(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108135968 A
(43)申请公布日 2018.06.08

(21)申请号 201680050442.4

(22)申请日 2016.08.26

(30)优先权数据
62/211,532 2015.08.28 US
62/263,319 2015.12.04 US
62/278,755 2016.01.14 US
62/338,285 2016.05.18 US
62/363,046 2016.07.15 US
62/379,673 2016.08.25 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2018.02.28

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2016/049137 2016.08.26

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2017/040344 EN 2017.03.09

(71)申请人 阿穆尼克斯运营公司
地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 V·谢尔恩伯杰 杨帆
德西蕾·赛耶 沈美贞 王家威

(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262
代理人 郑霞

(51)Int.Cl.
A61K 38/16(2006.01)
A61K 38/17(2006.01)
A61K 38/24(2006.01)

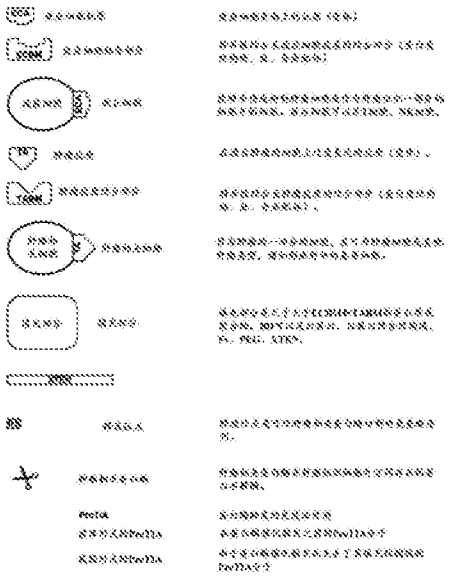
权利要求书12页 说明书221页 附图58页

(54)发明名称

嵌合多肽组装体及其制备和使用方法

(57)摘要

本发明涉及双特异性嵌合多肽组装体组合物，其包含通过可切割释放区段连接至结合域的填充部分，当该可切割释放区段被切割时能够同时使效应T细胞与靶向肿瘤或癌细胞结合并实现该肿瘤细胞或癌细胞的细胞裂解。本发明还提供了制备和使用所述可切割的嵌合多肽组装体组合物的组合物及方法。



CN 108135968 A

1.一种嵌合多肽组装体,其包含第一部分、第二部分和第三部分,其中:

a.所述第一部分包含

i.对靶细胞标志物具有结合特异性的第一结合域;以及

ii.对效应细胞抗原具有结合特异性的第二结合域;

b.所述第二部分包含能够被一种或多种哺乳动物蛋白酶切割的肽基释放区段(RS);并且

c.所述第三部分包含填充部分;

其中所述填充部分能够通过所述哺乳动物蛋白酶对所述第二部分的作用而从所述第一部分释放。

2.根据权利要求1所述的嵌合多肽组装体,其中从N端到C端,第一部分连接至第二部分,第二部分又连接至第三部分。

3.根据权利要求1所述的嵌合多肽组装体,其中从N端到C端,第三部分连接至第二部分,第二部分又连接至第一部分。

4.根据权利要求1-3中任一项所述的嵌合多肽组装体,其中所述靶细胞标志物是肿瘤特异性标志物。

5.根据权利要求1-3中任一项所述的嵌合多肽组装体,其中所述靶细胞标志物是炎症标志物。

6.根据权利要求1-4中任一项所述的嵌合多肽组装体,其中所述哺乳动物蛋白酶优先在肿瘤组织中表达。

7.根据权利要求1-3和5中任一项所述的嵌合多肽组装体,其中所述哺乳动物蛋白酶优先在炎症组织中表达。

8.根据权利要求1-7中任一项所述的嵌合多肽组装体,其中所述嵌合多肽组装体是单体融合蛋白。

9.根据权利要求1-7中任一项所述的嵌合多肽组装体,其中(i)第二部分和第三部分是单体融合蛋白,并且第一部分与第二部分化学缀合;或者(ii)第一部分和第二部分是单体融合蛋白,并且第三部分与第二部分化学缀合。

10.根据前述权利要求中任一项所述的嵌合多肽组装体,其中所述第一结合域和第二结合域各自为scFv。

11.根据权利要求1-9中任一项所述的嵌合多肽组装体,其中所述第一结合域和第二结合域是单链双抗体,或者各自为单结构域抗体,或者各自为单结构域骆驼抗体,或者各自为非抗体支架。

12.根据前述权利要求中任一项所述的嵌合多肽组装体,其中第二结合域对在效应细胞上表达的效应细胞抗原具有结合特异性,所述效应细胞选自浆细胞、T细胞、B细胞、细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK细胞)、肥大细胞、树突细胞、调节性T细胞(RegT细胞)、辅助T细胞、髓样细胞以及NK细胞。

13.根据权利要求12所述的嵌合多肽组装体,其中所述效应细胞是T细胞。

14.根据权利要求12或13所述的嵌合多肽组装体,其中所述效应细胞抗原是CD3。

15.根据权利要求12或13所述的嵌合多肽组装体,其中所述效应细胞抗原是CD3ε。

16.根据权利要求14所述的嵌合多肽组装体,其中所述第二结合域包含源自能够结合

人CD3的单克隆抗体的VH和VL区。

17.根据权利要求14所述的嵌合多肽组装体，其中所述第二结合域VH和VL源自选自表1所列序列的VH和VL。

18.根据权利要求15所述的嵌合多肽组装体，其中所述第二结合域包含源自能够结合人CD3ε的单克隆抗体的VH和VL区。

19.根据权利要求16或17中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中所述第二结合域scFv包含在N端到C端方向上以VH-VL或VL-VH的顺序排列的VH和VL区。

20.根据权利要求14或15所述的嵌合多肽组装体，其中所述第二结合域包含CDR-H1区、CDR-H2区、CDR-H3区、CDR-L1区、CDR-L2区和CDR-H3区，其中每一个区域源自表1的单克隆抗体。

21.根据前述权利要求中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中所述第一结合域包含源自能够结合所述肿瘤特异性标志物的单克隆抗体的VH和VL区。

22.根据权利要求21所述的嵌合多肽组装体，其中所述第一结合域VH和VL区源自选自表2所列序列的单克隆抗体VH和VL。

23.根据前述权利要求中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中所述肿瘤特异性标志物由肿瘤细胞表达。

24.根据权利要求21所述的嵌合多肽组装体，其中所述肿瘤细胞起源于选自下组的细胞：基质细胞、成纤维细胞、肌成纤维细胞、神经胶质细胞、上皮细胞、脂肪细胞、淋巴细胞、血管细胞、平滑肌细胞、间充质细胞、乳房组织细胞、前列腺细胞、肾细胞、脑细胞、结肠细胞、卵巢细胞、子宫细胞、膀胱细胞、皮肤细胞、胃细胞、泌尿生殖道细胞、宫颈细胞、子宫细胞、小肠细胞、肝细胞、胰腺细胞、胆囊细胞、胆管细胞、食道细胞、唾液腺细胞、肺细胞和甲状腺细胞。

25.根据权利要求21或权利要求22所述的嵌合多肽组装体，其中所述肿瘤特异性标志物选自α4整联蛋白、Ang2、B7-H3、B7-H6、CEACAM5、cMET、CTLA4、FOLR1、EpCAM、CCR5、CD19、HER2、HER2neu、HER3、HER4、HER1(EGFR)、PD-L1、PSMA、CEA、MUC1(粘蛋白)、MUC-2、MUC3、MUC4、MUC5AC、MUC5B、MUC7、MUC16、βhCG、Lewis-Y、CD20、CD33、CD38、CD30、CD56(NCAM)、CD133、神经节苷脂GD3、9-O-乙酰基-GD3、GM2、Globo H、岩藻糖基GM1、GD2、碳酸酐酶IX、CD44v6、声猬(Shh)、Wue-1、浆细胞抗原1、黑素瘤硫酸软骨素蛋白聚糖(MCSP)、CCR8、前列腺6-跨膜上皮抗原(STEAP)、间皮素、A33抗原、前列腺干细胞抗原(PSCA)、Ly-6、桥粒芯蛋白4、胎儿乙酰胆碱受体(fnAChR)、CD25、癌抗原19-9(CA19-9)、癌抗原125(CA-125)、II型苗勒抑制物质受体(MISIIR)、唾液酸化Tn抗原(sTN)、成纤维细胞活化抗原(FAP)、内皮唾液酸蛋白(CD248)、表皮生长因子受体变体III(EGFRvIII)、肿瘤相关抗原L6(TAL6)、SAS、CD63、TAG72、Thomsen-Friedenreich抗原(TF-抗原)、胰岛素样生长因子I受体(IGF-IR)、Cora抗原、CD7、CD22、CD70、CD79a、CD79b、G250、MT-MMP、F19抗原、CA19-9、CA-125、甲胎蛋白(AFP)、VEGFR1、VEGFR1、VEGFR2、DLK1、SP17、ROR1和EphA2。

26.根据权利要求21-25中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中所述第一结合域是scFv，该scFv包含从N端至C端以VH-VL或VL-VH的形式排列的VH和VL区。

27.根据权利要求1-20中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中所述第一结合域包含CDR-H1区、CDR-H2区、CDR-H3区、CDR-L1区、CDR-L2区和CDR-H3区，其中所述区域中的每一个

源自选自表2所列序列的单克隆抗体序列。

28.根据前述权利要求中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中所述第一结合域和第二结合域通过选自表8和表9所列序列的柔性多肽连接体连接。

29.根据前述权利要求中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中所述RS包含选自表4所列序列的氨基酸序列。

30.根据前述权利要求中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中所述RS包含选自以下序列的氨基酸序列：LSGRSDNHSPLGLAGS、SPLGLAGSLSGRSDNH、SPLGLSGRSDNH、LAGRSDNHSPLGLAGS、LSGRSDNHVPLSLKMG、SPLGLAGS、GPLALARG、LSGRSDNH、VPLSLTMG、VPLSLKMG、VPLSLSMG、EPLELVAG、EPLELRAG、EPAALMAG、EPASLMAG、RIGSLRTA、RIQFLRTA、EPFHLMAG、VPLSLFMG、EPLELPAG和EPLELAAG。

31.根据前述权利要求中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中所述RS包含能够被选自表3所列蛋白酶的蛋白酶切割的氨基酸序列。

32.根据前述权利要求中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中所述填充部分选自：延伸重组多肽(XTEN)；白蛋白结合域；白蛋白、IgG结合域；由脯氨酸、丝氨酸和丙氨酸组成的多肽；脂肪酸；ELP生物聚合物；Fc结构域；聚乙二醇(PEG)、PLGA；以及羟乙基淀粉。

33.根据权利要求32所述的嵌合多肽组装体，其中所述填充部分是XTEN。

34.根据权利要求33所述的嵌合多肽组装体，其中所述XTEN包含与选自表5所列序列的序列具有至少约90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％序列同一性的氨基酸序列。

35.根据前述权利要求中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中所述嵌合多肽组装体的第一部分包含与选自表13所列序列的序列具有至少约90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％序列同一性的氨基酸序列。

36.根据权利要求13-35中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中当第二部分被所述哺乳动物蛋白酶切割并且从所述嵌合多肽组装体释放第一部分后，在包含携带人CD3抗原的T细胞和携带肿瘤特异性标志物的肿瘤细胞的体外测定中，第一部分能够同时结合该T细胞和该肿瘤细胞。

37.根据权利要求36所述的嵌合多肽组装体，其中在切割第二部分以从所述嵌合多肽组装体释放所述第一部分和所述第三部分后，所述释放的第一部分具有的分子量比所述第三部分具有的分子量小至少2倍、3倍、4倍或5倍。

38.根据权利要求36所述的嵌合多肽组装体，其中在切割第二部分后，与第二部分没有被切割的嵌合结合组装体相比，从所述嵌合多肽组装体释放的所述第一部分具有增加的对携带CD3抗原或肿瘤细胞标志物的T细胞的结合亲和力。

39.根据权利要求36所述的嵌合多肽组装体，其中与所述RS没有被切割的所述嵌合多肽组装体对携带人CD3抗原或肿瘤细胞标志物的T细胞的结合亲和力相比，所释放的第一部分对携带人CD3抗原或肿瘤细胞标志物的T细胞的结合亲和力为至少2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍或10倍。

40.根据权利要求36所述的嵌合多肽组装体，其中在体外测定中，所述第一部分对T细胞和肿瘤细胞的同时结合产生针对该肿瘤细胞的细胞毒活性。

41.根据权利要求36所述的嵌合多肽组装体，其中在体外测定中，与完整的嵌合结合组

装体相比，所述嵌合多肽组装体的释放的第一部分能够实现更大量的肿瘤细胞的细胞裂解。

42.根据权利要求36所述的嵌合多肽组装体，其中在体外测定中，与完整的嵌合结合组装体相比，由所述嵌合多肽组装体的释放的第一部分实现的细胞裂解的量为至少10倍，或至少30倍，或至少100倍，或至少300倍，或至少1000倍。

43.根据权利要求40-42中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中所述细胞毒活性和/或肿瘤细胞的细胞裂解由T细胞的靶标特异性活化介导。

44.根据权利要求43所述的嵌合多肽组装体，其中与完整的嵌合结合组装体相比，由所述嵌合多肽组装体的释放的第一部分实现的T细胞活化的量为至少10倍，或至少30倍，或至少100倍，或至少300倍，或至少1000倍。

45.根据权利要求40-44中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中在以下项目的比较中：

a)相对细胞毒性，其被测量为以下细胞毒性之间的比率：(i)在包含携带效应细胞抗原的效应细胞和携带靶细胞标志物的肿瘤细胞的体外测定中，所释放的第一部分对肿瘤细胞的细胞毒性，以及(ii)组合物的细胞毒性，该组合物包含所述嵌合多肽组装体的相应第一部分和所述嵌合多肽组装体的相应第三部分，这两个部分通过1至约10个氨基酸的不可切割的肽连接；以及

b)相对结合亲和力，其被测量为a(i)的释放的第一部分的第二结合域对所述效应细胞抗原的结合亲和力与a(ii)的组合物对所述效应细胞抗原的结合亲和力之间的比率；

所述相对细胞毒性与相对结合亲和力之间的比率至少大于10:1，或至少大于30:1，或至少大于50:1，或至少大于100:1，或至少大于300:1，或至少大于500:1，或至少大于1000:1。

46.根据权利要求45中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中所述不可切割的肽具有甘氨酸-丝氨酸序列，并且所述效应细胞抗原是CD3。

47.根据权利要求36-46中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中所述体外测定选自：细胞膜完整性测定、混合细胞培养测定、基于FACS的碘化丙锭测定、台盼蓝流入测定、光度酶释放测定、放射性51Cr释放测定、荧光铕释放测定、CalceinAM释放测定、光度MTT测定、XTT测定、WST-1测定、阿拉玛蓝测定、放射性3H-Thd掺入测定、测定细胞分裂活性的克隆形成测定、测量线粒体跨膜梯度的荧光罗丹明123测定、通过基于FACS的磷脂酰丝氨酸暴露监测的凋亡测定、基于ELISA的TUNEL测试分析、夹心ELISA、胱天蛋白酶活性测定、基于细胞的LDH释放测定和细胞形态学测定，或上述的任意组合。

48.根据权利要求36所述的嵌合多肽组装体，其中所述释放的第一部分的第一结合域对所述肿瘤特异性标志物的结合亲和力大于所述释放的第一部分的第二结合域对所述CD3抗原的结合亲和力。

49.根据权利要求36所述的嵌合多肽组装体，其中通过体外测定中的K_d常数所测量的，所述第一结合域对所述靶细胞的结合亲和力比所述第二结合域对所述CD3抗原的较大结合亲和力至少低一个数量级。

50.根据权利要求36所述的嵌合多肽组装体，其中所述嵌合多肽组装体的第一结合域的K_d常数在10^{-5}至10^{-9}M之间，所述第二结合域的K_d在10^{-5}至10^{-9}M之间。

51.根据权利要求1-35中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中在向受试者施用包含所

述嵌合多肽组装体的组合物后，当所述嵌合多肽组装体已经施用于受试者时，所述嵌合多肽组装体的第二部分在表达能够切割RS的蛋白酶的肿瘤附近被切割。

52.根据权利要求51所述的嵌合多肽组装体，其中在所述第二部分被所述哺乳动物蛋白酶切割并且第一部分从所述嵌合多肽组装体释放后，第一部分能够同时结合携带人CD3抗原的T细胞和携带肿瘤特异性标志物的肿瘤细胞。

53.根据权利要求52所述的嵌合多肽组装体，其中所述第一部分同时结合携带CD3抗原的T细胞和携带肿瘤细胞标志物的肿瘤细胞导致T细胞衍生的效应分子的释放。

54.根据权利要求53所述的嵌合多肽组装体，其中所述效应分子选自TNF-α、IFN-γ、白细胞介素2、穿孔蛋白和颗粒酶中的一种或多种效应分子。

55.根据权利要求52所述的嵌合多肽组装体，其中在所述第一部分同时结合携带人CD3抗原的T细胞和携带肿瘤特异性标志物的肿瘤细胞时，所述T细胞实现了所述肿瘤细胞的裂解。

56.根据权利要求51-55中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中与未连接至所述第二和第三部分的第一部分在以可比的剂量施用于受试者后的半衰期相比，所述组装体在施用于受试者后显示出至少2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍或10倍的半衰期。

57.根据权利要求51-56中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中在向受试者施用所述嵌合多肽组装体，并切割第二部分且从所述嵌合多肽组装体释放所述第一部分和所述第三部分之后，所述第一部分在所述受试者中具有比所述完整的嵌合多肽组装体至少短2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍或10倍的半衰期。

58.根据权利要求51-57中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中在将包含所述嵌合多肽组装体的组合物单次施用于受试者之后，释放的第一部分的血浆C_{max}浓度不超过约0.01ng/ml，或约0.1ng/ml，或约1ng/ml，或约10ng/ml，或约100ng/ml。

59.根据权利要求51-57中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中在将包含所述嵌合多肽组装体的组合物单次施用于受试者之后，释放的第一部分的血浆C_{max}浓度比相同受试者中完整的嵌合多肽组装体至少低3倍，或至少低10倍，或至少低30倍，或至少低100倍。

60.根据权利要求51-59中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中与RS被切割从而释放第一部分和第三部分的嵌合多肽组装体相比，所述完整的嵌合多肽组装体显示出从受试者的血液循环系统外渗的降低。

61.根据权利要求51-60中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中所述受试者选自小鼠、大鼠、猴子、狗和人。

62.包含根据前述权利要求中任一项所述的嵌合多肽组装体和一种或多种药学上适宜的赋形剂的药物组合物。

63.根据权利要求62所述的药物组合物，其中所述组合物被配制成用于真皮内、皮下、静脉内、动脉内、腹内、腹膜内、鞘内或肌肉内施用。

64.根据权利要求62所述的药物组合物，其中所述组合物是液体形式。

65.根据权利要求64所述的药物组合物，其中所述组合物在预填充的注射器中用于单次注射。

66.根据权利要求62所述的药物组合物，其中所述组合物被配制成冻干粉末以在施用之前重建。

67.根据权利要求1-61中任一项所述的嵌合多肽组装体在制备用于治疗受试者疾病的药物中的用途。

68.根据权利要求67所述的用途，其中所述疾病选自癌、霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、母细胞瘤、乳腺癌、ER/PR+乳腺癌、Her2+乳腺癌、三阴性乳腺癌、结肠癌、具有恶性腹水的结肠癌、粘液性肿瘤、前列腺癌、头颈癌、皮肤癌、黑素瘤、泌尿生殖道癌、卵巢癌、具有恶性腹水的卵巢癌、腹膜癌扩散、子宫浆液性癌、子宫内膜癌、宫颈癌、结直肠癌、子宫癌、腹膜中的间皮瘤、肾癌、维尔姆斯瘤、肺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、胃部癌、胃癌、小肠癌、肝癌、肝细胞癌、肝母细胞瘤、脂肪肉瘤、胰腺癌、胆囊癌、胆管癌、食道癌、唾液腺癌、甲状腺癌、上皮癌、男性细胞瘤、腺癌、肉瘤和B细胞来源的慢性淋巴性白血病。

69.一种治疗受试者的疾病的方法，其包括向有需要的受试者施用治疗有效剂量的权利要求1-68中任一项的嵌合多肽组装体或包含所述嵌合多肽组装体的药物组合物。

70.根据权利要求69所述的方法，其中所述疾病选自癌、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、B细胞淋巴瘤、T细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、母细胞瘤、乳腺癌、结肠癌、前列腺癌、头颈癌、任意形式的皮肤癌、黑素瘤、泌尿生殖道癌、卵巢癌、具有恶性腹水的卵巢癌、腹膜癌扩散、子宫浆液性癌、子宫内膜癌、宫颈癌、结直肠癌、具有恶性腹水的上皮腹膜内恶性肿瘤、子宫癌、腹膜中的间皮瘤、肾癌、肺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、胃部癌、食道癌、胃癌、小肠癌、肝癌、肝细胞癌、肝母细胞瘤、脂肪肉瘤、胰腺癌、胆囊癌、胆管癌、唾液腺癌、甲状腺癌、上皮癌、腺癌、任意来源的肉瘤、包括急性或慢性淋巴细胞性白血病、急性或慢性骨髓性白血病、骨髓增生性肿瘤疾病或骨髓增生异常疾病在内的原发性血液恶性肿瘤、重症肌无力、格雷夫斯病、桥本甲状腺炎或Goodpasture综合征。

71.根据权利要求69或70所述的方法，其中所述药物组合物作为每周两次、每周一次、每两周一次、每三周一次或每月一次施用的一个或多个治疗有效剂量施用于受试者。

72.根据权利要求69至71中任一项所述的方法，其中所述药物组合物作为一个或多个剂量在至少两周、或至少一个月、或至少两个月、或至少三个月、或至少四个月、或至少五个月、或至少六个月的时间段内施用于受试者。

73.根据权利要求69至72中任一项所述的方法，其中所述剂量在皮内、皮下、静脉内、动脉内、腹内、腹膜内、鞘内或肌肉内施用。

74.根据权利要求69至73中任一项所述的方法，其中所述剂量在耐受的条件下为了实现最大安全性和功效以团注剂量或通过输注5分钟至96小时来施用。

75.根据权利要求69至74中任一项所述的方法，其中所述剂量选自至少约0.005mg/kg、至少约0.01mg/kg、至少约0.02mg/kg、至少约0.04mg/kg、至少约0.08mg/kg、至少约0.1mg/kg、至少约0.12mg/kg、至少约0.14mg/kg、至少约0.16mg/kg、至少约0.18mg/kg、至少约0.20mg/kg、至少约0.22mg/kg、至少约0.24mg/kg、至少约0.26mg/kg、至少约0.27mg/kg、至少约0.28mg/kg，至少0.3mg/kg，至少0.4.mg/kg、至少约0.5mg/kg、至少约0.6mg/kg、至少约0.7mg/kg、至少约0.8mg/kg、至少约0.9mg/kg、至少约1.0mg/kg、至少约1.5mg/kg或至少约2.0mg/kg。

76.根据权利要求69至74中任一项或组合所述的方法，其中初始剂量选自至少约0.005mg/kg、至少约0.01mg/kg、至少约0.02mg/kg、至少约0.04mg/kg、至少约0.08mg/kg、至

少约0.1mg/kg，并且随后的剂量选自：至少约0.1mg/kg、至少约0.12mg/kg、至少约0.14mg/kg、至少约0.16mg/kg、至少约0.18mg/kg、至少约0.20mg/kg、至少约0.22mg/kg、至少约0.24mg/kg、至少约0.26mg/kg、至少约0.27mg/kg、至少约0.28mg/kg，至少0.3mg/kg，至少0.4.mg/kg、至少约0.5mg/kg、至少约0.6mg/kg、至少约0.7mg/kg、至少约0.8mg/kg、至少约0.9mg/kg、至少约1.0mg/kg、至少约1.5mg/kg或至少约2.0mg/kg。

77.根据权利要求69至74中任一项所述的方法，其中所述施用于受试者导致受试者中嵌合多肽组装体的血浆浓度为至少约0.1ng/mL至至少约2ng/mL或更多持续至少约3天、至少约7天、至少约10天、至少约14天或至少约21天。

78.根据权利要求69至77中任一项所述的方法，其中所述受试者选自小鼠、大鼠、猴子和人。

79.根据权利要求62-65中任一项所述的药物组合物或根据权利要求1-61中任一项所述的嵌合多肽组装体，其用于治疗疾病的方法中，该方法包括任选地根据包含使用治疗有效剂量的一个或多个连续剂量的治疗方案，向患有该疾病的受试者施用所述药物组合物或所述嵌合多肽组装体。

80.根据权利要求79所述使用的药物组合物或嵌合多肽组装体，其中所述疾病选自癌、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、B细胞淋巴瘤、T细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、母细胞瘤、乳腺癌、结肠癌、前列腺癌、头颈癌、任意形式的皮肤癌、黑素瘤、泌尿生殖道癌、卵巢癌、具有恶性腹水的卵巢癌、腹膜癌扩散、子宫浆液性癌、子宫内膜癌、宫颈癌、结直肠癌、具有恶性腹水的上皮腹膜内恶性肿瘤、子宫癌、腹膜中的间皮瘤、肾癌、肺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、胃部癌、食道癌、胃癌、小肠癌、肝癌、肝细胞癌、肝母细胞瘤、脂肪肉瘤、胰腺癌、胆囊癌、胆管癌、唾液腺癌、甲状腺癌、上皮癌、腺癌、任意来源的肉瘤、包括急性或慢性淋巴细胞性白血病、急性或慢性骨髓性白血病、骨髓增生性肿瘤疾病或骨髓增生异常疾病在内的原发性血液恶性肿瘤、重症肌无力、格雷夫斯病、桥本甲状腺炎和Goodpasture综合征。

81.根据权利要求79或权利要求80所述使用的药物组合物或嵌合多肽组装体，其中所述治疗方案是指定治疗周期的一部分。

82.根据权利要求82所述使用的药物组合物或嵌合多肽组装体，其中所述指定治疗周期包含每个治疗周期每周两次、每周一次、每十天一次、每两周一次、每三周一次或每一个月一次施用该药物组合物。

83.根据权利要求79-81中任一项所述使用的药物组合物或嵌合多肽组装体，其中所述治疗方案导致受试者中与所述疾病相关的临床参数或终点的改善。

84.根据权利要求83所述使用的药物组合物或嵌合多肽组装体，其中所述临床参数或终点选自以下各项中的一种或其任意组合：作为完全、部分或不完全响应的肿瘤萎缩；至进展的时间，至治疗失败的时间，生物标志物响应；无进展存活期；无病存活期；至复发的时间；至转移的时间；总存活时间；生活质量的提高；以及症状改善。

85.一种试剂盒，其包含根据权利要求62-65中任一项所述的药物组合物、容器以及容器上或与容器相关联的标签或包装插页。

86.根据权利要求32-35中任一项所述的嵌合多肽组装体，其进一步包含含有肽基RS的第四部分和含有填充部分的第五部分。

87.根据权利要求86所述的嵌合多肽组装体，其中所述第四部分RS包含选自表4所列序列的氨基酸序列。

88.根据权利要求所述的嵌合多肽组装体，其中所述第四部分RS包含选自下列序列的氨基酸序列：LSGRSDNHSPLGLAGS、SPLGLAGSLSGRSDNH、SPLGLSGRSDNH、LAGRSDNHSPLGLAGS、LSGRSDNHVPLSLKMG、SPLGLAGS、GPLALARG、LSGRSDNH、VPLSLTMG、VPLSLKMG、VPLSLSMG、EPLELVAG、EPLELRAG、EPAALMAG、EPASLMAG、RIGSLRTA、RIQFLRTA、EPFHLMAG、VPLSLFMG、EPLELPAG和EPLELAAG。

89.根据权利要求86所述的嵌合多肽组装体，其中所述RS包含能够被选自表3所列蛋白酶的蛋白酶切割的氨基酸序列。

90.根据权利要求86所述的嵌合多肽组装体，其中所述填充部分选自：XTEN；白蛋白结合域；白蛋白；IgG结合域；由脯氨酸、丝氨酸和丙氨酸组成的多肽；脂肪酸；Fc结构域；和弹性蛋白样蛋白质。

91.根据权利要求90所述的嵌合多肽组装体，其中所述填充部分是XTEN。

92.根据权利要求91所述的嵌合多肽组装体，其中所述XTEN包含与选自表5所列序列的序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％序列同一性的氨基酸序列。

93.一种嵌合多肽组装体，其包含与表10或表12所列的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％序列同一性的氨基酸序列。

94.根据权利要求1-35和93中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中当所述组装体与效应细胞和靶细胞接触时，与未与该组装体连接的该组装体的相应第一部分相比，完整的组装体实现从效应细胞产生Th1细胞因子的可能性低至少10倍，或至少20倍，或至少30倍，或至少40倍，或至少50倍，或至少60倍，或至少70倍，或至少80倍，或至少90倍，或至少100倍，或至少1000倍。

95.根据权利要求94所述的嵌合多肽组装体，其中在包含PBMC或CD3+T细胞和具有肿瘤特异性标志物抗原的靶细胞的体外测定中测定所述Th1细胞因子的产生，所述肿瘤特异性标志物抗原选自α4整联蛋白、Ang2、B7-H3、B7-H6、CEACAM5、cMET、CTLA4、FOLR1、EpCAM、CCR5、CD19、HER2、HER2neu、HER3、HER4、HER1(EGFR)、PD-L1、PSMA、CEA、MUC1(粘蛋白)、MUC-2、MUC3、MUC4、MUC5AC、MUC5B、MUC7、MUC16βhCG、Lewis-Y、CD20、CD33、CD38、CD30、CD56(NCAM)、CD133、神经节苷脂GD3、9-O-乙酰基-GD3、GM2、Globo H、岩藻糖基GM1、GD2、碳酸酐酶IX、CD44v6、声猬(Shh)、Wue-1、浆细胞抗原1、黑素瘤硫酸软骨素蛋白聚糖(MCSP)、CCR8、前列腺6-跨膜上皮抗原(STEAP)、间皮素、A33抗原、前列腺干细胞抗原(PSCA)、Ly-6、桥粒芯蛋白4、胎儿乙酰胆碱受体(fnAChR)、CD25、癌抗原19-9(CA19-9)、癌抗原125(CA-125)、II型苗勒抑制物质受体(MISIIR)、唾液酸化Tn抗原(sTN)、成纤维细胞活化抗原(FAP)、内皮唾液酸蛋白(CD248)、表皮生长因子受体变体III(EGFRvIII)、肿瘤相关抗原L6(TAL6)、SAS、CD63、TAG72、Thomsen-Friedenreich抗原(TF-抗原)、胰岛素样生长因子I受体(IGF-IR)、Cora抗原、CD7、CD22、CD70、CD79a、CD79b、G250、MT-MMP、F19抗原、CA19-9、CA-125、甲胎蛋白(AFP)、VEGFR1、VEGFR2、DLK1、SP17、ROR1和EphA2。

96.根据权利要求94所述的嵌合多肽组装体，其中所述Th1细胞因子选自IL-2、TNF-α以及IFN-γ。

97.根据权利要求94或96所述的嵌合多肽组装体，其中相比于施用了未连接至该组装体的相应的第一部分的受试者，使用来自施用了所述组装体的受试者的血液或流体样品测定所述Th1细胞因子的产生。

98.根据权利要求97所述的嵌合多肽组装体，其中所述受试者选自小鼠、大鼠、猴子和人。

99.根据权利要求1-35和93中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中相比于以可比的剂量施用于受试者的未连接至所述组装体的第一部分，所述完整的嵌合多肽组装体在施用于受试者时从循环中渗出的可能性低至少3倍，或至少10倍，或至少20倍，或至少30倍，或至少40倍，或至少50倍，或至少60倍，或至少70倍，或至少80倍，或至少90倍，或至少100倍。

100.一种分离的核酸，其包含选自以下的多核苷酸序列：(a)编码权利要求1-61和86-99中任一项所述的嵌合多肽组装体的多核苷酸，或(b)所述(a)中的多核苷酸的互补体。

101.一种分离的核酸，其包含与表10或表13所列的多核苷酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％序列同一性的多核苷酸序列。

102.一种表达载体，其包含权利要求94或权利要求101的多核苷酸序列以及与该多核苷酸序列可操作地连接的重组调节序列。

103.一种分离的宿主细胞，其包含权利要求102的表达载体。

104.根据权利要求103所述的分离的宿主细胞，其中所述宿主细胞是大肠杆菌。

105.一种单体融合蛋白，其包含与表7所列的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％序列同一性的氨基酸序列。

106.一种分离的核酸，其包含选自以下的多核苷酸序列：(a)编码权利要求105的融合蛋白的多核苷酸，(b)与选自表7所列多核苷酸序列的多核苷酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％序列同一性的多核苷酸序列；或(c)(a)或(b)中的多核苷酸的互补体。

107.根据权利要求106所述的核酸在制备编码根据权利要求1-61和86-99中任一项所述的嵌合多肽组装体或其互补体的多核苷酸序列的方法中的用途。

108.一种表达载体，其包含权利要求106的多核苷酸序列以及与该多核苷酸序列可操作地连接的重组调节序列。

109.一种分离的宿主细胞，其包含根据权利要求108所述的表达载体。

110.根据权利要求109所述的分离的宿主细胞，其中所述宿主细胞是大肠杆菌。

111.一种产生根据权利要求1-61和86-99中任一项所述的嵌合多肽组装体的方法，所述方法包括用权利要求102或权利要求108的表达载体转化宿主细胞，在允许所述嵌合多肽组装体在转化的宿主细胞中表达的条件下培养所述宿主细胞，并将所述嵌合多肽组装体分离为可溶性多肽。

112.一种诱导靶细胞死亡的方法，该方法包括使所述靶细胞接触根据权利要求1-61和85-98中任一项所述的嵌合多肽组装体以及效应细胞，其中所述接触导致在靶细胞中产生选自下组的效应：膜完整性丧失、固缩、核碎裂、凋亡的内在途径的诱导、凋亡的外在途径的诱导、凋亡、细胞裂解和细胞死亡。

113.根据权利要求112所述的方法，其中所述方法在基于细胞的体外测定中使用，所述测定包括靶细胞与效应细胞的混合群体以及有效量的对该靶细胞和效应细胞的抗原具有

结合亲和力的嵌合多肽组装体。

114.根据权利要求112所述的方法，其中所述靶细胞具有选自下组的肿瘤特异性标志物抗原：α4整联蛋白、Ang2、B7-H3、B7-H6、CEACAM5、cMET、CTLA4、FOLR1、EpCAM、CCR5、CD19、HER2、HER2neu、HER3、HER4、HER1(EGFR)、PD-L1、PSMA、CEA、MUC1(粘蛋白)、MUC-2、MUC3、MUC4、MUC5AC、MUC5B、MUC7、MUC16βhCG、Lewis-Y、CD20、CD33、CD38、CD30、CD56(NCAM)、CD133、神经节苷脂GD3、9-O-乙酰基-GD3、GM2、Globo H、岩藻糖基GM1、GD2、碳酸酐酶IX、CD44v6、声猬(Shh)、Wue-1、浆细胞抗原1、黑素瘤硫酸软骨素蛋白聚糖(MCSP)、CCR8、前列腺6-跨膜上皮抗原(STEAP)、间皮素、A33抗原、前列腺干细胞抗原(PSCA)、Ly-6、桥粒芯蛋白4、胎儿乙酰胆碱受体(fnAChR)、CD25、癌抗原19-9(CA19-9)、癌抗原125(CA-125)、II型苗勒抑制物质受体(MISIIR)、唾液酸化Tn抗原(sTN)、成纤维细胞活化抗原(FAP)、内皮唾液酸蛋白(CD248)、表皮生长因子受体变体III(EGFRvIII)、肿瘤相关抗原L6(TAL6)、SAS、CD63、TAG72、Thomsen-Friedenreich抗原(TF-抗原)、胰岛素样生长因子I受体(IGF-IR)、Cora抗原、CD7、CD22、CD70、CD79a、CD79b、G250、MT-MMP、F19抗原、CA19-9、CA-125、甲胎蛋白(AFP)、VEGFR1、VEGFR2、DLK1、SP17、ROR1和EphA2，并且所述效应细胞是T细胞，其中所述效应细胞抗原是CD3。

115.根据权利要求114所述的方法，其中所述方法在患有包含靶细胞群体的癌症的受试者中使用，其中所述方法包括向该受试者施用治疗有效量的所述嵌合多肽组装体。

116.根据权利要求115所述的方法，其中所述方法包括作为一个或多个连续施用的治疗有效剂量的包含所述嵌合多肽组装体以及一种或多种赋形剂的药物组合物施用所述嵌合多肽组装体。

117.根据权利要求116所述的方法，其中所述方法包括确定在患有癌症的受试者中实现治疗效果所需的药物组合物的量并将该量作为一个或多个连续剂量施用于受试者的方案。

118.根据权利要求115-117中任一项所述的方法，其中所述癌症选自：癌、霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、母细胞瘤、乳腺癌、ER/PR+乳腺癌、Her2+乳腺癌、三阴性乳腺癌、结肠癌、具有恶性腹水的结肠癌、粘液性肿瘤、前列腺癌、头颈癌、皮肤癌、黑素瘤、泌尿生殖道癌、卵巢癌、具有恶性腹水的卵巢癌、腹膜癌扩散、子宫浆液性癌、子宫内膜癌、宫颈癌、结直肠癌、子宫癌、腹膜中的间皮瘤、肾癌、维尔姆斯瘤、肺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、胃部癌、胃癌、小肠癌、肝癌、肝细胞癌、肝母细胞瘤、脂肪肉瘤、胰腺癌、胆囊癌、胆管癌、食道癌、唾液腺癌、甲状腺癌、上皮癌、男性细胞瘤、腺癌、肉瘤和B细胞来源的慢性淋巴性白血病。

119.根据权利要求115-118中任一项所述的方法，其中所述方法导致临床参数或终点的改善，其中所述临床参数或终点选自总存活期、症状终点、无病存活期、客观响应率、完全响应、响应的持续时间、无进展存活期、至进展的时间、至治疗失败的时间、肿瘤测量、肿瘤大小、肿瘤响应率、至转移的时间以及生物标志物浓度。

120.根据权利要求115-119中任一项所述的方法，其中相比于以mmol/kg的可比剂量向可比的受试者施用包含所述嵌合多肽组装体的第一部分而不包含第二部分和第三部分的组合物，该方法导致在受试者中诊断相关副作用的频率、持续时间或严重程度的降低，其中所述副作用选自：IL-2血浆水平的升高、TNF-α血浆水平的升高、IFN-γ血浆水平的升高、脓

毒症、发热性嗜中性粒细胞减少症、神经毒性、抽搐、脑病、细胞因子释放综合征、言语障碍、平衡障碍、发热、头痛、意识模糊、低血压、嗜中性粒细胞减少、恶心、意识损害、定向障碍以及肝酶增加。

121.一种将治疗剂递送至包含肿瘤特异性标志物的肿瘤细胞的方法，该方法包括向靶细胞施用权利要求1-61和86-99中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中所述治疗剂经由特异性结合所述肿瘤特异性标志物的第一部分的第一结合域递送至所述靶细胞。

122.根据权利要求121所述的方法，其中所述肿瘤特异性标志物选自：α4整联蛋白、Ang2、B7-H3、B7-H6、CEACAM5、cMET、CTLA4、FOLR1、EpCAM、CCR5、CD19、HER2、HER2neu、HER3、HER4、HER1(EGFR)、PD-L1、PSMA、CEA、MUC1(粘蛋白)、MUC-2、MUC3、MUC4、MUC5AC、MUC5B、MUC7、MUC16βhCG、Lewis-Y、CD20、CD33、CD38、CD30、CD56(NCAM)、CD133、神经节苷脂GD3、9-O-乙酰基-GD3、GM2、Globo H、岩藻糖基GM1、GD2、碳酸酐酶IX、CD44v6、声猬(Shh)、Wue-1、浆细胞抗原1、黑素瘤硫酸软骨素蛋白聚糖(MCSP)、CCR8、前列腺6-跨膜上皮抗原(STEAP)、间皮素、A33抗原、前列腺干细胞抗原(PSCA)、Ly-6、桥粒芯蛋白4、胎儿乙酰胆碱受体(fnAChR)、CD25、癌抗原19-9(CA19-9)、癌抗原125(CA-125)、II型苗勒抑制物质受体(MISIIR)、唾液酸化Tn抗原(sTN)、成纤维细胞活化抗原(FAP)、内皮唾液酸蛋白(CD248)、表皮生长因子受体变体III(EGFRvIII)、肿瘤相关抗原L6(TAL6)、SAS、CD63、TAG72、Thomsen-Friedenreich抗原(TF-抗原)、胰岛素样生长因子I受体(IGF-IR)、Cora抗原、CD7、CD22、CD70、CD79a、CD79b、G250、MT-MMP、F19抗原、CA19-9、CA-125、甲胎蛋白(AFP)、VEGFR1、VEGFR2、DLK1、SP17、ROR1和EphA2。

123.根据权利要求121所述的方法，其中所述肿瘤特异性标志物选自：α4整联蛋白、Ang2、CEACAM5、CD19、CD20、CD33、CD38、cMET、CTLA4、EpCAM、EphA2、FOLR1、HER1(EGFR)、HER2、HER3、HER1(EGFR)/HER3、HER2/3、间皮素、MUC1、PD-L1、PSMA、TAG-72、VEGFR1、VEGFR2。

124.根据权利要求123所述的方法，其中所述嵌合多肽组装体包含与选自表12所列序列的多肽序列具有至少90％、或至少91％、或至少92％、或至少93％、或至少94％、或至少95％、或至少96％、或至少97％、或至少98％、或至少99％、或至少100％序列同一性的氨基酸序列。

125.根据权利要求123所述的方法，其中所述嵌合多肽组装体包含与选自图36或图37所列序列的多肽序列具有至少90％、或至少91％、或至少92％、或至少93％、或至少94％、或至少95％、或至少96％、或至少97％、或至少98％、或至少99％、或至少100％序列同一性的氨基酸序列。

126.根据权利要求121-125中任一项所述的方法，其中所述肿瘤细胞驻留在受试者的肿瘤中。

127.根据权利要求126所述的方法，其中所述受试者选自小鼠、大鼠、猴子、狗和人。

128.根据权利要求1-61中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中所述第二部分和所述第三部分都不具有对所述第一部分的特异性结合亲和力。

129.根据权利要求1-61中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中所述第一部分占所述嵌合多肽组装体的分子量的小于50％。

130.根据权利要求1-61中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中当通过大小排阻色谱法评估表观分子量因子时，所述第一部分占所述嵌合多肽组体的表观分子量因子的小于

30%，或小于40%，或小于50%。

131.根据权利要求36所述的嵌合多肽组装体，其中当通过大小排阻色谱法评估流体动力学半径时，在切割所述第二部分并从所述嵌合多肽组装体释放所述第一部分和所述第三部分后，所述释放的第一部分的流体动力学半径比完整的嵌合多肽组装体的流体力学半径小大约30%，或小大约40%，或小大约50%。

132.根据权利要求36所述的嵌合多肽组装体，其中当通过大小排阻色谱法确定流体动力学半径时，在切割所述第二部分并从所述嵌合多肽组装体释放所述第一部分和所述第三部分后，所述释放的第一部分的流体动力学半径小于约5nm，或小于约4nm，或小于约3nm。

133.根据权利要求132所述的嵌合多肽组装体，其中与完整的嵌合多肽组装体相比，所述释放的第一部分具有更大的穿透肿瘤组织的能力。

134.根据权利要求1-35中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中当通过大小排阻色谱法确定流体动力学半径时，完整的嵌合多肽组装体的流体力学半径大于约8nm，或大于约9nm，或大于约10nm。

135.根据权利要求1-35中任一项所述的嵌合多肽组装体，其中向患有肿瘤的受试者施用的完整的嵌合多肽组装体从受试者正常组织的血管渗出的能力低于其从肿瘤血管渗出的能力。

136.一种嵌合多肽组装体，其由与表10或表12所列的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列组成。

137.一种嵌合多肽组装体，其包含与选自图36或图37所列序列的多肽序列具有至少90%、或至少91%、或至少92%、或至少93%、或至少94%、或至少95%、或至少96%、或至少97%、或至少98%、或至少99%、或至少100%序列同一性的氨基酸序列。

138.一种嵌合多肽组装体，其由与选自图36或图37所列序列的多肽序列具有至少90%、或至少91%、或至少92%、或至少93%、或至少94%、或至少95%、或至少96%、或至少97%、或至少98%、或至少99%、或至少100%序列同一性的氨基酸序列组成。

嵌合多肽组装体及其制备和使用方法

发明背景

[0001] 许多经批准的癌症治疗法为杀死正常细胞以及肿瘤细胞的细胞毒性药物。这些细胞毒性药物的治疗益处取决于肿瘤细胞比正常细胞更敏感，从而允许使用不导致不可接受的副作用的剂量达到临床反应。然而，基本上所有这些非特异性药物都会对正常组织造成一些(如果不是严重的)损害，这往往限制了治疗的适应性。

[0002] 双特异性抗体提供细胞毒性药物的不同的方法，因为它们指导免疫效应细胞杀死癌细胞。双特异性抗体将源自两种单克隆抗体的不同结合特异性的益处结合到单一组合物中，能实现单特异性抗体不可能实现的覆盖方法或组合。该方法依赖于双特异性抗体的一个臂与肿瘤相关的抗原或标志物的结合，而另一个臂，在结合T细胞上的CD3分子后，通过释放效应分子如TNF-α、IFN-γ、白细胞介素2、4和10、穿孔蛋白和颗粒酶，触发其细胞毒活性。抗体工程的进展已经导致用于将效应细胞重定向至肿瘤靶标的一些双特异性抗体形式和组合物的开发，包括双特异性T细胞接合物(BiTEs®)如兰妥莫单抗(blinatumomab)。BiTE通过在肿瘤部位募集和活化T细胞的多克隆群体来起作用，并且这样做不需要共刺激或传统的MHC识别。然而，某些患者仍具有双重问题，他们经历被称为通过TNF-α和IFN-γ等细胞因子释放所介导的“细胞因子风暴”或“细胞因子释放综合征”的严重副作用(Lee DW等人，Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome.Blood.2014124(2):188-195)，并且事实上BiTE组合物具有非常短的半衰期，从而为了在治疗窗内维持BiTE足以达到治疗效果的时间，需要连续输注4-8周。

发明内容

[0003] 对于替代疗法仍然有相当大的需求，该替代疗法提供了这种双特异性抗体形式的药理学优点，但具有增加的安全性、减少的副作用、增加的选择性和/或增强的药代动力学特性，诸如需要较少的给药频率或仅通过一次注射给药。

[0004] 本发明公开了用于治疗或预防包括但不限于癌症、自身免疫和炎性疾病的疾病的嵌合多肽组装体。在第一方面，本公开内容提供了可切割的嵌合多肽组装体。该可切割的嵌合多肽组装体组合物解决了未满足的需求，并且与使用中的常规的双特异性抗体制剂相比，其在一个或多个方面优异，包括增强的终末半衰期、靶向输送以及降低的对健康组织的毒性。

[0005] 主题多肽组装体通常包含第一部分、第二部分和第三部分，其中：所述第一部分包含(i)对靶细胞标志物具有结合特异性的第一结合域；以及(ii)对效应细胞抗原具有结合特异性的第二结合域；所述第二部分包含能够被一种或多种哺乳动物蛋白酶切割的肽基释放区段(RS)；并且所述第三部分包含填充部分；其中所述填充部分能够通过所述哺乳动物蛋白酶对所述第二部分的作用而从所述第一部分释放。

[0006] 主题嵌合多肽组装体中的各种组分可以以各种不同的顺序配置。在一个实施方案中，该嵌合多肽组装体从N端到C端配置，其中第一部分连接至第二部分，第二部分又连接至第三部分。在另一个实施方案中，所述嵌合多肽组装体从N端到C端配置，其中第三部分连接

至第二部分，第二部分又连接至第一部分。在一个实施方案中，所述嵌合多肽组装体是融合蛋白。在另一个实施方案中，第二和第三部分是融合蛋白，且第一部分与第二部分缀合。在化学缀合的多肽组装体组合物的一个实施方案中，第一部分多肽的C端可以通过半胱氨酸或其他适合的适于交联(通过诸如本领域已知的马来酰胺或其他交联剂的试剂)的氨基酸与第二部分多肽的N端缀合。在另一个实施方案中，第一部分和第二部分是单体融合蛋白，且第三部分与第二部分化学缀合。

[0007] 任选地，所述嵌合多肽组装体组合物可以包含通过连接至组合物相对端的第二释放区段连接至所述组合物的额外填充部分，从而封闭第一和第二部分。

[0008] 第一和第二结合域通常是源自单克隆抗体的抗体片段。在一个实施方案中，所述嵌合多肽组装体组合物的第一部分的第一和第二结合域是scFv或配置的asa双抗体。在其他实施方案中，所述嵌合多肽组装体组合物的第一部分的第一和第二结合域选自Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')2、线性抗体、单结构域抗体、非抗体支架以及单结构域骆驼抗体。在其他实施方案中，所述嵌合多肽组装体组合物的第一部分的第一和第二结合域选自肽、非抗体支架诸如anticalins、adnectin、fynomers、affilins、affibodies、centyrins、DARPins。在其他实施方案中，肿瘤细胞靶标的结合域是T细胞受体的可变域，所述可变域已被工程化以结合载有被肿瘤细胞过度表达的蛋白质的肽片段的MHC。

[0009] 在所述嵌合多肽组装体的一个实施方案中，第一部分的第一结合域对靶细胞标志物具有结合亲和力。靶细胞包括真核生物的任何细胞类型，诸如外胚层、中胚层或内胚层来源的细胞。特别感兴趣的是肿瘤细胞和肿瘤细胞表达的标志物。肿瘤细胞可以起源于选自基质细胞、成纤维细胞、肌成纤维细胞、神经胶质细胞、上皮细胞、脂肪细胞、淋巴细胞、血管细胞、平滑肌细胞、间充质细胞、乳房组织细胞、前列腺细胞、肾细胞、脑细胞、结肠细胞、卵巢细胞、子宫细胞、膀胱细胞、皮肤细胞、胃细胞、泌尿生殖道细胞、宫颈细胞、子宫细胞、小肠细胞、肝细胞、胰腺细胞、胆囊细胞、胆管细胞、食道细胞、唾液腺细胞、肺细胞和甲状腺细胞。在某些情况下，肿瘤特异性标志物包括α4整联蛋白、Ang2、B7-H3、B7-H6、CEACAM5、cMET、CTLA4、FOLR1、EpCAM、CCR5、CD19、HER2、HER2neu、HER3、HER4、HER1(EGFR)、PD-L1、PSMA、CEA、MUC1(粘蛋白)、MUC-2、MUC3、MUC4、MUC5AC、MUC5B、MUC7、MUC16βhCG、Lewis-Y、CD20、CD33、CD38、CD30、CD56(NCAM)、CD133、神经节苷脂GD3;9-O-乙酰基-GD3、GM2、Globo H、岩藻糖基GM1、GD2、碳酸酐酶IX、CD44v6、声猬(Shh)、Wue-1，浆细胞抗原1、黑素瘤硫酸软骨素蛋白聚糖(MCSP)、CCR8、前列腺6-跨膜上皮抗原(STEAP)、间皮素、A33抗原、前列腺干细胞抗原(PSCA)、Ly-6、桥粒芯蛋白4、胎儿乙酰胆碱受体(fnAChR)、CD25、癌抗原19-9(CA19-9)、癌抗原125(CA-125)、II型苗勒抑制物质受体(MISIIR)、唾液酸化的Tn抗原(sTN)、成纤维细胞活化抗原(FAP)、内皮唾液酸蛋白(CD248)、表皮生长因子受体变体III(EGFRvIII)、肿瘤相关抗原L6(TAL6)、SAS、CD63、TAG72、Thomsen-Friedenreich抗原(TF-抗原)、胰岛素样生长因子I受体(IGF-IR)、Cora抗原、CD7、CD22、CD70、CD79a、CD79b、G250、MT-MMP、F19抗原、CA19-9、CA-125、甲胎蛋白(AFP)、VEGFR1、VEGFR2、DLK1、SP17、ROR1以及EphA2。在所述嵌合多肽组装体的另一个实施方案中，第一部分的第一结合域对作为炎症标志物的靶细胞标志物具有结合亲和力。

[0010] 在一个实施方案中，所述嵌合多肽组装体组合物的第一部分的第一结合域包含对肿瘤特异性标志物或靶细胞抗原具有特异性结合亲和力的VH和VL区。在前述的一个实施方

案中，第一结合域VH和VL来源于选自表2所列的成对序列的单克隆抗体VH和VL。关于N端至C端顺序，第一和第二结合域的VH和VL区可以以不同的顺序配置。在一个实施方案中，第一结合域VH和VL区按照VH-VL的顺序排列。在另一个实施方案中，第一结合域VH和VL区以VL-VH的顺序排列。在其他情况下，所述第一结合域包含CDR-H1区、CDR-H2区、CDR-H3区、CDR-L1区、CDR-L2区和CDR-H3区，其中每个所述区域源自选自表2所列序列的单克隆抗体序列。VH和VL区的各种配置以及其中包含的CDR通常保持所期望的对预期的靶细胞标志物的结合特异性。

[0011] 在所述嵌合多肽组装体的其他实施方案中，第一部分的第二结合域对效应细胞具有结合亲和力。如需要，效应细胞可以是免疫细胞，包括但不限于浆细胞、T细胞、B细胞、细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK细胞)、肥大细胞、树突细胞、调节性T细胞(RegT细胞)、辅助T细胞、髓样细胞和NK细胞。第二结合域通常对效应细胞表达的抗原表现出结合特异性。在一些实施方案中，抗原在效应细胞的细胞表面上表达。在另一个实施方案中，所述第二结合域对T细胞上表达的效应细胞抗原具有结合特异性。非限制性的示例性效应细胞抗原包括：CD3、CD4、CD8、αβTCR、CD25、CD45RO、CD69、CD127和CD196(CCR6)。特别感兴趣的是采用具有源自与人CD3特异性结合的单克隆抗体的VH和VL区的scFv构型的第二结合域。在一个实施方案中，第二结合域VH和VL源自选自表1所列序列的单克隆抗体VH和VL。在另一个实施方案中，第二结合域包含源自能够结合人CD3ε的单克隆抗体的VH和VL区。

[0012] 结合域的scFv的VH和VL可以以不同的构型排列而不影响所得组合物的效用。在一个实施方案中，所述第二结合域scFv包含在N端至C端方向上以VH-VL或VL-VH的顺序排列的VH和VL区。结合域也可以从CDR区创建。在一个实施方案中，第二结合域包含CDR-H1区、CDR-H2区、CDR-L3区、CDR-L1区、CDR-L2区和CDR-H3区，其中每一个区域来源于表1的单克隆抗体。在该段的前述实施方案中，VH和VL区以及第一结合域和第二结合域通过选自表8和表9所列序列的柔性多肽连接体连接。在另一个实施方案中，所述嵌合多肽组装体组合物的第一部分具有与选自表13序列的序列有至少约90％、或91％、或92％、或93％、或94％、或95％、或96％、或97％、或98％、或99％的同一性的序列。

[0013] 所述主题嵌合多肽组装体的一个优点是其以前药形式组装，其中完整的组合物可以在其中存在哺乳动物蛋白酶的靶组织或某个细胞环境附近被活化，在其活性最需要的位点释放第一部分结合域。例如，第一部分结合域，当存在于完整的组装体中时，由于填充部分的屏蔽作用而具有较低的结合亲和力。在通过由优先在靶组织例如肿瘤组织中表达的哺乳动物蛋白酶切割RS而释放后，第一部分结合域变得“活化”而没有被填充部分所屏蔽。在另一个实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体，其中能够切割RS的哺乳动物蛋白酶优先在炎症组织中表达。在一个实施方案中，所述嵌合多肽组装体包含RS，其中RS包含选自表4所列序列的氨基酸序列。如果需要，RS包含选自以下序列的氨基酸序列：LSGRSDNHSPLGLAGS、SPLGLAGSLSGRSDNH、SPLGLSGRSDNH、LAGRSDNHSPLGLAGS、LSGRSDNHVPLSLKMG、SPLGLAGS、GPLALARG、LSGRSDNH、VPLSLTMG、VPLSLKMG、VPLSLSMG、EPLELVAG、EPLELRAG、EPAALMAG、EPASLMAG、RIGSLRTA、RIQFLRTA、EPFHLMAG、VPLSLFMG、EPLELPAG以及EPLELAAG。在需要时，所述嵌合多肽组装体组合物的释放区段包含序列LSGRSDNHSPLGLAGS的氨基酸序列。在RS实施方案中，RS包含能够被选自表3所列的蛋白酶的一种或多种蛋白酶切割的氨基酸序列。

[0014] 另一方面，所述嵌合多肽组装体组合物的第三部分包含填充部分。示例性的填充部分包括但不限于：延伸重组多肽(XTEN)、白蛋白结合域、白蛋白、IgG结合域，由脯氨酸、丝氨酸和丙氨酸组成的多肽；脂肪酸、ELP生物聚合物、Fc结构域、聚乙二醇(PEG)、PLGA和羟乙基淀粉。在一个实施方案中，所述填充部分是XTEN序列。如果需要，第三部分的XTEN包含与选自表5所列序列的序列具有至少约90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％序列同一性的氨基酸序列。

[0015] 另一方面，所述主题嵌合多肽组装体显示出结合和连接效应细胞和靶细胞的能力，从而形成免疫突触而使得效应细胞可以以靶细胞特异性方式介导其生物效应。例如，所述主题嵌合多肽组装体具有以下能力：(1)特异性结合靶标细胞标志物如肿瘤特异性标志物，并且(2)特异性结合效应细胞上表达的抗原(例如由T细胞表达的抗原)。T细胞和肿瘤细胞的同时结合介导了肿瘤细胞的杀伤、破坏和/或裂解。在一个实施方案中，在第二部分被一种或多种哺乳动物蛋白酶切割并释放第一部分后，在包含携带人CD3抗原的T细胞和携带肿瘤特异性标志物的肿瘤细胞的体外测定中，第一部分能够同时结合该T细胞和该肿瘤细胞。在本发明组合物的示例性设计特征中，在切割第二部分RS以从所述嵌合多肽组装体中释放第一部分和第三部分之后，所释放的第一部分的分子量比第三部分低至少2倍、3倍、4倍或5倍，并具有比完整的嵌合多肽组合物低至少20％、或至少30％、或至少40％、或至少50％、或至少60％的分子量。在一个实施方案中，在切割第二部分RS后，相比于第二部分未被切割的嵌合结合组装体，从所述嵌合多肽组装体释放的所述第一部分对携带CD3抗原和/或肿瘤细胞标志物的效应T细胞的结合亲和力增加。相比于RS未被切割的所述嵌合多肽组装体对携带人CD3抗原或肿瘤细胞标志物的T细胞的结合亲和力，所释放的第一部分对携带人CD3抗原和/或肿瘤细胞标志物的T细胞的结合亲和力提高至少2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍或10倍。在另一个实施方案中，在切割第二部分RS并从所述嵌合多肽组装体释放所述第一部分后，在包含T细胞和肿瘤细胞的群体的体外测定中，所述第一部分与T细胞和肿瘤细胞的同时结合产生了针对肿瘤细胞的细胞毒活性。在另一个实施方案中，在体外测定中，与完整的嵌合结合组装体相比，所释放的嵌合多肽组装体的第一部分能够实现更大量的肿瘤细胞的细胞裂解。例如，在体外测定中，与完整的嵌合结合组装体相比，所释放的嵌合多肽组装体的第一部分所实现的细胞裂解量为至少10倍，或至少30倍，或至少100倍，或至少300倍，或至少1000倍。在一个实施方案中，肿瘤细胞的细胞毒活性和/或细胞裂解是由T细胞的靶标特异性活化所介导的，其中与完整的嵌合结合组装体相比，所释放的嵌合多肽组装体的第一部分所实现的T细胞活化的量为至少10倍，或至少30倍，或至少100倍，或至少300倍，或至少1000倍。由于在体外细胞毒性测定期间，嵌合结合组装体的RS可能经历RS的部分切割，为了确定细胞毒性的最大相对差异，所述组装体的RS可以用不可切割的肽取代，并与释放的第一部分的样品进行比较测定。如果需要，体外测定可以是选自以下的测定：细胞膜完整性测定、混合细胞培养测定、基于FACS的碘化丙锭测定、台盼蓝流入测定、光度酶释放测定、放射性51Cr释放测定、荧光铕释放测定、CalceinAM释放测定、光度MTT测定、XTT测定、WST-1测定、阿拉玛蓝测定、放射性3H-Thd掺入测定、测定细胞分裂活性的克隆形成测定、测量线粒体跨膜梯度的荧光罗丹明123测定、通过基于FACS的磷脂酰丝氨酸暴露监测凋亡测定、基于ELISA的TUNEL测试分析、夹心ELISA、胱天蛋白酶活性测定、基于细胞的LDH释放测定和细胞形态学测定，或上述的任意组合，或通过下文实施例所述的方法进行。

[0016] 另一方面，本发明提供了包含以下部分的嵌合多肽组装体组合物：第一部分，其中所述第一部分包含i)对效应细胞抗原具有结合特异性的第二结合域；以及ii)对肿瘤特异性标志物或靶细胞抗原具有结合特异性的第一结合域；第二部分，其中所述第二部分包含能够被哺乳动物蛋白酶切割的第一释放区段(RS)，包含第一填充部分的第三部分，其中所述填充部分能够通过所述哺乳动物蛋白酶对所述第二部分的作用而从所述第一部分释放，包含与第二部分RS可以相同或可以不同的释放区段(RS)的第四部分，以及包含第二填充部分的第五部分，该填充部分可以与第三部分相同或不同，其中所述填充部分能够通过所述哺乳动物蛋白酶对所述第四部分的作用而从第一部分释放。在前述的一个实施方案中，所述嵌合多肽组装体组合物的第二释放区段包含选自表4所列序列的氨基酸序列。在前述的另一个实施方案中，嵌合多肽组装体组合物的第二释放区段包含选自以下序列的氨基酸序列：LSGRSDNHSPLGLAGS、SPLGLAGSLSGRSDNH、SPLGLSGRSDNH、LAGRSDNHSPLGLAGS、LSGRSDNHVPLSLKMG、SPLGLAGS、GPLALARG、LSGRSDNH、VPLSLTMG、VPLSLKMG、VPLSLSMG、EPLELVAG、EPLELRAG、EPAALMAG、EPASLMAG、RIGSLRTA、RIQFLRTA、EPFHLMAG、VPLSLFMG、EPLELPAG和EPLELAAG。在前述的另一个实施方案中，所述嵌合多肽组装体组合物的第二释放区段包含能够被选自表3所列蛋白酶的蛋白酶切割的氨基酸序列。在前述的另一个实施方案中，所述组合物的第五部分的填充部分选自：XTEN；白蛋白结合域；白蛋白；IgG结合域；由脯氨酸、丝氨酸和丙氨酸组成的至少350个氨基酸残基的多肽；脂肪酸；以及Fc域。在前述的另一个实施方案中，所述组合物的第五部分的填充部分是XTEN。在前述的另一个实施方案中，所述组合物的填充部分是包含与选自表5所列序列的序列在最佳比对时具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％序列同一性的氨基酸序列的XTEN。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含与如表10所示的没有信号肽的氨基酸序列在最佳比对时具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％序列同一性的氨基酸序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含与表12所列的氨基酸序列在最佳比对时具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％，98％、99％、96％、97％、98％、99％或100％序列同一性的氨基酸序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含与如图36或图37所列的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％序列同一性的氨基酸序列。在另一个实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体，其由具有选自图36或图37所列序列的多肽序列的氨基酸序列组成。

[0017] 在所述嵌合多肽组装组合物的示例性特征中，与完整的组合物相比，其在释放第一部分结合域之后实现靶细胞的细胞裂解的能力(相比于完整的组合物)比释放的第一部分对靶细胞标志物的结合亲和力增加的比例更大。在该特征的一个实施方案中，与在体外测定中以K_d对数表示的结合亲和力相比，以EC_{50}整数表示的相对细胞毒性为至少约2:1，或至少10:1，或至少50:1，或至少100:1，或至少300:1，或至少500:1，或至少1000:1。在另一个实施方案中，细胞毒性(例如以EC_{50}整数表示)与在体外测定中嵌合多肽组装体的释放的第一部分的结合亲和力(例如表示为K_d对数)的比例高出至少约2倍、至少约3倍、至少约5倍、至少约10倍、至少约30倍、至少约50倍、至少约100倍。

[0018] 在一些实施方案中，其中在以下项目的比较中：a)相对细胞毒性，其被测量为以下

细胞毒性之间的比率：(i)在包含T细胞和携带靶细胞标志物的肿瘤细胞的体外测定中，所释放的第一部分对靶肿瘤细胞的细胞毒性，以及(ii)组合物的细胞毒性，该组合物包含所述嵌合多肽组装体的相应第一部分和所述嵌合多肽组装体的相应第三部分，这两个部分通过1至约10个氨基酸的不可切割的肽连接；以及b)对效应细胞抗原的相对结合亲和力，其被测量为才下结合亲和力之间的比率：(i)释放的第一部分对效应细胞抗原的结合亲和力，以及(ii)组合物对效应细胞抗原的结合亲和力，该组合物包含由1至约10个氨基酸的不可切割的肽连接的所述嵌合多肽组装体的相应第一部分和所述嵌合多肽组装体的相应第三部分，其中相对细胞毒性与相对结合亲和力之间的比率大于至少3:1、10:1，或大于至少30:1，或大于至少50:1，或大于至少100:1，或大于至少300:1，或大于至少500:1，或大于至少1000:1。在前述的一个实施方案中，不可切割的肽具有甘氨酸-丝氨酸、丝氨酸-甘氨酸或任意二肽的多个单元的序列，并且所述效应细胞抗原是CD3。在一个实施方案中，其中在以下项目的比较中：a)相对细胞毒性，其被测量为以下细胞毒性之间的比率：(i)在包含T细胞和携带靶细胞标志物的肿瘤细胞的体外测定中，释放的第一部分对靶肿瘤细胞的细胞毒性，以及(ii)组合物的细胞毒性，该组合物包含所述嵌合多肽组装体的相应第一部分和所述嵌合多肽组装体的相应第三部分，这两个部分通过1至约10个氨基酸的不可切割的肽连接；以及b)对靶细胞标志物的相对结合亲和力，其被测量为以下结合亲和力之间的比率：(i)释放的第一部分对靶细胞标志物的结合亲和力，以及(ii)组合物对靶细胞标志物的结合亲和力，该组合物包含由1至约10个氨基酸的不可切割的肽连接的所述嵌合多肽组装体的相应第一部分和所述嵌合多肽组装体的相应第三部分，其中相对细胞毒性与相对结合亲和力之间的比率大于至少3:1，10:1，或大于至少30:1，或大于至少50:1，或大于至少100:1，或大于至少300:1，或大于至少500:1，或大于至少1000:1。在前述一个实施方案中，不可切割的肽具有甘氨酸-丝氨酸、丝氨酸-甘氨酸或任意二肽的多个单元的序列，并且所述效应细胞抗原是CD3。在另一个实施方案中，其中在以下项目的比较中：a)相对细胞毒性，其被测量为以下细胞毒性之间的比率：(i)在包含T细胞和携带靶细胞标志物的肿瘤细胞的体外测定中，释放的第一部分对靶肿瘤细胞的细胞毒性，以及(ii)组合物的细胞毒性，该组合物包含所述嵌合多肽组装体的相应第一部分和所述嵌合多肽组装体的相应第三部分，这两个部分通过1至约10个氨基酸的不可切割的肽连接；以及b)相对效应细胞抗原结合亲和力，其被测量为以下结合亲和力之间的比率：(i)释放的第一部分对效应细胞抗原的结合亲和力，以及(ii)组合物的结合亲和力，该组合物包含由1至约10个氨基酸的不可切割的肽连接的所述嵌合多肽组装体的相应第一部分和所述嵌合多肽组装体的相应第三部分，以及c)对靶细胞标志物的相对结合亲和力，其被测量为以下结合亲和力之间的比率：(i)释放的第一部分对靶细胞标志物的结合亲和力，以及(ii)组合物对靶细胞标志物的结合亲和力，该组合物包含由1至约10个氨基酸的不可切割的肽连接的所述嵌合多肽组装体的相应第一部分和所述嵌合多肽组装体的相应第三部分，相对细胞毒性与相对效应细胞抗原结合亲和力(乘以对靶细胞标志物的相对结合亲和力)的比率大于至少3:1、10:1，或大于至少30:，或大于至少50:1，或大于至少100:1，或大于至少300:1，或大于至少500:1，或大于至少1000:1。在前述一个实施方案中，不可切割的肽具有甘氨酸-丝氨酸、丝氨酸-甘氨酸或任意二肽的多个单元的序列，并且所述效应细胞抗原是CD3。

[0019] 在一个实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其中在包含T细胞和携

带靶细胞标志物的肿瘤细胞的体外细胞毒性测定中，所述嵌合多肽组装体组合物释放的第一部分的EC_{50}值≤5000pg/ml，甚至更优选≤1000pg/ml，甚至更优选≤500pg/ml，甚至更优选≤350pg/ml，甚至更优选≤250pg/ml，甚至更优选<100pg/ml，甚至更优选≤50pg/ml，甚至更优选<10pg/ml，并且最优选≤5pg/ml。在一个实施方案中，在体外测定中，释放的嵌合多肽组装体组合物的第一部分的EC_{50}值比完整嵌合多肽组装体组合物的EC_{50}值小至少10倍，或至少20倍，或至少30倍，或至少40倍，或至少50倍，或至少60倍，或至少70倍，或至少80倍，或至少90倍，或至少100倍，或至少120倍。

[0020] 在一些情况下，与释放的第一部分的第二结合域对CD3抗原的结合亲和力相比，释放的第一部分的第一结合域对肿瘤特异性标志物的结合亲和力更大。在一个实施方案中，释放的第一部分的第一结合域对靶细胞的结合亲和力，如通过体外测定中的K_d常数所测量的，比第二结合域对CD3抗原的结合亲和力高出至少一个数量级。在其他一些实施方案中，释放的第一部分的第一结合域对靶细胞的结合亲和力，如通过体外结合测定中的K_d常数所测量的，在10^{-5}至10^{-9}M之间，第二结合域的K_d在10^{-5}至10^{-9}M之间。结合亲和力可以通过标准的基于细胞的测定、ELISA、本文实施例中所述的测定或本领域已知的其他体外测定来测定。

[0021] 另一方面，本发明涉及所述嵌合多肽组装体在施用于受试者时的增强的性能。特别设想的是，与释放的第一部分组分相比，包含释放区段的完整的嵌合多肽组装体组合物表现出更小的细胞毒性和/或降低的诱导促炎细胞因子生成的能力。在一个实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其中当将包含嵌合多肽组装体的组合物在施用于受试者之时或之后，所述组装体第二部分在表达能够切割RS的蛋白酶的肿瘤附近被切割。在由所述哺乳动物蛋白酶切割第二部分并从组装体中释放第一部分后，第一部分能够同时结合受试者中携带人CD3抗原的T细胞和携带肿瘤特异性标志物的肿瘤细胞。在一个实施方案中，释放的第一部分同时结合携带CD3抗原的T细胞和携带肿瘤细胞标志物的肿瘤细胞导致T细胞衍生效应分子的释放。在前文中，所述效应分子选自TNF-α、IFN-γ、白细胞介素2、穿孔蛋白和颗粒酶中的一种或多种效应分子，或本领域已知的其他T细胞效应分子。作为效应细胞和靶细胞同时结合的结果，产生了免疫突触，其实现T细胞和效应分子对靶细胞的裂解。

[0022] 另一方面，本发明涉及具有增加的终末半衰期和其他由填充部分例如XTEN赋予的性能的嵌合多肽组装体组合物。在一个实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其中完整的组合物在施用于受试者之时或之后表现出的半衰期比所述未连接至所述第二部分和第三部分的第一部分在以可比的剂量施用于受试者之时或之后的半衰期延长至少2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍或10倍。在另一个实施方案中，在将所述嵌合多肽组装体施用于受试者并且切割第二部分并从所述嵌合多肽组装体释放所述第一部分和所述第三部分之时或之后，所述第一部分在受试者中的半衰期比完整的嵌合多肽组装体的半衰期缩短至少2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍或10倍。在相关的实施方案中，在向受试者单次施用嵌合多肽组合物之时或之后，释放的第一部分的血浆C_{max}浓度不超过约0.01ng/ml 0.01ng/ml，或约0.1ng/ml，或约1ng/ml，或约10ng/ml，或约100ng/ml。在另一个相关实施方案中，在向受试者单次施用完整的嵌合多肽组合物之时或之后，释放的第一部分的血浆C_{max}浓度比完整的嵌合多肽组装体在相同受试者中的血浆C_{max}浓度至少低3倍，或至少低10倍，

或至少低30倍，或至少低100倍。可使用本文所述的方法或本领域已知的常规方法，使用来自施用了主题嵌合多肽组装体的受试者的血浆样品来测量药代动力学参数。在另一个实施方案中，在施用于受试者之时或之后，完整的嵌合多肽组装体在受试者中显示出比其RS被切割的嵌合多肽组装体降低的从血液循环系统的渗出，释放了第一部分和第三部分。在本段的前述实施方案中，受试者可以是小鼠、大鼠、猴子、狗和人。

[0023] 另一方面，本发明涉及嵌合多肽组装体的药物组合物。在一个实施方案中，本发明提供了药物组合物，其包含本文公开的任何嵌合多肽组装体以及一种或多种药学上合适的赋形剂以及任选的一种或多种载体或稳定剂。在另一个实施方案中，该药物组合物被配制用于真皮内、皮下、静脉内、动脉内、腹内、腹膜内、鞘内或肌肉内施用。在另一个实施方案中，所述药物组合物呈液体形式。在相关的实施方案中，将液体形式的药物组合物供应于预填充的注射器中用于单次注射。在其他一些实施方案中，所述药物组合物被配制成在给药之前重建的冻干粉末。

[0024] 另一方面，本发明涉及所述嵌合多肽组装体或包含所述嵌合多肽组装体的药物组合物的方法和用途。在一个实施方案中，本发明提供了用于制备用于治疗受试者疾病的药物的嵌合多肽组装体或包含该嵌合多肽组装体的药物组合物。在相关的实施方案中，该药物用于疾病，其中所述疾病选自：癌、霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、母细胞瘤、乳腺癌、ER/PR+乳腺癌、Her2+乳腺癌、三阴性乳腺癌、结肠癌、具有恶性腹水的结肠癌、粘液性肿瘤、前列腺癌、头颈癌、皮肤癌、黑素瘤、泌尿生殖道癌、卵巢癌、具有恶性腹水的卵巢癌、腹膜癌扩散、子宫浆液性癌、子宫内膜癌、宫颈癌、结直肠癌、子宫癌、腹膜中的间皮瘤、肾癌、维尔姆斯瘤、肺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、胃部癌、胃癌、小肠癌、肝癌、肝细胞癌、肝母细胞瘤、脂肪肉瘤、胰腺癌、胆囊癌、胆管癌、食道癌、唾液腺癌、甲状腺癌、上皮癌、男性细胞瘤、腺癌、肉瘤和B细胞来源的慢性淋巴性白血病。

[0025] 另一方面，本发明涉及用于在受试者中治疗疾病的方法中使用的嵌合多肽组装体或包含该嵌合多肽组装体的药物组合物，其中所述方法包括将所述嵌合多肽组装体或所述药物组合物施用于患有所述疾病的受试者，包括但不限于癌症。如果需要，该方法包括给有此需要的受试者施用治疗有效剂量的包含嵌合多肽组装体以及一种或多种赋形剂的药物组合物。在所述治疗方法的一个实施方案中，所述疾病选自：癌、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、B细胞淋巴瘤、T细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、母细胞瘤、乳腺癌、结肠癌、前列腺癌、头颈癌、任何形式的皮肤癌、黑素瘤、泌尿生殖道癌、卵巢癌、具有恶性腹水的卵巢癌、腹膜癌扩散、子宫浆液性癌、子宫内膜癌、宫颈癌、结直肠癌、具有恶性腹水的上皮腹膜内恶性肿瘤、子宫癌、腹膜中的间皮瘤、肾癌、肺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、胃部癌、食道癌、胃癌、小肠癌、肝癌、肝细胞癌、肝母细胞瘤、脂肪肉瘤、胰腺癌、胆囊癌、胆管癌、唾液腺癌、甲状腺癌、上皮癌、腺癌、任何来源的肉瘤、包括急性或慢性淋巴细胞性白血病、急性或慢性骨髓性白血病、骨髓增生性肿瘤疾病或骨髓增生异常性疾病在内的原发性血液恶性肿瘤、重症肌无力、格雷夫斯病、桥本甲状腺炎或Goodpasture综合征。在该治疗方法的另一个实施方案中，将药物组合物以一个或多个治疗有效剂量每周两次、每周一次、每两周一次、每三周一次或每月一次施用于受试者。在该治疗方法的另一个实施方案中，将药物组合物以一个或多个治疗有效剂量至少两周、或至少一个月、或至少两个月、或至少三个月、

或至少四个月、或至少五个月、或至少六个月的时间内施用于受试者。在该治疗方法的另一个实施方案中，该剂量于皮内、皮下、静脉内、动脉内、腹内、腹膜内、鞘内或肌肉内施用。在该治疗方法的另一个实施方案中，所述剂量在耐受的条件下为了实现最大安全性和功效以团注剂量或通过输注5分钟至96小时来施用。在治疗方法的另一个实施方案中，所述剂量选自：至少约0.005mg/kg、至少约0.01mg/kg、至少约0.02mg/kg、至少约0.04mg/kg、至少约0.08mg/kg、至少约0.1mg/kg、至少约0.12mg/kg、至少约0.14mg/kg、至少约0.16mg/kg、至少约0.18mg/kg、至少约0.20mg/kg、至少约0.22mg/kg、至少约0.24mg/kg、至少约0.26mg/kg、至少约0.27mg/kg、至少约0.28mg/kg、至少0.3mg/kg、至少0.4.mg/kg、至少约0.5mg/kg、至少约0.6mg/kg、至少约0.7mg/kg、至少约0.8mg/kg、至少约0.9mg/kg、至少约1.0mg/kg、至少约1.5mg/kg或至少约2.0mg/kg。在该治疗方法的另一个实施方案中，初始剂量选自：至少约0.005mg/kg、至少约0.01mg/kg、至少约0.02mg/kg、至少约0.04mg/kg、至少约0.08mg/kg、至少约0.1mg/kg，并且随后的剂量选自：至少约0.1mg/kg、至少约0.12mg/kg、至少约0.14mg/kg、至少约0.16mg/kg、至少约0.18mg/kg、至少约0.20mg/kg、至少约0.22mg/kg、至少约0.24mg/kg、至少约0.26mg/kg、至少约0.27mg/kg、至少约0.28mg/kg，至少0.3mg/kg、至少0.4.mg/kg、至少约0.5mg/kg、至少约0.6mg/kg、至少约0.7mg/kg、至少约0.8mg/kg、至少约0.9mg/kg、至少约1.0mg/kg、至少约1.5mg/kg或至少约2.0mg/kg。在该治疗方法的另一个实施方案中，向受试者施用治疗有效剂量的药物组合物导致在受试者中至少约0.1ng/mL至至少约2ng/mL或更高的嵌合多肽组装体的血浆浓度，持续至少约3天、至少约7天、至少约10天、至少约14天或至少约21天。

[0026] 在另一个实施方案中，本发明提供了在治疗疾病的方法中使用的药物组合物，所述方法包括，根据包含使用治疗有效剂量的一个或多个连续剂量的治疗方案，向患有疾病的受试者施用药物组合物。在用于治疗疾病的方法中使用的药物组合物的一个实施方案中，该疾病选自：癌、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、B细胞淋巴瘤、T细胞淋巴瘤、滤泡淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、母细胞瘤、乳腺癌、结肠癌、前列腺癌、头颈癌、任何形式的皮肤癌、黑素瘤、泌尿生殖道癌、卵巢癌、具有恶性腹水的卵巢癌、腹膜癌扩散、子宫浆液性癌、子宫内膜癌、宫颈癌、结直肠癌、具有恶性腹水的上皮腹膜内恶性肿瘤、子宫癌、腹膜中的间皮瘤、肾癌、肺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、胃部癌、食道癌、胃癌、小肠癌、肝癌、肝细胞癌、肝母细胞瘤、脂肪肉瘤、胰腺癌、胆囊癌、胆管癌、唾液腺癌、甲状腺癌、上皮癌、腺癌、任何来源的肉瘤、包括急性或慢性淋巴细胞性白血病、急性或慢性骨髓性白血病、骨髓增生性肿瘤疾病或骨髓增生异常性疾病在内的原发性血液恶性肿瘤、重症肌无力、格雷夫斯病、桥本甲状腺炎或Goodpasture综合征。在用于治疗疾病的方法中使用的药物组合物的另一个实施方案中，所述治疗方案是具体治疗周期的一部分，其中所述指定的治疗周期包括每个治疗周期每周两次、每周一次、每十天一次、每两周一次、每三周一次或每一个月一次施用药物组合物。在一个实施方案中，所述治疗方案导致受试者中与疾病相关的临床参数或终点的改善，其中该临床参数或终点选自以下各项中的一种或其任意组合：作为完全、部分或不完全响应的肿瘤萎缩，至进展的时间，至治疗失败的时间，生物标志物应答，无进展存活期，无病存活期，至复发的时间，至转移的时间，总存活时间，生活质量的提高，以及症状改善。在该方法的前述实施方案中，受试者选自小鼠、大鼠、猴子和人。

[0027] 另一方面，本发明涉及包含该药物组合物的试剂盒。在一个实施方案中，本发明提

供了一种试剂盒，其包含本文披露的任意实施方案的药物组合物、容器以及在容器上或与容器相关联的标签或包装说明书。在另一个实施方案中，本发明提供一种试剂盒，其包含含有本文披露的任一实施方案的药物组合物的预填充注射器以及在注射器上或与注射器相关联的标签或包装插页。

[0028] 另一方面，本发明涉及完整的嵌合多肽组装体组合物与切割的嵌合多肽组装体组合物的差别特征和效果。在一个实施方案中，本发明提供了本文披露的任意实施方案的嵌合多肽组装体，其中当所述组装体与效应细胞以及靶细胞接触时，与未与该组装体连接的该组装体的相应第一部分相比，完整的嵌合多肽组装体实现从效应细胞产生Th1细胞因子的可能性低至少10倍，或至少20倍，或至少30倍，或至少40倍，或至少50倍，或至少60倍，或至少70倍，或至少80倍，或至少90倍，或至少100倍，或至少1000倍。在一个实施方案中，在包含PBMC或CD3+ T细胞以及具有肿瘤特异性标志物抗原的靶细胞的体外测定中测定Th1细胞因子的生成，所述肿瘤特异性标志物抗原选自：α4整联蛋白、Ang2、B7-H3、B7-H6、CEACAM5、cMET、CTLA4、FOLR1、EpCAM、CCR5、CD19、HER2、HER2neu、HER3、HER4、HER1(EGFR)、PD-L1、PSMA、CEA、MUC1(粘蛋白)、MUC-2、MUC3、MUC4、MUC5AC、MUC5B、MUC7、MUC16βhCG、Lewis-Y、CD20、CD33、CD38、CD30、CD56(NCAM)、CD133、神经节苷脂GD3、9-O-乙酰基-GD3、GM2、Globo H、岩藻糖基GM1、GD2、碳酸酐酶IX、CD44v6、声猬(Shh)、Wue-1、浆细胞抗原1、黑素瘤硫酸软骨素蛋白聚糖(MCSP)、CCR8、前列腺6-跨膜上皮抗原(STEAP)、间皮素、A33抗原、前列腺干细胞抗原(PSCA)、Ly-6、桥粒芯蛋白4、胎儿乙酰胆碱受体(fnAChR)、CD25、癌抗原19-9(CA19-9)、癌抗原125(CA-125)、II型苗勒抑制物质受体(MISIIR)、唾液酸化的Tn抗原(sTN)、成纤维细胞活化抗原(FAP)、内皮唾液酸蛋白(CD248)、表皮生长因子受体变体III(EGFRvIII)、肿瘤相关抗原L6(TAL6)、SAS、CD63、TAG72、Thomsen-Friedenreich抗原(TF-抗原)、胰岛素样生长因子I受体(IGF-IR)、Cora抗原、CD7、CD22、CD70、CD79a、CD79b、G250、MT-MMP、F19抗原、CA19-9、CA-125、甲胎蛋白(AFP)、VEGFR1、VEGFR2、DLK1、SP17、ROR1以及EphA2。在前述的实施方案中，所述Th1细胞因子选自IL-2、TNF-α以及IFN-γ。在另一个实施方案中，与施用了未连接至嵌合多肽组装体的相应第一部分的受试者相比，使用来自施用了所述嵌合多肽组装体的受试者的血液或流体样品测定Th1细胞因子的产生，其结果是所述完整的嵌合多肽组装体实现Th1细胞因子产生的可能性低至少10倍，或至少20倍，或至少30倍，或至少40倍，或至少50倍，或至少60倍，或至少70倍，或至少80倍，或至少90倍，或至少100倍，或至少1000倍。在前述的实施方案中，受试者选自小鼠、大鼠、猴子和人。

[0029] 在其他情况下，本文中公开的任意实施方案的嵌合多肽组装体显示如下特征：与未连接至该嵌合多肽组装体的第一部分在以可比的剂量施用于受试者时相比，完整的嵌合多肽组装体在施用于受试者时从循环中渗出的可能性低至少10倍，或至少20倍，或至少30倍，或至少40倍，或至少50倍，或至少60倍，或至少70倍，或至少80倍，或至少90倍，或至少100倍。

[0030] 另一方面，本发明涉及编码本发明组合物的核酸。在一个实施方案中，本发明提供了包含选自以下的多核苷酸序列的分离的核酸：(a)编码本文公开的任意一个实施方案的嵌合多肽组装体的多核苷酸，或(b)所述(a)的多核苷酸的互补体。在另一个实施方案中，本发明提供了分离的核酸，其包含与表10或表14所列的多核苷酸序列具有至少90％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％序列同一性的多核苷酸序列。

在另一个实施方案中，本发明提供了表达载体，其包含前述实施方案的多核苷酸序列以及可操作地连接至该多核苷酸序列的重组调节序列。在另一个实施方案中，本发明提供了包含上述表达载体的分离的宿主细胞。在一个实施方案中，所述宿主细胞是大肠杆菌。

[0031] 另一方面，本发明涉及T细胞结合组合物以及编码它们的核酸。在一个实施方案中，本发明提供了一种单体融合蛋白，其包含与选自表7所列的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％序列同一性的氨基酸序列，其中所述单体融合蛋白对T细胞的CD3抗原显示出结合亲和力。在另一个实施方案中，本发明提供了包含选自以下的多核苷酸序列的分离的核酸：(a)编码前述T细胞结合组合物的融合蛋白的多核苷酸，(b)与选自表7所列多核苷酸序列的多核苷酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％序列同一性的多核苷酸序列；或(c)(a)或(b)的多核苷酸的互补体。

[0032] 在另一个实施方案中，本发明提供了在制备编码本文公开的任意一个嵌合多肽组装体实施方案的嵌合多肽组装体的多核苷酸序列的方法中使用编码上述T细胞结合组合物的融合蛋白的核酸的方法，该方法包括将编码具有结合亲和力的scFv的多核苷酸序列可操作性地连接至本文公开的或选自表2所列的靶标的靶标细胞标志物，这与编码前述公开的T细胞结合组合物的融合蛋白的多核苷酸符合读框。在另一个实施方案中，本发明提供了表达载体，其包含前述多核苷酸序列和可操作地连接至该多核苷酸序列的重组调节序列。本发明还提供了分离的宿主细胞，其包含表达载体，其中所述宿主细胞是大肠杆菌。

[0033] 又一方面，本发明涉及产生本文公开的嵌合多肽组装体实施方案的方法。在一个实施方案中，本发明提供了产生本文公开的嵌合多肽组装体的方法，所述方法包括用编码所述嵌合多肽组装体的表达载体转化宿主细胞，在允许该嵌合多肽组装体在转化的宿主细胞中表达的条件下培养该宿主细胞，并将嵌合多肽组装体分离为可溶性的融合蛋白。在一些实施方案中，所表达的融合蛋白的第一和第二结合域的至少70％、或至少80％、或至少90％、或至少95％、或至少97％、或至少99％正确折叠。

[0034] 在其他情况下，本发明提供了诱导靶细胞死亡的方法。该方法通常包括使所述靶细胞与本文公开的实施方案的嵌合多肽组装体以及效应细胞接触。在一个实施方案中，该接触在靶细胞中产生包括但不限于以下的效应：膜完整性丧失、固缩、核碎裂、凋亡的内在途径的诱导、凋亡的外在途径的诱导、凋亡、细胞裂解以及细胞死亡。

[0035] 导致细胞死亡的细胞毒性(例如坏死或凋亡)可以通过任意适当的方法来确定，包括但不限于：在处理前后进行细胞计数，或测量与活细胞或死细胞相关的标志物的水平。细胞死亡程度可以通过任意适当的方法来确定。在一些实施方案中，相对于起始条件确定细胞死亡程度。例如，个体可能具有已知的起始量的靶细胞，如已知大小的起始细胞团或肿瘤或已知浓度的循环靶细胞。在另一个实例中，可以比较一种组合物诱导的细胞死亡程度相对于另一种组合物诱导的细胞死亡程度(例如连接至填充部分的嵌合多肽组装体和不连接至填充部分的嵌合多肽组装体)。在这种情况下，细胞死亡程度可以表示为处理后的存活细胞与起始细胞群体的比例。在一些实施方案中，细胞死亡程度可以通过适当的细胞死亡测定来确定。在一个实施方案中，细胞死亡程度可以通过随着时间的推移测量肿瘤大小来确定。有多种可用的细胞死亡测定方法，并且可以利用各种检测方法。所述检测方法的例子包括但不限于使用细胞染色、显微镜检查、流式细胞术、细胞分选及其组合。在

WO2011131472A1和US20130052160中描述的细胞死亡测定的进一步的非限制性实例通过引用作为参考。

[0036] 在前述的一个实施方案中，所述方法在基于细胞的体外测定中使用，所述测定包括靶细胞和效应细胞的混合群体，以及有效量的对该靶细胞和效应细胞的抗原具有结合亲和力的嵌合多肽组装体。在该测定中，所述靶细胞表达肿瘤特异性标志物抗原包括但不限于：α4整联蛋白、Ang2、B7-H3、B7-H6、CEACAM5、cMET、CTLA4、FOLR1、EpCAM、CCR5、CD19、HER2、HER2 neu、HER3、HER4、HER1(EGFR)、PD-L1、PSMA、CEA、MUC1(粘蛋白)、MUC-2、MUC3、MUC4、MUC5AC、MUC5B、MUC7、MUC16βhCG、Lewis-Y、CD20、CD33、CD38、CD30、CD56(NCAM)、CD133、神经节苷脂GD3、9-O-乙酰基-GD3、GM2、Globo H、岩藻糖基GM1、GD2、碳酸酐酶IX、CD44v6、声猬(Shh)、Wue-1、浆细胞抗原1、黑素瘤硫酸软骨素蛋白聚糖(MCSP)、CCR8、前列腺6-跨膜上皮抗原(STEAP)、间皮素、A33抗原、前列腺干细胞抗原(PSCA)、Ly-6、桥粒芯蛋白4、胎儿乙酰胆碱受体(fnAChR)、CD25、癌抗原19-9(CA19-9)、癌抗原125(CA-125)、II型苗勒抑制物质受体(MISIIR)、唾液酸化Tn抗原(s TN)、成纤维细胞活化抗原(FAP)、内皮唾液酸蛋白(CD248)、表皮生长因子受体变体III(EGFRvIII)、肿瘤相关抗原L6(TAL6)、SAS、CD63、TAG72、Thomsen-Friedenreich抗原(TF-抗原)、胰岛素样生长因子I受体(IGF-IR)、Cora抗原、CD7、CD22、CD70、CD79a、CD79b、G250、MT-MMP、F19抗原、CA19-9、CA-125、甲胎蛋白(AFP)、VEGFR1、VEGFR2、DLK1、SP17、ROR1以及EphA2，并且所述效应细胞是T细胞，其中所述效应细胞抗原是CD3。在其他一些实施方案中，诱导靶细胞死亡的方法在患有包含靶细胞群体的癌症的受试者中使用，其中所述方法包括向该受试者施用治疗有效量的所述嵌合多肽组装体。在前述的一个实施方案中，所述方法包括作为一个或多个连续施用的治疗有效剂量的药物组合物施用嵌合多肽组装体，该药物组合物包含嵌合多肽组装体以及一种或多种赋形剂。在前述的另一个实施方案中，所述方法包括确定在患有癌症的受试者中实现治疗效果所需的药物组合物的量并将该量作为一个或多个连续剂量施用于受试者的方案。在受试者中诱导靶细胞死亡的方法中，其中靶细胞是癌细胞，其中所述癌症可以是：癌、霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、母细胞瘤、乳腺癌、ER/PR+乳腺癌、Her2+乳腺癌、三阴性乳腺癌、结肠癌、具有恶性腹水的结肠癌、粘液性肿瘤、前列腺癌、头颈癌、皮肤癌、黑素瘤、泌尿生殖道癌、卵巢癌、具有恶性腹水的卵巢癌、腹膜癌扩散、子宫浆液性癌、子宫内膜癌、宫颈癌、结直肠癌、子宫癌、腹膜中的间皮瘤、肾癌、维尔姆斯瘤、肺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、胃部癌、胃癌、小肠癌、肝癌、肝细胞癌、肝母细胞瘤、脂肪肉瘤、胰腺癌、胆囊癌、胆管癌、食道癌、唾液腺癌、甲状腺癌、上皮癌、男性细胞瘤、腺癌、肉瘤以及B细胞来源的慢性淋巴性白血病。通过在患有癌症的受试者中使用本发明的方法，该方法导致临床参数或终点的改善，其中所述临床参数或终点可以是：总存活期、症状终点、无病存活期、客观响应率、完全响应、响应的持续时间、无进展存活期、至进展的时间、至治疗失败的时间、肿瘤测量、肿瘤大小、肿瘤响应率、至转移的时间以及生物标志物浓度。在其他情况下，相比于以mmol/kg的可比剂量向可比的受试者施用包含嵌合多肽组装体的第一部分而不包括第二部分和第三部分的组合物，在患有癌症的受试者中使用本发明的方法导致受试者中诊断相关副作用的频率、持续时间或严重程度的降低，其中所述副作用可以是以下中的一个或多个：升高的IL-2血浆水平、升高的TNF-α血浆水平、升高的IFN-γ血浆水平、脓毒症、发热性嗜中性粒细胞减少症、神经毒性、抽搐、脑病、细胞因子释放综合征、

言语障碍、平衡障碍、发热、头痛、意识模糊、低血压、嗜中性粒细胞减少、恶心、意识损害、定向障碍以及肝酶增加。

[0037] 在另外的情况下，本发明提供了将治疗剂递送至包含肿瘤特异性标志物的肿瘤细胞的方法，该方法包括向靶细胞施用本文公开的任一实施方案的嵌合多肽组装体，其中所述治疗剂经由特异性结合所述肿瘤特异性标志物的第一部分的第一结合域递送至所述靶细胞。在前文中，所述肿瘤特异性标志物选自：α4整联蛋白、Ang2、B7-H3、B7-H6、CEACAM5、cMET、CTLA4、FOLR1、EpCAM、CCR5、CD19、HER2、HER2 neu、HER3、HER4、HER1(EGFR)、PD-L1、PSMA、CEA、MUC1(粘蛋白)、MUC-2、MUC3、MUC4、MUC5AC、MUC5B、MUC7、MUC16βhCG、Lewis-Y、CD20、CD33、CD38、CD30、CD56(NCAM)、CD133、神经节苷脂GD3、9-O-乙酰基-GD3、GM2、Globo H、岩藻糖基GM1、GD2、碳酸酐酶IX、CD44v6、声猬(Shh)、Wue-1、浆细胞抗原1、黑素瘤硫酸软骨素蛋白聚糖(MCSP)、CCR8、前列腺6-跨膜上皮抗原(STEAP)、间皮素、A33抗原、前列腺干细胞抗原(PSCA)、Ly-6、桥粒芯蛋白4、胎儿乙酰胆碱受体(fnAChR)、CD25、癌抗原19-9(CA19-9)、癌抗原125(CA-125)、II型苗勒抑制物质受体(MISIIR)、唾液酸化Tn抗原(sTN)、成纤维细胞活化抗原(FAP)、内皮唾液酸蛋白(CD248)、表皮生长因子受体变体III(EGFRvIII)、肿瘤相关抗原L6(TAL6)、SAS、CD63、TAG72、Thomsen-Friedenreich抗原(TF-抗原)、胰岛素样生长因子I受体(IGF-IR)、Cora抗原、CD7、CD22、CD70、CD79a、CD79b、G250、MT-MMP、F19抗原、CA19-9、CA-125、甲胎蛋白(AFP)、VEGFR1、VEGFR2、DLK1、SP17、ROR1以及EphA2。如果需要，所述肿瘤特异性标志物选自：α4整联蛋白、Ang2、CEACAM5、CD19、CD20、CD33、CD38、cMET、CTLA4、EpCAM、EphA2、FOLR1、HER1(EGFR)、HER2、HER3、HER1(EGFR)/HER3、HER2/3、间皮素、MUC1、PD-L1、PSMA、TAG-72、VEGFR1，VEGFR2。在所述方法的一个实施方案中，所述嵌合多肽组装体包含与选自表12所列序列的多肽序列具有至少90％、或至少91％、或至少92％、或至少93％、或至少94％、或至少95％、或至少96％、或至少97％、或至少98％、或至少99％、或至少100％序列同一性的氨基酸序列。在所述方法的另一个实施方案中，所述嵌合多肽组装体包含与选自图36或图37所列序列的多肽序列具有至少90％、或至少91％、或至少92％、或至少93％、或至少94％、或至少95％、或至少96％、或至少97％、或至少98％、或至少99％、或至少100％序列同一性的氨基酸序列。在前述方法的一个实施方案中，所述肿瘤细胞驻留于受试者的肿瘤中，其中受试者可以是小鼠、大鼠、猴、狗和人。

[0038] 另一方面，本发明涉及嵌合多肽组装组合物的物理特性以及当施用于受试者时所产生的性能。关于本文公开的嵌合多肽组装体的实施方案，嵌合多肽组装体的第二部分和第三部分均不具有对第一部分的特异性结合亲和力。对于本文公开的每一个嵌合多肽组装体的实施方案，所述第一部分占所述完整嵌合多肽组装体的分子量的小于50％。在另一个实施方案中，当通过大小排阻色谱法评估表观分子量因子时，本文公开的实施方案的嵌合多肽组装体的第一部分占嵌合多肽组装体的表观分子量因子的小于30％，或小于40％，或小于50％。此外，在通过大小排阻色谱法来评估流体动力学半径时，当切割第二部分并从本文公开的任意实施方案的嵌合多肽组装体中释放所述第一部分和所述第三部分时，所释放的第一部分的流体力学半径比完整的嵌合多肽组装体的流体力学半径小大约30％，或小大约40％，或小大约50％。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体，其中在通过大小排阻色谱法测定流体动力学半径时，当切割所述第二部分并从所述嵌合多肽组装体中释放所述第一部分和所述第三部分后，释放的第一部分的流体动力学半径小于约5nm，或

小于约4nm,或小于约3nm。因此,与完整的嵌合多肽组装体相比,释放的第一部分具有更高的穿透肿瘤组织的能力。在另一个实施方案中,在通过大小排阻色谱法测定流体动力学半径时,本文公开的完整嵌合多肽组装体的流体动力学半径大于约8nm,或大于约9nm,或大于约10nm。因此,向患有肿瘤的受试者施用的完整嵌合多肽组装体从受试者正常组织的血管渗出的能力弱于其从肿瘤血管渗出的能力。

[0039] 特别设想的是,所述嵌合多肽组装体组合物实施方案可以表现出本文公开的性能的一种或多种或任意的组合。进一步具体设想的是,所述治疗方法可以表现出本文所公开的性能的一种或多种或任意的组合。

援引并入

[0040] 本说明书中提到的所有出版物、专利和专利申请均通过引用而并入本文,其程度如同特别地且单独地指出每个单独的出版物、专利或专利申请通过引用而并入。

附图说明

[0041] 可以通过参考以下对说明性实施方案加以阐述的详细描述以及附图,进一步解释本发明的特征和优点。

[0042] 图1描绘了各个附图中使用的各种示意图,以及它们所代表的内容的描述。

[0043] 图2描绘了ProTIA组合物(在本文中也描述为嵌合多肽组装体),其为未切割的“Pro”形式以及在被肿瘤相关蛋白酶作用后的切割状态。该图还描述了两种形式组合物的一些非限制性性能。

[0044] 图3在图3A中示出了未被切割的“Pro”形式并在图3B中示出了切割形式,其中未切割形式在接近于效应细胞和肿瘤相关细胞处描绘,每种都具有细胞表面抗原;然而,由于填充部分在靶向(或结合)结构域上的空间位阻和屏蔽作用,图3A中的未切割形式不能同时结合两种细胞,而图3B的具有释放的靶向结构域的切割形式允许两种细胞同时结合并且允许效应细胞针对靶肿瘤相关细胞的免疫活化。

[0045] 图4示出了ProTIA组合物的两种构型的示意图,说明了所述释放区段和填充部分可以附接至效应细胞结合部分或肿瘤抗原结合部分。

[0046] 图5示出了ProTIA组合物的两种构型的示意图,其中两个释放区段和两个填充部分连接至结合部分。在图5A的情况下,一个RS和填充部分连接至效应细胞结合部分,另一个RS和填充部分连接至肿瘤抗原结合部分,并且所述组合物将处于scFv构型。在图5B的情况下,RS和填充部分均附接至效应细胞结合部分(在左侧)或肿瘤抗原结合部分(在右侧),并且结合部分将处于双抗体构型(从而允许组合物以重组形式产生)。

[0047] 图6A-6D示出了ProTIA组合物的两种构型的示意图,其中填充部分是XTEN多肽,并且RS和填充部分连接至效应细胞结合部分(在左侧)或者RS,并且填充部分连接至肿瘤抗原结合部分(在右侧)。

[0048] 图7示出了ProTIA组合物的两种构型的示意图,其中两个释放区段和两个XTEN连接至结合部分。在图7A的情况下,一个RS和一个XTEN连接至效应细胞结合部分和另一个RS,并且填充部分连接至肿瘤抗原结合部分,并且该组合物将处于scFv构型。在图7B的情况下,RS和XTEN均连接至效应细胞结合部分(在右侧)或肿瘤抗原结合部分(在左侧),并且结合部分将处于双抗体构型(从而允许组合物以重组形式产生)。

[0049] 图8示出了ProTIA组合物的两种构型的示意图，其中RS和填充部分连接至效应细胞结合部分(在左侧)或肿瘤抗原结合部分(在右侧)。图8A将结合部分描绘为XTEN。图8B将结合部分描绘为白蛋白。图8C将结合部分描绘为Fc片段。

[0050] 图9示出了ProTIA组合物构型的示意图，其中两个释放区段和两个填充部分连接至结合部分。图9A描绘了三种构型，其中两个S和XTEN连接至效应细胞结合部分和肿瘤抗原结合部分(左侧)，连接至肿瘤抗原结合部分(中心)，或连接至效应细胞结合部分(在右侧)。图9B描绘了四种构型，其中一个RS和XTEN连接至效应细胞结合部分，并且一个RS和白蛋白连接至肿瘤抗原结合部分(在左上侧)，一个RS和一个XTEN连接至肿瘤抗原结合部分，一个RS和白蛋白连接至效应细胞结合部分(在右上侧)，RS和XTEN两者以及RS和白蛋白两者都连接至肿瘤抗原结合部分(在左下侧)，RS和XTEN两者以及RS和白蛋白两者都连接至效应细胞结合部分(在右下方侧)。图9C描绘了四种构型，其中一个RS和XTEN连接至效应细胞结合部分，并且一个RS和Fc连接至肿瘤抗原结合部分(在左上侧)，一个RS和一个XTEN连接至肿瘤抗原结合部分，一个RS和Fc连接至效应细胞结合部分(在右上侧)，RS和XTEN两者以及RS和Fc两者都连接至肿瘤抗原结合部分(在左下侧)，并且RS和XTEN两者以及RS和Fc两者都连接至效应细胞结合部分(在右下侧)。

[0051] 图10示出了靠近肿瘤组织(左侧)和正常组织(右侧)的ProTIA的示意图，其中在肿瘤组织中渗透性更高的脉管系统允许ProTIA渗出到其肿瘤相关蛋白酶可以作用于RS的组织中，将其切割并释放结合部分，这进而又可同时结合效应细胞和肿瘤相关细胞。在正常组织的情况下，该渗出物或者被较紧密的脉管系统阻挡，或者在ProTIA渗出的情况下，ProTIA保持“Pro”形式并且能够结合效应细胞，但不存在肿瘤细胞，或者如果存在的话，存在不充足的蛋白酶以释放结合部分，具有不形成免疫突触的净效应。

[0052] 图11示出了效应细胞结合部分和肿瘤抗原结合部分的scFv构型的示意图，各自具有通过连接体结合的VH/VL对，并且为串联的形式。

[0053] 图12示出了效应细胞结合部分和肿瘤抗原结合部分的双抗体构型的示意图，各自具有通过连接体连接的VH/VL对。

[0054] 图13A示出了通用结构设计的示意图。图13B和13C示出了ProTIA组合物的示意图，其中效应细胞结合部分和肿瘤抗原结合部分在scFv构型(图13B)[具有通过分子内长连接体(L)或分子间短连接体(1)连接的可变重链(VH)和可变轻链(VL)]和双抗体构型(图13C)[具有通过长连接体(L)或分子间短连接体(1)连接的VH和VL结构域]中处于各种排列。

[0055] 图14示出了从发酵培养基中纯化未切割的AC1278，如实施例2所述。图14A示出了从发酵培养基IMAC捕获AC1278的示例性SDS-PAGE；图14B示出了在HIC精制步骤中级分的SDS-PAGE分析；图14C示出了在ImpRes-Q精制步骤中级分的SDS-PAGE分析。

[0056] 图15示出了未切割的AC1278的批次释放分析，如实施例2中所述。图15A示出了未切割的AC1278(以实线表示)对XTEN长度标准(以虚线表示)的批次释放分析SEC色谱法；图15B示出了未切割的AC1278的批次释放SDS-PAGE。

[0057] 图16示出了使用未切割的AC1278制备切割的ProTIA-A，如实施例2所述。图16A示出了MMP-9消化反应混合物的SDS-PAGE分析；图16B示出了IMAC纯化MMP-9消化混合物以除去切割的XTEN片段的SDS-PAGE分析。

[0058] 图17示出了切割的AC1278的批次释放分析，如实施例2中所述。图17A示出了切割

的AC1278(以实线表示)对球状蛋白质标准(以虚线表示)的批次释放分析SEC色谱法;图17B示出了切割的AC1278的批次释放SDS-PAGE。

[0059] 图18示出了从发酵培养基中纯化未切割的AC1476,如实施例3所述。图18A示出了从发酵培养基IMAC捕获AC1476的示例性SDS-PAGE;图18B示出了在HIC精制步骤中级分的SDS-PAGE分析;图18C示出了在ImpRes-Q精制步骤中级分的SDS-PAGE分析。

[0060] 图19示出了未切割的AC1476的批次释放分析,如实施例3中所述。图19A示出了未切割的AC1476(以实线表示)对XTEN长度标准(以虚线表示)的批次释放分析SEC色谱法;图19B示出了考马斯染色的未切割的AC1476的批次释放SDS-PAGE;图19C示出了银染的未切割的AC1476的批次释放SDS-PAGE。

[0061] 图20示出了未切割的AC1476的额外的批次释放分析,如实施例3中所述。图20A示出了未切割的AC1476的批次释放ESI-MS;图20B示出了未切割的AC1476的批次释放阳离子交换色谱法。

[0062] 图21示出了使用未切割的AC1476制备切割的ProTIA-A,如实施例3所述。图21A示出了MMP-9消化反应混合物的SDS-PAGE分析;图21B示出了MMP-9消化混合物的阴离子交换级分的SDS-PAGE分析以去除未切割的底物,以及切割的XTEN区段。

[0063] 图22示出了切割的AC1476的批次释放分析,如实施例3中所述。图22A示出了切割的AC1476(以实线表示)对球状蛋白质标准(以虚线表示)的批次释放分析SEC;图22B示出了考马斯染色的切割AC1476的批次释放SDS-PAGE;图22C示出了具有银染的切割AC1476的批次释放SDS-PAGE。

[0064] 图23示出了切割的AC1476的额外的批次释放分析,如实施例3中所述。图23A示出了切割的AC1476的批次释放ESI-MS;图23B示出了切割的AC1476的批次释放阳离子交换色谱法。

[0065] 图24示出了经蛋白酶处理的和未处理的抗EpCAM x抗-CD3 ProTIA对其配体的结合,如实施例4所述。

[0066] 图25描绘了测定经蛋白酶处理的和未处理的抗EpCAM x抗-CD3 ProTIA的体外活性的实验的结果,如实施例6所述。

[0067] 图26描绘了测定抗-EpCAM x抗-CD3 ProTIA的体外特异性的实验的结果,如实施例6中所述。

[0068] 图27描绘了测定经蛋白酶处理的、蛋白酶未处理的和蛋白酶不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的体外活性的实验的结果,如实施例6中所述。

[0069] 图28描绘了测定经蛋白酶处理和未处理的抗EpCAM x抗-CD3 ProTIA的PK的实验的结果,如实施例9中所述。

[0070] 图29示出了T细胞结合组合物的交替的N端至C端构型的示意图。图29A示出了效应细胞结合部分(ECBM)随后是释放位点区段(RS)以及XTEN的构型。而图29B示出了XTEN随后是RS区段然后是ECBM的构型。

[0071] 图30描绘了测定在SK-OV-3中的经蛋白酶处理的、蛋白酶未处理的和蛋白酶不可切割的抗EpCAM x抗-CD3 ProTIA的体外活性的实验的结果,如实施例6中所述。

[0072] 图31描绘了测定经蛋白酶处理的和未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的抗肿瘤作用的实验的肿瘤体积结果,如实施例10中所述。

[0073] 图32描绘了确定经蛋白酶处理的和未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的抗肿瘤作用的实验的体重结果，如实施例10中所述。

[0074] 图33描绘了确定经蛋白酶处理和未处理的抗EpCAM x抗-CD3 ProTIA的细胞因子曲线的实验的结果，如实施例12所述。图33A示出了检测IL-2的试验的结果，而图33B示出了检测IL-4的结果。

[0075] 图34描绘了确定经蛋白酶处理和未处理的抗EpCAM×抗-CD3 ProTIA的细胞因子曲线的实验的结果，如实施例12所述。图34A示出了检测IL-6的试验的结果，而图34B示出了检测IL-10的结果。

[0076] 图35描绘了确定经蛋白酶处理和未处理的抗EpCAM×抗-CD3 ProTIA的细胞因子曲线的实验的结果，如实施例12所述。图35A示出了检测IFN-γ的试验的结果，而图35B示出了检测TNF-α的结果。

[0077] 图36：AC1476 aEpCAM-aCD3 ProTIA的氨基酸序列。

[0078] 图37：AC1489 aEpCAM-aCD3 ProTIA的氨基酸序列。

[0079] 图38描绘了测定抗EpCAM x抗CD3 ProTIA、经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA和不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的抗肿瘤作用的实验的HCT-116肿瘤体积结果，如实施例13所述。

[0080] 图39描绘了测定抗EpCAM×抗CD3 ProTIA、经蛋白酶处理的抗EpCAM×抗CD3 ProTIA和不可切割的抗EpCAM×抗CD3 ProTIA的抗HCT-116肿瘤效果的实验的体重结果，如实施例13所述。

[0081] 图40描绘了使用纯化的人CD3阳性T细胞在SK-OV-3中测定经蛋白酶处理的、蛋白酶未处理的和蛋白酶不可切割的抗EpCAM x抗-CD3 ProTIA的体外活性的实验结果，如实施例14所述。

[0082] 图41描绘了使用纯化的人CD3阳性T细胞在OVCAR-3中测定经蛋白酶处理的、蛋白酶未处理的和蛋白酶不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的体外活性的实验结果，如实施例14所述。

[0083] 图42描绘了使用经蛋白酶处理的、未经蛋白酶处理的和蛋白酶不可切割的抗EpCAM×抗-CD3 ProTIA测量在PBMC和SK-OV-3细胞共培养物中的CD8和CD4细胞上的CD69活化作用的实验结果，如实施例8所述。图42A描绘了在CD8细胞上的CD69的活化作用，而图42B描绘了在CD4细胞上的CD69的活化作用。

[0084] 图43描绘了使用经蛋白酶处理的、未经蛋白酶处理的以及蛋白酶不可切割的抗EpCAM×抗CD3 ProTIA测量在PBMC和SK-OV-3细胞共培养物中的CD8和CD4细胞上的CD69和CD25两者的活化作用的实验结果，如实施例8所述。图43A描绘了在CD8细胞上的CD69和CD25的活化作用，而图43B描绘了在CD4细胞上的CD69和CD25的活化作用。

[0085] 图44描绘了使用经蛋白酶处理的、未经蛋白酶处理的和蛋白酶不可切割的抗EpCAM×抗-CD3 ProTIA测量在纯化的CD3+细胞和SK-OV-3细胞的共培养物中的CD8和CD4细胞上的CD69活化作用的实验结果，如实施例8所述。图44A描绘了在CD8细胞上的CD69的活化作用，而图44B描绘了在CD4细胞上CD69的活化作用。

[0086] 图45描绘了使用经蛋白酶处理的、未经蛋白酶处理的和蛋白酶不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA测量在纯化的CD3+细胞和SK-OV-3细胞共培养物中的CD8和CD4细胞

上的CD69和CD25两者活化作用的实验结果，如实施例8所述。图45A描绘了在CD8细胞上的CD69和CD25两者的活化作用，而图45B描绘了在CD4细胞上的CD69和CD25两者的活化作用。

[0087] 图46描绘了使用经蛋白酶处理的、未经蛋白酶处理的和蛋白酶不可切割的抗EpCAM×抗CD3 ProTIA测量在纯化的CD3+细胞和OVCAR3细胞共培养物中的CD8和CD4细胞上的CD69活化作用的实验结果，如实施例8所述。图46A描绘了在CD8细胞上的CD69的活化作用，而图46B描绘了在CD4细胞上的CD69的活化作用。

[0088] 图47描绘了使用经蛋白酶处理的、未经蛋白酶处理的和蛋白酶不可切割的抗EpCAM x抗-CD3 ProTIA测量在纯化的CD3+细胞和OVCAR3细胞的共培养物中的CD8和CD4细胞上的CD69和CD25两者活化作用的实验结果，如实施例8所述。图47A描绘了CD8细胞上的CD69和CD25的活化作用，而图47B描绘了在CD4细胞上的CD69和CD25两者的活化作用。

[0089] 图48描绘了使用经蛋白酶处理的、未经蛋白酶处理的和蛋白酶不可切割的抗EpCAM x抗-CD3 ProTIA测量在PBMC和OVCAR3细胞的共培养物中的CD8和CD4细胞上的CD69活化作用的实验结果，如实施例8所述。图48A描绘了在CD8细胞上恶CD69的活化作用，而图48B描绘了在CD4细胞上的CD69的活化作用。

[0090] 图49描绘了使用经蛋白酶处理的、未经蛋白酶处理的和蛋白酶不可切割的抗EpCAM×抗-CD3 ProTIA测量在PBMC和OVCAR3细胞共培养物中的CD8和CD4细胞中CD69和颗粒酶B两者活化作用的实验结果，如实施例8所述。图49A描绘了在CD8细胞中的CD69和颗粒酶B的活化作用，而图49B描绘了在CD4细胞中的CD69和颗粒酶B两者的活化作用。

[0091] 图50描绘了使用经蛋白酶处理的、未经蛋白酶处理的和蛋白酶不可切割的抗EpCAM×抗CD3 ProTIA测量在纯化的CD3+细胞和SK-OV-3细胞共培养物中的细胞因子IL-2和IL-4释放的实验结果，如实施例15所述。图50A描绘了释放的IL-2的浓度，而图50B描绘了释放的IL-4的浓度。

[0092] 图51描绘了使用经蛋白酶处理的、未经蛋白酶处理的和蛋白酶不可切割的蛋白酶处理的抗EpCAM×抗CD3 ProTIA测量在纯化的CD3+细胞和SK-OV-3细胞共培养物中的细胞因子IL-6和IL-10释放的实验结果，如实施例15所述。图51A描绘了释放的IL-6的浓度，而图51B描绘了释放的IL-10的浓度。

[0093] 图52描绘了使用蛋白酶处理的、未经蛋白酶处理的和蛋白酶不可切割的抗EpCAM×抗CD3 ProTIA测量在纯化的CD3+细胞和SK-OV-3细胞共培养物中的细胞因子TNF-α和IFN-γ释放的实验结果，如实施例15所述。图52A描绘了释放的TNF-α的浓度，而图52B描绘了释放的IFN-γ的浓度。

[0094] 图53示出了蛋白酶处理的、未经蛋白酶处理的和不可裂解的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA对于CD3εδ配体的结合曲线，如实施例16所述。

[0095] 图54示出了蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA对rhEpCAM配体的结合特异性，如实施例17所述。

[0096] 图55描绘了测定抗EpCAM x抗CD3 ProTIA、经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA和不可裂解的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的抗肿瘤效果的实验的SW480肿瘤体积结果，如实施18所述。

[0097] 图56描绘了测定抗EpCAM x抗CD3 ProTIA、经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA和不可裂解的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的抗SW480肿瘤作用的实验的体重结果，如实

施例18所述。

[0098] 图57描绘了测定在人PBMC的SKOV3中经蛋白酶处理的、未经蛋白酶处理的和蛋白酶不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的体外活性的实验结果，如实施例23所述。

[0099] 图58描绘了使用人PBMC测定在OVCAR3中的经蛋白酶处理的、未经蛋白酶处理的和蛋白酶不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的体外活性的实验结果，如实施例23所述。

[0100] 图59描绘了使用人PBMC测定在HCT116中的经蛋白酶处理的、未经蛋白酶处理的和蛋白酶不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的体外活性的实验结果，如实施例23所述。

[0101] 图60描绘了使用人PBMC测定在SW480中的经蛋白酶处理的、未经蛋白酶处理的和蛋白酶不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的体外活性的实验结果，如实施例23所述。

具体实施方式

[0102] 在描述本发明实施方案之前，应当理解，这些实施方案仅作为例子提供，并且可以采用本文描述的本发明实施方案的各种替代方案来实施本发明。本领技术人员现在将可以在不背离本发明的情况下想到许多改变、变化和替代。

[0103] 除非另有定义，否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域普通技术人员所通常理解的相同的含义。尽管与本文描述的那些类似或等同的方法和材料可用于实施或测试本发明，但下面描述了合适的方法和材料。如有冲突，则以包括定义在内的本专利说明书为准。此外，材料、方法和实例仅是示例说明性的而并非旨在限制。本领技术人员现在会在不背离本发明的情况下想到许多改变、变化和替代。

定义

[0104] 除非另有规定，否则在本申请的上下文中，以下术语具有属于它们的含义。

[0105] 除了其中具体说明上限的情况之外，如整个说明书和权利要求书中所使用的术语“一个”、“一种”和“该”用于意指“至少一个”、“至少第一”、“一种或多种”或“多个”所提及的组分或步骤。因此，如本文所使用的“切割序列”意指“至少第一切割序列”，但包括多个切割序列。根据本公开内容，组合的可操作限制和参数，如任何单一试剂的量，对于本领域普通技术人员将是已知的。

[0106] 术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”在本文可互换使用，是指任何长度的氨基酸的聚合物。该聚合物可以是线性或支链的，其可以包含修饰的氨基酸，并且其间可以插入非-氨基酸。这些术语还包括例如通过二硫键形成、糖基化、酯化、乙酰化、磷酸化或任何其他操作(例如与标记组分缀合)而修饰的氨基酸聚合物。

[0107] 应用于多肽的术语“单体”指多肽的状态，其为基本上不与一个或多个额外的相同或不同序列的多肽缔合的单个连续氨基酸序列。多肽的单体状态可通过大小排阻色谱法确定为具有相同分子量的单一蛋白质实体。

[0108] 本文使用的术语“氨基酸”指天然和/或非天然或合成的氨基酸，包括但不限于D或L旋光异构体，以及氨基酸类似物和肽模拟物。可使用标准的单字母或三字母密码指定氨基酸。

[0109] 术语“天然L-氨基酸”或“L-氨基酸”表示以下氨基酸的L旋光异构体形式：甘氨酸(G)、脯氨酸(P)、丙氨酸(A)、缬氨酸(V)、亮氨酸(L)、异亮氨酸(I)、甲硫氨酸(M)、半胱氨酸(C)、苯丙氨酸(F)、酪氨酸(Y)、色氨酸(W)、组氨酸(H)、赖氨酸(K)、精氨酸(R)、谷氨酰胺

(Q)、天冬酰胺(N)、谷氨酸(E)、天冬氨酸(D)、丝氨酸(S)和苏氨酸(T)。

[0110] 应用于序列并在本文使用的术语“非天然存在的”指没有哺乳动物中发现的野生型或天然存在的序列的对应物、与哺乳动物中发现的野生型或天然存在的序列不互补、或与哺乳动物中发现的野生型或天然存在的序列不具有高度同源性的多肽或多核苷酸序列。例如,适当比对时,非天然存在的多肽或片段可以与天然序列共享不超过99%、98%、95%、90%、80%、70%、60%、50%或甚至更低的氨基酸序列同一性。

[0111] 术语“亲水性”和“疏水性”指物质具有的与水的亲和力程度。亲水性物质对水具有强亲和力,易于溶解于水、与水混合或被水润湿,而疏水性物质基本缺乏对水的亲和力,易于排斥水并不吸收水并且不易于溶解于水或与水混合或被水润湿。氨基酸可以根据其疏水性来表征。已经发展了许多量表。一个实例是由Levitt,M等,J Mol Biol (1976)104:59发展的量表,其在Hopp,TP等,Proc Natl Acad Sci USA(1981)78:3824中列出。“亲水性氨基酸”的实例是精氨酸、赖氨酸、苏氨酸、丙氨酸、天冬酰胺和谷氨酰胺。特别感兴趣的是亲水性氨基酸天冬氨酸、谷氨酸、以及丝氨酸和甘氨酸。“疏水性氨基酸”的实例是色氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸。

[0112] “片段”,当用于生物活性蛋白质(而不是抗体)时,是保留至少一部分治疗活性和/或生物活性的生物活性蛋白质的截短形式。“变体”,当用于生物活性蛋白质时,是与天然生物活性蛋白质具有序列同源性的蛋白质,保留了生物活性蛋白质的至少一部分治疗活性和/或生物活性。例如,变体蛋白质与参考生物活性蛋白质相比可以共享至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列同一性。本文使用的术语“生物活性蛋白质变体”包括例如通过定点诱变、编码基因合成、插入而有意修饰或通过突变而意外修饰并保留活性的蛋白质。

[0113] 术语“序列变体”意指与其天然或原始序列相比已经通过一个或多个氨基酸插入、删除或置换而修饰的多肽。插入可能位于蛋白质的一个末端或两个末端,和/或可能定位于氨基酸序列的内部区域之内。一个非限制性的实例是用不同的氨基酸置换XTEN中的氨基酸。在缺失变体中,本文所述的多肽中的一个或多个氨基酸残基被去除。因此,缺失变体包括所述的多肽序列的所有片段。在置换变体中,多肽的一个或多个氨基酸残基被去除而替换成其他残基。在一个方面,置换在本质上是保守的并且这种类型的保守置换在本领域中是公知的。

[0114] 术语“部分”意指较大组合物的组分或意欲并入较大组合物中的组分,如蛋白质部分,其作为连续或不连续的序列连接至较大的多肽上。较大组合物的部分可以赋予所期望的功能。例如,填充部分可赋予所得到的与该填充部分缔合的较大组合物增加分子量和/或半衰期的功能。

[0115] 术语“释放区段”或“RS”是指组合物中可被一种或多种蛋白酶识别并切割,从而实现从该组合物中释放一个或多个份或部分的切割序列。如本文所用,“哺乳动物蛋白酶”意指通常存在于哺乳动物的体液、细胞、组织,并且以更高的水平可见于某些靶组织或细胞中,例如,在哺乳动物的病变组织(例如,肿瘤)中。RS序列可工程化为在体外试验中被存在于或接近于受试者的靶组织或引入的多种哺乳动物蛋白酶所切割。可以使用其他能够识别限定的切割位点的等效蛋白酶(内源性的或外源性的)。特别考虑到,RS序列可以根据所使用的蛋白酶来调整和定制并且可以引入连接体氨基酸中以与相邻多肽连接。

[0116] 术语“以内”，当提及与第二多肽相连接的第一多肽时，包括分别将第一或第二多肽的N端连接至第二或第一多肽的C端的额外组分的连接或融合，还包括第一多肽向第二多肽的序列中的插入。例如，当RS组分在嵌合多肽组装体“之内”连接时，该RS可与有效负载多肽的N端或C端相连接，或者可在XTEN多肽的任何两个氨基酸之间插入。

[0117] 用于本文提供的组合物的形式的“活性”是指本领域对于该组合物的效应组分所公知的作用或效果，包括但不限于受体结合、拮抗剂活性、激动剂活性、细胞或生理反应、细胞裂解、细胞死亡或效果，无论是通过体外、离体或体内分析还是通过临床效果所测量的。

[0118] 本文使用的“效应细胞”包括能够赋予靶细胞作用的任意真核细胞。例如，效应细胞可以诱导靶细胞的膜完整性的丧失、固缩、核碎裂、凋亡、裂解和/或死亡。在另一个实例中，效应细胞可以诱导靶细胞的分裂、生长、分化或者另外改变靶细胞的信号转导。效应细胞的非限制性例子包括：浆细胞、T细胞、CD4细胞、CD8细胞、B细胞、细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK细胞)、主细胞、树突细胞、调节性T细胞(RegT细胞)、辅助T细胞、髓样细胞、巨噬细胞以及NK细胞。

[0119] “效应细胞抗原”指效应细胞表达的分子，包括但不限于细胞表面分子，诸如蛋白质、糖蛋白或脂蛋白。示例性的效应细胞抗原包括CD3复合物或T细胞受体(TCR)、CD4、CD8、CD25、CD38、CD69、CD45RO、CD57、CD95、CD107和CD154的蛋白质，以及效应分子，诸如与效应细胞相缔合的、相结合的细胞因子，在效应细胞内表达的细胞因子，或由效应细胞表达和释放的细胞因子。效应细胞抗原可用作主题嵌合多肽组装体的结合域的结合对应物。所述主题组合物可结合的效应细胞抗原的非限制性实例包括细胞表面上的抗原，诸如CD3、CD4、CD8、CD25、CD38、CD69、CD45RO、CD57、CD95、CD107和CD154以及选自IL2、IL10、IL12、IFNγ和TNFα的Th1细胞因子。

[0120] 如本文使用的术语“ELISA”是指如本文所述的或本领域已知的酶联免疫吸附试验。

[0121] “宿主细胞”包括可以是或已经是已引入外源核酸的主题载体如本文所述的那些主题载体的接受体的单个细胞或细胞培养物。宿主细胞包括单个宿主细胞的后代。由于天然、意外或有意的突变，后代不一定与原始亲代细胞完全相同(形态方面或者总DNA互补体的基因组方面)。宿主细胞包括用本发明的载体在体内转染的细胞。

[0122] 当用于描述本文公开的各种多肽时，“分离的”意指已经从其天然环境的组分或从更复杂的混合物(例如在蛋白质纯化期间)鉴定和分离和/或回收的多肽。其天然环境的掺杂组分是通常会干扰所述多肽的诊断或治疗用途的材料，并且可以包括酶、激素和其他蛋白质或非蛋白质溶质。对于本领域技术人员显而易见的是，非天然存在的多核苷酸、肽、多肽、蛋白质、抗体或其片段不需要“分离”以使之与其天然存在的对应物区别开来。此外，“浓缩的”、“分离的”或“稀释的”多核苷酸、肽、多肽、蛋白质、抗体或其片段可与其天然存在对应物相区别，因为浓度或每体积的分子数目一般大于其天然存在的对应物。一般而言，通过重组方式制备并在宿主细胞中表达的多肽被认为是“分离的”。

[0123] “分离的核酸”是从所述多肽编码核酸的天然来源中正常伴随的至少一种掺杂核酸分子中鉴定和分离出来的核酸分子。例如，分离的多肽编码核酸不同于其天然存在的形式或环境。因此，分离的多肽编码核酸分子与天然细胞中存在的特定多肽编码核酸分子有区别。然而，分离的多肽编码核酸分子包括正常表达所述多肽的细胞中含有的多肽编码核

酸分子，此时，例如，核酸分子处于不同于天然细胞核酸分子的染色体内或者染色体外位置。

[0124] “嵌合”蛋白或多肽含有至少一个融合多肽，其包含至少一个与天然存在的位置不同的序列位置的区域。所述区域可以正常存在于不同的蛋白质中并且在融合多肽中聚集在一起；或者它们可以正常存在于相同的蛋白质中但在融合多肽中处于新的排列。嵌合蛋白可以通过例如化学合成或者通过产生并翻译其中肽区域以期望的关系编码的多核苷酸来产生。

[0125] “融合的”和“融合”在本文中可互换使用，并且是指通过重组方式使两个或更多个肽或多肽序列连接在一起。“融合蛋白”或“嵌合蛋白”包含与第二氨基酸序列连接的第一氨基酸序列，其在本质上不是天然连接的。

[0126] “XTEN化的”用于表示已通过一个或多个XTEN多肽(下文描述)连接或融合至肽或多肽而被修饰的肽或多肽，无论是通过重组还是化学交联方式修改。

[0127] “可操作地连接的”表示被连接的DNA序列是连续的，并且在阅读相内或框内。“框内融合”指两个或更多个开放阅读框(ORF)以保持原始ORF正确阅读框的方式结合形成连续更长的ORF。例如，如果启动子或增强子影响多肽序列的转录，则该启动子或增强子与多肽的编码序列可操作地连接。因此，得到的重组融合蛋白是含有对应于由原始ORF编码的多肽的两个或更多个区段的单个蛋白质(所述区段在自然中通常不会如此连接)。

[0128] “交联”、“缀合”、“连接(link)”、“连接(linking)”和“连结”在本文中可互换使用，并且是指通过化学反应共价连接两个不同的分子。如本领域所知，交联可在一个或多个化学反应中发生。

[0129] 本文所使用的术语“缀合配偶体”是指可被连接或在缀合反应中连接的单独组分。

[0130] 术语“缀合物”(用作名词)意指由于缀合配偶体彼此共价连接而形成的异质分子，例如，与释放区段共价连接的结合域。

[0131] “交联体”和“交联剂”可互换使用，并且在其最广泛的语境中是指用于共价连接两个或更多个实体的化学实体。在本文中定义实体时，例如，交联体连接两个、三个、四个或更多个肽，或将肽连接至XTEN。本领域技术人员将会理解，交联体可指在反应物交联后剩余的共价结合的反应产物。交联体还可包含尚未反应但能够与另一实体反应的一种或多种反应物。

[0132] 在多肽的语境中，“线性序列”或“序列”是多肽中从氨基端至羧基端方向(N端至C端)的氨基酸顺序，序列中彼此邻接的残基在多肽一级结构中是连续的。“部分序列”是已知在一个或两个方向上包含额外残基的多肽的一部分的线性序列。

[0133] “异源的”意指衍生自与进行比较的实体其余部分基因型不同的实体。例如，从其天然编码序列中取出并可操作地连接至不同于天然序列的编码序列的富含甘氨酸序列是异源的富含甘氨酸序列。术语“异源的”当应用于多核苷酸、多肽时是指所述多核苷酸、多肽衍生自与进行比较的实体其余部分基因型不同的实体。

[0134] 术语“多核苷酸”、“核酸”、“核苷酸”和“寡核苷酸”可互换使用。它们指任何长度的核苷酸，包括单数的核酸以及复数的核酸，所述核苷酸是脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸或其类似物。多核苷酸可以具有任何三维结构，并且可以发挥已知或未知的任何功能。以下是多核苷酸的非限制性实例：基因或基因片段的编码区或非编码区、通过连锁分析确定的基

因座(多个基因座)、外显子、内含子、信使RNA(mRNA)、转运RNA、核糖体RNA、核酶、cDNA、重组多核苷酸、分支多核苷酸、质粒、载体、任何序列的分离的DNA、任何序列的分离的RNA、核酸探针和引物。多核苷酸可以包括修饰的核苷酸,例如甲基化的核苷酸和核苷酸类似物。如果存在,对核苷酸结构的修饰可以在聚合物组装之前或之后进行。核苷酸序列中可以插入非核苷酸组分。多核苷酸可以在聚合之后进一步修饰,例如通过与标记组分缀合。

[0135] 术语“多核苷酸的互补体”表示与参考序列相比具有互补碱基序列和反方向的多核苷酸分子,使得互补体可以与参考序列杂交,而具有完全保真性。

[0136] “重组的”当应用于多核苷酸时意指该多核苷酸是重组步骤的各种组合的产物,所述重组步骤可包括克隆、限制性消化和/或连接步骤以及导致重组蛋白在宿主细胞中表达的其他程序。

[0137] 术语“基因”和“基因片段”在本文中可互换使用。它们指含有能够在被转录和翻译之后编码特定蛋白质的至少一个开放阅读框的多核苷酸。基因或基因片段可以是基因组或cDNA,只要该多核苷酸含有至少一个开放阅读框,该开放阅读框可以涵盖整体编码区或其区段。“融合基因”是由至少两个连接在一起的异源多核苷酸构成的基因。

[0138] 如本文所使用的,“编码区”或“编码序列”是由可翻译成氨基酸的密码子组成的多核苷酸的一部分。尽管“终止密码子”(TAG、TGA或TAA)通常不被翻译成氨基酸,但它可被视为编码区的一部分,但是任何侧翼序列,例如启动子、核糖体结合位点、转录终止子、内含子等,不是编码区的一部分。编码区的边界通常由编码所得多肽的氨基末端的5’末端起始密码子和编码所得多肽的羧基末端的3’末端翻译终止密码子所确定。本发明的两个或更多个编码区可存在于单个多核苷酸构建体中,例如在单个载体上,或存在于分开的多核苷酸构建体中,例如在分开的(不同的)载体上。随后,单个载体可以仅包含单个编码区,或者包含两个或更多个编码区,例如单个载体可分别编码如下所述的结合域A和结合域B。此外,本发明的载体、多核苷酸或核酸可编码与编码本发明的结合域的核酸融合或未融合的异源编码区。异源编码区包括但不限于特定的元件或基序,如分泌信号肽或异源功能结构域。

[0139] 术语“下游”是指位于参考核苷酸序列3’的核苷酸序列。在某些实施方案中,下游核苷酸序列涉及跟随转录起始点的序列。例如,基因的翻译起始密码子位于转录起始位点的下游。

[0140] 术语“上游”是指位于参考核苷酸序列5’的核苷酸序列。在某些实施方案中,上游核苷酸序列涉及位于编码区或转录起始点5’侧的序列。例如,大多数启动子位于转录起始位点的上游。

[0141] “同源性”或“同源的”指两个或更多个多核苷酸序列之间的或两个或更多个多肽序列之间的序列相似性或可互换性。当使用例如BestFit等程序来确定两个不同氨基酸序列之间的序列同一性、相似性或同源性时,可以使用缺省设置,或者可以选择适当的评分矩阵例如blosum45或blosum80来优化同一性、相似性或同源性评分。优选地,同源的多核苷酸是在本文定义的严格条件下杂交的那些序列,并且与那些序列相比具有至少70%、优选至少80%、更优选至少90%、更优选95%、更优选97%、更优选98%和甚至更优选99%的序列同一性。同源的多肽当在可比长度的序列上最佳地比对时,优选具有至少70%、优选至少80%、甚至更优选至少90%、甚至更优选至少95-99%相同的序列同一性。

[0142] 应用于多核酸的“连接”指在两个核酸片段或基因之间形成磷酸二酯键而使它们

连接在一起的过程。为了使DNA片段或基因连接在一起,DNA末端必须彼此相容。在一些情况下,末端在核酸内切酶消化之后即是相容的。然而,可能必须首先将通常由核酸内切酶消化后产生的交错末端转化成平末端以使它们适合连接。

[0143] 术语“严格的条件”或“严格的杂交条件”包括提及多核苷酸将以比其他序列可检测地更大程度(例如,超过背景至少2倍)与其靶序列杂交的条件。一般而言,杂交的严格性部分地以进行洗涤步骤的温度和盐浓度来表示。通常,严格条件是如下条件:其中pH 7.0至8.3下的盐浓度小于约1.5M Na离子、通常约0.01至1.0M Na离子浓度(或其他盐),并且温度对于短的多核苷酸(例如,10至50个核苷酸)是至少约30℃并且对于长的多核苷酸(例如,大于50个核苷酸)是至少约60℃—例如,“严格的条件”可以包括在37℃下50%甲酰胺、1M NaCl、1%SDS中杂交,以及在0.1×SSC/1%SDS中于60℃下至65℃下三次洗涤,每次15分钟。或者,可以使用约65℃、60℃、55℃或42℃的温度。SSC浓度可以从约0.1至2×SSC不等,其中SDS以约0.1%存在。这种洗涤温度通常被选择为比确定离子强度和pH下特定序列的热力学熔点低约5℃至20℃。Tm是50%的靶序列与完美匹配的探针杂交时的温度(在确定的离子强度和pH下)。计算Tm的方程和核酸杂交条件是熟知的并且可以参见Sambrook,J.Molecular Cloning:ALaboratory Manual,第3版,Cold Spring Harbor Laboratory Press,2001。通常,使用阻断试剂来阻断非特异性杂交。这种阻断试剂包括例如约100-200μg/ml的经剪切和变性的鲑精DNA。在特定情况下,例如对于RNA:DNA杂交,还可以使用有机溶剂,例如浓度约35-50%v/v的甲酰胺。对这些洗涤条件的有用改变对于本领域普通技术人员而言是显而易见的。

[0144] 术语“百分同一性”、“序列同一性百分比”和“%同一性”在应用于多核苷酸序列时是指使用标准化算法比对的至少两个多核苷酸序列之间的残基匹配百分比。这样的算法可以以标准化且可重复的方式在被比较的序列中插入空位以优化两个序列之间的比对,并因此实现两个序列的更有意义的比较。可以在整个确定的多核苷酸序列的长度上测量百分同一性,或者可以在较短长度上,例如在获自较大的确定的多核苷酸序列的片段长度上测量百分同一性,所述片段例如是至少45、至少60、至少90、至少120、至少150、至少210或至少450个连续残基的片段。这些长度仅是示例性的,并且应当理解,本文在表格、附图或序列表中示出的序列所支持的任何片段长度可以用来描述可测量百分同一性的长度。序列同一性百分比如下计算:在比较窗口内比较两个最佳比对的序列,确定匹配位置的数目(此处在两个多肽序列中均出现相同残基),将匹配位置的数目除以比较窗口内的位置总数(即窗口大小),并将结果乘以100以得到序列同一性的百分比。当比较不同长度的序列时,最短的序列限定了比较窗口的长度。在计算序列同一性时,不考虑保守置换。

[0145] 有关本文鉴定的多肽序列的“百分(%)序列同一性”被定义为:在比对序列并在必要时引入空位以实现最大百分序列同一性并且不将任何保守置换视为序列同一性的一部分从而导致最佳比对后,询问序列中与第二个可比长度的参考多肽序列或其部分的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比。旨在测定百分比氨基酸序列同一性的比对可以本领域技术中的各种方式实现,例如使用公开可获得的计算机软件,例如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign(DNASTAR)软件。本领域技术人员可以确定用于测量比对的适当参数,包括对被比较的序列的全长实现最佳比对所需的任何算法。可以对整体确定的多肽序列长度测量百分同一性,或者可以对较短长度例如对获自较大的确定的多肽序列的片段长度测量百分同一

性，所述片段例如是至少15、至少20、至少30、至少40、至少50、至少70或至少150个连续残基的片段。这些长度仅是示例性的，并且应当理解，本文在表格、附图或序列表中显示的序列所支持的任何片段长度可以用来描述可测量百分同一性的长度。

[0146] 在多核苷酸序列的上下文中使用的“重复性”是指序列中的内部同源性程度，例如给定长度的相同核苷酸序列的频率。例如，重复性可以通过分析相同序列的频率来测定。

[0147] 本文所使用的术语“表达”是指多核苷酸产生基因产物，例如RNA或多肽的过程。其包括但不限于将多核苷酸转录成信使RNA(mRNA)、转移RNA(tRNA)、小发夹RNA(shRNA)、小干扰RNA(siRNA)或任何其他RNA产物，以及将mRNA翻译成多肽。表达产生“基因产物”。如本文所使用的，基因产物可以是核酸，例如通过基因转录产生的信使RNA或从转录物翻译的多肽。本文所述的基因产物进一步包括具有转录后修饰，例如多腺苷化或剪接的核酸，或具有翻译后修饰，例如甲基化、糖基化、脂质添加、与其他蛋白质亚单位相关联或蛋白水解切割的多肽。

[0148] “载体”或“表达载体”可互换使用并且是指优选在适当宿主中自我复制的核酸分子，其将插入的核酸分子转移到宿主细胞中和/或宿主细胞之间。该术语包括主要功能是将DNA或RNA插入细胞的载体，主要功能是复制DNA或RNA的复制载体，以及功能是转录和/或翻译DNA或RNA的表达载体。还包括提供超过一种上述功能的载体。“表达载体”是被引入适当宿主细胞时可以被转录并翻译成多肽的多核苷酸。“表达系统”通常表示包含可以用于产生期望的表达产物的表达载体的适合的宿主细胞。

[0149] “血清降解抗性”在应用于多肽时是指多肽在血液或其组分中抵抗降解的能力，该降解通常与血清或血浆中的蛋白酶有关。血清降解抗性可以通过使蛋白质与人(或视情况为小鼠、大鼠、狗、猴)血清或血浆通常在约37℃混合通常一定天数(例如0.25、0.5、1、2、4、8、16天)来测量。可对这些时间点的样品进行Western印迹分析，并使用抗体检测蛋白质。抗体可以针对蛋白质中的标签。如果蛋白质在western印迹上显示单条带，其中蛋白质大小与注射的蛋白质大小相同，则没有发生降解。在该示例性方法中，通过Western印迹法或等效技术判断，50％的蛋白质被降解的时间点是蛋白质的血清降解半衰期或“血清半衰期”。

[0150] 术语“$t_{1/2}$”、“半衰期”、“终末半衰期”、“消除半衰期”和“循环半衰期”在本文中可互换使用，并且在本文中使用时意指的计算为ln(2)/K_{el}终末半衰期。K_{el}是通过log浓度对时间曲线的终末线性部分的线性回归而计算的终末消除速率常数。半衰期通常指活生物体中储存的施用物质的半数被正常生物过程代谢或消除所需的时间。当给定多肽的清除曲线被构建为时间的函数时，该曲线通常是双相的，具有快速的α相和更长的β相。人抗体在人类中典型的β相半衰期为21天。半衰期可以使用来自任意体液的定时样品进行测量，但是最后通常在血浆样品中进行测量。

[0151] 术语“分子量”一般是指分子中组成原子的原子量的总和。分子量可以通过将分子中组成原子的原子质量相加而从理论上确定。当在多肽的上下文中应用时，分子量的计算是通过基于氨基酸组成将组合物中每种类型氨基酸的分子量相加或通过在SDS电泳凝胶中与分子量标准进行比较来估算。计算出的分子的分子量可以不同于分子的“表观分子量”，后者通常是指通过一种或多种分析技术确定的分子的分子量。“表观分子量因子”和“表观分子量”是相关术语，并且当在多肽的上下文中应用时，该术语是指特定氨基酸或多肽序列表现出的表观分子量的相对增加或降低的量度。例如，表观分子量可使用大小排阻色谱法

(SEC)或类似方法通过与球状蛋白质标准品相比较来确定，如以“表观kD”单位来度量的。表观分子量因子是表观分子量与“分子量”之间的比例；后者通过如上所述基于氨基酸组成而相加来计算，或通过在SDS电泳凝胶中与分子量标准品比较而进行估算来计算。美国专利号8,673,860中描述了表观分子量和表观分子量因子的确定。

[0152] 术语“流体动力学半径”或“Stokes半径”是分子在溶液中的有效半径(Rh，以nm为单位)，通过假设它是穿过溶液并受溶液粘性抵抗的主体来测量。在本发明的实施方案中，XTEN多肽的流体动力学半径测量与“表观分子量因子”相关联，表观分子量因子是更直观的量度。蛋白质的“流体动力学半径”影响其在水溶液中的扩散速率以及其在大分子凝胶中迁移的能力。蛋白质的流体动力学半径由其分子量以及其结构(包括形状和致密度)决定。测定流体动力学半径的方法是本领域熟知的，例如通过使用大小排阻色谱法(SEC)，如美国专利号6,406,632和7,294,513所述。大多数蛋白质具有球形结构，这是蛋白质在最小流体动力学半径下可以具有的最致密的三维结构。一些蛋白质具有随机和开放的非结构化或‘线性’构象，因此与类似分子量的典型球形蛋白质相比具有大得多的流体动力学半径。

[0153] “扩散系数”意指每单位平面外浓度梯度，通过表面的摩尔通量的量级。在稀物质的运输中，由扩散引起的通量由菲克第一定律得到，其仅取决于溶质与溶剂的相互作用的单一性质：扩散系数。

[0154] “生理条件”指活宿主中的一组条件以及模拟活受试者的那些条件的体外条件，包括温度、盐浓度、pH。已经确立了用于体外分析的许多生理相关条件。一般而言，生理缓冲液包含生理浓度的盐并且被调节至中性pH，范围从约6.5至约7.8，优选约7.0至约7.5。许多生理缓冲液在Sambrook等(2001)中列出。生理相关温度为约25℃至约38℃，优选约35℃至约37℃。

[0155] 本文使用的术语“结合域”具体意在包括对靶抗原或配体如细胞表面受体或抗原或糖蛋白、寡核苷酸、酶底物、抗原决定簇或可能存在于靶组织或细胞表面之中或之上的结合位点具有特异性结合亲和力的抗体或抗体片段类别。

[0156] 术语“抗体”在本文中以最广泛的含义使用，并且包含各种抗体结构，包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体、多特异性抗体(例如双特异性抗体)以及抗体片段，只要它们表现出期望的抗原结合活性即可。全长抗体可能是例如单克隆、重组、嵌合、免疫去除、人源化和人抗体。

[0157] 本文使用的术语“单克隆抗体”是指从基本上同质的抗体群体获得的抗体，即组成该群体的各个抗体是相同的和/或结合相同的表位，除了可能的变异抗体，例如含有天然存在的突变或在单克隆抗体制剂生产过程中发生，这类变体通常以少量存在。与通常包括针对不同决定簇(表位)的不同抗体的多克隆抗体制剂相反，单克隆抗体制剂的每种单克隆抗体针对抗原上的单个决定簇。因此，修饰语“单克隆”表示抗体的性质是从基本上同质的抗体群体获得的，并且不应理解为需要通过任意特定方法产生抗体。例如，根据本发明所使用的单克隆抗体可以通过多种技术来制备，包括但不限于杂交瘤方法、重组DNA方法、噬菌体展示方法以及利用含有全部或部分人免疫球蛋白基因座的转基因动物的方法，用于制备单克隆抗体的此类方法和其他示例性方法在本领域中已知或在本文描述。

[0158] “抗体片段”是指完整抗体以外的分子，其包含完整抗体的一部分并且结合完整抗体所结合的抗原。抗体片段的实例包括但不限于：Fv、Fab、Fab′、Fab′-SH、F(ab′)2、双抗体、

线性抗体、单结构域抗体、单结构域骆驼抗体、单链抗体分子(scFv),以及由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0159] "scFv"或"单链可变片段"在本文中可互换使用,是指包含重链可变区("VH")和轻链可变区("VL")或者VH或VL链的两个拷贝的抗体片段形式,它们通过短柔性肽连接体连接在一起。scFv实际上不是抗体的片段,而是免疫球蛋白的重链可变区(VH)和轻链可变区(VL)的融合蛋白,并且可以在大肠杆菌中以功能形式容易地表达。

[0160] 术语"抗原"、"靶抗原"和"免疫原"在本文中可互换使用,是指抗体、抗体片段或基于抗体片段的分子与之结合或对之具有特异性的结构或结合决定簇。

[0161] 术语"表位"是指抗体、抗体片段或结合域所结合的抗原分子上的特定位点。表位是抗体或抗体片段的配体。

[0162] 本文所用的"CD3"或"分化群3"是指T细胞表面抗原CD3复合物,其以单独形式或独立组合形式包含所有已知的CD3亚单位,例如CD3ε、CD3δ、CD3γ、CD3ζ、CD3α和CD3β。CD3ε、γ和δ的细胞外结构域含有免疫球蛋白样结构域,因此被认为是免疫球蛋白超家族的一部分。

[0163] 术语"特异性结合"或"特异地结合"或"结合特异性"在本文中可互换使用,是指结合域对其相应靶标的高度结合亲和力。通常,通过本文公开的一种或多种试验测量的特异性结合将具有小于约10^{-6}M的解离常数或K_d。

[0164] "亲和力"指分子(例如抗体)的单个结合位点与其结合配偶体(例如抗原)之间的非共价相互作用的总和的强度。除非另有说明,本文所用的"结合亲和力"是指反映结合对的成员(例如抗体和抗原)之间1:1相互作用的内在结合亲和力。分子X对其配偶体Y的亲和力通常可以由解离常数(K_d)来表示。本文所用的"较大的结合亲和力"是指较低的K_d值;例如,$1x\ 10^{-9}$M比$1x\ 10^{-8}$M有更大的结合亲和力。

[0165] "抑制常数"或"Ki"可互换使用,其是指酶-抑制剂复合物的解离常数或抑制剂对酶的结合亲和力的倒数。

[0166] "解离常数"或"K_d"可互换使用,其是指配体"L"和蛋白质"P"之间的亲和力;即配体与特定蛋白质的结合如何紧密。可以使用公式K_d=[L][P]/[LP]进行计算,其中[P]、[L]和[LP]分别代表蛋白质、配体和复合物的摩尔浓度。本文使用的术语"k_{on}"意指如本领域已知将抗体与抗原缔合以形成抗体/抗原复合物的结合速率常数。本文使用的术语"k_{off}"旨在表示如本领域已知从抗体/抗原复合物解离抗体的解离速率常数。

[0167] 本文使用的术语"拮抗剂"包括部分或完全阻断、抑制或中和本文公开的天然多肽的生物活性的任何分子。用于鉴定多肽拮抗剂的方法可以包括使天然多肽与候选拮抗剂分子接触并测量通常与天然多肽相关的一种或多种生物活性的可检测的变化。在本发明上下文中,拮抗剂可以包括蛋白质、核酸、碳水化合物、抗体或降低生物活性蛋白质效应的任何其他分子。

[0168] "靶细胞标志物"是指由靶细胞表达的分子,包括但不限于细胞表面受体、抗原、糖蛋白、寡核苷酸、酶底物、抗原决定簇或可存在于可以充当抗体的配体的靶组织或靶细胞表面之中或之上的结合位点。

[0169] "靶组织"是指作为疾病病况,诸如但不限于癌症或炎症病况的原因或是疾病病况的一部分的组织。病变靶组织的来源包括身体器官、肿瘤、癌细胞,或癌细胞群体或形成基质的或与癌细胞群体相关的细胞群体,骨骼、皮肤、产生细胞因子或导致疾病病况的因子的

细胞。

[0170] “确定成分培养基”是指包含细胞在培养物中存活和/或生长所必需的营养和激素需求，使得培养基的组分是已知的培养基。传统上，已通过添加生长和/或生存所必需的营养和生长因子来制备确定成分培养基。通常，确定成分培养基提供至少一种来自一个或多个以下类别的组分：a)所有必需氨基酸，通常是二十种氨基酸加半胱氨酸的基本组合；b)通常为碳水化合物如葡萄糖形式的能量来源；c)低浓度需要的维生素和/或其他有机化合物；d)游离脂肪酸；和e)微量元素，其中微量元素被定义为通常以极低浓度、通常在微摩尔范围内需要的无机化合物或天然存在的元素。确定成分培养基还可任选地补充有来自以下类别中的任何一种的一种或多种组分：a)一种或多种有丝分裂剂；b)盐和缓冲液，例如钙、镁和磷酸盐；c)核苷和碱基，诸如例如腺苷和胸苷、次黄嘌呤；和d)蛋白质和组织水解产物。

[0171] 术语“激动剂”以最广泛的含义使用并且包括模拟本文公开的天然多肽的生物活性的任何分子。适合的激动剂分子具体包括激动剂抗体或抗体片段、天然多肽的片段或氨基酸序列变体、肽、小有机分子等。用于鉴定天然多肽的激动剂的方法可以包括使天然多肽与候选激动剂分子接触并测量通常与天然多肽相关的一种或多种生物活性的可检测的变化。

[0172] 本文所用的“治疗”或“处理”或“减轻”或“改善”在本文中可互换使用。这些术语是指用于获得有益的或期望的结果的方法，这些结果包括但不限于治疗益处和/或预防益处。治疗益处是指根除或改善所治疗的潜在病症。另外，治疗益处可以如下实现：根除或改善一种或多种生理症状或改善与潜在病症相关的一个或多个临床参数，使得在受试者中观察到改善，尽管该受试者可能仍然患有潜在的疾病。关于预防益处，可以将组合物施用于处于发展特定疾病的风险中的受试者或报告有一种或多种疾病的生理症状的受试者，即使可能尚未诊断出该疾病。

[0173] 本文使用的“治疗效果”或“治疗益处”指生理效应，包括但不限于人或其他动物中疾病的缓和、缓解或预防或与潜在病症相关的一个或多个临床参数的改善，或者指除此以外增强人或动物的生理或精神状态，这是由施用本发明多肽而非诱导生成针对生物活性蛋白质具有的抗原表位的抗体的能力引起的。对于预防益处，组合物可以被施用给处于发展特定疾病、以前疾病的复发、病况或疾病症状风险的受试者或者报告了疾病的一种或多种生理症状的受试者，尽管可能还未作出该疾病的诊断。

[0174] 本文使用的术语“治疗有效量”和“治疗有效剂量”指单独或作为多肽组合物的一部分的药物或生物活性蛋白质的量，当以一次或重复剂量施用给受试者时，能够对疾病状态或病症的任何症状、方面、测量参数或特征具有任何可检测的有益影响。这种影响不一定绝对是有益的。治疗有效量的确定在熟练技术人员的能力之内，特别是根据本文提供的详细公开内容。

[0175] 本文使用的术语“治疗有效且无毒的剂量”是指如本文所定义的组合物的可耐受剂量，其在受试者中足够高，以引起肿瘤或癌细胞耗尽、肿瘤消除、肿瘤缩小或病情稳定，而没有或基本没有主要的毒性效应。这类治疗有效且无毒的剂量可以通过本领域中所述剂量递增研究来确定，并且应当低于能诱导严重不利副作用的剂量。

[0176] 本文使用的术语“剂量方案”指连续施用多个剂量(即，至少2个或更多个)组合物的方案，其中所述剂量以治疗有效量给予，以对疾病状态或病症的任何症状、方面、测量参

数、终点或特征产生持续有益的影响。

[0177] 术语“癌症”和“癌的”是指或描述哺乳动物中通常以不受调节的细胞生长/增殖为特征的生理状况。癌症的实例包括但不限于：癌、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、B细胞淋巴瘤、T细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、母细胞瘤、乳腺癌、结肠癌、前列腺癌、头颈癌、任意形式的皮肤癌、黑素瘤、泌尿生殖道癌、卵巢癌、具有恶性腹水的卵巢癌、腹膜癌扩散，子宫浆液性癌、子宫内膜癌、宫颈癌、结直肠癌、具有恶性腹水的上皮腹膜内恶性肿瘤、子宫癌、腹膜中的间皮瘤、肾癌、肺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、胃部癌、食道癌、胃癌、小肠癌、肝癌、肝细胞癌、肝母细胞瘤、脂肪肉瘤、胰腺癌、胆囊癌、胆管癌、唾液腺癌、甲状腺癌、上皮癌、腺癌、任意来源的肉瘤、包括急性或慢性淋巴细胞性白血病、急性或慢性骨髓性白血病、骨髓增生性肿瘤疾病或骨髓增生异常疾病在内的原发性血液恶性肿瘤、重症肌无力、格雷夫斯病、桥本甲状腺炎或Goodpasture综合征。

[0178] 本文使用的“肿瘤特异性标志物”是指在癌细胞上或癌细胞中发现的抗原，该抗原可在癌细胞内或癌细胞上比在正常细胞或组织中以更高的数目被发现，但不是必然的。

[0179] “靶细胞”指具有主题组合物的抗体或抗体片段的配体并与疾病或病理状态相关或引起疾病或病理状态的细胞，包括癌细胞、肿瘤细胞和炎症细胞。靶细胞的配体在本文中被称为“靶细胞标志物”或“靶细胞抗原”，并且包括但不限于：细胞表面受体或抗原、细胞因子、MHC蛋白质以及外源呈现的胞质蛋白质或肽。如本文所使用的“靶细胞”将不包括效应细胞。

I)通用技术

[0180] 除非另有说明，在本发明的实践中采用免疫学、生物化学、化学、分子生物学、微生物学、细胞生物学、基因组学和重组DNA的常规技术，这些在本领域的技术范围内。参见J.等，“Molecular Cloning:A Laboratory Manual”，第3版，Cold Spring Harbor Laboratory Press,2001；“Current protocols in molecular biology”，F.M.Ausubel等编，1987；“Methods in Enzymology”系列，Academic Press,San Diego,CA.；“PCR 2:a practical approach”，M.J.MacPherson,B.D.Hames和G.R.Taylor编，Oxford University Press,1995；“Antibodies,a laboratory manual”Harlow,E.和Lane,D.编，Cold Spring Harbor Laboratory,1988；“Goodman&Gilman’s The Pharmacological Basis of Therapeutics”，第11版，McGraw-Hill,2005；和Freshney,R.I.，“Culture of Animal Cells:A Manual of Basic Technique”，第4版，John Wiley&Sons,Somerset,NJ,2000，这些内容均通过引用整体并入本文。

[0181] 宿主细胞可在各种培养基中进行培养。可商业购得的培养基如Ham’s F10(Sigma)、基本必需培养基(MEM,Sigma)、RPMI-1640(Sigma)和Dulbecco改良Eagle培养基(DMEM,Sigma)适用于培养真核细胞。此外，动物细胞可在缺乏血清，但补充有激素、生长因子或特定细胞类型的存活和/或生长所必需的任何其他因子的确定成分培养基中生长。支持细胞存活的确定成分培养基维持活力、形态、代谢能力和潜在的细胞分化能力，而促进细胞生长的确定成分培养基提供细胞增殖或增生所需的所有化学物质。控制哺乳动物细胞存活和体外生长的一般参数在本领域中是确立的。可在不同的细胞培养系统中被控制的物理化学参数是，例如pH、pO_2、温度和摩尔渗透压浓度。通常在被开发用来提供最佳环境的标准培养基制剂中提供细胞的营养需求。营养物可分为几类：氨基酸及其衍生物、碳水化合物、

糖、脂肪酸、复合脂质、核酸衍生物和维生素。除了维持细胞代谢的营养物之外，大多数细胞还需要来自下组中至少一种的一种或多种激素：类固醇、前列腺素、生长因子、垂体激素和肽激素，以在无血清培养基中增殖(Sato,G.H.等人，“Growth of Cells in Hormonally Defined Media”,Cold Spring Harbor Press,N.Y.,1982)。除了激素之外，细胞可能需要转运蛋白，如转铁蛋白(血浆铁转运蛋白)、血浆铜蓝蛋白(铜转运蛋白)和高密度脂蛋白(脂质载体)，用于体外存活和生长。最佳激素或转运蛋白的组合将因各种细胞类型而异。这些激素或转运蛋白的大多数已外源添加，或者在极少数情况下，已经发现不需要特定因子的突变细胞系。本领域技术人员将会在无需过多实验的情况下知道维持细胞培养所需的其他因子。

[0182] 用于原核宿主细胞生长的生长培养基包括营养液体培养基(液体营养培养基)或LB培养基(Luria Bertani)。合适的培养基包括确定成分培养基和未确定成分培养基。通常，培养基含有细菌生长所需的碳源如葡萄糖、水和盐。培养基还可包含氨基酸源和氮源，例如牛肉或酵母提取物(未确定成分培养基中)或已知量的氨基酸(确定成分培养基中)。在一些实施方案中，生长培养基是LB液体培养基，例如LB Miller液体培养基或LB Lennox液体培养基。LB液体培养基包含蛋白胨(酪蛋白的酶消化产物)、酵母提取物和氯化钠。在一些实施方案中，使用包含抗生素的选择性培养基。在这种培养基中，只有拥有抗生素抗性的期望细胞才会生长。

II)嵌合多肽组装体组合物

[0183] 本发明部分涉及可用于治疗、改善或预防包括但不限于癌症、自身免疫或炎性疾病的疾病的嵌合多肽组装体组合物(也称为“ProTIA”)。

[0184] 第一方面，本发明提供了嵌合多肽组装体，其通常包含第一部分、第二部分和第三部分，其中：所述第一部分包含(i)对靶细胞标志物具有结合特异性的第一结合域；以及(ii)对效应细胞抗原具有结合特异性的第二结合域；所述第二部分包含能够被一种或多种哺乳动物蛋白酶切割的肽基释放区段(RS)；并且所述第三部分包含填充部分；其中所述填充部分能够通过所述哺乳动物蛋白酶对所述第二部分的作用从所述第一部分释放。不受理论束缚，本公开的示例性多肽组装体显示出以下特征中的一个或多个：1)该组装体包含能够同时结合效应细胞和靶细胞的至少两个结合域；2)该组装体包含的填充部分i)在组合物完整时通过例如空间位阻来屏蔽结合域并降低对靶抗原的结合亲和力，ii)当施用于受试者时提供增加的组合物半衰期，和/或iii)与病变组织(例如肿瘤)相比，降低组合物从正常组织和器官中血管的渗出，与目前在临床试验中使用或评价的双特异性细胞毒性抗体治疗剂相比，导致增加的安全性；以及3)当该组装体在病变组织如肿瘤或炎症组织附近时能够被一种或多种哺乳动物蛋白酶切割，从而释放第一部分的结合域，使得相比于结合域未从所述组装体切割的状态，该结合域可以以更高的亲和力结合靶细胞标志物和效应细胞抗原。由于治疗部分(例如，能够将靶细胞和效应细胞桥连在一起的第一部分)在病变组织的部位被释放，本发明组装体可以有利地用作“前药”，在该病变组织中，相比于正常组织，蛋白酶优先表达。本主题组装体解决了包括BiTE®在内的现有双特异性抗体的几个严重的缺点。所述主题组装体通常保留了双特异性抗体如BiTE®对肿瘤收缩产生的已知治疗益处，同时缓解了常规双特异性抗体固有的副作用。在一个实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其中第一部分包含单链形式的两个结合域，其中第一结合域具有对肿瘤

特异性标志物或靶细胞的抗原的结合特异性，并且第二结合域具有对效应细胞抗原的结合特异性，诸如效应细胞上的受体或效应细胞内的配体，使得所述组合物是双特异性的。

[0185] 在一些实施方案中，所述主题组合物的设计使得蛋白酶的作用切割主题组合物的释放区段(RS)，从而从该组合物中释放结合域和填充部分。从所述组合物释放后，对肿瘤特异性标志物或靶细胞的抗原具有结合特异性的第一结合域以及对效应细胞抗原具有结合特异性的第二结合域能够以比完整组合物更大的结合亲和力同时结合靶细胞，并将效应细胞连接至靶细胞，形成免疫突触，其结果是在非常低的效应物与靶标(E:T)的比率下，靶细胞被效应细胞释放到细胞之间的免疫突触中的效应分子作用，所造成的损害包括但不限于：穿孔蛋白介导的裂解、颗粒酶B诱导的靶细胞的细胞死亡和/或细胞凋亡。在一些实施方案中，本发明组合物释放的第一部分被设计为具有结合特异性，使得其能够同时结合受试者中的效应细胞细胞毒性T淋巴细胞和肿瘤细胞上预选的表面抗原，从而实现免疫突触以及释放的细胞因子和效应分子针对目标肿瘤的选择性的、定向的和局部的效果，其结果是肿瘤细胞被损伤或破坏，产生对受试者的抗肿瘤活性和治疗益处。在其他一些实施方案中，被释放的第一部分结合的效应细胞是选自以下的细胞：浆细胞、B细胞、细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK细胞)、肥大细胞、树突细胞、调节性T细胞(RegT细胞)、辅助T细胞、髓样细胞以及NK细胞。

[0186] 另一方面，本发明提供了包含第一部分、第二部分、第三部分、第四部分和第五部分的嵌合多肽组装体组合物，其中所述第一部分包含第一和第二结合域(以下更详细描述)，第二部分包含释放区段(RS)，第三部分包含填充部分(以下更详细描述)，第四部分包含可以与第二部分RS相同或可以不同的释放区段(RS)，且第五部分包含可与第三部分填充部分相同或不同的填充部分；该组合物基本上处于前药形式直到受到蛋白酶作用。

[0187] 所述组合物满足了长期以来提供双特异性治疗剂的需要，该双特异性治疗剂具有更高的选择性、更长的半衰期，并且一旦被与疾病所引致的不健康的靶组织或组织相关联的蛋白酶所切割，则其毒性更小且副作用更小，从而所述主题组合物相比于本领域已知的双特异性抗体组合物具有改善的治疗指数。这样的组合物可用于治疗某些疾病，包括但不限于癌症。

1.结合域

[0188] 本发明的目的是提供嵌合多肽组装体组合物，其包含第一部分，所述第一部分至少包含对靶细胞标志物(例如肿瘤特异性标志物)具有结合特异性的第一结合域以及对效应细胞抗原具有结合特异性的第二结合域。在一些实施方案中，所述结合域作为显示双特异性结合特异性的单链连接至靶细胞标志物和效应细胞抗原。

[0189] 另一方面，本发明的目的是提供被设计为具有构型的可切割的嵌合多肽组装体组合物，其中第一部分结合域通过包含切割序列的短肽释放区段连接至填充部分。在这个示例性构型中，所述结合域被近端填充部分组分屏蔽以减少或消除非特异性相互作用，并且与并非该组合物的预期靶标的非病变组织或细胞结合，从而减少不希望的毒性或副作用。此外，当释放区段被优先在病变组织中表达的蛋白酶(以下更详细描述)切割时，屏蔽的填充部分在靶位点(例如病变组织)处释放。所释放的第一部分随后重新获得其更自由地或更倾向性地结合相应配体的能力，所述配体包括靶细胞标志物和效应细胞标志物。不希望被任何特定的理论所束缚，与以mmol/kg的可比剂量施用仅具有第一部分双特异性结合域的

组合物之时或之后的副作用相比，所述主题嵌合多肽组装体作为治疗剂在减少施用频率、增加治疗效果持续时间以及降低受试者的诊断相关副作用的严重程度方面赋予了多方面的优势。通过使用本发明组合物避免或减少的副作用的非限制性实例包括以下血浆水平的不希望的升高：IL-2、TNF-α、IFN-γ、肝酶，和/或脓毒症的发病率、发热性嗜中性粒细胞减少症、神经毒性、抽搐、脑病、细胞因子释放综合征、言语障碍、平衡障碍、发热、头痛、意识模糊、低血压、嗜中性粒细胞减少、恶心、意识损害以及定向障碍。

[0190] 本发明考虑使用单链结合域用于主题组合物，诸如但不限于Fv、Fab、Fab′、Fab′-SH、F(ab′)2、线性抗体、单结构域抗体、单结构域骆驼抗体、单链抗体分子(scFv)，以及能够结合与癌症、肿瘤或其他恶性组织的病变组织或细胞的效应细胞和抗原有关的配体或受体的双抗体。在其他一些实施方案中，所述嵌合多肽组装体组合物的第一部分的第一和第二结合域可以是非抗体支架，诸如anticalins、adnectins、fynomers、affilins、affibodies、centyrins、DARPins。在其他一些实施方案中，所述肿瘤细胞靶标的结合域是T细胞受体的可变域，该可变域已被工程化以结合载有被肿瘤细胞过度表达的蛋白质的肽片段的MHC。通过以下考虑设计本发明的组合物以提供宽治疗窗：靶组织蛋白酶的位置，以及健康组织中存在不会被靶向的相同蛋白酶，以及在健康组织中存在靶配体、但在不健康的靶组织中更多地存在该配体。“治疗窗”是指给定的治疗组合物的最小有效剂量与最大耐受剂量之间的最大差异。为帮助获得宽治疗窗，所述组合物的第一部分的结合域通过接近填充部分(例如XTEN)而屏蔽，使得完整组合物对一种或两种配体的结合亲和力相比于已被哺乳动物蛋白酶切割的组合物降低，从而将第一部分从填充部分的屏蔽效应中释放。

[0191] 已经确定的是，关于单链结合域，Fv是包含完整抗原识别和结合位点的最小抗体片段；由非共价缔合的一个重链可变域(VH)和一个轻链可变域(VL)的二聚体组成。在每条VH和VL链内有三个互补决定区(CDR)，这三个互补决定区相互作用以确定VH-VL二聚体表面上的抗原结合位点；结合域的六个CDR给抗体或单链结合域提供抗原结合特异性。在一些情况下创建scFv，其中每一个在每个结合域内具有3、4或5个CHR。CDR侧翼的框架序列具有在跨物种的天然免疫球蛋白中基本上保守的三级结构，并且框架残基(FR)用于使CDR保持在其适当的取向。结合功能不需要恒定域，但是恒定域可以有助于稳定VH-VL相互作用。本发明多肽的结合位点的结构域可以为相同或不同免疫球蛋白的一对VH-VL、VH-VH或VL-VL结构域，然而其通常优选使用来自亲本抗体的各自VH和VL链制备单链结合域。多肽链中VH和VL结构域的顺序对本发明不是限制性的；所给定的结合域的顺序通常可以被逆转，而不会有任何功能丧失，但是可以理解的是，VH和VL结构域排列为能使抗原结合位点可以正确地折叠。因此，主题组合物的双特异性scFv实施方案的单链结合域可以按(VL-VH)1-(VL-VH)2，或者(VL-VH)1-(VH-VL)2，或者(VH-VL)1-(VL-VH)2，或者(VH-VL)1-(VH-VL)2的顺序，其中“1”和“2”分别代表第一和第二结合域，其中成对的结合域通过下文所述的多肽连接体连接。

[0192] 因此，在本文公开的示例性双特异性单链抗体中结合域的排列可以是第一结合域位于第二结合域的C端。V链的排列可以是VH(靶细胞表面抗原)-VL(靶细胞表面抗原)-VL(效应细胞抗原)-VH(效应细胞抗原)、VH(靶细胞表面抗原)-VL(靶细胞表面抗原)-VH(效应细胞抗原)-VL(效应细胞抗原)、VL(靶细胞表面抗原)-VH(靶细胞表面抗原)-VL(效应细胞抗原)-VH(效应细胞抗原)或VL(靶细胞表面抗原)-VH(靶细胞表面抗原)-VH(效应细胞抗

原)-VL(效应细胞抗原)。对于其中第二结合域位于第一结合域的N端的排列,以下顺序是可能的:VH(效应细胞抗原)-VL(效应细胞抗原)-VL(靶细胞表面抗原)-VH(靶细胞表面抗原)、VH(效应细胞抗原)-VL(效应细胞抗原)-VH(靶细胞表面抗原)-VL(靶细胞表面抗原)、VL(效应细胞抗原)-VH(效应细胞抗原)-VL(靶细胞表面抗原)-VH(靶细胞表面抗原)或VL(效应细胞抗原)-VH(效应细胞抗原)-VH(靶细胞表面抗原)-VL(靶细胞表面抗原)。如本文所用,"N端"或"C端"及其语法变化表示在一级氨基酸序列内的相对位置,而不是位于双特异性单链抗体的绝对N端或C端。因此,作为非限制性的实例,"位于第二结合域的C端"的第一结合域表示第一结合域位于双特异性单链抗体内的第二结合域的羧基侧,并且不排除额外的序列,例如His-标签或另一种化合物,如放射性同位素,位于该双特异性单链抗体的C端的可能性。

[0193] 在一个实施方案中,所述嵌合多肽组装体组合物包含含有第一结合域和第二结合域的第一部分,其中每一个所述结合域是scFv,并且其中每一个scFv包含一个VL和一个VH。在另一个实施方案中,所述嵌合多肽组装体组合物包含含有第一结合域和第二结合域的第一部分,其中所述结合域是双抗体构型,并且其中每一个结构域包含一个VL结构域和一个VH。在前述的实施方案中,第一结合域对肿瘤特异性标志物或靶细胞的抗原具有结合特异性,并且第二结合域对效应细胞抗原具有结合特异性。在前述的一个实施方案中,效应细胞抗原在效应细胞之上或之内表达。在一个实施方案中,效应细胞抗原在诸如CD4+、CD8+或天然杀伤(NK)细胞的T细胞上表达。在另一个实施方案中,效应细胞抗原在B细胞、肥大细胞、树突细胞或髓样细胞上表达。在一个实施方案中,所述效应细胞抗原为CD3——细胞毒性T细胞的分化群3抗原。在前述的一些实施方案中,第一结合域显示了对与肿瘤细胞相关的肿瘤特异性标志物的结合特异性。在一个实施方案中,所述结合域对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力,其中所述肿瘤细胞可以包括但不限于来自以下的细胞:基质细胞肿瘤、成纤维细胞肿瘤、肌成纤维细胞肿瘤、胶质细胞肿瘤、上皮细胞肿瘤、脂肪细胞肿瘤、免疫细胞肿瘤、血管细胞肿瘤以及平滑肌细胞肿瘤。在一个实施方案中,肿瘤特异性标志物或靶细胞的抗原选自:α4整联蛋白、Ang2、B7-H3、B7-H6、CEACAM5、cMET、CTLA4、FOLR1、EpCAM、CCR5、CD19、HER2、HER2 neu、HER3、HER4、HER1(EGFR)、PD-L1、PSMA、CEA、MUC1(粘蛋白)、MUC-2、MUC3、MUC4、MUC5AC、MUC5B、MUC7、MUC16βhCG、Lewis-Y、CD20、CD33、CD38、CD30、CD56(NCAM)、CD133、神经节苷脂GD3、9-O-乙酰基-GD3、GM2、Globo H、岩藻糖基GM1、GD2、碳酸酐酶IX、CD44v6、声猬(Shh)、Wue-1、浆细胞抗原1、黑素瘤硫酸软骨素蛋白聚糖(MCSP)、CCR8、前列腺6-跨膜上皮抗原(STEAP)、间皮素、A33抗原、前列腺干细胞抗原(PSCA)、Ly-6、桥粒芯蛋白4、胎儿乙酰胆碱受体(fnAChR)、CD25、癌抗原19-9(CA19-9)、癌抗原125(CA-125)、II型苗勒抑制物质受体(MISIIR)、唾液酸化Tn抗原(s TN)、成纤维细胞活化抗原(FAP)、内皮唾液酸蛋白(CD248)、表皮生长因子受体变体III(EGFRvIII)、肿瘤相关抗原L6(TAL6)、SAS、CD63、TAG72、Thomsen-Friedenreich抗原(TF-抗原)、胰岛素样生长因子I受体(IGF-IR)、Cora抗原、CD7、CD22、CD70、CD79a、CD79b、G250、MT-MMP、F19抗原、CA19-9、CA-125、甲胎蛋白(AFP)、VEGFR1、VEGFR2、DLK1、SP17、ROR1和EphA2。在一个实施方案中,显示对CD70的结合亲和力的第一结合域是其天然配体CD27,而不是抗体片段。在另一个实施方案中,显示对B7-H6的结合亲和力的第一结合域是其天然配体Nkp30,而不是抗体片段。

[0194] 所设想的是,本发明主题组合物的scFv实施方案包含第一结合域和第二结合域,

其中VL和VH结构域源自分别对肿瘤特异性标志物或靶细胞的抗原以及效应细胞抗原具有结合特异性的单克隆抗体。在其他情况下，第一和第二结合域各自包含六个CDR，这些CDR来源于分别对靶细胞标志物如肿瘤特异性标志物和效应细胞抗原具有结合特异性的单克隆抗体。在其他一些实施方案中，所述主题组合物的第一部分的第一和第二结合域在每一个结合域内具有3、4或5个CHR。在其他一些实施方案中，本发明的实施方案包含第一结合域和第二结合域，其中每一个包含CDR-H1区、CDR-H2区、CDR-H3区、CDR-L1区、CDR-L2区和CDR-H3区，其中每个所述区域源自能够分别结合肿瘤特异性标志物或靶细胞的抗原以及效应细胞抗原的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其中第二结合域包含源自能结合人CD3的单克隆抗体的VH和VL区。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其中scFv第二结合域包含VH和VL区，其中每个VH和VL区显示出与选自表1的抗CD3抗体的成对VL和VH序列至少约90％、或91％、或92％、或93％、或94％、或95％，或96％、或97％、或98％或99％的同一性或完全相同。另一方面，本发明的第二结构域实施方案包含CDR-H1区、CDR-H2区、CDR-H3区、CDR-L1区、CDR-L2区和CDR-H3区，其中每个所述区域源自选自表1所列的抗体的单克隆抗体。在前述实施方案中，VH和/或VL结构域可以被配置为scFv、双抗体、单结构域抗体或单结构域骆驼抗体。

[0195] 在其他一些实施方案中，所述主题组合物的第二结构域源自选自表1所列的抗体的抗CD3抗体。在前述的一个实施方案中，所述主题组合物的第二结构域包含选自表1所列抗体的抗CD3抗体的成对VL和VH区序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其中第二结合域包含VH和VL区，其中每个VH和VL区表现出与表1的huUCHT1抗CD3抗体的成对VL和VH序列至少约90％、或91％、或92％、或93％、或94％、或95％、或96％、或97％、或98％、或99％的同一性或完全相同。在前述实施方案中，VH和/或VL结构域可以被配置为scFv、双抗体的一部分、单结构域抗体或单结构域骆驼抗体。

[0196] 在其他一些实施方案中，所述组合物的第一结合域的scFv源自选自表2所列的抗体的抗肿瘤细胞抗体。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其中第一结合域包含VH和VL区，其中每个VH和VL区显示出与选自表2的抗肿瘤细胞抗体的成对VL和VH序列至少约90％、或91％、或92％、或93％、或94％、或95％、或96％、或97％、或98％、或99％的同一性或完全相同。在前述的一个实施方案中，所述组合物的第一结合域包含本文公开的抗肿瘤细胞抗体的成对VL和VH区序列。在前述实施方案中，VH和/或VL结构域可以被配置为scFv、双抗体的一部分、单结构域抗体或单结构域骆驼抗体。

[0197] 在另一个实施方案中，所述嵌合多肽组装体组合物的第一部分具有与选自表13序列的序列有至少约90％、或91％、或92％、或93％、或94％、或95％、或96％、或97％、或98％、或99％同一性的序列。

[0198] 在另一个实施方案中，所述嵌合多肽组装体组合物包含含有第一结合域和第二结合域的第一部分，其中所述结合域是双抗体构型，并且每一个所述结合域包含一个VL结构域和一个VH结构域。在一个实施方案中，本发明的双抗体实施方案包含第一结合域和第二结合域，其中VL和VH结构域分别源自对肿瘤特异性标志物或靶细胞的抗原以及效应细胞抗原具有结合特异性的单克隆抗体。在另一个实施方案中，本发明的双抗体实施方案包含第一结合域和第二结合域，其中每一个包含CDR-H1区、CDR-H2区、CDR-H3区、CDR-L1区、CDR-L2区和CDR-H3区，其中每个所述区域分别源自能够结合肿瘤特异性标志物或靶细胞抗原和效

应细胞抗原的单克隆抗体。可以设想的是，本发明的双抗体实施方案包含第一结合域和第二结合域，其中VL和VH结构域分别源自对肿瘤特异性标志物或靶细胞抗原以及效应细胞抗原具有结合特异性的单克隆抗体。另一方面，本发明的双抗体实施方案包含第一结合域和第二结合域，其中每一个包含CDR-H1区、CDR-H2区、CDR-H3区、CDR-L1区、CDR-L2区和CDR-H3区，其中每个所述区域分别源自能够结合肿瘤特异性标志物或靶细胞抗原以及效应细胞抗原的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其中双抗体第二结合域包含源自能够结合人CD3的单克隆抗体的成对VH和VL区。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其中双抗体第二结合域包含VH和VL区，其中每一个VH和VL区显示出与选自表1的抗CD3抗体的成对VL和VH序列至少约90％、或91％、或92％、或93％、或94％、或95％、或96％、或97％、或98％、或99％的同一性或完全相同。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其中双抗体第二结合域包含VH和VL区，其中每一个VH和VL区显示出与选自表1的huUCHT1抗体的VL和VH序列至少约90％、或91％、或92％、或93％、或94％、或95％、或96％、或97％、或98％、或99％的同一性或完全相同。在其他一些实施方案中，所述组合物的双抗体第二结构域源自本文所述的抗CD3抗体。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其中双抗体第一结合域包含VH和VL区，其中每一个VH和VL区显示出与选自表2的抗肿瘤细胞抗体的VL和VH序列至少约90％、或91％、或92％、或93％、或94％、或95％、或96％、或97％、或98％、或99％的同一性或完全相同。在其他一些实施方案中，所述组合物的双抗体第一结合域源自本文所述的抗肿瘤细胞抗体。

[0199] 可衍生出用于所述主题组合物的VL和VH和CDR结构域的治疗性单克隆抗体是本领域已知的。这样的治疗性抗体包括但不限于：利妥昔单抗，IDEC/Genentech/Roche(参见例如美国专利号5,736,137)，用于治疗许多淋巴瘤、白血病和一些自身免疫性疾病的嵌合抗CD20抗体；奥法木单抗，由GlaxoSmithKline开发的经批准用于慢性淋巴细胞性白血病的抗CD20抗体，并正在研发用于滤泡非霍奇金淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、类风湿关节炎和复发性缓解型多发性硬化症；鲁卡木单抗(HCD122)，Novartis为非霍奇金淋巴瘤或霍奇金淋巴瘤开发的抗CD40抗体(参见，例如美国专利号6,899,879)；AME-133，由Applied Molecular Evolution开发的抗体，其与表达CD20的细胞结合以治疗非霍奇金淋巴瘤；维妥珠单抗(hA20)，由Immunomedics,Inc.开发的抗体，其与表达CD20的细胞结合以治疗免疫性血小板减少性紫癜；由Intracel开发的用于治疗低度恶性B细胞淋巴瘤的HumaLYM，以及奥瑞珠单抗——由Genentech开发的用于治疗类风湿性关节炎的抗CD20单克隆抗体(参见例如美国专利申请20090155257)；曲妥珠单抗(参见例如美国专利号5,677,171)，由Genentech开发的经批准用于治疗乳腺癌症的人源化抗Her2/neu抗体；帕妥珠单抗，由Genentech开发的用于治疗前列腺癌、乳腺癌和卵巢癌的抗HER2二聚化抑制剂抗体(参见例如美国专利号4,753,894)；西妥昔单抗，由Imclone和BMS开发的用于治疗表达表皮生长因子受体(EGFR)的、KRAS野生型转移性结直肠癌和头颈癌的抗EGFR抗体(参见美国专利号4,943,533;PCT WO 96/40210)；帕尼单抗，目前由Amgen销售的用于治疗转移性结直肠癌的一种表皮生长因子受体(也被称为EGF受体、EGFR、ErbB-1和HER1)特异性完全人单克隆抗体(参见美国专利号6,235,883)；扎芦木单抗，由Genmab开发的用于治疗头颈部鳞状细胞癌的针对表皮生长因子受体(EGFR)的完全人IgG1单克隆抗体(参见例如美国专利号7,247,

301)；尼妥珠单抗，由Biocon、YM Biosciences、Cuba和Oncosciences，Europe开发的用于治疗头颈部鳞状细胞癌、鼻咽癌和神经胶质瘤的针对EGFR的嵌合抗体(参见例如美国专利号5,891,996；国专利号6,506,883)；阿仑珠单抗，由Bayer Schering Pharma销售的用于治疗慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、皮肤T细胞淋巴瘤(CTCL)和T细胞淋巴瘤的针对CD52的人源化单克隆抗体；莫罗单抗-CD3，由Ortho Biotech/Johnson&Johnson开发的用作减少器官移植患者的急性排斥反应的免疫抑制剂生物制剂的抗CD3抗体；替伊莫单抗，由IDEC/Schering AG开发的一种用于治疗某些形式的B细胞非霍奇金淋巴瘤的抗CD20单克隆抗体；吉姆单抗奥佐米星，由Celltech/Wyeth开发的用于治疗急性骨髓性白血病的与放射性同位素附接于其上的细胞毒性螯合剂tiuxetan连接的抗-CD33(p67蛋白)抗体；ABX-CBL，由Abgenix开发的抗CD147抗体；ABX-IL8，由Abgenix开发的抗IL8抗体；ABX-MA1，由Abgenix开发的抗MUC18抗体；Pemtumomab(R1549，90Y-muHMFG1)，由Antisoma开发的一种抗MUC1；Therex(R1550)，由Antisoma开发的抗MUC1抗体；由Antisoma开发的AngioMab(AS1405)；由Antisoma开发的HuBC-1；由Antisoma开发的Thioplatin(AS1407)；ANTEGREN(那他珠单抗)，由Biogen开发的抗α-4-β-1(VLA4)和α-4-β-7抗体；VLA-1 mAb，由Biogen开发的抗VLA-1整联蛋白抗体；LTBR mAb，由Biogen开发的抗淋巴毒素β受体(LTBR)抗体；CAT-152，由Cambridge Antibody Technology开发的抗TGF-β2抗体；J695，由Cambridge Antibody Technology和Abbott开发的抗IL-12抗体；CAT-192，由Cambridge Antibody Technology和Genzyme开发的抗TGFβ1抗体；CAT-213，由Cambridge Antibody Technology开发的抗Eotaxin1抗体；LYMPHOSTAT-B，由Cambridge Antibody Technology and Human Genome Sciences Inc.开发的抗Blys抗体；TRAIL-R1mAb，由Cambridge Antibody Technology and Human Genome Sciences Inc.开发的抗TRAIL-R1抗体；HERCEPTIN，由Genentech开发的抗HER受体家族抗体；抗组织因子(ATF)，由Genentech开发的抗组织因子抗体；XOLAIR(奥马珠单抗)，由Genentech开发的抗IgE抗体；由Genentech and Millennium Pharmaceuticals开发的MLN-02抗体(以前称LDP-02)；HUMAXCD4®，由Genmab开发的抗CD4抗体；tocilizuma，由Chugai开发的抗IL6R抗体；HUMAX-IL15，由Genmab和Amgen开发的抗IL15抗体；由Genmab和Medarex开发的HUMAX-Inflam；HUMAX-Cancer，由Genmab和Medarex和Oxford GlycoSciences开发的抗乙酰肝素酶I抗体；由Genmab和Amgen开发的HUMAX-Lymphoma；由Genmab开发的HUMAX-TAC；IDEC-131，由IDEC Pharmaceuticals开发的抗CD40L抗体；IDEC-151(克立昔单抗)，由IDEC Pharmaceuticals开发的抗CD4抗体；IDEC-114，由IDEC Pharmaceuticals开发的抗CD80抗体；IDEC-152，由IDEC Pharmaceuticals开发的抗CD23；由Imclone开发的抗KDR抗体；DC101，由Imclone开发的抗flk-1抗体；由Imclone开发的抗VE钙粘蛋白抗体；CEA-CIDE(拉贝珠单抗)，由Immunomedics开发的抗癌胚抗原(CEA)抗体；Yervoy(伊匹木单抗)，由Bristol-Myers Squibb开发的治疗黑素瘤的抗CTLA4抗体；Lumphocide®(依帕珠单抗)，由Immunomedics开发的抗CD22抗体；由Immunomedics开发的AFP-Cide；由Immunomedics开发的MyelomaCide；由Immunomedic开发的LkoCides；由Immunomedics开发的ProstaCide；MDX-010，由Medarex开发的抗CTLA4抗体；MDX-060，由Medarex开发的抗CD30抗体；由Medarex开发的MDX-070；由Medarex开发的MDX-018；OSIDEM(IDM-1)，由Medarex和Immuno-Designed Molecules开发的抗HER2抗体；HUMAX®-CD4，由Medarex和Genmab开发的抗CD4抗体；HuMax-IL15，由Medarex和Genmab开发的抗IL15抗

体;由MorphoSys开发的抗细胞间粘附分子-1(ICAM-1)(CD54)抗体,MOR201;曲美木单抗,由Pfizer开发的抗CTLA-4抗体;维西珠单抗,由Protein Design Labs开发的抗CD3抗体;由Protein Design Labs开发的抗α5β1整联蛋白;由Protein Design Labs开发的抗-IL-12;ING-1,由Xoma开发的抗Ep-CAM抗体;以及MLN01,由Xoma开发的抗β2整联蛋白抗体;本段落中的所有以上引用的抗体参考文献均通过引用明确地并入本文。上述抗体的序列可以从可公开获得的数据库、专利或参考文献中获得。此外,表1列出了单克隆抗体和来自抗CD3抗体的VH和VL序列的非限制性实例,而表2中给出了针对癌症、肿瘤或靶细胞标志物的单克隆抗体以及VH和VL序列的非限制性实例。

表1:抗CD3单克隆抗体和序列

克隆名称	抗体名称	靶标	VH 序列	VL 序列
huOKT3		CD3	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKAS**GYTFTRYTMH**WVRQAPGKGLEWIG**YINPSRGYTNYNQKVKD**RFTISRDNSKNTAFLQMDSLRPEDTGVYFCAR**YYDDHYCLDY**WGQGTPVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**SASSSVSYMN**WYQQTPGKAPKRWIY**DTSKLAS**GVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYC**QQWSSNPFT**FGQGTKLQITR
huUCHT1		CD3	EVQLVESGGGLVQPG	DIQMTQSPSSLSASV

克隆名称	抗体名称	靶标	VH 序列	VL 序列
			GSLRLSCAAS**GYSFT GYTMN**WVRQAPGK GLEWVA**LINPYKGV ST**YNQKFKDRFTISV DKSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCAR**SG YYGDSDWYFDV**WG QGTLVTVSS	GDRVTITC**RASQDI RNYLN**WYQQKPGK APKLLIY**YTSRLES** GVPSRFSGSGSGTD YTLTISSLQPEDFAT YYC**QQGNTLPWT**F GQGTKVEIK
hu12F6		CD3	QVQLVQSGGGVVQP GRSLRLSCKAS**GYTF TSYTMH**WVRQAPGK GLEWIG**YINPSSGYT KYNQKFKD**RFTISAD KSKSTAFLQMDSLRP EDTGVYFCAR**WQDY DVYFDY**WGQGTPVT VSS	DIQMTQSPSSLSASV GDRVTMTC**RASSS VSYMH**WYQQTPG KAPKPWIY**ATSNLA S**GVPSRFSGSGSGT DYTLTISSLQPEDIA TYYC**QQWSSNPPT** FGQGTKLQITR
mOKT3		CD3	QVQLQQSGAELARPG ASVKMSCKAS**GYTF TRYTMH**WVKQRPG QGLEWIG**YINPSRGY TNYNQKFKD**KATLT TDKSSSTAYMQLSSL TSEDSAVYYCAR**YY DDHYCLDY**WGQGTT LTVSS	QIVLTQSPAIMSASP GEKVTMTC**SASSSV SYMN**WYQQKSGTS PKRWIY**DTSKLAS**G VPAHFRGSGSGTSY SLTISGMEAEDAAT YYC**QQWSSNPFT**F GSGTKLEINR
MT103	兰妥莫单抗	CD3	DIKLQQSGAELARPG ASVKMSCKTS**GYTF TRYTMH**WVKQRPG QGLEWIG**YINPSRGY TNYNQKFKD**KATLT TDKSSSTAYMQLSSL TSEDSAVYYCAR**YY DDHYCLDY**WGQGTT LTVSS	DIQLTQSPAIMSASP GEKVTMTC**RASSSV SYMN**WYQQKSGTS PKRWIY**DTSKVAS**G VPYRFSGSGSGTSY SLTISSMEAEDAAT YYC**QQWSSNPLT**F GAGTKLELK
MT110	solitomab	CD3	DVQLVQSGAEVKKP GASVKVSCKAS**GYT FTRYTMH**WVRQAP GQGLEWIG**YINPSRG YTNYADSVKG**RFTIT TDKSTSTAYMELSSL RSEDTATYYCAR**YY DDHYCLDY**WGQGTT VTVSS	DIVLTQSPATLSLSP GERATLSC**RASQSV SYMN**WYQQKPGK APKRWIY**DTSKVAS** GVPARFSGSGSGTD YSLTINSLEAEDAA TYYC**QQWSSNPLT** FGGGTKVEIK
CD3.7		CD3	EVQLVESGGGLVQPG GSLKLSCAASGFTFN KYAMNWVRQAPGK	QTVVTQEPSLTVSP GGTVTLTCGSSTGA VTSGYYPNWVQQK

克隆名称	抗体名称	靶标	VH 序列	VL 序列
			GLEWVARIRSKYNN YATYYADSVKDRFTI SRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYISYWAY WGQGTLVTVSS	PGQAPRGLIGGTKF LAPGTPARFSGSLL GGKAALTLSGVQPE DEAEYYCALWYSN RWVFGGGTKLTVL
CD3.8		CD3	EVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGFTFN TYAMNWVRQAPGK GLEWVGRIRSKYNN YATYYADSVKGRFTI SRDDSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCVRH GNFGNSYVSWFAYW GQGTLVTVSS	QAVVTQEPSLTVSP GGTVTLTCGSSTGA VTTSNYANWVQQK PGQAPRGLIGGTNK RAPGVPARFSGSLL GGKAALTLSGAQPE DEAEYYCALWYSN LWVFGGGTKLTVL
CD3.9		CD3	EVQLLESGGGLVQPG GSLKLSCAASGFTFN TYAMNWVRQAPGK GLEWVARIRSKYNN YATYYADSVKDRFTI SRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSWFAY WGQGTLVTVSS	ELVVTQEPSLTVSP GGTVTLTCRSSTGA VTTSNYANWVQQK PGQAPRGLIGGTNK RAPGTPARFSGSLL GGKAALTLSGVQPE DEAEYYCALWYSN LWVFGGGTKLTVL
CD3.10		CD3	EVKLLESGGGLVQPK GSLKLSCAASGFTFN TYAMNWVRQAPGK GLEWVARIRSKYNN YATYYADSVKDRFTI SRDDSQSILYLQMNN LKTEDTAMYYCVRH GNFGNSYVSWFAYW GQGTLVTVSS	QAVVTQESALTTSP GETVTLTCRSSTGA VTTSNYANWVQEK PDHLFTGLIGGTNK RAPGVPARFSGSLIG DKAALTITGAQTED EAIYFCALWYSNL WVFGGGTKLTVL

*加下划线的序列,如果存在,是VL和VH内的CDR

表2:抗靶细胞单克隆抗体和序列

商品名称	抗体名称	靶标	VH 序列	VL 序列
Tysabri™	那他珠单抗	α4 整联蛋白	QVQLVQSGAEV KKPGASVKVSCK ASGFNIK**DTYIH** WVRQAPGQRLE WMG**RIDPANGY** **TKYDPKFQG**RV TITADTSASTAY MELSSLRSEDTA	DIQMTQSPSSLSAS VGDRVTITC**KTSQ** **DINKYMA**WYQQT PGKAPRLLIH**YTSA** **LQ**PGIPSRFSGSGS GRDYTFTISSLQPE DIATYYC**LQYDNL** **WT**FGQGTKVEIK

商品名称	抗体名称	靶标	VH 序列	VL 序列
			VYYCAR**EGYYG NYGVYAMDY**W GQGTLVTVSS	
REGN910	nesvacumab	Ang2	EVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAA S**GFTFSSYDIH**W VRQATGKGLEW VSAI**GPAGDTYY PGSV**KGRFTISRE NAKNSLYLQMN SLRAGDTAVYYC AR**GLITFGGLIA PFD**YWGQGTLV TVSS	EIVLTQSPGTLSLSP GERATLSCRA**SQS VSSTYLA**WYQQKP GQAPRLLIY**GASSR AT**GIPDRFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDF AVYYC**QHYDNSQ** TFGQGTKVEIK
hMFE23		CEA	QVKLEQSGAEVV KPGASVKLSCKA S**GFNIKDS**YMH WLRQGPGQRLE WIGWI**DPENGD**T EYAPKFQGKATF TTDTSANTAYLG LSSLRPEDTAVY YCNEG**TPTGPYY FD**YWGQGTLVT VSS	ENVLTQSPSSMSAS VGDRVNIACSA**SSS VS**YMHWFQQKPG KSPKLWIYSTSN**LA S**GVPSRFSGSGSGT DYSLTISSMQPEDA ATYYCQQ**RSSYPL** TFGGGTKLEIK
M5A (人源化 T84.66)		CEA	EVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAA SGFNIK**DTYMH** WVRQAPGKGLE WVA**RIDPANGN SKYADSVKG**RFT ISADTSKNTAYL QMNSLRAEDTA VYYCAP**FGYYVS DYAMAY**WGQG TLVTVSS	DIQLTQSPSSLSAS VGDRVTITC**RAGE SVDIFGVGFLH**WY QQKPGKAPKLLIY **RASNLES**GVPSRFS GSGSRTDFTLTISSL QPEDFATYYC**QQT NEDPYT**FGQGTKV EIK
M5B (人源化 T84.66)		CEA	EVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAA SGFNIK**DTYM**H WVRQAPGKGLE WVA**RIDPANGN SKYVPKFQG**RA TISADTSKNTAYL QMNSLRAEDTA VYYCAP**FGYYVS DYAMAY**WGQG TLVTVSS	DIQLTQSPSSLSAS VGDRVTITC**RAGE SVDIFGVGFLH**WY QQKPGKAPKLLIY **RASNLES**GVPSRFS GSGSRTDFTLTISSL QPEDFATYYC**QQT NEDPYT**FGQGTKV EIK

商品名称	抗体名称	靶标	VH 序列	VL 序列
CEA-Cide	拉贝珠单抗 (MN-14)	CEACAM5	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFDFTTYWMSWVRQAPGKGLEWIGEIHPDSSTINYAPSLKDRFTISRDNAKNTLFLQMDSLRPEDTGVYFCASLYFGFPWFAYWGQGTPVTVSS	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTSVAWYQQKPGKAPKLLIYWTSTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYSLYRSFGQGTKVEIK
CEA-Scan	阿西莫单抗	CEACAM5	EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTFDYYMNWVRQPPGKALEWLGFIGNKANGYTTEYSASVKGRFTISRDKSQSILYLQMNTLRAEDSATYYCTRDRGLRFYFDYWGQGTTLTVSS	QTVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVTYIHWYQQKPGSSPKSWIYATSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQHWSSKPPTFGGGTKLEIKR
MT110		CEACAM5	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTVSSYWMHWVRQAPGKGLEWVGFIRNKANGGTTEYAASVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGLRFYFDYWGQGTTVTVSS	QAVLTQPASLSASPGASASLTCTLRRGINVGAYSIYWYQQKPGSPPQYLLRYKSDSDKQQGSGVSSRFSASKDASANAGILLISGLQSEDEADYYCMIWHSGASAVFGGGTKLTVL
MT103	兰妥莫单抗	CD19	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSS	DIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGTDFTLNIHPVEKVDAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIK
Arzerra	奥法木单抗	CD20	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFNDYAMHWVRQAPGKGLE	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN

商品名称	抗体名称	靶标	VH 序列	VL 序列
			WVSTISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKKSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDIQYGNYYYGMDVWGQGTTVTVSS	RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPITFGQGTRLEIK
Bexxar™	托西莫单抗	CD20	QAYLQQSGAELVRPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPRQGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARVVYYSNSYWYFDVWGTGTTVTVSG	QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYMHWYQQKPGSSPKPWIYAPSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWSFNPPTFGAGTKLELK
GAZYVA	阿托珠单抗	CD20	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSYSWINWVRQAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQGTLVTVSS	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLHSNGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLVSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQNLELPYTFGGGTKVEIK
	奥瑞珠单抗/2H7 v16	CD20	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYNMHWVRQAPGKGLEWVGAIYPGNGDTSYNQKFKGRFTISVDKSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVVYYSNSYWYFDVWGQGTLVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSSVSYMHWYQQKPGKAPKPLIYAPSNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQWSFNPPTFGQGTKVEIK
Rituxan™	利妥昔单抗	CD20	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYM	QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYIHWFQQKPGSSPKPWIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPP

商品名称	抗体名称	靶标	VH 序列	VL 序列
			QLSSLTSEDSAVYYC**ARSTYYGGDWYFNV**WGAGTTVTVSA	**T**FGGGTKLEIK
Zevalin™	替伊莫单抗	CD20	QAYLQQSGAELVRPGASVKMSCKAS**GYTFTSYN**MHWVKQTPRQGLEWIG**AIYPGNGDTSYNQKF**KGKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAR**VVYYSNSYWYFDV**WGTGTTVTVSA	QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTC**RASSSVSYMH**WYQQKPGSSPKPWIY**APSNLAS**GVPARFSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYC**QQWSFNPPT**FGAGTKLELK
Mylotarg	吉妥珠单抗 (hP67.6)	CD33	QLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS**GYTITDSNIH**WVRQAPGQSLEWIG**YIYPYNGGTDYNQKFKN**RATLTVDNPTNTAYMELSSLRSEDTDFYYCVN**GNPWLAY**WGQGTLVTVSS	DIQLTQSPSTLSASVGDRVTITC**RASESLDNYGIRFLT**WFQQKPGKAPKLLMY**AASNQGS**GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYC**QQTKEVPWS**FGQGTKVEVK
达雷木单抗		CD38	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVS**GFTFNSFA**MSWVRQAPGKGLEWVSA**ISGSGGGT**YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFC**AKDKILWFGEPVFDY**WGQGTLVTVSS	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAS**QSVSSY**LAWYQQKPGQAPRLLIY**DAS**NRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC**QQRSNWPPT**FGQGTKVEIK
	1F6	CD70	QIQLVQSGPEVKKPGETVKISCKAS**GYTFTNYGMN**WVKQAPGKGLKWMG**WINTYTGEPTYADAFKG**RFAFSLETSASTAYLQINNLKNEDTATYFCAR**DYGDYGMDY**WGQGTSVTVSS	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISC**RASKSVSTSGYSFMH**WYQQKPGQPPKLLIY**LASNLES**GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYC**QHSREVPWT**FGGGTKLEIK

商品名称	抗体名称	靶标	VH 序列	VL 序列
	2F2	CD70	QVQLQQSGTELMTPGASVTMSCKTSGYTFSTYWIEWVKQRPGHGLEWIGEILGPSGYTDYNEKFKAKATFTADTSSNTAYMQLSSLASEDSAVYYCARWDRLYAMDYWGGGTSVTVSS	DIVLTQSPASLTVSLGQKTTISCRASKSVSTSGYSFMHWYQLKPGQSPKLLIYLASDLPSGVPARFSGSGSGTDFTLKIHPVEEEDAATYYCQHSREIPYTFGGGTKLEIT
	2H5	CD70	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYIMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGRNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDTDGYDFDYWGQGTLVTVSS	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRTNWPLTFGGGTKVEIK
	10B4	CD70	QIQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFGYYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSIKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGPYSNYLDYWGQGTLVTVSS	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKFLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPFTFGPGTKVDIK
	8B5	CD70	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCATSGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKKTLSLQMNSLRAEDTAVYYCARDSIMVRGDYWGQGTLVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGGGTKVEIK
	18E7	CD70	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDHGM	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQK

商品名称	抗体名称	靶标	VH 序列	VL 序列
			HWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSIMVRGDYWGQGTLVTVSS	PEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGGGTKVEIK
	69A7	CD70	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSDYYYWSWIRQPPGKGLEWLGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLRSVTTADTAVYYCARGDGDYGGNCFDYWGQGTLVTVSS	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIFDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGTKVEIK
CE-355621		cMET	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGFSWVRQAPGQGLEWMGWISASNGNTYYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARVYADYADYWGQGTLVTVSS	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGINTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLKSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANSFPLTFGGGTKVEIK
LY2875358	emibetuzumab	cMET	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGRVNPNRRGTTYNQKFEGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARANWLDYWGQGTTVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSVSSSVSSIYLHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQVYSGYPLTFGGGTKVEIK
MetMAb	onartuzumab	cMET	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWLHWVRQAPGKGLEWVGMIDPSNSDTRFNPNFKDRFTISADTSKNTAYL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKSSQSLLYTSSQKNYLAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY

商品名称	抗体名称	靶标	VH 序列	VL 序列
			QMNSLRAEDTAVYYC**ATYRSYVTPLDY**WGQGTLVTVSS	C**QQYYAYPWT**FGQGTKVEIK
	曲美木单抗(CP-675206 或 11.2.1)	CTLA4	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSSYGMH**WVRQAPGKGLEWVA**VIWYDGSNKYYADSV**KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DPRGATLYYYYYGMDV**WGQGTTVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSINSYLD**WYQQKPGKAPKLLIY**AASSLQS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQYYSTPFT**FGPGTKVEIK
Yervoy	伊匹木单抗 10D1	CTLA4	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS**SYTMH**WVRQAPGKGLEWVT**FISYDGNNKYYADSVKG**RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYCAR**TGWLGPFDY**WGQGTLVTVSS	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVGSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GAFSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPWT**FGQGTKVEIK
AGS16F	H16-7.8	ENPP3	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSIS**SGGYY**WSWIRQHPGKGLEWIG**HYYSGSTYYNPSLKS**RVTISVDTSKNQFSLKLNSVTAADTAVFYCAR**VAIVTTIPGGMDV**WGQGTTVTVSS	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITC**RASQSIGISLH**WYQQKPDQSPKLLIK**YASQSFS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYC**HQSRSFPWT**FGQGTKVEIK
MT110	solitomab	EpCAM	EVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFT**NYWLG**WVKQRPGHGLEWIG**DIFPGSGNIHYNEKFKG**KATLTADKSSSTAYMQLSSLTFEDSAVYFCAR**LRNWDEPMDY**WGQGTTV	ELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSC**KSSQSLLNSGNQKNYLT**WYQQKPGQPPKLLIY**WASTRES**GVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYC**QNDYSYPLT**FGAGTKLEIK

商品名称	抗体名称	靶标	VH 序列	VL 序列
			TVSS	
MT201	阿德木单抗	EpCAM	EVQLLESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS**SYGMH**WVRQAPGKGLEWVA**VISYDGSNKYYADSVKG**RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK**DMGWGSGWRPYYYYGMDV**WGQGTTVTVSS	ELQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RTSQSISSYLN**WYQQKPGQPPKLLIY**WASTRES**GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDSATYYC**QQSYDIPYT**FGQGTKLEIK
Panorex	依决洛单抗 Mab CO17-1A	EpCAM	QVQLQQSGAELVRPGTSVKVSCKAS**GYAFTNYL**IEWVKQRPGQGLEWIGV**INPGSGGT**NYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSDDSAVYFC**ARDGPWFAY**WGQGTLVTVSA	NIVMTQSPKSMSMSVGERVTLTCKAS**ENVVTY**VSWYQQKPEQSPKLLIY**GAS**NRYTGVPDRFTGSGSATDFTLTISSVQAEDLADYHC**GQGYSYPYT**FGGGTKLEIK
	tucotuzumab	EpCAM	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKAS**GYTFTNYGMN**WVRQAPGKGLKWMG**WINTYTGEPTYAD**DFKGRFVFSLETSASTAFLQLNNLRSEDTATYFCVRFI**SKGDY**WGQGTSVTVSS	QILLTQSPAIMSASPGEKVTMTC**SASSSVS**YMLWYQQKPGSSPKPWIF**DTSNLAS**GFPARFSGSGSGTSYSLIISSMEAEDAATYYC**HQRSGYPYT**FGGGTKLEIK
UBS-54		EpCAM	VQLQQSDAELVKPGASVKISCKAS**GYTFTDHAIH**WVKQNPEQGLEWIG**YFSPGNDDFKYNE**RFKGKATLTADKSSSTAYVQLNSLTSEDSAVYFCTR**SLNMAY**WGQGTSVTVSS	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSQSVLYSSNNKNYLA**WYQQKPGQPPKLLIY**WASTRES**GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC**QQYYSYPLT**FGGGTKVKES
3622W94	323/A3	EpCAM	EVQLVQSGPEVKKPGASVKVSCKAS**GYTFTNYGMN**WVRQAPGQGLE	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**RSSINKKGSNGITY**LYWYLQKPGQSPQLLIYQ

商品名称	抗体名称	靶标	VH 序列	VL 序列
			WMGWINTYTGEPTYGEDFKGRFAFSLDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYFCARFGNYYDYWGQGSLVTVSS	MSNLASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQNLEIPRTFGQGTKVEIK
4D5MOCBv2		EpCAM	EVQLVQSGPGLVQPGGSVRISCAASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLEWMGWINTYTGESTYADSFKGRFTFSLDTSASAAYLQINSLRAEDTAVYYCARFAIKGDYWGQGTLLTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSTKSLLHSNGITYLYWYQQKPGKAPKLLIYQMSNLASGVPSRFSSSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCAQNLEIPRTFGQGTKVEIK
4D5MOCB		EpCAM	EVQLVQSGPGLVQPGGSVRISCAASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLEWMGWINTYTGESTYADSFKGRFTFSLDTSASAAYLQINSLRAEDTAVYYCARFAIKGDYWGQGTLLTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSTKSLLHSNGITYLYWYQQKPGKAPKLLIYQMSNLASGVPSRFSSSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCAQNLEIPRTFGQGTKVELK
MEDI-547	1C1	EphA2	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYMMAWVRQAPGKGLEWVSRIGPSGGPTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAGYDSGYDYVAVAGPAEYFQHWGQGTLVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTEFSLTISGLQPDDFATYYCQQYNSYSRTFGQGTKVEIK
MORAb-003	法利珠单抗	FOLR1	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFTFSGYGLSWVRQAPGKGLEWVAMISSGGSYTYYADSVKGRFAISRDNAKNTLFLQMDSLRPEDTGVYFCARHGDDPAWFAYWGQGTPVT	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSVSSSISSNNLHWYQQKPGKAPKPWIYGTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCQQWSSYPYMYTFGQGTKVEIK

商品名称	抗体名称	靶标	VH 序列	VL 序列
			VSS	
M9346A	huMOV19 (vLCv1.00)	FOLR1	QVQLVQSGAEV VKPGASVKISCK ASGYTFT**GYFM N**WVKQSPGQSLE WIG**RIHPYDGDT FYNQKFQG**KAT LTVDKSSNTAHM ELLSLTSEDFAVY YCTR**YDGSRAM DY**WGQGTTVTV SS	DIVLTQSPLSLAVS LGQPAIISC**KASQS VSFAGTSLMH**WY HQKPGQQPRLLIY **RASNLEA**GVPDRF SGSGSKTDFTLNIS PVEAEDAATYYC**Q QSREYPYT**FGGGT KLEIK
M9346A	huMOV19 (vLCv1.60)	FOLR1	QVQLVQSGAEV VKPGASVKISCK ASGYTFT**GYFM N**WVKQSPGQSLE WIG**RIHPYDGDT FYNQKFQG**KAT LTVDKSSNTAHM ELLSLTSEDFAVY YCTR**YDGSRAM D**YWGQGTTVTV SS	DIVLTQSPLSLAVS LGQPAIISC**KASQS VSFAGTSLMH**WY HQKPGQQPRLLIY **RASNLEA**GVPDRF SGSGSKTDFTLTISP VEAEDAATYYC**Q QSREYPYT**FGGGT KLEIK
26B3.F2		FOLR1	GPELVKPGASVK ISCKASDYSFT**GY FMN**WVMQSHG KSLEWIG**RIFPY NGDTFYNQKFK G**RATLTVDKSSS TAHMELRSLASE DSAVYFCAR**GT HYFDY**WGQGTT LTVSS	PASLSASVGETVTI TC**RTSENIFSYLA** WYQQKQGISPQLL VY**NAKTLAE**GVPS RFSGSGSGTQFSLK INSLQPEDFGSYYC **QHHYAFPWT**FGG GSKLEIK
RG7686	GC33	GPC3	QVQLVQSGAEV KKPGASVKVSCK ASGYTFT**DYEM H**WVRQAPGQGL EWMG**ALDPKTG DTAYSQKFKG**R VTLTADKSTSTA YMELSSLTSED TAVYYCTR**FYSY TY**WGQGTLVTV SS	DVVMTQSPLSLPV TPGEPASISC**RSSQ SLVHSNGNTYLH** WYLQKPGQSPQLL IY**KVSNRFS**GVPD RFSGSGSGTDFTLK ISRVEAEDVGV YYC**SQNTHVPPT**F GQGTKLEIK
	4A6	GPC3	EVQLVQSGAEVK KPGESLKISCKGS GYSFT**SYWIA**WV	EIVLTQSPGTLSLSP GERATLSC**RAVQS VSSSYLA**WYQQKP

商品名称	抗体名称	靶标	VH 序列	VL 序列
			RQMPGKGLEWMGIIFPGDSDTRYSPSFQGQVTISADRSIRTAYLQWSSLKASDTALYYCARTREGYFDYWGQGTLVTVSS	GQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPTFGGGTKVEIK
	11E7	GPC3	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWIAWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSIRTAYLQWSSLKASDTAMYYCARTREGYFDYWGQGTLVTVSS	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPTFGGGTKVEIK
	16D10	GPC3	EVQLVQSGADVTKPGESLKISCKVSGYRFTNYWIGWMRQMSGKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGHVTISADKSINTAYLRWSSLKASDTAIYYCARTREGFFDYWGQGTPVTVSS	EILLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPTFGQGTKVEIK
AMG-595		HER1(EGFR)	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSDKYYADSVRGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYDILTGNPRDFDYWGQGTLVTVSS	DTVMTQTPLSSHVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRLLIYRISRRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLEISRVEAEDVGVYYCMQSTHVPRTFGQGTKVEIK
Erubitux™	cetutximab	HER1(EGFR)	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSGGNTDYNTPFTSRLSINKD	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIAD

商品名称	抗体名称	靶标	VH 序列	VL 序列
			NSKSQVFFKMNSLQSNDTAIYYCARALTYYDYEFAYWGQGTLVTVSA	YYCQQNNNWPTTFGAGTKLELK
GA201	Imgatuzumab	HER1(EGFR)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFTFTDYKIHWVRQAPGQGLEWMGYFNPNSGYSTYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLSPGGYYVMDAWGQGTTVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGINNYLNWYQQKPGKAPKRLIYNTNNLQTGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSFPTFGQGTKLEIK
Humax	扎芦木单抗	HER1(EGFR)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGITMVRGVMKDYFDYWGQGTLVTVSS	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSALVWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSESGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIK
IMC-11F8	奈普木单抗	HER1(EGFR)	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTDYNPSLKSRVTMSVDTSKNQFSLKVNSVTAADTAVYYCARVSIFGVGTFDYWGQGTLVTVSS	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCHQYGSTPLTFGGGTKAEIK
MM-151	P1X	HER1(EGFR)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGSIIPIFGTVNYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDPSVNLY	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWWAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQYHAHPTTFGGGTKVEIK

商品名称	抗体名称	靶标	VH 序列	VL 序列
			WYFDLWGRGTLVTVSS	
MM-151	P2X	HER1(EGFR)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFG**SYAIS**WVRQAPGQGLEWMG**SIIPIFGAANPAQKSQG**RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAK**MGRGKVAFDI**WGQGTMVTVSS	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSQSVLYSPNNKNYLA**WYQQKPGQPPKLLIY**WASTRES**GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC**QQYYGSPIT**FGGGTKVEIK
MM-151	P3X	HER1(EGFR)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT**SYGIN**WVRQAPGQGLEWMG**WISAYNGNTYYAQKLRG**RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR**DLGGYGSGSVPFDP**WGQGTLVTVSS	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC**RASQSVSSNLA**WYQQKPGQAPRLLIY**GASTRAT**GIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYC**QDYRTWPRRV**FGGGTKVEIK
TheraCIM	尼妥珠单抗	HER1(EGFR)	QVQLQQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFT**NYYIY**WVRQAPGQGLEWIG**GINPTSGGSNFNEKFKT**RVTITADESSTTAYMELSSLRSEDTAFYFCTR**QGLWFDSDGRGFDF**WGQGTTVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RSSQNIVHSNGNTYLD**WYQQTPGKAPKLLIY**KVSNRFS**GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYC**FQYSHVPWT**FGQGTKLQIT
Vectibix™	panitumimab	HER1(EGFR)	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS**GGSVSSGDYY**WTWIRQSPGKGLEWIGH**IYYSGNT**NYNPSLKSRLTISIDTSKTQFSLKLSSVTAADTAIYYC**VRDRVTGAFDI**WGQGTMVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS**QDISNY**LNWYQQKPGKAPKLLIY**DAS**NLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYFC**QHFDHLPLA**FGGGTKVEIK
07D06		HER1(EGFR)	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKAS	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSS**Q**

商品名称	抗体名称	靶标	VH 序列	VL 序列
			GYTFTEYPIHWVKQAPGKGFKWMGMIYTDIGKPTYAEEFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNEDTATYFCVRDRYDSLFDYWGQGTTLTVSS	SLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHVPWTFGGGTKLEIK
12D03		HER1(EGFR)	EMQLVESGGGFVKPGGSLKLSCAASGFAFSHYDMSWVRQTPKQRLEWVAYIASGGDITYYADTVKGRFTISRDNAQNTLYLQMSSLKSEDTAMFYCSRSSYGNNGDALDFWGQGTSVTVSS	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHVLTFGSGTKLEIK
	C1	HER2	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMGWVRQAPGKGLEWVSSISGSSRYIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKMDASGSYFNFWGQGTLVTVSS	QSPSFLSAFVGDRITITCRASPGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLSFGGGTKVEIK
Erbicin		HER2	QVQLLQSAAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAVYYCARWRDSPLWGQGTLVTVSS	QAVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTSYYPSWYQQTPGQAPRTLIYSTNTRSSGVPDRFSGSILGNKAALTITGAQADDESDYYCVLYMGSGQYVFGGGTKLTVL
Herceptin	曲妥珠单抗	HER2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQ	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYT

商品名称	抗体名称	靶标	VH 序列	VL 序列
			MNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS	TPPTFGQGTKVEIK
MAGH22	margetuximab	HER2	QVQLQQSGPELVKPGASLKLSCTASGFNIKDTYIHWVKQRPEQGLEWIGRIYPTNGYTRYDPKFQDKATITADTSSNTAYLQVSRLTSEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGASVTVSS	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVNTAVAWYQQKPGHSPKLLIYSASFRYTGVPDRFTGSRSGTDFTFTISSVQAEDLAVYYCQQHYTTPPTFGGGTKVEIK
MM-302	F5	HER2	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGRGDNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKMTSNAFAFDYWGQGTLVTVSS	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYGVHWYQQLPGTAPKLLIYGNTNRPSGVPDRFSGFKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQFYDSSLSGWVFGGGTKLTVL
Perjeta	帕妥珠单抗	HER2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIK
MM-121/ SAR256212		HER3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMAWVRQAPGKGLEWVSSISSSGGWTLYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRGLKMATIFDYWGQGTLVT	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNVVSWYQQHPGKAPKLIIYEVSQRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQTEDEADYYCCSYAGSSIFVIFGGGTKVTVL

商品名称	抗体名称	靶标	VH 序列	VL 序列
			VSS	
MEHD7945A	Duligotumab	HER1(EGFR)/HER3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLS**GDWIH**WVRQAPGKGLEWVG**EISAAGGYTDYADSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**ESRVSFEAAMDY**WGQGTLVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQNIATDVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASFLYS**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSEPEPYT**FGQGTKVEIK
MM-111		HER2/3	QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS**SYWMS**WVRQAPGKGLEWVA**NINRDGSASYYVDSVKG**RFTISRDDAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DRGVGYFDL**WGRGTLVTVSS	QSALTQPASVSGSPGQSITISC**TGTSSDVGGYNFVS**WYQQHPGKAPKLMIY**DVSDRPS**GVSDRFSGSKSGNTASLIISGLQADDEADYYC**SSYGSSSTHVI**FGGGTKVTVL
MM-111		HER2/3	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT**SYWIA**WVRQMPGKGLEYMG**LIYPGDSDTKYSPSFQG**QVTISVDKSVSTAYLQWSSLKPSDSAVYFCAR**HDVGYCTDRTCAKWPEWLGY**WGQGTLVTVSS	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISC**SGSSSNIGNNYVS**WYQQLPGTAPKLLIY**DHTNRPA**GVPDRFSGSKSGTSASLAISGFRSEDEADYYC**ASWDYTLSGWV**FGGGTKLTVL
	Hu3S193	Lewis-Y	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSTSGFTFS**DYYMY**WVRQAPGKGLEWVA**YMSNVGAITDYPDTVKG**RFTISRDNSKNTLFLQMDSLRPEDTGVYFCAR**GTRDGSWFAY**WGQGTPVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RSSQRIVHSNGNTYLE**WYQQTPGKAPKLLIY**KVSNRFS**GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYC**FQGSHVPFT**FGQGTKLQIT
BAY 94-9343	anetumab	间皮素	QVELVQSGAEVK	DIALTQPASVSGSP

商品名称	抗体名称	靶标	VH 序列	VL 序列
	ravtansine		KPGESLKISCKGS **GYSFTSYW**IGW VRQAPGKGLEW MGI**IDPGDSRT**R YSPSFQGQVTISA DKSISTAYLQWS SLKASDTAMYYC **ARGQLYGGTY** **MDG**WGQGTLVT VSS	GQSITISCTGT**SSDI** **GGYNS**VSWYQQH PGKAPKLMIY**GVN** NRPSGVSNRFSGSK SGNTASLTISGLQA EDEADYYC**SSYDI** **ESATPV**FGGGTKL TVL
	SS1	间皮素	QVQLQQSGPELE KPGASVKISCKA SGYSFTGYTMN WVKQSHGKSLE WIGLITPYNGASS YNQKFRGKATLT VDKSSSTAYMDL LSLTSEDSAVYFC ARGGYDGRGFD YWGQGTTVTVSS	DIELTQSPAIMSAS PGEKVTMTCSASS SVSYMHWYQQKS GTSPKRWIYDTSK LASGVPGRFSGSGS GNSYSLTISSVEAE DDATYYCQQWSG YPLTFGAGTKLEIK
		间皮素	QVYLVESGGGV VQPGRSLRLSCA ASGITFS**IYGMH** WVRQAPGKGLE WVA**VIWYDGSH** **EYYADSVKG**RFT ISRDNSKNTLYLL MNSLRAED TAVYYCAR**DGD** **YYDSGSPLDY**W GQGTLVTVSS	EIVLTQSPATLSLSP GERATLSC**RASQS** **VSSYLA**WYQQKP GQAPRLLIY**DASN** **RAT**GIPARFSGSGS GTDFTLTISSLEPED FAVYYC**QQ** **RSNWPLT**FGGGTK VEIK
		间皮素	QVHLVESGGGV VQPGRSLRLSCV ASGITF**RIYGM**H WVRQAPGKGLE WVA**VLWYDGS** **HEYYADSVKG**R FTISRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAIYYCAR**DGDY** **YDSGSPLDY**WG QGTLVTVSS	EIVLTQSPATLSLSP GERATLSC**RASQS** **VSSYLA**WYQQKP GQAPRLLIY**DASN** **RAT**GIPARFSGSGS GTDFTLTISSLEPED FAVYYC**QQ** **RSNWPLT**FGGGTK VEIK
		间皮素	EVHLVESGGGLV QPGGSLRLSCAA SGFTFS**RYWMS** WVRQAQGKGLE WVA**SIKQAGSE**	EIVLTQSPGTLSLSP GERATLSC**RASQS** **VSSSYLA**WYQQKP GQAPRLLIY**GASSR** **AT**GIPDRFSGSGSG

商品名称	抗体名称	靶标	VH 序列	VL 序列
			KTYVDSVKGRF TISRDNAKNSLSL QMNSLRAED TAVYYCAREGA YYYDSASYYPYY YYYSMDVWGQG TTVTVSS	TDFTLTISRLEPEDF AVYYCQ QYGSSQYTFGQGT KLEIK
MORAb-009	amatuximab	间皮素	QVQLQQSGPELE KPGASVKISCKA SGYSFTGYTMN WVKQSHGKSLE WIGLITPYNGAS SYNQKFRGKAT LTVDKSSSTAYM DLLSLTSEDSAV YFCARGGYDGR GFDYWGSGTPV TVSS	DIELTQSPAIMSAS PGEKVTMTCSASS SVSYMHWYQQKS GTSPKRWIYDTSK LASGVPGRFSGSGS GNSYSLTISSVEAE DDATYYCQQWSK HPLTFGSGTKVEIK
hPAM4		MUC-1	EVQLQESGPELV KPGASVKMSCK ASGYTFPSYVLH WVKQKPGQGLE WIGYINPYNDGT QYNEKFKGKAT LTSDKSSSTAYM ELSRLTSED SAVYYCARGFG GSYGFAYWGQG TLITVSA	DIVMTQSPAIMSAS PGEKVTMTCSASS SVSSSYLYWYQQK PGSSPKLWIYSTSN LASGVPARFSGSGS GTSYSLTISSMEAE DAASYFCH QWNRYPYTFGGG TKLEIK
hPAM4-Cide	clivatuzumab	MUC1	QVQLQQSGAEV KKFGASVKVSCE ASGYTFPSYVLH WVKQAPGQGLE WIGYINPYNDGT QTNKKFKGKAT LTRDTSINTAYM ELSRLRSDDTAV YYCARGFGGSY GFAYNGQGTLV TVSS	DIQLTQSPSSLSAS VGDRVTMTCSASS SVSSSYLYWYQQK PGKAPKLWIYSTS NLASGVPARFSGS GSGTDFTLTISSLQ PEDSASYFCHQWN RYPYTFGGGTRLEI K
SAR566658	huDS6v1.01	MUC1	QAQLQVSGAEV VKPGASVKMSC KASGYTFTSYNM HWVKQTPGQGL EWIGYIYPGNGA TNYNQKFQGKA TLTADTSSSTAY	EIVLTQSPATMSAS PGERVTITCSAHSS VSFMHWFQQKPG TSPKLWIYSTSSLA SGVPARFGGSGSG TSYSLTISSMEAED AATYYCQQRSSFP

商品名称	抗体名称	靶标	VH 序列	VL 序列
			MQISSLTSEDSAVYFCAR**GDSVPFAY**WGQGTLVTVSA	**LT**FGAGTKLELK
Theragyn	Pemtumomab muHMFG1	MUC1	QVQLQQSGAELMKPGASVKISCKATGYTFS**AYWIE**WVKQRPGHGLEWIG**EILPGSNNSRYNEKFKG**KATFTADTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYYCSR**SYDFAWFAY**WGQGTPVTVSA	DIVMSQSPSSLAVSVGEKVTMSC**KSSQSLLYSSNQKIYLA**WYQQKPGQSPKLLIYW**ASTRES**GVPDRFTGGGSGTDFTLTISSVKAEDLAVYYC**QQYYRYPRT**FGGGTKLEIK
Therex	松妥珠单抗 huHMFG1 AS1402 R1150	MUC1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFS**AYWIE**WVRQAPGKGLEWVG**EILPGSNNSRYNEKFKG**RVTVTRDTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**SYDFAWFAY**WGQGTLVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**KSSQSLLYSSNQKIYLA**WYQQKPGKAPKLLIYW**ASTRES**GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYC**QQYYRYPRT**FGQGTKVEIK
MDX-1105 或 BMS-936559		PD-L1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKTSGDTFS**TYAIS**WVRQAPGQGLEWMG**GIIPIFGKAHYAQKFQG**RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCAR**KFHFVSGSPFGMDV**WGQGTTVTVSS	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSYLA**WYQQKPGQAPRLLIY**DASNRAT**GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC**QQRSNWPT**FGQGTKVEIK
MEDI-4736	durvalumab	PD-L1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSRYW**MSWVRQAPGKGLEWVAN**IKQDGSEK**YYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC**AREGGWFGELAFDY**WGQG	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRAS**QRVSSSY**LAWYQQKPGQAPRLLIY**DAS**SRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSLPWT**FGQGTKVEIK

商品名称	抗体名称	靶标	VH 序列	VL 序列
			TLVTVSS	
MPDL3280A	atezolizumab	PD-L1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIK
MSB0010718C	avelumab	PD-L1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGITFYADTVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIKLGTVTTVDYWGQGTLVTVSS	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTRVFGTGTKVTVL
MLN591		PSMA	EVQLVQSGPEVKKPGATVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQAPGKGLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDKATLTVDKSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTLLTVSS	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTLTCKASQDVGTAVDWYQQKPGPSPKLLIYWASTRHTGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYYCQQYNSYPLTFGPGTKVDIK
MT112	pasotuxizumab	PSMA	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDSYPYTFGGGTKLEIK
		ROR1	QEQLVESGGRLVTPGGSLTLSCKASGFDFSAYYMSW	ELVLTQSPSVSAALGSPAKITCTLSSAHKTDTIDWYQQLQ

商品名称	抗体名称	靶标	VH 序列	VL 序列
			VRQAPGKGLEWIA**TIYPSSGKTYYATWVNG**RFTISSDNAQNTVDLQMNSLTAADRATYFCAR**DSYADDGALFNI**WGPGTLVTISS	GEAPRYLMQVQSD**GSYTKRP**GVPDRFSGSSSGADRYLIIPSVQADDEADYYC**GADYIGGYV**FGGGTQLTVTG
		ROR1	EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFS**SYAMS**WVRQIPEKRLEWVA**SISRGGTTYYPDSVKG**RFTISRDNVRNILYLQMSSLRSEDTAMYYCGR**YDYDGYYAMDY**WGQGTSVTVSS	DIKMTQSPSSMYASLGERVTITC**KASPDINSYLS**WFQQKPGKSPKTLIY**RANRLVD**GVPSRFSGGGSGQDYSLTINSLEYEDMGIYYC**LQYDEFPYT**FGGGTKLEMK
		ROR1	QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGIDLN**SHWMS**WVRQAPGKGLEWIG**IIAASGSTYYANWAKG**RFTISKTSTTVDLRIASPTTEDTATYFCAR**DYGDYRLVTFNI**WGPGTLVTVSS	ELVMTQTPSSVSAAVGGTVTINC**QASQSIGSYLA**WYQQKPGQPPKLLIY**YASNLAS**GVPSRFSGSGSGTEYTLTISGVQREDAATYYC**LGSLSNSDNV**FGGGTELEIL
		ROR1	QSVKESEGDLVTPAGNLTLTCTASGSDIN**DYPIS**WVRQAPGKGLEWIG**FINSGGSTWYASWVKG**RFTISRTSTTVDLKMTSLTTDDTATYFCAR**GYSTYYCDFNI**WGPGTLVTISS	ELVMTQTPSSTSGAVGGTVTINC**QASQSIDSNLA**WFQQKPGQPPTLLIY**RASNLAS**GVPSRFSGSRSGTEYTLTISGVQREDAATYYC**LGGVGNVSYRTS**FGGGTEVVVK
CC49 (人源化)		TAG-72	QVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGYTFT**DHAIH**WVKQNPGQRLEWIG**YFSPGNDDFKYNERFKG**KAT	DIVMSQSPDSLAVSLGERVTLNCKSS**QSLLYSGNQKNYLA**WYQQKPGQSPKLLIY**WASARES**GVPDRFSGSGSGTDFTL

商品名称	抗体名称	靶标	VH 序列	VL 序列
			LTADTSASTAYV ELSSLRSEDTAV YFCTR**SLNMAY** WGQGTLVTVSS	TISSVQAEDVAVY YC**QQYYSYPLT**FG AGTKLELK
	鼠 A1	TPBG/5T4	QIQLVQSGPELK KPGETVKISCKAS **GYTFTNFGMN**W VKQGPGEGLKW MG**WINTNTGEP RYAEEFKG**RXA FSLETTASTAYLQ INNLKNEDTATY FCAR**DWDGAYF FDY**WGQGTTLT VSS	SIVMTQTPKFLLVS AGDRVTITC**KASQ SVSNDVA**WYQQK PGQSPKLLIN**FATN RYT**GVPNRFTGSG YGTDFTFTISTVQA EDLALYFC**QQ DYSSPWT**FGGGTK LEIK
	鼠 A2	TPBG/5T4	QVQLQQSRPELV KPGASVKMSCK AS**GYTFTDYVIS** WVKQRTGQGLE WIG**EIYPGSNSIY YNEKFKG**RATL TA DKSSSTAYMQLS SLTSEDSAVYFC AM**GGNYGFDY** WGQGTTLTVSS	SVIMSRGQIVLTQS PAIMSASLGERVTL TC**TASSSVNSNYL H**WYQQKPGSSPKL WIY**STSNLAS**GVP ARFSGSGSGTSYSL TISSMEAEDAATY YC**HQYHRSPLT**FG AGTKLELK
	鼠 A3	TPBG/5T4	EVQLVESGGGLV QPKGSLKLSCAA **SGFTFNTYAMN** WVRQAPGKGLE WVA**RIRSKSNN YATYYADSVKD** RFTISRDDSQSML YLQMNNLKTED TAMYXCVR**QWD YDVRAMNY**WG QGTSVTVSS	DIVMTQSHIFMSTS VGDRVSITC**KASQ DVDTAVA**WYQQK PGQSPKLLIY**WAS TRLT**GVPDRFTGS GSGTDFTLTISNVQ SEDLADYFC**QQ YSSYPYT**FGGGTK LEIK
IMMU-132	hRS-7	TROP-2	QVQLQQSGSELK KPGASVKVSCKA SGYTFT**NYGMN** WVKQAPGQGLK WMG**WINTYTGE PTYTDDFKG**RFA FSLDTSVSTAYL QISSLKADDTAV YFCAR**GGFGSSY WYFDV**WGQGSL	DIQLTQSPSSLSAS VGDRVSITC**KASQ DVSIAVA**WYQQKP GKAPKLLIY**SASYR YT**GVPDRFSGSGS GTDFTLTISSLQPE DFAVYYC**QQHYIT PLT**FGAGTKVEIK

商品名称	抗体名称	靶标	VH 序列	VL 序列
			VTVSS	
IMC-18F1	icrucumab	VEGFR1	QAQVVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFAFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYYADSVRGRFTISRDNSENTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDHYGSGVHHYFYYGLDYWGQGTTVTVSS	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGGGTKVEIK
Cyramza	雷莫芦单抗	VEGFR2	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVTDAFDIWGQGTMVTVSSA	DIQMTQSPSSVSASIGDRVTITCRASQGIDNWLGWYQQKPGKAPKLLIYDASNLDTGVPSRFSGSGSGTYFTLTISSLQAEDFAVYFCQQAKAFPPTFGGGTKVDIK
g165DFM-PEG	培化阿珠单抗(alacizumabpegol)	VEGFR2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVATITSGGSYTYYVDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRIGEDALDYWGQGTLVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIAGSLNWLQQKPGKAIKRLIYATSSLDSGVPKRFSGSRSGSDYTLTISSLQPEDFATYYCLQYGSFPPTFGQGTKVEIK
Imclone6.64		VEGFR2	KVQLQQSGTELVKPGASVKVSCKASGYIFTEYIIHWVKQRSGQGLEWIGWLYPESNIIKYNEKFKDKATLTADKSSSTVYMELSRLTSEDSAVYFCTRHDGTNFDYWGQGTTLTVSSA	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGNSFMHWYQQKPGQPPKLLIYRASNLESGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYYCQQSNEDPLTFGAGTKLELK

*加下划线和粗体的序列，如果存在，是VL和VH内的CDR

[0200] 测量本发明主题组合物的结合亲和力和/或其他生物活性的方法可以是本文公开的那些方法或本领域通常已知的方法。例如，表示为K_d的结合对(例如抗体和抗原)的结合亲和力可以使用各种适当的测定来确定，所述测定包括但不限于放射性结合测定、非放射性结合测定如荧光共振能量转移和表面等离子体共振(SPR，Biacore)，以及酶联免疫吸附

测定(ELISA)、动力学排斥测定(KinExA®)或如实施例中所述。例如,相比于附接有填充部分的嵌合多肽组装体,已被切割以移除填充部分的嵌合多肽组装体的结合亲和力的增加或降低,可通过测量该嵌合多肽组装体对其含有和不含有填充部分的靶结合配偶体的结合亲和力来测定。

[0201] 所述主题嵌合组装体的半衰期的测量可以通过各种适当的方法来进行。例如,物质的半衰期可以通过将该物质施用于受试者并定期对生物样品(例如生物流体,诸如血液或血浆或腹水)采样以测定随着时间的推移样品中该物质的浓度和/或量来确定。生物样品中物质的浓度可以用各种适当的方法测定,包括:酶联免疫吸附测定(ELISA)、免疫印迹法以及色谱技术,包括高压液相色谱法和快速蛋白质液相色谱法。在一些情况下,该物质可以用可检测标签标记,诸如放射性标签或荧光标签,其可以用来测定样品(例如血液样品或血浆样品)中物质的浓度。然后根据结果确定各种药代动力学参数,其可以使用诸如SoftMax Pro软件等软件包完成,或者通过本领域已知的手工计算完成。

[0202] 此外,可以测量所述嵌合多肽组装体组合物的物理化学性质以确定溶解度、结构和稳定性保持度。对主题组合物进行测定,这允许确定结合域对配体的结合特征,包括结合解离常数(K_d、K_{on}和K_{off})、配体-受体复合物解离的半衰期,以及与游离配体相比,结合域抑制隔离配体的生物活性的活性(IC_{50}值)。术语“IC_{50}”是指抑制配体激动剂最大生物学响应的一半所需的浓度,并且通常由竞争结合测定来确定。术语“EC_{50}”是指达到活性物质的最大生物响应的一半所需的浓度,并且通常通过ELISA或基于细胞的试验来测定,包括在此描述的实施例的方法。

(i)抗CD3结合域

[0203] 在一些实施方案中,本发明提供了嵌合多肽组装体组合物,其包含对T细胞具有结合亲和力的第一部分的结合域。在一个实施方案中,第二部分的结合域包含源自针对CD3抗原的单克隆抗体的VL和VH。在另一个实施方案中,结合域包含源自CD3ε和CD3δ的单克隆抗体的VL和VH。针对CD3 neu的单克隆抗体在本领域中是已知的。针对CD3的单克隆抗体的VL和VH序列的示例性非限制性实例在表1中列出。在一个实施方案中,本发明提供了一种嵌合多肽组装体,其包含对CD3具有结合亲和力的结合域,该结合域包含表1中所列的抗CD3 VL和VH序列。在另一个实施方案中,本发明提供了一种嵌合多肽组装体,其包含对CD3ε具有结合亲和力的第一部分的结合域,该结合域包含表1所列的抗CD3ε VL和VH序列。在另一个实施方案中,本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物,其中第一部分的scFv第二结合域包含VH和VL区,其中每一个VH和VL区显示出与表1的huUCHT1抗CD3抗体的成对VL和VH序列的至少约90%、或91%、或92%、或93%、或94%、或95%、或96%、或97%、或98%、或99%的同一性或完全相同。在另一个实施方案中,本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物,其包含对CD3具有结合亲和力的结合域,该结合域包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区,其中每个区域源自表1所列的各自的抗CD3 VL和VH序列。在另一个实施方案中,本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物,其包含对CD3具有结合亲和力的结合域,该结合域包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H区、CDR-H2区和CDR-H3区,其中所述CDR序列为RASQDIRNYLN、YTSRLES、QQGNTLPWT、GYSFTGYTMN、LINPYKGVST和SGYYGDSDWYFDV。

[0204] CD3复合物是一组细胞表面分子,它们与T细胞抗原受体(TCR)相关联,并且在TCR的细胞表面表达中起作用,以及在当肽:MHC配体与TCR结合时发生的信号转导级联中起作

用。通常，当抗原与T细胞受体结合时，CD3通过细胞膜将信号发送到T细胞内的细胞质中。这导致T细胞的激活，T细胞迅速分裂产生致敏的新T细胞，以攻击TCR所暴露的特定抗原。CD3复合物由CD3ε分子以及四个其他膜结合多肽(CD3-γ、CD3-δ、CD3-ζ和CD3-β)组成。在人类中，CD3-ε由染色体11上的CD3E基因编码。每一个CD3链的细胞内结构域含有基于免疫受体酪氨酸的活化基序(ITAM)，ITAM作为T细胞受体接合后细胞内信号转导机制的成核点。

[0205] 许多治疗策略通过靶向TCR信号来调节T细胞免疫，特别是在临床上广泛用于免疫抑制方案的抗人CD3单克隆抗体(mAb)。CD3特异性小鼠mAb OKT3是第一个被许可用于人类mAb(Sgro,C.Side-effects of a monoclonal antibody,muromonab CD3/orthoclone OKT3:bibliographic review.Toxicology 105:23-29,1995)，并在临床上作为免疫抑制剂广泛用在移植(Chatenoud,Clin.Transplant 7:422-430,(1993);Chatenoud,Nat.Rev.Immunol.3:123-132(2003);Kumar,Transplant.Proc.30:1351-1352(1998))、1型糖尿病和牛皮癣中。重要的是，抗CD3 mAb可以诱导部分T细胞信号传导和克隆无反应性(Smith,JA,Nonmitogenic anti-CD3 monoclonal antibodies Deliver a Partial T Cell Receptor Signal and Induce Clonal Anergy J.Exp.Med.185:1413-1422(1997))。文献中已将OKT3描述为T细胞分裂素以及有效的T细胞杀伤物(Wong,JT.The mechanism of anti-CD3 monoclonal antibodies.Mediation of cytolysis by inter-T cell bridging.Transplantation 50:683-689(1990))。特别是Wong的研究表明，通过桥接CD3T细胞和靶细胞，可以实现靶标的杀伤，并且FcR介导的ADCC和补体固定对于二价抗CD3 MAB裂解靶细胞都是不必要的。

[0206] OKT3以时间依赖性方式显示促有丝分裂和T细胞杀伤活性；在T细胞的早期活化之后导致细胞因子释放，在进一步施用后，OKT3稍后阻断了所有已知的T细胞功能。正是由于后来T细胞功能的阻断，OKT3在治疗方案中作为免疫抑制剂被广泛应用，以减少或甚至消除同种异体移植组织排斥反应。其他对CD3分子特异性的抗体在Tunnacliffe,Int.Immunol.1(1989),546-50中公开，WO2005/118635和WO2007/033230描述了抗人单克隆CD3ε抗体，美国专利5,821,337描述了鼠抗CD3单克隆Ab UCHT1的VL和VH序列(muxCD3,Shalaby等人，J.Exp.Med.175,217-225(1992))以及该抗体的人源化变体(hu UCHT1)，而美国专利申请20120034228公开了能够与人和非黑猩猩灵长类CD3ε链的表位结合的结合域。

(ii)抗-EpCAM结合域

[0207] 在一些实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物EpCAM具有结合亲和力的结合域。在一个实施方案中，结合域包含源自针对EpCAM的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知EpCAM的单克隆抗体。EpCAM单克隆抗体及其VL和VH序列的示例性非限制性实例在表2中列出。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物EpCAM具有结合亲和力的结合域，该结合域包含表2所列的抗-EpCAM VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其中第一部分的第一结合域包含VH和VL区，其中每一个VH和VL区显示出与表2的4D5MUCB抗-EpCAM抗体的成对VL和VH序列至少约90％、或91％、或92％、或93％、或94％、或95％、或96％、或97％、或98％、或99％的同一性或完全相同。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的结合域，该结合域包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每

一个源自表2所列的各自的VL和VH序列。

[0208] 上皮细胞粘附分子(EpCAM,也被称为17-1A抗原)是在某些上皮中和在许多人肿瘤上表达的由314个氨基酸组成的40-kDa膜整合糖蛋白(参见Balzar,The biology of the 17-1Aantigen(Ep-CAM),J.Mol.Med.1999,77:699-712)。EpCAM最初通过使用由结肠癌细胞免疫小鼠产生的鼠单克隆抗体17-1A/依决洛单抗而发现(Goettlinger,Int J Cancer.1986;38,47-53和Simon,Proc.Natl.Acad.Sci.USA.1990;87,2755-2759)。由于其上皮细胞起源,来自大多数癌的肿瘤细胞在其表面表达EpCAM(比正常的健康细胞更多),包括大部分原发性、转移性和播散性非小细胞肺癌细胞(Passlick,B.,等人,The 17-1A antigen is expressed on primary,metastatic and disseminated non-small cell lung carcinoma cells.Int.J.cancer 87(4):548-552,2000),胃和食管-胃接合处腺癌(Martin,I.G.,17-1Aantigen in gastric and gastro-oesophageal junction adenocarciomas:a potential immunotherapeutic target?J Clin Pathol 1999;52:701-704),以及乳腺癌和结直肠癌(Packeisen J,等人,Dentection of surface antigen 17-1S in breast and colorectal cancer.Hybridoma.1999 18(1):37-40),因此,这是免疫治疗方法的有吸引力的靶标。事实上,EpCAM的表达增加与增加的上皮增殖相关;在乳腺癌中,EpCAM在肿瘤细胞上的过表达是存活的预测指标(Gastl,Lancet.2000,356,1981-1982)。由于其上皮细胞起源,来自大多数癌的肿瘤细胞仍然在其表面上表达EpCAM,并且靶向肿瘤细胞上的EpCAM并且还含有CD3结合区的双特异性solitomab单链抗体组合物已经被提出用于针对原代子宫和卵巢CS细胞系(Ferrari F,等人,Solitomab,anEpCAM/CD3bispecific antibody construct(BiTE®),is highly active against primary uterine and ovarian carcino cancer cell lines in vitro.J Exp Clin癌症Res.2015 34:123)。

[0209] EpCAM的单克隆抗体是本领域已知的。EpCAM单克隆ING-1、3622W94、阿德木单抗和依决洛单抗已经被描述为在人类患者中已经进行了测试(Münz,M.Side-by-side analysis of five clinically tested anti-EpCAM monoclonal antibody cancer Cell International,10:44-56,2010)。针对EpCAM和针对CD3的双特异性抗体也已经描述,其包括通过融合产生针对EpCAM的单克隆抗体的杂交瘤与两种杂交瘤OKT3和9.3中的任一种来构建两种不同的双特异性抗体(Möller,SA,Reisfeld,RA,Bispecific-monoclonal-antibody-directed lysis of ovarian tumour cells by activated human T lymphocytes.Cancer Immunol.Immunother.33:210-216,1991)。针对EpCAM的双特异性抗体的其他实例包括BiUII,(抗CD3(大鼠)x抗EpCAM(小鼠))(Zeidler,J.Immunol.,1999,163:1247-1252)、scFv CD3/17-1A双特异性(Mack,M.A small bispecific antibody composition expressed as a functional single-chain molecule with high tumor cell cytotoxicity.Proc.Natl.Acad.Sci.,1995,92:7021-7025)以及具有抗CD3和抗EpCAM特异性的部分人源化双特异性双抗体(Helfrich,W.Construction and characterization of a bispecific bispecific antibody for retargeting T cells to human tumors.Int.J.Cancer,1998,76:232-239)。

[0210] 在一个实施方案中,本文所提供的是具有第一部分的双特异性嵌合多肽组装体组合物,该第一部分具有EpCAM特异性结合域和CD3特异性结合域。待解决的技术部分是提供

用于产生改进的组合物的手段和方法，所述改进的组合物表现出对于有效治疗和/或改善肿瘤疾病为良好耐受且更方便的药物(给药频率较低)的性质。所述技术问题的解决方案通过本文公开的实施方案来实现，并且在权利要求书中表征。

[0211] 因此，在一些实施方案中，本发明涉及一种嵌合多肽组装体组合物，由此所述组合物包含含有双特异性单链抗体组合物的第一部分，所述第一部分包含至少两个结合域，由此所述结构域之一结合效应细胞抗原，诸如CD3抗原，并且第二结构域结合EpCAM抗原，其中所述结合域包含EpCAM特异性VL和VH以及人CD3抗原特异性VL和VH。优选地，在该实施方案中，所述EpCAM特异性结合域具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。在前述的一个实施方案中，所述结合域是scFv形式。在前述的另一个实施方案中，所述结合域是单链双抗体形式。

(iii)抗CCR5结合域

[0212] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物CCR5具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对CCR5的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对CCR5的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物CCR5具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗CCR5 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区、CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(iv)抗CD19结合域

[0213] 在一些实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物CD19具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对CD19的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对CD19的单克隆抗体。VL和VH序列的示例性非限制性实例在表2中列出。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物CD19具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含表2所列的抗CD19 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其中scFv第二结合域包含VH和VL区，其中每一个VH和VL区显示出与表2中MT103抗CD19抗体的成对VL和VH序列至少约90％、或91％、或92％、或93％、或94％、或95％、或96％、或97％、或98％、或99％的同一性或完全相同。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自表2所列的各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(v)抗HER-2结合域

[0214] 在一些实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物HER-2具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对HER-2的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对HER-2的单克隆抗体。VL和VH序列的示例性非限制性实例在表2中列出。在一个实

施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物HER-2具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含表2所列的抗HER-2 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自表2所列的各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(vi)抗HER-3结合域

[0215] 在一些实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物HER-3具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对HER-3的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对HER-3的单克隆抗体。VL和VH序列的示例性非限制性实例在表2中列出。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物HER-3具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含表2所列的抗HER-3 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自表2所列的各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(vii)抗HER-4结合域

[0216] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物HER-4具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对HER-4的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对HER-4的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物HER-4具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗HER-4 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(viii)抗EGFR结合域

[0217] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物EGFR具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对EGFR的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对EGFR的单克隆抗体。VL和VH序列的示例性非限制性实例在表2中列出。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物EGFR具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含表2所列的抗EGFR VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自表2所列的各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(ix)抗PSMA结合域

[0218] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物PSMA具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对PSMA的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对PSMA的单克隆抗体。VL和VH序列的示例性非限制性实例在表2中列出。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物PSMA具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗表2所列的PSMA VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自表2所列的各自的VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自表2所列的各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(x)抗CEA结合域

[0219] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物CEA具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对CEA的单克隆抗体的V L和VH。本领域已知针对CEA的单克隆抗体。VL和VH序列的示例性非限制性实例在表2中列出。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物CEA具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含表2所列的抗CEA VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自表2所列的各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xi)抗MUC1结合域

[0220] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物MUC1具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对MUC1的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对MUC1的单克隆抗体。VL和VH序列的示例性非限制性实例在表2中列出。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物MUC1具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含表2所列的抗MUC1 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自表2所列的各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xii)抗MUC2结合域

[0221] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物MUC2具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对MUC2的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针

对MUC2的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物MUC2具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗MUC2 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xiii)抗MUC3结合域

[0222] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物MUC3具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对MUC3的单克隆抗体得VL和VH。本领域已知针对MUC3的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物MUC3具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗MUC3 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xiv)抗MUC4结合域

[0223] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物MUC4具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对MUC4的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对MUC4的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物MUC4具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗MUC4 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xv)抗MUC5AC结合域

[0224] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物MUC5AC具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对MUC5AC的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对MUC5AC的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物MUC5AC具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗MUC5AC VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xvi)抗MUC5B结合域

[0225] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物MUC5B具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如

CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对MUC5B的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对MUC5B的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物MUC5B具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗MUC5B VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xvii)抗MUC7结合域

[0226] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物MUC7具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对MUC7的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对MUC7的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物MUC7具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗MUC7 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xviii)抗βhCG结合域

[0227] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物βhCG具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对βhCG的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对βhCG的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物βhCG具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗βhCG VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xix)抗Lewis-Y结合域

[0228] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物Lewis-Y具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对Lewis-Y的单克隆抗体VL和VH。本领域已知针对Lewis-Y的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物Lewis-Y具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含表2所列的抗Lewis-Y VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结

合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xx)抗CD20结合域

[0229] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物CD20具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对CD20的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对CD20的单克隆抗体。VL和VH序列的示例性非限制性实例在表2中列出。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物CD20具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含表2所列的抗CD20 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自表2所列的各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xxi)抗CD33结合域

[0230] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物CD33具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对CD33的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对CD33的单克隆抗体。VL和VH序列的示例性非限制性实例在表2中列出。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物CD33具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含表2所列的抗CD33 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自表2所列的各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xxii)抗CD30结合域

[0231] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物CD30具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对CD30的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对CD30的单克隆抗体。VL和VH序列的示例性非限制性实例在表2中列出。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物CD30具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含表2所列的抗CD30 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自表2所列的各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xxiii)抗神经节苷脂GD3结合域

[0232] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物神经节苷脂GD3具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自神经节苷脂GD3的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对神经节苷脂GD3的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种

嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物神经节苷脂GD3具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗神经节苷脂GD3 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xxiv)抗9-O-乙酰基-GD3结合域

[0233] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物9-O-乙酰基-GD3具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对9-O-乙酰基-GD3的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对9-O-乙酰基-GD3的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物9-O-乙酰基-GD3具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗9-O-乙酰基-GD3 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xxv)抗Globo H结合域

[0234] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物Globo H具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对Globo H的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对Globo H的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物Globo H具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗Globo H VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xxvi)抗岩藻糖基GM1结合域

[0235] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物岩藻糖基GM1具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对岩藻糖基GM1的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对岩藻糖基GM1的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物岩藻糖基GM1具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗岩藻糖基GM1 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xxvii)抗GD2结合域

[0236] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物GD2具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对GD2的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对GD2的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物GD2具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗GD2 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xxviii)抗碳酸酐酶IX结合域

[0237] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物碳酸酐酶IX具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对碳酸酐酶IX的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对碳酸酐酶IX的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物碳酸酐酶IX具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗碳酸酐酶IX VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xxix)抗CD44v6结合域

[0238] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物CD44v6具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对CD44v6的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对CD44v6的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物CD44v6具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗CD44v6 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xxx)抗声猬结合域

[0239] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物声猬具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对声猬的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对声猬的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物声猬具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗声猬VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述

结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xxxi)抗Wue-1结合域

[0240] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物Wue-1具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对Wue-1的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对Wue-1的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物Wue-1具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗Wue-1 VL和VH序列.在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xxxii)抗浆细胞抗原1结合域

[0241] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物浆细胞抗原1具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对浆细胞抗原1的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对浆细胞抗原1的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物浆细胞抗原1具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗浆细胞抗原1 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xxxiii)抗黑素瘤硫酸软骨素蛋白聚糖结合域

[0242] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物黑素瘤硫酸软骨素蛋白聚糖具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对黑素瘤硫酸软骨素蛋白聚糖的单克隆抗体的VL和VH。领域已知针对黑素瘤硫酸软骨素蛋白聚糖本的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物黑素瘤硫酸软骨素蛋白聚糖具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗黑素瘤硫酸软骨素蛋白聚糖VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xxxiv)抗CCR8结合域

[0243] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物CCR8具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对CCR8的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对CCR8的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包

含对肿瘤特异性标志物CCR8具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗CCR8 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xxxv)抗STEAP结合域

[0244] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物前列腺6-跨膜上皮抗原(STEAP)具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对STEAP的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对STEAP的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物STEAP具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗STEAP VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xxxvi)抗间皮素结合域

[0245] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物间皮素具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对间皮素的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对间皮素单的克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物间皮素具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗间皮素VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xxxvii)抗A33抗原结合域

[0246] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物A33抗原具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对A33抗原的单克隆抗体的VL和VH的。本领域已知针对A33抗原的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物A33抗原具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗A33抗原VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xxxviii)抗PSCA结合域

[0247] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物前列腺干细胞抗原(PSCA)具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合

效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对PSCA的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对PSCA的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物PSCA具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗PSCA VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xxxix)抗Ly-6结合域

[0248] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物Ly-6具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对LY-6的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对LY-6的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物LY-6具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗LY-6 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xl)抗SAS结合域

[0249] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物SAS具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对SAS的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对SAS的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物SAS具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗SAS VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xli)抗桥粒芯蛋白4结合域

[0250] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物桥粒芯蛋白4具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对桥粒芯蛋白4的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对桥粒芯蛋白4的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物桥粒芯蛋白4具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗桥粒芯蛋白4 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xlii)抗胎儿乙酰胆碱受体结合域

[0251] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物胎儿乙酰胆碱受体具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对胎儿乙酰胆碱受体的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对胎儿乙酰胆碱受体单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物胎儿乙酰胆碱受体具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗胎儿乙酰胆碱受体VL和VH序列.在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xliii)抗CD25结合域

[0252] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物CD25具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对CD25的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对CD25的单克隆抗体；例如达克珠单抗。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物CD25具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗CD25 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xliv)抗癌抗原19-9结合域

[0253] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物癌抗原19-9(CA 19-9)具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对CA 19-9的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对CA 19-9的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物CA 19-9具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗癌抗原19-9 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xlv)抗CA-125结合域

[0254] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物癌抗原125(CA-125)具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对CA-125的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对CA-125的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物CA-125具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗CA-125VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、

CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xlvi)抗MISIIR结合域

[0255] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物II型苗勒抑制物质受体(MISIIR)具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对MISIIR的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对MISIIR的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物MISIIR具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗MISIIR VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xlvii)抗唾液酸化Tn抗原结合域

[0256] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物唾液酸化Tn抗原具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对唾液酸化Tn抗原的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对唾液酸化Tn抗原的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物唾液酸化Tn抗原具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗唾液酸化Tn抗原VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xlviii)抗FAP结合域

[0257] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物成纤维细胞活化抗原(FAP)具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对FAP的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对FAP的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物FAP具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗FAP VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(xlix)抗CD248结合域

[0258] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物内皮唾液酸蛋白(CD248)具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对CD248的单克隆抗体的

VL和VH。本领域已知针对CD248的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物CD248具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗CD248VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(l)抗EGFRvIII结合域

[0259] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物表皮生长因子受体变体III(EGFRvIII)具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对EGFRvIII的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对EGFRvIII的单克隆抗体。VL和VH序列的示例性非限制性实例在表2中列出。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物EGFRvIII具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含表2所列的抗EGFRvIII VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自表2所列的各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(li)抗TAL6结合域

[0260] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物肿瘤相关抗原L6(TAL6)具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对TAL6的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对TAL6的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物TAL6具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗TAL6 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(lii)抗SAS结合域

[0261] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物肿瘤相关抗原SAS具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对SAS的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对SAS的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物SAS具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗SAS VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(liii)抗CD63结合域

[0262] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物肿瘤相关抗原CD63具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对CD63的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对CD63的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物CD63具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗CD63 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(liv)抗TAG72结合域

[0263] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物肿瘤相关抗原TAG72具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对TAG72的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对TAG72的单克隆抗体。VL和VH序列的示例性非限制性实例在表2中列出。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物TAG72具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含表2所列的抗TAG72 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自表2所列的各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(lv)抗TF-抗原结合域

[0264] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物肿瘤相关抗原Thomsen-Friedenreich抗原(TF-抗原)具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对TF-抗原的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对TF-抗原的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物TF-抗原具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗TF-抗原VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(lvi)抗IGF-IR结合域

[0265] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物肿瘤相关抗原胰岛素样生长因子I受体(IGF-IR)具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对IGF-IR的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对IGF-IR的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物IGF-IR具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗IGF-IR VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部

分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(lvii)抗Cora抗原结合域

[0266] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物肿瘤相关抗原Cora抗原具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对Cora抗原的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对Cora抗原的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物Cora抗原具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗Cora抗原VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(lviii)抗CD7结合域

[0267] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物肿瘤相关抗原CD7具有亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对CD7的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对CD7的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物CD7具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗CD7 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(lix)抗CD22结合域

[0268] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物肿瘤相关抗原CD22具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对CD22的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对CD22的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物CD22具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗CD22 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(lx)抗CD79a结合域

[0269] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物肿瘤相关抗原CD79a具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对CD79a的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对CD79a的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽

组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物CD79a具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗CD79a VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(lxi)抗CD79b结合域

[0270] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物肿瘤相关抗原CD79b具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对CD79b的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对CD79b的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物CD79b具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗CD79b VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(lxii)抗G250结合域

[0271] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物肿瘤相关抗原G250具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对G250的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对G250的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物G250具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗G250 VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(lxiii)抗MT-MMP结合域

[0272] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物肿瘤相关抗原MT-MMP具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对MT-MMP的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对MT-MMP的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物MT-MMP具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗MT-MMP VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(lxiv)抗F19抗原结合域

[0273] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物肿瘤相关抗原F19抗原具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效

应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对F19抗原的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对F19抗原的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物F19抗原具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗F19抗原VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

(1xv)抗EphA2受体结合域

[0274] 在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物肿瘤相关抗原EphA2受体具有结合亲和力的第一部分结合域，并且第二结合域结合效应细胞抗原，如CD3抗原。在一个实施方案中，结合域包含源自针对EphA2受体的单克隆抗体的VL和VH。本领域已知针对EphA2受体的单克隆抗体。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物EphA2受体具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含抗EphA2受体VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其包含对肿瘤特异性标志物具有结合亲和力的第一部分结合域，其包含CDR-L1区、CDR-L2区、CDR-L3区、CDR-H1区、CDR-H2区和CDR-H3区，其中每一个源自各自的VL和VH序列。优选地，在实施方案中，所述结合具有高于10^{-7}至10^{-10}M的K_d值，如在体外结合试验中所测定的。

[0275] 特别设想的是，所述嵌合多肽组装体组合物可包含前述结构域或序列变体中的任何一种，只要所述变体对所述抗原显示出结合特异性即可。在一个实施方案中，序列变体将通过采用不同的氨基酸置换VL或VH序列中的氨基酸而产生。在缺失变体中，本文所述VL或VH序列中的一个或多个氨基酸残基被去除。因此，缺失变体包括结合域多肽序列的所有片段。在置换变体中，VL或VH(或CDR)多肽的一个或多个氨基酸残基被去除，并用替代残基替换。一方面，所述置换本质上是保守的，并且这种类型的保守置换在本领域中是公知的。此外，特别设想的是，包含本文公开的第一和第二结合域的组合物可以用于本文公开的任何方法中。

2.释放区段

[0276] 另一方面，本发明涉及引入能够被一种或多种哺乳动物蛋白酶切割的释放区段(RS)肽序列的嵌合多肽组装体组合物，其中当RS暴露于蛋白酶(或多种蛋白酶)时，所述RS被切割并且双特异性结合域从该组合物中释放。在释放主题嵌合多肽组装体的双特异性结合域和屏蔽的填充部分时，由于填充部分的屏蔽作用的丧失，结合域重新获得它们同时结合效应T细胞以及癌症、肿瘤或靶细胞的全部能力，从而导致癌症、肿瘤或靶细胞的损伤或细胞裂解。

[0277] 在某些实施方案中，本发明提供了包含单一融合蛋白的嵌合多肽组装体组合物，该单一融合蛋白包含双官能结合域部分、结合部分如XTEN以及引入的肽RS，该肽RS是与靶组织相关的一种或多种蛋白酶的底物，其中所述RS重组连接至填充部分的末端，并且所述RS重组连接至包含第一和第二结合域的第一部分；因此，所述RS位于第一部分与XTEN或其他填充部分之间。

[0278] 在实施方案中，本发明提供了包含一个或多个RS的嵌合多肽组装体组合物，该RS是与受试者中的病变靶组织相关联的蛋白酶的底物；靶组织的非限制性实例是癌症、肿瘤或参与增生性病症或炎性疾病的组织或器官。本发明的目的是提供被具体配置用于包含双特异性结合域的嵌合多肽组装体组合物中的RS，使得当包含RS的组合物靠近与靶组织相关联的蛋白酶时，结合域从该组合物中释放。嵌合多肽组装体组合物的设计使得包含结合域的由此所释放的组分具有增强的渗出靶组织的能力以及附接至或渗入靶组织的能力；无论是通过所得片段的降低的分子量，还是通过由被切掉的填充部分(例如XTEN)所带来的减小的空间位阻。

[0279] 人类癌中的基质由细胞外基质和各种类型的非癌细胞如白细胞、内皮细胞、成纤维细胞和肌成纤维细胞组成。肿瘤相关基质通过刺激新血管生成积极地支持肿瘤生长，并且支持并存的癌细胞的增殖和侵袭。基质成纤维细胞通常被称为癌相关成纤维细胞(CAF)，由于其能够动态地改变细胞外基质(ECM)的组成，从而促进肿瘤细胞侵袭和随后的转移定植，因此在肿瘤进展中具有特别重要的作用。特别是，本领域已知，蛋白酶是有助于包括肿瘤血管生成、侵袭、细胞外基质重塑和转移在内的恶性进展的重要组分，其中蛋白酶作为广泛的蛋白水解相互作用多向网络的一部分而起作用。由于恶性肿瘤的需求是其获得血管系统以便渗入周围正常组织中并向远处部位传播的能力，因此肿瘤主要依赖于来自多种酶类的细胞外内切蛋白酶例如金属蛋白酶(MMP)以及丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸和天冬氨酸蛋白酶的表达增加。然而，蛋白酶的作用不限于组织侵袭和血管生成。这些酶还在生长因子激活、细胞粘附、细胞存活和免疫监视中起主要作用。例如，由于MMP切割生长因子、细胞表面受体、细胞粘附分子或趋化因子的能力，因此能够影响肿瘤细胞行为。总体而言，肿瘤相关联蛋白酶的作用在癌症的表型进化中表现出重要的力量。

[0280] 由于有相当多的证据证明许多这类蛋白水解酶在正常和肿瘤组织之间差异表达，特别设想的是，这种差异表达可以用作活化肿瘤附近的主题组合物的手段。在这方面，丝氨酸和金属蛋白酶尤其是主题组合物的靶向、差异药物递送的候选物，这是由于它们在细胞外肿瘤环境中升高的活性以及它们选择性地且特异性地切割RS的短肽序列的能力，从而导致主题组合物的活性第一部分在肿瘤处的高水平以及完整的嵌合多肽组装体组合物在正常健康组织中的低水平。作为嵌合多肽组装体的选择性递送的结果，这些药物所需的活性或剂量相应降低并且对正常组织(包括肝脏、心脏和骨髓)的毒性降低，从而大大提高了嵌合多肽组装体组合物的治疗指数。特别设想的是，所公开的组合物尤其具有这种前药概念的有益性能，因为在未切割的状态下，它们对其各自的配体表现出降低的结合亲和力并且它们表现出在正常、健康组织中减少的渗出，但它们在切割后能够更好地渗出、穿透肿瘤并且对于它们各自的配体具有更高的结合亲和力；所有这些都有助于增强主题组合物的治疗指数和副作用。

[0281] 在一些实施方案中，本发明包含含有RS的嵌合多肽组装体组合物，其中当所述组合物被靶向组织相关的蛋白酶切割时，释放包含第一部分结合域的片段，其中所述片段能够渗入所述靶向组织如肿瘤内，达到的浓度是未切割的组合物的至少2倍，或至少3倍，或至少4倍，或至少5倍。在其他一些实施方案中，本发明包含含有RS的嵌合多肽组装体组合物，其中当所述组合物被靶向组织相关的蛋白酶切割时，释放包含第一部分结合域的片段，所述包含第一部分的片段能够以与不含有RS的组合物相比至少2倍、或至少3倍、或至少4倍、

或至少5倍的速率渗入所述组织内。在一个实施方案中，本发明包含含有RS的嵌合多肽组装体组合物，其中当所述组合物被靶向组织相关的蛋白酶切割时，释放包含第一部分结合域的片段，该切割的第一部分片段具有的所得分子量相比于未被蛋白酶切割的完整嵌合多肽组装体组合物至少低20％，或至少低30％，或至少低40％，或至少低50％，或至少低60％，或至少低70％，或至少低80％。在另一个实施方案中，本发明包含含有RS的嵌合多肽组装体组合物，其中当所述组合物被靶向组织相关的蛋白酶切割时，释放包含第一部分结合域的片段，该切割的第一部分片段具有的所得流体动力学半径相比于未被蛋白酶切割的完整嵌合多肽组装体至少小20％，或至少小30％，或至少小40％，或至少小50％，或至少小60％，或至少小70％，或至少小80％。特别设想的是，在所述主题嵌合多肽组装体的实施方案中，组织相关蛋白酶的切割产生包含第一部分结合域的片段，该片段能够更有效地渗入组织如肿瘤，这是因为该片段相对于完整组合物的尺寸减小，导致对于所述组织或细胞内组合的结合域而言本领域已知的药理作用，这可包括对膜的损伤、凋亡的诱导、靶细胞的细胞裂解或死亡。还特别设想的是，所述嵌合多肽组装体组合物的RS被设计用于旨在采用已知由该靶组织或细胞产生的特定蛋白酶靶向特定组织的组合物。在一个实施方案中，所述RS包含作为与癌组织相关的蛋白酶的底物的氨基酸序列。在另一个实施方案中，所述RS包含作为与癌性肿瘤相关的蛋白酶的底物的氨基酸序列。在另一个实施方案中，所述RS包含作为与诸如白血病等癌症相关的蛋白酶的底物的氨基酸序列。在另一个实施方案中，所述RS包含作为与增生障碍相关的蛋白酶的底物的氨基酸序列。在另一个实施方案中，所述嵌合多肽组装体组合物的RS包含作为与炎性疾病相关的蛋白酶的底物的氨基酸序列。

[0282] 在一些实施方案中，RS是选自金属蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、天冬氨酸蛋白酶和丝氨酸蛋白酶的至少一种蛋白酶的底物。在另一个实施方案中，RS是选自下组的一种或多种蛋白酶的底物：跨膜肽酶、中性溶酶(CD10)、PSMA、BMP-1、解联蛋白和金属蛋白酶(ADAM)、ADAM8、ADAM9、ADAM10、ADAM12、ADAM15、ADAM17(TACE)、ADAM19、ADAM28(MDC-L)、具有血小板反应蛋白基序的ADAM(ADAMTS)、ADAMTS1、ADAMTS4、ADAMTS5、MMP-1(胶原酶1)、MMP-2(明胶酶A)、MMP-3(溶基质蛋白酶1)、MMP-7(基质溶解因子1)、MMP-8(胶原酶2)、MMP-9(明胶酶B)、MMP-10(溶基质蛋白酶2)、MMP-11(溶基质蛋白酶3)、MMP-12(巨噬细胞弹性蛋白酶)、MMP-13(胶原酶3)、MMP-14(MT1-MMP)、MMP-15(MT2-MMP)、MMP-19、MMP-23(CA-MMP)、MMP-24(MT5-MMP)、MMP-26(基质溶解因子2)、MMP-27(CMMP)、豆荚蛋白(Legumain)、组织蛋白酶B、组织蛋白酶C、组织蛋白酶K、组织蛋白酶L、组织蛋白酶S、组织蛋白酶X、组织蛋白酶D、组织蛋白酶E、分泌酶、尿激酶(uPA)、组织型血纤维蛋白溶酶原活化因子(tPA)、纤溶酶、凝血酶、前列腺特异性抗原(PSA、KLK3)、人嗜中性粒细胞弹性蛋白酶(HNE)、弹性蛋白酶、类胰蛋白酶、II型跨膜丝氨酸蛋白酶(TTSP)、DESC1、Hepsin(HPN)、蛋白裂解酶、蛋白裂解酶-2、TMPRSS2、TMPRSS3、TMPRSS4(CAP2)、成纤维细胞活化蛋白(FAP)、激肽释放酶相关肽酶(KLK家族)、KLK4、KLK5、KLK6、KLK7、KLK8、KLK10、KLK11、KLK13和KLK14。在一些实施方案中，RS是ADAM17的底物。在一些实施方案中，RS是BMP-1的底物。在一些实施方案中，RS是组织蛋白酶的底物。在一些实施方案中，RS是半胱氨酸蛋白酶的底物。在一些实施方案中，RS是HtrA1的底物。在一些实施方案中，RS是豆荚蛋白的底物。在一些实施方案中，RS是MT-SP1的底物。在一些实施方案中，RS是金属蛋白酶的底物。在一些实施方案中，RS是嗜中性粒细胞弹性蛋白酶的底物。在一些实施方案中，RS是凝血酶的底物。在一些实施方案中，RS是II型跨膜丝氨酸

蛋白酶(TTSP)的底物。在一些实施方案中,RS是TMPRSS3的底物。在一些实施方案中,RS是TMPRSS4的底物。在一些实施方案中,RS是uPA的底物。在一个实施方案中,所述嵌合多肽组装体组合物的RS是选自MMP-2、MMP-9、uPA和蛋白裂解酶的至少两种蛋白酶的底物。在另一个实施方案中,所述嵌合多肽组装体组合物的RS是MMP-2、MMP-9、uPA和蛋白裂解酶蛋白酶的底物。

[0283] 在一个实施方案中,所述嵌合多肽组装体组合物的RS包含氨基酸序列,该氨基酸序列是由靶组织分泌的胞外蛋白酶(包括但不限于表3的蛋白酶)的底物。在另一个实施方案中,所述嵌合多肽组装体组合物的RS包含氨基酸序列,该氨基酸序列是位于细胞内的细胞蛋白酶(包括但不限于表3的蛋白酶)的底物。

[0284] 在某些实施方案中,本发明提供了旨在用于主题嵌合多肽组装体组合物的RS组合物,其包含选自表4所列序列中的至少第一切割序列。在一些实施方案中,主题组合物的RS序列选自:LSGRSDNHSPLGLAGS、SPLGLAGSLSGRSDNH、SPLGLSGRSDNH、LAGRSDNHSPLGLAGS、LSGRSDNHVPLSLKMG、SPLGLAGS、GPLALARG、LSGRSDNH、VPLSLTMG、VPLSLKMG、VPLSLSMG、EPLELVAG、EPLELRAG、EPAALMAG、EPASLMAG、RIGSLRTA、RIQFLRTA、EPFHLMAG、VPLSLFMG、EPLELPAG和EPLELAAG。如果需要,所述主题嵌合多肽组装体的RS序列是LSGRSDNHSPLGLAGS。在一个实施方案中,所述嵌合多肽组装体组合物的RS包含表4的BSRS1的序列。在另一个实施方案中,所述嵌合多肽组装体组合物的RS由表4的BSRS1的序列组成。

[0285] 在另一个实施方案中,切割缀合物组合物的RS包含第一切割序列和与所述第一切割序列不同的第二切割序列,其中每种序列选自表4所示的序列,并且第一和第二切割序列通过选自甘氨酸、丝氨酸、丙氨酸和苏氨酸的1个至6个氨基酸彼此连接。在另一个实施方案中,切割缀合物组合物的RS包含第一切割序列、与所述第一切割序列不同的第二切割序列和第三切割序列,其中每种序列选自表4所示的序列,并且第一和第二以及第三切割序列通过选自甘氨酸、丝氨酸、丙氨酸和苏氨酸的1个至6个氨基酸彼此连接。在其他实施方案中,本发明提供了包含一个、两个或三个RS的嵌合多肽组装体。具体意图在于,可使嵌合多肽组装体的多个RS联结以形成可被多种蛋白酶切割的通用序列。考虑到这样的组合物将会更容易被表达多种蛋白酶的病变靶组织切割,其结果是携带结合域的所得片段将会更容易穿透靶组织并发挥结合域的药理作用。

表3:靶组织的蛋白酶

蛋白酶类别	蛋白酶
金属蛋白酶	跨膜肽酶
	中性溶酶(CD10)
	PSMA
	BMP-1
	解联蛋白和金属蛋白酶(ADAMs)
	ADAM8
	ADAM9
	ADAM10
	ADAM12
	ADAM15
	ADAM17 (TACE)
	ADAM19
	ADAM28 (MDC-L)
	具有血小板反应蛋白基序的 ADAM (ADAMTS)
	ADAMTS1
	ADAMTS4
	ADAMTS5

蛋白酶类别	蛋白酶
	基质金属蛋白酶(MMP)
	MMP-1 (胶原酶 1)
	MMP-2 (明胶酶 A)
	MMP-3 (溶基质蛋白酶 1)
	MMP-7 (基质溶解因子 1)
	MMP-8 (胶原酶 2)
	MMP-9 (明胶酶 B)
	MMP-10 (溶基质蛋白酶 2)
	MMP-11(溶基质蛋白酶 3)
	MMP-12 (巨噬细胞弹性蛋白酶)
	MMP-13 (胶原酶 3)
	MMP-14 (MT1-MMP)
	MMP-15 (MT2-MMP)
	MMP-19
	MMP-23 (CA-MMP)
	MMP-24 (MT5-MMP)
	MMP-26 (基质溶解因子 2)
	MMP-27 (CMMP)
半胱氨酸蛋白酶	豆荚蛋白
	半胱氨酸组织蛋白酶
	组织蛋白酶 B
	组织蛋白酶 C
	组织蛋白酶 K
	组织蛋白酶 L
	组织蛋白酶 S
	组织蛋白酶 X

蛋白酶类别	蛋白酶
天冬氨酸蛋白酶	组织蛋白酶 D
	组织蛋白酶 E
	分泌酶
丝氨酸蛋白酶	尿激酶(uPA)
	组织型血纤维蛋白溶酶原活化因子(tPA)
	纤溶酶
	凝血酶
	前列腺特异性抗原(PSA、KLK3)
	人嗜中性粒细胞弹性蛋白酶(HNE)
	弹性蛋白酶
	类胰蛋白酶
	II 型跨膜丝氨酸蛋白酶(TTSP)
	DESC1
	Hepsin (HPN)
	蛋白裂解酶
	蛋白裂解酶-2
	TMPRSS2
	TMPRSS3
	TMPRSS4 (CAP2)
	成纤维细胞活化蛋白(FAP)
	激肽释放酶相关肽酶(KLK 家族)
	KLK4
	KLK5
	KLK6
	KLK7

蛋白酶类别	蛋白酶
	KLK8
	KLK10
	KLK11
	KLK13
	KLK14

表4:释放区段(RS)的序列

RS 名称	作用于序列的蛋白酶	示例性切割序列	切割序列*
BSRS1	MMP-2、7、9、14、蛋白裂解酶、uPA、豆荚蛋白	LSGR↓SDN↓HSPLG↓LAGS	
BSRS2	MMP-2、7、9、14、蛋白裂解酶、uPA、豆荚蛋白	SPLG↓LAGSLSGR↓SDN↓H	
BSRS3	MMP-2、7、9、14、蛋白裂解酶、uPA、豆荚蛋白	SPLG↓LSGR↓SDN↓H	
BSRS4	MMP-2、7、9、14、蛋白	LAGR↓SDN↓HSPLG↓LAGS	

RS 名称	作用于序列的蛋白酶	示例性切割序列	切割序列*
	裂解酶、uPA、豆荚蛋白		
BSRS5	MMP-2、7、9、14、蛋白裂解酶、uPA、豆荚蛋白	LAGR↓SDN↓HVPLS↓LSMG	
BSRS6	MMP-2、7、9、14、蛋白裂解酶、uPA、豆荚蛋白	LAGR↓SDN↓HEPLE↓LVAG	
BRSS7	MMP-2、7、9、14、蛋白裂解酶、uPA、豆荚蛋白	LSGR↓SDN↓HVPLS↓LK↓MG	
RS1	MMP-2、7、9、14	SPLG↓LAGS	
RS2	MMP-2、7、9、14、蛋白裂解酶、uPA、豆荚蛋白	GPLG↓LAR↓G	

RS 名称	作用于序列的蛋白酶	示例性切割序列	切割序列*
RS3	蛋白裂解酶、uPA、豆荚蛋白	LSGR↓SDN↓H	
RS4	MMP-2,14	GTAH↓LMGG	
RS5	MMP-14	RIGS↓LRTA	
RS6	MMP-14	RIGA↓LRTA	
RS7	MMP-14	RIGW↓LRTA	
RS8	MMP-14	RIGN↓LRTA	
RS9	MMP-14	RIGF↓LRTA	
RS10	MMP-14	RIFF↓LRTA	
RS11	MMP-14	RILF↓LRTA	
RS12	MMP-14	RIYF↓LRTA	
RS13	MMP-14	RIQF↓LRTA	
RS14	MMP-14	EPAA↓LMAG	
RS15	MMP-14	EPAN↓LMAG	
RS16	MMP-14	EPAS↓LMAG	
RS17	MMP-14	EPFH↓LMAG	
RS18	MMP-14	EPWH↓LMAG	
RS19	MMP-14	EPRH↓LMAG	
RS20	MMP-7	VPLS↓LFMG	
RS21	MMP-7	VPLS↓LHMG	
RS22	MMP-7	VPLS↓LQAG	
RS23	MMP-2、7、9	VPLS↓LTMG	

RS 名称	作用于序列的蛋白酶	示例性切割序列	切割序列*
	、14		
RS24	MMP-2、7、9、14、蛋白裂解酶	VPLS↓LKMG	
RS25	MMP-2、7、9、14	VPLS↓LSMG	
RS26	MMP-7	VPLS↓LNAG	
RS27	MMP-7	VPLS↓LLMG	
RS28	MMP-7	EPLE↓LPAG	
RS29	MMP-2、7、9、14	EPLE↓LAAG	
RS30	MMP-2、7、9	EPLE↓LVAG	
RS31	MMP-7	EPLE↓LSAG	
RS32	MMP-7	EPLE↓LDAG	
RS33	MMP-7	EPLE↓LQAG	
RS34	MMP-2、7、9、14、蛋白裂解酶	EPLE↓LRAG	
RS35	MMP-7	EPLE↓LKAG	
RS36	MMP-2,7、9、14	EPLE↓LIAG	
RS37	弹性蛋白酶-2	LGPV↓SGVP	-/-/-/VIAT/-/-/-/-
RS38	颗粒酶-B	VAGD↓SLEE	V/-/-/D/-/-/-/-
RS39	MMP-12	GPAG↓LGGA	G/PA/-/G/L/-/G/-

RS 名称	作用于序列的蛋白酶	示例性切割序列	切割序列*
RS40	MMP-13	GPAG↓LRGA	G/P/-/G/L/-/GA/-
RS41	MMP-17	APLG↓LRLR	-/PS/-/-/LQ/-/LT/-
RS42	MMP-20	PALP↓LVAQ	
RS43	TEV	ENLYFQ↓G	ENLYFQ/GS
RS44	肠激酶	DDDK↓IVGG	
RS45	蛋白酶 3C (PreScission™)	LEVLFQ↓GP	
RS46	分选酶 A	LPKT↓GSES	L/P/KEAD/T/G/-/EKS/S
RS47	胰蛋白酶	K↓X**或 R↓X	K/X 或 R/X
RS48	胰蛋白酶	R↓X**	SASRSA
RS49	uPA	SGR↓SA	S/G/R/SRKA/AGSVR
RS50	tPA	YGR↓ SA	RYFLI/GA/R/RVAS/AG
RS51	PSA	SSYY↓ SG	S/S/FY/Y/S/G
RS52	DESC1	RRAR↓VVGG	R/RAL/ALY/R/AV/V/G/G
RS53	Hepsin	RQLR↓VVGG	R/RQ/YL/R/V/V/G/G
RS54	蛋白裂解酶-2	RRAR↓VVGG	R/R/A/R/AV/V/G/G
RS55	MT-SP1/蛋白裂解酶	RQAR↓VVGG	R/QR/A/R/AVY/V/G/G
RS56	PSMA	N↓γN	NγN

RS 名称	作用于序列的蛋白酶	示例性切割序列	切割序列*
RS57	组织蛋白酶 C	GF↓FY	GP/FWR/X/-
RS58	组织蛋白酶 D	F↓IK	FL/IV/KE
RS59	组织蛋白酶 E	F↓IK	FL/IV/KE
RS60	组织蛋白酶 F	WLR↓	WYRNle/L/RKQ
RS61	组织蛋白酶 K	KPR↓	KMGH/ILPNle/RKQ
RS62	组织蛋白酶 L	KFR↓	RKLnL/FYW/RKQ
RS63	组织蛋白酶 S	RVK↓	RPI/VLMnL/RKQ
RS64	组织蛋白酶 V/L2	PWR↓	PNleR/WYF/RKQ
RS65	MMP	PLG↓HofOrnL	
RS66	MMP	EPCitF↓HofYL	
RS67	MMP-2	PQG↓IAGQ	
RS68	MMP-2	PQG↓IMelG	
RS69	MMP-9	AALG↓NvaP	
RS70	MMP-9	GPQG↓IAGQR	
RS71	MMP-9	SGKIPRT↓ATA	SGKIP/R/PSTRA/Hy/ST/A
RS72	MMP-9	SGPLF↓YSVTA	
RS73	MMP-9	PLR↓LSW	
RS74	MMP-9	GKGPRQ↓ITA	
RS75	MMP-9	SGRR↓LIHHT	S/G/R/R/L/IL/HHT
RS76	MMP-9	SGQPHY↓LTTA	
RS77	MMP-9	SG↓LKALM	

RS 名称	作用于序列的蛋白酶	示例性切割序列	切割序列*
RS78	MMP-9	SGFGSRY↓LTA	
RS79	MMP-9	SGLRPAK↓STA	
RS80	MMP-9	LGP↓STST	
RS81	MMP-9	PQG↓VR	
RS82	MMP-9	PSG↓LP	P/S/G/L/HyP
RS83	MMP-9	PAG↓VQ	
RS84	MMP-9	PSG↓RD	
RS85	MMP-9	PPG↓IV	P/PG/G/Hy/HyR
RS86	MMP-9	PEN↓FF	
RS87	MMP-9	PLK↓LM	
RS88	MMP-9	PGA↓YH	
RS89	MMP-9	AIH↓IQ	
RS90	MMP-9	HFF↓KN	
RS91	MMP-9	GLS↓LS	
RS92	MMP-9	ASD↓YK	
RS93	MMP-2、MMP-9	GPLG↓MLSQ	
RS94	MMP-2、MMP-9	CG↓LDD	
RS95	MMP-2、MMP-9、MT1-MMP	GPQG↓IWGQ	
RS96	MMP-7	RPLA↓LWRS	

RS 名称	作用于序列的蛋白酶	示例性切割序列	切割序列*
RS97	MMP-7	GPLG↓LARK	
RS98	Hk2	GKAFR↓RL	
RS99	MMP-9、uPA	RPSA↓SRSA	
RS100	MMP-2	PLGLDpaAR	
RS101	MMP-9	PMG↓IST	P/LMVQChaHofNva/G/LIYSFC/ST
RS102	MMP-9	PChaG↓SmcHA	P/LCha/G/LSmc/HW/A
RS103	MMP-13、MMP-8	PChaGNvaHADpa	
RS104	ADAM10	PTASA↓LKG	P/T/A/AS/A/LFYQ/KRTI/GAS
RS105	ADAM17	PRPAA↓VKGT	P/HR/P/AS/A/VIL/KRTVI/GST/TP
RS106	组织蛋白酶 B	V↓Cit	
RS107	组织蛋白酶 B	F↓K	
RS108	弹性蛋白酶	AA↓PV	
RS109	组织蛋白酶 D	GPIC↓FRLG	
RS110	纤溶酶	A↓FK	
RS111	豆荚蛋白	AAN↓L	
RS112	豆荚蛋白	PTN↓	PTAWS/TPASI/N
RS113	跨膜肽酶	↓DGP	ED/GTAV/-
RS114	跨膜肽酶 A	F↓SPFR	SFAMTY/SFAMTY/

RS名称	作用于序列的蛋白酶	示例性切割序列	切割序列*
			P/PVIGA/-
RS115	跨膜肽酶B	E↓EEAY	DE/DE/YEFDG/PVIGA/-
RS116	中性溶酶	β-AIA↓L	β-A/LI/A/L
RS117	ADAMTS4	E↓VQRKTGT	E/AFVLMY/(-)/RK/--(-)/ST
RS118	ADAMTS4	DVQE↓FRGVTAVIR	
RS119	ADAMTS4	HNE↓FRQRETYMVF	
RS120	ADAMTS5	KEEE↓GLGS	
RS121	ADAMTS5	GELE↓GRGT	
RS122	ADAMTS5	NITEGE↓ARGS	
RS123	ADAMTS5	TAQE↓AGEG	
RS124	ADAMTS5	VSQE↓LGQR	
RS125	ADAMTS5	PTAQE↓AGE	

↓表示切割位点

具体氨基酸缩写：

Cit:瓜氨酸;Cha:β-环己基丙氨酸;Hof:高苯丙氨酸;Nva:氨基辛二酸;Dpa:D-苯丙氨酸;NLE:正亮氨酸;SMC:S-甲基半胱氨酸;MnL:甲基正亮氨酸;Mel:美法仑。

*斜杠之前、之间或之后的多个氨基酸的列出指示在该位置可以被置换的可替代氨基酸;“-”表示任何氨基酸可以置换中间列中所示的相应氨基酸

**x是除了脯氨酸之外的任何L-氨基酸

Hy是任何亲水性L-氨基酸

γ表示键为γ羧基连接

3.填充部分

[0286] 另一方面,本发明涉及至少包含第一填充部分的嵌合多肽组装体组合物。在一些实施方案中,本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物,其包含填充部分。填充部分的非限制性实例包括延伸重组多肽(XTEN,如下文所述);白蛋白结合域;白蛋白;IgG结合域;由脯氨酸、丝氨酸和丙氨酸组成的至少350个氨基酸残基的多肽;脂肪酸;弹性蛋白样蛋白质(ELP)(ELP的单个亚基或结构单元来源于在人蛋白质弹性蛋白中发现的五个氨基酸基序,

其重复多次以形成ELP生物聚合物，如WO2016081884所述)、Fc结构域、聚乙二醇(PEG)、PLGA以及羟乙基淀粉。在另一个实施方案中，填充部分包含两个不同的填充部分，其选自：XTEN；白蛋白结合域；白蛋白；IgG结合域；由脯氨酸、丝氨酸和丙氨酸组成的多肽；脂肪酸；Fc结构域、聚乙二醇(PEG)、PLGA和羟乙基淀粉，其中所述两个填充部分彼此连接，转而与组合物的释放区段连接。在一个优选实施方案中，主题组合物的填充部分是一个或多个XTEN分子。在另一个优选实施方案中，所述嵌合多肽组装体组合物包含填充部分序列，该序列与选自表5所列序列的可比长度的XTEN序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％的序列同一性。在实施方案中，所述XTEN多肽重组连接至所述组合物的第二部分释放区段(RS)。

[0287] 不受理论的约束，将填充部分的引入纳入主题组合物的设计中以赋予某些重要性质；i)提供具有填充部分的嵌合多肽组装体组合物，该填充部分在该组合物完整时屏蔽结合域并降低对靶抗原和效应细胞抗原的结合亲和力；ii)提供具有填充部分的嵌合多肽组装体组合物，当施用于受试者时，该填充部分提供增强的半衰期，iii)提供具有填充部分的嵌合多肽组装体组合物，该填充部分减少正常组织和器官中的渗出，但仍允许在脉管系统中具有较大孔径的病变组织(例如肿瘤)中出现一定程度的渗出，但可通过某些哺乳动物蛋白酶的作用从组合物释放，由此允许组合物的结合域更容易地渗入病变组织并且同时结合效应细胞和肿瘤细胞上的靶抗原。为了满足这些需求，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其中填充部分为所得组合物提供了增加的质量和流体动力学半径。在优选实施方案中，所述填充部分是XTEN多肽，其在本发明组合物的设计中提供了某些优点，不仅提供了增加的质量和流体动力学半径，而且其柔性的、非结构化特征提供对组合物第一部分的结合域的屏蔽作用，从而降低了在正常组织中或在不表达或表达降低水平的靶抗原和/或效应细胞抗原的正常组织的脉管系统中与抗原结合的可能性，并且增强了scFv的溶解度和正确折叠。

(i)XTEN

[0288] 在某些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含一种或多种重组连接至该组合物的XTEN分子。

[0289] 本文使用的“XTEN”是非天然存在的、基本上非重复的序列的多肽，其在生理条件下没有或具有低程度的二级或三级结构，以及以下段落中描述的附加性能。XTEN通常具有至少约100个至至少约1000个或更多个氨基酸，更优选至少约200个至至少约900个氨基酸，更优选至少约400个至约866个氨基酸，这些氨基酸中大多数或全部是小的亲水性氨基酸。如本文所用的“XTEN”明确排除了完整抗体或抗体片段(例如单链抗体和Fc片段)。XTEN多肽具有作为融合配偶体的作用，因为它们起到多种作用，当与例如包含本文所述主题嵌合多肽组装体组合物的第一部分双特异性结合域的组合物连接时带来某些期望的性质。所得到的组合物与未连接至XTEN的相应的结合域相比具有增强的性质，诸如增强的药代动力学、物理化学、药理学以及改善的毒理学和药学性质，从而使得它们可用于已知在本领域中已使用结合域的某些病况的治疗。

[0290] XTEN的非结构化特征和物理化学性质部分地是由不成比例地限制于4-6种类型的亲水性氨基酸的总体氨基酸组合物、可量化的基本上非重复性设计的氨基酸连接以及XTEN多肽的所得长度和/或构型而导致的。在对于XTEN共同的而对于天然多肽不是共同的有利

特征中，本文公开的XTEN的性质与绝对一级氨基酸序列是不相关的，如由表5中的多种示例性序列所证明的，这些序列在不同长度范围内拥有相似的性质并赋予其所连接的组合物增强的性质，其中许多性质在实施例中得到证明。实际上，特别考虑到本发明的组合物不限于表5中具体列举的那些，而是实施方案包括与表5的序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％序列同一性的序列，因为这些序列展现出下述XTEN的性质。已经确定，这样的XTEN具有相比于蛋白质更像非蛋白质亲水性聚合物(例如聚乙二醇或“PEG”)的性质。本发明的XTEN展现出一种或多种以下有利性质：限定和均一的长度(对于给定序列)、构象柔性、二级结构减少或缺乏、高度的无规卷曲形成、高度的水溶性、高度的蛋白酶抗性、低免疫原性、与哺乳动物受体的低结合、限定程度的电荷和增强的流体动力学(或Stokes)半径；与某些亲水性聚合物(例如聚乙二醇)相似、使得它们尤其可用作缀合配偶体的性质。

[0291] 将主题融合蛋白的XTEN组分设计为在生理条件下表现得像变性的肽序列，尽管聚合物的长度延长。“变性的”描述了以肽骨架的大的构象自由度为特征的肽在溶液中的状态。大多数肽和蛋白质在高浓度变性剂的存在下或高温下采用变性构象。变性构象的肽具有，例如，特征性圆二色性(CD)谱，并以缺乏长程相互作用为特征，如通过NMR确定的。本文中“变性构象”和“非结构化构象”作为同义词使用。在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含在生理条件下类似于基本上缺乏二级结构的变性序列的XTEN序列。在上下文中使用的“基本上缺乏”是指如通过本文所述的方法(包括算法或分光光度测定)所测量或确定的，XTEN序列的至少约80％、或约90％、或约95％、或约97％、或至少约99％的XTEN氨基酸残基对二级结构没有贡献。

[0292] 本领域已知多种已建立的用于测定并确认主题XTEN的物理化学性质的方法和测定。这类性质包括但不限于二级或三级结构、溶解度、蛋白质聚集、稳定性、绝对和表观分子量、纯度和均一性、解链性质、污染和含水量。测量这类性质的方法包括分析离心、EPR、HPLC-离子交换、HPLC-大小排阻色谱法(SEC)、HPLC-反相、光散射、毛细管电泳、圆二色谱、差示扫描量热法、荧光、HPLC-离子交换、HPLC大小排阻、IR、NMR、拉曼光谱、折射测量法和UV/可见光谱法。特别是，可通过分光技术，例如通过“远紫外”光谱区(190-250nm)的圆二色谱法来测量二级结构。二级结构元素如α-螺旋和β-折叠各自产生CD谱的特征形状和幅度，以及这些结构元素的缺乏。如美国专利申请公开号20030228309A1中所述，还可以通过某些计算机程序或算法，如众所周知的Chou-Fasman算法(Chou,P.Y.等(1974)Biochemistry，13:222-45)和Garnier-Osguthorpe-Robson算法(“Gor算法”)(Garnier J,Gibrat JF,Robson B.(1996),GOR method for predicting protein secondary structure from amino acid sequence.Methods Enzymol 266:540-553)来预测多肽序列的二级结构。对于给定的序列，这些算法可预测是否存在一些二级结构或根本不存在二级结构，表示为形成例如α-螺旋或β-折叠的序列的残基的总数和/或百分比，或预计导致无规卷曲形成(其缺乏二级结构)的序列的残基的百分比。可使用例如fasta.bioch.virginia.edu/fasta_www2/fasta_www.cgi?rm＝misc1的万维网网站的Chou-Fasman算法和npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page＝npsa_gor4.html的Gor算法(两者均在2012年9月5日访问)来对多肽序列进行分析。可以通过多种方法，包括通过使用以构象依赖的方式以链长度标测的特性粘数测量法(Tanford,C.,Kawahara,K.&Lapanje,S.(1966)J.Biol.Chem.241,1921-

1923)以及通过大小排阻色谱法(Squire,P.G.,Calculation of hydrodynamic parameters of random coil polymers from size exclusion chromotography and comparison with parameters by conventional methods.Journal of Chromatography,1981,5,433-442)来测定无规卷曲。在Arnau等,Prot Expr and Purif(2006)48,1-13中公开了额外的方法。

[0293] 在一个实施方案中,所述嵌合多肽组装体组合物的XTEN序列具有如通过Chou-Fasman算法确定的0%到小于约5%的α-螺旋百分比和0%到小于约5%的β-折叠百分比和如通过GOR算法确定的至少约90%的无规卷曲形成。在另一个实施方案中,所公开的组合物的XTEN序列具有如通过Chou-Fasman算法确定的小于约2%的α-螺旋百分比和小于约2%的β-折叠百分比、如通过GOR算法确定的至少约90%的无规卷曲形成。在另一个实施方案中,如通过圆二色谱法所测量的,该组合物的XTEN序列基本上缺乏二级结构。

[0294] 已经确定的是,在本发明的主题组合物中使用的XTEN的非重复特征以及在XTEN中占主要地位的氨基酸的具体类型,而不是绝对的一级序列,赋予XTEN和所得嵌合多肽组装体组合物一种或多种增强的物理化学和生物学性能。因此,尽管表5的序列是示例性的,它们并不旨在被限制为这样的序列:与表5中表现出XTEN的增强特性的序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的序列。这些增强的性能包括嵌合多肽组装体组合物融合蛋白在宿主细胞中的高度表达、编码主题组合物的XTEN部分的基因的更高遗传稳定性,相比于不与XTEN连接的结合域,XTEN赋予所得的聚合倾向较小的嵌合多肽组装体组合物更高程度的溶解性,并且所得嵌合多肽组装体组合物的药代动力学得到增强。这些增强的性能允许更有效的制备、最终产品的更高的一致性、较低的商品成本和/或促进配制含有极高蛋白质浓度(在一些情况下超过100mg/ml)的嵌合多肽组装体组合物的药物制剂,以及改善的安全性谱和减少的给药间隔,如以下更详细描述。

[0295] 在一些实施方案中,在本发明的嵌合多肽组装体组合物中使用的XTEN序列与选自下组的序列至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同:AE144、AE144_1A、AE144_2A、AE144_2B、AE144_3A、AE144_3B、AE144_4A、AE144_4B、AE144_5A、AE144_6B、AE288_1、AE288_2、AE144A、AE144B、AE180A、AE216A、AE252A、AE288A、AE324A、AE360A、AE396A、AE432A、AE468A、AE504A、AE540A、AE576A、AE612A、AE648A、AE684A、AE720A、AE756A、AE792A、AE828A、AE869、AE144_R1、AE288_R1、AE432_R1、AE576_R1、AE864_R1、AE712、AE864_R2、AE912、AM923、AE948、AE1044、AE1140、AE1236、AE1332、AE1428、AE1524、AE1620、AE1716、AE1812、AE1908、AE2004A,以及它们的任意组合。参见US 2010-0239554 A1。在一个特定实施方案中,所述XTEN包含选自AE144、AE288、AE576、AE864、AE865或AE866或其任意组合的序列。

[0296] 在其中嵌合多肽组装体组合物中XTEN的少于100%的氨基酸选自甘氨酸(G)、丙氨酸(A)、丝氨酸(S)、苏氨酸(T)、谷氨酸(E)和脯氨酸(P),或其中少于100%的序列由表5的XTEN序列组成的一些实施方案中,XTEN的其余氨基酸残基选自任意的其他14种天然L-氨基酸,但优选选自亲水性氨基酸,使得XTEN序列含有至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或至少约99%的亲水性氨基酸。所述嵌合多肽组装体组合物中使用的XTEN中的疏水性氨基酸的含量可以是疏水性氨基酸含量的不到5%,或不到2%,或不到1%。在构建XTEN中不太有利的疏水性残基包括色氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸、亮氨酸、异亮氨

酸、缬氨酸和甲硫氨酸。另外，XTEN序列可以含有少于5％或少于4％或少于3％或少于2％或少于1％或没有下列氨基酸：甲硫氨酸（例如为了避免氧化），或天冬酰胺和谷氨酰胺（为了避免脱酰胺）。

[0297] 在本发明嵌合多肽组装体实施方案中使用的某些XTEN序列的氨基酸序列在表5中示出。

表5：XTEN多肽

XTEN 名称	氨基酸序列
AE144	GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAP
AE144_1A	SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
AE144_2A	TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPG
AE144_2B	TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSESATPESGPG
AE144_3A	SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG
AE144_3B	SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG
AE144_4A	TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
AE144_4B	TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
AE144_5A	TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEG
AE144_6B	TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
AE288_1	GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP
AE288_2	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP
AE576	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP

XTEN 名称	氨基酸序列
	GTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEG SPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP
AE624	MAEPAGSPTSTEEGTPGSGTASSSPGSSTPSGATGSPGASPGTSSTGSPGSP AGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATS GSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTE PSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP
AE864	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSE TPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEG SPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGS PAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAP
AE865	GGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGS ETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGS PAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEG SPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPE

XTEN 名称	氨基酸序列
	SGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGS PAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAP
AE866	PGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGS ETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGS PAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEG SPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGS PAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPG
AE1152	GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSE TPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEG SPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGS PAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP
AE144A	STEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATS GSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGS
AE144B	SEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG
AE180A	TSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEE

XTEN 名称	氨基酸序列
	GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATS
AE216A	PESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESAT
AE252A	ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSE
AE288A	TPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESA
AE324A	PESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATS
AE360A	PESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESAT
AE396A	PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPS
AE432A	EGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATS

XTEN 名称	氨基酸序列
AE468A	EGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSES ATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTST EEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSES ATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESAT
AE504A	EGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPS
AE540A	TPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGT STEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTS TEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSTEP
AE576A	TPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSP TSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTS ESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESA
AE612A	GSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGP GSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTST

XTEN 名称	氨基酸序列
	EEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESAT
AE648A	PESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG SPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGS EPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATS GSETPGTSESAT
AE684A	EGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGS PTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATS
AE720A	TSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTE
AE756A	TSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTE

XTEN 名称	氨基酸序列
	PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGS EPATSGSETPGTSES
AE792A	EGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTS ESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPA GSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGS PAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSP TSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPS
AE828A	PESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSES ATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATP ESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTS TEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEE GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESAT
AE869	GSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEE

XTEN 名称	氨基酸序列
	GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGR
AE144_R1	SAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTESASR
AE288_R1	SAGSPTGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPSASR
AE432_R1	SAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTESASR
AE576_R1	SAGSPTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPSASR
AE864_R1	SAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG

XTEN 名称	氨基酸序列
	TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGS ETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGTESASR
AE712	PGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGS ETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGS PAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEG SPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGSPAGSPTSTEAHHH
AE864_R2	GSPGAGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEP ATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGT STEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGP GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGS ETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGTESASR

[0298] 本发明设想了嵌合多肽组装体组合物，其包含表5中的中间长度的XTEN以及较长的XTEN，其中12个氨基酸的基序被添加到并入嵌合多肽组装体中的表5的XTEN的N端或C端。在一个实施方案中，所述嵌合多肽组装体组合物包含表5的XTEN，并添加选自表6所列的基序中的一个或多个基序的一个或多个拷贝。

表6：12个氨基酸的XTEN序列基序和基序家族

基序家族*	基序序列
AD	GESPGGSSGSES
AD	GSEGSSGPGESS
AD	GSSESGSSEGGP
AD	GSGGEPSESGSS
AE	GSPAGSPTSTEE

AE	GSEPATSGSETP
AE	GTSESATPESGP
AE	GTSTEPSEGSAP
AF	GSTSESPSGTAP
AF	GTSTPESGSASP
AF	GTSPSGESSTAP
AF	GSTSSTAESPGP

• 表示个体基序序列，其在以各种排列一起使用时，产生“家族序列”。

[0299] 可以根据本发明使用的XTEN序列的额外的实例在美国专利公开号2010/0239554 A1、2010/0323956 A1、2011/0046060 A1、2011/0046061 A1、2011/0077199 A1或2011/0172146 A1，或国际专利公开号WO 2010091122 A1、WO 2010144502 A2、WO 2010144508 A1、WO 2011028228 A1、WO 2011028229 A1、WO 2011028344 A2、WO 2014/011819 A2或WO 2015/023891中公开。

4.T细胞结合组合物

[0300] 另一方面，本发明提供了单体融合蛋白，其包含第一部分、第二部分和第三部分，其中所述第一部分包含由柔性连接体连接的抗CD3结合域的VL和VH序列；所述第二部分包含能够被哺乳动物蛋白酶切割的第一释放区段(RS)；并且第三部分包含含有XTEN序列的第一填充部分，其中所述填充部分和第一部分能够通过哺乳动物蛋白酶对所述第二部分的作用从组合物中释放出来。在前述的一些实施方案中，主题组合物的第一部分VL和VH序列来源于选自表1所列序列的单克隆抗体VL和VH。如果需要，上述主题组合物的VL和VH源自表1的huUCHT1单克隆抗体。特别设想的是，如图29示意图所示，所述组合物可以按照N端到C端顺序以不同的顺序配置。在一个实施方案中，所述组合物按照结合域-RS-XTEN的N端到C端方向配置，而在另一个实施方案中，这些部分按照XTEN-RS-结合域的顺序进行配置。

[0301] 在T细胞结合组合物的一些实施方案中，抗CD3结合域包含表1的VH和VL序列，第二部分的RS选自表4所列的序列，而第三部分的XTEN选自表5所列的序列。

[0302] 在其他一些实施方案中，本发明提供了T细胞结合组合物融合蛋白，其与选自表7所列氨基酸序列的序列在最佳比对时具有至少约90％的序列同一性，或至少约91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％的同一性，或者100％相同。在一个实施方案中，T细胞结合组合物具有表7的TCB-1的氨基酸序列。在另一个实施方案中，T细胞结合组合物具有表7的TCB-2的氨基酸序列。在另一个实施方案中，T细胞结合组合物具有表7的TCB-3的氨基酸序列。在另一个实施方案中，T细胞结合组合物具有表7的TCB-4的氨基酸序列。在另一个实施方案中，T细胞结合组合物具有表7的TCB-5的氨基酸序列。在另一个实施方案中，T细胞结合组合物具有表7的TCB-6的氨基酸序列。在另一个实施方案中，T细胞结合组合物具有表7的TCB-7的氨基酸序列。在另一个实施方案中，T细胞结合组合物具有表7的TCB-8的氨基酸序列。在另一个实施方案中，T细胞结合组合物具有表7的TCB-9的氨基酸序列。在另一个实施方案中，T细胞结合组合物具有表7的TCB-10的氨基酸序列。在另一个实施方案中，T细胞结合组合物具有表7的TCB-11的氨基酸序列。在另一个实施方案中，T细胞结合组合物具有表7的TCB-12的氨基酸序列。T细胞结合组合物具有表7的TCB-13的氨基酸序列。在另一个实施方案中，T细胞结合组合物具有表7的TCB-14的氨基酸序列。在另一个实施方案中，T细胞

结合组合物具有表7的TCB-15的氨基酸序列。在另一个实施方案中，T细胞结合组合物具有表7的TCB-16的氨基酸序列。在另外的其他实施方案中，本发明提供了药物组合物，其包含T细胞结合组合物融合蛋白和任选的合适的载体、稳定剂和/或赋形剂制剂，该T细胞结合组合物融合蛋白与表7所列序列具有至少约90％的序列同一性，或至少约91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％的同一性，或者100％相同。

[0303] 另一方面，本发明涉及编码表7的T细胞结合组合物融合蛋白的多核苷酸。在一个实施方案中，本发明提供了编码T细胞结合融合蛋白的多核苷酸序列或其互补体，其中所述多核苷酸序列与选自表7所列核苷酸序列的序列在最佳比对时具有至少约90％的序列同一性，或至少约91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％的同一性，或者100％相同。

[0304] 在相关的方面，本发明涉及利用编码T细胞结合组合物的多核苷酸并且连接编码对靶细胞抗原具有亲和力的结合域的多核苷酸序列来制备嵌合多肽组装体组合物的方法。在一个实施方案中，本发明提供了一种制备嵌合多肽组装体组合物的方法，该方法包括利用表7的编码T细胞结合组合物的多核苷酸，随后重组添加编码第二结合域的基因和连接体，其中所述第二结合域对肿瘤特异性标志物或靶细胞的抗原具有结合特异性，将所得到的基因导入适当的表达载体中处于启动子和连接体的控制下；然后使用得到的表达载体转化适当的大肠杆菌宿主细胞，然后在适合于嵌合多肽组装体融合蛋白表达的条件下生长，然后通过本文所述或本领域已知的纯化方法分离。下面的实施例1和2提供了用于实施前述方法的示例性方法。在前述的一些实施方案中，所述第二结合域为scFv，其中所述第二结合域VH和VL选自表2所列的成对单克隆抗体VH和VL序列。前述实施方案利用了编码T细胞结合组合物的基因的模块化性质，通过将抗CD3可变序列的编码序列和第二结合域的编码序列重组融合到T细胞结合组合物的编码序列，该T细胞结合组合物可以容易地与编码本文所述的第二结合域种类的多核苷酸一起使用，结果是使其具有产生可用于表达所需的嵌合多肽组装体融合蛋白产物的多个单独基因的能力。特别设想的是，使用编码T细胞结合组合物的基因来制备所述嵌合多肽组装体组合物，不限于编码本文所述的嵌合多肽组装体组合物的多核苷酸，而是可以与编码对任何感兴趣的靶组织或靶细胞具有亲和力的结合域的基因一起使用，所述感兴趣的靶组织或靶细胞将对所得的表达的融合蛋白的细胞毒性作用敏感。

[0305] 另一方面，表7的T细胞结合组合物可作为治疗性免疫抑制剂用于治疗受试者的某些疾病或病况，对于该疾病或病况已经证明抗CD3抗体制剂导致临床益处，诸如但不限于器官移植和急性排斥反应、克罗恩病、溃疡性结肠炎和1型糖尿病，以及用于诱导免疫耐受性。

表7：T细胞结合组合物

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
TBP-1	DIQMTQSPSSLS	GACATCCAAATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCTGAG
	ASVGDRVTITCR	CGCGAGCGTGGGCGACCGTGTTACCATCACCTGCC
	ASQDIRNYLNW	GTGCGAGCCAAGACATCCGTAACTACCTGAACTGG
	YQQKPGKAPKL	TATCAGCAAAAGCCGGGTAAAGCGCCGAAGCTGCT
	LIYYTSRLESGVP	GATCTACTATACCAGCCGTCTGGAGAGCGGCGTGC
	SRFSGSGSGTDY	CGAGCCGTTTCAGCGGTAGCGGTAGCGGTACCGAC
	TLTISSLQPEDFA	TACACCCTGACCATTAGCAGCCTGCAGCCGGAAGA
	TYYCQQGNTLP	TTTCGCGACCTACTATTGCCAGCAGGGTAACACCCT
	WTFGQGTKVEIK	GCCGTGGACCTTTGGTCAAGGCACCAAAGTTGAGA
	GATPPETGAETE	TTAAAGGCGCCACGCCTCCGGAAACTGGTGCTGAG
	SPGETTGGSAES	ACGGAATCCCCTGGTGAAACCACTGGCGGTTCTGC
	EPPGEGEVQLVE	CGAATCTGAACCGCCTGGTGAAGGCGAGGTGCAGC
	SGGGLVQPGGSL	TGGTTGAAAGCGGTGGCGGTCTGGTGCAACCAGGC
	RLSCAASGYSFT	GGTAGCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCGAGCGGTTA
	GYTMNWVRQAP	CAGCTTTACCGGTTATACCATGAACTGGGTTCGTCA
	GKGLEWVALINP	AGCGCCAGGTAAAGGTCTGGAGTGGGTGGCGCTGA
	YKGVSTYNQKF	TCAACCCGTACAAGGGTGTTAGCACCTATAACCAG
	KDRFTISVDKSK	AAGTTCAAAGACCGTTTTACCATTAGCGTGGATAA
	NTAYLQMNSLR	GAGCAAAAACACCGCGTACCTGCAAATGAACAGCC
	AEDTAVYYCAR	TGCGTGCGGAGGACACCGCTGTGTACTATTGCGCG
	SGYYGDSDWYF	CGTAGCGGTTACTATGGCGACAGCGACTGGTATTTT
	DVWGQGTLVTV	GATGTGTGGGGCCAAGGCACCCTGGTTACCGTGAG
	SSGTAEAASASG	CTCCGGCACCGCCGAAGCAGCTagcgcctctGGCctgTCA
	LSGRSDNHSPLG	ggtCGTtctGATaacCATtccCCActgGGTctgGCTGGGTCTC
	LAGSPGSPAGSP	CAGGTAGCCCAGCTGGTAGCCCAACCTCTACCGAA
	TSTEEGTSESATP	GAAGGTACCTCTGAATCCGCTACTCCAGAATCCGGT
	ESGPGTSTEPSEG	CCTGGTACTAGCACTGAGCCAAGCGAAGGTTCTGC
	SAPGSPAGSPTST	TCCAGGCTCCCCGGCAGGTAGCCCTACCTCTACCGA
	EEGTSTEPSEGS	AGAGGGCACTAGCACCGAACCATCTGAGGGTTCCG
	APGTSTEPSEGS	CTCCTGGCACCTCCACTGAACCGTCCGAAGGCAGT
	APGTSESATPES	GCTCCGGGTACTTCCGAAAGCGCAACTCCGGAATC
	GPGSEPATSGSE	CGGCCCTGGTTCTGAGCCTGCTACTTCCGGCTCTGA
	TPGSEPATSGSET	AACTCCAGGTAGCGAGCCAGCGACTTCTGGTTCTG
	PGSPAGSPTSTEE	AAACTCCAGGTTCACCGGCGGGTAGCCCGACGAGC
	GTSESATPESGP	ACGGAGGAAGGTACCTCTGAGTCGGCCACTCCTGA
	GTSTEPSEGSAP	GTCCGGTCCGGGCACGAGCACCGAGCCGAGCGAGG
	GTSTEPSEGSAP	GTTCAGCCCCGGGTACCAGCACGGAGCCGTCCGAG

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	GSPAGSPTSTEE	GGTAGCGCACCGGGTTCTCCGGCGGGCTCCCCTAC
	GTSTEPSEGSAP	GTCTACGGAAGAGGGTACGTCCACTGAACCTAGCG
	GTSTEPSEGSAP	AGGGCAGCGCGCCAGGCACCAGCACTGAACCGAGC
	GTSESATPESGP	GAAGGCAGCGCACCTGGCACTAGCGAGTCTGCGAC
	GTSTEPSEGSAP	TCCGGAGAGCGGTCCGGGTACGAGCACGGAACCAA
	GTSESATPESGP	GCGAAGGCAGCGCCCCAGGTACCTCTGAATCTGCT
	GSEPATSGSETP	ACCCCAGAATCTGGCCCGGGTTCCGAGCCAGCTAC
	GTSTEPSEGSAP	CTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCCACTGAACC
	GTSTEPSEGSAP	AAGCGAAGGTAGCGCTCCTGGCACTTCTACTGAAC
	GTSESATPESGP	CATCCGAAGGTTCCGCTCCTGGTACGTCTGAAAGCG
	GTSESATPESGP	CTACCCCTGAAAGCGGCCCAGGCACCTCTGAAAGC
	GSPAGSPTSTEE	GCTACTCCTGAGAGCGGTCCAGGCTCTCCAGCAGG
	GTSESATPESGP	TTCTCCAACCTCCACTGAAGAAGGCACCTCTGAGTC
	GSEPATSGSETP	TGCTACCCCTGAATCTGGTCCTGGCTCCGAACCTGC
	GTSESATPESGP	TACCTCTGGTTCCGAAACTCCAGGTACCTCGGAATC
	GTSTEPSEGSAP	TGCGACTCCGGAATCTGGCCCGGGCACGAGCACGG
	GTSTEPSEGSAP	AGCCGTCTGAGGGTAGCGCACCAGGTACCAGCACT
	GTSTEPSEGSAP	GAGCCTTCTGAGGGCTCTGCACCGGGTACCTCCACG
	GTSTEPSEGSAP	GAACCTTCGGAAGGTTCTGCGCCGGGTACCTCCACT
	GTSTEPSEGSAP	GAGCCATCCGAGGGTTCAGCACCAGGTACTAGCAC
	GTSTEPSEGSAP	GGAACCGTCCGAGGGCTCTGCACCAGGTACGAGCA
	GSPAGSPTSTEE	CCGAACCGTCGGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCA
	GTSTEPSEGSAP	GCGGGCTCTCCGACAAGCACCGAAGAAGGCACCAG
	GTSESATPESGP	CACCGAGCCGTCCGAAGGTTCCGCACCAGGTACAA
	GSEPATSGSETP	GCGAGAGCGCGACTCCTGAATCTGGTCCGGGTAGC
	GTSESATPESGP	GAGCCTGCAACCAGCGGTTCTGAGACGCCGGGCAC
	GSEPATSGSETP	TTCCGAATCTGCGACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTTC
	GTSESATPESGP	AGAGCCGGCGACGAGCGGTTCGGAAACGCCGGGTA
	GTSTEPSEGSAP	CGTCTGAATCAGCCACGCCGGAGTCTGGTCCGGGT
	GTSESATPESGP	ACCTCGACCGAACCAAGCGAAGGTTCGGCACCGGG
	GSPAGSPTSTEE	TACTAGCGAGAGCGCAACCCCTGAAAGCGGTCCGG
	GSPAGSPTSTEE	GCAGCCCGGCAGGTTCTCCAACCAGCACCGAAGAA
	GSPAGSPTSTEE	GGTTCCCCTGCTGGTAGCCCGACCTCTACGGAGGA
	GTSESATPESGP	AGGTAGCCCTGCAGGTTCCCCAACTTCTACTGAGGA
	GTSTEPSEGSAP	AGGTACTTCTGAGTCCGCTACCCCAGAAAGCGGTC
	GTSESATPESGP	CTGGTACCTCCACTGAACCGTCTGAAGGCTCTGCAC
	GSEPATSGSETP	CAGGCACTTCTGAGTCTGCTACTCCAGAAAGCGGC
	GTSESATPESGP	CCAGGTTCTGAACCAGCAACTTCTGGCTCTGAGACT
	GSEPATSGSETP	CCAGGCACTTCTGAGTCCGCAACGCCTGAATCCGGT
	GTSESATPESGP	CCTGGTTCTGAACCAGCTACTTCCGGCAGCGAAACC
	GTSTEPSEGSAP	CCAGGTACCTCTGAGTCTGCGACTCCAGAGTCTGGT
	GSPAGSPTSTEE	CCTGGTACTTCCACTGAGCCTAGCGAGGGTTCCGCA
	GTSESATPESGP	CCAGGTTCTCCGGCTGGTAGCCCGACCAGCACGGA
	GSEPATSGSETP	GGAGGGTACGTCTGAATCTGCAACGCCGGAATCGG
	GTSESATPESGP	GCCCAGGTTCGGAGCCTGCAACGTCTGGCAGCGAA
	GSPAGSPTSTEE	ACCCCGGGTACCTCCGAATCTGCTACACCGGAAAG
	GSPAGSPTSTEE	CGGTCCTGGCAGCCCTGCTGGTTCTCCAACCTCTAC
	GTSTEPSEGSAP	CGAGGAGGGTTCACCGGCAGGTAGCCCGACTAGCA
	GTSESATPESGP	CTGAAGAAGGTACTAGCACGGAGCCGAGCGAGGGT

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	GTSESATPESGP GTSESATPESGP GSEPATSGSETP GSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP GSEPATSGSETP GTSESATPESGP GTSTEPSEGSAP GHHHHHH	AGTGCTCCGGGTACGAGCGAGAGCGCAACGCCAGA GAGCGGTCCAGGCACCAGCGAATCGGCCACCCCTG AGAGCGGCCCAGGTACTTCTGAGAGCGCCACTCCT GAATCCGGCCCTGGTAGCGAGCCGGCAACCTCCGG CTCAGAAACTCCTGGTTCGGAACCAGCGACCAGCG GTTCTGAAACTCCGGGTAGCCCGGCAGGCAGCCCA ACGAGCACCGAAGAGGGTACCAGCACGGAACCGA GCGAGGGTTCTGCCCCGGGTACTTCCACCGAACCAT CGGAGGGCTCTGCACCTGGTAGCGAACCTGCGACG TCTGGTTCTGAAACGCCGGGTACCAGCGAAAGCGC TACCCCAGAATCCGGTCCGGGCACTAGCACCGAGC CATCGGAGGGCTCCGCACCAGGTCACCATCATCAC CATCAC
TBP-2	DIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCR ASQDIRNYLNW YQQKPGKAPKL LIYYTSRLESGVP SRFSGSGSGTDY TLTISSLQPEDFA TYYCQQGNTLP WTFGQGTKVEIK GATPPETGAETE SPGETTGGSAES EPPGEGEVQLVE SGGGLVQPGGSL RLSCAASGYSFT GYTMNWVRQAP GKGLEWVALINP YKGVSTYNQKF KDRFTISVDKSK NTAYLQMNSLR AEDTAVYYCAR SGYYGDSDWYF DVWGQGTLVTV SSGTAEAASASG LSGRSDNHVPLS LKMGPGSPAGSP TSTEEGTSESATP ESGPGTSTEPSEG SAPGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGS APGTSESATPES GPGSEPATSGSE TPGSEPATSGSET PGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGP GTSTEPSEGSAP	GACATCCAAATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCTGAG CGCGAGCGTGGGCGACCGTGTTACCATCACCTGCC GTGCGAGCCAAGACATCCGTAACTACCTGAACTGG TATCAGCAAAAGCCGGGTAAAGCGCCGAAGCTGCT GATCTACTATACCAGCCGTCTGGAGAGCGGCGTGC CGAGCCGTTTCAGCGGTAGCGGTAGCGGTACCGAC TACACCCTGACCATTAGCAGCCTGCAGCCGGAAGA TTTCGCGACCTACTATTGCCAGCAGGGTAACACCCT GCCGTGGACCTTTGGTCAAGGCACCAAAGTTGAGA TTAAAGGCGCCACGCCTCCGGAAACTGGTGCTGAG ACGGAATCCCCTGGTGAAACCACTGGCGGTTCTGC CGAATCTGAACCGCCTGGTGAAGGCGAGGTGCAGC TGGTTGAAAGCGGTGGCGGTCTGGTGCAACCAGGC GGTAGCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCGAGCGGTTA CAGCTTTACCGGTTATACCATGAACTGGGTTCGTCA AGCGCCAGGTAAAGGTCTGGAGTGGGTGGCGCTGA TCAACCCGTACAAGGGTGTTAGCACCTATAACCAG AAGTTCAAAGACCGTTTTACCATTAGCGTGGATAA GAGCAAAAACACCGCGTACCTGCAAATGAACAGCC TGCGTGCGGAGGACACCGCTGTGTACTATTGCGCG CGTAGCGGTTACTATGGCGACAGCGACTGGTATTTT GATGTGTGGGGCCAAGGCACCCTGGTTACCGTGAG CTCCGGCACCGCCGAAGCAGCTagcgcctctGGCctgTCA ggtCGTtctGATaacCATgttCCActgTCTctgAAAatgGGTCC AGGTAGCCCAGCTGGTAGCCCAACCTCTACCGAAG AAGGTACCTCTGAATCCGCTACTCCAGAATCCGGTC CTGGTACTAGCACTGAGCCAAGCGAAGGTTCTGCT CCAGGCTCCCCGGCAGGTAGCCCTACCTCTACCGA AGAGGGCACTAGCACCGAACCATCTGAGGGTTCCG CTCCTGGCACCTCCACTGAACCGTCCGAAGGCAGT GCTCCGGGTACTTCCGAAAGCGCAACTCCGGAATC CGGCCCTGGTTCTGAGCCTGCTACTTCCGGCTCTGA AACTCCAGGTAGCGAGCCAGCGACTTCTGGTTCTG AAACTCCAGGTTCACCGGCGGGTAGCCCGACGAGC ACGGAGGAAGGTACCTCTGAGTCGGCCACTCCTGA GTCCGGTCCGGGCACGAGCACCGAGCCGAGCGAGG

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	GTSTEPSEGSAP	GTTCAGCCCCGGGTACCAGCACGGAGCCGTCCGAG
	GSPAGSPTSTEE	GGTAGCGCACCGGGTTCTCCGGCGGGCTCCCCTAC
	GTSTEPSEGSAP	GTCTACGGAAGAGGGTACGTCCACTGAACCTAGCG
	GTSTEPSEGSAP	AGGGCAGCGCGCCAGGCACCAGCACTGAACCGAGC
	GTSESATPESGP	GAAGGCAGCGCACCTGGCACTAGCGAGTCTGCGAC
	GTSTEPSEGSAP	TCCGGAGAGCGGTCCGGGTACGAGCACGGAACCAA
	GTSESATPESGP	GCGAAGGCAGCGCCCCAGGTACCTCTGAATCTGCT
	GSEPATSGSETP	ACCCCAGAATCTGGCCCGGGTTCCGAGCCAGCTAC
	GTSTEPSEGSAP	CTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCCACTGAACC
	GTSTEPSEGSAP	AAGCGAAGGTAGCGCTCCTGGCACTTCTACTGAAC
	GTSESATPESGP	CATCCGAAGGTTCCGCTCCTGGTACGTCTGAAAGCG
	GTSESATPESGP	CTACCCCTGAAAGCGGCCCAGGCACCTCTGAAAGC
	GSPAGSPTSTEE	GCTACTCCTGAGAGCGGTCCAGGCTCTCCAGCAGG
	GTSESATPESGP	TTCTCCAACCTCCACTGAAGAAGGCACCTCTGAGTC
	GSEPATSGSETP	TGCTACCCCTGAATCTGGTCCTGGCTCCGAACCTGC
	GTSESATPESGP	TACCTCTGGTTCCGAAACTCCAGGTACCTCGGAATC
	GTSTEPSEGSAP	TGCGACTCCGGAATCTGGCCCGGGCACGAGCACGG
	GTSTEPSEGSAP	AGCCGTCTGAGGGTAGCGCACCAGGTACCAGCACT
	GTSTEPSEGSAP	GAGCCTTCTGAGGGCTCTGCACCGGGTACCTCCACG
	GTSTEPSEGSAP	GAACCTTCGGAAGGTTCTGCGCCGGGTACCTCCACT
	GTSTEPSEGSAP	GAGCCATCCGAGGGTTCAGCACCAGGTACTAGCAC
	GTSTEPSEGSAP	GGAACCGTCCGAGGGCTCTGCACCAGGTACGAGCA
	GSPAGSPTSTEE	CCGAACCGTCGGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCA
	GTSTEPSEGSAP	GCGGGCTCTCCGACAAGCACCGAAGAAGGCACCAG
	GTSESATPESGP	CACCGAGCCGTCCGAAGGTTCCGCACCAGGTACAA
	GSEPATSGSETP	GCGAGAGCGCGACTCCTGAATCTGGTCCGGGTAGC
	GTSESATPESGP	GAGCCTGCAACCAGCGGTTCTGAGACGCCGGGCAC
	GSEPATSGSETP	TTCCGAATCTGCGACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTTC
	GTSESATPESGP	AGAGCCGGCGACGAGCGGTTCGGAAACGCCGGGTA
	GTSTEPSEGSAP	CGTCTGAATCAGCCACGCCGGAGTCTGGTCCGGGT
	GTSESATPESGP	ACCTCGACCGAACCAAGCGAAGGTTCGGCACCGGG
	GSPAGSPTSTEE	TACTAGCGAGAGCGCAACCCCTGAAAGCGGTCCGG
	GSPAGSPTSTEE	GCAGCCCGGCAGGTTCTCCAACCAGCACCGAAGAA
	GSPAGSPTSTEE	GGTTCCCCTGCTGGTAGCCCGACCTCTACGGAGGA
	GTSESATPESGP	AGGTAGCCCTGCAGGTTCCCCAACTTCTACTGAGGA
	GTSTEPSEGSAP	AGGTACTTCTGAGTCCGCTACCCCAGAAAGCGGTC
	GTSESATPESGP	CTGGTACCTCCACTGAACCGTCTGAAGGCTCTGCAC
	GSEPATSGSETP	CAGGCACTTCTGAGTCTGCTACTCCAGAAAGCGGC
	GTSESATPESGP	CCAGGTTCTGAACCAGCAACTTCTGGCTCTGAGACT
	GSEPATSGSETP	CCAGGCACTTCTGAGTCCGCAACGCCTGAATCCGGT
	GTSESATPESGP	CCTGGTTCTGAACCAGCTACTTCCGGCAGCGAAACC
	GTSTEPSEGSAP	CCAGGTACCTCTGAGTCTGCGACTCCAGAGTCTGGT
	GSPAGSPTSTEE	CCTGGTACTTCCACTGAGCCTAGCGAGGGTTCCGCA
	GTSESATPESGP	CCAGGTTCTCCGGCTGGTAGCCCGACCAGCACGGA
	GSEPATSGSETP	GGAGGGTACGTCTGAATCTGCAACGCCGGAATCGG
	GTSESATPESGP	GCCCAGGTTCGGAGCCTGCAACGTCTGGCAGCGAA
	GSPAGSPTSTEE	ACCCCGGGTACCTCCGAATCTGCTACACCGGAAAG
	GSPAGSPTSTEE	CGGTCCTGGCAGCCCTGCTGGTTCTCCAACCTCTAC
	GTSTEPSEGSAP	CGAGGAGGGTTCACCGGCAGGTAGCCCGACTAGCA

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	GTSESATPESGP GTSESATPESGP GTSESATPESGP GSEPATSGSETP GSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP GSEPATSGSETP GTSESATPESGP GTSTEPSEGSAP GHHHHHH	CTGAAGAAGGTACTAGCACGGAGCCGAGCGAGGGT AGTGCTCCGGGTACGAGCGAGAGCGCAACGCCAGA GAGCGGTCCAGGCACCAGCGAATCGGCCACCCCTG AGAGCGGCCCAGGTACTTCTGAGAGCGCCACTCCT GAATCCGGCCCTGGTAGCGAGCCGGCAACCTCCGG CTCAGAAACTCCTGGTTCGGAACCAGCGACCAGCG GTTCTGAAACTCCGGGTAGCCCGGCAGGCAGCCCA ACGAGCACCGAAGAGGGTACCAGCACGGAACCGA GCGAGGGTTCTGCCCCGGGTACTTCCACCGAACCAT CGGAGGGCTCTGCACCTGGTAGCGAACCTGCGACG TCTGGTTCTGAAACGCCGGGTACCAGCGAAAGCGC TACCCCAGAATCCGGTCCGGGCACTAGCACCGAGC CATCGGAGGGCTCCGCACCAGGTCACCATCATCAC CATCAC
TBP-3	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCA ASGYSFTGYTM NWVRQAPGKGL EWVALINPYKG VSTYNQKFKDRF TISVDKSKNTAY LQMNSLRAEDT AVYYCARSGYY GDSDWYFDVW GQGTLVTVSSGA TPPETGAETESP GETTGGSAESEP PGEGDIQMTQSP SSLSASVGDRVT ITCRASQDIRNY LNWYQQKPGKA PKLLIYYTSRLES GVPSRFSGSGSG TDYTLTISSLQPE DFATYYCQQGN TLPWTFGQGTK VEIKGTAEAASA SGLSGRSDNHSP LGLAGSPGSPAG SPTSTEEGTSESA TPESGPGTSTEPS EGSAPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSE GSAPGTSTEPSE GSAPGTSESATP ESGPGSEPATSG SETPGSEPATSGS ETPGSPAGSPTST EEGTSESATPES	GAGGTGCAGCTGGTTGAAAGCGGTGGCGGTCTGGT GCAACCAGGCGGTAGCCTGCGTCTGAGCTGCGCGG CGAGCGGTTACAGCTTTACCGGTTATACCATGAACT GGGTTCGTCAAGCGCCAGGTAAAGGTCTGGAGTGG GTGGCGCTGATCAACCCGTACAAGGGTGTTAGCAC CTATAACCAGAAGTTCAAAGACCGTTTTACCATTAG CGTGGATAAGAGCAAAAACACCGCGTACCTGCAAA TGAACAGCCTGCGTGCGGAGGACACCGCTGTGTAC TATTGCGCGCGTAGCGGTTACTATGGCGACAGCGA CTGGTATTTTGATGTGTGGGGCCAAGGCACCCTGGT TACCGTGAGCTCCGGCGCCACGCCTCCGGAAACTG GTGCTGAGACGGAATCCCCTGGTGAAACCACTGGC GGTTCTGCCGAATCTGAACCGCCTGGTGAAGGCGA CATCCAAATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCTGAGCG CGAGCGTGGGCGACCGTGTTACCATCACCTGCCGT GCGAGCCAAGACATCCGTAACTACCTGAACTGGTA TCAGCAAAAGCCGGGTAAAGCGCCGAAGCTGCTGA TCTACTATACCAGCCGTCTGGAGAGCGGCGTGCCG AGCCGTTTCAGCGGTAGCGGTAGCGGTACCGACTA CACCCTGACCATTAGCAGCCTGCAGCCGGAAGATT TCGCGACCTACTATTGCCAGCAGGGTAACACCCTGC CGTGGACCTTTGGTCAAGGCACCAAAGTTGAGATT AAAGGCACCGCCGAAGCAGCTagcgcctctGGCctgTCAg gtCGTtctGATaacCATtccCCActgGGTctgGCTGGGTCTCC AGGTAGCCCAGCTGGTAGCCCAACCTCTACCGAAG AAGGTACCTCTGAATCCGCTACTCCAGAATCCGGTC CTGGTACTAGCACTGAGCCAAGCGAAGGTTCTGCT CCAGGCTCCCCGGCAGGTAGCCCTACCTCTACCGA AGAGGGCACTAGCACCGAACCATCTGAGGGTTCCG CTCCTGGCACCTCCACTGAACCGTCCGAAGGCAGT GCTCCGGGTACTTCCGAAAGCGCAACTCCGGAATC CGGCCCTGGTTCTGAGCCTGCTACTTCCGGCTCTGA AACTCCAGGTAGCGAGCCAGCGACTTCTGGTTCTG AAACTCCAGGTTCACCGGCGGGTAGCCCGACGAGC ACGGAGGAAGGTACCTCTGAGTCGGCCACTCCTGA

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	GPGTSTEPSEGS	GTCCGGTCCGGGCACGAGCACCGAGCCGAGCGAGG
	APGTSTEPSEGS	GTTCAGCCCCGGGTACCAGCACGGAGCCGTCCGAG
	APGSPAGSPTST	GGTAGCGCACCGGGTTCTCCGGCGGGCTCCCCTAC
	EEGTSTEPSEGS	GTCTACGGAAGAGGGTACGTCCACTGAACCTAGCG
	APGTSTEPSEGS	AGGGCAGCGCGCCAGGCACCAGCACTGAACCGAGC
	APGTSESATPES	GAAGGCAGCGCACCTGGCACTAGCGAGTCTGCGAC
	GPGTSTEPSEGS	TCCGGAGAGCGGTCCGGGTACGAGCACGGAACCAA
	APGTSESATPES	GCGAAGGCAGCGCCCCAGGTACCTCTGAATCTGCT
	GPGSEPATSGSE	ACCCCAGAATCTGGCCCGGGTTCCGAGCCAGCTAC
	TPGTSTEPSEGSA	CTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCCACTGAACC
	PGTSTEPSEGSAP	AAGCGAAGGTAGCGCTCCTGGCACTTCTACTGAAC
	GTSESATPESGP	CATCCGAAGGTTCCGCTCCTGGTACGTCTGAAAGCG
	GTSESATPESGP	CTACCCCTGAAAGCGGCCCAGGCACCTCTGAAAGC
	GSPAGSPTSTEE	GCTACTCCTGAGAGCGGTCCAGGCTCTCCAGCAGG
	GTSESATPESGP	TTCTCCAACCTCCACTGAAGAAGGCACCTCTGAGTC
	GSEPATSGSETP	TGCTACCCCTGAATCTGGTCCTGGCTCCGAACCTGC
	GTSESATPESGP	TACCTCTGGTTCCGAAACTCCAGGTACCTCGGAATC
	GTSTEPSEGSAP	TGCGACTCCGGAATCTGGCCCGGGCACGAGCACGG
	GTSTEPSEGSAP	AGCCGTCTGAGGGTAGCGCACCAGGTACCAGCACT
	GTSTEPSEGSAP	GAGCCTTCTGAGGGCTCTGCACCGGGTACCTCCACG
	GTSTEPSEGSAP	GAACCTTCGGAAGGTTCTGCGCCGGGTACCTCCACT
	GTSTEPSEGSAP	GAGCCATCCGAGGGTTCAGCACCAGGTACTAGCAC
	GTSTEPSEGSAP	GGAACCGTCCGAGGGCTCTGCACCAGGTACGAGCA
	GSPAGSPTSTEE	CCGAACCGTCGGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCA
	GTSTEPSEGSAP	GCGGGCTCTCCGACAAGCACCGAAGAAGGCACCAG
	GTSESATPESGP	CACCGAGCCGTCCGAAGGTTCCGCACCAGGTACAA
	GSEPATSGSETP	GCGAGAGCGCGACTCCTGAATCTGGTCCGGGTAGC
	GTSESATPESGP	GAGCCTGCAACCAGCGGTTCTGAGACGCCGGGCAC
	GSEPATSGSETP	TTCCGAATCTGCGACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTTC
	GTSESATPESGP	AGAGCCGGCGACGAGCGGTTCGGAAACGCCGGGTA
	GTSTEPSEGSAP	CGTCTGAATCAGCCACGCCGGAGTCTGGTCCGGGT
	GTSESATPESGP	ACCTCGACCGAACCAAGCGAAGGTTCGGCACCGGG
	GSPAGSPTSTEE	TACTAGCGAGAGCGCAACCCCTGAAAGCGGTCCGG
	GSPAGSPTSTEE	GCAGCCCGGCAGGTTCTCCAACCAGCACCGAAGAA
	GSPAGSPTSTEE	GGTTCCCCTGCTGGTAGCCCGACCTCTACGGAGGA
	GTSESATPESGP	AGGTAGCCCTGCAGGTTCCCCAACTTCTACTGAGGA
	GTSTEPSEGSAP	AGGTACTTCTGAGTCCGCTACCCCAGAAAGCGGTC
	GTSESATPESGP	CTGGTACCTCCACTGAACCGTCTGAAGGCTCTGCAC
	GSEPATSGSETP	CAGGCACTTCTGAGTCTGCTACTCCAGAAAGCGGC
	GTSESATPESGP	CCAGGTTCTGAACCAGCAACTTCTGGCTCTGAGACT
	GSEPATSGSETP	CCAGGCACTTCTGAGTCCGCAACGCCTGAATCCGGT
	GTSESATPESGP	CCTGGTTCTGAACCAGCTACTTCCGGCAGCGAAACC
	GTSTEPSEGSAP	CCAGGTACCTCTGAGTCTGCGACTCCAGAGTCTGGT
	GSPAGSPTSTEE	CCTGGTACTTCCACTGAGCCTAGCGAGGGTTCCGCA
	GTSESATPESGP	CCAGGTTCTCCGGCTGGTAGCCCGACCAGCACGGA
	GSEPATSGSETP	GGAGGGTACGTCTGAATCTGCAACGCCGGAATCGG
	GTSESATPESGP	GCCCAGGTTCGGAGCCTGCAACGTCTGGCAGCGAA
	GSPAGSPTSTEE	ACCCCGGGTACCTCCGAATCTGCTACACCGGAAAG
	GSPAGSPTSTEE	CGGTCCTGGCAGCCCTGCTGGTTCTCCAACCTCTAC

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	GTSTEPSEGSAP GTSESATPESGP GTSESATPESGP GTSESATPESGP GSEPATSGSETP GSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP GSEPATSGSETP GTSESATPESGP GTSTEPSEGSAP GHHHHHH	CGAGGAGGGTTCACCGGCAGGTAGCCCGACTAGCA CTGAAGAAGGTACTAGCACGGAGCCGAGCGAGGGT AGTGCTCCGGGTACGAGCGAGAGCGCAACGCCAGA GAGCGGTCCAGGCACCAGCGAATCGGCCACCCCTG AGAGCGGCCCAGGTACTTCTGAGAGCGCCACTCCT GAATCCGGCCCTGGTAGCGAGCCGGCAACCTCCGG CTCAGAAACTCCTGGTTCGGAACCAGCGACCAGCG GTTCTGAAACTCCGGGTAGCCCGGCAGGCAGCCCA ACGAGCACCGAAGAGGGTACCAGCACGGAACCGA GCGAGGGTTCTGCCCCGGGTACTTCCACCGAACCAT CGGAGGGCTCTGCACCTGGTAGCGAACCTGCGACG TCTGGTTCTGAAACGCCGGGTACCAGCGAAAGCGC TACCCCAGAATCCGGTCCGGGCACTAGCACCGAGC CATCGGAGGGCTCCGCACCAGGTCACCATCATCAC CATCAC
TBP-4	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCA ASGYSFTGYTM NWVRQAPGKGL EWVALINPYKG VSTYNQKFKDRF TISVDKSKNTAY LQMNSLRAEDT AVYYCARSGYY GDSDWYFDVW GQGTLVTVSSGA TPPETGAETESP GETTGGSAESEP PGEGDIQMTQSP SSLSASVGDRVT ITCRASQDIRNY LNWYQQKPGKA PKLLIYYTSRLES GVPSRFSGSGSG TDYTLTISSLQPE DFATYYCQQGN TLPWTFGQGTK VEIKGTAEAASA SGLSGRSDNHVP LSLKMGPGSPAG SPTSTEEGTSESA TPESGPGTSTEPS EGSAPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSE GSAPGTSTEPSE GSAPGTSESATP ESGPGSEPATSG SETPGSEPATSGS ETPGSPAGSPTST	GAGGTGCAGCTGGTTGAAAGCGGTGGCGGTCTGGT GCAACCAGGCGGTAGCCTGCGTCTGAGCTGCGCGG CGAGCGGTTACAGCTTTACCGGTTATACCATGAACT GGGTTCGTCAAGCGCCAGGTAAAGGTCTGGAGTGG GTGGCGCTGATCAACCCGTACAAGGGTGTTAGCAC CTATAACCAGAAGTTCAAAGACCGTTTTACCATTAG CGTGGATAAGAGCAAAAACACCGCGTACCTGCAAA TGAACAGCCTGCGTGCGGAGGACACCGCTGTGTAC TATTGCGCGCGTAGCGGTTACTATGGCGACAGCGA CTGGTATTTTGATGTGTGGGGCCAAGGCACCCTGGT TACCGTGAGCTCCGGCGCCACGCCTCCGGAAACTG GTGCTGAGACGGAATCCCCTGGTGAAACCACTGGC GGTTCTGCCGAATCTGAACCGCCTGGTGAAGGCGA CATCCAAATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCTGAGCG CGAGCGTGGGCGACCGTGTTACCATCACCTGCCGT GCGAGCCAAGACATCCGTAACTACCTGAACTGGTA TCAGCAAAAGCCGGGTAAAGCGCCGAAGCTGCTGA TCTACTATACCAGCCGTCTGGAGAGCGGCGTGCCG AGCCGTTTCAGCGGTAGCGGTAGCGGTACCGACTA CACCCTGACCATTAGCAGCCTGCAGCCGGAAGATT TCGCGACCTACTATTGCCAGCAGGGTAACACCCTGC CGTGGACCTTTGGTCAAGGCACCAAAGTTGAGATT AAAGGCACCGCCGAAGCAGCTagcgcctctGGCctgTCAg gtCGTtctGATaacCATgttCCActgTCTctgAAAatgGGTCCA GGTAGCCCAGCTGGTAGCCCAACCTCTACCGAAGA AGGTACCTCTGAATCCGCTACTCCAGAATCCGGTCC TGGTACTAGCACTGAGCCAAGCGAAGGTTCTGCTC CAGGCTCCCCGGCAGGTAGCCCTACCTCTACCGAA GAGGGCACTAGCACCGAACCATCTGAGGGTTCCGC TCCTGGCACCTCCACTGAACCGTCCGAAGGCAGTG CTCCGGGTACTTCCGAAAGCGCAACTCCGGAATCC GGCCCTGGTTCTGAGCCTGCTACTTCCGGCTCTGAA ACTCCAGGTAGCGAGCCAGCGACTTCTGGTTCTGA AACTCCAGGTTCACCGGCGGGTAGCCCGACGAGCA

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	EEGTSESATPES	CGGAGGAAGGTACCTCTGAGTCGGCCACTCCTGAG
	GPGTSTEPSEGS	TCCGGTCCGGGCACGAGCACCGAGCCGAGCGAGGG
	APGTSTEPSEGS	TTCAGCCCCGGGTACCAGCACGGAGCCGTCCGAGG
	APGSPAGSPTST	GTAGCGCACCGGGTTCTCCGGCGGGCTCCCCTACGT
	EEGTSTEPSEGS	CTACGGAAGAGGGTACGTCCACTGAACCTAGCGAG
	APGTSTEPSEGS	GGCAGCGCGCCAGGCACCAGCACTGAACCGAGCGA
	APGTSESATPES	AGGCAGCGCACCTGGCACTAGCGAGTCTGCGACTC
	GPGTSTEPSEGS	CGGAGAGCGGTCCGGGTACGAGCACGGAACCAAGC
	APGTSESATPES	GAAGGCAGCGCCCCAGGTACCTCTGAATCTGCTAC
	GPGSEPATSGSE	CCCAGAATCTGGCCCGGGTTCCGAGCCAGCTACCTC
	TPGTSTEPSEGSA	TGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCCACTGAACCAAG
	PGTSTEPSEGSAP	CGAAGGTAGCGCTCCTGGCACTTCTACTGAACCATC
	GTSESATPESGP	CGAAGGTTCCGCTCCTGGTACGTCTGAAAGCGCTAC
	GTSESATPESGP	CCCTGAAAGCGGCCCAGGCACCTCTGAAAGCGCTA
	GSPAGSPTSTEE	CTCCTGAGAGCGGTCCAGGCTCTCCAGCAGGTTCTC
	GTSESATPESGP	CAACCTCCACTGAAGAAGGCACCTCTGAGTCTGCT
	GSEPATSGSETP	ACCCCTGAATCTGGTCCTGGCTCCGAACCTGCTACC
	GTSESATPESGP	TCTGGTTCCGAAACTCCAGGTACCTCGGAATCTGCG
	GTSTEPSEGSAP	ACTCCGGAATCTGGCCCGGGCACGAGCACGGAGCC
	GTSTEPSEGSAP	GTCTGAGGGTAGCGCACCAGGTACCAGCACTGAGC
	GTSTEPSEGSAP	CTTCTGAGGGCTCTGCACCGGGTACCTCCACGGAAC
	GTSTEPSEGSAP	CTTCGGAAGGTTCTGCGCCGGGTACCTCCACTGAGC
	GTSTEPSEGSAP	CATCCGAGGGTTCAGCACCAGGTACTAGCACGGAA
	GTSTEPSEGSAP	CCGTCCGAGGGCTCTGCACCAGGTACGAGCACCGA
	GSPAGSPTSTEE	ACCGTCGGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCAGCGG
	GTSTEPSEGSAP	GCTCTCCGACAAGCACCGAAGAAGGCACCAGCACC
	GTSESATPESGP	GAGCCGTCCGAAGGTTCCGCACCAGGTACAAGCGA
	GSEPATSGSETP	GAGCGCGACTCCTGAATCTGGTCCGGGTAGCGAGC
	GTSESATPESGP	CTGCAACCAGCGGTTCTGAGACGCCGGGCACTTCC
	GSEPATSGSETP	GAATCTGCGACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTTCAGA
	GTSESATPESGP	GCCGGCGACGAGCGGTTCGGAAACGCCGGGTACGT
	GTSTEPSEGSAP	CTGAATCAGCCACGCCGGAGTCTGGTCCGGGTACC
	GTSESATPESGP	TCGACCGAACCAAGCGAAGGTTCGGCACCGGGTAC
	GSPAGSPTSTEE	TAGCGAGAGCGCAACCCCTGAAAGCGGTCCGGGCA
	GSPAGSPTSTEE	GCCCGGCAGGTTCTCCAACCAGCACCGAAGAAGGT
	GSPAGSPTSTEE	TCCCCTGCTGGTAGCCCGACCTCTACGGAGGAAGG
	GTSESATPESGP	TAGCCCTGCAGGTTCCCCAACTTCTACTGAGGAAGG
	GTSTEPSEGSAP	TACTTCTGAGTCCGCTACCCCAGAAAGCGGTCCTGG
	GTSESATPESGP	TACCTCCACTGAACCGTCTGAAGGCTCTGCACCAGG
	GSEPATSGSETP	CACTTCTGAGTCTGCTACTCCAGAAAGCGGCCCAG
	GTSESATPESGP	GTTCTGAACCAGCAACTTCTGGCTCTGAGACTCCAG
	GSEPATSGSETP	GCACTTCTGAGTCCGCAACGCCTGAATCCGGTCCTG
	GTSESATPESGP	GTTCTGAACCAGCTACTTCCGGCAGCGAAACCCCA
	GTSTEPSEGSAP	GGTACCTCTGAGTCTGCGACTCCAGAGTCTGGTCCT
	GSPAGSPTSTEE	GGTACTTCCACTGAGCCTAGCGAGGGTTCCGCACC
	GTSESATPESGP	AGGTTCTCCGGCTGGTAGCCCGACCAGCACGGAGG
	GSEPATSGSETP	AGGGTACGTCTGAATCTGCAACGCCGGAATCGGGC
	GTSESATPESGP	CCAGGTTCGGAGCCTGCAACGTCTGGCAGCGAAAC
	GSPAGSPTSTEE	CCCGGGTACCTCCGAATCTGCTACACCGGAAAGCG

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	GSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAP GTSESATPESGP GTSESATPESGP GTSESATPESGP GSEPATSGSETP GSEPATSGSETP GSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP GSEPATSGSETP GTSESATPESGP GTSTEPSEGSAP GHHHHHH	GTCCTGGCAGCCCTGCTGGTTCTCCAACCTCTACCG AGGAGGGTTCACCGGCAGGTAGCCCGACTAGCACT GAAGAAGGTACTAGCACGGAGCCGAGCGAGGGTA GTGCTCCGGGTACGAGCGAGAGCGCAACGCCAGAG AGCGGTCCAGGCACCAGCGAATCGGCCACCCCTGA GAGCGGCCCAGGTACTTCTGAGAGCGCCACTCCTG AATCCGGCCCTGGTAGCGAGCCGGCAACCTCCGGC TCAGAAACTCCTGGTTCGGAACCAGCGACCAGCGG TTCTGAAACTCCGGGTAGCCCGGCAGGCAGCCCAA CGAGCACCGAAGAGGGTACCAGCACGGAACCGAG CGAGGGTTCTGCCCCGGGTACTTCCACCGAACCATC GGAGGGCTCTGCACCTGGTAGCGAACCTGCGACGT CTGGTTCTGAAACGCCGGGTACCAGCGAAAGCGCT ACCCCAGAATCCGGTCCGGGCACTAGCACCGAGCC ATCGGAGGGCTCCGCACCAGGTCACCATCATCACC ATCAC
TBP-5	ELVVTQEPSLTV SPGGTVTLTCRS STGAVTTSNYAN WVQQKPGQAPR GLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPE DEAEYYCALWY SNLWVFGGGTK LTVLGATPPETG AETESPGETTGG SAESEPPGEGEV QLLESGGGLVQP GGSLKLSCAASG FTFNTYAMNWV RQAPGKGLEWV ARIRSKYNNYAT YYADSVKDRFTI SRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTA VYYCVRHGNFG NSYVSWFAYWG QGTLVTVSSGTA EAASASGLSGRS DNHSPLGLAGSP GSPAGSPTSTEE GTSESATPESGP GTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP GTSESATPESGP GSEPATSGSETP	GAACTGGTCGTCACGCAGGAGCCGTCCCTTACCGTT TCACCAGGTGGAACAGTGACTCTGACGTGTCGCTCC TCCACTGGGGCGGTTACAACTTCCAATTATGCTAAT TGGGTCCAGCAGAAGCCGGGCCAAGCCCCTCGCGG GTTGATTGGCGGCACCAACAAACGTGCTCCAGGGA CACCTGCCCGTTTTTCGGGCTCCTTATTGGGGGGCA AAGCTGCACTGACGTTGTCTGGAGTTCAGCCGGAG GATGAGGCAGAGTATTACTGCGCATTGTGGTATTCT AATTTATGGGTTTTTGGAGGCGGCACAAAGCTGAC CGTCCTGggtgcgaccccgccggaaaccggtgcggaaaccgaaagcccgg gtgaaaccaccggtggcagcgcggagagcgaaccgccgggtgaaggtGAGG TTCAGTTGTTGGAAAGCGGGGGCGGGCTTGTCCAA CCTGGAGGTTCATTAAAATTGAGCTGTGCAGCCTCC GGATTCACCTTTAACACGTATGCAATGAACTGGGTC CGTCAAGCGCCCGGTAAGGGGCTGGAGTGGGTAGC TCGCATCCGCTCGAAGTATAATAATTACGCAACCTA CTACGCAGACAGTGTCAAAGATCGCTTCACTATCTC ACGCGACGACAGTAAGAACACGGCCTACTTACAGA TGAACAATCTTAAAACGGAGGACACCGCTGTCTAC TACTGCGTGCGCCACGGGAATTTCGGTAACTCTTAT GTAAGTTGGTTCGCATATTGGGGACAAGGTACGTT GGTAACCGTATCCAGCGGCACCGCCGAAGCAGCTag cgcctctGGCctgTCAggtCGTtctGATaacCATtccCCActgGGT ctgGCTGGGTCTCCAGGTAGCCCAGCTGGTAGCCCAA CCTCTACCGAAGAAGGTACCTCTGAATCCGCTACTC CAGAATCCGGTCCTGGTACTAGCACTGAGCCAAGC GAAGGTTCTGCTCCAGGCTCCCCGGCAGGTAGCCCT ACCTCTACCGAAGAGGGCACTAGCACCGAACCATC TGAGGGTTCCGCTCCTGGCACCTCCACTGAACCGTC CGAAGGCAGTGCTCCGGGTACTTCCGAAAGCGCAA CTCCGGAATCCGGCCCTGGTTCTGAGCCTGCTACTT CCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAGCCAGCGACT TCTGGTTCTGAAACTCCAGGTTCACCGGCGGGTAGC

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	GSEPATSGSETP	CCGACGAGCACGGAGGAAGGTACCTCTGAGTCGGC
	GSPAGSPTSTEE	CACTCCTGAGTCCGGTCCGGGCACGAGCACCGAGC
	GTSESATPESGP	CGAGCGAGGGTTCAGCCCCGGGTACCAGCACGGAG
	GTSTEPSEGSAP	CCGTCCGAGGGTAGCGCACCGGGTTCTCCGGCGGG
	GTSTEPSEGSAP	CTCCCCTACGTCTACGGAAGAGGGTACGTCCACTG
	GSPAGSPTSTEE	AACCTAGCGAGGGCAGCGCGCCAGGCACCAGCACT
	GTSTEPSEGSAP	GAACCGAGCGAAGGCAGCGCACCTGGCACTAGCGA
	GTSTEPSEGSAP	GTCTGCGACTCCGGAGAGCGGTCCGGGTACGAGCA
	GTSESATPESGP	CGGAACCAAGCGAAGGCAGCGCCCCAGGTACCTCT
	GTSTEPSEGSAP	GAATCTGCTACCCCAGAATCTGGCCCGGGTTCCGA
	GTSESATPESGP	GCCAGCTACCTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTC
	GSEPATSGSETP	CACTGAACCAAGCGAAGGTAGCGCTCCTGGCACTT
	GTSTEPSEGSAP	CTACTGAACCATCCGAAGGTTCCGCTCCTGGTACGT
	GTSTEPSEGSAP	CTGAAAGCGCTACCCCTGAAAGCGGCCCAGGCACC
	GTSESATPESGP	TCTGAAAGCGCTACTCCTGAGAGCGGTCCAGGCTCT
	GTSESATPESGP	CCAGCAGGTTCTCCAACCTCCACTGAAGAAGGCAC
	GSPAGSPTSTEE	CTCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGTCCTGGCTC
	GTSESATPESGP	CGAACCTGCTACCTCTGGTTCCGAAACTCCAGGTAC
	GSEPATSGSETP	CTCGGAATCTGCGACTCCGGAATCTGGCCCGGGCA
	GTSESATPESGP	CGAGCACGGAGCCGTCTGAGGGTAGCGCACCAGGT
	GTSTEPSEGSAP	ACCAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTCTGCACCGGG
	GTSTEPSEGSAP	TACCTCCACGGAACCTTCGGAAGGTTCTGCGCCGG
	GTSTEPSEGSAP	GTACCTCCACTGAGCCATCCGAGGGTTCAGCACCA
	GTSTEPSEGSAP	GGTACTAGCACGGAACCGTCCGAGGGCTCTGCACC
	GTSTEPSEGSAP	AGGTACGAGCACCGAACCGTCGGAGGGTAGCGCTC
	GTSTEPSEGSAP	CAGGTAGCCCAGCGGGCTCTCCGACAAGCACCGAA
	GSPAGSPTSTEE	GAAGGCACCAGCACCGAGCCGTCCGAAGGTTCCGC
	GTSTEPSEGSAP	ACCAGGTACAAGCGAGAGCGCGACTCCTGAATCTG
	GTSESATPESGP	GTCCGGGTAGCGAGCCTGCAACCAGCGGTTCTGAG
	GSEPATSGSETP	ACGCCGGGCACTTCCGAATCTGCGACCCCGGAGTC
	GTSESATPESGP	CGGTCCAGGTTCAGAGCCGGCGACGAGCGGTTCGG
	GSEPATSGSETP	AAACGCCGGGTACGTCTGAATCAGCCACGCCGGAG
	GTSESATPESGP	TCTGGTCCGGGTACCTCGACCGAACCAAGCGAAGG
	GTSTEPSEGSAP	TTCGGCACCGGGTACTAGCGAGAGCGCAACCCCTG
	GTSESATPESGP	AAAGCGGTCCGGGCAGCCCGGCAGGTTCTCCAACC
	GSPAGSPTSTEE	AGCACCGAAGAAGGTTCCCCTGCTGGTAGCCCGAC
	GSPAGSPTSTEE	CTCTACGGAGGAAGGTAGCCCTGCAGGTTCCCCAA
	GSPAGSPTSTEE	CTTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAGTCCGCTACCC
	GTSESATPESGP	CAGAAAGCGGTCCTGGTACCTCCACTGAACCGTCT
	GTSTEPSEGSAP	GAAGGCTCTGCACCAGGCACTTCTGAGTCTGCTACT
	GTSESATPESGP	CCAGAAAGCGGCCCAGGTTCTGAACCAGCAACTTC
	GSEPATSGSETP	TGGCTCTGAGACTCCAGGCACTTCTGAGTCCGCAAC
	GTSESATPESGP	GCCTGAATCCGGTCCTGGTTCTGAACCAGCTACTTC
	GSEPATSGSETP	CGGCAGCGAAACCCCAGGTACCTCTGAGTCTGCGA
	GTSESATPESGP	CTCCAGAGTCTGGTCCTGGTACTTCCACTGAGCCTA
	GTSTEPSEGSAP	GCGAGGGTTCCGCACCAGGTTCTCCGGCTGGTAGC
	GSPAGSPTSTEE	CCGACCAGCACGGAGGAGGGTACGTCTGAATCTGC
	GTSESATPESGP	AACGCCGGAATCGGGCCCAGGTTCGGAGCCTGCAA
	GSEPATSGSETP	CGTCTGGCAGCGAAACCCCGGGTACCTCCGAATCT

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	GTSESATPESGP	GCTACACCGGAAAGCGGTCCTGGCAGCCCTGCTGG
	GSPAGSPTSTEE	TTCTCCAACCTCTACCGAGGAGGGTTCACCGGCAG
	GSPAGSPTSTEE	GTAGCCCGACTAGCACTGAAGAAGGTACTAGCACG
	GTSTEPSEGSAP	GAGCCGAGCGAGGGTAGTGCTCCGGGTACGAGCGA
	GTSESATPESGP	GAGCGCAACGCCAGAGAGCGGTCCAGGCACCAGCG
	GTSESATPESGP	AATCGGCCACCCCTGAGAGCGGCCCAGGTACTTCT
	GTSESATPESGP	GAGAGCGCCACTCCTGAATCCGGCCCTGGTAGCGA
	GSEPATSGSETP	GCCGGCAACCTCCGGCTCAGAAACTCCTGGTTCGG
	GSEPATSGSETP	AACCAGCGACCAGCGGTTCTGAAACTCCGGGTAGC
	GSPAGSPTSTEE	CCGGCAGGCAGCCCAACGAGCACCGAAGAGGGTAC
	GTSTEPSEGSAP	CAGCACGGAACCGAGCGAGGGTTCTGCCCCGGGTA
	GTSTEPSEGSAP	CTTCCACCGAACCATCGGAGGGCTCTGCACCTGGTA
	GSEPATSGSETP	GCGAACCTGCGACGTCTGGTTCTGAAACGCCGGGT
	GTSESATPESGP	ACCAGCGAAAGCGCTACCCCAGAATCCGGTCCGGG
	GTSTEPSEGSAP	CACTAGCACCGAGCCATCGGAGGGCTCCGCACCAG
	GHHHHHH	GTCACCATCATCACCATCAC
	ELVVTQEPSLTV	GAACTGGTCGTCACGCAGGAGCCGTCCCTTACCGTT
	SPGGTVTLTCRS	TCACCAGGTGGAACAGTGACTCTGACGTGTCGCTCC
	STGAVTTSNYAN	TCCACTGGGGCGGTTACAACTTCCAATTATGCTAAT
	WVQQKPGQAPR	TGGGTCCAGCAGAAGCCGGGCCAAGCCCCTCGCGG
	GLIGGTNKRAPG	GTTGATTGGCGGCACCAACAAACGTGCTCCAGGGA
	TPARFSGSLLGG	CACCTGCCCGTTTTTCGGGCTCCTTATTGGGGGGCA
	KAALTLSGVQPE	AAGCTGCACTGACGTTGTCTGGAGTTCAGCCGGAG
	DEAEYYCALWY	GATGAGGCAGAGTATTACTGCGCATTGTGGTATTCT
	SNLWVFGGGTK	AATTTATGGGTTTTTGGAGGCGGCACAAAGCTGAC
	LTVLGATPPETG	CGTCCTGggtgcgaccccgccggaaaccggtgcggaaaccgaaagcccgg
	AETESPGETTGG	gtgaaaccaccggtggcagcgcggagagcgaaccgccgggtgaaggtGAGG
	SAESEPPGEGEV	TTCAGTTGTTGGAAAGCGGGGGCGGGCTTGTCCAA
	QLLESGGGLVQP	CCTGGAGGTTCATTAAAATTGAGCTGTGCAGCCTCC
	GGSLKLSCAASG	GGATTCACCTTTAACACGTATGCAATGAACTGGGTC
	FTFNTYAMNWV	CGTCAAGCGCCCGGTAAGGGGCTGGAGTGGGTAGC
	RQAPGKGLEWV	TCGCATCCGCTCGAAGTATAATAATTACGCAACCTA
TBP-6	ARIRSKYNNYAT	CTACGCAGACAGTGTCAAAGATCGCTTCACTATCTC
	YYADSVKDRFTI	ACGCGACGACAGTAAGAACACGGCCTACTTACAGA
	SRDDSKNTAYL	TGAACAATCTTAAAACGGAGGACACCGCTGTCTAC
	QMNNLKTEDTA	TACTGCGTGCGCCACGGGAATTTCGGTAACTCTTAT
	VYYCVRHGNFG	GTAAGTTGGTTCGCATATTGGGGACAAGGTACGTT
	NSYVSWFAYWG	GGTAACCGTATCCAGCGGCACCGCCGAAGCAGCTag
	QGTLVTVSSGTA	cgcctctGGCctgTCAggtCGTtctGATaacCATgttCCActgTCTc
	EAASASGLSGRS	tgAAAatgGGTCCAGGTAGCCCAGCTGGTAGCCCAAC
	DNHVPLSLKMG	CTCTACCGAAGAAGGTACCTCTGAATCCGCTACTCC
	PGSPAGSPTSTEE	AGAATCCGGTCCTGGTACTAGCACTGAGCCAAGCG
	GTSESATPESGP	AAGGTTCTGCTCCAGGCTCCCCGGCAGGTAGCCCTA
	GTSTEPSEGSAP	CCTCTACCGAAGAGGGCACTAGCACCGAACCATCT
	GSPAGSPTSTEE	GAGGGTTCCGCTCCTGGCACCTCCACTGAACCGTCC
	GTSTEPSEGSAP	GAAGGCAGTGCTCCGGGTACTTCCGAAAGCGCAAC
	GTSTEPSEGSAP	TCCGGAATCCGGCCCTGGTTCTGAGCCTGCTACTTC
	GTSESATPESGP	CGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAGCCAGCGACTT
	GSEPATSGSETP	CTGGTTCTGAAACTCCAGGTTCACCGGCGGGTAGCC

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	GSEPATSGSETP	CGACGAGCACGGAGGAAGGTACCTCTGAGTCGGCC
	GSPAGSPTSTEE	ACTCCTGAGTCCGGTCCGGGCACGAGCACCGAGCC
	GTSESATPESGP	GAGCGAGGGTTCAGCCCCGGGTACCAGCACGGAGC
	GTSTEPSEGSAP	CGTCCGAGGGTAGCGCACCGGGTTCTCCGGCGGGC
	GTSTEPSEGSAP	TCCCCTACGTCTACGGAAGAGGGTACGTCCACTGA
	GSPAGSPTSTEE	ACCTAGCGAGGGCAGCGCGCCAGGCACCAGCACTG
	GTSTEPSEGSAP	AACCGAGCGAAGGCAGCGCACCTGGCACTAGCGAG
	GTSTEPSEGSAP	TCTGCGACTCCGGAGAGCGGTCCGGGTACGAGCAC
	GTSESATPESGP	GGAACCAAGCGAAGGCAGCGCCCCAGGTACCTCTG
	GTSTEPSEGSAP	AATCTGCTACCCCAGAATCTGGCCCGGGTTCCGAGC
	GTSESATPESGP	CAGCTACCTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCCA
	GSEPATSGSETP	CTGAACCAAGCGAAGGTAGCGCTCCTGGCACTTCT
	GTSTEPSEGSAP	ACTGAACCATCCGAAGGTTCCGCTCCTGGTACGTCT
	GTSTEPSEGSAP	GAAAGCGCTACCCCTGAAAGCGGCCCAGGCACCTC
	GTSESATPESGP	TGAAAGCGCTACTCCTGAGAGCGGTCCAGGCTCTC
	GTSESATPESGP	CAGCAGGTTCTCCAACCTCCACTGAAGAAGGCACC
	GSPAGSPTSTEE	TCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGTCCTGGCTCC
	GTSESATPESGP	GAACCTGCTACCTCTGGTTCCGAAACTCCAGGTACC
	GSEPATSGSETP	TCGGAATCTGCGACTCCGGAATCTGGCCCGGGCAC
	GTSESATPESGP	GAGCACGGAGCCGTCTGAGGGTAGCGCACCAGGTA
	GTSTEPSEGSAP	CCAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTCTGCACCGGGT
	GTSTEPSEGSAP	ACCTCCACGGAACCTTCGGAAGGTTCTGCGCCGGG
	GTSTEPSEGSAP	TACCTCCACTGAGCCATCCGAGGGTTCAGCACCAG
	GTSTEPSEGSAP	GTACTAGCACGGAACCGTCCGAGGGCTCTGCACCA
	GTSTEPSEGSAP	GGTACGAGCACCGAACCGTCGGAGGGTAGCGCTCC
	GTSTEPSEGSAP	AGGTAGCCCAGCGGGCTCTCCGACAAGCACCGAAG
	GSPAGSPTSTEE	AAGGCACCAGCACCGAGCCGTCCGAAGGTTCCGCA
	GTSTEPSEGSAP	CCAGGTACAAGCGAGAGCGCGACTCCTGAATCTGG
	GTSESATPESGP	TCCGGGTAGCGAGCCTGCAACCAGCGGTTCTGAGA
	GSEPATSGSETP	CGCCGGGCACTTCCGAATCTGCGACCCCGGAGTCC
	GTSESATPESGP	GGTCCAGGTTCAGAGCCGGCGACGAGCGGTTCGGA
	GSEPATSGSETP	AACGCCGGGTACGTCTGAATCAGCCACGCCGGAGT
	GTSESATPESGP	CTGGTCCGGGTACCTCGACCGAACCAAGCGAAGGT
	GTSTEPSEGSAP	TCGGCACCGGGTACTAGCGAGAGCGCAACCCCTGA
	GTSESATPESGP	AAGCGGTCCGGGCAGCCCGGCAGGTTCTCCAACCA
	GSPAGSPTSTEE	GCACCGAAGAAGGTTCCCCTGCTGGTAGCCCGACC
	GSPAGSPTSTEE	TCTACGGAGGAAGGTAGCCCTGCAGGTTCCCCAAC
	GSPAGSPTSTEE	TTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAGTCCGCTACCCC
	GTSESATPESGP	AGAAAGCGGTCCTGGTACCTCCACTGAACCGTCTG
	GTSTEPSEGSAP	AAGGCTCTGCACCAGGCACTTCTGAGTCTGCTACTC
	GTSESATPESGP	CAGAAAGCGGCCCAGGTTCTGAACCAGCAACTTCT
	GSEPATSGSETP	GGCTCTGAGACTCCAGGCACTTCTGAGTCCGCAAC
	GTSESATPESGP	GCCTGAATCCGGTCCTGGTTCTGAACCAGCTACTTC
	GSEPATSGSETP	CGGCAGCGAAACCCCAGGTACCTCTGAGTCTGCGA
	GTSESATPESGP	CTCCAGAGTCTGGTCCTGGTACTTCCACTGAGCCTA
	GTSTEPSEGSAP	GCGAGGGTTCCGCACCAGGTTCTCCGGCTGGTAGC
	GSPAGSPTSTEE	CCGACCAGCACGGAGGAGGGTACGTCTGAATCTGC
	GTSESATPESGP	AACGCCGGAATCGGGCCCAGGTTCGGAGCCTGCAA
	GSEPATSGSETP	CGTCTGGCAGCGAAACCCCGGGTACCTCCGAATCT

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	GTSESATPESGP	GCTACACCGGAAAGCGGTCCTGGCAGCCCTGCTGG
	GSPAGSPTSTEE	TTCTCCAACCTCTACCGAGGAGGGTTCACCGGCAG
	GSPAGSPTSTEE	GTAGCCCGACTAGCACTGAAGAAGGTACTAGCACG
	GTSTEPSEGSAP	GAGCCGAGCGAGGGTAGTGCTCCGGGTACGAGCGA
	GTSESATPESGP	GAGCGCAACGCCAGAGAGCGGTCCAGGCACCAGCG
	GTSESATPESGP	AATCGGCCACCCCTGAGAGCGGCCCAGGTACTTCT
	GTSESATPESGP	GAGAGCGCCACTCCTGAATCCGGCCCTGGTAGCGA
	GSEPATSGSETP	GCCGGCAACCTCCGGCTCAGAAACTCCTGGTTCGG
	GSEPATSGSETP	AACCAGCGACCAGCGGTTCTGAAACTCCGGGTAGC
	GSPAGSPTSTEE	CCGGCAGGCAGCCCAACGAGCACCGAAGAGGGTAC
	GTSTEPSEGSAP	CAGCACGGAACCGAGCGAGGGTTCTGCCCCGGGTA
	GTSTEPSEGSAP	CTTCCACCGAACCATCGGAGGGCTCTGCACCTGGTA
	GSEPATSGSETP	GCGAACCTGCGACGTCTGGTTCTGAAACGCCGGGT
	GTSESATPESGP	ACCAGCGAAAGCGCTACCCCAGAATCCGGTCCGGG
	GTSTEPSEGSAP	CACTAGCACCGAGCCATCGGAGGGCTCCGCACCAG
	GHHHHHH	GTCACCATCATCACCATCAC
	EVQLLESGGGLV	GAGGTTCAGTTGTTGGAAAGCGGGGGCGGGCTTGT
	QPGGSLKLSCAA	CCAACCTGGAGGTTCATTAAAATTGAGCTGTGCAG
	SGFTFNTYAMN	CCTCCGGATTCACCTTTAACACGTATGCAATGAACT
	WVRQAPGKGLE	GGGTCCGTCAAGCGCCCGGTAAGGGGCTGGAGTGG
	WVARIRSKYNN	GTAGCTCGCATCCGCTCGAAGTATAATAATTACGCA
	YATYYADSVKD	ACCTACTACGCAGACAGTGTCAAAGATCGCTTCACT
	RFTISRDDSKNT	ATCTCACGCGACGACAGTAAGAACACGGCCTACTT
	AYLQMNNLKTE	ACAGATGAACAATCTTAAAACGGAGGACACCGCTG
	DTAVYYCVRHG	TCTACTACTGCGTGCGCCACGGGAATTTCGGTAACT
	NFGNSYVSWFA	CTTATGTAAGTTGGTTCGCATATTGGGGACAAGGTA
	YWGQGTLVTVS	CGTTGGTAACCGTATCCAGCggtgcgaccccgccggaaaccggt
	SGATPPETGAET	gcggaaaccgaaagcccgggtgaaaccaccggtggcagcgcggagagcgaacc
	ESPGETTGGSAE	gccgggtgaaggtGAACTGGTCGTCACGCAGGAGCCGTCC
	SEPPGEGELVVT	CTTACCGTTTCACCAGGTGGAACAGTGACTCTGACG
	QEPSLTVSPGGT	TGTCGCTCCTCCACTGGGGCGGTTACAACTTCCAAT
	VTLTCRSSTGAV	TATGCTAATTGGGTCCAGCAGAAGCCGGGCCAAGC
TBP-7	TTSNYANWVQQ	CCCTCGCGGGTTGATTGGCGGCACCAACAAACGTG
	KPGQAPRGLIGG	CTCCAGGGACACCTGCCCGTTTTTCGGGCTCCTTAT
	TNKRAPGTPARF	TGGGGGGCAAAGCTGCACTGACGTTGTCTGGAGTT
	SGSLLGGKAALT	CAGCCGGAGGATGAGGCAGAGTATTACTGCGCATT
	LSGVQPEDEAEY	GTGGTATTCTAATTTATGGGTTTTTGGAGGCGGCAC
	YCALWYSNLWV	AAAGCTGACCGTCCTGGGCACCGCCGAAGCAGCTag
	FGGGTKLTVLGT	cgcctctGGCctgTCAggtCGTtctGATaacCATtccCCActgGGT
	AEAASASGLSGR	ctgGCTGGGTCTCCAGGTAGCCCAGCTGGTAGCCCAA
	SDNHSPLGLAGS	CCTCTACCGAAGAAGGTACCTCTGAATCCGCTACTC
	PGSPAGSPTSTEE	CAGAATCCGGTCCTGGTACTAGCACTGAGCCAAGC
	GTSESATPESGP	GAAGGTTCTGCTCCAGGCTCCCCGGCAGGTAGCCCT
	GTSTEPSEGSAP	ACCTCTACCGAAGAGGGCACTAGCACCGAACCATC
	GSPAGSPTSTEE	TGAGGGTTCCGCTCCTGGCACCTCCACTGAACCGTC
	GTSTEPSEGSAP	CGAAGGCAGTGCTCCGGGTACTTCCGAAAGCGCAA
	GTSTEPSEGSAP	CTCCGGAATCCGGCCCTGGTTCTGAGCCTGCTACTT
	GTSESATPESGP	CCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAGCCAGCGACT
	GSEPATSGSETP	TCTGGTTCTGAAACTCCAGGTTCACCGGCGGGTAGC

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	GSEPATSGSETP	CCGACGAGCACGGAGGAAGGTACCTCTGAGTCGGC
	GSPAGSPTSTEE	CACTCCTGAGTCCGGTCCGGGCACGAGCACCGAGC
	GTSESATPESGP	CGAGCGAGGGTTCAGCCCCGGGTACCAGCACGGAG
	GTSTEPSEGSAP	CCGTCCGAGGGTAGCGCACCGGGTTCTCCGGCGGG
	GTSTEPSEGSAP	CTCCCCTACGTCTACGGAAGAGGGTACGTCCACTG
	GSPAGSPTSTEE	AACCTAGCGAGGGCAGCGCGCCAGGCACCAGCACT
	GTSTEPSEGSAP	GAACCGAGCGAAGGCAGCGCACCTGGCACTAGCGA
	GTSTEPSEGSAP	GTCTGCGACTCCGGAGAGCGGTCCGGGTACGAGCA
	GTSESATPESGP	CGGAACCAAGCGAAGGCAGCGCCCCAGGTACCTCT
	GTSTEPSEGSAP	GAATCTGCTACCCCAGAATCTGGCCCGGGTTCCGA
	GTSESATPESGP	GCCAGCTACCTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTC
	GSEPATSGSETP	CACTGAACCAAGCGAAGGTAGCGCTCCTGGCACTT
	GTSTEPSEGSAP	CTACTGAACCATCCGAAGGTTCCGCTCCTGGTACGT
	GTSTEPSEGSAP	CTGAAAGCGCTACCCCTGAAAGCGGCCCAGGCACC
	GTSESATPESGP	TCTGAAAGCGCTACTCCTGAGAGCGGTCCAGGCTCT
	GTSESATPESGP	CCAGCAGGTTCTCCAACCTCCACTGAAGAAGGCAC
	GSPAGSPTSTEE	CTCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGTCCTGGCTC
	GTSESATPESGP	CGAACCTGCTACCTCTGGTTCCGAAACTCCAGGTAC
	GSEPATSGSETP	CTCGGAATCTGCGACTCCGGAATCTGGCCCGGGCA
	GTSESATPESGP	CGAGCACGGAGCCGTCTGAGGGTAGCGCACCAGGT
	GTSTEPSEGSAP	ACCAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTCTGCACCGGG
	GTSTEPSEGSAP	TACCTCCACGGAACCTTCGGAAGGTTCTGCGCCGG
	GTSTEPSEGSAP	GTACCTCCACTGAGCCATCCGAGGGTTCAGCACCA
	GTSTEPSEGSAP	GGTACTAGCACGGAACCGTCCGAGGGCTCTGCACC
	GTSTEPSEGSAP	AGGTACGAGCACCGAACCGTCGGAGGGTAGCGCTC
	GTSTEPSEGSAP	CAGGTAGCCCAGCGGGCTCTCCGACAAGCACCGAA
	GSPAGSPTSTEE	GAAGGCACCAGCACCGAGCCGTCCGAAGGTTCCGC
	GTSTEPSEGSAP	ACCAGGTACAAGCGAGAGCGCGACTCCTGAATCTG
	GTSESATPESGP	GTCCGGGTAGCGAGCCTGCAACCAGCGGTTCTGAG
	GSEPATSGSETP	ACGCCGGGCACTTCCGAATCTGCGACCCCGGAGTC
	GTSESATPESGP	CGGTCCAGGTTCAGAGCCGGCGACGAGCGGTTCGG
	GSEPATSGSETP	AAACGCCGGGTACGTCTGAATCAGCCACGCCGGAG
	GTSESATPESGP	TCTGGTCCGGGTACCTCGACCGAACCAAGCGAAGG
	GTSTEPSEGSAP	TTCGGCACCGGGTACTAGCGAGAGCGCAACCCCTG
	GTSESATPESGP	AAAGCGGTCCGGGCAGCCCGGCAGGTTCTCCAACC
	GSPAGSPTSTEE	AGCACCGAAGAAGGTTCCCCTGCTGGTAGCCCGAC
	GSPAGSPTSTEE	CTCTACGGAGGAAGGTAGCCCTGCAGGTTCCCCAA
	GSPAGSPTSTEE	CTTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAGTCCGCTACCC
	GTSESATPESGP	CAGAAAGCGGTCCTGGTACCTCCACTGAACCGTCT
	GTSTEPSEGSAP	GAAGGCTCTGCACCAGGCACTTCTGAGTCTGCTACT
	GTSESATPESGP	CCAGAAAGCGGCCCAGGTTCTGAACCAGCAACTTC
	GSEPATSGSETP	TGGCTCTGAGACTCCAGGCACTTCTGAGTCCGCAAC
	GTSESATPESGP	GCCTGAATCCGGTCCTGGTTCTGAACCAGCTACTTC
	GSEPATSGSETP	CGGCAGCGAAACCCCAGGTACCTCTGAGTCTGCGA
	GTSESATPESGP	CTCCAGAGTCTGGTCCTGGTACTTCCACTGAGCCTA
	GTSTEPSEGSAP	GCGAGGGTTCCGCACCAGGTTCTCCGGCTGGTAGC
	GSPAGSPTSTEE	CCGACCAGCACGGAGGAGGGTACGTCTGAATCTGC
	GTSESATPESGP	AACGCCGGAATCGGGCCCAGGTTCGGAGCCTGCAA
	GSEPATSGSETP	CGTCTGGCAGCGAAACCCCGGGTACCTCCGAATCT

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	GTSESATPESGP	GCTACACCGGAAAGCGGTCCTGGCAGCCCTGCTGG
	GSPAGSPTSTEE	TTCTCCAACCTCTACCGAGGAGGGTTCACCGGCAG
	GSPAGSPTSTEE	GTAGCCCGACTAGCACTGAAGAAGGTACTAGCACG
	GTSTEPSEGSAP	GAGCCGAGCGAGGGTAGTGCTCCGGGTACGAGCGA
	GTSESATPESGP	GAGCGCAACGCCAGAGAGCGGTCCAGGCACCAGCG
	GTSESATPESGP	AATCGGCCACCCCTGAGAGCGGCCCAGGTACTTCT
	GTSESATPESGP	GAGAGCGCCACTCCTGAATCCGGCCCTGGTAGCGA
	GSEPATSGSETP	GCCGGCAACCTCCGGCTCAGAAACTCCTGGTTCGG
	GSEPATSGSETP	AACCAGCGACCAGCGGTTCTGAAACTCCGGGTAGC
	GSPAGSPTSTEE	CCGGCAGGCAGCCCAACGAGCACCGAAGAGGGTAC
	GTSTEPSEGSAP	CAGCACGGAACCGAGCGAGGGTTCTGCCCCGGGTA
	GTSTEPSEGSAP	CTTCCACCGAACCATCGGAGGGCTCTGCACCTGGTA
	GSEPATSGSETP	GCGAACCTGCGACGTCTGGTTCTGAAACGCCGGGT
	GTSESATPESGP	ACCAGCGAAAGCGCTACCCCAGAATCCGGTCCGGG
	GTSTEPSEGSAP	CACTAGCACCGAGCCATCGGAGGGCTCCGCACCAG
	GHHHHHH	GTCACCATCATCACCATCAC
	EVQLLESGGGLV	GAGGTTCAGTTGTTGGAAAGCGGGGGCGGGCTTGT
	QPGGSLKLSCAA	CCAACCTGGAGGTTCATTAAAATTGAGCTGTGCAG
	SGFTFNTYAMN	CCTCCGGATTCACCTTTAACACGTATGCAATGAACT
	WVRQAPGKGLE	GGGTCCGTCAAGCGCCCGGTAAGGGGCTGGAGTGG
	WVARIRSKYNN	GTAGCTCGCATCCGCTCGAAGTATAATAATTACGCA
	YATYYADSVKD	ACCTACTACGCAGACAGTGTCAAAGATCGCTTCACT
	RFTISRDDSKNT	ATCTCACGCGACGACAGTAAGAACACGGCCTACTT
	AYLQMNNLKTE	ACAGATGAACAATCTTAAAACGGAGGACACCGCTG
	DTAVYYCVRHG	TCTACTACTGCGTGCGCCACGGGAATTTCGGTAACT
	NFGNSYVSWFA	CTTATGTAAGTTGGTTCGCATATTGGGGACAAGGTA
	YWGQGTLVTVS	CGTTGGTAACCGTATCCAGCggtgcgaccccgccggaaaccggt
	SGATPPETGAET	gcggaaaccgaaagcccgggtgaaaccaccggtggcagcgcggagagcgaacc
	ESPGETTGGSAE	gccgggtgaaggtGAACTGGTCGTCACGCAGGAGCCGTCC
	SEPPGEGELVVT	CTTACCGTTTCACCAGGTGGAACAGTGACTCTGACG
	QEPSLTVSPGGT	TGTCGCTCCTCCACTGGGGCGGTTACAACTTCCAAT
	VTLTCRSSTGAV	TATGCTAATTGGGTCCAGCAGAAGCCGGGCCAAGC
TBP-8	TTSNYANWVQQ	CCCTCGCGGGTTGATTGGCGGCACCAACAAACGTG
	KPGQAPRGLIGG	CTCCAGGGACACCTGCCCGTTTTTCGGGCTCCTTAT
	TNKRAPGTPARF	TGGGGGGCAAAGCTGCACTGACGTTGTCTGGAGTT
	SGSLLGGKAALT	CAGCCGGAGGATGAGGCAGAGTATTACTGCGCATT
	LSGVQPEDEAEY	GTGGTATTCTAATTTATGGGTTTTTGGAGGCGGCAC
	YCALWYSNLWV	AAAGCTGACCGTCCTGGGCACCGCCGAAGCAGCTag
	FGGGTKLTVLGT	cgcctctGGCctgTCAggtCGTtctGATaacCATgttCCActgTCTc
	AEAASASGLSGR	tgAAAatgGGTCCAGGTAGCCCAGCTGGTAGCCCAAC
	SDNHVPLSLKM	CTCTACCGAAGAAGGTACCTCTGAATCCGCTACTCC
	GPGSPAGSPTST	AGAATCCGGTCCTGGTACTAGCACTGAGCCAAGCG
	EEGTSESATPES	AAGGTTCTGCTCCAGGCTCCCCGGCAGGTAGCCCTA
	GPGTSTEPSEGS	CCTCTACCGAAGAGGGCACTAGCACCGAACCATCT
	APGSPAGSPTST	GAGGGTTCCGCTCCTGGCACCTCCACTGAACCGTCC
	EEGTSTEPSEGS	GAAGGCAGTGCTCCGGGTACTTCCGAAAGCGCAAC
	APGTSTEPSEGS	TCCGGAATCCGGCCCTGGTTCTGAGCCTGCTACTTC
	APGTSESATPES	CGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAGCCAGCGACTT
	GPGSEPATSGSE	CTGGTTCTGAAACTCCAGGTTCACCGGCGGGTAGCC

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	TPGSEPATSGSET	CGACGAGCACGGAGGAAGGTACCTCTGAGTCGGCC
	PGSPAGSPTSTEE	ACTCCTGAGTCCGGTCCGGGCACGAGCACCGAGCC
	GTSESATPESGP	GAGCGAGGGTTCAGCCCCGGGTACCAGCACGGAGC
	GTSTEPSEGSAP	CGTCCGAGGGTAGCGCACCGGGTTCTCCGGCGGGC
	GTSTEPSEGSAP	TCCCCTACGTCTACGGAAGAGGGTACGTCCACTGA
	GSPAGSPTSTEE	ACCTAGCGAGGGCAGCGCGCCAGGCACCAGCACTG
	GTSTEPSEGSAP	AACCGAGCGAAGGCAGCGCACCTGGCACTAGCGAG
	GTSTEPSEGSAP	TCTGCGACTCCGGAGAGCGGTCCGGGTACGAGCAC
	GTSESATPESGP	GGAACCAAGCGAAGGCAGCGCCCCAGGTACCTCTG
	GTSTEPSEGSAP	AATCTGCTACCCCAGAATCTGGCCCGGGTTCCGAGC
	GTSESATPESGP	CAGCTACCTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCCA
	GSEPATSGSETP	CTGAACCAAGCGAAGGTAGCGCTCCTGGCACTTCT
	GTSTEPSEGSAP	ACTGAACCATCCGAAGGTTCCGCTCCTGGTACGTCT
	GTSTEPSEGSAP	GAAAGCGCTACCCCTGAAAGCGGCCCAGGCACCTC
	GTSESATPESGP	TGAAAGCGCTACTCCTGAGAGCGGTCCAGGCTCTC
	GTSESATPESGP	CAGCAGGTTCTCCAACCTCCACTGAAGAAGGCACC
	GSPAGSPTSTEE	TCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGTCCTGGCTCC
	GTSESATPESGP	GAACCTGCTACCTCTGGTTCCGAAACTCCAGGTACC
	GSEPATSGSETP	TCGGAATCTGCGACTCCGGAATCTGGCCCGGGCAC
	GTSESATPESGP	GAGCACGGAGCCGTCTGAGGGTAGCGCACCAGGTA
	GTSTEPSEGSAP	CCAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTCTGCACCGGGT
	GTSTEPSEGSAP	ACCTCCACGGAACCTTCGGAAGGTTCTGCGCCGGG
	GTSTEPSEGSAP	TACCTCCACTGAGCCATCCGAGGGTTCAGCACCAG
	GTSTEPSEGSAP	GTACTAGCACGGAACCGTCCGAGGGCTCTGCACCA
	GTSTEPSEGSAP	GGTACGAGCACCGAACCGTCGGAGGGTAGCGCTCC
	GTSTEPSEGSAP	AGGTAGCCCAGCGGGCTCTCCGACAAGCACCGAAG
	GSPAGSPTSTEE	AAGGCACCAGCACCGAGCCGTCCGAAGGTTCCGCA
	GTSTEPSEGSAP	CCAGGTACAAGCGAGAGCGCGACTCCTGAATCTGG
	GTSESATPESGP	TCCGGGTAGCGAGCCTGCAACCAGCGGTTCTGAGA
	GSEPATSGSETP	CGCCGGGCACTTCCGAATCTGCGACCCCGGAGTCC
	GTSESATPESGP	GGTCCAGGTTCAGAGCCGGCGACGAGCGGTTCGGA
	GSEPATSGSETP	AACGCCGGGTACGTCTGAATCAGCCACGCCGGAGT
	GTSESATPESGP	CTGGTCCGGGTACCTCGACCGAACCAAGCGAAGGT
	GTSTEPSEGSAP	TCGGCACCGGGTACTAGCGAGAGCGCAACCCCTGA
	GTSESATPESGP	AAGCGGTCCGGGCAGCCCGGCAGGTTCTCCAACCA
	GSPAGSPTSTEE	GCACCGAAGAAGGTTCCCCTGCTGGTAGCCCGACC
	GSPAGSPTSTEE	TCTACGGAGGAAGGTAGCCCTGCAGGTTCCCCAAC
	GSPAGSPTSTEE	TTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAGTCCGCTACCCC
	GTSESATPESGP	AGAAAGCGGTCCTGGTACCTCCACTGAACCGTCTG
	GTSTEPSEGSAP	AAGGCTCTGCACCAGGCACTTCTGAGTCTGCTACTC
	GTSESATPESGP	CAGAAAGCGGCCCAGGTTCTGAACCAGCAACTTCT
	GSEPATSGSETP	GGCTCTGAGACTCCAGGCACTTCTGAGTCCGCAAC
	GTSESATPESGP	GCCTGAATCCGGTCCTGGTTCTGAACCAGCTACTTC
	GSEPATSGSETP	CGGCAGCGAAACCCCAGGTACCTCTGAGTCTGCGA
	GTSESATPESGP	CTCCAGAGTCTGGTCCTGGTACTTCCACTGAGCCTA
	GTSTEPSEGSAP	GCGAGGGTTCCGCACCAGGTTCTCCGGCTGGTAGC
	GSPAGSPTSTEE	CCGACCAGCACGGAGGAGGGTACGTCTGAATCTGC
	GTSESATPESGP	AACGCCGGAATCGGGCCCAGGTTCGGAGCCTGCAA
	GSEPATSGSETP	CGTCTGGCAGCGAAACCCCGGGTACCTCCGAATCT

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	GTSESATPESGP	GCTACACCGGAAAGCGGTCCTGGCAGCCCTGCTGG
	GSPAGSPTSTEE	TTCTCCAACCTCTACCGAGGAGGGTTCACCGGCAG
	GSPAGSPTSTEE	GTAGCCCGACTAGCACTGAAGAAGGTACTAGCACG
	GTSTEPSEGSAP	GAGCCGAGCGAGGGTAGTGCTCCGGGTACGAGCGA
	GTSESATPESGP	GAGCGCAACGCCAGAGAGCGGTCCAGGCACCAGCG
	GTSESATPESGP	AATCGGCCACCCCTGAGAGCGGCCCAGGTACTTCT
	GTSESATPESGP	GAGAGCGCCACTCCTGAATCCGGCCCTGGTAGCGA
	GSEPATSGSETP	GCCGGCAACCTCCGGCTCAGAAACTCCTGGTTCGG
	GSEPATSGSETP	AACCAGCGACCAGCGGTTCTGAAACTCCGGGTAGC
	GSPAGSPTSTEE	CCGGCAGGCAGCCCAACGAGCACCGAAGAGGGTAC
	GTSTEPSEGSAP	CAGCACGGAACCGAGCGAGGGTTCTGCCCCGGGTA
	GTSTEPSEGSAP	CTTCCACCGAACCATCGGAGGGCTCTGCACCTGGTA
	GSEPATSGSETP	GCGAACCTGCGACGTCTGGTTCTGAAACGCCGGGT
	GTSESATPESGP	ACCAGCGAAAGCGCTACCCCAGAATCCGGTCCGGG
	GTSTEPSEGSAP	CACTAGCACCGAGCCATCGGAGGGCTCCGCACCAG
	GHHHHHH	GTCACCATCATCACCATCAC
	HHHHHHGGSPA	CATCACCACCATCATCACggAGGTAGCCCAGCTGGT
	GSPTSTEEGTSES	AGCCCAACCTCTACCGAAGAAGGTACCTCTGAATC
	ATPESGPGTSTEP	CGCTACTCCAGAATCCGGTCCTGGTACTAGCACTGA
	SEGSAPGSPAGS	GCCAAGCGAAGGTTCTGCTCCAGGCTCCCCGGCAG
	PTSTEEGTSTEPS	GTAGCCCTACCTCTACCGAAGAGGGCACTAGCACC
	EGSAPGTSTEPSE	GAACCATCTGAGGGTTCCGCTCCTGGCACCTCCACT
	GSAPGTSESATP	GAACCGTCCGAAGGCAGTGCTCCGGGTACTTCCGA
	ESGPGSEPATSG	AAGCGCAACTCCGGAATCCGGCCCTGGTTCTGAGC
	SETPGSEPATSGS	CTGCTACTTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAGC
	ETPGSPAGSPTST	CAGCGACTTCTGGTTCTGAAACTCCAGGTTCACCGG
	EEGTSESATPES	CGGGTAGCCCGACGAGCACGGAGGAAGGTACCTCT
	GPGTSTEPSEGS	GAGTCGGCCACTCCTGAGTCCGGTCCGGGCACGAG
	APGTSTEPSEGS	CACCGAGCCGAGCGAGGGTTCAGCCCCGGGTACCA
	APGSPAGSPTST	GCACGGAGCCGTCCGAGGGTAGCGCACCGGGTTCT
	EEGTSTEPSEGS	CCGGCGGGCTCCCCTACGTCTACGGAAGAGGGTAC
	APGTSTEPSEGS	GTCCACTGAACCTAGCGAGGGCAGCGCGCCAGGCA
TBP-9	APGTSESATPES	CCAGCACTGAACCGAGCGAAGGCAGCGCACCTGGC
	GPGTSTEPSEGS	ACTAGCGAGTCTGCGACTCCGGAGAGCGGTCCGGG
	APGTSESATPES	TACGAGCACGGAACCAAGCGAAGGCAGCGCCCCAG
	GPGSEPATSGSE	GTACCTCTGAATCTGCTACCCCAGAATCTGGCCCGG
	TPGTSTEPSEGSA	GTTCCGAGCCAGCTACCTCTGGTTCTGAAACCCCAG
	PGTSTEPSEGSAP	GTACTTCCACTGAACCAAGCGAAGGTAGCGCTCCT
	GTSESATPESGP	GGCACTTCTACTGAACCATCCGAAGGTTCCGCTCCT
	GTSESATPESGP	GGTACGTCTGAAAGCGCTACCCCTGAAAGCGGCCC
	GSPAGSPTSTEE	AGGCACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGAGCGGTC
	GTSESATPESGP	CAGGCTCTCCAGCAGGTTCTCCAACCTCCACTGAAG
	GSEPATSGSETP	AAGGCACCTCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGTC
	GTSESATPESGP	CTGGCTCCGAACCTGCTACCTCTGGTTCCGAAACTC
	GTSTEPSEGSAP	CAGGTACCTCGGAATCTGCGACTCCGGAATCTGGC
	GTSTEPSEGSAP	CCGGGCACGAGCACGGAGCCGTCTGAGGGTAGCGC
	GTSTEPSEGSAP	ACCAGGTACCAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTCTG
	GTSTEPSEGSAP	CACCGGGTACCTCCACGGAACCTTCGGAAGGTTCT
	GTSTEPSEGSAP	GCGCCGGGTACCTCCACTGAGCCATCCGAGGGTTC

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	GTSTEPSEGSAP	AGCACCAGGTACTAGCACGGAACCGTCCGAGGGCT
	GSPAGSPTSTEE	CTGCACCAGGTACGAGCACCGAACCGTCGGAGGGT
	GTSTEPSEGSAP	AGCGCTCCAGGTAGCCCAGCGGGCTCTCCGACAAG
	GTSESATPESGP	CACCGAAGAAGGCACCAGCACCGAGCCGTCCGAAG
	GSEPATSGSETP	GTTCCGCACCAGGTACAAGCGAGAGCGCGACTCCT
	GTSESATPESGP	GAATCTGGTCCGGGTAGCGAGCCTGCAACCAGCGG
	GSEPATSGSETP	TTCTGAGACGCCGGGCACTTCCGAATCTGCGACCCC
	GTSESATPESGP	GGAGTCCGGTCCAGGTTCAGAGCCGGCGACGAGCG
	GTSTEPSEGSAP	GTTCGGAAACGCCGGGTACGTCTGAATCAGCCACG
	GTSESATPESGP	CCGGAGTCTGGTCCGGGTACCTCGACCGAACCAAG
	GSPAGSPTSTEE	CGAAGGTTCGGCACCGGGTACTAGCGAGAGCGCAA
	GSPAGSPTSTEE	CCCCTGAAAGCGGTCCGGGCAGCCCGGCAGGTTCT
	GSPAGSPTSTEE	CCAACCAGCACCGAAGAAGGTTCCCCTGCTGGTAG
	GTSESATPESGP	CCCGACCTCTACGGAGGAAGGTAGCCCTGCAGGTT
	GTSTEPSEGSAP	CCCCAACTTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAGTCCG
	GTSESATPESGP	CTACCCCAGAAAGCGGTCCTGGTACCTCCACTGAA
	GSEPATSGSETP	CCGTCTGAAGGCTCTGCACCAGGCACTTCTGAGTCT
	GTSESATPESGP	GCTACTCCAGAAAGCGGCCCAGGTTCTGAACCAGC
	GSEPATSGSETP	AACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGCACTTCTGAGTC
	GTSESATPESGP	CGCAACGCCTGAATCCGGTCCTGGTTCTGAACCAGC
	GTSTEPSEGSAP	TACTTCCGGCAGCGAAACCCCAGGTACCTCTGAGTC
	GSPAGSPTSTEE	TGCGACTCCAGAGTCTGGTCCTGGTACTTCCACTGA
	GTSESATPESGP	GCCTAGCGAGGGTTCCGCACCAGGTTCTCCGGCTG
	GSEPATSGSETP	GTAGCCCGACCAGCACGGAGGAGGGTACGTCTGAA
	GTSESATPESGP	TCTGCAACGCCGGAATCGGGCCCAGGTTCGGAGCC
	GSPAGSPTSTEE	TGCAACGTCTGGCAGCGAAACCCCGGGTACCTCCG
	GSPAGSPTSTEE	AATCTGCTACACCGGAAAGCGGTCCTGGCAGCCCT
	GTSTEPSEGSAP	GCTGGTTCTCCAACCTCTACCGAGGAGGGTTCACCG
	GTSESATPESGP	GCAGGTAGCCCGACTAGCACTGAAGAAGGTACTAG
	GTSESATPESGP	CACGGAGCCGAGCGAGGGTAGTGCTCCGGGTACGA
	GTSESATPESGP	GCGAGAGCGCAACGCCAGAGAGCGGTCCAGGCACC
	GSEPATSGSETP	AGCGAATCGGCCACCCCTGAGAGCGGCCCAGGTAC
	GSEPATSGSETP	TTCTGAGAGCGCCACTCCTGAATCCGGCCCTGGTAG
	GSPAGSPTSTEE	CGAGCCGGCAACCTCCGGCTCAGAAACTCCTGGTT
	GTSTEPSEGSAP	CGGAACCAGCGACCAGCGGTTCTGAAACTCCGGGT
	GTSTEPSEGSAP	AGCCCGGCAGGCAGCCCAACGAGCACCGAAGAGG
	GSEPATSGSETP	GTACCAGCACGGAACCGAGCGAGGGTTCTGCCCCG
	GTSESATPESGP	GGTACTTCCACCGAACCATCGGAGGGCTCTGCACCT
	GTSTEPSEGSAPL	GGTAGCGAACCTGCGACGTCTGGTTCTGAAACGCC
	SGRSDNHSPLGL	GGGTACCAGCGAAAGCGCTACCCCAGAATCCGGTC
	AGSGTAEAASAS	CGGGCACTAGCACCGAGCCATCGGAGGGCTCCGCA
	GDIQMTQSPSSL	CCActgTCAggtCGTtctGATaacCATtccCCActgGGTctgGC
	SASVGDRVTITC	TGGGTCTGGCACCGCCGAAGCAGCTagcgcctctGGCGA
	RASQDIRNYLN	CATCCAAATGACCCAATCACCGTCATCCCTGAGCGC
	WYQQKPGKAPK	CTCTGTTGGAGATCGTGTAACAATTACCTGCCGCGC
	LLIYYTSRLESG	CTCCCAAGACATCCGCAATTACTTAAACTGGTATCA
	VPSRFSGSGSGT	GCAAAAACCCGGTAAGGCACCGAAATTGCTGATTT
	DYTLTISSLQPED	ATTATACTTCACGCTTAGAGAGTGGGGTGCCGTCGC
	FATYYCQQGNT	GCTTCAGTGGCTCGGGTAGTGGGACCGATTACACA

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	LPWTFGQGTKV EIKGATPPETGA ETESPGETTGGS AESEPPGEGEVQ LVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGY SFTGYTMNWVR QAPGKGLEWVA LINPYKGVSTYN QKFKDRFTISVD KSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYY CARSGYYGDSD WYFDVWGQGTL VTVSS	TTGACAATTTCATCACTGCAGCCAGAGGATTTTGCG ACTTATTACTGTCAACAGGGTAACACGCTTCCCTGG ACCTTCGGGCAAGGCACGAAAGTTGAGATCAAGGG CGCTACTCCCCCTGAGACAGGAGCGGAAACGGAAT CCCCTGGCGAGACGACGGGTGGTTCCGCAGAGTCG GAACCTCCTGGTGAGGGCGAGGTGCAGCTGGTTGA AAGCGGTGGCGGTCTGGTGCAACCAGGCGGTAGCC TGCGTCTGAGCTGCGCGGCGAGCGGTTACAGCTTTA CCGGTTATACCATGAACTGGGTTCGTCAAGCGCCA GGTAAAGGTCTGGAGTGGGTGGCGCTGATCAACCC GTACAAGGGTGTTAGCACCTATAACCAGAAGTTCA AAGACCGTTTTACCATTAGCGTGGATAAGAGCAAA AACACCGCGTACCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGC GGAGGACACCGCTGTGTACTATTGCGCGCGTAGCG GTTACTATGGCGACAGCGACTGGTATTTTGATGTGT GGGGCCAAGGCACCCTGGTTACCGTGAGCTCC
TBP-10	HHHHHHGGSPA GSPTSTEEGTSES ATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSTEPSE GSAPGTSESATP ESGPGSEPATSG SETPGSEPATSGS ETPGSPAGSPTST EEGTSESATPES GPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGS APGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGS APGTSESATPES GPGTSTEPSEGS APGTSESATPES GPGSEPATSGSE TPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGP GTSESATPESGP GSPAGSPTSTEE GTSESATPESGP GSEPATSGSETP GTSESATPESGP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP	CATCACCACCATCATCACggAGGTAGCCCAGCTGGT AGCCCAACCTCTACCGAAGAAGGTACCTCTGAATC CGCTACTCCAGAATCCGGTCCTGGTACTAGCACTGA GCCAAGCGAAGGTTCTGCTCCAGGCTCCCCGGCAG GTAGCCCTACCTCTACCGAAGAGGGCACTAGCACC GAACCATCTGAGGGTTCCGCTCCTGGCACCTCCACT GAACCGTCCGAAGGCAGTGCTCCGGGTACTTCCGA AAGCGCAACTCCGGAATCCGGCCCTGGTTCTGAGC CTGCTACTTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAGC CAGCGACTTCTGGTTCTGAAACTCCAGGTTCACCGG CGGGTAGCCCGACGAGCACGGAGGAAGGTACCTCT GAGTCGGCCACTCCTGAGTCCGGTCCGGGCACGAG CACCGAGCCGAGCGAGGGTTCAGCCCCGGGTACCA GCACGGAGCCGTCCGAGGGTAGCGCACCGGGTTCT CCGGCGGGCTCCCCTACGTCTACGGAAGAGGGTAC GTCCACTGAACCTAGCGAGGGCAGCGCGCCAGGCA CCAGCACTGAACCGAGCGAAGGCAGCGCACCTGGC ACTAGCGAGTCTGCGACTCCGGAGAGCGGTCCGGG TACGAGCACGGAACCAAGCGAAGGCAGCGCCCCAG GTACCTCTGAATCTGCTACCCCAGAATCTGGCCCGG GTTCCGAGCCAGCTACCTCTGGTTCTGAAACCCCAG GTACTTCCACTGAACCAAGCGAAGGTAGCGCTCCT GGCACTTCTACTGAACCATCCGAAGGTTCCGCTCCT GGTACGTCTGAAAGCGCTACCCCTGAAAGCGGCCC AGGCACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGAGCGGTC CAGGCTCTCCAGCAGGTTCTCCAACCTCCACTGAAG AAGGCACCTCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGTC CTGGCTCCGAACCTGCTACCTCTGGTTCCGAAACTC CAGGTACCTCGGAATCTGCGACTCCGGAATCTGGC CCGGGCACGAGCACGGAGCCGTCTGAGGGTAGCGC ACCAGGTACCAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTCTG CACCGGGTACCTCCACGGAACCTTCGGAAGGTTCT GCGCCGGGTACCTCCACTGAGCCATCCGAGGGTTC

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	GTSTEPSEGSAP	AGCACCAGGTACTAGCACGGAACCGTCCGAGGGCT
	GSPAGSPTSTEE	CTGCACCAGGTACGAGCACCGAACCGTCGGAGGGT
	GTSTEPSEGSAP	AGCGCTCCAGGTAGCCCAGCGGGCTCTCCGACAAG
	GTSESATPESGP	CACCGAAGAAGGCACCAGCACCGAGCCGTCCGAAG
	GSEPATSGSETP	GTTCCGCACCAGGTACAAGCGAGAGCGCGACTCCT
	GTSESATPESGP	GAATCTGGTCCGGGTAGCGAGCCTGCAACCAGCGG
	GSEPATSGSETP	TTCTGAGACGCCGGGCACTTCCGAATCTGCGACCCC
	GTSESATPESGP	GGAGTCCGGTCCAGGTTCAGAGCCGGCGACGAGCG
	GTSTEPSEGSAP	GTTCGGAAACGCCGGGTACGTCTGAATCAGCCACG
	GTSESATPESGP	CCGGAGTCTGGTCCGGGTACCTCGACCGAACCAAG
	GSPAGSPTSTEE	CGAAGGTTCGGCACCGGGTACTAGCGAGAGCGCAA
	GSPAGSPTSTEE	CCCCTGAAAGCGGTCCGGGCAGCCCGGCAGGTTCT
	GSPAGSPTSTEE	CCAACCAGCACCGAAGAAGGTTCCCCTGCTGGTAG
	GTSESATPESGP	CCCGACCTCTACGGAGGAAGGTAGCCCTGCAGGTT
	GTSTEPSEGSAP	CCCCAACTTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAGTCCG
	GTSESATPESGP	CTACCCCAGAAAGCGGTCCTGGTACCTCCACTGAA
	GSEPATSGSETP	CCGTCTGAAGGCTCTGCACCAGGCACTTCTGAGTCT
	GTSESATPESGP	GCTACTCCAGAAAGCGGCCCAGGTTCTGAACCAGC
	GSEPATSGSETP	AACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGCACTTCTGAGTC
	GTSESATPESGP	CGCAACGCCTGAATCCGGTCCTGGTTCTGAACCAGC
	GTSTEPSEGSAP	TACTTCCGGCAGCGAAACCCCAGGTACCTCTGAGTC
	GSPAGSPTSTEE	TGCGACTCCAGAGTCTGGTCCTGGTACTTCCACTGA
	GTSESATPESGP	GCCTAGCGAGGGTTCCGCACCAGGTTCTCCGGCTG
	GSEPATSGSETP	GTAGCCCGACCAGCACGGAGGAGGGTACGTCTGAA
	GTSESATPESGP	TCTGCAACGCCGGAATCGGGCCCAGGTTCGGAGCC
	GSPAGSPTSTEE	TGCAACGTCTGGCAGCGAAACCCCGGGTACCTCCG
	GSPAGSPTSTEE	AATCTGCTACACCGGAAAGCGGTCCTGGCAGCCCT
	GTSTEPSEGSAP	GCTGGTTCTCCAACCTCTACCGAGGAGGGTTCACCG
	GTSESATPESGP	GCAGGTAGCCCGACTAGCACTGAAGAAGGTACTAG
	GTSESATPESGP	CACGGAGCCGAGCGAGGGTAGTGCTCCGGGTACGA
	GTSESATPESGP	GCGAGAGCGCAACGCCAGAGAGCGGTCCAGGCACC
	GSEPATSGSETP	AGCGAATCGGCCACCCCTGAGAGCGGCCCAGGTAC
	GSEPATSGSETP	TTCTGAGAGCGCCACTCCTGAATCCGGCCCTGGTAG
	GSPAGSPTSTEE	CGAGCCGGCAACCTCCGGCTCAGAAACTCCTGGTT
	GTSTEPSEGSAP	CGGAACCAGCGACCAGCGGTTCTGAAACTCCGGGT
	GTSTEPSEGSAP	AGCCCGGCAGGCAGCCCAACGAGCACCGAAGAGG
	GSEPATSGSETP	GTACCAGCACGGAACCGAGCGAGGGTTCTGCCCCG
	GTSESATPESGP	GGTACTTCCACCGAACCATCGGAGGGCTCTGCACCT
	GTSTEPSEGSAPL	GGTAGCGAACCTGCGACGTCTGGTTCTGAAACGCC
	SGRSDNHVPLSL	GGGTACCAGCGAAAGCGCTACCCCAGAATCCGGTC
	KMGGTAEAASA	CGGGCACTAGCACCGAGCCATCGGAGGGCTCCGCA
	SGDIQMTQSPSS	CCActgTCAggtCGTtctGATaacCATgttCCActgTCTctgAA
	LSASVGDRVTIT	AatgGGTGGCACCGCCGAAGCAGCTagcgcctctGGCGAC
	CRASQDIRNYLN	ATCCAAATGACCCAATCACCGTCATCCCTGAGCGCC
	WYQQKPGKAPK	TCTGTTGGAGATCGTGTAACAATTACCTGCCGCGCC
	LLIYYTSRLESG	TCCCAAGACATCCGCAATTACTTAAACTGGTATCAG
	VPSRFSGSGSGT	CAAAAACCCGGTAAGGCACCGAAATTGCTGATTTA
	DYTLTISSLQPED	TTATACTTCACGCTTAGAGAGTGGGGTGCCGTCGCG
	FATYYCQQGNT	CTTCAGTGGCTCGGGTAGTGGGACCGATTACACATT

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	LPWTFGQGTKV EIKGATPPETGA ETESPGETTGGS AESEPPGEGEVQ LVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGY SFTGYTMNWVR QAPGKGLEWVA LINPYKGVSTYN QKFKDRFTISVD KSKNTAYLQMN SLRAEDTAVYY CARSGYYGDSD WYFDVWGQGTL VTVSS	GACAATTTCATCACTGCAGCCAGAGGATTTTGCGAC TTATTACTGTCAACAGGGTAACACGCTTCCCTGGAC CTTCGGGCAAGGCACGAAAGTTGAGATCAAGGGCG CTACTCCCCCTGAGACAGGAGCGGAAACGGAATCC CCTGGCGAGACGACGGGTGGTTCCGCAGAGTCGGA ACCTCCTGGTGAGGGCGAGGTGCAGCTGGTTGAAA GCGGTGGCGGTCTGGTGCAACCAGGCGGTAGCCTG CGTCTGAGCTGCGCGGCGAGCGGTTACAGCTTTACC GGTTATACCATGAACTGGGTTCGTCAAGCGCCAGG TAAAGGTCTGGAGTGGGTGGCGCTGATCAACCCGT ACAAGGGTGTTAGCACCTATAACCAGAAGTTCAAA GACCGTTTTACCATTAGCGTGGATAAGAGCAAAAA CACCGCGTACCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGG AGGACACCGCTGTGTACTATTGCGCGCGTAGCGGTT ACTATGGCGACAGCGACTGGTATTTTGATGTGTGGG GCCAAGGCACCCTGGTTACCGTGAGCTCC
TBP-11	HHHHHHGGSPA GSPTSTEEGTSES ATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSTEPSE GSAPGTSESATP ESGPGSEPATSG SETPGSEPATSGS ETPGSPAGSPTST EEGTSESATPES GPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGS APGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGS APGTSESATPES GPGTSTEPSEGS APGTSESATPES GPGSEPATSGSE TPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGP GTSESATPESGP GSPAGSPTSTEE GTSESATPESGP GSEPATSGSETP GTSESATPESGP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP	CATCACCACCATCATCACggAGGTAGCCCAGCTGGT AGCCCAACCTCTACCGAAGAAGGTACCTCTGAATC CGCTACTCCAGAATCCGGTCCTGGTACTAGCACTGA GCCAAGCGAAGGTTCTGCTCCAGGCTCCCCGGCAG GTAGCCCTACCTCTACCGAAGAGGGCACTAGCACC GAACCATCTGAGGGTTCCGCTCCTGGCACCTCCACT GAACCGTCCGAAGGCAGTGCTCCGGGTACTTCCGA AAGCGCAACTCCGGAATCCGGCCCTGGTTCTGAGC CTGCTACTTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAGC CAGCGACTTCTGGTTCTGAAACTCCAGGTTCACCGG CGGGTAGCCCGACGAGCACGGAGGAAGGTACCTCT GAGTCGGCCACTCCTGAGTCCGGTCCGGGCACGAG CACCGAGCCGAGCGAGGGTTCAGCCCCGGGTACCA GCACGGAGCCGTCCGAGGGTAGCGCACCGGGTTCT CCGGCGGGCTCCCCTACGTCTACGGAAGAGGGTAC GTCCACTGAACCTAGCGAGGGCAGCGCGCCAGGCA CCAGCACTGAACCGAGCGAAGGCAGCGCACCTGGC ACTAGCGAGTCTGCGACTCCGGAGAGCGGTCCGGG TACGAGCACGGAACCAAGCGAAGGCAGCGCCCCAG GTACCTCTGAATCTGCTACCCCAGAATCTGGCCCGG GTTCCGAGCCAGCTACCTCTGGTTCTGAAACCCCAG GTACTTCCACTGAACCAAGCGAAGGTAGCGCTCCT GGCACTTCTACTGAACCATCCGAAGGTTCCGCTCCT GGTACGTCTGAAAGCGCTACCCCTGAAAGCGGCCC AGGCACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGAGCGGTC CAGGCTCTCCAGCAGGTTCTCCAACCTCCACTGAAG AAGGCACCTCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGTC CTGGCTCCGAACCTGCTACCTCTGGTTCCGAAACTC CAGGTACCTCGGAATCTGCGACTCCGGAATCTGGC CCGGGCACGAGCACGGAGCCGTCTGAGGGTAGCGC ACCAGGTACCAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTCTG CACCGGGTACCTCCACGGAACCTTCGGAAGGTTCT GCGCCGGGTACCTCCACTGAGCCATCCGAGGGTTC

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	GTSTEPSEGSAP	AGCACCAGGTACTAGCACGGAACCGTCCGAGGGCT
	GSPAGSPTSTEE	CTGCACCAGGTACGAGCACCGAACCGTCGGAGGGT
	GTSTEPSEGSAP	AGCGCTCCAGGTAGCCCAGCGGGCTCTCCGACAAG
	GTSESATPESGP	CACCGAAGAAGGCACCAGCACCGAGCCGTCCGAAG
	GSEPATSGSETP	GTTCCGCACCAGGTACAAGCGAGAGCGCGACTCCT
	GTSESATPESGP	GAATCTGGTCCGGGTAGCGAGCCTGCAACCAGCGG
	GSEPATSGSETP	TTCTGAGACGCCGGGCACTTCCGAATCTGCGACCCC
	GTSESATPESGP	GGAGTCCGGTCCAGGTTCAGAGCCGGCGACGAGCG
	GTSTEPSEGSAP	GTTCGGAAACGCCGGGTACGTCTGAATCAGCCACG
	GTSESATPESGP	CCGGAGTCTGGTCCGGGTACCTCGACCGAACCAAG
	GSPAGSPTSTEE	CGAAGGTTCGGCACCGGGTACTAGCGAGAGCGCAA
	GSPAGSPTSTEE	CCCCTGAAAGCGGTCCGGGCAGCCCGGCAGGTTCT
	GSPAGSPTSTEE	CCAACCAGCACCGAAGAAGGTTCCCCTGCTGGTAG
	GTSESATPESGP	CCCGACCTCTACGGAGGAAGGTAGCCCTGCAGGTT
	GTSTEPSEGSAP	CCCCAACTTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAGTCCG
	GTSESATPESGP	CTACCCCAGAAAGCGGTCCTGGTACCTCCACTGAA
	GSEPATSGSETP	CCGTCTGAAGGCTCTGCACCAGGCACTTCTGAGTCT
	GTSESATPESGP	GCTACTCCAGAAAGCGGCCCAGGTTCTGAACCAGC
	GSEPATSGSETP	AACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGCACTTCTGAGTC
	GTSESATPESGP	CGCAACGCCTGAATCCGGTCCTGGTTCTGAACCAGC
	GTSTEPSEGSAP	TACTTCCGGCAGCGAAACCCCAGGTACCTCTGAGTC
	GSPAGSPTSTEE	TGCGACTCCAGAGTCTGGTCCTGGTACTTCCACTGA
	GTSESATPESGP	GCCTAGCGAGGGTTCCGCACCAGGTTCTCCGGCTG
	GSEPATSGSETP	GTAGCCCGACCAGCACGGAGGAGGGTACGTCTGAA
	GTSESATPESGP	TCTGCAACGCCGGAATCGGGCCCAGGTTCGGAGCC
	GSPAGSPTSTEE	TGCAACGTCTGGCAGCGAAACCCCGGGTACCTCCG
	GSPAGSPTSTEE	AATCTGCTACACCGGAAAGCGGTCCTGGCAGCCCT
	GTSTEPSEGSAP	GCTGGTTCTCCAACCTCTACCGAGGAGGGTTCACCG
	GTSESATPESGP	GCAGGTAGCCCGACTAGCACTGAAGAAGGTACTAG
	GTSESATPESGP	CACGGAGCCGAGCGAGGGTAGTGCTCCGGGTACGA
	GTSESATPESGP	GCGAGAGCGCAACGCCAGAGAGCGGTCCAGGCACC
	GSEPATSGSETP	AGCGAATCGGCCACCCCTGAGAGCGGCCCAGGTAC
	GSEPATSGSETP	TTCTGAGAGCGCCACTCCTGAATCCGGCCCTGGTAG
	GSPAGSPTSTEE	CGAGCCGGCAACCTCCGGCTCAGAAACTCCTGGTT
	GTSTEPSEGSAP	CGGAACCAGCGACCAGCGGTTCTGAAACTCCGGGT
	GTSTEPSEGSAP	AGCCCGGCAGGCAGCCCAACGAGCACCGAAGAGG
	GSEPATSGSETP	GTACCAGCACGGAACCGAGCGAGGGTTCTGCCCCG
	GTSESATPESGP	GGTACTTCCACCGAACCATCGGAGGGCTCTGCACCT
	GTSTEPSEGSAPL	GGTAGCGAACCTGCGACGTCTGGTTCTGAAACGCC
	SGRSDNHSPLGL	GGGTACCAGCGAAAGCGCTACCCCAGAATCCGGTC
	AGSGTAEAASAS	CGGGCACTAGCACCGAGCCATCGGAGGGCTCCGCA
	GEVQLVESGGG	CCActgTCAggtCGTtctGATaacCATtccCCActgGGTctgGC
	LVQPGGSLRLSC	TGGGTCTGGCACCGCCGAAGCAGCTagcgcctctGGCGA
	AASGYSFTGYT	GGTGCAGCTGGTTGAAAGCGGTGGCGGTCTGGTGC
	MNWVRQAPGK	AACCAGGCGGTAGCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCG
	GLEWVALINPYK	AGCGGTTACAGCTTTACCGGTTATACCATGAACTGG
	GVSTYNQKFKD	GTTCGTCAAGCGCCAGGTAAAGGTCTGGAGTGGGT
	RFTISVDKSKNT	GGCGCTGATCAACCCGTACAAGGGTGTTAGCACCT
	AYLQMNSLRAE	ATAACCAGAAGTTCAAAGACCGTTTTACCATTAGC

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	DTAVYYCARSG YYGDSDWYFDV WGQGTLVTVSS GATPPETGAETE SPGETTGGSAES EPPGEGDIQMTQ SPSSLSASVGDR VTITCRASQDIR NYLNWYQQKPG KAPKLLIYYTSR LESGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSL QPEDFATYYCQ QGNTLPWTFGQ GTKVEIK	GTGGATAAGAGCAAAAACACCGCGTACCTGCAAAT GAACAGCCTGCGTGCGGAGGACACCGCTGTGTACT ATTGCGCGCGTAGCGGTTACTATGGCGACAGCGAC TGGTATTTTGATGTGTGGGGCCAAGGCACCCTGGTT ACCGTGAGCTCCGGCGCTACTCCCCCTGAGACAGG AGCGGAAACGGAATCCCCTGGCGAGACGACGGGTG GTTCCGCAGAGTCGGAACCTCCTGGTGAGGGCGAC ATCCAAATGACCCAATCACCGTCATCCCTGAGCGCC TCTGTTGGAGATCGTGTAACAATTACCTGCCGCGCC TCCCAAGACATCCGCAATTACTTAAACTGGTATCAG CAAAAACCCGGTAAGGCACCGAAATTGCTGATTTA TTATACTTCACGCTTAGAGAGTGGGGTGCCGTCGCG CTTCAGTGGCTCGGGTAGTGGGACCGATTACACATT GACAATTTCATCACTGCAGCCAGAGGATTTTGCGAC TTATTACTGTCAACAGGGTAACACGCTTCCCTGGAC CTTCGGGCAAGGCACGAAAGTTGAGATCAAG
TBP-12	HHHHHHGGSPA GSPTSTEEGTSES ATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSTEPSE GSAPGTSESATP ESGPGSEPATSG SETPGSEPATSGS ETPGSPAGSPTST EEGTSESATPES GPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGS APGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGS APGTSESATPES GPGTSTEPSEGS APGTSESATPES GPGSEPATSGSE TPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGP GTSESATPESGP GSPAGSPTSTEE GTSESATPESGP GSEPATSGSETP GTSESATPESGP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP	CATCACCACCATCATCACggAGGTAGCCCAGCTGGT AGCCCAACCTCTACCGAAGAAGGTACCTCTGAATC CGCTACTCCAGAATCCGGTCCTGGTACTAGCACTGA GCCAAGCGAAGGTTCTGCTCCAGGCTCCCCGGCAG GTAGCCCTACCTCTACCGAAGAGGGCACTAGCACC GAACCATCTGAGGGTTCCGCTCCTGGCACCTCCACT GAACCGTCCGAAGGCAGTGCTCCGGGTACTTCCGA AAGCGCAACTCCGGAATCCGGCCCTGGTTCTGAGC CTGCTACTTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAGC CAGCGACTTCTGGTTCTGAAACTCCAGGTTCACCGG CGGGTAGCCCGACGAGCACGGAGGAAGGTACCTCT GAGTCGGCCACTCCTGAGTCCGGTCCGGGCACGAG CACCGAGCCGAGCGAGGGTTCAGCCCCGGGTACCA GCACGGAGCCGTCCGAGGGTAGCGCACCGGGTTCT CCGGCGGGCTCCCCTACGTCTACGGAAGAGGGTAC GTCCACTGAACCTAGCGAGGGCAGCGCGCCAGGCA CCAGCACTGAACCGAGCGAAGGCAGCGCACCTGGC ACTAGCGAGTCTGCGACTCCGGAGAGCGGTCCGGG TACGAGCACGGAACCAAGCGAAGGCAGCGCCCCAG GTACCTCTGAATCTGCTACCCCAGAATCTGGCCCGG GTTCCGAGCCAGCTACCTCTGGTTCTGAAACCCCAG GTACTTCCACTGAACCAAGCGAAGGTAGCGCTCCT GGCACTTCTACTGAACCATCCGAAGGTTCCGCTCCT GGTACGTCTGAAAGCGCTACCCCTGAAAGCGGCCC AGGCACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGAGCGGTC CAGGCTCTCCAGCAGGTTCTCCAACCTCCACTGAAG AAGGCACCTCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGTC CTGGCTCCGAACCTGCTACCTCTGGTTCCGAAACTC CAGGTACCTCGGAATCTGCGACTCCGGAATCTGGC CCGGGCACGAGCACGGAGCCGTCTGAGGGTAGCGC ACCAGGTACCAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTCTG CACCGGGTACCTCCACGGAACCTTCGGAAGGTTCT GCGCCGGGTACCTCCACTGAGCCATCCGAGGGTTC

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	GTSTEPSEGSAP	AGCACCAGGTACTAGCACGGAACCGTCCGAGGGCT
	GSPAGSPTSTEE	CTGCACCAGGTACGAGCACCGAACCGTCGGAGGGT
	GTSTEPSEGSAP	AGCGCTCCAGGTAGCCCAGCGGGCTCTCCGACAAG
	GTSESATPESGP	CACCGAAGAAGGCACCAGCACCGAGCCGTCCGAAG
	GSEPATSGSETP	GTTCCGCACCAGGTACAAGCGAGAGCGCGACTCCT
	GTSESATPESGP	GAATCTGGTCCGGGTAGCGAGCCTGCAACCAGCGG
	GSEPATSGSETP	TTCTGAGACGCCGGGCACTTCCGAATCTGCGACCCC
	GTSESATPESGP	GGAGTCCGGTCCAGGTTCAGAGCCGGCGACGAGCG
	GTSTEPSEGSAP	GTTCGGAAACGCCGGGTACGTCTGAATCAGCCACG
	GTSESATPESGP	CCGGAGTCTGGTCCGGGTACCTCGACCGAACCAAG
	GSPAGSPTSTEE	CGAAGGTTCGGCACCGGGTACTAGCGAGAGCGCAA
	GSPAGSPTSTEE	CCCCTGAAAGCGGTCCGGGCAGCCCGGCAGGTTCT
	GSPAGSPTSTEE	CCAACCAGCACCGAAGAAGGTTCCCCTGCTGGTAG
	GTSESATPESGP	CCCGACCTCTACGGAGGAAGGTAGCCCTGCAGGTT
	GTSTEPSEGSAP	CCCCAACTTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAGTCCG
	GTSESATPESGP	CTACCCCAGAAAGCGGTCCTGGTACCTCCACTGAA
	GSEPATSGSETP	CCGTCTGAAGGCTCTGCACCAGGCACTTCTGAGTCT
	GTSESATPESGP	GCTACTCCAGAAAGCGGCCCAGGTTCTGAACCAGC
	GSEPATSGSETP	AACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGCACTTCTGAGTC
	GTSESATPESGP	CGCAACGCCTGAATCCGGTCCTGGTTCTGAACCAGC
	GTSTEPSEGSAP	TACTTCCGGCAGCGAAACCCCAGGTACCTCTGAGTC
	GSPAGSPTSTEE	TGCGACTCCAGAGTCTGGTCCTGGTACTTCCACTGA
	GTSESATPESGP	GCCTAGCGAGGGTTCCGCACCAGGTTCTCCGGCTG
	GSEPATSGSETP	GTAGCCCGACCAGCACGGAGGAGGGTACGTCTGAA
	GTSESATPESGP	TCTGCAACGCCGGAATCGGGCCCAGGTTCGGAGCC
	GSPAGSPTSTEE	TGCAACGTCTGGCAGCGAAACCCCGGGTACCTCCG
	GSPAGSPTSTEE	AATCTGCTACACCGGAAAGCGGTCCTGGCAGCCCT
	GTSTEPSEGSAP	GCTGGTTCTCCAACCTCTACCGAGGAGGGTTCACCG
	GTSESATPESGP	GCAGGTAGCCCGACTAGCACTGAAGAAGGTACTAG
	GTSESATPESGP	CACGGAGCCGAGCGAGGGTAGTGCTCCGGGTACGA
	GTSESATPESGP	GCGAGAGCGCAACGCCAGAGAGCGGTCCAGGCACC
	GSEPATSGSETP	AGCGAATCGGCCACCCCTGAGAGCGGCCCAGGTAC
	GSEPATSGSETP	TTCTGAGAGCGCCACTCCTGAATCCGGCCCTGGTAG
	GSPAGSPTSTEE	CGAGCCGGCAACCTCCGGCTCAGAAACTCCTGGTT
	GTSTEPSEGSAP	CGGAACCAGCGACCAGCGGTTCTGAAACTCCGGGT
	GTSTEPSEGSAP	AGCCCGGCAGGCAGCCCAACGAGCACCGAAGAGG
	GSEPATSGSETP	GTACCAGCACGGAACCGAGCGAGGGTTCTGCCCCG
	GTSESATPESGP	GGTACTTCCACCGAACCATCGGAGGGCTCTGCACCT
	GTSTEPSEGSAPL	GGTAGCGAACCTGCGACGTCTGGTTCTGAAACGCC
	SGRSDNHVPLSL	GGGTACCAGCGAAAGCGCTACCCCAGAATCCGGTC
	KMGGTAEAASA	CGGGCACTAGCACCGAGCCATCGGAGGGCTCCGCA
	SGEVQLVESGGG	CCActgTCAggtCGTtctGATaacCATgttCCActgTCTctgAA
	LVQPGGSLRLSC	AatgGGTGGCACCGCCGAAGCAGCTagcgcctctGGCGA
	AASGYSFTGYT	GGTGCAGCTGGTTGAAAGCGGTGGCGGTCTGGTGC
	MNWVRQAPGK	AACCAGGCGGTAGCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCG
	GLEWVALINPYK	AGCGGTTACAGCTTTACCGGTTATACCATGAACTGG
	GVSTYNQKFKD	GTTCGTCAAGCGCCAGGTAAAGGTCTGGAGTGGGT
	RFTISVDKSKNT	GGCGCTGATCAACCCGTACAAGGGTGTTAGCACCT
	AYLQMNSLRAE	ATAACCAGAAGTTCAAAGACCGTTTTACCATTAGC

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	DTAVYYCARSG YYGDSDWYFDV WGQGTLVTVSS GATPPETGAETE SPGETTGGSAES EPPGEGDIQMTQ SPSSLSASVGDR VTITCRASQDIR NYLNWYQQKPG KAPKLLIYYTSR LESGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSL QPEDFATYYCQ QGNTLPWTFGQ GTKVEIK	GTGGATAAGAGCAAAAACACCGCGTACCTGCAAAT GAACAGCCTGCGTGCGGAGGACACCGCTGTGTACT ATTGCGCGCGTAGCGGTTACTATGGCGACAGCGAC TGGTATTTTGATGTGTGGGGCCAAGGCACCCTGGTT ACCGTGAGCTCCGGCGCTACTCCCCCTGAGACAGG AGCGGAAACGGAATCCCCTGGCGAGACGACGGGTG GTTCCGCAGAGTCGGAACCTCCTGGTGAGGGCGAC ATCCAAATGACCCAATCACCGTCATCCCTGAGCGCC TCTGTTGGAGATCGTGTAACAATTACCTGCCGCGCC TCCCAAGACATCCGCAATTACTTAAACTGGTATCAG CAAAAACCCGGTAAGGCACCGAAATTGCTGATTTA TTATACTTCACGCTTAGAGAGTGGGGTGCCGTCGCG CTTCAGTGGCTCGGGTAGTGGGACCGATTACACATT GACAATTTCATCACTGCAGCCAGAGGATTTTGCGAC TTATTACTGTCAACAGGGTAACACGCTTCCCTGGAC CTTCGGGCAAGGCACGAAAGTTGAGATCAAG
TBP-13	HHHHHHGGSPA GSPTSTEEGTSES ATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSTEPSE GSAPGTSESATP ESGPGSEPATSG SETPGSEPATSGS ETPGSPAGSPTST EEGTSESATPES GPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGS APGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGS APGTSESATPES GPGTSTEPSEGS APGTSESATPES GPGSEPATSGSE TPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGP GTSESATPESGP GSPAGSPTSTEE GTSESATPESGP GSEPATSGSETP GTSESATPESGP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP	CATCACCACCATCATCACggAGGTAGCCCAGCTGGT AGCCCAACCTCTACCGAAGAAGGTACCTCTGAATC CGCTACTCCAGAATCCGGTCCTGGTACTAGCACTGA GCCAAGCGAAGGTTCTGCTCCAGGCTCCCCGGCAG GTAGCCCTACCTCTACCGAAGAGGGCACTAGCACC GAACCATCTGAGGGTTCCGCTCCTGGCACCTCCACT GAACCGTCCGAAGGCAGTGCTCCGGGTACTTCCGA AAGCGCAACTCCGGAATCCGGCCCTGGTTCTGAGC CTGCTACTTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAGC CAGCGACTTCTGGTTCTGAAACTCCAGGTTCACCGG CGGGTAGCCCGACGAGCACGGAGGAAGGTACCTCT GAGTCGGCCACTCCTGAGTCCGGTCCGGGCACGAG CACCGAGCCGAGCGAGGGTTCAGCCCCGGGTACCA GCACGGAGCCGTCCGAGGGTAGCGCACCGGGTTCT CCGGCGGGCTCCCCTACGTCTACGGAAGAGGGTAC GTCCACTGAACCTAGCGAGGGCAGCGCGCCAGGCA CCAGCACTGAACCGAGCGAAGGCAGCGCACCTGGC ACTAGCGAGTCTGCGACTCCGGAGAGCGGTCCGGG TACGAGCACGGAACCAAGCGAAGGCAGCGCCCCAG GTACCTCTGAATCTGCTACCCCAGAATCTGGCCCGG GTTCCGAGCCAGCTACCTCTGGTTCTGAAACCCCAG GTACTTCCACTGAACCAAGCGAAGGTAGCGCTCCT GGCACTTCTACTGAACCATCCGAAGGTTCCGCTCCT GGTACGTCTGAAAGCGCTACCCCTGAAAGCGGCCC AGGCACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGAGCGGTC CAGGCTCTCCAGCAGGTTCTCCAACCTCCACTGAAG AAGGCACCTCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGTC CTGGCTCCGAACCTGCTACCTCTGGTTCCGAAACTC CAGGTACCTCGGAATCTGCGACTCCGGAATCTGGC CCGGGCACGAGCACGGAGCCGTCTGAGGGTAGCGC ACCAGGTACCAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTCTG CACCGGGTACCTCCACGGAACCTTCGGAAGGTTCT GCGCCGGGTACCTCCACTGAGCCATCCGAGGGTTC

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	GTSTEPSEGSAP	AGCACCAGGTACTAGCACGGAACCGTCCGAGGGCT
	GSPAGSPTSTEE	CTGCACCAGGTACGAGCACCGAACCGTCGGAGGGT
	GTSTEPSEGSAP	AGCGCTCCAGGTAGCCCAGCGGGCTCTCCGACAAG
	GTSESATPESGP	CACCGAAGAAGGCACCAGCACCGAGCCGTCCGAAG
	GSEPATSGSETP	GTTCCGCACCAGGTACAAGCGAGAGCGCGACTCCT
	GTSESATPESGP	GAATCTGGTCCGGGTAGCGAGCCTGCAACCAGCGG
	GSEPATSGSETP	TTCTGAGACGCCGGGCACTTCCGAATCTGCGACCCC
	GTSESATPESGP	GGAGTCCGGTCCAGGTTCAGAGCCGGCGACGAGCG
	GTSTEPSEGSAP	GTTCGGAAACGCCGGGTACGTCTGAATCAGCCACG
	GTSESATPESGP	CCGGAGTCTGGTCCGGGTACCTCGACCGAACCAAG
	GSPAGSPTSTEE	CGAAGGTTCGGCACCGGGTACTAGCGAGAGCGCAA
	GSPAGSPTSTEE	CCCCTGAAAGCGGTCCGGGCAGCCCGGCAGGTTCT
	GSPAGSPTSTEE	CCAACCAGCACCGAAGAAGGTTCCCCTGCTGGTAG
	GTSESATPESGP	CCCGACCTCTACGGAGGAAGGTAGCCCTGCAGGTT
	GTSTEPSEGSAP	CCCCAACTTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAGTCCG
	GTSESATPESGP	CTACCCCAGAAAGCGGTCCTGGTACCTCCACTGAA
	GSEPATSGSETP	CCGTCTGAAGGCTCTGCACCAGGCACTTCTGAGTCT
	GTSESATPESGP	GCTACTCCAGAAAGCGGCCCAGGTTCTGAACCAGC
	GSEPATSGSETP	AACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGCACTTCTGAGTC
	GTSESATPESGP	CGCAACGCCTGAATCCGGTCCTGGTTCTGAACCAGC
	GTSTEPSEGSAP	TACTTCCGGCAGCGAAACCCCAGGTACCTCTGAGTC
	GSPAGSPTSTEE	TGCGACTCCAGAGTCTGGTCCTGGTACTTCCACTGA
	GTSESATPESGP	GCCTAGCGAGGGTTCCGCACCAGGTTCTCCGGCTG
	GSEPATSGSETP	GTAGCCCGACCAGCACGGAGGAGGGTACGTCTGAA
	GTSESATPESGP	TCTGCAACGCCGGAATCGGGCCCAGGTTCGGAGCC
	GSPAGSPTSTEE	TGCAACGTCTGGCAGCGAAACCCCGGGTACCTCCG
	GSPAGSPTSTEE	AATCTGCTACACCGGAAAGCGGTCCTGGCAGCCCT
	GTSTEPSEGSAP	GCTGGTTCTCCAACCTCTACCGAGGAGGGTTCACCG
	GTSESATPESGP	GCAGGTAGCCCGACTAGCACTGAAGAAGGTACTAG
	GTSESATPESGP	CACGGAGCCGAGCGAGGGTAGTGCTCCGGGTACGA
	GTSESATPESGP	GCGAGAGCGCAACGCCAGAGAGCGGTCCAGGCACC
	GSEPATSGSETP	AGCGAATCGGCCACCCCTGAGAGCGGCCCAGGTAC
	GSEPATSGSETP	TTCTGAGAGCGCCACTCCTGAATCCGGCCCTGGTAG
	GSPAGSPTSTEE	CGAGCCGGCAACCTCCGGCTCAGAAACTCCTGGTT
	GTSTEPSEGSAP	CGGAACCAGCGACCAGCGGTTCTGAAACTCCGGGT
	GTSTEPSEGSAP	AGCCCGGCAGGCAGCCCAACGAGCACCGAAGAGG
	GSEPATSGSETP	GTACCAGCACGGAACCGAGCGAGGGTTCTGCCCCG
	GTSESATPESGP	GGTACTTCCACCGAACCATCGGAGGGCTCTGCACCT
	GTSTEPSEGSAPL	GGTAGCGAACCTGCGACGTCTGGTTCTGAAACGCC
	SGRSDNHSPLGL	GGGTACCAGCGAAAGCGCTACCCCAGAATCCGGTC
	AGSGTAEAASAS	CGGGCACTAGCACCGAGCCATCGGAGGGCTCCGCA
	GELVVTQEPSLT	CCActgTCAggtCGTtctGATaacCATtccCCActgGGTctgGC
	VSPGGTVTLTCR	TGGGTCTGGCACCGCCGAAGCAGCTagcgcctctGGCGA
	SSTGAVTTSNYA	ACTGGTCGTCACGCAGGAGCCGTCCCTTACCGTTTC
	NWVQQKPGQAP	ACCAGGTGGAACAGTGACTCTGACGTGTCGCTCCTC
	RGLIGGTNKRAP	CACTGGGGCGGTTACAACTTCCAATTATGCTAATTG
	GTPARFSGSLLG	GGTCCAGCAGAAGCCGGGCCAAGCCCCTCGCGGGT
	GKAALTLSGVQP	TGATTGGCGGCACCAACAAACGTGCTCCAGGGACA
	EDEAEYYCALW	CCTGCCCGTTTTTCGGGCTCCTTATTGGGGGGCAAA

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	YSNLWVFGGT KLTVLGATPPET GAETESPGETTG GSAESEPPGEGE VQLLESGGGLV QPGGSLKLSCAA SGFTFNTYAMN WVRQAPGKGLE WVARIRSKYNN YATYYADSVKD RFTISRDDSKNT AYLQMNNLKTE DTAVYYCVRHG NFGNSYVSWFA YWGQGTLVTVS S	GCTGCACTGACGTTGTCTGGAGTTCAGCCGGAGGA TGAGGCAGAGTATTACTGCGCATTGTGGTATTCTAA TTTATGGGTTTTTGGAGGCGGCACAAAGCTGACCGT CCTGggtgcgaccccgccggaaaccggtgcggaaaccgaaagcccgggtgaa accaccggtggcagcgcggagagcgaaccgccggggtgaaggtGAGGTTC AGTTGTTGGAAAGCGGGGGCGGGCTTGTCCAACCT GGAGGTTCATTAAAATTGAGCTGTGCAGCCTCCGG ATTCACCTTTAACACGTATGCAATGAACTGGGTCCG TCAAGCGCCCGGTAAGGGGCTGGAGTGGGTAGCTC GCATCCGCTCGAAGTATAATAATTACGCAACCTACT ACGCAGACAGTGTCAAAGATCGCTTCACTATCTCAC GCGACGACAGTAAGAACACGGCCTACTTACAGATG AACAATCTTAAAACGGAGGACACCGCTGTCTACTA CTGCGTGCGCCACGGGAATTTCGGTAACTCTTATGT AAGTTGGTTCGCATATTGGGGACAAGGTACGTTGG TAACCGTATCCAGC
TBP-14	HHHHHHGGSPA GSPTSTEEGTSES ATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSTEPSE GSAPGTSESATP ESGPGSEPATSG SETPGSEPATSGS ETPGSPAGSPTST EEGTSESATPES GPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGS APGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGS APGTSESATPES GPGTSTEPSEGS APGTSESATPES GPGSEPATSGSE TPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGP GTSESATPESGP GSPAGSPTSTEE GTSESATPESGP GSEPATSGSETP GTSESATPESGP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP	CATCACCACCATCATCACggAGGTAGCCCAGCTGGT AGCCCAACCTCTACCGAAGAAGGTACCTCTGAATC CGCTACTCCAGAATCCGGTCCTGGTACTAGCACTGA GCCAAGCGAAGGTTCTGCTCCAGGCTCCCCGGCAG GTAGCCCTACCTCTACCGAAGAGGGCACTAGCACC GAACCATCTGAGGGTTCCGCTCCTGGCACCTCCACT GAACCGTCCGAAGGCAGTGCTCCGGGTACTTCCGA AAGCGCAACTCCGGAATCCGGCCCTGGTTCTGAGC CTGCTACTTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAGC CAGCGACTTCTGGTTCTGAAACTCCAGGTTCACCGG CGGGTAGCCCGACGAGCACGGAGGAAGGTACCTCT GAGTCGGCCACTCCTGAGTCCGGTCCGGGCACGAG CACCGAGCCGAGCGAGGGTTCAGCCCCGGGTACCA GCACGGAGCCGTCCGAGGGTAGCGCACCGGGTTCT CCGGCGGGCTCCCCTACGTCTACGGAAGAGGGTAC GTCCACTGAACCTAGCGAGGGCAGCGCGCCAGGCA CCAGCACTGAACCGAGCGAAGGCAGCGCACCTGGC ACTAGCGAGTCTGCGACTCCGGAGAGCGGTCCGGG TACGAGCACGGAACCAAGCGAAGGCAGCGCCCCAG GTACCTCTGAATCTGCTACCCCAGAATCTGGCCCGG GTTCCGAGCCAGCTACCTCTGGTTCTGAAACCCCAG GTACTTCCACTGAACCAAGCGAAGGTAGCGCTCCT GGCACTTCTACTGAACCATCCGAAGGTTCCGCTCCT GGTACGTCTGAAAGCGCTACCCCTGAAAGCGGCCC AGGCACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGAGCGGTC CAGGCTCTCCAGCAGGTTCTCCAACCTCCACTGAAG AAGGCACCTCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGTC CTGGCTCCGAACCTGCTACCTCTGGTTCCGAAACTC CAGGTACCTCGGAATCTGCGACTCCGGAATCTGGC CCGGGCACGAGCACGGAGCCGTCTGAGGGTAGCGC ACCAGGTACCAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTCTG CACCGGGTACCTCCACGGAACCTTCGGAAGGTTCT GCGCCGGGTACCTCCACTGAGCCATCCGAGGGTTC

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	GTSTEPSEGSAP	AGCACCAGGTACTAGCACGGAACCGTCCGAGGGCT
	GSPAGSPTSTEE	CTGCACCAGGTACGAGCACCGAACCGTCGGAGGGT
	GTSTEPSEGSAP	AGCGCTCCAGGTAGCCCAGCGGGCTCTCCGACAAG
	GTSESATPESGP	CACCGAAGAAGGCACCAGCACCGAGCCGTCCGAAG
	GSEPATSGSETP	GTTCCGCACCAGGTACAAGCGAGAGCGCGACTCCT
	GTSESATPESGP	GAATCTGGTCCGGGTAGCGAGCCTGCAACCAGCGG
	GSEPATSGSETP	TTCTGAGACGCCGGGCACTTCCGAATCTGCGACCCC
	GTSESATPESGP	GGAGTCCGGTCCAGGTTCAGAGCCGGCGACGAGCG
	GTSTEPSEGSAP	GTTCGGAAACGCCGGGTACGTCTGAATCAGCCACG
	GTSESATPESGP	CCGGAGTCTGGTCCGGGTACCTCGACCGAACCAAG
	GSPAGSPTSTEE	CGAAGGTTCGGCACCGGGTACTAGCGAGAGCGCAA
	GSPAGSPTSTEE	CCCCTGAAAGCGGTCCGGGCAGCCCGGCAGGTTCT
	GSPAGSPTSTEE	CCAACCAGCACCGAAGAAGGTTCCCCTGCTGGTAG
	GTSESATPESGP	CCCGACCTCTACGGAGGAAGGTAGCCCTGCAGGTT
	GTSTEPSEGSAP	CCCCAACTTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAGTCCG
	GTSESATPESGP	CTACCCCAGAAAGCGGTCCTGGTACCTCCACTGAA
	GSEPATSGSETP	CCGTCTGAAGGCTCTGCACCAGGCACTTCTGAGTCT
	GTSESATPESGP	GCTACTCCAGAAAGCGGCCCAGGTTCTGAACCAGC
	GSEPATSGSETP	AACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGCACTTCTGAGTC
	GTSESATPESGP	CGCAACGCCTGAATCCGGTCCTGGTTCTGAACCAGC
	GTSTEPSEGSAP	TACTTCCGGCAGCGAAACCCCAGGTACCTCTGAGTC
	GSPAGSPTSTEE	TGCGACTCCAGAGTCTGGTCCTGGTACTTCCACTGA
	GTSESATPESGP	GCCTAGCGAGGGTTCCGCACCAGGTTCTCCGGCTG
	GSEPATSGSETP	GTAGCCCGACCAGCACGGAGGAGGGTACGTCTGAA
	GTSESATPESGP	TCTGCAACGCCGGAATCGGGCCCAGGTTCGGAGCC
	GSPAGSPTSTEE	TGCAACGTCTGGCAGCGAAACCCCGGGTACCTCCG
	GSPAGSPTSTEE	AATCTGCTACACCGGAAAGCGGTCCTGGCAGCCCT
	GTSTEPSEGSAP	GCTGGTTCTCCAACCTCTACCGAGGAGGGTTCACCG
	GTSESATPESGP	GCAGGTAGCCCGACTAGCACTGAAGAAGGTACTAG
	GTSESATPESGP	CACGGAGCCGAGCGAGGGTAGTGCTCCGGGTACGA
	GTSESATPESGP	GCGAGAGCGCAACGCCAGAGAGCGGTCCAGGCACC
	GSEPATSGSETP	AGCGAATCGGCCACCCCTGAGAGCGGCCCAGGTAC
	GSEPATSGSETP	TTCTGAGAGCGCCACTCCTGAATCCGGCCCTGGTAG
	GSPAGSPTSTEE	CGAGCCGGCAACCTCCGGCTCAGAAACTCCTGGTT
	GTSTEPSEGSAP	CGGAACCAGCGACCAGCGGTTCTGAAACTCCGGGT
	GTSTEPSEGSAP	AGCCCGGCAGGCAGCCCAACGAGCACCGAAGAGG
	GSEPATSGSETP	GTACCAGCACGGAACCGAGCGAGGGTTCTGCCCCG
	GTSESATPESGP	GGTACTTCCACCGAACCATCGGAGGGCTCTGCACCT
	GTSTEPSEGSAPL	GGTAGCGAACCTGCGACGTCTGGTTCTGAAACGCC
	SGRSDNHVPLSL	GGGTACCAGCGAAAGCGCTACCCCAGAATCCGGTC
	KMGGTAEAASA	CGGGCACTAGCACCGAGCCATCGGAGGGCTCCGCA
	SGELVVTQEPSL	CCActgTCAggtCGTtctGATaacCATgttCCActgTCTctgAA
	TVSPGGTVTLTC	AatgGGTGGCACCGCCGAAGCAGCTagcgcctctGGCGA
	RSSTGAVTTSNY	ACTGGTCGTCACGCAGGAGCCGTCCCTTACCGTTTC
	ANWVQQKPGQA	ACCAGGTGGAACAGTGACTCTGACGTGTCGCTCCTC
	PRGLIGGTNKRA	CACTGGGGCGGTTACAACTTCCAATTATGCTAATTG
	PGTPARFSGSLL	GGTCCAGCAGAAGCCGGGCCAAGCCCCTCGCGGGT
	GGKAALTLSGV	TGATTGGCGGCACCAACAAACGTGCTCCAGGGACA
	QPEDEAEYYCAL	CCTGCCCGTTTTTCGGGCTCCTTATTGGGGGGCAAA

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	WYSNLWVFGGG TKLTVLGATPPE TGAETESPGETT GGSAESEPPGEG EVQLLESGGGLV QPGGSLKLSCAA SGFTFNTYAMN WVRQAPGKGLE WVARIRSKYNN YATYYADSVKD RFTISRDDSKNT AYLQMNNLKTE DTAVYYCVRHG NFGNSYVSWFA YWGQGTLVTVS S	GCTGCACTGACGTTGTCTGGAGTTCAGCCGGAGGA TGAGGCAGAGTATTACTGCGCATTGTGGTATTCTAA TTTATGGGTTTTTGGAGGCGGCACAAAGCTGACCGT CCTGggtgcgaccccgccggaaaccggtgcggaaaccgaaagcccgggtgaa accaccggtggcagcgcggagagcgaaccgccggggtgaaggtGAGGTTC AGTTGTTGGAAAGCGGGGGCGGGCTTGTCCAACCT GGAGGTTCATTAAAATTGAGCTGTGCAGCCTCCGG ATTCACCTTTAACACGTATGCAATGAACTGGGTCCG TCAAGCGCCCGGTAAGGGGCTGGAGTGGGTAGCTC GCATCCGCTCGAAGTATAATAATTACGCAACCTACT ACGCAGACAGTGTCAAAGATCGCTTCACTATCTCAC GCGACGACAGTAAGAACACGGCCTACTTACAGATG AACAATCTTAAAACGGAGGACACCGCTGTCTACTA CTGCGTGCGCCACGGGAATTTCGGTAACTCTTATGT AAGTTGGTTCGCATATTGGGGACAAGGTACGTTGG TAACCGTATCCAGC
TBP-15	HHHHHHGGSPA GSPTSTEEGTSES ATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSTEPSE GSAPGTSESATP ESGPGSEPATSG SETPGSEPATSGS ETPGSPAGSPTST EEGTSESATPES GPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGS APGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGS APGTSESATPES GPGTSTEPSEGS APGTSESATPES GPGSEPATSGSE TPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGP GTSESATPESGP GSPAGSPTSTEE GTSESATPESGP GSEPATSGSETP GTSESATPESGP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP	CATCACCACCATCATCACggAGGTAGCCCAGCTGGT AGCCCAACCTCTACCGAAGAAGGTACCTCTGAATC CGCTACTCCAGAATCCGGTCCTGGTACTAGCACTGA GCCAAGCGAAGGTTCTGCTCCAGGCTCCCCGGCAG GTAGCCCTACCTCTACCGAAGAGGGCACTAGCACC GAACCATCTGAGGGTTCCGCTCCTGGCACCTCCACT GAACCGTCCGAAGGCAGTGCTCCGGGTACTTCCGA AAGCGCAACTCCGGAATCCGGCCCTGGTTCTGAGC CTGCTACTTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAGC CAGCGACTTCTGGTTCTGAAACTCCAGGTTCACCGG CGGGTAGCCCGACGAGCACGGAGGAAGGTACCTCT GAGTCGGCCACTCCTGAGTCCGGTCCGGGCACGAG CACCGAGCCGAGCGAGGGTTCAGCCCCGGGTACCA GCACGGAGCCGTCCGAGGGTAGCGCACCGGGTTCT CCGGCGGGCTCCCCTACGTCTACGGAAGAGGGTAC GTCCACTGAACCTAGCGAGGGCAGCGCGCCAGGCA CCAGCACTGAACCGAGCGAAGGCAGCGCACCTGGC ACTAGCGAGTCTGCGACTCCGGAGAGCGGTCCGGG TACGAGCACGGAACCAAGCGAAGGCAGCGCCCCAG GTACCTCTGAATCTGCTACCCCAGAATCTGGCCCGG GTTCCGAGCCAGCTACCTCTGGTTCTGAAACCCCAG GTACTTCCACTGAACCAAGCGAAGGTAGCGCTCCT GGCACTTCTACTGAACCATCCGAAGGTTCCGCTCCT GGTACGTCTGAAAGCGCTACCCCTGAAAGCGGCCC AGGCACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGAGCGGTC CAGGCTCTCCAGCAGGTTCTCCAACCTCCACTGAAG AAGGCACCTCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGTC CTGGCTCCGAACCTGCTACCTCTGGTTCCGAAACTC CAGGTACCTCGGAATCTGCGACTCCGGAATCTGGC CCGGGCACGAGCACGGAGCCGTCTGAGGGTAGCGC ACCAGGTACCAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTCTG CACCGGGTACCTCCACGGAACCTTCGGAAGGTTCT GCGCCGGGTACCTCCACTGAGCCATCCGAGGGTTC

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	GTSTEPSEGSAP	AGCACCAGGTACTAGCACGGAACCGTCCGAGGGCT
	GSPAGSPTSTEE	CTGCACCAGGTACGAGCACCGAACCGTCGGAGGGT
	GTSTEPSEGSAP	AGCGCTCCAGGTAGCCCAGCGGGCTCTCCGACAAG
	GTSESATPESGP	CACCGAAGAAGGCACCAGCACCGAGCCGTCCGAAG
	GSEPATSGSETP	GTTCCGCACCAGGTACAAGCGAGAGCGCGACTCCT
	GTSESATPESGP	GAATCTGGTCCGGGTAGCGAGCCTGCAACCAGCGG
	GSEPATSGSETP	TTCTGAGACGCCGGGCACTTCCGAATCTGCGACCCC
	GTSESATPESGP	GGAGTCCGGTCCAGGTTCAGAGCCGGCGACGAGCG
	GTSTEPSEGSAP	GTTCGGAAACGCCGGGTACGTCTGAATCAGCCACG
	GTSESATPESGP	CCGGAGTCTGGTCCGGGTACCTCGACCGAACCAAG
	GSPAGSPTSTEE	CGAAGGTTCGGCACCGGGTACTAGCGAGAGCGCAA
	GSPAGSPTSTEE	CCCCTGAAAGCGGTCCGGGCAGCCCGGCAGGTTCT
	GSPAGSPTSTEE	CCAACCAGCACCGAAGAAGGTTCCCCTGCTGGTAG
	GTSESATPESGP	CCCGACCTCTACGGAGGAAGGTAGCCCTGCAGGTT
	GTSTEPSEGSAP	CCCCAACTTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAGTCCG
	GTSESATPESGP	CTACCCCAGAAAGCGGTCCTGGTACCTCCACTGAA
	GSEPATSGSETP	CCGTCTGAAGGCTCTGCACCAGGCACTTCTGAGTCT
	GTSESATPESGP	GCTACTCCAGAAAGCGGCCCAGGTTCTGAACCAGC
	GSEPATSGSETP	AACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGCACTTCTGAGTC
	GTSESATPESGP	CGCAACGCCTGAATCCGGTCCTGGTTCTGAACCAGC
	GTSTEPSEGSAP	TACTTCCGGCAGCGAAACCCCAGGTACCTCTGAGTC
	GSPAGSPTSTEE	TGCGACTCCAGAGTCTGGTCCTGGTACTTCCACTGA
	GTSESATPESGP	GCCTAGCGAGGGTTCCGCACCAGGTTCTCCGGCTG
	GSEPATSGSETP	GTAGCCCGACCAGCACGGAGGAGGGTACGTCTGAA
	GTSESATPESGP	TCTGCAACGCCGGAATCGGGCCCAGGTTCGGAGCC
	GSPAGSPTSTEE	TGCAACGTCTGGCAGCGAAACCCCGGGTACCTCCG
	GSPAGSPTSTEE	AATCTGCTACACCGGAAAGCGGTCCTGGCAGCCCT
	GTSTEPSEGSAP	GCTGGTTCTCCAACCTCTACCGAGGAGGGTTCACCG
	GTSESATPESGP	GCAGGTAGCCCGACTAGCACTGAAGAAGGTACTAG
	GTSESATPESGP	CACGGAGCCGAGCGAGGGTAGTGCTCCGGGTACGA
	GTSESATPESGP	GCGAGAGCGCAACGCCAGAGAGCGGTCCAGGCACC
	GSEPATSGSETP	AGCGAATCGGCCACCCCTGAGAGCGGCCCAGGTAC
	GSEPATSGSETP	TTCTGAGAGCGCCACTCCTGAATCCGGCCCTGGTAG
	GSPAGSPTSTEE	CGAGCCGGCAACCTCCGGCTCAGAAACTCCTGGTT
	GTSTEPSEGSAP	CGGAACCAGCGACCAGCGGTTCTGAAACTCCGGGT
	GTSTEPSEGSAP	AGCCCGGCAGGCAGCCCAACGAGCACCGAAGAGG
	GSEPATSGSETP	GTACCAGCACGGAACCGAGCGAGGGTTCTGCCCCG
	GTSESATPESGP	GGTACTTCCACCGAACCATCGGAGGGCTCTGCACCT
	GTSTEPSEGSAPL	GGTAGCGAACCTGCGACGTCTGGTTCTGAAACGCC
	SGRSDNHSPLGL	GGGTACCAGCGAAAGCGCTACCCCAGAATCCGGTC
	AGSGTAEAASAS	CGGGCACTAGCACCGAGCCATCGGAGGGCTCCGCA
	GEVQLLESGGGL	CCActgTCAggtCGTtctGATaacCATtccCCActgGGTctgGC
	VQPGGSLKLSCA	TGGGTCTGGCACCGCCGAAGCAGCTagcgcctctGGCGA
	ASGFTFNTYAM	GGTTCAGTTGTTGGAAAGCGGGGGCGGGCTTGTCC
	NWVRQAPGKGL	AACCTGGAGGTTCATTAAAATTGAGCTGTGCAGCCT
	EWVARIRSKYN	CCGGATTCACCTTTAACACGTATGCAATGAACTGGG
	NYATYYADSVK	TCCGTCAAGCGCCCGGTAAGGGGCTGGAGTGGGTA
	DRFTISRDDSKN	GCTCGCATCCGCTCGAAGTATAATAATTACGCAACC
	TAYLQMNNLKT	TACTACGCAGACAGTGTCAAAGATCGCTTCACTATC

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	EDTAVYYCVRH GNFGNSYVSWF AYWGQGTLVTV SSGATPPETGAE TESPGETTGGSA ESEPPGEGELVV TQEPSLTVSPGG TVTLTCRSSTGA VTTSNYANWVQ QKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPAR FSGSLLGGKAAL TLSGVQPEDEAE YYCALWYSNLW VFGGGTKLTVL	TCACGCGACGACAGTAAGAACACGGCCTACTTACA GATGAACAATCTTAAAACGGAGGACACCGCTGTCT ACTACTGCGTGCGCCACGGGAATTTCGGTAACTCTT ATGTAAGTTGGTTCGCATATTGGGGACAAGGTACG TTGGTAACCGTATCCAGCggtgcgaccccgccggaaaccggtgcg gaaaccgaaagcccgggtgaaaccaccggtggcagcgcggagagcgaaccgcc gggtgaaggtGAACTGGTCGTCACGCAGGAGCCGTCCCT TACCGTTTCACCAGGTGGAACAGTGACTCTGACGTG TCGCTCCTCCACTGGGGCGGTTACAACTTCCAATTA TGCTAATTGGGTCCAGCAGAAGCCGGGCCAAGCCC CTCGCGGGTTGATTGGCGGCACCAACAAACGTGCT CCAGGGACACCTGCCCGTTTTTCGGGCTCCTTATTG GGGGGCAAAGCTGCACTGACGTTGTCTGGAGTTCA GCCGGAGGATGAGGCAGAGTATTACTGCGCATTGT GGTATTCTAATTTATGGGTTTTTGGAGGCGGCACAA AGCTGACCGTCCTG
TBP-16	HHHHHHGGSPA GSPTSTEEGTSES ATPESGPGTSTEP SEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSTEPSE GSAPGTSESATP ESGPGSEPATSG SETPGSEPATSGS ETPGSPAGSPTST EEGTSESATPES GPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGS APGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGS APGTSESATPES GPGTSTEPSEGS APGTSESATPES GPGSEPATSGSE TPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGP GTSESATPESGP GSPAGSPTSTEE GTSESATPESGP GSEPATSGSETP GTSESATPESGP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAP	CATCACCACCATCATCACggAGGTAGCCCAGCTGGT AGCCCAACCTCTACCGAAGAAGGTACCTCTGAATC CGCTACTCCAGAATCCGGTCCTGGTACTAGCACTGA GCCAAGCGAAGGTTCTGCTCCAGGCTCCCCGGCAG GTAGCCCTACCTCTACCGAAGAGGGCACTAGCACC GAACCATCTGAGGGTTCCGCTCCTGGCACCTCCACT GAACCGTCCGAAGGCAGTGCTCCGGGTACTTCCGA AAGCGCAACTCCGGAATCCGGCCCTGGTTCTGAGC CTGCTACTTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAGC CAGCGACTTCTGGTTCTGAAACTCCAGGTTCACCGG CGGGTAGCCCGACGAGCACGGAGGAAGGTACCTCT GAGTCGGCCACTCCTGAGTCCGGTCCGGGCACGAG CACCGAGCCGAGCGAGGGTTCAGCCCCGGGTACCA GCACGGAGCCGTCCGAGGGTAGCGCACCGGGTTCT CCGGCGGGCTCCCCTACGTCTACGGAAGAGGGTAC GTCCACTGAACCTAGCGAGGGCAGCGCGCCAGGCA CCAGCACTGAACCGAGCGAAGGCAGCGCACCTGGC ACTAGCGAGTCTGCGACTCCGGAGAGCGGTCCGGG TACGAGCACGGAACCAAGCGAAGGCAGCGCCCCAG GTACCTCTGAATCTGCTACCCCAGAATCTGGCCCGG GTTCCGAGCCAGCTACCTCTGGTTCTGAAACCCCAG GTACTTCCACTGAACCAAGCGAAGGTAGCGCTCCT GGCACTTCTACTGAACCATCCGAAGGTTCCGCTCCT GGTACGTCTGAAAGCGCTACCCCTGAAAGCGGCCC AGGCACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGAGCGGTC CAGGCTCTCCAGCAGGTTCTCCAACCTCCACTGAAG AAGGCACCTCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGTC CTGGCTCCGAACCTGCTACCTCTGGTTCCGAAACTC CAGGTACCTCGGAATCTGCGACTCCGGAATCTGGC CCGGGCACGAGCACGGAGCCGTCTGAGGGTAGCGC ACCAGGTACCAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTCTG CACCGGGTACCTCCACGGAACCTTCGGAAGGTTCT GCGCCGGGTACCTCCACTGAGCCATCCGAGGGTTC

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	GTSTEPSEGSAP	AGCACCAGGTACTAGCACGGAACCGTCCGAGGGCT
	GSPAGSPTSTEE	CTGCACCAGGTACGAGCACCGAACCGTCGGAGGGT
	GTSTEPSEGSAP	AGCGCTCCAGGTAGCCCAGCGGGCTCTCCGACAAG
	GTSESATPESGP	CACCGAAGAAGGCACCAGCACCGAGCCGTCCGAAG
	GSEPATSGSETP	GTTCCGCACCAGGTACAAGCGAGAGCGCGACTCCT
	GTSESATPESGP	GAATCTGGTCCGGGTAGCGAGCCTGCAACCAGCGG
	GSEPATSGSETP	TTCTGAGACGCCGGGCACTTCCGAATCTGCGACCCC
	GTSESATPESGP	GGAGTCCGGTCCAGGTTCAGAGCCGGCGACGAGCG
	GTSTEPSEGSAP	GTTCGGAAACGCCGGGTACGTCTGAATCAGCCACG
	GTSESATPESGP	CCGGAGTCTGGTCCGGGTACCTCGACCGAACCAAG
	GSPAGSPTSTEE	CGAAGGTTCGGCACCGGGTACTAGCGAGAGCGCAA
	GSPAGSPTSTEE	CCCCTGAAAGCGGTCCGGGCAGCCCGGCAGGTTCT
	GSPAGSPTSTEE	CCAACCAGCACCGAAGAAGGTTCCCCTGCTGGTAG
	GTSESATPESGP	CCCGACCTCTACGGAGGAAGGTAGCCCTGCAGGTT
	GTSTEPSEGSAP	CCCCAACTTCTACTGAGGAAGGTACTTCTGAGTCCG
	GTSESATPESGP	CTACCCCAGAAAGCGGTCCTGGTACCTCCACTGAA
	GSEPATSGSETP	CCGTCTGAAGGCTCTGCACCAGGCACTTCTGAGTCT
	GTSESATPESGP	GCTACTCCAGAAAGCGGCCCAGGTTCTGAACCAGC
	GSEPATSGSETP	AACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGCACTTCTGAGTC
	GTSESATPESGP	CGCAACGCCTGAATCCGGTCCTGGTTCTGAACCAGC
	GTSTEPSEGSAP	TACTTCCGGCAGCGAAACCCCAGGTACCTCTGAGTC
	GSPAGSPTSTEE	TGCGACTCCAGAGTCTGGTCCTGGTACTTCCACTGA
	GTSESATPESGP	GCCTAGCGAGGGTTCCGCACCAGGTTCTCCGGCTG
	GSEPATSGSETP	GTAGCCCGACCAGCACGGAGGAGGGTACGTCTGAA
	GTSESATPESGP	TCTGCAACGCCGGAATCGGGCCCAGGTTCGGAGCC
	GSPAGSPTSTEE	TGCAACGTCTGGCAGCGAAACCCCGGGTACCTCCG
	GSPAGSPTSTEE	AATCTGCTACACCGGAAAGCGGTCCTGGCAGCCCT
	GTSTEPSEGSAP	GCTGGTTCTCCAACCTCTACCGAGGAGGGTTCACCG
	GTSESATPESGP	GCAGGTAGCCCGACTAGCACTGAAGAAGGTACTAG
	GTSESATPESGP	CACGGAGCCGAGCGAGGGTAGTGCTCCGGGTACGA
	GTSESATPESGP	GCGAGAGCGCAACGCCAGAGAGCGGTCCAGGCACC
	GSEPATSGSETP	AGCGAATCGGCCACCCCTGAGAGCGGCCCAGGTAC
	GSEPATSGSETP	TTCTGAGAGCGCCACTCCTGAATCCGGCCCTGGTAG
	GSPAGSPTSTEE	CGAGCCGGCAACCTCCGGCTCAGAAACTCCTGGTT
	GTSTEPSEGSAP	CGGAACCAGCGACCAGCGGTTCTGAAACTCCGGGT
	GTSTEPSEGSAP	AGCCCGGCAGGCAGCCCAACGAGCACCGAAGAGG
	GSEPATSGSETP	GTACCAGCACGGAACCGAGCGAGGGTTCTGCCCCG
	GTSESATPESGP	GGTACTTCCACCGAACCATCGGAGGGCTCTGCACCT
	GTSTEPSEGSAPL	GGTAGCGAACCTGCGACGTCTGGTTCTGAAACGCC
	SGRSDNHVPLSL	GGGTACCAGCGAAAGCGCTACCCCAGAATCCGGTC
	KMGGTAEAASA	CGGGCACTAGCACCGAGCCATCGGAGGGCTCCGCA
	SGEVQLLESGGG	CCActgTCAggtCGTtctGATaacCATgttCCActgTCTctgAA
	LVQPGGSLKLSC	AatgGGTGGCACCGCCGAAGCAGCTagcgcctctGGCGA
	AASGFTFNTYA	GGTTCAGTTGTTGGAAAGCGGGGGCGGGCTTGTCC
	MNWVRQAPGK	AACCTGGAGGTTCATTAAAATTGAGCTGTGCAGCCT
	GLEWVARIRSKY	CCGGATTCACCTTTAACACGTATGCAATGAACTGGG
	NNYATYYADSV	TCCGTCAAGCGCCCGGTAAGGGGCTGGAGTGGGTA
	KDRFTISRDDSK	GCTCGCATCCGCTCGAAGTATAATAATTACGCAACC
	NTAYLQMNNLK	TACTACGCAGACAGTGTCAAAGATCGCTTCACTATC

构建体名称	氨基酸序列	DNA 序列
	TEDTAVYYCVR HGNFGNSYVSW FAYWGQGTLVT VSSGATPPETGA ETESPGETTGGS AESEPPGEGELV VTQEPSLTVSPG GTVTLTCRSSTG AVTTSNYANWV QQKPGQAPRGLI GGTNKRAPGTP ARFSGSLLGGKA ALTLSGVQPEDE AEYYCALWYSN LWVFGGGTKLT VL	TCACGCGACGACAGTAAGAACACGGCCTACTTACA GATGAACAATCTTAAAACGGAGGACACCGCTGTCT ACTACTGCGTGCGCCACGGGAATTTCGGTAACTCTT ATGTAAGTTGGTTCGCATATTGGGGACAAGGTACG TTGGTAACCGTATCCAGCggtgcgaccccgccggaaaccggtgcg gaaaccgaaagcccgggtgaaaccaccggtggcagcgcggagagcgaaccgcc gggtgaaggtGAACTGGTCGTCACGCAGGAGCCGTCCCT TACCGTTTCACCAGGTGGAACAGTGACTCTGACGTG TCGCTCCTCCACTGGGGCGGTTACAACTTCCAATTA TGCTAATTGGGTCCAGCAGAAGCCGGGCCAAGCCC CTCGCGGGTTGATTGGCGGCACCAACAAACGTGCT CCAGGGACACCTGCCCGTTTTTCGGGCTCCTTATTG GGGGGCAAAGCTGCACTGACGTTGTCTGGAGTTCA GCCGGAGGATGAGGCAGAGTATTACTGCGCATTGT GGTATTCTAATTTATGGGTTTTTGGAGGCGGCACAA AGCTGACCGTCCTG

5.柔性连接体

[0306] 另一方面，本发明提供了用于连接主题组合物的各个结合域的柔性连接体。在一些实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含第一scFv和第二scFv，其中每一个scFv的VL和VH通过选自表8所列序列的亲水性氨基酸的长连接体连接在一起，并且scFv通过选自表9所列序列的亲水性氨基酸的短连接体连接在一起。在一个实施方案中，用于连接VL和VH的长连接体是表8的L7，并且连接两个scFv的分子间连接体是表9的S-1。在另一个实施方案中，本发明提供了嵌合多肽组装体组合物，其包含单链双抗体，其中折叠后，第一结合域(VL或VH)与最后一个结构域(VH或VL)配对以形成一个scFv，并且在中间的这两个结合域配对以形成另一个scFv，其中第一和第二结构域以及第三和最后的结构域通过选自表9所列序列的亲水性氨基酸的短连接体连接在一起，并且第二和第三可变域通过选自表8的短连接体连接。如本领域技术人员将会理解的，短连接体和长连接体的选择是为了防止相邻可变域的不正确配对，从而促进双抗体构型的形成。

表8:分子内长连接体

连接体#	名称	氨基酸序列
L1	(G4S)3	GGGGSGGGGSGGGGS

L2	MT110_18	GEGTSTGSGGSGGSGGAD
L3	MT103_18	VEGGSGGSGGSGGSGGVD
L4	UCHT1_29	RTSGPGDGGKGGPGKGPGGEGTKGTGPGG
L5	Y30	GSGEGSEGEGGGEGSEGEGSGEGGEGEGSG
L6	Y32	TGSGEGSEGEGGGEGSEGEGSGEGGEGEGSGT
L7	G1_30_3	GATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEG
L8	G9_30_1	GSAAPTAGTTPSASPAPPTGGSSAAGSPST
L9	Y30_修饰的	GEGGESGGSEGEGSGEGEGGSGGEGESEGG
L10	G1_30_1	STETSPSTPTESPEAGSGSGSPESPSGTEA
L11	G1_30_2	PTGTTGEPSGEGSEPEGSAPTSSTSEATPS
L12	G1_30_4	SESESEGEAPTGPGASTTPEPSESPTPETS
L13	UCHT1_修饰的	PEGGESGEGTGPGTGGEPEGEGGPGGEGGT

表9:分子内短连接体

名称	氨基酸序列
S-1	SGGGGS
S-2	GGGGS
S-3	GGS
S-4	GSP

6.嵌合多肽组装体构型

[0307] 本发明的目的是提供以前药形式设计和制备的嵌合多肽组装体组合物,以赋予特定结构、活性、药物和药理学性质。所述主题组合物的设计受至少三个重要性质影响:1)提供具有双特异性结合域的组合物,其具有同时结合效应细胞与靶细胞的能力,从而形成免疫突触;2)为所述组合物提供填充部分,i)当组合物处于完整的前药形式时,该填充部分屏蔽结合域并降低其对靶抗原的结合亲和力,ii)当施用于受试者时,该填充部分提供增强的半衰期,iii)与病变组织(例如肿瘤)相比,该填充部分减少正常组织和器官的渗出,以及iv)与常规的双特异性细胞毒性抗体治疗剂相比,该填充部分具有增加的安全性;以及3)当该填充部分在病变组织附近时能够通过被一种或多种哺乳动物蛋白酶切割而被活化,从而释放双特异性结合域,使其恢复其对靶抗原的完全结合亲和力潜能。所述主题组合物的设计利用了XTEN和肽释放区段(RS)组分的性质,并且它们相对于第一部分双特异性结合域的定位实现了前述性质。

[0308] 不受特定理论的束缚,认为使用如上所述的双特异性结合域形式,释放的结合域能够通过募集细胞毒性效应细胞而杀死靶细胞,而不需要任何预刺激和/或共刺激。此外,对效应细胞的预刺激和/或共刺激的独立性可能实质上促成由释放的结合域介导的异常高的细胞毒性。在一些实施方案中,释放的第二结合域被设计为具有结合特异性,使得其具有结合靶向细胞毒性效应细胞(例如T细胞、NK细胞、细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK细胞))以及受试者中的肿瘤细胞上的候选表面抗原的能力,而第一结合域被设计为对肿瘤细胞相关的肿瘤标志物抗原具有结合特异性,由此实现免疫突触以及释放的细胞因子和效应分子针对靶肿瘤的选择性的、定向的以及局部的效应,其结果是肿瘤细胞被损伤或被破坏,导致对受试者的抗肿瘤活性和治疗益处。在一个实施方案中,释放的第二结合域与效应细胞抗原

结合，该效应细胞抗原能够调节效应细胞的一种或多种功能，引致或促成靶肿瘤细胞上的裂解细胞效应。该效应细胞抗原可以由效应细胞或其他细胞表达。在一些实施方案中，所述效应细胞抗原在效应细胞的细胞表面表达。非限制性的实例为CD3、CD4、CD8、CD25、CD38、CD69、CD45RO、CD57、CD95、CD107和CD154。在其他一些实施方案中，所述效应细胞抗原是选自IL2、IL10、IL12、IFNγ和TNFα的Th1细胞因子。因此，本领域技术人员将会理解，本发明组合物的构型旨在选择性地或不成比例地将组合物的活性形式递送至靶肿瘤组织或癌细胞，从而与施用了所述组合物的受试者中的健康组织或健康细胞相比，其产生治疗益处。从前述可以看出，本发明提供了一种设计构型的大家族多肽，以实现所需的性质。

[0309] 在XTEN作为填充部分的情况下，几种独特的和有益的物理化学和药理学性被赋予XTEN化的主题组合物。所述主题组合物的增强的性质的非限制性实例包括：整体溶解度的和代谢稳定性的增加、降低的对循环中蛋白水解的敏感性、降低的免疫原性、当皮下或肌肉内给药时降低的吸收速率、减少的经肾脏的清除、降低的毒性、XTEN对第一部分结合部分的屏蔽作用直至通过切割RS而释放，以及增强的药代动力学特性。具体而言，特别设想的是，设计所述主题组合物使得它们具有增强的治疗指数和减少的毒性或副作用，这通过XTEN对前药形式中第一部分结合域的结合亲和力的屏蔽作用和空间位阻的组合来实现，但能够在产生RS为底物的蛋白酶的靶组织(例如肿瘤)内或附近释放双特异性结合域(通过在RS组合物中包含肽基切割序列来实现)。

[0310] 一方面，XTEN在组合物中用作载体，本发明利用了这一发现，即非重复性、非结构化多肽的长度的增加增强了XTEN的非结构性质，并且相应地增强了含有XTEN载体的组合物的物理化学和药代动力学特性。一般而言，将累积长度大于约400个残基的XTEN掺入所述组合物中，这相比于较短的累积长度，例如短于约290个残基，导致更长的半衰期。不受特定理论的约束，由于XTEN中掺入的带电残基的个别电荷之间的静电排斥，以及由于缺乏赋予二级结构潜力的序列中的特定亲水性氨基酸所赋予的固有柔性，XTEN可以采用开放式构型。结果是所述主题XTEN是有用的，部分原因是它们赋予所得组合物增加的流体动力学半径；与不含XTEN的组合物相比，其赋予XTEN化组合物相应增加的表观分子量的性质。XTEN化作用导致组合物与未连接至XTEN的蛋白质相比具有增加的流体动力学半径、增加的表观分子量以及增加的表观分子量因子。例如，XTEN可以有效地增大组合物的流体动力学半径使其超过大约3-5nm的肾小球孔径(对应于约70kDa的表观分子量)(Caliceti.2003.Pharmacokinetic and biodistribution properties of poly(ethylene glycol)-protein conjugates.Adv Drug Deliv Rev 55:1261-1277)，导致循环蛋白质的肾清除率降低，并且相应的终末半衰期增加。由XTEN赋予的增加的流体力学半径也减少了嵌合多肽组装体的完整前药形式在平均孔径为5-12nm的正常健康组织区域从循环系统的渗出，但允许完整的组合物分子在透入肿瘤的血管中退出，其中上皮细胞连接处更加多孔。很久以来就知道肿瘤脉管系统的各种功能受损，例如比正常血管更高的血管渗透性(Duran-Reynals,F.Studies on the localization of dyes and foreign proteins in normal and malignant tissue.Am J cancer 35:98-107(1939);Babson AL,Winnick T.Protein transfer in tumor-bearing rats.Cancer Res14:606-611(1954))。这些受损功能导致肿瘤组织中检测到的血浆蛋白浓度高于正常组织;Maeda及其同事阐明了一个现象(Matsumura Y,Maeda H.A new concept for macromolecular

therapeutics in cancer chemotherapy:mechanism of tumoritropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs.cancer Res 46:6387-6392(1986);Maeda H,Matsumura Y.Tumoritropic and lymphotropic principles of macromolecular drugs.Crit Rev Ther Drug Carrier Syst 6:193-210(1989)),Maeda及其同事将其描述为由于肿瘤血管渗透性增加和肿瘤中功能性淋巴管清除率降低的组合而导致了增强的渗透性和保留效应,其结果是大分子在肿瘤中累积。众所周知,大多数非窦状血毛细血管的毛细血管壁中非内源性大分子通过的孔径的生理上限范围在5-12nm之间(Hemant Sarin.Physiologic upper limits of pore size of different blood capillary types and another perspective on the dual pore theory of microvascular permeability.J Angiogenes Res.2010;2:14),而据报道,脑肿瘤和外周肿瘤的血液肿瘤屏障中的内皮细胞间隙的直径范围在40nm与200nm之间或更大(Sarin,H.等人,Physiologic upper limit of pore size in the blood-tumor barrier of malignant solid tumors.J.Translational Medicine 2009 7:51)。在本发明的一个目的中,所述主题嵌合多肽组装体组合物被设计为通过添加填充部分来利用这种孔径差异,例如XTEN使得完整的嵌合多肽组装体在正常组织中的渗出减少,但是在肿瘤脉管系统或其他炎症区域的泄漏环境中,所述完整的组装体可以渗出并被肿瘤环境中的蛋白酶活化,将包含结合域的第一部分释放到效应细胞和靶细胞。在嵌合多肽组装体的RS的情况下,该设计利用了当嵌合多肽组装体靠近病变组织时的情况;例如肿瘤,阐述了一种或多种蛋白酶,由肿瘤表达的一种或多种蛋白酶敏感的RS序列能够被蛋白酶切割(如以上更全面描述的)。蛋白酶的作用切割了所述组合物的释放区段(RS),从组合物中释放第一部分结合域,减小了释放的第一部分双特异性结合域的分子量和流体动力学半径。将会认识到,所述组合物的分子量和流体动力学半径的减小也赋予了这样的性质:释放的第一部分双特异性结合域能够在溶液中更自由地移动,穿过组织和肿瘤中的较小孔隙空间,并且更容易地从肿瘤脉管系统的较大孔隙外扩散进入肿瘤,导致效应细胞和肿瘤细胞的附着和连接。这种性质可以通过不同的试验来测量。在其中所述嵌合多肽组装体的RS被哺乳动物蛋白酶切割的一个实施方案中,在第一部分双特异性结合域和第三部分从所述组合物切割和释放后,与完整的嵌合多肽组装体相比,所述第一部分在磷酸盐缓冲盐水中的扩散系数为至少2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、50倍或100倍。在另一个实施方案中,当表观分子量由大小排阻色谱法(SEC)测定时,所述完整的组合物的表观分子量是经哺乳动物蛋白酶切割RS所释放的第一部分的至少2倍、至少3倍、至少4倍、或至少5倍、或至少10倍。在另一个实施方案中,当流体动力学半径由大小排阻色谱法(SEC)测定时,所述完整的嵌合多肽组装体组合物的流体力学半径是经哺乳动物蛋白酶切割RS所释放的第一部分的至少2倍、或至少3倍、或至少4倍、或至少5倍、或至少10倍。在另一个实施方案中,本发明提供了一种嵌合多肽组装体,其中在切割所述第二部分以从所述嵌合多肽组合物释放所述第一部分和所述第三部分后,当通过大小排阻色谱法评估流体动力学半径时,所释放的第一部分的流体动力学半径是完整的嵌合多肽组装体的流体动力学半径的小于约30%,或小于约40%,或小于约50%。在另一个实施方案中,本发明提供了一种嵌合多肽组装体,其中在切割所述第二部分以从所述嵌合多肽组件释放所述第一部分和所述第三部分后,当流体动力学半径由大小排阻色谱法确定时,所释放的第一部分的流体动力学半径小于约5nm,或小于约4nm,或小于约3nm。在另一

个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体，其中，当流体动力学半径由大小排阻色谱法确定时，所述释放的第一部分的流体动力学半径小于约5nm，或小于约4nm，或小于约3nm，其与完整的嵌合多肽组装体相比，具有更大的穿透肿瘤组织的能力。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体，其中，当流体动力学半径由大小排阻色谱法确定时，所述完整的嵌合多肽组装体的流体力学半径大于约8nm，或大于约9nm，或大于约10nm，并且其中与肿瘤组织的脉管系统相比，所述完整的嵌合多肽组装体能够从受试者的正常组织的脉管系统中较少地渗出。

[0311] 可以设想的是，通过所述主题组合物的设计以及其与XTEN的连接，相比于相应的没有连接至XTEN的第一部分结合域，其在施用于受试者时具有增强的药代动力学特性。在一个实施方案中，与相应的未连接至所述组合物的第一部分相比，所述嵌合多肽组装体组合物在施用于受试者之时或之后，在受试者中表现出至少约2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、40倍或100倍的增加的终末半衰期。在另一个实施方案中，与相应的没有连接至所述组合物的第一部分相比，嵌合多肽组装体组合物在施用于受试者时或之后，表现出曲线下面积(AUC)增加了至少25％、50％、100％、200％或至少300％或更多。在另一个实施方案中，与相应的没有连接至所述组合物的第一部分相比，所述嵌合多肽组装体组合物其在施用于受试者时或之后，表现出至少低25％、或50％、或100％、或200％或至少低300％的分布容量。在一个实施方案中，所述嵌合多肽组装体组合物在施用于对受试者之后，表现出至少约20h、或至少约30h、或至少约32h、或至少约48h、或至少约72h、或至少约96h、或至少约120h、或至少约144h、或至少约7天、或至少约10天、或至少约14天的终末半衰期。另一方面，特别设想的是，由于所设计的主题嵌合多肽组装体优先被与病变组织(诸如但不限于肿瘤)相关的蛋白酶活化，所释放的第一部分的浓度在受试者循环中将很低，从而，与不含有保护性填充部分和释放区段的双特异性组合物相比，这有助于改善安全性和降低副作用的发生率。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体，其中，在将嵌合多肽组合物单次施用于受试者之时或之后，所述释放的第一部分的血浆C_{max}浓度不超过约0.01ng/ml，或约0.03ng/ml，或约0.1ng/ml，或约0.3ng/ml，或约1ng/ml，或约10ng/ml，或约100ng/ml。在另一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体，其中，在将嵌合多肽组合物单次施用于受试者之时或之后，所述释放的第一部分的血浆C_{max}浓度比同一受试者中完整嵌合多肽组装体的血浆水平低至少3倍，或低至少10倍，或低至少30倍，或低至少100倍。在前述的实施方案段落中，受试者是小鼠、大鼠、狗、猴子或人。

[0312] 在另一个实施方案中，与相应的没有连接至所述组合物的第一部分相比，所述嵌合多肽组装体组合物在受试者皮下或肌肉内注射后表现出较慢的吸收，这使得C_{max}至少降低25％、50％、100％、200％或至少300％，这进而导致嵌合多肽组装体组合物的不良作用减少，在总体上导致施用于受试者的缀合组合物所提供或保持的治疗活性的时间段增加。

[0313] 另一方面，特别设想的是，所述主题嵌合多肽组装体的XTEN为所述组合物第一部分的结合域提供了空间位阻和屏蔽作用，这使得完整前药形式的效应细胞结合组分和靶细胞结合组分均与其各自的配体相互作用的能力降低，但是通过蛋白酶切割RS并且释放XTEN并且将该组装体的前药形式转化成活化形式后，所释放的双特异性结合组分的最佳结合能力得以恢复。因此，与通过蛋白酶切割RS而释放的结合域相比，所述完整的嵌合多肽组装体组合物的XTEN抑制了所述结合域与肿瘤特异性标志物或靶细胞抗原的抗原(例如EpCAM或

HER2)和/或效应细胞(例如CD3 T细胞抗原)的结合。相反,与完整的嵌合多肽组装体组合物的结合域相比,通过蛋白酶的作用而从所述组合物释放的第一部分的结合域对它们各自的配体具有更高的结合亲和力。本发明的目的是,与完整的组合物的结合域相比,从所述嵌合多肽组装体组合物释放的第一部分的每一个结合域对其各自的靶配体具有更大的结合亲和力,诸如当在如本文所述的体外结合试验中测定时。在一个实施方案中,相比于完整的嵌合多肽组装体的效应细胞结合域,通过蛋白酶切割RS从所述组合物释放的效应细胞结合域对效应细胞抗原的结合亲和力高出至少2倍、或至少3倍、或至少4倍、或至少5倍、或至少6倍、或至少7倍、或至少8倍、或至少9倍、或至少10倍、或至少20倍,正如体外细胞试验(使用在其细胞的细胞表面上含有效应细胞抗原的效应细胞)中测量的,或在ELISA(使用结合效应细胞抗原)中测量的。在一个实施方案中,所述效应细胞抗原是CD3。在其他一些实施方案中,相比于完整的嵌合多肽组装体组合物的肿瘤细胞结合域,通过蛋白酶切割RS而从组合物释放的肿瘤细胞结合域对肿瘤特异性标志物或靶细胞抗原的结合亲和力高出至少2倍、或至少3倍、或至少4倍、或至少5倍、或至少6倍、或至少7倍、或至少8倍、或至少9倍、或至少10倍、或至少20倍,正如体外细胞试验(使用在其细胞的细胞表面上含有所述抗原的肿瘤细胞)中测量的,或在ELISA(使用结合效应细胞抗原)中测量的。在前述的一个实施方案中,肿瘤特异性标志物或靶细胞的抗原选自:α4整联蛋白、Ang2、B7-H3、B7-H6、CEACAM5、cMET、CTLA4、FOLR1、EpCAM、CCR5、CD19、HER2、HER2 neu、HER3、HER4、HER1(EGFR)、PD-L1、PSMA、CEA、MUC1(粘蛋白)、MUC-2、MUC3、MUC4、MUC5AC、MUC5B、MUC7、MUC16βhCG、Lewis-Y、CD20、CD33、CD38、CD30、CD56(NCAM)、CD133、神经节苷脂GD3、9-O-乙酰基-GD3、GM2、Globo H、岩藻糖基GM1、GD2、碳酸酐酶IX、CD44v6、声猬(Shh)、Wue-1、浆细胞抗原1、黑素瘤硫酸软骨素蛋白聚糖(MCSP)、CCR8、前列腺6-跨膜上皮抗原(STEAP)、间皮素、A33抗原、前列腺干细胞抗原(PSCA)、Ly-6、桥粒芯蛋白4、胎儿乙酰胆碱受体(fnAChR)、CD25、癌抗原19-9(CA19-9)、癌抗原125(CA-125)、II型苗勒抑制物质受体(MISIIR)、唾液酸化Tn抗原(sTN)、成纤维细胞活化抗原(FAP)、内皮唾液酸蛋白(CD248)、表皮生长因子受体变体III(EGFRvIII)、肿瘤相关抗原L6(TAL6)、SAS、CD63、TAG72、Thomsen-Friedenreich抗原(TF-抗原)、胰岛素样生长因子I受体(IGF-IR)、Cora抗原、CD7、CD22、CD70、CD79a、CD79b、G250、MT-MMP、F19抗原、CA19-9、CA-125、甲胎蛋白(AFP)、VEGFR1、VEGFR2、DLK1、SP17、ROR1以及EphA2。在实施方案的段落中,特别设想的是,XTEN的屏蔽作用适用于所述嵌合多肽组装体的完整的、前药形式的前述实施方案的两个结合域,并且在通过切割RS而从嵌合多肽组装体组合物释放XTEN时,各自结合域的全部结合能力得到恢复。

[0314] 本发明的目的是,将填充部分添加至所述组合物中产生完整的嵌合多肽组装体组合物中的屏蔽效应,并且在施用于受试者时伴随的结合T细胞和靶组织的减少导致全面接触期间产生Th1T细胞相关细胞因子或其他促炎症介质的减少,使得相比于不连接至诸如XTEN的结合部分的双特异性结合组合物,所述组合物整体的副作用和安全性特征得到改善。作为细胞免疫的重要组成部分,IL-2、TNF-α和IFN-γ的产生是Th1响应的标志(Romagnani S.T-cell subsets(Th1 versus Th2).Ann Allergy Asthma Immunol.2000.85(1):9-18),特别是在抗CD3刺激的T细胞中(Yoon,S.H.Selective addition of CXCR3+CCR4-CD4+ Th1 cells enhances generation of cytotoxic T cells by dendritic cells in vitro.Exp Mol Med.2009.41(3):161-170),而IL-4、IL-6

和IL-10也是在双特异性抗体组合物的细胞毒性响应中重要的促炎性细胞因子(Zimmerman,Z.等人Unleashing the clinical power of T cells:CD19/CD3 bi-specific T cell engager(BiTE®)antibody composition blinatumomab as a potential therapy.Int.Immunol.(2015)27(1):31-37)。在一些实施方案中,与在体外基于细胞的刺激细胞因子测定中由蛋白酶处理的嵌合多肽组装体组合物的相应的释放的第一部分结合域所刺激的细胞因子水平相比,在体外基于细胞的细胞因子刺激测定中当所述完整的、未经切割的嵌合多肽组装体组合物与效应细胞和靶细胞接触时,其表现出降低了至少2倍、或至少3倍、或至少4倍、或至少5倍、或至少6倍、或至少7倍、或至少8倍、或至少9倍、或至少10倍、或至少20倍、或至少30倍、或至少50倍、或至少100倍、或至少1000倍的产生Th1和/或促炎性细胞因子的可能性(如以下实施例中所述),其中所述细胞因子选自:IL-2、IL-4、IL-6、IL-10,TNF-α和IFN-γ。在前述的一个实施方案中,在体外试验中测定Th1细胞因子的产生,该体外试验包括效应细胞,诸如PBMC或CD3+ T细胞,以及具有选自下组的肿瘤特异性标志物抗原的靶细胞:α4整联蛋白、Ang2、B7-H3、B7-H6、CEACAM5、cMET、CTLA4、FOLR1、EpCAM、CCR5、CD19、HER2、HER2neu、HER3、HER4、HER1(EGFR)、PD-L1、PSMA、CEA、MUC1(粘蛋白)、MUC-2、MUC3、MUC4、MUC5AC、MUC5B、MUC7、MUC16βhCG、Lewis-Y、CD20、CD33、CD38、CD30、CD56(NCAM)、CD133、神经节苷脂GD3、9-O-乙酰基-GD3、GM2、Globo H、岩藻糖基GM1、GD2、碳酸酐酶IX、CD44v6、声猬(Shh)、Wue-1、浆细胞抗原1、黑素瘤硫酸软骨素蛋白聚糖(MCSP)、CCR8、前列腺6-跨膜上皮抗原(STEAP)、间皮素、A33抗原、前列腺干细胞抗原(PSCA)、Ly-6、桥粒芯蛋白4、胎儿乙酰胆碱受体(fnAChR)、CD25、癌抗原19-9(CA19-9)、癌抗原125(CA-125)、II型苗勒抑制物质受体(MISIIR)、唾液酸化Tn抗原(sTN)、成纤维细胞活化抗原(FAP)、内皮唾液酸蛋白(CD248)、表皮生长因子受体变体III(EGFRvIII)、肿瘤相关抗原L6(TAL6)、SAS、CD63、TAG72、Thomsen-Friedenreich抗原(TF-抗原)、胰岛素样生长因子I受体(IGF-IR)、Cora抗原、CD7、CD22、CD70、CD79a、CD79b、G250、MT-MMP、F19抗原、CA19-9、CA-125、甲胎蛋白(AFP)、VEGFR1、VEGFR2、DLK1、SP17、ROR1和EphA2。在前述的另一个实施方案中,细胞因子是IL-2。在前述的另一个实施方案中,细胞因子是TNFα。在前述的另一个实施方案中,所述细胞因子是IFN-γ。在另一个实施方案中,施用于肿瘤患者的完整的、未切割的嵌合多肽组装体组合物,其中患者的肿瘤中具有可以被释放的组装体第一部分的结合域所结合的抗原,相比于施用于该肿瘤相关的患者的由蛋白酶处理的嵌合多肽组装体组合物的相应的释放的结合域所产生的细胞因子水平,该组合物表现出降低了至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少20倍、至少30倍、至少50倍、至少100倍、或至少1000倍的产生Th1和/或促炎细胞因子的可能性。在前文中的实施方案中,所述细胞因子可以在从受试者取出的血液、液体或组织样品中评估。在前文中的实施方案中,受试者可以是小鼠、大鼠、猴子和人。然而,在所述主题嵌合多肽组装体组合物的优点中,已经发现该组合物的细胞裂解性质不需要细胞因子的预刺激;通过第一部分结合域而与靶细胞结合的效应细胞的免疫突触形成足以实现靶细胞中细胞裂解或凋亡。然而,所述促炎细胞因子的产生是评估所述主题嵌合多肽组装体组合物效力或效果的有用标志物;无论是通过体外测定还是通过监测肿瘤患者的治疗。

[0315] 根据以上提到的结合域的实例,如果识别肿瘤细胞标志物抗原的结合位点具有高结合亲和力以高效地捕获待破坏的靶细胞,这是有利的。本发明的嵌合多肽组装体组合物

具有可以多次用于杀死肿瘤细胞的优点，这是因为，在优选的实施方案中，所述靶细胞结合域具有10^{-7}至10^{-10}M范围内的Kd值的亲和力，如在体外结合试验中所测定的。如果双特异性结合域结合靶肿瘤抗原的亲和力过高，则该组合物结合表达肿瘤细胞并保留在该细胞表面，使其不能释放并结合另一细胞。在一个实施方案中，所述嵌合多肽组装体组合物的效应细胞结合域具有10^{-5}和10^{-7}M之间的结合常数，如在体外结合试验中所测定的，其详细实例在以下实施例中描述。在另一个实施方案中，所述主题嵌合多肽组装体组合物的效应细胞结合域具有10^{-5}和10^{-10}M之间的结合常数，如在体外结合试验中所测定的。

[0316] 一方面，所设计的组合物的特征是当所述嵌合多肽组装体的RS在靶细胞的环境中被哺乳动物蛋白酶切割并且从前体药物形式转化为活化形式时，第一部分双特异性结合域和第三部分从所述组合物一经被切割并释放，所述第一部分同时结合携带效应细胞抗原(例如CD3)的T细胞和携带由第一结合域靶向的肿瘤特异性标志物或靶细胞的抗原的肿瘤细胞，因此所述效应细胞被活化。在其中所述组装体通过RS的切割被活化的一些实施方案中，随后效应细胞和靶细胞的同时结合产生至少3倍、或10倍、或30倍、或100倍、或300倍、或1000倍的效应细胞的活化。其中所述活化通过细胞因子、细胞裂解蛋白或靶细胞裂解的产生来评估，上述物质的产生通过体外基于细胞的测定来评估。在另一个实施方案中，携带人CD3抗原的T细胞和携带肿瘤特异性标志物或靶细胞的抗原的肿瘤细胞通过释放的第一部分结合域同时结合以形成免疫突触，其中所述结合导致能够裂解肿瘤细胞的T细胞衍生的效应分子的释放。用于测量效应细胞活化和/或细胞裂解的体外测定的非限制性实例包括：细胞膜完整性测定、混合细胞培养测定、基于FACS的碘化丙锭测定、台盼蓝流入测定、光度酶释放测定、ELISA、放射性51Cr释放测定、荧光铕释放测定、CalceinAM释放测定、光度MTT测定、XTT测定、WST-1测定、阿拉玛蓝测定、放射性3H-Thd掺入测定、测量细胞分裂活性的克隆形成测定、测量线粒体跨膜梯度的荧光罗丹明123测定、通过基于FACS的磷脂酰丝氨酸暴露监测凋亡测定、基于ELISA的TUNEL测试测定、胱天蛋白酶活性测定，以及细胞形态学测定，或本领域已知的用于测定细胞因子、细胞裂解蛋白或细胞裂解的其他测定，或下文实施例的方法。

[0317] 本领域技术人员将会理解，在使用所述主题组合物治疗受试者的上下文中，所述嵌合多肽组装体以前体药物形式存在并且当其通过蛋白酶与细胞环境共同作用而进入特定的细胞环境时转化成更活化的形式。在通过靶组织中蛋白酶的作用从组合物中释放后，对效应细胞抗原具有结合特异性的第二结合域和对肿瘤特异性标志物或靶细胞的抗原具有结合特异性的第一结合域重新获得它们同时结合并将效应细胞一起连接到靶细胞上的完全的能力，形成免疫突触。免疫突触的形成导致效应细胞被活化，各种信号途径开启新的基因转录并通过胞吐作用释放其囊泡的效应分子含量。根据效应细胞的类型，不同的细胞因子和淋巴因子被释放；例如，1型辅助T细胞(Th1)释放细胞因子如IFN-γ和TNF-β，而2型辅助T细胞(Th2)释放细胞因子如IL-4、IL-5、IL-10和刺激B细胞的IL-13，以及细胞毒性T淋巴细胞细胞(CTL)释放细胞毒性分子如穿孔蛋白和杀伤靶(统称“效应分子”)的颗粒酶。特别设想的是，在通过嵌合多肽组装体第一部分的释放的双特异性结合域一经同时结合并将该效应细胞一起连接到靶肿瘤细胞上，在非常低的效应物与靶(E:T)的比率下所述肿瘤细胞受到效应细胞释放到细胞之间的免疫突触中的效应分子的作用，导致了损伤、穿孔蛋白介导的裂解、颗粒酶B诱导的肿瘤细胞的细胞死亡和/或细胞凋亡。因此，在另一方面，所设

计的组合物的特征是，当将所述嵌合多肽组装体施用于肿瘤患者时，所述前药形式保留在正常组织的循环系统中，但其能够渗出到渗透性更高的脉管系统中，使得所述组装体的前药形式被与肿瘤共定位的蛋白酶活化，并且释放的第一部分第二结合域同时结合效应细胞(例如T细胞的CD3抗原)和表达被组合物第一结合域靶向的肿瘤特异性标志物的肿瘤细胞，于是效应细胞被活化并且实现了肿瘤细胞的裂解。在前述的一个实施方案中，受试者肿瘤中释放的第一部分同时结合肿瘤细胞，并且效应细胞表现出比相应的完整的嵌合多肽组装体组合物增加了至少10倍、或至少30倍、或至少100倍、或至少200倍、或至少300倍、或至少400倍、或至少500倍、或至少1000倍的活化效应细胞的能力。在前述的另一个实施方案中，受试者肿瘤中释放的第一部分同时结合肿瘤细胞和效应细胞，并且效应细胞表现出比相应的完整嵌合多肽组装体组合物增加了至少10倍、或至少30倍、或至少100倍、或至少200倍、或至少300倍、或至少400倍、或至少500倍、或至少1000倍的裂解肿瘤细胞的能力。在前述的实施方案中，通过本领域已知的常规方法测定效应细胞活化和/或细胞毒性，诸如活化的效应细胞的细胞计量学测量法、细胞因子测定、肿瘤大小的测量法，或通过组织病理学。在前述的实施方案中，受试者可以是小鼠、大鼠、狗、猴子和人。

[0318] 从前述可以看出，本发明提供了所设计构型的多肽大家族以实现所需的性能；本文提供了其具体的公式。在一个实施方案中，本发明提供了一种嵌合多肽组装体组合物，其具有包含第一结合域和第二结构域的第一部分、包含释放区段的第二部分以及包含填充部分的第三部分。在实施方案中，本发明提供了一种具有式I构型的组合物(从N端至C端描述)：

(第一部分)-(第二部分)-(第三部分) I其中第一部分是包含两个scFv的双特异性的，其中所述第一结合域对肿瘤特异性标志物或靶细胞的抗原具有特异性的结合亲和力，并且第二结合域具有对效应细胞特异性的结合亲和力；第二部分包含能够被哺乳动物蛋白酶切割的释放区段(RS)；并且第三部分是填充部分。在前文中的实施方案中，第一部分结合域可以按(VL-VH)1-(VL-VH)2、或(VL-VH)1-(VH-VL)2、或(VH-VL)1-(VL-VH)2、或(VH-VL)1-(VH-VL)2顺序，其中“1”和“2”分别代表第一和第二结合域，其中所述成对结合域通过如下文所述的多肽连接体连接。在一个实施方案中，第一部分VL和VH选自表1和2；RS选自表4所列的序列；而填充部分选自：XTEN；白蛋白结合域；白蛋白；IgG结合域；由脯氨酸、丝氨酸和丙氨酸组成的多肽；脂肪酸；Fc域；聚乙二醇(PEG)；PLGA；以及羟乙基淀粉。如果需要，所述填充部分是XTEN，其与选自表4所列序列的序列具有至少约90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％的序列同一性。在前述的实施方案中，该组合物是重组融合蛋白。在另一个实施方案中，这些部分通过化学结合连接。式I的组合物构型的示意图在图6中呈现。

[0319] 在另一个实施方案中，本发明提供了一种具有式II构型的组合物(从N端至C端描述)：

(第三部分)-(第二部分)-(第一部分) II其中第一部分是双特异性的，包含两个scFv，其中所述第一结合域对肿瘤特异性标志物或靶细胞的抗原具有特异性的结合亲和力，并且第二结合域具有对效应细胞特异性的结合亲和力；第二部分包含能够被哺乳动物蛋白酶切割的释放区段(RS)；并且第三部分是填充部分。在前文中的实施方案中，第一部分结合域可以按(VL-VH)1-(VL-VH)2、或(VL-VH)1-(VH-VL)2、或(VH-VL)1-(VL-VH)2、或(VH-VL)1-(VH-

VL)2顺序，其中“1”和“2”分别代表第一和第二结合域，其中所述成对结合域通过如下文所述的多肽连接体连接。在一个实施方案中，第一部分VL和VH选自表1和2；RS选自表4所列的序列；而填充部分选自：XTEN；白蛋白结合域；白蛋白；IgG结合域；由脯氨酸、丝氨酸和丙氨酸组成的多肽；脂肪酸；以及Fc域；如果需要，所述填充部分是XTEN，其与选自表5所列序列的序列具有至少约90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％的序列同一性。在前述的实施方案中，该组合物是重组融合蛋白。在另一个实施方案中，这些部分通过化学缀合连接。式I的组合物构型的示意图在图6中呈现。

[0320] 在另一个实施方案中，本发明提供了一种具有式III构型的组合物(从N端至C端描述)：

(第五部分)-(第四部分)-(第一部分)-(第二部分)-(第三部分) III其中第一部分是双特异性的，包含两个scFv，其中所述第一结合域对肿瘤特异性标志物或靶细胞的抗原具有特异性的结合亲和力，并且第二结合域具有对效应细胞特异性的结合亲和力；第二部分包含能够被哺乳动物蛋白酶切割的释放区段(RS)；并且第三部分是填充部分；第四部分包含能够被可以与第二部分相同或不同的哺乳动物蛋白酶切割的释放区段(RS)；而第五部分是填充部分，其可能与第三部分相同或可能不同。在前文中的实施方案中，第一部分结合域可以按(VL-VH)1-(VL-VH)2、或(VL-VH)1-(VH-VL)2、或(VH-VL)1-(VL-VH)2、或(VH-VL)1-(VH-VL)2顺序，其中“1”和“2”分别代表第一和第二结合域，其中所述成对结合域通过如下文所述的多肽连接体连接。在前述的实施方案中，RS选自表4所列序列；在前述的实施方案中，所述填充部分选自：XTEN；白蛋白结合域；白蛋白；IgG结合域；由脯氨酸、丝氨酸和丙氨酸组成的多肽；脂肪酸；以及Fc域；如果需要，所述填充部分是XTEN，其与选自表5所列序列的序列具有至少约90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％的序列同一性。在前述的实施方案中，该组合物是重组融合蛋白。在另一个实施方案中，这些部分通过化学缀合连接。

[0321] 基于其设计和特定组分的主题组合物解决了提供双特异性治疗剂的长期需求，与本领域已知的双特异性抗体组合物相比，该双特异性治疗剂具有改善的治疗指数，具有更多的选择性、更长的半衰期，并且一旦它们被蛋白酶(该蛋白酶被发现与由于疾病不健康的靶组织或组织相联系)切割，则引起较少的毒性和较少的副作用。所述组合物可用于治疗某些疾病，包括但不限于癌症。本领域技术人员将会理解，本发明的组合物通过机制组合实现非特异性相互作用的减少，该机制组合包括通过将结合域定位于庞大的XTEN分子而引起的空间位阻，空间位阻在于长柔性XTEN多肽的柔性、非结构化的特征，通过其被束缚到组合物上，能够振荡并在结合域周围移动，提供了组合物和组织或细胞之间的阻断，以及其与个体结合域的尺寸相比，由于其大分子量而导致完整组合物穿透细胞或组织的能力下降(XTEN的实际分子量和非结构化XTEN的大的流体动力学半径都有助于实现)。然而，所述组合物被设计成使得当其接近携带或分泌能够切割RS的蛋白酶的靶组织或细胞时，或当结合域结合至配体时其内化到靶细胞或组织中，双特异性结合域通过蛋白酶的作用而从XTEN的大部分中释放，消除了空间位阻障碍，并且更自由地发挥它的药理作用。该主题组合物可用于治疗需要将治疗性双特异性抗体组合物选择性递送至细胞、组织或器官的多种病况。在一个实施方案中，所述靶组织是癌症，其可以是白血病、淋巴瘤或器官或系统的肿瘤。

I).药物组合物

[0322] 本发明提供了药物组合物，其包含嵌合多肽组装体组合物。在一个实施方案中，该药物组合物包含所述嵌合多肽组装体以及一种或多种药学上可接受的载体。在另一个实施方案中，该药物组合物包含本文所述描述的任意一个实施方案的嵌合多肽组装体，并且任选地，适当的载体、稳定剂和/或赋形剂的制剂。在另一个实施方案中，该药物组合物包含本文所述的任意实施方案的T细胞结合组合物，以及任选的、适当的载体、稳定剂和/或赋形剂的制剂。适当的赋形剂和可接受的载体包括：缓冲剂如柠檬酸钠、磷酸二钙或磷酸钠；防腐剂；共溶剂；抗氧化剂，包括抗坏血酸和甲硫氨酸；螯合剂如EDTA；金属络合物(例如锌蛋白质复合物)；聚合物，诸如聚酯、聚氧乙烯硬脂酸酯、聚氧乙烯烷基醚，例如聚氧乙烯单月桂醚、烷基苯基聚氧乙烯醚(Triton-X)、聚氧乙烯-聚氧丙烯共聚物以及聚乙二醇；成盐抗衡离子，诸如钠、多元糖醇；氨基酸，诸如丙氨酸、甘氨酸、天冬酰胺、2-苯丙氨酸和苏氨酸；糖或糖醇，诸如海藻糖、蔗糖、八硫酸盐、山梨醇或木糖醇水苏糖、甘露糖、山梨糖、木糖、核糖、肌醇四糖、半乳糖、乳糖醇、核糖醇、肌醇、聚山梨酯、半乳糖醇、甘油(例如肌醇)；含硫还原剂，诸如谷胱甘肽、硫辛酸、巯基乙酸钠、硫代甘油、[α]-单硫代以及硫代硫酸钠；低分子量蛋白质，诸如人血清白蛋白、牛血清白蛋白，明胶；以及亲水聚合物，诸如聚乙烯吡咯烷酮。

[0323] 可根据已知方法配制本发明的药物组合物以制备药学上有用的组合物，由此将多肽与药学上可接受的载体媒介物(诸如水溶液或缓冲液、药学上可接受的悬液和乳液)混合组合。非水溶剂的实例包括丙基乙二醇、聚乙二醇和植物油。通过将具有期望纯度的活性成分与任选的生理上可接受的载体、赋形剂或稳定剂(如Remington's Pharmaceutical Sciences第16版，Osol，A.编著(1980))混合来制备药物组合物的治疗制剂，以便以冻干制剂或水溶液形式储存。此外，所述药物组合物还可以含有其他药物活性化合物或本发明的多种组合物。

[0324] 本发明的组合物可以使用多种赋形剂来配制。适当的赋形剂包括微晶纤维素(例如Avicel PH102、Avicel PH101)、聚甲基丙烯酸酯、聚(丙烯酸乙酯、甲基丙烯酸甲酯、甲基丙烯酸三甲基铵乙酯氯化物)(例如丙烯酸树脂RS-30D)、羟丙基甲基纤维素(Methocel K100M，Premium CR Methocel K100M，Methocel E5，Opadry®)、硬脂酸镁、滑石、柠檬酸三乙酯、乙基纤维素水分散液(Surelease®)和硫酸鱼精蛋白。所述缓释剂还可以包含载体，其可以包含例如溶剂、分散介质、涂层、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂。药学上可接受的盐也可以用于这些缓释剂中，例如无机盐如盐酸盐、氢溴酸盐、磷酸盐或硫酸盐，以及有机酸盐如乙酸盐、丙酸盐、丙二酸盐或苯甲酸盐。该组合物还可以含有液体，例如水、盐水、甘油和乙醇，以及诸如润湿剂、乳化剂或pH缓冲剂的物质。脂质体也可以用作载体。

[0325] 所述药物组合物可以通过任何适当的途径用于治疗，其包括肠胃外(包括皮下、通过输注泵皮下、肌肉内、静脉内、动脉内和皮内)，玻璃体内、鞘内、腹膜内、腹内和肺部。还将会理解，优选的途径将随着接受者的状况和年龄以及所治疗的疾病而变化。

[0326] 在一些实施方案中，包含本文所述实施方案的嵌合多肽组装体的药物组合物在治疗疾病的方法中使用，所述方法包括根据包含一个或多个连续剂量的治疗方案将所述药物组合物以治疗有效剂量施用于患有所述疾病的受试者。治疗方案是规定治疗周期的一部分。在一个实施方案中，该规定治疗周期包括每个治疗周期每周两次、每周一次、每十天一次、每两周一次、每三周一次或每一个月一次施用该药物组合物。在另一个实施方案中，治

疗方案使得受试者中与疾病相关的临床参数或终点得到改善，其中所述临床参数或终点选自以下一种或任意组合：作为完全、部分或不完全响应的肿瘤萎缩；至进展的时间；至治疗失败的时间；生物标志物响应；无进展存活期；无病存活期；循环时间；至转移的时间；总存活时间；生活质量的提高；以及症状改善。在其他一些实施方案中，包括本文所述实施方案的嵌合多肽组装体的药物组合物被制备成用于治疗受试者的疾病的药物。在本段落的前述实施方案中，所述疾病可以是癌、霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、母细胞瘤、乳腺癌、ER/PR+乳腺癌、Her2+乳腺癌、三阴性乳腺癌、结肠癌、具有恶性腹水的结肠癌、粘液性肿瘤、前列腺癌、头颈癌、皮肤癌、黑素瘤、泌尿生殖道癌、卵巢癌、具有恶性腹水的卵巢癌、腹膜癌扩散、子宫浆液性癌、子宫内膜癌、宫颈癌、结直肠癌、子宫癌、腹膜中的间皮瘤、肾癌、维尔姆斯瘤、肺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、胃癌、胃癌、小肠癌、肝癌、肝细胞癌、肝母细胞瘤、脂肪肉瘤、胰腺癌、胆囊癌、胆管癌、食道癌、唾液腺癌、甲状腺癌、上皮癌、男性细胞瘤、腺癌、肉瘤以及B细胞来源的慢性淋巴性白血病。在一个实施方案中，该药物被制备用于通过胃肠外途径施用于受试者(通过动脉内或静脉内途径)。在另一个实施方案中，该药物被制备成用于通过皮下途径施用于受试者。在另一个实施方案中，该药物被制备成用于治疗受试者中的疾病，以便通过皮内途径施用于受试者。如果需要，包括本文所述实施方案的嵌合多肽组装的药物组合物体被制备成用于治疗受试者中的疾病的药物，其中通过腹内或腹膜内途径施用以治疗腹腔中的肿瘤和/或腹水。

[0327] 另一方面，本发明涉及药物组合物的制剂。在一个实施方案中，该药物组合物可以作为冻干粉来提供以在给药之前重建。在一个实施方案中，该药物组合物可以作为冻干粉来提供，以使用生理盐水、D5水、乳酸林格氏液等进行重建以供施用。在另一个实施方案中，该组合物也可以以液体形式提供，其可以直接施用于患者。在一个实施方案中，该药物组合物在预填充注射器中以液体的形式提供，用于单次注射。在一个实施方案中，该药物组合物在小瓶中作为液体提供。在另一个实施方案中，该药物组合物以小瓶中的冻干粉提供。对于该药物组合物实施方案的液体制剂，期望的性质是该制剂以可以穿过针头进行静脉内、肌肉内、关节内或皮下给药的形式提供。在一个实施方案中，该药物组合物为液体形式。在另一个实施方案中，该药物组合物在预先填充的注射器中作为单次注射使用。在一个实施方案中，该药物组合物在盐水缓冲溶液中以至少1μM、或至少10μM、或至少100μM、或至少1mM、或至少2mM、或至少3mM、或至少4mM、或至少5mM、或至少6mM、或至少7mM、或至少8mM、或至少9mM、或至少10mM的浓度配制，其中该溶液可以通过25、26、27、28、29、30、31或32号针，在皮内、皮下、静脉内、动脉内、腹内、腹膜内、鞘内或肌肉内施用。注射泵也可用于递送本发明的药物组合物。此类装置描述于美国专利4,976,696；4,933,185；5,017,378；6,309,370；6,254,573；4,435,173；4,398,908；6,572,585；5,298,022；5,176,502；5,492,534；5,318,540；和4,988,337，这些专利的内容以引用的方式并入本文。本领域技术人员考虑本发明的公开内容和这些其他专利的公开内容，能够生产用于本发明组合物的延长释放的注射器泵。

II).有关嵌合多肽组装体组合物的方法和用途

[0328] 本发明提供了可裂解的嵌合多肽组装体组合物或ProTIA(蛋白酶触发的免疫激活剂)以及包含在医疗环境中特别有用的嵌合多肽组装体的药物组合物；例如在某些癌症、肿

瘤或炎性疾病的预防、治疗和/或改善中特别有用。

[0329] 已经使用多种治疗策略来设计用于治疗癌症患者的方法的嵌合多肽组装体组合物,所述治疗策略包括:通过靶向TcR信号传导调节T细胞应答,特别是使用在临床上广泛用于免疫抑制方案的抗人CD3单克隆抗体的VL和VH部分。所述CD3特异性单克隆OKT3是第一个批准用于人体的单克隆抗体(Sgro,Toxicology 105(1995),23-29)并在临床上广泛用作移植中的免疫抑制剂(Chatenoud L:Immunologic monitoring during OKT3 therapy.Clin Transplant 7:422-430,1993)。此外,所述抗CD3单克隆抗体可诱导部分T细胞信号传导和克隆无反应性(Smith,J.Exp.Med.185(1997),1413-1422)。OKT3最有可能通过阻断在急性排斥中发挥主要作用的所有T细胞的功能来逆转同种异体移植组织排斥。所述OKT3与T细胞膜上的CD3复合物反应并阻断其功能;该CD3复合物与T细胞的抗原识别结构(TCR)相关,这对于信号转导是必需的。这些和其他这样的CD3特异性抗体能够诱导各种T细胞响应,包括细胞因子的产生(Von Wussow,Human γ interferon production by leukocytes induced with monoclonal antibody recognizing T cells.J.Immunol.127:1197-1200(1981))、增殖以及抑制性T细胞诱导。根据所述条件,CD3特异性单克隆抗体可以抑制或诱导细胞毒性(Kimball JA,等人.The OKT3 Antibody Response Study:a multicentre study of human anti-mouse antibody(HAMA)production following OKT3 use in solid organ transplantation.Transplant Immunol.3:212-221(1995)。在癌症中,已经尝试利用细胞毒性T细胞来裂解癌细胞。为了实现靶细胞裂解,细胞毒性T细胞需要直接的细胞间的接触;细胞毒性T细胞上的TCR必须识别并结合靶细胞上的适当抗原。这产生了免疫反应性突触,这继而在细胞毒性T细胞内启动信号级联,导致了T细胞的活化和多种细胞毒性细胞因子和效应分子的产生。穿孔蛋白和颗粒酶是高毒性分子,该高毒性分子储存在位于活化的细胞毒性T细胞中的预先形成的颗粒中。在识别靶细胞后,接合的细胞毒性T细胞的细胞质颗粒向细胞毒性T细胞膜迁移,最终与其融合,并以定向方式将其内容物释放到免疫突触中,以在靶细胞膜内形成孔,破坏肿瘤细胞质膜。所形成的孔隙作为颗粒酶的进入点;颗粒酶是诱导肿瘤细胞凋亡的丝氨酸蛋白酶家族。以上更全面地描述了这些和其他效应分子。本发明设想了使用双特异性组合物的方法,所述双特异性组合物被工程化为靶向一系列恶性细胞,诸如肿瘤以及效应细胞,以便启动靶细胞裂解并通过上述机制实现有益的治疗结果。所述组合物被设计为使得一个结合域结合并接合CD3以活化细胞毒性T细胞,而第二结构域可被设计为靶向具有特定恶性肿瘤特征的多种不同靶细胞抗原;将它们连接在一起用于创建免疫突触。在该设计的特别益处中,细胞毒效应细胞和癌细胞的物理结合消除了对抗原加工、MHCI/β2-微球蛋白以及共刺激分子的需要。重要的肿瘤细胞标志物的实例包括上皮细胞粘附分子(Ep-CAM),一种在多种实体瘤中表达的细胞表面糖蛋白。另一个是实例是HER2/neu,也在几种实体瘤中表达,诸如乳腺癌。表2列出了或者在本文中描述了其他癌细胞标志物和可用于产生本发明嵌合多肽组装体组合物的结合域的代表性VL和VH序列。由于可以设计成本发明组合物抗体的各种实施方案的肿瘤特异性标志物的范围,应理解,所得组合物将具有抵抗包括实体肿瘤和血液肿瘤在内的多种癌症的效用。在一个实施方案中,本发明提供了一种治疗患有肿瘤的受试者的方法。被治疗的肿瘤可以包括由选自下组的细胞引起的肿瘤细胞:基质细胞、成纤维细胞、肌成纤维细胞、神经胶质细胞、上皮细胞、脂肪细胞、淋巴细胞、血管细胞、平滑肌细胞、间充质细胞、乳房组织细胞、前列腺细胞、肾细胞、脑细胞、

结肠细胞、卵巢细胞、子宫细胞、膀胱细胞、皮肤细胞、胃细胞、泌尿生殖道细胞、子宫颈细胞、子宫细胞、小肠细胞、肝细胞、胰腺细胞、胆囊细胞、胆管细胞、食道细胞、唾液腺细胞、肺细胞和甲状腺细胞。在所述组合物的进一步的优点中，由于细胞毒性效应细胞在桥接的靶癌细胞的损伤/破坏期间没有被消耗，所以在引起一个靶细胞的裂解之后，活化的效应细胞可以释放并继续通过局部组织朝向其他靶癌细胞移动，结合靶抗原，并启动额外的细胞裂解。此外，可以设想的是，在如实体瘤那样的局部环境中，效应细胞分子如穿孔蛋白和颗粒酶的释放将导致邻近但不受特定双特异性结合域分子结合的肿瘤细胞的损伤，导致肿瘤的生长或退化停滞。

[0330] 因此，本发明的实用性将被理解为：在将包含本文所述的嵌合多肽组装体的治疗有效剂量的药物组合物施用于患有具有靶细胞标志物的癌症或肿瘤的受试者后，该组合物可以通过与癌症或肿瘤细胞相关的蛋白酶起作用，释放双特异性第一部分结合域，从而可以通过靶细胞和效应细胞的连接产生免疫突触，结果是效应细胞衍生的能够裂解靶细胞的效应分子被释放到突触中，导致靶癌症或肿瘤细胞的凋亡、细胞裂解或死亡。此外，本领域技术人员将会理解，一旦由释放的结合域结合效应细胞和靶癌细胞而形成免疫突触，嵌合多肽组装体组合物的使用可以产生持续且比“单次杀死”更普遍的有益治疗效果。

[0331] 一方面，本发明涉及治疗受试者的疾病如癌症或炎性疾病的方法。在一些实施方案中，本发明提供了一种治疗受试者疾病的方法，其包括向有需要的受试者施用治疗有效量的包含本文所述嵌合多肽组装体的药物组合物。所述药物组合物的治疗有效量可以根据诸如个体的疾病状态、年龄、性别和体重以及抗体或抗体部分在个体中引起期望的反应的能力等因素而变化。治疗有效量也是这样的量：其中主题组合物的任何毒性或有害作用超过治疗有益效果。预防有效量是指达到预期的预防结果所需的时间段内所需的该药物组合物的量。

[0332] 在治疗受试者疾病的方法的一个实施方案中，治疗的疾病可以是：癌、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、B细胞淋巴瘤、T细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、母细胞瘤、乳腺癌、结肠癌、前列腺癌、头颈癌、任意形式的皮肤癌、黑素瘤、泌尿生殖道癌、卵巢癌、具有恶性腹水的卵巢癌、腹膜癌扩散、子宫浆液性癌、子宫内膜癌、宫颈癌、结直肠癌、具有恶性腹水的上皮腹膜内恶性肿瘤、子宫癌、腹膜中的间皮瘤、肾癌、肺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、胃部癌、食道癌、胃癌、小肠癌、肝癌、肝细胞癌、肝母细胞瘤、脂肪肉瘤、胰腺癌、胆囊癌、胆管癌、唾液腺癌、甲状腺癌、上皮癌、腺癌、任何来源的肉瘤、包括急性或慢性淋巴细胞性白血病、急性或慢性骨髓性白血病、骨髓增生性肿瘤疾病或骨髓增生异常疾病在内的原发性血液恶性肿瘤、重症肌无力、格雷夫斯病、桥本甲状腺炎或Goodpasture综合征。治疗有效量可以在帮助癌症或肿瘤方面的治疗(例如治愈或减轻严重程度)或预防(例如减少复发可能性)中产生有益效果。在治疗受试者疾病的方法的另一个实施方案中，该药物组合物作为一个或多个治疗有效剂量每周两次、每周一次、每两周一次、每三周一次或每月一次施用于受试者。在该方法的另一个实施方案中，该药物组合物在至少两周、或至少一个月、或至少两个月、或至少三个月、或至少四个月、或至少五个月、或至少六个月的时间内作为一次或多次剂量施用于受试者。在所述方法的另一个实施方案中，首先向受试者施用较低的起始剂量，随后在至少两周、或至少一个月、或至少两个月、或至少三个月、或至少四个月、或至少五个月、或至少六个月的给药方案中施用一种或多种较高维持剂量。初始起始剂量

选自:至少约0.005mg/kg、至少约0.01mg/kg、至少约0.02mg/kg、至少约0.04mg/kg、至少约0.08mg/kg、至少约0.1mg/kg,而施用的一种或多种后续的维持剂量选自:至少约0.1mg/kg、至少约0.12mg/kg、至少约0.14mg/kg、至少约0.16mg/kg、至少约0.18mg/kg、至少约0.20mg/kg、至少约0.22mg/kg、至少约0.24mg/kg、至少约0.26mg/kg、至少约0.27mg/kg、至少约0.28mg/kg、至少0.3mg/kg、至少0.4.mg/kg、至少约0.5mg/kg、至少约0.6mg/kg、至少约0.7mg/kg、至少约0.8mg/kg、至少约0.9mg/kg、至少约1.0mg/kg、至少约1.5mg/kg或至少约2.0mg/kg。在所述方法的另一个实施方案中,该药物组合物经皮内、皮下、静脉内、动脉内,腹内、腹膜内、鞘内或肌肉内给药。在所述方法的另一个实施方案中,该药物组合物在耐受的条件下为了实现最大安全性和功效作为一个或多个治疗有效团注剂量或通过输注5分钟至96小时施用于受试者。在所述方法的另一个实施方案中,该药物组合物作为一个或多个治疗有效团注剂量或通过输注5分钟至96小时施用于受试者,其中所述剂量选自:至少约0.005mg/kg、至少约0.01mg/kg、至少约0.02mg/kg、至少约0.04mg/kg、至少约0.08mg/kg、至少约0.1mg/kg、至少约0.12mg/kg、至少约0.14mg/kg、至少约0.16mg/kg、至少约0.18mg/kg、至少约0.20mg/kg、至少约0.22mg/kg、至少约0.24mg/kg、至少约0.26mg/kg、至少约0.27mg/kg、至少约0.28mg/kg、至少0.3mg/kg、至少0.4.mg/kg、至少约0.5mg/kg、至少约0.6mg/kg、至少约0.7mg/kg、至少约0.8mg/kg、至少约0.9mg/kg、至少约1.0mg/kg、至少约1.5mg/kg或至少约2.0mg/kg。在所述方法的另一个实施方案中,该药物组合物作为一个或多个治疗有效团注剂量或通过在5分钟至96小时的时间内输注而施用于受试者,其中所述施用于受试者在受试者中产生约0.1ng/mL至至少约2μg/mL或更高的嵌合多肽组合体的血浆浓度,维持至少3天、至少约7天、至少约10天、至少约14天、或至少约21天。在前文所述方法的实施方案中,受试者可以是小鼠、大鼠、猴子和人。

[0333] 特别地,包含嵌合多肽组装体的药物组合物可用于治疗上皮癌,优选腺癌或微小残留疾病,更优选早期实体瘤、晚期实体瘤或转移性实体瘤。此外,包含本发明提供的嵌合多肽组装体的药物组合物可用于治疗肉瘤。此外,包括本发明提供的嵌合多肽组装体的药物组合物可用于治疗淋巴瘤和白血病,其包括:原发性血液恶性肿瘤,包括急性或慢性淋巴细胞性白血病、急性或慢性骨髓性白血病、骨髓增生性肿瘤疾病或骨髓增生异常疾病,B细胞疾病,如B细胞淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、母细胞瘤、B细胞来源的慢性淋巴性白血病(B-CLL),和/或具有B细胞相关的自身免疫性疾病,诸如重症肌无力、格雷夫斯病、桥本甲状腺炎或Goodpasture综合征。此外,包括本发明提供的嵌合多肽组装体的药物组合物用于治疗导致腹水的癌症,其包括:泌尿生殖道癌、卵巢癌、具有恶性腹水的卵巢癌、腹膜癌扩散、子宫浆液性癌、子宫内膜癌、宫颈癌、结直肠癌、子宫癌、腹膜中的间皮瘤、胰腺癌、结肠癌、具有恶性腹水的结肠癌以及胃癌。

[0334] 一方面,本发明提供了一种通过施用包含所述嵌合多肽组装体组合物的药物组合物对癌症或肿瘤实现有益效果的方法。在该方法的一个实施方案中,本发明提供了包含所述嵌合多肽组装体的药物组合物在治疗有需要的受试者的癌症或肿瘤中的用途,所述方法通过施用治疗有效量的该药物组合物,其中所述嵌合多肽组装体组合物的一个结合域源自结合效应细胞CD3抗原的亲本抗体,并且第二结构域源自结合效应细胞靶抗原的亲本抗体,所述效应细胞靶抗原选自:α4整联蛋白、Ang2、B7-H3、B7-H6、CEACAM5、cMET、CTLA4、FOLR1、

EpCAM、CCR5、CD19、HER2、HER2 neu、HER3、HER4、HER1(EGFR)、PD-L1、PSMA、CEA、MUC1(粘蛋白)、MUC-2、MUC3、MUC4、MUC5AC、MUC5B、MUC7、MUC16βhCG、Lewis-Y、CD20、CD33、CD38、CD30、CD56(NCAM)、CD133、神经节苷脂GD3、9-O-乙酰基-GD3、GM2、Globo H、岩藻糖基GM1、GD2、碳酸酐酶IX、CD44v6、声猬(Shh)、Wue-1、浆细胞抗原1、黑素瘤硫酸软骨素蛋白聚糖(MCSP)、CCR8、前列腺6-跨膜上皮抗原(STEAP)、间皮素、A33抗原、前列腺干细胞抗原(PSCA)、Ly-6、桥粒芯蛋白4、胎儿乙酰胆碱受体(fnAChR)、CD25、癌抗原19-9(CA19-9)、癌抗原125(CA-125)、II型苗勒抑制物质受体(MISIIR)、唾液酸化Tn抗原(s TN)、成纤维细胞活化抗原(FAP)、内皮唾液酸蛋白(CD248)、表皮生长因子受体变体III(EGFRvIII)、肿瘤相关抗原L6(TAL6)、SAS、CD63、TAG72、Thomsen-Friedenreich抗原(TF-抗原)、胰岛素样生长因子I受体(IGF-IR)、Cora抗原、CD7、CD22、CD70、CD79a、CD79b、G250、MT-MMP、F19抗原、CA19-9、CA-125、甲胎蛋白(AFP)、VEGFR1、VEGFR2、DLK1、SP17、ROR1以及EphA2。在该方法的一个实施方案中，施用治疗有效量的该药物组合物引致潜在的癌症或肿瘤疾病的根除或改善，使得观察到受试者中的改善，尽管受试者仍可能仍患有潜在的病症。

[0335] 在另一个实施方案中，本发明提供了一种包含所述嵌合多肽组装体的药物组合物在通过施用治疗有效量的该药物组合物治疗受试者中的癌症或肿瘤的方法中的用途，其中所述嵌合多肽组装体组合物的一个结合域源自针对选自表1中所列抗体的效应细胞的亲本抗体，并且所述第二结构域源自结合选自表2所列抗体的靶细胞靶抗原的亲本抗体。在另一个实施方案中，本发明提供了包含所述嵌合多肽组装体的药物组合物在通过施用治疗有效量的该药物组合物治疗受试者中的癌症或肿瘤的方法中的用途，其中所述嵌合多肽组装体组合物的一个结合域包含源自针对选自表1所列序列的效应细胞的亲本抗体的VL和VH序列，并且第二结合域包含源自针对选自表2所列抗体的靶细胞抗原的亲本抗体的成对VL和VH序列。在另一个实施方案中，本发明提供了包含所述嵌合多肽组装体的药物组合物在通过施用治疗有效量的该药物组合物治疗受试者中的癌症或肿瘤的方法中的用途，其中所述嵌合多肽组装体组合物的一个结合域包含源自针对与第二结合域连接的效应细胞的亲本抗体的VL和VH序列，该第二结合结构域包含源自针对靶细胞抗原的亲本抗体的成对VL和VH序列，其中所述被连接的结合域与表13所列的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％的序列同一性的氨基酸序列。在另一个实施方案中，本发明提供了包含所述嵌合多肽组装体的药物组合物在通过施用治疗有效量的该药物组合物治疗受试者中的癌症或肿瘤的方法中的用途，所述嵌合多肽组装体包含与表10或表12所列的氨基酸序列有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％序列同一性的氨基酸序列。在一个实施方案中，该方法的药物组合物剂量作为团注剂量施用。在另一个实施方案中，该方法的药物组合物剂量各自通过静脉内输注施用。在另一个实施方案中，该方法的药物组合物剂量各自通过腹内输注施用。在另一个实施方案中，该方法的该药物组合物剂量各自通过动脉内输注施用。在另一个实施方案中，该方法的药物组合物剂量各自通过皮下注射施用。在另一个实施方案中，该方法的药物组合物剂量各自通过肌肉内注射施用。在另一个实施方案中，该方法的药物组合物剂量各自通过腹内输注施用。在该段落的前述实施方案中，受试者选自小鼠、大鼠、狗、猴子和人。

[0336] 另一方面，本发明涉及根据治疗方案治疗受试者中的癌症或肿瘤的方法。在一个实施方案中，本发明提供了一种治疗受试者中的癌症或肿瘤的方法，该方法包括根据治疗

方案施用于患有该疾病的受试者，所述治疗方案包括一个或多个连续剂量的治疗有效量的包含本文所述嵌合多肽组装体组合物的药物组合物。在一个实施方案中，本发明提供了一种治疗受试者中的癌症或肿瘤的方法，该方法包括根据治疗方案施用于患有该疾病的受试者，所述治疗方案包括一个或多个连续剂量的治疗有效量的包含本文所述嵌合多肽组装体的药物组合物，其中所述给受试者施用治疗有效量的药物组合物实现有益的治疗效果。在另一个实施方案中，本发明提供了一种治疗受试者中的癌症或肿瘤的方法，该方法包括根据治疗方案施用于患有该疾病的受试者，所述治疗方案包括一个或多个连续剂量的治疗有效量的包含本文所述嵌合多肽组装体的药物组合物，其中所述治疗方案引致受试者中与疾病相关的临床参数或终点的改善。在前文中，所述临床参数或终点选自以下一种或任意组合：作为完全、部分或不完全响应的肿瘤萎缩；至进展的时间；至治疗失败的时间；生物标志物响应；无进展存活期；无病存活期；至复发的时间；至转移的时间；总存活时间；提高生活质量；以及症状改善。

[0337] 另一方面，本发明涉及一种使用方法，其中所述治疗方案是特定治疗周期的一部分。在该方法的一个实施方案中，所述治疗方案的特定治疗周期包括每个治疗周期每周两次、每周一次、每十天一次、每两周一次、每三周一次或每一个月一次施用包含嵌合多肽组装体的药物组合物。在该方法的另一个实施方案中，治疗方案用于治疗疾病，其中所述疾病选自：癌、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、B细胞淋巴瘤、T细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、母细胞瘤、乳腺癌、结肠癌、前列腺癌、头颈癌、任意形式的皮肤癌、黑素瘤、泌尿生殖道癌、卵巢癌、具有恶性腹水的卵巢癌、腹膜癌扩散、子宫浆液性癌、子宫内膜癌、宫颈癌、结直肠癌、具有恶性腹水的上皮腹膜内恶性肿瘤、子宫癌、腹膜中的间皮瘤、肾癌、肺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、胃癌、食道癌、胃癌、小肠癌、肝癌、肝细胞癌、肝母细胞瘤、脂肪肉瘤、胰腺癌、胆囊癌、胆管癌、唾液腺癌、甲状腺癌、上皮癌、腺癌、任何来源的肉瘤、包括急性或慢性淋巴细胞性白血病、急性或慢性骨髓性白血病、骨髓增生性肿瘤疾病或骨髓增生异常疾病在内的原发性血液恶性肿瘤、重症肌无力、格雷夫斯病、桥本甲状腺炎或Goodpasture综合征。

[0338] 另一方面，本发明涉及利用嵌合多肽组装体组合物诱导靶细胞如癌细胞死亡的改进的方法，其中所述方法能实现靶细胞或组织的死亡或诱导其凋亡，但所引起的毒性和副作用降低。在本发明方法的特定益处中，所述嵌合多肽组装体组合物的增强的性能允许较低剂量的药物制剂或治疗方法，该方法使用减少的剂量、减少的给药频率和优越的剂量方案，这是由于靶向递送至组织和细胞以及由于增强的药代动力学特性两者的原因，产生优良的治疗指数；即改善疗效、降低毒性。因此，与未连接到RS和填充部分的相应第一部分结合域相比，所述主题组合物可以具有优异的功效和安全性，这是因为所附接的填充部分降低了健康组织的非特异性结合的能力，并防止从健康组织中的循环系统外渗，同时允许在切割RS后增强渗透并结合癌症或肿瘤组织，并释放双特异性第一部分结合域；从而引起前药形式与组合物一旦被切割而释放的第一部分的差异性区室化。在一个实施方案中，本发明提供了一种诱导靶细胞死亡的方法，所述方法包括将本文所述的嵌合多肽组装体与靶细胞和效应细胞接触，其中所述接触在靶细胞中产生的效果选自：膜完整性丧失、固缩、核碎裂、细胞凋亡的内在途径的诱导、凋亡的外在途径的诱导、凋亡、细胞裂解以及细胞死亡。该效果可以在体外基于细胞的试验中测定，该试验包含靶细胞和效应细胞的混合群体，并且

嵌合多肽组装体的有效量具有对靶细胞和效应细胞的抗原的结合亲和力。靶细胞抗原的非限制性实例包括但不限于选自以下的肿瘤特异性标志物抗原:α4整联蛋白、Ang2、B7-H3、B7-H6、CEACAM5、cMET、CTLA4、FOLR1、EpCAM、CCR5、CD19、HER2、HER2 neu、HER3、HER4、HER1(EGFR)、PD-L1、PSMA、CEA、MUC1(粘蛋白)、MUC-2、MUC3、MUC4、MUC5AC、MUC5B、MUC7、MUC16β hCG、Lewis-Y、CD20、CD33、CD38、CD30、CD56(NCAM)、CD133、神经节苷脂GD3、9-O-乙酰基-GD3、GM2、Globo H、岩藻糖基GM1、GD2、碳酸酐酶IX、CD44v6、声猬(Shh)、Wue-1、浆细胞抗原1、黑素瘤硫酸软骨素蛋白聚糖(MCSP)、CCR8、前列腺6-跨膜上皮抗原(STEAP)、间皮素、A33抗原、前列腺干细胞抗原(PSCA)、Ly-6、桥粒芯蛋白4、胎儿乙酰胆碱受体(fnAChR)、CD25、癌抗原19-9(CA19-9)、癌抗原125(CA-125)、II型苗勒抑制物质受体(MISIIR)、唾液酸化Tn抗原(s TN)、成纤维细胞活化抗原(FAP)、内皮唾液酸蛋白(CD248)、表皮生长因子受体变体III(EGFRvIII)、肿瘤相关抗原L6(TAL6)、SAS、CD63、TAG72、Thomsen-Friedenreich抗原(TF-抗原)、胰岛素样生长因子I受体(IGF-IR)、Cora抗原、CD7、CD22、CD70、CD79a、CD79b、G250、MT-MMP、F19抗原、CA19-9、CA-125、甲胎蛋白(AFP)、VEGFR1、VEGFR2、DLK1、SP17、ROR1以及EphA2,并且所述效应细胞是T细胞,其中所述效应细胞抗原是CD3。

[0339] 在其他一些实施方案中,本发明提供了一种诱导患有癌症的受试者中靶细胞死亡的方法,所述癌症包含所述靶细胞的群体。在该方法的一个实施方案中,该方法包括向受试者施用治疗有效量的包含嵌合多肽组装体的药物组合物。在该方法的一个实施方案中,该方法包括作为一个或多个连续施用的治疗有效剂量的药物组合物施用嵌合多肽组装体。在该方法的一个实施方案中,该方法包括确定在患有癌症的受试者中实现治疗效果所需的包含嵌合多肽组装体的药物组合物的量,并且将该量作为一个或多个连续剂量施用于受试者。在前文所述方法中,所述癌症选自:癌、霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、母细胞瘤、乳腺癌、ER/PR+乳腺癌、Her2+乳腺癌、三阴性乳腺癌、结肠癌、具有恶性腹水的结肠癌、粘液性肿瘤、前列腺癌、头颈癌、皮肤癌、黑素瘤、泌尿生殖道癌、卵巢癌、具有恶性腹水的卵巢癌、腹膜癌扩散、子宫浆液性癌、子宫内膜癌、宫颈癌、结直肠癌、子宫癌、腹膜中的间皮瘤、肾癌、维尔姆斯瘤、肺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、胃部癌、胃癌、小肠癌、肝癌、肝细胞癌、肝母细胞瘤、脂肪肉瘤、胰腺癌、胆囊癌、胆管癌、食道癌、唾液腺癌、甲状腺癌、上皮癌、男性细胞瘤、腺癌、肉瘤以及B细胞来源的慢性淋巴性白血病。在该方法的一个实施方案中,该方法包括向受试者施用治疗有效量的包含嵌合多肽组装体的药物组合物,其中所述方法产生临床参数或终点的改善。示例性临床参数或终点可以是:总存活期、症状终点、无病存活期、客观响应率、完全响应、响应的持续时间、无进展存活期、至进展的时间、至治疗失败的时间、肿瘤测量、肿瘤大小、肿瘤响应率、至转移的时间以及生物标志物浓度。在该方法的一个实施方案中,该方法包括向受试者施用治疗有效量的包含嵌合多肽组装体的药物组合物,其中,与以mmol/kg的可比剂量向可比的受试者施用包含第一部分而不包含第二部分和第三部分的组合物相比,所述方法引起频率、持续时间或受试者的诊断相关副作用的严重程度的降低,其中所述副作用选自升高的IL-2血浆水平、升高的TNF-α血浆水平、升高的IFN-γ血浆水平、脓毒症、发热性嗜中性粒细胞减少症、神经毒性、抽搐、脑病、细胞因子释放综合征、言语障碍、平衡障碍、发热、头痛、意识模糊、低血压、嗜中性粒细胞减少、恶心、意识损害、定向障碍以及肝酶增加。

[0340] 在一个实施方案中,所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的包含嵌合

多肽组装体的治疗有效量的药物组合物，这导致由所述双特异性第一部分结合域介导的至少一个参数、终点、生理状况或临床结果的改善。所述方法涉及，通过适合所治疗的疾病、障碍或病症的任何途径来施用所述药物组合物，所述途径包括皮内、皮下、肌肉内、腹内或静脉内。

[0341] 本发明的方法可以包括以足以实现和/或维持所需的参数或临床效果的时间施用连续剂量的治疗有效量的药物组合物，并且这样的连续剂量的治疗有效量建立了所述药物组合物的治疗有效剂量方案；即连续给药剂量的时间表，其中所述剂量以治疗有效量施用以产生对癌症疾病状态或病况的任何临床迹象或症状、方面、测量参数或特征的持续有益效果，所述癌症疾病状态或病况包括但不限于本文所述的那些癌症和肿瘤。

[0342] 对于本发明的方法，优选包含嵌合多肽组装体组合物的长效嵌合多肽组装体或药物组合物，以提高患者便利性，以增加剂量之间的间隔并减少达到持续效果所需的药物的量。在一个实施方案中，治疗方法包括向有需要的受试者施用治疗有效剂量的包含嵌合多肽组装体的药物组合物，与向受试者施用相当剂量的未连接至融合蛋白的相应靶向组分相比，该方法延长了为该药物组合物的靶向组分建立的治疗窗内花费的时间。在一些情况下，与向受试者施用可比的剂量的未连接至融合蛋白的相应靶向组分相比，在治疗窗内花费的时间的增加为至少约3倍，或至少约4倍，或至少约5倍，或至少约6倍，或至少约8倍，或至少约10倍，或至少约20倍，或至少约40倍，或至少约50倍，或至少约100倍。该方法进一步规定施用多个连续剂量的所施用的药物组合物，与未连接至融合蛋白的相应的靶向组分相比，对有需要的受试者使用治疗有效的剂量方案可以导致组合物的血液水平的连续C_{max}峰值和/或C_{min}谷值之间的时间增加。相比于未连接至融合蛋白的相应的靶向组分并使用为该靶向组分建立的相当的剂量施用该靶向组分，前文中的实施方案中在连续的C_{max}峰值和/或C_{min}谷值之间花费的时间的增加为至少约3倍，或至少约4倍，或至少约5倍，或至少约6倍，或至少约8倍，或至少约10倍，或至少约20倍，或至少约40倍，或至少约50倍，或至少约100倍。与未连接至融合蛋白并以相当的单位剂量或剂量方案给予受试者相比，在本段落所述的上文所述的实施方案中，使用较低单位剂量的融合蛋白质摩尔数，施用所述融合蛋白或药物组合物，可以导致至少一个已知可用于评估受试者癌症或肿瘤的参数的改善。

[0343] 在一个实施方案中，包含主题嵌合多肽组装体组合物的药物组合物的施用可促使临床、生物化学或生理学参数之一的改善，这种改善大于通过施用所述组合物的未连接至第二部分和第三部分的第一部分而获得的改善，这经使用相同的测定或基于测量的临床参数或终点来确定。在另一个实施方案中，施用所述药物组合物可以导致两个或更多个临床或代谢相关参数或终点的改善，每一个参数或终点由不同的靶向部分中的一个介导，不同的靶向部分共同导致相比于没有连接至XTEN的靶向部分组分更强的作用，这经使用相同的分析或基于测量的临床参数来确定。在一个实施方案中，将所述药物组合物施用于受试者导致临床参数或终点的改善，其中所述临床参数或终点选自以下一种或任意组合：作为完全、部分或不完全的响应的肿瘤萎缩；至进展的时间；至治疗失败的时间；生物标志物响应；无进展存活期；无病存活期；至复发的时间；总存活时间；提高生活质量；症状改善；以及至转移的时间。在另一个实施方案中，与所述组合物的未连接至第二部分和第三部分的第一部分的活性相比，该药物组合物的施用可以导致一种或多种上述临床参数的改善，其为至少长20％的持续时间、或至少长30％、或至少40％、或至少50％、或至少60％、或至少70％、

或至少80%、或至少90%、或至少100%的持续时间。

[0344] 另一方面，本发明涉及将治疗剂递送至肿瘤细胞的方法。在一个实施方案中，本发明提供了一种将治疗剂递送至包含肿瘤特异性标志物的肿瘤细胞的方法，所述方法包括向所述靶细胞施用本文描述的任何实施方案的嵌合多肽组装体，其中所述治疗剂通过特异性结合肿瘤特异性标志物的第一部分的第一结合域递送至靶细胞。在该方法的一个实施方案中，所述肿瘤特异性标志物选自：α4整联蛋白、Ang2、B7-H3、B7-H6、CEACAM5、cMET、CTLA4、FOLR1、EpCAM、CCR5、CD19、HER2、HER2 neu、HER3、HER4、HER1(EGFR)、PD-L1、PSMA、CEA、MUC1(粘蛋白)、MUC-2、MUC3、MUC4、MUC5AC、MUC5B、MUC7、MUC16βhCG、Lewis-Y、CD20、CD33、CD38、CD30、CD56(NCAM)、CD133、神经节苷脂GD3、9-O-乙酰基-GD3、GM2、Globo H、岩藻糖基GM1、GD2、碳酸酐酶IX、CD44v6、声猬(Shh)、Wue-1、浆细胞抗原1、黑素瘤硫酸软骨素蛋白聚糖(MCSP)、CCR8、前列腺6-跨膜上皮抗原(STEAP)、间皮素、A33抗原、前列腺干细胞抗原(PSCA)、Ly-6、桥粒芯蛋白4、胎儿乙酰胆碱受体(fnAChR)、CD25、癌抗原19-9(CA19-9)、癌抗原125(CA-125)、II型苗勒抑制物质受体(MISIIR)、唾液酸化Tn抗原(sTN)、成纤维细胞活化抗原(FAP)、内皮唾液酸蛋白(CD248)、表皮生长因子受体变体III(EGFRvIII)、肿瘤相关抗原L6(TAL6)、SAS、CD63、TAG72、Thomsen-Friedenreich抗原(TF-抗原)、胰岛素样生长因子I受体(IGF-IR)、Cora抗原、CD7、CD22、CD70、CD79a、CD79b、G250、MT-MMP、F19抗原、CA19-9、CA-125、甲胎蛋白(AFP)、VEGFR1、VEGFR2、DLK1、SP17、ROR1和EphA2。在包括向所述靶细胞递送所述嵌合多肽组装体的将治疗剂递送至肿瘤细胞的方法的一个实施方案中，该嵌合多肽组装体包含的氨基酸序列与选自表12所列序列的多肽序列具有至少90%、或至少91%、或至少92%、或至少93%、或至少94%、或至少95%、或至少96%、或至少97%、或至少98%、或至少99%、或至少100%的序列同一性。在包括向所述靶细胞递送所述嵌合多肽组装体的将治疗剂递送至肿瘤细胞的方法的一个实施方案中，该嵌合多肽组装体包含的氨基酸序列与图36或图37所列的多肽序列具有至少90%、或至少91%、或至少92%、或至少93%、或至少94%、或至少95%、或至少96%、或至少97%、或至少98%、或至少99%、或至少100%的序列同一性。在将治疗剂递送至肿瘤细胞的方法的另一个实施方案中，其中所述肿瘤细胞驻留于受试者的肿瘤中，其中所述受试者选自小鼠、大鼠、猴子、狗和人。

III).本发明的核酸序列

[0345] 另一方面，本发明涉及编码多肽嵌合多肽组装体组合物的分离的多核苷酸序列以及与编码多肽嵌合多肽组装体组合物的多核苷酸分子互补的序列。

[0346] 在一些实施方案中，本发明提供了一种编码本文所述实施方案的嵌合多肽组装体组合物的多核苷酸或多核苷酸序列的互补序列。在其他一些实施方案中，本发明提供了一种编码本文所述任何实施方案的第一部分、或第二部分或第三部分的分离的多核苷酸序列或该多核苷酸序列的互补序列。在一个实施方案中，本发明提供了一种编码嵌合多肽组装体融合蛋白的分离的多核苷酸序列或该多核苷酸序列的互补序列，该分离的多核苷酸序列由与表10或表12所列的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列组成。在一个实施方案中，本发明提供了一种编码嵌合多肽组装体或组合物的分离的多核苷酸序列，其中所述多核苷酸序列与表10或表14所列的多核苷酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的序列同一性。

[0347] 在另一个实施方案中，本发明提供了一种编码T细胞结合组合物的分离的多核苷酸序列或该多核苷酸序列的互补序列，所述分离的多核苷酸序列与表7所列的多核苷酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％的序列同一性。

[0348] 另一方面，本发明涉及产生编码嵌合多肽组装体组合物实施方案的多核苷酸序列或与该多核苷酸序列互补的序列(包括其同源变体)的方法，以及表达由所述多核苷酸序列表达的融合蛋白的方法。一般而言，所述方法包括产生编码蛋白质嵌合多肽组装体组合物组分的多核苷酸序列并表达得到的基因产物，以及组装编码该组分的核苷酸，框内连接这些组分，并且将编码基因引入适合于宿主细胞的表达载体。为生产编码的嵌合多肽组装体的融合多肽，该方法包括用该表达载体转化适合的宿主细胞，并在引起或允许产生的融合蛋白在转化的宿主细胞中表达的条件下培养该宿主细胞，从而产生融合蛋白多肽，其可通过本文所述的方法或通过本领域已知的标准蛋白质纯化方法回收。在前述的一个实施方案中，宿主细胞为原核生物细胞。分子生物学中标准的重组技术可用来制备本发明的多核苷酸和表达载体。

[0349] 根据本发明，使用编码嵌合多肽组装体组合物的核酸序列(或其互补序列)来产生指导在适当的宿主细胞中表达的重组DNA分子。多种克隆策略适合进行本发明，其中许多用来产生包含本发明的组合物的编码基因或其互补体的构建体。在一个实施方案中，该克隆策略用于产生编码组装体构建体的嵌合多肽的基因，其包含编码用于转化宿主细胞(用于表达组合物)的嵌合多肽组装体的核苷酸。在该段落描述的前述实施方案中，所述基因可包含编码本文公开的构型的结合部分、释放区段和填充部分的核苷酸。

[0350] 在一种方法中，首先制备含有对应于嵌合多肽组装体构建体的DNA序列。用于制备这样的构建体的示例性方法描述于实施例中。然后使用构建体来产生适用于转化宿主细胞的表达载体，该宿主细胞诸如用于嵌合多肽组装体构建体的表达和回收的原核宿主细胞。如果需要，所述宿主细胞是大肠杆菌。用于表达载体的产生、宿主细胞的转化以及XTEN的表达和回收的示例性方法描述于实施例中。

[0351] 可以一步或多步制备编码嵌合多肽组装体构建体的基因，其为通过完全合成或者通过与酶促过程组合的合成，如限制酶介导的克隆、PCR和重叠延伸，包括在实施例中更全面描述的方法。例如，可以使用本文公开的方法来将编码各种组分(例如结合域、连接体、释放区段以及XTEN)基因的多核苷酸短序列连接成期望长度和序列。使用标准的基因合成技术，从寡核苷酸组装编码嵌合多肽组装体构建体的基因。可以使用优化密码子和适合于生产嵌合多肽组装体而利用的大肠杆菌宿主细胞的氨基酸组合物的算法进行基因设计。在本发明的一种方法中，如上所述，编码构建体组分的核苷酸文库被创建并被组装。如本文所述，然后将所得基因进行组装，并用所得基因转化宿主细胞并产生和回收嵌合多肽组装体组合物，以用于评价其性质。

[0352] 然后可以将得到的编码嵌合多肽组装体序列的多核苷酸单独克隆到表达载体中。将核酸序列通过多种程序插入载体。一般而言，使用本领域已知的技术将DNA插入适当的限制内切核酸酶位点。载体组分一般包括但不限于信号序列、复制起点、一个或多个标记基因、增强子元件、启动子和转录终止序列中的一个或多个。含有这些组分中的一个或多个的适宜载体的构建采用技术人员已知的标准连接技术。此类技术是本领域熟知的并且详细描

述于科学文献和专利文献中。各种载体是可公开获得的。例如，载体可以是质粒、粘粒、病毒颗粒或噬菌体的形式，它们可以方便地经历重组DNA过程，并且载体的选择将往往依赖于将其引入的宿主细胞。因此，该载体可以是自主复制载体，即，作为染色体外实体存在的载体，其复制不依赖于染色体复制，例如质粒。或者，该载体可以是当引入宿主细胞时整合至宿主细胞基因组中并与其已整合至其中的染色体一起复制的载体。

[0353] 本发明提供了含有复制和控制序列的质粒表达载体的使用，所述复制和控制序列与宿主细胞相容并被宿主细胞识别，并且与编码多肽的基因可操作地连接以用于多肽的控制表达。载体通常带有复制位点以及编码能够在转化的细胞中提供表型选择的蛋白质的序列。对于多种细菌、酵母和病毒，此类载体序列是熟知的。可以使用的有用的表达载体包括例如染色体、非染色体和合成DNA序列的区段。“表达载体”指DNA构建体，其包含与合适的控制序列可操作地连接的DNA序列，所述控制序列能够影响编码多肽的DNA在合适的宿主中的表达。要求是这些载体在选择的宿主细胞中可复制并且可存活。可以根据需要使用低拷贝数或高拷贝数的载体。

[0354] 合适的载体包括但不限于SV40和pcDNA的衍生物以及已知的细菌质粒例如colEI、pCR1、pBR322、pMal-C2、pET、pGEX(描述于Smith等,Gene 57:31-40(1988))、pMB9及其衍生物、质粒例如RP4、噬菌体DNA例如噬菌体I的许多衍生物例如NM989，以及其他噬菌体DNA例如M13和丝状单链噬菌体DNA；酵母噬菌体例如2μm质粒或2μm质粒的衍生物，以及着丝粒和整合型酵母穿梭载体；用于真核细胞的载体，例如用于昆虫和哺乳动物细胞的载体；由质粒和噬菌体DNA组合产生的载体，例如经修饰具有噬菌体DNA或表达控制序列的质粒；等等。还可在本发明中使用的酵母表达系统包括但不限于非融合pYES2载体(Invitrogen)，融合pYESHisA,B,C(Invitrogen)、pRS载体等。载体的控制序列包括实现转录的启动子、控制这种转录的任选的操纵基因序列、编码合适的mRNA核糖体结合位点的序列和控制转录和翻译终止的序列。启动子可以是任何DNA序列，其在所选的宿主细胞中展示出转录活性，并且可来源于编码与宿主细胞同源或异源的蛋白质的基因。适合用于原核宿主表达载体的启动子包括β-内酰胺酶和乳糖启动子系统[Chang等,Nature,275:615(1978);Goeddel等,Nature,281:544(1979)]，碱性磷酸酶、色氨酸(trp)启动子系统[Goeddel,Nucleic Acid Res.,8:4057(1980);EP 36,776]，和杂合启动子，例如tac启动子[deBoer等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,80:21-25(1983)]，它们都与编码CFXTEN多肽的DNA可操作地连接。用于细菌系统的启动子还可以含有与编码嵌合多肽组装体多肽的DNA可操作地连接的Shine-Dalgarno(S.D.)序列。

IV).制备本发明的组合物的方法

[0355] 另一方面，本发明涉及使用大肠杆菌宿主细胞以功能性蛋白质的高发酵表达水平制备嵌合多肽组装体组合物的方法，以及提供编码用于以高表达水平产生细胞毒活性多肽构建体组合物的方法中的构建体的表达载体。

[0356] 在一个实施方案中，所述方法包括以下步骤：1)制备编码本文公开的任意实施方案的嵌合多肽组装体融合多肽的多核苷酸，2)将该多核苷酸克隆到表达载体中，该表达载体可以是在适当的转录和翻译序列控制下的质粒或其他载体，用于生物系统中的高水平蛋白质表达，3)用该表达载体转化适当的大肠杆菌宿主细胞，以及4)在适合所述嵌合多肽组装体组合物的表达的条件下，在常规营养培养基中培养该宿主细胞。如果需要，所述大肠杆

菌宿主细胞是BL21 Gold。通过这种方法，嵌合多肽组装体融合蛋白的表达导致作为宿主细胞粗表达产物的组分的经表达的融合蛋白的发酵滴度为至少0.1g/L，或至少0.2g/L，或至少0.3g/L，，或至少0.5g/L，或至少0.6g/L，或至少0.7g/L，或至少0.8g/L，或至少0.9g/L，或至少1g/L，并且其中表达的融合蛋白的第一和第二结合域的至少70％、或至少80％、或至少90％、或至少95％、或至少97％、或至少99％正确地折叠。如这里所使用的，术语“正确折叠”意指结合域蛋白具有特异性结合其靶配体的能力。在另一个实施方案中，本发明提供了一种产生嵌合多肽组装体组合物的方法，该方法包括：在发酵反应中培养包含编码包含嵌合多肽组装体组合物的多肽的载体的宿主细胞，条件是当发酵反应在600nm的波长处达到至少130的光密度时，在所述多肽的高于约10毫克/克干重宿主细胞(mg/g)、或至少约250mg/g、或约300mg/g、或约350mg/g、或约400mg/g、或约450mg/g、或约500mg/g的一定浓度下有效表达多肽产物，其中所述表达的融合蛋白的第一和第二结合域正确地折叠。在另一个实施方案中，本发明提供了一种生产嵌合多肽组装体组合物的方法，该方法包括：在发酵反应中培养包含编码包含嵌合多肽组装体组合物的多肽的载体的宿主细胞，条件是当发酵反应在600nm的波长处达到至少130的光密度时，在所述多肽的高于约10mg/g干重宿主细胞(mg/g)、或至少约250mg/g、或约300mg/g、或约350mg/g、或约400mg/g、或约450mg/g、或约500mg/g的一定浓度下有效表达多肽产物，其中所述表达的多肽产物是可溶的。

[0357] 以下为本发明的组合物、方法和治疗方案的实施例。应当理解，考虑到以上提供的一般描述，可实施多个其他的实施方案。

实施例

[0358] 实施例1：具有抗EpCAM抗CD3-XTEN以及释放区段和XTEN的ProTIA构建体的构建

[0359] 在Genescript上合成编码抗EpCAM/抗CD3串联scFv后连接多特异性释放区段序列(BSRS-1，氨基酸序列LSGRSDNHSPLGLAGS)的基因，其引入了与pBR322-XTEN864目标载体中的NdeI和BsaI位点相容的NdeI和BsaI限制性位点。使用T4DNA连接酶将含有抗EpCAM/抗CD3串联scFv和BSRS-1的限制消化基因片段连接至pBR322-XTEN864载体中，并转化到BL21 Gold细胞(New England Biolabs)。利用DNA筛选转化体并通过DNA测序确认所需的构建体。最终载体编码处于PhoA启动子和STII分泌前导序列的控制下的ProTIA分子，该分子具有以下组分(在N端至C端)：抗EpCAM-抗CD3双特异性串联scFv以及融合于XTEN_864基因的作为释放区段的BSRS-1。所得到的构建体是AC1278，其DNA序列和经编码的氨基酸序列见表10。

[0360] 另一个具有释放区段的抗EpCAM抗CD3-XTEN(被指定为AC1476，其DNA序列和经编码的氨基酸序列同样见表1)被以类似的方式构建至基础载体pYS0044-XTEN864-H6基础载体中。

[0361] 下划线的序列表示信号肽，其在分泌期间被切割并且在最终成熟蛋白质中不存在。

表10：AC1278和具有释放区段的AC1476抗EpCAM-抗CD3-XTEN的DNA和氨基酸序列

构建体名称	DNA 序列	氨基酸序列*
	ATGAAGAAAAACATCGCTTTTCTTCTTGCATCTATG	MKKNIAFLLASMF
	TTCGTTTTTTCTATTGCTACAAACGCGTACGCTCATC	VFSIATNAYAHHH
	ACCACCATCATCACCATCACGAACTGGTTATGACCC	HHHHHELVMTQS
	AAAGCCCGAGCAGCCTGACCGTTACCGCGGGCGAA	PSSLTVTAGEKVT
	AAGGTTACCATGAGCTGCAAAAGCAGCCAAAGCCT	MSCKSSQSLLNSG
	GCTGAACAGCGGCAACCAAAAGAACTACCTGACCT	NQKNYLTWYQQK
	GGTACCAACAGAAGCCGGGTCAGCCGCCGAAACTG	PGQPPKLLIYWAS
	CTGATCTACTGGGCGAGCACCCGTGAGAGCGGCGT	TRESGVPDRFTGS
	TCCGGACCGTTTTACCGGCAGCGGCAGCGGTACCG	GSGTDFTLTISSVQ
	ACTTTACCCTGACCATTAGCAGCGTGCAGGCGGAA	AEDLAVYYCQND
	GATCTGGCGGTGTACTATTGCCAAAACGACTACAG	YSYPLTFGAGTKL
	CTACCCGCTGACCTTTGGTGCGGGCACCAAACTGGA	EIKGGGGSGGGGS
	GATCAAGGGTGGCGGTGGCAGCGGCGGTGGTGGCA	GGGGSEVQLLEQS
	GCGGCGGCGGTGGCAGCGAGGTTCAGCTGCTGGAA	GAELVRPGTSVKIS
	CAGAGCGGCGCGGAGCTGGTGCGTCCGGGTACCAG	CKASGYAFTNYW
	CGTTAAGATCAGCTGCAAGGCGAGCGGTTATGCGT	LGWVKQRPGHGL
	TCACCAACTACTGGCTGGGTTGGGTGAAGCAACGT	EWIGDIFPGSGNIH
	CCGGGTCACGGTCTGGAGTGGATCGGCGACATTTTC	YNEKFKGKATLTA
	CCGGGCAGCGGTAACATCCACTACAACGAGAAATT	DKSSSTAYMQLSS
	CAAGGGTAAAGCGACCCTGACCGCGGATAAAAGCA	LTFEDSAVYFCAR
	GCAGCACCGCGTATATGCAGCTGAGCAGCCTGACC	LRNWDEPMDYWG
	TTCGAAGATAGCGCGGTTTACTTCTGCGCGCGTCTG	QGTTVTVSSGGGG
AC1278	CGTAACTGGGATGAACCGATGGATTACTGGGGTCA	SDVQLVQSGAEVK
	GGGCACCACCGTGACCGTTAGCAGCGGTGGTGGCG	KPGASVKVSCKAS
	GCAGCGATGTTCAGCTGGTGCAAAGCGGTGCGGAA	GYTFTRYTMHWV
	GTGAAAAAGCCGGGTGCGAGCGTGAAAGTTAGCTG	RQAPGQGLEWIGY
	CAAAGCGAGCGGCTATACCTTCACCCGTTACACCAT	INPSRGYTNYADS
	GCACTGGGTTCGTCAGGCGCCGGGTCAGGGCCTGG	VKGRFTITTDKSTS
	AATGGATCGGCTACATCAACCCGAGCCGTGGCTAT	TAYMELSSLRSED
	ACCAACTACGCGGATAGCGTGAAAGGTCGTTTCAC	TATYYCARYYDD
	CATTACCACCGACAAAAGCACCAGCACCGCGTACA	HYCLDYWGQGTT
	TGGAACTGAGCAGCCTGCGTAGCGAGGATACCGCG	VTVSSGEGTSTGS
	ACCTACTATTGCGCGCGTTACTATGATGACCACTAC	GGSGGSGGADDIV
	TGCCTGGACTATTGGGGCCAAGGTACCACCGTTACC	LTQSPATLSLSPGE
	GTGAGCAGCGGTGAAGGCACCAGCACCGGCAGCGG	RATLSCRASQSVS
	TGGTAGCGGTGGTAGCGGCGGTGCGGATGACATCG	YMNWYQQKPGK
	TTCTGACCCAAAGCCCGGCGACCCTGAGCCTGAGC	APKRWIYDTSKVA
	CCGGGCGAGCGTGCGACCCTGAGCTGCCGTGCGAG	SGVPARFSGSGSG
	CCAGAGCGTTAGCTACATGAACTGGTACCAGCAAA	TDYSLTINSLEAED
	AGCCGGGCAAAGCGCCGAAGCGTTGGATTTATGAT	AATYYCQQWSSN
	ACCAGCAAGGTTGCGAGCGGTGTTCCGGCGCGTTTC	PLTFGGGTKVEIK
	AGCGGTAGCGGTAGCGGCACCGATTATAGCCTGAC	GTAEAASASGLSG
	CATTAACAGCCTGGAGGCGGAAGATGCGGCGACCT	RSDNHSPLGLAGS
	ACTACTGCCAACAATGGAGCAGCAATCCGCTGACC	PGSPAGSPTSTEEG
	TTCGGTGGTGGTACCAAAGTTGAAATTAAGGGCAC	TSESATPESGPGTS

构建体名称	DNA 序列	氨基酸序列*
	CGCCGAAGCAGCTAGCGCCTCTGGCCTGTCAGGTC	TEPSEGSAPGSPAG
	GTTCTGATAACCATTCCCCACTGGGTCTGGCTGGGT	SPTSTEEGTSTEPS
	CTCCAGGTAGCCCAGCTGGTAGCCCAACCTCTACCG	EGSAPGTSTEPSEG
	AAGAAGGTACCTCTGAATCCGCTACTCCAGAATCC	SAPGTSESATPESG
	GGTCCTGGTACTAGCACTGAGCCAAGCGAAGGTTC	PGSEPATSGSETPG
	TGCTCCAGGCTCCCCGGCAGGTAGCCCTACCTCTAC	SEPATSGSETPGSP
	CGAAGAGGGCACTAGCACCGAACCATCTGAGGGTT	AGSPTSTEEGTSES
	CCGCTCCTGGCACCTCCACTGAACCGTCCGAAGGCA	ATPESGPGTSTEPS
	GTGCTCCGGGTACTTCCGAAAGCGCAACTCCGGAA	EGSAPGTSTEPSEG
	TCCGGCCCTGGTTCTGAGCCTGCTACTTCCGGCTCT	SAPGSPAGSPTSTE
	GAAACTCCAGGTAGCGAGCCAGCGACTTCTGGTTCT	EGTSTEPSEGSAPG
	GAAACTCCAGGTTCACCGGCGGGTAGCCCGACGAG	TSTEPSEGSAPGTS
	CACGGAGGAAGGTACCTCTGAGTCGGCCACTCCTG	ESATPESGPGTSTE
	AGTCCGGTCCGGGCACGAGCACCGAGCCGAGCGAG	PSEGSAPGTSESAT
	GGTTCAGCCCCGGGTACCAGCACGGAGCCGTCCGA	PESGPGSEPATSGS
	GGGTAGCGCACCGGGTTCTCCGGCGGGCTCCCCTAC	ETPGTSTEPSEGSA
	GTCTACGGAAGAGGGTACGTCCACTGAACCTAGCG	PGTSTEPSEGSAPG
	AGGGCAGCGCGCCAGGCACCAGCACTGAACCGAGC	TSESATPESGPGTS
	GAAGGCAGCGCACCTGGCACTAGCGAGTCTGCGAC	ESATPESGPGSPAG
	TCCGGAGAGCGGTCCGGGTACGAGCACGGAACCAA	SPTSTEEGTSESAT
	GCGAAGGCAGCGCCCCAGGTACCTCTGAATCTGCT	PESGPGSEPATSGS
	ACCCCAGAATCTGGCCCGGGTTCCGAGCCAGCTAC	ETPGTSESATPESG
	CTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCCACTGAACC	PGTSTEPSEGSAPG
	AAGCGAAGGTAGCGCTCCTGGCACTTCTACTGAAC	TSTEPSEGSAPGTS
	CATCCGAAGGTTCCGCTCCTGGTACGTCTGAAAGCG	TEPSEGSAPGTSTE
	CTACCCCTGAAAGCGGCCCAGGCACCTCTGAAAGC	PSEGSAPGTSTEPS
	GCTACTCCTGAGAGCGGTCCAGGCTCTCCAGCAGGT	EGSAPGTSTEPSEG
	TCTCCAACCTCCACTGAAGAAGGCACCTCTGAGTCT	SAPGSPAGSPTSTE
	GCTACCCCTGAATCTGGTCCTGGCTCCGAACCTGCT	EGTSTEPSEGSAPG
	ACCTCTGGTTCCGAAACTCCAGGTACCTCGGAATCT	TSESATPESGPGSE
	GCGACTCCGGAATCTGGCCCGGGCACGAGCACGGA	PATSGSETPGTSES
	GCCGTCTGAGGGTAGCGCACCAGGTACCAGCACTG	ATPESGPGSEPATS
	AGCCTTCTGAGGGCTCTGCACCGGGTACCTCCACGG	GSETPGTSESATPE
	AACCTTCGGAAGGTTCTGCGCCGGGTACCTCCACTG	SGPGTSTEPSEGSA
	AGCCATCCGAGGGTTCAGCACCAGGTACTAGCACG	PGTSESATPESGPG
	GAACCGTCCGAGGGCTCTGCACCAGGTACGAGCAC	SPAGSPTSTEEGSP
	CGAACCGTCGGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCAG	AGSPTSTEEGSPAG
	CGGGCTCTCCGACAAGCACCGAAGAAGGCACCAGC	SPTSTEEGTSESAT
	ACCGAGCCGTCCGAAGGTTCCGCACCAGGTACAAG	PESGPGTSTEPSEG
	CGAGAGCGCGACTCCTGAATCTGGTCCGGGTAGCG	SAPGTSESATPESG
	AGCCTGCAACCAGCGGTTCTGAGACGCCGGGCACT	PGSEPATSGSETPG
	TCCGAATCTGCGACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTTCA	TSESATPESGPGSE
	GAGCCGGCGACGAGCGGTTCGGAAACGCCGGGTAC	PATSGSETPGTSES
	GTCTGAATCAGCCACGCCGGAGTCTGGTCCGGGTA	ATPESGPGTSTEPS
	CCTCGACCGAACCAAGCGAAGGTTCGGCACCGGGT	EGSAPGSPAGSPTS
	ACTAGCGAGAGCGCAACCCCTGAAAGCGGTCCGGG	TEEGTSESATPESG
	CAGCCCGGCAGGTTCTCCAACCAGCACCGAAGAAG	PGSEPATSGSETPG
	GTTCCCCTGCTGGTAGCCCGACCTCTACGGAGGAAG	TSESATPESGPGSP
	GTAGCCCTGCAGGTTCCCCAACTTCTACTGAGGAAG	AGSPTSTEEGSPAG

构建体名称	DNA 序列	氨基酸序列*
	GTACTTCTGAGTCCGCTACCCCAGAAAGCGGTCCTG GTACCTCCACTGAACCGTCTGAAGGCTCTGCACCAG GCACTTCTGAGTCTGCTACTCCAGAAAGCGGCCCAG GTTCTGAACCAGCAACTTCTGGCTCTGAGACTCCAG GCACTTCTGAGTCCGCAACGCCTGAATCCGGTCCTG GTTCTGAACCAGCTACTTCCGGCAGCGAAACCCCA GGTACCTCTGAGTCTGCGACTCCAGAGTCTGGTCCT GGTACTTCCACTGAGCCTAGCGAGGGTTCCGCACCA GGTTCTCCGGCTGGTAGCCCGACCAGCACGGAGGA GGGTACGTCTGAATCTGCAACGCCGGAATCGGGCC CAGGTTCGGAGCCTGCAACGTCTGGCAGCGAAACC CCGGGTACCTCCGAATCTGCTACACCGGAAAGCGG TCCTGGCAGCCCTGCTGGTTCTCCAACCTCTACCGA GGAGGGTTCACCGGCAGGTAGCCCGACTAGCACTG AAGAAGGTACTAGCACGGAGCCGAGCGAGGGTAGT GCTCCGGGTACGAGCGAGAGCGCAACGCCAGAGAG CGGTCCAGGCACCAGCGAATCGGCCACCCCTGAGA GCGGCCCAGGTACTTCTGAGAGCGCCACTCCTGAAT CCGGCCCTGGTAGCGAGCCGGCAACCTCCGGCTCA GAAACTCCTGGTTCGGAACCAGCGACCAGCGGTTC TGAAACTCCGGGTAGCCCGGCAGGCAGCCCAACGA GCACCGAAGAGGGTACCAGCACGGAACCGAGCGA GGGTTCTGCCCCGGGTACTTCCACCGAACCATCGGA GGGCTCTGCACCTGGTAGCGAACCTGCGACGTCTG GTTCTGAAACGCCGGGTACCAGCGAAAGCGCTACC CCAGAATCCGGTCCGGGCACTAGCACCGAGCCATC GGAGGGCTCCGCACCAGGT	SPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSESATPE SGPGTSESATPESG PGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGSE PATSGSETPGSPAG SPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEG SAPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPG
AC1476	ATGAAGAAAAACATCGCTTTTCTTCTTGCATCTATG TTCGTTTTTTCTATTGCTACAAACGCGTACGCTGAT ATTCAGATGACCCAATCGCCGTCGTCCCTGTCAGCT TCAGTCGGTGATCGTGTTACCATTACCTGTCGCTCA ACGAAATCCCTGCTGCATTCAAACGGTATTACCTAT CTGTACTGGTATCAGCAAAAACCGGGCAAAGCGCC GAAACTGCTGATCTACCAGATGTCGAATCTGGCCA GCGGTGTTCCGTCTCGTTTTAGCTCTAGTGGTTCTG GCACCGATTTCACCCTGACGATTTCCTCACTGCAAC CGGAAGACTTTGCAACGTATTACTGCGCTCAGAACC TGGAAATCCCGCGTACCTTCGGTCAAGGCACGAAA GTCGAAATTAAAGGTGCAACGCCTCCGGAGACTGG TGCTGAAACTGAGTCCCCGGGCGAGACGACCGGTG GCTCTGCTGAATCCGAACCACCGGGCGAAGGCCAA GTGCAACTGGTTCAGAGCGGTCCGGGTCTGGTCCA ACCGGGTGGCAGTGTGCGTATTTCCTGCGCGGCCTC AGGTTACACCTTTACGAACTATGGCATGAATTGGGT GAAACAGGCCCCGGGTAAAGGCCTGGAATGGATGG GTTGGATCAACACCTACACGGGCGAATCTACCTATG CAGATAGTTTCAAAGGCCGCTTTACCTTCAGCCTGG ACACGTCTGCTAGTGCAGCTTATCTGCAGATTAATA GCCTGCGTGCGGAAGATACGGCCGTTTATTACTGTG	MKKNIAFLLASMF VFSIATNAYADIQ MTQSPSSLSASVG DRVTITCRSTKSLL HSNGITYLYWYQQ KPGKAPKLLIYQM SNLASGVPSRFSSS GSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCAQNL EIPRTFGQGTKVEI KGATPPETGAETE SPGETTGGSAESEP PGEGQVQLVQSGP GLVQPGGSVRISC AASGYTFTNYGM NWVKQAPGKGLE WMGWINTYTGES TYADSFKGRFTFS LDTSASAAYLQIN SLRAEDTAVYYCA RFAIKGDYWGQG TLLTVSSGGGGSDI

构建体名称	DNA 序列	氨基酸序列*
	CGCGCTTTGCAATCAAAGGCGACTACTGGGGCCAA	QMTQSPSSLSASV
	GGCACCCTGCTGACCGTGTCCTCCGGTGGTGGCGGC	GDRVTITCRASQDI
	AGCGACATCCAAATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCT	RNYLNWYQQKPG
	GAGCGCGAGCGTGGGCGACCGTGTTACCATCACCT	KAPKLLIYYTSRLE
	GCCGTGCGAGCCAAGACATCCGTAACTACCTGAAC	SGVPSRFSGSGSGT
	TGGTATCAGCAAAAGCCGGGTAAAGCGCCGAAGCT	DYTLTISSLQPEDF
	GCTGATCTACTATACCAGCCGTCTGGAGAGCGGCGT	ATYYCQQGNTLP
	GCCGAGCCGTTTCAGCGGTAGCGGTAGCGGTACCG	WTFGQGTKVEIKG
	ACTACACCCTGACCATTAGCAGCCTGCAGCCGGAA	ATPPETGAETESPG
	GATTTCGCGACCTACTATTGCCAGCAGGGTAACACC	ETTGGSAESEPPGE
	CTGCCGTGGACCTTTGGTCAAGGCACCAAAGTTGA	GEVQLVESGGGLV
	GATTAAAGGCGCCACGCCTCCGGAAACTGGTGCTG	QPGGSLRLSCAAS
	AGACGGAATCCCCTGGTGAAACCACTGGCGGTTCT	GYSFTGYTMNWV
	GCCGAATCTGAACCGCCTGGTGAAGGCGAGGTGCA	RQAPGKGLEWVA
	GCTGGTTGAAAGCGGTGGCGGTCTGGTGCAACCAG	LINPYKGVSTYNQ
	GCGGTAGCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCGAGCGGT	KFKDRFTISVDKS
	TACAGCTTTACCGGTTATACCATGAACTGGGTTCGT	KNTAYLQMNSLR
	CAAGCGCCAGGTAAAGGTCTGGAGTGGGTGGCGCT	AEDTAVYYCARS
	GATCAACCCGTACAAGGGTGTTAGCACCTATAACC	GYYGDSDWYFDV
	AGAAGTTCAAAGACCGTTTTACCATTAGCGTGGATA	WGQGTLVTVSSGT
	AGAGCAAAAACACCGCGTACCTGCAAATGAACAGC	AEAASASGLSGRS
	CTGCGTGCGGAGGACACCGCTGTGTACTATTGCGCG	DNHSPLGLAGSPG
	CGTAGCGGTTACTATGGCGACAGCGACTGGTATTTT	SPAGSPTSTEEGTS
	GATGTGTGGGGCCAAGGCACCCTGGTTACCGTGAG	ESATPESGPGTSTE
	CTCCGGCACCGCCGAAGCAGCTAGCGCCTCTGGCCT	PSEGSAPGSPAGSP
	GTCAGGTCGTTCTGATAACCATTCCCCACTGGGTCT	TSTEEGTSTEPSEG
	GGCTGGGTCTCCAGGTAGCCCAGCTGGTAGCCCAA	SAPGTSTEPSEGSA
	CCTCTACCGAAGAAGGTACCTCTGAATCCGCTACTC	PGTSESATPESGPG
	CAGAATCCGGTCCTGGTACTAGCACTGAGCCAAGC	SEPATSGSETPGSE
	GAAGGTTCTGCTCCAGGCTCCCCGGCAGGTAGCCCT	PATSGSETPGSPAG
	ACCTCTACCGAAGAGGGCACTAGCACCGAACCATC	SPTSTEEGTSESAT
	TGAGGGTTCCGCTCCTGGCACCTCCACTGAACCGTC	PESGPGTSTEPSEG
	CGAAGGCAGTGCTCCGGGTACTTCCGAAAGCGCAA	SAPGTSTEPSEGSA
	CTCCGGAATCCGGCCCTGGTTCTGAGCCTGCTACTT	PGSPAGSPTSTEEG
	CCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAGCCAGCGACT	TSTEPSEGSAPGTS
	TCTGGTTCTGAAACTCCAGGTTCACCGGCGGGTAGC	TEPSEGSAPGTSES
	CCGACGAGCACGGAGGAAGGTACCTCTGAGTCGGC	ATPESGPGTSTEPS
	CACTCCTGAGTCCGGTCCGGGCACGAGCACCGAGC	EGSAPGTSESATPE
	CGAGCGAGGGTTCAGCCCCGGGTACCAGCACGGAG	SGPGSEPATSGSET
	CCGTCCGAGGGTAGCGCACCGGGTTCTCCGGCGGG	PGTSTEPSEGSAPG
	CTCCCCTACGTCTACGGAAGAGGGTACGTCCACTGA	TSTEPSEGSAPGTS
	ACCTAGCGAGGGCAGCGCGCCAGGCACCAGCACTG	ESATPESGPGTSES
	AACCGAGCGAAGGCAGCGCACCTGGCACTAGCGAG	ATPESGPGSPAGSP
	TCTGCGACTCCGGAGAGCGGTCCGGGTACGAGCAC	TSTEEGTSESATPE
	GGAACCAAGCGAAGGCAGCGCCCCAGGTACCTCTG	SGPGSEPATSGSET
	AATCTGCTACCCCAGAATCTGGCCCGGGTTCCGAGC	PGTSESATPESGPG
	CAGCTACCTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCCA	TSTEPSEGSAPGTS
	CTGAACCAAGCGAAGGTAGCGCTCCTGGCACTTCT	TEPSEGSAPGTSTE
	ACTGAACCATCCGAAGGTTCCGCTCCTGGTACGTCT	PSEGSAPGTSTEPS

构建体名称	DNA 序列	氨基酸序列*
	GAAAGCGCTACCCCTGAAAGCGGCCCAGGCACCTC TGAAAGCGCTACTCCTGAGAGCGGTCCAGGCTCTCC AGCAGGTTCTCCAACCTCCACTGAAGAAGGCACCT CTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGTCCTGGCTCCG AACCTGCTACCTCTGGTTCCGAAACTCCAGGTACCT CGGAATCTGCGACTCCGGAATCTGGCCCGGGCACG AGCACGGAGCCGTCTGAGGGTAGCGCACCAGGTAC CAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTCTGCACCGGGTAC CTCCACGGAACCTTCGGAAGGTTCTGCGCCGGGTAC CTCCACTGAGCCATCCGAGGGTTCAGCACCAGGTA CTAGCACGGAACCGTCCGAGGGCTCTGCACCAGGT ACGAGCACCGAACCGTCGGAGGGTAGCGCTCCAGG TAGCCCAGCGGGCTCTCCGACAAGCACCGAAGAAG GCACCAGCACCGAGCCGTCCGAAGGTTCCGCACCA GGTACAAGCGAGAGCGCGACTCCTGAATCTGGTCC GGGTAGCGAGCCTGCAACCAGCGGTTCTGAGACGC CGGGCACTTCCGAATCTGCGACCCCGGAGTCCGGTC CAGGTTCAGAGCCGGCGACGAGCGGTTCGGAAACG CCGGGTACGTCTGAATCAGCCACGCCGGAGTCTGG TCCGGGTACCTCGACCGAACCAAGCGAAGGTTCGG CACCGGGTACTAGCGAGAGCGCAACCCCTGAAAGC GGTCCGGGCAGCCCGGCAGGTTCTCCAACCAGCAC CGAAGAAGGTTCCCCTGCTGGTAGCCCGACCTCTAC GGAGGAAGGTAGCCCTGCAGGTTCCCCAACTTCTA CTGAGGAAGGTACTTCTGAGTCCGCTACCCCAGAA AGCGGTCCTGGTACCTCCACTGAACCGTCTGAAGGC TCTGCACCAGGCACTTCTGAGTCTGCTACTCCAGAA AGCGGCCCAGGTTCTGAACCAGCAACTTCTGGCTCT GAGACTCCAGGCACTTCTGAGTCCGCAACGCCTGA ATCCGGTCCTGGTTCTGAACCAGCTACTTCCGGCAG CGAAACCCCAGGTACCTCTGAGTCTGCGACTCCAG AGTCTGGTCCTGGTACTTCCACTGAGCCTAGCGAGG GTTCCGCACCAGGTTCTCCGGCTGGTAGCCCGACCA GCACGGAGGAGGGTACGTCTGAATCTGCAACGCCG GAATCGGGCCCAGGTTCGGAGCCTGCAACGTCTGG CAGCGAAACCCCGGGTACCTCCGAATCTGCTACAC CGGAAAGCGGTCCTGGCAGCCCTGCTGGTTCTCCAA CCTCTACCGAGGAGGGTTCACCGGCAGGTAGCCCG ACTAGCACTGAAGAAGGTACTAGCACGGAGCCGAG CGAGGGTAGTGCTCCGGGTACGAGCGAGAGCGCAA CGCCAGAGAGCGGTCCAGGCACCAGCGAATCGGCC ACCCCTGAGAGCGGCCCAGGTACTTCTGAGAGCGC CACTCCTGAATCCGGCCCTGGTAGCGAGCCGGCAA CCTCCGGCTCAGAAACTCCTGGTTCGGAACCAGCG ACCAGCGGTTCTGAAACTCCGGGTAGCCCGGCAGG CAGCCCAACGAGCACCGAAGAGGGTACCAGCACGG AACCGAGCGAGGGTTCTGCCCCGGGTACTTCCACC GAACCATCGGAGGGCTCTGCACCTGGTAGCGAACC TGCGACGTCTGGTTCTGAAACGCCGGGTACCAGCG	EGSAPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSA PGSPAGSPTSTEEG TSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESAT PESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGSP AGSPTSTEEGSPAG SPTSTEEGSPAGSP TSTEEGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEG SAPGSPAGSPTSTE EGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSPAG SPTSTEEGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEG SAPGTSESATPESG PGTSESATPESGPG TSESATPESGPGSE PATSGSETPGSEPA TSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSA PGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGHHH HHH

构建体名称	DNA 序列	氨基酸序列*
	AAAGCGCTACCCCAGAATCCGGTCCGGGCACTAGC ACCGAGCCATCGGAGGGCTCCGCACCAGGTCACCA TCATCACCATCAC	

*加下划线的肽代表信号肽

[0362] 实施例2:从大肠杆菌发酵培养物产生未切割的和切割的His8-aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN864

[0363] 1)由大肠杆菌发酵培养物表达和纯化His(8)-aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN_AE864

[0364] 融合蛋白AC1278(MKKNIAFLLASMFVFSIATNAYA-His(8)-aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN_AE864)在Amunix专有的大肠杆菌AmE098菌株中表达。使10L发酵培养物在37℃下生长,并在盐饲料耗尽后将温度转变为26℃。在收获期间,离心发酵全培养液以沉淀细胞。收集上清液,然后使用酸絮凝以减少内毒素和宿主细胞蛋白质污染。使用1M乙酸,将上清液的pH逐渐降低至pH 4.5,并在室温下温育30分钟。然后使用2M NaOH将pH升高至pH 7.5并在4℃保持过夜。第二天,上清液使用0.20μm的3M LifeAssure囊式过滤器过滤。

[0365] 为了确保His亲和标签处的N端完整性,使用固定化金属亲和色谱法作为第一捕获步骤。向5个10-mL RedisepRf 25G柱外壳(Teledyne Isco)中装填10mL ToyoPearl-AF-Chelate 650M树脂(TOSOH Biosciences)。柱子用0.5M NaOH消毒,用蒸馏水彻底冲洗,然后装入0.1M Ni_2SO_4,并用5个柱体积(CV)的平衡缓冲液(20mM Tris,250mM NaCl,pH 7.5)平衡。由于Triton X-114的浊点为23℃,故预先制备Triton洗涤缓冲液(20mM Tris,100mM NaCl,0.1%Triton X-114,pH 7.5)和洗涤2缓冲液(20mM Tris,100mM NaCl,pH 7.5),在4℃下储存,并在使用期间保存在冰上。在柱平衡后,将上清液加载至柱上。追加3个柱体积的平衡缓冲液后,用10℃的冷Triton洗涤缓冲液洗涤柱以减少内毒素,随后用10个柱体积的冷的洗涤2缓冲液洗涤以去除Triton X-114。然后用3个柱体积的洗脱缓冲液(20mM Tris,100mM NaCl,150mM咪唑,pH 7.5)从柱上洗脱蛋白质,并收集1个柱体积的级分(10mL)。为了减少蛋白质氧化,将5mM EDTA加入到每个洗脱液中。通过非还原4-12%Bis-Tris SDS-PAGE和考马斯染色分析负载物、流过液和洗脱液。基于凝胶,保存洗脱液CV1和CV2用于进一步处理。(图14A)

[0366] 选择疏水相互作用色谱法(HIC)作为随后的精制步骤。向两个20-mL RedisepRf 25G柱外壳(Teledyne Isco)中装填20mL Toyopearl-Phenyl-650M树脂(TOSOH Biosciences)。柱子经0.5M NaOH消毒,经蒸馏水彻底冲洗,并用5个柱体积的缓冲液A(20mM Tris,1M$(NH_4)_2SO_4$,pH 7.5)平衡。通过混合适当体积的缓冲液A和缓冲液B(20mM Tris,pH 7.5)预先制备75%缓冲液A、50%缓冲液A和25%缓冲液A的洗脱缓冲液。将IMAC洗脱液CV1和2从前述柱步骤合并在一起,并加入硫酸铵至最终浓度为1M,然后加载至预平衡的苯基柱。加载并追加3个柱体积的缓冲液A后,使用75%缓冲液A、50%缓冲液A、25%缓冲液A以及0%缓冲液A各3个柱体积洗脱柱子。通过非还原4-12%Bis-Tris SDS-PAGE和考马斯染色分析负载物、流过液和洗脱液。基于凝胶,在750mM$(NH_4)_2SO_4$(加框)下合并洗涤液以及洗脱液CV1-2,以用于进一步处理(图14B)。

[0367] 为确保XTEN的C端完整性以及为进一步减少内毒素,选择阴离子交换色谱法作为最终的精制步骤。向AKTApurifier上的XK16柱中装填5mL Capto Q Impress树脂(GE Healthcare),用0.5M NaOH消毒,用蒸馏水彻底冲洗,经2个柱体积的缓冲液B(20mM Tris,500mM NaCl,pH 7.5)分离,并用5个体积的缓冲液A(20mM Tris pH 7.5)平衡。将HIC洗脱池稀释4倍,随后加载到柱上。然后用3个柱体积的30%缓冲液B洗涤柱子,并以30%至70%缓冲液B梯度经15个柱体积进行洗脱。以1/2CV(2.5mL)级分收集洗脱液。然后通过非还原性

SDS-PAGE和考马斯染色来分析负载物、流过液和洗脱液以确定级分，由此合并用于配制(图14C)。

[0368] 2)配制和表征

[0369] 将所需洗脱部分(图14C加框)浓缩并将缓冲液交换成50mM Tris，150mM NaCl，pH 7.5。配制的产品经0.2μm无菌过滤。批次释放并经大小排阻色谱分析以及SDS-PAGE分析来确定产品质量。对于SEC分析，将10μg配制的产品注入分析型SEC柱中，确定单体产物＞95％(图15A)。通过将5μg的配制的产品加载到4-12％Bis-Tris凝胶并用考马斯蓝染色进行SDS-PAGE分析。产品纯度>90％(图15B)。

[0370] 3)酶活化和储存

[0371] 重组小鼠MMP-9是由R&D Systems作为酶原提供，并需要通过4-氨基乙酸苯汞(APMA)进行活化。首先将APMA溶于0.1M NaOH中至最终浓度为10mM，然后用0.1N HCl将pH调整至中性。在50mM Tris，150mM NaCl，10mM $CaCl_2$，pH 7.5中将APMA储备液进一步稀释至2.5mM。为了激活MMP酶原(pro-MMP)，将1mM APMA和100μg/mL MMP酶原在37℃下温育3小时。将甘油添加至活化的酶中至最终浓度为50％，然后将其在-20℃下储存数周。

[0372] 4)His(8)-aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN864的MMP-9消化

[0373] 为产生切割的aEpCAM-aCD3 ProTIA-A，将9.12mg配制的His(8)-aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN864(ProTIA-X)在含有10mM $CaCl_2$和酶与底物的摩尔比为1:2237的活性重组小鼠MMP-9(R&D Systems)的反应混合物中于37℃下温育2小时。为了确认BSRS1的特异性消化，在4-12％Bis-Tris SDS-PAGE上运行5μg未消化的和经MMP-9消化的产物，随后通过考马斯蓝染色。使用考马斯蓝染色允许使MMP-9消化之前的全长His8-aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN864(ProTIA-X)以及MMP-9消化之后His8-aEpCAM-aCD3切割的片段(ProTIA-A)可视化(图16A)。

[0374] 5)在MMP-9消化之后纯化切割的His(8)-aEpCAM-aCD3ProTIA-A

[0375] 在确认在BSRS1处的MMP-9消化后，使用固定化金属亲和色谱法来去除MMP-9。向5mL聚丙烯柱外壳(ThermoScientific)中装填2mL ToyoPearl-AF-Chelate-650M树脂(TOSOH Biosciences)。该柱用5个CV的平衡缓冲液(20mM Tris，250mM NaCl，pH 7.5)平衡。然后将消化混合物加载到柱中。加载并追加1个CV的平衡缓冲液后，用3个CV的平衡缓冲液洗涤柱子。用3个CV的洗脱缓冲液(20mM Tris，100mM NaCl，150mM咪唑，pH 7.5)从柱上洗脱蛋白质，并收集1个CV级分(2mL)。通过非还原4-12％Bis-Tris SDS-PAGE和考马斯染色分析负载物、流过液和洗脱液以确定含有ProTIA-A的洗脱物(图16B)。

[0376] 6)切割的His(8)-aEpCAM-aCD3的配制和表征

[0377] 将所需洗脱液(图16B加框)浓缩并将缓冲液交换成50mM Tris，150mM NaCl，pH 7.5。批次释放并经大小排阻色谱分析以及SDS-PAGE分析来确定产品质量。对于SEC分析，将10μg产物注入分析型SEC柱中，确认单体产物>95％(图17A)。对于SDS-PAGE分析，将5μg产物在4-12％Bis-Tris凝胶上运行，确认产品纯度>90％(图17B)。

[0378] 实施例3：从大肠杆菌发酵培养物产生未切割的和切割的AC1476 aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN_AE864-His(6)

[0379] 1)从大肠杆菌发酵培养物中表达与纯化AC1476aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN_AE864-His(6)

[0380] 融合蛋白AC1476(MKKNIAFLLASMFVFSIATNAYA-aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN_AE864-His(6))在Amunix专有的大肠杆菌AmE097菌株中表达。10L发酵培养物在37℃下生长,并在盐饲料耗尽后将温度转变为28℃。在收获期间,离心发酵全培养液以沉淀细胞。使用0.20μm的3M LifeAssure囊式过滤器过滤。向XK50外壳柱中装填100mL的Toyopearl-AF-Chelate-650M树脂(TOSOH Biosciences)并在4℃下连接到的蠕动泵。柱子用0.5M NaOH消毒,用蒸馏水彻底冲洗,然后装入0.1M Ni_2SO_4,并用5个CV的平衡缓冲液(20mM Tris,250mM NaCl,pH 7.5)平衡。柱平衡后,将上清液加载到柱上,并且如以上实施例2-1中所述的类似方法进行Triton洗涤、洗涤2和洗脱。以1/4CV(25mL)级分收集洗脱液,并且加入EDTA至终浓度5mM以螯合游离镍。通过非还原4-12%Bis-Tris SDS-PAGE和考马斯染色分析负载物、流过液和洗脱液。基于凝胶,将洗脱物2-5(加框)保存以用于进一步处理。(图18A)。

[0381] 选择疏水相互作用色谱法(HIC)作为随后的精制步骤。tmAKTApurifier上的XK24外壳柱加载50mL Toyopearl-Phenyl-650M树脂(TOSOH Biosciences)。柱子用0.5M NaOH消毒,用蒸馏水彻底冲洗,并用5个CVs的平衡缓冲液A(20mM Tris,1M$(NH_4)_2SO_4$,pH 7.5)平衡。将所需的IMAC洗脱液从前述柱子的步骤收集在一起,并且在加载到柱子之前加入硫酸铵至最终浓度为1M。以从100%到50%缓冲液A的梯度经10个CV以1/2CV(25mL)级分收集洗脱液。通过非还原4-12%Bis-Tris SDS-PAGE和考马斯染色分析负载物、流过液和洗脱液。基于凝胶,合并加框的洗脱物以用于进一步处理。(图18B)。

[0382] 选择阴离子交换色谱法作为最终的精制步骤。向XK24外壳柱装填30mL的Capto Q Impress树脂(GE Healthcare),用0.5M NaOH消毒,用蒸馏水彻底洗涤,用2CV的缓冲液B(20mM Tris,500mM NaCl,pH 7.5)分离,并用5个CV的缓冲液A(20mM Tris,pH 7.5)平衡。通过Pellicon XL Ultrafiltration模块Biomax 10kDa将洗脱池经缓冲液交换成20mM Tris pH7.5,直到渗透物具有8ms/cm的电导率。将渗透物加载至Capto Q Impress柱中,然后用3个CV的10%和20%缓冲液B洗涤柱子。以从20%到70%缓冲液B的梯度经10个CV以1/4CV(7.5mL)级分收集洗脱液。通过非还原4-12%Bis-Tris SDS-PAGE和考马斯染色分析负载物、流过液和洗脱液。基于凝胶,合并所选择的洗脱液(加框)用于配制(图18C)。

[0383] 2)aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN864-His(6)的配制和表征

[0384] 将所需的洗脱液浓缩并经缓冲液交换成50mM Tris,150mM NaCl,pH 7.5。根据实施例2中建立的用于SEC分析(图19A)和SDS-PAGE(图19B)的方案,进行批次释放检验以测定产品质量。另外,将2μg加载至4-12%Bis-Tris非还原性SDS-PAGE凝胶中,随后进行银染色(图19C)。SEC的结果也用于测定aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN864-His(6)的表观分子量和表观分子量因子(相对于实际分子量)以及流体动力学半径。所述表观分子量经测定为1.7MDa,这将获得12.3的表观分子量因子和10.8nm的计算流体动力学半径。

[0385] 为进一步证明该分子的身份,实行电喷雾电离质谱法(ESI-MS),并且实验质量经测定为138,652Da,其与理论分子量138651Da比较时△质量为+1Da(图20A)。对于分析型阳离子交换色谱法,将10μg的样品加载到Agilent Bio SCX NP3上,其流动相A为20mM乙酸钠,pH 4.5,流动相B为20mM乙酸钠,1M氯化钠,pH 4.5。在20分钟的过程中施加0-100%B的线性梯度,并且仅检测到一个主峰(图20B)。

[0386] 4)aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN864-His(6)的MMP-9消化

[0387] 根据实施例2中所述的MMP-9活化和消化方案,消化20mg aEpCAM-aCD3-BSRS1-

XTEN864-His(6)(ProTIA-X),但是仅使用酶与底物的摩尔比为1:6000的活性重组小鼠MMP-9。通过SDS-PAGE分析未消化的和消化的产物(图21A)。

[0388] 5)在MMP-9消化后切割的aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN864-His(6)的纯化

[0389] 在确认BSRS1处的MMP-9消化后,使用阴离子交换色谱法去除切割的游离XTEN和未切割的ProTIA-X。向两个5ml的聚丙烯柱外壳(ThermoScientific)分别装填3mL的MacroCap Q树脂(GE Healthcare),用CIP消毒(0.5M NaOH,1M NaCl),用蒸馏水彻底冲洗,用2个CV的缓冲液B(20mM Tris,500mM NaCl,PH 7.5)去除,并用5个CV的缓冲液A(20mM Tris,pH 7.5)平衡。将消化混合物加载到柱上。加载并追加1个CV的缓冲液A后,柱用150mM、200mM、250mM、300mM和500mM NaCl各2个CV进行洗脱。通过4-12%Bis-Tris SDS-PAGE和考马斯染色分析负载物、流过液和洗脱液以测定含有ProTIA-A的级分(图21B)。

[0390] 6)切割的aEpCAM-aCD3的配制和表征。将所需的ProTIA-A级分浓缩并经缓冲液交换成50mM Tris,150mM NaCl,pH 7.5。按照实施例2中建立的用于SEC分析(图22A)和SDS-PAGE(图22B)的方案,进行批次释放并测定产品质量。另外,将2μg加载至4-12%Bis-Tris非还原性SDS-PAGE凝胶中,随后进行银染色(图22C)。SEC的结果也用于测定aEpCAM-aCD3的表观分子量和表观分子量因子(相对于实际分子量)以及计算流体动力学半径。所述表观分子量经测定为39.8kDa(后者比上述完整构建体小约23倍),这会获得0.7的表观分子量因子(后者比上述完整构建体小约17倍)以及2.3nm的流体动力学半径(后者比上述完整构建体小约5倍)。

[0391] 为进一步证明该分子的身份,实行电喷雾电离质谱法(ESI-MS),并且实验质量经测定为58,071Da,其与理论分子量58,067Da比较时△质量为+4Da(图23A)。使用前述2)中所述的方案进行阳离子交换色谱法(图23B)也证实了样品的均质性。

[0392] <u>实施例4:抗EpCAM x抗CD3蛋白酶触发的免疫激活剂(ProTIA)组合物的Epcam结合测定</u>

[0393] 用EpCAM/过氧化物酶缀合的蛋白-L夹心ELISA验证抗EpCAM x抗CD3 ProTIA组合物的结合能力。在ELISA结合测定中,重组人EpCAM(rhEpCAM)(Sino BiologicalR&D Systems目录号10694-H08H960-EP-50)以0.1μg/100μL的浓度涂布在96孔平底板上。在4℃下过夜温育后,将测定板洗涤并在室温下用3%的牛血清白蛋白(BSA)封闭1小时。再次洗涤板,随后引入一定剂量范围的不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(即不含有释放区段切割序列和AC1484的ProTIA、ProTIA嵌合多肽组装体组合物)以及经蛋白酶处理的和未经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(例如AC1476)。用于不可切割的并经蛋白酶处理和未经处理的ProTIA的剂量范围为0.0006至5nM,其通过采用1:6倍连续稀释方案从5nM的起始浓度实现。使平板在室温下振荡温育1小时,以使不可切割的、蛋白酶切割的以及未切割的ProTIA结合至涂覆于平板上的rhEpCAM。用洗涤步骤除去未结合的组分,并加入过氧化物酶缀合蛋白L(PierceThermoFisher Scientific目录号32420)。在使蛋白质L连接至scFv的κ轻链的适当温育时间后,通过洗涤步骤除去任何未结合的试剂,随后向每个孔添加四甲基联苯胺(TMB)底物。TMB是过氧化物酶的显色底物。达到所需的颜色强度后,加入0.2N硫酸以终止反应,并使用分光光度计在450nm处测量吸光度(OD)。颜色的强度与由rhEpCAM/蛋白质L夹心ELISA捕获的不可切割的、蛋白酶处理的和未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的浓度成比例。将产生的颜色强度(测量的OD)对蛋白质浓度作图;并使用GraphPad prism软件,利

用4参数逻辑回归方程得出达到半数最大响应的不可切割的、蛋白酶切割的和未切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的浓度(EC_{50})。

[0394] 如图24所示，不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA具有与未经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3双特异性ProTIA分子相似的结合活性，该分子分别具有320nMpM和280nMpM的EC_{50}。与未经蛋白酶处理的完整的双特异性分子或不可切割的ProTIA分子相比，经蛋白酶处理的ProTIA对rhEpCAM配体具有最强的结合活性，EC_{50}为120nMpM。数据表明，XTEN864的存在使抗EpCAM部分与其配体的结合至少降低2.3倍。

[0395] 实施例5：通过流式细胞术评估细胞结合

[0396] 还使用CD3阳性人Jurkat细胞和选自SW480、HCT-116、Kato III、MDA-MB-453、MCF-7、MT3、SK-Br-3、SK-OV-3、OVCAR-3和PC3的EpCAM阳性人细胞，通过基于荧光活化细胞分选(FACS)的测定来评估抗EpCAM x抗CD3 ProTIA组合物的双特异性结合。将$CD3^+$和$EpCAM^+$细胞与一定剂量范围的未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA、蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA以及抗CD3 scFv和抗EpCAM scFv阳性对照一起在含有PBS及1％BSA和0.05％叠氮钠的FACS缓冲液中在4℃下温育30分钟。在FACS缓冲液中洗涤几次以去除未结合的测试材料后，将细胞与FITC缀合的抗His标签抗体(Abcam目录号ab1206)一起在4℃下温育30分钟。通过用FACS缓冲液洗涤几次来除去未结合的FITC缀合的抗体，并且将细胞重悬于FACS缓冲液中以在FACS Calibur流式细胞仪(Becton Dickerson)或等效仪器上获得。使用FlowJo软件(FlowJo LLC)或等效产品分析所有流式细胞术数据。

[0397] 预期抗EpCAM scFv不与Jurkat细胞结合，而当与仅与FITC缀合的抗His标签抗体一起温育的Jurkat细胞相比时，如荧光强度的增加所示，抗CD3 scFv、未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA和蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA均预期与Jurkat细胞结合。类似地，预期抗EpCAM scFv、蛋白酶处理的和未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA均与EpCAM阳性细胞结合，而预期抗CD3scFv不与EpCAM阳性细胞结合。预期这些数据将反映抗EpCAM x抗CD3 ProTIA组合物识别分别在Jurkat以及一组表达EpCAM的人细胞系上表达的CD3和EpCAM抗原的双特异性结合能力。此外，由于XTEN聚合物在表面结合中提供一定的干扰，预期未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA对CD3和EpCAM抗原的结合亲和力低于经蛋白酶处理的ProTIA。

[0398] 实施例6：抗EpCAM x抗CD3蛋白酶触发的免疫激活剂(ProTIA)组合物的细胞毒性测定

[0399] 通过使用人外周血单个核细胞(PBMC)作为效应物并使用EpCAM阳性人肿瘤细胞诸如SW480结肠细胞(或选自HCT-116、Kato III、NCI-N87、MKN45、MDA-MB-231、MDA-MB-453、MCF-7、MT3、SK-Br-3、SK-OV-3、OVCAR3和PC3)作为靶标来评估EpCAM x抗CD3 ProTIA组合物的重定向细胞毒性。通过从全血或者从当地血库或Bioreclamation IVT获得的富含淋巴细胞的血沉棕黄层制品进行ficoll密度梯度离心，从经筛选的健康供体分离PBMC。按照如下文所述的适当细胞密度，将PBMC重悬浮于RPMI-1640/10％FCS/25mmol/mL HEPES中，并在37℃下、5％CO_2湿润培养箱中培养直至使用。使用三种不同类型的细胞毒性测定来测定不可切割的抗EpCAM x抗CD3组合物(例如AC1484)、蛋白酶处理的和未处理的抗EpCAM x抗CD3可切割的ProTIA组合物(例如AC1278和AC1476)的细胞裂解活性，即乳酸脱氢酶(LDH)释放测定、胱天蛋白酶3/7测定和基于FACS的分析。

[0400] 作为^{51}Cr释放细胞毒性测定的非放射性替代法，LDH释放测定定量地测量细胞裂解

后释放的稳定的胞质溶胶酶LDH,其方式与^{51}Cr在放射性测定中释放的方式非常相似。通过将四唑鎓盐转化为红色的甲臜产物的酶分析法来测量培养上清液中释放的LDH;形成的颜色量与裂解细胞的数量成比例。

[0401] 因此如下分析经蛋白酶处理的和未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA组合物在SW480中的细胞毒性能:首先在含有无酚红RPMI和5%FCS的测定培养基中将SW480和PBMC的细胞密度分别调节至2.5x10^{5}个细胞/mL和1x10^{6}个细胞/mL。(使用Promega CytoTox 96非放射性细胞毒性测定试剂盒,利用无酚红培养基和5%FCS以将背景吸光度降至最低(目录号G1780))。为达到5:1的效应物与靶标比率,在96孔圆底板中的每个测定孔中将100微升等份的PBMC与80微升等份的SW480细胞共培养。经蛋白酶处理的和未处理的抗EpCAM x抗CD3组合物样品在测定培养基中稀释至所需的剂量浓度,并以20微升添加至各自的实验孔中,使总测定体积为200微升。从440nM开始以12点、5x连续稀释剂量浓度获得0.000005至44nM的最终剂量范围,由此评估蛋白酶切割的ProTIA。从184nM开始,以12点、5x系列稀释剂量浓度获得0.000002至18.4nM的最终剂量范围,由此分析未处理的未切割的ProTIA组合物。同时也建立测定对照,其包括由效应细胞和靶细胞释放的自发性LDH;释放的靶细胞最大LDH;由于添加裂解溶液和培养基背景而进行的体积校正对照。对于释放的靶自发LDH,在不存在任何经蛋白酶处理的或未经处理的组合物的情况下,将SW480细胞在200微升的分析培养基中温育。对于释放的效应物自发性LDH,在不存在任何经蛋白酶处理的或未经处理的组合物的情况下,将PBMC在200微升的分析培养基中温育。通过向SW480(220微升总体积)中加入20微升的10x裂解溶液并在裂解溶液存在的情况下温育靶细胞45分钟以收集上清液用于LDH测量,来测定释放的靶细胞最大LDH。通过将20微升的10x裂解溶液加入到200微升的分析介质中来获得体积校正对照,而培养基背景是通过温育200微升的分析培养基获得的。一式两份测定含有蛋白酶处理和未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA组合物以及所有的各自分析对照的实验孔的平板,然后在37℃、5%CO_2湿润培养箱中温育过夜。

[0402] 使用Promega CytoTox测定试剂盒并按照制备商的说明测量由于细胞裂解而释放到上清液中的LDH的量。简而言之,将50μL来自分析板每孔的上清液转移至平底酶标板的相应孔中。向酶标板中的每个孔中加入50微升重建的底物。然后盖上平板,避光,并在室温下温育30分钟。在所需的温育期后,向每个孔中加入50μL终止液并在490nm处记录吸光度。

[0403] 之后如下进行数据分析:

1.实验性的,E:T比为5:1(平均值)-培养基背景(平均值)

SW480靶自发(平均值)-培养基背景(平均值)

PBMC效应物自发(平均值)-培养基背景(平均值)

2.SW480靶最大值(平均值)-体积校正对照(平均值)

3.%特异性裂解=[(实验性的-SW480靶自发-PBMC效应物自发)/(SW480靶最大值-SW480靶自发)]X100

4.然后将蛋白酶处理的和未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的剂量浓度针对%特异性裂解作图;并且用GraphPad prism软件利用4参数逻辑回归方程式获得产生半数最大响应的蛋白质浓度(EC_{50})。

[0404] 如图25所示,在PBMC存在的情况下将SW480细胞暴露于蛋白酶处理的ProTIA和未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA组合物,产生浓度依赖性细胞毒性剂量曲线;其中蛋白酶处

理的ProTEA的活性为完整的未处理的ProTEA的48倍(EC_{50}分别为2.5pM和120pM)。

[0405] 此外,通过在LDH分析中比较蛋白酶处理的和未经蛋白酶处理的ProTIA的细胞毒性活性与未缀合的单特异性抗EpCAM scFv和单特异性抗CD3 scFv的细胞毒活性,来评估抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的特异性。简言之,如上所述,在96孔圆底板中,将PBMC和SW480细胞以5:1的效应物与靶标之比在分析培养基中共培养。蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA、未经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA以及未缀合的单特异性抗EpCAM scFv加单特异性抗CD3 scFv样品均以12点、0.00005至45nM的5x系列稀释的最终剂量范围进行评价,总分析体积为200微升。如上所述的所有相关的分析对照与实验孔一起同样包括在所述分析板中,并将板在37℃、5%CO_2湿润培养箱中温育过夜。

[0406] 使用Promega CytoTox测定试剂盒测量作为细胞裂解而释放到上清液中的LDH的量,并如上所述分析结果。

[0407] 如所预期的,与未处理的ProTIA相比,在PBMC的存在下将SW480细胞暴露于经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA显示了增强的细胞毒性。显著的是,在SW480靶细胞和PBMC的存在下将单特异性抗EpCAM scFv和单特异性抗CD3 scFv组合并不导致任何细胞毒性活性(图26)。数据表明,将靶向的aEpCAM部分以双特异性分子形式连接至CD3效应器部分对于将CD3阳性细胞主动募集至靶细胞附近以诱导细胞毒性是必需的。

[0408] 我们还假设存在于抗EpCAM x抗CD3 ProTIA中的释放区段裂解序列本身可能易受肿瘤细胞或活化的CD3阳性T细胞的切割释放的蛋白酶(例如颗粒酶)影响。为解决这个假设,构建不含有释放区段的不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(例如AC1357)并且将其与蛋白酶处理的和未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(例如AC1278)缀合而对其进行评估。在LDH测定中,使用5:1的PBMC与SW480之比分析所有三种ProTIA,并且用5x系列稀释方案实现的在0.00005至45nM的12点剂量浓度范围内对三种ProTIA进行测试。

[0409] 如图27所示,未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA比蛋白酶处理的ProTIA(EC_{50}为288pM对比EC_{50}为8.9pM)活性低32倍。有趣的是,不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(即不含释放区段切割序列的ProTIA)的活性比蛋白酶切割的ProTIA(EC_{50}为3300pM对比EC_{50}为8.9pM)低371倍。结果表明,可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA分子内含有的释放区段易受到可能从肿瘤细胞和/或活化的CD3阳性T细胞释放的蛋白酶引起的某些切割的影响。

[0410] 还在卵巢来源的人细胞系中评估了不含可释放区段(例如AC1484)的不可切割抗EpCAM x抗CD3 ProTIA、蛋白酶处理和未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(例如AC1476)。在该实验中,PBMC与SK-OV-3卵巢细胞以5:1的比率混合,并且如上所述在LDH测定中将所有三种ProTIA分子以12点、5x系列稀释剂量曲线进行测定。如预期的,发现在SK-OV-3卵巢细胞系中示出的三种ProTEIN分子的反应性趋势与在SW480结直肠癌细胞系中观察到的相类似。在SK-OV-3细胞中,未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的活性比蛋白酶处理的ProTIA低45倍(EC_{50}为136pM对比EC_{50}为3pM);并且不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的活性比蛋白酶切割的ProTIA低600倍(EC_{50}为1793pM对比EC_{50}为3pM)(图30)。

[0411] <u>实施例7:通过流式细胞仪评估细胞裂解</u>

[0412] 为了在24小时后通过流式细胞仪分析细胞裂解,用荧光膜染料CellVue Maroon染料(Affymetrix/eBioscience,目录号88-0870-16)根据制备商的说明标记EpCAM阳性SK-OV-3靶细胞(或选自HCT-116、Kato III、MDA-MB-453、MCF-7、MKN45、MT3、NCI-N87、SK-Br-3、

SW480、OVCAR3和PC3细胞系的靶细胞)。或者也可以使用PKH26(Sigma,目录号MINI26以及PKH26GL)。简而言之,将SK-OV-3细胞用PBS洗涤两次,在提供有CellVue Maroon标记试剂盒的0.1mL稀释剂C中再悬浮2×10^6个细胞。在单独的管中,将2微升CellVue Maroon染料与0.5mL稀释剂C混合,然后将0.1mL加入到SK-OV-3细胞悬液中。将细胞悬液和CellVue Maroon染料混合并在室温下温育2分钟。然后通过加入0.2mL的FCS猝灭标记反应。将经标记的细胞用完全细胞培养基(含有10%FCS的RPMI-1640)洗涤两次,并通过台盼蓝排除法测定活细胞的总数。对于在每孔200微升的总体积中5:1的效应物与靶标之比,在不存在或存在指定剂量范围浓度的蛋白酶处理和未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA样品的情况下,在96孔圆底板中将1x10^5个PBMC与每孔2x 10^4个CellVue Maroon标记的SK-OV-3细胞共培养。24小时后,用Accutase(Innovative Cell Technologies,目录号AT104)收获细胞并用2% FCS/PBS洗涤。在Guava easyCyte流式细胞仪(Millipore)上获取细胞之前,将细胞重悬于补充有2.5微克/mL 7-AAD(Affymetrix/eBioscience,目录号00-6993-50)的100微升2% FCS/PBS中以区分活细胞(7-AAD阴性)和死细胞(7-AAD阳性)。用guavaSoft软件(Millipore)分析FACS数据;通过7-AAD阳性/CellVue Maroon阳性细胞的数目除以CellVue Maroon阳性细胞的总数来计算死亡靶细胞的百分比。

[0413] 使用GraphPad Prism利用4参数-逻辑回归方程分析细胞毒性百分比对ProTIA浓度的剂量响应杀伤曲线;由此测定诱导半数最大细胞毒性百分比的ProTIA浓度。

[0414] 预期利用流式细胞仪得到的细胞毒性结果与利用LDH测定获得的结果一致。预期在不存在PBMC的情况下将SK-OV-3细胞暴露于蛋白酶切割的和未切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA组合物无影响。类似地,预计在没有靶细胞的ProTIA存在下PBMC不会被激活。预计这些结果表明ProTIA组合物需要聚集在靶细胞表面以刺激PBMC的细胞毒性活性。在PBMC和靶细胞的存在下,由于蛋白酶预处理的或未经蛋白酶处理的ProTIA,将存在浓度依赖性细胞毒性效应。此外,预期结果表明,与蛋白酶切割的ProTIA组合物相比,在PBMC的存在下SK-OV-3细胞暴露于未处理的ProTIA(无蛋白酶)将显示出降低的细胞毒性。

[0415] 针对其他双特异性ProTIA组合物诸如抗CD19x抗CD3 ProTIA组合物和抗HER2x抗CD3 ProTIA组合物进行上述一组细胞毒性实验。在这些情况下,将使用CD19和HER2阳性靶细胞代替EpCAM阳性细胞。CD19表达的细胞的示例性细胞系将包括但不限于:NAML-6、Blin-1、SKW6.4、Raji、Daudi和BJAB。对于抗HER2靶向,将使用HER2阳性细胞系,诸如SK-BR-3、BT474、HCC-1954、MDA-MB-453、SK-OV-3、NCI-N87、JIMT-1、HCT-116。

[0416] <u>实施例8:抗EpCAM x抗CD3蛋白酶触发的免疫激活剂(ProTIA)组合物的T细胞活化标志物测定</u>

[0417] 为了测量抗EpCAM x抗CD3 ProTIA诱导的活化标志物(CD69和CD25),在96孔圆底板中,将1X 10^5个PBMC或纯化的CD3+细胞在含有10%FCS的RPMI-1640中与每个测试孔2X 10^4个SK-OV-3或OVCAR3细胞(即效应物与靶标之比为5:1)以总的终体积为200微升在抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的存在下共培养。在37℃、5%CO_2加湿培养箱中温育20小时后,在4℃下在FACS缓冲液(1%BSA/PBS)中用PECy5-缀合的抗CD4、APC-缀合的抗CD8、PE-缀合的抗CD25以及FITC-缀合的抗CD69(来自BioLegend的所有抗体)对细胞进行染色,用FACS缓冲液洗涤两次,然后重悬于FACS缓冲液中以在Guava easyCyte流式细胞仪(Millipore)上获得。

[0418] 如所预期的,发现在SK-OV-3卵巢细胞系中分布的三种ProTIA分子的T细胞活化标

志物表达趋势与通过LDH细胞毒性测定所观察到的相似。使用SK-OV-3细胞，未处理的抗EpCAM抗CD3ProTIA对PBMC的CD8和CD4群体上的CD69的活化，与蛋白酶处理的ProTIA相比，活性低了约70倍(对于CD8+的EC_{50}为540pM对比6.7pM，对于CD4+的EC_{50}为430pM对比6.3pM)；并且不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的活性比蛋白酶切割的ProTIA低约1000倍(对于CD8+的EC_{50}为8700pM对比6.7pM，对于CD4+的EC_{50}为6000pM对比6.3pM)(图42)。

[0419] 类似地，未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA对PBMC细胞的CD8和CD4群体上的CD69和CD25两者的活化比蛋白酶处理的ProTIA低约60倍，并且不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的活性比蛋白酶切割的ProTIA低约1300倍(图43)。

[0420] 为了确认作用机制是通过CD3+细胞实现的，使用SK-OV-3细胞作为靶细胞，并且未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA活化纯化的CD3+细胞的CD8和CD4群体上的CD69比蛋白酶处理的ProTIA的活性低约100倍(对于CD8+的EC_{50}为260pM对比2.4pM，对于CD4+的EC_{50}为240pM对比2.2pM)；并且不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的活性比蛋白酶切割的ProTIA低约2000倍(对于CD8+的EC_{50}为5000pM对比2.4pM，对于CD4+的EC_{50}为5000pM对比2.2pM)(图44)。未经处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA对纯化的CD3+细胞的CD8和CD4群体上的CD69和CD25两者的活化的活性比蛋白酶处理的ProTIA低约100倍，并且不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的活性比蛋白酶切割的ProTIA低约2000倍(图45)。

[0421] 使用OVCAR3细胞，未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA对纯化CD3+细胞的CD8和CD4群体上的CD69的活化比蛋白酶处理的ProTIA的活性低约10倍(对于CD8+的EC_{50}为14pM对比1.8pM，对于CD4+的EC_{50}为16pM对比1.9pM)；并且不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的活性比蛋白酶切割的ProTIA的活性低约1000倍(对于CD8+的EC_{50}为2000pM对比1.8pM，对于CD4+的EC_{50}为1500pM对比1.9pM)(图46)。未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA对纯化CD3+细胞的CD8和CD4群体上的CD69和CD25两者的活化也比蛋白酶处理的ProTIA的活性低约10倍，并且不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的活性也比蛋白酶切割的ProTIA的活性低约1000倍。这些结果表明，与SK-OV-3细胞相比，未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA在测定期间在OVCAR3细胞的存在下更大程度地被切割(图47)。

[0422] 作为在靶细胞的存在下用抗EpCAM x抗CD3 ProTIA活化T细胞的进一步的证据，测量CD69和颗粒酶B的诱导。在96孔圆底板中，将PBMC(1X 10^5)与每个试验孔2X 10^4个OVCAR3细胞(即效应物与靶标之比为5:1)以总的终体积为200微升在抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的存在下共培养。在37℃、5%CO_2加湿培养箱中温育20小时后，在4℃下，在FACS缓冲液(1%BSA/PBS)中用PECy5-缀合的抗CD4、APC-缀合的抗CD8以及FITC-缀合的抗CD69(所有抗体均来自BioLegend)对细胞进行染色。然后将细胞固定并用0.1%Triton X-100/PBS透化，然后在FACS缓冲液中用PE-缀合的抗颗粒酶B(ThermoFisher，目录号MHGB04)染色。用FACS缓冲液洗涤细胞，然后重悬于FACS缓冲液中以供在Guava easyCyte流式细胞仪上获得。

[0423] 如所预期的，在OVCAR3细胞的存在下，CD69和颗粒酶B均在ProTIA活化的T细胞中表达。另外，相比于CD4+细胞，较大比例的CD8+细胞表达颗粒酶B(图48和49)。

[0424] <u>实施例9：抗EpCAM x抗CD3蛋白酶触发的免疫激活剂(ProTIA)组合物的药代动力学特性</u>

[0425] 在C57BL/6小鼠中分析抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的药代动力学特性。第1组中的三只小鼠静脉内注射4mg/kg的蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(例如AC1278)，并对第2

组中的3只小鼠静脉内注射未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(例如AC1278)。在适当的时间点,将血液收集到锂肝素化管中并加工成血浆。对于蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA动物,血浆收集时间点为给药前、2分钟、15分钟、30分钟、2小时、4小时、8小时和24小时。对于未经处理的ProTIA小鼠,血浆收集时间点为给药前、4小时、8小时、24小时、2天、4天、6天和7天。蛋白酶处理的ProTIA的血浆浓度通过rhEpCAM/生物素化的抗His标签夹心ELISA以蛋白酶切割的ProTIA作为标准品进行定量;而未处理的ProTIA的血浆浓度通过rhEpCAM/生物素化抗XTEN夹心ELISA以未切割的ProTIA作为标准品进行定量。

[0426] 简而言之,在ELISA板(Nunc Maxisorp目录号442404)上包被0.1微克/100微升/孔的rhEpCAM(R&D Systems,目录号EHH104111)。在4℃温育过夜后,洗涤ELISA板并在室温下用3%BSA封闭1小时。再次洗涤平板,然后适当添加一定剂量范围的蛋白酶处理的和未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA标准品、适当的质量对照和血浆测试样品。使该板在室温下振荡温育1小时,以使ProTIA标准品、质量对照和测试样品与包被于板上的rhEpCAM结合。未结合的组分经几次洗涤除去。为检测蛋白酶切割的ProTIA,以0.2微克/100微升添加生物素化的抗His标签抗体(R&D Systems,目录号BAM050),并将平板在室温下温育1小时。为检测未经蛋白酶处理的ProTIA,以0.1微克/100微升的量加入生物素化的抗XTEN抗体(Amunix专有抗体),并将平板在室温下温育1小时。洗掉未结合的生物素化试剂后,以1:30,000的稀释度添加链霉抗生物素蛋白-HRP(Thermo Scientific目录号21130),并将平板在室温下温育1小时。几次洗涤后,将TMB底物加入到每个孔中。一旦达到所需的颜色强度,加入0.2N硫酸以终止反应,并使用分光光度计在450nm处测量吸光度(OD)。颜色的强度与由各自的rhEpCAM/生物素酰化的抗His标签和rhEpCAM/生物素化的抗XTEN夹心ELISA所捕获的蛋白酶处理的和未处理的ProTIA的浓度成比例。存在于血浆样品中的ProTIA浓度通过使用SoftMax Pro软件针对适当的蛋白酶处理的或未处理的ProTIA标准曲线来确定。用GraphPad Prism进行蛋白酶切割的和未切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的终末半衰期($T_{1/2}$)的药代动力学计算。

[0427] 正如预期,蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA具有约3.5小时的短终末半衰期($T_{1/2}$),而未经蛋白酶处理的ProTIA(附有XTEN)具有32小时的延长的$T_{1/2}$(图28),证实了完整的ProTIA分子比切割的分子具有显著更长的半衰期(至少9倍)。

[0428] <u>实施例10:抗EpCAM x抗CD3抗CD3蛋白酶触发的免疫激活剂(ProTIA)组合物在早期治疗SW40模型中的抗肿瘤性质</u>

[0429] 在免疫缺陷的NOD/SCID小鼠中进行体内功效实验,其特征在于T和B细胞的缺陷以及受损的自然杀伤细胞。根据美国机构动物评估照护协会和使用委员会(IACUCA实验动物管理委员会(AAALAC)指南)将小鼠维持在无菌的、标准化的环境条件下并进行实验。使用人SW480肿瘤异种移植模型评估蛋白酶处理的和未经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(例如AC1278)的功效。简而言之,在第0天,每组5只NOD/SCID小鼠的六个组在右胁皮下注射1×10^7个人PBMC与1×10^7个SW480细胞的混合物。接种SW480/PBMC一小时后,给第1组注射媒介物(PBS+0.05%吐温80),给第2组和第3组分别注射0.04mg/kg和0.4mg/kg的蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3ProTIA,给第4组和第5组注射0.1mg/kg和1mg/kg的未经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA,给第6组注射1mg/kg的未经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA。从第1天至第4天,第1至5组,但不包括第6组,每天还施用另外四个剂量。

[0430] 每周两次用卡尺在两个垂直维度上测量肿瘤,计划持续35天,且通过使用(宽度^2

×长度)/2公式计算肿瘤体积。密切监测体重、一般外形和临床观察,如癫痫发作、震颤、嗜睡、高反应性,毛发竖起、劳累/快速呼吸、着色和肿瘤溃疡以及死亡,作为治疗相关毒性的量度。将研究终点定义为12002000mm^{3}的肿瘤体积或生存至3536天,以先到达者为准。通过应用下列公式计算每个治疗组的肿瘤生长抑制指数百分比(%TGI):((PBS媒介物对照的平均肿瘤体积-ProTIA治疗的平均肿瘤体积)/PBS媒介物对照的平均肿瘤体积)x100。%TGI≥60%的治疗组被认为具有治疗活性。

[0431] 在第26天,在人效应细胞的存在下用PBS媒介物处理的第1组小鼠没有抑制肿瘤进展,表明单独的人效应细胞本身不能引起抗肿瘤作用。在人效应细胞的存在下经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3ProTIA以0.04mg/kg和0.4mg/kg(分别为第2组和第3组)处理后对于抑制肿瘤生长表现出明显的剂量依赖性响应,其中0.4mg/kg剂量组提供了比0.04mg/kg剂量组(%TGI=6478%)更多的保护(%TGI=8584%)。显著地,在人效应细胞的存在下经抗EpCAM x抗CD3 ProTIA以1mg/kg处理(第5组)还抑制肿瘤生长(%TGI=7883%),达到与0.4mg/kg摩尔当量的蛋白酶处理的ProTIA(第3组)几乎相同的程度。数据表明,在1mg/kg时,足够的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA被体内肿瘤环境中的蛋白酶有效地切割成更有活性的、未XTEN化的抗EpCAM x抗CD3部分以产生可观察的功效。在0.1mg/kg未经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的第4组中没有肿瘤消退(%TGI=58%),这表明在该剂量下,释放不足的XTEN化的抗EpCAM x抗CD3部分以诱导显著的肿瘤消退。与对照组相比,经受单次1mg/kg剂量的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的第6组没有达到治疗活性的阈值(%TGI=4652%),尽管其表现出抑制的肿瘤生长(图31)。结果表明抗EpCAM x抗CD3 ProTIA可以在SW480肿瘤环境中经有效切割以抑制肿瘤进展,并且药物浓度加上暴露是确定药物功效的重要因素。

[0432] 值得注意的是,在所有ProTIA治疗组和媒介物对照组中没有观察到显著的体重减轻,这表明所有治疗都具有良好耐受性(图32)。

[0433] 在SW480/PBMC接种的NOD/SCID小鼠中进行抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的抗肿瘤活性的特异性,非常类似前述每一个治疗组有8只小鼠的研究。在此研究中,在SW480/PBMC接种后一小时开始用PBS媒介物对照、不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(例如AC1357或AC1484)、双特异性阴性对照ProTIA(对CD3具有结合活性但对EpCAM没有结合活性)、抗EpCAM x抗CD3 ProTIA或蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA早期治疗。如上述研究中所测定的未经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的1mg/kg的剂量浓度用于本研究中,并且双特异性阴性对照ProTIA、不可切割的且经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA测试样品全部以等摩尔浓度静脉内施用。35天内每周监测两次肿瘤体积、体重和临床观察。

[0434] 预期在人效应细胞的存在下用PBS媒介物和双特异性对照ProTIA处理不会引起抗肿瘤作用,这表明单独的人效应细胞和非EpCAM靶向部分都不能引发抗肿瘤作用。预期这两个治疗组中的小鼠都将达到研究终点(35天或2000mm^{3}的肿瘤体积)。预期在人效应物的存在下每日五次剂量的蛋白酶处理的和未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA可诱导肿瘤生长的抑制。预期用等摩尔浓度的不可切割的ProTIA处理会延缓肿瘤生长,但其程度比携带未处理的ProTIA的释放区段所显示的程度小得多,因为其不含蛋白酶切割底物。

[0435] 实施例11:抗EpCAM x抗CD3蛋白酶触发的免疫激活剂(ProTIA)组合物在建立的结直肠肿瘤模型中的抗肿瘤特性

[0436] 在建立的结直肠肿瘤模型中,第0天将SW480和HCT-116肿瘤细胞独立地植入NOG

(NOD/Shi-scid/IL-2R□^{null})或NSG(NOD.Cg-Prkdc^{scid}.IL2rg^{tm1Wjl}/SzJ)小鼠中。(NOG或NSG小鼠是携带IL-2Rγ突变的NOD/SCID小鼠,该突变导致小鼠缺乏T、B和NK细胞、功能失调的巨噬细胞、功能失调的树突细胞和降低的补体活性。)然后在第3至10天之间的某个时间通过静脉内或腹膜内引入人PBMC。当SW480和HCT-116肿瘤达到150mm^{3}的体积时,以每日五次剂量或作为单剂量,开始用经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA、完整的未经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA和不可切割形式的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA进行处理。预计蛋白酶切割的和未经蛋白酶处理的ProTIA(例如AC1476)均将导致已建立的SW480和HCT-116肿瘤的减少或根除,未经蛋白酶处理的ProTIA随着时间赋予更好的治疗性接触,这导致其比蛋白酶处理的ProTIA更有效的抗肿瘤作用和更好的安全性。

[0437] 预期不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(例如AC1484)延迟肿瘤生长,但其程度比携带释放区段的未经蛋白酶处理的ProTIA显示的程度小得多,因为它不含用于肿瘤环境内的蛋白酶切割的底物序列。

[0438] 实施例12:使用受刺激的正常健康人PBMC和完整的及蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA对人Th1/Th2细胞因子的细胞计数珠阵列分析

[0439] 作为完整的与切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA在基于细胞的体外测定中刺激T细胞相关细胞因子释放的能力的安全性评估,对源自培养的经蛋白酶处理的和未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA样品刺激的人PBMC的上清液使用细胞计数珠阵列(CBA)分析一组包括IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、TNF-α、IFN-γ的细胞因子。抗人CD3抗体OKT3用作阳性对照,而未处理的孔用作阴性对照。

[0440] 简而言之,将OKT3(0、10nM、100nM和1000nM)和经蛋白酶处理的和未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(例如10nM、100nM、1000nM和2000nM的AC1278)通过允许孔在生物安全罩内过夜蒸发而干涂到96孔平底板上。然后用PBS柔和洗涤孔一次,并将200微升的1x10^{6}个PBMC加入到每个孔中。然后将平板在37℃、5%CO_2下温育24小时,之后从每个孔收集组织培养上清液,并通过流式细胞术按照制备商的说明书使用经验证的商用CBA试剂盒(BD CBA人Th1/Th2细胞因子试剂盒,目录号551809)分析所释放的细胞因子。

[0441] 结果:

[0442] 表11中给出检测到的细胞因子水平的原始数据,并且在图33-3中示出。

表11:响应于测试化合物的细胞因子水平

细胞因子	化合物 (nM)	检测到的细胞因子(pg/ml)			
		未处理的	OKT3	ProTIA-X	ProTIA-A
IL-2	0	7.8			
IL-4		6.1			
IL-6		33.4			
IL-10		20.7			
TNFa		2.1			
IFNg		0.0			
IL-2	10		12.8	9.0	7.5
IL-4			9.5	4.1	11.2
IL-6			130.2	26.3	25.2
IL-10			23.8	20.8	16.8
TNFa			6.1	4.8	2.1
IFNg			47.4	1.5	1.1
IL-2	100		250.6	9.4	13.1
IL-4			32.7	7.7	9.2
IL-6			6658.1	22.9	56.4
IL-10			486.3	18.3	20.7
TNFa			6120.1	2.8	10.0
IFNg			15512.9	3.5	106.5
IL-2	1000		156.0	8.1	23.8
IL-4			33.5	7.7	5.8
IL-6			7962.1	32.7	3683.7
IL-10			206.0	16.4	88.0
TNFa			10118.1	4.6	91.5
IFNg			14060.9	0.0	1371.5
IL-2	2000			9.2	28.5

IL-4				9.8	9.7
IL-6				35.2	589.3
IL-10				16.9	163.9
TNFa				3.1	250.4
IFNg				0.4	3330.0

[0443] 如预期的那样，OKT3诱导所评估的所有细胞因子(IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、TNF-α、IFN-γ)的强力分泌，但未处理的孔则不能，从而证实了CBA细胞因子测定的性能。经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA刺激触发显著的细胞因子表达，尤其是所有经测试的细胞因子在高于100nM的浓度时。相反，当完整的未切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA分子是浓度范围为10至2000nM的刺激物时，检测到IL-2、IL-6、IL-10、TNF-α和IFN-γ的基线水平。尽管使用未经蛋白酶处理的ProTIA诱导时检测到可检测水平的IL-4，然而IL-4的水平不高于使用蛋白酶处理的ProTIA所观察到的水平(图33-35)。这些数据表明，相比于蛋白酶处理的ProTIA，完整的ProTIA组合物的XTEN聚合物提供了相当大的屏蔽作用并且阻碍PBMC刺激的细胞因子响应，其中所述EpCAM x抗CD3部分从所述组合物中释放出来。

[0444] 实施例13：抗EpCAM x抗CD3蛋白酶触发的免疫激活剂(ProTIA)组合物在早期治疗HCT-116模型中的抗肿瘤特性能。

[0445] 在免疫缺陷的NOD/SCID小鼠中进行体内功效实验，其特征在于T和B细胞的缺陷以及受损的自然杀伤细胞。将小鼠保持在无菌的、标准化的环境条件下，并且根据实验动物照护评估和认证协会(AAALAC)指南进行实验。使用人HCT-116结直肠癌异种移植模型评估蛋白酶处理的和未经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(例如AC1476)以及不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(即不含释放区段切割序列的ProTIA，其实例是AC1484)的功效。简言之，在第0天，四组每组5只NOD/SCID小鼠在右胁皮下注射5×10^6个人PBMC与5×10^6个HCT-116细胞的混合物。在接种HCT-116/PBMC 1小时后，基于等摩尔剂量，给第1组注射媒介物(PBS+0.05%吐温80)，给第2组注射0.21mg/kg的蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA，给第3组注射0.5mg/kg的未经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA，并且给第4组注射0.49mg/kg的不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA。第1至第4组全部从第1天至第4天接受四次额外剂量的施用。

[0446] 每周两次使用卡尺在两个垂直维度上测量肿瘤，计划持续35天，通过应用(宽度^2×长度)/2公式计算肿瘤体积。密切监测体重、一般外形和临床观察，如癫痫发作、震颤、嗜睡、高反应性、毛发竖起、劳累/快速呼吸、着色和肿瘤溃疡以及死亡，作为治疗相关毒性的量度。将研究终点定义为12002000mm^{3}的肿瘤体积或35天的生存期，以先到达者为准。通过应用下列公式计算每个治疗组的肿瘤生长抑制指数百分比(%TGI)：((PBS对照的平均肿瘤体积-ProTIA治疗的平均肿瘤体积)/PBS对照的平均肿瘤体积)x100。%TGI≥60%的治疗组被认为具有治疗活性。

[0447] 在第1835天，在人效应细胞的存在下用媒介物处理的第1组小鼠没有抑制肿瘤进展，并且其以平均肿瘤体积为1823mm^{3}的组平均肿瘤体积退出研究，这表明单独的人效应细胞本身不能引发抗肿瘤作用。在人效应细胞的存在下用蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3

ProTIA以0.21mg/kg(第2组)处理,表现出对肿瘤生长的强烈抑制;2/5的小鼠在第18天通过显示没有可测量的肿瘤体积而表现出完全的肿瘤消退。然而,在该组中从第25天开始观察到肿瘤的再生和进展,导致所有5只携带肿瘤负荷的小鼠退出研究,平均肿瘤体积为296mm^3。显著的是,在人效应细胞的存在下经完整的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA以0.5mg/kg处理(第3组)也赋予对肿瘤生长的强烈抑制。实际上,第3组中的4/5的小鼠在第18天时表现出完全的肿瘤消退。另一方面,有2只小鼠在第35天仍保持完全消退,这使组平均肿瘤体积为48mm^3,退出研究。重要的是,第4组经受0.49mg/kg剂量的不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA,其没有如第2组和第3组那样有效地诱导任何持续的肿瘤进展抑制,该组中余下的5/5小鼠具有显著的肿瘤负荷。第4组在第18.35天退出研究,其平均肿瘤体积为748mm^3。0.21mg/kg的蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3ProTIA(第2组)和0.5mg/kg的完整的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(第3组)均被认为是治疗活性的,TGI分别为84%和97%。对于59%的TGI,不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA被认为是无治疗活性的。正如预期的那样,发现完整的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的组平均肿瘤体积与不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA小组的平均肿瘤体积显著不同(student's t检验,p=0.0016)。显然,也发现完整的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA组的平均肿瘤体积与蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA组的平均肿瘤体积显著不同(p=0.002)。结果表明,显著量的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA以0.5mg/kg被存在于体内HCT-116肿瘤环境中的蛋白酶有效地切割成高活性的、未XTEN化的抗EpCAM x抗CD3部分,以赋予显著的观察到的肿瘤消退。该假设得到缺少释放区段底物的不可切割的抗EpCAM x抗CD3ProTIA分子的支持,这导致缺乏持续性肿瘤消退特性(图38)。重要的是,数据还表明抗EpCAM x抗CD3 ProTIA比蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA表现出更好的治疗性接触,因此报告了更持续的肿瘤消退效应。

[0448] 值得注意的是,在所有ProTIA治疗组和媒介物对照组中未观察到显著的体重减轻,表明所有治疗一般都具有良好耐受性(图39)。

[0449] <u>实施例14:在纯化的CD3阳性T细胞的存在下抗EpCAM x抗CD3蛋白酶触发的免疫激活剂(ProTIA)组合物的细胞毒性测定</u>

[0450] 为证明ProTIA分子的细胞毒性活性是由CD3阳性T细胞介导的,不含可释放区段的不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(例如AC1484)和经蛋白酶处理的和未经处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(例如AC1476)在纯化的人CD3阳性T细胞的存在下在SK-OV-3和OVCAR-3人卵巢细胞系中进一步进行了评估。纯化的人CD3阳性T细胞购自BioreclamationIVT,并经使用来自健康供体全血的MagCellect人CD3+ T细胞分离试剂盒通过阴性选择而分离。在该实验中,将纯化的人CD3阳性T细胞与SK-OV-3或OVAR-3卵巢细胞以5:1的比例混合,并将所有三种ProTIA分子作为12点、5x系列稀释剂量曲线在如上所述的LDH测定中进行检测。如预期的那样,发现在SK-OV-3中分布的三种ProTIA分子的活性趋势与用PBMC分析在SK-OV-3中观察到的活性趋势类似(图30)。在人CD3阳性T细胞对SK-OV-3卵巢细胞的细胞毒性杀伤中,未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的活性比蛋白酶处理的ProTIA的活性低56倍(EC_{50}为134pM对比2.4pM);并且不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的活性比蛋白酶切割的ProTIA的活性低>1000倍(EC_{50}为2660pM对比2.4pM)(图40)。在人CD3阳性T细胞对OVCAR-3卵巢细胞的细胞毒性杀伤中,未经处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的活性仅比蛋白酶处理的ProTIA的活性低2倍(EC_{50}为0.7pM对比0.3pM);并且不可切割的抗

EpCAM x抗CD3 ProTIA的活性比蛋白酶切割的ProTIA的活性低287倍(EC_{50}为86pM对比0.3pM)(图41)。结果证明,ProTIA分子的细胞毒活性确实由CD3阳性T细胞介导;并且可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA分子内包含的释放区段对假定从测定混合物中的肿瘤细胞和/或活化的CD3阳性T细胞中释放的蛋白酶的敏感性在细胞系之间可能不同。

[0451] 实施例15:抗EpCAM x抗CD3蛋白酶触发的免疫激活剂(ProTIA)组合物的T细胞活化标志物和细胞因子释放测定

[0452] 为测量抗EpCAM x抗CD3 ProTIA诱导的细胞因子的表达,在96孔圆底板中,将1×10^5个纯化的CD3+细胞与每个测定孔2×10^4个SK-OV-3细胞(即效应物与靶标之比为5:1)以总的终体积为200微升在抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的存在下共培养。在37℃、5%CO_2潮湿培养箱中温育20小时后,收集细胞上清液进行细胞因子测量。该测定也可以用选自HCT-116、Kato III、MDA-MB-453、MCF-7、MKN45、MT3、NCI-N87、SK-Br-3、SW480、OVCAR3和PC3细胞系的其他靶细胞进行,以及用PBMC代替纯化的CD3+细胞。

[0453] 使用人Th1/Th2 Cytokine Cytometric Bead Array(CBA)试剂盒(BD Biosciences目录号550749)按照生产商的说明对分泌至细胞培养上清液中的白细胞介素(IL)-2、IL-4、IL-6、IL-10、肿瘤坏死因子(TNF)-α和干扰素(IFN)-γ的细胞因子分析进行定量。在不存在ProTIA的情况下,预期不会从纯化的CD3+细胞出现高于背景的细胞因子分泌。在EpCAM阳性靶细胞和纯化的CD3+细胞的存在下,预期ProTIA活化T细胞并分泌具有高比例Th1细胞因子如IFN-γ和TNF-α的模式的T细胞因子。

[0454] 如所预期的,抗EpCAM x抗CD3 ProTIA诱导了经评估的所有细胞因子(IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、TNF-α、IFN-γ)的强分泌(见图50-52)。使用SK-OV-3细胞和蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA刺激纯化的CD3+细胞触发了显著的细胞因子表达,尤其是所有经测试的细胞因子在高于20pM的浓度时。相反,当完整的未切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA分子以8至200pM(EC_{50}为4.3nM)的浓度范围使用时检测到IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、TNF-α和IFN-γ的基线水平。另外,当以40pM至1nM的浓度范围使用不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA分子时,检测到所有测试的细胞因子的基线水平。这些数据表明,与其中EpCAM x抗CD3部分从所述组合物中释放的蛋白酶处理的ProTIA相比,完整的ProTIA组合物的XTEN聚合物提供了相当大的屏蔽作用并且阻碍了CD3+ T细胞刺激的细胞因子响应。

[0455] 实施例16:抗EpCAM x抗CD3蛋白酶触发的免疫激活剂(ProTIA)组合物的CD3结合特异性

[0456] 由于ProTIA是双特异性靶向组合物,还针对与人CD3的结合亲和力评估了抗EpCAM x抗CD3 ProTIA组合物的结合能力。这采用CD3εδ/过氧化物酶缀合的蛋白-L夹心ELISA进行测定。在此ELISA中,将重组人CD3(rhCD3εδ)(Creative BioMart目录号CD3E&CD3D-219H)以0.025μg/100μL的浓度包被于96孔平底板上。在4℃温育过夜后,洗涤测定板并在室温下用3%牛血清白蛋白(BSA)封闭1小时。再次洗涤板,随后引入一定剂量范围的不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(例如AC1484)、蛋白酶处理的和未经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(例如AC1476)。所有三种描述的ProTIA所使用的剂量范围为0.002至100nM,其从100nM的起始浓度以1:6倍系列稀释方案来实现。将平板在室温下振荡温育1小时以允许不可切割的、蛋白酶切割的和未经蛋白酶处理的ProTIA与包被在板上的rhCD3εδ结合。经洗涤步骤除去未结合的组分,加入0.05微克/100微升的过氧化物酶缀合的蛋白L(ThermoFisher

Scientific目录号32420)。在适当的温育期后,通过洗涤步骤除去任何未结合的试剂,然后向每个孔中添加四甲基联苯胺(TMB)底物。达到所需的颜色强度后,添加0.2N的硫酸以终止反应,并利用分光光度计在450nm处测量吸光度(OD)。颜色的强度与由rhCD3εδ/蛋白-L夹心ELISA捕获的不可切割的、蛋白酶处理和未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的浓度成比例。将产生的颜色强度(测量的OD)对蛋白质浓度作图;使用GraphPad prism软件利用4-参数逻辑回归方程式得到给出半数最大响应的不可切割的、蛋白酶切割和未切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的浓度(EC_{50})。

[0457] 结果:如图53示出,所述未经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA具有与不可切割的抗EpCAM x抗CD3双特异性ProTIA分子相似的结合活性,其分别具有1800pM和2200pM的EC_{50}。与完整的未经蛋白酶处理的双特异性分子或不可切割的ProTIA分子相比,所述蛋白酶处理的ProTIA对rhCD3εδ配体具有最强的结合活性,EC_{50}为310pM。由于XTEN864阻断部分紧接着位于抗CD3scFv部分之后,相比于与CD3配体结合的ProTIA的切割的和释放的抗CD3scFv部分,XTEN864导致未切割的抗CD3实体对其配体的结合受到约5.8倍的阻碍。

[0458] 实施例17:抗EpCAM x抗CD3蛋白酶触发的免疫激活剂(ProTIA)组合物的结合特异性

[0459] 在靶抗原/生物素缀合的蛋白-L夹心ELISA中,连同对照ProTIA组合物抗CEA x抗CD3 ProTIA(例如AC1432)和抗HER2 x抗CD3 ProTIA(例如AC1408)一起评估抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(例如AC1476)的结合特异性。抗CEA x抗CD3 ProTIA(AC1432)和抗HER2 x抗CD3 ProTIA(AC1408)均具有与抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(AC1476)相同的抗CD3 scFv组分,虽然具有不同的靶向组分。在ELISA结合测定中,重组人EpCAM(rhEpCAM)(R&D Systems目录号960-EP-50)、重组人CEA(Abcam目录号ab742)以及重组人HER2(AcroBiosystems目录号HE2-H525)以0.1微克/100微升的浓度被包被于平底板96孔上。在4℃下过夜温育后,洗涤测定板并在室温下经3%牛血清白蛋白(BSA)封闭1小时。再次洗涤板,随后将一定剂量范围的(0.0007至0.5nM,以0.5nM的起始浓度利用1:3倍系列稀释方案实现)蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(例如AC1476)引入EpCAM包被的孔、CEA包被的孔和HER2包被的孔。作为对照,将蛋白酶处理的抗CEA x抗CD3 ProTIA(AC1432)以相似的剂量范围引入至CEA包被的孔中,并且蛋白酶处理的抗HER2 x抗CD3 ProTIA(AC1408)也以相似的剂量范围引入至HER2包被的孔上。将平板在室温下振荡温育1小时以使各种蛋白酶切割的ProTIA与包被在平板上的各自的抗原结合。用洗涤步骤除去未结合的组分,并添加0.05微克/100微升的生物素缀合的蛋白L(ThermoFisher Scientific目录号29997)。在适当的温育期后,通过洗涤步骤除去任何未结合的试剂,然后向每个孔中加入四甲基联苯胺(TMB)底物。达到所需的颜色强度后,添加0.2N硫酸以终止反应,并使用分光光度计在450nm处测量吸光度(OD)。颜色的强度与由包被在平板上的适当抗原捕获的各自的经蛋白酶处理的ProTIA的浓度成比例。将产生的颜色的强度(测量的OD)对ProTIA浓度作图;并且使用GraphPad prism软件利用4-参数逻辑回归方程得出各自的剂量曲线。

[0460] 结果:如图54所示(以及与图24的结果相当),蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA以剂量依赖性方式与包被在板上的rhEpCAM结合以产生110pM的EC_{50}。类似地,蛋白酶处理的抗CEA x抗CD3 ProTIA以剂量依赖性方式与包被在板上的CEA抗原结合以产生70pM的EC_{50};并且蛋白酶处理的抗HER2x抗CD3 ProTIA以剂量依赖性方式与包被在板上的HER2抗

原结合以产生47pM的C_{50}。值得注意的是，对于与包被在板上的CEA-和HER2-抗原两者结合的蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA，没有观察到剂量依赖性结合，这表明蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA特异性结合EpCAM，但不结合CEA或HER2抗原。因此，该组合物对其靶配体表现出特异性结合亲和力，而不是非特异性结合。

[0461] 实施例18：在早期治疗SW480模型中完整的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA对不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的抗肿瘤特性

[0462] 对于在肿瘤环境中工程化至抗EpCAM x抗CD3 ProTIA分子(例如AC1476)中的释放区段(RS)，以及不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(例如AC1484)、蛋白酶处理的和未经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(例如AC1476)，其蛋白酶敏感性在SW480/PBMC接种的NOD/SCID异种移植模型中进行体内评估。与实施例10和13中描述的研究非常相似，在SW480/PBMC接种(表示为第0天)后一小时，给第1组小鼠注射媒介物(PBS_0.05％吐温80)，给第2组注射0.21mg/kg的蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA，给第3组注射0.5mg/kg的完整的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA，并给第4组注射0.49mg/kg的不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA。所有组(即第1组至第4组)在第1天至第4天每天用四次额外剂量进行治疗。每周两次监测肿瘤体积、体重和临床观察，目标为35天。

[0463] 如图55所示，0.21mg/kg的蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3ProTIA(第2组)、0.5mg/kg的完整抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(第3组)和0.49mg/kg的不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(第4组)均被确定为具有治疗活性，各自的肿瘤生长抑制指数(％TGI)为93％、95％和80％。因此，在等摩尔的剂量下，完整的抗EpCAM x抗CD3ProTIA被肿瘤富含的蛋白酶有效地切割成高活性的释放的抗EpCAM x抗CD3(不与XTEN部分连接)，以显示其与蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA等效的肿瘤消退功效。如所预期的，尽管在抑制肿瘤进展方面有效，但不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA比完整的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA效果差，表明释放区段的存在通过允许抗EpCAM x抗CD3结合域的释放来改善组合物的治疗功效。

[0464] 如图56所示，在SW480异种移植物模型中观察到第2组和第3组体重减轻，提示一些可能的毒性。评估最小有效剂量、减少的给药次数的额外试验和建立的肿瘤模型中的评估将对这一初步观察结果提供更多的信息。

[0008] 实施例19：抗EpCAM x抗CD3蛋白酶触发的免疫激活剂(ProTIA)组合物在OVCAR-3卵巢模型中的抗肿瘤特性。

[0009] 还利用腹膜内植入严重免疫缺陷NSG(NOD.Cg-Prkdc^{scid}.IL2rg^{tm1Wjl}/SzJ)或NOG(NOD/Shi-scid/IL-2Rγ^{null})小鼠的人卵巢OVCAR-3细胞系评估了抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的体内功效。NOG和NSG小鼠的特征在于T、B和NK细胞的缺陷，以及巨噬细胞、树突细胞和补体系统的功能障碍。简而言之，在第0天，向7组的每组5只NOG或NSG小鼠腹膜内植入5-10X 10^6个OVCAR-3细胞，之后在第14天静脉内注射5-10X 10^6个PBMC。在第16天，治疗开始，给第1组注射媒介物(PBS+0.05％吐温80)每日5个剂量(qdx5)，给第2组注射0.21mg/kg的蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA每日5个剂量，给第3组注射1.05mg/kg的蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA每周一次(qw)，给第4组注射0.5mg/kg的未经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA每日5个剂量，给第5组注射2.5mg/kg的未经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA每周一次，给第6组注射0.49mg/kg的不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA每日5个剂量，并且给第7组注射2.45mg/kg的不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA每周一次。所有组在

接下来的一周内经受另一周期的治疗。每天监测小鼠的行为和生存情况，每周两次监测小鼠的体重和腹胀。在第30天、第40天、第50天和第60天收集血液用于CA125测定作为肿瘤发展的迹象。当动物体重从第0天开始增加30％时，将动物定义为达到了研究终点并被处死和解剖。

[0010] 通过体重的增加、腹部直径的增加和循环CA125水平的增加来监测腹膜内腹水的发展来证明OVCAR-3肿瘤的生长。预期蛋白酶切割的和未经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(例如AC1476)均将导致存活的改善以及腹水形成的缺失或延迟。预期未经蛋白酶处理的ProTIA将具有更好的治疗接触，这导致其比蛋白酶处理的ProTIA更有效的抗肿瘤作用和更好的安全性。预期不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA也会延迟肿瘤生长，但其程度远远低于未经蛋白酶处理的和蛋白酶处理的ProTIA的释放区段所证实的程度。

[0011] 实施例20：抗EpCAM x抗CD3蛋白酶触发的免疫激活剂(ProTIA)组合物在OVCAR-3卵巢模型中的PK性质。

[0012] 在OVCAR-3荷瘤BALB/c裸鼠中作为独立金属标记的分子的混合物来评估未经蛋白酶切割的、未经蛋白酶处理的和不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIAs的PK和生物分布曲线。对于每一只经照射的BALB/c裸鼠，在第0天腹膜内注射一千万个OVCAR-3细胞。当明显观察到腹胀时和/或当第0天动物体重增加10-15％时开始治疗。在20只OVCAR-3荷瘤小鼠中，选择18只，并根据它们的个体体重随机分为2组，每组9只动物。向一组9只小鼠静脉内注射1.5mg/kg的包含等摩尔浓度的金属1标记的蛋白酶切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA、金属2标记的未经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA和金属3标记的不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的混合物。向另一组9只动物腹膜内施用1.5mg/kg的相同ProTIA混合物。

[0465] 通过在同一组中的动物(即静脉内和腹膜内给药组)之间的交替，在测试品施用后0.5小时、4小时、8小时、24小时、48小时、第3天、第5天和第7天通过颈静脉/下颌静脉穿刺将血液收集到肝素锂管中。通过在4℃下以1300g离心10分钟将血液加工成血浆并在-80℃下储存直至分析。

[0466] 通过在同一组的动物之间交替，在测试品施用后4小时、8小时、24小时、48小时、第3天、第5天和第7天从静脉内和腹膜内给药组收集腹水。立即将腹水样品在4℃下以300g离心10分钟，

并将液体组分冷冻至-80℃直至分析。

[0467] 每组的三只小鼠在第3天、第5天和第7天处死。收获器官(脑、心脏、肝脏、肺、脾和胰腺)和腹腔中的肿瘤结节，称重、速冻并保存在-80℃直到进行分析。

[0468] 通过ICP-MS(电感耦合等离子体质谱法)分析所有样品(血液、腹水、正常器官和肿瘤组织)。在静脉小组中，预期在腹水中检测到低水平的全部3种ProTIA。在血浆成分中，预期金属2标记的未经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA和金属3标记的不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA表现出比金属1标记的蛋白酶切割的EpCAM x抗CD3 ProTIA更长的全身半衰期。在腹膜内小组内，预期所有3种ProTIA类型均可在腹水中检测到，其中金属2标记的未经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA和金属3标记的不可裂解抗EpCAM x抗CD3 ProTIA比金属1标记的蛋白酶切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA在腹腔中具有更长的保留时间。还预期金属2标记的未经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA将具有比金属3标记的不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA更短的腹膜内半衰期，这是由于在肿瘤负荷的腹膜内

环境中发现的蛋白酶的切割。金属2标记的未经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA和金属3标记的不可切割抗EpCAM x抗CD3 ProTIA将在早期时间点在血浆中被最低限度的检测到，这表明腹膜内施用的分子几乎没有泄漏到体循环中。预期所有3种ProTIA类型均存在于从腹腔提取的肿瘤结节中，但不存在于正常器官中。

[0013] 实施例21：抗EpCAM x抗CD3蛋白酶触发的免疫激活剂(ProTIA)组合物在SK-OV-3卵巢模型中的抗肿瘤特性。

[0014] 还利用腹膜内植入严重免疫缺陷NSG(NOD.Cg-Prkdc^{scid}.IL2rg^{tm1Wjl}/SzJ)或NOG(NOD/Shi-scid/IL-2Rγ^{null})小鼠的人卵巢SK-OV-3细胞系评估了抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的体内功效。NOG和NSG小鼠的特征在于T、B和NK细胞的缺陷，以及巨噬细胞、树突细胞和补体系统的功能障碍。简而言之，在第0天，向7组的每组5只NOG或NSG小鼠腹膜内植入5-10X 10^6个SK-OV-3细胞，之后在第5天腹膜内引入5-10X 10^6个PBMC。在第7天，治疗开始，给第1组注射媒介物(PBS+0.05％吐温80)每日5个剂量(qdx5)，给第2组注射0.21mg/kg的蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA每日5个剂量，给第3组注射1.05mg/kg的蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA每周一次(qw)，给第4组注射0.5mg/kg的未经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA每日5个剂量，给第5组注射mg/kg的未经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA每周一次，给第6组注射0.49mg/kg的不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA每日5个剂量，并给第7组注射2.45mg/kg的不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA每周一次。每天监测小鼠的行为和生存情况，每周两次监测小鼠的体重和腹胀。当动物体重从第0天开始增加30％时，将动物定义为达到了研究终点并被处死和解剖。

[0015] SK-OV-3的生长由体重的增加和腹部直径的增加所监测的腹膜内腹水的发展所证实。预期蛋白酶切割的和未经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA(例如AC1476)将导致生存的改善和腹水形成的缺乏或延迟。还预期未经蛋白酶处理的ProTIA将比蛋白酶处理的ProTIA赋予更好的治疗接触、更有效的抗肿瘤作用和更好的安全性。还预期述不可切割的抗EpCAM x抗CD3延缓肿瘤生长，但其幅度远小于含有未经蛋白酶处理的ProTIA和蛋白酶处理的ProTIA的释放区段所显示的幅度。

[0016] 实施例22：抗EpCAM x抗CD3蛋白酶触发的免疫激活剂(ProTIA)组合物在人恶性腹水样品中的性能

[0469] 从原发性腹膜内EpCAM阳性上皮恶性肿瘤患者收集人恶性腹水，所述患者包括但不限于：晚期的、复发的和难治性的卵巢癌(腺癌和粘液)、结直肠癌、胃癌、胆管癌/胆道肿瘤、法特壶腹癌、胰腺癌和非透明肾细胞癌患者。排除在样品采集前的最后30天内接受化疗、免疫学治疗、生物制剂和/或皮质类固醇治疗的患者。将恶性腹水在室温下以300-400g离心10分钟，并收集流体和沉淀物组分。包括但不限于MMP-9、MMP-2、蛋白裂解酶和uPA的人蛋白酶的浓度，按照制备商的说明使用市售的ELISA试剂盒(人MMP-9，Invitrogen目录号KHC3061或等同物；人MMP-2，Invitrogen目录号KHC3081或等同物；人蛋白裂解酶，Enzo目录号ADI-900-221；和人uPA，Abcam目录号119611)在液体组分中进行定量。在腹水中发现的蛋白酶对完整抗EpCAM x抗CD3(例如AC1476)的切割速率的测定，是通过将已知浓度的ProTIA掺入腹水液体组分中，并在37℃下温育混合物，在指定的时间点0.5小时、2小时、4小时、8小时、24小时、48小时、3天、4天、5天和7天取出等分试样。然后在具有完整的抗EpCAM x抗CD3作为标准的rhEpCAM/生物素化抗XTEN夹心ELISA中分析在各自时间点存在的完整抗EpCAM

x抗CD3 ProTIA的量。

[0470] 简而言之，将0.1微克/100微升每孔的rhEpCAM(R&D Systems，目录号EHH104111)包被于ELISA板(Nunc Maxisorp目录号442404)。在4℃温育过夜后，洗涤ELISA板并在室温下用3%BSA封闭1小时。再次洗涤板，然后适当添加一定剂量范围的完整的未经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA标准品、适当的质量对照和掺入ProTIA的腹水测试样品。让板在室温下振荡温育1小时，以使ProTIA标准品、质量对照和测试样品与包被于板上的rhEpCAM结合。通过几次洗涤移除未结合的组分。以0.1微克/100微升加入生物素化的抗XTEN抗体(Amunix专有抗体)，并将平板在室温温育1小时。洗涤去除未结合的生物素化试剂后，以1:30,000的稀释度添加链霉抗生物素蛋白-HRP(ThermoFisher Scientific目录号21130)，并将板在室温下温育1小时。几次洗涤后，将TMB底物添加至每个孔中。一旦达到所需的颜色强度，添加0.2N硫酸以终止反应，并使用分光光度计在450nm处测量吸光度(OD)。颜色的强度与由rhEpCAM/生物素化的抗XTEN夹心ELISA所捕获的完整ProTIA的浓度成比例。使用SoftMax Pro软件确定存在于腹水测试样品中的完整ProTIA的浓度与完整ProTIA标准曲线的关系。使用GraphPad Prism测定在rhEpCAM/生物素化的抗XTEN夹心ELISA中检测到的完整ProTIA的减少速率(即半衰期)。

[0471] 腹水沉淀物是EpCAM、CD3、CD4、CD8、CA125和CD56表达的表型。检测呈EpCAM和CD3阳性的恶性腹水样品用于蛋白酶处理的和未经蛋白酶处理的ProTIA的细胞毒性分析。简单地说，$1x10^5$个腹水细胞经适量的腹水重建并被粘附于24孔板上24小时，一式三份。用一定剂量浓度的蛋白酶处理的和完整的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA处理细胞48小时，随后按照制备商(Promega Caspase-Glo 3/7目录号G8091)的指导使用发光胱天蛋白酶3/7底物定量胱天蛋白酶3/7。发光信号与胱天蛋白酶-3/7活性成正比，然后将蛋白酶处理的和未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的剂量浓度相对于发光信号作图，并且使用GraphPad prism软件利用4-参数逻辑回归方程得出产生半数最大响应的蛋白质浓度(EC_{50})。预期来源于晚期的、复发的和难治性的EpCAM阳性癌症患者的人恶性腹水将含有对于切割以及随后活化完整的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA以成为发挥强细胞毒性活性的未XTEN化的抗EpCAM x抗CD3部分而言必需的所有组分。作为肿瘤消除的指征，EpCAM阳性细胞的数目减少；还预期T细胞活化标志物如CD69和颗粒酶的增加作为T细胞活化的反映。

[0472] 实施例23：抗EpCAM x抗CD3蛋白酶触发的免疫激活剂(ProTIA)组合物的胱天蛋白酶3/7测定

[0473] 还通过凋亡细胞的胱天蛋白酶3/7活性评估抗EpCAM x抗CD3 ProTIA组合物的重定向细胞毒性。类似于上述的LDH细胞毒性测定，将PBMC或纯化的CD3阳性T细胞与EpCAM阳性肿瘤靶细胞诸如SW480、SK-OV-3和OVAR-3以5个效应物对1个靶标的比例、HCT-116以10:1的比例进行混合；并且所有三个ProTIA形式都如上述LDH测定中一样作为12点、5x系列稀释剂量浓度进行测试。

[0474] 在细胞裂解后，通过发光胱天蛋白酶3/7底物经胱天蛋白酶3/7切割以产生“发光型”发光信号(Promega caspase-Glo 3/7目录号G8091)的量来测量培养上清液中释放的胱天蛋白酶3/7。所述发光量与胱天蛋白酶活性的量成比例。

[0475] 如所预期的，发现在SK-OV-3、OVCAR-3、HCT-116和SW480肿瘤细胞系中的蛋白酶处理的、未经蛋白酶处理的和不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的活性趋势与在LDH测定分

析中观察到的活性相一致。在人PBMC对SK-OV-3卵巢细胞的细胞毒性杀伤中，未处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的活性比蛋白酶处理的ProTIA的活性低12倍(EC_{50}为140pM对比12pM)；而不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的活性比蛋白酶切割的ProTIA的活性低390倍(EC_{50}为4700pM对比12pM)(图57)。在PBMC对OVCAR-3卵巢细胞的细胞毒性杀伤中，蛋白酶未切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的活性比蛋白酶处理的ProTIA的活性低4倍(EC_{50}为9.8pM对比2.5pM)；而不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的活性比蛋白酶切割的ProTIA的活性低420倍(EC_{50}为1043pM对比2.5pM)(图58)。在PBMC对HCT-116结直肠癌细胞的细胞毒性杀伤中，蛋白酶处理的和完整的未经蛋白酶处理的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA具有几乎相似的活性(EC_{50}为1.8pM对比3.6pM)；并且不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的活性比蛋白酶切割的ProTIA的活性低130倍(EC_{50}为240pM对比1.8pM)(图59)。在PBMC对SW480结直肠癌细胞的细胞毒性杀伤中，蛋白酶处理的和未被蛋白酶切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA也表现出类似的活性(EC_{50}为2pM对比1pM)；而不可切割的抗EpCAM x抗CD3 ProTIA的活性比蛋白酶切割的ProTIA活性低70倍(EC_{50}为148pM对比2pM)(图60)。结果表明，不可切割的ProTIA的活性始终比未XTEN化的抗EpCAM x抗CD3部分的活性低。取决于使用的细胞系，完整的未经蛋白酶处理的ProTIA的活性与蛋白酶切割的ProTIA的活性相比，其活性范围从相似至低12倍，这表明所述释放区段与假定从测定混合物中的肿瘤细胞和/或活化的CD3阳性T细胞所释放的蛋白酶之间的敏感性程度的差异。

[0476] 实施例24：使用各种蛋白酶对AC1476 aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN_AE864-His(6)的蛋白水解切割

[0477] 进行该实验以证明，通过包括MMP-2、MMP-9和嗜中性粒细胞弹性蛋白酶在内的多种肿瘤相关蛋白酶，可以在体外切割前面实施例3中描述的aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN_AE864-His(6)AC1476。

[0478] 1.酶激活

[0479] 使用的所有酶均从R&D Systems获得。提供重组嗜中性粒细胞弹性蛋白酶和重组人蛋白裂解酶作为激活酶并储存在-80℃下直至使用。重组小鼠MMP-2和重组小鼠MMP-9作为酶原提供且需要通过4-氨基乙酸苯汞(APMA)激活。首先将APMA溶解于0.1M NaOH中达到10mM的最终浓度，然后使用0.1N HCl将pH重新调节到中性。在50mM Tris、150mM NaCl、10mM $CaCl_2$，pH 7.5中将APMA储备物进一步稀释到2.5mM。为了激活MMP酶原(pro-MMP)，将1mM APMA和100ug/mL MMP酶原在37℃下温育1小时(MMP-2)或3小时(MMP-9)。将甘油添加至活化的酶中至最终浓度为50%，然后将其各自在-20℃下储存。

[0480] 2.酶消化

[0481] 一组酶用于消化AC1476aEpCAM-aCD3-BSRS1-XTEN_AE864-His(6)ProTIA组合物。将10μM底物组合物与各种酶以下酶-底物摩尔比一起温育：MMP-2(1:200)、MMP-9(1:2000)、蛋白裂解酶(1:12.5)和嗜中性粒细胞弹性蛋白酶(1:1000)。反应在37℃下温育2小时，之后通过凝胶加样染料并在80℃加热停止消化。

[0482] 3.切割分析.

[0483] 通过在SDS-PAGE上加载5μg的未消化的和消化的材料并用考马斯蓝染色来进行样品的分析。经每种蛋白酶在BSRS-1释放区段的处理后，底物在SDS-PAGE凝胶中产生可检测的两个片段，其中一个小片段含有aEpCAM-aCD3(活化的具有结合域的第一部分形式)并且

另一个小片段则含有释放的XTEN填充部分，其在SDS-PAGE上比完整形式以稍低的表观分子量迁移。对于还消化释放的XTEN的嗜中性粒细胞弹性蛋白酶，其活化形式在凝胶以及其他较小的片段中被观察到；后者是由于在沿着序列的不同位置对XTEN的切割。结果证实，所有经测试的蛋白酶都按预期切割了构建体，释放了结合域。

表12：嵌合多肽组装体序列

构建体 ID	肿瘤靶标	氨基酸序列
AC1277	CD19	HHHHHHHHDIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSY LNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGTDFTLNIHPV EKVDAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGG SQVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPG QGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSS LASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSSGGG GSDIKLQQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRP GQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSS LTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSVEGGSGGSG GSGGSGGVDDIQLTQSPAIMSASPGEKVTMTCRASSSVSYMNW YQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPYRFSGSGSGTSYSLTISSMEA EDAATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLELKGTAEAASASGLSGRSD

构建体 ID	肿瘤靶标	氨基酸序列
		NHSPLGLAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPAT SGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
AC1278	EpCAM	HHHHHHHHHELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQ KNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTL TISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKLEIKGGGGSGGGGS GGGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWV KQRPGHGLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYM QLSSLTFEDSAVYFCARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSGGGGS DVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPG QGLEWIGYINPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTSTAYMELSSLR SEDTATYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTVTVSSGEGTSTGSGGS GGSGGADDIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYMNWYQQ KPGKAPKRWIYDTSKVASGVPARFSGSGSGTDYSLTINSLEAED AATYYCQQWSSNPLTFGGGTKVEIKGTAEAASASGLSGRSDNHS PLGLAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSE SATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGS PAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG SPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSET PGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSE

构建体 ID	肿瘤靶标	氨基酸序列
		TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
AC1345	EpCAM	HHHHHHHHEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWL GWVKQRPGHGLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSST AYMQLSSLTFEDSAVYFCARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSG GGGSDVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVR QAPGQGLEWIGYINPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTSTAYME LSSLRSEDTATYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTVTVSSGEGTST GSGGSGGSGGADDIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYM NWYQQKPGKAPKRWIYDTSKVASGVPARFSGSGSGTDYSLTINS LEAEDAATYYCQQWSSNPLTFGGGTKVEIKGGGGSELVMTQSPS SLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKL LIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQND YSYPLTFGAGTKLEIKGTAEAASASGLSGRSDNHSPLGLAGSPGS PAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETP GSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATP ESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTE PSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSP AGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGT STEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPES GPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTS TEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPG
AC1346	EpCAM	HHHHHHHHDVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTM HWVRQAPGQGLEWIGYINPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTST AYMELSSLRSEDTATYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTVTVSSG GSELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLTW YQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQA EDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSE VQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWVKQRPGH GLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTF EDSAVYFCARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSGGGSDIVLTQSP ATLSLSPGERATLSCRASQSVSYMNWYQQKPGKAPKRWIYDTS KVASGVPARFSGSGSGTDYSLTINSLEAEDAATYYCQQWSSNPL TFGGGTKVEIKGTAEAASASGLSGRSDNHSPLGLAGSPGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPA TSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGT

构建体 ID	肿瘤靶标	氨基酸序列
		STEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPG SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPA GSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPG
AC1357	EpCAM	HHHHHHHHELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQ KNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTL TISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKLEIKGGGGSGGGGS GGGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWV KQRPGHGLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYM QLSSLTFEDSAVYFCARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSGGGGS DVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPG QGLEWIGYINPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTSTAYMELSSLR SEDTATYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTVTVSSGEGTSTGSGGS GGSGGADDIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYMNWYQQ KPGKAPKRWIYDTSKVASGVPARFSGSGSGTDYSLTINSLEAED AATYYCQQWSSNPLTFGGGTKVEIKGSPGSPAGSPTSTEEGTSES ATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSP AGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGS PAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PG
AC1358	EpCAM	HHHHHHHHELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQ KNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTL TISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKLEIKGGGGSGGGGS GGGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWV

构建体 ID	肿瘤靶标	氨基酸序列
		KQRPGHGLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYM QLSSLTFEDSAVYFCARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSGGGGS DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQ GNTLPWTFGQGTKVEIKRTSGPGDGGKGGPGKGPGGEGTKGTG PGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQA PGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQM NSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGTA EAASASGLSGRSDNHSPLGLAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPT STEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGT STEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSG SETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
AC1359	EpCAM	HHHHHHHHELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQ KNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTL TISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKLEIKGGGGSGGGGS GGGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWV KQRPGHGLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYM QLSSLTFEDSAVYFCARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSGGGGS EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGK GLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSRTSGPG DGGKGGPGKGPGGEGTKGTGPGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEIKGT AEAASASGLSGRSDNHSPLGLAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGT STEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP

构建体 ID	肿瘤靶标	氨基酸序列
		GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTST EEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATS GSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
AC1409	EpCAM	HHHHHHHHGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPES GPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTS TEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGLSGRSDNHSPLGLAGSGTAEAASASGEL VMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLTWYQQK PGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLA VYYCQNDYSYPLTFGAGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLL EQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWVKQRPGHGLEW IGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTFEDSA VYFCARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSGGGGSDVQLVQSGAE VKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGQGLEWIGYINP SRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTSTAYMELSSLRSEDTATYYCA RYYDDHYCLDYWGQGTTVTVSSGEGTSTGSGGSGGSGGADDIV LTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYMNWYQQKPGKAPKRWI YDTSKVASGVPARFSGSGSGTDYSLTINSLEAEDAATYYCQQWS SNPLTFGGGTKVEIKGTAEAASASGLSGRSDNHSPLGLAGSPGSP AGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG SEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPE SGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPA GSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPG
AC1410	EpCAM	GSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPT STEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATS GSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTS ESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG

构建体 ID	肿瘤靶标	氨基酸序列
		TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEE GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGS PTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSES ATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGTSTEPSEGSAPGLSGRSDNHSPLGLAGSGTAEAAS ASGELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLT WYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQ AEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGS EVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWVKQRPG HGLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLT FEDSAVYFCARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSGGGGSDVQLV QSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGQGLEW IGYINPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTSTAYMELSSLRSEDTA TYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTVTVSSGEGTSTGSGGSGGSG GADDIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYMNWYQQKPGK APKRWIYDTSKVASGVPARFSGSGSGTDYSLTINSLEAEDAATY YCQQWSSNPLTFGGGTKVEIKHHHHHHHH
AC1411	EpCAM	HHHHHHHHHELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQ KNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTL TISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKLEIKGGGGSGGGGS GGGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWV KQRPGHGLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYM QLSSLTFEDSAVYFCARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSGGGGS DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYMNWYQQKPGKAPK RWIYDTSKVASGVPARFSGSGSGTDYSLTINSLEAEDAATYYCQ QWSSNPLTFGGGTKVEIKGEGTSTGSGGSGGSGGADDVQLVQS GAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGQGLEWIG YINPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTSTAYMELSSLRSEDTATY YCARYYDDHYCLDYWGQGTTVTVSSGTAEAASASGLSGRSDN HSPLGLAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESAT PESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEG TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA

构建体 ID	肿瘤靶标	氨基酸序列
		PGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSG SETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATS GSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
AC1412	EpCAM	HHHHHHHHEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWL GWVKQRPGHGLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSST AYMQLSSLTFEDSAVYFCARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSG GGGSGGGGSGGGGSELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLL NSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGS GTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKLEIKGGGG SDVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQAP GQGLEWIGYINPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTSTAYMELSSL RSEDTATYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTVTVSSGEGTSTGSGG SGGSGGADDIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYMNWYQ QKPGKAPKRWIYDTSKVASGVPARFSGSGSGTDYSLTINSLEAE DAATYYCQQWSSNPLTFGGGTKVEIKGTAEAASASGLSGRSDN HSPLGLAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESAT PESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPA GSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGT SESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEG TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSG SETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATS GSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
AC1413	EpCAM	HHHHHHHHDVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTM HWVRQAPGQGLEWIGYINPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTST AYMELSSLRSEDTATYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTVTVSSGE GTSTGSGGSGGSGGADDIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSV SYMNWYQQKPGKAPKRWIYDTSKVASGVPARFSGSGSGTDYSL TINSLEAEDAATYYCQQWSSNPLTFGGGTKVEIKGGGGSELVMT QSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYY CQNDYSYPLTFGAGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLEQSG AELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWVKQRPGHGLEWIGDIF PGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTFEDSAVYFC ARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSGTAEAASASGLSGRSDNHSP LGLAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSP

构建体 ID	肿瘤靶标	氨基酸序列
		AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSE SATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGS PAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG SPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSET PGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG
AC1414	EpCAM	HHHHHHHHDIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYMNWY QQKPGKAPKRWIYDTSKVASGVPARFSGSGSGTDYSLTINSLEA EDAATYYCQQWSSNPLTFGGGTKVEIKGEGTSTGSGGSGGSGG ADDVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQA PGQGLEWIGYINPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTSTAYMELSS LRSEDTATYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTVTVSSGGGGSELV MTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLTWYQQKP GQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAV YYCQNDYSYPLTFGAGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLE QSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWVKQRPGHGLEWI GDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTFEDSAV YFCARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSGTAEAASASGLSGRSD NHSPLGLAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATS GSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPAT SGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG

构建体 ID	肿瘤靶标	氨基酸序列
AC1476	EpCAM	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSTKSLLHSNGITYLYWYQQKP GKAPKLLIYQMSNLASGVPSRFSSSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCAQNLEIPRTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAES EPPGEGQVQLVQSGPGLVQPGGSVRISCAASGYTFTNYGMNWV KQAPGKGLEWMGWINTYTGESTYADSFKGRFTFSLDTSASAAY LQINSLRAEDTAVYYCARFAIKGDYWGQGTLLTVSSGGGGSDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLL IYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNT LPWTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKG LEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGTAEAAS ASGLSGRSDNHSPLGLAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGT STEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGHHHHHH
AC1484	EpCAM	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSTKSLLHSNGITYLYWYQQKP GKAPKLLIYQMSNLASGVPSRFSSSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCAQNLEIPRTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAES EPPGEGQVQLVQSGPGLVQPGGSVRISCAASGYTFTNYGMNWV KQAPGKGLEWMGWINTYTGESTYADSFKGRFTFSLDTSASAAY LQINSLRAEDTAVYYCARFAIKGDYWGQGTLLTVSSGGGGSDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLL IYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNT LPWTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKG LEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGSPGSPA GSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGS EPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPES

构建体 ID	肿瘤靶标	氨基酸序列
		GPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAG SPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEG SPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGHHHHHH
AC1489	EpCAM	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKNLLHSNGITYLYWYLQKP GQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFSSSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCAQNLEIPRTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAE SEPPGEGQVQLVQSGPEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNW VRQAPGQGLEWMGWINTYTGEPTYGEDFKGRFAFSLDTSASTA YMELSSLRSEDTAVYFCARFGNYVDYWGQGSLVTVSSGGGGSE LVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQ APRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEY YCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSA ESEPPGEGEVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNW VRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKN TAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTL VTVSSGTAEAASASGLSGRSDNHSPLGLAGSPGSPAGSPTSTEEG TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSET PGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS APGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSE SATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGS PAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTST EEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPE SGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPS EGSAPGHHHHHH
AC1490	EpCAM	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKNLLHSNGITYLYWYLQKP GQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFSSSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCAQNLEIPRTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAE SEPPGEGQVQLVQSGPEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNW

构建体 ID	肿瘤靶标	氨基酸序列
		VRQAPGQGLEWMGWINTYTGEPTYGEDFKGRFAFSLDTSASTA YMELSSLRSEDTAVYFCARFGNYVDYWGQGSLVTVSSGGGGSE LVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQ APRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEY YCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSA ESEPPGEGEVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNW VRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKN TAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTL VTVSSGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSE SATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGS PAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG SPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSET PGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGHHHHHH
AC1507	EpCAM	HHHHHHGGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSE SATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGS PAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG SPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSET PGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPLSGRSDNHSPLGLAGSGTAE AASASGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQ KPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFA TYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGS

构建体 ID	肿瘤靶标	氨基酸序列
		AESEPPGEGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMN WVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVT VSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSTKSLLHSNGITYL YWYQQKPGKAPKLLIYQMSNLASGVPSRFSSSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCAQNLEIPRTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGE TTGGSAESEPPGEGQVQLVQSGPGLVQPGGSVRISCAASGYTFTN YGMNWVKQAPGKGLEWMGWINTYTGESTYADSFKGRFTFSLD TSASAAYLQINSLRAEDTAVYYCARFAIKGDYWGQGTLLTVSS
AC1510	EpCAM	HHHHHHGGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESG PGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPES GPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSP TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESA TPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSE SATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGS PAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG SPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSET PGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSE TPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPDIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRF SGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEIK GATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVS TYNQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGY YGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRSTKSLLHSNGITYLYWYQQKPGKAPKLLIYQMSNLAS GVPSRFSSSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCAQNLEIPRTFGQGT KVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGQVQLVQSGPG LVQPGGSVRISCAASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLEWMGWIN TYTGESTYADSFKGRFTFSLDTSASAAYLQINSLRAEDTAVYYC ARFAIKGDYWGQGTLLTVSS
AC1501	HER2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAP KLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ HYTTPPTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGE GEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLL IYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNT LPWTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE

构建体 ID	肿瘤靶标	氨基酸序列
AC1502	HER2	VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKG LEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGTAEAAS ASGLSGRSDNHSPLGLAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGT STEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEE GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPS EGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEP SEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPA TSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSP AGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGS EPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETP GTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSE TPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGHHHHHH
		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAP KLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ HYTTPPTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGE GEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLL IYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNT LPWTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKG LEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGSPGSPA GSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTS TEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGS EPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPG TSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSET PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPES GPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPE SGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAG SPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGT SESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEG

构建体 ID	肿瘤靶标	氨基酸序列
		SPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGTSTEPSEGSAPGHHHHHH
AC1503	HER2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAP KLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ HYTTPPTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGE GEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSELV VTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPR GLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCA LWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEP PGEGEVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQ APGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAY LQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVS SGTAEAASASGLSGRSDNHSPLGLAGSPGSPAGSPTSTEEGTSES ATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSP AGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGS PAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTE EGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGS APGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATP ESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGS PTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSE SATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPG SEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSA PGHHHHHH
AC1504	HER2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAP KLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ HYTTPPTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGE GEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSELV VTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPR GLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCA LWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEP PGEGEVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQ APGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAY LQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVS SGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSP

构建体 ID	肿瘤靶标	氨基酸序列
		TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTE PSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSE PATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGT SESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPG TSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTE EGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPE SGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATP ESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESAT PESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGS PTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAG SPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSE SATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSP AGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGTSTEPSEGSAPGHHHHHH
AC1505	HER2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAP KLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YYIYPYTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGE GEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSDIQM TQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIY YTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLP WTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQ LVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLE WVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQMNSLRAE DTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGTAEAASAS GLSGRSDNHSPLGLAGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTST EPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGT SESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEG TSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPES GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG SAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSE GSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATS GSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEP SEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAG SPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEP ATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTS TEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGT SESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPG TSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGSETP GSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGHHHHHH

构建体 ID	肿瘤靶标	氨基酸序列
AC1506	HER2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAP KLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YYIYPYTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGE GEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSDIQM TQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIY YTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLP WTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQ LVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLE WVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQMNSLRAE DTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGSPGSPAGSP TSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEP SEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPA TSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTST EPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTS ESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGT STEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPG SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGP GTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSA PGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS APGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGS ETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGSPT STEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPS EGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPAT SGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSES ATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPA GSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTS ESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGT STEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPG TSTEPSEGSAPGHHHHHH

表13:第一部分结合域的序列

构建体 ID	肿瘤靶标	氨基酸序列
AC1277	CD19	HHHHHHHHDIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSY LNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGTDFTLNIHPV EKVDAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGG SQVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPG QGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSS LASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSSGGG GSDIKLQQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRP GQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSS LTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSVEGGSGGSG GSGGSGGVDDIQLTQSPAIMSASPGEKVTMTCRASSSVSYMNW YQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPYRFSGSGSGTSYSLTISSMEA EDAATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLELKGTAEAASASGLSGRSD

构建体 ID	肿瘤靶标	氨基酸序列
		NHSPLG
AC1278	EpCAM	HHHHHHHHELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQ KNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTL TISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKLEIKGGGGSGGGGS GGGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWV KQRPGHGLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYM QLSSLTFEDSAVYFCARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSGGGGS DVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPG QGLEWIGYINPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTSTAYMELSSLR SEDTATYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTVTVSSGEGTSTGSGGS GGSGGADDIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYMNWYQQ KPGKAPKRWIYDTSKVASGVPARFSGSGSGTDYSLTINSLEAED AATYYCQQWSSNPLTFGGGTKVEIKGTAEAASASGLSGRSDNHS PLG
AC1345	EpCAM	HHHHHHHHEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWL GWVKQRPGHGLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSST AYMQLSSLTFEDSAVYFCARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSG GGGSDVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVR QAPGQGLEWIGYINPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTSTAYME LSSLRSEDTATYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTVTVSSGEGTST GSGGSGGSGGADDIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYM NWYQQKPGKAPKRWIYDTSKVASGVPARFSGSGSGTDYSLTINS LEAEDAATYYCQQWSSNPLTFGGGTKVEIKGGGGSELVMTQSPS SLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKL LIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQND YSYPLTFGAGTKLEIKGTAEAASASGLSGRSDNHSPLG
AC1346	EpCAM	HHHHHHHHDVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTM HWVRQAPGQGLEWIGYINPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTST AYMELSSLRSEDTATYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTVTVSSG GSELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLTW YQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQA EDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSE VQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWVKQRPGH GLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTF EDSAVYFCARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSGGGSDIVLTQSP ATLSLSPGERATLSCRASQSVSYMNWYQQKPGKAPKRWIYDTS KVASGVPARFSGSGSGTDYSLTINSLEAEDAATYYCQQWSSNPL TFGGGTKVEIKGTAEAASASGLSGRSDNHSPLG
AC1358	EpCAM	HHHHHHHHELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQ KNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTL TISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKLEIKGGGGSGGGGS GGGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWV KQRPGHGLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYM QLSSLTFEDSAVYFCARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSGGGGS DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQ GNTLPWTFGQGTKVEIKRTSGPGDGGKGGPGKGPGGEGTKGTG PGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQA PGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQM

构建体 ID	肿瘤靶标	氨基酸序列
		NSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGTA EAASASGLSGRSDNHSPLG
AC1359	EpCAM	HHHHHHHHELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQ KNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTL TISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKLEIKGGGGSGGGGS GGGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWV KQRPGHGLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYM QLSSLTFEDSAVYFCARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSGGGGS EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGK GLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQMNSL RAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSRTSGPG DGGKGGPGKGPGGEGTKGTGPGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEIKGT AEAASASGLSGRSDNHSPLG
AC1409	EpCAM	LAGSGTAEAASASGELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLL NSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGS GTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKLEIKGGGG SGGGGSGGGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNY WLGWVKQRPGHGLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKS SSTAYMQLSSLTFEDSAVYFCARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVS SGGGGSDVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHW VRQAPGQGLEWIGYINPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTSTAY MELSSLRSEDTATYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTVTVSSGEGT STGSGGSGGSGGADDIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSY MNWYQQKPGKAPKRWIYDTSKVASGVPARFSGSGSGTDYSLTI NSLEAEDAATYYCQQWSSNPLTFGGGTKVEIKGTAEAASASGLS GRSDNHSPLG
AC1410	EpCAM	LAGSGTAEAASASGELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLL NSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGS GTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKLEIKGGGG SGGGGSGGGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNY WLGWVKQRPGHGLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKS SSTAYMQLSSLTFEDSAVYFCARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVS SGGGGSDVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHW VRQAPGQGLEWIGYINPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTSTAY MELSSLRSEDTATYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTVTVSSGEGT STGSGGSGGSGGADDIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSY MNWYQQKPGKAPKRWIYDTSKVASGVPARFSGSGSGTDYSLTI NSLEAEDAATYYCQQWSSNPLTFGGGTKVEIKHHHHHHHHH
AC1411	EpCAM	HHHHHHHHELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQ KNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTL TISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKLEIKGGGGSGGGGS GGGGSEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWV KQRPGHGLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYM QLSSLTFEDSAVYFCARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSGGGGS DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYMNWYQQKPGKAPK RWIYDTSKVASGVPARFSGSGSGTDYSLTINSLEAEDAATYYCQ QWSSNPLTFGGGTKVEIKGEGTSTGSGGSGGSGGADDVQLVQS

构建体 ID	肿瘤靶标	氨基酸序列
		GAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGQGLEWIG YINPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTSTAYMELSSLRSEDTATY YCARYYDDHYCLDYWGQGTTVTVSSGTAEAASASGLSGRSDN HSPLG
AC1412	EpCAM	HHHHHHHHEVQLLEQSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWL GWVKQRPGHGLEWIGDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSST AYMQLSSLTFEDSAVYFCARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSG GGGSGGGGSGGGGSELVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLL NSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGS GTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKLEIKGGGG SDVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQAP GQGLEWIGYINPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTSTAYMELSSL RSEDTATYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTVTVSSGEGTSTGSGG SGGSGGADDIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYMNWYQ QKPGKAPKRWIYDTSKVASGVPARFSGSGSGTDYSLTINSLEAE DAATYYCQQWSSNPLTFGGGTKVEIKGTAEAASASGLSGRSDN HSPLG
AC1413	EpCAM	HHHHHHHHDVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTM HWVRQAPGQGLEWIGYINPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTST AYMELSSLRSEDTATYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTVTVSSGE GTSTGSGGSGGSGGADDIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSV SYMNWYQQKPGKAPKRWIYDTSKVASGVPARFSGSGSGTDYSL TINSLEAEDAATYYCQQWSSNPLTFGGGTKVEIKGGGGSELVMT QSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLTWYQQKPGQ PPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYY CQNDYSYPLTFGAGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLEQSG AELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWVKQRPGHGLEWIGDIF PGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTFEDSAVYFC ARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSGTAEAASASGLSGRSDNHSP LG
AC1414	EpCAM	HHHHHHHHDIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYMNWY QQKPGKAPKRWIYDTSKVASGVPARFSGSGSGTDYSLTINSLEA EDAATYYCQQWSSNPLTFGGGTKVEIKGEGTSTGSGGSGGSGG ADDVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQA PGQGLEWIGYINPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTSTAYMELSS LRSEDTATYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTVTVSSGGGGSELV MTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLTWYQQKP GQPPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAV YYCQNDYSYPLTFGAGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLE QSGAELVRPGTSVKISCKASGYAFTNYWLGWVKQRPGHGLEWI GDIFPGSGNIHYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTFEDSAV YFCARLRNWDEPMDYWGQGTTVTVSSGTAEAASASGLSGRSD NHSPLG
AC1476	EpCAM	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSTKSLLHSNGITYLYWYQQKP GKAPKLLIYQMSNLASGVPSRFSSSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCAQNLEIPRTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAES EPPGEGQVQLVQSGPGLVQPGGSVRISCAASGYTFTNYGMNWV KQAPGKGLEWMGWINTYTGESTYADSFKGRFTFSLDTSASAAY LQINSLRAEDTAVYYCARFAIKGDYWGQGTLLTVSSGGGGSDIQ

构建体 ID	肿瘤靶标	氨基酸序列
		MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLL IYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNT LPWTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKG LEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGTAEAAS ASGLSGRSDNHSPLG
AC1489	EpCAM	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKNLLHSNGITYLYWYLQKP GQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFSSSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCAQNLEIPRTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAE SEPPGEGQVQLVQSGPEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNW VRQAPGQGLEWMGWINTYTGEPTYGEDFKGRFAFSLDTSASTA YMELSSLRSEDTAVYFCARFGNYVDYWGQGSLVTVSSGGGGSE LVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQ APRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEY YCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSA ESEPPGEGEVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNW VRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKN TAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTL VTVSSGTAEAASASGLSGRSDNHSPLG
AC1507	EpCAM	LAGSGTAEAASASGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRN YLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTIS SLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEIKGATPPETGAETES PGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGY SFTGYTMNWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTI SVDKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDV WGQGTLVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSTKSL LHSNGITYLYWYQQKPGKAPKLLIYQMSNLASGVPSRFSSSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCAQNLEIPRTFGQGTKVEIKGATPPET GAETESPGETTGGSAESEPPGEGQVQLVQSGPGLVQPGGSVRISC AASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLEWMGWINTYTGESTYADSF KGRFTFSLDTSASAAYLQINSLRAEDTAVYYCARFAIKGDYWGQ GTLLTVSS
AC1501	HER2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAP KLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ HYTTPPTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGE GEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLL IYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNT LPWTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGE VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKG LEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGTAEAAS ASGLSGRSDNHSPLG
AC1503	HER2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAP KLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ HYTTPPTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGE

构建体 ID	肿瘤靶标	氨基酸序列
		GEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGK GLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSELV VTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPR GLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCA LWYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEP PGEGEVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQ APGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAY LQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVS SGTAEAASASGLSGRSDNHSPLG
AC1505	HER2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAP KLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YYIYPYTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGE GEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSDIQM TQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIY YTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLP WTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQ LVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLE WVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQMNSLRAE DTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGTAEAASAS GLSGRSDNHSPLG
AC1518	HER2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAP KLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YYIYPYTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGE GEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPG KGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSELVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRG LIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCAL WYSNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPP GEGEVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQA PGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS GTAEAASASGLSGRSDNHSPLG
AC1521	CEA	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTSVAWYQQKPGKAP KLLIYWTSTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQ YSLYRSFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGE GEVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFDFTTYWMSWVRQAPG KGLEWIGEIHPDSSTINYAPSLKDRFTISRDNAKNTLFLQMDSLRP EDTGVYFCASLYFGFPWFAYWGQGTPVTVSSGGGGSDIQMTQS PSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTS RLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWT FGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLV ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLEW VALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQMNSLRAEDT AVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGTAEAASASGL SGRSDNHSPLG

构建体 ID	肿瘤靶标	氨基酸序列
AC1522	PSMA	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTLTCKASQDVGTAVDWYQQKPGPSP KLLIYWASTRHTGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYYCQQ YNSYPLTFGPGTKVDIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGE GEVQLVQSGPEVKKPGATVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQAPGK GLEWIGNINPNNGGTTYNQKFEDKATLTVDKSTDTAYMELSSLR SEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTLLTVSSGGGGSDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRL ESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFG QGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLEWVA LINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQMNSLRAEDTAV YYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSGTAEAASASGLSG RSDNHSPLG

表14:编码嵌合多肽组装体的构建体序列

构建体 ID	肿瘤靶标	DNA 序列
AC1476	EpCAM	gatattcagatgacccaatcgccgtcgtccctgtcagcttcagtcggtgatcgtgttaccattacctgtcg ctcaacgaaatccctgctgcatttcaaacggtattacctatctgtactggtatcagcaaaaaccgggcaaa gcgccgaaactgctgatctaccagatgtcgaatctggccagcggtgttccgtctcgttttagctctagtg gttctggcaccgatttcaccctgacgatttcctcactgcaaccggaagactttgcaacgtattactgcgct cagaacctggaaatcccgcgtaccttcggtcaaggcacgaaagtcgaaattaaaGGTGCAAC GCCTCCGGAGACTGGTGCTGAAACTGAGTCCCCGGGCGAGAC GACCGGTGGCTCTGCTGAATCCGAACCACCGGGCGAAGGCcaa gtgcaactggttcagagcggtccgggtctggtccaaccgggtggcagtgtgcgtatttcctgcgcggc ctcaggttacaccttacgaactatggcatgaattgggtgaaacaggccccgggtaaaggcctggaat ggatgggttggatcaacacctacacgggcgaatctacctatgcagatagtttcaaaggccgcttiaccit cagcctggacacgtctgctagtgcagcttatctgcagattaatagcctgcgtgcggaagatacggccgt ttattactgtgcgcgctttgcaatcaaaggcgactactggggccaaggcaccctgctgaccgtgtcctc cGGTGGTGGCGGCAGCGACATCCAAATGACCCAGAGCCCGAG CAGCCTGAGCGCGAGCGTGGGCGACCGTGTTACCATCACCTG CCGTGCGAGCCAAGACATCCGTAACTACCTGAACTGGTATCA GCAAAAGCCGGGTAAAGCGCCGAAGCTGCTGATCTACTATAC CAGCCGTCTGGAGAGCGGCGTGCCGAGCCGTTTCAGCGGTAG CGGTAGCGGTACCGACTACACCCTGACCATTAGCAGCCTGCA GCCGGAAGATTTCGCGACCTACTATTGCCAGCAGGGTAACAC CCTGCCGTGGACCTTTGGTCAAGGCACCAAAGTTGAGATTAA AGGCGCCACGCCTCCGGAAACTGGTGCTGAGACGGAATCCCC TGGTGAAACCACTGGCGGTTCTGCCGAATCTGAACCGCCTGG TGAAGGCGAGGTGCAGCTGGTTGAAAGCGGTGGCGGTCTGGT GCAACCAGGCGGTAGCCTGCGTCTGAGCTGCGCGGCGAGCGG TTACAGCTTTACCGGTTATACCATGAACTGGGTTCGTCAAGCG CCAGGTAAAGGTCTGGAGTGGGTGGCGCTGATCAACCCGTAC AAGGGTGTTAGCACCTATAACCAGAAGTTCAAAGACCGTTTT ACCATTAGCGTGGATAAGAGCAAAAACACCGCGTACCTGCAA ATGAACAGCCTGCGTGCGGAGGACACCGCTGTGTACTATTGC GCGCGTAGCGGTTACTATGGCGACAGCGACTGGTATTTTGAT

构建体 ID	肿瘤靶标	DNA 序列
		GTGTGGGGCCAAGGCACCCTGGTTACCGTGAGCTCCGGCACC GCCGAAGCAGCTagcgcctctGGCctgTCAggtCGTtctGATaacCATtccC CActgGGTctgGCTGGGTCTCCAGGTAGCCCAGCTGGTAGCCCAA CCTCTACCGAAGAAGGTACCTCTGAATCCGCTACTCCAGAAT CCGGTCCTGGTACTAGCACTGAGCCAAGCGAAGGTTCTGCTC CAGGCTCCCCGGCAGGTAGCCCTACCTCTACCGAAGAGGGCA CTAGCACCGAACCATCTGAGGGTTCCGCTCCTGGCACCTCCAC TGAACCGTCCGAAGGCAGTGCTCCGGGTACTTCCGAAAGCGC AACTCCGGAATCCGGCCCTGGTTCTGAGCCTGCTACTTCCGGC TCTGAAACTCCAGGTAGCGAGCCAGCGACTTCTGGTTCTGAA ACTCCAGGTTCACCGGCGGGTAGCCCGACGAGCACGGAGGAA GGTACCTCTGAGTCGGCCACTCCTGAGTCCGGTCCGGGCACG AGCACCGAGCCGAGCGAGGGTTCAGCCCCGGGTACCAGCACG GAGCCGTCCGAGGGTAGCGCACCGGGTTCTCCGGCGGGCTCC CCTACGTCTACGGAAGAGGGTACGTCCACTGAACCTAGCGAG GGCAGCGCGCCAGGCACCAGCACTGAACCGAGCGAAGGCAG CGCACCTGGCACTAGCGAGTCTGCGACTCCGGAGAGCGGTCC GGGTACGAGCACGGAACCAAGCGAAGGCAGCGCCCCAGGTA CCTCTGAATCTGCTACCCCAGAATCTGGCCCGGGTTCCGAGCC AGCTACCTCTGGTTCTGAAACCCCAGGTACTTCCACTGAACCA AGCGAAGGTAGCGCTCCTGGCACTTCTACTGAACCATCCGAA GGTTCCGCTCCTGGTACGTCTGAAAGCGCTACCCCTGAAAGC GGCCCAGGCACCTCTGAAAGCGCTACTCCTGAGAGCGGTCCA GGCTCTCCAGCAGGTTCTCCAACCTCCACTGAAGAAGGCACC TCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGGTCCTGGCTCCGAACCTG CTACCTCTGGTTCCGAAACTCCAGGTACCTCGGAATCTGCGAC TCCGGAATCTGGCCCGGGCACGAGCACGGAGCCGTCTGAGGG TAGCGCACCAGGTACCAGCACTGAGCCTTCTGAGGGCTCTGC ACCGGGTACCTCCACGGAACCTTCGGAAGGTTCTGCGCCGGG TACCTCCACTGAGCCATCCGAGGGTTCAGCACCAGGTACTAG CACGGAACCGTCCGAGGGCTCTGCACCAGGTACGAGCACCGA ACCGTCGGAGGGTAGCGCTCCAGGTAGCCCAGCGGGCTCTCC GACAAGCACCGAAGAAGGCACCAGCACCGAGCCGTCCGAAG GTTCCGCACCAGGTACAAGCGAGAGCGCGACTCCTGAATCTG GTCCGGGTAGCGAGCCTGCAACCAGCGGTTCTGAGACGCCGG GCACTTCCGAATCTGCGACCCCGGAGTCCGGTCCAGGTTCAG AGCCGGCGACGAGCGGTTCGGAAACGCCGGGTACGTCTGAAT CAGCCACGCCGGAGTCTGGTCCGGGTACCTCGACCGAACCAA GCGAAGGTTCGGCACCGGGTACTAGCGAGAGCGCAACCCCTG AAAGCGGTCCGGGCAGCCCGGCAGGTTCTCCAACCAGCACCG AAGAAGGTTCCCCTGCTGGTAGCCCGACCTCTACGGAGGAAG GTAGCCCTGCAGGTTCCCCAACTTCTACTGAGGAAGGTACTTC TGAGTCCGCTACCCCAGAAAGCGGTCCTGGTACCTCCACTGA ACCGTCTGAAGGCTCTGCACCAGGCACTTCTGAGTCTGCTACT CCAGAAAGCGGCCCAGGTTCTGAACCAGCAACTTCTGGCTCT GAGACTCCAGGCACTTCTGAGTCCGCAACGCCTGAATCCGGT CCTGGTTCTGAACCAGCTACTTCCGGCAGCGAAACCCCAGGT ACCTCTGAGTCTGCGACTCCAGAGTCTGGTCCTGGTACTTCCA CTGAGCCTAGCGAGGGTTCCGCACCAGGTTCTCCGGCTGGTA

构建体 ID	肿瘤靶标	DNA 序列
		GCCCGACCAGCACGGAGGAGGGTACGTCTGAATCTGCAACGC CGGAATCGGGCCCAGGTTCGGAGCCTGCAACGTCTGGCAGCG AAACCCCGGGTACCTCCGAATCTGCTACACCGGAAAGCGGTC CTGGCAGCCCTGCTGGTTCTCCAACCTCTACCGAGGAGGGTTC ACCGGCAGGTAGCCCGACTAGCACTGAAGAAGGTACTAGCAC GGAGCCGAGCGAGGGTAGTGCTCCGGGTACGAGCGAGAGCG CAACGCCAGAGAGCGGTCCAGGCACCAGCGAATCGGCCACCC CTGAGAGCGGCCCAGGTACTTCTGAGAGCGCCACTCCTGAAT CCGGCCCTGGTAGCGAGCCGGCAACCTCCGGCTCAGAAACTC CTGGTTCGGAACCAGCGACCAGCGGTTCTGAAACTCCGGGTA GCCCGGCAGGCAGCCCAACGAGCACCGAAGAGGGTACCAGC ACGGAACCGAGCGAGGGTTCTGCCCCGGGTACTTCCACCGAA CCATCGGAGGGCTCTGCACCTGGTAGCGAACCTGCGACGTCT GGTTCTGAAACGCCGGGTACCAGCGAAAGCGCTACCCCAGAA TCCGGTCCGGGCACTAGCACCGAGCCATCGGAGGGCTCCGCA CCAGGTCACCATCATCACCATCAC
AC1516(通过 DNA2.0 优化的密码子)	EpCAM	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCTTCTTCCCTGTCCGCATCCG TCGGCGATCGTGTCACGATTACCTGTCGCAGCACTAAGAGCC TGCTGCACTCAAACGGTATCACGTACCTGTACTGGTACCAGC AGAAGCCGGGCAAAGCGCCGAAGCTGCTGATTTATCAGATGA GCAACCTGGCATCGGGCGTGCCGAGCCGTTTCAGCAGCAGCG GTAGCGGTACCGACTTCACGCTGACCATCAGCTCGTTGCAGC CAGAGGACTTTGCGACGTACTATTGTGCGCAAAACTTGGAAA TTCCGCGCACCTTCGGCCAGGGTACGAAAGTTGAGATTAAAG GTGCCACCCCACCGGAGACTGGTGCAGAAACCGAGTCTCCGG GCGAAACCACGGGCGGTAGCGCGGAGAGCGAACCGCCTGGT GAGGGTCAAGTTCAATTGGTTCAGAGCGGTCCGGGTCTGGTT CAACCGGGCGGCAGCGTGCGCATTTCTTGTGCGGCCAGCGGT TACACCTTTACGAACTACGGTATGAATTGGGTGAAACAAGCT CCGGGCAAAGGTCTGGAGTGGATGGGTTGGATCAATACCTAT ACCGGTGAATCCACTTACGCGGATTCCTTTAAGGGCCGTTTCA CCTTCAGCCTGGACACGAGCGCGAGCGCTGCATATCTGCAAA TCAATAGCCTGCGTGCCGAAGATACCGCGGTGTACTATTGCG CGCGTTTTGCAATCAAGGGCGACTATTGGGGTCAAGGCACGC TGCTGACCGTGAGCAGCGGTGGTGGCGGCAGCGATATCCAAA TGACCCAATCCCCATCCTCCCTGTCTGCAAGCGTTGGTGATCG TGTGACGATTACGTGCCGTGCCTCCCAAGATATCCGTAACTAC CTGAATTGGTATCAGCAGAAACCGGGCAAGGCTCCGAAATTG CTGATCTACTACACCAGCCGCCTGGAGTCGGGTGTGCCTAGC CGCTTCAGCGGCAGCGGTTCGGGTACCGACTATACCTTGACC ATTAGCAGCCTGCAGCCGGAAGATTTCGCGACGTATTACTGC CAACAGGGTAACACGCTGCCGTGGACCTTTGGCCAAGGTACC AAAGTCGAGATTAAGGGTGCGACCCCGCCGGAAACCGGTGCG GAAACCGAGAGCCCGGGTGAAACGACTGGCGGCTCTGCAGA GAGCGAGCCGCCAGGTGAGGGCGAAGTCCAACTGGTCGAGTC TGGTGGCGGCCTGGTGCAACCGGGTGGCAGCCTGCGTCTGAG CTGCGCTGCGAGCGGCTATAGCTTTACCGGTTATACCATGAAC TGGGTTCGCCAGGCACCGGGTAAGGGTCTGGAATGGGTGGCG CTGATCAATCCGTACAAAGGTGTGAGCACTTACAATCAGAAA

构建体 ID	肿瘤靶标	DNA 序列
		TTCAAAGACCGTTTCACCATTAGCGTTGACAAGAGCAAGAAT ACCGCGTATCTGCAGATGAACAGCTTGCGCGCCGAGGATACG GCCGTTTACTACTGTGCACGTAGCGGCTATTACGGTGACAGC GACTGGTACTTTGACGTCTGGGGTCAGGGCACGCTGGTCACC GTTAGCAGCGGCACCGCCGAAGCAGCTagcgcctctGGCctgTCAggt CGTtctGATaacCATtccCCActgGGTctgGCTGGGTCTCCAGGTAGCC CAGCTGGTAGCCCAACCTCTACCGAAGAAGGTACCTCTGAAT CCGCTACTCCAGAATCCGGTCCTGGTACTAGCACTGAGCCAA GCGAAGGTTCTGCTCCAGGCTCCCCGGCAGGTAGCCCTACCT CTACCGAAGAGGGCACTAGCACCGAACCATCTGAGGGTTCCG CTCCTGGCACCTCCACTGAACCGTCCGAAGGCAGTGCTCCGG GTACTTCCGAAAGCGCAACTCCGGAATCCGGCCCTGGTTCTG AGCCTGCTACTTCCGGCTCTGAAACTCCAGGTAGCGAGCCAG CGACTTCTGGTTCTGAAACTCCAGGTTCACCGGCGGGTAGCCC GACGAGCACGGAGGAAGGTACCTCTGAGTCGGCCACTCCTGA GTCCGGTCCGGGCACGAGCACCGAGCCGAGCGAGGGTTCAGC CCCGGGTACCAGCACGGAGCCGTCCGAGGGTAGCGCACCGGG TTCTCCGGCGGGCTCCCCTACGTCTACGGAAGAGGGTACGTC CACTGAACCTAGCGAGGGCAGCGCGCCAGGCACCAGCACTGA ACCGAGCGAAGGCAGCGCACCTGGCACTAGCGAGTCTGCGAC TCCGGAGAGCGGTCCGGGTACGAGCACGGAACCAAGCGAAG GCAGCGCCCCAGGTACCTCTGAATCTGCTACCCCAGAATCTG GCCCGGGTTCCGAGCCAGCTACCTCTGGTTCTGAAACCCCAG GTACTTCCACTGAACCAAGCGAAGGTAGCGCTCCTGGCACTT CTACTGAACCATCCGAAGGTTCCGCTCCTGGTACGTCTGAAA GCGCTACCCCTGAAAGCGGCCCAGGCACCTCTGAAAGCGCTA CTCCTGAGAGCGGTCCAGGCTCTCCAGCAGGTTCTCCAACCTC CACTGAAGAAGGCACCTCTGAGTCTGCTACCCCTGAATCTGG TCCTGGCTCCGAACCTGCTACCTCTGGTTCCGAAACTCCAGGT ACCTCGGAATCTGCGACTCCGGAATCTGGCCCGGGCACGAGC ACGGAGCCGTCTGAGGGTAGCGCACCAGGTACCAGCACTGAG CCTTCTGAGGGCTCTGCACCGGGTACCTCCACGGAACCTTCGG AAGGTTCTGCGCCGGGTACCTCCACTGAGCCATCCGAGGGTT CAGCACCAGGTACTAGCACGGAACCGTCCGAGGGCTCTGCAC CAGGTACGAGCACCGAACCGTCGGAGGGTAGCGCTCCAGGTA GCCCAGCGGGCTCTCCGACAAGCACCGAAGAAGGCACCAGC ACCGAGCCGTCCGAAGGTTCCGCACCAGGTACAAGCGAGAGC GCGACTCCTGAATCTGGTCCGGGTAGCGAGCCTGCAACCAGC GGTTCTGAGACGCCGGGCACTTCCGAATCTGCGACCCCGGAG TCCGGTCCAGGTTCAGAGCCGGCGACGAGCGGTTCGGAAACG CCGGGTACGTCTGAATCAGCCACGCCGGAGTCTGGTCCGGGT ACCTCGACCGAACCAAGCGAAGGTTCGGCACCGGGTACTAGC GAGAGCGCAACCCCTGAAAGCGGTCCGGGCAGCCCGGCAGG TTCTCCAACCAGCACCGAAGAAGGTTCCCCTGCTGGTAGCCC GACCTCTACGGAGGAAGGTAGCCCTGCAGGTTCCCCAACTTC TACTGAGGAAGGTACTTCTGAGTCCGCTACCCCAGAAAGCGG TCCTGGTACCTCCACTGAACCGTCTGAAGGCTCTGCACCAGGC ACTTCTGAGTCTGCTACTCCAGAAAGCGGCCCAGGTTCTGAA CCAGCAACTTCTGGCTCTGAGACTCCAGGCACTTCTGAGTCCG

构建体 ID	肿瘤靶标	DNA 序列
		CAACGCCTGAATCCGGTCCTGGTTCTGAACCAGCTACTTCCGG CAGCGAAACCCCAGGTACCTCTGAGTCTGCGACTCCAGAGTC TGGTCCTGGTACTTCCACTGAGCCTAGCGAGGGTTCCGCACCA GGTTCTCCGGCTGGTAGCCCGACCAGCACGGAGGAGGGTACG TCTGAATCTGCAACGCCGGAATCGGGCCCAGGTTCGGAGCCT GCAACGTCTGGCAGCGAAACCCCGGGTACCTCCGAATCTGCT ACACCGGAAAGCGGTCCTGGCAGCCCTGCTGGTTCTCCAACC TCTACCGAGGAGGGTTCACCGGCAGGTAGCCCGACTAGCACT GAAGAAGGTACTAGCACGGAGCCGAGCGAGGGTAGTGCTCC GGGTACGAGCGAGAGCGCAACGCCAGAGAGCGGTCCAGGCA CCAGCGAATCGGCCACCCCTGAGAGCGGCCCAGGTACTTCTG AGAGCGCCACTCCTGAATCCGGCCCTGGTAGCGAGCCGGCAA CCTCCGGCTCAGAAACTCCTGGTTCGGAACCAGCGACCAGCG GTTCTGAAACTCCGGGTAGCCCGGCAGGCAGCCCAACGAGCA CCGAAGAGGGTACCAGCACGGAACCGAGCGAGGGTTCTGCCC CGGGTACTTCCACCGAACCATCGGAGGGCTCTGCACCTGGTA GCGAACCTGCGACGTCTGGTTCTGAAACGCCGGGTACCAGCG AAAGCGCTACCCCAGAATCCGGTCCGGGCACTAGCACCGAGC CATCGGAGGGCTCCGCACCAGGTCACCATCATCACCATCAC

效应细胞抗原

效应细胞表面上的抗原（受体）

效应细胞结合部分

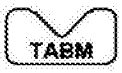
特异性结合至效应细胞抗原的结合部分（蛋白质结构域、肽、合成配体）

效应细胞

能够杀伤或抑制肿瘤细胞或作为肿瘤组织一部分的细胞中的细胞。效应细胞可以是T细胞、NK细胞。

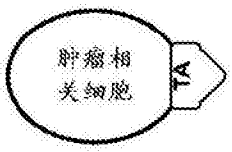
肿瘤抗原

在源自肿瘤的细胞上过度表达的抗原（受体）。



肿瘤抗原结合部分

特异性结合至肿瘤抗原的结合部分（蛋白质结构域、肽、合成配体）。



肿瘤相关细胞

作为肿瘤的一部分的细胞，其可为肿瘤细胞或其他肿瘤类型，诸如形成肿块的基质细胞。

填充部分

填充部分是尺寸大于ECBM和TABM的蛋白质或聚合物。BD可以是白蛋白、白蛋白结合结构域、Fc、PEG、XTEN。

释放位点

释放位点是可经肿瘤相关蛋白酶切割的氨基酸序列。

肿瘤相关蛋白酶

肿瘤相关蛋白酶在肿瘤组织细胞外空间存在的蛋白水解酶。

ProTIA

蛋白酶触发的免疫活化剂

前体形式的ProTIA

在蛋白酶催化触发之前的ProTIA分子

载脂形式的ProTIA

由于蛋白酶催化触发而失去了其填充结构域的ProTIA分子

图1

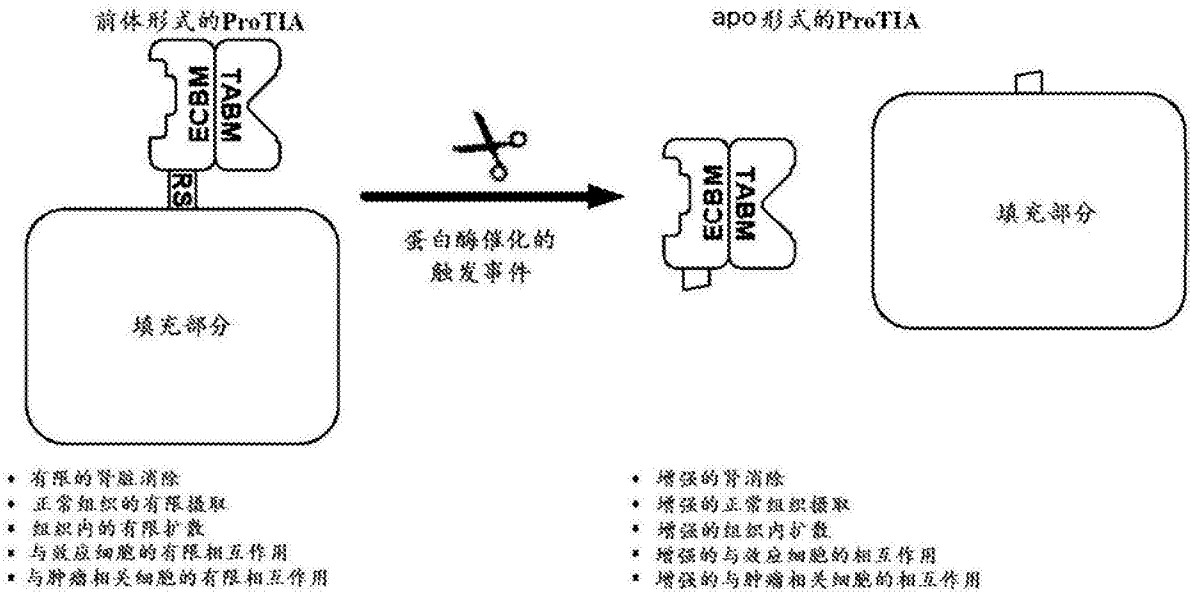

前体形式的ProTIA
ECBM
TABM
RS
填充部分
蛋白酶催化的
触发事件
apo形式的ProTIA
ECBM
TABM
填充部分
• 有限的肾脏消除
• 正常组织的有限摄取
• 组织内的有限扩散
• 与效应细胞的有限相互作用
• 与肿瘤相关细胞的有限相互作用
• 增强的肾消除
• 增强的正常组织摄取
• 增强的组织内扩散
• 增强的与效应细胞的相互作用
• 增强的与肿瘤相关细胞的相互作用

图2

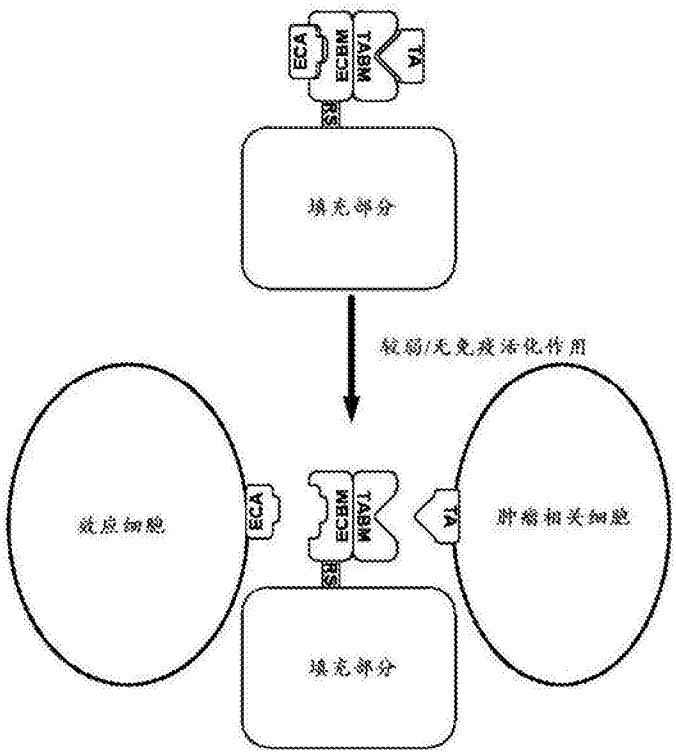

ECA
ECBM
TABM
TA
RS
填充部分
被弱/无免疫活化作用
效应细胞
ECA
ECBM
TABM
TA
肿瘤相关细胞
RS
填充部分

图3A

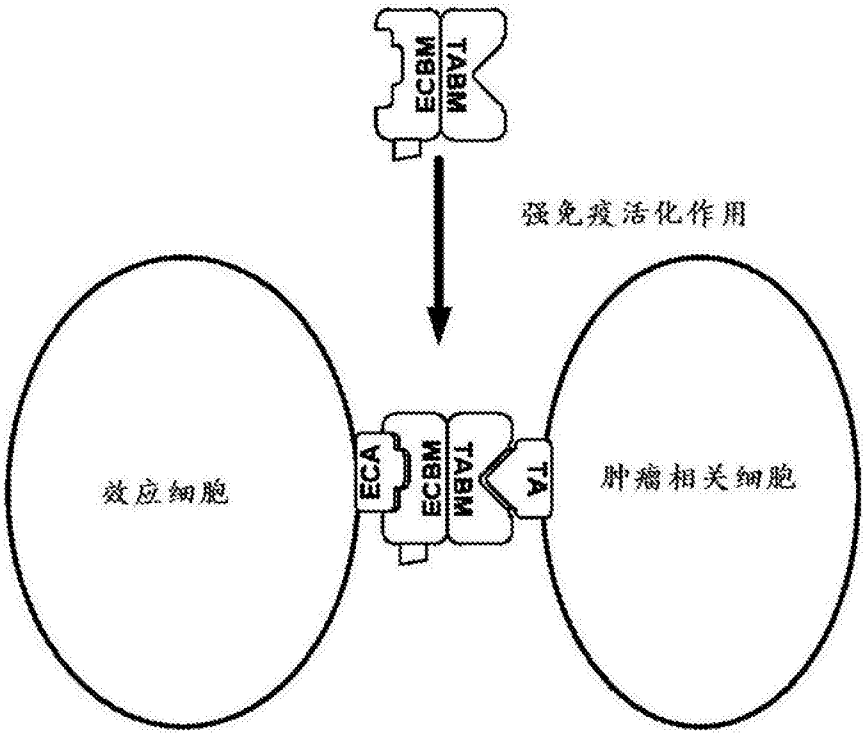

ECBM
TABM
强免疫活化作用
效应细胞
ECA
ECBM
TABM
TA
肿瘤相关细胞

图3B

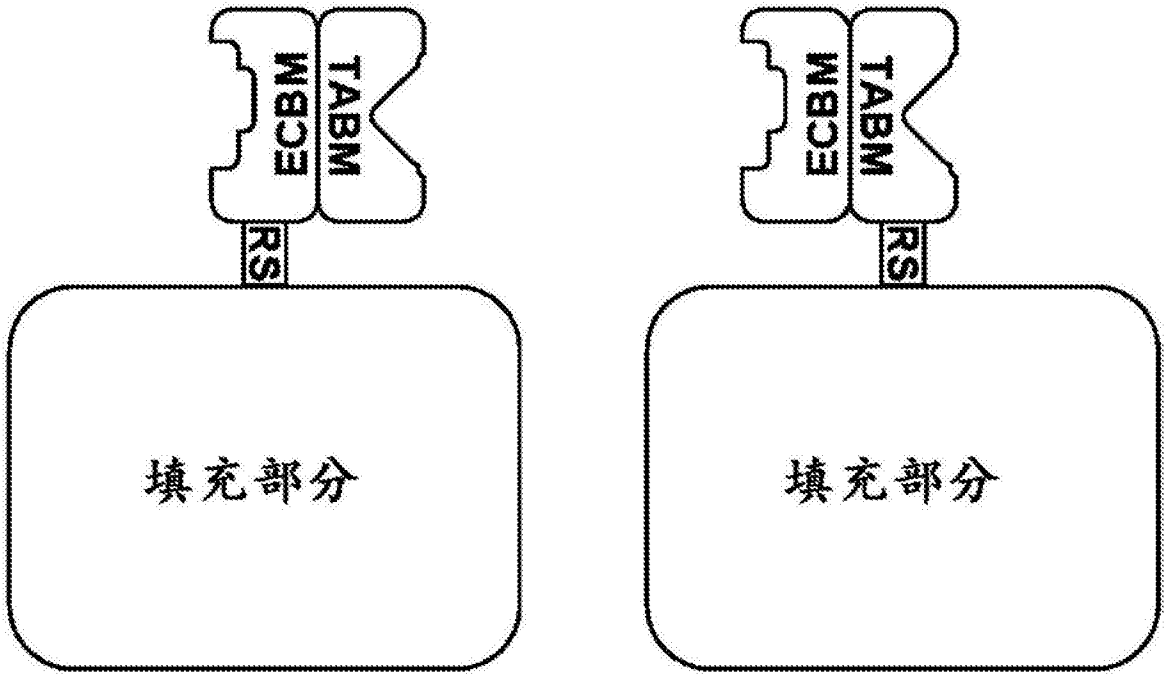

ECBM
TABM
RS
填充部分
ECBM
TABM
RS
填充部分

图4

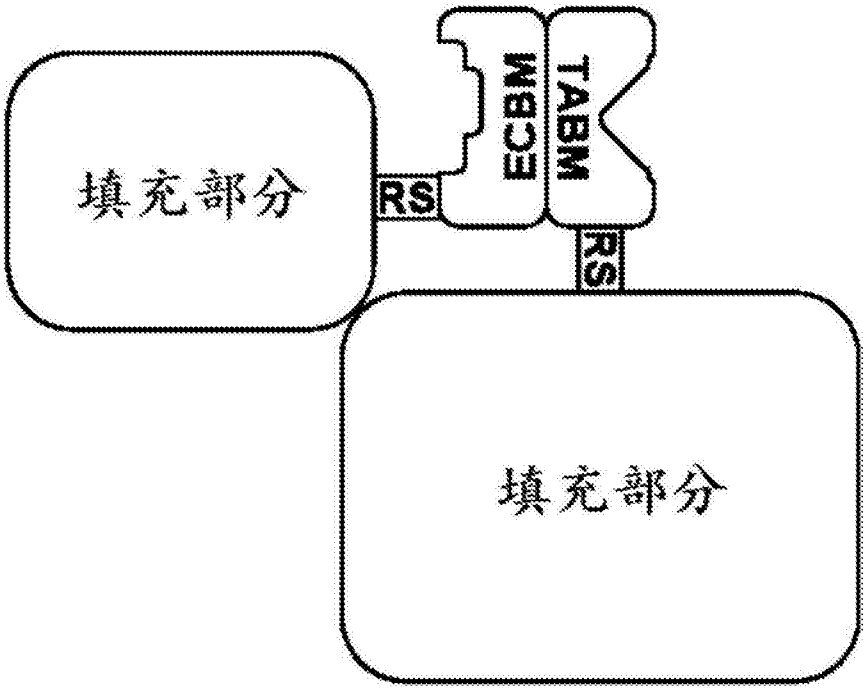

填充部分
RS
ECBM
TABM
RS
填充部分

图5A

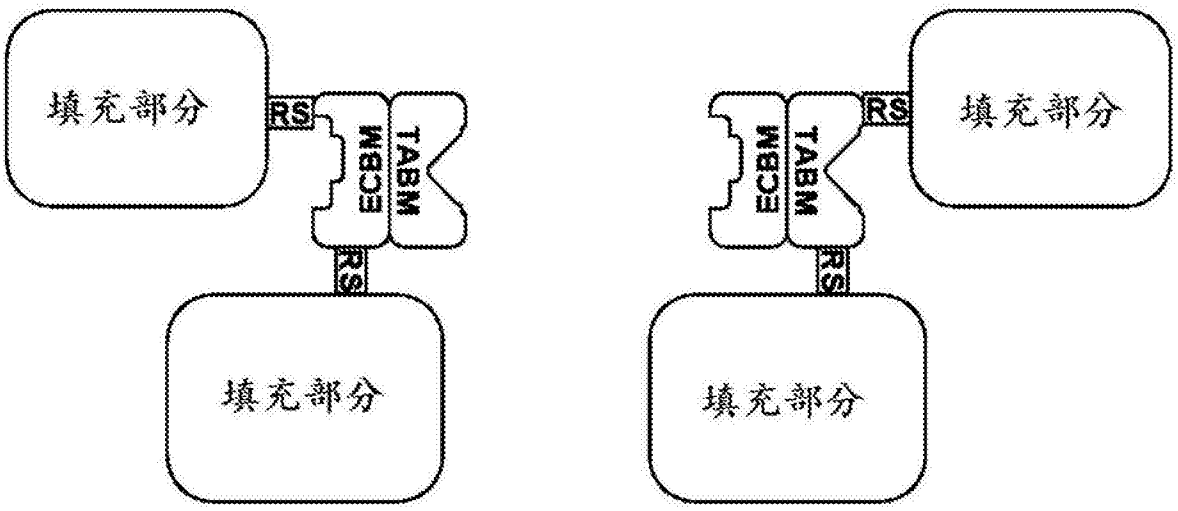

填充部分
RS
ECBM
TABM
RS
填充部分
RS
ECBM
TABM
RS
填充部分
填充部分

图5B

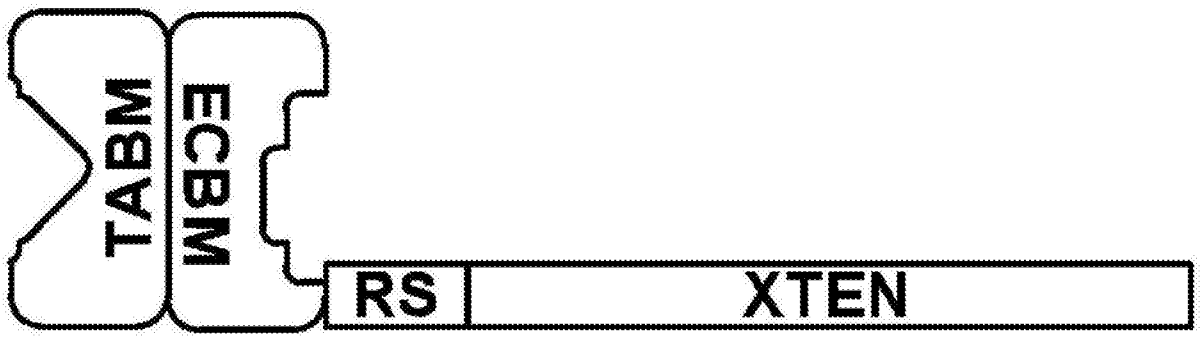


图6A

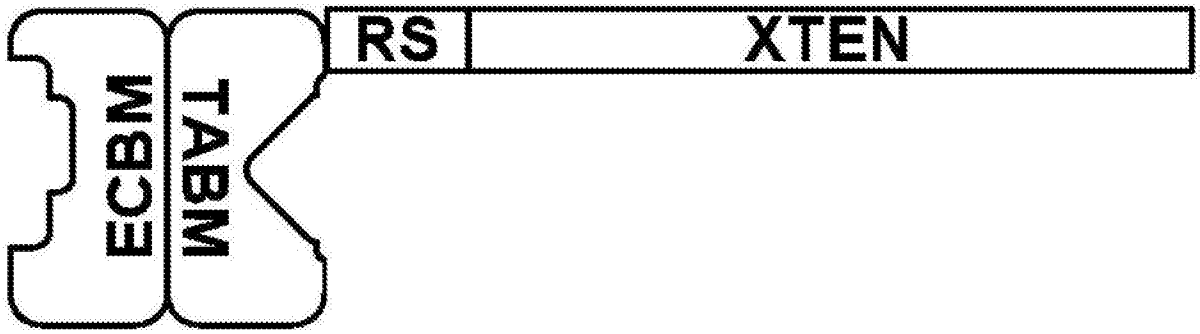


图6B

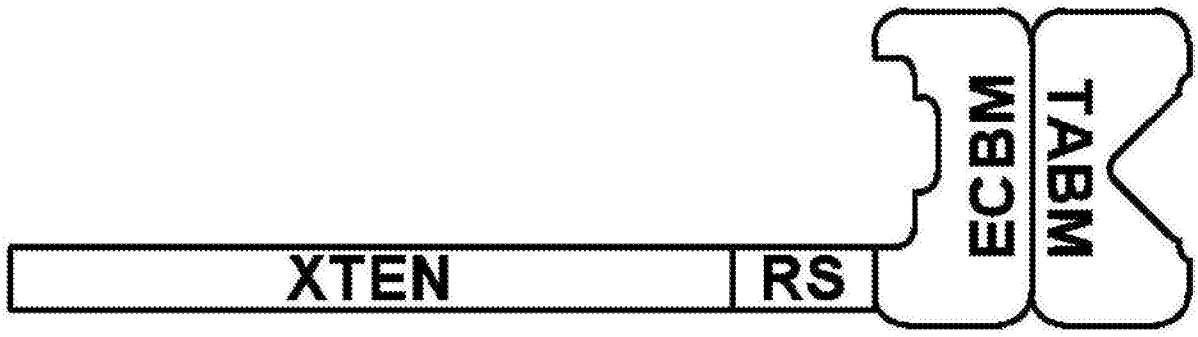


图6C

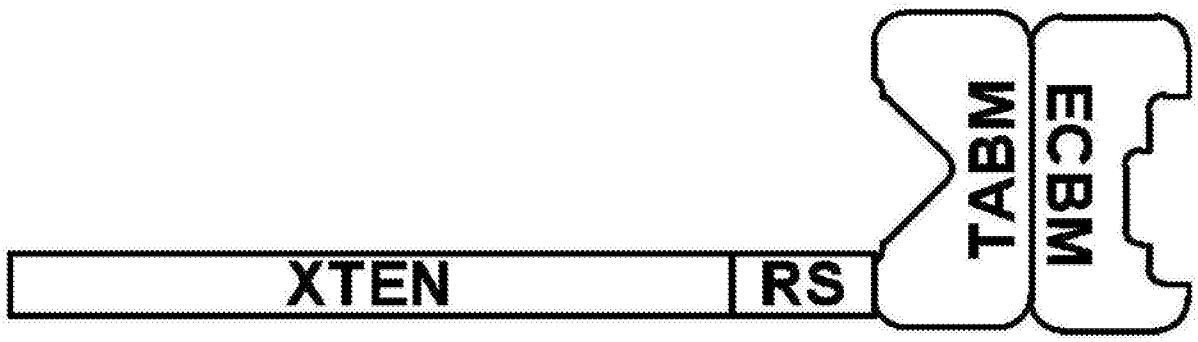


图6D

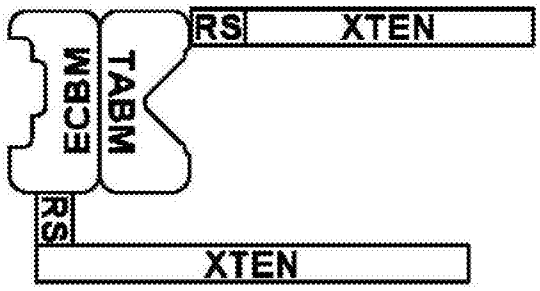


图7A

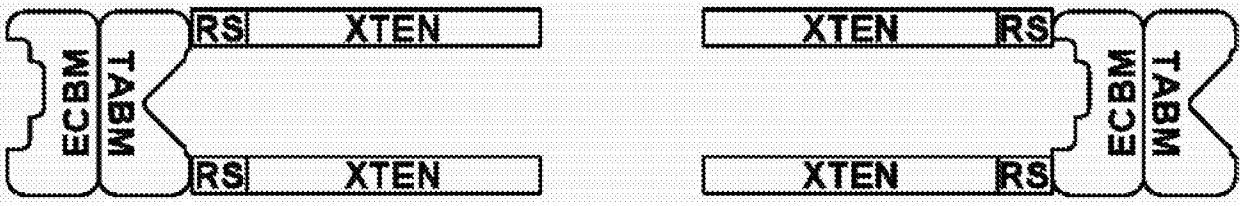


图7B

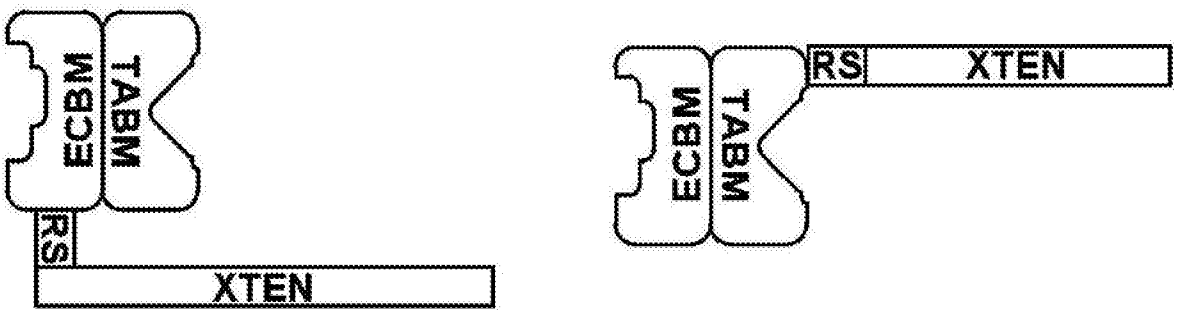


图8A

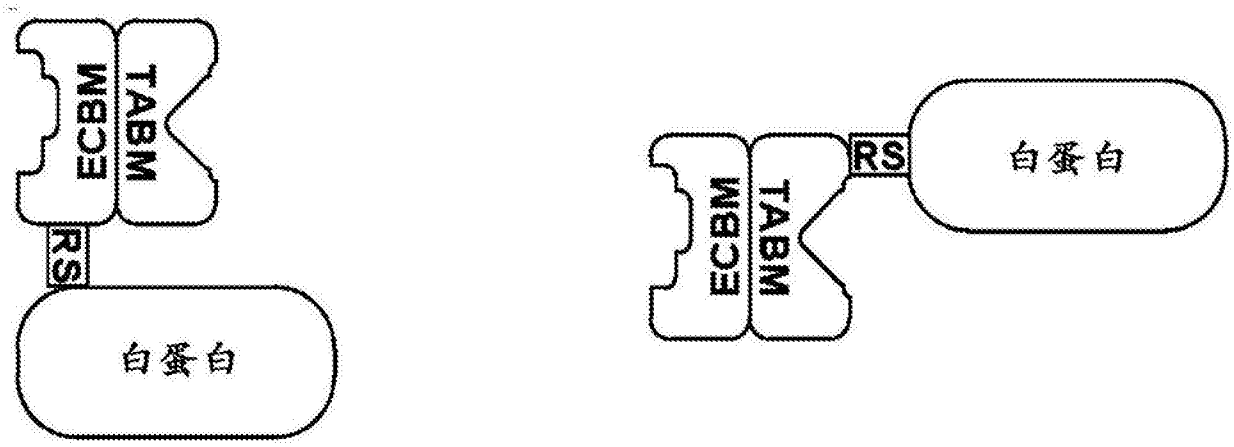

ECBM
TABM
RS
白蛋白
ECBM
TABM
RS
白蛋白

图8B

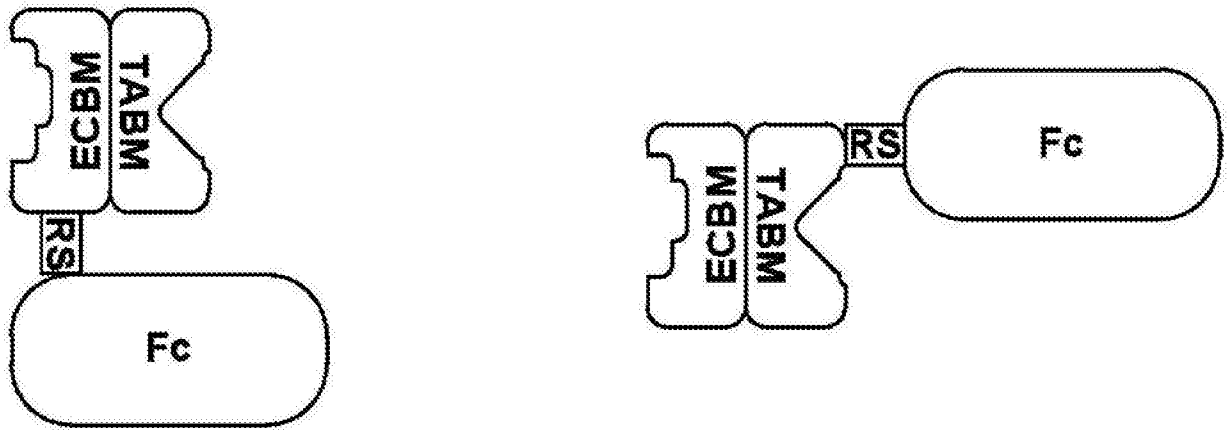

ECBM
TABM
RS
Fc
ECBM
TABM
RS
Fc

图8C

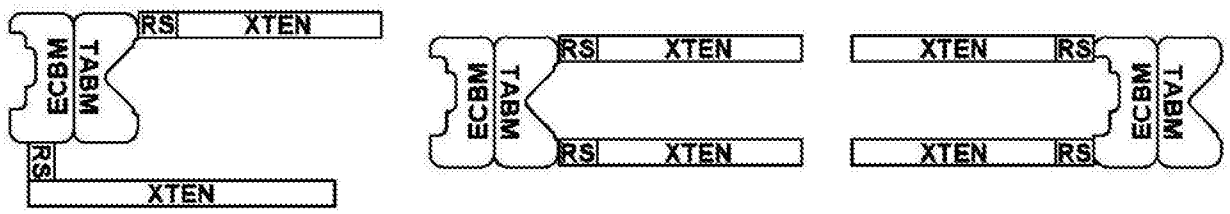

ECBM
TABM
RS
XTEN
RS
XTEN
ECBM
TABM
RS
XTEN
RS
XTEN
XTEN
RS
XTEN
RS
ECBM
TABM

图9A

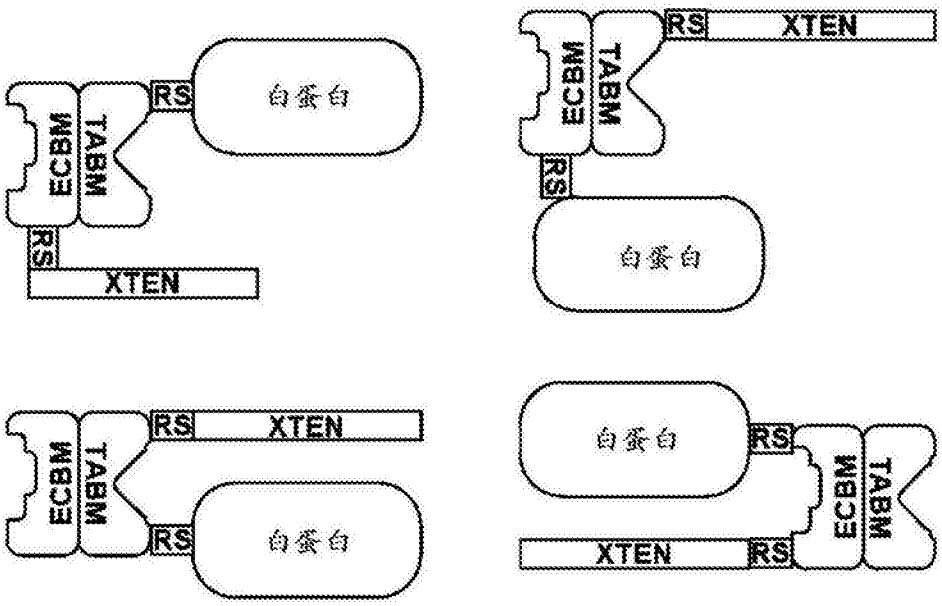


图9B

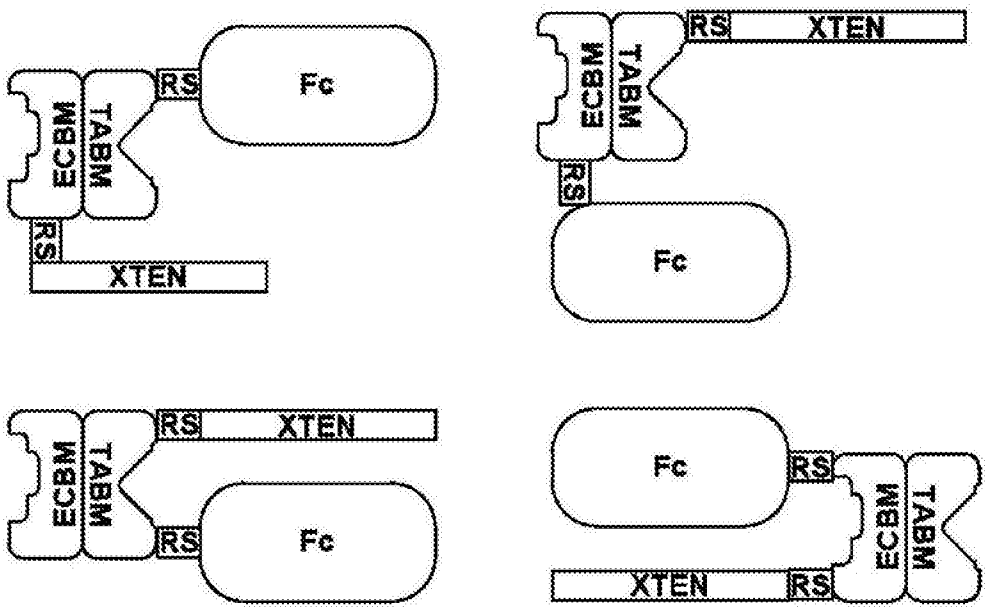


图9C

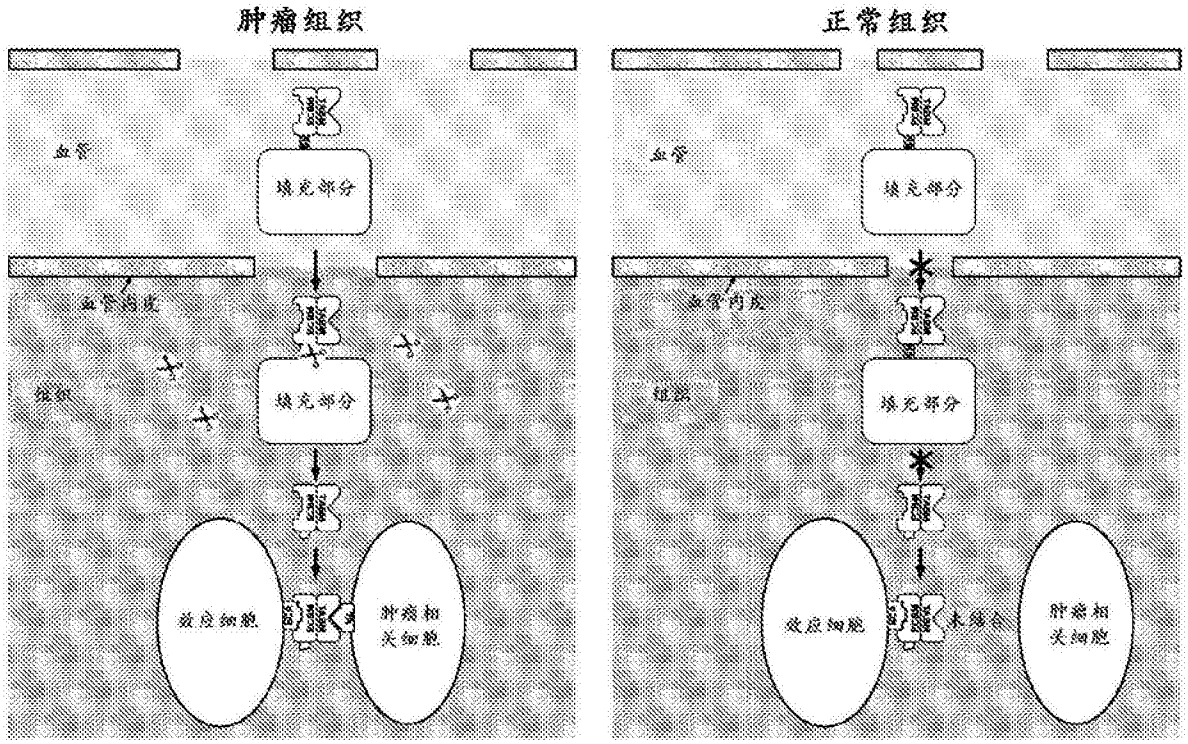

肿瘤组织
血管
填充部分
血管内皮
组织
填充部分
效应细胞
肿瘤相关细胞
正常组织
血管
填充部分
血管内皮
组织
填充部分
效应细胞
未结合
肿瘤相关细胞

图10

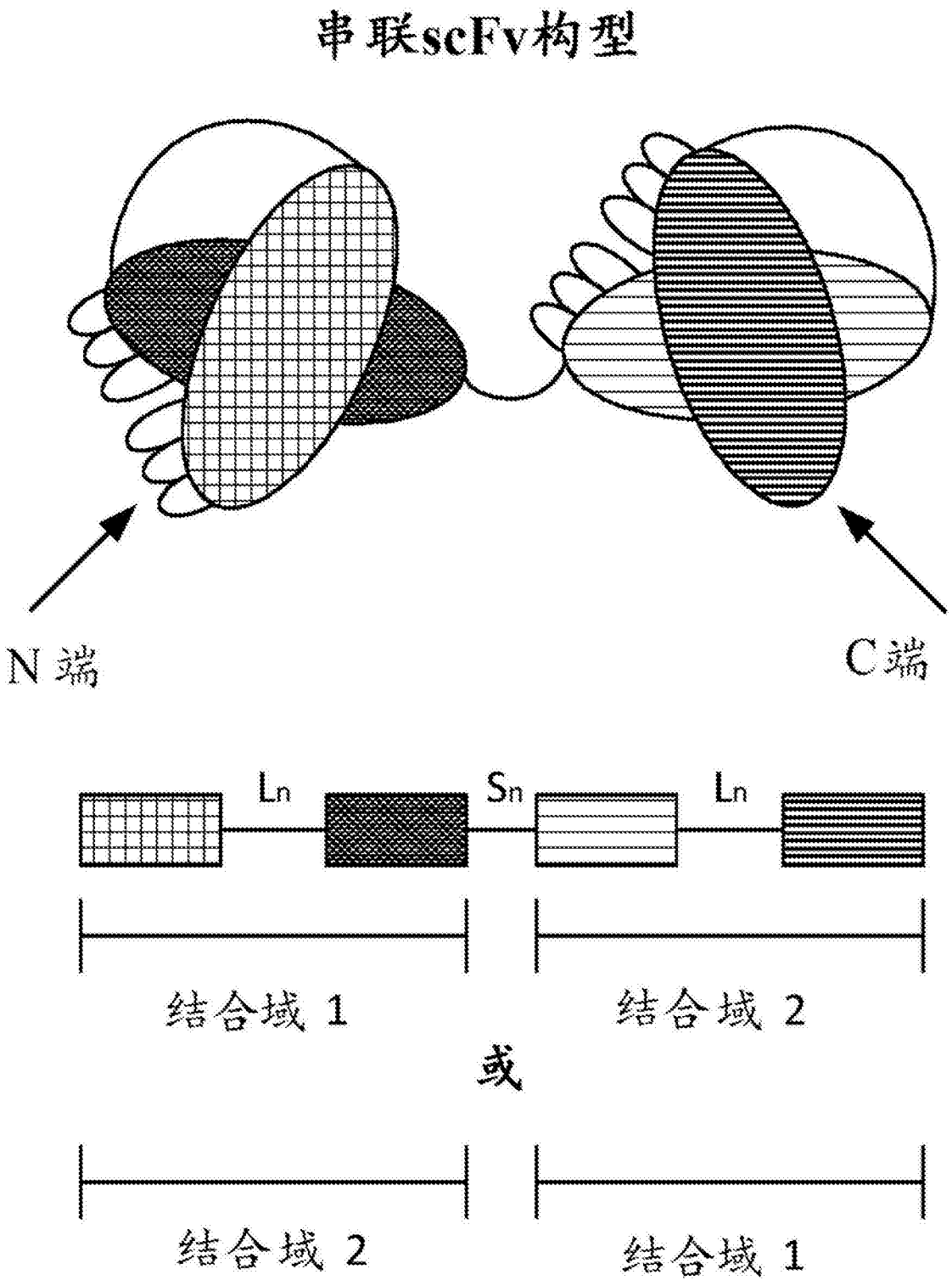


图11

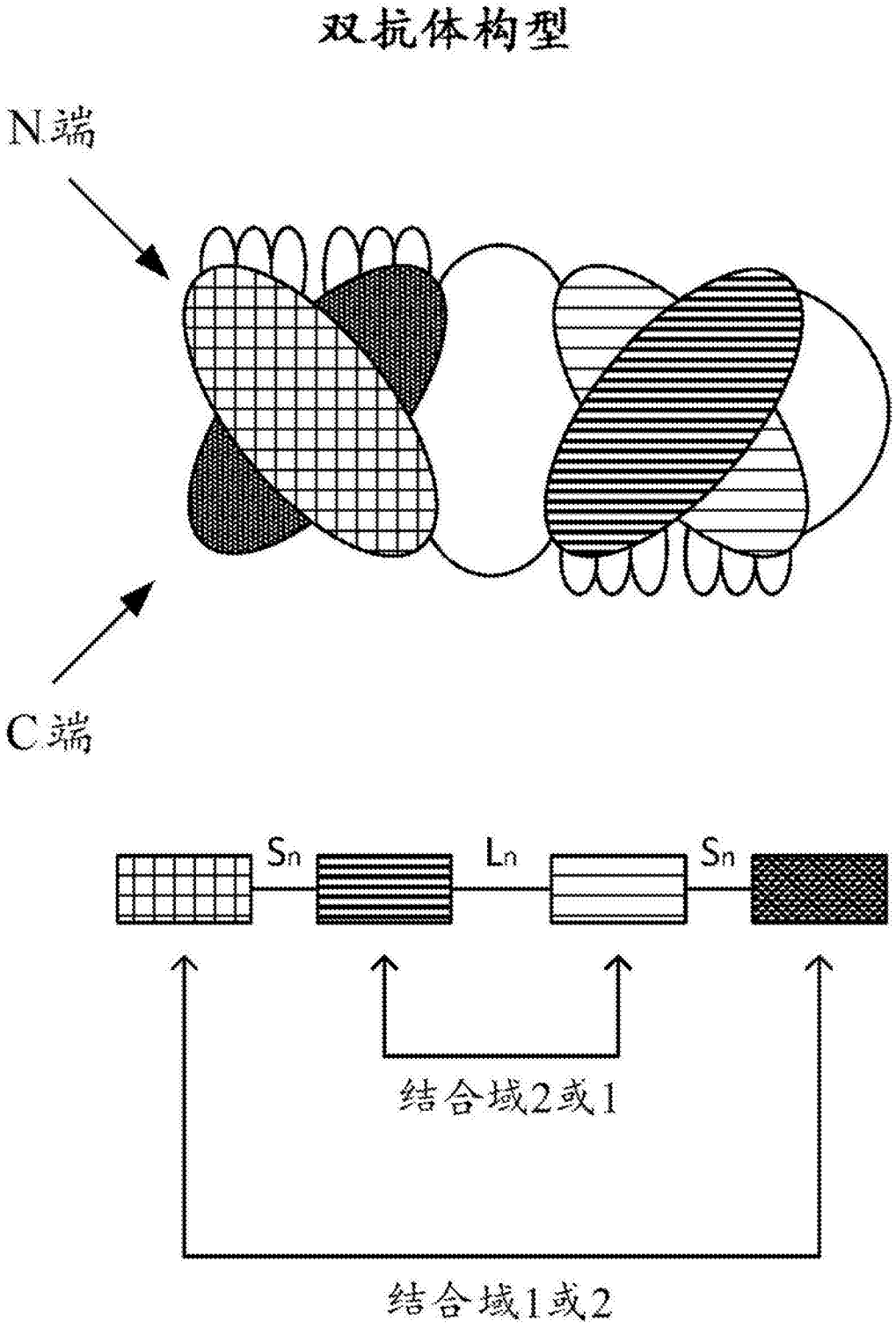


图12

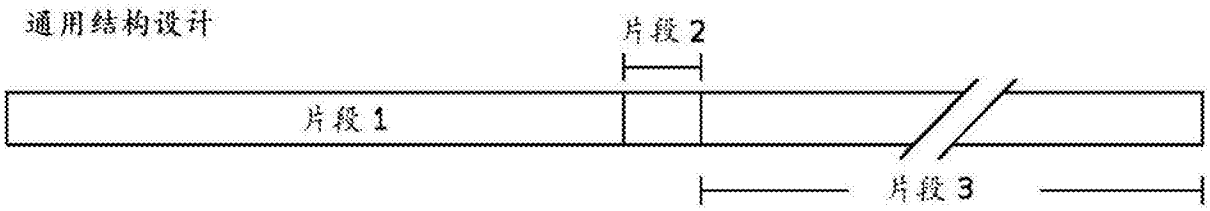


图13A

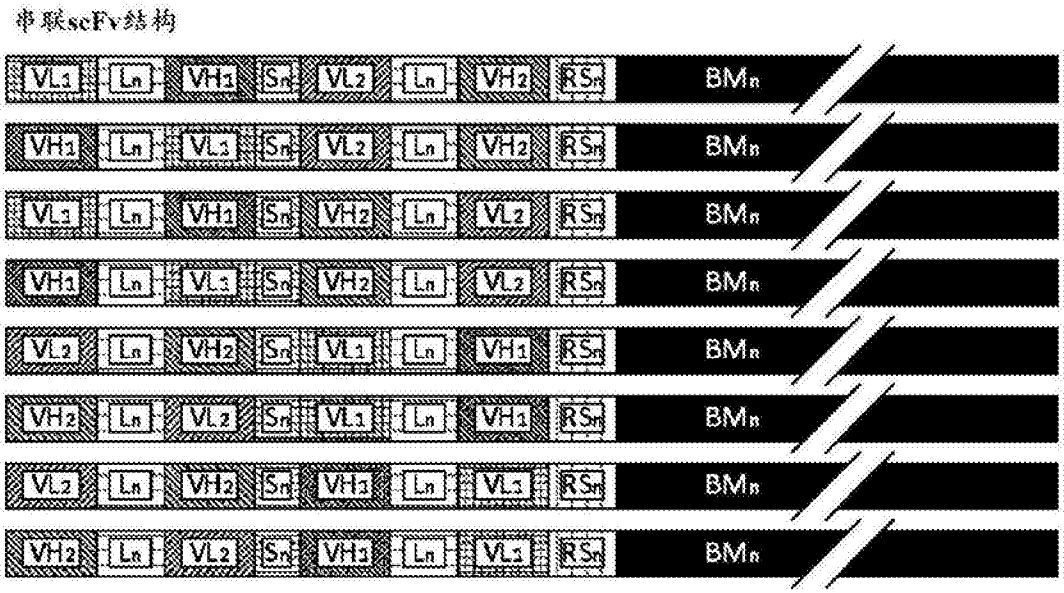


图13B

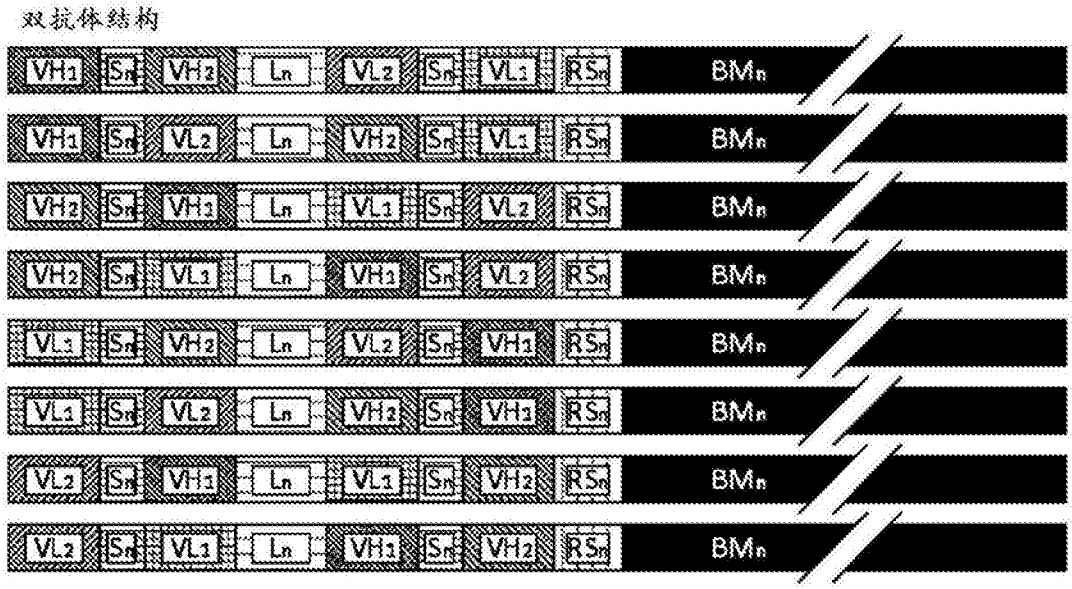


图13C

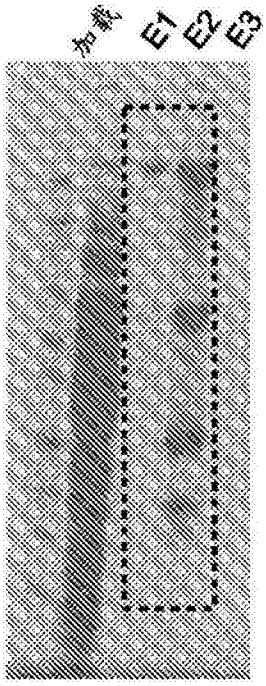


图14A

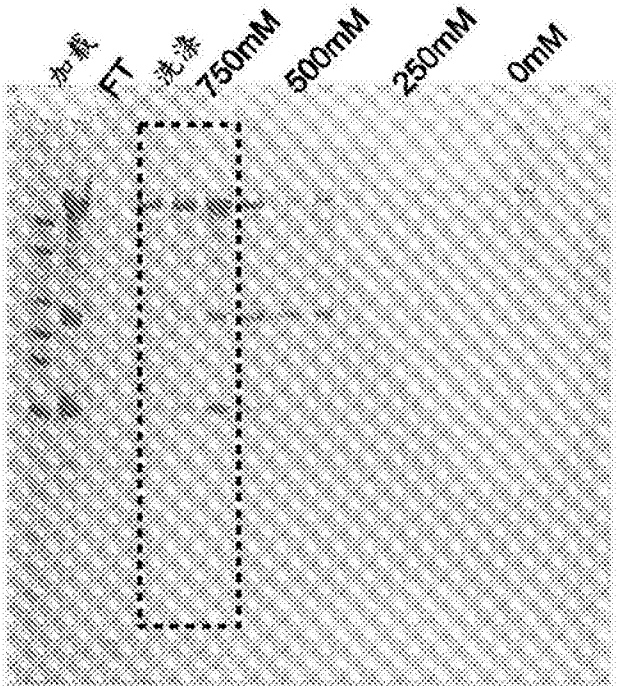


图14B

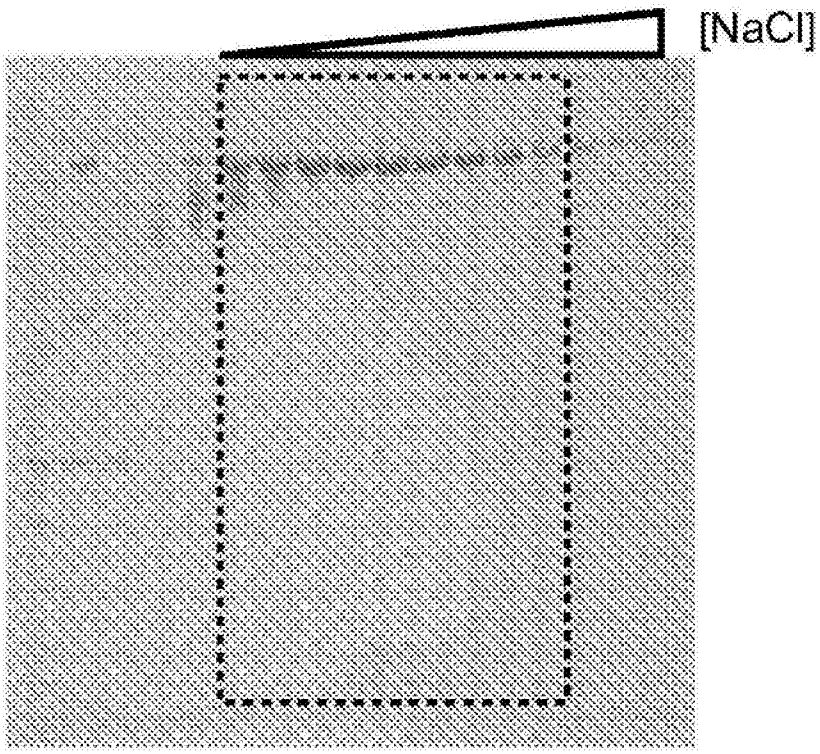

[NaCl]

图14C

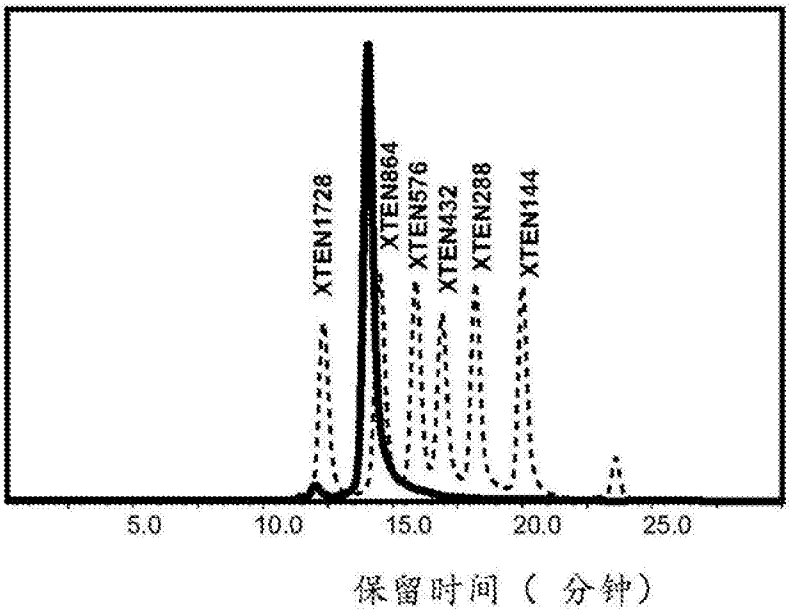

XTEN1728
XTEN864
XTEN576
XTEN432
XTEN288
XTEN144
5.0
10.0
15.0
20.0
25.0
保留时间（分钟）

图15A

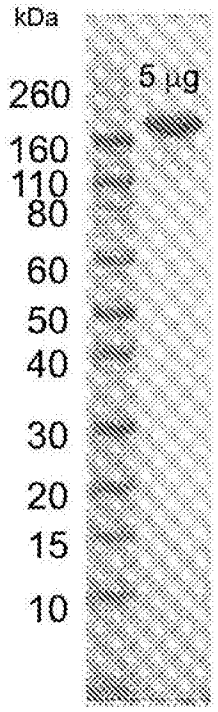

kDa
5 μg
260
160
110
80
60
50
40
30
20
15
10

图15B

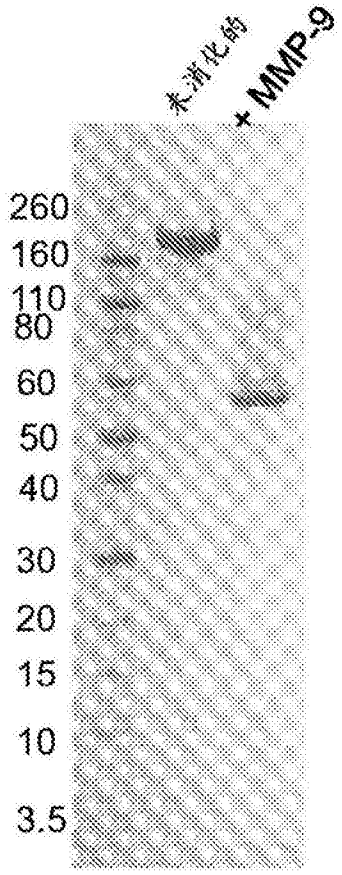

未消化的
+ MMP-9
260
160
110
80
60
50
40
30
20
15
10
3.5

图16A

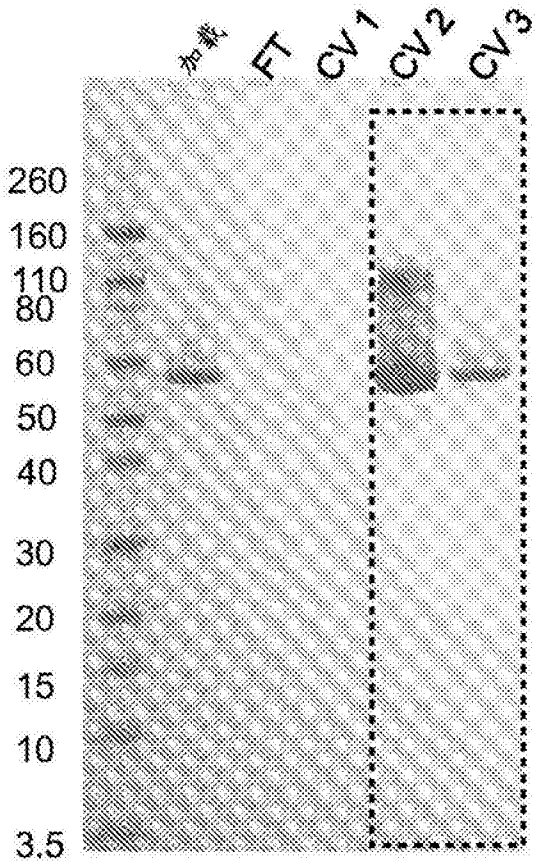

加载
FT
CV 1
CV 2
CV 3
260
160
110
80
60
50
40
30
20
15
10
3.5

图16B

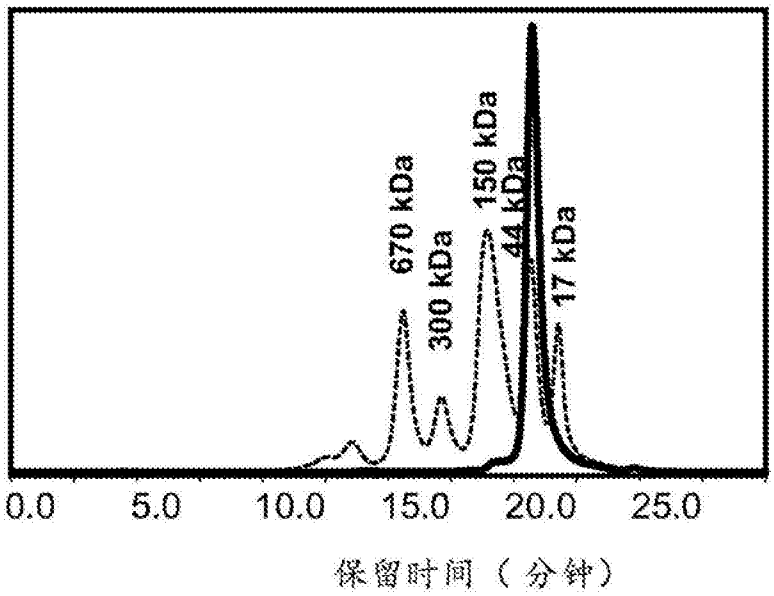

670 kDa
300 kDa
150 kDa
44 kDa
17 kDa
0.0
5.0
10.0
15.0
20.0
25.0
保留时间（分钟）

图17A

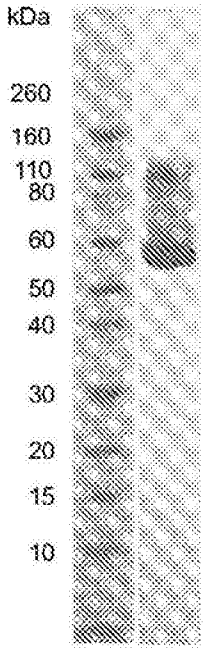


图17B

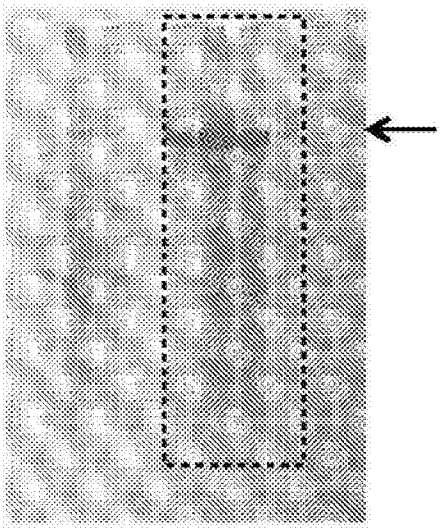


图18A

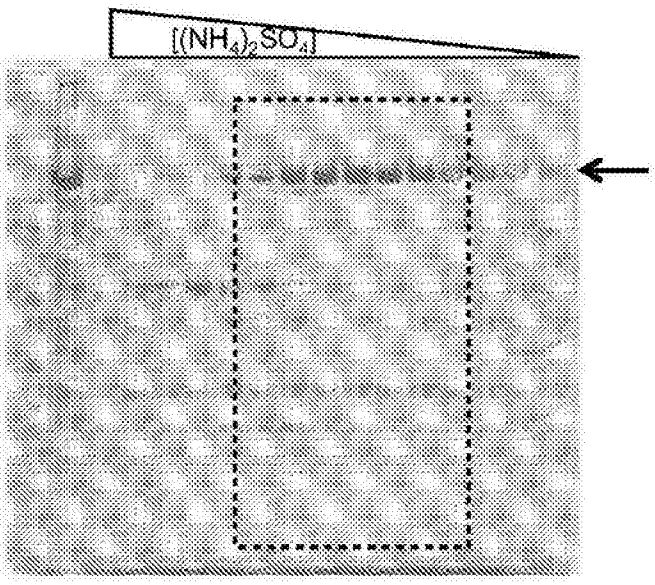


图18B

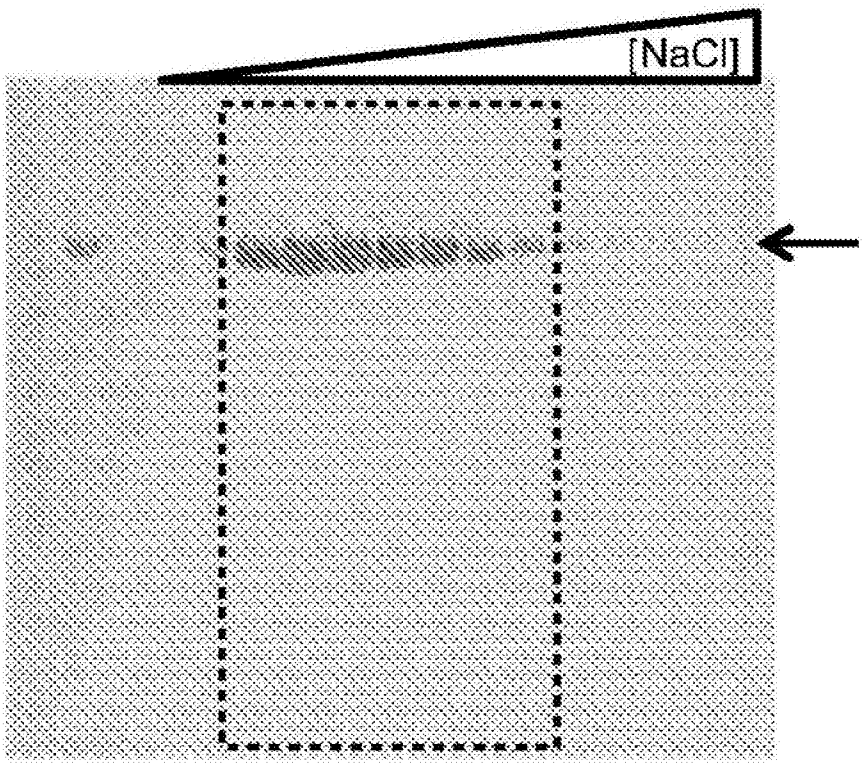


图18C

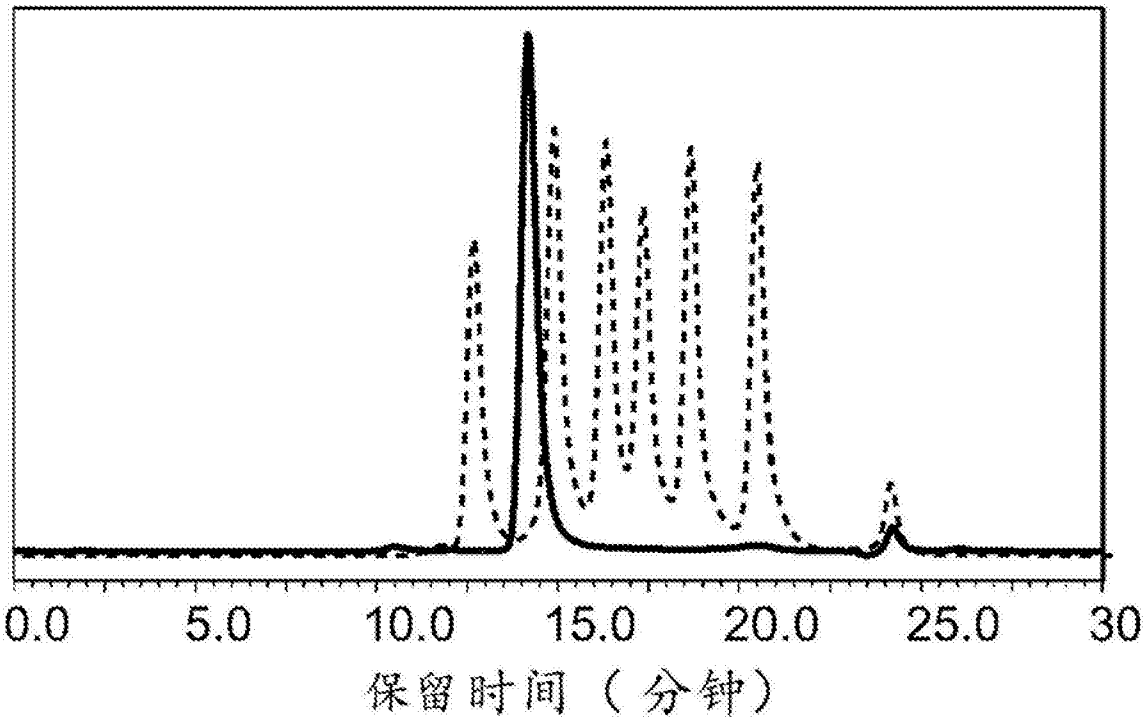


图19A

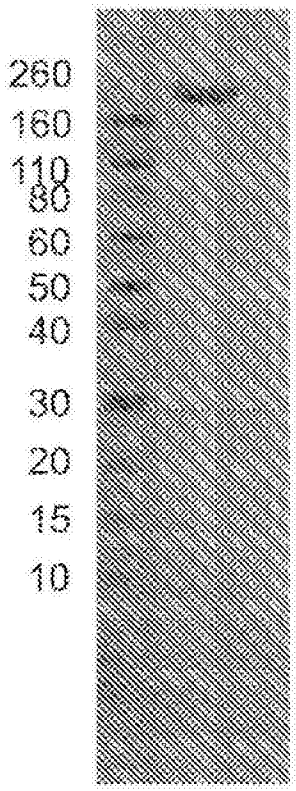


图19B

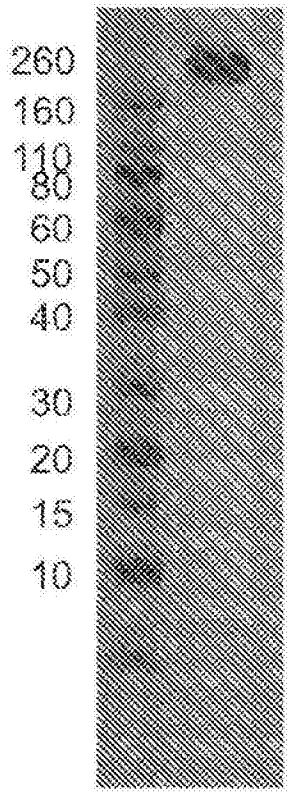

260
160
110
80
60
50
40
30
20
15
10

图19C

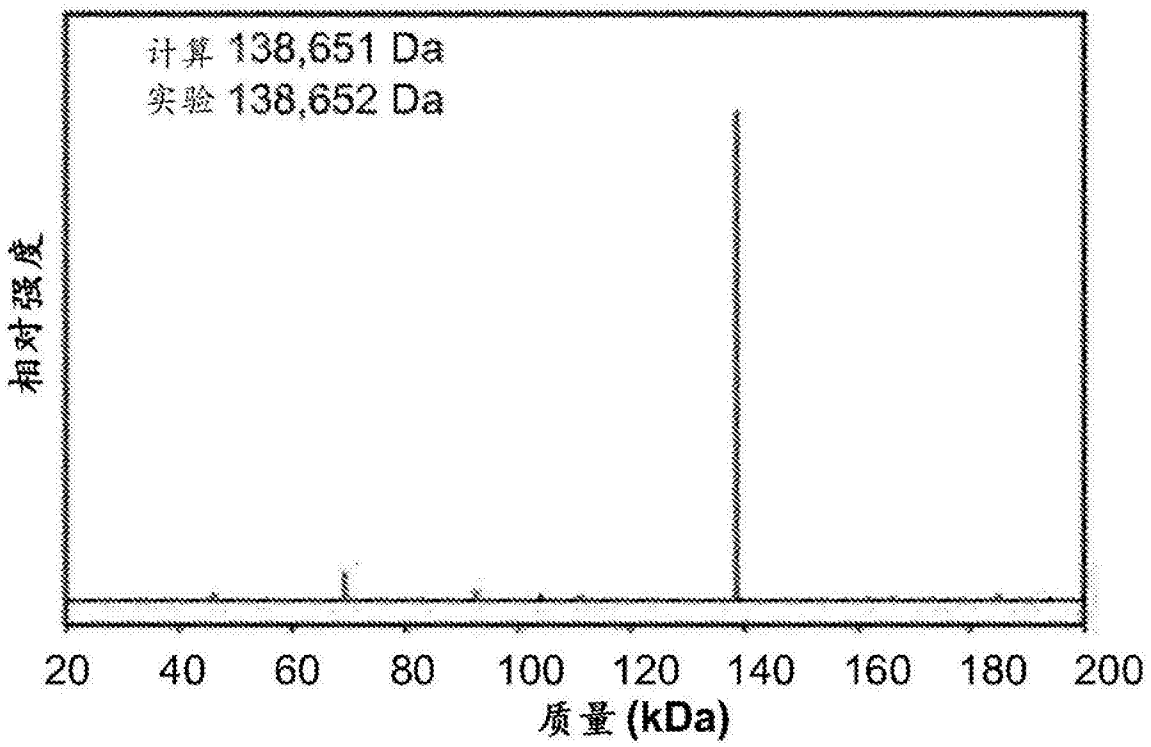

计算 138,651 Da
实验 138,652 Da
相对强度
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200
质量 (kDa)

图20A

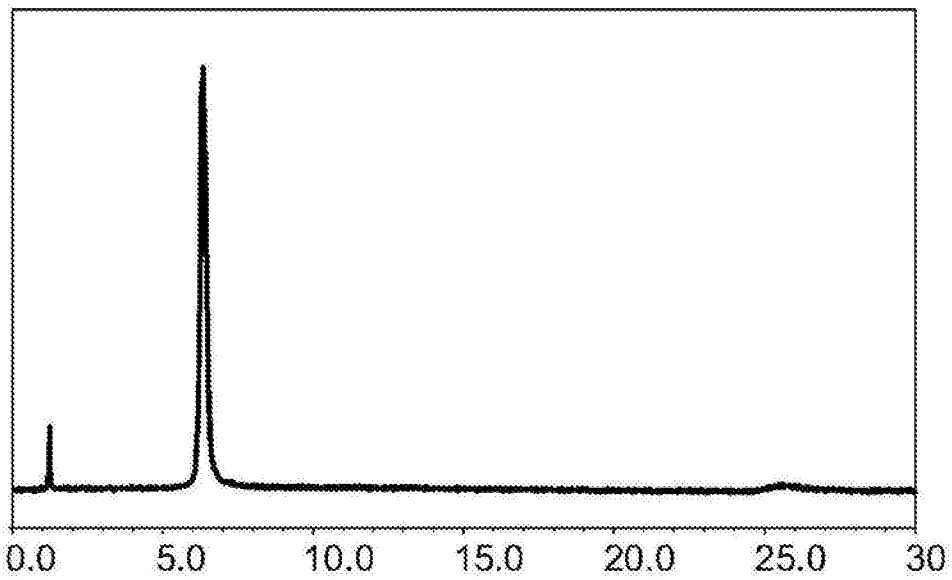


图20B

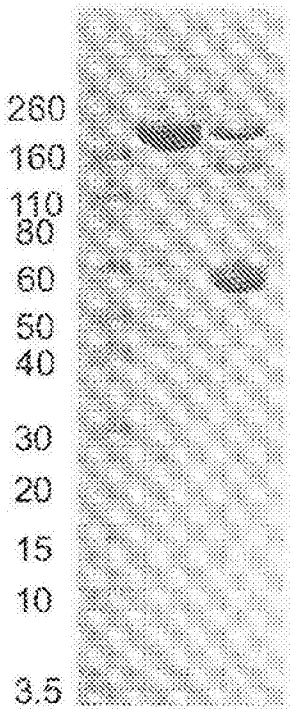


图21A

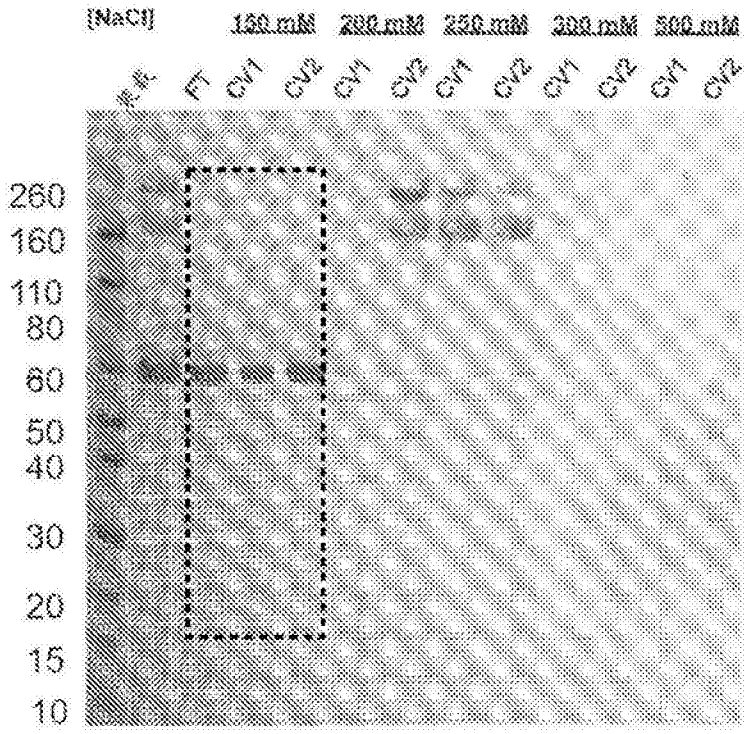

[NaCl]
150 mM
200 mM
250 mM
300 mM
500 mM
FT
260
160
110
80
60
50
40
30
20
15
10

图21B

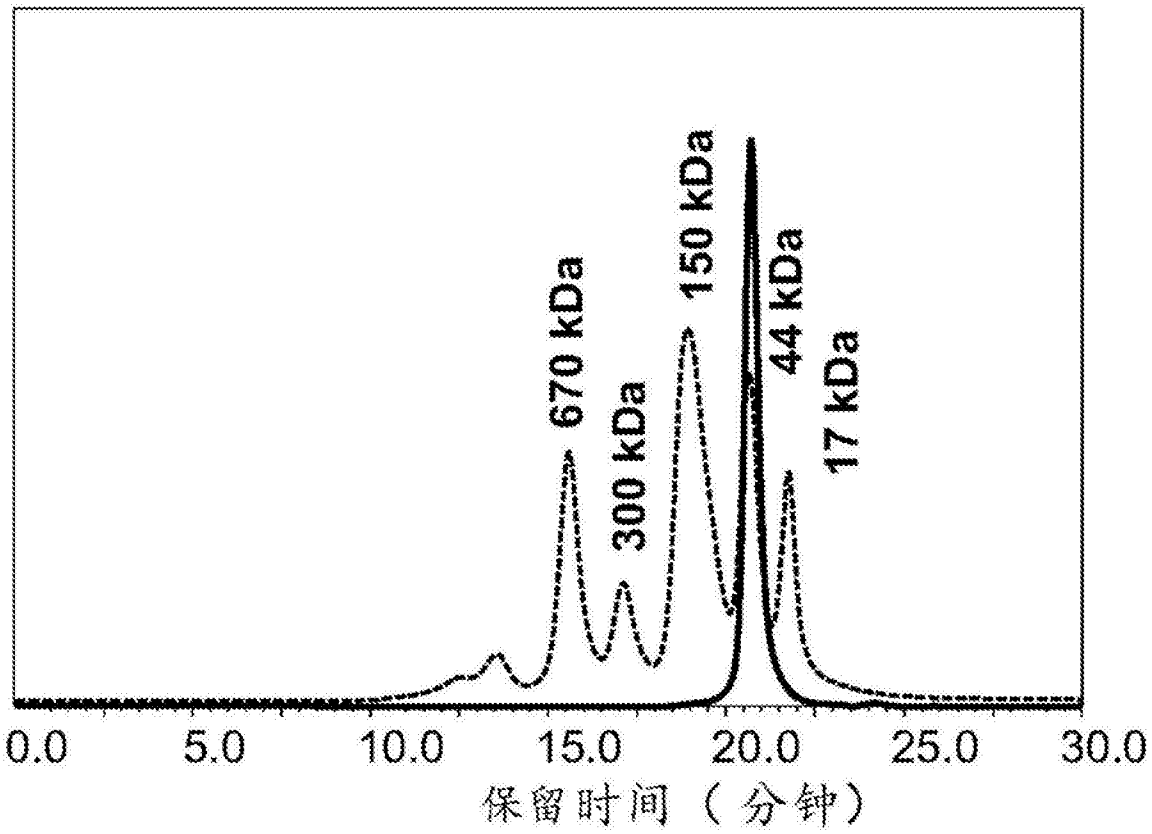

670 kDa
300 kDa
150 kDa
44 kDa
17 kDa
0.0
5.0
10.0
15.0
20.0
25.0
30.0
保留时间（分钟）

图22A

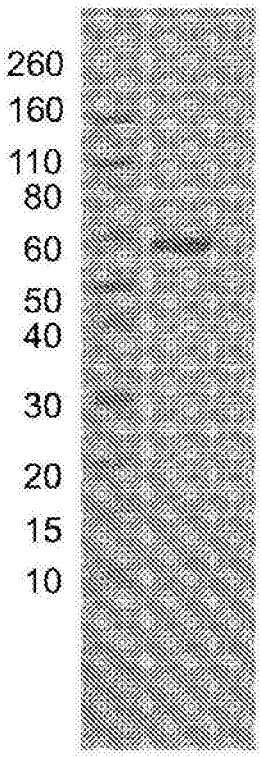

260
160
110
80
60
50
40
30
20
15
10

图22B

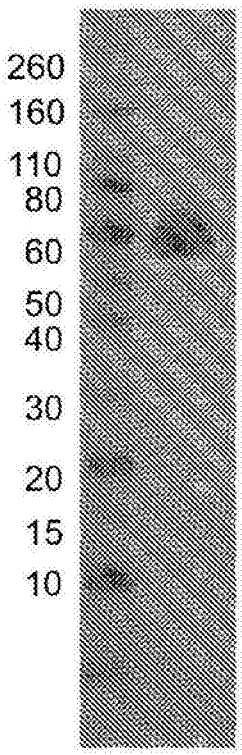

260
160
110
80
60
50
40
30
20
15
10

图22C

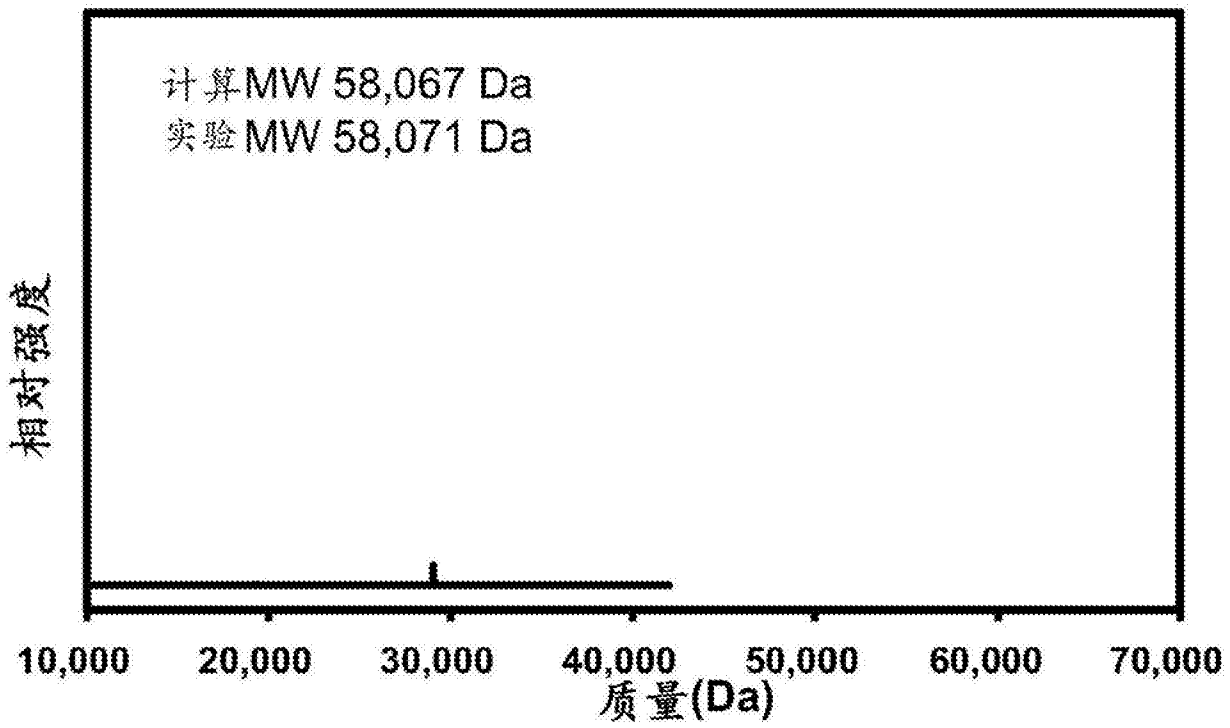

计算MW 58,067 Da
实验MW 58,071 Da
相对强度
10,000
20,000
30,000
40,000
50,000
60,000
70,000
质量(Da)

图23A

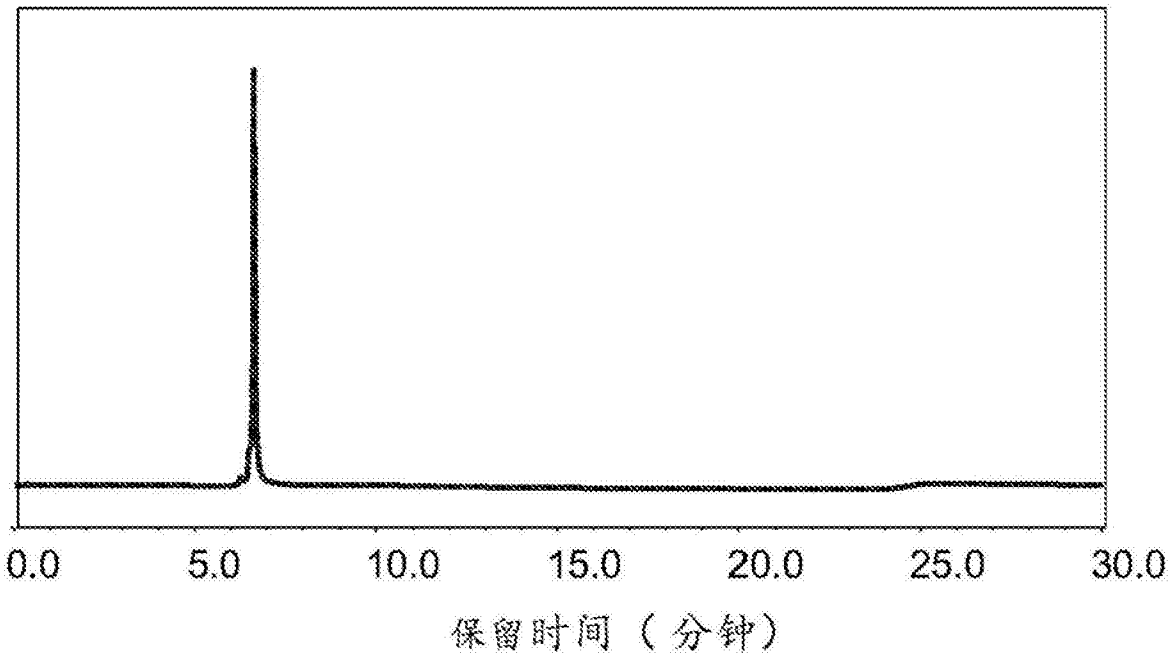

0.0
5.0
10.0
15.0
20.0
25.0
30.0
保留时间（分钟）

图23B

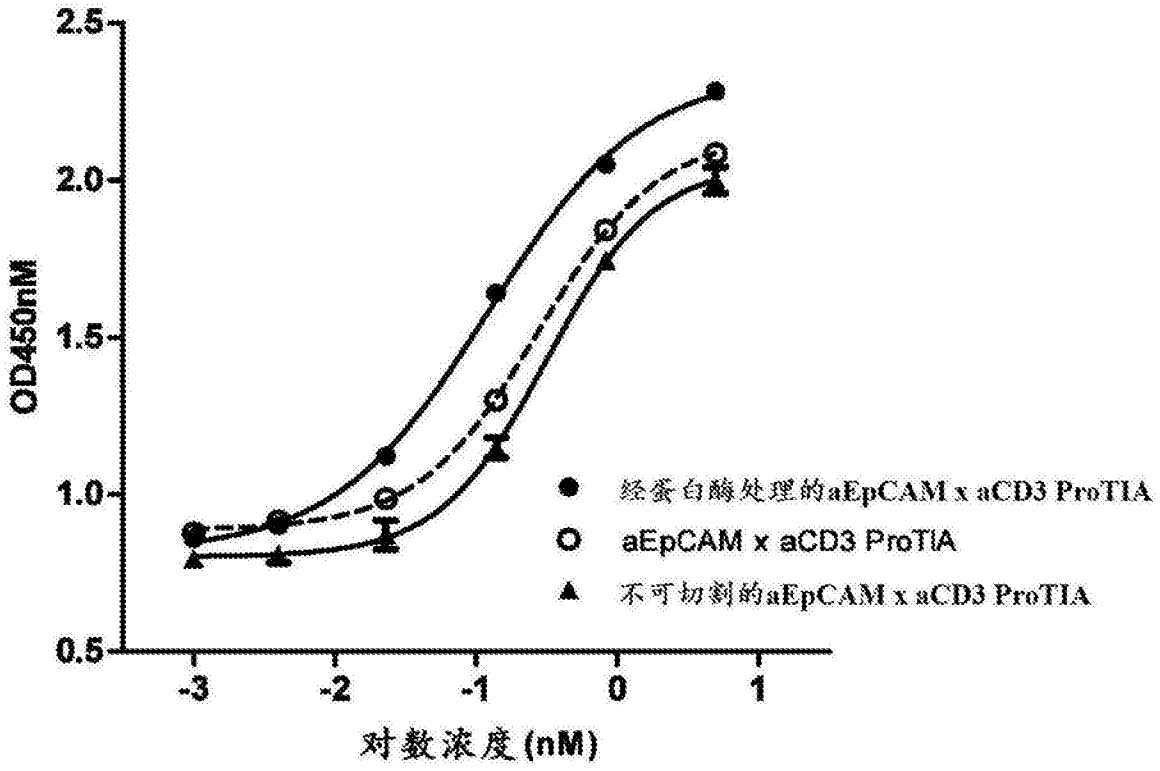

2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
OD450nM
-3
-2
-1
0
1
对数浓度(nM)
经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的aEpCAM x aCD3 ProTIA

图24

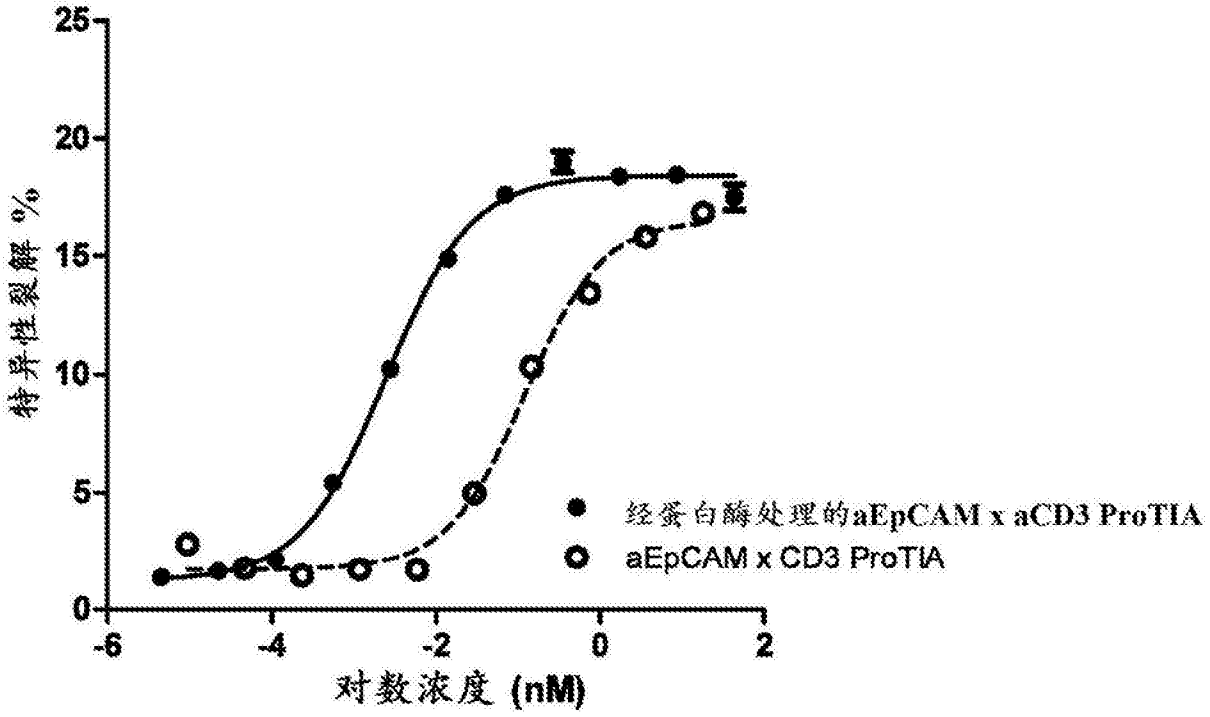

25
20
15
10
5
0
特异性裂解 %
-6
-4
-2
0
2
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x CD3 ProTIA

图25

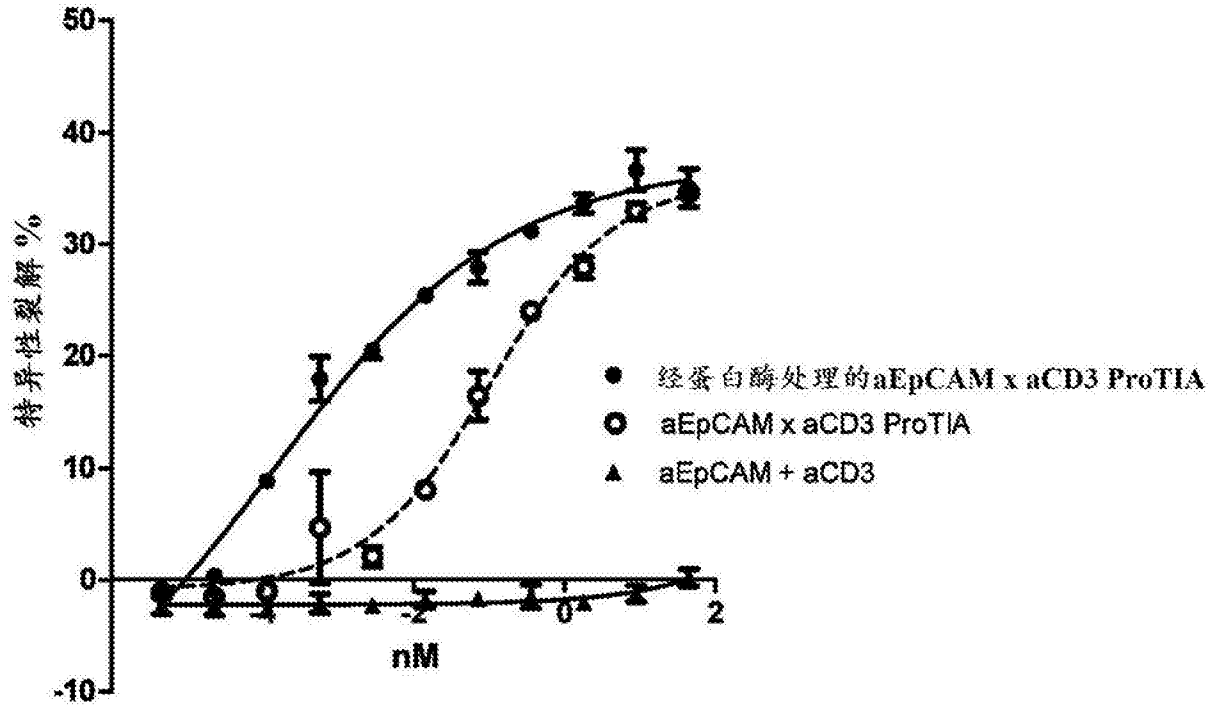

50
40
30
20
10
0
-10
特异性裂解 %
-4
-2
0
2
nM
经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM + aCD3

图26

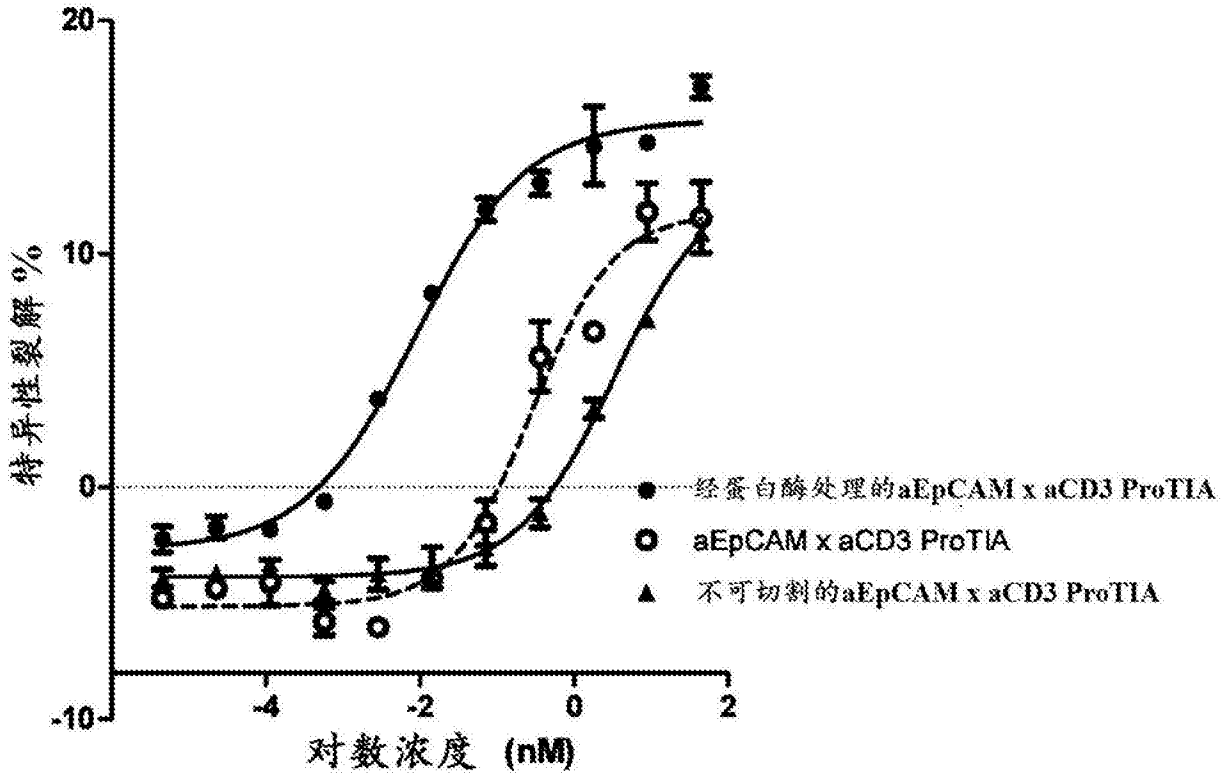

20
10
0
-10
特异性裂解 %
-4
-2
0
2
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的aEpCAM x aCD3 ProTIA

图27

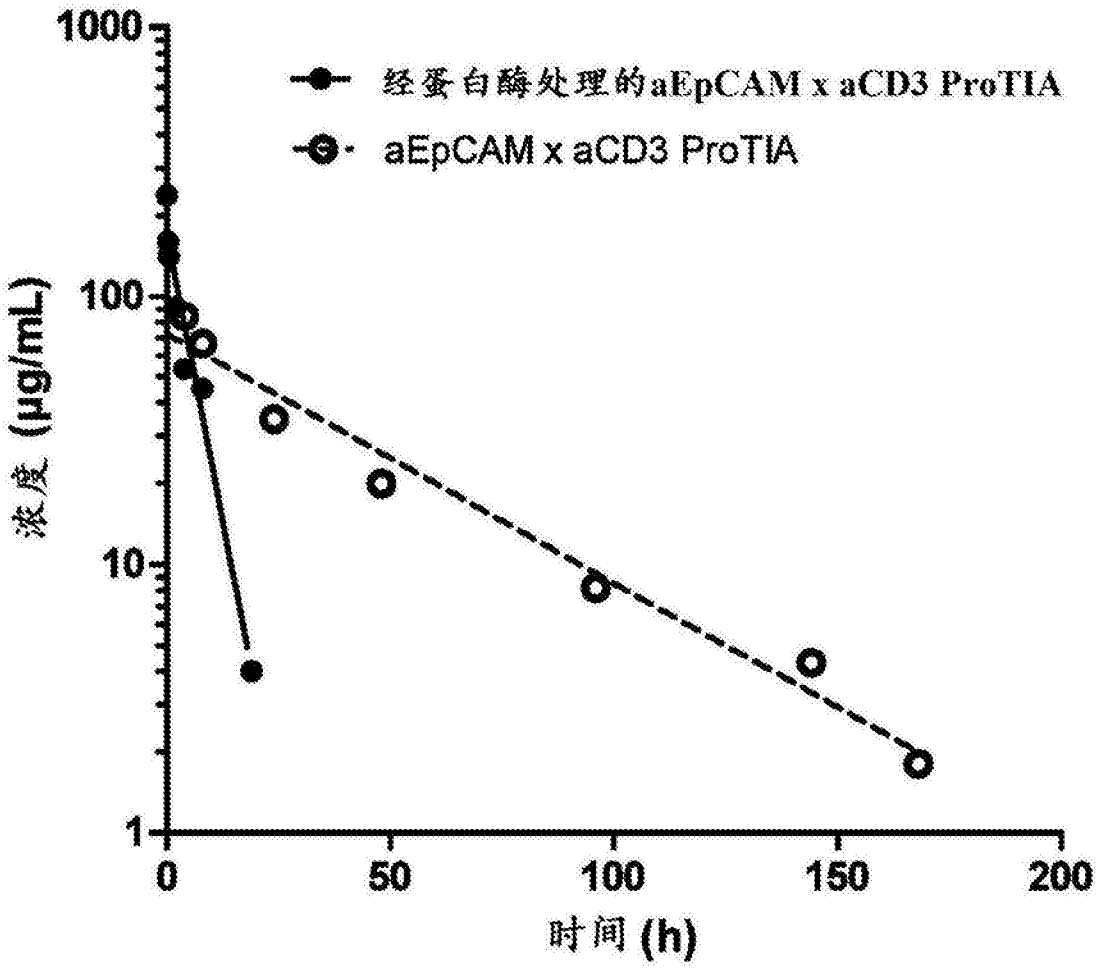


图28

图29A

图29B

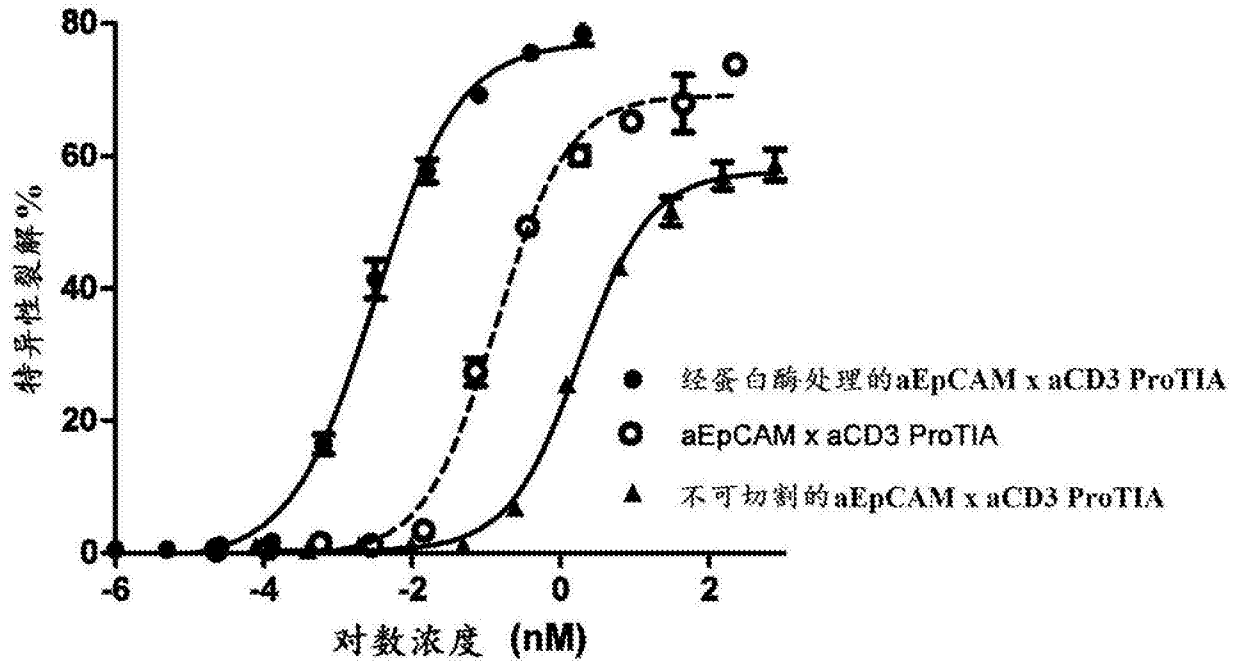

80
60
40
20
0
特异性裂解%
-6
-4
-2
0
2
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的aEpCAM x aCD3 ProTIA

图30

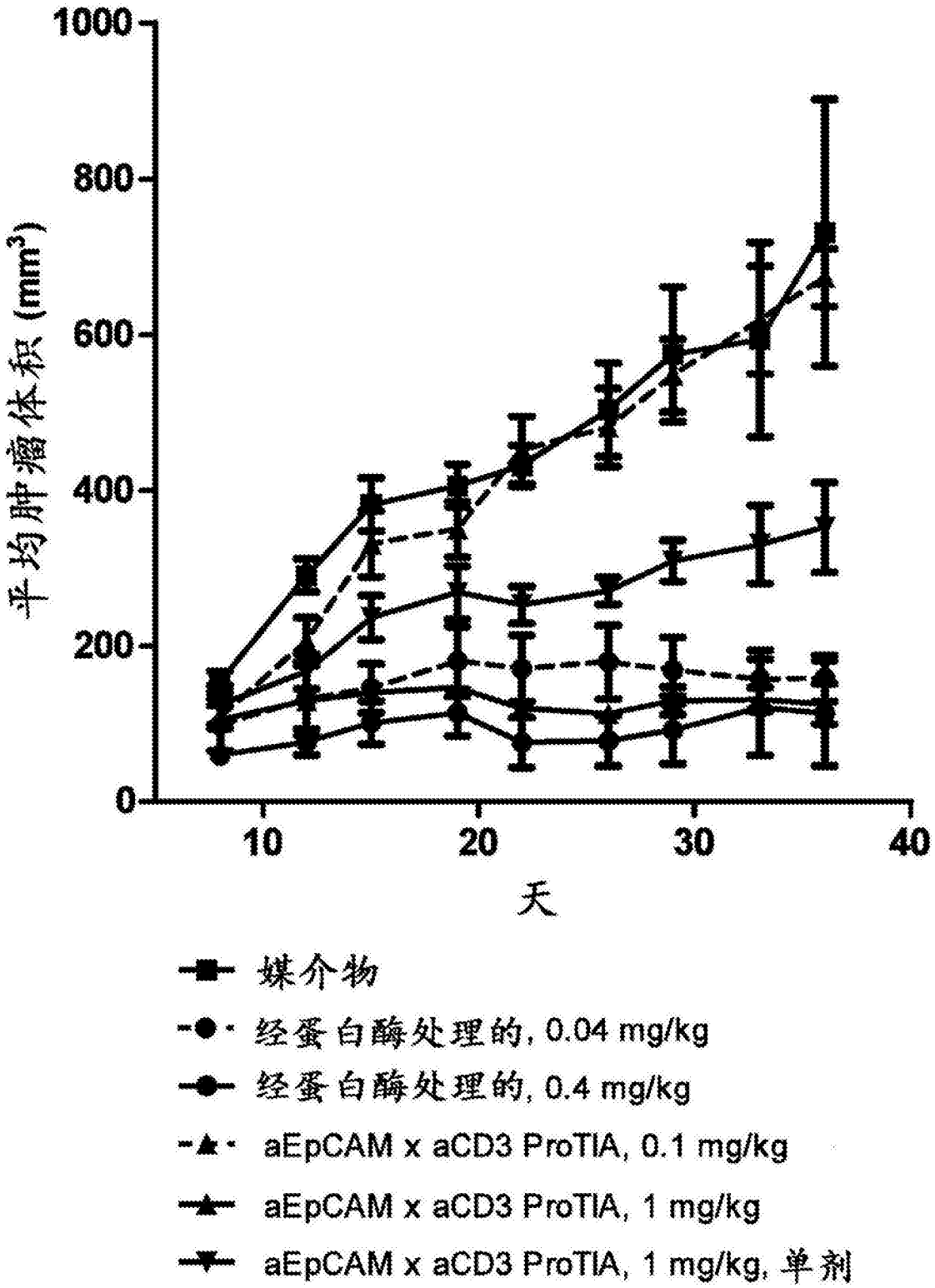

1000
800
600
400
200
0
平均肿瘤体积 (mm³)
10
20
30
40
天
媒介物
经蛋白酶处理的, 0.04 mg/kg
经蛋白酶处理的, 0.4 mg/kg
aEpCAM x aCD3 ProTIA, 0.1 mg/kg
aEpCAM x aCD3 ProTIA, 1 mg/kg
aEpCAM x aCD3 ProTIA, 1 mg/kg, 单剂

图31

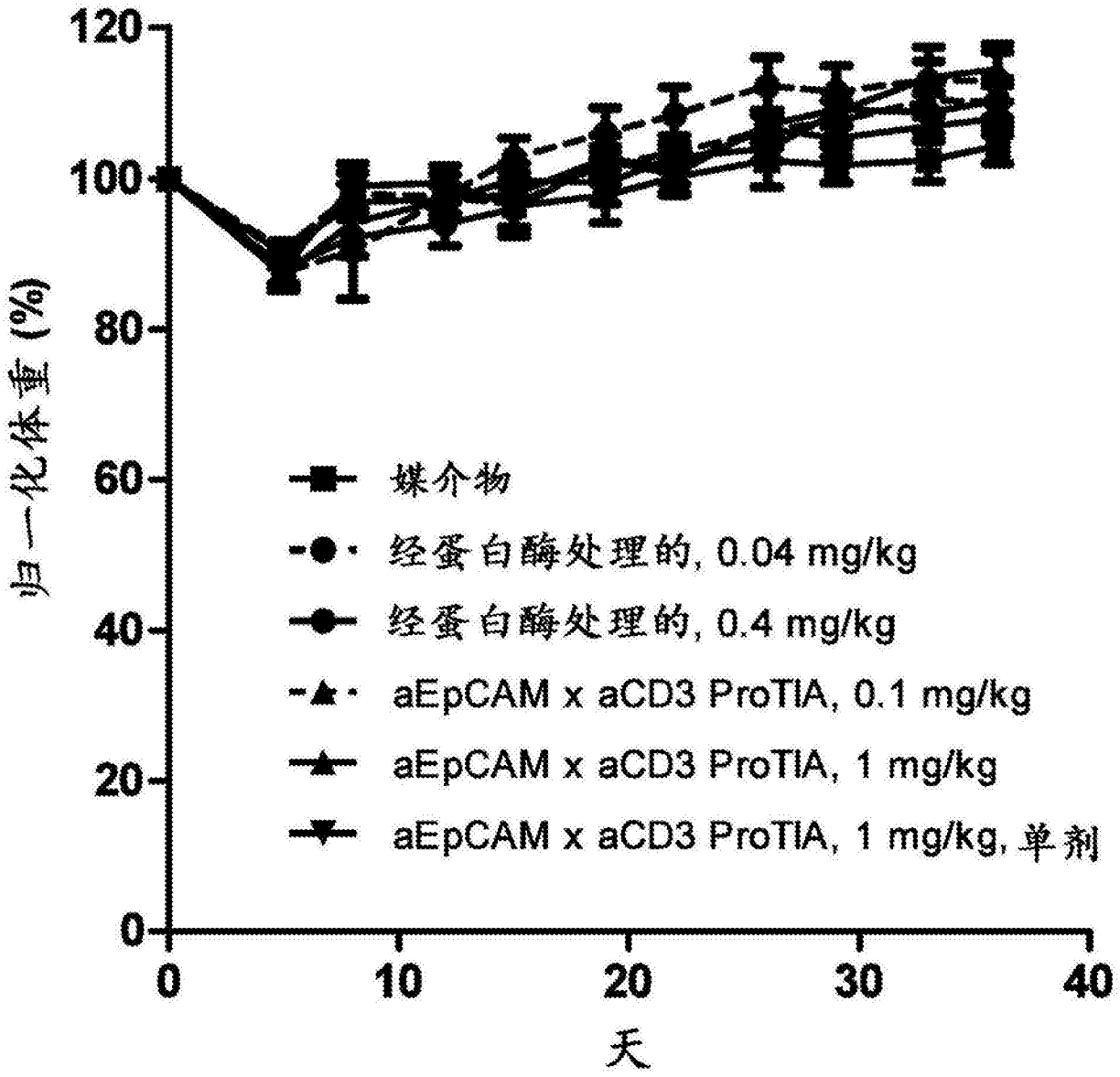

120
100
80
60
40
20
0
归一化体重 (%)
媒介物
经蛋白酶处理的, 0.04 mg/kg
经蛋白酶处理的, 0.4 mg/kg
aEpCAM x aCD3 ProTIA, 0.1 mg/kg
aEpCAM x aCD3 ProTIA, 1 mg/kg
aEpCAM x aCD3 ProTIA, 1 mg/kg, 单剂
0
10
20
30
40
天

图32

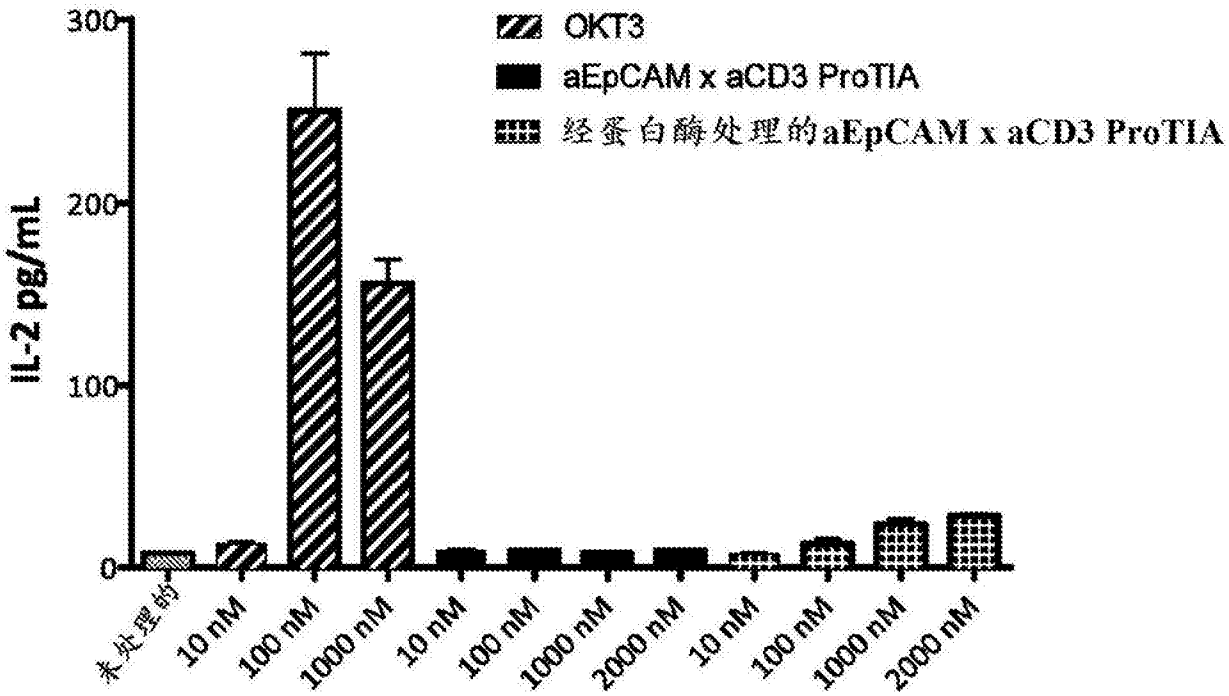

OKT3
aEpCAM x aCD3 ProTIA
经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
IL-2 pg/mL
300
200
100
0
未处理的
10 nM
100 nM
1000 nM
10 nM
100 nM
1000 nM
2000 nM
10 nM
100 nM
1000 nM
2000 nM

图33A

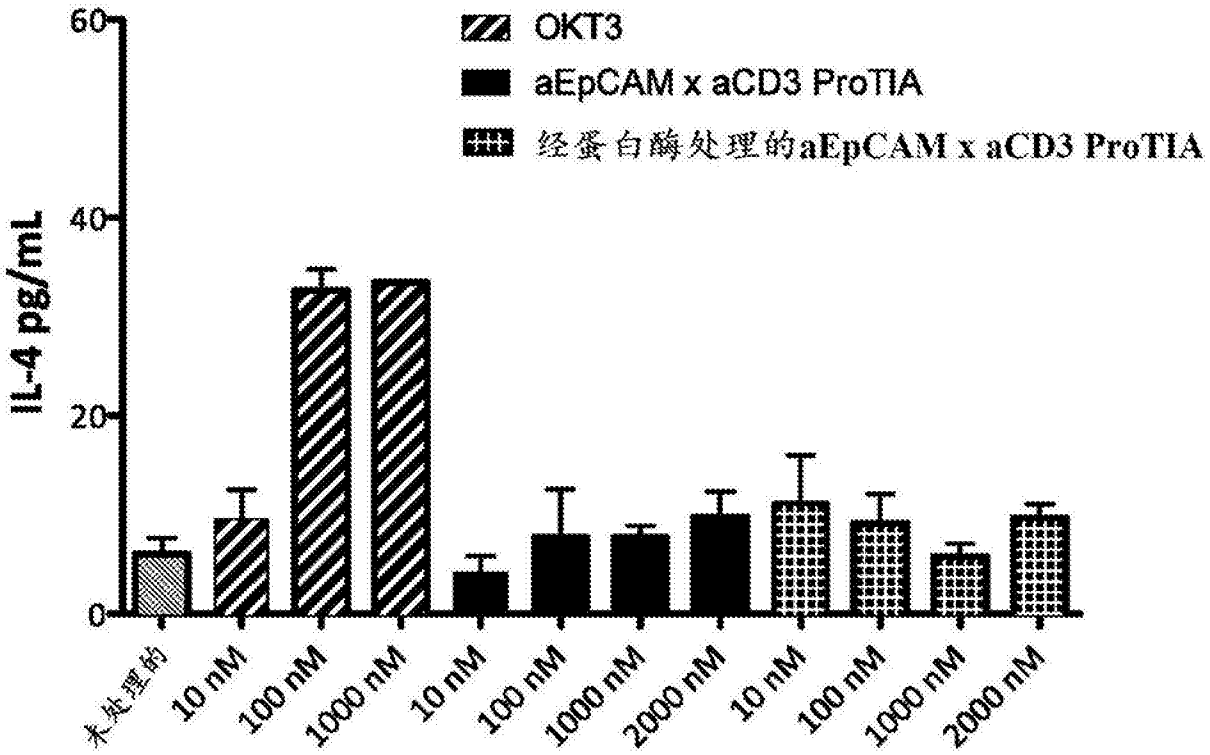

OKT3
aEpCAM x aCD3 ProTIA
经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
IL-4 pg/mL
60
40
20
0
未处理的
10 nM
100 nM
1000 nM
10 nM
100 nM
1000 nM
2000 nM
10 nM
100 nM
1000 nM
2000 nM

图33B

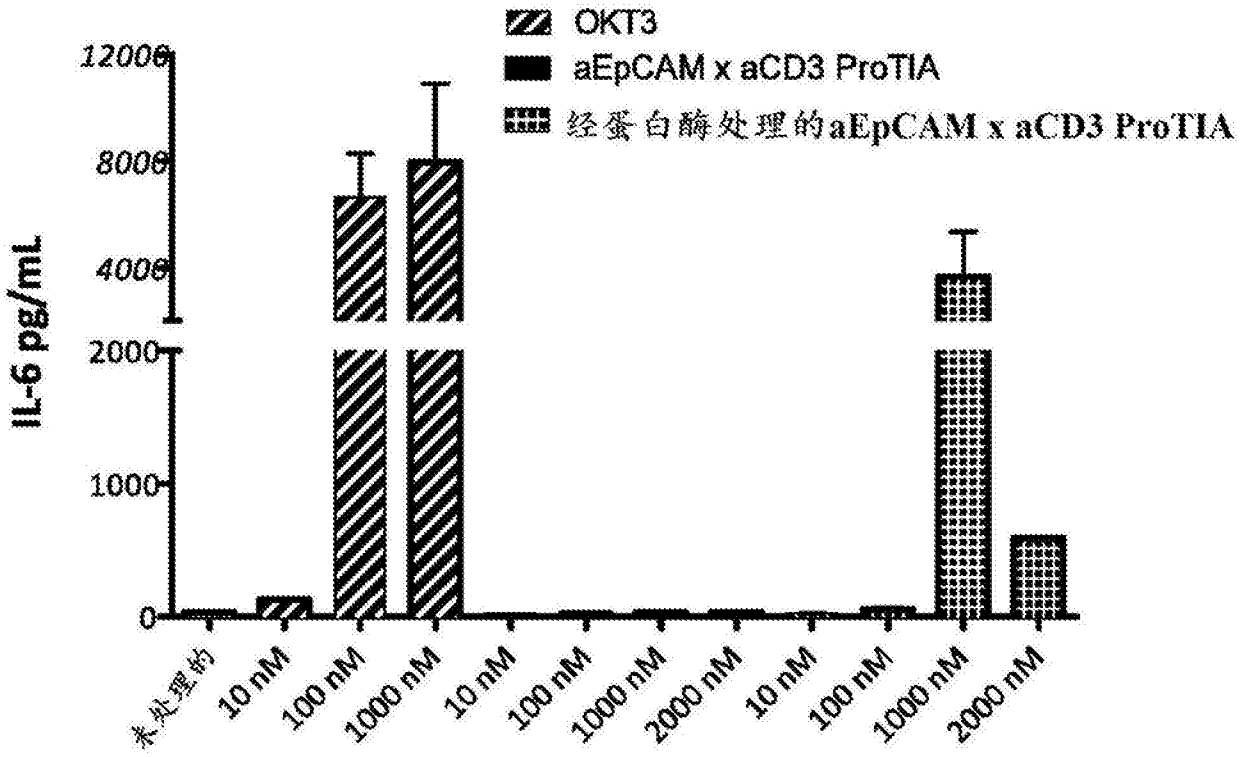

OKT3
aEpCAM x aCD3 ProTIA
经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
IL-6 pg/mL
12000
8000
4000
2000
1000
0
未处理的
10 nM
100 nM
1000 nM
10 nM
100 nM
1000 nM
2000 nM
10 nM
100 nM
1000 nM
2000 nM

图34A

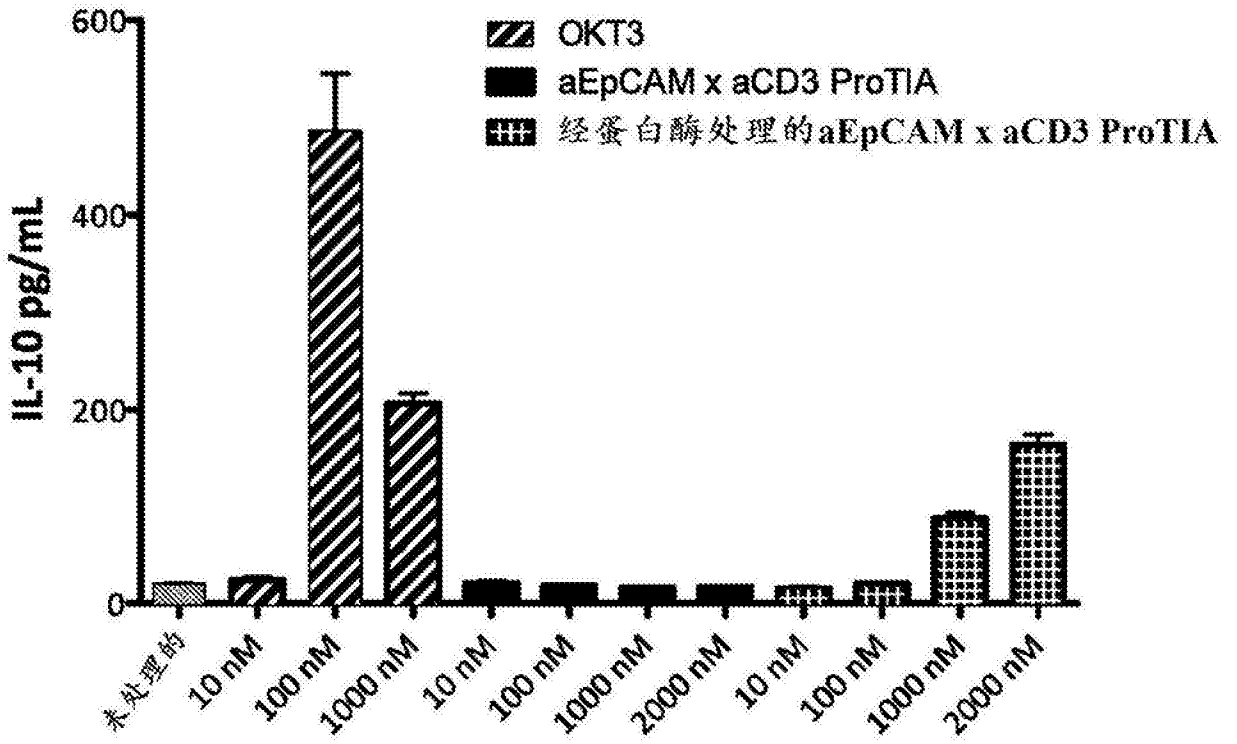

OKT3
aEpCAM x aCD3 ProTIA
经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
IL-10 pg/mL
600
400
200
0
未处理的
10 nM
100 nM
1000 nM
10 nM
100 nM
1000 nM
2000 nM
10 nM
100 nM
1000 nM
2000 nM

图34B

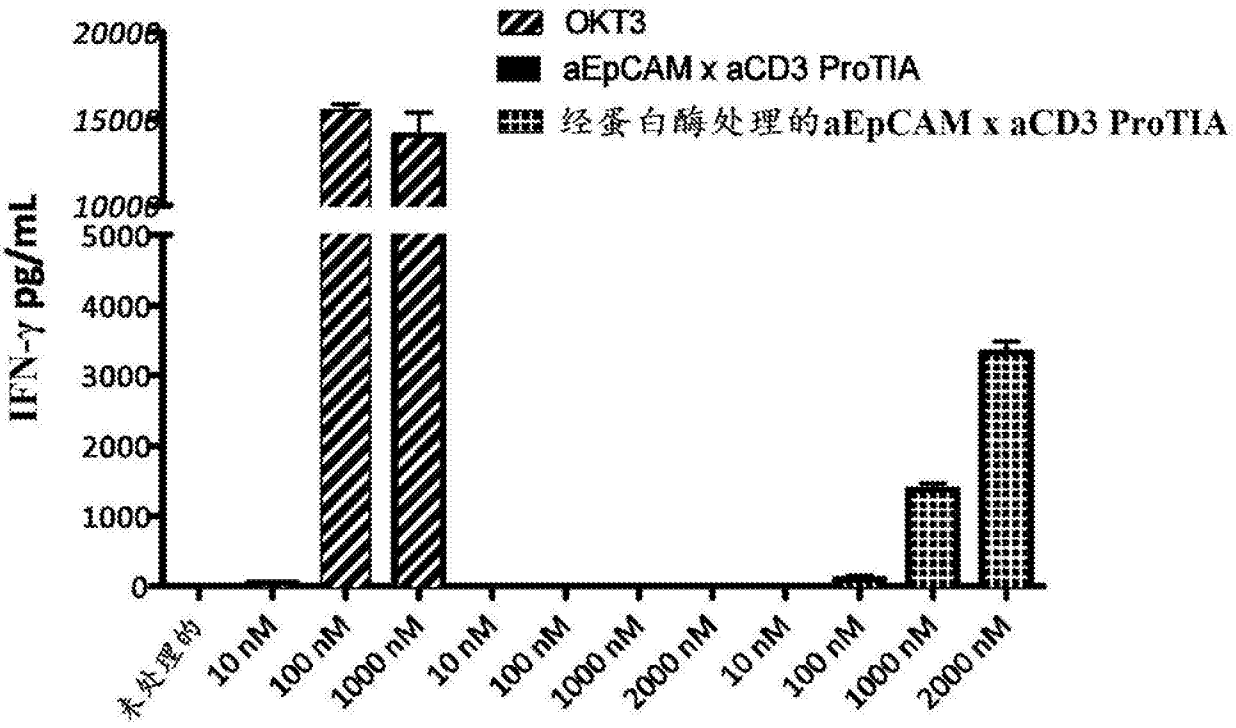

OKT3
aEpCAM x aCD3 ProTIA
经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
IFN-γ pg/mL
20000
15000
10000
5000
4000
3000
2000
1000
0
未处理的
10 nM
100 nM
1000 nM
10 nM
100 nM
1000 nM
2000 nM
10 nM
100 nM
1000 nM
2000 nM

图35A

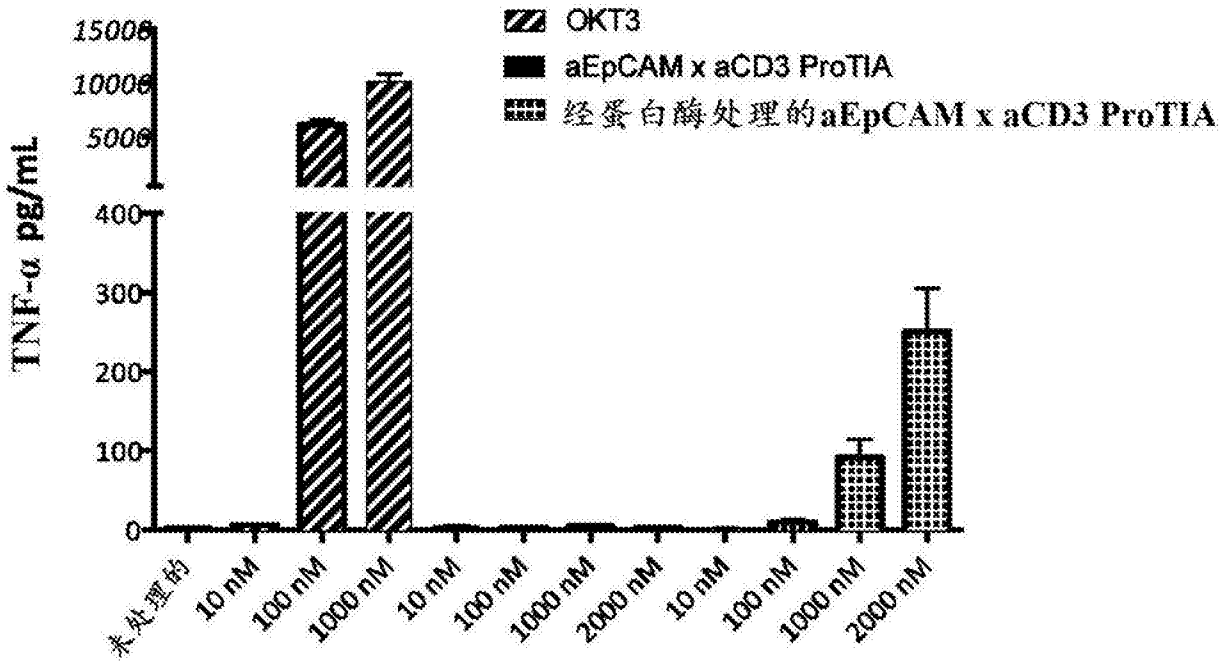

OKT3
aEpCAM x aCD3 ProTIA
经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
TNF-α pg/mL
15000
10000
5000
400
300
200
100
0
未处理的
10 nM
100 nM
1000 nM
10 nM
100 nM
1000 nM
2000 nM
10 nM
100 nM
1000 nM
2000 nM

图35B

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSTKSLLHSNGITYLYWYQQKPGKAPKL
LIYQMSNLASGVPSRFSSSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCAQNLEIPRT
FGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGQVQLVQSGPGL
VQPGGSVRISCAASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLEWMGWINTYTGESTYAD
SFKGRFTFSLDTSASAAYLQINSLRAEDTAVYYCARFAIKGDYWGQGTLLT
VSSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKA
PKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTL
PWTFGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLVESG
GGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVST
YNQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFD
VWGQGTLVTVSSGTAEAASASGLSGRSDNHSPLGLAGSPGSPAGSPTSTEE
GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTS
TEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGS
PTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTS
TEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAP
GTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTS
ESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSEPAT
SGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEG
SAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEE
GTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSE
PATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSPAGS
PTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEG
SAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATSGSETP
GTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGSE
PATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSTEP
SEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEPATSGS
ETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAP
GSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGHHHHHH

图36

DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKNLLHSNGITYLYWYLQKPGQSPQL
LIYQMSNLASGVPDRFSSSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQNLEIPRT
FGQGTKVEIKGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGQVQLVQSGPEV
KKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGEPTYGE
DFKGRFAFSLDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYFCARFGNYVDYWGQGSLVT
VSSGGGGSELVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPG
QAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWY
SNLWVFGGGTKLTVLGATPPETGAETESPGETTGGSAESEPPGEGEVQLLE
SGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNN
YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY
VSWFAYWGQGTLVTVSSGTAEAASASGLSGRSDNHSPLGLAGSPGSPAGSP
TSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGS
APGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGSEPATSGSETPG
SPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPA
GSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSTEPS
EGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGS
APGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPG
SEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTST
EPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGSPAGSP
TSTEEGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPES
GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGPG
SPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTST
EPSEGSAPGTSESATPESGPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSEPATS
GSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSESATPES
GPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGSPAGSPTSTEEGSPAGSPTSTEEG
TSTEPSEGSAPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGTSESATPESGPGSEP
ATSGSETPGSEPATSGSETPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPS
EGSAPGSEPATSGSETPGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGHHHHHH

图37

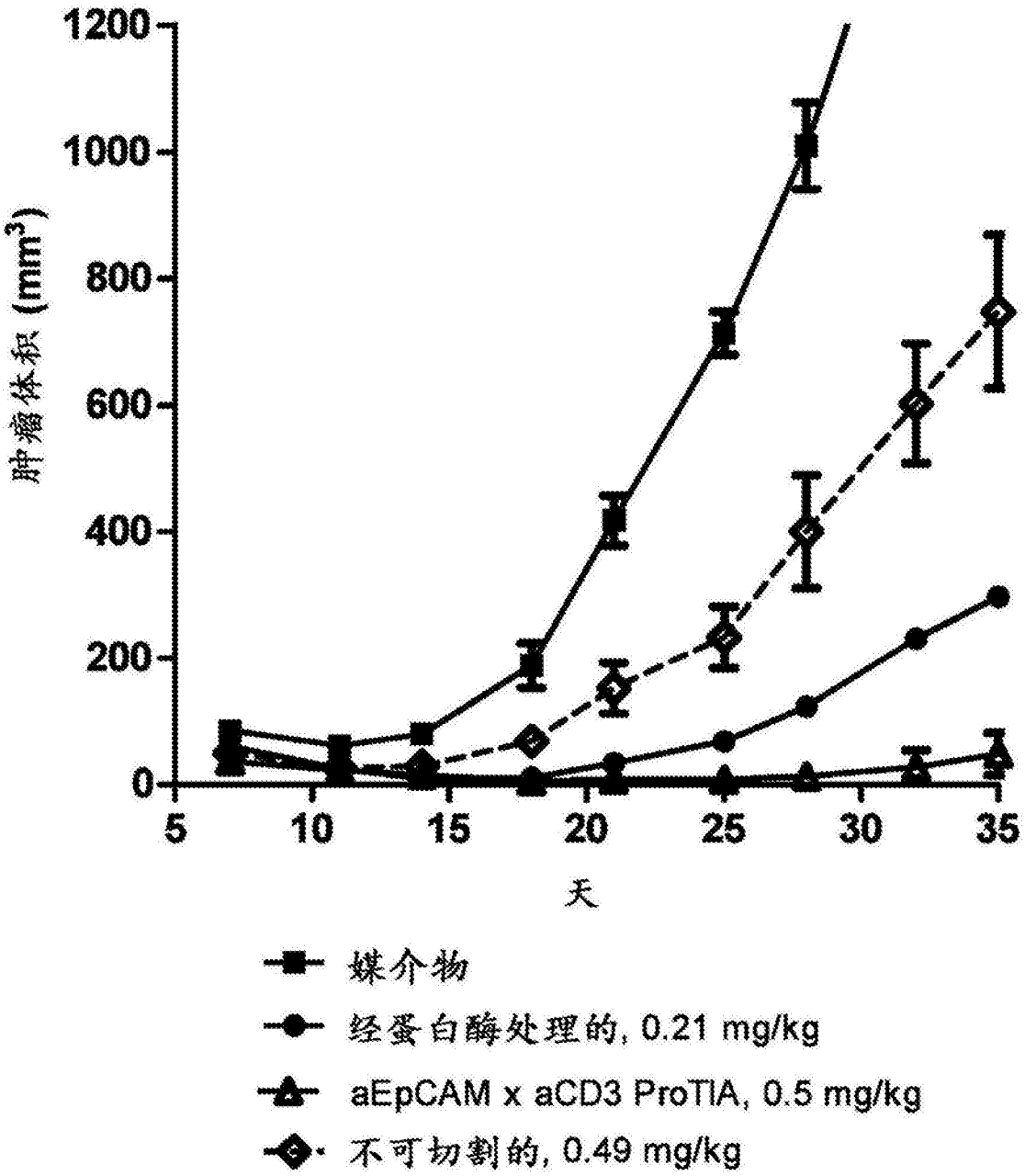

1200
1000
800
600
400
200
0
肿瘤体积 (mm³)
5
10
15
20
25
30
35
天
媒介物
经蛋白酶处理的, 0.21 mg/kg
aEpCAM x aCD3 ProTIA, 0.5 mg/kg
不可切割的, 0.49 mg/kg

图38

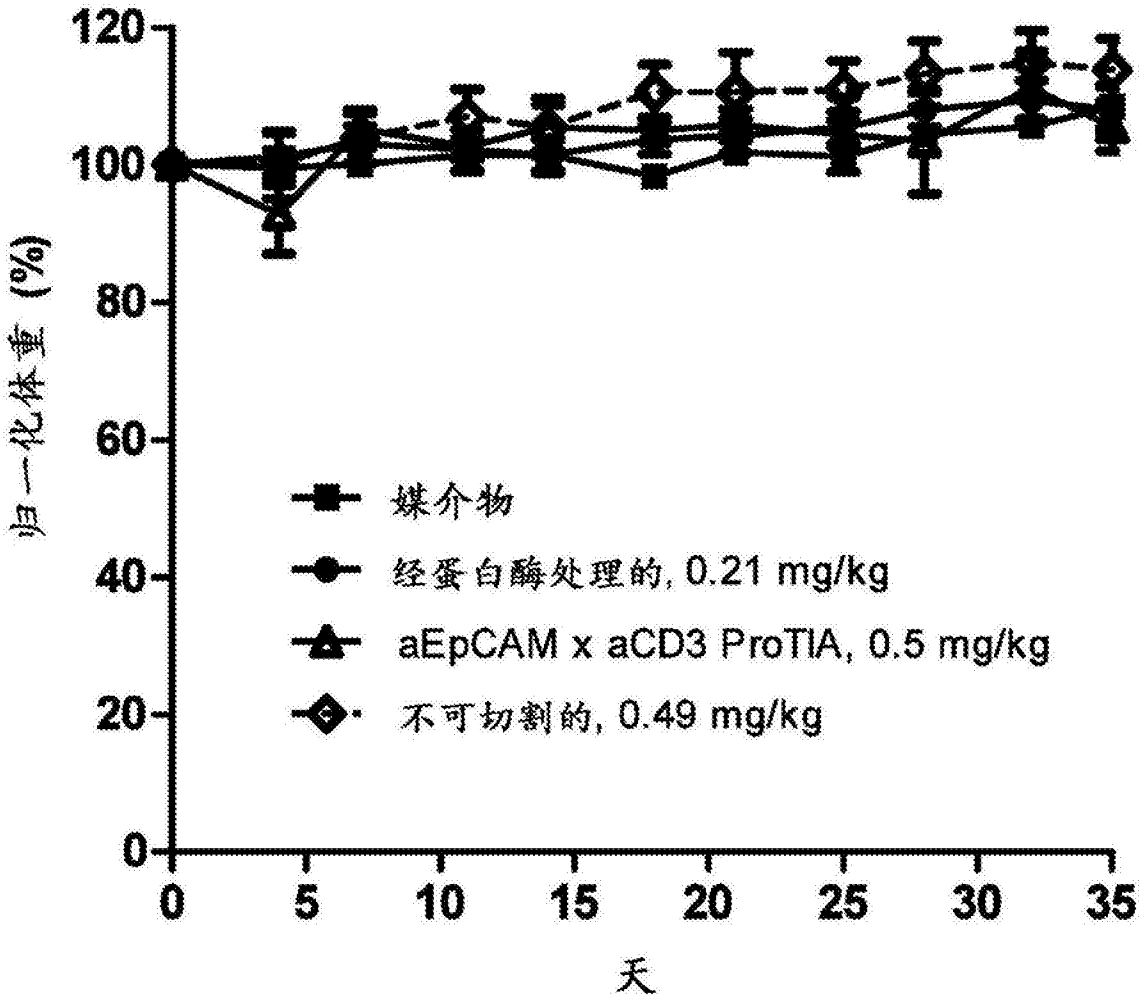

120
100
80
60
40
20
0
归一化体重 (%)
媒介物
经蛋白酶处理的, 0.21 mg/kg
aEpCAM x aCD3 ProTIA, 0.5 mg/kg
不可切割的, 0.49 mg/kg
0
5
10
15
20
25
30
35
天

图39

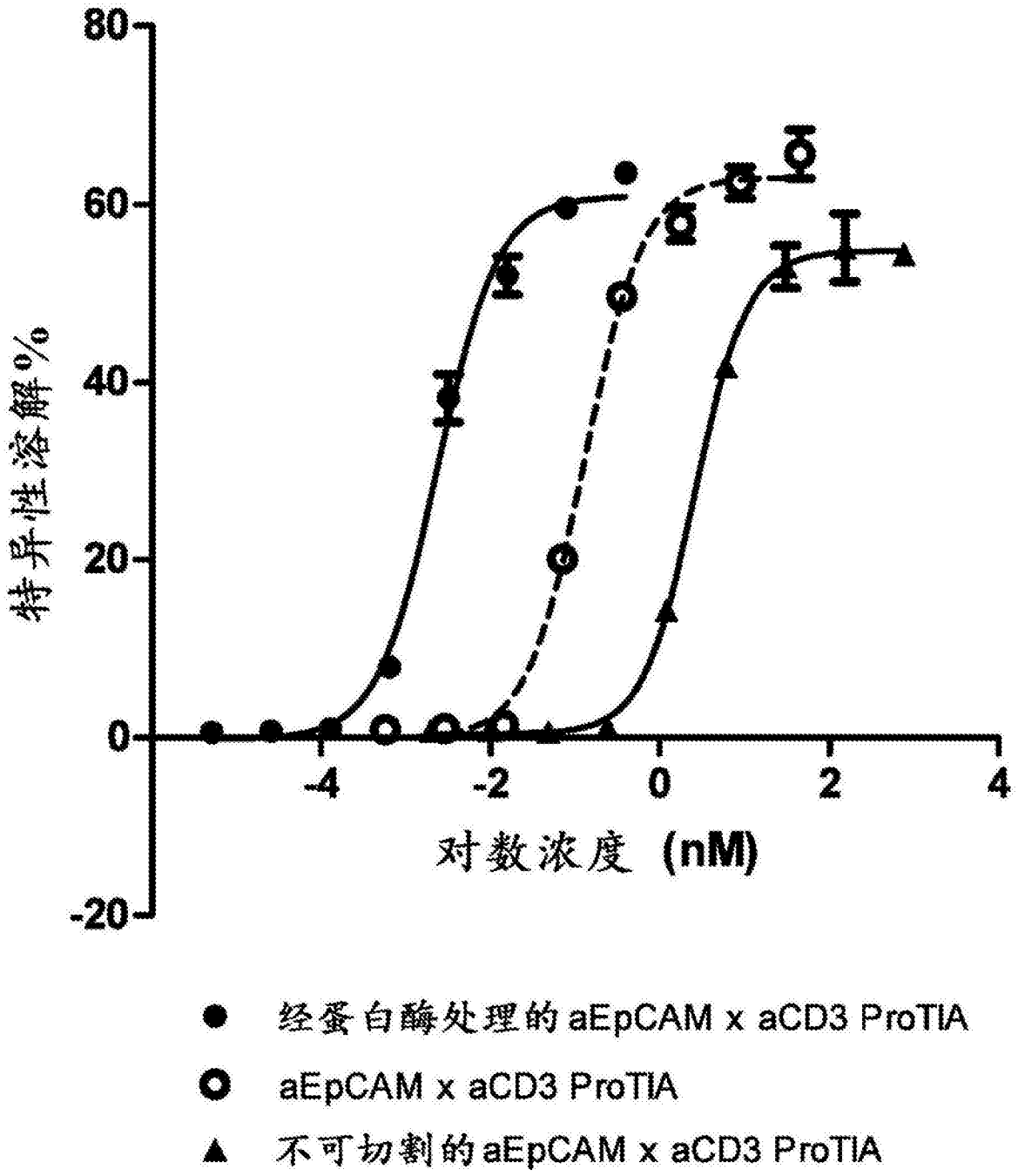

80
60
40
20
0
-20
特异性溶解%
-4
-2
0
2
4
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的aEpCAM x aCD3 ProTIA

图40

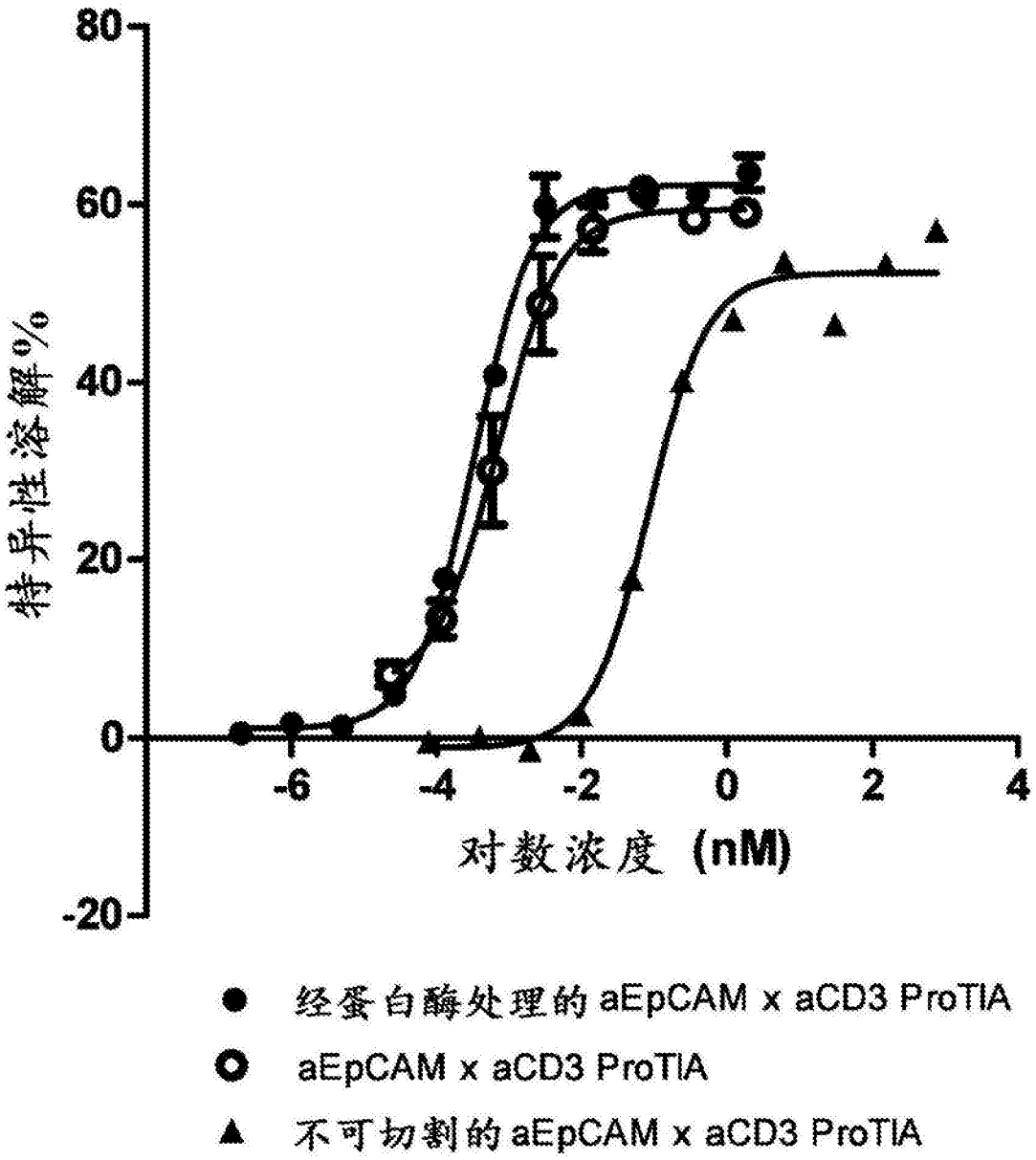

80
60
40
20
0
-20
特异性溶解%
-6
-4
-2
0
2
4
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的 aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的 aEpCAM x aCD3 ProTIA

图41

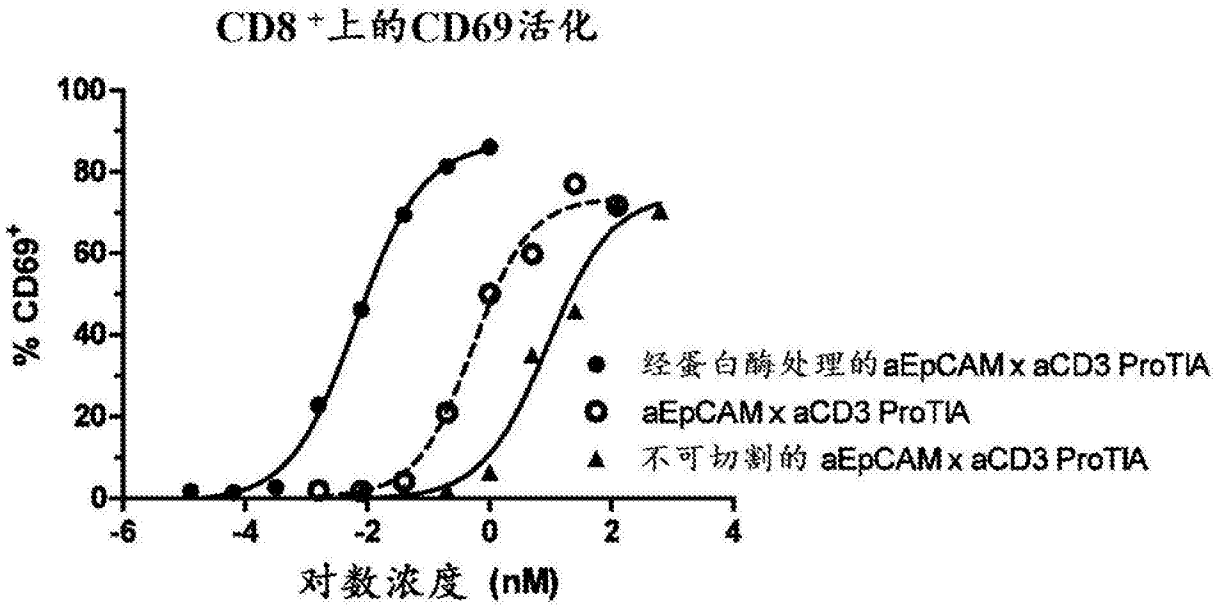

CD8 +上的CD69活化
% CD69+
100
80
60
40
20
0
-6
-4
-2
0
2
4
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的 aEpCAM x aCD3 ProTIA

图42A

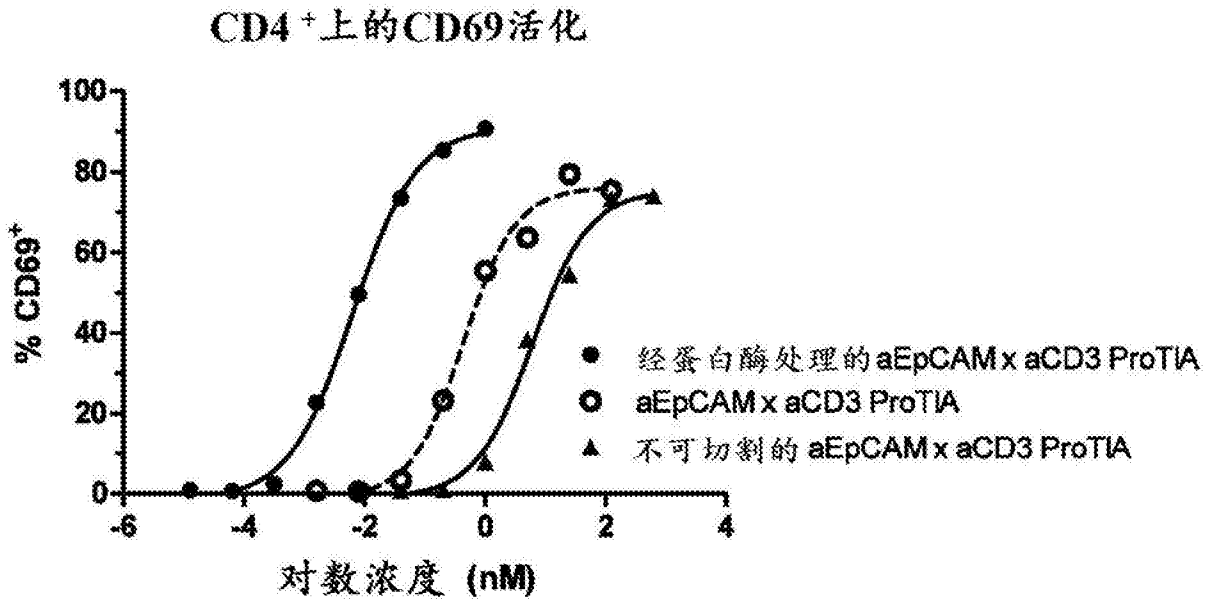

CD4 +上的CD69活化
% CD69+
100
80
60
40
20
0
-6
-4
-2
0
2
4
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的 aEpCAM x aCD3 ProTIA

图42B

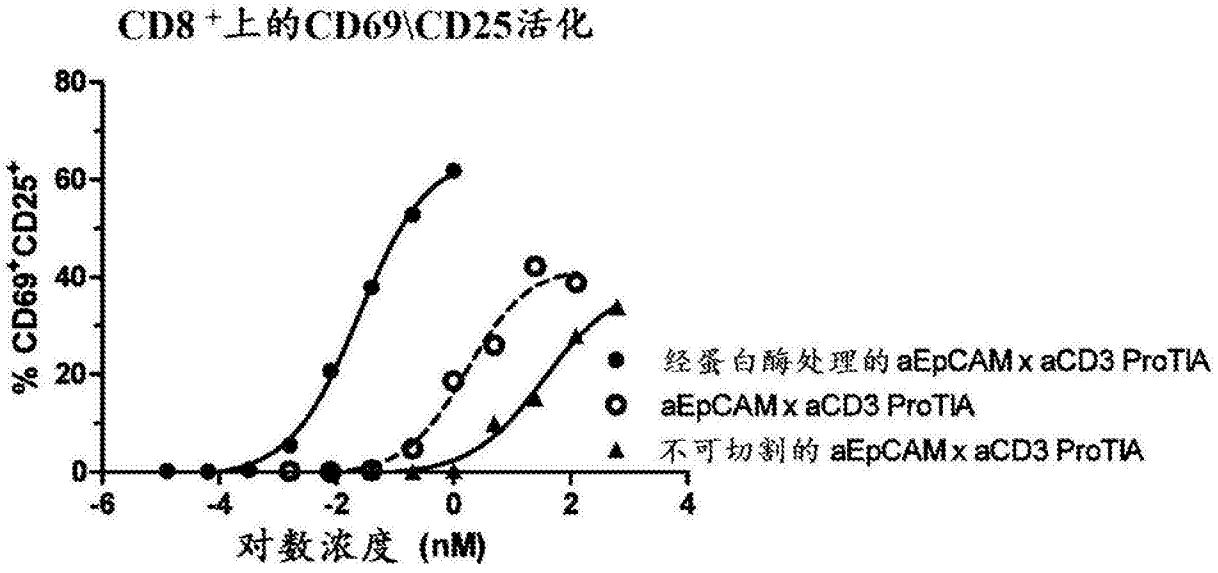

CD8+上的CD69\CD25活化
% CD69+CD25+
80
60
40
20
0
-6
-4
-2
0
2
4
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的 aEpCAM x aCD3 ProTIA

图43A

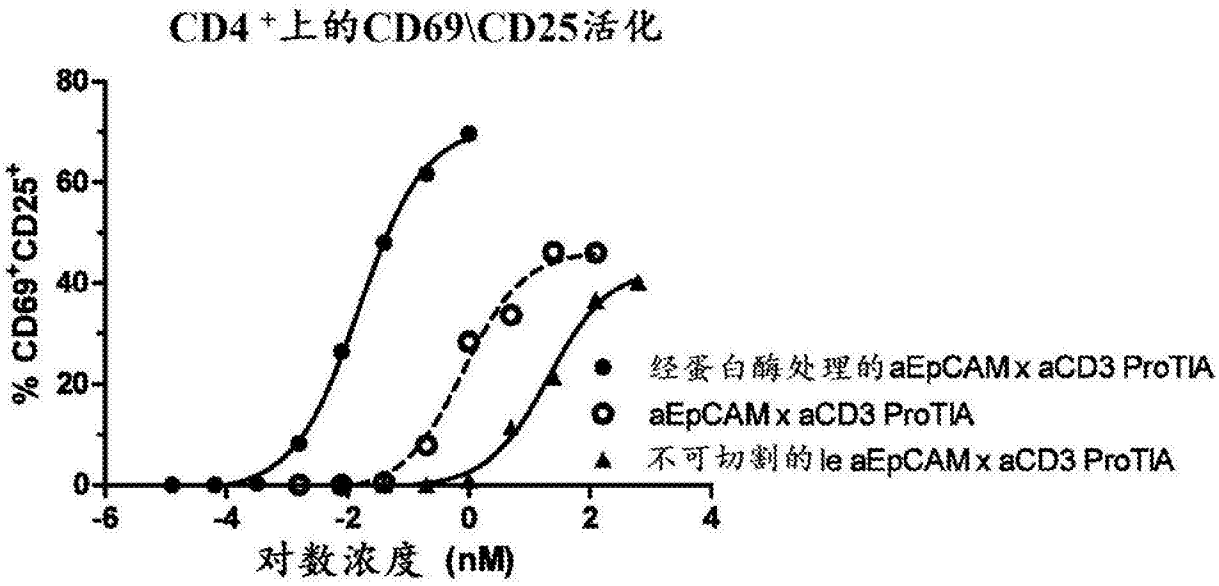

CD4+上的CD69\CD25活化
% CD69+CD25+
80
60
40
20
0
-6
-4
-2
0
2
4
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的 le aEpCAM x aCD3 ProTIA

图43B

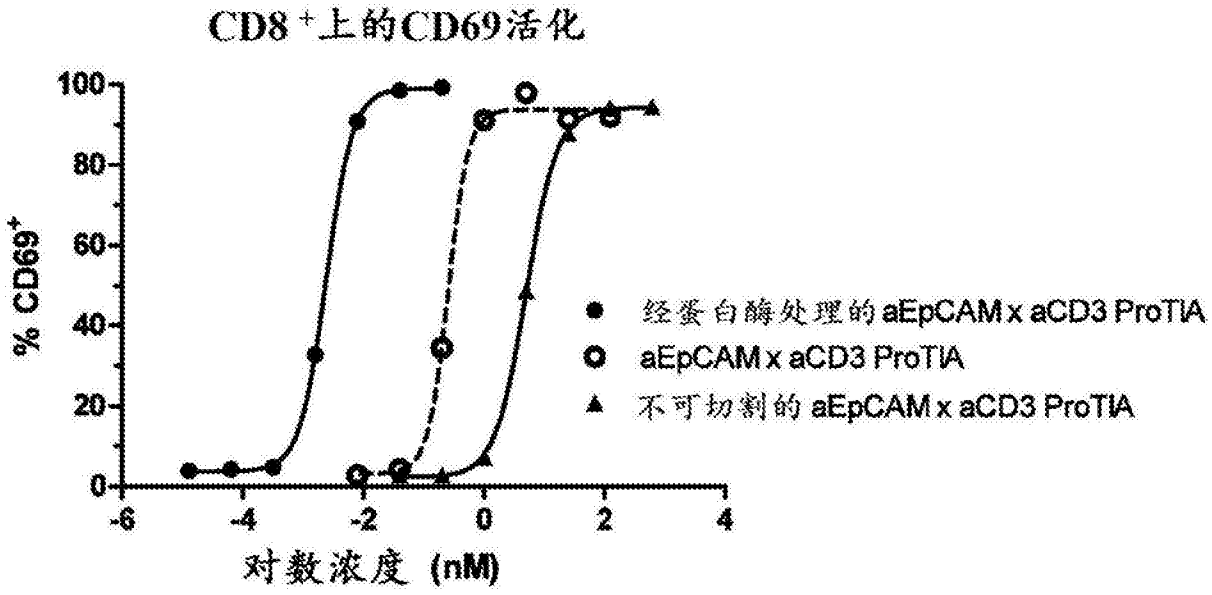

CD8 +上的CD69活化
% CD69+
100
80
60
40
20
0
-6
-4
-2
0
2
4
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的 aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的 aEpCAM x aCD3 ProTIA

图44A

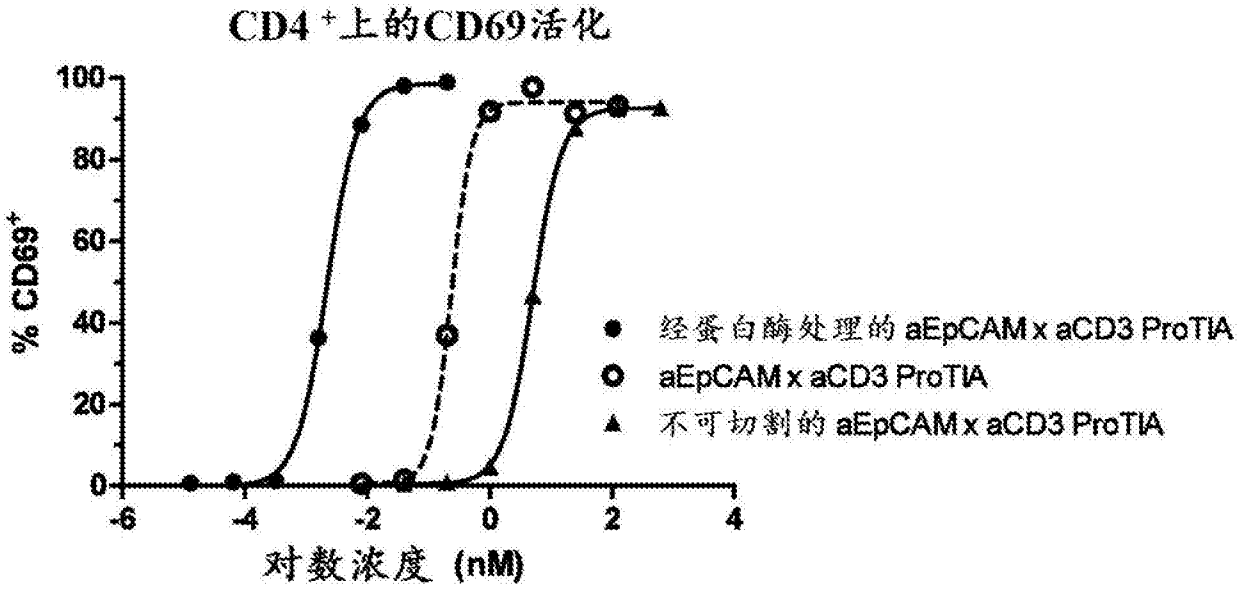

CD4 +上的CD69活化
% CD69+
100
80
60
40
20
0
-6
-4
-2
0
2
4
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的 aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的 aEpCAM x aCD3 ProTIA

图44B

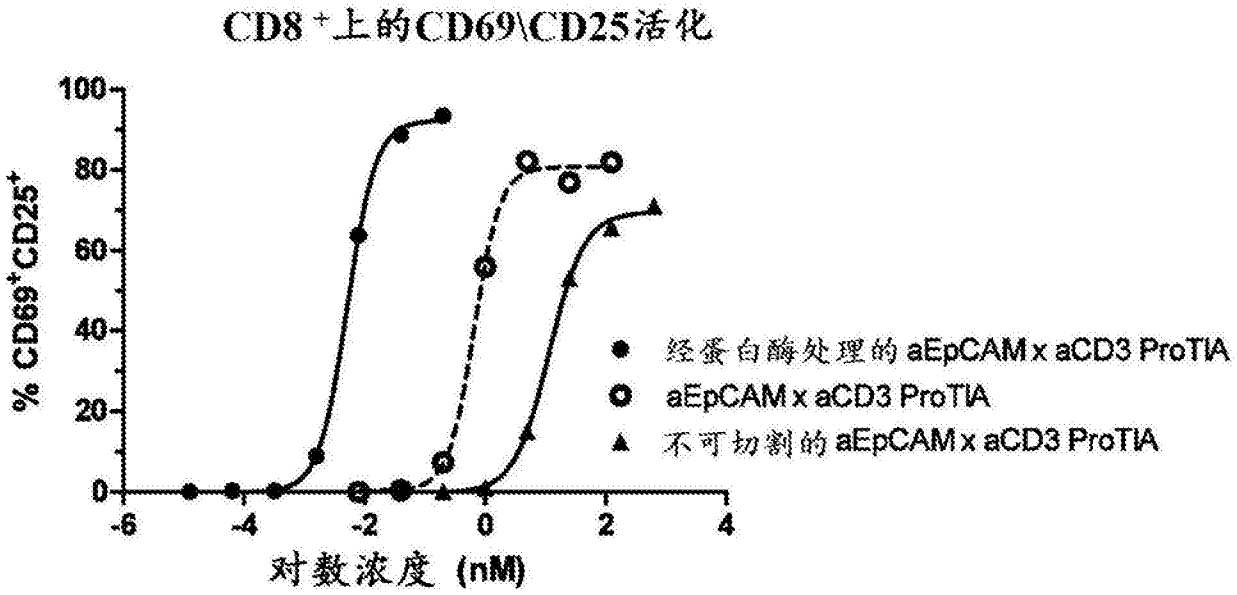

CD8+上的CD69\CD25活化
% CD69+CD25+
100
80
60
40
20
0
-6
-4
-2
0
2
4
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的 aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的 aEpCAM x aCD3 ProTIA

图45A

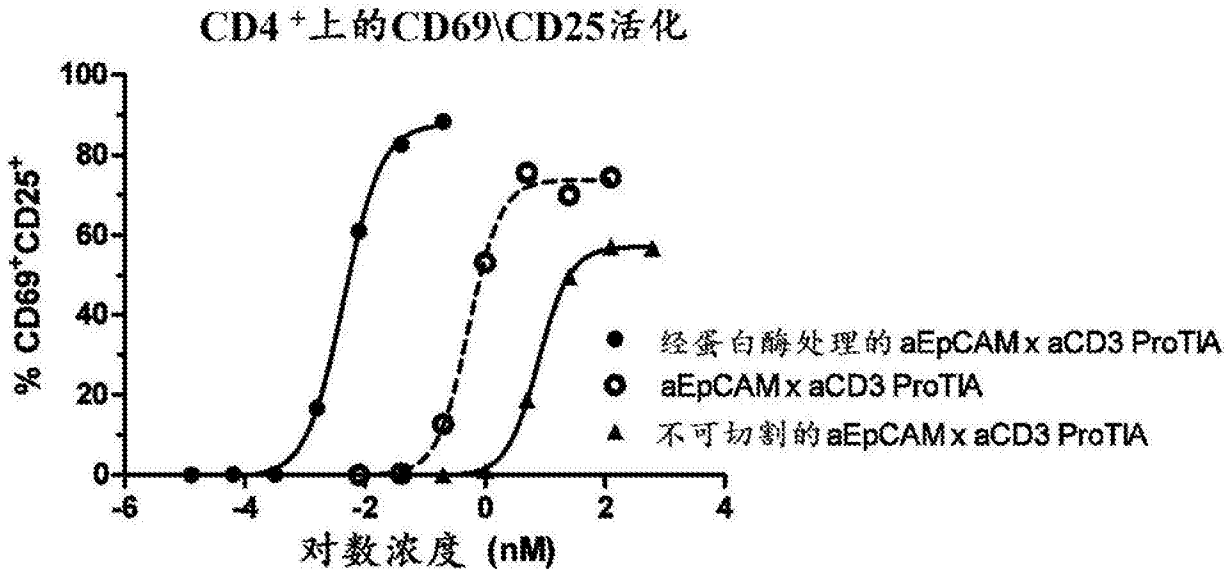

CD4+上的CD69\CD25活化
% CD69+CD25+
100
80
60
40
20
0
-6
-4
-2
0
2
4
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的 aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的 aEpCAM x aCD3 ProTIA

图45B

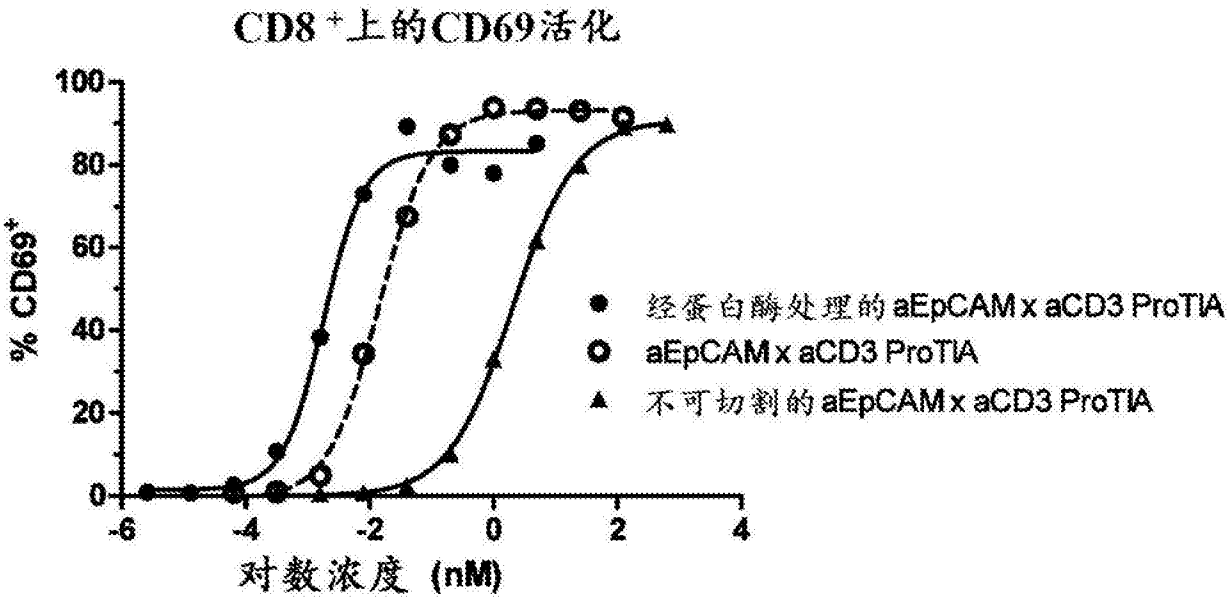

CD8+上的CD69活化
% CD69+
100
80
60
40
20
0
-6
-4
-2
0
2
4
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的aEpCAM x aCD3 ProTIA

图46A

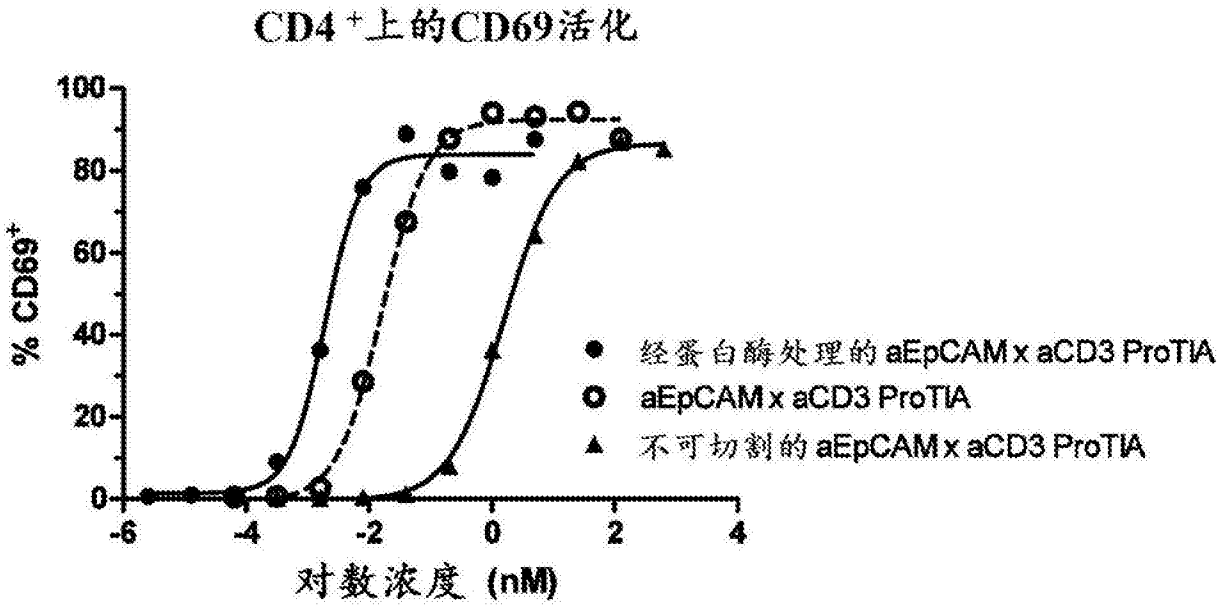

CD4+上的CD69活化
% CD69+
100
80
60
40
20
0
-6
-4
-2
0
2
4
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的aEpCAM x aCD3 ProTIA

图46B

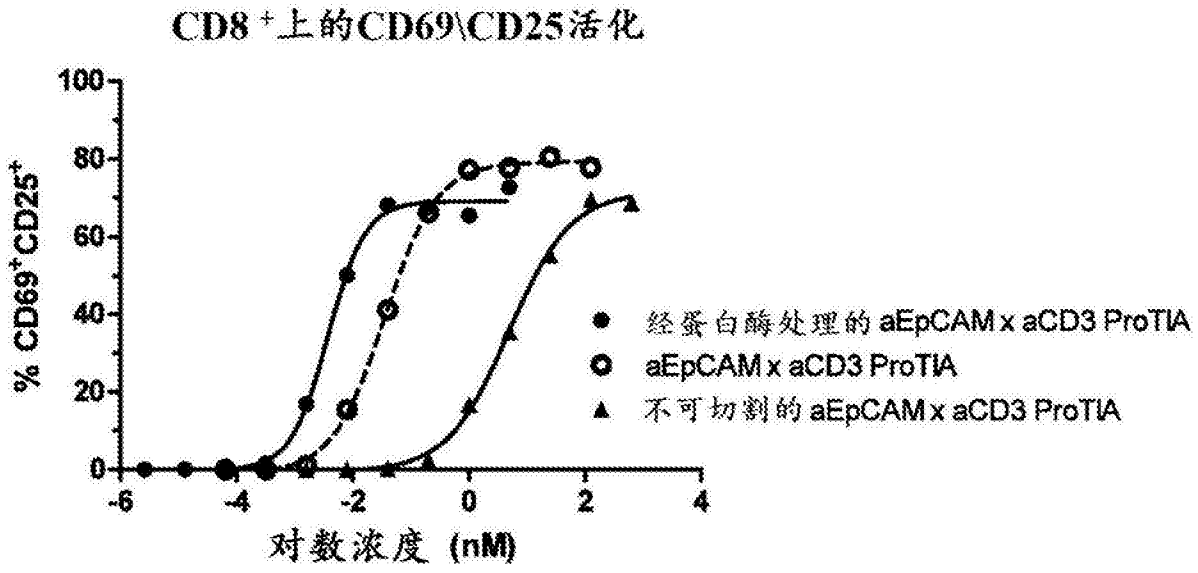

CD8 +上的CD69\CD25活化
% CD69+CD25+
100
80
60
40
20
0
-6
-4
-2
0
2
4
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的 aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的 aEpCAM x aCD3 ProTIA

图47A

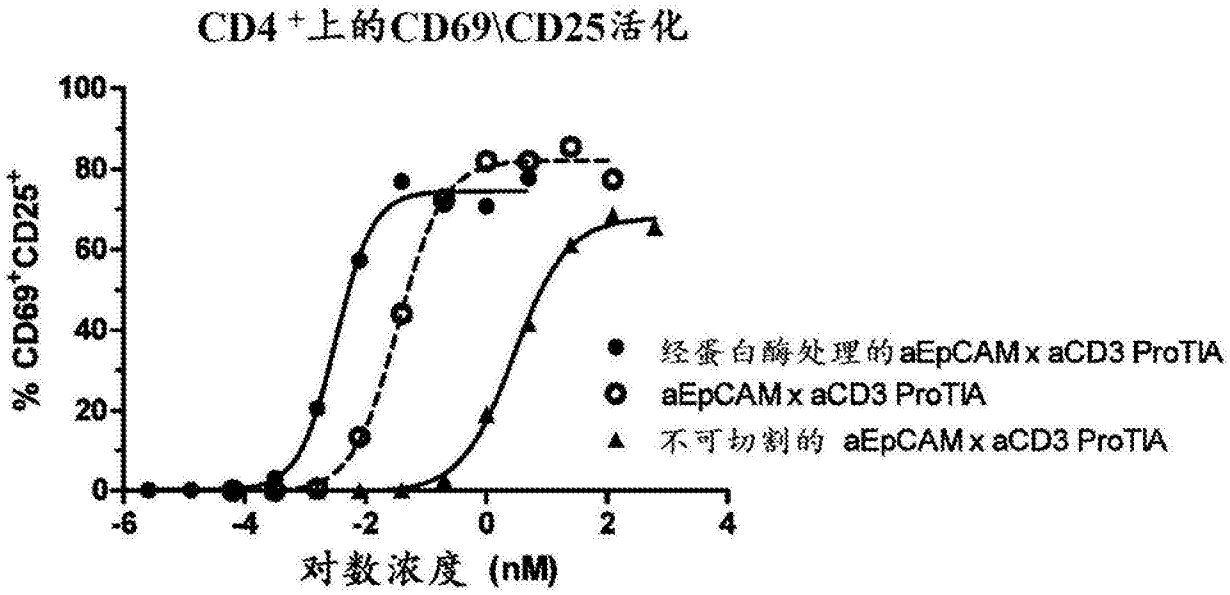

CD4 +上的CD69\CD25活化
% CD69+CD25+
100
80
60
40
20
0
-6
-4
-2
0
2
4
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的 aEpCAM x aCD3 ProTIA

图47B

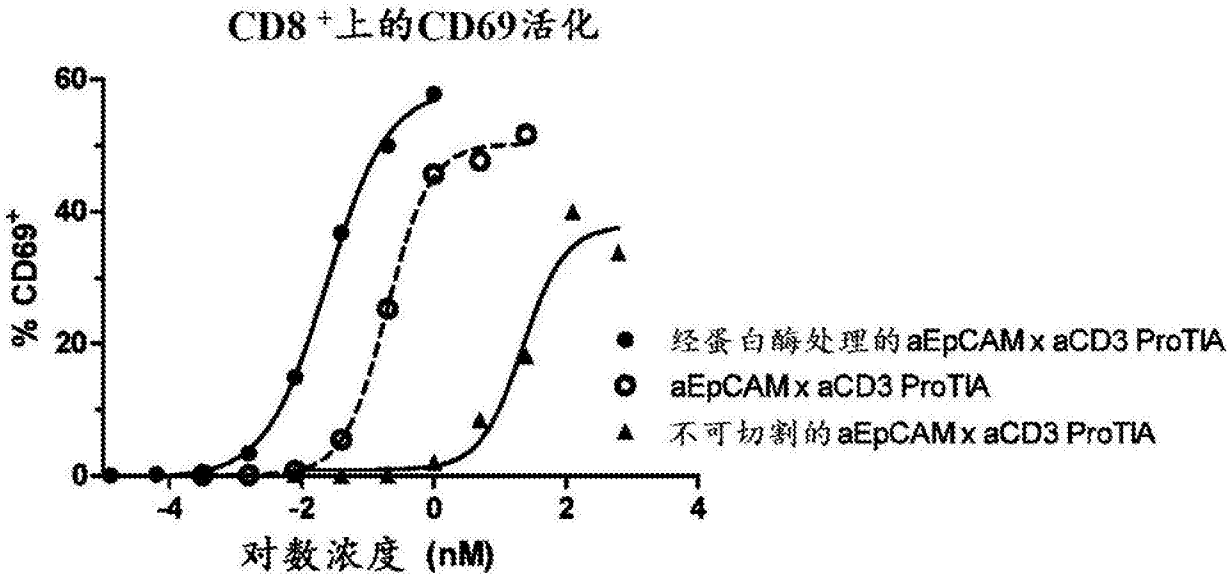

CD8 +上的CD69活化
% CD69+
60
40
20
0
-4
-2
0
2
4
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的aEpCAM x aCD3 ProTIA

图48A

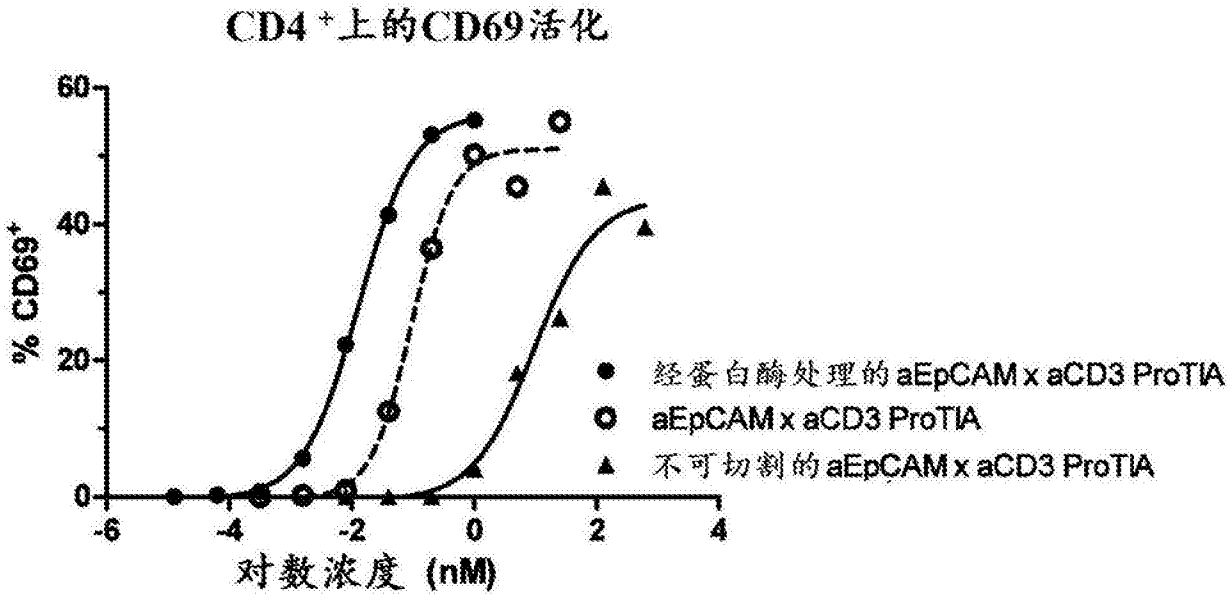

CD4 +上的CD69活化
% CD69+
60
40
20
0
-6
-4
-2
0
2
4
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的aEpCAM x aCD3 ProTIA

图48B

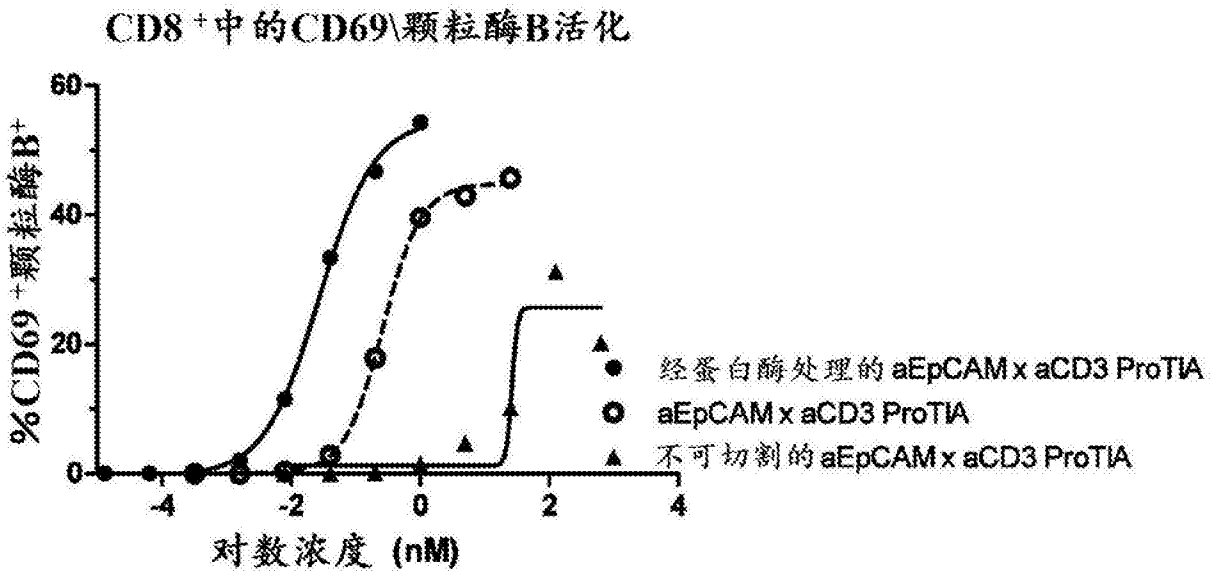

CD8 +中的CD69\颗粒酶B活化
%CD69 +颗粒酶B+
60
40
20
0
-4
-2
0
2
4
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的aEpCAM x aCD3 ProTIA

图49A

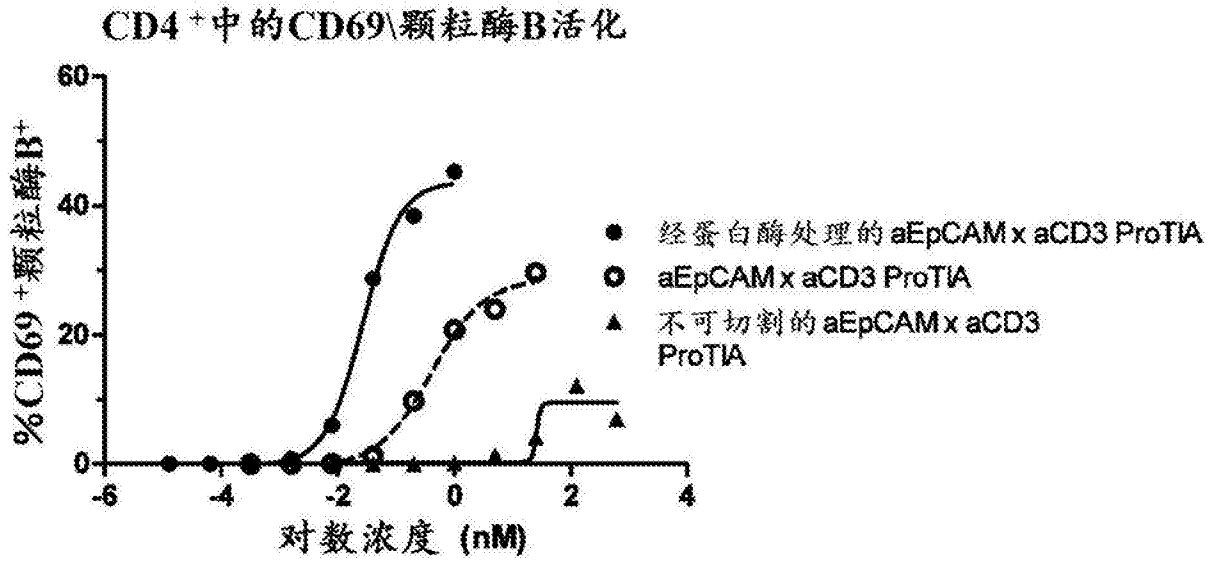

CD4 +中的CD69\颗粒酶B活化
%CD69 +颗粒酶B+
60
40
20
0
-6
-4
-2
0
2
4
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的aEpCAM x aCD3 ProTIA

图49B

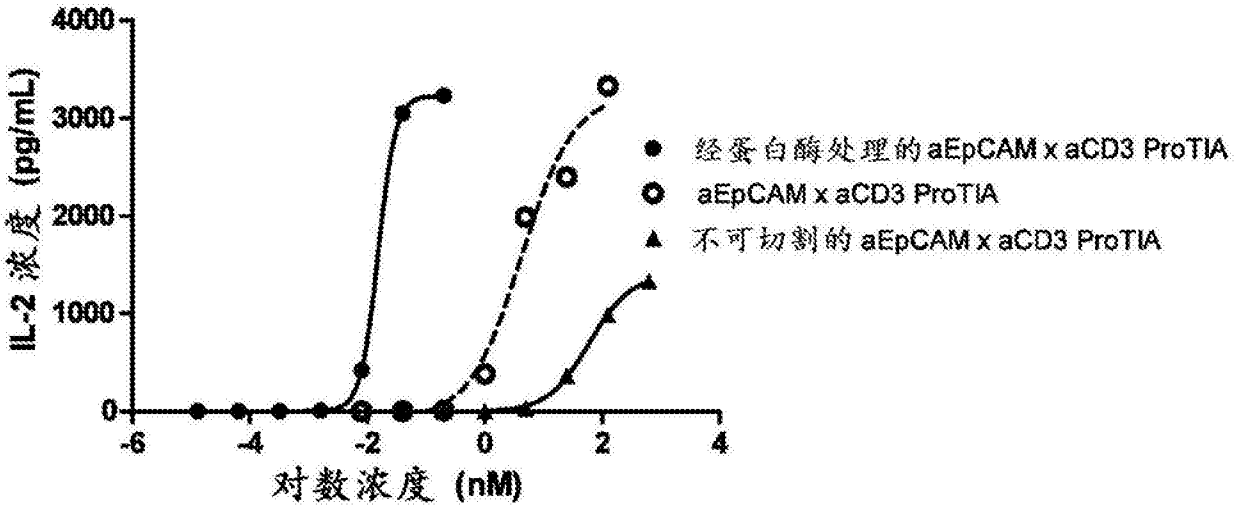

4000
3000
2000
1000
0
IL-2 浓度 (pg/mL)
-6
-4
-2
0
2
4
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的 aEpCAM x aCD3 ProTIA

图50A

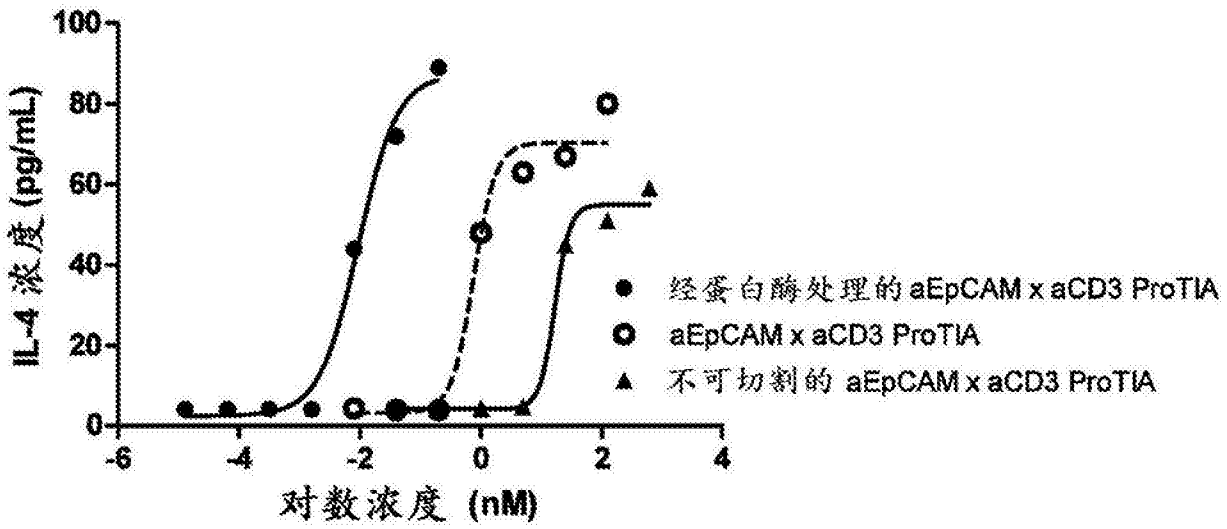

100
80
60
40
20
0
IL-4 浓度 (pg/mL)
-6
-4
-2
0
2
4
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的 aEpCAM x aCD3 ProTIA

图50B

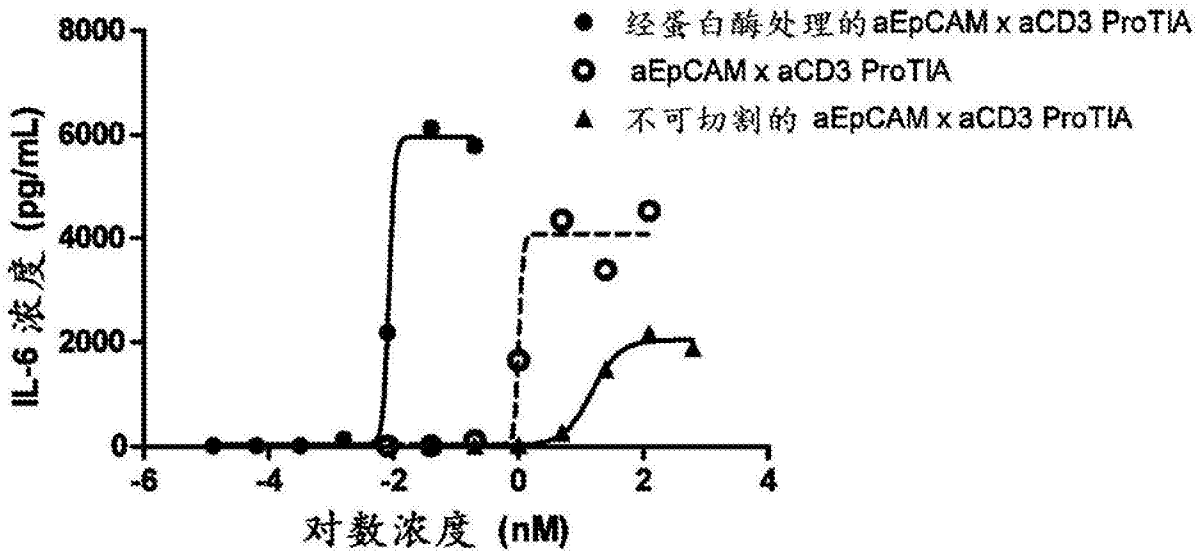

经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的 aEpCAM x aCD3 ProTIA
IL-6 浓度 (pg/mL)
8000
6000
4000
2000
0
-6
-4
-2
0
2
4
对数浓度 (nM)

图51A

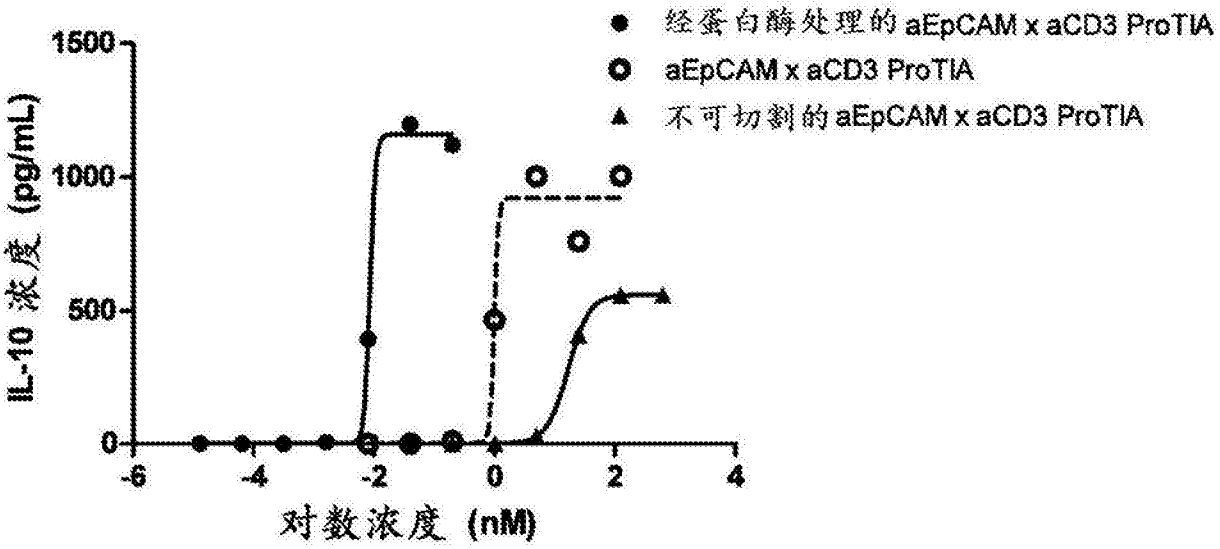

经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的aEpCAM x aCD3 ProTIA
IL-10 浓度 (pg/mL)
1500
1000
500
0
-6
-4
-2
0
2
4
对数浓度 (nM)

图51B

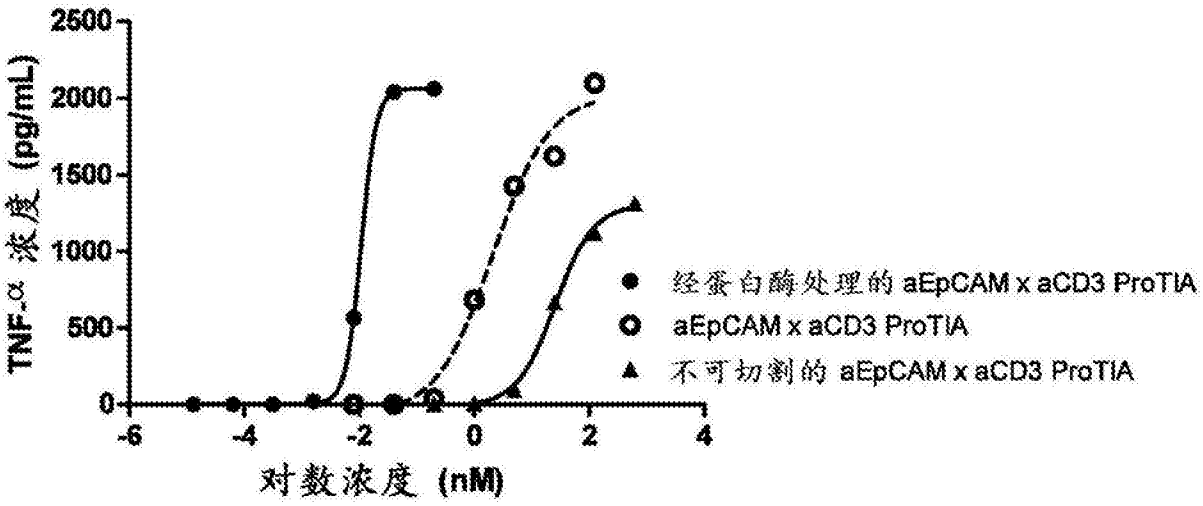

2500
2000
1500
1000
500
0
TNF-α 浓度 (pg/mL)
-6
-4
-2
0
2
4
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的 aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的 aEpCAM x aCD3 ProTIA

图52A

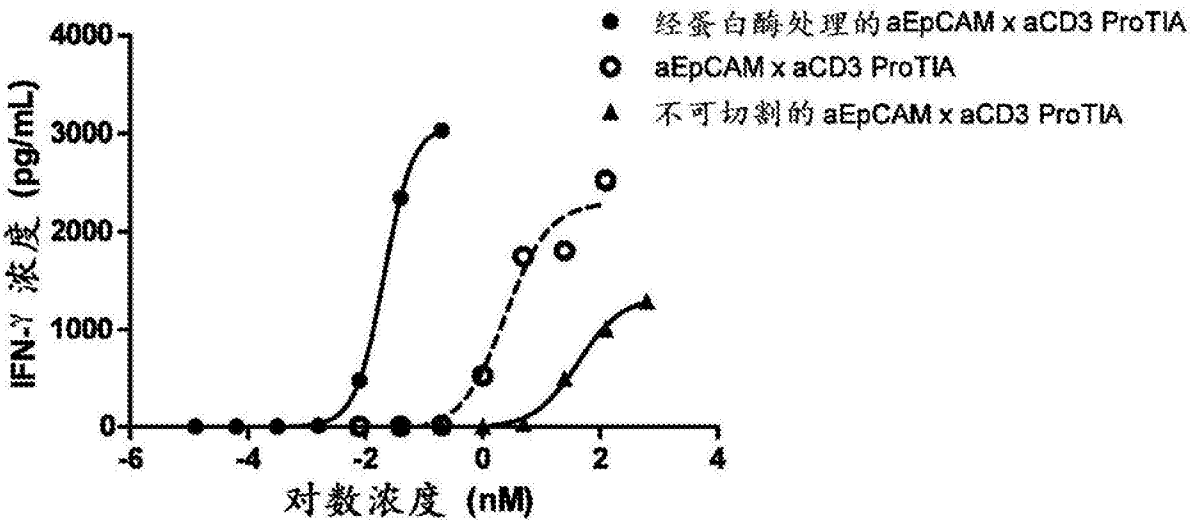

4000
3000
2000
1000
0
IFN-γ 浓度 (pg/mL)
-6
-4
-2
0
2
4
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的aEpCAM x aCD3 ProTIA

图52B

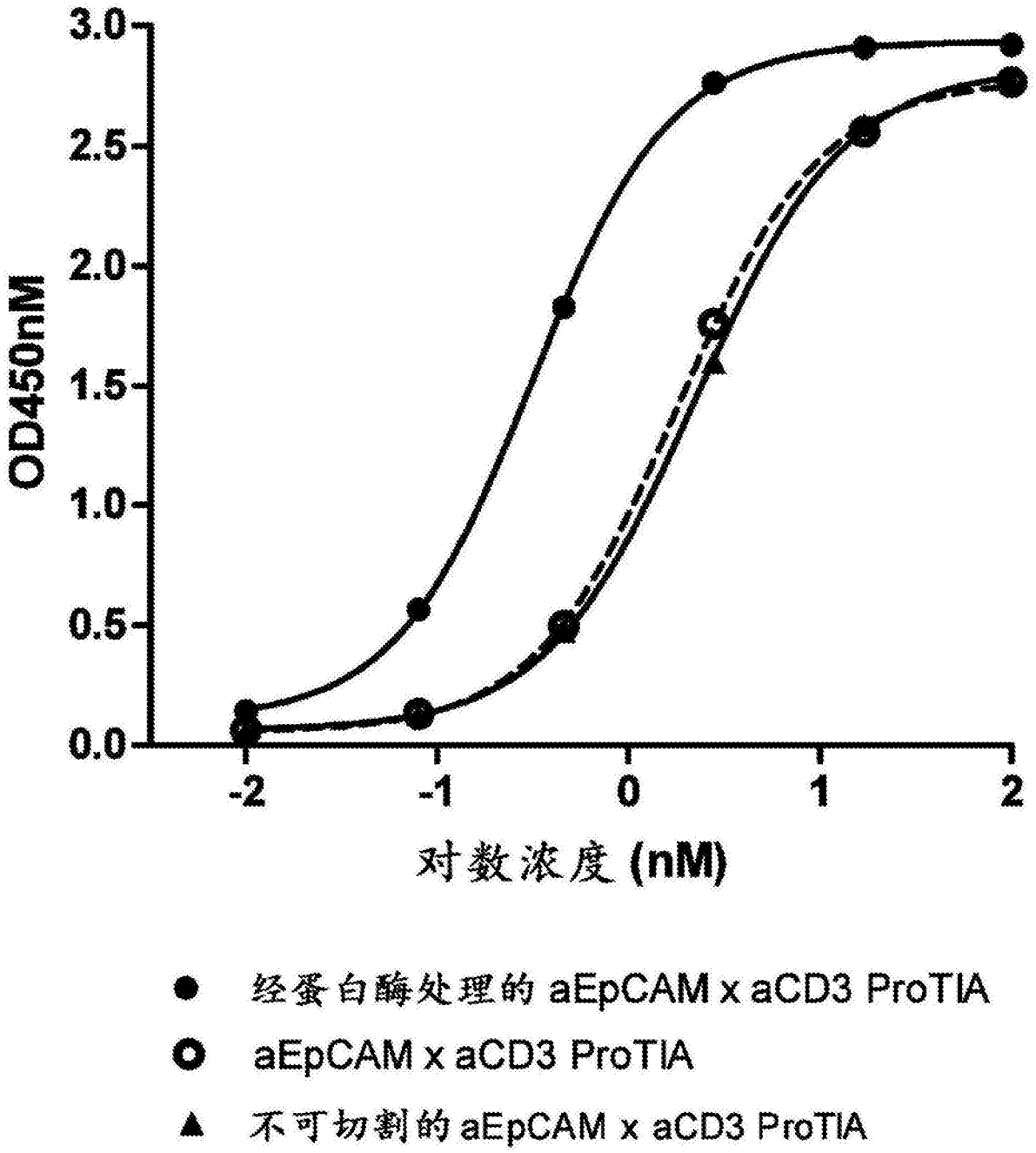
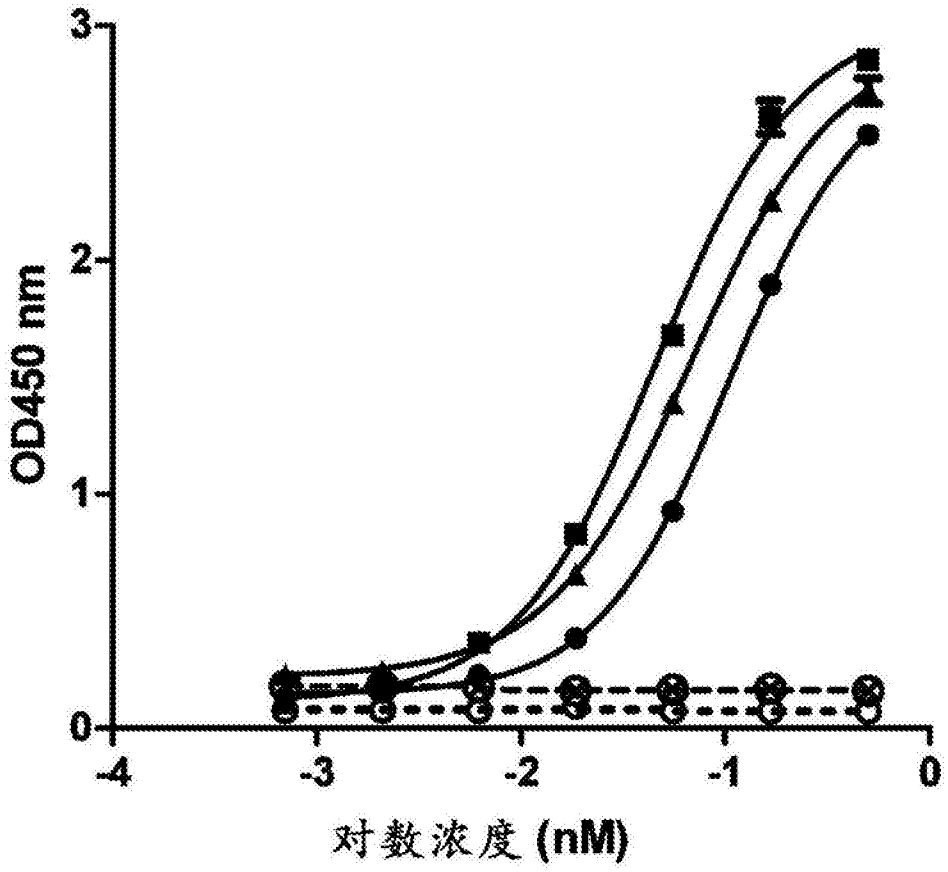

3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
OD450nM
-2
-1
0
1
2
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的 aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的 aEpCAM x aCD3 ProTIA

图53



■ 蛋白酶处理的aHER2 x aCD3 ProTIA结合包被在平板上的HER2

▲ 经蛋白酶处理的CEA x aCD3 ProTIA结合包被在平板上的CEA

● 经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA结合包被在平板上的aEpCAM

○ 经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA结合包被在平板上的HER2

⊗ 经蛋白酶处理的aEpCAM x aCD3 ProTIA结合包被在平板上的CEA

图54

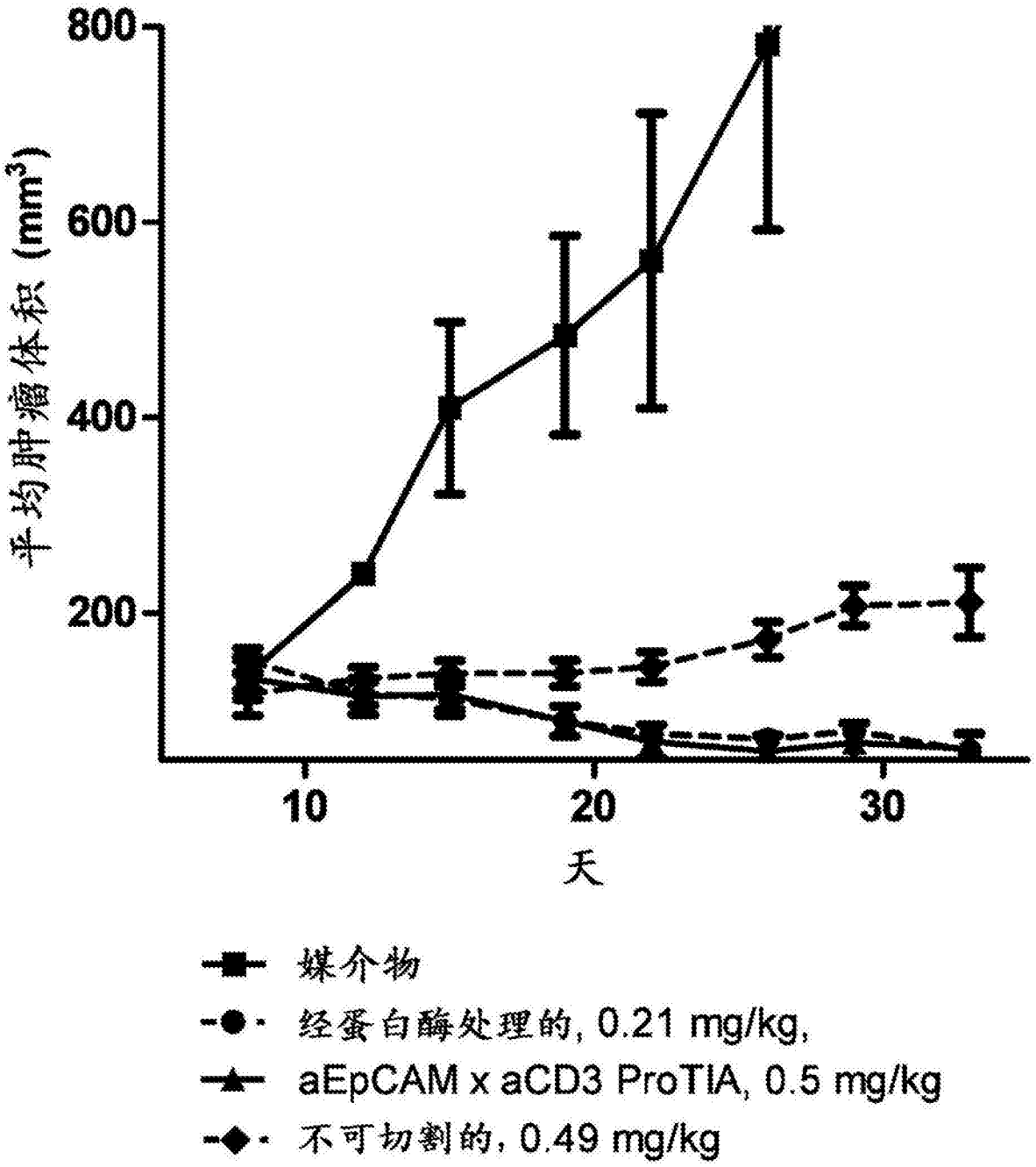

800
600
400
200
平均肿瘤体积 (mm³)
10
20
30
天
媒介物
经蛋白酶处理的, 0.21 mg/kg,
aEpCAM x aCD3 ProTIA, 0.5 mg/kg
不可切割的, 0.49 mg/kg

图55

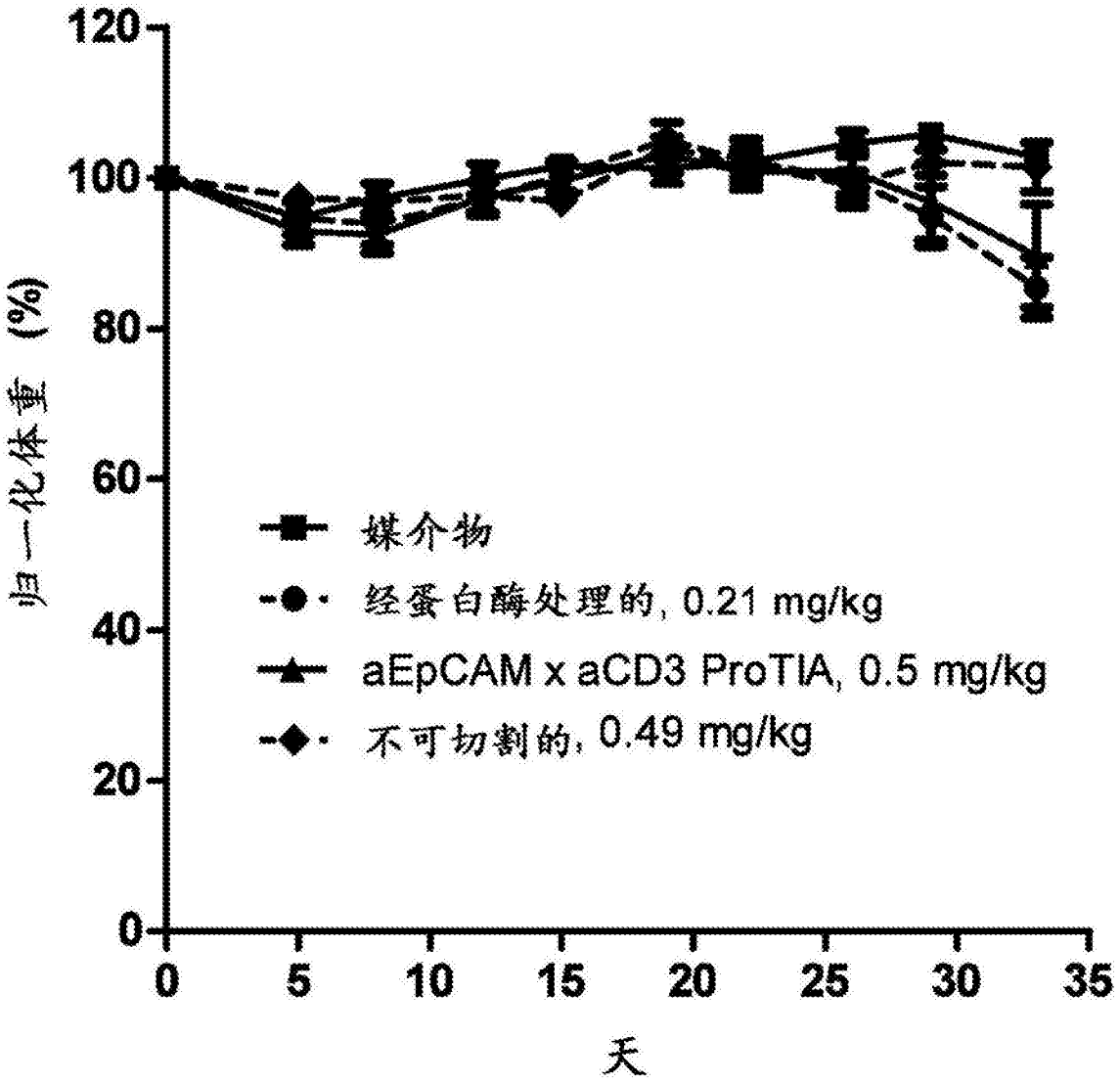

120
100
80
60
40
20
0
归一化体重 (%)
0
5
10
15
20
25
30
35
天
媒介物
经蛋白酶处理的, 0.21 mg/kg
aEpCAM x aCD3 ProTIA, 0.5 mg/kg
不可切割的, 0.49 mg/kg

图56

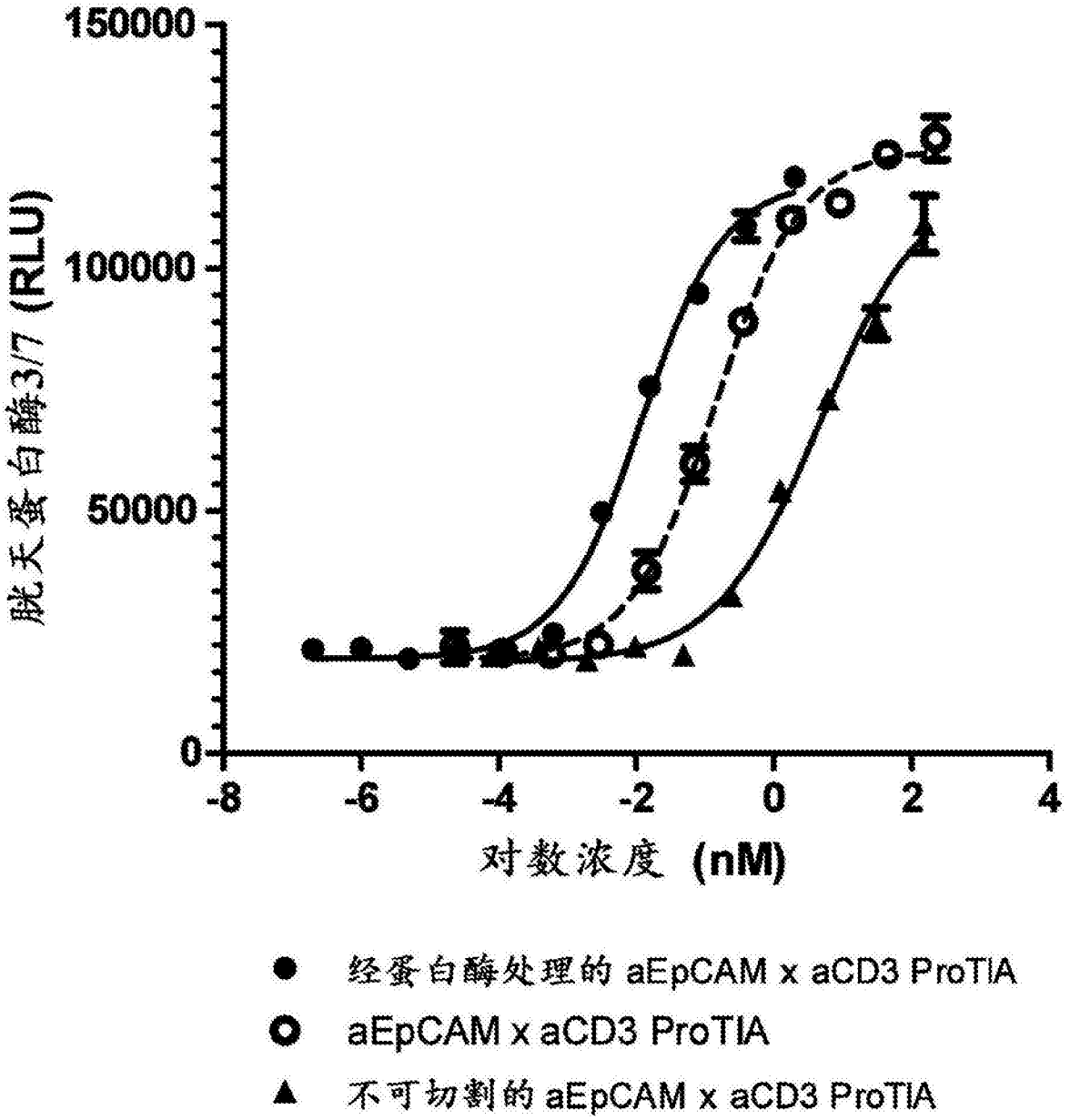

150000
100000
50000
0
脱天蛋白酶3/7 (RLU)
-8
-6
-4
-2
0
2
4
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的 aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的 aEpCAM x aCD3 ProTIA

图57

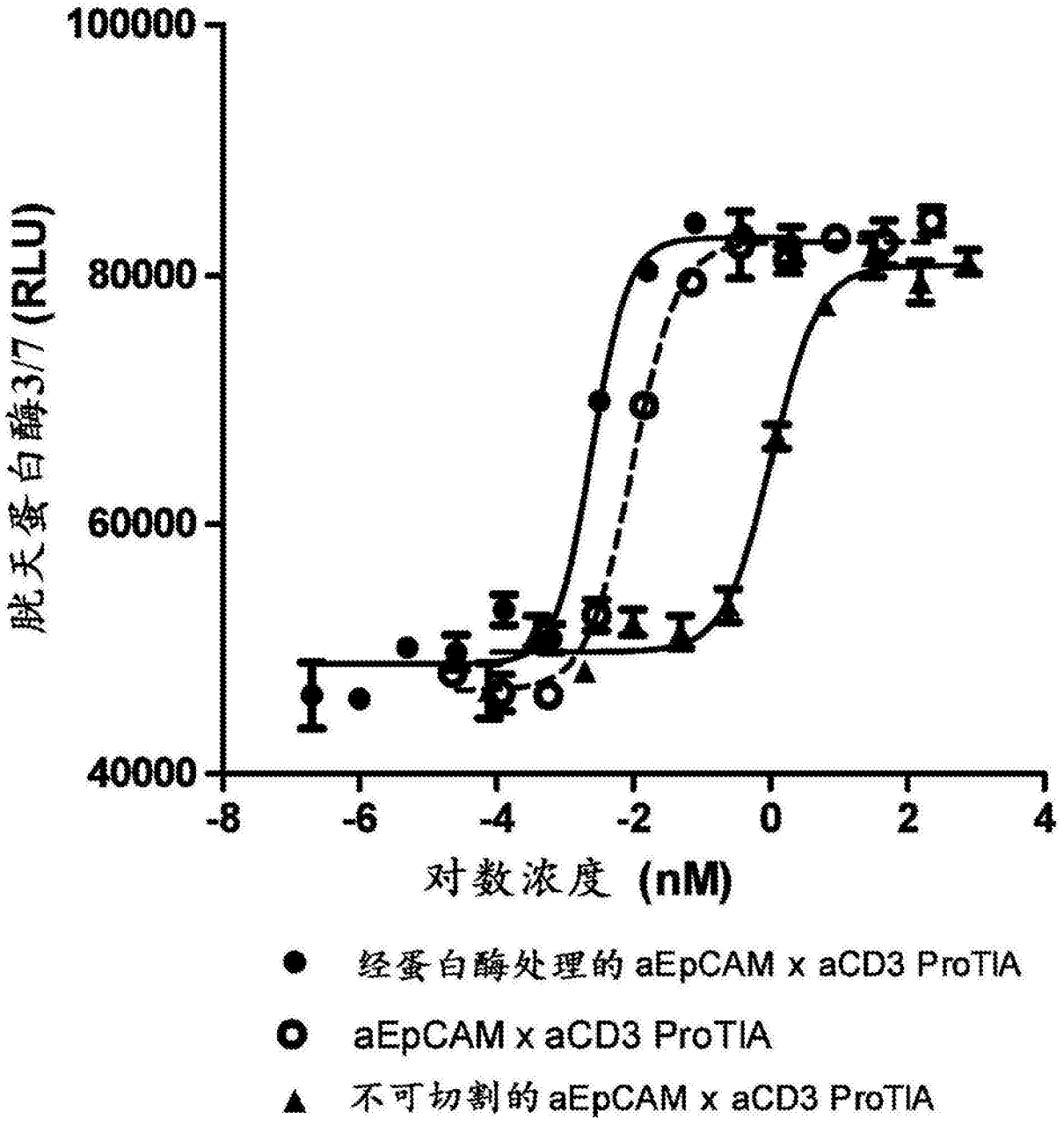

100000
80000
60000
40000
胱天蛋白酶3/7 (RLU)
-8
-6
-4
-2
0
2
4
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的 aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的 aEpCAM x aCD3 ProTIA

图58

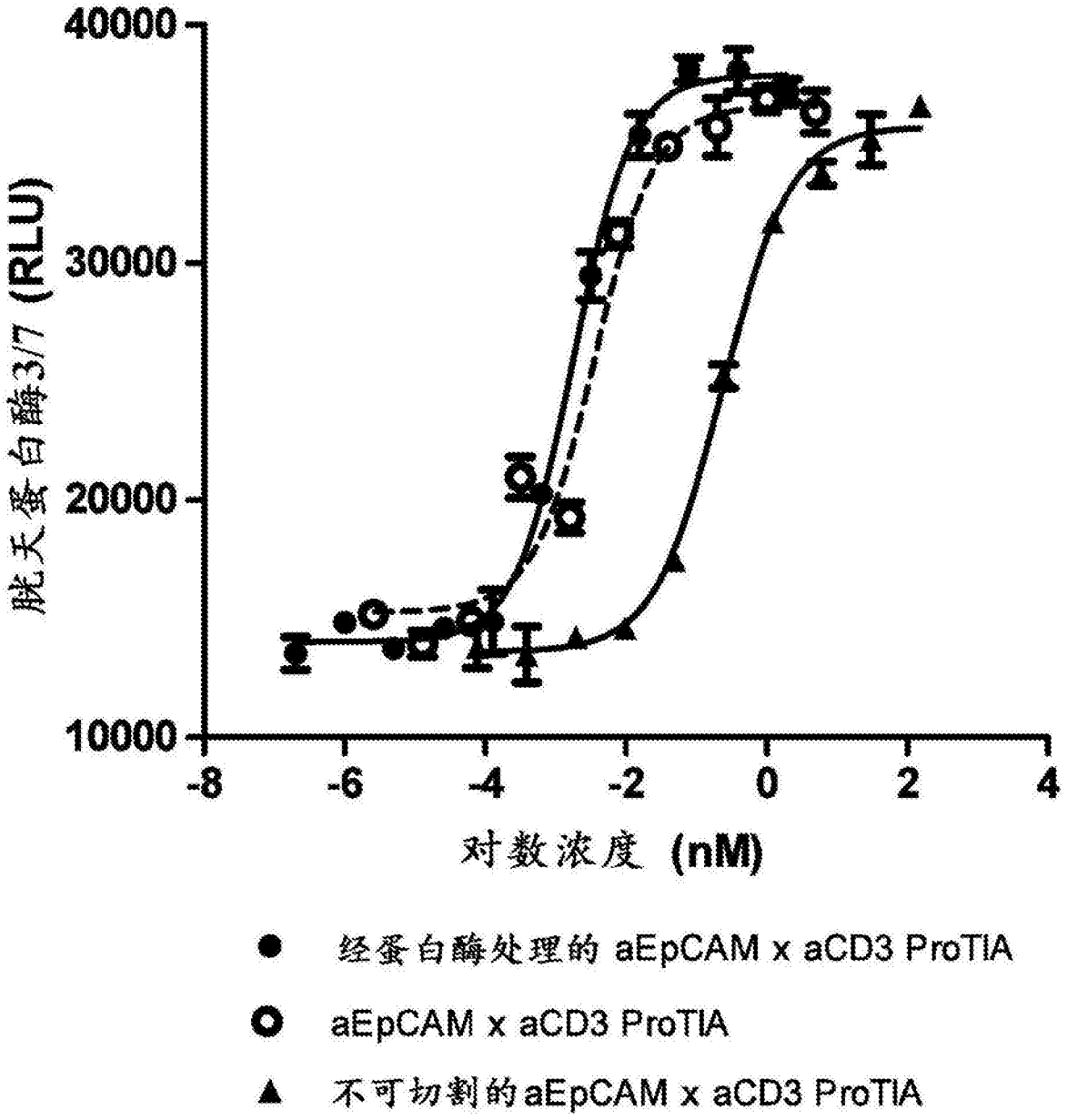

40000
30000
20000
10000
胱天蛋白酶3/7 (RLU)
-8
-6
-4
-2
0
2
4
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的 aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的aEpCAM x aCD3 ProTIA

图59

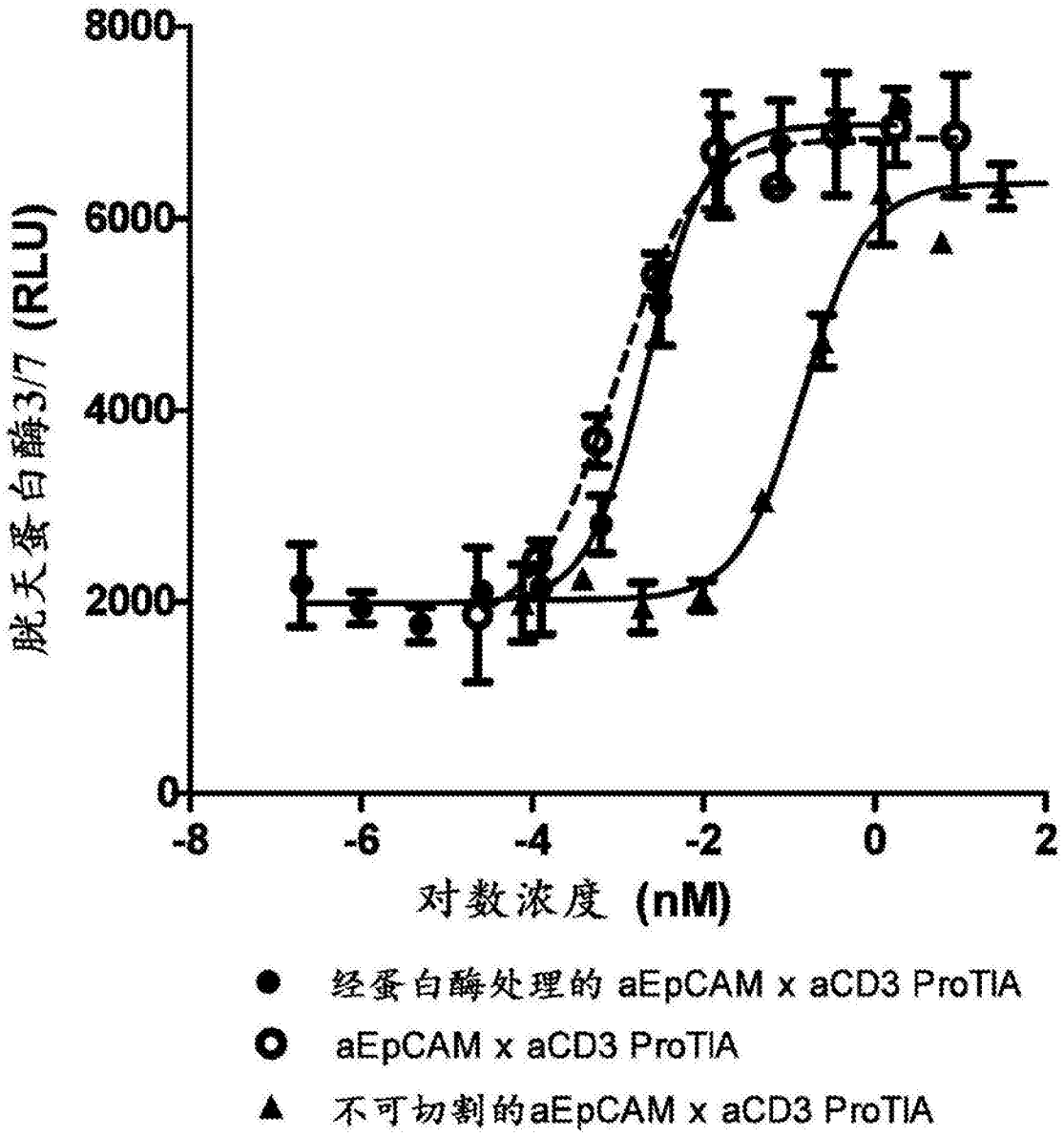

8000
6000
4000
2000
0
脱天蛋白酶3/7 (RLU)
-8
-6
-4
-2
0
2
对数浓度 (nM)
经蛋白酶处理的 aEpCAM x aCD3 ProTIA
aEpCAM x aCD3 ProTIA
不可切割的aEpCAM x aCD3 ProTIA

图60