGGGTKLTVL	VL 克隆272
190	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWY QHRPGKAPKLLIYDVTVRPSGVSDRFSGSGSKSGNTASLTI SGLQAEDADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL	VL 克隆283
191	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWY QHRPGKAPKLLIYDVTVRPSGVSDRFSGSGSKSGNTASLTI SGLQAEDADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL	VL 克隆302
192	QSVLXXPXXASGSPGQSVTVSCTGTGRDIGAYDYVSW YQQHPGKAPKLLIYGVNKRPSGVDPDRFSGSGSKSDNTAS LTVSGLQVEDEADYYCSSXAGRKYVFGTGXKVTVL	VL 克隆305
193	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWY QHRPGKAPKLLIYDVTVRPSGVSDRFSGSGSKSGNTASLTI SGLQAEDADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL	VL 克隆314

[0745]

194	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWY QHRPGKAPKLIYDVTVRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTI SGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL	VL 克隆379
195	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWY QHRPGKAPKLIYDVTVRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTI SGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL	VL 克隆324
196	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTETSSDLGGYNYVSWY QHRPGKAPKLIYDVTVRPSGVXDRFSGSKSGNTASLT ISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL	VL 克隆327
197	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWY QHRPGKAPKLIYDVTVRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTI SGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL	VL 克隆336
198	QSALTQPASVSGSPGHSITISCTGTRSDVGGFDYVSWY QHNP GKAPKLIYDVTKRPSGVSNRFSGAKSGITASLTI SGLQAEDEADYYCTSYRPGPTFVFGTGKLDIK	VL 克隆440
199	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWY QHRPGKAPKLIYDVTVRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTI SGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLDIK	VL 克隆448
200	QSVLTQPRSLSGSPGQSVTIAC TGASTDVGGYNYVSW YQHPGKAPKLMIYDVNKRPSGVPDRFSGSKSGNTAF LTISGLQAEDEADYYCCSYAGSYTFEVFGGGTKLTVL	VL 克隆505
201	QLVLTQPPSVSGSPGQSVTFSC TGASSDVGGYDHSVW YQHHPGKGPKLLIYDVSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASL TISGLQAEDEADYYCCSFAGYYTYWLFGGGTVLTVL	VL 克隆506
202	QSALTQPRSVSGFPGQSVTISCTGTTSDDVSWYQQHPG KAPQLMLYDVSKRPSGVPHRFSGSRSGRAASLIISGLQ TEDEADYFCCSYAGRYNSVPFGGGTKLTVL	VL 克隆508
203	SYVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQ QFPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAIS GLQSEDEAEYYCAAWDDSLNVV	VL 克隆184

[0746]

204	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQ QLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGIT GLQTGDEGDYYCGTWDISLRFVFGGGTKVTVL	VL 克隆79
205	QSVLTQPRSVSGSPGQSVTISCTGPISGVGDYTSVSWY QHYPGKTPKLIYDVTQRPSGVPNRFSGSKSGNTASLTI SGLQADDEADYYCCSYEAPHTYVFGTGTKLTVL	VL 克隆835
206	QITLKESGPTLVKPTQTLTLCTFSGFSLSTSGVGVGWI RQPPGKALEWLALIYWDDDKRYSPSLKSRLTITKDT KNQVVLMTNMDPVDATYYCAHIDYSGSYSPRTS YYYYMSVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSAIQ LTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLNWYQQRAG KAPELLIYAASNLSQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTITSVQP EDFATYFCQQGDAFPLTFGPGTKVTIR	scFv 克隆1265
207	QVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGSGIGYADSVKGRFTISR NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSA EHAFDIWGQGT VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLT QSPATLSLSPGETATLSCRASQSINHYLAWYQQKPGQ APRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPED FATYYCQQSYSHPRMYTFGQGTKLEIK	scFv 克隆213
208	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGSGIGYADSVKGRFTISR NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSA EHAFDIWGQGT VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSAIRM TQSPSSLSASVGDRVTVCQASQDISNYLNWYQQKPG RAPKLLIYDASN VKAGVPSRFSGGGSGTDFTLTISLQ EDFATYYCQQSYSTPQAYTFGQGTKLDIK	scFv 克隆255
209	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE	scFv 克隆272

[0747]

	HAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSVLT QPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGT APKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTG DEADYYCGTWDSSLNRDWVFGGGTKLTVL	
210	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALT QPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPG KAPKLIHYDVTVRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQA EDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL	scFv 克隆283
211	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALT QPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPG KAPKLIHYDVTVRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQA EDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL	scFv 克隆302
212	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSXXGRXXISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAXYYCAXDQGXHXYDSAE HAFXIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSVLX XPXXASGSPGQSVTVSCTGTGRDIGAYDYVSWYQQHP GKAPKLLIYGVNKRPSGVDPDRFSGSKSDNTASLTVSGL QVEDEADYYCSSXAGRKYVFGTGXKVTVL	scFv 克隆305
213	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALT QPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPG	scFv 克隆314

[0748]

	KAPKLIHYDVTVRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQA EDEADYYCGSYTSSSTLLWVFEGGGTKLTVL	
214	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT VVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALT QPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPG KAPKLIHYDVTVRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQA EDEADYYCGSYTSSSTLLWVFEGGGTKLTVL	scFv 克隆379
215	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT VVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALT QPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPG KAPKLIHYDVTVRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQA EDEADYYCGSYTSSSTLLWVFEGGGTKLTVL	scFv 克隆324
216	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAXNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT VVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALT QPASVSGSPGQSITISCTETSSDLGGYNYVSWYQHRPG KAPKLIHYDVTVRPSGVXDRFSGSKSGNTASLTISGLQA EDEADYYCGSYTSSSTLLWVFEGGGTKLTVL	scFv 克隆327
217	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT VVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALT QPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPG KAPKLIHYDVTVRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQA EDEADYYCGSYTSSSTLLWVFEGGGTKLTVL	scFv 克隆336

[0749]

218	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT VVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALT QPASVSGSPGHSITISCTGTRSDVGGFDYVSWYQHNP KAPKLIHYDVT KRPSGVSNRFSGAKSGITASLTISGLQA EDEADYYCTSYRPGPTFVFGTGTKLDIK	scFv 克隆440
219	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT VVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALT QPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPG KAPKLIHYDVT VRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQA EDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLDIK	scFv 克隆448
220	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT MVT VSSQS VLT QPRSLSGSPGQSVTIAC TGASTDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVNKRPS GVPDRFSGSKSGNTAFLTISGLQAEDEADYYCCSYAGS YTFEVFGGGTKLTVL	scFv 克隆505
221	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT MVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSQ L VLT QPPSVSGSPGQSVTFSC TGASSDVGGYDHVSWYQHHP GKGPKLLIYDVSKRPSGV PDRFSGSKSGNTASLTISGL QAEDEADYYCCSFAGYYTYWLFGGGTVL	scFv 克隆506
222	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR	scFv 克隆508



[0750]

	NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALT QPRSVSGFPGQSVTISCTGTTSDDVSWYQQHPGKAPQ LMLYDVSKRPSGVPHRFSGSRSGRAASLIISGLQTEDE ADYFCCSYAGRYNSVPFGGGTKLTVL	
223	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYVLT QPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQFPGT APKLLIYSNNQRPSGV PDRFSGSKSGTSASLAISGLQSE DEAEYYCAAWDDSLNVV	scFv 克隆184
224	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGT VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSVLT QPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGT APKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTG DEGDYYCGTWDISLRFGVFGGGTKVTVL	scFv 克隆79
225	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHW VRLAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISR NAKNSLFLQMNSLRAKDTAVYYCARDQGYHYYDSAE HAFDIWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSVLT QPRSVSGSPGQSVTISCTGPISGVGDYTSVSWYQHYPG KTPKLIYDVTQRPSGV PNRFSGSKSGNTASLTISGLQA DDEADYYCCSYEAPHTYVFGTGKLTVL	scFv 克隆835
226	X1X2X3X4X5X6X7X8X9X10X11X12 X13X14 X1= T, Q, R,或S; X2= G, A,或E; X3= I, T, S, D, A,或P;	CDR-L1  共有

[0751]

	X4= S, R, Q, G,或I; X5= 空, S, R,或T; X6= G, D, N,或空; X7= V, L, 空,或I; X8= D, G, S, I, L,或空; X9= S, G, A, I, 空,或D; X10= H, Y, F, S,或N; X11= R, N, D, H, Y,或T; X12= Y, F, W, D, H, T,或S; X13= V, A,或L; X14= S, N,或A	
227	X1X2X3X4X5X6X7 X1= D, S,或G; X2= F, V, N, K,或A; X3= S, T, N,或D; X4= K, V, N, R,或Q; X5= R, V,或L; X6= P, K, A,或E; X7= S, P, A,或T	CDR-L2  共有
228	X1X2X3X4X5X6X7X8X9X10X11X12 X1= S, G, T, A, Q, C,或N; X2= S, Q, A,或T; X3= Y, S, W,或R; X4= A, D, R, T,或Y; X5= A, S, P, G, N,或D; X6= I, S, G, T, A, L, H, R,或N; X7= S, P, L, Y,或G; X8= P, T, S, Q, M, R,或N; X9= S, L, N, A, M, 空,或R; X10= L, 空,或D;	CDR-L3  共有

[0752]

	X11= Y, W, F, V, A,或L; X12= V, T, L,或P	
--	---	--

- [0001] 序列表
- [0002] <110> 朱诺治疗学股份有限公司(Juno Therapeutics, Inc.)
- [0003] CHEN, Yan
- [0004] S • 沙马 (SHAMAH, Steve)
- [0005] C • 帕兹玛尼 (PAZMANY, Csaba)
- [0006] J • 都塔-西蒙斯 (DUTTA-SIMMONS, Jui)
- [0007] <120> CD19特异性抗体和嵌合抗原受体
- [0008] <130> 735042000740
- [0009] <140> 未分配
- [0010] <141> 现以此方式
- [0011] <150> US 62/043,273
- [0012] <151> 2014-08-28
- [0013] <150> US 62/078,942
- [0014] <151> 2014-11-12
- [0015] <160> 228
- [0016] <170> FastSEQ,用于Windows 4.0版
- [0017] <210> 1
- [0018] <211> 738
- [0019] <212> DNA
- [0020] <213> 智人 (Homo sapiens)
- [0021] <220>
- [0022] <223> 克隆18 scFv (nt)
- [0023] <400> 1
- [0024] gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
- [0025] tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgcactgggt cggcaagct 120
- [0026] ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtggtag gataggctat 180
- [0027] gcggactctg taaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttt 240
- [0028] ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300
- [0029] gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacagtg 360
- [0030] gtcaccgtct cctcaggtgg aggcggttca ggcggaggtg gctctggcgg tggcggatcg 420
- [0031] cagtctgccc tgactcagcc tcgctcagtg tccggtttc ctggacaatc agtcaccatc 480
- [0032] tcctgcactg gaaccaccag tgatgatgtc tcctggtacc aacaacaccc aggcaaagcc 540
- [0033] cccaactta tgctttatga tgtcagtaag cgccctccg gggtcctca tcgcttctct 600
- [0034] ggctccaggt ctggcagagc ggctccctg atcatctctg ggctccagac tgaggatgag 660
- [0035] gctgattatt tctgctgctc atatgcaggc cgatacaact ctgtcctttt cggcggaggg 720
- [0036] accaagctga ccgtccta 738
- [0037] <210> 2
- [0038] <211> 246

[0039] <212> PRT  
 [0040] <213> 智人(Homo sapiens)  
 [0041] <220>  
 [0042] <223> 克隆18 scFv (aa)  
 [0043] <400> 2  
 [0044] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg  
 [0045] 1 5 10 15  
 [0046] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr  
 [0047] 20 25 30  
 [0048] Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 [0049] 35 40 45  
 [0050] Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val  
 [0051] 50 55 60  
 [0052] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe  
 [0053] 65 70 75 80  
 [0054] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 [0055] 85 90 95  
 [0056] Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe  
 [0057] 100 105 110  
 [0058] Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly  
 [0059] 115 120 125  
 [0060] Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu  
 [0061] 130 135 140  
 [0062] Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Phe Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile  
 [0063] 145 150 155 160  
 [0064] Ser Cys Thr Gly Thr Thr Ser Asp Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln His  
 [0065] 165 170 175  
 [0066] Pro Gly Lys Ala Pro Gln Leu Met Leu Tyr Asp Val Ser Lys Arg Pro  
 [0067] 180 185 190  
 [0068] Ser Gly Val Pro His Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Arg Ala Ala  
 [0069] 195 200 205  
 [0070] Ser Leu Ile Ile Ser Gly Leu Gln Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe  
 [0071] 210 215 220  
 [0072] Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Arg Tyr Asn Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly  
 [0073] 225 230 235 240  
 [0074] Thr Lys Leu Thr Val Leu  
 [0075] 245  
 [0076] <210> 3  
 [0077] <211> 738

[0078]	<212> DNA
[0079]	<213> 智人(Homo sapiens)
[0080]	<220>
[0081]	<223> 克隆18B scFv (nt)
[0082]	<400> 3
[0083]	gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
[0084]	tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcc a tgcactgggt ccggcaagct 120
[0085]	ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtggtag gataggctat 180
[0086]	gcggactctg taaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttt 240
[0087]	ctgcaaata gaacagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300
[0088]	gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacagtg 360
[0089]	gtcacctgtc cctcaggtgg aggcggttca ggccggaggtg gctctggcgg tggcggatcg 420
[0090]	cagtctgccc tgactcagcc tcgtcagtg tccggctttc ctggacaatc agtcaccatc 480
[0091]	tcctgcactg gaaccaccag tgatgatgtc tcctggtagc aacaacaccc aggcaaagcc 540
[0092]	ccccaactta tgctttatga tgctcagtaag cgccctccg gggctccctca tcgtttctct 600
[0093]	ggctccaggt ctggcagagc ggctccctg atcatctctg ggctccagac tgaggatgag 660
[0094]	gctgattatt tctgcagctc atatgcaggc cgatacaact ctgtcctttt cggcggaggg 720
[0095]	accaagctga ccgtccta 738
[0096]	<210> 4
[0097]	<211> 246
[0098]	<212> PRT
[0099]	<213> 智人(Homo sapiens)
[0100]	<220>
[0101]	<223> 克隆18B scFv (aa)
[0102]	<400> 4
[0103]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
[0104]	1 5 10 15
[0105]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
[0106]	20 25 30
[0107]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0108]	35 40 45
[0109]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
[0110]	50 55 60
[0111]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
[0112]	65 70 75 80
[0113]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0114]	85 90 95
[0115]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
[0116]	100 105 110

[0117]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly	
[0118]	115	120 125
[0119]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu	
[0120]	130	135 140
[0121]	Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Phe Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile	
[0122]	145	150 155 160
[0123]	Ser Cys Thr Gly Thr Thr Ser Asp Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln His	
[0124]	165	170 175
[0125]	Pro Gly Lys Ala Pro Gln Leu Met Leu Tyr Asp Val Ser Lys Arg Pro	
[0126]	180	185 190
[0127]	Ser Gly Val Pro His Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Arg Ala Ala	
[0128]	195	200 205
[0129]	Ser Leu Ile Ile Ser Gly Leu Gln Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe	
[0130]	210	215 220
[0131]	Cys Ser Ser Tyr Ala Gly Arg Tyr Asn Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly	
[0132]	225	230 235 240
[0133]	Thr Lys Leu Thr Val Leu	
[0134]	245	
[0135]	<210> 5	
[0136]	<211> 750	
[0137]	<212> DNA	
[0138]	<213> 智人(Homo sapiens)	
[0139]	<220>	
[0140]	<223> 克隆17 scFv (nt)	
[0141]	<400> 5	
[0142]	gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc	60
[0143]	tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgcactgggt cggcaagct	120
[0144]	ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtggtag gataggctat	180
[0145]	gcggactctg taaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttt	240
[0146]	ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag	300
[0147]	gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacaatg	360
[0148]	gtcacctct cctcaggtgg aggcggttca ggcggagggtg gctctggcgg tggcggatcg	420
[0149]	cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc	480
[0150]	ttctgcactg gaaccagcag tgacgttggg ggttataact atgtctcctg gtaccagcag	540
[0151]	ctcccaggaa cgcccccaa actcctcatc tatagtaata atcagcggcc ctcaggggtc	600
[0152]	cctgaccgat tctctggctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cagtgggtc	660
[0153]	cggctccgagg atgaggctga ttattactgt gcagcatggg atgacagcct gagtgtggta	720
[0154]	ttcggcggag ggaccaagct gaccgtcctc	750
[0155]	<210> 6	

[0156]	<211>	250
[0157]	<212>	PRT
[0158]	<213>	智人(Homo sapiens)
[0159]	<220>	
[0160]	<223>	克隆17 scFv (aa)
[0161]	<400>	6
[0162]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg	
[0163]	1 5 10 15	
[0164]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr	
[0165]	20 25 30	
[0166]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[0167]	35 40 45	
[0168]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val	
[0169]	50 55 60	
[0170]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe	
[0171]	65 70 75 80	
[0172]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[0173]	85 90 95	
[0174]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe	
[0175]	100 105 110	
[0176]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly	
[0177]	115 120 125	
[0178]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu	
[0179]	130 135 140	
[0180]	Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile	
[0181]	145 150 155 160	
[0182]	Phe Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser	
[0183]	165 170 175	
[0184]	Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser	
[0185]	180 185 190	
[0186]	Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys	
[0187]	195 200 205	
[0188]	Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg Ser Glu Asp	
[0189]	210 215 220	
[0190]	Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Ser Val Val	
[0191]	225 230 235 240	
[0192]	Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu	
[0193]	245 250	
[0194]	<210>	7

[0195]	<211> 747
[0196]	<212> DNA
[0197]	<213> 智人(Homo sapiens)
[0198]	<220>
[0199]	<223> 克隆76 scFv (nt)
[0200]	<400> 7
[0201]	gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
[0202]	tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgcactgggt ccggcaagct 120
[0203]	ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttaga atagtggtag gataggctat 180
[0204]	gcggaactctg taaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttt 240
[0205]	ctgcaaataga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300
[0206]	gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacagtg 360
[0207]	gtcaccgtct cctcaggtgg aggcggttca ggcggagggtg gctctggcgg tggcggatcg 420
[0208]	cagtctgtgc tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagga ggtcaccatc 480
[0209]	tcctgtcttg gaagcagctc caacattggg aataattatg tatcctggta ccagcaactc 540
[0210]	ccaggaacag cccccaaact cctcatttat gacaatgata agcgaccctc agggattcct 600
[0211]	gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag 660
[0212]	actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggatg gcaatctgag tgctgtattc 720
[0213]	ggcggaggga ccaaggtgac cgtccta 747
[0214]	<210> 8
[0215]	<211> 249
[0216]	<212> PRT
[0217]	<213> 智人(Homo sapiens)
[0218]	<220>
[0219]	<223> 克隆76 scFv (aa)
[0220]	<400> 8
[0221]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
[0222]	1 5 10 15
[0223]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
[0224]	20 25 30
[0225]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0226]	35 40 45
[0227]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
[0228]	50 55 60
[0229]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
[0230]	65 70 75 80
[0231]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0232]	85 90 95
[0233]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe



[0234]	100	105	110
[0235]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly		
[0236]	115	120	125
[0237]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu		
[0238]	130	135	140
[0239]	Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln Glu Val Thr Ile		
[0240]	145	150	155
[0241]	Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser Trp		
[0242]	165	170	175
[0243]	Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Asn		
[0244]	180	185	190
[0245]	Asp Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser		
[0246]	195	200	205
[0247]	Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln Thr Gly Asp Glu		
[0248]	210	215	220
[0249]	Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Gly Asn Leu Ser Ala Val Phe		
[0250]	225	230	235
[0251]	Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu		240
[0252]	245		
[0253]	<210> 9		
[0254]	<211> 744		
[0255]	<212> DNA		
[0256]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[0257]	<220>		
[0258]	<223> 克隆5 scFv (nt)		
[0259]	<400> 9		
[0260]	gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc	60	
[0261]	tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcc tgcactgggt ccggcaagct	120	
[0262]	ccaggggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtggtag gataggctat	180	
[0263]	gcggactctg taaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttt	240	
[0264]	ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag	300	
[0265]	gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacaatg	360	
[0266]	gtcacctctt cctcaggtgg aggcggttca ggcggagggt gctctggcgg tggcggatcg	420	
[0267]	tcctatgagc tgactcagga ccctgctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc	480	
[0268]	acatgccaaag gagacagcct cagaagctat tatgcaagct ggtaccagca gaagccagga	540	
[0269]	caggccccctg tacttgtcat ctatgataaa aacaaccggc cctcagggat ccagaccga	600	
[0270]	ttctctggct ccagctcagg aaacacagct tccttgacca tctactggggc tcaggcggaa	660	
[0271]	gatgaggctg actactactg caactcccgg gacagcagtg gtaacaattg ggtgttcggc	720	
[0272]	ggagggacca agctgaccgt ccta	744	

[0273]	<210>	10
[0274]	<211>	248
[0275]	<212>	PRT
[0276]	<213>	智人(Homo sapiens)
[0277]	<220>	
[0278]	<223>	克隆5 scFv (aa)
[0279]	<400>	10
[0280]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg	
[0281]	1	5 10 15
[0282]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr	
[0283]	20 25 30	
[0284]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[0285]	35 40 45	
[0286]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val	
[0287]	50 55 60	
[0288]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe	
[0289]	65 70 75 80	
[0290]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[0291]	85 90 95	
[0292]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe	
[0293]	100 105 110	
[0294]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly	
[0295]	115 120 125	
[0296]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu	
[0297]	130 135 140	
[0298]	Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile	
[0299]	145 150 155 160	
[0300]	Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln	
[0301]	165 170 175	
[0302]	Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr Asp Lys Asn Asn	
[0303]	180 185 190	
[0304]	Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn	
[0305]	195 200 205	
[0306]	Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp	
[0307]	210 215 220	
[0308]	Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn Asn Trp Val Phe Gly	
[0309]	225 230 235 240	
[0310]	Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu	
[0311]	245	

135

[0351]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
[0352]	50 55 60
[0353]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
[0354]	65 70 75 80
[0355]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0356]	85 90 95
[0357]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
[0358]	100 105 110
[0359]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
[0360]	115 120 125
[0361]	<210> 13
[0362]	<211> 106
[0363]	<212> PRT
[0364]	<213> 智人(Homo sapiens)
[0365]	<220>
[0366]	<223> VL 克隆18 (aa)
[0367]	<400> 13
[0368]	Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Phe Pro Gly Gln
[0369]	1 5 10 15
[0370]	Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Thr Ser Asp Asp Val Ser Trp
[0371]	20 25 30
[0372]	Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Gln Leu Met Leu Tyr Asp Val
[0373]	35 40 45
[0374]	Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro His Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser
[0375]	50 55 60
[0376]	Gly Arg Ala Ala Ser Leu Ile Ile Ser Gly Leu Gln Thr Glu Asp Glu
[0377]	65 70 75 80
[0378]	Ala Asp Tyr Phe Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Arg Tyr Asn Ser Val Leu
[0379]	85 90 95
[0380]	Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
[0381]	100 105
[0382]	<210> 14
[0383]	<211> 106
[0384]	<212> PRT
[0385]	<213> 智人(Homo sapiens)
[0386]	<220>
[0387]	<223> VL, 克隆18B
[0388]	(aa)
[0389]	<400> 14

[0390]	Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Phe Pro Gly Gln
[0391]	1 5 10 15
[0392]	Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Thr Ser Asp Asp Val Ser Trp
[0393]	20 25 30
[0394]	Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Gln Leu Met Leu Tyr Asp Val
[0395]	35 40 45
[0396]	Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro His Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser
[0397]	50 55 60
[0398]	Gly Arg Ala Ala Ser Leu Ile Ile Ser Gly Leu Gln Thr Glu Asp Glu
[0399]	65 70 75 80
[0400]	Ala Asp Tyr Phe Cys Ser Ser Tyr Ala Gly Arg Tyr Asn Ser Val Leu
[0401]	85 90 95
[0402]	Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
[0403]	100 105
[0404]	<210> 15
[0405]	<211> 110
[0406]	<212> PRT
[0407]	<213> 智人(Homo sapiens)
[0408]	<220>
[0409]	<223> VL, 克隆17 (aa)
[0410]	<400> 15
[0411]	Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
[0412]	1 5 10 15
[0413]	Ser Ile Thr Ile Phe Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
[0414]	20 25 30
[0415]	Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
[0416]	35 40 45
[0417]	Leu Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
[0418]	50 55 60
[0419]	Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu
[0420]	65 70 75 80
[0421]	Arg Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser
[0422]	85 90 95
[0423]	Leu Ser Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
[0424]	100 105 110
[0425]	<210> 16
[0426]	<211> 109
[0427]	<212> PRT
[0428]	<213> 智人(Homo sapiens)

[0429]	<220>
[0430]	<223> VL, 克隆76 (aa)
[0431]	<400> 16
[0432]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
[0433]	1 5 10 15
[0434]	Glu Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
[0435]	20 25 30
[0436]	Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[0437]	35 40 45
[0438]	Ile Tyr Asp Asn Asp Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
[0439]	50 55 60
[0440]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
[0441]	65 70 75 80
[0442]	Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Gly Asn Leu
[0443]	85 90 95
[0444]	Ser Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
[0445]	100 105
[0446]	<210> 17
[0447]	<211> 108
[0448]	<212> PRT
[0449]	<213> 智人(Homo sapiens)
[0450]	<220>
[0451]	<223> VL, 克隆5 (aa)
[0452]	<400> 17
[0453]	Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
[0454]	1 5 10 15
[0455]	Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala
[0456]	20 25 30
[0457]	Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
[0458]	35 40 45
[0459]	Asp Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
[0460]	50 55 60
[0461]	Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
[0462]	65 70 75 80
[0463]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn Asn
[0464]	85 90 95
[0465]	Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
[0466]	100 105
[0467]	<210> 18

[0468] <211> 5  
 [0469] <212> PRT  
 [0470] <213> 人工序列  
 [0471] <220>  
 [0472] <223> 合成  
 [0473] <220>  
 [0474] <223> CDR-H1 (aa)  
 [0475] <400> 18  
 [0476] Asp Tyr Ala Met His  
 [0477] 1 5  
 [0478] <210> 19  
 [0479] <211> 17  
 [0480] <212> PRT  
 [0481] <213> 人工序列  
 [0482] <220>  
 [0483] <223> 合成  
 [0484] <220>  
 [0485] <223> CDR-H2 (aa)  
 [0486] <400> 19  
 [0487] Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 [0488] 1 5 10 15  
 [0489] Gly  
 [0490] <210> 20  
 [0491] <211> 16  
 [0492] <212> PRT  
 [0493] <213> 人工序列  
 [0494] <220>  
 [0495] <223> 合成  
 [0496] <220>  
 [0497] <223> CDR-H3 (aa)  
 [0498] <400> 20  
 [0499] Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe Asp Ile  
 [0500] 1 5 10 15  
 [0501] <210> 21  
 [0502] <211> 9  
 [0503] <212> PRT  
 [0504] <213> 智人(Homo sapiens)  
 [0505] <220>  
 [0506] <223> 克隆18, 18B CDR-L1 (aa)

[0507] <400> 21  
[0508] Thr Gly Thr Thr Ser Asp Asp Val Ser  
[0509] 1 5  
[0510] <210> 22  
[0511] <211> 7  
[0512] <212> PRT  
[0513] <213> 智人(Homo sapiens)  
[0514] <220>  
[0515] <223> 克隆18, 18B CDR-L2 (aa)  
[0516] <400> 22  
[0517] Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser  
[0518] 1 5  
[0519] <210> 23  
[0520] <211> 11  
[0521] <212> PRT  
[0522] <213> 智人(Homo sapiens)  
[0523] <220>  
[0524] <223> 克隆18 CDR-L3 (aa)  
[0525] <400> 23  
[0526] Cys Ser Tyr Ala Gly Arg Tyr Asn Ser Val Leu  
[0527] 1 5 10  
[0528] <210> 24  
[0529] <211> 11  
[0530] <212> PRT  
[0531] <213> 智人(Homo sapiens)  
[0532] <220>  
[0533] <223> 克隆18B CDR-L3 (aa)  
[0534] <400> 24  
[0535] Ser Ser Tyr Ala Gly Arg Tyr Asn Ser Val Leu  
[0536] 1 5 10  
[0537] <210> 25  
[0538] <211> 14  
[0539] <212> PRT  
[0540] <213> 智人(Homo sapiens)  
[0541] <220>  
[0542] <223> 克隆17 CDR-L1 (aa)  
[0543] <400> 25  
[0544] Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser  
[0545] 1 5 10



[0546] <210> 26  
[0547] <211> 7  
[0548] <212> PRT  
[0549] <213> 智人(Homo sapiens)  
[0550] <220>  
[0551] <223> 克隆17 CDR-L2 (aa)  
[0552] <400> 26  
[0553] Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser  
[0554] 1 5  
[0555] <210> 27  
[0556] <211> 10  
[0557] <212> PRT  
[0558] <213> 智人(Homo sapiens)  
[0559] <220>  
[0560] <223> 克隆17 CDR-L3 (aa)  
[0561] <400> 27  
[0562] Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Ser Val Val  
[0563] 1 5 10  
[0564] <210> 28  
[0565] <211> 13  
[0566] <212> PRT  
[0567] <213> 智人(Homo sapiens)  
[0568] <220>  
[0569] <223> 克隆76 CDR-L1 (aa)  
[0570] <400> 28  
[0571] Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser  
[0572] 1 5 10  
[0573] <210> 29  
[0574] <211> 7  
[0575] <212> PRT  
[0576] <213> 智人(Homo sapiens)  
[0577] <220>  
[0578] <223> 克隆76 CDR-L2 (aa)  
[0579] <400> 29  
[0580] Asp Asn Asp Lys Arg Pro Ser  
[0581] 1 5  
[0582] <210> 30  
[0583] <211> 10  
[0584] <212> PRT

[0585] <213> 智人(Homo sapiens)  
[0586] <220>  
[0587] <223> 克隆76 CDR-L3 (aa)  
[0588] <400> 30  
[0589] Gly Thr Trp Asp Gly Asn Leu Ser Ala Val  
[0590] 1 5 10  
[0591] <210> 31  
[0592] <211> 11  
[0593] <212> PRT  
[0594] <213> 智人(Homo sapiens)  
[0595] <220>  
[0596] <223> 克隆5 CDR-L1 (aa)  
[0597] <400> 31  
[0598] Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala Ser  
[0599] 1 5 10  
[0600] <210> 32  
[0601] <211> 7  
[0602] <212> PRT  
[0603] <213> 智人(Homo sapiens)  
[0604] <220>  
[0605] <223> 克隆5 CDR-L2 (aa)  
[0606] <400> 32  
[0607] Asp Lys Asn Asn Arg Pro Ser  
[0608] 1 5  
[0609] <210> 33  
[0610] <211> 11  
[0611] <212> PRT  
[0612] <213> 智人(Homo sapiens)  
[0613] <220>  
[0614] <223> 克隆5 CDR-L3 (aa)  
[0615] <400> 33  
[0616] Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn Asn Trp Val  
[0617] 1 5 10  
[0618] <210> 34  
[0619] <211> 15  
[0620] <212> PRT  
[0621] <213> 人工序列  
[0622] <220>  
[0623] <223> 合成

[0624] <220>  
[0625] <223> 接头 (aa)  
[0626] <400> 34  
[0627] Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
[0628] 1 5 10 15  
[0629] <210> 35  
[0630] <211> 11  
[0631] <212> PRT  
[0632] <213> 人工序列  
[0633] <220>  
[0634] <223> 合成  
[0635] <220>  
[0636] <223> CDR-H2  
[0637] <400> 35  
[0638] Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr  
[0639] 1 5 10  
[0640] <210> 36  
[0641] <211> 14  
[0642] <212> PRT  
[0643] <213> 人工序列  
[0644] <220>  
[0645] <223> 合成  
[0646] <220>  
[0647] <223> CDR-L1共有  
[0648] <220>  
[0649] <221> 变体  
[0650] <222> 1  
[0651] <223> Xaa = Thr, Ser或Gln  
[0652] <220>  
[0653] <221> 变体  
[0654] <222> 3  
[0655] <223> Xaa = Thr, Ser或Asp  
[0656] <220>  
[0657] <221> 变体  
[0658] <222> 4  
[0659] <223> Xaa = Thr或Ser  
[0660] <220>  
[0661] <221> 变体  
[0662] <222> 5

[0663]	<223>	Xaa = 空或Ser
[0664]	<220>	
[0665]	<221>	变体
[0666]	<222>	6
[0667]	<223>	Xaa = 空, Asp或Asn
[0668]	<220>	
[0669]	<221>	变体
[0670]	<222>	7
[0671]	<223>	Xaa = 空或Val
[0672]	<220>	
[0673]	<221>	变体
[0674]	<222>	8
[0675]	<223>	Xaa = 空, Gly或Ile
[0676]	<220>	
[0677]	<221>	变体
[0678]	<222>	9
[0679]	<223>	Xaa = 空, Gly或Arg
[0680]	<220>	
[0681]	<221>	变体
[0682]	<222>	10
[0683]	<223>	Xaa = Ser, Tyr或Asn
[0684]	<220>	
[0685]	<221>	变体
[0686]	<222>	11
[0687]	<223>	Xaa = Asp或Asn
[0688]	<220>	
[0689]	<221>	变体
[0690]	<222>	12
[0691]	<223>	Xaa = Asp或Tyr
[0692]	<220>	
[0693]	<221>	变体
[0694]	<222>	13
[0695]	<223>	Xaa = Val或Ala
[0696]	<400>	36
[0697]	Xaa	Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ser
[0698]	1	5 10
[0699]	<210>	37
[0700]	<211>	7
[0701]	<212>	PRT

[0702]	<213>	人工序列
[0703]	<220>	
[0704]	<223>	合成
[0705]	<220>	
[0706]	<223>	CDR-L2共有
[0707]	<220>	
[0708]	<221>	变体
[0709]	<222>	1
[0710]	<223>	Xaa = Asp或Ser
[0711]	<220>	
[0712]	<221>	变体
[0713]	<222>	2
[0714]	<223>	Xaa = Val, Asn或Lys
[0715]	<220>	
[0716]	<221>	变体
[0717]	<222>	3
[0718]	<223>	Xaa = Ser, Asn或Asp
[0719]	<220>	
[0720]	<221>	变体
[0721]	<222>	4
[0722]	<223>	Xaa = Lys, Gln或Asn
[0723]	<400>	37
[0724]	Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Pro Ser	
[0725]	1	5
[0726]	<210>	38
[0727]	<211>	12
[0728]	<212>	PRT
[0729]	<213>	人工序列
[0730]	<220>	
[0731]	<223>	合成
[0732]	<220>	
[0733]	<223>	CDR-L3
[0734]	<220>	
[0735]	<221>	变体
[0736]	<222>	1
[0737]	<223>	Xaa = Cys, Ser, Ala, Gly或Asn
[0738]	<220>	
[0739]	<221>	变体
[0740]	<222>	2

[0741] <223> Xaa = Ser, Ala或Thr  
[0742] <220>  
[0743] <221> 变体  
[0744] <222> 3  
[0745] <223> Xaa = Tyr, Trp或Arg  
[0746] <220>  
[0747] <221> 变体  
[0748] <222> 4  
[0749] <223> Xaa = Ala或Asp  
[0750] <220>  
[0751] <221> 变体  
[0752] <222> 5  
[0753] <223> Xaa = Gly, Asp或Ser  
[0754] <220>  
[0755] <221> 变体  
[0756] <222> 6  
[0757] <223> Xaa = Arg, Ser或Asn  
[0758] <220>  
[0759] <221> 变体  
[0760] <222> 7  
[0761] <223> Xaa = Tyr, Leu或Gly  
[0762] <220>  
[0763] <221> 变体  
[0764] <222> 8  
[0765] <223> Xaa = Asn或Ser  
[0766] <220>  
[0767] <221> 变体  
[0768] <222> 9  
[0769] <223> Xaa = Ser或空  
[0770] <220>  
[0771] <221> 变体  
[0772] <222> 10  
[0773] <223> Xaa = Val, Ala或Asn  
[0774] <220>  
[0775] <221> 变体  
[0776] <222> 11  
[0777] <223> Xaa = Trp或空  
[0778] <220>  
[0779] <221> 变体

[0780]	<222> 12																	
[0781]	<223> Xaa = Leu或Val																	
[0782]	<400> 38																	
[0783]	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	
[0784]	1				5											10		
[0785]	<210> 39																	
[0786]	<211> 120																	
[0787]	<212> PRT																	
[0788]	<213> 小家鼠 (Mus musculus)																	
[0789]	<220>																	
[0790]	<223> FMC63 VH																	
[0791]	<400> 39																	
[0792]	Glu	Val	Lys	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Ala	Pro	Ser	Gln		
[0793]	1				5					10					15			
[0794]	Ser	Leu	Ser	Val	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly	Val	Ser	Leu	Pro	Asp	Tyr		
[0795]				20					25					30				
[0796]	Gly	Val	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Arg	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Leu		
[0797]			35					40					45					
[0798]	Gly	Val	Ile	Trp	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Tyr	Tyr	Asn	Ser	Ala	Leu	Lys		
[0799]		50					55					60						
[0800]	Ser	Arg	Leu	Thr	Ile	Ile	Lys	Asp	Asn	Ser	Lys	Ser	Gln	Val	Phe	Leu		
[0801]	65					70					75					80		
[0802]	Lys	Met	Asn	Ser	Leu	Gln	Thr	Asp	Asp	Thr	Ala	Ile	Tyr	Tyr	Cys	Ala		
[0803]					85					90					95			
[0804]	Lys	His	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Ser	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln		
[0805]				100					105					110				
[0806]	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser										
[0807]			115					120										
[0808]	<210> 40																	
[0809]	<211> 107																	
[0810]	<212> PRT																	
[0811]	<213> 小家鼠 (Mus musculus)																	
[0812]	<220>																	
[0813]	<223> FMC63VL																	
[0814]	<400> 40																	
[0815]	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Thr	Thr	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Leu	Gly		
[0816]	1				5					10					15			
[0817]	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Asp	Ile	Ser	Lys	Tyr		
[0818]				20					25					30				

[0819]	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
[0820]	35 40 45
[0821]	Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[0822]	50 55 60
[0823]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
[0824]	65 70 75 80
[0825]	Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
[0826]	85 90 95
[0827]	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr
[0828]	100 105
[0829]	<210> 41
[0830]	<211> 122
[0831]	<212> PRT
[0832]	<213> 小家鼠 (Mus musculus)
[0833]	<220>
[0834]	<223> SJ25C1VH
[0835]	<400> 41
[0836]	Glu Val Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ser
[0837]	1 5 10 15
[0838]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr
[0839]	20 25 30
[0840]	Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
[0841]	35 40 45
[0842]	Gly Gln Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe
[0843]	50 55 60
[0844]	Lys Gly Gln Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
[0845]	65 70 75 80
[0846]	Met Gln Leu Ser Gly Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
[0847]	85 90 95
[0848]	Ala Arg Lys Thr Ile Ser Ser Val Val Asp Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp
[0849]	100 105 110
[0850]	Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
[0851]	115 120
[0852]	<210> 42
[0853]	<211> 106
[0854]	<212> PRT
[0855]	<213> 小家鼠 (Mus musculus)
[0856]	<220>
[0857]	<223> SJ25C1 VL



[0858]	<400> 42
[0859]	Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
[0860]	1 5 10 15
[0861]	Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn
[0862]	20 25 30
[0863]	Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Pro Leu Ile
[0864]	35 40 45
[0865]	Tyr Ser Ala Thr Tyr Arg Asn Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
[0866]	50 55 60
[0867]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser
[0868]	65 70 75 80
[0869]	Lys Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Arg Tyr Pro Tyr
[0870]	85 90 95
[0871]	Thr Ser Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
[0872]	100 105
[0873]	<210> 43
[0874]	<211> 18
[0875]	<212> PRT
[0876]	<213> 人工序列
[0877]	<220>
[0878]	<223> 合成
[0879]	<220>
[0880]	<223> 接头
[0881]	<400> 43
[0882]	Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr
[0883]	1 5 10 15
[0884]	Lys Gly
[0885]	<210> 44
[0886]	<211> 747
[0887]	<212> DNA
[0888]	<213> 智人(Homo sapiens)
[0889]	<220>
[0890]	<223> 克隆488 scFv (nt)
[0891]	<400> 44
[0892]	gaagtgcagc tgggtgcagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
[0893]	tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgcactgggt cggcaagct 120
[0894]	ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtggtag cataggctat 180
[0895]	gcgactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240
[0896]	ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagagatcag 300

[0897] gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacagtg 360  
 [0898] gtcaccgtct cctcaggtgg aggcggttca ggcggaggtg gctctggcgg tggcggatcg 420  
 [0899] gaaattgtgt tgacgcagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga gaccgccacc 480  
 [0900] ctctcctgca gggccagtca gagtattaac cactacttag cctggtacca acagaaacct 540  
 [0901] ggccaggctc cccggctcct catctatgat gcctccaaca gggccactgg catcccagcc 600  
 [0902] aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct 660  
 [0903] gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagtc accctcgaat gtacactttt 720  
 [0904] ggccagggga ccaaactgga tatcaaa 747  
 [0905] <210> 45  
 [0906] <211> 249  
 [0907] <212> PRT  
 [0908] <213> 智人(Homo sapiens)  
 [0909] <220>  
 [0910] <223> 克隆488 scFv (aa)  
 [0911] <400> 45  
 [0912] Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg  
 [0913] 1 5 10 15  
 [0914] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr  
 [0915] 20 25 30  
 [0916] Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 [0917] 35 40 45  
 [0918] Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val  
 [0919] 50 55 60  
 [0920] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr  
 [0921] 65 70 75 80  
 [0922] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 [0923] 85 90 95  
 [0924] Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe  
 [0925] 100 105 110  
 [0926] Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly  
 [0927] 115 120 125  
 [0928] Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu  
 [0929] 130 135 140  
 [0930] Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Thr Ala Thr  
 [0931] 145 150 155 160  
 [0932] Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn His Tyr Leu Ala Trp Tyr  
 [0933] 165 170 175  
 [0934] Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser  
 [0935] 180 185 190

[0936]	Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly		
[0937]	195	200	205
[0938]	Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala		
[0939]	210	215	220
[0940]	Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser His Pro Arg Met Tyr Thr Phe		
[0941]	225	230	235 240
[0942]	Gly Gln Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys		
[0943]	245		
[0944]	<210> 46		
[0945]	<211> 747		
[0946]	<212> DNA		
[0947]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[0948]	<220>		
[0949]	<223> 克隆1304 scFv (nt)		
[0950]	<400> 46		
[0951]	cagatgcagc tgggtgcagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc	60	
[0952]	tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgcactgggt cggcaagct	120	
[0953]	ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtggtag cataggctat	180	
[0954]	gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat	240	
[0955]	ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag	300	
[0956]	gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacagtg	360	
[0957]	gtcaccgtct cctcaggtgg aggcggttca ggcggagggtg gctctggcgg tggcggatcg	420	
[0958]	gccatccgga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	480	
[0959]	gtcacttgcc aggcgagtca ggacattagc aactatttaa attggtatca gcagaaacca	540	
[0960]	ggaagagccc ctaagctcct gatctacgat gcatccaatg tgaaagcagg ggtcccatca	600	
[0961]	aggttcagtg ggggtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct	660	
[0962]	gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctcaggc gtacactttt	720	
[0963]	ggccagggga ccaagctgga gatcaaa	747	
[0964]	<210> 47		
[0965]	<211> 249		
[0966]	<212> PRT		
[0967]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[0968]	<220>		
[0969]	<223> 克隆1304 scFv (aa)		
[0970]	<400> 47		
[0971]	Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg		
[0972]	1 5 10 15		
[0973]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr		
[0974]	20 25 30		

[0975]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[0976]	35	40 45
[0977]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val	
[0978]	50	55 60
[0979]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr	
[0980]	65	70 75 80
[0981]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[0982]	85	90 95
[0983]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe	
[0984]	100	105 110
[0985]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly	
[0986]	115	120 125
[0987]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ile Arg Met	
[0988]	130	135 140
[0989]	Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr	
[0990]	145	150 155 160
[0991]	Val Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr	
[0992]	165	170 175
[0993]	Gln Gln Lys Pro Gly Arg Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser	
[0994]	180	185 190
[0995]	Asn Val Lys Ala Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Gly Gly Ser Gly	
[0996]	195	200 205
[0997]	Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala	
[0998]	210	215 220
[0999]	Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Gln Ala Tyr Thr Phe	
[1000]	225	230 235 240
[1001]	Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys	
[1002]	245	
[1003]	<210> 48	
[1004]	<211> 756	
[1005]	<212> DNA	
[1006]	<213> 智人(Homo sapiens)	
[1007]	<220>	
[1008]	<223> 克隆285 scFv (nt)	
[1009]	<400> 48	
[1010]	gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc	60
[1011]	tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgcactgggt cggcaagct	120
[1012]	ccaggggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtggtag gataggctat	180
[1013]	gcggactctg taaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttt	240

[1014] ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300  
 [1015] gggatatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacagtg 360  
 [1016] gtcaccgtct cctcaggtgg aggcggttca ggcggaggtg gctctggcgg tggcggatcg 420  
 [1017] cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 480  
 [1018] tcctgcactg gaaccagcag tgaccttggg gggtacaatt atgtctcctg gtatcaaacac 540  
 [1019] cgcccaggca aagcccccaa actcatcatt tatgatgtca ctgttcggcc ctcagggggtt 600  
 [1020] tctgatcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccat ctctgggctc 660  
 [1021] caggctgagg acgaggctga ttattactgc ggctcatata caagcagtag cactcttctt 720  
 [1022] tgggtgttcg gcggaggac caagctcacc gtccta 756  
 [1023] <210> 49  
 [1024] <211> 252  
 [1025] <212> PRT  
 [1026] <213> 智人(Homo sapiens)  
 [1027] <220>  
 [1028] <223> 克隆285 scFv (aa)  
 [1029] <400> 49  
 [1030] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg  
 [1031] 1 5 10 15  
 [1032] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr  
 [1033] 20 25 30  
 [1034] Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 [1035] 35 40 45  
 [1036] Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val  
 [1037] 50 55 60  
 [1038] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe  
 [1039] 65 70 75 80  
 [1040] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 [1041] 85 90 95  
 [1042] Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe  
 [1043] 100 105 110  
 [1044] Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly  
 [1045] 115 120 125  
 [1046] Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu  
 [1047] 130 135 140  
 [1048] Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile  
 [1049] 145 150 155 160  
 [1050] Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser  
 [1051] 165 170 175  
 [1052] Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Ile Tyr Asp

[1053]	180	185	190
[1054]	Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys		
[1055]	195	200	205
[1056]	Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp		
[1057]	210	215	220
[1058]	Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Leu		
[1059]	225	230	235 240
[1060]	Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu		
[1061]	245	250	
[1062]	<210> 50		
[1063]	<211> 753		
[1064]	<212> DNA		
[1065]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[1066]	<220>		
[1067]	<223> 克隆192B scFv (nt)		
[1068]	<400> 50		
[1069]	caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc	60	
[1070]	tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgcactgggt cggcaagct	120	
[1071]	ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttaga atagtggtag gataggctat	180	
[1072]	gcggactctg taaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttt	240	
[1073]	ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag	300	
[1074]	gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacaatg	360	
[1075]	gtcaccgtct cctcaggtgg aggcggttca ggcggagggtg gctctggcgg tggcggatcg	420	
[1076]	caggctgtgc tgactcagcc tcgctcagtg tccgggtctc ctggacagtc agtcaccatc	480	
[1077]	tcctgcactg gaatcagcag tgggtgttgat agtcataggt atgtctcctg gtaccaacac	540	
[1078]	caccaggaag aagccccaa actcatgatt tatgatttca gtaagcggcc ctgaggggtc	600	
[1079]	cctgatcggt tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccat ctctgggctc	660	
[1080]	caggctgagg atgaggctga ttactattgc agtcatatg cagccatctc ccctaattat	720	
[1081]	gtcttcggaa ctgggaccaa gctcaccgtc cta	753	
[1082]	<210> 51		
[1083]	<211> 251		
[1084]	<212> PRT		
[1085]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[1086]	<220>		
[1087]	<223> 克隆192B scFv (aa)		
[1088]	<400> 51		
[1089]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg		
[1090]	1	5	10 15
[1091]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr		

[1092]	20	25	30
[1093]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[1094]	35	40	45
[1095]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val		
[1096]	50	55	60
[1097]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe		
[1098]	65	70	75
[1099]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[1100]	85	90	95
[1101]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe		
[1102]	100	105	110
[1103]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly		
[1104]	115	120	125
[1105]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Leu		
[1106]	130	135	140
[1107]	Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile		
[1108]	145	150	155
[1109]	Ser Cys Thr Gly Ile Ser Ser Gly Val Asp Ser His Arg Tyr Val Ser		
[1110]	165	170	175
[1111]	Trp Tyr Gln His His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Asp		
[1112]	180	185	190
[1113]	Phe Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys		
[1114]	195	200	205
[1115]	Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp		
[1116]	210	215	220
[1117]	Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Ala Ala Ile Ser Pro Asn Tyr		
[1118]	225	230	235
[1119]	Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu		
[1120]	245	250	
[1121]	<210> 52		
[1122]	<211> 750		
[1123]	<212> DNA		
[1124]	<213> 智人 (Homo sapiens)		
[1125]	<220>		
[1126]	<223> 克隆328 scFv (nt)		
[1127]	<400> 52		
[1128]	caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc	60	
[1129]	tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcc a tgcactgggt cggcaagct	120	
[1130]	ccaggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtggtag gataggctat	180	

[1131]	gcggactctg taaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttt	240
[1132]	ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag	300
[1133]	gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacagtg	360
[1134]	gtcaccgtct cctcaggtgg aggcggttca ggcggaggtg gctctggcgg tggcggatcg	420
[1135]	cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacattc gatcaccatc	480
[1136]	tcctgcactg gaaccagaag tgacgtcggg ggttttgatt atgtctcctg gtaccagcat	540
[1137]	aaccaggca aagcccccaa actcataatt tatgatgtca ctaagcggcc ctgaggggtc	600
[1138]	tctaatacgt tctctggcgc caagtctggc atcacggcct ccctgaccat ctctgggctc	660
[1139]	caggctgagg acgaggtga ttattactgc acctcatata gacccggtcc aacatttgtc	720
[1140]	ttcggcaccg ggaccaagct caccgtccta	750
[1141]	<210>	53
[1142]	<211>	250
[1143]	<212>	PRT
[1144]	<213>	智人(Homo sapiens)
[1145]	<400>	53
[1146]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg	
[1147]	1 5 10 15	
[1148]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr	
[1149]	20 25 30	
[1150]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[1151]	35 40 45	
[1152]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val	
[1153]	50 55 60	
[1154]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe	
[1155]	65 70 75 80	
[1156]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[1157]	85 90 95	
[1158]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe	
[1159]	100 105 110	
[1160]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly	
[1161]	115 120 125	
[1162]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu	
[1163]	130 135 140	
[1164]	Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly His Ser Ile Thr Ile	
[1165]	145 150 155 160	
[1166]	Ser Cys Thr Gly Thr Arg Ser Asp Val Gly Gly Phe Asp Tyr Val Ser	
[1167]	165 170 175	
[1168]	Trp Tyr Gln His Asn Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Ile Tyr Asp	
[1169]	180 185 190	



[1170]	Val Thr Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ala Lys	
[1171]	195	200 205
[1172]	Ser Gly Ile Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp	
[1173]	210	215 220
[1174]	Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Thr Ser Tyr Arg Pro Gly Pro Thr Phe Val	
[1175]	225	230 235 240
[1176]	Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu	
[1177]	245	250
[1178]	<210> 54	
[1179]	<211> 741	
[1180]	<212> DNA	
[1181]	<213> 智人(Homo sapiens)	
[1182]	<220>	
[1183]	<223> 克隆227 scFv (nt)	
[1184]	<400> 54	
[1185]	gaagtgcagc tgggtgcagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc	60
[1186]	tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcc a tgcactgggt cggcaagct	120
[1187]	ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtggtag cataggctat	180
[1188]	gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat	240
[1189]	ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag	300
[1190]	gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacagtg	360
[1191]	gtcacctctt cctcaggtgg aggcggttca ggcggagggt gctctggcgg tggcggatcg	420
[1192]	gacatccagt tgaccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	480
[1193]	atcacttgcc gggccagtca gagtattagt aggtggttgg cctgggtatca gcagaaacca	540
[1194]	gggaaagccc ctaagctcct gatctacgat gcatccaatt tggaacagg ggtcccatcc	600
[1195]	aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat ttactttca ccatcagcag cctgcagcct	660
[1196]	gaagatattg caacatatta ctgtcaacag tatgataatc tccctctcac ttctggcgga	720
[1197]	gggaccaagg tggagatcaa a	741
[1198]	<210> 55	
[1199]	<211> 247	
[1200]	<212> PRT	
[1201]	<213> 智人(Homo sapiens)	
[1202]	<220>	
[1203]	<223> 克隆227 scFv (aa)	
[1204]	<400> 55	
[1205]	Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg	
[1206]	1	5 10 15
[1207]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr	
[1208]	20	25 30

[1209]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[1210]	35	40 45
[1211]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val	
[1212]	50	55 60
[1213]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr	
[1214]	65	70 75 80
[1215]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[1216]	85	90 95
[1217]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe	
[1218]	100	105 110
[1219]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly	
[1220]	115	120 125
[1221]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Leu	
[1222]	130	135 140
[1223]	Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr	
[1224]	145	150 155 160
[1225]	Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Arg Trp Leu Ala Trp Tyr	
[1226]	165	170 175
[1227]	Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser	
[1228]	180	185 190
[1229]	Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly	
[1230]	195	200 205
[1231]	Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala	
[1232]	210	215 220
[1233]	Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly	
[1234]	225	230 235 240
[1235]	Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys	
[1236]	245	
[1237]	<210> 56	
[1238]	<211> 744	
[1239]	<212> DNA	
[1240]	<213> 智人(Homo sapiens)	
[1241]	<220>	
[1242]	<223> 克隆1300 scFv (nt)	
[1243]	<400> 56	
[1244]	ca gatgcagc tgg tgcagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc	60
[1245]	tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcc tgcactgggt ccggcaagct	120
[1246]	ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtggtag cataggctat	180
[1247]	gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat	240

[1248] ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300  
 [1249] gggatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacagtg 360  
 [1250] gtcaccgtct cctcaggtgg aggcggttca ggcggaggtg gctctggcgg tggcggatcg 420  
 [1251] gccatccgga tgaccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 480  
 [1252] atcacttgcc gggccagtca gagcattagt cactacttgg cctggtatca acagaaacca 540  
 [1253] gggaaagccc ctaagctcct gatctttgat gcctcccgtt tggcaagtgg ggtcccatca 600  
 [1254] aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 660  
 [1255] gaagattttg cgacatacta ctgtcaacag agttacggtg cccctatggt cactttcggc 720  
 [1256] cctgggacca gagtggatct caaa 744  
 [1257] <210> 57  
 [1258] <211> 248  
 [1259] <212> PRT  
 [1260] <213> 智人(Homo sapiens)  
 [1261] <220>  
 [1262] <223> 克隆1300 scFv (aa)  
 [1263] <400> 57  
 [1264] Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg  
 [1265] 1 5 10 15  
 [1266] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr  
 [1267] 20 25 30  
 [1268] Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 [1269] 35 40 45  
 [1270] Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val  
 [1271] 50 55 60  
 [1272] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr  
 [1273] 65 70 75 80  
 [1274] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 [1275] 85 90 95  
 [1276] Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe  
 [1277] 100 105 110  
 [1278] Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly  
 [1279] 115 120 125  
 [1280] Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ile Arg Met  
 [1281] 130 135 140  
 [1282] Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr  
 [1283] 145 150 155 160  
 [1284] Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser His Tyr Leu Ala Trp Tyr  
 [1285] 165 170 175  
 [1286] Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Phe Asp Ala Ser

[1287]	180	185	190
[1288]	Arg Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly		
[1289]	195	200	205
[1290]	Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala		
[1291]	210	215	220
[1292]	Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Gly Ala Pro Met Phe Thr Phe Gly		
[1293]	225	230	235
[1294]	Pro Gly Thr Arg Val Asp Leu Lys		240
[1295]	245		
[1296]	<210> 58		
[1297]	<211> 753		
[1298]	<212> DNA		
[1299]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[1300]	<220>		
[1301]	<223> 克隆1 scFv (nt)		
[1302]	<400> 58		
[1303]	gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc	60	
[1304]	tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgcactgggt cggcaagct	120	
[1305]	ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttaga atagtggtag gataggctat	180	
[1306]	gcggactctg taaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttt	240	
[1307]	ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag	300	
[1308]	gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacaatg	360	
[1309]	gtcacagtct cctcaggtgg aggcggttca ggcggagggtg gctctggcgg tggcggatcg	420	
[1310]	cagtctgccc tgactcagcc cgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc	480	
[1311]	tcctgcactg ggaccagcag tgacgttggt gcttataact ttgtctcctg gtaccagcag	540	
[1312]	ctcccaggaa cagcccccaa attcctcatt tatgacaata ataaacgacc cccagggatt	600	
[1313]	cctgaccgat tctctggctc caagtctggc acgtcagcca ccctgggcat caccggactc	660	
[1314]	cagactgggg acgaggccga ttattactgc gcaacatggg atagcggcct gagtgtgtgtg	720	
[1315]	gtattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta	753	
[1316]	<210> 59		
[1317]	<211> 251		
[1318]	<212> PRT		
[1319]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[1320]	<220>		
[1321]	<223> 克隆1 scFv (aa)		
[1322]	<400> 59		
[1323]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg		
[1324]	1	5	10
[1325]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr	15	

[1326]	20	25	30
[1327]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[1328]	35	40	45
[1329]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val		
[1330]	50	55	60
[1331]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe		
[1332]	65	70	75
[1333]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[1334]	85	90	95
[1335]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe		
[1336]	100	105	110
[1337]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly		
[1338]	115	120	125
[1339]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu		
[1340]	130	135	140
[1341]	Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile		
[1342]	145	150	155
[1343]	Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ala Tyr Asn Phe Val Ser		
[1344]	165	170	175
[1345]	Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Phe Leu Ile Tyr Asp		
[1346]	180	185	190
[1347]	Asn Asn Lys Arg Pro Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys		
[1348]	195	200	205
[1349]	Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln Thr Gly Asp		
[1350]	210	215	220
[1351]	Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Ser Gly Leu Ser Ala Val		
[1352]	225	230	235
[1353]	Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu		
[1354]	245	250	
[1355]	<210> 60		
[1356]	<211> 125		
[1357]	<212> PRT		
[1358]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[1359]	<220>		
[1360]	<223> VH 克隆192B (aa)		
[1361]	<400> 60		
[1362]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg		
[1363]	1	5	10
[1364]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr		

[1365]	20	25	30
[1366]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[1367]	35	40	45
[1368]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val		
[1369]	50	55	60
[1370]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe		
[1371]	65	70	75
[1372]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[1373]	85	90	95
[1374]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe		
[1375]	100	105	110
[1376]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser		
[1377]	115	120	125
[1378]	<210> 61		
[1379]	<211> 125		
[1380]	<212> PRT		
[1381]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[1382]	<220>		
[1383]	<223> VH 克隆328 (aa)		
[1384]	<400> 61		
[1385]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg		
[1386]	1	5	10
[1387]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr		
[1388]	20	25	30
[1389]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[1390]	35	40	45
[1391]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val		
[1392]	50	55	60
[1393]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe		
[1394]	65	70	75
[1395]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[1396]	85	90	95
[1397]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe		
[1398]	100	105	110
[1399]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser		
[1400]	115	120	125
[1401]	<210> 62		
[1402]	<211> 125		
[1403]	<212> PRT		

[1404]	<213> 智人(Homo sapiens)																			
[1405]	<220>																			
[1406]	<223> VH 克隆1304 克隆1300 (aa)																			
[1407]	<400> 62																			
[1408]	Gln	Met	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Arg				
[1409]	1				5					10					15					
[1410]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asp	Asp	Tyr				
[1411]				20					25					30						
[1412]	Ala	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val				
[1413]			35				40						45							
[1414]	Ser	Gly	Ile	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ser	Ile	Gly	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val				
[1415]		50				55					60									
[1416]	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr				
[1417]	65					70				75					80					
[1418]	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys				
[1419]				85					90					95						
[1420]	Ala	Arg	Asp	Gln	Gly	Tyr	His	Tyr	Tyr	Asp	Ser	Ala	Glu	His	Ala	Phe				
[1421]				100					105					110						
[1422]	Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Val	Val	Thr	Val	Ser	Ser							
[1423]			115					120					125							
[1424]	<210> 63																			
[1425]	<211> 125																			
[1426]	<212> PRT																			
[1427]	<213> 智人(Homo sapiens)																			
[1428]	<220>																			
[1429]	<223> VH 克隆227, 488, 241 (aa)																			
[1430]	<400> 63																			
[1431]	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Arg				
[1432]	1				5					10					15					
[1433]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asp	Asp	Tyr				
[1434]				20					25					30						
[1435]	Ala	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val				
[1436]			35				40						45							
[1437]	Ser	Gly	Ile	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ser	Ile	Gly	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val				
[1438]		50				55					60									
[1439]	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr				
[1440]	65					70				75					80					
[1441]	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys				
[1442]				85					90					95						

[1443]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
[1444]	100 105 110
[1445]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser
[1446]	115 120 125
[1447]	<210> 64
[1448]	<211> 111
[1449]	<212> PRT
[1450]	<213> 智人(Homo sapiens)
[1451]	<220>
[1452]	<223> VL 克隆192B (aa)
[1453]	<400> 64
[1454]	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
[1455]	1 5 10 15
[1456]	Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ile Ser Ser Gly Val Asp Ser His
[1457]	20 25 30
[1458]	Arg Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
[1459]	35 40 45
[1460]	Met Ile Tyr Asp Phe Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
[1461]	50 55 60
[1462]	Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
[1463]	65 70 75 80
[1464]	Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Ala Ala Ile
[1465]	85 90 95
[1466]	Ser Pro Asn Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
[1467]	100 105 110
[1468]	<210> 65
[1469]	<211> 112
[1470]	<212> PRT
[1471]	<213> 智人(Homo sapiens)
[1472]	<220>
[1473]	<223> VL 克隆285 (aa)
[1474]	<400> 65
[1475]	Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
[1476]	1 5 10 15
[1477]	Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr
[1478]	20 25 30
[1479]	Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
[1480]	35 40 45
[1481]	Ile Ile Tyr Asp Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe



[1482]	50	55	60
[1483]	Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu		
[1484]	65	70	75
[1485]	Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser		
[1486]	85	90	95
[1487]	Ser Thr Leu Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu		
[1488]	100	105	110
[1489]	<210> 66		
[1490]	<211> 110		
[1491]	<212> PRT		
[1492]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[1493]	<220>		
[1494]	<223> VL 克隆328 (aa)		
[1495]	<400> 66		
[1496]	Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly His		
[1497]	1	5	10
[1498]	Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Arg Ser Asp Val Gly Gly Phe		
[1499]	20	25	30
[1500]	Asp Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Asn Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu		
[1501]	35	40	45
[1502]	Ile Ile Tyr Asp Val Thr Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe		
[1503]	50	55	60
[1504]	Ser Gly Ala Lys Ser Gly Ile Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu		
[1505]	65	70	75
[1506]	Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Thr Ser Tyr Arg Pro Gly		
[1507]	85	90	95
[1508]	Pro Thr Phe Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu		
[1509]	100	105	110
[1510]	<210> 67		
[1511]	<211> 111		
[1512]	<212> PRT		
[1513]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[1514]	<220>		
[1515]	<223> VL 克隆1 (aa)		
[1516]	<400> 67		
[1517]	Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln		
[1518]	1	5	10
[1519]	Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ala Tyr		
[1520]	20	25	30

[1521]	Asn Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Phe
[1522]	35 40 45
[1523]	Leu Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe
[1524]	50 55 60
[1525]	Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu
[1526]	65 70 75 80
[1527]	Gln Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Ser Gly
[1528]	85 90 95
[1529]	Leu Ser Ala Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
[1530]	100 105 110
[1531]	<210> 68
[1532]	<211> 109
[1533]	<212> PRT
[1534]	<213> 智人(Homo sapiens)
[1535]	<220>
[1536]	<223> VL 克隆1304 (aa)
[1537]	<400> 68
[1538]	Ala Ile Arg Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[1539]	1 5 10 15
[1540]	Asp Arg Val Thr Val Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
[1541]	20 25 30
[1542]	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Arg Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[1543]	35 40 45
[1544]	Tyr Asp Ala Ser Asn Val Lys Ala Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[1545]	50 55 60
[1546]	Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[1547]	65 70 75 80
[1548]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Gln
[1549]	85 90 95
[1550]	Ala Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
[1551]	100 105
[1552]	<210> 69
[1553]	<211> 108
[1554]	<212> PRT
[1555]	<213> 智人(Homo sapiens)
[1556]	<220>
[1557]	<223> VL 克隆1300 (aa)
[1558]	<400> 69
[1559]	Ala Ile Arg Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

[1560]	1	5	10	15
[1561]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser His Tyr			
[1562]	20	25	30	
[1563]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile			
[1564]	35	40	45	
[1565]	Phe Asp Ala Ser Arg Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
[1566]	50	55	60	
[1567]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
[1568]	65	70	75	80
[1569]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Gly Ala Pro Met			
[1570]	85	90	95	
[1571]	Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Val Asp Leu Lys			
[1572]	100	105		
[1573]	<210> 70			
[1574]	<211> 107			
[1575]	<212> PRT			
[1576]	<213> 智人(Homo sapiens)			
[1577]	<220>			
[1578]	<223> VL 克隆227 (aa)			
[1579]	<400> 70			
[1580]	Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly			
[1581]	1	5	10	15
[1582]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Arg Trp			
[1583]	20	25	30	
[1584]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile			
[1585]	35	40	45	
[1586]	Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
[1587]	50	55	60	
[1588]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
[1589]	65	70	75	80
[1590]	Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Leu			
[1591]	85	90	95	
[1592]	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys			
[1593]	100	105		
[1594]	<210> 71			
[1595]	<211> 109			
[1596]	<212> PRT			
[1597]	<213> 智人(Homo sapiens)			
[1598]	<220>			

[1599] <223> VL 克隆488 (aa)  
 [1600] <400> 71  
 [1601] Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 [1602] 1 5 10 15  
 [1603] Glu Thr Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn His Tyr  
 [1604] 20 25 30  
 [1605] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
 [1606] 35 40 45  
 [1607] Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 [1608] 50 55 60  
 [1609] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro  
 [1610] 65 70 75 80  
 [1611] Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser His Pro Arg  
 [1612] 85 90 95  
 [1613] Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys  
 [1614] 100 105  
 [1615] <210> 72  
 [1616] <211> 17  
 [1617] <212> PRT  
 [1618] <213> 智人(Homo sapiens)  
 [1619] <220>  
 [1620] <223> CDR-H2 克隆1304 克隆1300 克隆227 克隆488 克隆241 (aa)  
 [1621] <400> 72  
 [1622] Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 [1623] 1 5 10 15  
 [1624] Gly  
 [1625] <210> 73  
 [1626] <211> 14  
 [1627] <212> PRT  
 [1628] <213> 智人(Homo sapiens)  
 [1629] <220>  
 [1630] <223> CDR-L1 克隆192B 克隆192 (aa)  
 [1631] <400> 73  
 [1632] Thr Gly Ile Ser Ser Gly Val Asp Ser His Arg Tyr Val Ser  
 [1633] 1 5 10  
 [1634] <210> 74  
 [1635] <211> 14  
 [1636] <212> PRT  
 [1637] <213> 智人(Homo sapiens)

[1638]	<220>
[1639]	<223> CDR-L1 克隆285 (aa)
[1640]	<400> 74
[1641]	Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
[1642]	1 5 10
[1643]	<210> 75
[1644]	<211> 14
[1645]	<212> PRT
[1646]	<213> 智人(Homo sapiens)
[1647]	<220>
[1648]	<223> CDR-L1 克隆328 (aa)
[1649]	<400> 75
[1650]	Thr Gly Thr Arg Ser Asp Val Gly Gly Phe Asp Tyr Val Ser
[1651]	1 5 10
[1652]	<210> 76
[1653]	<211> 14
[1654]	<212> PRT
[1655]	<213> 智人(Homo sapiens)
[1656]	<220>
[1657]	<223> CDR-L1 克隆1 (aa)
[1658]	<400> 76
[1659]	Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ala Tyr Asn Phe Val Ser
[1660]	1 5 10
[1661]	<210> 77
[1662]	<211> 11
[1663]	<212> PRT
[1664]	<213> 智人(Homo sapiens)
[1665]	<220>
[1666]	<223> CDR-L1 克隆1304 克隆241 (aa)
[1667]	<400> 77
[1668]	Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
[1669]	1 5 10
[1670]	<210> 78
[1671]	<211> 11
[1672]	<212> PRT
[1673]	<213> 智人(Homo sapiens)
[1674]	<220>
[1675]	<223> CDR-L1 克隆1300 (aa)
[1676]	<400> 78

[1677] Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser His Tyr Leu Ala  
[1678] 1 5 10  
[1679] <210> 79  
[1680] <211> 11  
[1681] <212> PRT  
[1682] <213> 智人(Homo sapiens)  
[1683] <220>  
[1684] <223> CDR-L1 克隆227 (aa)  
[1685] <400> 79  
[1686] Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Arg Trp Leu Ala  
[1687] 1 5 10  
[1688] <210> 80  
[1689] <211> 11  
[1690] <212> PRT  
[1691] <213> 智人(Homo sapiens)  
[1692] <220>  
[1693] <223> CDR-L1 克隆488 (aa)  
[1694] <400> 80  
[1695] Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn His Tyr Leu Ala  
[1696] 1 5 10  
[1697] <210> 81  
[1698] <211> 10  
[1699] <212> PRT  
[1700] <213> 人工序列  
[1701] <220>  
[1702] <223> 合成  
[1703] <220>  
[1704] <223> CDR-H2  
[1705] <400> 81  
[1706] Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly  
[1707] 1 5 10  
[1708] <210> 82  
[1709] <211> 10  
[1710] <212> PRT  
[1711] <213> 人工序列  
[1712] <220>  
[1713] <223> 合成  
[1714] <220>  
[1715] <223> CDR-H2

[1716]	<400> 82
[1717]	Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly
[1718]	1 5 10
[1719]	<210> 83
[1720]	<211> 14
[1721]	<212> PRT
[1722]	<213> 人工序列
[1723]	<220>
[1724]	<223> 合成
[1725]	<220>
[1726]	<223> CDR-L1
[1727]	共有
[1728]	<220>
[1729]	<221> 变体
[1730]	<222> 1
[1731]	<223> Xaa = Thr, Gln或Arg
[1732]	<220>
[1733]	<221> 变体
[1734]	<222> 2
[1735]	<223> Xaa = Gly或Ala
[1736]	<220>
[1737]	<221> 变体
[1738]	<222> 3
[1739]	<223> Xaa = Ile, Thr或Ser
[1740]	<220>
[1741]	<221> 变体
[1742]	<222> 4
[1743]	<223> Xaa = Ser, Arg或Gln
[1744]	<220>
[1745]	<221> 变体
[1746]	<222> 5
[1747]	<223> Xaa = 空或Ser
[1748]	<220>
[1749]	<221> 变体
[1750]	<222> 6
[1751]	<223> Xaa = 空, Asp或Gly
[1752]	<220>
[1753]	<221> 变体
[1754]	<222> 7





[1794] <223> CDR-L2共有  
[1795] <220>  
[1796] <221> 变体  
[1797] <222> 2  
[1798] <223> Xaa = Phe, Val, Asn或Ala  
[1799] <220>  
[1800] <221> 变体  
[1801] <222> 3  
[1802] <223> Xaa = Ser, Thr或Asn  
[1803] <220>  
[1804] <221> 变体  
[1805] <222> 4  
[1806] <223> Xaa = Lys, Val, Asn或Arg  
[1807] <220>  
[1808] <221> 变体  
[1809] <222> 5  
[1810] <223> Xaa = Arg, Val或Leu  
[1811] <220>  
[1812] <221> 变体  
[1813] <222> 6  
[1814] <223> Xaa = Pro, Lys, Ala或Glu  
[1815] <220>  
[1816] <221> 变体  
[1817] <222> 7  
[1818] <223> Xaa = Ser, Pro, Ala或Thr  
[1819] <400> 84  
[1820] Asp Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
[1821] 1 5  
[1822] <210> 85  
[1823] <211> 14  
[1824] <212> PRT  
[1825] <213> 人工序列  
[1826] <220>  
[1827] <223> 合成  
[1828] <220>  
[1829] <223> CDR-L3共有  
[1830] <220>  
[1831] <221> 变体  
[1832] <222> 1

- [1833] <223> Xaa = Ser, Gly, Thr, Ala或Gln  
[1834] <220>  
[1835] <221> 变体  
[1836] <222> 2  
[1837] <223> Xaa = Ser, Thr或Gln  
[1838] <220>  
[1839] <221> 变体  
[1840] <222> 3  
[1841] <223> Xaa = Tyr, Trp或Ser  
[1842] <220>  
[1843] <221> 变体  
[1844] <222> 4  
[1845] <223> Xaa = Ala, Thr, Arg, Asp或Tyr  
[1846] <220>  
[1847] <221> 变体  
[1848] <222> 5  
[1849] <223> Xaa = Ala, Ser, Pro, Gly或Asn  
[1850] <220>  
[1851] <221> 变体  
[1852] <222> 6  
[1853] <223> Xaa = Ile, Ser, Gly, Thr, Leu, Ala或His  
[1854] <220>  
[1855] <221> 变体  
[1856] <222> 7  
[1857] <223> Xaa = Ser, Pro或Leu  
[1858] <220>  
[1859] <221> 变体  
[1860] <222> 8  
[1861] <223> Xaa = Pro, Thr, Ser, Gln, Met, Arg或空  
[1862] <220>  
[1863] <221> 变体  
[1864] <222> 9  
[1865] <223> Xaa = Asn, Leu, Ala, Met或空  
[1866] <220>  
[1867] <221> 变体  
[1868] <222> 10  
[1869] <223> Xaa = Leu或空  
[1870] <220>  
[1871] <221> 变体

[1872]	<222> 11
[1873]	<223> Xaa = Tyr, Trp, Phe, Val或Leu
[1874]	<220>
[1875]	<221> 变体
[1876]	<222> 12
[1877]	<223> Xaa = Val或Thr
[1878]	<400> 85
[1879]	Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
[1880]	1 5 10
[1881]	<210> 86
[1882]	<211> 753
[1883]	<212> DNA
[1884]	<213> 智人(Homo sapiens)
[1885]	<220>
[1886]	<223> 克隆192 scFv (nt)
[1887]	<400> 86
[1888]	gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
[1889]	tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgcactgggt cggcaagct 120
[1890]	ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttaga atagtggtag gataggctat 180
[1891]	gcggactctg taaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttt 240
[1892]	ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300
[1893]	gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacaatg 360
[1894]	gtcaccgtct cctcaggtgg aggcggttca ggcggagggtg gctctggcgg tggcggatcg 420
[1895]	caggctgtgc tgactcagcc tcgctcagtg tccgggtctc ctggacagtc agtcaccatc 480
[1896]	tcctgcactg gaatcagcag tgggtgttgat agtcataggt atgtctcctg gtaccaaacac 540
[1897]	caccagcgca aagccccaa actcatgatt tatgatttca gtaagcggcc ctccagggtc 600
[1898]	cctgatcggt tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccat ctctgggctc 660
[1899]	caggctgagg atgaggctga ttactattgc tgctcatatg cagccatctc ccctaattat 720
[1900]	gtcttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 753
[1901]	<210> 87
[1902]	<211> 251
[1903]	<212> PRT
[1904]	<213> 智人(Homo sapiens)
[1905]	<220>
[1906]	<223> 克隆192 scFv (aa)
[1907]	<400> 87
[1908]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
[1909]	1 5 10 15
[1910]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr

[1911]	20	25	30
[1912]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[1913]	35	40	45
[1914]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val		
[1915]	50	55	60
[1916]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe		
[1917]	65	70	75
[1918]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[1919]	85	90	95
[1920]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe		
[1921]	100	105	110
[1922]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly		
[1923]	115	120	125
[1924]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Leu		
[1925]	130	135	140
[1926]	Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile		
[1927]	145	150	155
[1928]	Ser Cys Thr Gly Ile Ser Ser Gly Val Asp Ser His Arg Tyr Val Ser		
[1929]	165	170	175
[1930]	Trp Tyr Gln His His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Asp		
[1931]	180	185	190
[1932]	Phe Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys		
[1933]	195	200	205
[1934]	Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp		
[1935]	210	215	220
[1936]	Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Tyr Ala Ala Ile Ser Pro Asn Tyr		
[1937]	225	230	235
[1938]	Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu		
[1939]	245	250	
[1940]	<210> 88		
[1941]	<211> 747		
[1942]	<212> DNA		
[1943]	<213> 智人 (Homo sapiens)		
[1944]	<220>		
[1945]	<223> 克隆241 scFv (nt)		
[1946]	<400> 88		
[1947]	gaagtgcagc tgggtgcagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc	60	
[1948]	tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgcactgggt ccggcaagct	120	
[1949]	ccaggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtggtag cataggctat	180	

[1950]	gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat	240
[1951]	ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag	300
[1952]	gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacagtg	360
[1953]	gtcaccgtct cctcaggtgg aggcggttca ggcggaggtg gctctggcgg tggcggatcg	420
[1954]	gccatccgga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	480
[1955]	gtcacttgcc aggcgagtca ggacattagc aactatttaa attggtatca gcagaaacca	540
[1956]	gggagagccc ctaagctcct gatctacgat gcatccaatg tgaaagcagg ggtcccatca	600
[1957]	aggttcagtg ggggtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct	660
[1958]	gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctcaggc gtacactttt	720
[1959]	ggccagggga ccaagctgga tatcaaa	747
[1960]	<210>	89
[1961]	<211>	249
[1962]	<212>	PRT
[1963]	<213>	智人(Homo sapiens)
[1964]	<220>	
[1965]	<223>	克隆241 scFv (aa)
[1966]	<400>	89
[1967]	Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg	
[1968]	1 5 10 15	
[1969]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr	
[1970]	20 25 30	
[1971]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[1972]	35 40 45	
[1973]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val	
[1974]	50 55 60	
[1975]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr	
[1976]	65 70 75 80	
[1977]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[1978]	85 90 95	
[1979]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe	
[1980]	100 105 110	
[1981]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly	
[1982]	115 120 125	
[1983]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ile Arg Met	
[1984]	130 135 140	
[1985]	Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr	
[1986]	145 150 155 160	
[1987]	Val Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr	
[1988]	165 170 175	

[1989]	Gln Gln Lys Pro Gly Arg Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser
[1990]	180 185 190
[1991]	Asn Val Lys Ala Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Gly Gly Ser Gly
[1992]	195 200 205
[1993]	Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
[1994]	210 215 220
[1995]	Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Gln Ala Tyr Thr Phe
[1996]	225 230 235 240
[1997]	Gly Gln Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys
[1998]	245
[1999]	<210> 90
[2000]	<211> 109
[2001]	<212> PRT
[2002]	<213> 智人(Homo sapiens)
[2003]	<220>
[2004]	<223> VL 克隆241 (aa)
[2005]	<400> 90
[2006]	Ala Ile Arg Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[2007]	1 5 10 15
[2008]	Asp Arg Val Thr Val Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
[2009]	20 25 30
[2010]	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Arg Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[2011]	35 40 45
[2012]	Tyr Asp Ala Ser Asn Val Lys Ala Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[2013]	50 55 60
[2014]	Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[2015]	65 70 75 80
[2016]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Gln
[2017]	85 90 95
[2018]	Ala Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys
[2019]	100 105
[2020]	<210> 91
[2021]	<211> 111
[2022]	<212> PRT
[2023]	<213> 智人(Homo sapiens)
[2024]	<220>
[2025]	<223> VL 克隆192
[2026]	<400> 91
[2027]	Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln

[2028]	1	5	10	15
[2029]	Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ile Ser Ser Gly Val Asp Ser His			
[2030]	20	25	30	
[2031]	Arg Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu			
[2032]	35	40	45	
[2033]	Met Ile Tyr Asp Phe Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe			
[2034]	50	55	60	
[2035]	Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu			
[2036]	65	70	75	80
[2037]	Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Tyr Ala Ala Ile			
[2038]	85	90	95	
[2039]	Ser Pro Asn Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu			
[2040]	100	105	110	
[2041]	<210> 92			
[2042]	<211> 556			
[2043]	<212> PRT			
[2044]	<213> 智人(Homo sapiens)			
[2045]	<220>			
[2046]	<223> CD19 登录号. P15391			
[2047]	<400> 92			
[2048]	Met Pro Pro Pro Arg Leu Leu Phe Phe Leu Leu Phe Leu Thr Pro Met			
[2049]	1	5	10	15
[2050]	Glu Val Arg Pro Glu Glu Pro Leu Val Val Lys Val Glu Glu Gly Asp			
[2051]	20	25	30	
[2052]	Asn Ala Val Leu Gln Cys Leu Lys Gly Thr Ser Asp Gly Pro Thr Gln			
[2053]	35	40	45	
[2054]	Gln Leu Thr Trp Ser Arg Glu Ser Pro Leu Lys Pro Phe Leu Lys Leu			
[2055]	50	55	60	
[2056]	Ser Leu Gly Leu Pro Gly Leu Gly Ile His Met Arg Pro Leu Ala Ile			
[2057]	65	70	75	80
[2058]	Trp Leu Phe Ile Phe Asn Val Ser Gln Gln Met Gly Gly Phe Tyr Leu			
[2059]	85	90	95	
[2060]	Cys Gln Pro Gly Pro Pro Ser Glu Lys Ala Trp Gln Pro Gly Trp Thr			
[2061]	100	105	110	
[2062]	Val Asn Val Glu Gly Ser Gly Glu Leu Phe Arg Trp Asn Val Ser Asp			
[2063]	115	120	125	
[2064]	Leu Gly Gly Leu Gly Cys Gly Leu Lys Asn Arg Ser Ser Glu Gly Pro			
[2065]	130	135	140	
[2066]	Ser Ser Pro Ser Gly Lys Leu Met Ser Pro Lys Leu Tyr Val Trp Ala			

[2067]	145	150	155	160
[2068]	Lys Asp Arg Pro Glu Ile Trp Glu Gly Glu Pro Pro Cys Leu Pro Pro			
[2069]		165	170	175
[2070]	Arg Asp Ser Leu Asn Gln Ser Leu Ser Gln Asp Leu Thr Met Ala Pro			
[2071]		180	185	190
[2072]	Gly Ser Thr Leu Trp Leu Ser Cys Gly Val Pro Pro Asp Ser Val Ser			
[2073]		195	200	205
[2074]	Arg Gly Pro Leu Ser Trp Thr His Val His Pro Lys Gly Pro Lys Ser			
[2075]		210	215	220
[2076]	Leu Leu Ser Leu Glu Leu Lys Asp Asp Arg Pro Ala Arg Asp Met Trp			
[2077]	225	230	235	240
[2078]	Val Met Glu Thr Gly Leu Leu Leu Pro Arg Ala Thr Ala Gln Asp Ala			
[2079]		245	250	255
[2080]	Gly Lys Tyr Tyr Cys His Arg Gly Asn Leu Thr Met Ser Phe His Leu			
[2081]		260	265	270
[2082]	Glu Ile Thr Ala Arg Pro Val Leu Trp His Trp Leu Leu Arg Thr Gly			
[2083]		275	280	285
[2084]	Gly Trp Lys Val Ser Ala Val Thr Leu Ala Tyr Leu Ile Phe Cys Leu			
[2085]		290	295	300
[2086]	Cys Ser Leu Val Gly Ile Leu His Leu Gln Arg Ala Leu Val Leu Arg			
[2087]	305	310	315	320
[2088]	Arg Lys Arg Lys Arg Met Thr Asp Pro Thr Arg Arg Phe Phe Lys Val			
[2089]		325	330	335
[2090]	Thr Pro Pro Pro Gly Ser Gly Pro Gln Asn Gln Tyr Gly Asn Val Leu			
[2091]		340	345	350
[2092]	Ser Leu Pro Thr Pro Thr Ser Gly Leu Gly Arg Ala Gln Arg Trp Ala			
[2093]		355	360	365
[2094]	Ala Gly Leu Gly Gly Thr Ala Pro Ser Tyr Gly Asn Pro Ser Ser Asp			
[2095]		370	375	380
[2096]	Val Gln Ala Asp Gly Ala Leu Gly Ser Arg Ser Pro Pro Gly Val Gly			
[2097]	385	390	395	400
[2098]	Pro Glu Glu Glu Glu Gly Glu Gly Tyr Glu Glu Pro Asp Ser Glu Glu			
[2099]		405	410	415
[2100]	Asp Ser Glu Phe Tyr Glu Asn Asp Ser Asn Leu Gly Gln Asp Gln Leu			
[2101]		420	425	430
[2102]	Ser Gln Asp Gly Ser Gly Tyr Glu Asn Pro Glu Asp Glu Pro Leu Gly			
[2103]		435	440	445
[2104]	Pro Glu Asp Glu Asp Ser Phe Ser Asn Ala Glu Ser Tyr Glu Asn Glu			
[2105]		450	455	460



[2106]	Asp Glu Glu Leu Thr Gln Pro Val Ala Arg Thr Met Asp Phe Leu Ser
[2107]	465 470 475 480
[2108]	Pro His Gly Ser Ala Trp Asp Pro Ser Arg Glu Ala Thr Ser Leu Gly
[2109]	485 490 495
[2110]	Ser Gln Ser Tyr Glu Asp Met Arg Gly Ile Leu Tyr Ala Ala Pro Gln
[2111]	500 505 510
[2112]	Leu Arg Ser Ile Arg Gly Gln Pro Gly Pro Asn His Glu Glu Asp Ala
[2113]	515 520 525
[2114]	Asp Ser Tyr Glu Asn Met Asp Asn Pro Asp Gly Pro Asp Pro Ala Trp
[2115]	530 535 540
[2116]	Gly Gly Gly Gly Arg Met Gly Thr Trp Ser Thr Arg
[2117]	545 550 555
[2118]	<210> 93
[2119]	<211> 7
[2120]	<212> PRT
[2121]	<213> 智人(Homo sapiens)
[2122]	<220>
[2123]	<223> CDR-L2 克隆192B, 克隆192
[2124]	<400> 93
[2125]	Asp Phe Ser Lys Arg Pro Ser
[2126]	1 5
[2127]	<210> 94
[2128]	<211> 7
[2129]	<212> PRT
[2130]	<213> 智人(Homo sapiens)
[2131]	<220>
[2132]	<223> CDR-L2 克隆285
[2133]	<400> 94
[2134]	Asp Val Thr Val Arg Pro Ser
[2135]	1 5
[2136]	<210> 95
[2137]	<211> 7
[2138]	<212> PRT
[2139]	<213> 智人(Homo sapiens)
[2140]	<220>
[2141]	<223> CDR-L2 克隆328
[2142]	<400> 95
[2143]	Asp Val Thr Lys Arg Pro Ser
[2144]	1 5

[2145] <210> 96  
[2146] <211> 7  
[2147] <212> PRT  
[2148] <213> 智人 (Homo sapiens)  
[2149] <220>  
[2150] <223> CDR-L2 克隆1  
[2151] <400> 96  
[2152] Asp Asn Asn Lys Arg Pro Pro  
[2153] 1 5  
[2154] <210> 97  
[2155] <211> 7  
[2156] <212> PRT  
[2157] <213> 智人 (Homo sapiens)  
[2158] <220>  
[2159] <223> CDR-L2 克隆1304 克隆241  
[2160] <400> 97  
[2161] Asp Ala Ser Asn Val Lys Ala  
[2162] 1 5  
[2163] <210> 98  
[2164] <211> 7  
[2165] <212> PRT  
[2166] <213> 智人 (Homo sapiens)  
[2167] <220>  
[2168] <223> CDR-L2 克隆1300  
[2169] <400> 98  
[2170] Asp Ala Ser Arg Leu Ala Ser  
[2171] 1 5  
[2172] <210> 99  
[2173] <211> 7  
[2174] <212> PRT  
[2175] <213> 智人 (Homo sapiens)  
[2176] <220>  
[2177] <223> CDR-L2 克隆227  
[2178] <400> 99  
[2179] Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr  
[2180] 1 5  
[2181] <210> 100  
[2182] <211> 7  
[2183] <212> PRT

[2184]	<213>	智人 (Homo sapiens)
[2185]	<220>	
[2186]	<223>	CDR-L2 克隆488
[2187]	<400>	100
[2188]	Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr	
[2189]	1	5
[2190]	<210>	101
[2191]	<211>	11
[2192]	<212>	PRT
[2193]	<213>	智人 (Homo sapiens)
[2194]	<220>	
[2195]	<223>	CDR-L3 克隆192B
[2196]	<400>	101
[2197]	Ser Ser Tyr Ala Ala Ile Ser Pro Asn Tyr Val	
[2198]	1	5 10
[2199]	<210>	102
[2200]	<211>	11
[2201]	<212>	PRT
[2202]	<213>	智人 (Homo sapiens)
[2203]	<220>	
[2204]	<223>	CDR-L3 克隆192
[2205]	<400>	102
[2206]	Cys Ser Tyr Ala Ala Ile Ser Pro Asn Tyr Val	
[2207]	1	5 10
[2208]	<210>	103
[2209]	<211>	12
[2210]	<212>	PRT
[2211]	<213>	智人 (Homo sapiens)
[2212]	<220>	
[2213]	<223>	CDR-L3 克隆285
[2214]	<400>	103
[2215]	Gly Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Leu Trp Val	
[2216]	1	5 10
[2217]	<210>	104
[2218]	<211>	10
[2219]	<212>	PRT
[2220]	<213>	智人 (Homo sapiens)
[2221]	<220>	
[2222]	<223>	CDR-L3 克隆328

[2223]	<400> 104
[2224]	Thr Ser Tyr Arg Pro Gly Pro Thr Phe Val
[2225]	1 5 10
[2226]	<210> 105
[2227]	<211> 11
[2228]	<212> PRT
[2229]	<213> 智人 (Homo sapiens)
[2230]	<220>
[2231]	<223> CDR-L3 克隆1
[2232]	<400> 105
[2233]	Ala Thr Trp Asp Ser Gly Leu Ser Ala Val Val
[2234]	1 5 10
[2235]	<210> 106
[2236]	<211> 11
[2237]	<212> PRT
[2238]	<213> 智人 (Homo sapiens)
[2239]	<220>
[2240]	<223> CDR-L3 克隆1304 克隆241
[2241]	<400> 106
[2242]	Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Gln Ala Tyr Thr
[2243]	1 5 10
[2244]	<210> 107
[2245]	<211> 10
[2246]	<212> PRT
[2247]	<213> 智人 (Homo sapiens)
[2248]	<220>
[2249]	<223> CDR-L3 克隆1300
[2250]	<400> 107
[2251]	Gln Gln Ser Tyr Gly Ala Pro Met Phe Thr
[2252]	1 5 10
[2253]	<210> 108
[2254]	<211> 9
[2255]	<212> PRT
[2256]	<213> 智人 (Homo sapiens)
[2257]	<220>
[2258]	<223> CDR-L3 克隆227
[2259]	<400> 108
[2260]	Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Leu Thr
[2261]	1 5

[2262] <210> 109  
[2263] <211> 11  
[2264] <212> PRT  
[2265] <213> 智人 (Homo sapiens)  
[2266] <220>  
[2267] <223> CDR-L3 克隆488  
[2268] <400> 109  
[2269] Gln Gln Ser Tyr Ser His Pro Arg Met Tyr Thr  
[2270] 1 5 10  
[2271] <210> 110  
[2272] <211> 14  
[2273] <212> PRT  
[2274] <213> 人工序列  
[2275] <220>  
[2276] <223> 合成  
[2277] <220>  
[2278] <223> CDR-L1共有  
[2279] <220>  
[2280] <221> 变体  
[2281] <222> 1  
[2282] <223> Xaa = Thr, Gln, Ser或Arg  
[2283] <220>  
[2284] <221> 变体  
[2285] <222> 2  
[2286] <223> Xaa = Gly或Ala  
[2287] <220>  
[2288] <221> 变体  
[2289] <222> 3  
[2290] <223> Xaa = Ile, Thr, Asp或Ser  
[2291] <220>  
[2292] <221> 变体  
[2293] <222> 4  
[2294] <223> Xaa = Ser, Arg, Thr或Gln  
[2295] <220>  
[2296] <221> 变体  
[2297] <222> 5  
[2298] <223> Xaa = 空或Ser  
[2299] <220>  
[2300] <221> 变体

[2301]	<222> 6
[2302]	<223> Xaa = 空, Asp, Asn或Gly
[2303]	<220>
[2304]	<221> 变体
[2305]	<222> 7
[2306]	<223> Xaa = 空, Val或Leu
[2307]	<220>
[2308]	<221> 变体
[2309]	<222> 8
[2310]	<223> Xaa = 任意氨基酸或空
[2311]	<220>
[2312]	<221> 变体
[2313]	<222> 9
[2314]	<223> Xaa = 任意氨基酸或空
[2315]	<220>
[2316]	<221> 变体
[2317]	<222> 10
[2318]	<223> Xaa = 任意氨基酸
[2319]	<220>
[2320]	<221> 变体
[2321]	<222> 11
[2322]	<223> Xaa = 任意氨基酸
[2323]	<220>
[2324]	<221> 变体
[2325]	<222> 12
[2326]	<223> Xaa = Tyr, Phe, Asp或Trp
[2327]	<220>
[2328]	<221> 变体
[2329]	<222> 13
[2330]	<223> Xaa = Val, Ala或Leu
[2331]	<220>
[2332]	<221> 变体
[2333]	<222> 14
[2334]	<223> Xaa = Ser, Asn或Ala
[2335]	<400> 110
[2336]	Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
[2337]	1 5 10
[2338]	<210> 111
[2339]	<211> 14

---

[2340]	<212> PRT
[2341]	<213> 人工序列
[2342]	<220>
[2343]	<223> 合成
[2344]	<220>
[2345]	<223> CDR-L1共有
[2346]	<220>
[2347]	<221> 变体
[2348]	<222> 1
[2349]	<223> Xaa = Thr, Gln, Ser或Arg
[2350]	<220>
[2351]	<221> 变体
[2352]	<222> 2
[2353]	<223> Xaa = Gly或Ala
[2354]	<220>
[2355]	<221> 变体
[2356]	<222> 3
[2357]	<223> Xaa = Ile, Thr, Asp或Ser
[2358]	<220>
[2359]	<221> 变体
[2360]	<222> 4
[2361]	<223> Xaa = Ser, Arg, Thr或Gln
[2362]	<220>
[2363]	<221> 变体
[2364]	<222> 5
[2365]	<223> Xaa = 空或Ser
[2366]	<220>
[2367]	<221> 变体
[2368]	<222> 6
[2369]	<223> Xaa = Gly, Asp, Asn或空
[2370]	<220>
[2371]	<221> 变体
[2372]	<222> 7
[2373]	<223> Xaa = 空, Val或Leu
[2374]	<220>
[2375]	<221> 变体
[2376]	<222> 8
[2377]	<223> Xaa = Asp, Gly, Ile, Leu, Ser或空
[2378]	<220>

- [2379] <221> 变体
- [2380] <222> 9
- [2381] <223> Xaa = Ser, Gly, Ala, Ile, Arg或空
- [2382] <220>
- [2383] <221> 变体
- [2384] <222> 10
- [2385] <223> Xaa = His, Tyr, Phe, Ser或Asn
- [2386] <220>
- [2387] <221> 变体
- [2388] <222> 11
- [2389] <223> Xaa = Arg, Asn, Asp, His或Tyr
- [2390] <220>
- [2391] <221> 变体
- [2392] <222> 12
- [2393] <223> Xaa = Tyr, Phe, Asp或Trp
- [2394] <220>
- [2395] <221> 变体
- [2396] <222> 13
- [2397] <223> Xaa = Val, Ala, Leu
- [2398] <220>
- [2399] <221> 变体
- [2400] <222> 14
- [2401] <223> Xaa = Ser, Asn或Ala
- [2402] <400> 111
- [2403] Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
- [2404] 1 5 10
- [2405] <210> 112
- [2406] <211> 7
- [2407] <212> PRT
- [2408] <213> 人工序列
- [2409] <220>
- [2410] <223> 合成
- [2411] <220>
- [2412] <223> CDR-L2
- [2413] 共有
- [2414] <220>
- [2415] <221> 变体
- [2416] <222> 1
- [2417] <223> Xaa = Asp或Ser



- [2418] <220>  
[2419] <221> 变体  
[2420] <222> 2  
[2421] <223> Xaa = Phe, Val, Asn, Lys或Ala  
[2422] <220>  
[2423] <221> 变体  
[2424] <222> 3  
[2425] <223> Xaa = Ser, Thr, Asp或Asn  
[2426] <220>  
[2427] <221> 变体  
[2428] <222> 4  
[2429] <223> Xaa = Lys, Val, Asn, Gln或Arg  
[2430] <220>  
[2431] <221> 变体  
[2432] <222> 5  
[2433] <223> Xaa = Arg, Val或Leu  
[2434] <220>  
[2435] <221> 变体  
[2436] <222> 6  
[2437] <223> Xaa = Pro, Lys, Ala或Glu  
[2438] <220>  
[2439] <221> 变体  
[2440] <222> 7  
[2441] <223> Xaa = Ser, Pro, Ala或Thr  
[2442] <400> 112  
[2443] Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
[2444] 1 5  
[2445] <210> 113  
[2446] <211> 12  
[2447] <212> PRT  
[2448] <213> 人工序列  
[2449] <220>  
[2450] <223> 合成  
[2451] <220>  
[2452] <223> CDR-L3  
[2453] <220>  
[2454] <221> 变体  
[2455] <222> 1  
[2456] <223> Xaa = Cys, Ser, Ala, Gly或Asn

---

[2457]	<220>
[2458]	<221> 变体
[2459]	<222> 2
[2460]	<223> Xaa = Ser, Ala或Thr
[2461]	<220>
[2462]	<221> 变体
[2463]	<222> 3
[2464]	<223> Xaa = Tyr, Trp或Arg
[2465]	<220>
[2466]	<221> 变体
[2467]	<222> 4
[2468]	<223> Xaa = Ala或Asp
[2469]	<220>
[2470]	<221> 变体
[2471]	<222> 5
[2472]	<223> Xaa = Gly, Asp或Ser
[2473]	<220>
[2474]	<221> 变体
[2475]	<222> 6
[2476]	<223> Xaa = Arg, Ser或Asn
[2477]	<220>
[2478]	<221> 变体
[2479]	<222> 7
[2480]	<223> Xaa = Tyr, Leu或Gly
[2481]	<220>
[2482]	<221> 变体
[2483]	<222> 8
[2484]	<223> Xaa = Asn或Ser
[2485]	<220>
[2486]	<221> 变体
[2487]	<222> 9
[2488]	<223> Xaa = Ser, Asn或空
[2489]	<220>
[2490]	<221> 变体
[2491]	<222> 10
[2492]	<223> Xaa = 空
[2493]	<220>
[2494]	<221> 变体
[2495]	<222> 11

[2496]	<223> Xaa = Val, Ala或Trp
[2497]	<220>
[2498]	<221> 变体
[2499]	<222> 12
[2500]	<223> Xaa = Leu或Val
[2501]	<400> 113
[2502]	Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
[2503]	1 5 10
[2504]	<210> 114
[2505]	<211> 12
[2506]	<212> PRT
[2507]	<213> 人工序列
[2508]	<220>
[2509]	<223> 合成
[2510]	<220>
[2511]	<223> CDR-L3共有
[2512]	<220>
[2513]	<221> 变体
[2514]	<222> 1
[2515]	<223> Xaa = Ser, Gly, Thr, Ala, Gln, Cys或Asn
[2516]	<220>
[2517]	<221> 变体
[2518]	<222> 2
[2519]	<223> Xaa = Ser, Gln, Ala或Thr
[2520]	<220>
[2521]	<221> 变体
[2522]	<222> 3
[2523]	<223> Xaa = Tyr, Ser, Trp或Arg
[2524]	<220>
[2525]	<221> 变体
[2526]	<222> 4
[2527]	<223> Xaa = Ala, Asp, Arg, Thr或Tyr
[2528]	<220>
[2529]	<221> 变体
[2530]	<222> 5
[2531]	<223> Xaa = Ala, Ser, Pro, Gly, Asn或Asp
[2532]	<220>
[2533]	<221> 变体
[2534]	<222> 6

- [2535] <223> Xaa = Ile, Ser, Gly, Thr, Ala, Leu, His, Arg或  
 [2536] Asn  
 [2537] <220>  
 [2538] <221> 变体  
 [2539] <222> 7  
 [2540] <223> Xaa = Ser, Pro, Leu, Tyr或Gly  
 [2541] <220>  
 [2542] <221> 变体  
 [2543] <222> 8  
 [2544] <223> Xaa = Pro, Thr, Ser, Gln, Met, Arg, Asn或空  
 [2545] <220>  
 [2546] <221> 变体  
 [2547] <222> 9  
 [2548] <223> Xaa = Ser, Leu, Asn, Ala, Met或空  
 [2549] <220>  
 [2550] <221> 变体  
 [2551] <222> 10  
 [2552] <223> Xaa = Leu或空  
 [2553] <220>  
 [2554] <221> 变体  
 [2555] <222> 11  
 [2556] <223> Xaa = Tyr, Trp, Phe, Val, Ala或Leu  
 [2557] <220>  
 [2558] <221> 变体  
 [2559] <222> 12  
 [2560] <223> Xaa = Val, Thr或Leu  
 [2561] <400> 114  
 [2562] Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 [2563] 1 5 10  
 [2564] <210> 115  
 [2565] <211> 12  
 [2566] <212> PRT  
 [2567] <213> 人工序列  
 [2568] <220>  
 [2569] <223> 合成  
 [2570] <220>  
 [2571] <223> CDR-L3共有  
 [2572] <220>  
 [2573] <221> 变体

- [2574] <222> 1  
[2575] <223> Xaa = 任意氨基酸  
[2576] <220>  
[2577] <221> 变体  
[2578] <222> 2  
[2579] <223> Xaa = Ser, Gln, Ala或Thr  
[2580] <220>  
[2581] <221> 变体  
[2582] <222> 3  
[2583] <223> Xaa = Tyr, Ser, Trp或Arg  
[2584] <220>  
[2585] <221> 变体  
[2586] <222> 4  
[2587] <223> Xaa = Ala, Asp, Arg, Thr或Tyr  
[2588] <220>  
[2589] <221> 变体  
[2590] <222> 5  
[2591] <223> Xaa = 任意氨基酸  
[2592] <220>  
[2593] <221> 变体  
[2594] <222> 6  
[2595] <223> Xaa = 任意氨基酸  
[2596] <220>  
[2597] <221> 变体  
[2598] <222> 7  
[2599] <223> Xaa = Ser, Pro, Leu, Tyr或Gly  
[2600] <220>  
[2601] <221> 变体  
[2602] <222> 8  
[2603] <223> Xaa = 任意氨基酸或空  
[2604] <220>  
[2605] <221> 变体  
[2606] <222> 9  
[2607] <223> Xaa = 任意氨基酸或空  
[2608] <220>  
[2609] <221> 变体  
[2610] <222> 10  
[2611] <223> Xaa = Leu或空  
[2612] <220>

[2613]	<221>	变体
[2614]	<222>	11
[2615]	<223>	Xaa = 任意氨基酸
[2616]	<220>	
[2617]	<221>	变体
[2618]	<222>	12
[2619]	<223>	Xaa = Val, Thr或Leu
[2620]	<400>	115
[2621]	Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa	
[2622]	1	5 10
[2623]	<210>	116
[2624]	<211>	11
[2625]	<212>	PRT
[2626]	<213>	智人(Homo sapiens)
[2627]	<220>	
[2628]	<223>	CDR-L3 克隆79
[2629]	<400>	116
[2630]	Gly Thr Trp Asp Ile Ser Leu Arg Phe Gly Val	
[2631]	1	5 10
[2632]	<210>	117
[2633]	<211>	11
[2634]	<212>	PRT
[2635]	<213>	智人(Homo sapiens)
[2636]	<220>	
[2637]	<223>	CDR-L3 克隆835
[2638]	<400>	117
[2639]	Cys Ser Tyr Glu Ala Pro Thr His Thr Tyr Val	
[2640]	1	5 10
[2641]	<210>	118
[2642]	<211>	10
[2643]	<212>	PRT
[2644]	<213>	智人(Homo sapiens)
[2645]	<220>	
[2646]	<223>	CDR-L3 克隆184
[2647]	<400>	118
[2648]	Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Val Val	
[2649]	1	5 10
[2650]	<210>	119
[2651]	<211>	11

[2652] <212> PRT  
[2653] <213> 智人 (Homo sapiens)  
[2654] <220>  
[2655] <223> CDR-L3 克隆505  
[2656] <400> 119  
[2657] Cys Ser Tyr Ala Gly Ser Tyr Thr Phe Glu Val  
[2658] 1 5 10  
[2659] <210> 120  
[2660] <211> 11  
[2661] <212> PRT  
[2662] <213> 智人 (Homo sapiens)  
[2663] <220>  
[2664] <223> CDR-L3 克隆506  
[2665] <400> 120  
[2666] Cys Ser Phe Ala Gly Tyr Tyr Thr Tyr Trp Leu  
[2667] 1 5 10  
[2668] <210> 121  
[2669] <211> 9  
[2670] <212> PRT  
[2671] <213> 智人 (Homo sapiens)  
[2672] <220>  
[2673] <223> CDR-L3 克隆305  
[2674] <220>  
[2675] <221> 变体  
[2676] <222> 3  
[2677] <223> Xaa = 任意氨基酸  
[2678] <400> 121  
[2679] Ser Ser Xaa Ala Gly Arg Lys Tyr Val  
[2680] 1 5  
[2681] <210> 122  
[2682] <211> 4  
[2683] <212> PRT  
[2684] <213> 人工序列  
[2685] <220>  
[2686] <223> 合成  
[2687] <220>  
[2688] <223> 接头  
[2689] <400> 122  
[2690] Gly Gly Gly Ser

[2691]	1
[2692]	<210> 123
[2693]	<211> 5
[2694]	<212> PRT
[2695]	<213> 人工序列
[2696]	<220>
[2697]	<223> 合成
[2698]	<220>
[2699]	<223> 接头
[2700]	<400> 123
[2701]	Gly Gly Gly Gly Ser
[2702]	1 5
[2703]	<210> 124
[2704]	<211> 12
[2705]	<212> PRT
[2706]	<213> 智人(Homo sapiens)
[2707]	<220>
[2708]	<223> 间隔物(IgG4铰链) (aa)
[2709]	<400> 124
[2710]	Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
[2711]	1 5 10
[2712]	<210> 125
[2713]	<211> 36
[2714]	<212> PRT
[2715]	<213> 智人(Homo sapiens)
[2716]	<220>
[2717]	<223> 间隔物(IgG4铰链) (nt)
[2718]	<400> 125
[2719]	Gly Ala Ala Thr Cys Thr Ala Ala Gly Thr Ala Cys Gly Gly Ala Cys
[2720]	1 5 10 15
[2721]	Cys Gly Cys Cys Cys Thr Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Thr Thr Gly
[2722]	20 25 30
[2723]	Cys Cys Cys Thr
[2724]	35
[2725]	<210> 126
[2726]	<211> 119
[2727]	<212> PRT
[2728]	<213> 智人(Homo sapiens)
[2729]	<220>



[2730]	<223> 铰链-CH3间隔物																			
[2731]	<400> 126																			
[2732]	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Gly	Gln	Pro	Arg				
[2733]	1				5						10					15				
[2734]	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys				
[2735]					20					25					30					
[2736]	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp				
[2737]					35					40				45						
[2738]	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys				
[2739]		50						55					60							
[2740]	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser				
[2741]	65					70					75					80				
[2742]	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser				
[2743]					85					90					95					
[2744]	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser				
[2745]					100					105					110					
[2746]	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys													
[2747]					115															
[2748]	<210> 127																			
[2749]	<211> 229																			
[2750]	<212> PRT																			
[2751]	<213> 智人(Homo sapiens)																			
[2752]	<220>																			
[2753]	<223> 铰链-CH2-CH3间隔物																			
[2754]	<400> 127																			
[2755]	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe				
[2756]	1				5						10					15				
[2757]	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr				
[2758]					20					25					30					
[2759]	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val				
[2760]					35					40				45						
[2761]	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val				
[2762]		50						55				60								
[2763]	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser				
[2764]	65					70					75					80				
[2765]	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu				
[2766]					85					90					95					
[2767]	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser				
[2768]					100					105					110					

[2769]	Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
[2770]	115 120 125
[2771]	Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
[2772]	130 135 140
[2773]	Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
[2774]	145 150 155 160
[2775]	Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
[2776]	165 170 175
[2777]	Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
[2778]	180 185 190
[2779]	Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
[2780]	195 200 205
[2781]	Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
[2782]	210 215 220
[2783]	Leu Ser Leu Gly Lys
[2784]	225
[2785]	<210> 128
[2786]	<211> 282
[2787]	<212> PRT
[2788]	<213> 智人(Homo sapiens)
[2789]	<220>
[2790]	<223> IgD-铰链-Fc
[2791]	<400> 128
[2792]	Arg Trp Pro Glu Ser Pro Lys Ala Gln Ala Ser Ser Val Pro Thr Ala
[2793]	1 5 10 15
[2794]	Gln Pro Gln Ala Glu Gly Ser Leu Ala Lys Ala Thr Thr Ala Pro Ala
[2795]	20 25 30
[2796]	Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu Lys
[2797]	35 40 45
[2798]	Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro
[2799]	50 55 60
[2800]	Ser His Thr Gln Pro Leu Gly Val Tyr Leu Leu Thr Pro Ala Val Gln
[2801]	65 70 75 80
[2802]	Asp Leu Trp Leu Arg Asp Lys Ala Thr Phe Thr Cys Phe Val Val Gly
[2803]	85 90 95
[2804]	Ser Asp Leu Lys Asp Ala His Leu Thr Trp Glu Val Ala Gly Lys Val
[2805]	100 105 110
[2806]	Pro Thr Gly Gly Val Glu Glu Gly Leu Leu Glu Arg His Ser Asn Gly
[2807]	115 120 125

[2808]	Ser Gln Ser Gln His Ser Arg Leu Thr Leu Pro Arg Ser Leu Trp Asn
[2809]	130 135 140
[2810]	Ala Gly Thr Ser Val Thr Cys Thr Leu Asn His Pro Ser Leu Pro Pro
[2811]	145 150 155 160
[2812]	Gln Arg Leu Met Ala Leu Arg Glu Pro Ala Ala Gln Ala Pro Val Lys
[2813]	165 170 175
[2814]	Leu Ser Leu Asn Leu Leu Ala Ser Ser Asp Pro Pro Glu Ala Ala Ser
[2815]	180 185 190
[2816]	Trp Leu Leu Cys Glu Val Ser Gly Phe Ser Pro Pro Asn Ile Leu Leu
[2817]	195 200 205
[2818]	Met Trp Leu Glu Asp Gln Arg Glu Val Asn Thr Ser Gly Phe Ala Pro
[2819]	210 215 220
[2820]	Ala Arg Pro Pro Pro Gln Pro Gly Ser Thr Thr Phe Trp Ala Trp Ser
[2821]	225 230 235 240
[2822]	Val Leu Arg Val Pro Ala Pro Pro Ser Pro Gln Pro Ala Thr Tyr Thr
[2823]	245 250 255
[2824]	Cys Val Val Ser His Glu Asp Ser Arg Thr Leu Leu Asn Ala Ser Arg
[2825]	260 265 270
[2826]	Ser Leu Glu Val Ser Tyr Val Thr Asp His
[2827]	275 280
[2828]	<210> 129
[2829]	<211> 27
[2830]	<212> PRT
[2831]	<213> 智人(Homo sapiens)
[2832]	<220>
[2833]	<223> CD28 (登录号. P10747的氨基酸153-179)
[2834]	<400> 129
[2835]	Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu
[2836]	1 5 10 15
[2837]	Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val
[2838]	20 25
[2839]	<210> 130
[2840]	<211> 66
[2841]	<212> PRT
[2842]	<213> 智人(Homo sapiens)
[2843]	<220>
[2844]	<223> CD28 (登录号. P10747的氨基酸114-179)
[2845]	<400> 130
[2846]	Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn

[2847]	1	5	10	15
[2848]	Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu			
[2849]	20	25	30	
[2850]	Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly			
[2851]	35	40	45	
[2852]	Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe			
[2853]	50	55	60	
[2854]	Trp Val			
[2855]	65			
[2856]	<210> 131			
[2857]	<211> 41			
[2858]	<212> PRT			
[2859]	<213> 智人(Homo sapiens)			
[2860]	<220>			
[2861]	<223> CD28 (P10747的氨基酸180-220)			
[2862]	<400> 131			
[2863]	Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr			
[2864]	1	5	10	15
[2865]	Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro			
[2866]	20	25	30	
[2867]	Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser			
[2868]	35	40		
[2869]	<210> 132			
[2870]	<211> 41			
[2871]	<212> PRT			
[2872]	<213> 智人(Homo sapiens)			
[2873]	<220>			
[2874]	<223> CD28 (LL-GG)			
[2875]	<400> 132			
[2876]	Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr			
[2877]	1	5	10	15
[2878]	Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro			
[2879]	20	25	30	
[2880]	Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser			
[2881]	35	40		
[2882]	<210> 133			
[2883]	<211> 42			
[2884]	<212> PRT			
[2885]	<213> 智人(Homo sapiens)			

[2886]	<220>
[2887]	<223> 4-1BB (Q07011.1的氨基酸214-255)
[2888]	<400> 133
[2889]	Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
[2890]	1 5 10 15
[2891]	Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
[2892]	20 25 30
[2893]	Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
[2894]	35 40
[2895]	<210> 134
[2896]	<211> 112
[2897]	<212> PRT
[2898]	<213> 智人(Homo sapiens)
[2899]	<220>
[2900]	<223> CD3ζ
[2901]	<400> 134
[2902]	Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
[2903]	1 5 10 15
[2904]	Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
[2905]	20 25 30
[2906]	Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
[2907]	35 40 45
[2908]	Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
[2909]	50 55 60
[2910]	Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
[2911]	65 70 75 80
[2912]	Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
[2913]	85 90 95
[2914]	Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
[2915]	100 105 110
[2916]	<210> 135
[2917]	<211> 112
[2918]	<212> PRT
[2919]	<213> 智人(Homo sapiens)
[2920]	<220>
[2921]	<223> CD3ζ
[2922]	<400> 135
[2923]	Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Glu Pro Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
[2924]	1 5 10 15

[2925]	Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
[2926]	20 25 30
[2927]	Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
[2928]	35 40 45
[2929]	Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
[2930]	50 55 60
[2931]	Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
[2932]	65 70 75 80
[2933]	Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
[2934]	85 90 95
[2935]	Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
[2936]	100 105 110
[2937]	<210> 136
[2938]	<211> 112
[2939]	<212> PRT
[2940]	<213> 智人(Homo sapiens)
[2941]	<220>
[2942]	<223> CD3ζ
[2943]	<400> 136
[2944]	Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly
[2945]	1 5 10 15
[2946]	Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
[2947]	20 25 30
[2948]	Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
[2949]	35 40 45
[2950]	Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
[2951]	50 55 60
[2952]	Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
[2953]	65 70 75 80
[2954]	Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
[2955]	85 90 95
[2956]	Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
[2957]	100 105 110
[2958]	<210> 137
[2959]	<211> 24
[2960]	<212> PRT
[2961]	<213> 人工序列
[2962]	<220>
[2963]	<223> 合成

[2964]	<220>
[2965]	<223> T2A
[2966]	<400> 137
[2967]	Leu Glu Gly Gly Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp
[2968]	1 5 10 15
[2969]	Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Arg
[2970]	20
[2971]	<210> 138
[2972]	<211> 357
[2973]	<212> PRT
[2974]	<213> 人工序列
[2975]	<220>
[2976]	<223> 合成
[2977]	<220>
[2978]	<223> tEGFR
[2979]	<400> 138
[2980]	Met Leu Leu Leu Val Thr Ser Leu Leu Leu Cys Glu Leu Pro His Pro
[2981]	1 5 10 15
[2982]	Ala Phe Leu Leu Ile Pro Arg Lys Val Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly
[2983]	20 25 30
[2984]	Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn Ala Thr Asn Ile Lys His Phe
[2985]	35 40 45
[2986]	Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp Leu His Ile Leu Pro Val Ala
[2987]	50 55 60
[2988]	Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu
[2989]	65 70 75 80
[2990]	Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile
[2991]	85 90 95
[2992]	Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp Leu His Ala Phe Glu Asn Leu
[2993]	100 105 110
[2994]	Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln His Gly Gln Phe Ser Leu Ala
[2995]	115 120 125
[2996]	Val Val Ser Leu Asn Ile Thr Ser Leu Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu
[2997]	130 135 140
[2998]	Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr
[2999]	145 150 155 160
[3000]	Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys
[3001]	165 170 175
[3002]	Thr Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly

[3003]	180								185								190															
[3004]	Gln	Val	Cys	His	Ala	Leu	Cys	Ser	Pro	Glu	Gly	Cys	Trp	Gly	Pro	Glu																
[3005]	195								200								205															
[3006]	Pro	Arg	Asp	Cys	Val	Ser	Cys	Arg	Asn	Val	Ser	Arg	Gly	Arg	Glu	Cys																
[3007]	210								215								220															
[3008]	Val	Asp	Lys	Cys	Asn	Leu	Leu	Glu	Gly	Glu	Pro	Arg	Glu	Phe	Val	Glu																
[3009]	225								230								235								240							
[3010]	Asn	Ser	Glu	Cys	Ile	Gln	Cys	His	Pro	Glu	Cys	Leu	Pro	Gln	Ala	Met																
[3011]	245								250								255															
[3012]	Asn	Ile	Thr	Cys	Thr	Gly	Arg	Gly	Pro	Asp	Asn	Cys	Ile	Gln	Cys	Ala																
[3013]	260								265								270															
[3014]	His	Tyr	Ile	Asp	Gly	Pro	His	Cys	Val	Lys	Thr	Cys	Pro	Ala	Gly	Val																
[3015]	275								280								285															
[3016]	Met	Gly	Glu	Asn	Asn	Thr	Leu	Val	Trp	Lys	Tyr	Ala	Asp	Ala	Gly	His																
[3017]	290								295								300															
[3018]	Val	Cys	His	Leu	Cys	His	Pro	Asn	Cys	Thr	Tyr	Gly	Cys	Thr	Gly	Pro																
[3019]	305								310								315								320							
[3020]	Gly	Leu	Glu	Gly	Cys	Pro	Thr	Asn	Gly	Pro	Lys	Ile	Pro	Ser	Ile	Ala																
[3021]	325								330								335															
[3022]	Thr	Gly	Met	Val	Gly	Ala	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Val	Val	Ala	Leu	Gly																
[3023]	340								345								350															
[3024]	Ile	Gly	Leu	Phe	Met																											
[3025]	355																															
[3026]	<210>	139																														
[3027]	<211>	557																														
[3028]	<212>	PRT																														
[3029]	<213>	恒河猴(Macaca mulatta)																														
[3030]	<220>																															
[3031]	<223>	登录号. F7F486																														
[3032]	<400>	139																														
[3033]	Met	Pro	Pro	Pro	Cys	Leu	Leu	Phe	Phe	Leu	Leu	Phe	Leu	Thr	Pro	Met																
[3034]	1	5								10								15														
[3035]	Glu	Val	Arg	Pro	Gln	Glu	Pro	Leu	Val	Val	Lys	Val	Glu	Glu	Gly	Asp																
[3036]	20								25								30															
[3037]	Asn	Ala	Val	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Gly	Thr	Ser	Asp	Gly	Pro	Thr	Gln																
[3038]	35								40								45															
[3039]	Gln	Leu	Val	Trp	Cys	Arg	Asp	Ser	Pro	Phe	Glu	Pro	Phe	Leu	Asn	Leu																
[3040]	50								55								60															
[3041]	Ser	Leu	Gly	Leu	Pro	Gly	Met	Gly	Ile	Arg	Met	Gly	Pro	Leu	Gly	Ile																



[3042]	65					70										80
[3043]	Trp	Leu	Leu	Ile	Phe	Asn	Val	Ser	Asn	Gln	Thr	Gly	Gly	Phe	Tyr	Leu
[3044]						85										95
[3045]	Cys	Gln	Pro	Gly	Leu	Pro	Ser	Glu	Lys	Ala	Trp	Gln	Pro	Gly	Trp	Thr
[3046]						100										110
[3047]	Val	Ser	Val	Glu	Gly	Ser	Gly	Glu	Leu	Phe	Arg	Trp	Asn	Val	Ser	Asp
[3048]						115										125
[3049]	Leu	Gly	Gly	Leu	Gly	Cys	Gly	Leu	Lys	Asn	Arg	Ser	Ser	Glu	Gly	Pro
[3050]						130										140
[3051]	Ser	Ser	Pro	Ser	Gly	Lys	Leu	Asn	Ser	Ser	Gln	Leu	Tyr	Val	Trp	Ala
[3052]	145					150										160
[3053]	Lys	Asp	Arg	Pro	Glu	Met	Trp	Glu	Gly	Glu	Pro	Val	Cys	Gly	Pro	Pro
[3054]						165										175
[3055]	Arg	Asp	Ser	Leu	Asn	Gln	Ser	Leu	Ser	Gln	Asp	Leu	Thr	Met	Ala	Pro
[3056]						180										190
[3057]	Gly	Ser	Thr	Leu	Trp	Leu	Ser	Cys	Gly	Val	Pro	Pro	Asp	Ser	Val	Ser
[3058]						195										205
[3059]	Arg	Gly	Pro	Leu	Ser	Trp	Thr	His	Val	Arg	Pro	Lys	Gly	Pro	Lys	Ser
[3060]						210										220
[3061]	Ser	Leu	Leu	Ser	Leu	Glu	Leu	Lys	Asp	Asp	Arg	Pro	Asp	Arg	Asp	Met
[3062]	225					230										240
[3063]	Trp	Val	Val	Asp	Thr	Gly	Leu	Leu	Leu	Thr	Arg	Ala	Thr	Ala	Gln	Asp
[3064]						245										255
[3065]	Ala	Gly	Lys	Tyr	Tyr	Cys	His	Arg	Gly	Asn	Trp	Thr	Lys	Ser	Phe	Tyr
[3066]						260										270
[3067]	Leu	Glu	Ile	Thr	Ala	Arg	Pro	Ala	Leu	Trp	His	Trp	Leu	Leu	Arg	Ile
[3068]						275										285
[3069]	Gly	Gly	Trp	Lys	Val	Pro	Ala	Val	Thr	Leu	Thr	Tyr	Leu	Ile	Phe	Cys
[3070]						290										300
[3071]	Leu	Cys	Ser	Leu	Val	Gly	Ile	Leu	Gln	Leu	Gln	Arg	Ala	Leu	Val	Leu
[3072]	305					310										320
[3073]	Arg	Arg	Lys	Arg	Lys	Arg	Met	Thr	Asp	Pro	Thr	Arg	Arg	Phe	Phe	Lys
[3074]						325										335
[3075]	Val	Thr	Pro	Pro	Pro	Gly	Ser	Gly	Pro	Gln	Asn	Gln	Tyr	Gly	Asn	Val
[3076]						340										350
[3077]	Leu	Ser	Leu	Pro	Thr	Pro	Thr	Ser	Gly	Leu	Gly	Arg	Ala	Gln	Arg	Trp
[3078]						355										365
[3079]	Ala	Ala	Gly	Leu	Gly	Gly	Thr	Ala	Pro	Ser	Tyr	Gly	Asn	Pro	Ser	Ser
[3080]						370										380

[3081]	Asp Val Gln Val Asp Gly Ala Val Gly Ser Arg Ser Pro Pro Gly Ala
[3082]	385 390 395 400
[3083]	Gly Pro Glu Glu Glu Glu Gly Glu Gly Tyr Glu Glu Pro Asp Ser Glu
[3084]	405 410 415
[3085]	Glu Gly Ser Glu Phe Tyr Glu Asn Asp Ser Asn Phe Gly Gln Asp Gln
[3086]	420 425 430
[3087]	Leu Ser Gln Asp Gly Ser Gly Tyr Glu Asn Pro Glu Asp Glu Pro Leu
[3088]	435 440 445
[3089]	Gly Pro Glu Asp Glu Asp Ser Phe Ser Asn Ala Glu Ser Tyr Glu Asn
[3090]	450 455 460
[3091]	Glu Asp Glu Glu Leu Thr Gln Pro Val Ala Arg Thr Met Asp Phe Leu
[3092]	465 470 475 480
[3093]	Ser Pro His Gly Ser Ala Trp Asp Pro Ser Arg Glu Ala Thr Ser Leu
[3094]	485 490 495
[3095]	Gly Ser Gln Ser Tyr Glu Asp Met Arg Gly Leu Leu Tyr Ala Ala Pro
[3096]	500 505 510
[3097]	Gln Leu Arg Thr Ile Arg Gly Gln Pro Gly Pro Asn His Glu Glu Asp
[3098]	515 520 525
[3099]	Ala Asp Ser Tyr Glu Asn Met Asp Asn Pro Asp Gly Pro Asp Pro Ala
[3100]	530 535 540
[3101]	Trp Gly Gly Gly Gly Arg Met Gly Thr Trp Ser Ala Arg
[3102]	545 550 555
[3103]	<210> 140
[3104]	<211> 74
[3105]	<212> PRT
[3106]	<213> 人工序列
[3107]	<220>
[3108]	<223> 合成
[3109]	<220>
[3110]	<223> V1嵌合恒河猴/人
[3111]	<400> 140
[3112]	His Pro Lys Gly Pro Lys Ser Leu Leu Ser Leu Glu Leu Lys Asp Asp
[3113]	1 5 10 15
[3114]	Arg Pro Ala Arg Asp Met Trp Val Met Glu Thr Gly Leu Leu Leu Pro
[3115]	20 25 30
[3116]	Arg Ala Thr Ala Gln Asp Ala Gly Lys Tyr Tyr Cys His Arg Gly Asn
[3117]	35 40 45
[3118]	Leu Thr Met Ser Phe His Leu Glu Ile Thr Ala Arg Pro Val Leu Trp
[3119]	50 55 60

[3120]	His Trp Leu Leu Arg Thr Gly Gly Trp Lys
[3121]	65 70
[3122]	<210> 141
[3123]	<211> 75
[3124]	<212> PRT
[3125]	<213> 人工序列
[3126]	<220>
[3127]	<223> 合成
[3128]	<220>
[3129]	<223> V2嵌合恒河猴/人
[3130]	<400> 141
[3131]	Arg Pro Lys Gly Pro Lys Ser Ser Leu Leu Ser Leu Glu Leu Lys Asp
[3132]	1 5 10 15
[3133]	Asp Arg Pro Asp Arg Asp Met Trp Val Val Asp Thr Gly Leu Leu Leu
[3134]	20 25 30
[3135]	Thr Arg Ala Thr Ala Gln Asp Ala Gly Lys Tyr Tyr Cys His Arg Gly
[3136]	35 40 45
[3137]	Asn Leu Thr Met Ser Phe His Leu Glu Ile Thr Ala Arg Pro Val Leu
[3138]	50 55 60
[3139]	Trp His Trp Leu Leu Arg Thr Gly Gly Trp Lys
[3140]	65 70 75
[3141]	<210> 142
[3142]	<211> 74
[3143]	<212> PRT
[3144]	<213> 人工序列
[3145]	<220>
[3146]	<223> 合成
[3147]	<220>
[3148]	<223> V3嵌合恒河猴/人
[3149]	<400> 142
[3150]	His Pro Lys Gly Pro Lys Ser Leu Leu Ser Leu Glu Leu Lys Asp Asp
[3151]	1 5 10 15
[3152]	Arg Pro Ala Arg Asp Met Trp Val Met Glu Thr Gly Leu Leu Leu Pro
[3153]	20 25 30
[3154]	Arg Ala Thr Ala Gln Asp Ala Gly Lys Tyr Tyr Cys His Arg Gly Asn
[3155]	35 40 45
[3156]	Trp Thr Lys Ser Phe Tyr Leu Glu Ile Thr Ala Arg Pro Ala Leu Trp
[3157]	50 55 60
[3158]	His Trp Leu Leu Arg Ile Gly Gly Trp Lys

[3159]	65	70
[3160]	<210> 143	
[3161]	<211> 32	
[3162]	<212> PRT	
[3163]	<213> 人工序列	
[3164]	<220>	
[3165]	<223> 合成	
[3166]	<400> 143	
[3167]	His Pro Lys Gly Pro Lys Ser Leu Leu Ser Leu Glu Leu Lys Asp Asp	
[3168]	1 5 10 15	
[3169]	Arg Pro Ala Arg Asp Met Trp Val Met Glu Thr Gly Leu Leu Leu Pro	
[3170]	20 25 30	
[3171]	<210> 144	
[3172]	<211> 33	
[3173]	<212> PRT	
[3174]	<213> 人工序列	
[3175]	<220>	
[3176]	<223> 合成	
[3177]	<400> 144	
[3178]	Arg Pro Lys Gly Pro Lys Ser Ser Leu Leu Ser Leu Glu Leu Lys Asp	
[3179]	1 5 10 15	
[3180]	Asp Arg Pro Asp Arg Asp Met Trp Val Val Asp Thr Gly Leu Leu Leu	
[3181]	20 25 30	
[3182]	Thr	
[3183]	<210> 145	
[3184]	<211> 16	
[3185]	<212> PRT	
[3186]	<213> 智人(Homo sapiens)	
[3187]	<220>	
[3188]	<223> CDR-H3 克隆305	
[3189]	<220>	
[3190]	<221> 变体	
[3191]	<222> 4	
[3192]	<223> Xaa = 任意氨基酸	
[3193]	<220>	
[3194]	<221> 变体	
[3195]	<222> 6	
[3196]	<223> Xaa = 任意氨基酸	
[3197]	<220>	

[3198]	<221>	变体
[3199]	<222>	15
[3200]	<223>	Xaa = 任意氨基酸
[3201]	<400>	145
[3202]	Asp Gln Gly Xaa His Xaa Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe Xaa Ile	
[3203]	1	5 10 15
[3204]	<210>	146
[3205]	<211>	11
[3206]	<212>	PRT
[3207]	<213>	智人(Homo sapiens)
[3208]	<220>	
[3209]	<223>	CDR-L1 克隆255
[3210]	<400>	146
[3211]	Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn	
[3212]	1	5 10
[3213]	<210>	147
[3214]	<211>	14
[3215]	<212>	PRT
[3216]	<213>	智人(Homo sapiens)
[3217]	<220>	
[3218]	<223>	CDR-L1 克隆305
[3219]	<400>	147
[3220]	Thr Gly Thr Gly Arg Asp Ile Gly Ala Tyr Asp Tyr Val Ser	
[3221]	1	5 10
[3222]	<210>	148
[3223]	<211>	14
[3224]	<212>	PRT
[3225]	<213>	智人(Homo sapiens)
[3226]	<220>	
[3227]	<223>	CDR-L1 克隆327
[3228]	<400>	148
[3229]	Thr Glu Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser	
[3230]	1	5 10
[3231]	<210>	149
[3232]	<211>	14
[3233]	<212>	PRT
[3234]	<213>	智人(Homo sapiens)
[3235]	<220>	
[3236]	<223>	CDR-L1 克隆505

[3237]	<400> 149
[3238]	Thr Gly Ala Ser Thr Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
[3239]	1 5 10
[3240]	<210> 150
[3241]	<211> 14
[3242]	<212> PRT
[3243]	<213> 智人(Homo sapiens)
[3244]	<220>
[3245]	<223> CDR-L1 克隆506
[3246]	<400> 150
[3247]	Thr Gly Ala Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asp His Val Ser
[3248]	1 5 10
[3249]	<210> 151
[3250]	<211> 13
[3251]	<212> PRT
[3252]	<213> 智人(Homo sapiens)
[3253]	<220>
[3254]	<223> CDR-L1 克隆184
[3255]	<400> 151
[3256]	Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr Val Asn
[3257]	1 5 10
[3258]	<210> 152
[3259]	<211> 14
[3260]	<212> PRT
[3261]	<213> 智人(Homo sapiens)
[3262]	<220>
[3263]	<223> CDR-L1 克隆835
[3264]	<400> 152
[3265]	Thr Gly Pro Ile Ser Gly Val Gly Asp Tyr Thr Ser Val Ser
[3266]	1 5 10
[3267]	<210> 153
[3268]	<211> 7
[3269]	<212> PRT
[3270]	<213> 智人(Homo sapiens)
[3271]	<220>
[3272]	<223> CDR-L2 克隆272
[3273]	<400> 153
[3274]	Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
[3275]	1 5

[3276] <210> 154  
[3277] <211> 7  
[3278] <212> PRT  
[3279] <213> 智人 (Homo sapiens)  
[3280] <220>  
[3281] <223> CDR-L2 克隆305  
[3282] <400> 154  
[3283] Gly Val Asn Lys Arg Pro Ser  
[3284] 1 5  
[3285] <210> 155  
[3286] <211> 7  
[3287] <212> PRT  
[3288] <213> 智人 (Homo sapiens)  
[3289] <220>  
[3290] <223> CDR-L2 克隆505  
[3291] <400> 155  
[3292] Asp Val Asn Lys Arg Pro Ser  
[3293] 1 5  
[3294] <210> 156  
[3295] <211> 7  
[3296] <212> PRT  
[3297] <213> 智人 (Homo sapiens)  
[3298] <220>  
[3299] <223> CDR-L2 克隆79  
[3300] <400> 156  
[3301] Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser  
[3302] 1 5  
[3303] <210> 157  
[3304] <211> 7  
[3305] <212> PRT  
[3306] <213> 智人 (Homo sapiens)  
[3307] <220>  
[3308] <223> CDR-L2 克隆835  
[3309] <400> 157  
[3310] Asp Val Thr Gln Arg Pro Ser  
[3311] 1 5  
[3312] <210> 158  
[3313] <211> 12  
[3314] <212> PRT

[3315]	<213>	智人 (Homo sapiens)
[3316]	<220>	
[3317]	<223>	CDR-L3
[3318]		克隆272
[3319]	<400>	158
[3320]		Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Asn Arg Asp Trp Val
[3321]	1	5 10
[3322]	<210>	159
[3323]	<211>	11
[3324]	<212>	PRT
[3325]	<213>	智人 (Homo sapiens)
[3326]	<220>	
[3327]	<223>	CDR-L3 克隆508
[3328]	<400>	159
[3329]		Cys Ser Tyr Ala Gly Arg Tyr Asn Ser Val Pro
[3330]	1	5 10
[3331]	<210>	160
[3332]	<211>	7
[3333]	<212>	PRT
[3334]	<213>	智人 (Homo sapiens)
[3335]	<220>	
[3336]	<223>	CDR-H1 克隆1265
[3337]	<400>	160
[3338]		Thr Ser Gly Val Gly Val Gly
[3339]	1	5
[3340]	<210>	161
[3341]	<211>	16
[3342]	<212>	PRT
[3343]	<213>	智人 (Homo sapiens)
[3344]	<220>	
[3345]	<223>	CDR-H2 克隆1265
[3346]	<400>	161
[3347]		Leu Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Ser Pro Ser Leu Lys Ser
[3348]	1	5 10 15
[3349]	<210>	162
[3350]	<211>	20
[3351]	<212>	PRT
[3352]	<213>	智人 (Homo sapiens)
[3353]	<220>	



[3354] <223> CDR-H3 克隆1265  
[3355] <400> 162  
[3356] Ile Asp Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Ser Pro Arg Thr Ser Tyr Tyr Tyr  
[3357] 1 5 10 15  
[3358] Tyr Met Ser Val  
[3359] 20  
[3360] <210> 163  
[3361] <211> 11  
[3362] <212> PRT  
[3363] <213> 智人(Homo sapiens)  
[3364] <220>  
[3365] <223> CDR-L1 克隆1265  
[3366] <400> 163  
[3367] Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr Leu Asn  
[3368] 1 5 10  
[3369] <210> 164  
[3370] <211> 7  
[3371] <212> PRT  
[3372] <213> 智人(Homo sapiens)  
[3373] <220>  
[3374] <223> CDR-L2 克隆1265  
[3375] <400> 164  
[3376] Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser  
[3377] 1 5  
[3378] <210> 165  
[3379] <211> 9  
[3380] <212> PRT  
[3381] <213> 智人(Homo sapiens)  
[3382] <220>  
[3383] <223> CDR-L3 克隆1265  
[3384] <400> 165  
[3385] Gln Gln Gly Asp Ala Phe Pro Leu Thr  
[3386] 1 5  
[3387] <210> 166  
[3388] <211> 130  
[3389] <212> PRT  
[3390] <213> 智人(Homo sapiens)  
[3391] <220>  
[3392] <223> VH 克隆1265

[3393]	<400> 166
[3394]	Gln Ile Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Thr Leu Val Lys Pro Thr Gln
[3395]	1 5 10 15
[3396]	Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
[3397]	20 25 30
[3398]	Gly Val Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
[3399]	35 40 45
[3400]	Trp Leu Ala Leu Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Ser Pro Ser
[3401]	50 55 60
[3402]	Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
[3403]	65 70 75 80
[3404]	Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
[3405]	85 90 95
[3406]	Cys Ala His Ile Asp Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Ser Pro Arg Thr Ser
[3407]	100 105 110
[3408]	Tyr Tyr Tyr Tyr Met Ser Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val
[3409]	115 120 125
[3410]	Ser Ser
[3411]	130
[3412]	<210> 167
[3413]	<211> 125
[3414]	<212> PRT
[3415]	<213> 智人(Homo sapiens)
[3416]	<220>
[3417]	<223> VH 克隆213
[3418]	<400> 167
[3419]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
[3420]	1 5 10 15
[3421]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
[3422]	20 25 30
[3423]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[3424]	35 40 45
[3425]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
[3426]	50 55 60
[3427]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
[3428]	65 70 75 80
[3429]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3430]	85 90 95
[3431]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

[3432]	100	105	110
[3433]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser		
[3434]	115	120	125
[3435]	<210> 168		
[3436]	<211> 125		
[3437]	<212> PRT		
[3438]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[3439]	<220>		
[3440]	<223> VH 克隆255		
[3441]	<400> 168		
[3442]	Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg		
[3443]	1 5 10 15		
[3444]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr		
[3445]	20 25 30		
[3446]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[3447]	35 40 45		
[3448]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val		
[3449]	50 55 60		
[3450]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr		
[3451]	65 70 75 80		
[3452]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[3453]	85 90 95		
[3454]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe		
[3455]	100 105 110		
[3456]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser		
[3457]	115 120 125		
[3458]	<210> 169		
[3459]	<211> 125		
[3460]	<212> PRT		
[3461]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[3462]	<220>		
[3463]	<223> VH 克隆272		
[3464]	<400> 169		
[3465]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg		
[3466]	1 5 10 15		
[3467]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr		
[3468]	20 25 30		
[3469]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[3470]	35 40 45		

[3471]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
[3472]	50 55 60
[3473]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
[3474]	65 70 75 80
[3475]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3476]	85 90 95
[3477]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
[3478]	100 105 110
[3479]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser
[3480]	115 120 125
[3481]	<210> 170
[3482]	<211> 125
[3483]	<212> PRT
[3484]	<213> 智人(Homo sapiens)
[3485]	<220>
[3486]	<223> VH 克隆283
[3487]	<400> 170
[3488]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
[3489]	1 5 10 15
[3490]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
[3491]	20 25 30
[3492]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[3493]	35 40 45
[3494]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
[3495]	50 55 60
[3496]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
[3497]	65 70 75 80
[3498]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3499]	85 90 95
[3500]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
[3501]	100 105 110
[3502]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser
[3503]	115 120 125
[3504]	<210> 171
[3505]	<211> 125
[3506]	<212> PRT
[3507]	<213> 智人(Homo sapiens)
[3508]	<220>
[3509]	<223> VH 克隆302

[3510] <400> 171  
 [3511] Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg  
 [3512] 1 5 10 15  
 [3513] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr  
 [3514] 20 25 30  
 [3515] Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 [3516] 35 40 45  
 [3517] Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val  
 [3518] 50 55 60  
 [3519] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe  
 [3520] 65 70 75 80  
 [3521] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 [3522] 85 90 95  
 [3523] Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe  
 [3524] 100 105 110  
 [3525] Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser  
 [3526] 115 120 125  
 [3527] <210> 172  
 [3528] <211> 98  
 [3529] <212> PRT  
 [3530] <213> 智人(Homo sapiens)  
 [3531] <220>  
 [3532] <223> VH 克隆305  
 [3533] <220>  
 [3534] <221> 变体  
 [3535] <222> 64  
 [3536] <223> Xaa = 任意氨基酸  
 [3537] <220>  
 [3538] <221> 变体  
 [3539] <222> 65  
 [3540] <223> Xaa = 任意氨基酸  
 [3541] <220>  
 [3542] <221> 变体  
 [3543] <222> 68  
 [3544] <223> Xaa = 任意氨基酸  
 [3545] <220>  
 [3546] <221> 变体  
 [3547] <222> 69  
 [3548] <223> Xaa = 任意氨基酸

[3549]	<220>
[3550]	<221> 变体
[3551]	<222> 93
[3552]	<223> Xaa = 任意氨基酸
[3553]	<220>
[3554]	<221> 变体
[3555]	<222> (98) ... (0)
[3556]	<223> Xaa = 任意氨基酸
[3557]	<400> 172
[3558]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
[3559]	1 5 10 15
[3560]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
[3561]	20 25 30
[3562]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[3563]	35 40 45
[3564]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Xaa
[3565]	50 55 60
[3566]	Xaa Gly Arg Xaa Xaa Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
[3567]	65 70 75 80
[3568]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Xaa Tyr Tyr Cys
[3569]	85 90 95
[3570]	Ala Xaa
[3571]	<210> 173
[3572]	<211> 125
[3573]	<212> PRT
[3574]	<213> 智人(Homo sapiens)
[3575]	<220>
[3576]	<223> VH 克隆314
[3577]	<400> 173
[3578]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
[3579]	1 5 10 15
[3580]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
[3581]	20 25 30
[3582]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[3583]	35 40 45
[3584]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
[3585]	50 55 60
[3586]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
[3587]	65 70 75 80

[3588]	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
[3589]					85					90					95	
[3590]	Ala	Arg	Asp	Gln	Gly	Tyr	His	Tyr	Tyr	Asp	Ser	Ala	Glu	His	Ala	Phe
[3591]					100					105					110	
[3592]	Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Val	Val	Thr	Val	Ser	Ser			
[3593]					115					120					125	
[3594]	<210> 174															
[3595]	<211> 125															
[3596]	<212> PRT															
[3597]	<213> 智人(Homo sapiens)															
[3598]	<220>															
[3599]	<223> VH 克隆379															
[3600]	<400> 174															
[3601]	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Arg
[3602]	1				5					10					15	
[3603]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asp	Asp	Tyr
[3604]					20					25					30	
[3605]	Ala	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
[3606]					35					40					45	
[3607]	Ser	Gly	Ile	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Arg	Ile	Gly	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
[3608]			50						55					60		
[3609]	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Phe
[3610]	65					70					75				80	
[3611]	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
[3612]					85					90					95	
[3613]	Ala	Arg	Asp	Gln	Gly	Tyr	His	Tyr	Tyr	Asp	Ser	Ala	Glu	His	Ala	Phe
[3614]					100					105					110	
[3615]	Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Val	Val	Thr	Val	Ser	Ser			
[3616]					115					120					125	
[3617]	<210> 175															
[3618]	<211> 125															
[3619]	<212> PRT															
[3620]	<213> 智人(Homo sapiens)															
[3621]	<220>															
[3622]	<223> VH 克隆324															
[3623]	<400> 175															
[3624]	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Arg
[3625]	1				5					10					15	
[3626]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asp	Asp	Tyr

[3627]	20	25	30
[3628]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[3629]	35	40	45
[3630]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val		
[3631]	50	55	60
[3632]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe		
[3633]	65	70	75
[3634]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[3635]	85	90	95
[3636]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe		
[3637]	100	105	110
[3638]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser		
[3639]	115	120	125
[3640]	<210> 176		
[3641]	<211> 125		
[3642]	<212> PRT		
[3643]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[3644]	<220>		
[3645]	<223> VH 克隆327		
[3646]	<220>		
[3647]	<221> 变体		
[3648]	<222> 76		
[3649]	<223> Xaa = 任意氨基酸		
[3650]	<400> 176		
[3651]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg		
[3652]	1	5	10
[3653]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr		
[3654]	20	25	30
[3655]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[3656]	35	40	45
[3657]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val		
[3658]	50	55	60
[3659]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Xaa Asn Ser Leu Phe		
[3660]	65	70	75
[3661]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[3662]	85	90	95
[3663]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe		
[3664]	100	105	110
[3665]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser		



[3666]	115	120	125
[3667]	<210> 177		
[3668]	<211> 125		
[3669]	<212> PRT		
[3670]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[3671]	<220>		
[3672]	<223> VH 克隆336		
[3673]	<400> 177		
[3674]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg		
[3675]	1 5 10 15		
[3676]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr		
[3677]	20 25 30		
[3678]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[3679]	35 40 45		
[3680]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val		
[3681]	50 55 60		
[3682]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe		
[3683]	65 70 75 80		
[3684]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[3685]	85 90 95		
[3686]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe		
[3687]	100 105 110		
[3688]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser		
[3689]	115 120 125		
[3690]	<210> 178		
[3691]	<211> 125		
[3692]	<212> PRT		
[3693]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[3694]	<220>		
[3695]	<223> VH 克隆440		
[3696]	<400> 178		
[3697]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg		
[3698]	1 5 10 15		
[3699]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr		
[3700]	20 25 30		
[3701]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[3702]	35 40 45		
[3703]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val		
[3704]	50 55 60		

[3705]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
[3706]	65 70 75 80
[3707]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3708]	85 90 95
[3709]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
[3710]	100 105 110
[3711]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser
[3712]	115 120 125
[3713]	<210> 179
[3714]	<211> 125
[3715]	<212> PRT
[3716]	<213> 智人(Homo sapiens)
[3717]	<220>
[3718]	<223> VH 克隆448
[3719]	<400> 179
[3720]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
[3721]	1 5 10 15
[3722]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
[3723]	20 25 30
[3724]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[3725]	35 40 45
[3726]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
[3727]	50 55 60
[3728]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
[3729]	65 70 75 80
[3730]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[3731]	85 90 95
[3732]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
[3733]	100 105 110
[3734]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser
[3735]	115 120 125
[3736]	<210> 180
[3737]	<211> 125
[3738]	<212> PRT
[3739]	<213> 智人(Homo sapiens)
[3740]	<220>
[3741]	<223> VH 克隆505
[3742]	<400> 180
[3743]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

[3744]	1	5	10	15
[3745]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr			
[3746]	20	25	30	
[3747]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
[3748]	35	40	45	
[3749]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val			
[3750]	50	55	60	
[3751]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe			
[3752]	65	70	75	80
[3753]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
[3754]	85	90	95	
[3755]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe			
[3756]	100	105	110	
[3757]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser			
[3758]	115	120	125	
[3759]	<210> 181			
[3760]	<211> 125			
[3761]	<212> PRT			
[3762]	<213> 智人(Homo sapiens)			
[3763]	<220>			
[3764]	<223> VH 克隆506			
[3765]	<400> 181			
[3766]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg			
[3767]	1	5	10	15
[3768]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr			
[3769]	20	25	30	
[3770]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
[3771]	35	40	45	
[3772]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val			
[3773]	50	55	60	
[3774]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe			
[3775]	65	70	75	80
[3776]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
[3777]	85	90	95	
[3778]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe			
[3779]	100	105	110	
[3780]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser			
[3781]	115	120	125	
[3782]	<210> 182			

[3783]	<211>	125
[3784]	<212>	PRT
[3785]	<213>	智人(Homo sapiens)
[3786]	<220>	
[3787]	<223>	VH 克隆508
[3788]	<400>	182
[3789]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg	
[3790]	1	5 10 15
[3791]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr	
[3792]	20	25 30
[3793]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[3794]	35	40 45
[3795]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val	
[3796]	50	55 60
[3797]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe	
[3798]	65	70 75 80
[3799]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[3800]	85	90 95
[3801]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe	
[3802]	100	105 110
[3803]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser	
[3804]	115	120 125
[3805]	<210>	183
[3806]	<211>	125
[3807]	<212>	PRT
[3808]	<213>	智人(Homo sapiens)
[3809]	<220>	
[3810]	<223>	VH 克隆184
[3811]	<400>	183
[3812]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg	
[3813]	1	5 10 15
[3814]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr	
[3815]	20	25 30
[3816]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[3817]	35	40 45
[3818]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val	
[3819]	50	55 60
[3820]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe	
[3821]	65	70 75 80

[3822]	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
[3823]				85					90					95		
[3824]	Ala	Arg	Asp	Gln	Gly	Tyr	His	Tyr	Tyr	Asp	Ser	Ala	Glu	His	Ala	Phe
[3825]				100					105					110		
[3826]	Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser			
[3827]				115				120						125		
[3828]	<210>	184														
[3829]	<211>	125														
[3830]	<212>	PRT														
[3831]	<213>	智人 (Homo sapiens)														
[3832]	<220>															
[3833]	<223>	VH 克隆79														
[3834]	<400>	184														
[3835]	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Arg
[3836]	1			5					10					15		
[3837]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asp	Asp	Tyr
[3838]				20					25					30		
[3839]	Ala	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
[3840]				35				40					45			
[3841]	Ser	Gly	Ile	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Arg	Ile	Gly	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
[3842]		50				55					60					
[3843]	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Phe
[3844]	65				70					75					80	
[3845]	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
[3846]				85					90					95		
[3847]	Ala	Arg	Asp	Gln	Gly	Tyr	His	Tyr	Tyr	Asp	Ser	Ala	Glu	His	Ala	Phe
[3848]				100					105					110		
[3849]	Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Val	Val	Thr	Val	Ser	Ser			
[3850]				115				120						125		
[3851]	<210>	185														
[3852]	<211>	125														
[3853]	<212>	PRT														
[3854]	<213>	智人 (Homo sapiens)														
[3855]	<220>															
[3856]	<223>	VH 克隆835														
[3857]	<400>	185														
[3858]	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Arg
[3859]	1			5					10					15		
[3860]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asp	Asp	Tyr

[3861]	20	25	30
[3862]	Ala Met His Trp Val Arg Leu Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[3863]	35	40	45
[3864]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val		
[3865]	50	55	60
[3866]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe		
[3867]	65	70	75
[3868]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Lys Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[3869]	85	90	95
[3870]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe		
[3871]	100	105	110
[3872]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser		
[3873]	115	120	125
[3874]	<210> 186		
[3875]	<211> 107		
[3876]	<212> PRT		
[3877]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[3878]	<220>		
[3879]	<223> VL 克隆1265		
[3880]	<400> 186		
[3881]	Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly		
[3882]	1	5	10
[3883]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr		
[3884]	20	25	30
[3885]	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Arg Ala Gly Lys Ala Pro Glu Leu Leu Ile		
[3886]	35	40	45
[3887]	Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
[3888]	50	55	60
[3889]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Val Gln Pro		
[3890]	65	70	75
[3891]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asp Ala Phe Pro Leu		
[3892]	85	90	95
[3893]	Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Thr Ile Arg		
[3894]	100	105	
[3895]	<210> 187		
[3896]	<211> 109		
[3897]	<212> PRT		
[3898]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[3899]	<220>		

[3900]	<223> VL 克隆213															
[3901]	<400> 187															
[3902]	Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly
[3903]	1				5					10					15	
[3904]	Glu	Thr	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Asn	His	Tyr
[3905]					20					25					30	
[3906]	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile
[3907]					35					40					45	
[3908]	Tyr	Asp	Ala	Ser	Asn	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly
[3909]		50					55					60				
[3910]	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Glu	Pro
[3911]	65					70					75				80	
[3912]	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Ser	Tyr	Ser	His	Pro	Arg
[3913]					85					90					95	
[3914]	Met	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys			
[3915]					100					105						
[3916]	<210> 188															
[3917]	<211> 109															
[3918]	<212> PRT															
[3919]	<213> 智人(Homo sapiens)															
[3920]	<220>															
[3921]	<223> VL 克隆255															
[3922]	<400> 188															
[3923]	Ala	Ile	Arg	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
[3924]	1				5					10					15	
[3925]	Asp	Arg	Val	Thr	Val	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser	Gln	Asp	Ile	Ser	Asn	Tyr
[3926]					20					25					30	
[3927]	Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Arg	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
[3928]					35					40					45	
[3929]	Tyr	Asp	Ala	Ser	Asn	Val	Lys	Ala	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
[3930]		50					55					60				
[3931]	Gly	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
[3932]	65					70					75				80	
[3933]	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Ser	Tyr	Ser	Thr	Pro	Gln
[3934]					85					90					95	
[3935]	Ala	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Asp	Ile	Lys			
[3936]					100					105						
[3937]	<210> 189															
[3938]	<211> 111															

[3939]	<212>	PRT
[3940]	<213>	智人(Homo sapiens)
[3941]	<220>	
[3942]	<223>	VL 克隆272
[3943]	<400>	189
[3944]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln	
[3945]	1 5 10 15	
[3946]	Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn	
[3947]	20 25 30	
[3948]	Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu	
[3949]	35 40 45	
[3950]	Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser	
[3951]	50 55 60	
[3952]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln	
[3953]	65 70 75 80	
[3954]	Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu	
[3955]	85 90 95	
[3956]	Asn Arg Asp Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu	
[3957]	100 105 110	
[3958]	<210>	190
[3959]	<211>	112
[3960]	<212>	PRT
[3961]	<213>	智人(Homo sapiens)
[3962]	<220>	
[3963]	<223>	VL 克隆283
[3964]	<400>	190
[3965]	Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln	
[3966]	1 5 10 15	
[3967]	Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr	
[3968]	20 25 30	
[3969]	Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu	
[3970]	35 40 45	
[3971]	Ile Ile Tyr Asp Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe	
[3972]	50 55 60	
[3973]	Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu	
[3974]	65 70 75 80	
[3975]	Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser	
[3976]	85 90 95	
[3977]	Ser Thr Leu Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu	



[3978]	100	105	110
[3979]	<210> 191		
[3980]	<211> 112		
[3981]	<212> PRT		
[3982]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[3983]	<220>		
[3984]	<223> VL 克隆302		
[3985]	<400> 191		
[3986]	Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln		
[3987]	1 5 10 15		
[3988]	Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr		
[3989]	20 25 30		
[3990]	Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu		
[3991]	35 40 45		
[3992]	Ile Ile Tyr Asp Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe		
[3993]	50 55 60		
[3994]	Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu		
[3995]	65 70 75 80		
[3996]	Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser		
[3997]	85 90 95		
[3998]	Ser Thr Leu Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu		
[3999]	100 105 110		
[4000]	<210> 192		
[4001]	<211> 109		
[4002]	<212> PRT		
[4003]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[4004]	<220>		
[4005]	<223> VL 克隆305		
[4006]	<220>		
[4007]	<221> 变体		
[4008]	<222> 5, 6, 8, 9, 93, 104		
[4009]	<223> Xaa = 任意氨基酸		
[4010]	<400> 192		
[4011]	Gln Ser Val Leu Xaa Xaa Pro Xaa Xaa Ala Ser Gly Ser Pro Gly Gln		
[4012]	1 5 10 15		
[4013]	Ser Val Thr Val Ser Cys Thr Gly Thr Gly Arg Asp Ile Gly Ala Tyr		
[4014]	20 25 30		
[4015]	Asp Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu		
[4016]	35 40 45		

[4017]	Leu	Ile	Tyr	Gly	Val	Asn	Lys	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe
[4018]	50						55					60				
[4019]	Ser	Gly	Ser	Lys	Ser	Asp	Asn	Thr	Ala	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Gly	Leu
[4020]	65					70					75					80
[4021]	Gln	Val	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ser	Ser	Xaa	Ala	Gly	Arg
[4022]					85					90					95	
[4023]	Lys	Tyr	Val	Phe	Gly	Thr	Gly	Xaa	Lys	Val	Thr	Val	Leu			
[4024]					100					105						
[4025]	<210> 193															
[4026]	<211> 112															
[4027]	<212> PRT															
[4028]	<213> 智人(Homo sapiens)															
[4029]	<220>															
[4030]	<223> VL 克隆314															
[4031]	<400> 193															
[4032]	Gln	Ser	Ala	Leu	Thr	Gln	Pro	Ala	Ser	Val	Ser	Gly	Ser	Pro	Gly	Gln
[4033]	1				5					10					15	
[4034]	Ser	Ile	Thr	Ile	Ser	Cys	Thr	Gly	Thr	Ser	Ser	Asp	Leu	Gly	Gly	Tyr
[4035]					20					25					30	
[4036]	Asn	Tyr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	His	Arg	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu
[4037]					35					40					45	
[4038]	Ile	Ile	Tyr	Asp	Val	Thr	Val	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Ser	Asp	Arg	Phe
[4039]	50									55					60	
[4040]	Ser	Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly	Leu
[4041]	65					70					75					80
[4042]	Gln	Ala	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gly	Ser	Tyr	Thr	Ser	Ser
[4043]					85					90					95	
[4044]	Ser	Thr	Leu	Leu	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu
[4045]					100					105					110	
[4046]	<210> 194															
[4047]	<211> 112															
[4048]	<212> PRT															
[4049]	<213> 智人(Homo sapiens)															
[4050]	<220>															
[4051]	<223> VL 克隆379															
[4052]	<400> 194															
[4053]	Gln	Ser	Ala	Leu	Thr	Gln	Pro	Ala	Ser	Val	Ser	Gly	Ser	Pro	Gly	Gln
[4054]	1				5					10					15	
[4055]	Ser	Ile	Thr	Ile	Ser	Cys	Thr	Gly	Thr	Ser	Ser	Asp	Leu	Gly	Gly	Tyr

[4056]	20	25	30
[4057]	Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu		
[4058]	35	40	45
[4059]	Ile Ile Tyr Asp Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe		
[4060]	50	55	60
[4061]	Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu		
[4062]	65	70	75
[4063]	Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser		
[4064]	85	90	95
[4065]	Ser Thr Leu Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu		
[4066]	100	105	110
[4067]	<210> 195		
[4068]	<211> 112		
[4069]	<212> PRT		
[4070]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[4071]	<220>		
[4072]	<223> VL 克隆324		
[4073]	<400> 195		
[4074]	Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln		
[4075]	1	5	10
[4076]	Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr		
[4077]	20	25	30
[4078]	Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu		
[4079]	35	40	45
[4080]	Ile Ile Tyr Asp Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe		
[4081]	50	55	60
[4082]	Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu		
[4083]	65	70	75
[4084]	Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser		
[4085]	85	90	95
[4086]	Ser Thr Leu Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu		
[4087]	100	105	110
[4088]	<210> 196		
[4089]	<211> 112		
[4090]	<212> PRT		
[4091]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[4092]	<220>		
[4093]	<223> VL 克隆327		
[4094]	<400> 196		

[4095]	Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
[4096]	1 5 10 15
[4097]	Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Glu Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr
[4098]	20 25 30
[4099]	Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
[4100]	35 40 45
[4101]	Ile Ile Tyr Asp Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Xaa Asp Arg Phe
[4102]	50 55 60
[4103]	Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
[4104]	65 70 75 80
[4105]	Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser
[4106]	85 90 95
[4107]	Ser Thr Leu Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
[4108]	100 105 110
[4109]	<210> 197
[4110]	<211> 112
[4111]	<212> PRT
[4112]	<213> 智人(Homo sapiens)
[4113]	<220>
[4114]	<223> VL 克隆336
[4115]	<400> 197
[4116]	Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
[4117]	1 5 10 15
[4118]	Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr
[4119]	20 25 30
[4120]	Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
[4121]	35 40 45
[4122]	Ile Ile Tyr Asp Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe
[4123]	50 55 60
[4124]	Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
[4125]	65 70 75 80
[4126]	Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser
[4127]	85 90 95
[4128]	Ser Thr Leu Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
[4129]	100 105 110
[4130]	<210> 198
[4131]	<211> 110
[4132]	<212> PRT
[4133]	<213> 智人(Homo sapiens)

[4134]	<220>
[4135]	<223> VL 克隆440
[4136]	<400> 198
[4137]	Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly His
[4138]	1 5 10 15
[4139]	Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Arg Ser Asp Val Gly Gly Phe
[4140]	20 25 30
[4141]	Asp Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Asn Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
[4142]	35 40 45
[4143]	Ile Ile Tyr Asp Val Thr Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
[4144]	50 55 60
[4145]	Ser Gly Ala Lys Ser Gly Ile Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
[4146]	65 70 75 80
[4147]	Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Thr Ser Tyr Arg Pro Gly
[4148]	85 90 95
[4149]	Pro Thr Phe Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys
[4150]	100 105 110
[4151]	<210> 199
[4152]	<211> 112
[4153]	<212> PRT
[4154]	<213> 智人(Homo sapiens)
[4155]	<220>
[4156]	<223> VL 克隆448
[4157]	<400> 199
[4158]	Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
[4159]	1 5 10 15
[4160]	Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr
[4161]	20 25 30
[4162]	Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
[4163]	35 40 45
[4164]	Ile Ile Tyr Asp Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe
[4165]	50 55 60
[4166]	Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
[4167]	65 70 75 80
[4168]	Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser
[4169]	85 90 95
[4170]	Ser Thr Leu Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys
[4171]	100 105 110
[4172]	<210> 200

234

[4212]	Tyr Thr Tyr Trp Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
[4213]	100 105 110
[4214]	<210> 202
[4215]	<211> 106
[4216]	<212> PRT
[4217]	<213> 智人(Homo sapiens)
[4218]	<220>
[4219]	<223> VL 克隆508
[4220]	<400> 202
[4221]	Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Phe Pro Gly Gln
[4222]	1 5 10 15
[4223]	Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Thr Ser Asp Asp Val Ser Trp
[4224]	20 25 30
[4225]	Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Gln Leu Met Leu Tyr Asp Val
[4226]	35 40 45
[4227]	Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro His Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser
[4228]	50 55 60
[4229]	Gly Arg Ala Ala Ser Leu Ile Ile Ser Gly Leu Gln Thr Glu Asp Glu
[4230]	65 70 75 80
[4231]	Ala Asp Tyr Phe Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Arg Tyr Asn Ser Val Pro
[4232]	85 90 95
[4233]	Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
[4234]	100 105
[4235]	<210> 203
[4236]	<211> 99
[4237]	<212> PRT
[4238]	<213> 智人(Homo sapiens)
[4239]	<220>
[4240]	<223> VL 克隆184
[4241]	<400> 203
[4242]	Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
[4243]	1 5 10 15
[4244]	Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
[4245]	20 25 30
[4246]	Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[4247]	35 40 45
[4248]	Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
[4249]	50 55 60
[4250]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln

[4251]	65	70	75	80
[4252]	Ser Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu			
[4253]	85	90	95	
[4254]	Asn Val Val			
[4255]	<210> 204			
[4256]	<211> 110			
[4257]	<212> PRT			
[4258]	<213> 智人 (Homo sapiens)			
[4259]	<220>			
[4260]	<223> VL 克隆79			
[4261]	<400> 204			
[4262]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln			
[4263]	1	5	10	15
[4264]	Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn			
[4265]	20	25	30	
[4266]	Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu			
[4267]	35	40	45	
[4268]	Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser			
[4269]	50	55	60	
[4270]	Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln			
[4271]	65	70	75	80
[4272]	Thr Gly Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ile Ser Leu			
[4273]	85	90	95	
[4274]	Arg Phe Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu			
[4275]	100	105	110	
[4276]	<210> 205			
[4277]	<211> 111			
[4278]	<212> PRT			
[4279]	<213> 智人 (Homo sapiens)			
[4280]	<220>			
[4281]	<223> VL 克隆835			
[4282]	<400> 205			
[4283]	Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln			
[4284]	1	5	10	15
[4285]	Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Pro Ile Ser Gly Val Gly Asp Tyr			
[4286]	20	25	30	
[4287]	Thr Ser Val Ser Trp Tyr Gln His Tyr Pro Gly Lys Thr Pro Lys Leu			
[4288]	35	40	45	
[4289]	Ile Ile Tyr Asp Val Thr Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asn Arg Phe			



[4290]	50	55	60
[4291]	Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu		
[4292]	65	70	75
[4293]	Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Tyr Glu Ala Pro		80
[4294]	85	90	95
[4295]	Thr His Thr Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu		
[4296]	100	105	110
[4297]	<210> 206		
[4298]	<211> 252		
[4299]	<212> PRT		
[4300]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[4301]	<220>		
[4302]	<223> scFv 克隆1265		
[4303]	<400> 206		
[4304]	Gln Ile Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Thr Leu Val Lys Pro Thr Gln		
[4305]	1	5	10
[4306]	Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser		15
[4307]	20	25	30
[4308]	Gly Val Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu		
[4309]	35	40	45
[4310]	Trp Leu Ala Leu Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Ser Pro Ser		
[4311]	50	55	60
[4312]	Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val		
[4313]	65	70	75
[4314]	Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr		80
[4315]	85	90	95
[4316]	Cys Ala His Ile Asp Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Ser Pro Arg Thr Ser		
[4317]	100	105	110
[4318]	Tyr Tyr Tyr Tyr Met Ser Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val		
[4319]	115	120	125
[4320]	Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly		
[4321]	130	135	140
[4322]	Ser Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val		
[4323]	145	150	155
[4324]	Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser		160
[4325]	165	170	175
[4326]	Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Arg Ala Gly Lys Ala Pro Glu Leu Leu		
[4327]	180	185	190
[4328]	Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser		

[4329]	195	200	205
[4330]	Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Val Gln		
[4331]	210	215	220
[4332]	Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asp Ala Phe Pro		
[4333]	225	230	235
[4334]	Leu Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Thr Ile Arg		240
[4335]	245	250	
[4336]	<210> 207		
[4337]	<211> 249		
[4338]	<212> PRT		
[4339]	<213> 智人 (Homo sapiens)		
[4340]	<220>		
[4341]	<223> scFv 克隆213		
[4342]	<400> 207		
[4343]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg		
[4344]	1	5	10
[4345]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr		15
[4346]	20	25	30
[4347]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[4348]	35	40	45
[4349]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val		
[4350]	50	55	60
[4351]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr		
[4352]	65	70	75
[4353]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		80
[4354]	85	90	95
[4355]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe		
[4356]	100	105	110
[4357]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly		
[4358]	115	120	125
[4359]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu		
[4360]	130	135	140
[4361]	Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Thr Ala Thr		
[4362]	145	150	155
[4363]	Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn His Tyr Leu Ala Trp Tyr		160
[4364]	165	170	175
[4365]	Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser		
[4366]	180	185	190
[4367]	Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly		

[4368]	195	200	205
[4369]	Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala		
[4370]	210	215	220
[4371]	Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser His Pro Arg Met Tyr Thr Phe		
[4372]	225	230	235
[4373]	Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys		240
[4374]	245		
[4375]	<210> 208		
[4376]	<211> 249		
[4377]	<212> PRT		
[4378]	<213> 智人 (Homo sapiens)		
[4379]	<220>		
[4380]	<223> scFv 克隆255		
[4381]	<400> 208		
[4382]	Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg		
[4383]	1	5	10
[4384]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr		15
[4385]	20	25	30
[4386]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[4387]	35	40	45
[4388]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val		
[4389]	50	55	60
[4390]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr		
[4391]	65	70	75
[4392]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		80
[4393]	85	90	95
[4394]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe		
[4395]	100	105	110
[4396]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly		
[4397]	115	120	125
[4398]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ile Arg Met		
[4399]	130	135	140
[4400]	Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr		
[4401]	145	150	155
[4402]	Val Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr		160
[4403]	165	170	175
[4404]	Gln Gln Lys Pro Gly Arg Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser		
[4405]	180	185	190
[4406]	Asn Val Lys Ala Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Gly Gly Ser Gly		

[4407]	195	200	205
[4408]	Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala		
[4409]	210	215	220
[4410]	Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Gln Ala Tyr Thr Phe		
[4411]	225	230	235
[4412]	Gly Gln Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys		
[4413]	245		
[4414]	<210> 209		
[4415]	<211> 251		
[4416]	<212> PRT		
[4417]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[4418]	<220>		
[4419]	<223> scFv 克隆272		
[4420]	<400> 209		
[4421]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg		
[4422]	1	5	10
[4423]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr		
[4424]	20	25	30
[4425]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[4426]	35	40	45
[4427]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val		
[4428]	50	55	60
[4429]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe		
[4430]	65	70	75
[4431]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[4432]	85	90	95
[4433]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe		
[4434]	100	105	110
[4435]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly		
[4436]	115	120	125
[4437]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu		
[4438]	130	135	140
[4439]	Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln Lys Val Thr Ile		
[4440]	145	150	155
[4441]	Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser Trp		
[4442]	165	170	175
[4443]	Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Asn		
[4444]	180	185	190
[4445]	Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser		

[4446]	195	200	205
[4447]	Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln Thr Gly Asp Glu		
[4448]	210	215	220
[4449]	Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Asn Arg Asp Trp		
[4450]	225	230	235
[4451]	Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu		240
[4452]	245	250	
[4453]	<210> 210		
[4454]	<211> 252		
[4455]	<212> PRT		
[4456]	<213> 智人 (Homo sapiens)		
[4457]	<220>		
[4458]	<223> scFv 克隆283		
[4459]	<400> 210		
[4460]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg		
[4461]	1	5	10
[4462]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr		15
[4463]	20	25	30
[4464]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[4465]	35	40	45
[4466]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val		
[4467]	50	55	60
[4468]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe		
[4469]	65	70	75
[4470]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		80
[4471]	85	90	95
[4472]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe		
[4473]	100	105	110
[4474]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly		
[4475]	115	120	125
[4476]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu		
[4477]	130	135	140
[4478]	Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile		
[4479]	145	150	155
[4480]	Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser		160
[4481]	165	170	175
[4482]	Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Ile Tyr Asp		
[4483]	180	185	190
[4484]	Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys		

[4485]	195	200	205
[4486]	Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp		
[4487]	210	215	220
[4488]	Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Leu		
[4489]	225	230	235 240
[4490]	Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu		
[4491]	245	250	
[4492]	<210> 211		
[4493]	<211> 252		
[4494]	<212> PRT		
[4495]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[4496]	<220>		
[4497]	<223> scFv 克隆302		
[4498]	<400> 211		
[4499]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg		
[4500]	1 5 10 15		
[4501]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr		
[4502]	20 25 30		
[4503]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[4504]	35 40 45		
[4505]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val		
[4506]	50 55 60		
[4507]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe		
[4508]	65 70 75 80		
[4509]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[4510]	85 90 95		
[4511]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe		
[4512]	100 105 110		
[4513]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly		
[4514]	115 120 125		
[4515]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu		
[4516]	130 135 140		
[4517]	Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile		
[4518]	145 150 155 160		
[4519]	Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser		
[4520]	165 170 175		
[4521]	Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Ile Tyr Asp		
[4522]	180 185 190		
[4523]	Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys		

[4524]	195	200	205
[4525]	Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp		
[4526]	210	215	220
[4527]	Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Leu		
[4528]	225	230	235 240
[4529]	Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu		
[4530]	245	250	
[4531]	<210> 212		
[4532]	<211> 249		
[4533]	<212> PRT		
[4534]	<213> 智人 (Homo sapiens)		
[4535]	<220>		
[4536]	<223> scFv 克隆305		
[4537]	<220>		
[4538]	<221> 变体		
[4539]	<222> 64, 65, 68, 69, 93, 98, 102, 104, 113, 145, 146, 148, 149,		
[4540]	233, 244		
[4541]	<223> Xaa = 任意氨基酸		
[4542]	<400> 212		
[4543]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg		
[4544]	1 5 10 15		
[4545]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr		
[4546]	20 25 30		
[4547]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[4548]	35 40 45		
[4549]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Xaa		
[4550]	50 55 60		
[4551]	Xaa Gly Arg Xaa Xaa Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe		
[4552]	65 70 75 80		
[4553]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Xaa Tyr Tyr Cys		
[4554]	85 90 95		
[4555]	Ala Xaa Asp Gln Gly Xaa His Xaa Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe		
[4556]	100 105 110		
[4557]	Xaa Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly		
[4558]	115 120 125		
[4559]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu		
[4560]	130 135 140		
[4561]	Xaa Xaa Pro Xaa Xaa Ala Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Val Thr Val		
[4562]	145 150 155 160		

[4563]	Ser Cys Thr Gly Thr Gly Arg Asp Ile Gly Ala Tyr Asp Tyr Val Ser		
[4564]		165	170 175
[4565]	Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly		
[4566]		180	185 190
[4567]	Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys		
[4568]		195	200 205
[4569]	Ser Asp Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu Gln Val Glu Asp		
[4570]		210	215 220
[4571]	Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Xaa Ala Gly Arg Lys Tyr Val Phe		
[4572]	225	230	235 240
[4573]	Gly Thr Gly Xaa Lys Val Thr Val Leu		
[4574]		245	
[4575]	<210>	213	
[4576]	<211>	252	
[4577]	<212>	PRT	
[4578]	<213>	智人(Homo sapiens)	
[4579]	<220>		
[4580]	<223>	scFv 克隆314	
[4581]	<400>	213	
[4582]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg		
[4583]	1	5	10 15
[4584]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr		
[4585]		20	25 30
[4586]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[4587]		35	40 45
[4588]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val		
[4589]	50	55	60
[4590]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe		
[4591]	65	70	75 80
[4592]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[4593]		85	90 95
[4594]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe		
[4595]		100	105 110
[4596]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly		
[4597]		115	120 125
[4598]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu		
[4599]		130	135 140
[4600]	Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile		
[4601]	145	150	155 160



[4602]	Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
[4603]	165 170 175
[4604]	Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Ile Tyr Asp
[4605]	180 185 190
[4606]	Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys
[4607]	195 200 205
[4608]	Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp
[4609]	210 215 220
[4610]	Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Leu
[4611]	225 230 235 240
[4612]	Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
[4613]	245 250
[4614]	<210> 214
[4615]	<211> 252
[4616]	<212> PRT
[4617]	<213> 智人(Homo sapiens)
[4618]	<220>
[4619]	<223> scFv 克隆379
[4620]	<400> 214
[4621]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
[4622]	1 5 10 15
[4623]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
[4624]	20 25 30
[4625]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[4626]	35 40 45
[4627]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
[4628]	50 55 60
[4629]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
[4630]	65 70 75 80
[4631]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[4632]	85 90 95
[4633]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
[4634]	100 105 110
[4635]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
[4636]	115 120 125
[4637]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu
[4638]	130 135 140
[4639]	Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile
[4640]	145 150 155 160

[4641]	Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
[4642]	165 170 175
[4643]	Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Ile Tyr Asp
[4644]	180 185 190
[4645]	Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys
[4646]	195 200 205
[4647]	Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp
[4648]	210 215 220
[4649]	Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Leu
[4650]	225 230 235 240
[4651]	Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
[4652]	245 250
[4653]	<210> 215
[4654]	<211> 252
[4655]	<212> PRT
[4656]	<213> 智人(Homo sapiens)
[4657]	<220>
[4658]	<223> scFv 克隆324
[4659]	<400> 215
[4660]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
[4661]	1 5 10 15
[4662]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
[4663]	20 25 30
[4664]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[4665]	35 40 45
[4666]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
[4667]	50 55 60
[4668]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
[4669]	65 70 75 80
[4670]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[4671]	85 90 95
[4672]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
[4673]	100 105 110
[4674]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
[4675]	115 120 125
[4676]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu
[4677]	130 135 140
[4678]	Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile
[4679]	145 150 155 160

[4680]	Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
[4681]	165 170 175
[4682]	Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Ile Tyr Asp
[4683]	180 185 190
[4684]	Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys
[4685]	195 200 205
[4686]	Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp
[4687]	210 215 220
[4688]	Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser Thr Leu Leu
[4689]	225 230 235 240
[4690]	Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
[4691]	245 250
[4692]	<210> 216
[4693]	<211> 252
[4694]	<212> PRT
[4695]	<213> 智人(Homo sapiens)
[4696]	<220>
[4697]	<223> scFv 克隆327
[4698]	<220>
[4699]	<221> 变体
[4700]	<222> 76, 201
[4701]	<223> Xaa = 任意氨基酸
[4702]	<400> 216
[4703]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
[4704]	1 5 10 15
[4705]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
[4706]	20 25 30
[4707]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[4708]	35 40 45
[4709]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
[4710]	50 55 60
[4711]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Xaa Asn Ser Leu Phe
[4712]	65 70 75 80
[4713]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[4714]	85 90 95
[4715]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
[4716]	100 105 110
[4717]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
[4718]	115 120 125

[4719]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu
[4720]	130 135 140
[4721]	Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile
[4722]	145 150 155 160
[4723]	Ser Cys Thr Glu Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
[4724]	165 170 175
[4725]	Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Ile Tyr Asp
[4726]	180 185 190
[4727]	Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Xaa Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys
[4728]	195 200 205
[4729]	Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp
[4730]	210 215 220
[4731]	Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Leu
[4732]	225 230 235 240
[4733]	Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
[4734]	245 250
[4735]	<210> 217
[4736]	<211> 252
[4737]	<212> PRT
[4738]	<213> 智人(Homo sapiens)
[4739]	<220>
[4740]	<223> scFv 克隆336
[4741]	<400> 217
[4742]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
[4743]	1 5 10 15
[4744]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
[4745]	20 25 30
[4746]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[4747]	35 40 45
[4748]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
[4749]	50 55 60
[4750]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
[4751]	65 70 75 80
[4752]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[4753]	85 90 95
[4754]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
[4755]	100 105 110
[4756]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
[4757]	115 120 125

[4758]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu
[4759]	130 135 140
[4760]	Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile
[4761]	145 150 155 160
[4762]	Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
[4763]	165 170 175
[4764]	Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Ile Tyr Asp
[4765]	180 185 190
[4766]	Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys
[4767]	195 200 205
[4768]	Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp
[4769]	210 215 220
[4770]	Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Leu
[4771]	225 230 235 240
[4772]	Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
[4773]	245 250
[4774]	<210> 218
[4775]	<211> 250
[4776]	<212> PRT
[4777]	<213> 智人(Homo sapiens)
[4778]	<220>
[4779]	<223> scFv 克隆440
[4780]	<400> 218
[4781]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
[4782]	1 5 10 15
[4783]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
[4784]	20 25 30
[4785]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[4786]	35 40 45
[4787]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
[4788]	50 55 60
[4789]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
[4790]	65 70 75 80
[4791]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[4792]	85 90 95
[4793]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
[4794]	100 105 110
[4795]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
[4796]	115 120 125

[4797]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu
[4798]	130 135 140
[4799]	Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly His Ser Ile Thr Ile
[4800]	145 150 155 160
[4801]	Ser Cys Thr Gly Thr Arg Ser Asp Val Gly Gly Phe Asp Tyr Val Ser
[4802]	165 170 175
[4803]	Trp Tyr Gln His Asn Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Ile Tyr Asp
[4804]	180 185 190
[4805]	Val Thr Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ala Lys
[4806]	195 200 205
[4807]	Ser Gly Ile Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp
[4808]	210 215 220
[4809]	Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Thr Ser Tyr Arg Pro Gly Pro Thr Phe Val
[4810]	225 230 235 240
[4811]	Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys
[4812]	245 250
[4813]	<210> 219
[4814]	<211> 252
[4815]	<212> PRT
[4816]	<213> 智人(Homo sapiens)
[4817]	<220>
[4818]	<223> scFv 克隆448
[4819]	<400> 219
[4820]	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
[4821]	1 5 10 15
[4822]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
[4823]	20 25 30
[4824]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[4825]	35 40 45
[4826]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
[4827]	50 55 60
[4828]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
[4829]	65 70 75 80
[4830]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[4831]	85 90 95
[4832]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
[4833]	100 105 110
[4834]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
[4835]	115 120 125

[4836]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu
[4837]	130 135 140
[4838]	Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile
[4839]	145 150 155 160
[4840]	Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
[4841]	165 170 175
[4842]	Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Ile Tyr Asp
[4843]	180 185 190
[4844]	Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys
[4845]	195 200 205
[4846]	Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp
[4847]	210 215 220
[4848]	Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Leu
[4849]	225 230 235 240
[4850]	Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys
[4851]	245 250
[4852]	<210> 220
[4853]	<211> 236
[4854]	<212> PRT
[4855]	<213> 智人(Homo sapiens)
[4856]	<220>
[4857]	<223> scFv 克隆505
[4858]	<400> 220
[4859]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
[4860]	1 5 10 15
[4861]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
[4862]	20 25 30
[4863]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[4864]	35 40 45
[4865]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
[4866]	50 55 60
[4867]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
[4868]	65 70 75 80
[4869]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[4870]	85 90 95
[4871]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
[4872]	100 105 110
[4873]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gln Ser Val
[4874]	115 120 125

[4875]	Leu Thr Gln Pro Arg Ser Leu Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Val Thr
[4876]	130 135 140
[4877]	Ile Ala Cys Thr Gly Ala Ser Thr Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val
[4878]	145 150 155 160
[4879]	Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr
[4880]	165 170 175
[4881]	Asp Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
[4882]	180 185 190
[4883]	Lys Ser Gly Asn Thr Ala Phe Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu
[4884]	195 200 205
[4885]	Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Ser Tyr Thr Phe
[4886]	210 215 220
[4887]	Glu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
[4888]	225 230 235
[4889]	<210> 221
[4890]	<211> 251
[4891]	<212> PRT
[4892]	<213> 智人(Homo sapiens)
[4893]	<220>
[4894]	<223> scFv 克隆506
[4895]	<400> 221
[4896]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
[4897]	1 5 10 15
[4898]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
[4899]	20 25 30
[4900]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[4901]	35 40 45
[4902]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
[4903]	50 55 60
[4904]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
[4905]	65 70 75 80
[4906]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[4907]	85 90 95
[4908]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
[4909]	100 105 110
[4910]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
[4911]	115 120 125
[4912]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Leu Val Leu
[4913]	130 135 140



[4914]	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Gly	Ser	Pro	Gly	Gln	Ser	Val	Thr	Phe
[4915]	145					150					155					160
[4916]	Ser	Cys	Thr	Gly	Ala	Ser	Ser	Asp	Val	Gly	Gly	Tyr	Asp	His	Val	Ser
[4917]					165					170						175
[4918]	Trp	Tyr	Gln	His	His	Pro	Gly	Lys	Gly	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Asp
[4919]					180					185						190
[4920]	Val	Ser	Lys	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Lys
[4921]					195					200						205
[4922]	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly	Leu	Gln	Ala	Glu	Asp
[4923]					210					215						220
[4924]	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Cys	Ser	Phe	Ala	Gly	Tyr	Tyr	Thr	Tyr	Trp
[4925]	225					230					235					240
[4926]	Leu	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu					
[4927]					245						250					
[4928]	<210> 222															
[4929]	<211> 246															
[4930]	<212> PRT															
[4931]	<213> 智人(Homo sapiens)															
[4932]	<220>															
[4933]	<223> scFv 克隆508															
[4934]	<400> 222															
[4935]	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Arg
[4936]	1				5					10					15	
[4937]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asp	Asp	Tyr
[4938]					20					25				30		
[4939]	Ala	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
[4940]					35					40				45		
[4941]	Ser	Gly	Ile	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Arg	Ile	Gly	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
[4942]					50					55				60		
[4943]	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Phe
[4944]	65					70					75					80
[4945]	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
[4946]					85						90					95
[4947]	Ala	Arg	Asp	Gln	Gly	Tyr	His	Tyr	Tyr	Asp	Ser	Ala	Glu	His	Ala	Phe
[4948]					100					105						110
[4949]	Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Val	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly
[4950]					115					120						125
[4951]	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Ser	Ala	Leu
[4952]					130					135						140

[4953]	Thr	Gln	Pro	Arg	Ser	Val	Ser	Gly	Phe	Pro	Gly	Gln	Ser	Val	Thr	Ile
[4954]	145					150					155					160
[4955]	Ser	Cys	Thr	Gly	Thr	Thr	Ser	Asp	Asp	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	His
[4956]						165					170					175
[4957]	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Gln	Leu	Met	Leu	Tyr	Asp	Val	Ser	Lys	Arg	Pro
[4958]						180					185				190	
[4959]	Ser	Gly	Val	Pro	His	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Arg	Ser	Gly	Arg	Ala	Ala
[4960]						195					200				205	
[4961]	Ser	Leu	Ile	Ile	Ser	Gly	Leu	Gln	Thr	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Phe
[4962]						210									220	
[4963]	Cys	Cys	Ser	Tyr	Ala	Gly	Arg	Tyr	Asn	Ser	Val	Pro	Phe	Gly	Gly	Gly
[4964]	225						230					235				240
[4965]	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu										
[4966]						245										
[4967]	<210> 223															
[4968]	<211> 239															
[4969]	<212> PRT															
[4970]	<213> 智人(Homo sapiens)															
[4971]	<220>															
[4972]	<223> scFv 克隆184															
[4973]	<400> 223															
[4974]	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Arg
[4975]	1				5					10					15	
[4976]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asp	Asp	Tyr
[4977]					20					25				30		
[4978]	Ala	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
[4979]					35					40				45		
[4980]	Ser	Gly	Ile	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Arg	Ile	Gly	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
[4981]					50					55				60		
[4982]	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Phe
[4983]	65					70					75					80
[4984]	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
[4985]					85					90					95	
[4986]	Ala	Arg	Asp	Gln	Gly	Tyr	His	Tyr	Tyr	Asp	Ser	Ala	Glu	His	Ala	Phe
[4987]					100					105					110	
[4988]	Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly
[4989]					115					120				125		
[4990]	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ser	Tyr	Val	Leu
[4991]					130					135				140		

[4992]	Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile
[4993]	145 150 155 160
[4994]	Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr Val Asn Trp
[4995]	165 170 175
[4996]	Tyr Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Asn
[4997]	180 185 190
[4998]	Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser
[4999]	195 200 205
[5000]	Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu
[5001]	210 215 220
[5002]	Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Val Val
[5003]	225 230 235
[5004]	<210> 224
[5005]	<211> 250
[5006]	<212> PRT
[5007]	<213> 智人(Homo sapiens)
[5008]	<220>
[5009]	<223> scFv 克隆79
[5010]	<400> 224
[5011]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
[5012]	1 5 10 15
[5013]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
[5014]	20 25 30
[5015]	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[5016]	35 40 45
[5017]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
[5018]	50 55 60
[5019]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
[5020]	65 70 75 80
[5021]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[5022]	85 90 95
[5023]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
[5024]	100 105 110
[5025]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
[5026]	115 120 125
[5027]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu
[5028]	130 135 140
[5029]	Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln Lys Val Thr Ile
[5030]	145 150 155 160

[5031]	Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser Trp
[5032]	165 170 175
[5033]	Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Asn
[5034]	180 185 190
[5035]	Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser
[5036]	195 200 205
[5037]	Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln Thr Gly Asp Glu
[5038]	210 215 220
[5039]	Gly Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ile Ser Leu Arg Phe Gly Val
[5040]	225 230 235 240
[5041]	Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
[5042]	245 250
[5043]	<210> 225
[5044]	<211> 251
[5045]	<212> PRT
[5046]	<213> 智人(Homo sapiens)
[5047]	<220>
[5048]	<223> scFv 克隆835
[5049]	<400> 225
[5050]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
[5051]	1 5 10 15
[5052]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
[5053]	20 25 30
[5054]	Ala Met His Trp Val Arg Leu Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[5055]	35 40 45
[5056]	Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
[5057]	50 55 60
[5058]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
[5059]	65 70 75 80
[5060]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Lys Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[5061]	85 90 95
[5062]	Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
[5063]	100 105 110
[5064]	Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
[5065]	115 120 125
[5066]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu
[5067]	130 135 140
[5068]	Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile
[5069]	145 150 155 160

[5070]	Ser Cys Thr Gly Pro Ile Ser Gly Val Gly Asp Tyr Thr Ser Val Ser
[5071]	165 170 175
[5072]	Trp Tyr Gln His Tyr Pro Gly Lys Thr Pro Lys Leu Ile Ile Tyr Asp
[5073]	180 185 190
[5074]	Val Thr Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys
[5075]	195 200 205
[5076]	Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Asp Asp
[5077]	210 215 220
[5078]	Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Tyr Glu Ala Pro Thr His Thr Tyr
[5079]	225 230 235 240
[5080]	Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
[5081]	245 250
[5082]	<210> 226
[5083]	<211> 14
[5084]	<212> PRT
[5085]	<213> 人工序列
[5086]	<220>
[5087]	<223> 合成
[5088]	<220>
[5089]	<223> CDR-L1共有
[5090]	<220>
[5091]	<221> 变体
[5092]	<222> 1
[5093]	<223> Xaa = Thr, Gln, Arg或Ser
[5094]	<220>
[5095]	<221> 变体
[5096]	<222> 2
[5097]	<223> Xaa = Gly, Ala或Glu
[5098]	<220>
[5099]	<221> 变体
[5100]	<222> 3
[5101]	<223> Xaa = Ile, Thr, Ser, Asp, Ala或Pro
[5102]	<220>
[5103]	<221> 变体
[5104]	<222> 4
[5105]	<223> Xaa = Ser, Arg, Gln, Thr, Gly或Ile
[5106]	<220>
[5107]	<221> 变体
[5108]	<222> 5

- [5109] <223> Xaa = 空, Ser, Arg或Thr  
[5110] <220>  
[5111] <221> 变体  
[5112] <222> 6  
[5113] <223> Xaa = Gly, Asp, Asn或空  
[5114] <220>  
[5115] <221> 变体  
[5116] <222> 7  
[5117] <223> Xaa = Val, Leu, 空或Ile  
[5118] <220>  
[5119] <221> 变体  
[5120] <222> 8  
[5121] <223> Xaa = Asp, Gly, Ser, Ile, Leu或空  
[5122] <220>  
[5123] <221> 变体  
[5124] <222> 9  
[5125] <223> Xaa = Ser, Gly, Ala, Ile, 空或Asp  
[5126] <220>  
[5127] <221> 变体  
[5128] <222> 10  
[5129] <223> Xaa = His, Tyr, Phe, Ser或Asn  
[5130] <220>  
[5131] <221> 变体  
[5132] <222> 11  
[5133] <223> Xaa = Arg, Asn, Asp, His, Tyr或Thr  
[5134] <220>  
[5135] <221> 变体  
[5136] <222> 12  
[5137] <223> Xaa = Tyr, Phe, Trp, Asp, His, Thr或Ser  
[5138] <220>  
[5139] <221> 变体  
[5140] <222> 13  
[5141] <223> Xaa = Val, Ala或Leu  
[5142] <220>  
[5143] <221> 变体  
[5144] <222> 14  
[5145] <223> Xaa = Ser, Asn或Ala  
[5146] <400> 226  
[5147] Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

[5148]	1	5	10
[5149]	<210>	227	
[5150]	<211>	7	
[5151]	<212>	PRT	
[5152]	<213>	人工序列	
[5153]	<220>		
[5154]	<223>	合成	
[5155]	<220>		
[5156]	<223>	CDR-L2共有	
[5157]	<220>		
[5158]	<221>	变体	
[5159]	<222>	1	
[5160]	<223>	Xaa = Asp, Ser或Gly	
[5161]	<220>		
[5162]	<221>	变体	
[5163]	<222>	2	
[5164]	<223>	Xaa = Phe, Val, Asn, Lys或Ala	
[5165]	<220>		
[5166]	<221>	变体	
[5167]	<222>	3	
[5168]	<223>	Xaa = Ser, Thr, Asn或Asp	
[5169]	<220>		
[5170]	<221>	变体	
[5171]	<222>	4	
[5172]	<223>	Xaa = Lys, Val, Asn, Arg或Gln	
[5173]	<220>		
[5174]	<221>	变体	
[5175]	<222>	5	
[5176]	<223>	Xaa = Arg, Val或Leu	
[5177]	<220>		
[5178]	<221>	变体	
[5179]	<222>	6	
[5180]	<223>	Xaa = Pro, Lys, Ala或Glu	
[5181]	<220>		
[5182]	<221>	变体	
[5183]	<222>	7	
[5184]	<223>	Xaa = Ser, Pro, Ala或Thr	
[5185]	<400>	227	
[5186]	Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa		

[5187]	1	5
[5188]	<210>	228
[5189]	<211>	12
[5190]	<212>	PRT
[5191]	<213>	人工序列
[5192]	<220>	
[5193]	<223>	合成
[5194]	<220>	
[5195]	<223>	CDR-L3共有
[5196]	<220>	
[5197]	<221>	变体
[5198]	<222>	1
[5199]	<223>	Xaa = Ser, Gly, Thr, Ala, Gln, Cys或Asn
[5200]	<220>	
[5201]	<221>	变体
[5202]	<222>	2
[5203]	<223>	Xaa = Ser, Gln, Ala或Thr
[5204]	<220>	
[5205]	<221>	变体
[5206]	<222>	3
[5207]	<223>	Xaa = Tyr, Ser, Trp或Arg
[5208]	<220>	
[5209]	<221>	变体
[5210]	<222>	4
[5211]	<223>	Xaa = Ala, Asp, Arg, Thr或Tyr
[5212]	<220>	
[5213]	<221>	变体
[5214]	<222>	5
[5215]	<223>	Xaa = Ala, Ser, Pro, Gly, Asn或Asp
[5216]	<220>	
[5217]	<221>	变体
[5218]	<222>	6
[5219]	<223>	Xaa = Ile, Ser, Gly, Thr, Ala, Leu, His, Arg或
[5220]	Asn	
[5221]	<220>	
[5222]	<221>	变体
[5223]	<222>	7
[5224]	<223>	Xaa = Ser, Pro, Leu, Tyr或Gly
[5225]	<220>	



[5226]	<221> 变体
[5227]	<222> 8
[5228]	<223> Xaa = Pro, Thr, Ser, Gln, Met, Arg或Asn
[5229]	<220>
[5230]	<221> 变体
[5231]	<222> 9
[5232]	<223> Xaa = Ser, Leu, Asn, Ala, Met, 空或Arg
[5233]	<220>
[5234]	<221> 变体
[5235]	<222> 10
[5236]	<223> Xaa = Leu, 空或Asp
[5237]	<220>
[5238]	<221> 变体
[5239]	<222> 11
[5240]	<223> Xaa = Tyr, Trp, Phe, Val, Ala, Leu
[5241]	<220>
[5242]	<221> 变体
[5243]	<222> 12
[5244]	<223> Xaa = Val, Thr, Leu或Pro
[5245]	<400> 228
[5246]	Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
[5247]	1 5 10

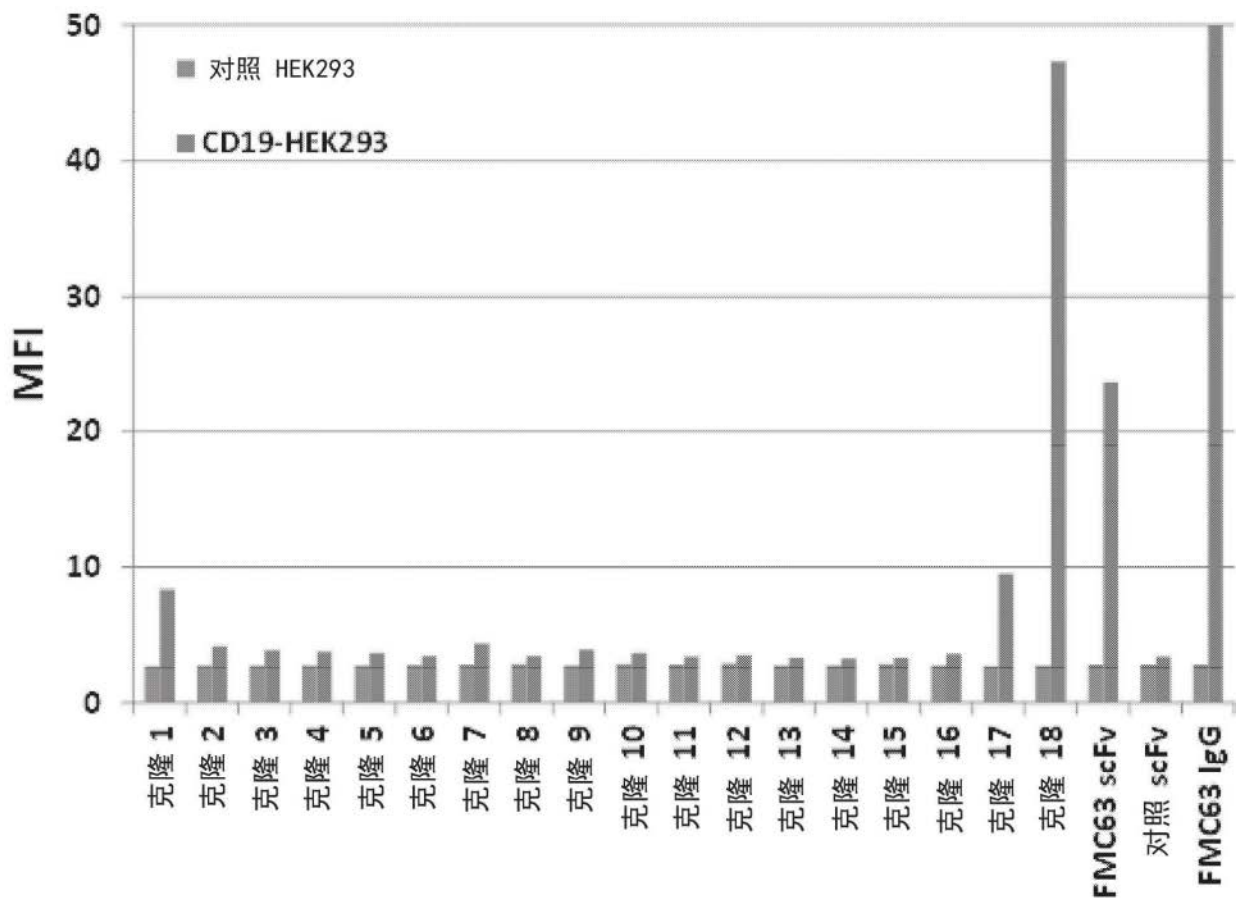


图1A

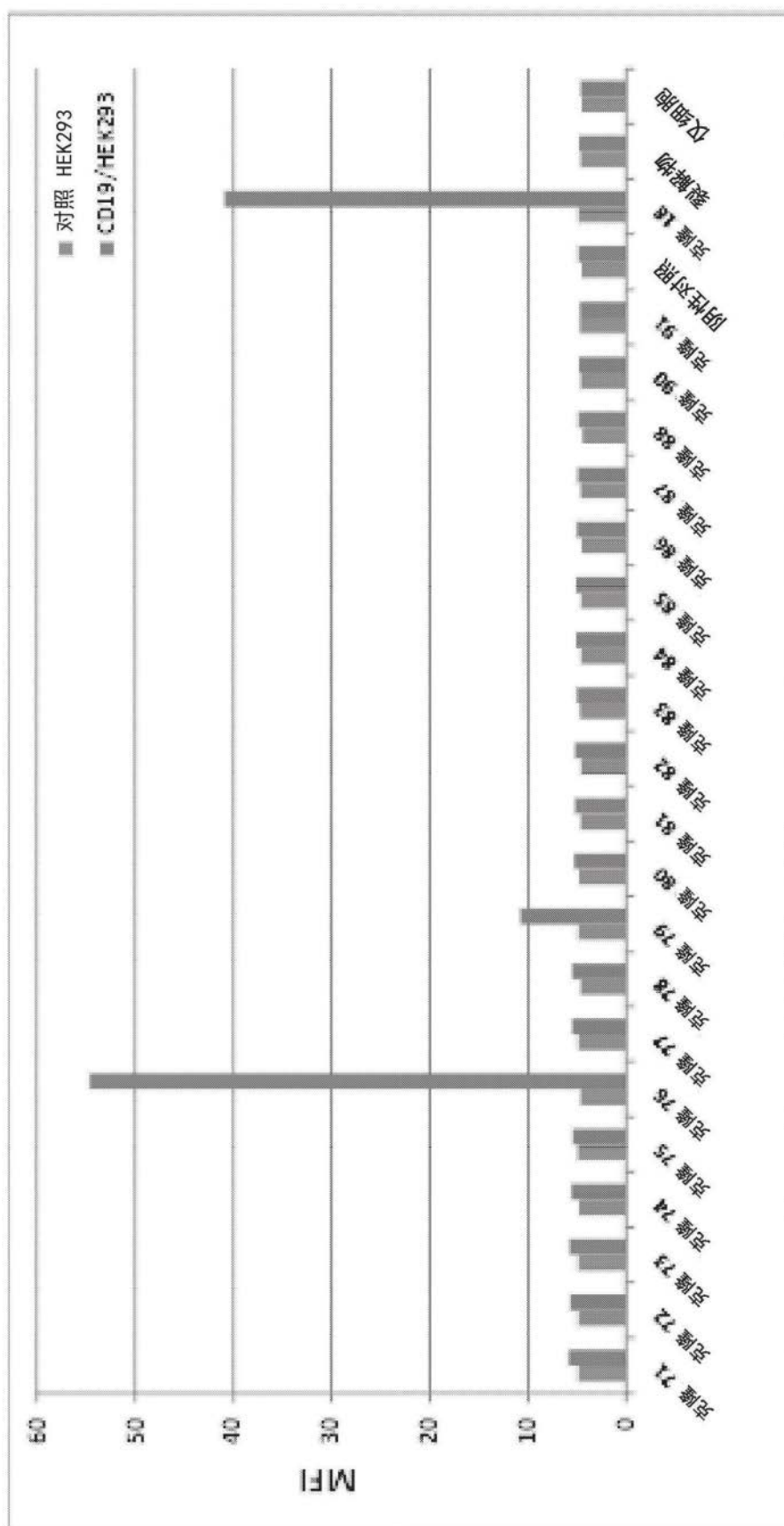


图1B

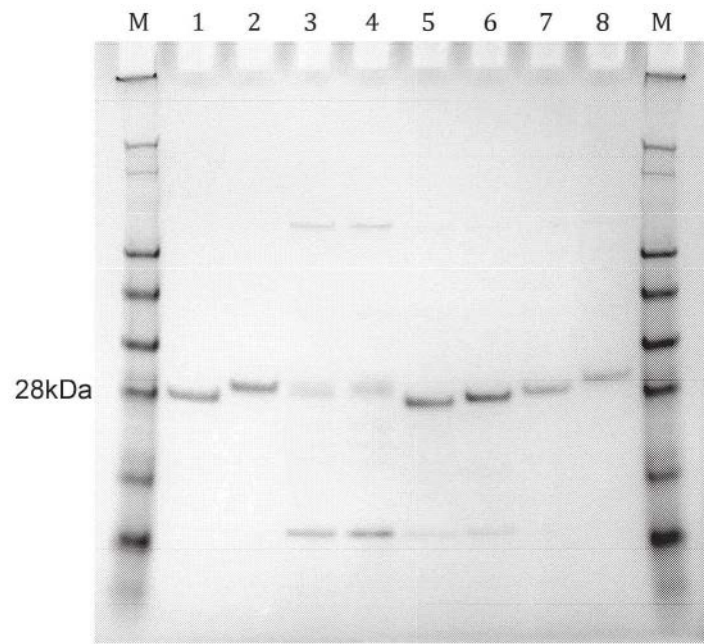


图2

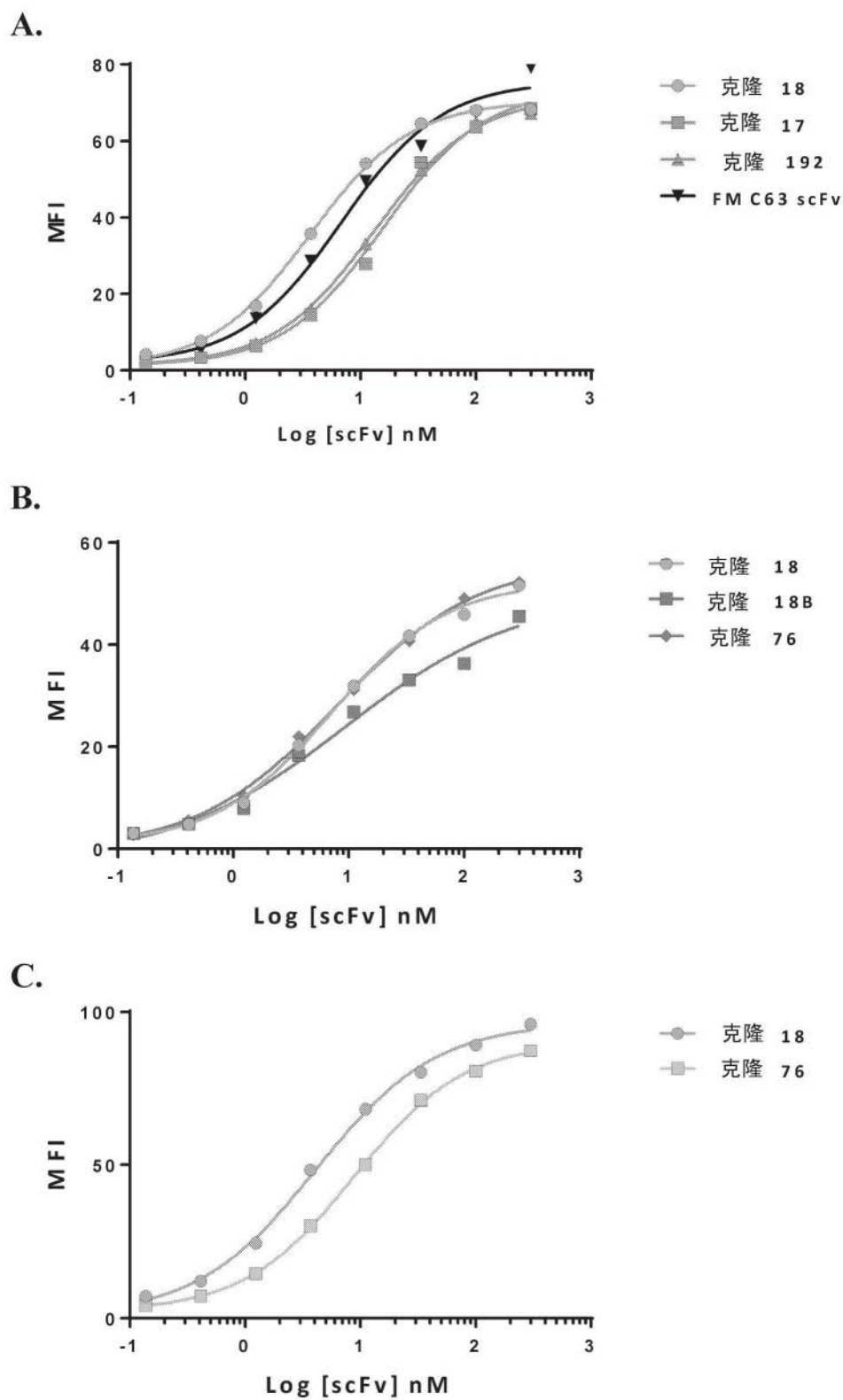


图3

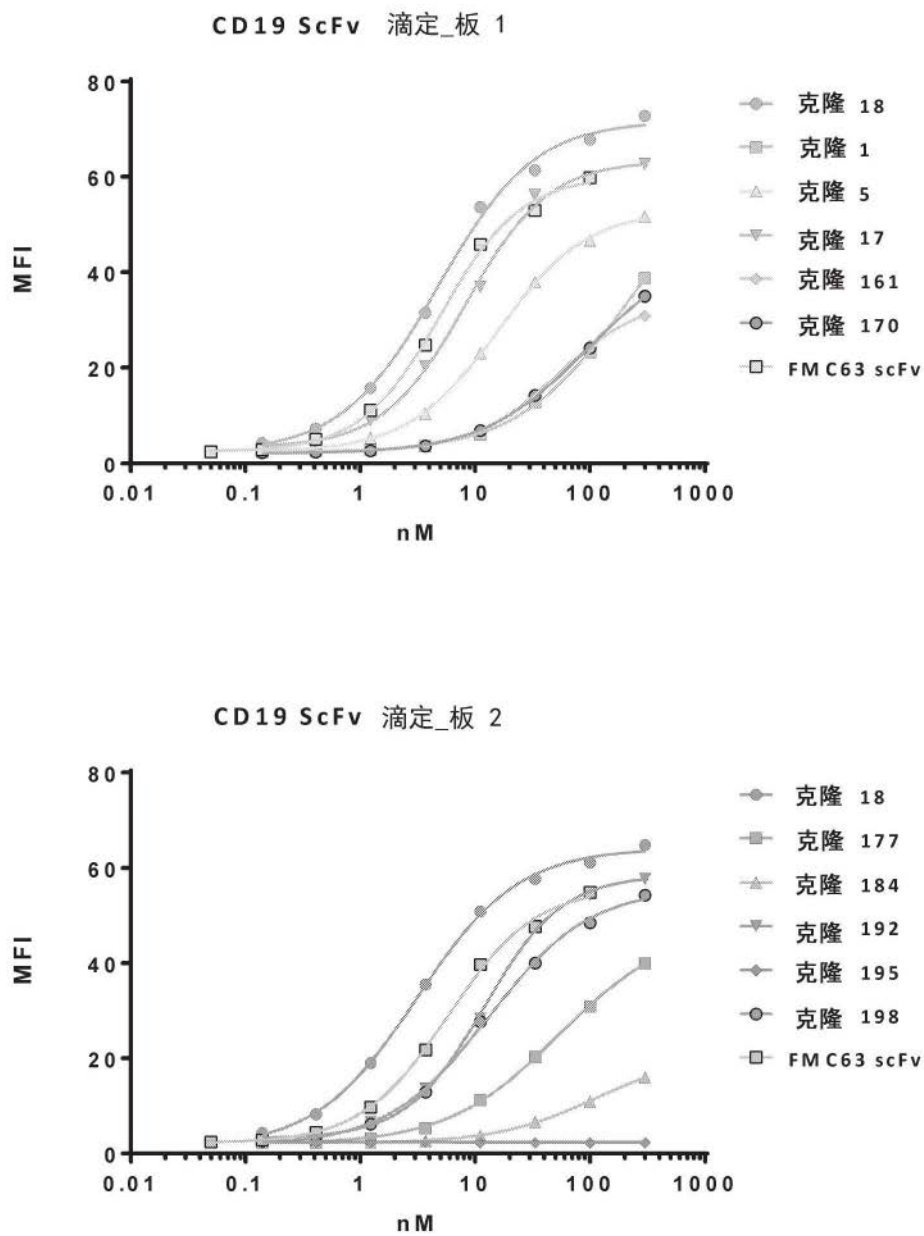
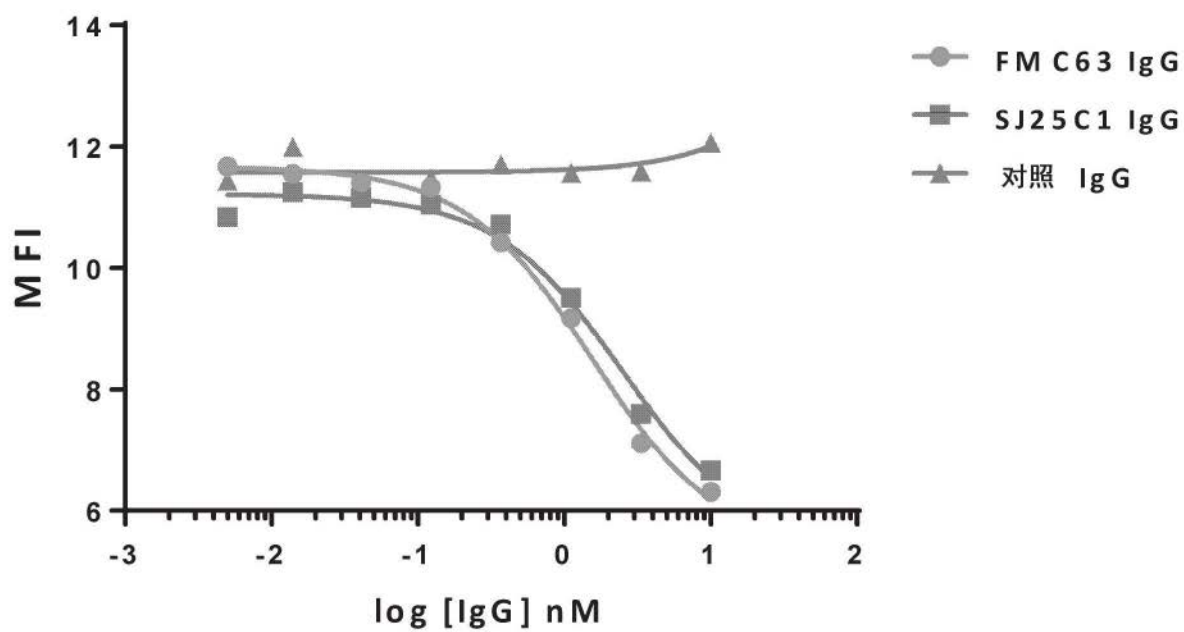


图4

A.



B

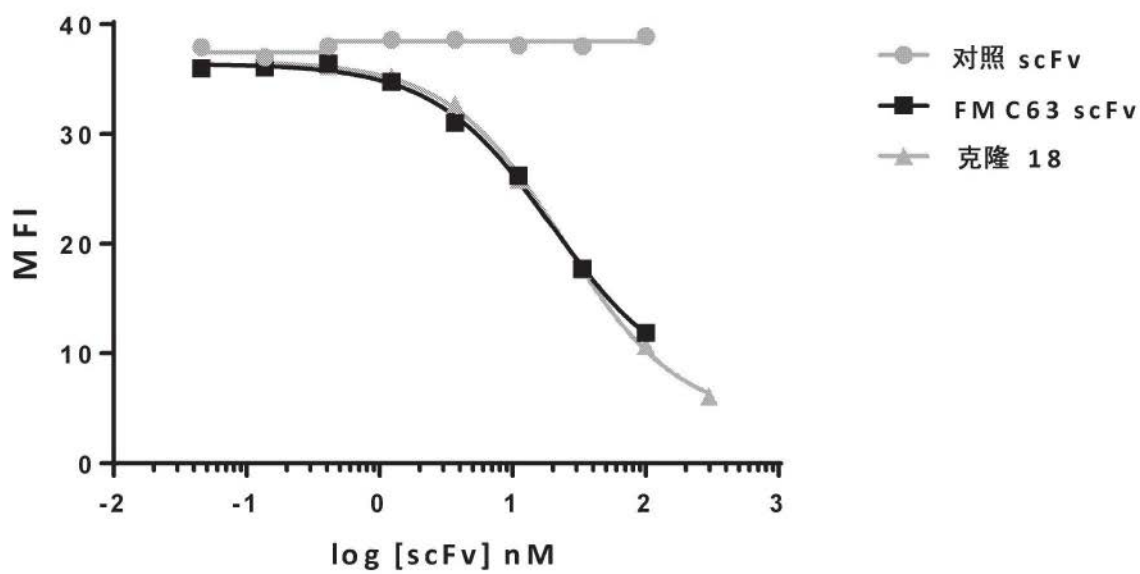


图5

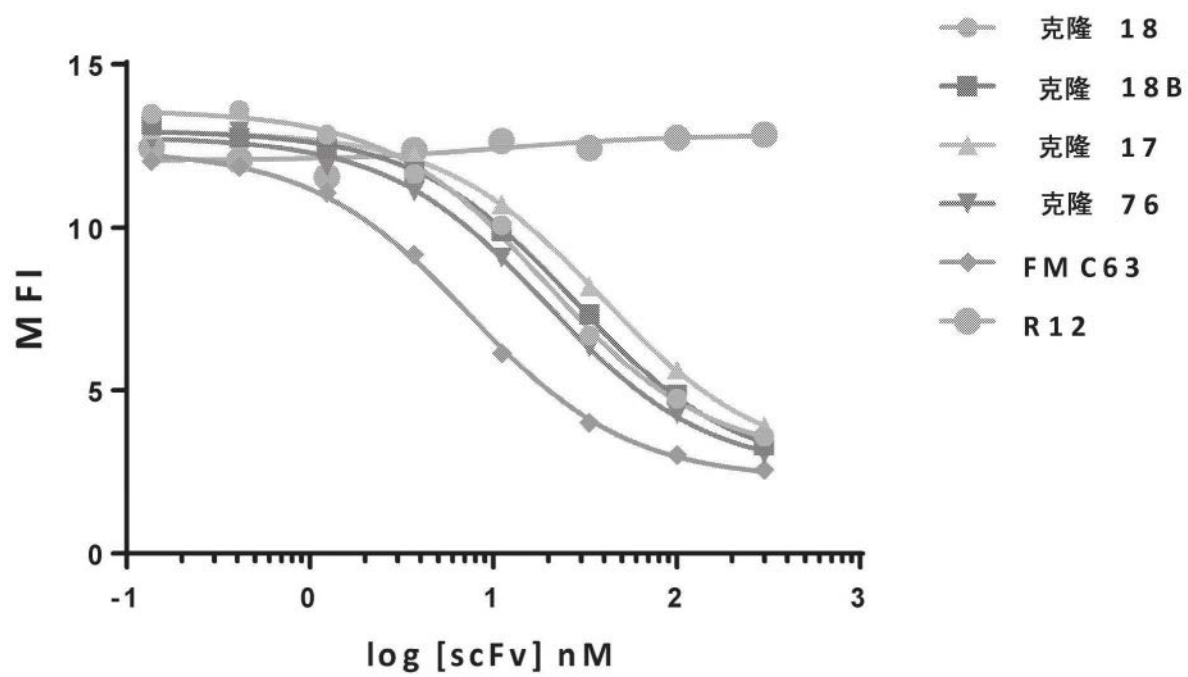
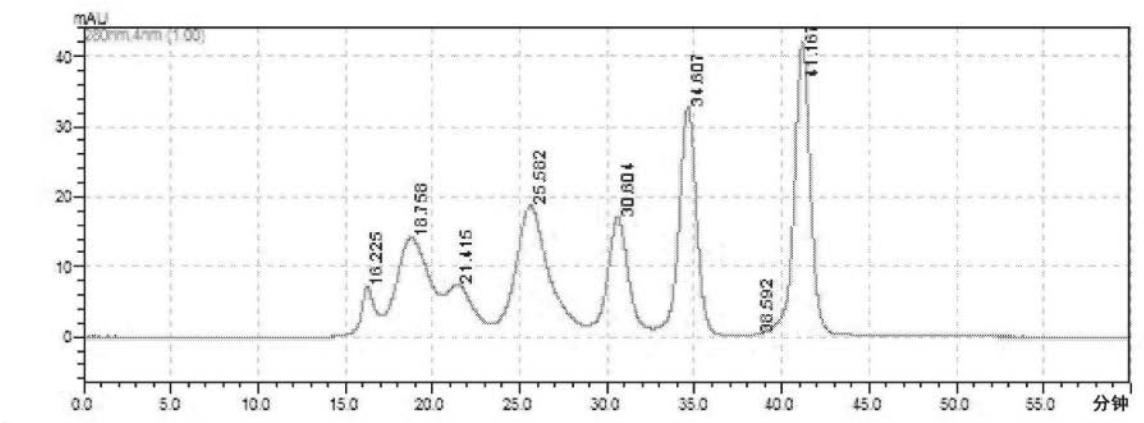


图6



A.



B.

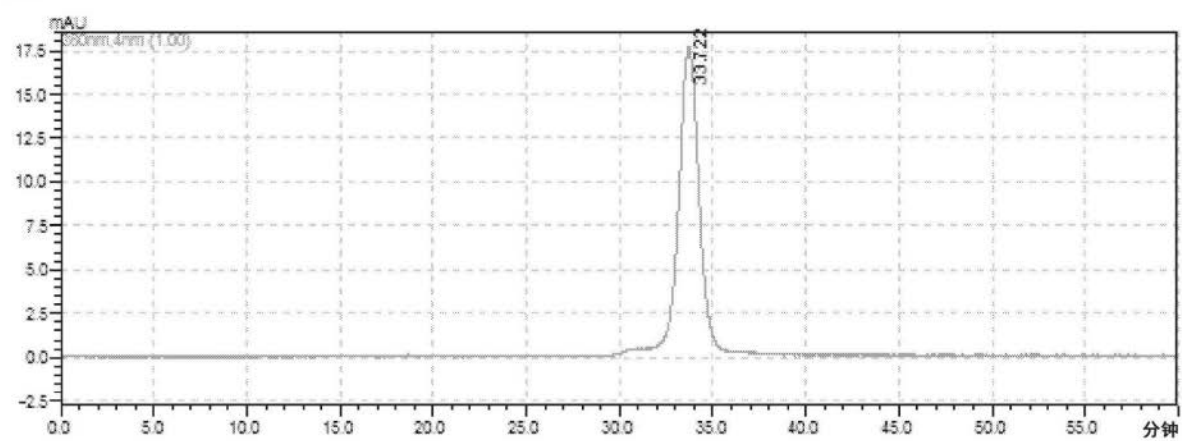


图7

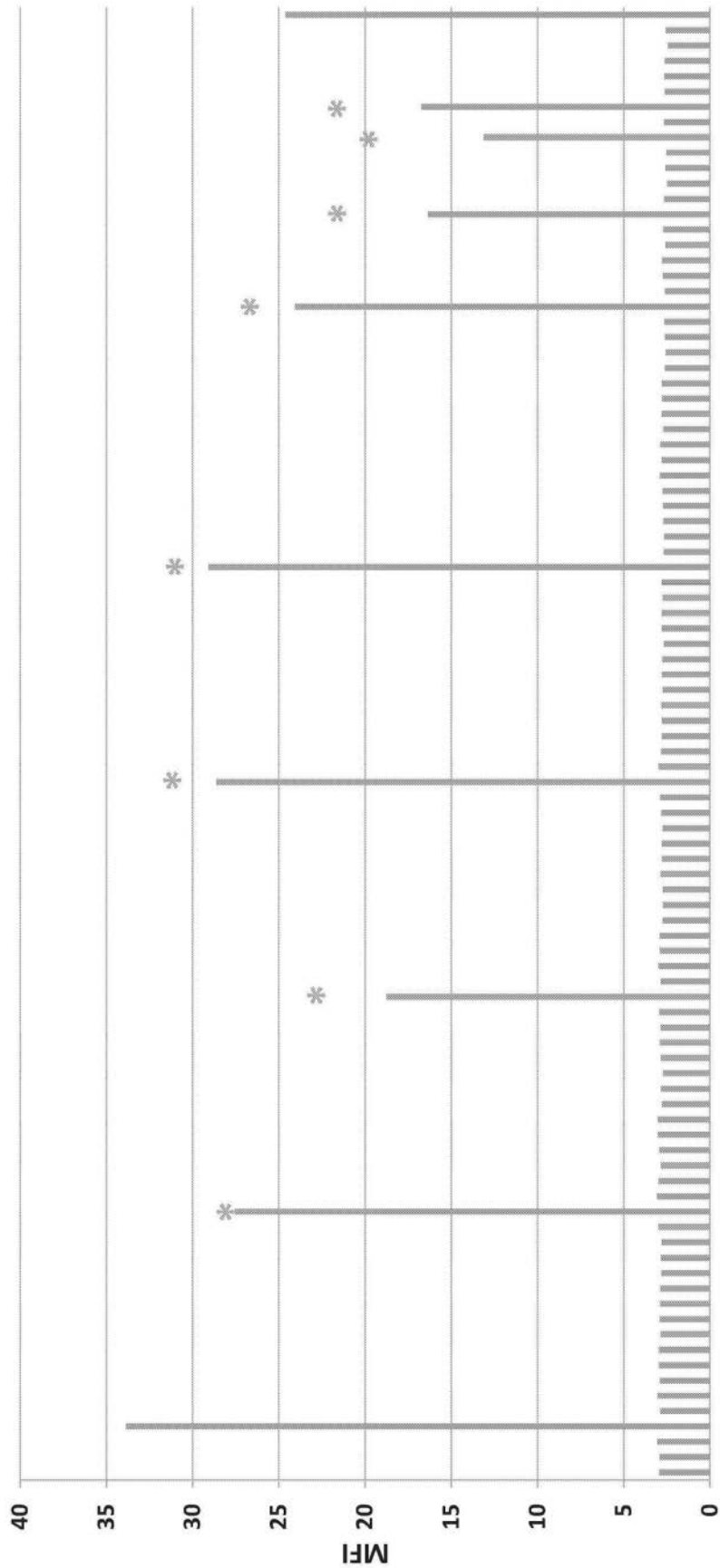


图8A

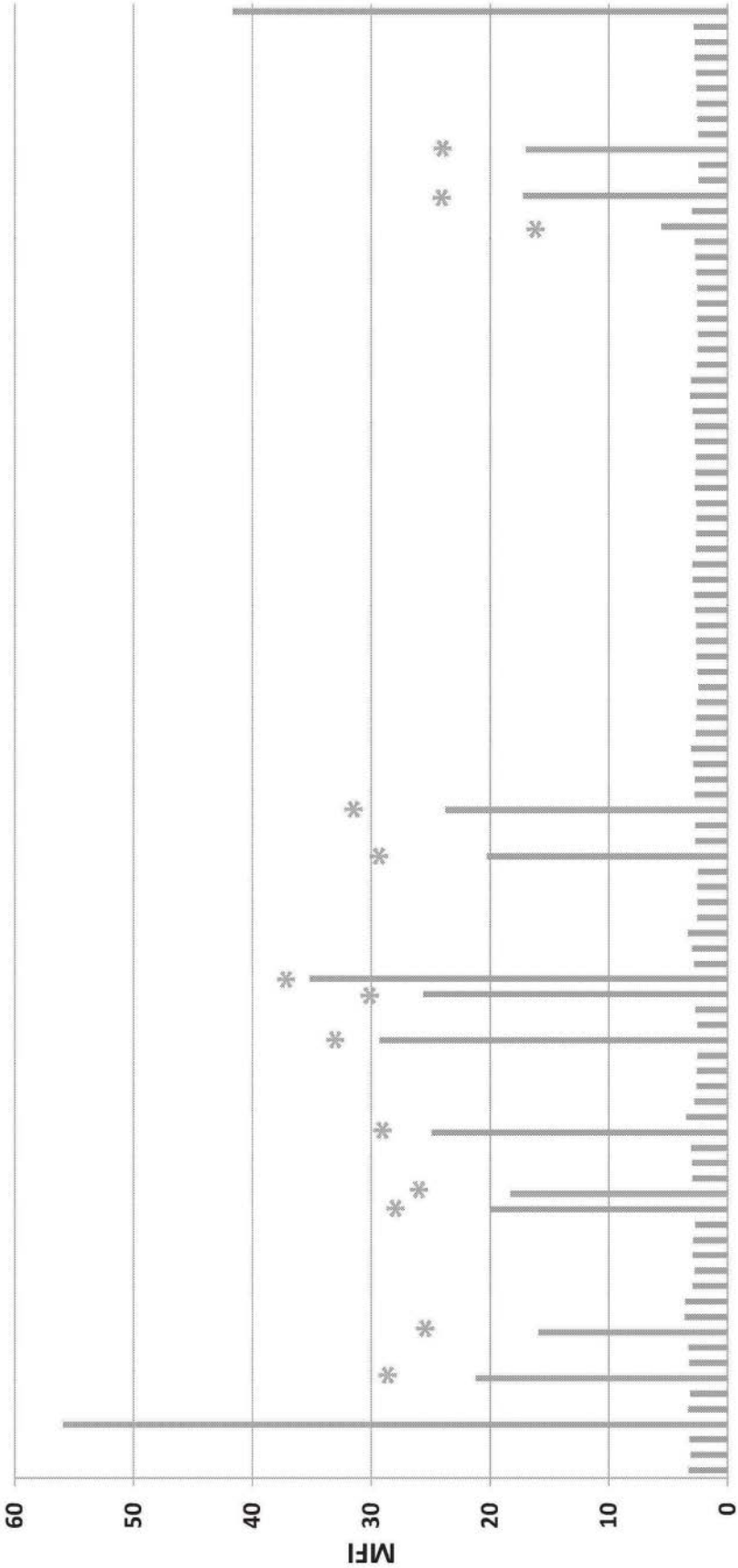


图8B

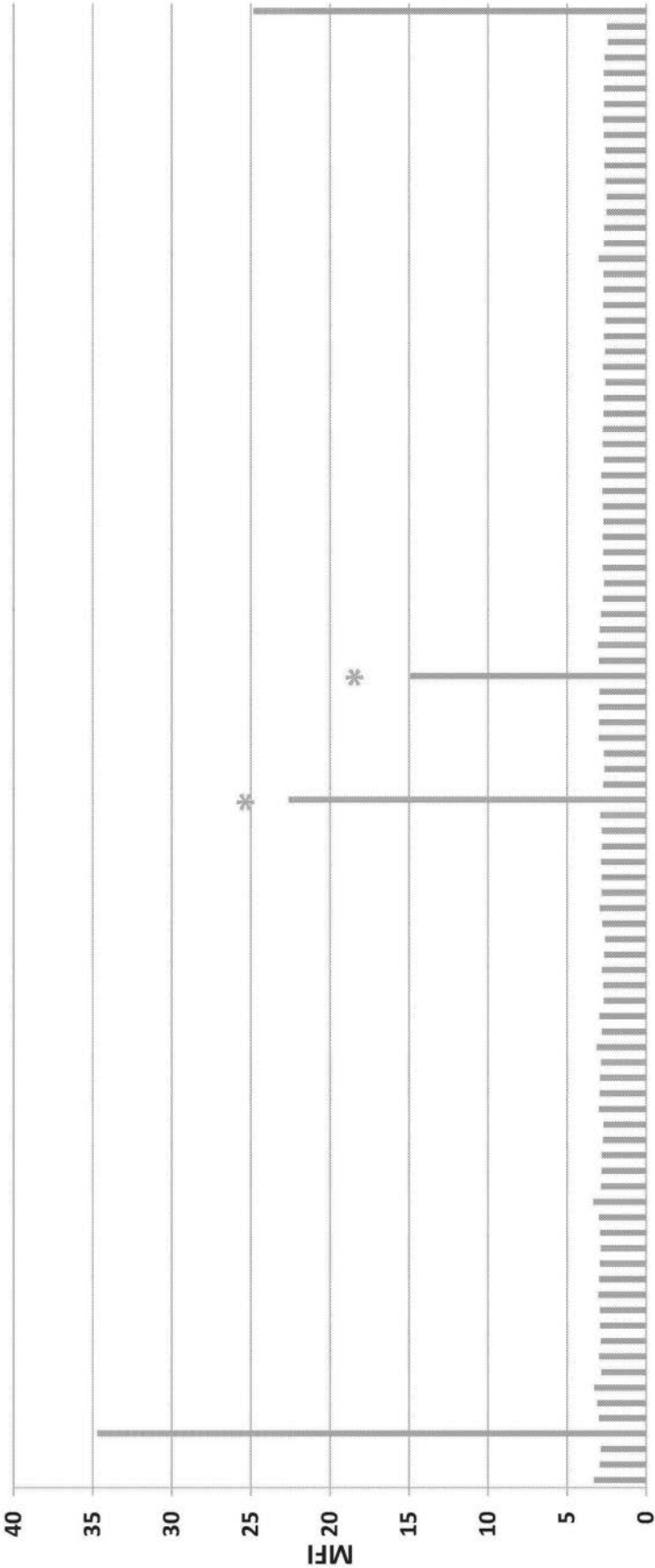


图8C

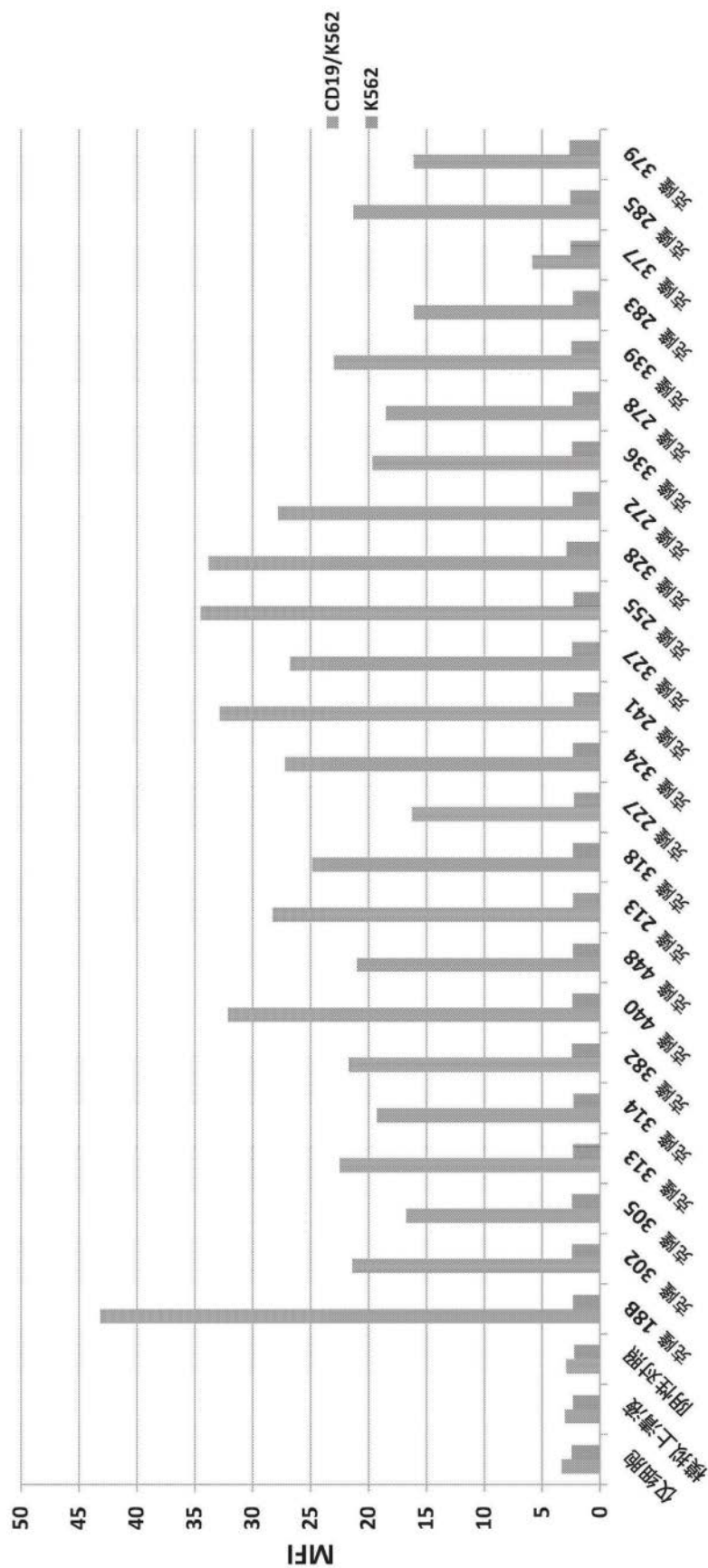


图8D

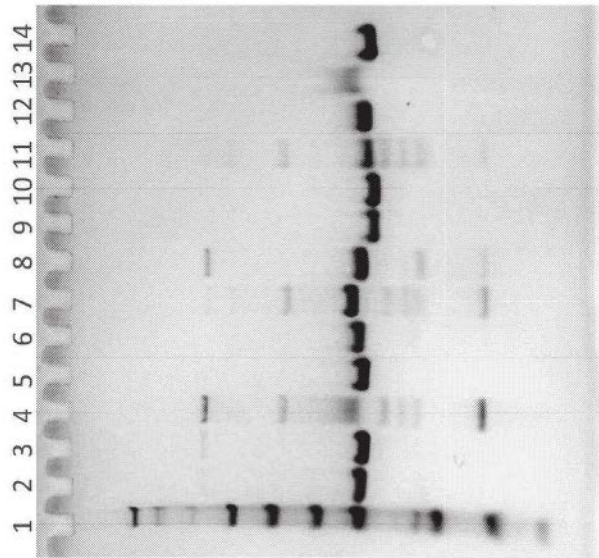


图9

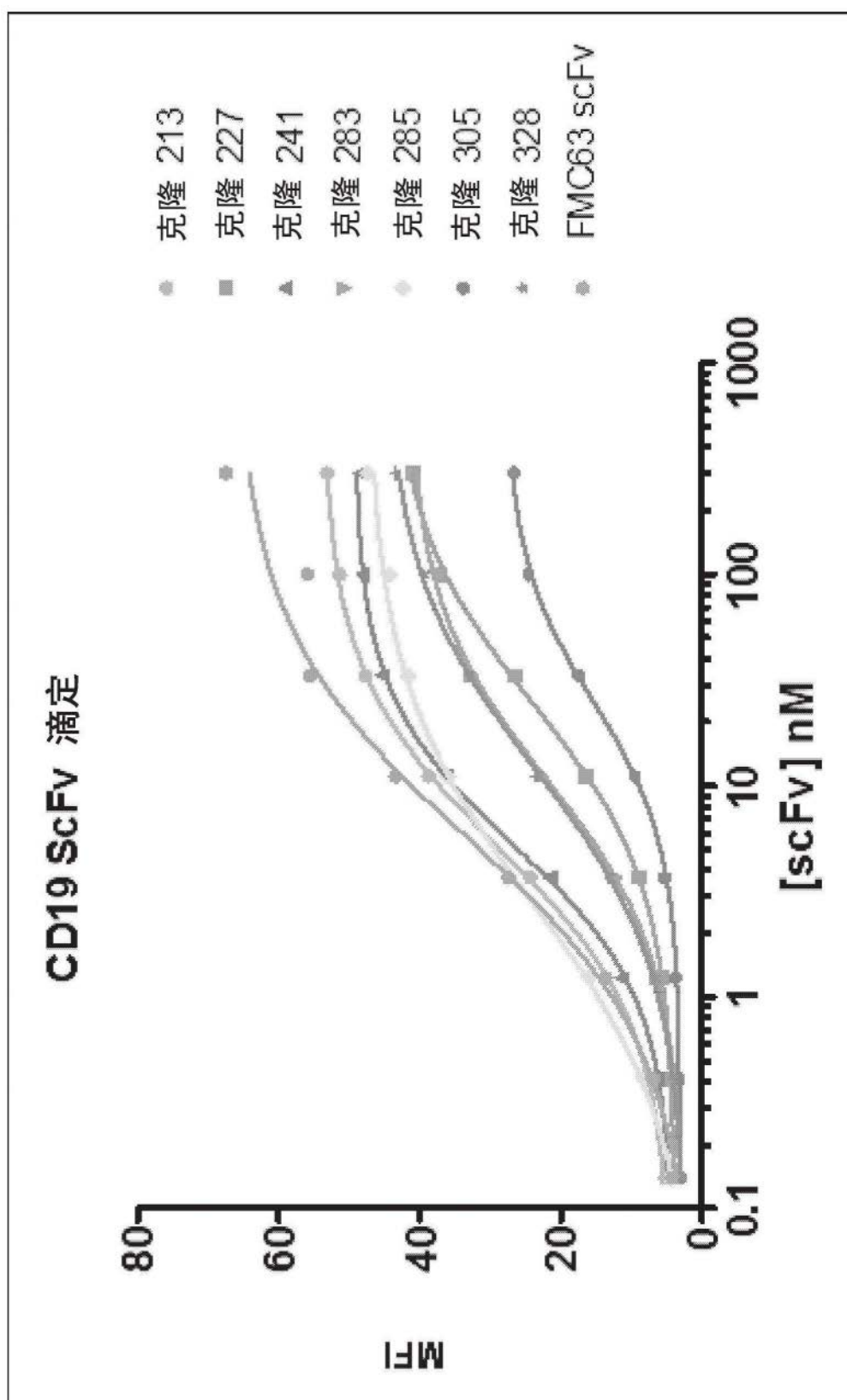


图10A

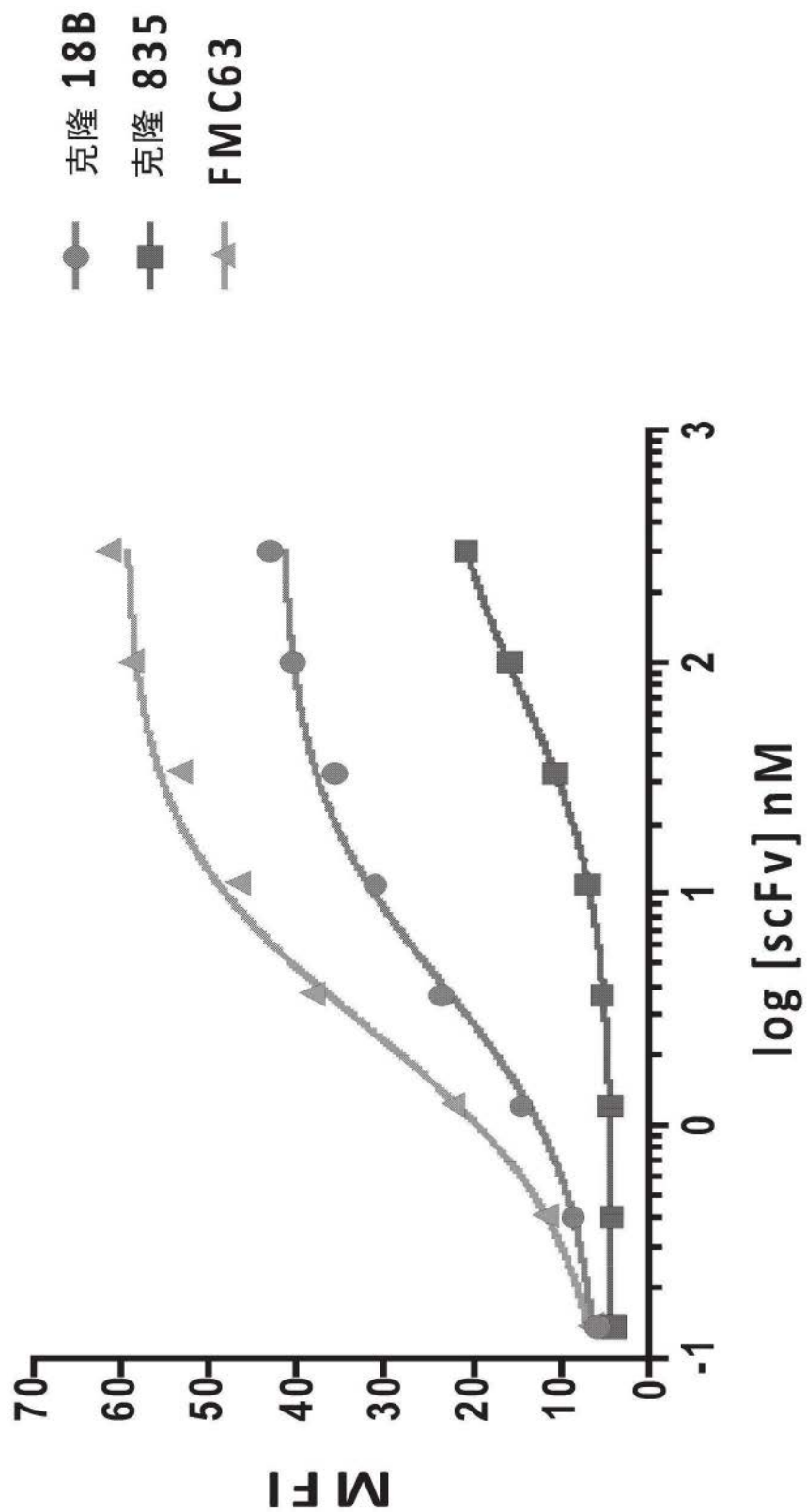


图10B



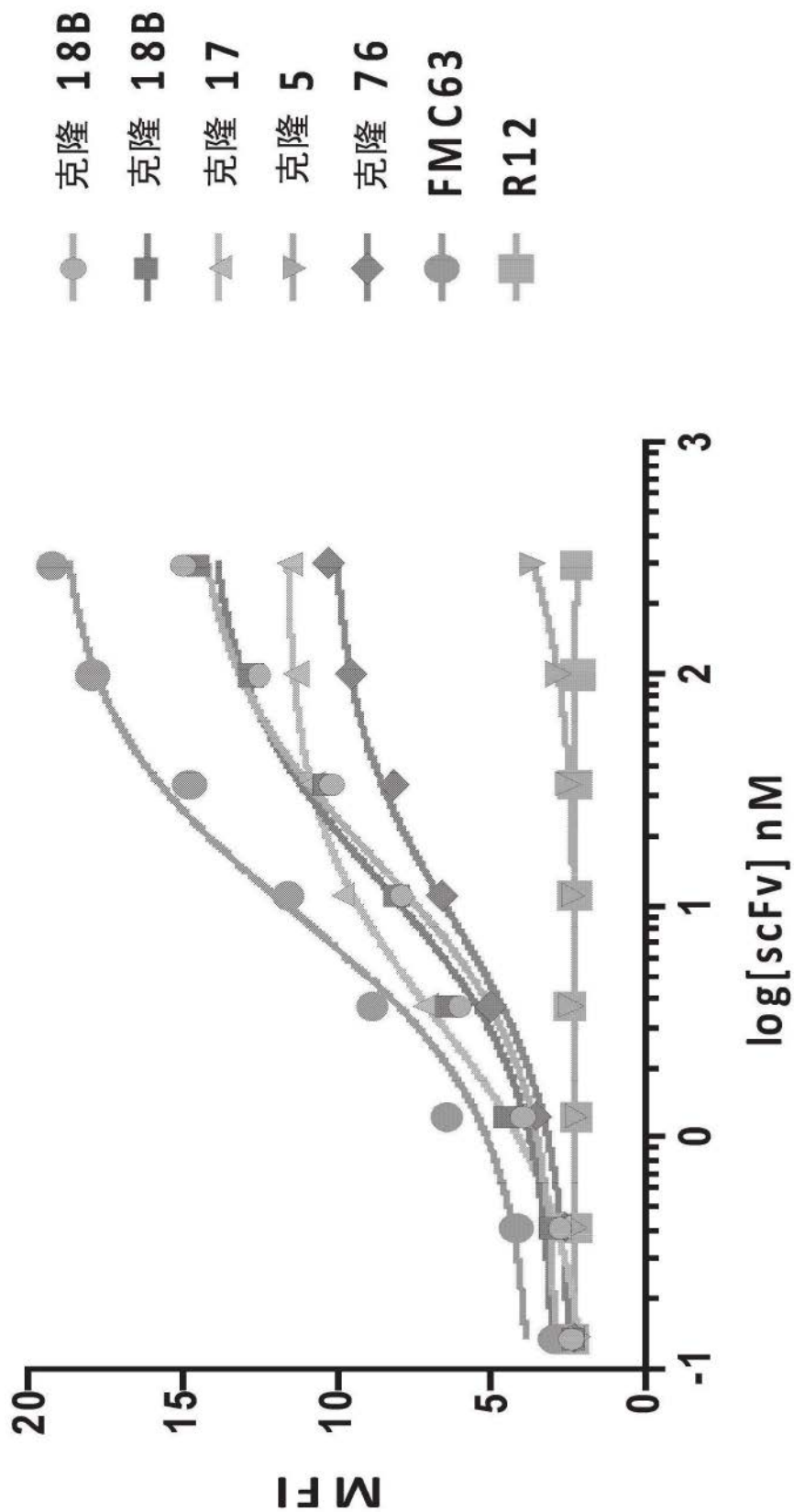


图10C

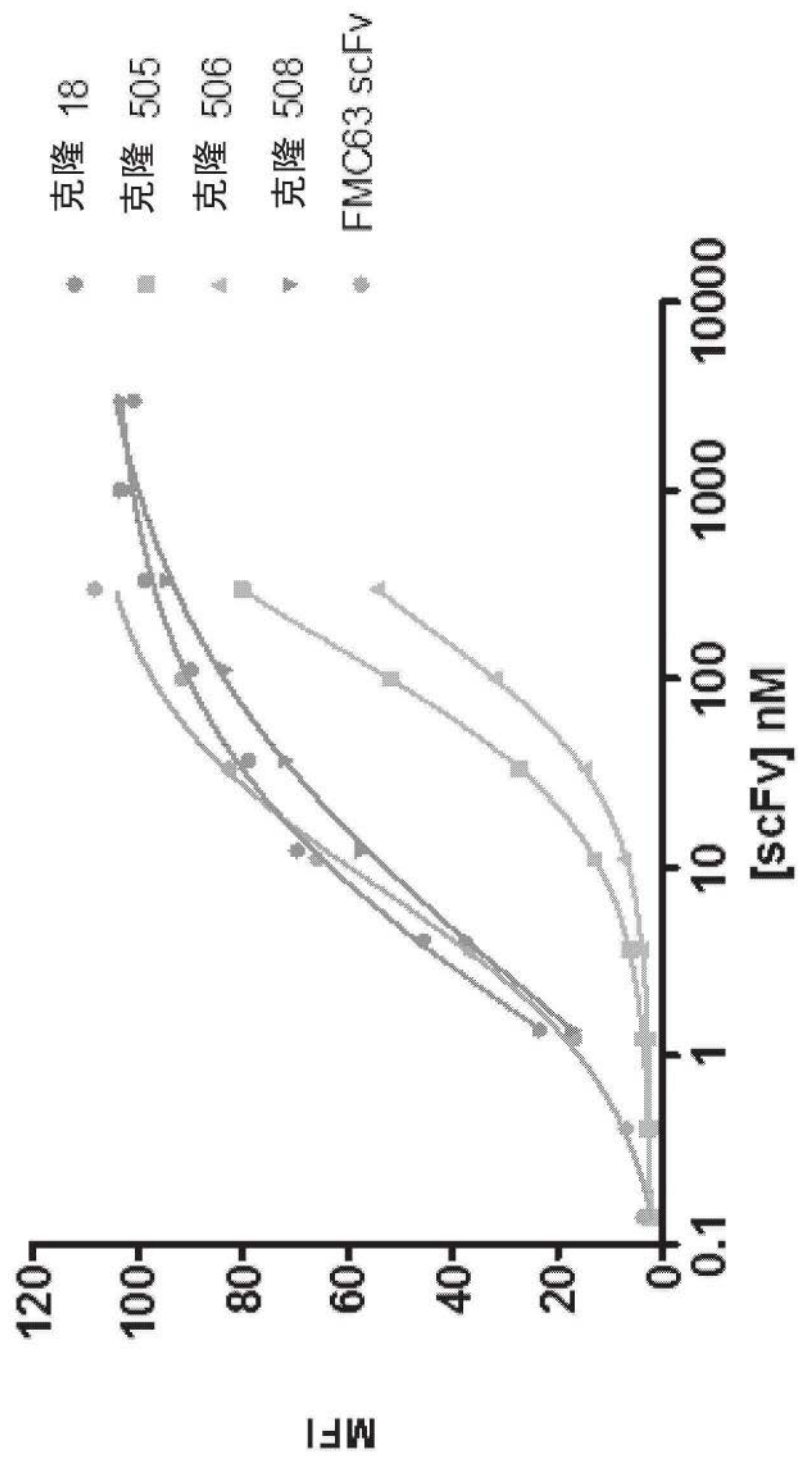


图10D

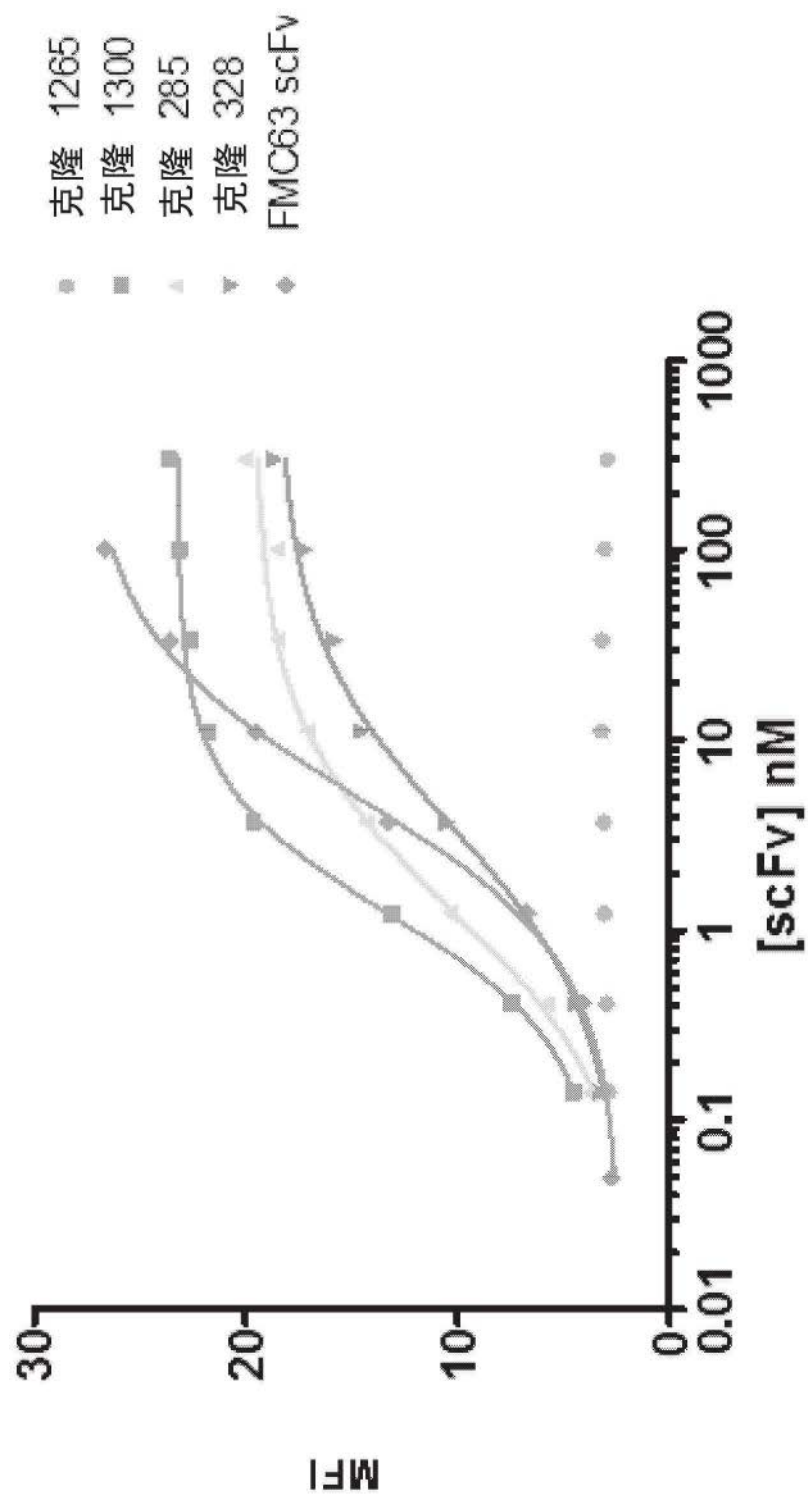


图10E

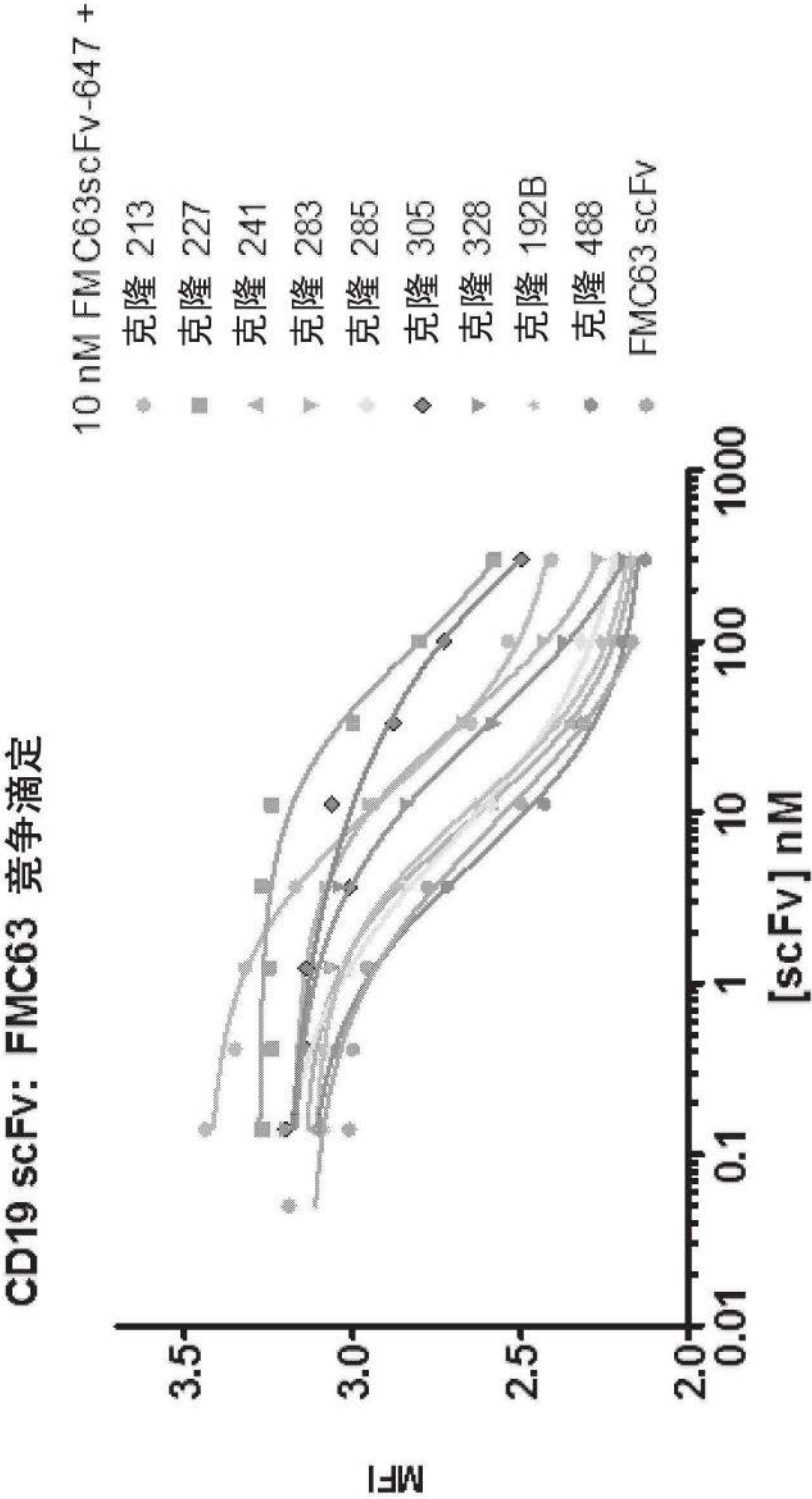


图11

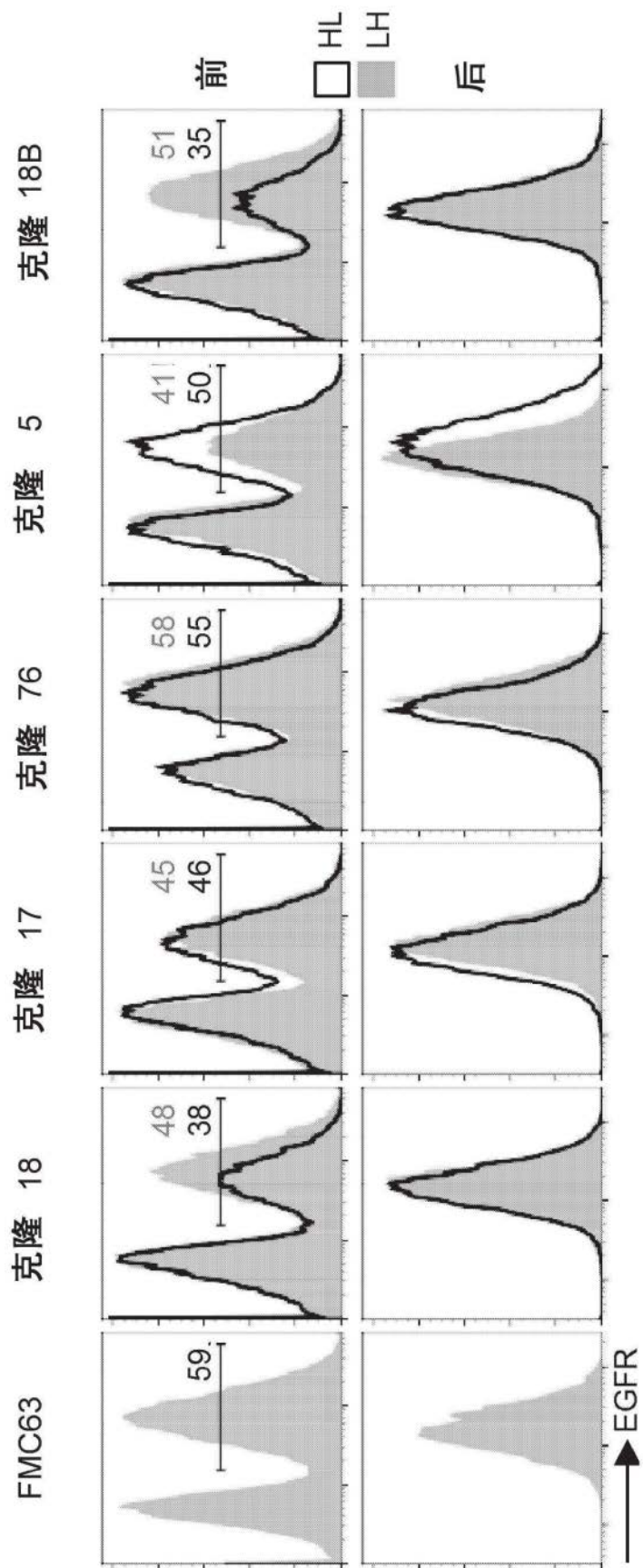


图12A

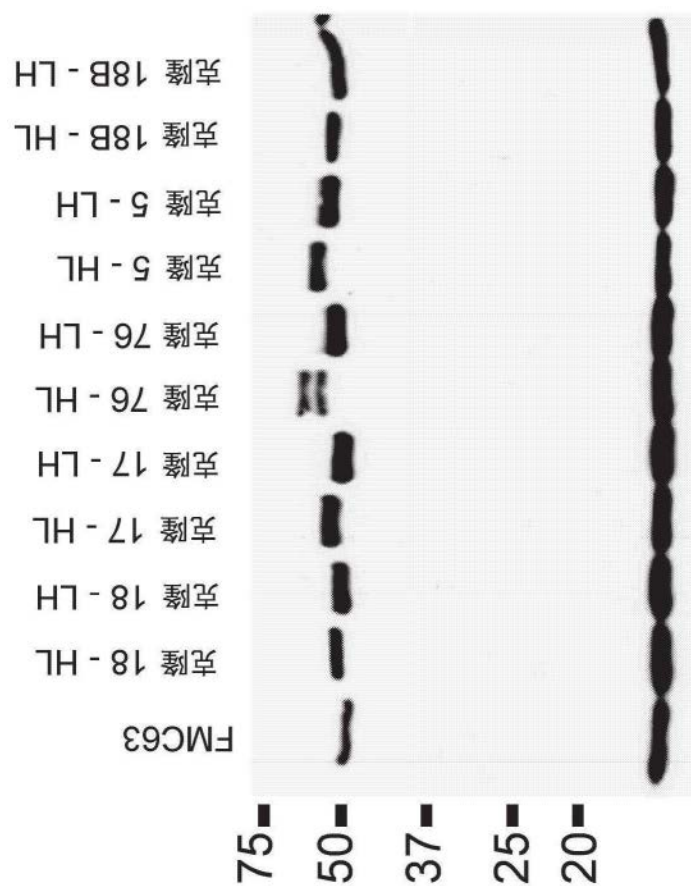


图12B

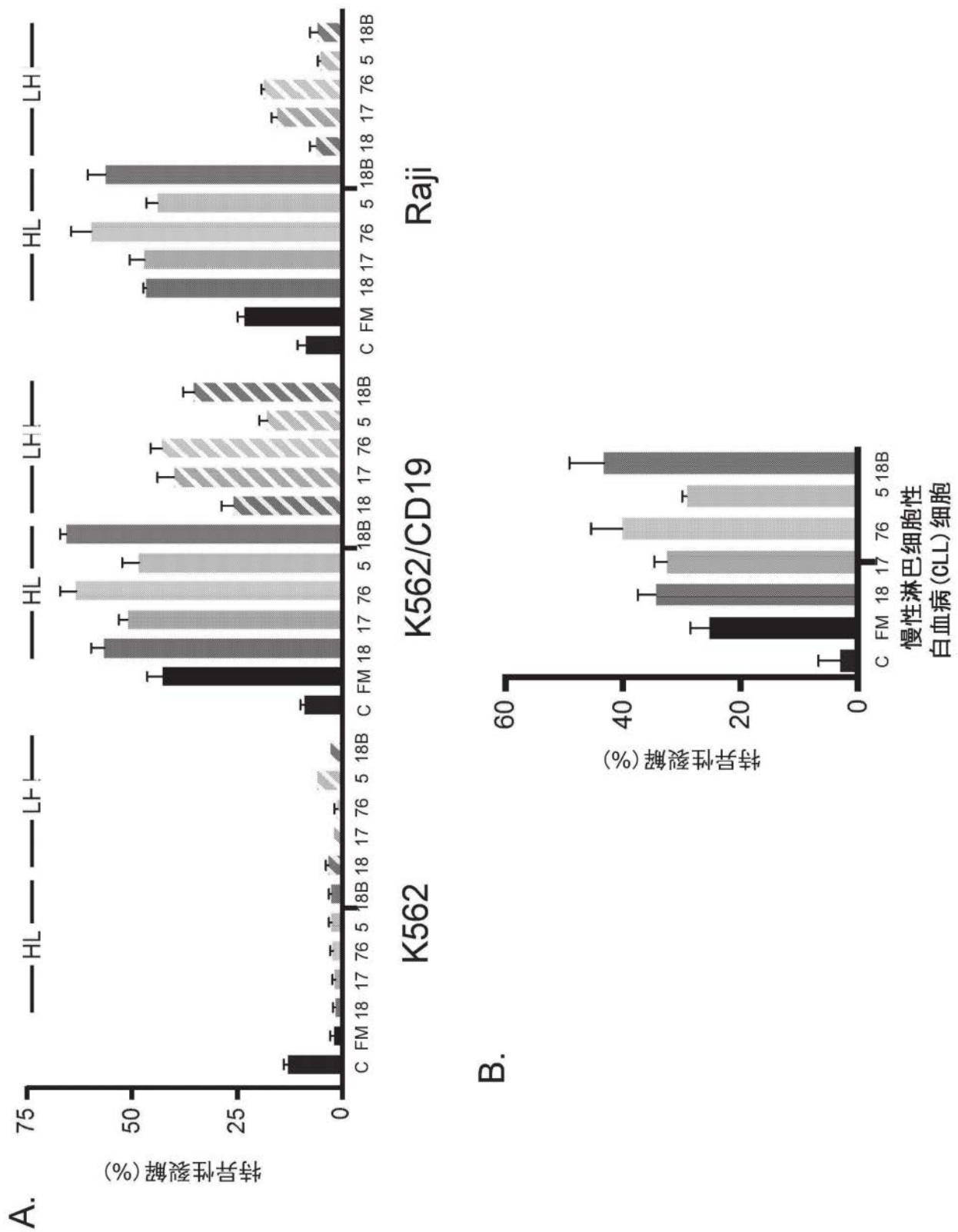


图13

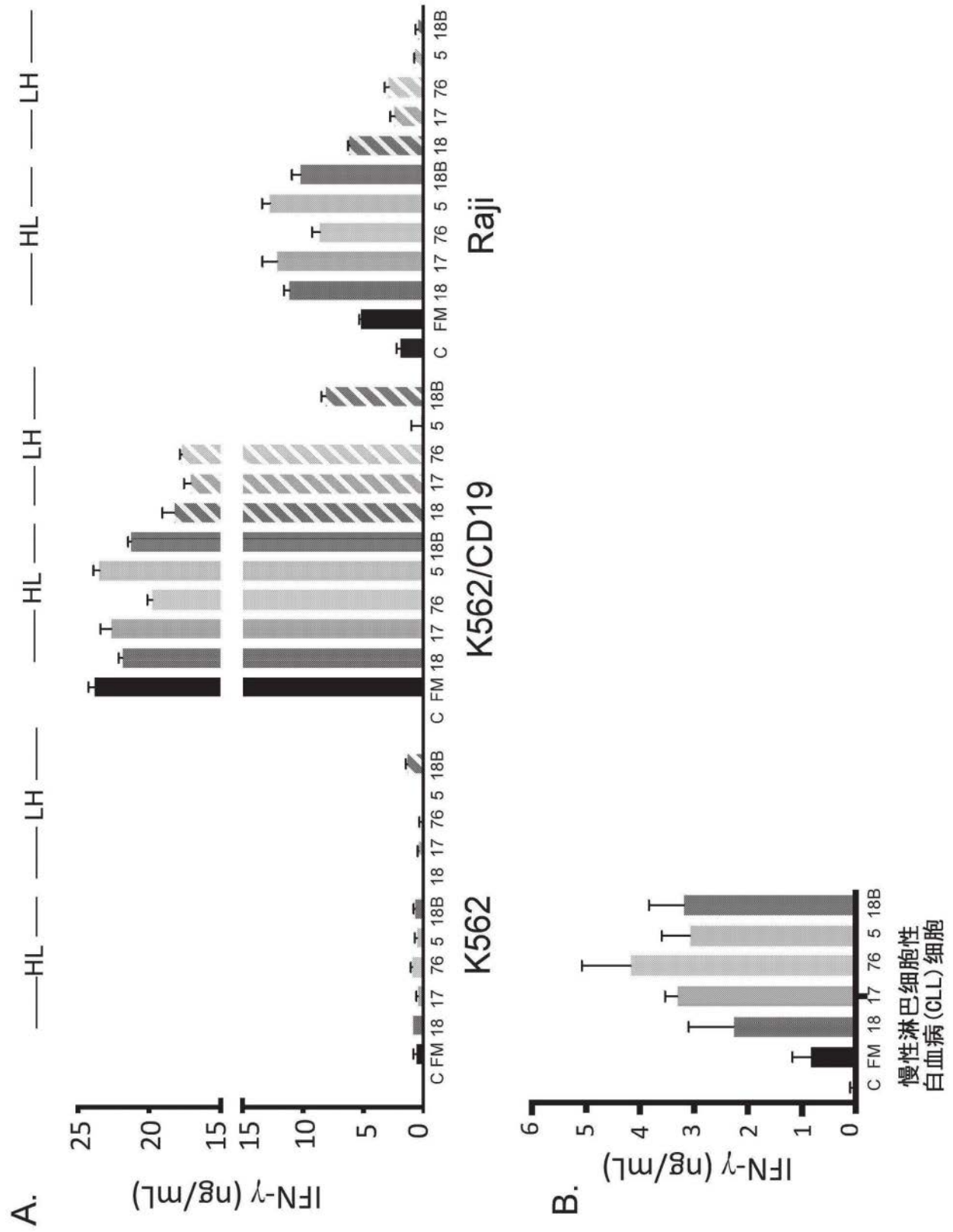


图14



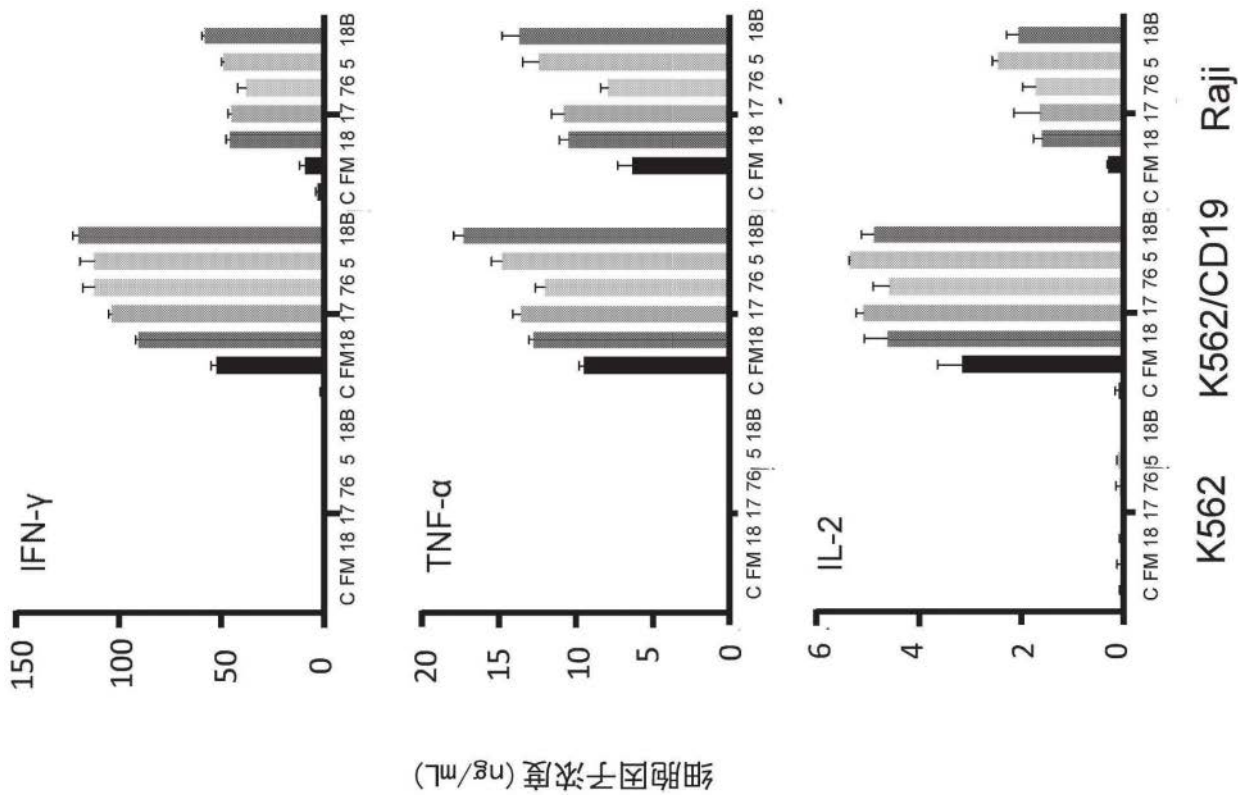


图15

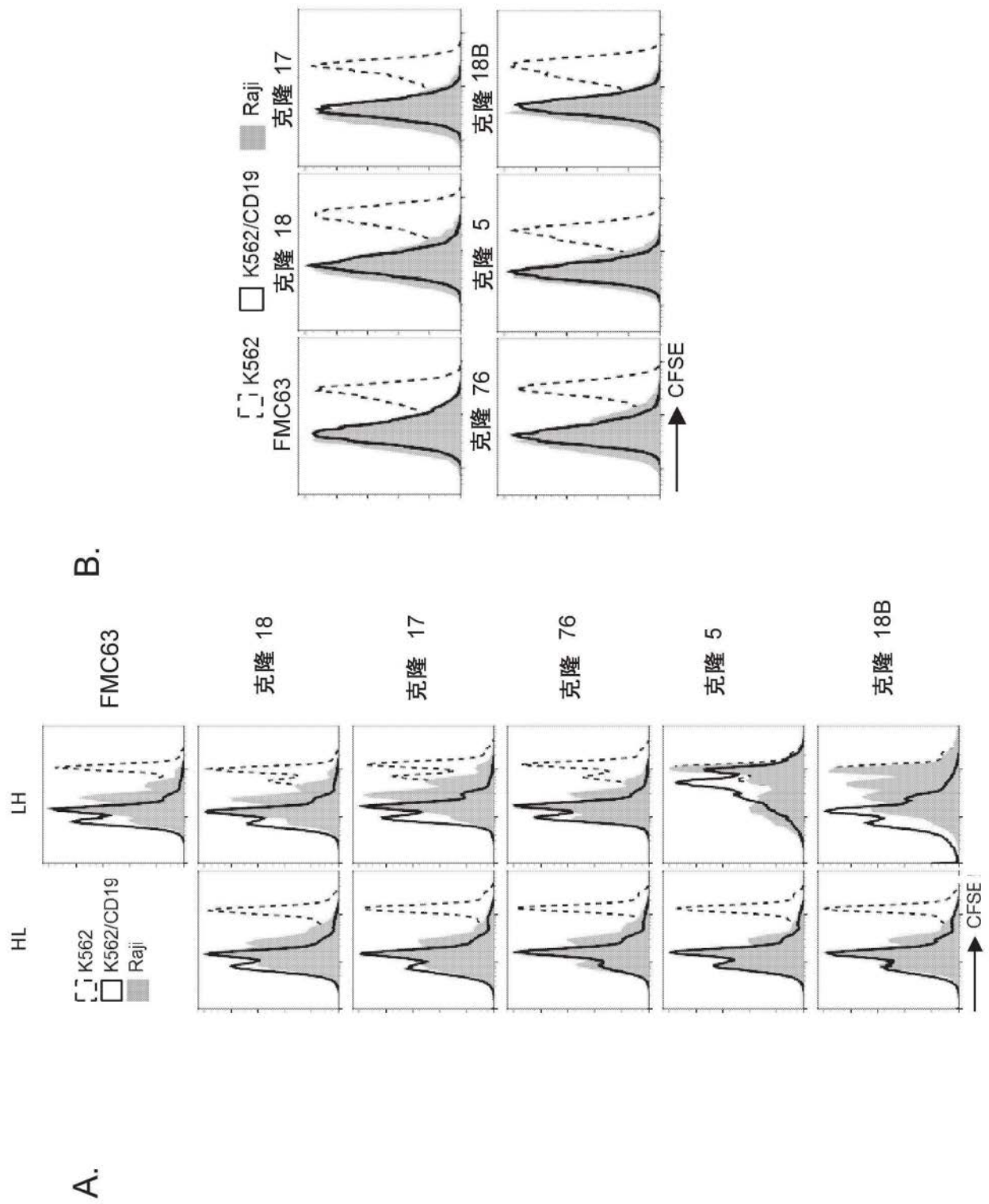


图16

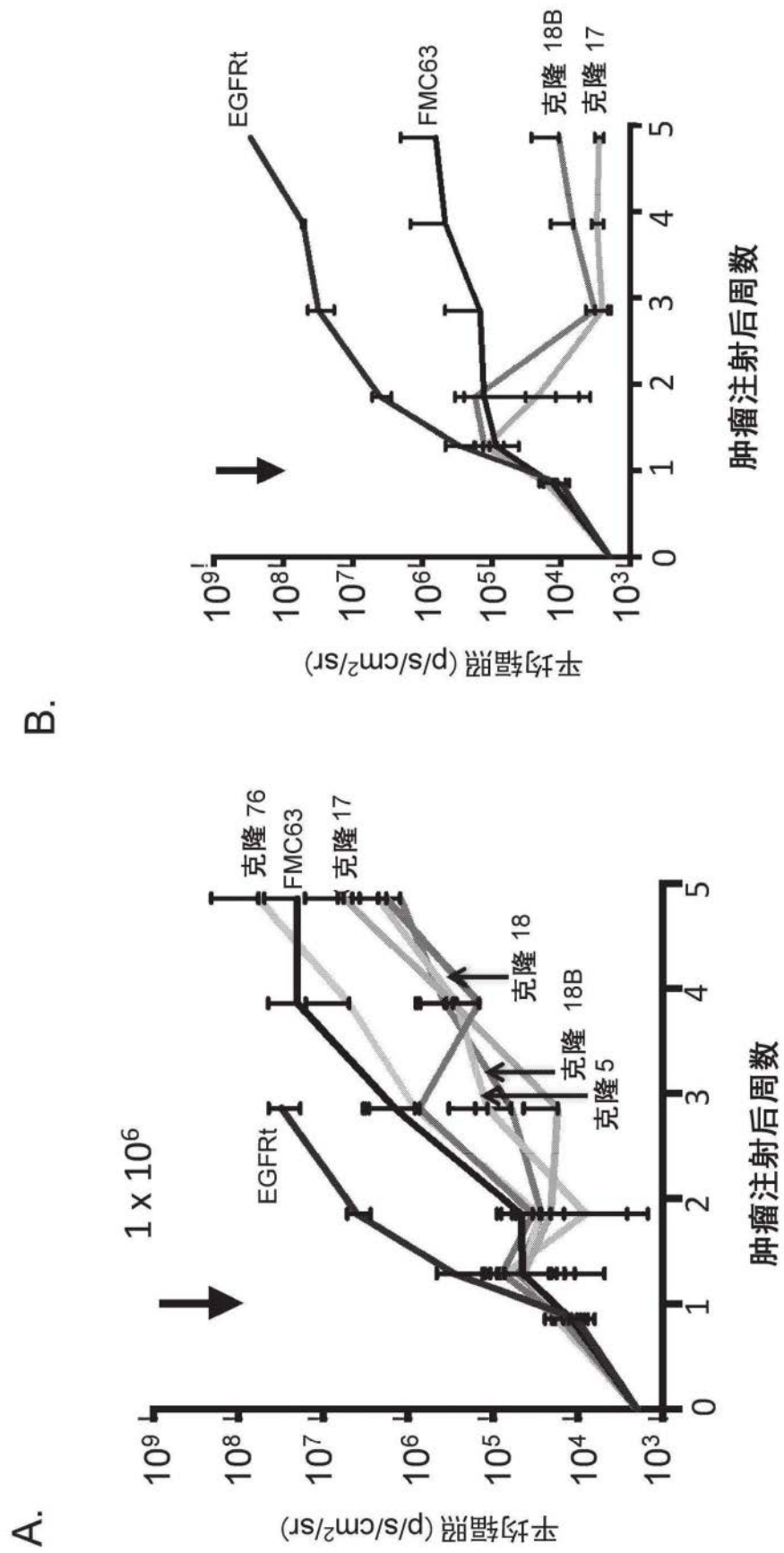


图17

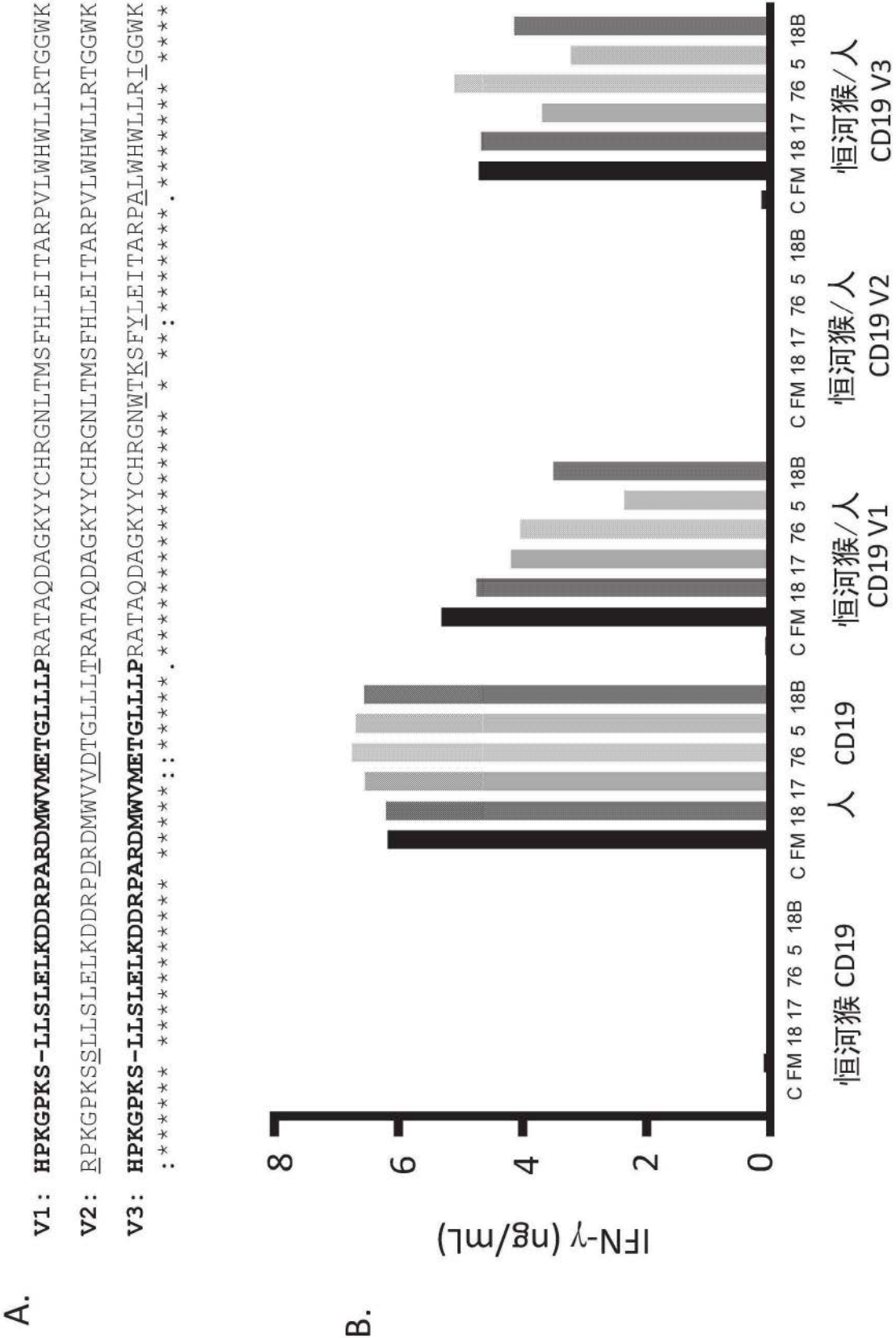


图18