



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108112254 B

(45) 授权公告日 2022. 01. 28

(21) 申请号 201680027483.1

(22) 申请日 2016.03.14

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 108112254 A

(43) 申请公布日 2018.06.01

(30) 优先权数据
62/133231 2015.03.13 US
62/139596 2015.03.27 US
62/218883 2015.09.15 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2017.11.10

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2016/022345 2016.03.14

(87) PCT国际申请的公布数据
W02016/149201 EN 2016.09.22

(73) 专利权人 西托姆克斯治疗公司
地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 J.W. 韦斯特 L. 梅 S.J. 摩尔
M. 阮 D. 霍斯特特 O. 瓦西尔耶瓦
J. 萨格特 J. 特雷特

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公
司 72001

代理人 梁谋 黄希贵

(51) Int.Cl.

C07K 16/28 (2006.01)
C12N 15/13 (2006.01)
C12P 21/02 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 104250302 A, 2014.12.31
WO 2013163631 A2, 2013.10.31
CN 101248089 A, 2008.08.20
WO 2015013671 A1, 2015.01.29
CN 102918058 A, 2013.02.06
CN 103987405 A, 2014.08.13
Julie R. Brahmer等. Safety and
Activity of Anti-PD-L1 Antibody in
Patients with Advanced Cancer.《The new
england journal of medicine》.2012,
Roy S. Herbst等. Predictive correlates
of response to the anti-PD-L1 antibody
MPDL3280A in cancer patients.《Nature》
.2014, 第515卷

审查员 黎舒婷

权利要求书4页 说明书202页 附图29页

(54) 发明名称

抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体、及其
使用方法

(57) 摘要

本发明一般地涉及结合程序性死亡配体1
(PDL1) 的抗体、特异性地结合PDL1的可活化抗体
和在多种治疗、诊断和预防适应症中制备和使用
这些抗-PDL1抗体和抗-PDL1可活化抗体的方法。

1. 一种分离的抗体或其抗原结合片段,其特异性地结合哺乳动物PDL1,其中所述抗体或其抗原结合片段包含:

(a) 重链可变区 (VH),其包含:

- i. 由SEQ ID NO:212的氨基酸序列组成的可变重链互补决定区1 (VH CDR1);
- ii. 由SEQ ID NO:246的氨基酸序列组成的可变重链互补决定区2 (VH CDR2);
- iii. 由SEQ ID NO:235的氨基酸序列组成的可变重链互补决定区3 (VH CDR3);以及

(b) 轻链可变区 (VL),其包含:

- i. 由SEQ ID NO:209的氨基酸序列组成的可变轻链互补决定区1 (VL CDR1);
- ii. 由SEQ ID NO:215或227的氨基酸序列组成的可变轻链互补决定区2 (VL CDR2);以及
- iii. 由SEQ ID NO:228的氨基酸序列组成的可变轻链互补决定区3 (VL CDR3)。

2. 一种可活化抗体,其在活化状态特异性地结合哺乳动物PDL1,其中所述可活化抗体包含:

特异性地结合哺乳动物PDL1的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段包含:

(a) 重链可变区 (VH),其包含:

- i. 由SEQ ID NO:212的氨基酸序列组成的可变重链互补决定区1 (VH CDR1);
- ii. 由SEQ ID NO:246的氨基酸序列组成的可变重链互补决定区2 (VH CDR2);
- iii. 由SEQ ID NO:235的氨基酸序列组成的可变重链互补决定区3 (VH CDR3);以及

(b) 轻链可变区 (VL),其包含:

- i. 由SEQ ID NO:209的氨基酸序列组成的可变轻链互补决定区1 (VL CDR1);
- ii. 由SEQ ID NO:215或227的氨基酸序列组成的可变轻链互补决定区2 (VL CDR2);以及
- iii. 由SEQ ID NO:228的氨基酸序列组成的可变轻链互补决定区3 (VL CDR3);

(c) 当所述可活化抗体处于未切割状态时抑制所述抗体或其抗原结合片段与哺乳动物PDL1的结合的掩蔽部分;和

(d) 与所述抗体或其抗原结合片段偶联的可切割部分,其中所述可切割部分是作为蛋白酶底物起作用的多肽。

3. 根据权利要求1的抗体或根据权利要求2的可活化抗体,其中所述哺乳动物PDL1选自人PDL1、鼠PDL1和食蟹猴PDL1。

4. 根据权利要求1的抗体或根据权利要求2的可活化抗体,其中所述哺乳动物PDL1是人PDL1。

5. 根据权利要求1的抗体或根据权利要求2的可活化抗体,其中所述抗体或其抗原结合片段包含:由AASSLQS (SEQ ID NO: 215) 组成的VL CDR2序列。

6. 根据权利要求1的抗体或根据权利要求2的可活化抗体,其中所述抗体或其抗原结合片段包含可变重链 (VH) 和可变轻链 (VL),所述可变重链 (VH) 由SEQ ID NO: 46的氨基酸序列组成,所述可变轻链 (VL) 由SEQ ID NO: 12的氨基酸序列组成。

7. 根据权利要求1的抗体或根据权利要求2的可活化抗体,其中所述抗体或其抗原结合片段包含:由SEQ ID NO: 46的氨基酸序列组成的可变重链 (VH) 和由SEQ ID NO: 58的氨基

酸序列组成的可变轻链(VL)。

8. 根据权利要求2的可活化抗体,其中所述掩蔽部分由选自SEQ ID NO: 59-81、208和426的氨基酸序列组成。

9. 根据权利要求2的可活化抗体,其中所述可切割部分由选自SEQ ID NO: 338-394和435-445、883-921、1009和1010的氨基酸序列组成。

10. 根据权利要求2的可活化抗体,其中所述可切割部分由选自SEQ ID NO: 377-394、883-921、1009和1010的氨基酸序列组成。

11. 根据权利要求1的抗体或根据权利要求2的可活化抗体,其中其抗原结合片段选自Fab片段、F(ab')₂片段、scFv、scAb、dAb、单结构域重链抗体和单结构域轻链抗体。

12. 根据权利要求2的可活化抗体,其中所述抗体或其抗原结合片段连接至所述可切割部分。

13. 根据权利要求12所述的可活化抗体,其中所述抗体或其抗原结合片段直接连接至所述可切割部分。

14. 根据权利要求12所述的可活化抗体,其中所述抗体或其抗原结合片段经由连接肽连接至所述可切割部分。

15. 根据权利要求2所述的可活化抗体,其中所述掩蔽部分连接至所述可切割部分,使得处于未切割状态的可活化抗体包含如下从N-端至C-端的结构排列:掩蔽部分-可切割部分-抗体或其抗原结合片段或抗体或其抗原结合片段-可切割部分-掩蔽部分。

16. 根据权利要求15所述的可活化抗体,其中所述可活化抗体包含在所述掩蔽部分和所述可切割部分之间的连接肽。

17. 根据权利要求15所述的可活化抗体,其中所述可活化抗体包含在所述可切割部分和所述抗体或其抗原结合片段之间的连接肽。

18. 根据权利要求15所述的可活化抗体,其中所述可活化抗体包含第一连接肽和第二连接肽,且其中处于未切割状态的可活化抗体具有如下从N-端至C-端的结构排列:掩蔽部分-第一连接肽-可切割部分-第二连接肽-抗体或其抗原结合片段或抗体或其抗原结合片段-第二连接肽-可切割部分-第一连接肽-掩蔽部分。

19. 根据权利要求18所述的可活化抗体,其中所述2个连接肽不彼此相同。

20. 根据权利要求18或19所述的可活化抗体,其中每个第一连接肽和第二连接肽是1-20个氨基酸长度的肽。

21. 根据权利要求2、8-10或12-19中的任一项所述的可活化抗体,所述可活化抗体包含轻链,所述轻链由SEQ ID NO: 985的氨基酸序列组成。

22. 根据权利要求2、8-10或12-19中的任一项所述的可活化抗体,所述可活化抗体包含轻链,所述轻链由SEQ ID NO: 137的氨基酸序列组成。

23. 根据权利要求2、8-10或12-19中的任一项所述的可活化抗体,所述可活化抗体包含SEQ ID NO: 428或SEQ ID NO: 1008的氨基酸序列。

24. 根据权利要求2、8-10或12-19中的任一项所述的可活化抗体,所述可活化抗体包含SEQ ID NO: 432或1008的氨基酸序列。

25. 一种缀合的抗体或可活化抗体,其包含与试剂缀合的根据权利要求1、3-7中的任一项所述的抗体或根据权利要求2-24中的任一项所述的可活化抗体。

26. 根据权利要求25所述的缀合的抗体或缀合的可活化抗体,其中所述试剂是毒素或其片段。

27. 根据权利要求25或26所述的缀合的抗体或缀合的可活化抗体,其中所述试剂是微管抑制剂。

28. 根据权利要求25或26所述的缀合的抗体或缀合的可活化抗体,其中所述试剂是核酸损伤剂。

29. 根据权利要求25或26所述的缀合的抗体或缀合的可活化抗体,其中所述试剂选自多拉司他汀或其衍生物、澳瑞他汀或其衍生物、美登木素生物碱或其衍生物、倍癌霉素或其衍生物和卡里奇霉素或其衍生物。

30. 根据权利要求25或26所述的缀合的抗体或缀合的可活化抗体,其中所述试剂是澳瑞他汀E或其衍生物。

31. 根据权利要求25或26所述的缀合的抗体或缀合的抗体或缀合的可活化抗体,其中所述试剂是单甲基澳瑞他汀E (MMAE)。

32. 根据权利要求25或26所述的缀合的抗体或缀合的可活化抗体,其中所述试剂是单甲基澳瑞他汀D (MMAD)。

33. 根据权利要求25或26所述的缀合的抗体或缀合的可活化抗体,其中所述试剂是选自DM1和DM4的美登木素生物碱。

34. 根据权利要求25或26所述的缀合的抗体或缀合的可活化抗体,其中所述试剂经由接头缀合至所述可活化抗体。

35. 根据权利要求34所述的缀合的抗体或缀合的可活化抗体,其中所述接头是可切割的接头。

36. 根据权利要求34所述的缀合的抗体或缀合的可活化抗体,其中所述接头是不可切割的接头。

37. 根据权利要求25所述的缀合的抗体或缀合的可活化抗体,其中所述试剂是可检测的部分。

38. 根据权利要求37所述的缀合的抗体或缀合的可活化抗体,其中所述可检测的部分是诊断剂。

39. 一种药物组合物,其包含根据权利要求1、3-7中的任一项所述的抗体、根据权利要求2-24中的任一项所述的可活化抗体或根据权利要求25-38中的任一项所述的缀合的抗体或缀合的可活化抗体和载体。

40. 根据权利要求39所述的药物组合物,所述药物组合物包含另外试剂。

41. 根据权利要求40所述的药物组合物,其中所述另外试剂是治疗剂。

42. 一种分离的核酸分子,其编码根据权利要求1、3-7中的任一项所述的抗体或根据权利要求2-24中的任一项所述的可活化抗体。

43. 一种载体,其包含根据权利要求42所述的分离的核酸分子。

44. 一种通过在导致可活化抗体的表达的条件下培养细胞来生产所述可活化抗体的方法,其中所述细胞包含根据权利要求42所述的核酸分子。

45. 一种制备可活化抗体的方法,所述可活化抗体在活化状态结合PDL1,所述方法包括:

(a) 在导致所述可活化抗体的表达的条件下培养细胞,所述细胞包含编码根据权利要求2-24中的任一项所述的可活化抗体的核酸构建体;和

(b) 回收所述可活化抗体。

46. 根据权利要求1、3-7中的任一项所述的抗体或根据权利要求2-24中的任一项所述的可活化抗体或根据权利要求39-41中的任一项所述的药物组合物在制备药物中用途,所述药物用于降低PDL1活性,其包括给有此需要的受试者施用有效量的根据权利要求1、3-7中的任一项所述的抗体或根据权利要求2-24中的任一项所述的可活化抗体或根据权利要求39-41中的任一项所述的药物组合物。

47. 根据权利要求1、3-7中的任一项所述的抗体或根据权利要求2-24中的任一项所述的可活化抗体或根据权利要求39-41中的任一项所述的药物组合物在制备药物中的用途,所属药物用于阻断天然配体与PDL1的结合,其包括给有此需要的受试者施用有效量的根据权利要求1、3-7中的任一项所述的抗体或根据权利要求2-24中的任一项所述的可活化抗体或根据权利要求39-41中的任一项所述的药物组合物。

48. 根据权利要求1、3-7中的任一项所述的抗体或根据权利要求2-24中的任一项所述的可活化抗体或根据权利要求39-41中的任一项所述的药物组合物在制备药物中的用途,所述药物用于治疗PDL1介导的病症或疾病、减轻PDL1介导的病症或疾病的症状、或延迟PDL1介导的病症或疾病的进展,其包括给有此需要的受试者施用治疗有效量的根据权利要求1、3-7中的任一项所述的抗体或根据权利要求2-24中的任一项所述的可活化抗体或根据权利要求39-41中的任一项所述的药物组合物。

49. 根据权利要求48所述的用途,其中所述PDL1介导的病症或疾病是癌症。

50. 根据权利要求49所述的用途,其中所述癌症是膀胱癌、骨癌、乳腺癌、类癌、宫颈癌、结肠癌、子宫内膜癌、神经胶质瘤、头颈癌、肝癌、肺癌、淋巴瘤、黑素瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、肾癌、肉瘤、皮肤癌、胃癌、睾丸癌、甲状腺癌、泌尿生殖器癌或泌尿道上皮癌。

51. 根据权利要求49所述的用途,其中所述癌症选自黑素瘤(MEL)、肾细胞癌(RCC)、鳞状非小细胞肺癌(NSCLC)、非鳞状NSCLC、结直肠癌(CRC)、阉割抗性的前列腺癌(CRPC)、肝细胞癌(HCC)、头和颈的鳞状细胞癌、食管癌、卵巢癌、胃肠道癌和乳腺癌或血液学恶性肿瘤诸如多发性骨髓瘤、B-细胞淋巴瘤、T-细胞淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤/原发性纵隔B细胞淋巴瘤和慢性髓性白血病。

52. 根据权利要求48-51中的任一项所述的用途,其中所述方法包括施用另外试剂。

53. 根据权利要求52所述的用途,其中所述另外试剂是治疗剂。

54. 根据权利要求8所述的用途,其中所述掩蔽部分由SEQ ID NO: 63的氨基酸序列组成。

55. 根据权利要求9所述的用途,其中所述可切割部分由SEQ ID NO: 377的氨基酸序列组成。

56. 根据权利要求1的抗体或根据权利要求2的可活化抗体,其中所述哺乳动物PDL1是大鼠PDL1。

抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体、及其使用方法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求于2015年3月13日提交的美国临时申请号62/133,231、2015年3月27日提交的美国临时申请号62/139,596和2015年9月15日提交的美国临时申请号62/218,883的权益,它们中的每一篇的内容通过引用以其整体并入本文。

技术领域

[0003] 本发明一般地涉及结合程序性死亡配体1 (PDL1) 的抗体、特异性地结合PDL1的可活化抗体和在多种治疗、诊断和预防适应症中制备和使用这些抗-PDL1抗体和抗-PDL1可活化抗体的方法。

背景技术

[0004] 基于抗体的疗法已经被证实是数种疾病的有效治疗,但是在某些情况下,由宽广靶标表达引起的毒性已经限制了它们的治疗有效性。另外,基于抗体的治疗剂已经表现出其它限制,诸如在施用后从循环中快速清除。

[0005] 在小分子治疗剂的领域内,已经开发了策略来提供活性化学实体的前药。这样的前药以相对无活性的(或显著更低活性的)形式施用。一旦施用,所述前药就在体内代谢成活性化合物。这样的前药策略可以提供药物对它的预期靶标的增加的选择性和不良作用的减少。

[0006] 因此,在基于抗体的治疗剂领域内存在对模仿小分子前药的所需特征的抗体的持续需求。

[0007] 发明概述

[0008] 本发明提供了特异性地结合程序性死亡配体1 (PDL1) (也被称作PD-L1、CD274、B7同系物1和/或B7-H1) 的抗体或其抗原结合片段。术语“PDL1”的应用意图覆盖其任何变体,例如,作为非限制性例子,PD-L1和/或PDL-1,所有变体在本文中可互换地使用。

[0009] 在某些实施方案中,所述抗体包括特异性地结合PDL1的抗体或其抗原结合片段。在某些实施方案中,所述结合PDL1的抗体或其抗原结合片段是单克隆抗体、结构域抗体、单链、Fab片段、F(ab')₂片段、scFv、scAb、dAb、单结构域重链抗体或单结构域轻链抗体。在某些实施方案中,这样的结合PDL1的抗体或其抗原结合片段是小鼠、其它啮齿动物、嵌合的、人源化的或全人的单克隆抗体。

[0010] 在某些实施方案中,所述抗体是分离的特异性地结合哺乳动物PDL1的抗体或其抗原结合片段(AB),其中所述AB具有以下特征中的一种或多种:(a) 所述AB特异性地结合人PDL1和鼠PDL1;(b) 所述AB特异性地结合人PDL1和食蟹猴PDL1;(c) 所述AB特异性地结合人PDL1、鼠PDL1和食蟹猴PDL1;(d) 所述AB以小于10 nM的EC₅₀值抑制人B7-1和人PD1与人PDL1的结合;(e) 所述AB以小于10 nM的EC₅₀值抑制鼠B7-1和鼠PD1与鼠PDL1的结合;和(f) 所述AB以小于10 nM的EC₅₀值抑制食蟹猴B7-1和食蟹猴PD1与食蟹猴PDL1的结合。

[0011] 在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段以小于或等于0.01 nM、小于或等

于0.05 nM、小于或等于0.1 nM、小于或等于0.2 nM、小于或等于0.3 nM、小于或等于0.4 nM、小于或等于0.5 nM、小于或等于0.75 nM和小于或等于1 nM的解离常数特异性地结合哺乳动物PDL1。

[0012] 在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段以是在0.01 nM至1 nM、0.05 nM至1 nM、0.1 nM至1 nM、0.2 nM至1 nM、0.3 nM至1 nM、0.4 nM至1 nM、0.5 nM至1 nM、0.75 nM至1 nM、0.01 nM至0.75 nM、0.05 nM至0.75 nM、0.1 nM至0.75 nM、0.2 nM至0.75 nM、0.3 nM至0.75 nM、0.4 nM至0.75 nM、0.5 nM至0.75 nM、0.01 nM至0.5 nM、0.05 nM至0.5 nM、0.1 nM至0.5 nM、0.2 nM至0.5 nM、0.3 nM至0.5 nM、0.4 nM至0.5 nM、0.01 nM至0.4 nM、0.05 nM至0.4 nM、0.1 nM至0.4 nM、0.2 nM至0.4 nM、0.3 nM至0.4 nM、0.01 nM至0.3 nM、0.05 nM至0.3 nM、0.1 nM至0.3 nM、0.2 nM至0.3 nM、0.01 nM至0.2 nM、0.05 nM至0.2 nM、0.1 nM至0.2 nM、0.01 nM至0.1 nM、0.05 nM至0.1 nM或0.01 nM至0.05 nM范围内的解离常数特异性地结合哺乳动物PDL1。

[0013] 在某些实施方案中,所述哺乳动物PDL1选自人PDL1、鼠PDL1、大鼠PDL1和食蟹猴PDL1。

[0014] 在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段以小于1 nM的解离常数特异性地结合人PDL1、鼠PDL1或食蟹猴PDL1。

[0015] 在某些实施方案中,所述哺乳动物PDL1是人PDL1。

[0016] 在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段具有以下特征中的一种或多种:
(a) 所述AB特异性地结合人PDL1、鼠PDL1和食蟹猴PDL1; (b) 所述AB抑制人B7-1和人PD1与人PDL1的结合; (c) 所述AB抑制鼠B7-1和鼠PD1与鼠PDL1的结合; 和 (d) 所述AB抑制食蟹猴B7-1和食蟹猴PD1与食蟹猴PDL1的结合。

[0017] 在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段以小于或等于0.5 nM、小于或等于1 nM、小于或等于2 nM、小于或等于3 nM、小于或等于4 nM、小于或等于5 nM、小于或等于6 nM、小于或等于7 nM、小于或等于8 nM、小于或等于9 nM和/或小于或等于10 nM的 EC_{50} 阻断天然配体结合哺乳动物PDL1的能力。

[0018] 在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段以在0.5 nM至10 nM、0.5 nM至5 nM、0.5 nM至3 nM、0.5 nM至2 nM、0.5 nM至1 nM、1 nM至10 nM、1 nM至5 nM、1 nM至3 nM、1 nM至2 nM、2 nM至10 nM、2 nM至5 nM、2 nM至3 nM、3 nM至10 nM、3 nM至5 nM或5 nM至10 nM范围内的 EC_{50} 阻断天然配体结合哺乳动物PDL1的能力。在某些实施方案中,所述天然配体是哺乳动物PD1。在某些实施方案中,所述天然配体选自人PD1、鼠PD1和食蟹猴PD1。

[0019] 在某些实施方案中,所述天然配体是哺乳动物B7-1。在某些实施方案中,所述天然配体选自人B7-1、鼠B7-1和食蟹猴B7-1。

[0020] 在某些实施方案中,所述抗体包含选自SEQ ID NO: 14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54和56的重链氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体包含含有SEQ ID NO: 12或SEQ ID NO: 58的轻链氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体包含含有SEQ ID NO: 12的轻链氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体包含含有SEQ ID NO: 58的轻链氨基酸序列。

[0021] 在某些实施方案中,所述抗体包含含有选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列的重链氨基酸序列和含有SEQ ID NO: 58的轻链氨基酸序列。

[0022] 在某些实施方案中,所述抗体包含含有选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列的重链氨基酸序列和含有SEQ ID NO: 12的轻链氨基酸序列。

[0023] 在某些实施方案中,所述抗体包含与选自SEQ ID NO: 14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体包含与SEQ ID NO: 58的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在某些实施方案中,所述抗体包含与SEQ ID NO: 12的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在某些实施方案中,所述抗体包含与选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO: 58的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在某些实施方案中,所述抗体包含与选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO: 12的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。

[0024] 在某些实施方案中,所述抗体包含SEQ ID NO: 46的重链氨基酸序列和SEQ ID NO: 58的轻链氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体包含SEQ ID NO: 46的重链氨基酸序列和SEQ ID NO: 12的轻链氨基酸序列。

[0025] 在某些实施方案中,所述抗体包含与SEQ ID NO: 46的氨基酸具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体包含与SEQ ID NO: 58的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在某些实施方案中,所述抗体包含与SEQ ID NO: 12的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在某些实施方案中,所述抗体包含与SEQ ID NO: 46的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO: 58的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在某些实施方案中,所述抗体包含与SEQ ID NO: 46的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO: 12的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。

[0026] 在某些实施方案中,所述抗体包含可变重链互补性决定区1 (VH CDR1,在本文中也称作CDRH1) 序列、可变重链互补性决定区2 (VH CDR2,在本文中也称作CDRH2) 序列、可变重链互补性决定区3 (VH CDR3,在本文中也称作CDRH3) 序列、可变轻链互补性决定区1 (VL CDR1,在本文中也称作CDRL1) 序列、可变轻链互补性决定区2 (VL CDR2,在本文中也称作CDRL2) 序列和可变轻链互补性决定区3 (VL CDR3,在本文中也称作CDRL3) 序列的组合,其中至少一个CDR序列选自:表16中所示的VH CDR1序列;表16中所示的VH CDR2序列;表16中所示的VH CDR3序列;表16中所示的VL CDR1序列;表16中所示的VL CDR2序列;和表16中所示的VL CDR3序列。

[0027] 在某些实施方案中,所述抗体包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中至少一个CDR序列选自:VH CDR1序列,

其包括与表16中所示的VH CDR1序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列;VH CDR2序列,其包括与表16中所示的VH CDR2序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列;VH CDR3序列,其包括与表16中所示的VH CDR3序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列;VL CDR1序列,其包括与表16中所示的VL CDR1序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列;VL CDR2序列,其包括与表16中所示的VL CDR2序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列;和VL CDR3序列,其包括与表16中所示的VL CDR3序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列。

[0028] 在某些实施方案中,所述抗体包含含有VH CDR1序列、VH CDR2序列和VH CDR3序列的组的重链,其中所述组合是表16中的单个行所示的三个重链CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)的组合。

[0029] 在某些实施方案中,所述抗体包含含有VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组的轻链,其中所述组合是表16中的单个行所示的三个轻链CDR序列(VL CDR1、VL CDR2、VL CDR3)的组合。

[0030] 在某些实施方案中,所述抗体包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合是表16中的单个行所示的六个CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3)的组合。

[0031] 在某些实施方案中,所述抗体包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合中的每个CDR序列包含与表16中的单个行所示的六个CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3)的组合中的对应CDR序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列。

[0032] 在某些实施方案中,所述抗体包含含有VH CDR1序列、VH CDR2序列和VH CDR3序列的组的重链,其中所述组合中的每个CDR序列包含与表16中的单个行所示的三个重链CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)的组合中的对应CDR序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列。

[0033] 在某些实施方案中,所述抗体包含含有VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组的轻链,其中所述组合中的每个CDR序列包含与表16中的单个行所示的三个轻链CDR序列(VL CDR1、VL CDR2、VL CDR3)的组合中的对应CDR序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列。

[0034] 在某些实施方案中,所述抗体包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中至少一个CDR序列选自:包含RASQSISSYLN (SEQ ID NO: 209)的VL CDR1序列;包含AASSLQS (SEQ ID NO: 215)的VL CDR2序列;包含DNGYPST (SEQ ID NO: 228)的VL CDR3序列;包含SYAMS (SEQ ID NO: 212)的VH CDR1序列;包含SSIWRNGIVTVYADS (SEQ ID NO: 246)的VH CDR2序列;和包含WSAAFDY (SEQ ID NO: 235)的VH CDR3序列。

[0035] 在某些实施方案中,所述抗体包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述VH CDR2序列包含

SSIWRNGIVTVYADS (SEQ ID NO: 246)。在某些实施方案中,所述抗体包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述VH CDR3序列包含WSAAFDY (SEQ ID NO: 235)。在某些实施方案中,所述抗体包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述VH CDR2序列包含SSIWRNGIVTVYADS (SEQ ID NO: 246),且所述VH CDR3序列包含WSAAFDY (SEQ ID NO: 235)。

[0036] 在某些实施方案中,所述抗体包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包括:包含RASQSISSYLN (SEQ ID NO: 209)的VL CDR1序列;包含AASSLQS (SEQ ID NO: 215)的VL CDR2序列;包含DNGYPST (SEQ ID NO: 228)的VL CDR3序列;包含SYAMS (SEQ ID NO: 212)的VH CDR1序列;包含SSIWRNGIVTVYADS (SEQ ID NO: 246)的VH CDR2序列;和包含WSAAFDY (SEQ ID NO: 235)的VH CDR3序列。

[0037] 在某些实施方案中,所述抗体由核酸序列编码,所述核酸序列包含编码选自SEQ ID NO: 14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54和56的重链氨基酸序列的核酸序列。在某些实施方案中,所述抗体由核酸序列编码,所述核酸序列包含编码选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的重链氨基酸序列的核酸序列。在某些实施方案中,所述抗体由核酸序列编码,所述核酸序列包含编码含有SEQ ID NO: 12或SEQ ID NO: 58的轻链氨基酸序列的核酸序列。在某些实施方案中,所述抗体由核酸序列编码,所述核酸序列包含编码含有SEQ ID NO: 12的轻链氨基酸序列的核酸序列。在某些实施方案中,所述抗体由核酸序列编码,所述核酸序列包含编码含有SEQ ID NO: 58的轻链氨基酸序列的核酸序列。在某些实施方案中,所述抗体由以下核酸序列编码:包含编码选自SEQ ID NO: 14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54和56的重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列,和包含编码含有SEQ ID NO: 58的轻链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列。在某些实施方案中,所述抗体由以下核酸序列编码:包含编码选自SEQ ID NO: 14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54和56的重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列,和包含编码含有SEQ ID NO: 12的轻链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列。在某些实施方案中,所述抗体由以下核酸序列编码:包含编码选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列,和包含编码含有SEQ ID NO: 58的轻链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列。在某些实施方案中,所述抗体由以下核酸序列编码:包含编码选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列,和包含编码含有SEQ ID NO: 12的轻链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列。

[0038] 在某些实施方案中,所述抗体由核酸序列编码,所述核酸序列包含编码重链氨基酸序列的核酸序列,所述重链氨基酸序列与选自SEQ ID NO: 14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性。在某些实施方案中,所述抗体由核酸序列编码,所述核酸序列包含编码与选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列的核酸序列。在某些实施方案中,所述抗体由核酸序列编码,所述核酸序列包含编码与SEQ ID NO: 58的氨基酸序

列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸的核酸序列。在某些实施方案中,所述抗体由核酸序列编码,所述核酸序列包含编码与SEQ ID NO: 12的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸的核酸序列。在某些实施方案中,所述抗体由以下核酸序列编码:包含编码重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列,所述重链氨基酸序列与选自SEQ ID NO: 14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性,和包含编码与SEQ ID NO: 58的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸的核酸序列的核酸序列。在某些实施方案中,所述抗体由以下核酸序列编码:包含编码重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列,所述重链氨基酸序列与选自SEQ ID NO: 14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性,和包含编码与SEQ ID NO: 12的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸的核酸序列的核酸序列。在某些实施方案中,所述抗体由以下核酸序列编码:包含编码与选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列,和包含编码与SEQ ID NO: 58的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸的核酸序列的核酸序列。在某些实施方案中,所述抗体由以下核酸序列编码:包含编码与选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列,和包含编码与SEQ ID NO: 12的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸的核酸序列的核酸序列。

[0039] 在某些实施方案中,所述抗体由选自SEQ ID NO: 13、15、17、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53和55的重链核酸序列编码。在某些实施方案中,所述抗体由选自SEQ ID NO: 45、47、49、51、53和55的重链核酸序列编码。在某些实施方案中,所述抗体由SEQ ID NO: 57的轻链核酸序列编码。在某些实施方案中,所述抗体由SEQ ID NO: 11的轻链核酸序列编码。在某些实施方案中,所述抗体由选自SEQ ID NO: 13、15、17、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53和55的重链核酸序列和包含SEQ ID NO: 57的轻链核酸序列编码。在某些实施方案中,所述抗体由选自SEQ ID NO: 13、15、17、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53和55的重链核酸序列和包含SEQ ID NO: 11的轻链核酸序列编码。在某些实施方案中,所述抗体由包含选自SEQ ID NO: 45、47、49、51、53和55的重链核酸序列和包含SEQ ID NO: 57的轻链核酸序列的核酸序列编码。在某些实施方案中,所述抗体由包含选自SEQ ID NO: 45、47、49、51、53和55的重链核酸序列和包含SEQ ID NO: 11的轻链核酸序列的核酸序列编码。

[0040] 在某些实施方案中,所述抗体由核酸序列编码,所述核酸序列与选自SEQ ID NO: 13、15、17、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53和55的重链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性。在某些实施方案中,所述抗体由核酸序列编码,所述核酸序列与选自SEQ ID NO: 45、47、49、51、53和55的重链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性。在某些实施方案中,

所述抗体由核酸序列编码,所述核酸序列与SEQ ID NO: 57的轻链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性。在某些实施方案中,所述抗体由核酸序列编码,所述核酸序列与SEQ ID NO: 11的轻链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性。在某些实施方案中,所述抗体由以下核酸序列编码:与选自SEQ ID NO: 13、15、17、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53和55的重链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列,和与包含SEQ ID NO: 57的轻链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列。在某些实施方案中,所述抗体由以下核酸序列编码:与选自SEQ ID NO: 13、15、17、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53和55的重链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列,和与包含SEQ ID NO: 11的轻链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列。在某些实施方案中,所述抗体由以下核酸序列编码:包含与选自SEQ ID NO: 45、47、49、51、53和55的重链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列的核酸序列,和与包含SEQ ID NO: 57的轻链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列。在某些实施方案中,所述抗体由以下核酸序列编码:包含与选自SEQ ID NO: 45、47、49、51、53和55的重链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列的核酸序列,和与包含SEQ ID NO: 11的轻链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列。

[0041] 在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段掺入在多特异性抗体或其抗原结合片段中,其中所述多特异性抗体的至少一个臂特异性地结合PDL1。在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段掺入在双特异性抗体或其抗原结合片段中,其中所述双特异性抗体的至少一个臂特异性地结合PDL1。

[0042] 在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂包含选自SEQ ID NO: 14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54和56的重链氨基酸序列。在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂包含含有SEQ ID NO: 12或SEQ ID NO: 58的轻链氨基酸序列。在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂包含含有SEQ ID NO: 12的轻链氨基酸序列。在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂包含含有SEQ ID NO: 58的轻链氨基酸序列。

[0043] 在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂含有选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列的重链氨基酸序列和含有SEQ ID NO: 58的轻链氨基酸序列。

[0044] 在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂包含含有选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列的重链氨基酸序列和含有SEQ ID NO: 12的轻链氨基酸序列。

[0045] 在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂包含与选自SEQ ID NO: 14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重

链氨基酸序列。在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂包含与SEQ ID NO: 58的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂包含与SEQ ID NO: 12的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂包含与选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO: 58的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂包含与选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO: 12的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。

[0046] 在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂包含SEQ ID NO: 46的重链氨基酸序列和SEQ ID NO: 58的轻链氨基酸序列。在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂包含SEQ ID NO: 46的重链氨基酸序列和SEQ ID NO: 12的轻链氨基酸序列。

[0047] 在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂包含与SEQ ID NO: 46的氨基酸具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列。在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂包含与SEQ ID NO: 58的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂包含与SEQ ID NO: 12的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂包含与SEQ ID NO: 46的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO: 58的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂包含与SEQ ID NO: 46的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO: 12的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。

[0048] 在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂包含可变重链互补性决定区1 (VH CDR1,在本文中也称作CDRH1) 序列、可变重链互补性决定区2 (VH CDR2,在本文中也称作CDRH2) 序列、可变重链互补性决定区3 (VH CDR3,在本文中也称作CDRH3) 序列、可变轻链互补性决定区1 (VL CDR1,在本文中也称作CDRL1) 序列、可变轻链互补性决定区2 (VL CDR2,在本文中也称作CDRL2) 序列和可变轻链互补性决定区3 (VL CDR3,在本文中也称作CDRL3) 序列的组合,其中至少一个CDR序列选自:表16中所示的VH CDR1序列;表16中所示的VH CDR2序列;表16中所示的VH CDR3序列;表16中所示的VL CDR1序列;表16中所示的VL CDR2序列;和表16中所示的VL CDR3序列。

[0049] 在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂包含

VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中至少一个CDR序列选自:VH CDR1序列,其包括与表16中所示的VH CDR1序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列;VH CDR2序列,其包括与表16中所示的VH CDR2序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列;VH CDR3序列,其包括与表16中所示的VH CDR3序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列;VL CDR1序列,其包括与表16中所示的VL CDR1序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列;VL CDR2序列,其包括与表16中所示的VL CDR2序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列;和VL CDR3序列,其包括与表16中所示的VL CDR3序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列。

[0050] 在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合是表16中的单个行所示的六个CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3)的组合。

[0051] 在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂包含含有VH CDR1序列、VH CDR2序列和VH CDR3序列的组合的重链,其中所述组合是表16中的单个行所示的三个重链CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)的组合。

[0052] 在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合中的每个CDR序列包含与表16中的单个行所示的六个CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3)的组合中的对应CDR序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列。

[0053] 在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂包含含有VH CDR1序列、VH CDR2序列和VH CDR3序列的组合的重链,其中所述组合中的每个CDR序列包含与表16中的单个行所示的三个重链CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)的组合中的对应CDR序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列。

[0054] 在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中至少一个CDR序列选自:包含RASQSISSYLN (SEQ ID NO: 209)的VL CDR1序列;包含AASSLQS (SEQ ID NO: 215)的VL CDR2序列;包含DNGYPST (SEQ ID NO: 228)的VL CDR3序列;包含SYAMS (SEQ ID NO: 212)的VH CDR1序列;包含SSIWRNGIVTVYADS (SEQ ID NO: 246)的VH CDR2序列;和包含WSAAFDY (SEQ ID NO: 235)的VH CDR3序列。

[0055] 在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述VH CDR2序列包含SSIWRNGIVTVYADS (SEQ ID NO: 246)。在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述VH CDR3序列包含WSAAFDY (SEQ ID NO: 235)。在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)

的至少一个臂包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述VH CDR2序列包含SSIWRNGIVTVYADS (SEQ ID NO: 246),且所述VH CDR3序列包含WSAAFDY (SEQ ID NO: 235)。

[0056] 在某些实施方案中,所述多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的至少一个臂包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包括:包含RASQSISSYLN (SEQ ID NO: 209)的VL CDR1序列;包含AASSLQS (SEQ ID NO: 215)的VL CDR2序列;包含DNGYPST (SEQ ID NO: 228)的VL CDR3序列;包含SYAMS (SEQ ID NO: 212)的VH CDR1序列;包含SSIWRNGIVTVYADS (SEQ ID NO: 246)的VH CDR2序列;和包含WSAAFDY (SEQ ID NO: 235)的VH CDR3序列。

[0057] 本发明也提供了可活化抗体,包括特异性地结合与掩蔽部分(MM)偶联的PDL1的抗体或其抗原结合片段,使得所述MM的偶联会减小所述抗体或其抗原结合片段的结合PDL1的能力。在某些实施方案中,所述MM经由一序列偶联,所述序列包括蛋白酶(例如,在患病组织中有活性的蛋白酶和/或与PDL1一起共定位在受试者的治疗部位处的蛋白酶)的底物。本文提供的可活化的抗-PDL1抗体(在本文中也称作抗-PDL1可活化抗体或PDL1可活化抗体)在循环中是稳定的,在预期的治疗和/或诊断部位处被活化,但是在正常的(例如,健康的)组织或治疗和/或诊断未靶向的其它组织中不会被活化,并且当被活化时,表现出至少与对应的未修饰的抗体可比较的对PDL1的结合。

[0058] 在某些实施方案中,在活化状态特异性地结合哺乳动物PDL1的可活化抗体包括:特异性地结合哺乳动物PDL1的抗体或其抗原结合片段(AB);当所述可活化抗体处于未切割状态时抑制所述AB与哺乳动物PDL1的结合的掩蔽部分(MM);和与所述AB偶联的可切割部分(CM),其中所述CM是作为蛋白酶底物起作用的多肽。

[0059] 在某些实施方案中,所述可活化抗体在活化状态具有以下特征中的一种或多种:(a)特异性地结合哺乳动物PDL1;和(b)特异性地阻断PDL1的天然配体与哺乳动物PDL1结合,其中所述可活化抗体包含:特异性地结合哺乳动物PDL1的抗体或其抗原结合片段(AB);当所述可活化抗体处于未切割状态时抑制所述AB与哺乳动物PDL1的结合的掩蔽部分(MM);和与所述AB偶联的可切割部分(CM),其中所述CM是作为蛋白酶底物起作用的多肽。

[0060] 在某些实施方案中,处于未切割状态的可活化抗体以小于或等于1 nM、小于或等于2 nM、小于或等于3 nM、小于或等于4 nM、小于或等于5 nM、小于或等于10 nM、小于或等于15 nM、小于或等于20 nM和/或小于或等于25 nM的解离常数特异性地结合哺乳动物PDL1。

[0061] 在某些实施方案中,处于未切割状态的可活化抗体以大于或等于1 nM、大于或等于2 nM、大于或等于3 nM、大于或等于4 nM、大于或等于5 nM、大于或等于10 nM、大于或等于15 nM、大于或等于20 nM和/或大于或等于25 nM的解离常数特异性地结合哺乳动物PDL1。

[0062] 在某些实施方案中,处于未切割状态的可活化抗体以在1-2 nM、1-5 nM、1-10 nM、1-15 nM、1-20 nM、1-25 nM、2 nM至5 nM、2 nM至10 nM、2 nM至15 nM、2-20 nM、2-25 nM、5 nM至10 nM、5 nM至15 nM、5-20 nM、5-25 nM、10 nM至15 nM、10-20 nM、10-25 nM、15-20 nM、15-25 nM或20-25 nM范围内的解离常数特异性地结合哺乳动物PDL1。

[0063] 在某些实施方案中,处于活化状态的所述可活化抗体以小于或等于0.01 nM、小于

或等于0.05 nM、小于或等于0.1 nM、小于或等于0.2 nM、小于或等于0.3 nM、小于或等于0.4 nM、小于或等于0.5 nM、小于或等于0.75 nM和小于或等于1 nM的解离常数特异性地结合哺乳动物PDL1。

[0064] 在某些实施方案中,处于活化状态的所述可活化抗体以在0.01 nM至1 nM、0.05 nM至1 nM、0.1 nM至1 nM、0.2 nM至1 nM、0.3 nM至1 nM、0.4 nM至1 nM、0.5 nM至1 nM、0.75 nM至1 nM、0.01 nM至0.75 nM、0.05 nM至0.75 nM、0.1 nM至0.75 nM、0.2 nM至0.75 nM、0.3 nM至0.75 nM、0.4 nM至0.75 nM、0.5 nM至0.75 nM、0.01 nM至0.5 nM、0.05 nM至0.5 nM、0.1 nM至0.5 nM、0.2 nM至0.5 nM、0.3 nM至0.5 nM、0.4 nM至0.5 nM、0.01 nM至0.4 nM、0.05 nM至0.4 nM、0.1 nM至0.4 nM、0.2 nM至0.4 nM、0.3 nM至0.4 nM、0.01 nM至0.3 nM、0.05 nM至0.3 nM、0.1 nM至0.3 nM、0.2 nM至0.3 nM、0.01 nM至0.2 nM、0.05 nM至0.2 nM、0.1 nM至0.2 nM、0.01 nM至0.1 nM、0.05 nM至0.1 nM或0.01 nM至0.05 nM范围内的解离常数特异性地结合哺乳动物PDL1。

[0065] 在某些实施方案中,所述AB以小于或等于0.01 nM、小于或等于0.05 nM、小于或等于0.1 nM、小于或等于0.2 nM、小于或等于0.3 nM、小于或等于0.4 nM、小于或等于0.5 nM、小于或等于0.75 nM和小于或等于1 nM的解离常数特异性地结合哺乳动物PDL1。

[0066] 在某些实施方案中,所述AB以在0.01 nM至1 nM、0.05 nM至1 nM、0.1 nM至1 nM、0.2 nM至1 nM、0.3 nM至1 nM、0.4 nM至1 nM、0.5 nM至1 nM、0.75 nM至1 nM、0.01 nM至0.75 nM、0.05 nM至0.75 nM、0.1 nM至0.75 nM、0.2 nM至0.75 nM、0.3 nM至0.75 nM、0.4 nM至0.75 nM、0.5 nM至0.75 nM、0.01 nM至0.5 nM、0.05 nM至0.5 nM、0.1 nM至0.5 nM、0.2 nM至0.5 nM、0.3 nM至0.5 nM、0.4 nM至0.5 nM、0.01 nM至0.4 nM、0.05 nM至0.4 nM、0.1 nM至0.4 nM、0.2 nM至0.4 nM、0.3 nM至0.4 nM、0.01 nM至0.3 nM、0.05 nM至0.3 nM、0.1 nM至0.3 nM、0.2 nM至0.3 nM、0.01 nM至0.2 nM、0.05 nM至0.2 nM、0.1 nM至0.2 nM、0.01 nM至0.1 nM、0.05 nM至0.1 nM或0.01 nM至0.05 nM范围内的解离常数特异性地结合哺乳动物PDL1。

[0067] 在某些实施方案中,所述哺乳动物PDL1选自人PDL1、鼠PDL1、大鼠PDL1和食蟹猴PDL1。在某些实施方案中,所述AB以小于1 nM的解离常数特异性地结合人PDL1、鼠PDL1或食蟹猴PDL1。在某些实施方案中,所述哺乳动物PDL1是人PDL1。

[0068] 在某些实施方案中,所述AB具有以下特征中的一种或多种:(a)所述AB特异性地结合人PDL1和鼠PDL1;(b)所述AB特异性地结合人PDL1和食蟹猴PDL1;和(c)所述AB特异性地结合人PDL1、鼠PDL1和食蟹猴PDL1。

[0069] 在某些实施方案中,所述AB具有以下特征中的一种或多种:(a)所述AB特异性地结合人PDL1、鼠PDL1和食蟹猴PDL1;(b)所述AB抑制人B7-1和人PD1与人PDL1的结合;(c)所述AB抑制鼠B7-1和鼠PD1与鼠PDL1的结合;和(d)所述AB抑制食蟹猴B7-1和食蟹猴PD1与食蟹猴PDL1的结合。

[0070] 在某些实施方案中,所述AB以小于或等于0.5 nM、小于或等于1 nM、小于或等于2 nM、小于或等于3 nM、小于或等于4 nM、小于或等于5 nM、小于或等于6 nM、小于或等于7 nM、小于或等于8 nM、小于或等于9 nM和/或小于或等于10 nM的 EC_{50} 阻断天然配体结合哺乳动物PDL1的能力。

[0071] 在某些实施方案中,所述AB以0.5 nM至10 nM、0.5 nM至5 nM、0.5 nM至3 nM、0.5

nM至2 nM、0.5 nM至1 nM、1 nM至10 nM、1 nM至5 nM、1 nM至3 nM、1 nM至2 nM、2 nM至10 nM、2 nM至5 nM、2 nM至3 nM、3 nM至10 nM、3 nM至5 nM或5 nM至10 nM的EC₅₀阻断天然配体结合哺乳动物PDL1的能力。

[0072] 在某些实施方案中,天然配体是哺乳动物PD1。在某些实施方案中,所述天然配体选自人PD1、鼠PD1和食蟹猴PD1。

[0073] 在某些实施方案中,所述天然配体是哺乳动物B7-1。在某些实施方案中,所述天然配体选自人B7-1、鼠B7-1和食蟹猴B7-1。

[0074] 在某些实施方案中,所述可活化抗体具有以下特征中的一个或多个:(a)所述AB在非肥胖糖尿病(NOD)小鼠中诱导I型糖尿病;和(b)处于未切割状态的可活化抗体抑制NOD小鼠中I型糖尿病的诱导。

[0075] 在某些实施方案中,在0.1 mg/kg至3 mg/kg、0.5 mg/kg至3 mg/kg、1 mg/kg至3 mg/kg、2 mg/kg至3 mg/kg、0.1 mg/kg至2 mg/kg、0.5 mg/kg至2 mg/kg、1 mg/kg至2 mg/kg、0.1 mg/kg至1 mg/kg、0.5 mg/kg至1 mg/kg或0.1 mg/kg至0.5 mg/kg的单剂量施用所述可活化抗体以后,所述可活化抗体在NOD小鼠中抑制I型糖尿病的诱导。

[0076] 在某些实施方案中,在1 mg/kg的单剂量施用所述可活化抗体以后,所述可活化抗体在受试者中诱导I型糖尿病。在某些实施方案中,所述受试者是NOD小鼠。

[0077] 在某些实施方案中,在小于或等于3 mg/kg、小于或等于2 mg/kg、小于或等于1 mg/kg、小于或等于0.5 mg/kg和/或小于或等于0.1 mg/kg的单剂量施用所述可活化抗体以后,所述可活化抗体在受试者中诱导I型糖尿病。

[0078] 在某些实施方案中,在选自0.1 mg/kg至3 mg/kg、0.5 mg/kg至3 mg/kg、1 mg/kg至3 mg/kg、2 mg/kg至3 mg/kg、0.1 mg/kg至2 mg/kg、0.5 mg/kg至2 mg/kg、1 mg/kg至2 mg/kg、0.1 mg/kg至1 mg/kg、0.5 mg/kg至1 mg/kg和0.1 mg/kg至0.5 mg/kg的范围内的单剂量施用所述可活化抗体以后,所述可活化抗体在受试者中诱导I型糖尿病。在某些实施方案中,所述受试者是NOD小鼠。

[0079] 在某些实施方案中,所述可活化抗体具有以下特征中的一个或多个:(a)处于未切割状态的可活化抗体不会在大于50%的非肥胖糖尿病(NOD)小鼠群体中诱导I型糖尿病,且所述AB在大于50%的NOD小鼠群体中诱导I型糖尿病。

[0080] 在某些实施方案中,在给所述群体中的每只小鼠施用小于或等于3 mg/kg、小于或等于2 mg/kg、小于或等于1 mg/kg、小于或等于0.5 mg/kg和/或小于或等于0.1 mg/kg的单剂量以后,所述可活化抗体不会在大于50%的NOD小鼠群体中诱导I型糖尿病。

[0081] 在某些实施方案中,在给所述群体中的每只小鼠施用0.1 mg/kg至3 mg/kg、0.5 mg/kg至3 mg/kg、1 mg/kg至3 mg/kg、2 mg/kg至3 mg/kg、0.1 mg/kg至2 mg/kg、0.5 mg/kg至2 mg/kg、1 mg/kg至2 mg/kg、0.1 mg/kg至1 mg/kg、0.5 mg/kg至1 mg/kg或0.1 mg/kg至0.5 mg/kg的剂量的单剂量的可活化抗体以后,所述可活化抗体不会在大于50%的NOD小鼠群体中诱导I型糖尿病。

[0082] 在某些实施方案中,所述可活化抗体具有以下特征中的一个或多个:(a)当以1 mg/kg的单剂量施用时,处于未切割状态的可活化抗体不会在大于50%的非肥胖糖尿病(NOD)小鼠群体中诱导I型糖尿病;和(b)当以1 mg/kg的单剂量施用时,所述AB在大于50%的NOD小鼠群体中诱导I型糖尿病。

[0083] 在某些实施方案中,在给所述群体中的每只小鼠施用小于或等于3 mg/kg、小于或等于2 mg/kg、小于或等于1 mg/kg、小于或等于0.5 mg/kg和/或小于或等于0.1 mg/kg的剂量的单剂量的AB以后,所述AB在大于50%的NOD小鼠群体中诱导I型糖尿病。

[0084] 在某些实施方案中,在给所述群体中的每只小鼠施用0.1 mg/kg至3 mg/kg、0.5 mg/kg至3 mg/kg、1 mg/kg至3 mg/kg、2 mg/kg至3 mg/kg、0.1 mg/kg至2 mg/kg、0.5 mg/kg至2 mg/kg、1 mg/kg至2 mg/kg、0.1 mg/kg至1 mg/kg、0.5 mg/kg至1 mg/kg或0.1 mg/kg至0.5 mg/kg的剂量的单剂量的AB以后,所述AB在大于50%的NOD小鼠群体中诱导I型糖尿病。

[0085] 在某些实施方案中,所述NOD小鼠是雌性NOD/ShiLtJ小鼠次代品系。

[0086] 在某些实施方案中,与AB相比,所述可活化抗体使NOD小鼠中I型糖尿病的诱导抑制了至少3倍。

[0087] 在某些实施方案中,所述可活化抗体表现出相对于AB而言至少3倍安全裕度的安全裕度。

[0088] 在某些实施方案中,与AB相比,处于未切割状态的可活化抗体结合更小百分比的外周血CD4⁺ CD8⁺ T淋巴细胞群体。

[0089] 在某些实施方案中,在以小于或等于5 mg/kg、小于或等于4 mg/kg、小于或等于3 mg/kg、小于或等于2 mg/kg、小于或等于1 mg/kg、小于或等于0.5 mg/kg和/或小于或等于0.1 mg/kg的剂量施用单剂量的所述可活化抗体以后,所述可活化抗体不结合大于50%的外周血CD4⁺ CD8⁺ T淋巴细胞群体。

[0090] 在某些实施方案中,在以0.1 mg/kg至5 mg/kg、0.5 mg/kg至5 mg/kg、1 mg/kg至5 mg/kg、2 mg/kg至5 mg/kg、3 mg/kg至5 mg/kg、0.1 mg/kg至3 mg/kg、0.5 mg/kg至3 mg/kg、1 mg/kg至3 mg/kg、2 mg/kg至3 mg/kg、0.1 mg/kg至2 mg/kg、0.5 mg/kg至2 mg/kg、1 mg/kg至2 mg/kg、0.1 mg/kg至1 mg/kg、0.5 mg/kg至1 mg/kg或0.1 mg/kg至0.5 mg/kg的剂量施用单剂量的所述可活化抗体以后,所述可活化抗体不结合大于50%的外周血CD4⁺ CD8⁺ T淋巴细胞群体。

[0091] 在某些实施方案中,在以0.1 mg/kg至5 mg/kg、0.5 mg/kg至5 mg/kg、1 mg/kg至5 mg/kg、2 mg/kg至5 mg/kg、3 mg/kg至5 mg/kg、0.1 mg/kg至3 mg/kg、0.5 mg/kg至3 mg/kg、1 mg/kg至3 mg/kg、2 mg/kg至3 mg/kg、0.1 mg/kg至2 mg/kg、0.5 mg/kg至2 mg/kg、1 mg/kg至2 mg/kg、0.1 mg/kg至1 mg/kg、0.5 mg/kg至1 mg/kg或0.1 mg/kg至0.5 mg/kg的剂量施用单剂量的AB以后,所述AB结合大于50%的外周血CD4⁺ CD8⁺ T淋巴细胞群体。

[0092] 在某些实施方案中,所述外周血CD4⁺ CD8⁺ T淋巴细胞是鼠的。在某些实施方案中,所述鼠外周血CD4⁺ CD8⁺ T淋巴细胞源自荷瘤小鼠。

[0093] 在某些实施方案中,当以1 mg/kg和5 mg/kg之间的剂量施用所述可活化抗体时,所述AB所结合的外周血CD4⁺CD8⁺ T淋巴细胞群体的百分比小于60%。在某些实施方案中,当以1 mg/kg和5 mg/kg之间的剂量施用所述可活化抗体时,所述AB所结合的外周血CD4⁺CD8⁺ T淋巴细胞群体的百分比小于50%。在某些实施方案中,当以1 mg/kg和5 mg/kg之间的剂量施用所述可活化抗体时,所述AB所结合的外周血CD4⁺CD8⁺ T淋巴细胞群体的百分比是在30-60%之间。在某些实施方案中,当以1 mg/kg和5 mg/kg之间的剂量施用所述可活化抗体时,所述AB所结合的外周血CD4⁺CD8⁺ T淋巴细胞群体的百分比是在30-50%之间。

[0094] 本发明还提供了使用结合PDL1的可活化抗体、特别是结合并中和或以其它方式抑

制PDL1的至少一种生物活性和/或PDL1介导的信号传递的可活化抗体治疗、预防或减轻受试者中与PDL1的异常表达和/或活性有关的症状和/或延迟所述症状的发作或进展的方法。

[0095] 处于活化状态的所述可活化抗体结合PDL1,且包括(i)特异性地结合PDL1的抗体或其抗原结合片段(AB);(ii)当所述可活化抗体处于未切割状态时抑制所述AB与PDL1的结合的掩蔽部分(MM);和(c)与所述AB偶联的可切割部分(CM),其中所述CM是作为蛋白酶底物起作用的多肽。

[0096] 在某些实施方案中,处于未切割状态的可活化抗体具有如下从N-端至C-端的结构排列:MM-CM-AB或AB-CM-MM。

[0097] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含在所述MM和所述CM之间的连接肽。

[0098] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含在所述CM和所述AB之间的连接肽。

[0099] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含第一连接肽(LP1)和第二连接肽(LP2),且其中处于未切割状态的可活化抗体具有如下从N-端至C-端的结构排列:MM-LP1-CM-LP2-AB或AB-LP2-CM-LP1-MM。在某些实施方案中,所述两个连接肽不需要彼此相同。

[0100] 在某些实施方案中,LP1或LP2中的至少一个包含选自以下的氨基酸序列:(GS)_n, (GGS)_n, (GSGGS)_n (SEQ ID NO: 191)和(GGGS)_n (SEQ ID NO: 192),其中n是至少1的整数。

[0101] 在某些实施方案中,LP1或LP2中的至少一个包含选自以下的氨基酸序列:GGSG (SEQ ID NO: 193), GGSGG (SEQ ID NO: 194), GSGSG (SEQ ID NO: 195), GSGGG (SEQ ID NO: 196), GGGSG (SEQ ID NO: 197),和GSSSG (SEQ ID NO: 198)。

[0102] 在某些实施方案中,LP1包含氨基酸序列GSSGSGGSGGSG (SEQ ID NO: 199), GSSGSGGSGG (SEQ ID NO: 200), GSSGSGGSGGS (SEQ ID NO: 201), GSSGSGGSGGSGGS (SEQ ID NO: 202), GSSGSGGSG (SEQ ID NO: 203),或GSSGSGGSGS (SEQ ID NO: 204)。

[0103] 在某些实施方案中,LP2包含氨基酸序列GSS, GGS, GGGS (SEQ ID NO: 205), GSSGT (SEQ ID NO: 206)或GSSG (SEQ ID NO: 207)。

[0104] 在某些实施方案中,所述AB对于结合PDL1而言具有约100 nM或更小的解离常数。

[0105] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包括特异性地结合PDL1的抗体或其抗原结合片段(AB)。在某些实施方案中,所述结合PDL1的抗体或其抗原结合片段是单克隆抗体、结构域抗体、单链、Fab片段、F(ab')₂片段、scFv、scAb、dAb、单结构域重链抗体或单结构域轻链抗体。在某些实施方案中,这样的结合PDL1的抗体或其抗原结合片段是小鼠、其它啮齿动物、嵌合的、人源化的或全人的单克隆抗体。

[0106] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含选自SEQ ID NO: 14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54和56的重链氨基酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 12或SEQ ID NO: 58的轻链氨基酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 12的轻链氨基酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含含有SEQ ID NO: 58的轻链氨基酸序列。

[0107] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含含有选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列的重链氨基酸序列和含有SEQ ID NO: 58的轻链氨基酸序列。

[0108] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含含有选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列的重链氨基酸序列和含有SEQ ID NO: 12的轻链氨基酸序列。

[0109] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含与选自SEQ ID NO: 14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含与SEQ ID NO: 58的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含与SEQ ID NO: 12的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含与选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO: 58的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含与选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO: 12的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。

[0110] 在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体的AB包含选自表15所示重链序列的重链氨基酸序列。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体的AB包含选自表15所示轻链序列的轻链氨基酸序列。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体的AB包含选自表15所示重链序列的重链氨基酸序列和选自表15所示轻链序列的轻链氨基酸序列。

[0111] 在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体的AB包含重链氨基酸序列,所述重链氨基酸序列与选自表15所示重链序列的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体的AB包含轻链氨基酸序列,所述轻链氨基酸序列与选自表15所示轻链序列的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体的AB包含重链氨基酸序列和轻链氨基酸序列,所述重链氨基酸序列与选自表15所示重链序列的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性,所述轻链氨基酸序列与选自表15所示轻链序列的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性。

[0112] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含可变重链互补性决定区1 (VH CDR1,在本文中也称作CDRH1) 序列、可变重链互补性决定区2 (VH CDR2,在本文中也称作CDRH2) 序列、可变重链互补性决定区3 (VH CDR3,在本文中也称作CDRH3) 序列、可变轻链互补性决定区1 (VL CDR1,在本文中也称作CDRL1) 序列、可变轻链互补性决定区2 (VL CDR2,在本文中也称作CDRL2) 序列和可变轻链互补性决定区3 (VL CDR3,在本文中也称作CDRL3) 序列的组合,其中至少一个CDR序列选自:表16中所示的VH CDR1序列;表16中所示的VH CDR2序列;表16中所示的VH CDR3序列;表16中所示的VL CDR1序列;表16中所示的VL CDR2序列;和表16中所示的VL CDR3序列。

[0113] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中至少一个CDR序列选自:VH CDR1序列,其包括与表16中所示的VH CDR1序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列;VH CDR2序列,其包括与表16中所示的VH CDR2序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列;VH CDR3序列,其包括

与表16中所示的VH CDR3序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列;VL CDR1序列,其包括与表16中所示的VL CDR1序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列;VL CDR2序列,其包括与表16中所示的VL CDR2序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列;和VL CDR3序列,其包括与表16中所示的VL CDR3序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列。

[0114] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合是表16中的单个行所示的六个CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3)的组合。

[0115] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含含有VH CDR1序列、VH CDR2序列和VH CDR3序列的组合的重链,其中所述组合是表16中的单个行所示的三个重链CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)的组合。

[0116] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合中的每个CDR序列包含与表16中的单个行所示的六个CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3)的组合中的对应CDR序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列。

[0117] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含含有VH CDR1序列、VH CDR2序列和VH CDR3序列的组合的重链,其中所述组合中的每个CDR序列包含与表16中的单个行所示的三个重链CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)的组合中的对应CDR序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列。

[0118] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中至少一个CDR序列选自:包含RASQSISSYLN (SEQ ID NO: 209)的VL CDR1序列;包含AASSLQS (SEQ ID NO: 215)的VL CDR2序列;包含DNGYPST (SEQ ID NO: 228)的VL CDR3序列;包含SYAMS (SEQ ID NO: 212)的VH CDR1序列;包含SSIWRNGIVTVYADS (SEQ ID NO: 246)的VH CDR2序列;和包含WSAAFDY (SEQ ID NO: 235)的VH CDR3序列。

[0119] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述VH CDR2序列包含SSIWRNGIVTVYADS (SEQ ID NO: 246)。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述VH CDR3序列包含WSAAFDY (SEQ ID NO: 235)。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述VH CDR2序列包含SSIWRNGIVTVYADS (SEQ ID NO: 246),且所述VH CDR3序列包含WSAAFDY (SEQ ID NO: 235)。

[0120] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包括:包含RASQSISSYLN (SEQ ID NO: 209)的VL CDR1序列;包含AASSLQS (SEQ ID NO: 215)的VL CDR2序列;包含DNGYPST (SEQ ID NO: 228)的VL CDR3序列;包含SYAMS (SEQ ID NO: 212)

的VH CDR1序列;包含SSIWRNGIVTVYADS (SEQ ID NO: 246)的VH CDR2序列;和包含WSAAFDY (SEQ ID NO: 235)的VH CDR3序列。

[0121] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含可变重链互补性决定区1 (VH CDR1,在本文中也称作CDRH1)序列、可变重链互补性决定区2 (VH CDR2,在本文中也称作CDRH2)序列、可变重链互补性决定区3 (VH CDR3,在本文中也称作CDRH3)序列、可变轻链互补性决定区1 (VL CDR1,在本文中也称作CDRL1)序列、可变轻链互补性决定区2 (VL CDR2,在本文中也称作CDRL2)序列和可变轻链互补性决定区3 (VL CDR3,在本文中也称作CDRL3)序列的组合,其中至少一个CDR序列选自:表17中所示的VH CDR1序列;表17中所示的VH CDR2序列;表17中所示的VH CDR3序列;表17中所示的VL CDR1序列;表17中所示的VL CDR2序列;和表17中所示的VL CDR3序列。

[0122] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中至少一个CDR序列选自:VH CDR1序列,其包括与表17中所示的VH CDR1序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列;VH CDR2序列,其包括与表17中所示的VH CDR2序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列;VH CDR3序列,其包括与表17中所示的VH CDR3序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列;VL CDR1序列,其包括与表17中所示的VL CDR1序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列;VL CDR2序列,其包括与表17中所示的VL CDR2序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列;和VL CDR3序列,其包括与表17中所示的VL CDR3序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列。

[0123] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合是表17中所示的组合。

[0124] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合中的每个CDR序列包含与表17所示组合中的对应CDR序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列。

[0125] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含选自SEQ ID NO: 83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157、931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1144-1191、1200和1201的氨基酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含选自SEQ ID NO: 83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157、931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1144-1191、1200和1201的氨基酸序列和选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列。

[0126] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含选自SEQ ID NO: 931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1144-1191、1200和1201的氨基酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含选自SEQ ID NO: 931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1144-1191、1200和1201的氨基酸序列和选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列。

[0127] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含选自SEQ ID NO: 931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1145、1147、1149、1151、1153、1155、1157、1159、1161、1163、1165、1167、1169、1171、1173、1175、1177、1179、1181、1183、1185、1187、1189、1191和1201的氨基酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含选自SEQ ID NO: 931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1145、1147、1149、1151、1153、1155、1157、1159、1161、1163、1165、1167、1169、1171、1173、1175、1177、1179、1181、1183、1185、1187、1189、1191和1201的氨基酸序列和选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列。

[0128] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包括与选自SEQ ID NO: 83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157、931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1144-1191、1200和1201的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸。在某些实施方案中,所述可活化抗体包括与选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸。在某些实施方案中,所述可活化抗体包括与选自SEQ ID NO: 83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157、931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1144-1191、1200和1201的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸和与选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸。

[0129] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包括与选自SEQ ID NO: 931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1144-1191、1200

和1201的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸。在某些实施方案中,所述可活化抗体包括与选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸。在某些实施方案中,所述可活化抗体包括与选自SEQ ID NO: 931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1144-1191、1200和1201的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸和与选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸。

[0130] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包括与选自SEQ ID NO: 931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1145、1147、1149、1151、1153、1155、1157、1159、1161、1163、1165、1167、1169、1171、1173、1175、1177、1179、1181、1183、1185、1187、1189、1191、1200和1201的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸。在某些实施方案中,所述可活化抗体包括与选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸。在某些实施方案中,所述可活化抗体包括与选自SEQ ID NO: 931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1145、1147、1149、1151、1153、1155、1157、1159、1161、1163、1165、1167、1169、1171、1173、1175、1177、1179、1181、1183、1185、1187、1189、1191和1201的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸和与选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸。

[0131] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含选自SEQ ID NO: 83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157、931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1144-1191、1200和1201的氨基酸序列和SEQ ID NO: 46的重链氨基酸序列。

[0132] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含选自SEQ ID NO: 931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1144-1191、1200和1201的氨基酸序列和SEQ ID NO: 46的重链氨基酸序列。

[0133] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含选自SEQ ID NO: 931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1145、1147、1149、1151、1153、1155、1157、1159、1161、1163、1165、1167、1169、1171、1173、1175、1177、1179、1181、1183、1185、1187、1189、1191和1201的氨基酸序列和SEQ ID NO: 46的重链氨基

酸序列。

[0134] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包括与选自SEQ ID NO: 83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157、931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1144-1191、1200和1201的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸和与SEQ ID NO: 46的重链氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸。

[0135] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包括与选自SEQ ID NO: 931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1144-1191、1200和1201的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸和与SEQ ID NO: 46的重链氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸。

[0136] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包括与选自SEQ ID NO: 931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1145、1147、1149、1151、1153、1155、1157、1159、1161、1163、1165、1167、1169、1171、1173、1175、1177、1179、1181、1183、1185、1187、1189、1191和1201的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸和与SEQ ID NO: 46的重链氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸。

[0137] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含SEQ ID NO: 428的氨基酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含选自SEQ ID NO: 430、432、434和1202的氨基酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含SEQ ID NO: 428的氨基酸序列和选自SEQ ID NO: 430、432和434的氨基酸序列。

[0138] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含SEQ ID NO: 1008的氨基酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含选自SEQ ID NO: 430、432、434和1202的氨基酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含SEQ ID NO: 1008的氨基酸序列和选自SEQ ID NO: 430、432、434和1202的氨基酸序列。

[0139] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包括与SEQ ID NO: 428的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸。在某些实施方案中,所述可活化抗体包括与选自SEQ ID NO: 430、432、434和1202的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸。在某些实施方案中,所述可活化抗体包括与SEQ ID NO: 428的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸和与选自SEQ ID NO: 430、432、434和1202的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸。

[0140] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包括与SEQ ID NO: 1008的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸。在某些实施方案中,

所述可活化抗体包括与选自SEQ ID NO: 430、432、434和1202的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸。在某些实施方案中,所述可活化抗体包括与SEQ ID NO: 1008的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸和与选自SEQ ID NO: 430、432、434和1202的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸。

[0141] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含:掩蔽部分(MM),其包含选自SEQ ID NO: 59-81、208和426的氨基酸序列;可切割部分(CM),其包含选自SEQ ID NO: 341、352、359、364、372、377、379、383、394、437、883-893、901-920和921的氨基酸序列;和VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包括:包含RASQSISSYLN (SEQ ID NO: 209)的VL CDR1序列;包含AASSLQS (SEQ ID NO: 215)的VL CDR2序列;包含DNGYPST (SEQ ID NO: 228)的VL CDR3序列;包含SYAMS (SEQ ID NO: 212)的VH CDR1序列;包含SSIWRNGIVTVYADS (SEQ ID NO: 246)的VH CDR2序列;和包含WSAAFDY (SEQ ID NO: 235)的VH CDR3序列。

[0142] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含:掩蔽部分(MM),其包含选自SEQ ID NO: 60、62、63、66-68、71、75和76的氨基酸序列;可切割部分(CM),其包含选自SEQ ID NO: 341、364、377、394、437、883-893、901-911和920的氨基酸序列;和VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包括:包含RASQSISSYLN (SEQ ID NO: 209)的VL CDR1序列;包含AASSLQS (SEQ ID NO: 215)的VL CDR2序列;包含DNGYPST (SEQ ID NO: 228)的VL CDR3序列;包含SYAMS (SEQ ID NO: 212)的VH CDR1序列;包含SSIWRNGIVTVYADS (SEQ ID NO: 246)的VH CDR2序列;和包含WSAAFDY (SEQ ID NO: 235)的VH CDR3序列。

[0143] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含:掩蔽部分(MM),其包含选自SEQ ID NO: 59-81、208和426的氨基酸序列;可切割部分(CM),其包含选自SEQ ID NO: 341、352、359、364、372、377、379、383、394、437、883-893、901-920和921的氨基酸序列;以及包含SEQ ID NO: 58的氨基酸序列的可变轻链和包含SEQ ID NO: 46的氨基酸序列的可变重链。

[0144] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含:掩蔽部分(MM),其包含选自SEQ ID NO: 60、62、63、66-68、71、75和76的氨基酸序列;可切割部分(CM),其包含选自SEQ ID NO: 341、364、377、394、437、883-893、901-911和920的氨基酸序列;以及包含SEQ ID NO: 58的氨基酸序列的可变轻链和包含SEQ ID NO: 46的氨基酸序列的可变重链。

[0145] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含:掩蔽部分(MM),其包含选自SEQ ID NO: 59-81、208和426的氨基酸序列;可切割部分(CM),其包含选自SEQ ID NO: 341、352、359、364、372、377、379、383、394、437、883-893、901-920和921的氨基酸序列;以及包含SEQ ID NO: 12的氨基酸序列的可变轻链和包含SEQ ID NO: 46的氨基酸序列的可变重链。

[0146] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含:掩蔽部分(MM),其包含选自SEQ ID NO: 60、62、63、66-68、71、75和76的氨基酸序列;可切割部分(CM),其包含选自SEQ ID NO: 341、364、377、394、437、883-893、901-11和920的氨基酸序列;以及包含SEQ ID NO: 12的氨基酸序列的可变轻链和包含SEQ ID NO: 46的氨基酸序列的可变重链。

[0147] 在某些实施方案中,所述可活化抗体由核酸序列编码,所述核酸序列包含编码选自SEQ ID NO: 14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54和

56的重链氨基酸序列的核酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体由核酸序列编码,所述核酸序列包含编码选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的重链氨基酸序列的核酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体由核酸序列编码,所述核酸序列包含编码含有SEQ ID NO: 58的轻链氨基酸序列的核酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体由核酸序列编码,所述核酸序列包含编码含有SEQ ID NO: 12的轻链氨基酸序列的核酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体由以下核酸序列编码:包含编码选自SEQ ID NO: 14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54和56的重链氨基酸序列的核酸序列,和包含编码含有SEQ ID NO: 58的轻链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体由以下核酸序列编码:包含编码选自SEQ ID NO: 14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54和56的重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列,和包含编码含有SEQ ID NO: 12的轻链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体由以下核酸序列编码:包含编码选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列,和包含编码含有SEQ ID NO: 58的轻链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体由以下核酸序列编码:包含编码选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列,和包含编码含有SEQ ID NO: 12的轻链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列。

[0148] 在某些实施方案中,所述可活化抗体由核酸序列编码,所述核酸序列包含编码与选自SEQ ID NO: 14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列的核酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体由核酸序列编码,所述核酸序列包含编码与选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列的核酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体由核酸序列编码,所述核酸序列包含编码与SEQ ID NO: 58的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸的核酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体由核酸序列编码,所述核酸序列包含编码与SEQ ID NO: 12的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸的核酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体由以下核酸序列编码:包含编码与选自SEQ ID NO: 14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列,和含编码与SEQ ID NO: 58的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸的核酸序列的核酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体由以下核酸序列编码:包含编码与选自SEQ ID NO: 14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列,和包含编码与SEQ ID NO: 12的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸的核酸序列的核酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体由以下核酸序列编码:包含编码与选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重

链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列,和包含编码与SEQ ID NO: 58的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸的核酸序列的核酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体由以下核酸序列编码:包含编码与选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列的核酸序列的核酸序列,和包含编码与SEQ ID NO: 12的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸的核酸序列的核酸序列。

[0149] 在某些实施方案中,所述可活化抗体由选自SEQ ID NO: 13、15、17、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53和55的重链核酸序列编码。在某些实施方案中,所述可活化抗体由选自SEQ ID NO: 45、47、49、51、53和55的重链核酸序列编码。在某些实施方案中,所述可活化抗体由SEQ ID NO: 57的轻链核酸序列编码。在某些实施方案中,所述可活化抗体由SEQ ID NO: 11的轻链核酸序列编码。在某些实施方案中,所述可活化抗体由选自SEQ ID NO: 13、15、17、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53和55的重链核酸序列和包含SEQ ID NO: 57的轻链核酸序列编码。在某些实施方案中,所述可活化抗体由选自SEQ ID NO: 13、15、17、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53和55的重链核酸序列和包含SEQ ID NO: 11的轻链核酸序列编码。在某些实施方案中,所述可活化抗体由核酸序列编码,所述核酸序列包含选自SEQ ID NO: 45、47、49、51、53和55的重链核酸序列和包含SEQ ID NO: 57的轻链核酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体由核酸序列编码,所述核酸序列包含选自SEQ ID NO: 45、47、49、51、53和55的重链核酸序列和包含SEQ ID NO: 11的轻链核酸序列。

[0150] 在某些实施方案中,所述可活化抗体由核酸序列编码,所述核酸序列与选自SEQ ID NO: 13、15、17、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53和55的重链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性。在某些实施方案中,所述可活化抗体由核酸序列编码,所述核酸序列与选自SEQ ID NO: 45、47、49、51、53和55的重链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性。在某些实施方案中,所述可活化抗体由核酸序列编码,所述核酸序列与SEQ ID NO: 57的轻链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性。在某些实施方案中,所述可活化抗体由核酸序列编码,所述核酸序列与SEQ ID NO: 11的轻链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性。在某些实施方案中,所述可活化抗体由以下核酸序列编码:与选自SEQ ID NO: 13、15、17、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53和55的重链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列,和与包含SEQ ID NO: 57的轻链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体由以下核酸序列编码:与选自SEQ ID NO: 13、15、17、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53和55的重链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列,和与包含SEQ ID NO: 11的轻链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体由以下核酸序列编码:包含与选自SEQ ID NO: 45、47、49、51、53和55的重链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列的核

酸序列,和与包含SEQ ID NO: 57的轻链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列。在某些实施方案中,所述可活化抗体由以下核酸序列编码:包含与选自SEQ ID NO: 45、47、49、51、53和55的重链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列的核酸序列,和与包含SEQ ID NO: 11的轻链核酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核酸序列。

[0151] 在某些实施方案中,所述MM就结合所述AB而言的解离常数大于所述AB对PDL1的解离常数。

[0152] 在某些实施方案中,所述MM就结合所述AB而言的解离常数不超过所述AB对PDL1的解离常数。

[0153] 在某些实施方案中,所述MM就结合所述AB而言的解离常数小于所述AB对PDL1的解离常数。

[0154] 在某些实施方案中,所述MM就结合所述AB而言的解离常数大约等于所述AB对PDL1的解离常数。

[0155] 在某些实施方案中,当所述可活化抗体处于被切割状态时,所述MM不会干扰或竞争所述AB与PDL1的结合。

[0156] 在某些实施方案中,所述MM是约2-40个氨基酸长度的多肽。在某些实施方案中,所述MM是至多约40个氨基酸长度的多肽。

[0157] 在某些实施方案中,所述MM多肽序列不同于PDL1的多肽序列。在某些实施方案中,所述MM多肽序列与所述AB的任何天然结合配偶体具有不超过50%同一性。在某些实施方案中,所述MM多肽序列不同于PDL1的多肽序列,且与所述AB的任何天然结合配偶体具有不超过40%、30%、25%、20%、15%或10%同一性。

[0158] 在某些实施方案中,所述MM包含选自SEQ ID NO: 59-81、208和426的氨基酸序列。在某些实施方案中,所述MM包含与选自SEQ ID NO: 59-81、208和426的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。

[0159] 在某些实施方案中,所述MM与所述AB的偶联会减小所述AB的结合PDL1的能力,使得所述AB当与所述MM偶联时对PDL1的解离常数(K_d)是所述AB当未与所述MM偶联时对PDL1的 K_d 的至少2倍。

[0160] 在某些实施方案中,所述MM与所述AB的偶联会减小所述AB的结合PDL1的能力,使得所述AB当与所述MM偶联时对PDL1的解离常数(K_d)是所述AB当未与所述MM偶联时对PDL1的 K_d 的至少5倍。

[0161] 在某些实施方案中,所述MM与所述AB的偶联会减小所述AB的结合PDL1的能力,使得所述AB当与所述MM偶联时对PDL1的解离常数(K_d)是所述AB当未与所述MM偶联时对PDL1的 K_d 的至少10倍。

[0162] 在某些实施方案中,所述MM与所述AB的偶联会减小所述AB的结合PDL1的能力,使得所述AB当与所述MM偶联时对PDL1的解离常数(K_d)是所述AB当未与所述MM偶联时对PDL1的 K_d 的至少20倍。

[0163] 在某些实施方案中,所述MM与所述AB的偶联会减小所述AB的结合PDL1的能力,使得所述AB当与所述MM偶联时对PDL1的解离常数(K_d)是所述AB当未与所述MM偶联时对PDL1

的 K_d 的至少40倍。

[0164] 在某些实施方案中,所述MM与所述AB的偶联会减小所述AB的结合PDL1的能力,使得所述AB当与所述MM偶联时对PDL1的解离常数(K_d)是所述AB当未与所述MM偶联时对PDL1的 K_d 的至少100倍。

[0165] 在某些实施方案中,所述MM与所述AB的偶联会减小所述AB的结合PDL1的能力,使得所述AB当与所述MM偶联时对PDL1的解离常数(K_d)是所述AB当未与所述MM偶联时对PDL1的 K_d 的至少1000倍。

[0166] 在某些实施方案中,所述MM与所述AB的偶联会减小所述AB的结合PDL1的能力,使得所述AB当与所述MM偶联时对PDL1的解离常数(K_d)是所述AB当未与所述MM偶联时对PDL1的 K_d 的至少10,000倍。

[0167] 在某些实施方案中,当使用靶置换测定(例如,在PCT公开号WO 2010/081173中描述的测定,其内容特此通过引用以其整体并入)在体外测定时,在有PDL1存在下,与所述CM被切割时相比,当所述CM未被切割时,所述MM使所述AB的结合PDL1的能力减小至少90%。

[0168] 在某些实施方案中,切割所述CM的蛋白酶在患病组织中是有活性的,例如,上调,且当所述可活化抗体暴露于所述蛋白酶时,所述蛋白酶切割所述可活化抗体中的CM。

[0169] 在某些实施方案中,所述蛋白酶与PDL1共定位在组织中,且当所述可活化抗体暴露于所述蛋白酶时,所述蛋白酶切割所述可活化抗体中的CM。

[0170] 在某些实施方案中,相对于在非治疗部位的组织中(例如在健康组织中),所述蛋白酶以相对较高的水平存在于治疗部位或诊断部位的含靶标的组织中或紧密靠近处,且当所述可活化抗体暴露于所述蛋白酶时,所述蛋白酶切割所述可活化抗体中的CM。

[0171] 在某些实施方案中,所述CM位于所述可活化抗体中,使得当所述可活化抗体处于未切割状态时,所述可活化抗体与PDL1的结合减小,所述结合的解离常数是未修饰的AB与PDL1的结合的解离常数的至少2倍,而在被切割状态(即,当所述可活化抗体处于被切割状态时),所述AB结合PDL1。

[0172] 在某些实施方案中,所述CM位于所述可活化抗体中,使得当所述可活化抗体处于未切割状态时,所述可活化抗体与PDL1的结合减小,所述结合的解离常数是未修饰的AB与PDL1的结合的解离常数的至少5倍,而在被切割状态(即,当所述可活化抗体处于被切割状态时),所述AB结合PDL1。

[0173] 在某些实施方案中,所述CM位于所述可活化抗体中,使得当所述可活化抗体处于未切割状态时,所述可活化抗体与PDL1的结合减小,所述结合的解离常数是未修饰的AB与PDL1的结合的解离常数的至少10倍,而在被切割状态(即,当所述可活化抗体处于被切割状态时),所述AB结合PDL1。

[0174] 在某些实施方案中,所述CM位于所述可活化抗体中,使得当所述可活化抗体处于未切割状态时,所述可活化抗体与PDL1的结合减小,所述结合的解离常数是未修饰的AB与PDL1的结合的解离常数的至少20倍,而在被切割状态(即,当所述可活化抗体处于被切割状态时),所述AB结合PDL1。

[0175] 在某些实施方案中,所述CM位于所述可活化抗体中,使得当所述可活化抗体处于未切割状态时,所述可活化抗体与PDL1的结合减小,所述结合的解离常数是未修饰的AB与PDL1的结合的解离常数的至少40倍,而在被切割状态,所述AB结合PDL1。

[0176] 在某些实施方案中,所述CM位于所述可活化抗体中,使得当所述可活化抗体处于未切割状态时,所述可活化抗体与PDL1的结合减小,所述结合的解离常数是未修饰的AB与PDL1的结合的解离常数的至少50倍,而在被切割状态,所述AB结合PDL1。

[0177] 在某些实施方案中,所述CM位于所述可活化抗体中,使得当所述可活化抗体处于未切割状态时,所述可活化抗体与PDL1的结合减小,所述结合的解离常数是未修饰的AB与PDL1的结合的解离常数的至少100倍,而在被切割状态,所述AB结合PDL1。

[0178] 在某些实施方案中,所述CM位于所述可活化抗体中,使得当所述可活化抗体处于未切割状态时,所述可活化抗体与PDL1的结合减小,所述结合的解离常数是未修饰的AB与PDL1的结合的解离常数的至少200倍,而在被切割状态,所述AB结合PDL1。

[0179] 在某些实施方案中,所述CM是至多15个氨基酸长度的多肽。

[0180] 在某些实施方案中,所述CM是多肽,所述多肽包括是至少一种基质金属蛋白酶(MMP)的底物的第一可切割部分(CM1)和是至少一种丝氨酸蛋白酶(SP)的底物的第二可切割部分(CM2)。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物的CM1底物序列和CM2底物序列中的每一个独立地是至多15个氨基酸长度的多肽。

[0181] 在某些实施方案中,所述CM是至少一种蛋白酶的底物,所述蛋白酶是或被认为在癌症中上调。在某些实施方案中,所述CM是至少一种蛋白酶的底物,所述蛋白酶是或被认为在炎症中上调。在某些实施方案中,所述CM是至少一种蛋白酶的底物,所述蛋白酶是或被认为在自身免疫中上调。

[0182] 在某些实施方案中,所述CM是至少一种蛋白酶的底物,所述蛋白酶选自:基质金属蛋白酶(MMP)、凝血酶、嗜中性粒细胞弹性蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、豆蔻蛋白(legumain)和丝氨酸蛋白酶,诸如matrilysin (MT-SP1)和尿激酶(uPA)。不受理论的约束,据信,这些蛋白酶在癌症、炎症和/或自身免疫中的至少一种中上调。

[0183] 示例性的底物包括、但不限于可被表12中列出的下述酶或蛋白酶中的一种或多种切割的底物。

[0184] 在某些实施方案中,选择所述CM用于与特定蛋白酶(例如已知与所述可活化抗体的靶标共定位的蛋白酶)一起使用。

[0185] 在某些实施方案中,选择所述CM用于与特定蛋白酶(例如已知与所述可活化抗体的靶标非常靠近的蛋白酶)一起使用。

[0186] 在某些实施方案中,所述CM是至少一种MMP的底物。MMP的例子包括在表12中列出的MMP。在某些实施方案中,所述CM是选自MMP 9、MMP14、MMP1、MMP3、MMP13、MMP17、MMP11和MMP19的蛋白酶的底物。在某些实施方案中,所述CM是MMP9的底物。在某些实施方案中,所述CM是MMP14的底物。

[0187] 在某些实施方案中,所述CM是包括以下序列的底物: TGRGPSWV (SEQ ID NO: 338); SARGPSRW (SEQ ID NO: 339); TARGPSFK (SEQ ID NO: 340); LSGRSDNH (SEQ ID NO: 341); GGWHTGRN (SEQ ID NO: 342); HTGRSGAL (SEQ ID NO: 343); PLTGRSGG (SEQ ID NO: 344); AARGPAIH (SEQ ID NO: 345); RGPAPNPM (SEQ ID NO: 346); SSRGPAYL (SEQ ID NO: 347); RGPATPIM (SEQ ID NO: 348); RGPA (SEQ ID NO: 349); GGQPSGMWGW (SEQ ID NO: 350); FPRPLGITGL (SEQ ID NO: 351); VHMPLGFLGP (SEQ ID NO: 352); SPLTGRSG (SEQ ID NO: 353); SAGFSLPA (SEQ ID NO: 354); LAPPLGLQRR (SEQ ID NO: 355); SGGPLGVR (SEQ

ID NO: 356); PLGL (SEQ ID NO: 357); LSGRSGNH (SEQ ID NO: 883); SGRSANPRG (SEQ ID NO: 884); LSGRSDDH (SEQ ID NO: 885); LSGRSDIH (SEQ ID NO: 886); LSGRSDQH (SEQ ID NO: 887); LSGRSDTH (SEQ ID NO: 888); LSGRSDYH (SEQ ID NO: 889); LSGRSDNP (SEQ ID NO: 890); LSGRSANP (SEQ ID NO: 891); LSGRSANI (SEQ ID NO: 892); 和/或 LSGRSDNI (SEQ ID NO: 893)。

[0188] 在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列LSGRSDNH (SEQ ID NO: 341)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列TGRGPSWV (SEQ ID NO: 338)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列PLTGRSGG (SEQ ID NO: 344)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列GGQPSGMWGW (SEQ ID NO: 350)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列FPRPLGITGL (SEQ ID NO: 351)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列VHMLPLGLFP (SEQ ID NO: 352)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列PLGL (SEQ ID NO: 357)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列SARGPSRW (SEQ ID NO: 339)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列TARGPSFK (SEQ ID NO: 340)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列GGWHTGRN (SEQ ID NO: 342)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列HTGRSGAL (SEQ ID NO: 343)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列AARGPAIH (SEQ ID NO: 345)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列RGPAFNPM (SEQ ID NO: 346)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列SSRGPAYL (SEQ ID NO: 347)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列RGPATPIM (SEQ ID NO: 348)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列RGPA (SEQ ID NO: 349)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列LSGRSGNH (SEQ ID NO: 883)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列SGRSANPRG (SEQ ID NO: 884)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列LSGRSDDH (SEQ ID NO: 885)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列LSGRSDIH (SEQ ID NO: 886)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列LSGRSDQH (SEQ ID NO: 887)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列LSGRSDTH (SEQ ID NO: 888)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列LSGRSDYH (SEQ ID NO: 889)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列LSGRSDNP (SEQ ID NO: 890)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列LSGRSANP (SEQ ID NO: 891)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列LSGRSANI (SEQ ID NO: 892)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列LSGRSDNI (SEQ ID NO: 893)。

[0189] 在某些实施方案中,所述CM是MMP的底物,且包括序列ISSGLSS (SEQ ID NO: 358); QNQALRMA (SEQ ID NO: 359); AQNLLGMV (SEQ ID NO: 360); STFPFGMF (SEQ ID NO: 361); PVGYTSSL (SEQ ID NO: 362); DWLYWPGI (SEQ ID NO: 363), ISSGLSS (SEQ ID NO: 364), LKAAPRWA (SEQ ID NO: 365); GPSHLVLT (SEQ ID NO: 366); LPGGLSPW (SEQ ID NO: 367); MGLFSEAG (SEQ ID NO: 368); SPLPLRVP (SEQ ID NO: 369); RMHLRSLG (SEQ ID NO: 370); LAAPLGLL (SEQ ID NO: 371); AVGLLAPP (SEQ ID NO: 372); LLAPSHRA (SEQ ID NO: 373); PAGLWLDP (SEQ ID NO: 374); MIAPVAYR (SEQ ID NO: 894); RPSPMWAY (SEQ ID NO: 895); WATPRPMR (SEQ ID NO: 896); FRLLDWQW (SEQ ID NO: 897); ISSGL (SEQ ID NO: 898); ISSGLLS (SEQ ID NO: 899); 和/或 ISSGLL (SEQ ID NO: 900)。

[0190] 在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列ISSGLSS (SEQ ID NO: 358)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列QNQALRMA (SEQ ID NO: 359)。在某些实施方案中,所

述CM包含氨基酸序列AQNLLGMV (SEQ ID NO: 360)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列STFPFGMF (SEQ ID NO: 361)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列PVGYTSSL (SEQ ID NO: 362)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列DWLYWPGI (SEQ ID NO: 363)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列ISSGLLSS (SEQ ID NO: 364)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列LKAAPRWA (SEQ ID NO: 365)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列GPSHLVLT (SEQ ID NO: 366)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列LPGGLSPW (SEQ ID NO: 367)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列MGLFSEAG (SEQ ID NO: 368)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列SPLPLRVP (SEQ ID NO: 369)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列RMHLRSLG (SEQ ID NO: 370)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列LAAPLGLL (SEQ ID NO: 371)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列AVGLLAPP (SEQ ID NO: 372)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列LLAPSHRA (SEQ ID NO: 373)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列PAGLWLDP (SEQ ID NO: 374)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列MIAPVAYR (SEQ ID NO: 894)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列RPSPMWAY (SEQ ID NO: 895)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列WATPRPMR (SEQ ID NO: 896)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列FRLLDWQW (SEQ ID NO: 897)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列ISSGL (SEQ ID NO: 898)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列ISSGLLS (SEQ ID NO: 899)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列ISSGLL (SEQ ID NO: 900)。

[0191] 在某些实施方案中,所述CM是凝血酶的底物。在某些实施方案中,所述CM是凝血酶的底物,且包括序列GPRSFGL (SEQ ID NO: 375)或GPRSFG (SEQ ID NO: 376)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列GPRSFGL (SEQ ID NO: 375)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列GPRSFG (SEQ ID NO: 376)。

[0192] 在某些实施方案中,所述CM包含选自以下的氨基酸序列:NTLSGRSENHSG (SEQ ID NO: 435);NTLSGRSGNHGS (SEQ ID NO: 436);TSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 437);TSGRSANP (SEQ ID NO: 438);VAGRSMRP (SEQ ID NO: 439);VVPEGRRS (SEQ ID NO: 440);ILPRSPAF (SEQ ID NO: 441);MVLGRSLL (SEQ ID NO: 442);QGRAITFI (SEQ ID NO: 443);SPRSIMLA (SEQ ID NO: 444);和SMLRSMPL (SEQ ID NO: 445)。

[0193] 在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列NTLSGRSENHSG (SEQ ID NO: 435)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列NTLSGRSGNHGS (SEQ ID NO: 436)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列TSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 437)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列TSGRSANP (SEQ ID NO: 438)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列VAGRSMRP (SEQ ID NO: 439)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列VVPEGRRS (SEQ ID NO: 440)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列ILPRSPAF (SEQ ID NO: 441)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列MVLGRSLL (SEQ ID NO: 442)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列QGRAITFI (SEQ ID NO: 443)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列SPRSIMLA (SEQ ID NO: 444)。在某些实施方案中,所述CM包含氨基酸序列SMLRSMPL (SEQ ID NO: 445)。

[0194] 在某些实施方案中,所述CM是嗜中性粒细胞弹性蛋白酶的底物。在某些实施方案中,所述CM是丝氨酸蛋白酶的底物。在某些实施方案中,所述CM是uPA的底物。在某些实施方案中,

案中,所述CM是豆荚蛋白(legumain)的底物。在某些实施方案中,所述CM是matrptase的底物。在某些实施方案中,所述CM是半胱氨酸蛋白酶的底物。在某些实施方案中,所述CM是半胱氨酸蛋白酶(诸如组织蛋白酶)的底物。

[0195] 在某些实施方案中,所述CM是CM1-CM2底物,且包括序列ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 377);ISSGLSSGGSGGSLSGRSDNH (SEQ ID NO: 378);AVGLLAPPGGTSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 379);TSTSGRSANPRGGGAVGLLAPP (SEQ ID NO: 380);VHMLPLGFLGPGGTSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 381);TSTSGRSANPRGGGVHMLPLGFLGP (SEQ ID NO: 382);AVGLLAPPGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 383);LSGRSDNHGGAVGLLAPP (SEQ ID NO: 384);VHMLPLGFLGPGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 385);LSGRSDNHGGVHMLPLGFLGP (SEQ ID NO: 386);LSGRSDNHGGSGGSISSGLLSS (SEQ ID NO: 387);LSGRSGNHGGSGGSISSGLLSS (SEQ ID NO: 388);ISSGLSSGGSGGSLSGRSGNH (SEQ ID NO: 389);LSGRSDNHGGSGGSQNQALRMA (SEQ ID NO: 390);QNQALRMAGGSGGSLSGRSDNH (SEQ ID NO: 391);LSGRSGNHGGSGGSQNQALRMA (SEQ ID NO: 392);QNQALRMAGGSGGSLSGRSGNH (SEQ ID NO: 393);ISSGLLSGRSGNH (SEQ ID NO: 394);ISSGLLSGRSANPRG (SEQ ID NO: 901);AVGLLAPPTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 902);AVGLLAPPSGRSANPRG (SEQ ID NO: 903);ISSGLLSGRSDDH (SEQ ID NO: 904);ISSGLLSGRSDIH (SEQ ID NO: 905);ISSGLLSGRSDQH (SEQ ID NO: 906);ISSGLLSGRSDTH (SEQ ID NO: 907);ISSGLLSGRSDYH (SEQ ID NO: 908);ISSGLLSGRSDNP (SEQ ID NO: 909);ISSGLLSGRSANP (SEQ ID NO: 910);ISSGLLSGRSANI (SEQ ID NO: 911);AVGLLAPPGGLSGRSDDH (SEQ ID NO: 912);AVGLLAPPGGLSGRSDIH (SEQ ID NO: 913);AVGLLAPPGGLSGRSDQH (SEQ ID NO: 914);AVGLLAPPGGLSGRSDTH (SEQ ID NO: 915);AVGLLAPPGGLSGRSDYH (SEQ ID NO: 916);AVGLLAPPGGLSGRSDNP (SEQ ID NO: 917);AVGLLAPPGGLSGRSANP (SEQ ID NO: 918);AVGLLAPPGGLSGRSANI (SEQ ID NO: 919);ISSGLLSGRSDNI (SEQ ID NO: 920);AVGLLAPPGGLSGRSDNI (SEQ ID NO: 921);GLSGRSDNHGGAVGLLAPP (SEQ ID NO: 1009);和/或GLSGRSDNHGGVHMLPLGFLGP (SEQ ID NO: 1010)。

[0196] 在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 377),其在本文中也称作底物2001。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列ISSGLSSGGSGGSLSGRSDNH (SEQ ID NO: 378),其在本文中也称作底物1001/LP'/0001,其中在该CM1-CM2底物中使用的LP'是氨基酸序列GGSGGS (SEQ ID NO: 922)。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列AVGLLAPPGGTSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 379),其在本文中也称作底物2015和/或底物1004/LP'/0003,其中在该CM1-CM2底物中使用的LP'是氨基酸序列GG。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列TSTSGRSANPRGGGAVGLLAPP (SEQ ID NO: 380),其在本文中也称作底物0003/LP'/1004,其中在该CM1-CM2底物中使用的LP'是氨基酸序列GG。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列VHMLPLGFLGPGGTSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 381),其在本文中也称作底物1003/LP'/0003,其中在该CM1-CM2底物中使用的LP'是氨基酸序列GG。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列TSTSGRSANPRGGGVHMLPLGFLGP (SEQ ID NO: 382),其在本文中也称作底物0003/LP'/1003,其中在该CM1-CM2底物中使用的LP'是氨基酸序列GG。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列AVGLLAPPGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 383),其在本文中也称

称作底物3001和/或底物1004/LP'/0001,其中在该CM1-CM2底物中使用的LP'是氨基酸序列GG。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列LSGRSDNHGGAVGLLAPP (SEQ ID NO: 384),其在本文中也称作底物0001/LP'/1004,其中在该CM1-CM2底物中使用的LP'是氨基酸序列GG。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列VHMPGLGFLPGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 385),其在本文中也称作底物1003/LP'/0001,其中在该CM1-CM2底物中使用的LP'是氨基酸序列GG。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列LSGRSDNHGGVHMPGLGFLGP (SEQ ID NO: 386),其在本文中也称作底物0001/LP'/1003,其中在该CM1-CM2底物中使用的LP'是氨基酸序列GG。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列LSGRSDNHGGSGGSISSGLLSS (SEQ ID NO: 387),其在本文中也称作底物0001/LP'/1001,其中在该CM1-CM2底物中使用的LP'是氨基酸序列GGSGGS (SEQ ID NO: 922)。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列LSGRSGNHGGSGGSISSGLLSS (SEQ ID NO: 388),其在本文中也称作底物0002/LP'/1001,其中在该CM1-CM2底物中使用的LP'是氨基酸序列GGSGGS (SEQ ID NO: 922)。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列ISSGLSSGGSGGSLSGRSGNH (SEQ ID NO: 389),其在本文中也称作底物1001/LP'/0002,其中在该CM1-CM2底物中使用的LP'是氨基酸序列GGSGGS (SEQ ID NO: 922)。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列LSGRSDNHGGSGGSQNQALRMA (SEQ ID NO: 390),其在本文中也称作底物0001/LP'/1002,其中在该CM1-CM2底物中使用的LP'是氨基酸序列GGSGGS (SEQ ID NO: 922)。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列QNQALRMAGGSGGSLSGRSDNH (SEQ ID NO: 391),其在本文中也称作底物1002/LP'/0001,其中在该CM1-CM2底物中使用的LP'是氨基酸序列GGSGGS (SEQ ID NO: 922)。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列LSGRSGNHGGSGGSQNQALRMA (SEQ ID NO: 392),其在本文中也称作底物0002/LP'/1002,其中在该CM1-CM2底物中使用的LP'是氨基酸序列GGSGGS (SEQ ID NO: 922)。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列QNQALRMAGGSGGSLSGRSGNH (SEQ ID NO: 393),其在本文中也称作底物1002/LP'/0002,其中在该CM1-CM2底物中使用的LP'是氨基酸序列GGSGGS (SEQ ID NO: 922)。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列ISSGLLSGRSGNH (SEQ ID NO: 394),其在本文中也称作底物2002。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列ISSGLLSGRSANPRG (SEQ ID NO: 901),其在本文中也称作底物2003。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列AVGLLAPPTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 902),其在本文中也称作底物2004。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列AVGLLAPPSGRSANPRG (SEQ ID NO: 903),其在本文中也称作底物2005。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列ISSGLLSGRSDDH (SEQ ID NO: 904),其在本文中也称作底物2006。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列ISSGLLSGRSDIH (SEQ ID NO: 905),其在本文中也称作底物2007。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列ISSGLLSGRSDQH (SEQ ID NO: 906),其在本文中也称作底物2008。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列ISSGLLSGRSDTH (SEQ ID NO: 907),其在本文中也称作底物2009。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列ISSGLLSGRSDYH (SEQ ID NO: 908),其在本文中也称作底物2010。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列ISSGLLSGRSDNP (SEQ ID NO: 909),其在本文中也称作底物2011。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列ISSGLLSGRSANP (SEQ ID NO: 910),

其在本文中也称被称作底物2012。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列ISSGLLSGRSANI (SEQ ID NO: 911),其在本文中也称被称作底物2013。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列AVGLLAPPGGLSGRSDDH (SEQ ID NO: 912),其在本文中也称被称作底物3006。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列AVGLLAPPGGLSGRSDIH (SEQ ID NO: 913),其在本文中也称被称作底物3007。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列AVGLLAPPGGLSGRSDQH (SEQ ID NO: 914),其在本文中也称被称作底物3008。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列AVGLLAPPGGLSGRSDTH (SEQ ID NO: 915),其在本文中也称被称作底物3009。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列AVGLLAPPGGLSGRSDYH (SEQ ID NO: 916),其在本文中也称被称作底物3010。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列AVGLLAPPGGLSGRSDNP (SEQ ID NO: 917),其在本文中也称被称作底物3011。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列AVGLLAPPGGLSGRSANP (SEQ ID NO: 918),其在本文中也称被称作底物3012。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列AVGLLAPPGGLSGRSANI (SEQ ID NO: 919),其在本文中也称被称作底物3013。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列ISSGLLSGRSDNI (SEQ ID NO: 920),其在本文中也称被称作底物2014。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列AVGLLAPPGGLSGRSDNI (SEQ ID NO: 921),其在本文中也称被称作底物3014。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列GLSGRSDNHGGAVGLLAPP (SEQ ID NO: 1009),其在本文中也称被称作底物0001/LP'/1004,其中在该CM1-CM2底物中使用的LP'是氨基酸序列GG。在某些实施方案中,所述CM1-CM2底物包括序列GLSGRSDNHGGVHMPGLGFLGP (SEQ ID NO: 1010),其在本文中也称被称作底物0001/LP'/1003,其中在该CM1-CM2底物中使用的LP'是氨基酸序列GG。

[0197] 在某些实施方案中,所述CM是至少两种蛋白酶的底物。在某些实施方案中,每种蛋白酶选自表12中所示的那些。在某些实施方案中,所述CM是至少两种蛋白酶的底物,其中所述蛋白酶之一选自MMP、凝血酶、嗜中性粒细胞弹性蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、uPA、豆荚蛋白(legumain)和matrilysin和其它丝氨酸蛋白酶,且其它蛋白酶选自表12中所示的那些。在某些实施方案中,所述CM是至少两种蛋白酶的底物,所述蛋白酶选自MMP、凝血酶、嗜中性粒细胞弹性蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、uPA、豆荚蛋白(legumain)和matrilysin和其它丝氨酸蛋白酶。

[0198] 在某些实施方案中,所述可活化抗体至少包括第一CM和第二CM。在某些实施方案中,所述第一CM和所述第二CM各自是不超过15个氨基酸长的多肽。在某些实施方案中,处于未切割状态的可活化抗体中的所述第一CM和所述第二CM具有如下从N-端至C-端的结构排列:MM-CM1-CM2-AB或AB-CM2-CM1-MM。在某些实施方案中,所述第一CM和所述第二CM中的至少一个是作为蛋白酶的底物起作用的多肽,所述蛋白酶选自MMP、凝血酶、嗜中性粒细胞弹性蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、uPA、豆荚蛋白(legumain)和matrilysin和其它丝氨酸蛋白酶。在某些实施方案中,所述第一CM被靶组织选自MMP、凝血酶、嗜中性粒细胞弹性蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、uPA、豆荚蛋白(legumain)和matrilysin和其它丝氨酸蛋白酶的第一切割剂切割,且所述第二CM被靶组织中的第二切割剂切割。在某些实施方案中,所述其它蛋白酶选自表12中所示的那些。在某些实施方案中,所述第一切割剂和所述第二切割剂是选自MMP、凝血酶、嗜中性粒细胞弹性蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、uPA、豆荚蛋白(legumain)和matrilysin和其它丝氨酸蛋白酶的相同蛋白酶,且所述第一CM和所述第二CM是所述酶的不

同底物。在某些实施方案中,所述第一切割剂和所述第二切割剂是选自表12中所示的那些的相同蛋白酶。在某些实施方案中,所述第一切割剂和所述第二切割剂是不同的蛋白酶。在某些实施方案中,所述第一切割剂和所述第二切割剂共定位在靶组织中。在某些实施方案中,所述第一CM和所述第二CM被所述靶组织中的至少一种切割剂切割。

[0199] 在某些实施方案中,所述可活化抗体暴露于蛋白酶且被蛋白酶切割,以致于在所述蛋白酶已经切割CM以后,在活化或被切割状态,所述活化的抗体包括含有LP2和/或CM序列的至少一部分的轻链氨基酸序列。

[0200] 在某些实施方案中,所述可活化抗体也包括与所述AB缀合的试剂。在某些实施方案中,所述与AB缀合的试剂或可活化抗体的所述AB是治疗剂。在某些实施方案中,所述试剂是抗肿瘤剂。在某些实施方案中,所述试剂是毒素或其片段。本文中使用的毒素的片段是保留有毒活性的片段。在某些实施方案中,所述试剂经由可切割的接头缀合至所述AB。在某些实施方案中,所述试剂经由接头缀合至所述AB,所述接头包括至少一个CM1-CM2底物序列。在某些实施方案中,所述试剂经由不可切割的接头缀合至所述AB。在某些实施方案中,所述试剂经由接头缀合至所述AB,所述接头在细胞内或溶酶体环境中是可切割的。在某些实施方案中,所述试剂是微管抑制剂。在某些实施方案中,所述试剂是核酸损伤剂,诸如DNA烷化剂、DNA切割剂、DNA交联剂或DNA嵌入剂或其它DNA损伤剂。在某些实施方案中,所述试剂是选自表11中所列的组的试剂。在某些实施方案中,所述试剂是多拉司他汀。在某些实施方案中,所述试剂是澳瑞他汀或其衍生物。在某些实施方案中,所述试剂是澳瑞他汀E或其衍生物。在某些实施方案中,所述试剂是单甲基澳瑞他汀E (MMAE)。在某些实施方案中,所述试剂是单甲基澳瑞他汀D (MMAD)。在某些实施方案中,所述试剂是美登木素生物碱或美登木素生物碱衍生物。在某些实施方案中,所述试剂是DM1或DM4。在某些实施方案中,所述试剂是倍癌霉素或其衍生物。在某些实施方案中,所述试剂是卡里奇霉素或其衍生物。在某些实施方案中,所述试剂是吡咯并苯并二氮杂草。在某些实施方案中,所述试剂是吡咯并苯并二氮杂草二聚体。

[0201] 在某些实施方案中,所述可活化抗体缀合至试剂的一种或多种等同物。在某些实施方案中,所述可活化抗体缀合至所述试剂的一种等同物。在某些实施方案中,所述可活化抗体缀合至所述试剂的2、3、4、5、6、7、8、9、10或大于10种等同物。在某些实施方案中,所述可活化抗体是可活化抗体的混合物的部分,所述混合物具有均匀数目的缀合的试剂的等同物。在某些实施方案中,所述可活化抗体是可活化抗体的混合物的部分,所述混合物具有不同数目的缀合的试剂的等同物。在某些实施方案中,所述可活化抗体的混合物使得与每种可活化抗体缀合的试剂的平均数目是在0-1之间,1-2之间,2-3之间,3-4之间,4-5之间,5-6之间,6-7之间,7-8之间,8-9之间,9-10之间,和10和更大。在某些实施方案中,所述可活化抗体的混合物使得与每种可活化抗体缀合的试剂的平均数目是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更大。

[0202] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含一个或多个位点特异性的氨基酸序列修饰,使得赖氨酸和/或半胱氨酸残基的数目相对于所述可活化抗体的原始氨基酸序列增加或减小,因而在某些实施方案中相应地增加或减小可以与可活化抗体缀合的试剂的数目,或在某些实施方案中限制所述试剂以位点特异性的方式与可活化抗体的缀合。在某些实施方案中,所述经修饰的可活化抗体以位点特异性的方式用一个或多个非天然氨基酸修饰,

因而在某些实施方案中将所述试剂的缀合限制于仅非天然氨基酸的位点。

[0203] 在某些实施方案中,所述试剂是抗炎剂。

[0204] 在某些实施方案中,所述可活化抗体也包括可检测的部分。在某些实施方案中,所述可检测的部分是诊断剂。

[0205] 在某些实施方案中,所述可活化抗体也包括信号肽。在某些实施方案中,所述信号肽经由间隔物缀合至所述可活化抗体。在某些实施方案中,所述间隔物在没有信号肽存在下缀合至所述可活化抗体。在某些实施方案中,所述间隔物直接结合至所述可活化抗体的MM。在某些实施方案中,所述间隔物在间隔物-MM-CM-AB的从N-端至C-端结构排列中直接结合至所述可活化抗体的MM。直接结合至所述可活化抗体的MM的N-端的间隔物的一个例子选自:QQSGS (SEQ ID NO: 923);GQSGS (SEQ ID NO: 1192);QSGS (SEQ ID NO: 1193);SGS (SEQ ID NO: 1194);GS (SEQ ID NO: 1195);S;QQSGQG (SEQ ID NO: 924);GQSGQG (SEQ ID NO: 395);QSGQG (SEQ ID NO: 925);SGQG (SEQ ID NO: 926);GQG (SEQ ID NO: 927);QG (SEQ ID NO: 928);G;QQSGQ (SEQ ID NO: 1196);GQSGQ (SEQ ID NO: 1197);QSGQ (SEQ ID NO: 1198);SGQ (SEQ ID NO: 1198);GQ (SEQ ID NO: 1199);和Q。在某些实施方案中,所述间隔物至少包括氨基酸序列QQSGS (SEQ ID NO: 923)。在某些实施方案中,所述间隔物至少包括氨基酸序列GQSGS (SEQ ID NO: 1192)。在某些实施方案中,所述间隔物至少包括氨基酸序列QSGS (SEQ ID NO: 1193)。在某些实施方案中,所述间隔物至少包括氨基酸序列SGS (SEQ ID NO: 1194)。在某些实施方案中,所述间隔物至少包括氨基酸序列GS (SEQ ID NO: 1195)。在某些实施方案中,所述间隔物至少包括氨基酸序列S。在某些实施方案中,所述间隔物至少包括氨基酸序列QQSGQG (SEQ ID NO: 924)。在某些实施方案中,所述间隔物至少包括氨基酸序列GQSGQG (SEQ ID NO: 395)。在某些实施方案中,所述间隔物至少包括氨基酸序列QSGQG (SEQ ID NO: 925)。在某些实施方案中,所述间隔物至少包括氨基酸序列SGQG (SEQ ID NO: 926)。在某些实施方案中,所述间隔物至少包括氨基酸序列GQG (SEQ ID NO: 927)。在某些实施方案中,所述间隔物至少包括氨基酸序列QG (SEQ ID NO: 928)。在某些实施方案中,所述间隔物至少包括氨基酸序列G。在某些实施方案中,所述间隔物至少包括氨基酸序列QQSGQ (SEQ ID NO: 1196)。在某些实施方案中,所述间隔物至少包括氨基酸序列GQSGQ (SEQ ID NO: 1197)。在某些实施方案中,所述间隔物至少包括氨基酸序列QSGQ (SEQ ID NO: 1198)。在某些实施方案中,所述间隔物至少包括氨基酸序列SGQ (SEQ ID NO: 1198)。在某些实施方案中,所述间隔物至少包括氨基酸序列GQ (SEQ ID NO: 1199)。在某些实施方案中,所述间隔物至少包括氨基酸序列Q。在某些实施方案中,所述可活化抗体不包括间隔物序列。

[0206] 在某些实施方案中,所述可活化抗体的AB天然地含有一个或多个二硫键。在某些实施方案中,所述AB可以工程改造成包括一个或多个二硫键。

[0207] 在某些实施方案中,所述可活化抗体的血清半衰期长于对应抗体的血清半衰期;例如,所述可活化抗体的pK长于对应抗体的pK。在某些实施方案中,所述可活化抗体的血清半衰期类似于对应抗体的血清半衰期。在某些实施方案中,当施用给生物体时,所述可活化抗体的血清半衰期是至少15天。在某些实施方案中,当施用给生物体时,所述可活化抗体的血清半衰期是至少12天。在某些实施方案中,当施用给生物体时,所述可活化抗体的血清半衰期是至少11天。在某些实施方案中,当施用给生物体时,所述可活化抗体的血清半衰期是

至少10天。在某些实施方案中,当施用给生物体时,所述可活化抗体的血清半衰期是至少9天。在某些实施方案中,当施用给生物体时,所述可活化抗体的血清半衰期是至少8天。在某些实施方案中,当施用给生物体时,所述可活化抗体的血清半衰期是至少7天。在某些实施方案中,当施用给生物体时,所述可活化抗体的血清半衰期是至少6天。在某些实施方案中,当施用给生物体时,所述可活化抗体的血清半衰期是至少5天。在某些实施方案中,当施用给生物体时,所述可活化抗体的血清半衰期是至少4天。在某些实施方案中,当施用给生物体时,所述可活化抗体的血清半衰期是至少3天。在某些实施方案中,当施用给生物体时,所述可活化抗体的血清半衰期是至少2天。在某些实施方案中,当施用给生物体时,所述可活化抗体的血清半衰期是至少24小时。在某些实施方案中,当施用给生物体时,所述可活化抗体的血清半衰期是至少20小时。在某些实施方案中,当施用给生物体时,所述可活化抗体的血清半衰期是至少18小时。在某些实施方案中,当施用给生物体时,所述可活化抗体的血清半衰期是至少16小时。在某些实施方案中,当施用给生物体时,所述可活化抗体的血清半衰期是至少14小时。在某些实施方案中,当施用给生物体时,所述可活化抗体的血清半衰期是至少12小时。在某些实施方案中,当施用给生物体时,所述可活化抗体的血清半衰期是至少10小时。在某些实施方案中,当施用给生物体时,所述可活化抗体的血清半衰期是至少8小时。在某些实施方案中,当施用给生物体时,所述可活化抗体的血清半衰期是至少6小时。在某些实施方案中,当施用给生物体时,所述可活化抗体的血清半衰期是至少4小时。在某些实施方案中,当施用给生物体时,所述可活化抗体的血清半衰期是至少3小时。

[0208] 在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体是单特异性的。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体是多特异性的,例如,作为非限制性例子,双特异性的或三功能的。在某些实施方案中,将所述可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体配制为前-双特异性T细胞衔接子(BITE)分子的部分,即,所述BITE包括掩蔽部分和可切割部分。在某些实施方案中,将所述可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体配制为前-嵌合抗原受体(CAR)-修饰的T细胞、前-修饰的NK细胞或其它前-修饰的免疫效应细胞的部分。在某些实施方案中,将可活化的抗-PDL1抗体配制为免疫效应细胞上的另一种经工程改造的受体的部分;即,所述前-CAR或其它前-工程改造的受体包括掩蔽部分和可切割部分。

[0209] 在某些实施方案中,将所述可活化抗体或其抗原结合片段掺入多特异性的可活化抗体或其抗原结合片段中,其中所述多特异性可活化抗体的至少一个臂特异性地结合PDL1。在某些实施方案中,所述可活化抗体或其抗原结合片段掺入双特异性抗体或其抗原结合片段中,其中所述双特异性的可活化抗体的至少一个臂特异性地结合PDL1。

[0210] 在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体(例如,双特异性的可活化抗体)的至少一个臂包含选自SEQ ID NO: 14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54和56的重链氨基酸序列。在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体(例如,双特异性的可活化抗体)的至少一个臂包含含有SEQ ID NO: 12或SEQ ID NO: 58的轻链氨基酸序列。在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体(例如,双特异性的可活化抗体)的至少一个臂包含含有SEQ ID NO: 12的轻链氨基酸序列。在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体(例如,双特异性的可活化抗体)的至少一个臂包含含有SEQ ID NO: 58的轻链氨基酸序列。

[0211] 在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体(例如,双特异性的可活化抗体)的至少一个臂包含含有选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列的重链氨基酸序列和含有SEQ ID NO: 58的轻链氨基酸序列。

[0212] 在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体(例如,双特异性的可活化抗体)的至少一个臂包含含有选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列的重链氨基酸序列和含有SEQ ID NO: 12的轻链氨基酸序列。

[0213] 在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体(例如,双特异性的可活化抗体)的至少一个臂包含与选自SEQ ID NO: 14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列。在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体(例如,双特异性的可活化抗体)的至少一个臂包含与SEQ ID NO: 58的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体(例如,双特异性的可活化抗体)的至少一个臂包含与SEQ ID NO: 12的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体(例如,双特异性的可活化抗体)的至少一个臂包含与选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO: 58的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体(例如,双特异性的可活化抗体)的至少一个臂包含与选自SEQ ID NO: 46、48、50、52、54和56的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO: 12的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。

[0214] 在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体(例如,双特异性的可活化抗体)的至少一个臂包含SEQ ID NO: 46的重链氨基酸序列和SEQ ID NO: 58的轻链氨基酸序列。在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体(例如,双特异性的可活化抗体)的至少一个臂包含SEQ ID NO: 46的重链氨基酸序列和SEQ ID NO: 12的轻链氨基酸序列。

[0215] 在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体(例如,双特异性的可活化抗体)的至少一个臂包含与SEQ ID NO: 46的氨基酸具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列。在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体(例如,双特异性的可活化抗体)的至少一个臂包含与SEQ ID NO: 58的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体(例如,双特异性的可活化抗体)的至少一个臂包含与SEQ ID NO: 12的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体(例如,双特异性的可活化抗体)的至少一个臂包含与SEQ ID NO: 46的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链氨基酸序列和与SEQ ID NO: 58的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体(例如,双特异性的可活化抗体)的至少一个臂包含与SEQ ID NO: 46的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的

重链氨基酸序列和与SEQ ID NO: 12的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链氨基酸。

[0216] 在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体(例如,双特异性的可活化抗体)的至少一个臂包含可变重链互补性决定区1 (VH CDR1,在本文中也称作CDRH1)序列、可变重链互补性决定区2 (VH CDR2,在本文中也称作CDRH2)序列、可变重链互补性决定区3 (VH CDR3,在本文中也称作CDRH3)序列、可变轻链互补性决定区1 (VL CDR1,在本文中也称作CDRL1)序列、可变轻链互补性决定区2 (VL CDR2,在本文中也称作CDRL2)序列和可变轻链互补性决定区3 (VL CDR3,在本文中也称作CDRL3)序列的组合,其中至少一个CDR序列选自:表16中所示的VH CDR1序列;表16中所示的VH CDR2序列;表16中所示的VH CDR3序列;表16中所示的VL CDR1序列;表16中所示的VL CDR2序列;和表16中所示的VL CDR3序列。

[0217] 在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体(例如,双特异性的可活化抗体)的至少一个臂包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中至少一个CDR序列选自:VH CDR1序列,其包括与表16中所示的VH CDR1序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列;VH CDR2序列,其包括与表16中所示的VH CDR2序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列;VH CDR3序列,其包括与表16中所示的VH CDR3序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列;VL CDR1序列,其包括与表16中所示的VL CDR1序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列;VL CDR2序列,其包括与表16中所示的VL CDR2序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列;和VL CDR3序列,其包括与表16中所示的VL CDR3序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列。

[0218] 在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体(例如,双特异性的可活化抗体)的至少一个臂包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合是表16中的单个行所示的六个CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3)的组合。

[0219] 在某些实施方案中,所述抗体包含含有VH CDR1序列、VH CDR2序列和VH CDR3序列的组合的重链,其中所述组合是表16中的单个行所示的三个重链CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)的组合。

[0220] 在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体(例如,双特异性的可活化抗体)的至少一个臂包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合中的每个CDR序列包含与表16中的单个行所示的六个CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3)的组合中的对应CDR序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列。

[0221] 在某些实施方案中,所述抗体包含含有VH CDR1序列、VH CDR2序列和VH CDR3序列的组合的重链,其中所述组合中的每个CDR序列包含与表16中的单个行所示的三个重链CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)的组合中的对应CDR序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的序列。

[0222] 在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体(例如,双特异性的可活化抗体)的至少一个臂包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中至少一个CDR序列选自:包含RASQSISSYLN (SEQ ID NO: 209)的VL CDR1序列;包含AASSLQS (SEQ ID NO: 215)的VL CDR2序列;包含DNGYPST (SEQ ID NO: 228)的VL CDR3序列;包含SYAMS (SEQ ID NO: 212)的VH CDR1序列;包含SSIWRNGIVTVYADS (SEQ ID NO: 246)的VH CDR2序列;和包含WSAAFDY (SEQ ID NO: 235)的VH CDR3序列。

[0223] 在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体(例如,双特异性的可活化抗体)的至少一个臂包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述VH CDR2序列包含SSIWRNGIVTVYADS (SEQ ID NO: 246)。在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体(例如,双特异性的可活化抗体)的至少一个臂包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述VH CDR3序列包含WSAAFDY (SEQ ID NO: 235)。在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体(例如,双特异性的可活化抗体)的至少一个臂包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述VH CDR2序列包含SSIWRNGIVTVYADS (SEQ ID NO: 246),且所述VH CDR3序列包含WSAAFDY (SEQ ID NO: 235)。

[0224] 在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体(例如,双特异性的可活化抗体)的至少一个臂包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合包括:包含RASQSISSYLN (SEQ ID NO: 209)的VL CDR1序列;包含AASSLQS (SEQ ID NO: 215)的VL CDR2序列;包含DNGYPST (SEQ ID NO: 228)的VL CDR3序列;包含SYAMS (SEQ ID NO: 212)的VH CDR1序列;包含SSIWRNGIVTVYADS (SEQ ID NO: 246)的VH CDR2序列;和包含WSAAFDY (SEQ ID NO: 235)的VH CDR3序列。

[0225] 在某些实施方案中,本文描述的抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体用作单独活性剂。在某些实施方案中,本文描述的抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体与一种或多种另外的试剂或另外试剂的组合结合使用。合适的另外试剂包括用于预期用途(例如,癌症)的当前的药物和/或外科手术疗法。例如,所述抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体可以与另外的化疗或抗肿瘤剂结合使用。

[0226] 在某些实施方案中,所述另外试剂是化学治疗剂,诸如选自多西他赛、紫杉醇、abraxane (即,白蛋白-缀合的紫杉醇)、多柔比星、奥沙利铂、卡铂、顺铂、伊立替康和吉西他滨的化学治疗剂。

[0227] 在某些实施方案中,所述另外试剂是检验点抑制剂、激酶抑制剂、在肿瘤微环境中靶向抑制剂的试剂和/或T细胞或NK激动剂。在某些实施方案中,所述另外试剂是单独的或与另一种另外试剂(诸如化疗或抗肿瘤剂)组合的辐射疗法。在某些实施方案中,所述另外试剂是疫苗、肿瘤病毒和/或DC-活化剂,例如,作为非限制性例子,toll-样受体(TLR)激动剂和/或 α -CD40。在某些实施方案中,所述另外试剂是靶向肿瘤的抗体,其被设计成通过ADCC或通过直接缀合至毒素(例如,抗体药物缀合物(ADC))而杀死肿瘤。

[0228] 在某些实施方案中,所述检验点抑制剂是选自以下的靶标的抑制剂:CTLA-4、LAG-

3、PD1（也被称作PD-1）、PDL1、TIGIT、TIM-3、B7H4和Vista。在某些实施方案中，所述激酶抑制剂选自B-RaFi、MEKi和Btk抑制剂，诸如依鲁替尼。在某些实施方案中，所述激酶抑制剂是克唑替尼。在某些实施方案中，所述肿瘤微环境抑制剂选自IDO抑制剂、 α -CSF1R抑制剂、 α -CCR4抑制剂、TGF- β 、骨髓衍生的抑制细胞或T-调节细胞。在某些实施方案中，所述激动剂选自Ox40、GITR、CD137、ICOS、CD27和HVEM。

[0229] 在某些实施方案中，所述抑制剂是CTLA-4抑制剂。在某些实施方案中，所述抑制剂是LAG-3抑制剂。在某些实施方案中，所述抑制剂是PD1抑制剂。在某些实施方案中，所述抑制剂是PDL1抑制剂。在某些实施方案中，所述抑制剂是TIGIT抑制剂。在某些实施方案中，所述抑制剂是TIM-3抑制剂。在某些实施方案中，所述抑制剂是B7H4抑制剂。在某些实施方案中，所述抑制剂是Vista抑制剂。在某些实施方案中，所述抑制剂是B-RaFi抑制剂。在某些实施方案中，所述B-RaFi抑制剂是威罗菲尼。在某些实施方案中，所述抑制剂是MEKi抑制剂。在某些实施方案中，所述抑制剂是Btk抑制剂。在某些实施方案中，所述抑制剂是依鲁替尼。在某些实施方案中，所述抑制剂是克唑替尼。在某些实施方案中，所述抑制剂是IDO抑制剂。在某些实施方案中，所述抑制剂是 α -CSF1R抑制剂。在某些实施方案中，所述抑制剂是 α -CCR4抑制剂。在某些实施方案中，所述抑制剂是TGF- β 。在某些实施方案中，所述抑制剂是骨髓衍生的抑制细胞。在某些实施方案中，所述抑制剂是T-调节细胞。

[0230] 在某些实施方案中，所述激动剂是Ox40。在某些实施方案中，所述激动剂是GITR。在某些实施方案中，所述激动剂是CD137。在某些实施方案中，所述激动剂是ICOS。在某些实施方案中，所述激动剂是CD27。在某些实施方案中，所述激动剂是HVEM。

[0231] 在某些实施方案中，在与一种或多种另外的试剂（例如，化学治疗剂、抗炎剂和/或免疫抑制剂）联合治疗之前和/或过程中和/或之后施用所述抗-PDL1抗体、缀合的抗体、可活化抗体和/或缀合的可活化抗体。在某些实施方案中，将所述抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体和所述另外试剂配制在单一治疗组合物中，并将所述抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体和另外试剂同时施用。可替换地，所述抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体和另外试剂彼此分离，例如，各自配制在单独治疗组合物中，并将所述抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体和所述另外试剂同时施用，或者在治疗过程过程中在不同时间施用所述抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体和所述另外试剂。例如，在施用所述另外试剂之前施用所述抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体，在施用所述另外试剂之后施用所述抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体，或以交替方式施用所述抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体和所述另外试剂。如本文中所述的，在单剂量中或在多剂量中施用所述抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体和另外试剂。

[0232] 在某些实施方案中，同时施用所述抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体和所述另外试剂。例如，可以将所述抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体

和所述另外试剂配制在单独组合物中或作为两种或更多种单独组合物施用。在某些实施方案中,依次施用所述抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体和所述另外试剂,或在治疗方案过程中在不同时间施用所述抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体和所述另外试剂。

[0233] 在某些实施方案中,在与一种或多种另外的试剂联合治疗之前和/或过程中和/或之后施用所述抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体,所述另外的试剂是例如,作为非限制性例子,化学治疗剂、抗炎剂和/或免疫抑制剂,诸如烷化剂、抗代谢物、抗微管剂、拓扑异构酶抑制剂、细胞毒性的抗生素和/或任意其它核酸损伤剂。在某些实施方案中,所述另外试剂是紫杉烷,诸如紫杉醇(例如, Abraxane®)。在某些实施方案中,所述另外的试剂是抗代谢物,诸如吉西他滨。在某些实施方案中,所述另外的试剂是烷化剂,诸如基于铂的化学疗法,诸如卡铂或顺铂。在某些实施方案中,所述另外试剂是靶向剂,诸如激酶抑制剂,例如,索拉非尼或厄洛替尼。在某些实施方案中,所述另外试剂是靶向剂,诸如另一种抗体,例如,单克隆抗体(例如,贝伐珠单抗)、双特异性抗体或多特异性抗体。在某些实施方案中,所述另外试剂是蛋白体抑制剂,诸如硼替佐米或卡非佐米。在某些实施方案中,所述另外的试剂是免疫调节剂,诸如来那度胺(lenalidomide)或IL-2。在某些实施方案中,所述另外试剂是辐射。在某些实施方案中,所述另外的试剂是被本领域技术人员视作护理标准的试剂。在某些实施方案中,所述另外试剂是本领域技术人员众所周知的化学治疗剂。

[0234] 在某些实施方案中,所述另外试剂是另一种抗体或其抗原结合片段、另一种缀合的抗体或其抗原结合片段、另一种可活化抗体或其抗原结合片段和/或另一种缀合的可活化抗体或其抗原结合片段。在某些实施方案中,所述另外试剂是另一种抗体或其抗原结合片段、另一种缀合的抗体或其抗原结合片段、另一种可活化抗体或其抗原结合片段和/或另一种缀合的可活化抗体或其抗原结合片段,它们针对与所述第一种抗体或其抗原结合片段、第一种缀合的抗体或其抗原结合片段、可活化抗体或其抗原结合片段和/或缀合的可活化抗体或其抗原结合片段相同的靶标,例如,针对PDL1。在某些实施方案中,所述另外试剂是另一种抗体或其抗原结合片段、另一种缀合的抗体或其抗原结合片段、另一种可活化抗体或其抗原结合片段和/或另一种缀合的可活化抗体或其抗原结合片段,它们针对与所述第一种抗体或其抗原结合片段、第一种缀合的抗体或其抗原结合片段、可活化抗体或其抗原结合片段和/或缀合的可活化抗体或其抗原结合片段的靶标不同的靶标(即,除了PDL1以外的靶标)。在某些实施方案中,所述另外试剂是嵌合抗原受体-修饰的T细胞、-修饰的NK细胞或其它-修饰的免疫效应细胞,或是另一种经工程改造的受体-修饰的免疫效应细胞。在某些实施方案中,所述另外试剂是前-嵌合抗原受体-修饰的T细胞、-修饰的NK细胞或其它-修饰的免疫效应细胞,或是另一种前-工程改造的受体-修饰的免疫效应细胞。

[0235] 作为一个非限制性例子,所述抗体或抗原结合片段和/或可活化抗体的AB是在表22中列出的任何靶标的结合配偶体。在某些实施方案中,该另外试剂是伊匹木单抗、伊匹木单抗的CTLA4-结合片段和/或伊匹木单抗可活化抗体。

[0236] 表22: 示例性靶标

[0237]

I-92-LFA-3	CD52	DL44	HVEM	LIF-R	STEAP1
α -4 整联蛋白	CD56	DLK1	透明质酸酶	Lewis X	STEAP2
α -V 整联蛋白	CD64	DLL4	ICOS	LIGHT	TAG-72
α 4 β 1 整联蛋白	CD70	DPP-4	IFN α	LRP4	TAPA1
α 4 β 7 整联蛋白	CD71	DSG1	IFN β	LRRC26	TGF β
AGR2	CD74	EGFR	IFN γ	MCSP	TIGIT
抗-Lewis-Y		EGFRviii	IgE	间皮素	TIM-3
Apelin J 受体	CD80	内皮缩血管肽 B 受体(ETBR)	IgE 受体(Fc ϵ R1)	MRP4	TLR2
APRIL	CD81	ENPP3	IGF	MUC1	TLR4
B7-H4	CD86	EpCAM	IGF1R	粘蛋白-16 (MUC16, CA-125)	TLR6
BAFF	CD95	EPHA2	IL1B	Na/K ATP 酶	TLR7
BTLA	CD117	EPHB2	IL1R	嗜中性粒细胞弹性蛋白酶	TLR8
C5 补体	CD125	ERBB3	IL2	NGF	TLR9
C-242	CD132 (IL-2RG)	RSV 的 F 蛋白	IL11	Nicestrin	TMEM31
CA9	CD133	FAP	IL12	Notch 受体	TNF α
CA19-9 (Lewis a)	CD137	FGF-2	IL12p40	Notch 1	TNFR
碳酸酐酶 9	CD138	FGF8	IL-12R, IL-12R β 1	Notch 2	TNFRS12A
CD2	CD166	FGFR1	IL13	Notch 3	TRAIL-R1
CD3	CD172A	FGFR2	IL13R	Notch 4	TRAIL-R2
CD6	CD248	FGFR3	IL15	NOV	转铁蛋白
CD9	CDH6	FGFR4	IL17	OSM-R	转铁蛋白受体
CD11a	CEACAM5 (CEA)	叶酸盐受体	IL18	OX-40	TRK-A
CD19	CEACAM6 (NCA-90)	GAL3ST1	IL21	PAR2	TRK-B
CD20	封闭蛋白-3	G-CSF	IL23	PDGF-AA	uPAR
CD22	封闭蛋白-4	G-CSFR	IL23R	PDGF-BB	VAP1
CD24	cMet	GD2	IL27/IL27R (wsx1)	PDGFR α	VCAM-1
CD25	胶原	GITR	IL29	PDGFR β	VEGF
CD27	Cripto	GLUT1	IL-31R	PD-1	VEGF-A
CD28	CSFR	GLUT4	IL31/IL31R	PD-L1	VEGF-B
CD30	CSFR-1	GM-CSF	IL2R	PD-L2	VEGF-C
CD33	CTLA-4	GM-CSFR	IL4	磷脂酰-丝氨酸	VEGF-D
CD38	CTGF	GP IIb/IIIa 受体	IL4R	PIGF	VEGFR1
CD40	CXCL10	Gp130	IL6, IL6R	PSCA	VEGFR2
CD40L	CXCL13	GPIIb/IIIa	胰岛素受体	PSMA	VEGFR3
CD41	CXCR1	GPNMB	Jagged 配体	RAAG12	VISTA
CD44	CXCR2	GRP78	Jagged 1	RAGE	WISP-1
CD44v6		HER2/neu	Jagged 2	SLC44A4	WISP-2
CD47	CXCR4	HGF	LAG-3	鞘氨醇 1 磷酸盐	WISP-3
CD51	CYR61	hGH			

。

[0238] 作为一个非限制性例子,所述抗体或抗原结合片段和/或可活化抗体的AB是或源自表23中列出的抗体。

[0239] 表23: Ab的示例性来源

抗体商业名称(抗体名称)	靶标
Avastin [™] (贝伐珠单抗)	VEGF
Lucentis [™] (雷珠单抗)	VEGF

爱必妥™ (西妥昔单抗)	EGFR
Vectibix™ (帕木单抗)	EGFR
类克™ (英夫利昔单抗)	TNFα
Humira™ (阿达木单抗)	TNFα
Tysabri™ (那他珠单抗)	整联蛋白α4
舒莱™ (巴利昔单抗)	IL2R
Soliris™ (依库珠单抗)	补体C5
Raptiva™ (依法珠单抗)	CD11a
Bexxar™ (托西莫单抗)	CD20
泽娃灵™ (替伊莫单抗)	CD20
Rituxan™ (利妥昔单抗)	CD20
(奥瑞珠单抗)	CD20
Arzerra™ (奥法木单抗)	CD20
Gazyva™ (阿托珠单抗)	CD20
赛尼哌™ (达克珠单抗)	CD25
Adcetris™ (布妥昔单抗 vedotin)	CD30
Myelotarg™ (吉妥珠单抗)	CD33
麦罗塔™ (吉妥珠单抗奥加米星)	CD33
阿仑单抗 (campath)™ (阿仑珠单抗)	CD52
ReoPro™ (阿昔单抗)	糖蛋白受体IIb/IIIa
Xolair™ (奥马珠单抗)	IgE
赫赛汀™ (曲妥珠单抗)	Her2
Kadcyla™ (曲妥珠单抗emtansine)	Her2
Synagis™ (帕利珠单抗)	RSV的F蛋白
(伊匹木单抗)	CTLA-4
(曲美木单抗)	CTLA-4
Hu5c8	CD40L
(培妥珠单抗)	Her2-neu
(厄马索单抗)	CD3/Her2-neu
Orencia™ (阿巴他塞)	CTLA-4
(他尼珠单抗)	NGF
(巴维昔单抗)	磷脂酰丝氨酸
(扎芦木单抗)	EGFR
(马帕木单抗)	EGFR
(马妥珠单抗)	EGFR
(尼妥珠单抗)	EGFR
ICR62	EGFR
mAb 528	EGFR
CH806	EGFR

MDX-447	EGFR/CD64
(依屈洛单抗)	EpCAM
RAV12	RAAG12
huJ591	PSMA
Enbrel [™] (依那西普)	TNF-R
Amevive [™] (阿来西普)	1-92-LFA-3
Antril [™] , Kineret [™] (ankinra)	IL-1Ra
GC1008	TGFβ
	Notch, 例如, Notch 1
	Jagged 1或Jagged 2
(阿德木单抗)	EpCAM
(芬妥木单抗)	IGF1R
(托珠单抗)	IL-6受体
Stelara [™] (乌司奴单抗)	IL-12/IL-23
Prolia [™] (地诺单抗)	RANKL

[0240] 在某些实施方案中,所述另外的抗体或其抗原结合片段、缀合的抗体或其抗原结合片段、可活化抗体或其抗原结合片段和/或缀合的可活化抗体或其抗原结合片段是单克隆抗体、结构域抗体、单链、Fab片段、F(ab')₂片段、scFv、scAb、dAb、单结构域重链抗体或单结构域轻链抗体。在某些实施方案中,所述另外的抗体或其抗原结合片段、缀合的抗体或其抗原结合片段、可活化抗体或其抗原结合片段和/或缀合的可活化抗体或其抗原结合片段是小鼠、其它啮齿动物、嵌合的、人源化的或全人的单克隆抗体。

[0241] 本发明也提供了生产抗-PDL1抗体和/或可活化的抗-PDL1抗体多肽的方法,所述方法通过在导致所述多肽的表达的条件下培养细胞,其中所述细胞包含分离的编码本文描述的抗体和/或可活化抗体的核酸分子,和/或包括这些分离的核酸序列的载体。本发明提供了生产抗体和/或可活化抗体的方法,所述方法通过在导致所述抗体和/或可活化抗体的表达的条件下培养细胞,其中所述细胞包含分离的编码本文描述的抗体和/或可活化抗体的核酸分子和/或包括这些分离的核酸序列的载体。

[0242] 本发明还提供了如下制备在活化状态结合PDL1的可活化抗体的方法:(a)在导致所述可活化抗体的表达的条件下培养细胞,所述细胞包含编码所述可活化抗体的核酸构建体,其中所述可活化抗体包含掩蔽部分(MM)、可切割部分(CM)和特异性地结合PDL1的抗体或其抗原结合片段(AB),(i)其中所述CM是作为蛋白酶的底物起作用的多肽;和(ii)其中所述CM位于所述可活化抗体中,以致于当所述可活化抗体处于未切割状态时,所述MM干扰所述AB与PDL1的特异性结合,且在被切割状态,所述MM不会干扰或竞争所述AB与PDL1的特异性结合;和(b)回收所述可活化抗体。合适的AB、MM和/或CM包括本文中公开的AB、MM和/或CM中的任一种。

[0243] 在某些实施方案中,处于未切割状态的可活化抗体具有如下从N-端至C-端的结构排列:MM-CM-AB或AB-CM-MM。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含在所述MM和所述CM之间的连接肽。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含在所述CM和所述AB之间的连接肽。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含第一连接肽(LP1)和第二连接肽(LP2),且其中处于

未切割状态的可活化抗体具有如下从N-端至C-端的结构排列:MM-LP1-CM-LP2-AB或AB-LP2-CM-LP1-MM。在某些实施方案中,处于未切割状态的可活化抗体具有如下从N-端至C-端的结构排列:间隔物-MM-LP1-CM-LP2-AB或AB-LP2-CM-LP1-MM-间隔物。在某些实施方案中,所述两个连接肽不需要彼此相同。

[0244] 在某些实施方案中,LP1或LP2中的至少一个包含选自以下的氨基酸序列:(GS)_n、(GGS)_n、(GSGGS)_n (SEQ ID NO: 191)和(GGGGS)_n (SEQ ID NO: 192),其中n是至少1的整数。

[0245] 在某些实施方案中,LP1或LP2中的至少一个包含选自以下的氨基酸序列:GGSG (SEQ ID NO: 193)、GGSGG (SEQ ID NO: 194)、GSGSG (SEQ ID NO: 195)、GSGGG (SEQ ID NO: 196)、GGGSG (SEQ ID NO: 197)和GSSSG (SEQ ID NO: 198)。

[0246] 在某些实施方案中,LP1包含氨基酸序列GSSGSGSGSGSG (SEQ ID NO: 199)、GSSGSGSGSGG (SEQ ID NO: 200)、GSSGSGSGSGGS (SEQ ID NO: 201)、GSSGSGSGSGSGGS (SEQ ID NO: 202)、GSSGSGSGSG (SEQ ID NO: 203)或GSSGSGSGSGS (SEQ ID NO: 204)。

[0247] 在某些实施方案中,LP2包含氨基酸序列GSS、GGS、GGGS (SEQ ID NO: 205)、GSSGT (SEQ ID NO: 206)或GSSG (SEQ ID NO: 207)。

[0248] 本发明提供了预防、治疗或以其它方式改善受试者中PDL1介导的疾病、延迟所述疾病的进展、减轻所述疾病的症状的方法,所述方法包括给有此需要的受试者施用治疗有效量的本文描述的抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体。

[0249] 本发明还提供了预防、治疗或以其它方式改善受试者中的癌症、延迟所述癌症的进展、减轻所述癌症的症状的方法,所述方法包括给有此需要的受试者施用治疗有效量的本文描述的抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体。已知PDL1在多种癌症中表达,例如,作为非限制性例子,黑素瘤、非小细胞肺癌、鼻咽癌、胶质母细胞瘤/混合的神经胶质瘤、结肠腺癌、肝细胞癌、泌尿道上皮癌、多发性骨髓瘤、卵巢癌、胃癌、食管癌、胰腺癌、肾细胞癌(RCC)、乳腺癌、淋巴瘤和白血病(参见例如,Chen等人,“Molecular Pathways: Next-Generation Immunotherapy - Inhibiting Programmed Death-Ligand 1 and Programmed Death-1,”Clin. Can. Res., 第18卷: 6580-6587 (2012),其内容特此通过引用以其整体并入)。

[0250] 在某些实施方案中,所述癌症是膀胱癌、骨癌、乳腺癌、类癌、宫颈癌、结肠癌、子宫内膜癌、神经胶质瘤、头颈癌、肝癌、肺癌、淋巴瘤、黑素瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、肾癌、肉瘤、皮肤癌、胃癌、睾丸癌、甲状腺癌、泌尿生殖器癌和/或泌尿道上皮癌。

[0251] 在某些实施方案中,所述癌症选自黑素瘤(MEL)、肾细胞癌(RCC)、鳞状非小细胞肺癌(NSCLC)、非鳞状NSCLC、结直肠癌(CRC)、阉割抗性的前列腺癌(CRPC)、肝细胞癌(HCC)、头和颈的鳞状细胞癌、食管癌、卵巢癌、胃肠道癌和乳腺癌或血液学恶性肿瘤诸如多发性骨髓瘤、B-细胞淋巴瘤、T-细胞淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤/原发性纵隔B细胞淋巴瘤和慢性髓性白血病。在某些实施方案中,所述癌症是由于表达PDL1的肿瘤。

[0252] 本发明还提供了治疗具有自身免疫或炎症疾病的癌症患者的方法,所述方法包括给有此需要的受试者施用治疗有效量的本文描述的抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体。在某些实施方案中,所述自身免疫病是结肠炎、RA、胰腺炎、糖尿病或肺炎。

[0253] 在这些方法和用途的任意实施方案中使用的抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体可以在任何疾病阶段施用。例如，可以将这样的抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体施用给遭受任何阶段(从早期至转移)的癌症的患者。术语受试者和患者在本文中可互换地使用。

[0254] 在某些实施方案中，所述受试者是哺乳动物，诸如人、非人灵长类动物、伴侣动物(例如，猫、狗、马)、耕作动物、工作动物或动物园动物。在某些实施方案中，所述受试者是人。在某些实施方案中，所述受试者是伴侣动物。在某些实施方案中，所述受试者是在兽医护理中的动物。

[0255] 将所述抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体及其治疗制剂施用给遭受或易感与异常PDL1表达和/或活性有关的疾病或病症的受试者。使用本领域已知的多种方法中的任一种，鉴别遭受或易感与异常PDL1表达和/或活性有关的疾病或病症的受试者。例如，使用多种临床和/或实验室测试(例如，体格检查和血液，尿和/或粪便分析)中的任一种，鉴别遭受癌症或其它肿瘤病症的受试者，以评价健康状况。例如，使用多种临床和/或实验室测试(诸如体格检查和/或体液分析，例如，血液，尿和/或粪便分析)中的任一种，鉴别遭受炎症和/或炎症性病症的受试者，以评价健康状况。

[0256] 如果实现了多种实验室或临床目的中的任一种，认为抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体向遭受与异常PDL1表达和/或活性有关的疾病或病症的患者的施用是成功的。例如，如果一种或多种与疾病或病症有关的症状被减轻、减少、抑制或没有进展至进一步(即，更差的)状态，认为抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体向遭受与异常PDL1表达和/或活性有关的疾病或病症的患者的施用是成功的。如果疾病或病症进入减轻或没有进展至进一步(即，更差的)状态，认为抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体向遭受与异常PDL1表达和/或活性有关的疾病或病症的患者的施用是成功的。

[0257] 在某些实施方案中，在与一种或多种另外的试剂(例如，化学治疗剂、抗炎剂和/或免疫抑制剂)联合治疗之前和/或过程中和/或之后，施用所述抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体。在某些实施方案中，同时施用所述抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体和所述另外试剂。例如，可以将所述抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体和所述另外试剂配制在单独组合物中或作为两种或更多种单独组合物施用。在某些实施方案中，依次施用所述抗-PDL1抗体、缀合的抗-PDL1抗体、可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体和所述另外试剂。

[0258] 本发明还提供了用于在多种诊断和/或预防适应症中使用可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体的方法和试剂盒。例如，本发明提供了用于如下检测切割剂和目标靶标在受试者或样品中的存在或不存在的方法和试剂盒：(i)使受试者或样品与抗-PDL1可活化抗体接触，其中所述抗-PDL1可活化抗体包含掩蔽部分(MM)、由切割剂切

割的可切割部分 (CM) 和特异性地结合目标靶标的抗原结合结构域或其片段 (AB), 其中处于未切割的非活化状态的抗-PDL1可活化抗体包含如下从N-端至C-端的结构排列:MM-CM-AB 或AB-CM-MM; (a) 其中所述MM是抑制所述AB与PDL1的结合的肽, 且其中所述MM不具有所述AB的天然存在的结合配偶体的氨基酸序列, 且不是所述AB的天然结合配偶体的修饰形式; 和 (b) 其中, 当所述AB处于未切割的非活化状态时, 所述MM干扰所述AB与PDL1的特异性结合, 和当所述AB处于切割的活化状态时, 所述MM不会干扰或竞争所述AB与PDL1的特异性结合; 和 (ii) 测量所述受试者或样品中活化的抗-PDL1可活化抗体的水平, 其中所述受试者或样品中的活化的抗-PDL1可活化抗体的可检测水平指示, 所述切割剂和PDL1存在于所述受试者或样品中, 且其中所述受试者或样品中的活化的抗-PDL1可活化抗体的不可检测水平指示, 所述切割剂、PDL1或所述切割剂和PDL1二者不存在于所述受试者或样品中。

[0259] 在某些实施方案中, 所述可活化的抗-PDL1抗体是治疗剂所缀合的可活化的抗-PDL1抗体。在某些实施方案中, 所述可活化的抗-PDL1抗体没有缀合至试剂。在某些实施方案中, 所述可活化的抗-PDL1抗体包含可检测标记。在某些实施方案中, 所述可检测标记位于所述AB上。在某些实施方案中, 使用特异性地结合活化的抗体的第二试剂, 测量所述受试者或样品中可活化的抗-PDL1抗体的水平, 其中所述试剂包含可检测标记。在某些实施方案中, 所述第二试剂是包含可检测标记的抗体。

[0260] 在这些方法和试剂盒的某些实施方案中, 所述可活化的抗-PDL1抗体包括可检测标记。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中, 所述可检测标记包括成像剂、造影剂、酶、荧光标记、生色团、染料、一种或多种金属离子或基于配体的标记。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中, 所述成像剂包含放射性同位素。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中, 所述放射性同位素是铟或钨。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中, 所述造影剂包含碘、钆或氧化铁。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中, 所述酶包含辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶或 β -半乳糖苷酶。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中, 所述荧光标记包含黄色荧光蛋白 (YFP)、青色荧光蛋白 (CFP)、绿色荧光蛋白 (GFP)、经修饰的红色荧光蛋白 (mRFP)、红色荧光蛋白 t 二聚体 2 (RFP t 二聚体 2)、HCRED 或钬衍生物。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中, 所述发光标记包含 N-甲基 acrydium 衍生物。在这些方法的某些实施方案中, 所述标记包含 Alexa Fluor[®] 标记, 诸如 Alex Fluor[®] 680 或 Alexa Fluor[®] 750。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中, 所述基于配体的标记包含生物素、抗生物素蛋白、抗生蛋白链菌素或一种或多种半抗原。

[0261] 在这些方法和试剂盒的某些实施方案中, 所述受试者是哺乳动物。在这些方法的某些实施方案中, 所述受试者是人。在某些实施方案中, 所述受试者是非人哺乳动物, 诸如非人灵长类动物、伴侣动物 (例如, 猫、狗、马)、耕作动物、工作动物或动物园动物。在某些实施方案中, 所述受试者是啮齿动物。

[0262] 在这些方法和试剂盒的某些实施方案中, 所述方法是体内方法。在这些方法的某些实施方案中, 所述方法是原位方法。在这些方法的某些实施方案中, 所述方法是离体方法。在这些方法的某些实施方案中, 所述方法是体外方法。

[0263] 在所述方法和试剂盒的某些实施方案中, 使用所述方法来鉴别或以其它方式细化适合用本发明的抗-PDL1可活化抗体治疗的患者群体, 随后通过给有此需要的受试者施用该可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体进行治疗。例如, 就靶标 (例如,

PDL1) 和蛋白酶而言测试为阳性的患者被鉴别为用包含这样的CM的这类抗-PDL1可活化抗体治疗的合适候选人,所述蛋白酶切割在这些方法中测试的抗-PDL1可活化抗体的可切割部分(CM)中的底物,并然后给所述患者施用治疗有效量的测试的可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合的可活化的抗-PDL1抗体。同样地,就靶标(例如,PDL1)和蛋白酶中的任一种或两种而言测试为阴性的患者可能被鉴别为另一种治疗形式的合适候选人,所述蛋白酶切割使用这些方法测试的可活化抗体的CM中的底物。在某些实施方案中,这样的患者可以用其它抗-PDL1可活化抗体进行测试,直到鉴别出对于治疗而言合适的抗-PDL1可活化抗体(例如,包含在疾病部位处被患者切割的CM的抗-PDL1可活化抗体)。在某些实施方案中,然后给所述患者施用治疗有效量的所述患者测试为阳性的可活化的抗-PDL1抗体和/或缀合物。合适的AB、MM和/或CM包括本文中公开的AB、MM和/或CM中的任一种。

[0264] 根据本发明的药物组合物可以包括本发明的抗体和载体。这些药物组合物可以被包括在试剂盒(例如,诊断试剂盒)中。

[0265] 附图简述

[0266] 图1的图通过基于ELISA的结合描绘了PDL1 c60 ScFv-噬菌体特异性地结合人和小鼠PDL1。

[0267] 图2的图描绘了hPDL1以ELISA形式抑制克隆12、18和60与hPDL1的结合,且此外mPDL1抑制克隆60与mPDL1的结合。

[0268] 图3的图描绘了饱和结合数据并证实,抗-PDL1克隆60:IgG以约1 nM的结合亲和力结合人PDL1,且以30 nM结合小鼠PDL1。

[0269] 图4A和4B的一系列图描绘了H2特异性和交叉反应性(图4A)和H3W特异性和交叉反应性(图4B)。

[0270] 图5A和5B的一系列图描绘了将成熟的重链可变CDR3结构域与重链可变CDR2结构域组合会产生具有增强的对人PDL1的亲和力的抗体。

[0271] 图6A、6B、6C和6D的一系列图描绘了抗-PDL1抗体C5H9以几乎相等的亲和力结合人和小鼠PDL1,且抗-PDL1抗体C5B10和C5E10仅结合人PDL1。

[0272] 图7的图描绘了抗-PDL1抗体C5H9以高和相等的亲和力结合人、小鼠和食蟹猴PDL1的能力。

[0273] 图8A和8B的一系列图描绘了抗-PDL1抗体C5H9v2具有更低的免疫原性潜力和增强的可制造性。这些图证实了降低的预测的免疫原性、增加的表达水平(3X)和人IgG1形式的增加的单体百分比。

[0274] 图9A、9B和9C的一系列图描绘了抗-PDL1抗体C5H9v2以高亲和力结合(A)小鼠、(B)食蟹猴和(C)人PDL1的能力。图9A-9C表明抗-PDL1抗体C5H9和C5H9v2都以几乎相等的亲和力结合人、小鼠和食蟹猴PDL1。

[0275] 图10的图描绘了C5H9v2对一组人和小鼠蛋白的特异性。图10证实,抗-PDL1抗体C5H9v2仅结合人和小鼠PDL1,从而证实了对PDL1的特异性。

[0276] 图11的一系列图描绘了B7-1和PD1阻断。图11证实,抗-PDL1抗体C5H9和抗-PDL1抗体C5H9v2都是B7-1或PD1与PDL1的结合的有效封闭剂,并且阻断包括具有单数位nM EC_{50} 的所有三个物种人、食蟹猴和小鼠。

[0277] 图12的图描绘了抗-PDL1抗体C5H9与阳性对照抗-PDL1抗体10F9G2类似地加速NOD

小鼠中的糖尿病发作。

[0278] 图13的图描绘了抗-PDL1抗体C5H9v2以剂量依赖性的方式加速NOD小鼠中的糖尿病发作。

[0279] 图14的图描绘了抗-PDL1抗体C5H9v2与阳性对照抗-PDL1抗体10F9G2类似地抑制MC38同基因肿瘤的生长。

[0280] 图15的图描绘了包括抗-PDL1抗体C5H9v2的抗-PDL1可活化抗体的结合等温线。

[0281] 图16的图描绘了包括抗-PDL1抗体C5H9v2的抗-PDL1可活化抗体的结合等温线。

[0282] 图17的图描绘了包括抗-PDL1抗体C5H9v2的抗-PDL1可活化抗体的结合等温线。

[0283] 图18A和18B的一系列图描绘了,当以1 mg/kg的剂量施用,抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2具有糖尿病诱导的缺失,且当以1 mg/kg的剂量施用,抗-PDL1可活化抗体PL18-0003-C5H9v2与以1 mg/kg的剂量施用的抗-PDL1抗体C5H9v2相比在NOD小鼠中具有糖尿病诱导的延迟(图18A);另外,当以3 mg/kg的剂量施用,抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2在8只NOD小鼠中的2只中诱导糖尿病(75%非糖尿病),与此相比,1 mg/kg抗-PDL1抗体C5H9v2导致38%非糖尿病的NOD小鼠(图18B)。

[0284] 图19的图描绘了抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2和PL18-0003-C5H9v2与抗-PDL1抗体C5H9v2类似地抑制MC38同基因肿瘤的生长。

[0285] 图20A、20B、20C和20D的一系列图描绘了与来自外周血(图20A, 20B)或脾(图20C, 20D)的CD4⁺和CD8⁺ T细胞结合的抗-PDL1抗体C5H9v2和抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2的存在。在所有图中,圆圈代表同种型,正方形代表抗-PDL1抗体C5H9v2,且三角形代表抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2。

[0286] 图21A和21B的一系列图描绘了能够切割抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2(由正方形表示)的肿瘤衍生的蛋白酶的存在不会导致与抗-PDL1抗体C5H9v2(由圆圈表示)或同种型抗体(由三角形表示)相比血液中高水平的活化的可活化抗体(图21A),尽管所述可活化抗体的血浆浓度高于所述抗体的血浆浓度(图21B)。

[0287] 图22的图描绘了抗-PDL1可活化抗体PL07-2001-C5H9v2与对照hIgG4相比增加CMV-刺激的IFN- γ 分泌的能力,但是与抗-PDL1母体抗体C5H9v2相比具有降低的效能。

[0288] 图23A、23B、23C和23D是使用原位成像方法表明抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2被活化和结合冷冻的MC38小鼠癌组织的能力的一系列图像。

[0289] 图24描绘了抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2表现出比抗-PDL1抗体更高的关于PDL1结合和PD1阻断的EC₅₀,如通过ELISA所测量的。该图进一步证实,matriptase对抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2的活化将PDL1结合和PD1阻断活性完全恢复至与抗-PDL1抗体C5H9v2的活性相当的水平。

[0290] 图25A和25B的一系列图描绘了抗-PDL1可活化抗体(在本文中被称作PL07-2001-C5H9v2和PF07-3001-C5H9v2)和抗-PDL1抗体(在本文中被称作C5H9)的结合人或鼠PDL1的能力。

[0291] 图26A、26B和26C的一系列图描绘了抗-PDL1可活化抗体PL07-2001-C5H9v2、uPA-活化的抗-PDL1可活化抗体PL07-2001-C5H9v2、MMP14-活化的抗-PDL1可活化抗体PL07-2001-C5H9v2和抗-PDL1抗体C5H9v2的阻断人PD1(PD-1)与人PDL1的结合(图26A)、食蟹猴PD1(PD-1)与食蟹猴PDL1的结合(图26B)或大鼠PD1(PD-1)与大鼠PDL1的结合(图26C)的

能力。

[0292] 图27A和27B的一系列图描绘了抗-PDL1可活化抗体PL07-2001-C5H9v2、uPA-活化的抗-PDL1可活化抗体PL07-2001-C5H9v2、MMP14-活化的抗-PDL1可活化抗体PL07-2001-C5H9v2或抗-PDL1抗体C5H9v2的阻断人B7-1与人PDL1的结合(图27A)或食蟹猴B7-1与食蟹猴PDL1的结合(图27B)的能力。

[0293] 图28的图描绘了类似于阳性对照抗-PDL1抗体C5H9v2,抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2、PL15-2001-C5H9v2和PL15-3001-C5H9v2的抑制MC38同基因肿瘤的生长的能力。

[0294] 图29A、29B和29C的一系列图描绘了能够切割可活化抗体抗-PDL1抗体C5H9v2或抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2、PL15-2001-C5H9v2或PL15-3001-C5H9v2的肿瘤衍生的蛋白酶的存在没有导致血液中高水平的活化的可活化抗体。

[0295] 图30的图描绘了植入小鼠内的肿瘤中的蛋白酶的活化抗-PDL1可活化抗体PL07-2001-C5H9v2的能力。

具体实施方式

[0296] 本发明提供了特异性地结合人程序性死亡配体1 (PDL1) 的单克隆抗体 (mAb) 和可活化单克隆抗体。PDL1是一种与它的受体程序性细胞死亡蛋白1 (PD1) (也被称作CD279) 形成复合物的40kDa I型跨膜蛋白。PDL1与在T细胞上的其受体PD1的结合会递送抑制TCR介导的IL-2产生和T细胞增殖的活化的信号。PDL1的异常表达和/或活性以及PDL1相关的信号传递已经涉入许多疾病和病症(诸如癌症、炎症和自身免疫)的发病机制。

[0297] 所述可活化的抗-PDL1抗体用在治疗、预防与异常PDL1表达和/或活性有关的疾病或病症、延迟所述疾病或病症的进展、改善和/或减轻所述疾病或病症的症状的方法中。例如,所述可活化的抗-PDL1抗体用在治疗、预防癌症或其它肿瘤病症、延迟癌症或其它肿瘤病症的进展、改善和/或减轻癌症或其它肿瘤病症的症状的方法中。

[0298] 所述可活化的抗-PDL1抗体包括特异性地结合与掩蔽部分(MM) 偶联的PDL1的抗体或其抗原结合片段,以致于所述MM的偶联会减小所述抗体或其抗原结合片段的结合PDL1的能力。在某些实施方案中,所述MM经由一序列偶联,所述序列包括蛋白酶(例如,与PDL1一起共定位在受试者的治疗部位处的蛋白酶)的底物。

[0299] 本发明的示例性的可活化的抗-PDL1抗体包括,例如,包括重链和轻链的可活化抗体,所述重链和轻链是或源自在实施例中(例如在实施例3和实施例4中)描述的抗体。

[0300] 在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括重链和轻链,所述重链包含或源自选自SEQ ID NO: 14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54和56的氨基酸序列,所述轻链包含或源自SEQ ID NO: 12或SEQ ID NO: 58的氨基酸序列。

[0301] 在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包含可变重链互补性决定区1 (VH CDR1,在本文中也称作CDRH1) 序列、可变重链互补性决定区2 (VH CDR2,在本文中也称作CDRH2) 序列、可变重链互补性决定区3 (VH CDR3,在本文中也称作CDRH3) 序列、可变轻链互补性决定区1 (VL CDR1,在本文中也称作CDRL1) 序列、可变轻链互补性决定区2 (VL CDR2,在本文中也称作CDRL2) 序列和可变轻链互补性决定区3 (VL CDR3,在本文中也被

称作CDRL3)序列的组合,其中至少一个CDR序列选自:在表15中所示的VH CDR1序列;在表15中所示的VH CDR2序列;在表15中所示的VH CDR3序列;在表15中所示的VL CDR1序列;在表15中所示的VL CDR2序列;和在表15中所示的VL CDR3序列。

[0302] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包含VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合,其中所述组合是表15中的单个行所示的六个CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3)的组合。

[0303] 在某些实施方案中,所述抗体包含含有VH CDR1序列、VH CDR2序列和VH CDR3序列的组合的重链,其中所述组合是表15中的单个行所示的三个重链CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)的组合。

[0304] 在某些实施方案中,所述抗体包含含有VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列的组合的轻链,其中所述组合是表15中的单个行所示的三个轻链CDR序列(VL CDR1、VL CDR2、VL CDR3)的组合。

[0305] 在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括重链,所述重链包含或源自在表15中所示的重链氨基酸序列。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括轻链,所述轻链包含或源自在表15中所示的轻链氨基酸序列。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括重链和轻链,所述重链包含或源自在表15中所示的重链氨基酸序列,所述轻链包含或源自在表15中所示的轻链氨基酸序列。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括来自表15中的集合A中所示的组合的重链可变区和轻链可变区序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括表15中的集合B所示的重链可变区和轻链可变区序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括表15中的集合C所示的重链可变区和轻链可变区序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括表15中的集合D所示的重链可变区和轻链可变区序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括表15中的集合E所示的重链可变区和轻链可变区序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括表15中的集合F所示的重链可变区和轻链可变区序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括表15中的集合G所示的重链可变区和轻链可变区序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括表15中的集合H所示的重链可变区和轻链可变区序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括表15中的集合I所示的重链可变区和轻链可变区序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括表15中的集合J所示的重链和轻链序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括表15中的集合K所示的重链可变区和轻链可变区序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括表15中的集合K所示的重链和轻链序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括表15中的集合L所示的重链可变区和轻链可变区序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括表15中的集合M所示的重链可变区和轻链可变区序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括表15中的集合N所示的重链可变区和轻链可变区序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括表15中的集合O所示的重链可变区和轻链可变区序列的组合。

[0306] 表15. 结合PDL1的可活化抗体的可变重链区(VH)和可变轻链区(VL)序列(CDR序列标有下划线;根据Kabat, Sequences of Proteins of Immunological Interest

(National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987和1991))的定义,鉴别本文中公开的CDR序列)。

[0307]

集合A	
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYGF ^{SWVRQAPGQGLEWMGWITAYNGNTNYAQKLQGRVTM} TTDTSTSTVYME ^{LRSLRSDDTAVYYCARDYFYGMDVWGQGT} TVTVSS (SEQ ID NO: 248)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV ^{SGDTFTSTYAI} SWVRQAPGQGLEWMGGIIP ^{IFGKAHYAQKFQGRVTI} TAD ^{ESTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCARKEF} HVSGSPFGMDVWGQGT ^{TVTVSS} (SEQ ID NO: 249)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDVH ^{WVRQAPGQRLEWMGWLHADTGITKFSQKFQGRVTI} TRD ^{TSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARERIQLWFDYWGQGT} (SEQ ID NO: 250)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV ^{SGGIFSTYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIP} IFGTANHAQKFQGRVTI TAD ^{ESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDQGI} AAALFDYWGQGT ^{LTVTVSS} (SEQ ID NO: 251)
VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAVSGFTFDDYV ^{VHWVRQAPGKGLEWVSGNSGNIGYADSVKGRFTISR} NAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAVP ^{FDYWGQGT} LTVTVSS (SEQ ID NO: 252)

[0308]

VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKTS ~~SGDTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGRAHYAQKFQGRVTI~~ TAD ~~ESTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCARKEHFVSGSPFGMDVWGQGT~~ TVTVSS (SEQ ID NO: 253)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKTS ~~SGDTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGRAHYAQKFQGRVTI~~ TAD ~~ESTTTAYMELSSLRSEDTAVYYCARKYDYVSGSPFGMDVWGQGT~~ TVTVSS (SEQ ID NO: 254)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS ~~GGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGSANYAQKFQDRVTI~~ TAD ~~ESTSAAVMELSSLRSEDTAVYYCARDSSGWSRYMDVWGQGT~~ TVTVSS (SEQ ID NO: 255)
VH	QVQLVQSGAEVKEPGSSVKVSCKAS ~~GGTFNSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPLFGLAHYAQKFQGRVTI~~ TAD ~~ESTNTAYMDLSSLRSEDTAVYYCARKYSYVSGSPFGMDVWGQGT~~ TVTVSS (SEQ ID NO: 256)
VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLS ~~CAASGITFDDYGMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNRGRIEYADSVKGRFTI~~ SRD ~~NAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKGRFRYFDWFLDYWGQGT~~ LVTVSS (SEQ ID NO: 257)
VH	QMQLVQSGGGLVQPGGSLRLS ~~CAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTI~~ SRD ~~NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDYFWSGFSAFDIWGKGT~~ LVTVS (SEQ ID NO: 449)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC ~~RASQSVSSYLWVYQQKPGQAPRLLIYDASN~~ RATGIPARFSGSGSGTD FTLTIS ~~SLEPEDFAVYYCQQRSNWPTFGQGT~~ KVEIK (SEQ ID NO: 258)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC ~~RASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN~~ RATGIPARFSGSGSGTD FTLTIS ~~SLEPEDFAVYYCQQRSNWPTFGQGT~~ KVEIK (SEQ ID NO: 259)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGD ~~RVTTICRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFS~~ SGSGSGTD FTLTIS ~~SLQPEDFATYYCQQNSYPYTFGQGT~~ KLEIK (SEQ ID NO: 260)
VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC ~~RASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRF~~ SGSGSGT DFTLTIS ~~RLEPEDFAVYYCQQYGSSPWTFGQGT~~ KVEIK (SEQ ID NO: 261)
VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC ~~RASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRF~~ SGSGSGT DFTLTIS ~~RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFGGGT~~ KVEIK (SEQ ID NO: 262)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC ~~RASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN~~ RATGIPARFSGSGSGTD FTLTIS ~~SLEPEDFAVYYCQQRSNWPTFGQGT~~ RLEIK (SEQ ID NO: 263)
VL	AIQLTQSPSSLSASVGD ~~RVTTICRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLES~~ GVPSRFSGSGSGTD FTLTIS ~~SLQPEDFATYYCQQFNSYPFTFGPGTKVDIK~~ (SEQ ID NO: 264)
	DIVMTQSPSTLSASVGD ~~RVTTICRASQGISSWLAWYQQKPGRAPKVLIYKASTLES~~ GVPSRFSGSGSGTD FTLTIS ~~SLQPEDFATYYCQQSYSTPWTFGQGT~~ KLEIK (SEQ ID NO: 450)
集合B	
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS ~~CAASGFTFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTI~~ SRD ~~NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGWFGELAFDYWGQGT~~ LVTVSS (SEQ ID NO: 265)
VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC ~~RASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASSRATGIPDRF~~ SGSGSGT DFTLTIS ~~RLEPEDFAVYYCQQYGSLPWTFGQGT~~ KVEIK (SEQ ID NO: 266)
集合C	
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS ~~CAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTI~~ SAD ~~TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGT~~ LVTVSA (SEQ ID NO: 267)
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS ~~CAASGFTFSGSWIHWVRQAPGKGLEWVAWILPYGGSSYYADSVKGRFTI~~ SAD ~~TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGT~~ LVTVSA (SEQ ID NO: 451)

[0309]

VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSSLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 268)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSSLQPEDFATYYCQQYYNVPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 452)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSSLQPEDFATYYCQQYYAPPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 453)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSSLQPEDFATYYCQQYYTVPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 454)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQVINTFLAWYQQKPGKAPKLLIYSASTLASGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSSLQPEDFATYYCQQYYTVPRTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 455)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSSLQPEDFATYYCQQGYGVPRTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 456)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSSLQPEDFATYYCQQYLFTPTTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 457)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSSLQPEDFATYYCQQYFITPTTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 458)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSSLQPEDFATYYCQQYYTPTTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 459)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSSLQPEDFATYYCQQFFYTPTTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 460)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSSLQPEDFATYYCQQSLFTPTTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 461)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSSLQPEDFATYYCQQSLYTPPTTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 462)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSSLQPEDFATYYCQQSWYHPPTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 463)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSSLQPEDFATYYCQQYFYIPPTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 464)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSSLQPEDFATYYCQQYWYTPPTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 465)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSSLQPEDFATYYCQQSYFIPPTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 466)
集合D	
VH	METGLRWLLLVAVLKGVCLSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTASGFTITNYHMFVWRQAPGKGLEWIGVIT SSGIGSSSTTYATWAKGRFTISKSTTVNLRTSPPTTEDTATYFCARDYFTNTYYALDIWGPGLTVTS S (SEQ ID NO: 467)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKCTSGDTFSTYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPFGKAHYAQKFQGRVTI TAEDESTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCARKFHFVSGSPFGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 249)

[0310]

VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDVHWVRQAPGQRLEWMGWLHADTGITKFSQKFQGRVTI TRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARERIQLWFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 468)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKVSGGIFSTYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPFGTANHAQKFQGRVTI TADDESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDQGIAAALFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 251)
VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAVSGFTFDDYVHVWVRQAPGKGLEWVSGISGNSGNIGYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAVPFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 469)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKTSGDTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPFGRAHYAQKFQGRVTI TADDESTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCARKFHFVSGSPFGMDVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 253)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKTSGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPFGKAHYAQKFQGRVTI TADESTTTAYMELSSLRSEDTAVYYCARKYDYVSGSPFGMDVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 254)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPFGSANYAQKFQDRVTI TADESTSAAYMELSSLRSEDTAVYYCARDSSGWSRYMDVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 255)
VH	QVQLVQSGAEVKEPGSSVKVSCKASGGTFNSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPFGIAHYAQKFQGRVTI TADESTNTAYMDLSSLRSEDTAVYYCARKYSYVSGSPFGMDVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 256)
VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGITFDDYGMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNRGRIEYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKGRFRYFDWFLDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 257)
VL	MDTRAPTQLLGLLLWLPGARCALVMTQTPTSSTSTAVGGTVTIKQASQSIISVYLAWYQQKPGQPPKLLI YSASTLASGVPSRFKGSRSRGTEYTLTISGVQREDAATYYCLGSAGS (SEQ ID NO: 470)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLWVYQQKPGQAPRLLIYDASNRTGIPARFSGSGSGTD FTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 258)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRTGIPARFSGSGSGTD FTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 259)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 260)
VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 261)
VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 262)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRTGIPARFSGSGSGTD FTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPRTFGQGTREIK (SEQ ID NO: 263)
VL	AIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPFTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO: 264)
集合E	
VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSSIYPSSGITFYADTVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIKLGTVTITVDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 471)
VL	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMYDVSNRPSGVSNRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTRVFGTGKTVL (SEQ ID NO: 472)

[0311]

集合F	
VH	EVKLQESGPSLVKPSQTLSTCSVTGYSITS ~~SDYWNWIRKFP~~ GNKLEYVGYISYTGSTYYNPSLKS ~~RISIT~~ RDTSKNQYYLQ ~~LNSVTSEDTATYYCARYGGWLS~~ PF ~~FDYWGQGTTLTVSS~~ (SEQ ID NO: 473)
VH	EVQLQESGPGLVAPSQSLSTCTVSG ~~FSLTYSINWIRQPPGKLEWL~~ GVMWAGGGTNSNSVLKS ~~RLIIS~~ KDNSKQVFLKMNSLQ ~~DDTARYYCARYYGN~~ SPYYAIDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 474)
VH	EVKLQESGPSLVKPSQTLSTCSVTGYSIIS ~~SDYWNWIRKFP~~ GNKLEYLGYISYTGSTYYNPSLKS ~~RISIT~~ RDTSKNQYYLQ ~~LNSVTTEDTATYYCARRGGWLL~~ PF ~~FDYWGQGTTLTVSS~~ (SEQ ID NO: 475)
VH	EVKLQESGPSLVKPGASVKLSCKASGYTFTSYDINWVKQRPQG ~~LEWIGWIFPRDNNTKY~~ NENFKGKATL TVDTSS ~~TTAYMELHSLTSEDSAVYFCTKENWVG~~ DFDYWGQGTTLTLSS (SEQ ID NO: 476)
VH	EVQLQQSGPDLVTPGASVRISCQASGYTFPDY ~~YMNWVKQSHGKSLEWIGDIDP~~ NYGGTTYNQKF ~~GK~~ KAIL TVDRSS ~~STAYMELRSLTSEDSAVYYCARGAL~~ TDWGQGTSLTVSS (SEQ ID NO: 477)
VH	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC ~~RASSSVSYIYWFQKPGQSPRPLI~~ YAAFN ~~RATGIPARFSGSGSGTDY~~ TLTISSLEPEDFAVYYCQQWSNNPLTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 478)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFPDY ~~YMNWVRQAPQG~~ LEWMDIDP ~~NYGGTNYAQKFQGRVTM~~ TRDTSISTAYMELSR ~~LRSDTAVYYCARGAL~~ TDWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 479)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFPDY ~~YMNWVRQAPQG~~ LEWMDIDP ~~NYGGTNYNQKFQGRVTM~~ TRDTSISTAYMELSR ~~LRSDTAVYYCARGAL~~ TDWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 480)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFPDY ~~YMNWVRQAPQG~~ LEWMDIDP ~~NYGGTNYNQKFQGRVTM~~ TVDRSS <del>STAYMELSR~~LRSDTAVYYCARGAL~~TDWGQGTMTVTVSS</del> (SEQ ID NO: 481)
VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGYTFPDY ~~YMNWVRQAPGKLEWVG~~ DIDP ~~NYGGTTYAASVKGRFTI~~ SVDRSKSIAYLQMS ~~SLKTEDTAVYYCTR~~ GALTDWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 482)
VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGYTFPDY ~~YMNWVRQAPGKLEWVG~~ DIDP ~~NYGGTTYNASVKGRFTI~~ SVDRSKSIAYLQMS ~~SLKTEDTAVYYCARGAL~~ TDWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 483)
VL	DIVMTQSHKLMSTSVGDRVSITCKASQDVGTAVAWYQKPGQSPKLLIYWAST ~~RHTGVPDRFTGSGSGTD~~ FTLTISNVQSEDLADYFCQ ~~QDSSYPLTFGAGTKVELK~~ (SEQ ID NO: 484)
VL	DIVTTQSHKLMSTSVGDRVSITCKASQDVGTAVAWYQKPGQSPKLLIYWAST ~~RHTGVPDRFTGSGSGTD~~ FTLTISNVQSEDLADYFCQ ~~QDSSYPLTFGAGTKVELK~~ (SEQ ID NO: 485)
VL	DIVMTQSPSSLA ~~VS~~ VGK ~~VSMGCKSSQSL~~ LYSSNQKNSLAWYQKPGQSPKLLIDWAST ~~RESGVPDRFTG~~ SGSGTDFTLTIS ~~SVKAEDLAVYYCQ~~ QYYGYPLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO: 486)
VL	DIVMTQSPAIMSASPGEKVTMTCS ~~ASSSIRYMHWYQKPGTSP~~ KRWISDTSKLTSGV ~~PARFSGSGSGTSY~~ ALTISSMEAEDAATYYCHQ ~~RSSYPWTFGGG~~ TKLEIK (SEQ ID NO: 487)
VL	QIVLSQSPAILSASPGEKVTMT ~~CRASSSVSYIYWFQKPGSSPKPWI~~ YATFN ~~LASGVPARFSGSGSGTSY~~ SLTISR ~~VETEDAATYYCQQWSNNPLTFGAGTKLELK~~ (SEQ ID NO: 488)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC ~~RASSSVSYIYWFQKPGQAPRLLI~~ YAAFN ~~RATGIPARFSGSGSGTDY~~ TLTISSLEPEDFAVYYCQQWSNNPLTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 489)
VL	QIVLTQSPATLSLSPGERATLSC ~~RASSSVSYIYWFQKPGQSPRPLI~~ YATFN ~~LASGIPARFSGSGSGTSY~~ TLTISRLEPEDFAVYYCQQWSNNPLTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 490)
VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSGVSYIYWFQKPGKAPKLLIYAAFN ~~LASGVPSRFSGSGSGTEY~~ TLTISSLQPEDFATYYCQQWSNNPLTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 491)

VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASSGVSYIYWFQKPKGKAPKPLIYAAFNLASGVPSRFSGSGSGTEY TLTISSLQPEDFATYYCQQWSNNPLTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 492)
VL	DIQLTQSPSILSASVGDRTITCRASSSVSYIYWFQKPKGKAPKPLIYATFNLASGVPSRFSGSGSGTSY TLTISSLQPEDFATYYCQQWSNNPLTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 493)

集合G

VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTM TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARALPSGTILVGGWFDPPWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 494)
VH	EVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTFSSYALSWVRQAPGKGLEWVSAISGGGGSTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDVFPETFSMNYGMDVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 495)
VH	QVQLVQSGGGVVPGGSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSLISGDDGGSTYYADSVKGRFTI SRDNSKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVLPCSSSTSCYGSVGAFDIWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 496)
VH	QVQLVQSGGSVVRPGESLRLSCVASGFIFDNYDMSWVRQVPGKGLEWVSRVNWNGGSTTYADAVKGRFTI SRDNTKNSLYLQMNNLRAEDTAVYYCVREFVGAYDLWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 497)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGATVKVSCVFGDTFRGLYIHWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTI TTDESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASGLRWGIWGWFDPPWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 498)
VH	EVQLVQSGAELKKPGSSVKVSCAFGGTFSDNAISWVRQAPGQGPWMGGIIPIFGKPNYAQKFQGRVTI TADDESTSTAYMVLSSLRSEDTAVYYCARTMVRGFLGVMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 499)
VH	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDQFVTIFGVPRYGMVMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 500)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSYAIWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGRMFGAGIDFWGPGTLTVTVSS (SEQ ID NO: 501)
VH	EVQLVESGAEVKKPGSSVKVSCVSGGTFTGYALNWVRQAPGQGLEWMGRIVPLIGLVNYAHNFEGRISI TADKSTGTAYMELSNLRSDDTAVYYCAREVYGGNSDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 502)
VH	QVQLVQSGGEVKKPGASVKVSCASGYTLSSHGITWVRQAPGQGLEWMGWISAHNGHASNAQKVEDRVTM TTDTSTNTAYMELRSLTADDTAVYYCARVHAALYYGMDVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 503)
VH	QVQLQESGGGVVPGRSLRLSCSASGFTFSRHGMHWVRQAPGKGLEWVAVISHDGSVKYYADSMKGRFSI SRDNSNNTLYLQMDSLRADDTAVYYCARGLSYQVSGWFDPPWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 504)
VH	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSSGSIASNYVQWYQQRPGSSPTTVIYEDNQRPSPGVDRFSGSIDTS SNSASLTISGLKTKDEADYYCQSYDGITVIFGGGKTLTVL (SEQ ID NO: 505)
VH	NFMLTQPHSVSGSPGKTVTLPCRSSGSIASHYVQWYQQRPGSAPTPTTVIYEDNKRPSGVDRFSGSIDSS SNSASLSISGLKTEADYYCQSYDSSNRWVFGGGKTLTVL (SEQ ID NO: 506)
VH	LPVLTQPASLSASPGASASLTCTLRSGLVGSYRIYWYQKPGSRPQYLLNYKSDSNKQASGVPSRFSG SKDASANAGILLISGLQSEADYYCMIWYSSAVVFGGGKTLTVL (SEQ ID NO: 507)
VL	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSSGNIASNYVQWYQQRPGSAPTPTTVIYEDNQRPSPGVDRFSGSIDSS SNSASLTISGLKTEADYYCQSYDSSNLWVFGGGKTLTVL (SEQ ID NO: 508)

[0312]

[0313]

VL	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLSRYYASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTA SLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNHYVFGTGKVTVL (SEQ ID NO: 509)
VL	LPVLTQAPSVSVAPGKTARITCGGSDIGRKSVMHWYQQKPGQAPALVIYSDRDRPSGISERFSGSNSGNTA TLTISRVEAGDEADYYCQVWDNNSDHYVFGAGTELIVL (SEQ ID NO: 510)
VL	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMYDVSNRPSGVSNRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSTLPFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 511)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSIGNSLAWYQQKPGQAPRLMYGASSRATGIPDRFSGSGAGTD FTLTISSLEPEDFATYYCQQHTIPTFSFGPGTKVEVK (SEQ ID NO: 512)
VL	DIVMTQTPSFSLASIGDRVITITCRASQIGSYLAWYQQRPGEAPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISNLQPEDFATYYCQQLNNYPITFGQGTREIK (SEQ ID NO: 513)
VL	QSALTQPPSVSVSPGQTANIPCSGDKLGNYAYWYQQKPGQSPVLLIYQDIKRPSRIPERFSGSNSADTA TLTISGTQAMDEADYYCQTDNSVVFSGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 514)
VL	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSSGSIDSNYVQWYQQRPGSAPT ~~TTVIYEDNQRPSGVPDRFSGSIDSS~~ SNSASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSNNRHVIFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 515)
VL	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSSGNIGTNYVQWYQQRPGSAPVALIYEDYRRPSGVPDRFSGSIDSS SNSASLIISGLKPEDEADYYCQSYHSSGWEFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 516)
VL	QSVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKGVHWYQQKPGQAPVLVYDSDRPSGIPERFSGSNSGNTA TLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHWVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 517)
VL	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSSGSIASNYVQWYQQRPGSAPT ~~TTVIYEDNQRPSGVPDRFSGSIDSS~~ SNSASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSTTPSVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 518)
VL	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWTS ~~PHNGLTAFQAQILEGRVTM~~ TTDTSTNTAYMELRNLTFD ~~DTAVYFC~~ AKVHPVFSYALDVWGQGT ~~LVTVSS~~ (SEQ ID NO: 519)
VL	EVQLVESGAELVMNPGSSVRVSCRSGGDFSTYAFSWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIANYAQKFQGRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSDTAVYYCARDGYGSDPVLWGQGT ~~LVTVSS~~ (SEQ ID NO: 520)
VL	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTNYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKVQGRVTM TTDTSTSTGYMELRSLRSDTAVYYCARGDFRKPFDYWGQGT ~~LVTVSS~~ (SEQ ID NO: 521)
集合H	
VH	EVQLVQSGPELKKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWVKQAPGQRLEWIGYVNP ~~FNDG~~ TKYNEMFKGRATL TSDKSTSTAYMELSSLRSEDSAVYYCARQAWGY ~~PWGQGT~~ LVTVSS (SEQ ID NO: 522)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWVKQAPGQRLEWIGYVNP ~~FNDG~~ TKYNEMFKGRATL TSDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARQAWGY ~~PWGQGT~~ LVTVSS (SEQ ID NO: 523)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWVRQAPGQRLEWIGYVNP ~~FNDG~~ TKYNEMFKGRATL TSDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARQAWGY ~~PWGQGT~~ LVTVSS (SEQ ID NO: 524)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYVMHWVRQAPGQRLEWIGYVNP ~~FNDG~~ TKYNEMFKGRATL TSDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARQAWGY ~~PWGQGT~~ LVTVSS (SEQ ID NO: 525)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYVMHWVRQAPGQRLEWIGYVNP ~~FNDG~~ TKYNEMFKGRATI TSDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARQAWGY ~~PWGQGT~~ LVTVSS (SEQ ID NO: 526)
VL	DIVLTQSPASLALSPGERATLSCRATESVEYYGTSLVQWYQQKPGQPPKLLIYAASSVDSGVPSRFSGSG SGTDFTLTINSLEEEDAAMYFCQ ~~QSR~~ RPYTFGQGT ~~LEIK~~ (SEQ ID NO: 527)

VL	DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRATESVEYYGTSLVQWYQQKPGQPPKLLIYAASSVDSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAAMYFCQQSRRVPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 528)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRATESVEYYGTSLVQWYQQKPGQPPKLLIYAASSVDSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAAMYFCQQSRRVPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 529)
VL	DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRATESVEYYGTSLVQWYQQKPGQPPKLLIYAASSVDSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYFCQQSRRVPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 530)
集合I	
VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPFGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCAREGTIYDSSGYSFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 531)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPNPGGSTSYAQKFQGRVSMTRDTSTSTVYMELSSLTSEDNAVYYCARDLFPHIYGNYYGMDIWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 532)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPFGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCARLAVPGAFDIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 533)
VH	EVQLVESGGGVVQPGRSRLRLSCLASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRATEDNAVYYCARGQWLVELDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 534)
VH	EVQLVESGSEVEKPGSSVKVSKASGGTFSDSGISWVRQAPGQGLEWMGGIIPMFATPYAQKFQDRVTITADESTSTVYMELSLRSDDTAVFYCARDRGRGLPWYFDLWGRGLTVTVSS (SEQ ID NO: 535)
VH	EVQLVESGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCARAPYYYYYMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 536)
VH	EVQLLESAGAEVKKPGSSVKVSKASGGTSLRYALSWVRQAPGQGPFWGAIIPFGTPHYSKKFQDRVII TVDTSTNTAFMELSSLRFEDTALYFCARGHDEYDISGYHRLDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 537)
VH	QVQLVQSGSELKKPGSSVKVSKASGYSFSGYIHWVRQAPGQGLEWMGWIDPNSGVTNYVRRFQGRVTMTRDTSLSTAYMELSGLTADDNAVYYCARDENLWQFGYLDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 538)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSRYGVHWVRQAPGQGLEWMGRLLPIVSMNTNYAQKFQDRVSI TTDKSTGTAYMELRSLTSEDALYYCASVGQQLPWVFFAWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 539)
VH	QVQLVESGGGVVQPGRSRLRLSCLASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLVAVISYDGSNKYYADSVRGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRATEDNAVYYCARGWLDRDIDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 540)
VH	EVQLVESGGGVVQPGRSRLRLSCLASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLVAVISYDGSNKYYADSVRGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRATEDNAVYYCARGWLDRDIDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 541)
VH	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCLASGFTFSDYGMHWVRQPPGKGLVAVISYDGSYKIHADSVQGRFTISRDNKNSVFLQMNSLKTEDNAVYYCTTDRKWLAWHGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 542)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCARDGIVADFQHWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 543)
VH	EVQLVESGAEVKKPGASVKVSKASGDTFSRYGITWVRQAPGRGLEWMGNIVPFFGATNYAQKFQGRVTITADKSSYTSYMDLSSLRSDDTAVYYCARDHFYSGGGYFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 544)
VH	EVQLLESAGAEVKKPGASVKVSKASGYTFNSYDINWVRQAPGQGLEWMGGIIPVFGTANYAESFQGRVTMTADHSTSTAYMELNNLRSEDNAVYYCARDRWYHESRPMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 545)

[0314]

[0315]

VH	EVQLVESGGGLVPRPGGSLRLCAASGFSFSDDYMTWIRQAPGRGLEWIAIYISDSGQTVHYADSVKGRFTI SRDNTKNSLFLQVNTLRAEDTAVYYCAREDLGYYLQSWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 546)
VH	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKYNDYAVSVKSR ITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARDEPRAVAGSQAYYYYGMDVWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 547)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYMHVWRQAPGQGLEWMGIINPSDGSTSYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVHMESSLRSEDVAVYYCARDLFPPIYGNYYGMDIWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 548)
VH	QMQLVQSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISFDGSNKYYADSVRGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRTEDTAVYYCARGWLDRLDIDYWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 549)
VH	QVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISFDGSNKYYADSVRGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRTEDTAVYYCARGWLDRLDIDYWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 550)
VL	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGNNANIANNVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNRPSGIPDRFSGSKSGT SATLDITGLQTGDEADYYCGVWDGSLTTGVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 551)
VL	AIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISNYLAWYQQKPKVKKLLIYAASTLESQVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDLATYYCQQLHTFPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 552)
VL	QPVLTQPPSVASGSPGQSVTISCTGTSSDVGAYNFVSWYRQHPGKAPKLMIEVNRKPSGVPDRFSGSKSG NTASLTVSGLQAEDEADYYCASYAGTNSLGIPTGTGKLTVL (SEQ ID NO: 553)
VL	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSDIGNHYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNRPSGIPDRFSGSKSGT SATLAITGLQTGDEADYYCGTWDNSLSPHLLFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 554)
VL	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNMGNVSWYQQVPGTAPKLLIYENDKRPSGIPDRFSGSKSGT SATLGITGLQTGDEADYYCGTWDNSLSGFVFASGTKVTVL (SEQ ID NO: 555)
VL	QSALTQPPSVSGSLGQSVTISCTGTSSSDVGSYNLVSWYQQHPGKAPNLMIDVSKRSGVSNRFSGSKSGN TASLTISGLQAEDEADYYCASYTGISTVVFVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 556)
VL	QSVLTQPPSVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNLVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPSGVSNNRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDEADYYCASYGGFNNLLFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 557)
VL	DIVMTQSPSSLSASIGDRVTITCRASQRIAYVNWYQQKPKAPKVLIIYAASSLRSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQTYSPPWTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 558)
VL	QSVLTQPPSVASGSPGQSVTISCTGTSSDIGYDSVSWYQQHPGKAPKLMIDVSKRPSGVSNNRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDEADYYCASYTSSSIFVYFGTGTGKTVL (SEQ ID NO: 559)
VL	LPVLTQPPSVSGSPGQSITISCTGTSSDIGYDVSWYQQHPGKAPKLMIDVSKRPSGVSNNRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDEADYYCASYTSSSTHVFGTGTGKTVL (SEQ ID NO: 560)
VL	QSALTQPPSVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYVSWYQQHPGKAPKLMIDVSNRPSGVSNNRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDEADYYCASYRSSTLGPVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 561)
VL	QAGLTQPPSVSEAPRQRTISCSGSSSNIGNNAVNWYQQLPKGAPKLLIYDDLPSGVSDFRFSGSKSGT SASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTGKTVL (SEQ ID NO: 562)
VL	QSALTQPPSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYVSWYQQHPGKAPKLMIDVSKRPSGVPDRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDEADYYCASYTSSTHVFGTGTGKTVL (SEQ ID NO: 563)
VL	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNRPSGIPDRFSGSKSGT SATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLSVWVFGGGTQLTVL (SEQ ID NO: 564)

[0316]

VL	QSVLTQPPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGRAPRLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDEGDYICSSYTSGGTLGPVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 565)
VL	QAGLTQPPSASGTPGQRTVITSCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGT SASLAISGLQSEDEADYICAAWDDSLNGWVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 566)
VL	AIRMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIISNYLWYQQRPKGAPNLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQTYSTPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 567)
VL	QSVLTQPPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYRQHPGKAPKLLMIYDVSYRPSGVSNRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDEADYICSSYTDSSSTRYVFGTGTCLTVL (SEQ ID NO: 568)
VL	QPVLTQPPSASGTPGQRTVITSCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGT SATLGITGLQGTDEADYICGSDSSLSADVFGTGTCLTVL (SEQ ID NO: 569)
VL	QSVLTQPPSVSAAPGKVTITSCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGT SASLAISGLQSEDEADYICATWDDSLNGWVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 570)
VL	QSVVTQPPSVSGAPGQRTVITSCSGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNNRHSVPDRFSGSKSG TSASLAITGLQAEDEAEFFCGTWDSRLTTYVFGSGTKLTVL (SEQ ID NO: 571)
VL	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTITSCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGT SATLGITGLQGTDEADYICGTWDDSSLSAVVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 572)
VL	VIWMTQSPSSLSASVGDRTITCAASSLQSWYQQKPGKAPKLLIYEASTLESQVPSRFSGSGSGTEFTLT ISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 573)
VL	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTITSCSGSSSNIGNNYVSWYQQVPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSNSDT SATLGITGLQGTDEADYICGTWDDSSLSAVVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 574)
VL	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTITSCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGT SATLGITGLQGTDEADYICGTWDDSSLSAGSVVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 575)
VL	SYELMQPPSVSVAPGKTATIACGGENIGRKTVHWYQQKPGQAPVPLVIYYDSRPSGIPERFSGSNSGNTA TLTISRVEAGDEADYICLVWDSSSDHRIFFGGTKLTVL (SEQ ID NO: 576)
VL	SYELMQPPSVSVAPGKTATIACGGENIGRKTVHWYQQKPGQAPVPLVIYYDSRPSGIPERFSGSNSGNTA TLTISRVEAGDEADYICQVWDSSSDHRIFFGGTKLTVL (SEQ ID NO: 577)
VL	SYELMQPPSVSVAPGKTATIACGGENIGRKTVHWYQQKPGQAPVPLVIYYDSRPSGIPERFSGSNSGNTA TLTISRVEAGDEADYICQVWDSSSDHRIFFGGTKLTVL (SEQ ID NO: 578)
VL	SYELMQPPSVSVAPGKTATIACGGENIGRKTVHWYQQKPGQAPVPLVIYYDSRPSGIPERFSGSNSGNTA TLTISRVEAGDEADYICQVWDSSSDHRIFFGGTKLTVL (SEQ ID NO: 579)
集合J*	
HC	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFNYYMYWVRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTNFNEKFKNRVTL TTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFYWGQTTVTVSSASTKGPSVFPLA ^{PCSR} STSE STAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS ^{SSSL} GLTKTYTCNV ^{VD} HKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI ^{SRTPE} VT ^{CVVVD} VSQEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT ^{VL} HLQD ^{WL} NGKEYCKVSNKGLPSSIEK ^{ISKAKGQPREPQVY} T LPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK ^{TT} PPVLDSDGSFFLYSRLTV ^{DKSRWQEG} NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 580)

[0317]

HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKRYADSVKGRFTI SRDNSKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTITCNVDHKPSNTKVDKR VESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLK (SEQ ID NO: 581)
LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLA ~~SYLES~~ GVPARFSGSG SGTDFTLT ~~ISSLE~~ PEDFAVYYCQHSRDLP ~~FTFG~~ GGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC (SEQ ID NO: 582)
LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGI ~~PARFSGSGSGTD~~ FTLT ~~ISSLE~~ PEDFAVYYCQSSNWPR ~~FTFG~~ GGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT ~~KSFN~~ RGEC (SEQ ID NO: 583)
集合K	
VH	EVQLVESGGGLVQP ~~GGSLRLS~~ CAASGFTFS ~~DSWI~~ HWVRQAPGKGLEWVAVISPYGGSTYYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGLVTVSSASTK (SEQ ID NO: 735)
VH	EVQLVESGGGLVQP ~~GGSLRLS~~ CAASGFTFS ~~DSWI~~ HWVRQAPGKGLEWVAVISPYGGSTYYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 736)
HC	EVQLVESGGGLVQP ~~GGSLRLS~~ CAASGFTFS ~~DSWI~~ HWVRQAPGKGLEWVAVISPYGGSTYYADSVKGRFTI SADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGQT ~~YICNVN~~ HKPSNT KVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSV ~~MHEALHNHYTQKSLSLSPG~~ (SEQ ID NO: 737)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLT ~~ISSLQ~~ PEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 268)
LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTD FTLT ~~ISSLQ~~ PEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT ~~KSFN~~ RGEC (SEQ ID NO: 738)
集合L	
VH	EVQLVESGGGLVQP ~~GGSLRLS~~ CAASGFTFS ~~RFWMS~~ WVRQAPGKGLEWVANINQDGTEKYYVDSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAGDTAVYYCANTYYDFWSGHFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 739)
VH	QEHLVESGGGVVQPGRSLRLSCEASGFTFSNFGMHWVRQAPGKGLEWVAALWSDGSNKYYADSVKGRVTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGRGAPGIPIFGYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 740)

[0318]

VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKRKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRRDSDSKNTLHLQMNLSLKTEDTAVYYCTDDIVVVPVAVMREYYFGMDVWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 741)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVQVSKASGYSTGYIHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGTTKYAHKFPQGRVTMTRDTSIDTAYMILSSLISDDTAVYYCARDEDWNFGSWFDSWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 742)
VH	QVHLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTGYIHWVRQAPGHGLEWMGWINPNTGTTKYIQNFQGRVTMTRDTSSTAYMELTRLRSDDTAVYYCARDEDWNYGSWFDTWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 743)
VH	EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMTWVRQAPGRGLEWVSGIHWHGKRTGYADSVKGRFTISRDNAAKSLYLQMNLSLKGEDTALYHCVRGGMSTGDFDPWGQGTTLVIVSS (SEQ ID NO: 744)
VH	EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMTWVRQVPGKGLEWVSGIHWSGRSTGYADSVKGRFTISRDNAAKNSLYLQMNLSLRAEDTALYYCARGGMSTGDFDPWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 745)
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVGSNYMNWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSTYYADSVKGRFTISRLTSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCARGIRGLDVWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 746)
VH	EERLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGITVGTNYMNWVRQAPGKGLEWVSVISSGGNTHYADSVKGRFIMSRQTSKNTLYLQMNSLKETEDTAVYYCARGIRGLDVWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 747)
VH	QVQLVQSGAEVKMPGSSVRVSKASGGIFSSSTISWVRQAPGQGLEWMGEIIPVFGTVNYAQKFQDRVIFTADESTTTAYMELSSLKSGDTAVYFCARNWGLGSFYIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 748)
VH	EVQLVESGGDLVHPGRSLRLSCAASGFPFDEYAMHWVRQVPGKGLEWVSGISWSNNNIGYADSVKGRFTISRDNAAKNSLYLQMNSLRPEDTAVYYCAKSGIFDSWGQGTTLTVTVSS (SEQ ID NO: 749)
VH	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVTLISYEGRNKKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLRAEDTAVYYCAKDRTLYGMDVWGQGTTLTVTVSS (SEQ ID NO: 750)
VH	QVTLRESGPALVKTTQTTLTCTFSGFSLSTNRMCVTWIRQPPGKALEWLARIDWDGVKYNTSLKTRLTISKDTSKNQVVLTMNMDPVDATFYCARSTSLTFYFDYWGQGTTLTVTVSS (SEQ ID NO: 751)
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASEFTVGTNHNWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGNTFYADSVKGRFTISRHTSKNTLYLQMNSLTAEDTAVYYCARGLGGMVWGQGTTLTVTVSS (SEQ ID NO: 752)
VH	EVQLVESGGGLVQRGESLRLYCAASGFTFSKYWMWVRQAPGKGLEWVANIKDGSSEKYYVDSVKGRFTISRDNAAKNSLYLQMNLSLRAEDTAVYYCARDYWGSGYYFDFWGQGTTLTVTVSS (SEQ ID NO: 753)
VH	EVQLVESGGGLVQSGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKDGSSEKYYVDSVKGRFTISRDNAAKNSLYLQMNLSLRADDTAVYYCARDDIVVVPAPMGYYYYYFGMDVWGQGTTLTVTVSS (SEQ ID NO: 754)
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDFAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWTGGNMDYANSVKGRFTISRDAKNSLYLQMNLSLRAEDTALYYCVKDIRGIVATGGAFDIWGRGTMVTVSS (SEQ ID NO: 755)
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVGTNYMNWVRQAPGKGLEWISVIYSGGSTFYADSVKGRFTISRQTSQNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCARGIRGFDIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 756)
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISTNYMNWVRQAPGKGLEWVAVIYSSGSTYYIDSVKGRFTISRRLTSKNTVYLQMNLSLNSDPTAVYYCARGIRGFDIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 757)
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTIDDSAMHWVRQTPGKGLEWVSGISWKSGSIGYADSVRGRFTISRDNAAKNSLYLQMNLSLRVEDTALYYCVKDIRGNWNYGGNWFDPWGQGTTLTVTVSS (SEQ ID NO: 758)

[0319]

VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCEASGFTVGVNHNWVRQAPGKGLEWVSVIFSSGRTFYGDYVKGRLTIF RQTSQNTVYLQMNSLRSEDTAIYYCARGIGGLDIWGRGTMVTVSS (SEQ ID NO: 759)
VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYALHWVRQAPGKGLEWVSGISWTGGTIDYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMSSLRTEDTAIYYCTRDIRGNWKYGGWFDPWGQGTTLTVTVSS (SEQ ID NO: 760)
VH	QVQLVQSGTEVKKPGASVKVSKASGYTFTAYYMHVVRQAPGQGLDWMGWISPNSSGFTNYAQKFQGRVTM TRDTSINTFYMELSGLRSDDTAVYYCAREGSTHHNSFDPWGQGTTLTVTVSS (SEQ ID NO: 761)
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVGTNFMNHWVRQAPGKGLEWVSAIYSGGTANYADSVKGRFTIS RDTSRNTLYLQMNSLRTEDTAVYYCARGGGMDVWGQGTTLTVTVSS (SEQ ID NO: 762)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFNTYVLSWVRQAPGQGLEWMGEIIPILGAANYAQNFGQGRVTF TTDESTNTAYMDLSSLRSEDTAVYYCARDRTSGGFDPWGQGTTLTVTVSS (SEQ ID NO: 763)
VH	QVQLVQSGAEVEKPGASVKVSKASGYIFTHYGISWVRQAPGQGLEWVGWISPYNGYTDYAQKLQGRVTL TTDTSTTTAYMELRNLRSDDTAMYYCSRGRGPYWSFDLWGRGTLTVTVSS (SEQ ID NO: 764)
VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSIISNLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESQVPSRFSGSGSGTE FTLTISLQPEDFATYYCQQYHSYSYTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 765)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIKNDLWYQQKPGKAPKRLIYTASSLQSGVPSRFSGSGSGTE FTLTISLQPEDFATYYCLQHNSYPLTFGGGKVAIK (SEQ ID NO: 766)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIKNDLWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTE FTLTISLQPEDFATYYCLQHNNYPYTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 767)
VL	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQTLVHGDGNTYLSWIQQRPGQPPRLIYKVSNQFSGVPSRFSGS GAGTDFTLKISRVEAEDVGLYFCMQATHFPITFGQGTREIK (SEQ ID NO: 768)
VL	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSPSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRLIYKISNRFSGVPSRFSGS GAGTDFTLKISRVEAEDVGVYCMQATHFPITFGQGTREIR (SEQ ID NO: 769)
VL	DIQMTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQSIISNLWYQQKPGKAPKLLIYVASSLQSGVPSRFSGSGSGTE FTLTISNLQPEDFATYYCQQSYSTPPITFGQGTREIK (SEQ ID NO: 770)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIISNLWYQQKPGKAPKLLIYVASSLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPPITFGQGTREIK (SEQ ID NO: 771)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQITINIYNLWYQQKPGRAPRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCHQSYSTPPITFGQGTREIK (SEQ ID NO: 772)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSMSSYNLWYQQKPGRAPKLLIFAASSLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPPITFGQGTREIK (SEQ ID NO: 773)
VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSFNFYLAWYQQKPGQAPRLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGT DFTLTINRLEPEDFGVFYCCQYESAPWTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 774)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIISNLWYQQKPGKLLIYAASSLQSGVPSRFSGGSGTDFTL TISLQPEDFATYYCQQSYCTPPITFGQGTREIK (SEQ ID NO: 775)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIISNLWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPPITFGQGTREIK (SEQ ID NO: 776)
VL	DRVTITCRASQVISNYLAWYQQKPGKVPRLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATY YCQKYNAPRTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 777)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQINNNYNLWYQQKPGKAPKLLIYAASSFQNAVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSYNTPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 778)

VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGI ~~RND~~ LGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTE FTLTISSLQPEDFATYYCQHNSYPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 779)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQSYSTPPITFGQGT ~~R~~ LEIK (SEQ ID NO: 780)
集合M	
VH	QSLEESGGRLVKPDETLTITCTVSGIDLSSNGLTWVRQAPGEGLEWIGTINKDASAYYASWAKGRLTISK PSSTKVDLKITSPTTEDTATYFCGR ~~IA~~ FKTGT ~~SI~~ WGPGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1108)
VL	AI ~~V~~ MTQTSPSPVSAAVGGTVTINCQASESVYSNNYLSWFQQKPGQPPKLLIYLASTLASGVPSRFGSGSG TQFTLTISGVQCDDAATYYCIGGKSSSTDGNAFGGGTEVVVR (SEQ ID NO: 1109)
集合N	
VH	QMQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSY ~~AI~~ SWVRQAPGQGLEWMGGIIPFGTANYAQKFQGRVTI TAD ~~E~~ STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGNIVATITPLDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1110)
VH	QPVL ~~T~~ QPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIAN ~~NY~~ VS ~~WY~~ QQLPGTAPKLLIFANNKRPSGIPDRFSGSKSGT SAALDITGLQTGDEADYYCGTWDSLRAGVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 1111)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSY ~~AI~~ SWVRQAPGQGLEWMGGIIPFGTANYAQKFQGRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREGTIYDSSGYSFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1112)
VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISFDGSNKYYADSVRGRFTI SRD ~~NS~~ SKNTLYLQMNSLRTE ~~D~~ TAVYYCARGWLD ~~R~~ DIDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1113)
VH	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISFDGSNKYYADSVRGRFTI SRD ~~NS~~ SKNTLYLQMNSLRTE ~~D~~ TAVYYCARGWLD ~~R~~ DIDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1114)
VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISFDGSNKYYADSVRGRFTI SRD ~~NS~~ SKNTLYLQMNSLRTE ~~D~~ TAVYYCARGWLD ~~R~~ DIDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1115)
VH	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISFDGSNKYYADSVRGRFTI SRD ~~NS~~ SKNTLYLQMNSLRTE ~~D~~ TAVYYCARGWLD ~~R~~ DIDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1116)
VH	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISFDGSNKYYADSVRGRFTI SRD ~~NS~~ SKNTLYLQMNSLRTE ~~D~~ TAVYYCARGWLD ~~R~~ DIDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1117)
VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISFDGSNKYYADSVRGRFTI SRD ~~NS~~ SKNTLYLQMNSLRTE ~~D~~ TAVYYCARGWLD ~~R~~ DIDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1118)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSRYGVHWVRQAPGQGLEWMGRLIPIVSM ~~T~~ NYAQKFQDRVSI TTDKSTGTAYMELRSLTSEDTALYYCASVGQQLPWVFFAWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1119)
VH	QMQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISFDGSNKYYADSVRGRFTI SRD ~~NS~~ SKNTLYLQMNSLRTE ~~D~~ TAVYYCARGWLD ~~R~~ DIDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1120)
VH	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISFDGSNKYYADSVRGRFTI SRD ~~NS~~ SKNTLYLQMNSLRTE ~~D~~ TAVYYCARGWLD ~~R~~ DIDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1121)
VH	QMQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSY ~~AI~~ SWVRQAPGQGLEWMGGIIPFGTANYAQKFQGRVTI TAD ~~E~~ STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGPIVATITPLDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1122)
VH	QMQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSY ~~AI~~ SWVRQAPGQGLEWMGGIIPFGTANYAQKFQGRVTI TAD ~~E~~ STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGPIVATITPLDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1123)

[0320]

[0321]

VH	QMQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKASGGTFSSYAYSWVRQAPGGGLEWMGGIIPSFGTANYAQKFQGRVTI TADESTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCARGPIVATITPLDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 1124)
VH	QMQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGGGLEWMGGIIPAFGTANYAQKFQGRVTI TADESTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCARGPIVATITPLDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 1125)
VL	SYELMQPPSVSVAPGKTATIACGGENIGRKTVHWYQQKPGQAPVLIYYDSDRPSGIPERFSGSNSGNTA TLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHRIFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 1126)
VL	AIRMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYTTSSLKSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISRLOPEDFATYYCQSYSSSTWTFGRGRTKVEIK (SEQ ID NO: 1127)
VL	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGNNNIANNVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNRPSGIPDRFSGSKSGT SATLDITGLQGTGDEADYYCGVWDGSLTTGVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 1128)
VL	LPVLTQPPASVSGSPGQSITISCTGTSSDIGGYDYVSWYQQHPGKAPKLMYDVSKRPSGVSNRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDEADYYCSTSSSTHVFGTGKLTVL (SEQ ID NO: 1129)
VL	QSALTQPPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMYDVSNRPSGVSNRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDEADYYCSTSSSTLGPVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 1130)
VL	QAGLTQPPSVSEAPRQRTISCSGSSSNIGNNAVNWYQQLPKGKAPKLLIYYDDLPSGVSDRFSGSKSGT SASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGGTGKLTVL (SEQ ID NO: 1131)
VL	QSALTQPPSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMYDVSKRPSGVSDRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDEADYYCSTSSSTHVFGTGKLTVL (SEQ ID NO: 1132)
VL	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNRPSGIPDRFSGSKSGT SATLGITGLQGTGDEADYYCGTWDSSLSVWVFGGGTQTLTVL (SEQ ID NO: 1133)
VL	QSVLTQPPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGRAPRLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDEADYYCSTSSSTHVFGTGKLTVL (SEQ ID NO: 1134)
VL	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNRPSGIPDRFSGSKSGT SATLGITGLQGTGDEADYYCGTWDSSLSAVVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 1135)
VL	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNVSWYQQVPGTAPKLLIYDNNRPSGIPDRFSGSNSDT SATLGITGLQGTGDEADYYCGTWDSSLSAWVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 1136)
VL	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNRPSGIPDRFSGSKSGT SATLGITGLQGTGDEADYYCGTWDSSLSAGSVVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 1137)
VL	SYELMQPPSVSVAPGKTATIACGGENIGRKTVHWYQQKPGQAPVLIYYDSDRPSGIPERFSGSNSGNTA TLTISRVEAGDEADYYCLVWDSSSDHRIFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 1138)
VL	SYELMQPPSVSVAPGKTATIACGGENIGRKTVHWYQQKPGQAPVLIYYDSDRPSGIPERFSGSNSGNTA TLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHRIFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 1139)
VL	SYELMQPPSVSVAPGKTATIACGGENIGRKTVHWYQQKPGQAPVLIYYDSDRPSGIPERFSGSNSGNTA TLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHRIFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 1140)
VL	SYELMQPPSVSVAPGKTATIACGGENIGRKTVHWYQQKPGQAPVLIYYDSDRPSGIPERFSGSNSGNTA TLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHRIFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 1141)
集合O	
VH	QVQLVQSGSEVKKSGSSSVKVSCKTSGGTFSTNYAINWVRQAPGGGLEWMGGILPIFGAAKYAQKFQDRV TITADESTNTAYLELSSLTSEDAMYYCARGKRWLQSDLYWYGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 1142)
VL	QPVLTQPPASVSGSPGQSITISCTGSSSDVGSYDLVSWYQQSPGKVPKLLIYEGVKRPSGVSNRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDEADYYCSTSYAGTRNFVFGGGTQTLTVL (SEQ ID NO: 1143)

[0322] 应当指出,为集合J提供的序列是重链和轻链氨基酸序列;为集合K提供的序列包括可变重链、可变轻链、重链和轻链氨基酸序列;在表15中呈现的所有其它序列是可变重链

和可变轻链序列。

[0323] 在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括重链,所述重链包含或源自在以下文献中所示的重链氨基酸序列:美国专利号7,943,743、8,779,108、8,217,149、8,460,927、7,794,710、8,741,295和8,981,063;美国专利申请公开号2014356353、20130323249、2014341917、20130309250、20110280877、和20090317368 (现在授权为上面列出的美国专利号8,981,063);和PCT公开号W02014/100483、W02012/145493、W02014/100439、W02014/195852、W02014/100079、W02013/173223、和W02014/55897,它们中的每一篇的内容特此通过引用以其整体并入。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括轻链,所述轻链包含或源自在以下文献中所示的轻链氨基酸序列:美国专利号7,943,743、8,779,108、8,217,149、8,460,927、7,794,710、8,741,295和8,981,063;美国专利申请公开号2014356353、20130323249、2014341917、20130309250、20110280877、和20090317368 (现在授权为美国专利号8,981,063);和PCT公开号W02014/100483、W02012/145493、W02014/100439、W02014/195852、W02014/100079、W02013/173223、和W02014/55897,它们中的每一篇的内容特此通过引用以其整体并入。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括重链和轻链,所述重链和轻链包含或源自在以下文献中所示的重链氨基酸序列和轻链氨基酸序列:美国专利号7,943,743、8,779,108、8,217,149、8,460,927、7,794,710、8,741,295和8,981,063;美国专利申请公开号2014356353、20130323249、2014341917、20130309250、20110280877和20090317368 (现在授权为美国专利号8,981,063);和PCT公开号W02014/100483、W02012/145493、W02014/100439、W02014/195852、W02014/100079、W02013/173223和W02014/55897,它们中的每一篇的内容特此通过引用以其整体并入。

[0324] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包括包含至少一个CDR序列的抗-PDL1抗体,所述CDR序列选自来自在美国专利号7,943,743中列举的CDR序列的CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3, VL CDR1、VL CDR2、VL CDR3)。在某些实施方案中,所述可活化抗体包括包含至少一个CDR、至少两个、至少三个、至少四个、至少五个和/或六个CDR序列的抗-PDL1抗体,所述CDR序列选自美国专利号7,943,743中的下述序列:SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 41、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 61和SEQ ID NO: 71。在某些实施方案中,所述可活化抗体包括包含至少一个CDR、至少两个、至少三个、至少四个、至少五个和/或六个CDR序列的抗-PDL1抗体,所述CDR序列选自SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 42、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 62和SEQ ID NO: 72。在某些实施方案中,所述可活化抗体包括包含至少一个CDR、至少两个、至少三个、至少四个、至少五个和/或六个CDR序列的抗-PDL1抗体,所述CDR序列选自SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 33、SEQ ID NO: 43、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 63和SEQ ID NO: 73。

[0325] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包括包含至少一个CDR、至少两个、至少三个、至少四个、至少五个和/或六个CDR序列的抗-PDL1抗体,所述CDR序列选自美国专利号7,943,743中的下述序列:包含SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 22或SEQ ID NO: 23的VH CDR1序列;包含SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32或SEQ ID NO: 33的VH CDR2序列;包含SEQ ID NO: 41、SEQ ID NO: 42或SEQ ID NO: 43的VH CDR3序列;包含SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53的VL CDR1序列;包含SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 62或SEQ ID NO: 63的VL CDR2序列;和包含SEQ ID NO: 71、SEQ ID NO: 72或SEQ ID NO: 73的VL CDR3序列。

[0326] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包括结合多肽的抗-PDL1抗体,所述多肽包含或源自美国专利号8,460,927的SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 3。

[0327] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包括结合人PDL1多肽的抗-PDL1抗体,所述人PDL1多肽包含或源自美国专利号8,460,927的SEQ ID NO: 1:

```
MRI FAVFI FMTYWHLLNAFTVTVPKDLVVEYGSNMTIECKFPVEKQLDLAALIVYWEMEDKNIIQFVHGEEEDL
KVQHSSYRQRARLLKDQLSLGNAALQITDVKLQDAGVYRCMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRI LVVDPVT
[0328] SEHELTCQAEGYPKAEVIWTSSDHQVLSGKTTTTNSKREEKLFNVTSTLRINTTTNEIFYCTFRRLDPEENHTA
ELVIPELPLAHPPNERTHLVILGAILLCLGVALTFIFRLRKGRMDVKKCGIQDTNSKKQSDTHLEET (SEQ
ID NO: 585)
```

[0329] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包括结合鼠PDL1多肽的抗-PDL1抗体,所述鼠PDL1多肽包含或源自美国专利号8,460,927的SEQ ID NO: 3:

```
MRI FAGIIFTACCHLLRAFTITAPKDLVVEYGSNVTMECRFPVERELDLLALVYWEKEDEQVIQFVAGEEDL
KPQHSNFRGRASLPKDQLLKGNAAALQITDVKLQDAGVYCCII SYGGADYKRITLKVNA PYRKINQRI SVDPATS
[0330] EHELCQAEGYPEAEVIWTNSDHQPVSGKRSVTT SRTEGMLLNVTSSLRVNATANDVFYCTFWRSQPGQNHTAE
LIIPELPATHPPQNRTHWVLLGSILLFLIVVSTVLLFLRKQVRMLDVEKCGVEDTSSKNRNDTQFEET (SEQ
ID NO: 586)
```

[0331] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包括结合多肽的抗-PDL1抗体,所述多肽包含或源自PCT公开号W0 2014/10079的SEQ ID NO: 36或SEQ ID NO: 38。

[0332] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包括结合人PDL1多肽的抗-PDL1抗体,所述人PDL1多肽包含或源自PCT公开号W0 2014/10079的SEQ ID NO: 36。

```
MRI FAVFI FMTYWHLLNAFTVTVPKDLVVEYGSNMTIECKFPVEKQLDLAALIVYWEMEDKNIIQFVHGEEEDL
KVQHSSYRQRARLLKDQLSLGNAALQITDVKLQDAGVYRCMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRI LVVDPVT
[0333] SEHELTCQAEGYPKAEVIWTSSDHQVLSGKTTTTNSKREEKLFNVTSTLRINTTTNEIFYCTFRRLDPEENHTA
ELVIPELPLAHPPNERTHLVILGAILLCLGVALTFIFRLRKGRMDVKKCGIQDTNSKKQSDTHLEET (SEQ ID
NO: 587)
```

[0334] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包括结合人PDL1细胞外结构域多肽的抗-PDL1抗体,所述人PDL1细胞外结构域多肽包含或源自PCT公开号W0 2014/10079的SEQ ID NO: 38。

```
FTVTVPKDLVVEYGSNMTIECKFPVEKQLDLAALIVYWEMEDKNIIQFVHGEEEDLKVQHSSYRQRARLLKDQL
SLGNAALQITDVKLQDAGVYRCMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRI LVVDPVTSEHELTCQAEGYPKAEVI
[0335] WTSSDHQVLSGKTTTTNSKREEKLFNVTSTLRINTTTNEIFYCTFRRLDPEENHTAELVIPELPLAHPPNERT
(SEQ ID NO: 588)
```

[0336] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包括是或源自BMS-936559 (MDX-1 105)的抗-PDL1抗体。在某些实施方案中,所述可活化抗体包括是或源自MPDL3280A (RG7446)的抗-PDL1抗体。在某些实施方案中,所述可活化抗体包括是或源自MEDI4736的抗-PDL1抗体。在某些实施方案中,所述可活化抗体包括是或源自AMP224的抗-PDL1抗体。在某些实施方案中,所述可活化抗体包括是或源自MSB0010718C的抗-PDL1抗体。

[0337] 在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包含或源自杂交瘤制造、分泌或以其它方式生产的抗体,所述杂交瘤是例如,在美国专利号8,779,108中公开并在保藏编号41598下保藏在National Collections of Industrial and Marine Bacteria (NCIMB)的

杂交瘤,以及在美国专利号8,741,295中公开并在保藏编号I-4080、I-4081和/或I-4122下保藏在Collection Nationale De Cultures De Microorganismes (CNCM)的杂交瘤。

[0338] 在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括表16中所示的CDR序列,选自表16的单个行中所示的那些组合的VL CDR序列(VL CDR1、VL CDR2、VL CDR3)的组合,选自表16中所示的那些组合的VH CDR序列(VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)的组合,或选自表16中所示的那些组合的VL CDR和VH CDR序列(VL CDR1、VL CDR2、VL CDR3、VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3)的组合。

[0339] 表16. 结合PDL1的抗体和可活化抗体的CDR序列

[0340]

AB Name	VL			VH		
	CDR1 (SEQ ID NO)	CDR2 (SEQ ID NO)	CDR3 (SEQ ID NO)	CDR1 (SEQ ID NO)	CDR2 (SEQ ID NO)	CDR3 (SEQ ID NO)
C8	RASQISSYLN (209)	KASRLQS (210)	RALKPVT (211)	SYAMS (212)	DITASGQRTTYADS (213)	SKAIFDY (214)
C12	RASQISSYLN (209)	AASSLQS (215)	SYSTPNT (216)	SYAMS (212)	SINKDGHYTSYADS (217)	NLDEFDY (218)
C16	RASQISSYLN (209)	SASQLQS (219)	ANSRPST (220)	SYAMS (212)	SIMATGAGTLYADS (221)	DGAGFDY (222)
C20	RASQISSYLN (209)	NASSLQS (223)	YPYGPG (224)	SYAMS (212)	TITSSGAATYYADS (225)	NYTGFDY (226)

[0341]

C60	RASQSISSYLN (209)	YASTLQS (227)	DNGYPST (228)	SYAMS (212)	SIYSTGGATAYADS (229)	SSAGFDY (230)
C1	RASQSISSYLN (209)	YASTLQS (227)	DNGYPST (228)	SYAMS (212)	SSIYSTGGATAYADS (231)	SSAGQSRP GFDY (232)
D1	RASQSISSYLN (209)	YASTLQS (227)	DNGYPST (228)	SYAMS (212)	SSIYSTGGATAYADS (231)	SSAGQSWP GFDY (233)
G7	RASQSISSYLN (209)	YASTLQS (227)	DNGYPST (228)	SYAMS (212)	SSIYSTGGATAYADS (231)	SSAGQSFP GFDY (234)
H9	RASQSISSYLN (209)	YASTLQS (227)	DNGYPST (228)	SYAMS (212)	SSIYSTGGATAYADS (231)	WSAAFDY (235)
B10	RASQSISSYLN (209)	YASTLQS (227)	DNGYPST (228)	SYAMS (212)	SSIYSTGGATAYADS (231)	WSAGYDY (236)
E10	RASQSISSYLN (209)	YASTLQS (227)	DNGYPST (228)	SYAMS (212)	SSIYSTGGATAYADS (231)	WSKGFYDY (237)
A05	RASQSISSYLN (209)	YASTLQS (227)	DNGYPST (228)	SYAMS (212)	SSIWKQGIVTVYDS (238)	SSAGFDY (230)
C05	RASQSISSYLN (209)	YASTLQS (227)	DNGYPST (228)	SYAMS (212)	SSIWRNGIVTVYDS (239)	SSAGFDY (230)
C10	RASQSISSYLN (209)	YASTLQS (227)	DNGYPST (228)	SYAMS (212)	SDIWKQGMVTVYDS (240)	SSAGFDY (230)
D08	RASQSISSYLN (209)	YASTLQS (227)	DNGYPST (228)	SYAMS (212)	SSIWRQGLATAYDS (241)	SSAGFDY (230)
G09	RASQSISSYLN (209)	YASTLQS (227)	DNGYPST (228)	SYAMS (212)	SEIVATGILTSYDS (242)	SSAGFDY (230)
G10	RASQSISSYLN (209)	YASTLQS (227)	DNGYPST (228)	SYAMS (212)	SSIGRQGLITVYDS (243)	SSAGFDY (230)
G12	RASQSISSYLN (209)	YASTLQS (227)	DNGYPST (228)	SYAMS (212)	SSIWYQGLVTVYDS (244)	SSAGFDY (230)
E11	RASQSISSYLN (209)	YASTLQS (227)	DNGYPST (228)	SYAMS (212)	SDIWKQGFATADS (245)	SSAGFDY (230)
D01	RASQSISSYLN (209)	YASTLQS (227)	DNGYPST (228)	SYAMS (212)	SSIWKQGIVTVYDS (238)	SSAGFDY (230)
H06	RASQSISSYLN (209)	YASTLQS (227)	DNGYPST (228)	SYAMS (212)	SSIWRQGLATAYDS (241)	SSAGFDY (230)
C5H9	RASQSISSYLN (209)	YASTLQS (227)	DNGYPST (228)	SYAMS (212)	SSIWRNGIVTVYADS (246)	WSAAFDY (235)

[0342]

C5B10	RASQSISSYLN (209)	YASTLQS (227)	DNGYPST (228)	SYAMS (212)	SSIWRNGIVTVYADS (246)	WSAGYDY (236)
C5E10	RASQSISSYLN (209)	YASTLQS (227)	DNGYPST (228)	SYAMS (212)	SSIWRNGIVTVYADS (246)	WSKGFYD (237)
G12H9	RASQSISSYLN (209)	YASTLQS (227)	DNGYPST (228)	SYAMS (212)	SSIWYQGLVTVYADS (247)	WSAAFDY (235)
G12B10	RASQSISSYLN (209)	YASTLQS (227)	DNGYPST (228)	SYAMS (212)	SSIWYQGLVTVYADS (247)	WSAGYDY (236)
G12E10	RASQSISSYLN (209)	YASTLQS (227)	DNGYPST (228)	SYAMS (212)	SSIWYQGLVTVYADS (247)	WSKGFYD (237)
C5H9 v2	RASQSISSYLN (209)	AASSLQS (215)	DNGYPST (228)	SYAMS (212)	SSIWRNGIVTVYADS (246)	WSAAFDY (235)

[0343] 在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括表17中所示的CDR序列、选自表17中所示的那些组合的VL CDR序列的组合和/或选自表17中所示的那些组合的VH CDR序列的组合。

[0344] 在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括选自表17中的集合A所示的组合的重链CDR序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括选自表17中的集合A所示的组合的轻链CDR序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括选自表17中的集合A所示的组合的重链CDR序列的组合和选自表17中的集合A所示的组合的轻链CDR序列的组合。

[0345] 在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括选自表17中的集合B所示的组合的重链CDR序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括选自表17中的集合B所示的组合的轻链CDR序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括选自表17中的集合B所示的组合的重链CDR序列的组合和选自表17中的集合B所示的组合的轻链CDR序列的组合。

[0346] 在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括选自表17中的集合C所示的组合的重链CDR序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括选自表17中的集合C所示的组合的轻链CDR序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括选自表17中的集合C所示的组合的重链CDR序列的组合和选自表17中的集合C所示的组合的轻链CDR序列的组合。

[0347] 在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括选自表17中的集合D所示的组合的重链CDR序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括选自表17中的集合D所示的组合的轻链CDR序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括选自表17中的集合D所示的组合的重链CDR序列的组合和选自表17中的集合D所示的组合的轻链CDR序列的组合。

[0348] 在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括选自表17中的集合E所示的组合的重链CDR序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括选自表17中的集合E所示的组合的轻链CDR序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括选自表17中的集合E所示的组合的重链CDR序列的组合和选自表17中的集合E所示的组合的轻链CDR序列的组合。

合的轻链CDR序列的组合。

[0357] 在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括选自表17中的集合N所示的组合的重链CDR序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括选自表17中的集合N所示的组合的轻链CDR序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括选自表17中的集合N所示的组合的重链CDR序列的组合和选自表17中的集合N所示的组合的轻链CDR序列的组合。

[0358] 在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括选自表17中的集合O所示的组合的重链CDR序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括选自表17中的集合O所示的组合的轻链CDR序列的组合。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括选自表17中的集合O所示的组合的重链CDR序列的组合和选自表17中的集合O所示的组合的轻链CDR序列的组合。

[0359] 在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体包括选自表17中的集合P所示序列的重链CDR1序列。

[0360] 表17. 结合PDL1的抗体和可活化抗体的另外CDR序列

[0361]

集合A					
VL			VH		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
RASQSVSSYLV (304)	DASNRAT (293)	QQRSNWPRT (278)	DYGFS (296)	WITAYNGNTNYAQKLQG (284)	DYFYGMDV (269)
RASQSVSSYLA (305)	AASSLQS (215)	QQRSNWPT (279)	TYAIS (297)	GIIPIFGKAHYAQKFQG (285)	KFHFVSGSPFG MDV (270)

RASQGISSWLA (306)	GASSRAT (294)	QQYNSYPYT (280)	SYDVH (298)	WLHADTGITKFSQKFQG (286)	ERIQLWFDY (271)
RASQSVSSSYLA (307)	DASSLES (295)	QQYGSSPWT (281)	TYAIN (299)	GIIPIFGTANHAQKFQG (287)	DQGIAAALFDY (272)
RASQGISSALA (308)	KASTLES (447)	QQYGSSP (282)	DYVVH (300)	GISGNSGNIGYADSVKG (288)	PFDY (273)
		QQFNSYPFT (283)	SYAIS (301)	GIIPIFGRAHYAQKFQG (289)	KYDYVSGSPFG MDV (274)
		QQSYSTPWT (448)	SYAIN (302)	GIIPIFGSANYAQKFQD (290)	DSSGWSRYMD V (275)
			DYGMH (303)	GIIPLFGLAHYQKFQG (291)	KYSYVSGSPFG MDV (276)
				GISWNRGRIEYADSVKG (292)	GRFRYFDWFLD Y (277)
					DYFWSGFSAFD I (446)

[0362]

集合B					
VL			VH		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
SGDALPQKYVF (312)	EDSKRPS (313)	YSTDRSGNHRV (314)	TYSMN (309)	SISSSGDYIYYADSVK (310)	DLVTSMVAFDY (311)
RASQRVSSSYLA (318)	DASSRAT (319)	QQYGSLPWT (320)	RYWMS (315)	NIKQDGSEKYYVDSVKG (316)	EGGWFGELAFD Y (317)
RASQSVSSNYLA (324)	GTSSRAT (325)	QQYGSSIPT (326)	SYWMS (321)	NIKQDGGEQYYVDSVK (322)	DWNYGYDMDV (323)

集合C					
VL			VH		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)

RASQ(D/V) (V/I) (S/N) T (A/F) (V/L) A (327)	SAS(F/T) L(Y/A) S (328)	QQ(Y/G/F/S) (L/Y/F/W) (Y /N/A/T/G/F/ I) (H/V/P/T/ I) P(A/W/R/P /T) T (329)	GFTFS(D/G) SWIH (330)	AWI(S/L) PYGGS(T/S) YYADSVKG (331)	RHWPGGF DY (332)
RASQDVSTAVA (333)	SASFLYS (334)	QQYLYHPAT (335)	GFTFSDSWIH (336)	AWISPYGGSTYYADSVKG (337)	

集合D

VL			VH		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
KSSQSLL (H/N) (S/T) (R/S) TRKNYL A (588)	WASTRES (589)	(Q/K) QSYDVV T (590)	SYW(I/M) H (591)	YINPSS(D/G) Y(H/N) E Y(S/N) (E/Q) KF(I/M) D (592)	SGWL(I/ V) HGDYY FD(F/Y) (593)
KSSQSLLNSRT RKNYLA (594)		QSYDVVT (595)	SYWMH (596)	YINPSSDYNEYSEKFMD (597)	SGWLVHG DYYFDY (598)
KSSQSLLHTST RKNYLA (599)		KQSYDVVT (600)	GYFTSYWMH (601)	YINPSSGYHEYNQKFID (602)	SGWLIHG DYYFDF (603)
			SYWIH (604)		
			GTTFTSYWIH (605)		

集合E

VL			VH		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)

[0363]

TGT(N/S) (T/R/S) DVG(A/G) YNYVS (606)	(E/D)V(I/N/D) (D/H/N) RPS (607)	SS(F/Y)T(N/S) (R/T/S) (G/S) (I/T) RV (608)	(K/R/T/Q/G/A/W/M/I/S) Y(V/R/K/L/M/I)M(H/T/N/Q/A/V/Y/W/F/M) (609)	SIYPSGG(F/I)TFYAD(S/T)VKG (610)	IKLGTVT TV(E/D) Y (611)
TGTSSDVGGYN YVS (612)	DVSNRPS (613)	SSYTSSSTRV (614)	SYIMM (615)	SIYPSGGITFYADTVKG (617)	IKLGTVT TVDY (618)

集合F

VL			VH		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
			MYMMM (619)	SIYPSGGITFYADSVKG (620)	TGTSSDV GAYNYVS (621)

[0364]

集合G

VL			VH		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
(R/S/K) (A/S) S(R/N/D/Q/E/H/K/M/S) (SLLYSS 或 Absent) (N/D 或 Absent) (A/Q/E/L/K/M/P/S/T/Y/V) X(R/N/S/T) (A/R/N/C/Q/E/H/I/L/K/M/F/S/T/Y/V) (I/L/M/V) (A/R/N	X(A/C/G/S/T/V) (A/C/H/I/L/M/F/S/T/Y/V) (R/N/D/Q/E/K/S/T) (A/R/N/D/Q/E/G/H/K/M/F/P/S/T/Y) (A/N/S/T) (623)	(R/N/Q/E/H) QX(A/R/N/C/Q/E/H/I/L/K/M/F/S/T/Y/V) (N/G/S) (A/R/N/D/C/Q/E/G/H/I/L/K/M/F/R/S/T/W/Y/V) P(A/R/N/D/Q/E/G/H/K/M/P/S/T/Y) T (624)	G(Y/F) (T/S) (I/L/M/F) (A/R/N/D/C/Q/E/H/I/L/K/M/P/S/T) (A/R/N/D/C/Q/E/G/H/I/L/K/M/F/P/S/T/Y/V) (A/R/N/D/C/Q/E/G/H/I/L/K/M/F) (619)	X(I/L/M/F/V) X(P 或 Absent) (A/R/N/Q/E/H/K/M/S/T/Y/V) (A/R/N/D/C/Q/E/G/H/K/M/F/P/S/T/Y/V) (N/G/S) (N/G/S) T(A/R/N/Q/E/H/K/M/S/T/Y) (A/R/N/C/Q/E/H/I/L/K/M/F/S/T/W/Y/V) N(A/D/Q/E/K/P/S/T) (A/R/N/D/C/Q/E/G/H/I/L/K/M/F/P/S/T/Y/V) (I/L/M/F) K(A/G/S (626)	(A/R/N/Q/E/H/K/M/S/T/Y) (A/R/N/D/C/Q/E/G/H/K/M/F/P/S/T/Y/V) (Q/G/H/T/W) X XXX(F/Y) (AI 或 Absent) (627)

/Q/E/H/I/K/ M/F/S/T/Y) (622)			F/P/S/T/Y/ V) (A/R/C/Q /E/H/I/L/K /M/F/S/T/W /Y/V)N (625)		
RASSSVSYIY (628)	ATFNLAS (629)	HQRSSYPWT (630)	GYTFPDYYMN (631)	DIDPNYGGTTYNQKFKG (632)	GAL (633)
SASSSIRYMH (634)	DTSKLT (635)	QQDSSYP (636)	GYTFTSYDIN (637)	WIFPRDNNTKYENFKG (638)	ENWVGDF (639)
KASQDVGTAVA (640)	WASTRHT (641)	QQYYGYPLT (642)	GYSITSYDYN (643)	YISYTGSTYYNPSLKS (644)	YGGWLS P (645)
KSSQSLLYSSN QKNSL (646)	WASTRES (589)		GYSIISYDYN (647)		RGGWLL P (648)
			GFSLTTYISIN (649)	VMWAGGGTNSNSVLKS (650)	YYGN SPY YAI (651)

集合H

[0365]

VL			VH		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
TRSSGSIGSNY VQ (652)	EDNQRP (653)	QSYDSSTWV (654)	SYAIS (301)	WISPIGGSTNYAQK VQG (655)	GLXXXXXXXXXX XXXXXXDV (656)
TRSSGNIASNY VQ (657)	GKNNRPS (658)	QSYDSSNLWV (659)	SYGIS (660)	WISAYNGNTNYAQK LED (661)	ALPSGTILVGG WFDP (662)
QGDSLRSYYAS (663)	SDRDRPS (664)	NSRDSSGNHYV (665)	SYALS (666)	AISGGGGSTYYADS VKD (667)	DVFPETFSMNY GMDV (668)
GGSDIGRKS VH (669)	DVSNRPS (613)	QVWDNNSDHYV (670)	DYAMH (671)	LISGDGGSTYYADS VKD (672)	VLLPCSSTSCY GSVGAEDI (673)
TGTSSDVGGYN YVS (612)	GASSRAT (294)	SSYTSSTLP (674)	NYDMS (675)	RVNWNGGSTTYADA VKD (676)	EFVGAYDL (677)
RASQSIGNSLA (678)	AATLQS (679)	QQHTIPTFS (680)	GLYIH (681)	WIPIFGTANYAQK FED (682)	GLRWGIWGF D (683)
RASQGIGSYLA (684)	QDIKRPS (685)	QQLNNYPIT (686)	DNAIS (687)	WIPIFGKPNY AQK FED (688)	TMVRGFLGVMD V (689)

SGDKLGKNYAY (690)	EDYRRPS (691)	QTWDNSVV (692)	SYAMS (212)	AISGSGGSTYYADS VKD (693)	DQFVTIFGVPR YGM DV (694)
TRSSGSIDSNY VQ (695)	DDSDRPS (696)	QSYDSNNRHVI (697)	TYALN (698)	RIVPLIGLVNYAHN FED (699)	GRQMFGAGIDF (700)
TRSSGNIGTNY VQ (701)	EDNKRPS (702)	QSYHSSGWE (703)	SHGIT (704)	WISAHNGHASNAQK VED (705)	EVYGGNSDY (706)
GGNNIGSKGVH (707)	YKSDSNKQ QAS (708)	QVWDSSSDHWV (709)	RHGMH (710)	VISHDGSVKYYADS MKD (711)	VHAALYYGMDV (712)
TRSSGSIASNY VQ (713)		QSYDSTTPSV (714)		WTSPHNGLTAFQI LED (715)	GLSYQVSGWFD P (716)
TRSSGSIASHY VQ (717)		QSYDGITVI (718)		RIIPILGIANYAQK FED (719)	VHPVFSYALDV (720)
TLRSGLNVGSY RIY (721)		QSYDSSNRWV (722)	TYAFS (723)	WISAYNGNTNYAQK VED (724)	DGYGSDPVL (725)
		MIWYSSAVV (726)	NYGIS (727)		GDFRKPFDY (728)

[0366]

集合I					
VL			VH		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
RATESVEYYGT SLVQ (729)	AASSVDS (730)	QQSRRVPYT (731)	SYVMH (732)	YVNPFDGTYNEMFKG (733)	QAWGYP (734)

集合J					
VL			VH		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
RASQDVSTAVA (333)	SASFLYS (334)	QQYLYHPAT (335)	GFTFSDSWIH (336)	AWISPYGGSTYYADSVKG (337)	RHWPGGF DY (332)

[0367]

集合K					
VL			VH		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
QSIISNW (781)	KAS (782)	QQYHSYSYT (783)	GFTFSRFW (784)	INQDGTEK (785)	ANTYYDFWSGH FDY (786)
QGIRND (787)	TAS (788)	LQHNSYPLT (789)	GFTFSNFG (790)	LWSDGSNK (791)	ARGRGAPGIPI FGY (792)
QGIRND (787)	AAS (793)	LQHNNYPYT (794)	GFTFSNAW (795)	IKRKTDGGTT (796)	TTDDIVVVPVAV MREYYFGMDV (797)
QTLVHGDGNTY (798)	KVS (799)	MQATHFPIT (800)	GYSFTGYY (801)	INPNSGTK (802)	ARDEDWNFGSW FDS (803)
PSLVHSDGNTY (804)	KIS (805)	MQATHFPIT (800)	GYTFTGYY (806)	LNPNTGTT (807)	ARDEDWNYGSW FDT (808)
QSINSY (809)	VAS (810)	QQSYSTPPIT (811)	GFTFDDYG (812)	IHWGKRT (813)	VRGGMSTGDWF DP (814)
QSISSY (815)	VAS (810)	QQSYSTPPIT (811)	GFTFDDYG (812)	IHWGGRST (816)	ARGGMSTGDWF DP (817)
QTINIY (818)	AAS (793)	HQSYSTPPIT (819)	GFTVGSNY (820)	IYSGGST (821)	ARGIRGLDV (822)
QSMSSY (1011)	AAS (793)	QQSYSTPPIT (811)	GITVGTNY (1012)	ISSGGNT (1013)	ARGIRGLDV (822)
QSFNFNY (823)	GAS (824)	QQYESAPWT (825)	GGIFSSST (826)	IIPVFGTV (827)	ARNWGLGSFYI (828)
QSISSY (815)	AAS (793)	QQSYCTPPIT (829)	GFPFDEYA (830)	ISWSNNNI (831)	AKSGIFDS (832)
QSISSY (815)	AAS (793)	QQSYSTPPIT (811)	GFTFSSYG (833)	ISYEGRNK (834)	AKDRTLYGMDV (835)
QVISNY (836)	AAS (793)	QKYNAPRT (837)	GFSLSTNRM (838)	IDWDGVK (839)	ARSTSLTFYYF DY (840)
QNINNY (841)	AAS (793)	QQSYNTPLT (842)	EFTVGTNH (843)	IYSGGNT (844)	ARGLGGMDV (845)
QTISTY (846)	AAS (793)	LQHNSYPYT (847)	GFTFSKYW (848)	IKGDGSEK (849)	ARDYWGSGYYF DF (850)

[0368]

QSISSY (815)	VVS (851)	QSYSTPFT (852)	GFTFSSYW (853)	IKQDGSEK (854)	ARDDIVVVPAP MGYYYYYFGMD V (855)
	AAS (793)	QSYSTPPIT (811)	GFTFDDFA (856)	ISWTGGNM (857)	VKDIRGIVATG GAFDI (858)
			GFTVGTNY (859)	IYSGGST (821)	ARGIRGFDI (860)
			GFTISTNY (861)	IYSSGST (862)	ARGIRGFDI (860)
			GFTIDDSA (863)	ISWKSGSI (864)	VKDIRGNWNYG GNWFDP (865)
			GFTVGVNH (866)	IFSSGRT (867)	ARGIGGLDI (868)
			GFTFDDYA (869)	ISWTGGTI (870)	TRDIRGNWKYG GWFPD (871)
			GYTFTAYY (872)	ISPNSGFT (873)	AREGSTHHNSF DP (874)
			GFTVGTNF (875)	IIPILGAA (876)	ARGGGMDV (877)
			GGTFNTYV (878)	ISPYNGYT (879)	ARDRTSGGFDP (880)
			GYIFTHYG (881)		SRGRGPYWSFD L (882)

集合L

VL			VH		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
QASESVYSNNY LS (1014)	LASTLAS (1015)	IGGKSSSTDG NA (1016)	SNGLT (1017)	TINKDASAYYASWAK G (1018)	IAFKTGTSI (1019)

集合M

VL			VH		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)

RSSKSLHLSNG ITYLY (1020)	QMSNLAS (1021)	AQNLEPPLT (1022)	DYYTH (1023)	WIDPENGKTAYAPKF QG (1024)	GGYDVYFLDY (1025)
--------------------------------	-------------------	---------------------	-----------------	------------------------------	----------------------

集合N

VL			VH		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
KASQDVGIVVA (1026)	WASIRHT (1027)	QQYSNYPLYT (1028)	GFSLTSYGVH (1029)	VIWAGGSTNYNSALM S (1030)	AKPYGNSAMDY (1031)
				VIWAGGSTNYVDSVK G (1032)	AKPYGTSAMDY (1033)
				VIWAGGSTNYADSVK G (1034)	

集合O

VL			VH		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
ASQSVSTSSSS FMH (1035)	YASNLES (1036)	QHSWEIPYT (1037)	SYGMS (1038)	SISSGGSTYYPDSVK G (1039)	GYDSGFAY (1040)
RASQSVSTSSS SYM (1041)	YASNLES (1036)	QHSWEIPYT (1037)	SYGMS (1038)	SISSGGTTYYPDSVK G (1042)	GYDSGFAY (1040)
KASQSVSNDVA (1043)	YAANRYT (1044)	QQDYTSPTY (1045)	TYGVH (1046)	VIWRGVTTDYNAAF AS (1047)	LGFYAMDY (1048)
KASQSVSNDVG (1049)	YASNRYT (1050)	QQDYTSPTY (1045)	SYGVH (1051)	VIWGGVTDYNAAFI S (1052)	LGFYAMDY (1048)
RSSQIIVHSNA NTYLE (1053)	KVSNRFS (1054)	FQGSHPVYT (1055)	TYWMH (1056)	QINPDSTTINTAPSL KD (1057)	PGDYGDFDC (1058)
SASSSVSSSYL Y (1059)	NTSNLAS (1060)	HQWRSYPPT (1061)	SGYWN (1062)	YISYSGSTYYNPSLK S (1063)	SLLWFSTGFAY (1064)
SANSSVSVMH (1065)	DTSKLAS (1066)	QQWSSNPWT (1067)	SYGVH (1051)	YIWGGITDYNAAF S (1068)	LGFYAMDY (1048)
RASQSVSTSSY SYM (1069)	YASNLES (1036)	QNSWEIPYT (1070)	STGMS (1071)	SISSGGTTYLGSVQ G (1072)	GYDAGFAY (1073)

[0369]

KSSQSLLYSSN QKNSLA (1074)	WASNRES (1075)	QYYYSYPLT (1076)	SGYWT (1077)	YIYTGSTYYNPSLKS (1078)	QRDWLGFAY (1079)
RASQSVSTSSY SYVH (1080)	YASNLES (1036)	QHSWEIPYT (1037)	SYGMS (1038)	SISSGGSIYYPDSVK G (1081)	GYDAGFAF (1082)

集合P					
VL			VH		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
			GFTFSMYMM (1083)		
			GFTFSAYAMA (1084)		
			GFTFSAYRMF (1085)		
			GFTFSAYLMV (1086)		
			GFTFSAYVMF (1087)		
			GFTFSAYVMS (1088)		
			GFTFSGYLMV (1089)		
			GFTFSGYQML (1090)		
			GFTFSGYSMF (1091)		
			GFTFSGYWMA (1092)		
			GFTFSQYLMY (1093)		
			GFTFSQYVMF (1094)		
			GFTFSQYYMY (1095)		
			GFTFSSYMLS (1096)		

[0370]

[0371]

			GFTFSSYLMT (1097)		
			GFTFSSYQMV (1098)		
			GFTFSSYSMA (1099)		
			GFTFSSYVMF (1100)		
			GFTFSSYVMS (1101)		
			GFTFSSYVMY (1102)		
			GFTFSSYYMF (1103)		
			GFTFSSYYMV (1104)		
			GFTFSYYSMV (1105)		
			GFTFSWYLMV (1106)		
			GFTFSWYQMS (1107)		

[0372] 本发明的可活化抗体中的AB特异性地结合PDL1靶标,例如,哺乳动物PDL1和/或人PDL1。在本发明中还包括与本发明的抗体和/或本文描述的活化的可活化抗体结合相同PDL1表位的AB。在本发明中还包括与本文描述的抗-PDL1抗体和/或活化的抗-PDL1可活化抗体竞争结合PDL1靶标(例如,人PDL1)的AB。在本发明中还包括与本文描述的抗-PDL1抗体和/或活化的抗-PDL1可活化抗体交叉竞争结合PDL1靶标(例如,人PDL1)的AB。

[0373] 本文提供的可活化的抗-PDL1抗体包括掩蔽部分。在某些实施方案中,所述掩蔽部分是与所述抗-PDL1抗体偶联或以其它方式连接的氨基酸序列,且位于所述可活化的抗-PDL1抗体构建体内,使得所述掩蔽部分减小所述抗-PDL1抗体的特异性地结合PDL1的能力。使用多种已知技术中的任一种鉴别合适的掩蔽部分。例如,使用Daugherty等人在PCT公开号W0 2009/025846(其内容特此通过引用以其整体并入)中描述的方法鉴别肽掩蔽部分。

[0374] 本文提供的可活化的抗-PDL1抗体包括可切割部分。在某些实施方案中,所述可切割部分包括是蛋白酶(经常是细胞外蛋白酶)的底物的氨基酸序列。使用多种已知技术中的任一种鉴别合适的底物。例如,使用在以下文献中描述的方法鉴别肽底物:Daugherty等人的美国专利号7,666,817;Stagliano等人的美国专利号8,563,269;和La Porte等人的PCT公开号W0 2014/026136,它们中的每一篇的内容特此通过引用以其整体并入(也参见Boulware等人,“Evolutionary optimization of peptide substrates for proteases that exhibit rapid hydrolysis kinetics.”Biotechnol Bioeng. 106.3 (2010): 339-46)。

[0375] 示例性的底物包括、但不限于可被表12中列出的下述酶或蛋白酶中的一种或多种

切割的底物。

[0376] 表12: 示例性的蛋白酶和/或酶

ADAMS, ADAMTS, 例如 ADAM8 ADAM9 ADAM10 ADAM12 ADAM15 ADAM17/TACE	半胱氨酸蛋白水解酶, 例如, Cruzipain 豆荚蛋白 (legumain) Otubain-2	丝氨酸蛋白酶, 例如, 活化的蛋白 C 组织蛋白酶 A 组织蛋白酶 G 胰凝乳蛋白酶 凝固因子蛋白酶 (例如, FVIIa, FIXa, FXa, FXIa, FXIIa)
	KLKs, 例如, KLK4	弹性蛋白酶
ADAMDEC1 ADAMTS1 ADAMTS4 ADAMTS5	KLK5 KLK6 KLK7 KLK8 KLK10 KLK11 KLK13 KLK14	颗粒蛋白酶 B Guanidinobenzoate HtrA1 人嗜中性粒细胞弹性蛋白酶 乳铁蛋白 Marapsin NS3/4A PACE4 纤溶酶 PSA tPA 凝血酶 类胰蛋白酶 uPA
天冬氨酸蛋白酶, 例如, BACE 肾素	金属蛋白水解酶, 例如, Meprin 肾胰岛素残基溶酶 PSMA BMP-1	II 型跨膜 丝氨酸蛋白酶(TTSP), 例如, DESC1 DPP-4 FAP Hepsin Matriptase-2 MT-SP1/Matriptase TMPRSS2 TMPRSS3 TMPRSS4
天门冬氨酸组织蛋白酶, 例如, 组织蛋白酶 D 组织蛋白酶 E	MMP, 例如, MMP1 MMP2 MMP3 MMP7 MMP8 MMP9 MMP10 MMP11 MMP12 MMP13 MMP14 MMP15 MMP16 MMP17 MMP19 MMP20 MMP23 MMP24 MMP26 MMP27	
胱天蛋白酶, 例如, 胱天蛋白酶 1 胱天蛋白酶 2 胱天蛋白酶 3 胱天蛋白酶 4 胱天蛋白酶 5 胱天蛋白酶 6 胱天蛋白酶 7 胱天蛋白酶 8 胱天蛋白酶 9 胱天蛋白酶 10 胱天蛋白酶 14		
半胱氨酸组织蛋白酶, 例如, 组织蛋白酶 B 组织蛋白酶 C 组织蛋白酶 K 组织蛋白酶 L 组织蛋白酶 S 组织蛋白酶 V/L2 组织蛋白酶 X/Z/P		

[0378] 本文描述的可活化的抗-PDL1抗体克服了抗体治疗剂(特别是已知在体内至少在某种程度上有毒的抗体治疗剂)的限制。靶标介导的毒性构成治疗性抗体的开发的主要限制。本文提供的可活化的抗-PDL1抗体被设计成解决与传统治疗性抗体对正常组织中的靶标的抑制有关的毒性。这些可活化的抗-PDL1抗体在疾病部位处发生蛋白水解性活化之前保持被掩蔽。从作为母体治疗性抗体的抗-PDL1抗体开始,通过包含蛋白酶底物的接头使所述抗体与抑制性掩蔽物偶联,将本发明的可活化的抗-PDL1抗体工程改造。

[0379] 与未被MM修饰的AB的特异性结合或母体AB与靶标的特异性结合相比,当所述AB用MM修饰且在靶标存在下时,所述AB与其靶标的特异性结合被减小或抑制。

[0380] 用MM修饰的AB对靶标的 K_d 比未用MM修饰的AB或母体AB对靶标的 K_d 大至少5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、50,000、100,000、500,000、1,000,000、5,000,000、10,000,000、50,000,000倍或更大,或在5-10、10-100、10-1,000、10-10,000、10-100,000、10-1,000,000、10-10,000,000、100-1,000、100-10,000、100-100,000、100-1,000,000、100-10,000,000、1,000-10,000、1,000-100,000、1,000-1,000,000、1000-10,000,000、10,000-100,000、10,000-1,000,000、10,000-10,000,000、100,000-1,000,000或100,000-10,000,000倍之间。相反,用MM修饰的AB对靶标的结合亲和力比未用MM修饰的AB或母体AB对靶标的结合亲和力低至少2、3、4、5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、50,000、100,000、500,000、1,000,000、5,000,000、10,000,000、50,000,000倍或更大,或在5-10、10-100、10-1,000、10-10,000、10-100,000、10-1,000,000、10-10,000,000、100-1,000、100-10,000、100-100,000、100-1,000,000、100-10,000,000、1,000-10,000、1,000-100,000、1,000-1,000,000、1000-10,000,000、10,000-100,000、10,000-1,000,000、10,000-10,000,000或100,000-10,000,000倍之间。

[0381] 在某些实施方案中,所述MM对AB的解离常数(K_d)通常大于所述AB对靶标的 K_d 。所述MM对AB的 K_d 可以比所述AB对靶标的 K_d 大至少5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、100,000、1,000,000或甚至10,000,000倍。相反,所述MM对AB的结合亲和力通常低于所述AB对靶标的结合亲和力。MM对AB的结合亲和力可以比所述AB对靶标的结合亲和力低至少5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、100,000、1,000,000或甚至10,000,000倍。

[0382] 在某些实施方案中,所述MM对AB的解离常数(K_d)大约等于所述AB对靶标的 K_d 。在某些实施方案中,所述MM对AB的解离常数(K_d)不超过所述AB对靶标的解离常数。

[0383] 在某些实施方案中,所述MM对AB的解离常数(K_d)小于所述AB对靶标的解离常数。

[0384] 在某些实施方案中,所述MM对AB的解离常数(K_d)大于所述AB对靶标的解离常数。

[0385] 在某些实施方案中,所述MM关于结合AB的 K_d 不超过所述AB与靶标的结合的 K_d 。

[0386] 在某些实施方案中,所述MM关于结合AB的 K_d 不小于所述AB与靶标的结合的 K_d 。

[0387] 在某些实施方案中,所述MM关于结合AB的 K_d 大约等于所述AB与靶标的结合的 K_d 。

[0388] 在某些实施方案中,所述MM关于结合AB的 K_d 小于所述AB与靶标的结合的 K_d 。

[0389] 在某些实施方案中,所述MM关于结合AB的 K_d 大于所述AB与靶标的结合的 K_d 。

[0390] 在某些实施方案中,所述MM关于结合AB的 K_d 比所述AB与靶标的结合的 K_d 大不超过2、3、4、5、10、25、50、100、250、500或1,000倍。在某些实施方案中,所述MM关于结合AB的 K_d 比所述AB与靶标的结合的 K_d 大1-5、2-5、2-10、5-10、5-20、5-50、5-100、10-100、10-1,000、20-100、20-1000或100-1,000倍。

[0391] 在某些实施方案中,所述MM关于结合AB的亲和力小于所述AB与靶标的结合的亲和力。

[0392] 在某些实施方案中,所述MM关于结合AB的亲和力不超过所述AB与靶标的结合的亲和力。

[0393] 在某些实施方案中,所述MM关于结合AB的亲和力大约等于所述AB与靶标的结合的亲和力。

[0394] 在某些实施方案中,所述MM关于结合AB的亲和力不小于所述AB与靶标的结合的亲

和力。

[0395] 在某些实施方案中,所述MM关于结合AB的亲合力大于所述AB与靶标的结合的亲合力。

[0396] 在某些实施方案中,所述MM关于结合AB的亲合力比所述AB与靶标的结合的亲合力小2、3、4、5、10、25、50、100、250、500或1,000倍。在某些实施方案中,所述MM关于结合AB的亲合力比所述AB与靶标的结合的亲合力小1-5、2-5、2-10、5-10、5-20、5-50、5-100、10-100、10-1,000、20-100、20-1000或100-1,000倍。在某些实施方案中,所述MM关于结合AB的亲合力比所述AB与靶标的结合的亲合力小2-20倍。在某些实施方案中,没有与AB共价地连接且与AB等摩尔浓度的MM不会抑制所述AB与靶标的结合。

[0397] 与未用MM修饰的AB的特异性结合或母体AB与靶标的特异性结合相比,当所述AB用MM修饰且在靶标存在下时,所述AB与其靶标的特异性结合被减小或抑制。当在体内或在体外测定中测量时,相对于未用MM修饰的AB的结合或母体AB与靶标的结合,所述AB当用MM修饰时结合靶标的能力可以减小至少50%、60%、70%、80%、90%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%和甚至100%,持续至少2、4、6、8、12、28、24、30、36、48、60、72、84或96小时或5、10、15、30、45、60、90、120、150或180天、或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个月或更多。

[0398] 所述MM抑制所述AB与靶标的结合。所述MM结合AB的抗原结合结构域并抑制所述AB与靶标的结合。所述MM可以在立体上抑制所述AB与靶标的结合。所述MM可以变构地抑制所述AB与其靶标的结合。在这些实施方案中,当在体内或在体外测定中测量时,当所述AB被修饰或与MM偶联时在靶标存在下,不存在或基本上不存在所述AB与靶标的结合,或相对于未用MM修饰的AB、母体AB或未与MM偶联的AB对靶标的结合,不超过0.001%、0.01%、0.1%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%或50%的所述AB与靶标的结合,持续至少2、4、6、8、12、28、24、30、36、48、60、72、84或96小时或5、10、15、30、45、60、90、120、150或180天或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个月或更长。

[0399] 当AB与MM偶联或被MM修饰时,所述MM‘掩蔽’或减小或以其它方式抑制所述AB与靶标的特异性结合。当AB与MM偶联或被MM修饰时,这样的偶联或修饰可以实现结构变化,所述结构变化减小或抑制所述AB的特异性地结合其靶标的能力。

[0400] 与MM偶联或被MM修饰的AB可以由下式表示(按照从氨基(N)末端区域至羧基(C)末端区域的次序):

[0401] (MM) - (AB)

[0402] (AB) - (MM)

[0403] (MM) - L - (AB)

[0404] (AB) - L - (MM)

[0405] 其中MM是掩蔽部分,AB是抗体或其抗体片段,且L是接头。在许多实施方案中,可能合乎需要的是,在组合中插入一个或多个接头,例如,柔性接头,从而提供柔性。

[0406] 在某些实施方案中,所述MM不是所述AB的天然结合配偶体。在某些实施方案中,所述MM不含有或基本上不含有与所述AB的任何天然结合配偶体的同源性。在某些实施方案中,所述MM与所述AB的任何天然结合配偶体具有不超过5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%相似性。在某些实施方案中,所述MM与所述AB的任何天然结合配偶体具有不超过5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、

65%、70%、75%或80%同一性。在某些实施方案中,所述MM与所述AB的任何天然结合配偶体具有不超过25%同一性。在某些实施方案中,所述MM与所述AB的任何天然结合配偶体具有不超过50%同一性。在某些实施方案中,所述MM与所述AB的任何天然结合配偶体具有不超过20%同一性。在某些实施方案中,所述MM与所述AB的任何天然结合配偶体具有不超过10%同一性。

[0407] 在某些实施方案中,所述可活化抗体包括被MM修饰的AB,并且也包括一个或多个可切割部分(CM)。这样的可活化抗体表现出可活化的/可转换的与所述AB的靶标的结合。可活化抗体通常包括被掩蔽部分(MM)修饰或偶联的抗体或抗体片段(AB),和可修饰的或可切割的部分(CM)。在某些实施方案中,所述CM含有充当至少一种蛋白酶的底物的氨基酸序列。

[0408] 排列所述可活化抗体的元件,使得所述MM和CM定位成,在被切割的(或相对活性的)状态和在有靶标存在下,所述AB结合靶标,当所述可活化抗体处于未切割的(或相对无活性的)状态时,在有靶标存在下,所述AB与其靶标的特异性结合被减小或抑制。由于所述MM抑制或掩蔽所述AB的特异性地结合其靶标的能力,可以减小所述AB与其靶标的特异性结合。

[0409] 用MM和CM修饰的AB对靶标的 K_d 比未用MM和CM修饰的AB或母体AB对靶标的 K_d 大至少5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、50,000、100,000、500,000、1,000,000、5,000,000、10,000,000、50,000,000倍或更大,或在5-10、10-100、10-1,000、10-10,000、10-100,000、10-1,000,000、10-10,000,000、100-1,000、100-10,000、100-100,000、100-1,000,000、100-10,000,000、1,000-10,000、1,000-100,000、1,000-1,000,000、1000-10,000,000、10,000-100,000、10,000-1,000,000、10,000-10,000,000、100,000-1,000,000或100,000-10,000,000倍之间。相反,用MM和CM修饰的AB对靶标的结合亲和力比未用MM和CM修饰的AB或母体AB对靶标的结合亲和力低至少5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、50,000、100,000、500,000、1,000,000、5,000,000、10,000,000、50,000,000倍或更大,或在5-10、10-100、10-1,000、10-10,000、10-100,000、10-1,000,000、10-10,000,000、100-1,000、100-10,000、100-100,000、100-1,000,000、100-10,000,000、1,000-10,000、1,000-100,000、1,000-1,000,000、1000-10,000,000、10,000-100,000、10,000-1,000,000、10,000-10,000,000、100,000-1,000,000或100,000-10,000,000倍之间。

[0410] 相对于未用MM和CM修饰的AB或母体AB与靶标的特异性结合,当所述AB用MM和CM修饰和在有靶标存在下、但是在没有修饰剂(例如至少一种蛋白酶)存在下时,所述AB与其靶标的特异性结合被减小或抑制。当在体内或在体外测定中测量时,相对于母体AB的结合或未用MM和CM修饰的AB与其靶标的结合,所述AB当用MM和CM修饰时结合靶标的能力可以减小至少50%、60%、70%、80%、90%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%和甚至100%,持续至少2、4、6、8、12、28、24、30、36、48、60、72、84或96小时或5、10、15、30、45、60、90、120、150或180天或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个月或更久。

[0411] 本文中使用的术语“被切割状态”表示至少一种蛋白酶对CM修饰以后可活化抗体的状况。本文中使用的术语“未切割状态”表示在没有蛋白酶对CM的切割存在下可活化抗体的状况。如以上所讨论的,术语“可活化抗体”在本文中用于表示处于它的未切割的(天然的)状态以及处于它的被切割状态的可活化抗体。普通技术人员会明白,在某些实施方案中,被切割的可活化抗体可能由于蛋白酶对CM的切割从而导致至少MM的释放(例如,其中MM

没有通过共价键(例如,半胱氨酸残基之间的二硫键)连接至可活化抗体)而缺乏MM。

[0412] “可活化的或可转换的”是指,当所述可活化抗体处于被抑制、被掩蔽或未切割的状态(即,第一构象)时,所述可活化抗体表现出第一靶标结合水平,且在未抑制、未掩蔽和/或被切割的状态(即,第二构象)表现出第二靶标结合水平,其中所述第二靶标结合水平大于所述第一结合水平。一般而言,在有能够切割CM的切割剂(即,蛋白酶)存在下靶标与所述可活化抗体的AB的接近大于在没有这样的切割剂存在下的接近。因而,当所述可活化抗体处于未切割状态时,所述AB被抑制免于靶标结合且可以被掩蔽免于靶标结合(即,第一构象使得所述AB不可结合靶标),且在被切割状态,所述AB不会被抑制或是未掩蔽的以进行靶标结合。

[0413] 选择所述可活化抗体的CM和AB,使得所述AB代表给定靶标的结合部分,且所述CM代表蛋白酶的底物。在某些实施方案中,所述蛋白酶与所述靶标共定位在受试者中的治疗部位或诊断部位。本文中使用的“共定位”表示在相同部位或相对靠近的附近。在某些实施方案中,蛋白酶切割CM从而产生活化的抗体,所述抗体结合位于切割位点附近的靶标。本文中公开的可活化抗体具有特殊用途,其中,例如,能够切割CM中的位点的蛋白酶(即,蛋白酶)以与非治疗部位的组织(例如在健康组织中)相比相对较高的水平存在于治疗部位或诊断部位的含靶标组织中或紧密靠近处。在某些实施方案中,本发明的CM也被一种或多种其它蛋白酶切割。在某些实施方案中,一种或多种其它蛋白酶与所述靶标共定位并且负责CM的体内切割。

[0414] 在某些实施方案中,可活化抗体提供减小的毒性和/或不利副作用,如果所述AB没有被掩蔽或以其它方式抑制免于结合靶标,所述毒性和/或不利副作用否则会源自所述AB在非治疗部位处的结合。

[0415] 一般而言,可以如下设计可活化抗体:选择目标AB和构建所述可活化抗体的其余部分,使得当在构象上受到限制时,所述MM提供所述AB的掩蔽或减小所述AB与其靶标的结合的减小。可以考虑结构设计标准以提供该功能特征。

[0416] 提供了这样的可活化抗体:其在受抑制构象相对于未受抑制构象表现出靶标结合的期望动态范围的可转换表型。动态范围通常表示(a)在第一组条件下参数的最大检测水平与(b)在第二组条件下该参数的最小检测值之比。例如,在可活化抗体的背景下,动态范围表示以下(a)与(b)之比:(a)在有至少一种能够切割所述可活化抗体的CM的蛋白酶存在下与可活化抗体结合的靶蛋白的最大检测水平,(b)在没有所述蛋白酶存在下与可活化抗体结合的靶蛋白的最小检测水平。可以将可活化抗体的动态范围计算为可活化抗体切割剂(例如,酶)处理的解离常数与可活化抗体切割剂处理的解离常数之比。可活化抗体的动态范围越大,所述可活化抗体的可转换表型越好。具有相对较高动态范围值(例如,大于1)的可活化抗体表现出更合乎需要的转换表型,使得在有能够切割所述可活化抗体的CM的切割剂(例如,酶)存在下所述可活化抗体的靶蛋白结合比在没有切割剂存在下在更大的程度上发生(例如,占优势地发生)。

[0417] 可以以多种结构构型提供可活化抗体。下面提供了可活化抗体的示例式。特别地预见到,所述AB、MM和CM的N-端至C-端次序可以在可活化抗体内反转。还特别地预见到,所述CM和MM可以在氨基酸序列中重叠,例如,以致于所述CM被含在所述MM内。

[0418] 例如,可活化抗体可以由下式(按氨基(N)末端区域至羧基(C)末端区域的次序)表

示:

[0419] (MM) - (CM) - (AB)

[0420] (AB) - (CM) - (MM)

[0421] 其中MM是掩蔽部分,CM是可切割部分,且AB是抗体或其片段。应当指出,尽管MM和CM被指示为上式中的不同组分,在本文公开的所有示例性实施方案(包括式)中,预见到,所述MM和所述CM的氨基酸序列可以重叠,例如,以致于所述CM被完全地或部分地含在所述MM内。另外,上式提供了可以位于可活化抗体元件的N-端或C-端的另外氨基酸序列。

[0422] 在某些实施方案中,所述MM不是所述AB的天然结合配偶体。在某些实施方案中,所述MM不含有或基本上不含有与所述AB的任何天然结合配偶体的同源性。在某些实施方案中,所述MM与所述AB的任何天然结合配偶体具有不超过5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%相似性。在某些实施方案中,所述MM与所述AB的任何天然结合配偶体具有不超过5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%同一性。在某些实施方案中,所述MM与所述AB的任何天然结合配偶体具有不超过50%同一性。在某些实施方案中,所述MM与所述AB的任何天然结合配偶体具有不超过25%同一性。在某些实施方案中,所述MM与所述AB的任何天然结合配偶体具有不超过20%同一性。在某些实施方案中,所述MM与所述AB的任何天然结合配偶体具有不超过10%同一性。

[0423] 在许多实施方案中,可能合乎需要的是,在所述可活化抗体构建体中插入一个或多个接头(例如,柔性接头)从而在所述MM-CM连接部、所述CM-AB连接部或二者中的一个或多个处提供柔性。例如,所述AB、MM和/或CM可能不含有足以提供期望柔性的数目的残基(例如,Gly、Ser、Asp、Asn,特别是Gly和Ser,尤其是Gly)。所以,这样的可活化抗体构建体的可转换表型可以受益于一个或多个氨基酸的引入以提供柔性接头。另外,如下所述,在将可活化抗体提供为构象上受限制的构建体的情况下,可以将柔性接头可操作地插入以促进未切割的可活化抗体中的环状结构的形成和维持。

[0424] 例如,在某些实施方案中,可活化抗体包含下式之一(其中下式代表N-端至C-端方向或C-端至N-端方向的氨基酸序列):

[0425] (MM) - L1 - (CM) - (AB)

[0426] (MM) - (CM) - L2 - (AB)

[0427] (MM) - L1 - (CM) - L2 - (AB)

[0428] 其中MM、CM和AB如上面所定义;其中L1和L2各自独立地和任选地存在或不存在,是包括至少1个柔性氨基酸(例如,Gly)的相同或不同柔性接头。另外,上式提供了可以位于可活化抗体元件的N-端或C-端的另外氨基酸序列。例子包括、但不限于靶向部分(例如,存在于靶组织中的细胞的受体的配体)和血清半衰期延长部分(例如,结合血清蛋白诸如免疫球蛋白(例如,IgG)或血清白蛋白(例如,人血清白蛋白(HAS)的多肽)。

[0429] 所述CM被至少一种蛋白酶以约 $0.001-1500 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$ 或至少0.001、0.005、0.01、0.05、0.1、0.5、1、2.5、5、7.5、10、15、20、25、50、75、100、125、150、200、250、500、750、1000、1250或 $1500 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$ 的速率特异性地切割。在某些实施方案中,所述CM被以约 $100,000 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$ 的速率特异性地切割。在某些实施方案中,所述CM被以约 1×10^2 至约 $1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$ (即,约 1×10^2 至约 $1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$)的速率特异性地切割。

[0430] 为了酶的特异性切割,造成酶和CM之间的接触。当包含与MM和CM偶联的AB的可活化抗体是在有靶标和足够酶活性存在下时,所述CM可以被切割。足够的酶活性可以表示所述酶与所述CM发生接触和实现切割的能力。可以容易地预见到,酶可以是在所述CM的附近,但是因为其它细胞因子或所述酶的蛋白修饰而不能切割。

[0431] 适合用于用在本文描述的组合物中的接头通常是提供经修饰的AB或可活化抗体的柔性以促进所述AB与靶标的结合的抑制的那些接头。这样的接头通常被称作柔性接头。可以容易地选择合适的接头,且可以具有合适的不同长度中的任一种,诸如1个氨基酸(例如,Gly)至20个氨基酸,2个氨基酸至15个氨基酸,3个氨基酸至12个氨基酸,包括4个氨基酸至10个氨基酸、5个氨基酸至9个氨基酸、6个氨基酸至8个氨基酸、或7个氨基酸至8个氨基酸,且可以是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个氨基酸长度。

[0432] 示例性的柔性接头包括甘氨酸聚合物(G)_n、甘氨酸-丝氨酸聚合物(包括,例如,(GS)_n、(GSGGS)_n (SEQ ID NO: 191)和(GGGGS)_n (SEQ ID NO: 192),其中n是至少1的整数)、甘氨酸-丙氨酸聚合物、丙氨酸-丝氨酸聚合物和本领域已知的其它柔性接头。甘氨酸和甘氨酸-丝氨酸聚合物是相对未结构化的,且因此可以能够充当组分之间的中性连接物。甘氨酸接近比甚至丙氨酸显著更多的phi-psi空间,并且比具有更长侧链的残基受到更多的限制(参见Scheraga, Rev. Computational Chem. 11173-142 (1992))。示例性的柔性接头包括、但不限于Gly-Gly-Ser-Gly (SEQ ID NO: 193)、Gly-Gly-Ser-Gly-Gly (SEQ ID NO: 194)、Gly-Ser-Gly-Ser-Gly (SEQ ID NO: 195)、Gly-Ser-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO: 196)、Gly-Gly-Gly-Ser-Gly (SEQ ID NO: 197)、Gly-Ser-Ser-Ser-Gly (SEQ ID NO: 198)等。普通技术人员会认识到,可活化抗体的设计可以包括完全地或部分地柔性的接头,以致于所述接头可以包括柔性接头以及赋予更少柔性结构以提供期望的可活化抗体结构的一个或多个部分。

[0433] 本发明也提供了包括可活化的抗-PDL1抗体的组合物和方法,所述可活化的抗-PDL1抗体包括特异性地结合PDL1的抗体或抗体片段(AB),其中所述AB与掩蔽部分(MM)偶联,所述掩蔽部分(MM)降低所述AB的结合其靶标的能力。在某些实施方案中,所述可活化的抗-PDL1抗体还包括是蛋白酶底物的可切割部分(CM)。本文提供的组合物和方法能够将一个或多个试剂连接至AB中的一个或多个半胱氨酸残基,而不损害所述可活化的抗-PDL1抗体的活性(例如,掩蔽、活化或结合活性)。在某些实施方案中,本文提供的组合物和方法能够将一个或多个试剂连接至AB中的一个或多个半胱氨酸残基,而不减少或以其它方式扰乱所述MM内的一个或多个二硫键。本文提供的组合物和方法会产生与一种或多种试剂(例如,多种治疗剂、诊断剂和/或预防剂中的任一种)缀合的可活化的抗-PDL1抗体,例如,在某些实施方案中,没有与所述可活化的抗-PDL1抗体的MM缀合的任何试剂。本文提供的组合物和方法会产生缀合的可活化的抗-PDL1抗体,其中所述MM保留有效地和高效地掩蔽处于未切割状态的可活化抗体的AB的能力。本文提供的组合物和方法会产生缀合的可活化的抗-PDL1抗体,其中所述可活化抗体在有可以切割CM的蛋白酶存在下仍然被活化,即,被切割。

[0434] 所述可活化的抗-PDL1抗体具有至少一个试剂缀合点,但是在本文提供的方法和组合物中,小于所有可能的缀合点可用于缀合试剂。在某些实施方案中,一个或多个缀合点是在二硫键中涉及的硫原子。在某些实施方案中,一个或多个缀合点是在链间二硫键中涉及的硫原子。在某些实施方案中,一个或多个缀合点是在链间硫键中涉及的硫原子,但不是

在链内二硫键中涉及的硫原子。在某些实施方案中,一个或多个缀合点是半胱氨酸或含有硫原子的其它氨基酸残基的硫原子。这样的残基可以天然地存在于抗体结构中,或可以通过定位诱变、化学转化或非天然氨基酸的错误掺入而掺入抗体中。

[0435] 还提供了制备可活化的抗-PDL1抗体的缀合物的方法,所述缀合物具有在所述AB中的一个或多个链间二硫键和在所述MM中的一个或多个链内二硫键,并提供了可与游离巯基反应的药物。所述方法通常包括:用还原剂(例如,TCEP)部分地还原所述可活化抗体中的链间二硫键;和使可与游离巯基反应的药物缀合至所述部分地还原的可活化抗体。本文中使用的术语“部分还原”表示这样的情形:其中使可活化的抗-PDL1抗体与还原剂接触,并还原小于全部二硫键,例如,小于所有可能的缀合位点。在某些实施方案中,还原小于99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%或小于5%的所有可能的缀合位点。

[0436] 在其它实施方案中,提供了还原可活化的抗-PDL1抗体和使试剂(例如,药物)与可活化的抗-PDL1抗体缀合从而导致所述试剂的布置的选择性的方法。所述方法通常包括用还原剂部分地还原可活化的抗-PDL1抗体,使得所述可活化抗体的掩蔽部分或其它非-AB部分中的任何缀合位点没有被还原,并将所述试剂与所述AB中的链间巯基缀合。选择缀合位点,从而允许期望的试剂布置以允许在期望的位点处发生缀合。所述还原剂是,例如,TCEP。通过鉴别产生缀合的可活化抗体(其中MM保留有效地和高效地掩蔽处于未切割状态的可活化抗体的AB的能力)的条件,确定还原反应条件,例如,还原剂与可活化抗体的比率、温育的持续时间、温育过程中的温度、还原反应溶液的pH等。还原剂与可活化的抗-PDL1抗体的比率将随可活化抗体而变化。在某些实施方案中,还原剂与可活化的抗-PDL1抗体的比率将在约20:1至1:1、约10:1至1:1、约9:1至1:1、约8:1至1:1、约7:1至1:1、约6:1至1:1、约5:1至1:1、约4:1至1:1、约3:1至1:1、约2:1至1:1、约20:1至1:1.5、约10:1至1:1.5、约9:1至1:1.5、约8:1至1:1.5、约7:1至1:1.5、约6:1至1:1.5、约5:1至1:1.5、约4:1至1:1.5、约3:1至1:1.5、约2:1至1:1.5、约1.5:1至1:1.5、或约1:1至1:1.5的范围内。在某些实施方案中,所述比率是在约5:1至1:1的范围内。在某些实施方案中,所述比率是在约5:1至1.5:1的范围内。在某些实施方案中,所述比率是在约4:1至1:1的范围内。在某些实施方案中,所述比率是在约4:1至1.5:1的范围内。在某些实施方案中,所述比率是在约8:1至约1:1的范围内。在某些实施方案中,所述比率是在约2.5:1至1:1的范围内。

[0437] 在某些实施方案中,提供了还原可活化的抗-PDL1抗体的AB中的链间二硫键并将试剂(例如,含巯基试剂诸如药物)缀合至得到的链间巯基以在AB上选择性地定位试剂的方法。所述方法通常包括用还原剂部分地还原所述AB以形成至少两个链间巯基,而不形成所述可活化抗体中的所有可能的链间巯基;和将所述试剂缀合至所述部分地还原的AB的链间巯基。例如,将所述可活化抗体的AB在期望的还原剂:可活化抗体比率在约37℃部分地还原约1小时。在某些实施方案中,还原剂与可活化抗体的比率将是在约20:1至1:1、约10:1至1:1、约9:1至1:1、约8:1至1:1、约7:1至1:1、约6:1至1:1、约5:1至1:1、约4:1至1:1、约3:1至1:1、约2:1至1:1、约20:1至1:1.5、约10:1至1:1.5、约9:1至1:1.5、约8:1至1:1.5、约7:1至1:1.5、约6:1至1:1.5、约5:1至1:1.5、约4:1至1:1.5、约3:1至1:1.5、约2:1至1:1.5、约1.5:1至1:1.5或约1:1至1:1.5的范围内。在某些实施方案中,所述比率是在约5:1至1:1的范围内。在某些实施方案中,所述比率是在约5:1至1.5:1的范围内。在某些实施方案中,所述比

率是在约4:1至1:1的范围内。在某些实施方案中,所述比率是在约4:1至1.5:1的范围内。在某些实施方案中,所述比率是在约8:1至约1:1的范围内。在某些实施方案中,所述比率是在约2.5:1至1:1的范围内。

[0438] 所述含巯基试剂可以是,例如,半胱氨酸或N-乙酰基半胱氨酸。所述还原剂可以是,例如,TCEP。在某些实施方案中,可以在缀合之前使用例如柱色谱法、透析或渗滤纯化所述还原的可活化抗体。可替换地,在部分还原之后和在缀合之前没有纯化所述还原的抗体。

[0439] 本发明还提供了部分地还原的可活化的抗-PDL1抗体,其中所述可活化抗体中的至少一个链间二硫键已经用还原剂还原,而不扰乱所述可活化抗体中的任何链内二硫键,其中所述可活化抗体包括特异性地结合PDL1的抗体或其抗原结合片段(AB)、抑制处于未切割状态的可活化抗体的AB与PDL1靶标的结合的掩蔽部分(MM)和与所述AB偶联的可切割部分(CM),其中所述CM是作为蛋白酶底物起作用的多肽。在某些实施方案中,所述MM经由所述CM偶联至所述AB。在某些实施方案中,所述可活化抗体的一个或多个链内二硫键没有被所述还原剂扰乱。在某些实施方案中,所述可活化抗体内的MM的一个或多个链内二硫键没有被所述还原剂扰乱。在某些实施方案中,处于未切割状态的可活化抗体具有如下从N-端至C-端的结构排列:MM-CM-AB或AB-CM-MM。在某些实施方案中,还原剂是TCEP。

[0440] 本发明也提供了部分地还原的可活化抗体,其中所述可活化抗体中的至少一个链间二硫键已经用还原剂还原,而不扰乱所述可活化抗体中的任何链内二硫键,其中所述可活化抗体包括特异性地结合靶标(例如,PDL1)的抗体或其抗原结合片段(AB)、抑制处于未切割状态的可活化抗体的AB与靶标的结合的掩蔽部分(MM)和与所述AB偶联的可切割部分(CM),其中所述CM是作为至少一种蛋白酶的底物起作用的多肽。在某些实施方案中,所述MM经由所述CM偶联至所述AB。在某些实施方案中,所述可活化抗体的一个或多个链内二硫键没有被所述还原剂扰乱。在某些实施方案中,所述可活化抗体内的MM的一个或多个链内二硫键没有被所述还原剂扰乱。在某些实施方案中,处于未切割状态的可活化抗体具有如下从N-端至C-端的结构排列:MM-CM-AB或AB-CM-MM。在某些实施方案中,还原剂是TCEP。

[0441] 在某些实施方案中,本文描述的可活化抗体也包括与可活化抗体缀合的试剂。在某些实施方案中,所述缀合的试剂是治疗剂,诸如抗炎剂和/或抗肿瘤剂。在这样的实施方案中,所述试剂缀合至所述可活化抗体的碳水化合物部分,例如,在某些实施方案中,其中所述碳水化合物部分位于所述可活化抗体中的抗体或抗原结合片段的抗原结合区之外。在某些实施方案中,所述试剂缀合至所述可活化抗体中的抗体或抗原结合片段的巯基。

[0442] 在某些实施方案中,所述试剂是细胞毒性剂诸如毒素(例如,细菌、真菌、植物或动物起源的酶活性毒素或其片段)或放射性同位素(即,放射性缀合物)。

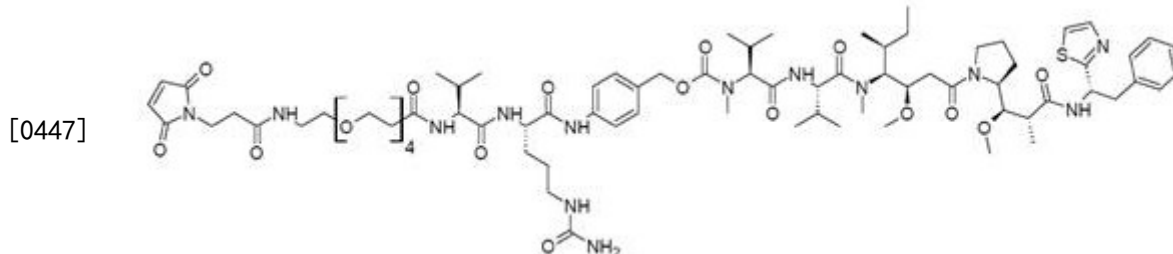
[0443] 在某些实施方案中,所述试剂是可检测的部分,例如,标记或其它标志物。例如,所述试剂是或包括放射性地标记的氨基酸、一个或多个可以用经标记的抗生物素蛋白(例如,抗生蛋白链菌素,其含有可以通过光学法或量热法检测到的荧光标志物或酶活性)检测到的生物素基部分、一个或多个放射性同位素或放射性核素、一个或多个荧光标记、一个或多个酶标记和/或一个或多个化学发光剂。在某些实施方案中,可检测的部分通过间隔物分子连接。

[0444] 本发明也涉及免疫缀合物,其包含与细胞毒性剂诸如毒素(例如,细菌、真菌、植物或动物起源的酶活性毒素或其片段)或放射性同位素(即,放射性缀合物)缀合的抗体。合适

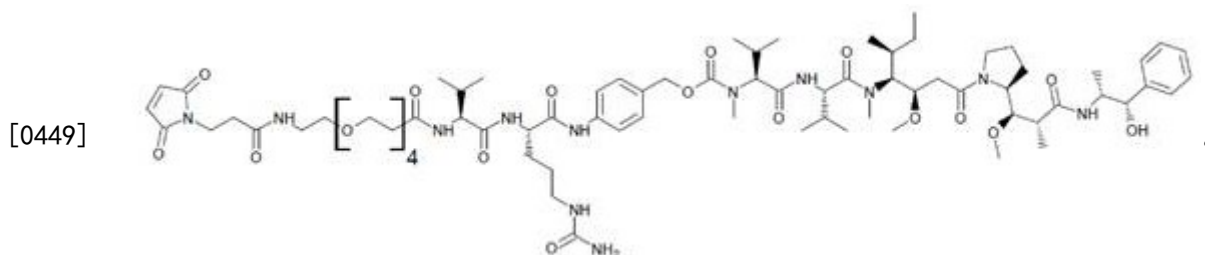
的细胞毒性剂包括,例如,多拉司他汀及其衍生物(例如澳瑞他汀E、AFP、MMAF、MMAE、MMAD、DMAF、DMAE)。例如,所述试剂是单甲基澳瑞他汀E (MMAE)或单甲基澳瑞他汀D (MMAD)。在某些实施方案中,所述试剂是选自表11中所列的组的试剂。在某些实施方案中,所述试剂是多拉司他汀。在某些实施方案中,所述试剂是澳瑞他汀或其衍生物。在某些实施方案中,所述试剂是澳瑞他汀E或其衍生物。在某些实施方案中,所述试剂是单甲基澳瑞他汀E (MMAE)。在某些实施方案中,所述试剂是单甲基澳瑞他汀D (MMAD)。在某些实施方案中,所述试剂是美登木素生物碱或美登木素生物碱衍生物。在某些实施方案中,所述试剂是DM1或DM4。在某些实施方案中,所述试剂是倍癌霉素或其衍生物。在某些实施方案中,所述试剂是卡里奇霉素或其衍生物。在某些实施方案中,所述试剂是吡咯并苯并二氮杂草。在某些实施方案中,所述试剂是吡咯并苯并二氮杂草二聚体。

[0445] 在某些实施方案中,使用马来酰亚胺己酰基-缬氨酸-瓜氨酸接头或马来酰亚胺PEG-缬氨酸-瓜氨酸接头将所述试剂与所述AB连接。在某些实施方案中,使用马来酰亚胺己酰基-缬氨酸-瓜氨酸接头将所述试剂与所述AB连接。在某些实施方案中,使用马来酰亚胺PEG-缬氨酸-瓜氨酸接头将所述试剂与所述AB连接。在某些实施方案中,所述试剂是使用马来酰亚胺PEG-缬氨酸-瓜氨酸-对-氨基苄氧基羰基接头与所述AB连接的单甲基澳瑞他汀D (MMAD),且该接头净荷构建体在本文中被称作“vc-MMAD”。在某些实施方案中,所述试剂是使用马来酰亚胺PEG-缬氨酸-瓜氨酸-对-氨基苄氧基羰基接头与所述AB连接的单甲基澳瑞他汀E (MMAE),且该接头净荷构建体在本文中被称作“vc-MMAE”。下面显示了vc-MMAD和vc-MMAE的结构:

[0446] vc-MMAD:



[0448] vc-MMAE:



[0450] 本发明也提供了缀合的可活化抗体,其包括与单甲基澳瑞他汀D (MMAD) 净荷连接的可活化抗体,其中所述可活化抗体包括特异性地结合靶标的抗体或其抗原结合片段(AB)、抑制处于未切割状态的可活化抗体的AB与靶标的结合的掩蔽部分(MM)和与所述AB偶联的可切割部分(CM),且所述CM是作为至少一种MMP蛋白酶的底物起作用的多肽。

[0451] 在某些实施方案中,使用用于将试剂连接至AB的几种方法中的任一种,可以缀合所述MMAD-缀合的可活化抗体:(a) 连接至所述AB的碳水化合物部分,或(b) 连接至所述AB的

巯基,或(c)连接至所述AB的氨基,或(d)连接至所述AB的羧酸酯基。

[0452] 在某些实施方案中,所述MMAD净荷经由接头缀合至所述AB。在某些实施方案中,所述MMAD净荷经由接头缀合至所述AB中的半胱氨酸。在某些实施方案中,所述MMAD净荷经由接头缀合至所述AB中的赖氨酸。在某些实施方案中,所述MMAD净荷经由接头(诸如本文中公开的那些残基)缀合至所述AB的另一个残基。在某些实施方案中,所述接头是含巯基的接头。在某些实施方案中,所述接头是可切割的接头。在某些实施方案中,所述接头是不可切割的接头。在某些实施方案中,所述接头选自表13和14中所示的接头。在某些实施方案中,所述可活化抗体和所述MMAD净荷经由马来酰亚胺己酰基-缬氨酸-瓜氨酸接头连接。在某些实施方案中,所述可活化抗体和所述MMAD净荷经由马来酰亚胺PEG-缬氨酸-瓜氨酸接头连接。在某些实施方案中,所述可活化抗体和所述MMAD净荷经由马来酰亚胺己酰基-缬氨酸-瓜氨酸-对-氨基苄氧基羰基接头连接。在某些实施方案中,所述可活化抗体和所述MMAD净荷经由马来酰亚胺PEG-缬氨酸-瓜氨酸-对-氨基苄氧基羰基接头连接。在某些实施方案中,使用本文中公开的部分还原和缀合技术将所述MMAD净荷缀合至所述AB。

[0453] 在某些实施方案中,本发明的接头的聚乙二醇(PEG)组分由2个乙二醇单体、3个乙二醇单体、4个乙二醇单体、5个乙二醇单体、6个乙二醇单体、7个乙二醇单体、8个乙二醇单体、9个乙二醇单体或至少10个乙二醇单体形成。在本发明的某些实施方案中,所述PEG组分是支化聚合物。在本发明的某些实施方案中,所述PEG组分是未支化聚合物。在某些实施方案中,所述PEG聚合物组分被氨基或其衍生物、羧基或其衍生物、或者氨基或其衍生物和羧基或其衍生物二者官能化。

[0454] 在某些实施方案中,本发明的接头的PEG组分是氨基-四-乙二醇-羧基或其衍生物。在某些实施方案中,本发明的接头的PEG组分是氨基-三-乙二醇-羧基或其衍生物。在某些实施方案中,本发明的接头的PEG组分是氨基-二-乙二醇-羧基或其衍生物。在某些实施方案中,氨基衍生物是氨基及其缀合的羧基之间的酰胺键的形成。在某些实施方案中,羧基衍生物是羧基及其缀合的氨基之间的酰胺键的形成。在某些实施方案中,羧基衍生物是羧基及其缀合的羟基之间的酯键的形成。

[0455] 可以使用的酶活性毒素及其片段包括白喉A链、白喉毒素的非结合活性片段、外毒素A链(来自铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*))、蓖麻蛋白A链、相思豆毒蛋白A链、蒴莲根毒蛋白A链、 α -帚曲毒蛋白、油桐(*Aleurites fordii*)蛋白、石竹素蛋白、美洲商陆(*Phytolacca americana*)蛋白(PAPI、PAPII和PAP-S)、苦瓜抑制剂、麻疯树毒蛋白、巴豆毒蛋白、肥皂草抑制剂、白树毒素、丝林霉素、局限曲菌素、酚霉素、依诺霉素和单端孢菌毒素。多种放射性核素可用于生产放射性缀合的抗体。例子包括 ^{212}Bi 、 ^{131}I 、 ^{131}In 、 ^{90}Y 和 ^{186}Re 。

[0456] 使用多种双功能的蛋白偶联剂诸如N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二巯基)丙酸酯(SPDP)、亚氨基硫杂环戊烷(IT)、亚氨酸酯的双功能衍生物(诸如己二亚氨酸二甲酯HCL)、活性酯(诸如辛二酸二琥珀酰亚胺酯)、醛(诸如戊二醛)、二-叠氮基化合物(诸如二(对-叠氮基苯甲酰基)己烷二胺)、二-重氮鎓衍生物(诸如二-(对-重氮鎓苯甲酰基)-乙二胺)、二异氰酸酯(诸如甲苯2,6-二异氰酸酯)和双活性的氟化合物(诸如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)制备抗体和细胞毒性剂的缀合物。例如,可以如在Vitetta等人, *Science* 238: 1098 (1987)中所述制备蓖麻蛋白免疫毒素。碳-14-标记的1-异硫氰酰基苄基-3-甲基二亚乙基三胺五乙酸(MX-DTPA)是用于将放射性核苷酸缀合至抗体的示例性螯合剂(参见W094/

11026)。

[0457] 表11列出了在本文描述的公开内容中可以采用的示例性药学试剂中的一些,但是决不意味着成为穷尽性列表。

[0458] 表11: 用于缀合的示例性药学试剂

<u>细胞毒性剂</u>	
溴瑞他汀类	Turbostatin
溴瑞他汀 E	Phenstatins
单甲基溴瑞他汀 D (MMAD)	Hydroxyphenstatin
单甲基溴瑞他汀 E (MMAE)	海绵抑素 5
去甲基溴瑞他汀 E (DMAE)	海绵抑素 7
溴瑞他汀 F	Halistatin 1
单甲基溴瑞他汀 F (MMAF)	Halistatin 2
去甲基溴瑞他汀 F (DMAF)	Halistatin 3
溴瑞他汀衍生物, 例如, 其酰胺	经修饰的苔藓抑素
溴瑞他汀酯胺	Halocomstatins
溴瑞他汀喹啉	吡咯并苯并咪唑类(PBI)
多拉司他汀类	Cibrostatin6
多拉司他汀衍生物	Doxaliform
[0459] 多拉司他汀 16 DmJ	Anthracyclins 类似物
多拉司他汀 16 Dpv	
美登木素生物碱, 例如 DM-1; DM-4	
美登木素生物碱衍生物	西马多丁类似物(CemCH ₂ -SH)
倍癌霉素	假单胞菌属毒素 A (PE38)变体
倍癌霉素衍生物	假单胞菌属毒素 A (ZZ-PE38)变体
α -鹅膏蕈碱	ZJ-101
蒽环类抗生素	OSW-1
多柔比星	O6-苄基鸟嘌呤的 4-硝基苄氧基羰基衍生物
柔红霉素	拓扑异构酶抑制剂
苔藓抑素类	Hemiasterlin
喜树碱	三尖杉碱
喜树碱衍生物	高三尖杉酯碱
7-取代的喜树碱	吡咯并苯并二氮杂草二聚体(PBDs)
10, 11- 二氟亚甲基二氧基喜树碱	吡咯并苯并二氮杂草

考布他汀类

脱溴海螺毒素

Kahalalide-F

Discodermolide

海鞘素类

抗病毒剂

阿昔洛韦

Vira A

Symmetrel

抗真菌药

制霉菌素

[0460]

另外的抗肿瘤剂

阿霉素

红卫霉素

博来霉素

爱克兰

Velban

安可平

氟尿嘧啶

甲氨蝶呤

塞替派

比生群

诺肖林

硫鸟嘌呤

Procarabizine

阿糖胞苷

官能化的吡咯并苯并二氮杂草

官能化的吡咯并苯并二氮杂草

二聚体

卡里奇霉素类

鬼臼毒素类

紫杉烷类

长春花生物碱类

可缀合的检测试剂

荧光素及其衍生物

异硫氰酸荧光素(FITC)

放射性药物 ^{125}I ^{131}I ^{89}Zr ^{111}In ^{123}I ^{131}I $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ^{201}Tl ^{133}Xe ^{11}C ^{62}Cu ^{18}F ^{68}Ga ^{13}N ^{15}O ^{38}K ^{82}Rb

^{99m}Tc (锝)抗细菌剂

氨基糖苷类

链霉素

新霉素

卡那霉素

阿米卡星

[0461] 庆大霉素

妥布霉素

链霉素 B

大观霉素

氨苄西林

磺胺

多粘菌素

氯霉素

重金属

钡

金

铂

抗-支原体剂

泰洛星

大观霉素

[0462] 本领域普通技术人员会认识到,多种可能的部分可以偶联至本发明产生的抗体(参见,例如,“Conjugate Vaccines”, Contributions to Microbiology and Immunology, J. M. Cruse和R. E. Lewis, Jr (编), Carger Press, New York, (1989),其整个内容通过引用并入本文)。

[0463] 偶联可以通过将结合两个分子的任何化学反应完成,只要所述抗体和其它部分保留它们各自的活性。该连接可以包括许多化学机制,例如共价结合、亲和结合、插入、配位结合和络合。但是,在某些实施方案中,所述结合是共价结合。共价结合可以通过现有侧链的直接缩合或通过外部桥连分子的掺入而实现。许多二价或多价连接试剂可用于将蛋白分子(诸如本发明的抗体)偶联至其它分子。例如,代表性的偶联剂可以包括有机化合物诸如硫代酸酯、碳二亚胺、琥珀酰亚胺酯、二异氰酸酯、戊二醛、重氮苯和环己二胺。该列表无意穷尽本领域已知的各类偶联剂,但是相反,是更常见的偶联剂的示例(参见 Killen和Lindstrom, Jour. Immun. 133:1335-2549 (1984); Jansen等人, Immunological Reviews 62:185-216 (1982);和Vitetta等人, Science 238:1098 (1987))。

[0464] 在某些实施方案中,除了本文提供的组合物和方法以外,还可以修饰缀合的可活化抗体用于通过经修饰的氨基酸序列(其被插入或以其它方式包括在可活化抗体序列中)进行位点特异性缀合。将这些经修饰的氨基酸序列设计成允许缀合的试剂在缀合的可活化抗体内的受控布置和/或剂量。例如,所述可活化抗体可以工程改造成包括在轻链和重链上的位置处的半胱氨酸置换,所述置换提供反应性巯基且不会消极地影响蛋白折叠和组装,也不会改变抗原结合。在某些实施方案中,所述可活化抗体可以工程改造成在可活化抗体内包括或以其它方式引入一个或多个非天然氨基酸残基,以提供合适的缀合位点。在某些

实施方案中,所述可活化抗体可以工程改造成在可活化抗体序列内包括或以其它方式引入酶可活化的肽序列。

[0465] 在文献中描述了合适的接头(参见,例如,Ramakrishnan, S. 等人, Cancer Res. 44:201-208 (1984),其描述了MBS (M-马来酰亚胺基苯甲酰基-N-羟基琥珀酰亚胺酯)的应用)。也参见,美国专利号5,030,719,其描述了通过寡肽接头与抗体偶联的卤代乙酰基酰肼衍生物的应用。在某些实施方案中,合适的接头包括:(i) EDC (1-乙基-3-(3-二甲基氨基-丙基)碳二亚胺盐酸盐;(ii) SMPT (4-琥珀酰亚胺基氧基羰基- α -甲基- α -(2-吡啶基(pridyl))-二硫基)-甲苯(Pierce Chem. Co., 目录号(21558G);(iii) SPDP (琥珀酰亚胺基-6 [3-(2-吡啶基二硫基)丙酰氨基]己酸盐(Pierce Chem. Co., 目录号21651G);(iv) 磺基-LC-SPDP (磺基琥珀酰亚胺基6 [3-(2-吡啶基二硫基)-丙酰胺]己酸盐(Pierce Chem. Co. 目录号2165-G);和(v) 与EDC缀合的磺基-NHS (N-羟基磺基-琥珀酰亚胺:Pierce Chem. Co., 目录号24510)。另外的接头包括、但不限于SMCC、磺基-SMCC、SPDB或磺基-SPDB。

[0466] 上述的接头含有具有不同属性的组分,从而导致具有不同生理化学性能的缀合物。例如,烷基羧酸酯的磺基-NHS酯比芳族羧酸酯的磺基-NHS酯更稳定。含有NHS-酯的接头具有比磺基-NHS酯更低的溶解度。此外,接头SMPT含有空间受阻的二硫键,且可以形成具有增加的稳定性的缀合物。一般而言,二硫键的稳定性低于其它键,因为二硫键在体外被切割,从而导致更少的缀合物可用。具体地,磺基-NHS可以增加碳二亚胺偶联的稳定性。碳二亚胺偶联(诸如EDC)当与磺基-NHS结合使用时,形成比单独碳二亚胺偶联反应更耐受水解的酯。

[0467] 在某些实施方案中,所述接头是可切割的。在某些实施方案中,所述接头是不可切割的。在某些实施方案中,存在两个或更多个接头。所述两个或更多个接头都是相同的,即,可切割的或不可切割的,或所述两个或更多个接头是不同的,即,至少一个可切割的和至少一个不可切割的。

[0468] 本发明利用几种将试剂连接至AB的方法:(a) 连接至所述AB的碳水化合物部分,或(b) 连接至所述AB的巯基,或(c) 连接至所述AB的氨基,或(d) 连接至所述AB的羧酸酯基。根据本发明,AB可以通过具有至少2个反应基团的中间接头共价地连接至所述试剂,一个反应基团与AB反应,且一个反应基团与所述试剂反应。可以选择接头(其可以包括任何相容的有机化合物),使得与AB (或试剂)的反应不会不利地影响AB反应性和选择性。此外,接头与试剂的连接可能不会破坏所述试剂的活性。用于与氧化的抗体或氧化的抗体片段反应的合适接头包括含有胺的那些,所述胺选自伯胺、仲胺、胍、酰胍、羟胺、苯基胍、氨基脒和氨基硫脒基团。这样的反应性官能团可以作为接头的结构的部分存在,或可以通过不含有这类基团的接头的合适化学修饰引入。

[0469] 根据本发明,用于连接至还原的AB的合适接头包括具有某些反应基团的那些,所述反应基团能够与还原的抗体或片段的巯基反应。这样的反应基团包括、但不限于反应性卤代烷基(包括,例如,卤代乙酰基)、对-汞基苯甲酸酯基和能够进行Michael-型加成反应的基团(包括,例如,马来酰亚胺和Mitra和Lawton, 1979, J. Amer. Chem. Soc. 101: 3097-3110描述的类型基团)。

[0470] 根据本发明,用于连接至既非氧化又非还原的AB的合适接头包括具有某些官能团

的那些,所述官能团能够与存在于Ab的未修饰的赖氨酸残基中的伯氨基反应。这样的反应基团包括、但不限于NHS羧酸或碳酸酯、磺基-NHS羧酸或碳酸酯、4-硝基苯基羧酸或碳酸酯、五氟苯基羧酸或碳酸酯、酰基咪唑、异氰酸酯和异硫氰酸酯。

[0471] 根据本发明,用于连接至既非氧化又非还原的AB的合适接头包括具有某些官能团的那些,所述官能团能够与存在于Ab的天冬氨酸酯或谷氨酸酯残基中的羧酸基团反应,其已经用合适的试剂活化。合适的活化剂包括EDC,具有或没有添加的NHS或磺基-NHS,和用于羧酰胺形成的其它脱水剂。在这些情况下,存在于合适接头中的官能团将包括伯胺和仲胺、胍、羟胺和酰胍。

[0472] 在将接头连接至AB之前或之后,可以将所述试剂连接至接头。在某些应用中,可能合乎需要的是,首先生成AB-接头中间体,其中所述接头不含有有关的试剂。取决于特定应用,然后可以将特定试剂共价地连接至接头。在某些实施方案中,首先将AB连接至MM、CM和有关的接头,并然后连接至用于缀合目的的接头。

[0473] 支链接头:在具体实施方案中,利用具有多个试剂连接位点的支链接头。对于多位点接头,与AB的单个共价连接会产生能够在许多位点处结合试剂的AB-接头中间体。所述位点可以是醛或巯基或试剂可以连接的任何化学位点。

[0474] 在某些实施方案中,通过单个位点接头在AB上的多个位点处的连接,可以实现较高比活性(或较高的试剂与AB之比)。通过两种方法中的任一种,可以将该多个位点引入AB中。首先,可以在相同AB中产生多个醛基和/或巯基。其次,可以向AB的醛或巯基连接“支链接头”,其具有多个功能位点用于随后连接至接头。支链接头或多位点接头的功能位点可以是醛或巯基,或可以是接头可以连接的任何化学位点。通过组合这两个方案,也就是说,在AB上的几个位点处连接多位点接头,可以得到更高比活性。

[0475] 可切割的接头:易于被补体系统的酶(诸如但不限于u-纤溶酶原激活物、组织型纤溶酶原激活物、胰蛋白酶、纤溶酶或另一种具有蛋白水解活性的酶)切割的肽接头可以用在本发明的一个实施方案中。根据本发明的一种方法,经由易于被补体切割的接头连接试剂。所述抗体选自可以活化补体的种类。抗体-试剂缀合物因而活化补体级联并在靶位处释放试剂。根据本发明的另一种方法,经由易于被具有蛋白水解活性的酶(诸如u-纤溶酶原激活物、组织型纤溶酶原激活物、纤溶酶或胰蛋白酶)切割的接头连接试剂。这些可切割的接头用在包括细胞外毒素(例如,作为非限制性例子,表11中所示的细胞外毒素中的任一种)的缀合的可活化抗体中。

[0476] 可切割的接头序列的非限制性例子提供在表13中。

[0477] 表13: 用于缀合的示例性接头序列

可切割序列的类型	氨基酸序列
<u>纤溶酶可切割的序列</u>	
前-尿激酶	PRFKIIGG (SEQ ID NO: 396)
	PRFRIIGG (SEQ ID NO: 397)
TGFβ	SSRHRRALD (SEQ ID NO: 398)
纤溶酶原	RKSSIIIRMRDVVL (SEQ ID NO: 399)
葡萄球菌激酶	SSSFDKGKYKKGDDA (SEQ ID NO: 400)
	SSSFDKGKYKRGDDA (SEQ ID NO: 401)
<u>因子 Xa 可切割的序列</u>	IEGR (SEQ ID NO: 402)
	IDGR (SEQ ID NO: 403)
	GGSIDGR (SEQ ID NO: 404)
<u>MMP 可切割的序列</u>	
明胶酶 A	PLGLWA (SEQ ID NO: 405)
<u>胶原酶可切割的序列</u>	
小牛皮肤胶原(α1(I)链)	GPQGIAGQ (SEQ ID NO: 406)
小牛皮肤胶原(α2(I)链)	GPQGLLGA (SEQ ID NO: 407)
牛软骨胶原(α1(II)链)	GIAGQ (SEQ ID NO: 408)
人肝胶原(α1(III)链)	GPLGIAGI (SEQ ID NO: 409)
人 α ₂ M	GPEGLRVG (SEQ ID NO: 410)
人 PZP	YGAGLGVV (SEQ ID NO: 411)
	AGLGVVER (SEQ ID NO: 412)
	AGLISST (SEQ ID NO: 413)
大鼠 α ₁ M	EPQALAMS (SEQ ID NO: 414)
	QALAMSAI (SEQ ID NO: 415)
大鼠 α ₂ M	AAYHLVSQ (SEQ ID NO: 416)
	MDAFLESS (SEQ ID NO: 417)
大鼠 α ₁ I ₃ (2J)	ESLPVVAV (SEQ ID NO: 418)
大鼠 α ₁ I ₃ (27J)	SAPAVESE (SEQ ID NO: 419)
人成纤维细胞胶原酶	DVAQFVLT (SEQ ID NO: 420)
<u>(自溶性切割)</u>	VAQFVLTE (SEQ ID NO: 421)
	AQFVLTEG (SEQ ID NO: 422)
	PVQPIGPQ (SEQ ID NO: 423)

[0479] 另外,试剂可以经由二硫键(例如,半胱氨酸分子上的二硫键)连接至AB。由于许多肿瘤天然地释放高水平的谷胱甘肽(还原剂),这可以还原二硫键,随后在递送部位处释放试剂。在某些实施方案中,将修饰CM的还原剂还可以修饰缀合的可活化抗体的接头。

[0480] 间隔物和可切割的元件:在某些实施方案中,可能必须以优化所述试剂和所述可活化抗体的AB之间的间距这样的方式构建接头。这可以通过使用以下一般结构的接头来完成:

[0481] W - (CH₂)_n - Q

[0482] 其中

[0483] W是--NH--CH₂--或--CH₂--;

[0484] Q是氨基酸、肽;且

[0485] n是0-20的整数。

[0486] 在某些实施方案中,所述接头可以包含间隔物元件和可切割的元件。所述间隔物元件用于使所述可切割的元件定位成远离所述AB的核心,使得所述可切割的元件更易接近负责切割的酶。上述的某些支链接头可以充当间隔物元件。

[0487] 贯穿该讨论,应当理解,接头与试剂的连接(或间隔物元件与可切割的元件的连接,或可切割的元件与试剂的连接)不需要是特定连接或反应模式。提供合适稳定性和生物相容性的产物的任何反应是可接受的。

[0488] **血清补体和接头的选择**:根据本发明的一种方法,当希望试剂的释放时,使用这样的AB:其为可以活化补体的类别的抗体。得到的缀合物保留结合抗原和活化补体级联的能力。因而,根据本发明的该实施方案,将试剂连接至可切割的接头或可切割的元件的一端,并将接头基团的另一端连接至AB上的特定位点。例如,如果所述试剂具有羟基或氨基,它可以分别经由酯或酰胺键连接至肽、氨基酸或其它适当地选择的接头的羧基端。例如,这样的试剂可以经由碳二亚胺反应连接至接头肽。如果所述试剂含有干扰与接头的连接的官能团,可以将这些干扰性官能团在连接之前封闭并在制成产物缀合物或中间体以后解封闭。然后将接头的相对端或氨基端直接地或在进一步修饰以后用于结合能够活化补体的AB。

[0489] 接头(或接头的间隔物元件)可以具有任何期望的长度,其一端可以共价地连接至所述可活化抗体的AB上的特定位点。所述接头或间隔物元件的另一端可以连接至氨基酸或肽接头。

[0490] 因而,当这些缀合物在有补体存在下结合抗原时,将试剂连接至接头的酰胺或酯键将被切割,导致处于它的活性形式的试剂的释放。当施用给受试者时,这些缀合物将完成试剂在靶位处的递送和释放,且对于药学试剂、抗生素、抗代谢药、抗增殖试剂等的体内递送而言是特别有效的,如在表11中的那些所呈现的,但不限于此。

[0491] **用于在没有补体活化下的释放的接头**:在靶向递送的另一种应用中,试剂在没有补体活化下的释放是期望的,因为补体级联的活化将最终裂解靶细胞。因此,当试剂的递送和释放应当在不杀死靶细胞的情况下完成时,该方案是有用的。当期望细胞介质(诸如激素、酶、皮质类固醇、神经递质、基因或酶)向靶细胞的递送时,这是目标。可以如下制备这些缀合物:将试剂经由接头连接至不能活化补体的AB,所述接头适度地易于被血清蛋白酶切割。当将该缀合物施用给个体时,抗原-抗体复合物将快速地形成,而试剂的切割将缓慢地发生,从而导致化合物在靶位处的释放。

[0492] **生化交联剂**:在某些实施方案中,使用某些生化交联剂可以将可活化抗体缀合至一个或多个治疗剂。交联剂形成将两个不同分子的官能团连在一起的分子桥。为了以逐步方式连接两个不同的蛋白,可以使用消除不希望的同聚物形成的异双功能交联剂。

[0493] 可被溶酶体蛋白酶切割的肽基接头也是有用的,例如,Val-Cit、Val-Ala或其它二肽。另外,可以使用在溶酶体的低pH环境中可切割的酸不稳定的接头,例如:二-唾液酸基醚。其它合适的接头包括组织蛋白酶不稳定的底物,特别是在酸性pH表现出最佳功能的那些。

[0494] 在表14中提及示例性的异双功能交联剂。

[0495] 表14: 示例性的异双功能交联剂

异双功能交联剂			
接头	可反应的目标	优点和应用	交联以后间隔臂长度(埃)
SMPT	伯胺	更大的稳定性	11.2Å
SPDP	巯基	巯基化	6.8Å
	伯胺		
LC-SPDP	巯基	可切割的交联	15.6Å
	伯胺		
磺基-LC-SPDP	巯基	延长的间隔臂	15.6Å
	伯胺		
SMCC	巯基	延长的间隔臂	15.6Å
	伯胺		
磺基-SMCC	巯基	水溶性的	11.6Å
	伯胺		
MBS	巯基	稳定的马来酰亚胺反应基团	11.6Å
	伯胺		
磺基-MBS	巯基	酶-抗体缀合	9.9Å
	伯胺		
SIAB	巯基	半抗原-载体蛋白缀合	9.9Å
	伯胺		
磺基-SIAB	巯基	水溶性的	10.6Å
	伯胺		
SMPB	巯基	酶-抗体缀合	10.6Å
	伯胺		
磺基-SMPB	巯基	延长的间隔臂	14.5Å
	伯胺		
EDE/磺基-NHS	巯基	水溶性的	14.5Å
	伯胺		
ABH	伯胺	半抗原-载体缀合	0
	羧基		
ABH	羧基	与糖基反应	11.9Å
	碳水化合物		
ABH	非选择性的		

[0496] 不可切割的接头或直接连接：在本发明的某些实施方案中，可以设计所述缀合物，使得所述试剂被递送至靶标但是不释放。这可以如下实现：将试剂直接地或经由不可切割的接头连接至AB。

[0498] 这些不可切割的接头可以包括可被修饰成包括官能团的氨基酸、肽、D-氨基酸或其它有机化合物，所述官能团可以随后用于通过本文所述的方法连接至AB。这样的有机接头的通式可以是

[0499] $W - (CH_2)_n - Q$

[0500] 其中

[0501] W是 $--NH--CH_2--$ 或 $--CH_2--$ ；

[0502] Q是氨基酸、肽；且

[0503] n是0-20的整数。

[0504] 不可切割的缀合物：在某些实施方案中，可以将化合物连接至不会活化补体的AB。当使用不能补体活化的AB时，该连接可以如下完成：使用易于被活化的补体切割的接头，或使用不易于被活化的补体切割的接头。

[0505] 还可以将本文公开的抗体配制为免疫脂质体。通过本领域已知的方法，诸如在以下文献中描述的方法，制备含有抗体的脂质体：Epstein等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 3688 (1985)；Hwang等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77: 4030 (1980)；和美国专利号4,485,045和4,544,545。在美国专利号5,013,556中公开了具有增强的循环时间的脂质体。

[0506] 用包含磷脂酰胆碱、胆固醇和PEG-衍生化的磷脂酰乙醇胺(PEG-PE)的脂质组合物，通过反相蒸发方法可以制备特别有用的脂质体。将脂质体穿过确定孔径的过滤器挤出以产生具有期望直径的脂质体。可以将本发明的抗体的Fab'片段经由二硫键互换反应缀合至如在Martin等人，J. Biol. Chem., 257: 286-288 (1982)中所述的脂质体。

[0507] 定义：

[0508] 除非另有定义，否则与本发明关联使用的科学和技术术语应当具有本领域普通技术人员通常理解的含义。术语“一个”实体或“一种”实体表示一个/种或多个/种该实体。例如，化合物表示一个/种或多个/种化合物。这样，术语“一个”、“一种”、“一个/种或多个/种”和“至少一个/种”可以互换使用。而且，除非上下文有其它规定，否则单数形式的术语应当包括复数，而复数形式的术语应当包括单数。通常，本文描述的关于细胞和组织培养、分子生物学和蛋白和寡核苷酸或多核苷酸化学和杂交使用的命名法及其技术是本领域众所周知和常用的那些。关于重组DNA、寡核苷酸合成和组织培养和转化(例如，电穿孔、脂转染)使用标准技术。酶反应和纯化技术根据生产商的说明书进行，或者如本领域常规实现的进行，或者如本文中所述进行。前述技术和操作通常按照本技术领域众所周知的以及如贯穿本说明书中所引用和讨论的各种一般性的以及更具体的参考文献中所记载的常规方法进行。参见例如，Sambrook等人，Molecular Cloning: A Laboratory Manual (第2版，Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989))。关于本文描述的分析化学、合成有机化学和医学和药物化学所使用的命名法及其实验室操作和技术是本领域众所周知和常用的那些。将标准技术用于化学合成、化学分析、药物制备、配制和递送及患者治疗。

[0509] 如根据本发明使用的，除非另有说明，否则下面的术语应当理解为具有下述含义：

[0510] 本文中使用的术语“抗体”表示免疫球蛋白分子和免疫球蛋白(Ig)分子(即，含有特异性地结合抗原(与抗原免疫反应)的抗原结合位点的分子)的免疫活性部分。“特异性地结合”或“与……免疫反应”或“免疫特异性地结合”是指，所述抗体与期望的抗原的一个或多个抗原决定簇反应，并且不与其它多肽反应或以低得多的亲和力结合($K_d > 10^{-6}$)。抗体包括、但不限于多克隆抗体、单克隆抗体、嵌合抗体、结构域抗体、单链、Fab和F(ab')₂片段、scFv和Fab表达文库。

[0511] 已知基础抗体结构单元包含四聚体。每个四聚体由两个相同的多肽链对组成，每一对具有一个“轻”链(约25 kDa)和一个“重”链(约50-70 kDa)。每条链的氨基端部分包括主要负责抗原识别的约100-110个或更多个氨基酸的可变区。每条链的羧基端部分限定主要负责效应子功能的恒定区。一般而言，从人类获得的抗体分子涉及种类IgG、IgM、IgA、IgE

和IgD中的任一种,所述种类彼此的差别在于分子中存在的重链的性质。某些种类还具有亚类,诸如IgG₁、IgG₂和其它。此外,在人类中,轻链可以是 κ 链或 λ 链。

[0512] 本文中使用的术语“单克隆抗体”(mAb)或“单克隆抗体组合物”表示这样的抗体分子群体:其仅含有由独特的轻链基因产物和独特的重链基因产物组成的抗体分子的一个分子种类。具体地,单克隆抗体的互补性决定区(CDR)在群体的所有分子中是相同的。MAb含有能够与抗原的特定表位免疫反应的抗原结合位点,其特征在于对该表位的独特结合亲和力。

[0513] 术语“抗原结合位点”或“结合部分”表示免疫球蛋白分子的参与抗原结合的部分。抗原结合位点由重(“H”)链和轻(“L”)链的N-端可变(“V”)区的氨基酸残基形成。重链和轻链的V区内的三个高度不同的段(被称作“高变区”)插入在被称为“框架区”或“FR”的更保守的侧接段之间。因而,术语“FR”表示在免疫球蛋白的高变区之间或附近天然存在的氨基酸序列。在抗体分子中,轻链的三个高变区和重链的三个高变区在三维空间中相对于彼此布置以形成抗原结合表面。所述抗原结合表面与结合的抗原的三维表面互补,并且每个重链和轻链的三个高变区被称作“互补性决定区”或“CDR”。氨基酸向每个结构域的分配是根据Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987和1991))或Chothia & Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)、Chothia等人. Nature 342:878-883 (1989)的定义。

[0514] 本文中使用的术语“表位”包括能够特异性地结合免疫球蛋白、scFv或T细胞受体的任何蛋白决定簇。术语“表位”包括能够特异性地结合免疫球蛋白或T-细胞受体的任何蛋白决定簇。表位决定簇通常由分子(诸如氨基酸或糖侧链)的化学活性的表面分型(grouping)组成,并且通常具有特定三维结构特征以及特定电荷特征。例如,可以针对多肽的N-端或C-端肽产生抗体。当解离常数 $\leq 1\mu\text{M}$ 时,在某些实施方案中, $\leq 100\text{ nM}$ 和在某些实施方案中, $\leq 10\text{ nM}$,认为抗体特异性地结合抗原。

[0515] 本文中使用的术语“特异性结合”、“免疫结合”和“免疫学结合性质”表示在免疫球蛋白分子和所述免疫球蛋白的特异性抗原之间发生的类型的非共价相互作用。可以以相互作用的解离常数(K_d)的方式表示免疫学结合相互作用的强度或亲和力,其中较小的K_d代表较大的亲和力。使用本领域众所周知的方法,可以定量选定的多肽的免疫学结合性质。一种这样的方法需要测量抗原结合位点/抗原复合物形成和解离的速率,其中那些速率取决于复合物配偶体的浓度、相互作用的亲和力、和在两个方向同样影响速率的几何参数。因而,“结合速率常数”(K_{on})和“解离速率常数”(K_{off})都可以通过计算浓度以及结合和解离的实际速率来确定(参见Nature 361:186-87 (1993))。K_{off}/K_{on}的比率使与亲和力不相关的所有参数能够被消去,并等于解离常数K_d。(参见,通常,Davies等人(1990) Annual Rev Biochem 59:439-473)。如通过测定诸如放射性配体结合测定或本领域技术人员已知的类似测定所测量的,当结合常数(K_d) $\leq 1\mu\text{M}$ 时,在某些实施方案中 $\leq 100\text{ nM}$,在某些实施方案中 $\leq 10\text{ nM}$,且在某些实施方案中 $\leq 100\text{ pM}$ 至约 1 pM ,认为本发明的抗体特异性地结合靶标。

[0516] 本文中使用的术语“分离的多核苷酸”应当指基因组、cDNA或合成起源或它们的某种组合的多核苷酸,根据其起源,“分离的多核苷酸”(1)不与在自然界中在其中发现“分离的多核苷酸”的多核苷酸的全部或一部分结合,(2)与它在自然界中没有连接的多核苷酸可操作地连接,或(3)在自然界中不作为较大序列的部分存在。根据本发明的多核苷酸包括编

码本文所示的重链免疫球蛋白分子的核酸分子和编码本文所示的轻链免疫球蛋白分子的核酸分子。

[0517] 术语“分离的蛋白”在本文中用于指cDNA、重组RNA或合成起源的蛋白或它们的某种组合,根据其起源或衍生来源,所述“分离的蛋白”(1)不与自然界中存在的蛋白结合,(2)不含来自相同来源的其它蛋白,例如,不含鼠蛋白,(3)由来自不同物种的细胞表达,或(4)在自然界中不存在。

[0518] 术语“多肽”在本文中用作通用词,表示多肽序列的天然蛋白、片段或类似物。因此,天然蛋白片段和类似物是多肽属的种。根据本发明的多肽包含本文所示的重链免疫球蛋白分子和本文所示的轻链免疫球蛋白分子,以及由包含重链免疫球蛋白分子和轻链免疫球蛋白分子(诸如 κ 轻链免疫球蛋白分子,并且反之亦然)的组合形成的抗体分子,及其片段和类似物。

[0519] 本文中使用的术语“天然存在的”当应用于对象时表示对象可以在自然界中找到。例如,可以从自然界来源中分离并且没有被人在实验室中或以其它方式有意地修饰的、存在于生物体(包括病毒)中的多肽或多核苷酸序列是天然存在的。

[0520] 本文中使用的术语“可操作地连接”表示,如此描述的组分的位置处于允许它们以其预期方式发挥功能的关系。“可操作地连接”至编码序列的控制序列以这样的方式连接:在与控制序列相容的条件下实现编码序列的表达。

[0521] 本文中使用的术语“控制序列”表示这样的多核苷酸序列:其是实现它们所连接的编码序列的表达和加工所必需的。这样的控制序列的性质随宿主生物而变化,在原核生物中,这样的控制序列通常包括启动子、核糖体结合位点和转录终止序列,在真核生物中,这样的控制序列通常包括启动子和转录终止序列。术语“控制序列”意图至少包括其存在对于表达和加工而言是必需的所有组分,并且还可以包括其存在是有利的额外组分,例如,前导序列和融合配偶体序列。本文提及的术语“多核苷酸”是指长度为至少10个碱基的核苷酸,其呈核糖核苷酸或脱氧核苷酸或任一类核苷酸的修饰形式。该术语包括单链和双链形式的DNA。

[0522] 本文提及的术语寡核苷酸包括通过天然存在的和非天然存在的寡核苷酸连接物连接在一起的、天然存在的和经修饰的核苷酸。寡核苷酸是通常包含200个碱基或更少的长度的多核苷酸子集。在某些实施方案中,寡核苷酸是10-60个碱基的长度,且在某些实施方案中,12、13、14、15、16、17、18、19或20-40个碱基的长度。寡核苷酸通常是单链的,例如,对于探针而言,但是寡核苷酸可以是双链的,例如,用于构建基因突变体。本发明的寡核苷酸是有义或反义寡核苷酸。

[0523] 本文提及的术语“天然存在的核苷酸”包括脱氧核糖核苷酸和核糖核苷酸。本文提及的术语“修饰的核苷酸”包括具有修饰的或取代的糖基等的核苷酸。本文提及的术语“寡核苷酸连接物”包括寡核苷酸连接物,诸如硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、硒代磷酸酯、二硒代磷酸酯、苯胺基硫代磷酸酯(phosphoroanilothioate)、苯胺基磷酸酯(phoshoraniladate)、氨基磷酸酯等。参见例如,LaPlanche等人. Nucl. Acids Res. 14: 9081 (1986); Stec等人. J. Am. Chem. Soc. 106:6077 (1984), Stein等人. Nucl. Acids Res. 16:3209 (1988), Zon等人. Anti Cancer Drug Design 6:539 (1991); Zon等人. Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach, 第87-108页(F.

Eckstein, 编, Oxford University Press, Oxford England (1991)); Stec等人.美国专利号5,151,510; Uhlmann and Peyman Chemical Reviews 90:543 (1990)。如果需要的话,寡核苷酸可以包括检测标记。

[0524] 如本文中使用的,20种常规氨基酸和它们的缩写遵循常规用法。参见 Immunology - A Synthesis (第2版, E.S. Golub和D.R. Green, 编, Sinauer Associates, Sunderland, Mass. (1991))。20种常规氨基酸、非天然氨基酸(诸如 α -、 α -二取代的氨基酸、N-烷基氨基酸、乳酸和其它非常规氨基酸)的立体异构体(例如,D-氨基酸)也可以是本发明的多肽的合适组分。非常规氨基酸的例子包括4-羟基脯氨酸、 γ -羧基谷氨酸盐、 ϵ -N,N,N-三甲基赖氨酸、 ϵ -N-乙酰基赖氨酸、O-磷酸丝氨酸、N-乙酰基丝氨酸、N-甲酰基甲硫氨酸、3-甲基组氨酸、5-羟赖氨酸、 σ -N-甲基精氨酸和其它类似的氨基酸和亚氨基酸(例如,4-羟基脯氨酸)。在本文所用的多肽符号中,根据标准用法和惯例,左手方向是氨基端方向,并且右手方向是羧基端方向。

[0525] 类似地,除非另有说明,单链多核苷酸序列的左手端是5'端,双链多核苷酸序列的左手方向被称作5'方向。新生RNA转录物的5'至3'添加方向被称作转录方向,具有与RNA相同的序列的DNA链上的序列区域(并且其是在RNA转录物的5'末端的5'侧)被称作“上游序列”,具有与RNA相同的序列的DNA链上的序列区域(并且其是在RNA转录物的3'末端的3'侧)被称作“下游序列”。

[0526] 如应用于多肽的,术语“实质同一性”是指,当最佳地比对时(诸如通过程序GAP或BESTFIT使用默认缺口权重),两个肽序列具有至少80序列同一性百分比,在某些实施方案中,至少90序列同一性百分比,在某些实施方案中,至少95序列同一性百分比,和在某些实施方案中,至少99序列同一性百分比。

[0527] 在某些实施方案中,不相同的残基位置的差别在于保守氨基酸置换。

[0528] 如本文所讨论的,预见到抗体或免疫球蛋白分子的氨基酸序列中的微小变异被本发明包括,只要所述氨基酸序列中的变异维持至少75%,在某些实施方案中,至少80%、90%、95%,且在某些实施方案中,99%。具体地,预见到保守氨基酸替换。保守替换是在它们的侧链中相关的氨基酸家族内发生的那些替换。遗传上编码的氨基酸通常分为以下家族:(1)酸性氨基酸是天冬氨酸、谷氨酸;(2)碱性氨基酸是赖氨酸、精氨酸、组氨酸;(3)非极性氨基酸是丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸,和(4)不带电荷的极性氨基酸是甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、半胱氨酸、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸。亲水氨基酸包括精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、组氨酸、赖氨酸、丝氨酸和苏氨酸。疏水氨基酸包括丙氨酸、半胱氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。其它氨基酸家族包括(i)丝氨酸和苏氨酸,其是脂族-羟基家族;(ii)天冬酰胺和谷氨酰胺,其是含有酰胺的家族;(iii)丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸,其是脂族家族;和(iv)苯丙氨酸、色氨酸和酪氨酸,其是芳族家族。例如,合理地预见到,用异亮氨酸或缬氨酸分离替换亮氨酸,用谷氨酸替换天冬氨酸,用丝氨酸替换苏氨酸,或用结构上相关的氨基酸对氨基酸的类似替换,将不会对得到的分子的结合或性能具有重大影响,特别是如果替换不涉及框架位点内的氨基酸。通过测定多肽衍生物的比活性,可以容易地确定氨基酸变化是否产生功能性肽。在本文中详细描述了测定。本领域普通技术人员可以容易地制备抗体或免疫球蛋白分子的片段或类似物。片段或类似物的合适氨基-和羧基-端存在

于功能结构域的边界附近。通过将核苷酸和/或氨基酸序列数据与公共或专有序列数据库进行对比,可以鉴别结构和功能结构域。在某些实施方案中,使用计算机化的对比方法来鉴别存在于已知结构和/或功能的其它蛋白中的序列基序或预测的蛋白构象结构域。鉴别折叠成已知三维结构的蛋白序列的方法是已知的。Bowie等人. *Science* 253:164 (1991)。因而,前述实施例证实,本领域技术人员可以识别可用于限定根据本发明的结构和功能结构域的序列基序和结构构象。

[0529] 合适的氨基酸置换是这样的那些:其(1)减小对蛋白酶解的敏感性,(2)减小对氧化的敏感性,(3)改变关于形成蛋白复合物的结合亲和力,(4)改变结合亲和力,和(5)赋予或修饰这些类似物的其它物理化学或功能性质。类似物可以包括天然存在的肽序列之外的序列的各种突变蛋白。例如,可以在天然存在的序列中(例如,在形成分子间接触的结构域之外的多肽部分中)做出单个或多个氨基酸置换(例如,保守氨基酸置换)。保守氨基酸置换不应当实质上改变亲本序列的结构特征(例如,替换氨基酸不应倾向于破坏发生在亲本序列中的螺旋,或破坏表征亲本序列的其它类型的二级结构)。本领域公知的多肽二级和三级结构的例子描述于Proteins, Structures and Molecular Principles (Creighton, 编, W. H. Freeman and Company, New York (1984)); Introduction to Protein Structure (C. Branden和J. Tooze, 编, Garland Publishing, New York, N.Y. (1991));和Thornton等人. *Nature* 354:105 (1991)。

[0530] 本文中使用的术语“多肽片段”表示这样的多肽:其具有氨基端和/或羧基端缺失和/或一个或多个内部缺失,但是其中剩余的氨基酸序列与推导(例如,从全长cDNA序列推导)的天然存在的序列中的对应位置相同。片段通常是至少5、6、8或10个氨基酸长,在某些实施方案中,至少14个氨基酸长,在某些实施方案中,至少20个氨基酸长,经常至少50个氨基酸长,且在某些实施方案中,至少70个氨基酸长。本文中使用的术语“类似物”表示由至少25个氨基酸的区段构成的多肽,所述多肽与推导的氨基酸序列的一部分具有实质同一性,并且在合适的结合条件下具有与靶标的特异性结合。通常,相对于天然存在的序列,多肽类似物包括保守氨基酸置换(或添加或缺失)。类似物的长度通常是至少20个氨基酸,在某些实施方案中,长度是至少50个氨基酸或更长,并且经常可以与天然存在的全长多肽一样长。

[0531] 术语“试剂”在本文中用于表示化学化合物、化学化合物的混合物、生物大分子、或从生物学材料制备的提取物。

[0532] 本文中使用的术语“标记”或“标记的”表示掺入可检测的标记物,例如,通过放射性地标记的氨基酸的掺入或生物素基部分与多肽的连接,所述生物素基部分可以用经标记的抗生物素蛋白(例如,抗生物素链菌素,其含有可以通过光学法或量热法检测到的荧光标志物或酶活性)检测到。在某些情形下,所述标记或标志物还可以是治疗性的。多种标记多肽和糖蛋白的方法是本领域已知的并且可以使用。用于多肽的标记的例子包括但不限于下述:放射性同位素或放射性核素(例如, ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I)、荧光标记(例如,FITC、罗丹明、镧系磷光体)、酶标记(例如,辣根过氧化物酶、对半乳糖苷酶、萤光素酶、碱性磷酸酶)、化学发光剂、生物素基团、被次级报告物识别的预定多肽表位(例如,亮氨酸拉链对序列、第二抗体的结合位点、金属结合结构域、表位标签)。在某些实施方案中,通过不同长度的间隔臂连接标记来减小潜在的位阻。本文中使用的术语“药学试剂或药物”表示,当适当地施用给患者时,能够诱导期望的治疗效果的化学化合物或组合物。

[0533] 本文中的其它化学术语根据本领域的常规用法使用,如The McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (Parker, S., 编, McGraw-Hill, San Francisco (1985))举例说明的。

[0534] 本文中使用的“基本上纯的”是指,目标物质是存在的优势物质(即,以摩尔计,它比组合物中的任何其它个别物质更丰富),且在某些实施方案中,基本上纯化的级分是组合物,其中目标物质占存在的所有大分子物质的至少约50%(以摩尔计)。

[0535] 通常,基本上纯的组合物占存在于所述组合物中的所有大分子物质的超过约80%,在某些实施方案中,超过约85%、90%、95%和99%。在某些实施方案中,将目标物质纯化至基本上同质(通过常规检测方法在组合物中不可检测出污染物物质),其中该组合物基本上由单一大分子物质组成。

[0536] 术语患者包括人和兽医受试者。

[0537] 本发明的抗体和/或可活化抗体特异性地结合给定靶标,例如,人靶蛋白诸如人PDL1。在本发明中还包括与本文描述的抗体和/或可活化抗体结合相同表位的抗体和/或可活化抗体。在本发明中还包括与本文描述的抗-PDL1抗体和/或抗-PDL1可活化抗体竞争对PDL1(例如,人PDL1)的结合的抗体和/或抗体可活化抗体。在本发明中还包括与本文描述的抗-PDL1抗体和/或抗-PDL1可活化抗体交叉竞争对PDL1(例如,人PDL1)的结合的抗体和/或抗体可活化抗体。

[0538] 本领域技术人员会认识到,无需过多实验,可能如下确定单克隆抗体(例如,鼠单克隆或人源化抗体)是否具有与本文所述的方法使用的单克隆抗体相同的特异性:确定前者是否阻止后者结合靶标。如果正在测试的单克隆抗体与本发明的单克隆抗体竞争,如本发明的单克隆抗体的结合的减小所证实的,那么所述两种单克隆抗体结合相同的或密切相关的表位。用于确定单克隆抗体是否具有本发明的单克隆抗体的特异性的一种替代方法是,将本发明的单克隆抗体与靶标一起预温育,并然后加入正在测试的单克隆抗体以确定所述正在测试的单克隆抗体是否在它的结合靶标的能力方面受到抑制。如果所述正在测试的单克隆抗体受到抑制,那么在所有可能性中,它具有与本发明的单克隆抗体相同的、或在功能上等同的表位特异性。

[0539] 多特异性的可活化抗体

[0540] 本发明也提供了多特异性的抗-PDL1可活化抗体。本文提供的多特异性的可活化抗体是这样的多特异性抗体:其识别PDL1和至少一种或多种不同的抗原或表位,并且其包括与所述多特异性抗体的至少一个抗原-或表位-结合结构域连接的至少一个掩蔽部分(MM),使得所述MM的偶联会减小所述抗原-或表位-结合结构域的结合其靶标的能力。在某些实施方案中,所述MM经由可切割部分(CM)偶联至所述多特异性抗体的抗原-或表位-结合结构域,所述可切割部分(CM)作为至少一种蛋白酶的底物起作用。本文提供的可活化的多特异性抗体在循环中是稳定的,在预期的治疗和/或诊断部位处被活化,但是在正常的(即,健康的)组织中没有被活化,并且当被活化时,表现出至少与对应的未修饰的多特异性抗体相当的与靶标的结合。

[0541] 在某些实施方案中,将所述多特异性的可活化抗体设计成结合免疫效应细胞,在本文中也称作结合免疫效应细胞的多特异性的可活化抗体。在某些实施方案中,将所述多特异性的可活化抗体设计成结合白细胞,在本文中也称作结合白细胞的多特异性的可

活化抗体。在某些实施方案中,将所述多特异性的可活化抗体设计成结合T细胞,在本文中也称作结合T-细胞的多特异性的可活化抗体。在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体结合在白细胞上(诸如在T细胞上、在天然杀伤(NK)细胞上、在骨髓单核细胞上、在巨噬细胞上和/或在另一种免疫效应细胞上)的表面抗原。在某些实施方案中,所述免疫效应细胞是白细胞。在某些实施方案中,所述免疫效应细胞是T细胞。在某些实施方案中,所述免疫效应细胞是NK细胞。在某些实施方案中,所述免疫效应细胞是单核细胞,诸如骨髓单核细胞。在某些实施方案中,将所述多特异性的可活化抗体设计成结合超过一种靶标和/或超过一种表位或以其它方式相互作用,在本文中也称作靶向多抗原的可活化抗体。本文中使用的术语“靶标”和“抗原”互换使用。

[0542] 在某些实施方案中,本发明的结合免疫效应细胞的多特异性的可活化抗体包括结合PDL1的靶向抗体或其抗原结合片段和结合免疫效应细胞的抗体或其抗原结合部分,其中所述靶向抗体或其抗原结合片段和/或所述结合免疫效应细胞的抗体或其抗原结合部分中的至少一个被掩蔽。在某些实施方案中,所述结合免疫效应细胞的抗体或其抗原结合片段包括结合第一种免疫效应细胞结合靶标的第一抗体或其抗原结合片段(AB1),其中所述AB1连接至掩蔽部分(MM1),使得MM1的偶联减小所述AB1结合所述第一靶标的能力。在某些实施方案中,所述靶向抗体或其抗原结合片段包括含有结合PDL1的第二抗体或其抗原结合片段(AB2)的第二抗体或其片段,其中所述AB2连接至掩蔽部分(MM2),使得MM2的偶联减小所述AB2的结合PDL1的能力。在某些实施方案中,所述结合免疫效应细胞的抗体或其抗原结合片段包括结合第一种免疫效应细胞结合靶标的第一抗体或其抗原结合片段(AB1),其中所述AB1连接至掩蔽部分(MM1),使得MM1的偶联减小所述AB1结合所述第一靶标的能力,且所述靶向抗体或其抗原结合片段包括含有结合PDL1的第二抗体或其抗原结合片段(AB2)的第二抗体或其片段,其中所述AB2连接至掩蔽部分(MM2),使得MM2的偶联减小所述AB2的结合PDL1的能力。在某些实施方案中,所述结合非免疫效应细胞的抗体是靶向癌症的抗体。在某些实施方案中,所述非免疫细胞效应抗体是IgG。在某些实施方案中,所述结合免疫效应细胞的抗体是scFv。在某些实施方案中,所述靶向PDL1的抗体(例如,非免疫细胞效应抗体)是IgG,且所述结合免疫效应细胞的抗体是scFv。在某些实施方案中,所述免疫效应细胞是白细胞。在某些实施方案中,所述免疫效应细胞是T细胞。在某些实施方案中,所述免疫效应细胞是NK细胞。在某些实施方案中,所述免疫效应细胞是骨髓单核细胞。

[0543] 在某些实施方案中,本发明的结合T-细胞的多特异性的可活化抗体包括PDL1靶向抗体或其抗原结合片段和T-细胞结合抗体或其抗原结合部分,其中所述PDL1靶向抗体或其抗原结合片段和/或所述T-细胞结合抗体或其抗原结合部分中的至少一个被掩蔽。在某些实施方案中,所述T-细胞结合抗体或其抗原结合片段包括结合第一种T-细胞结合靶标的第一抗体或其抗原结合片段(AB1),其中所述AB1连接至掩蔽部分(MM1),使得MM1的偶联减小所述AB1结合所述第一靶标的能力。在某些实施方案中,所述靶向抗体或其抗原结合片段包括含有结合PDL1的第二抗体或其抗原结合片段(AB2)的第二抗体或其片段,其中所述AB2连接至掩蔽部分(MM2),使得MM2的偶联减小所述AB2的结合PDL1的能力。在某些实施方案中,所述T-细胞结合抗体或其抗原结合片段包括结合第一种T-细胞结合靶标的第一抗体或其抗原结合片段(AB1),其中所述AB1连接至掩蔽部分(MM1),使得MM1的偶联减小所述AB1结合所述第一靶标的能力,且所述靶向抗体或其抗原结合片段包括含有结合PDL1的第二抗体或

其抗原结合片段(AB2)的第二抗体或其片段,其中所述AB2连接至掩蔽部分(MM2),使得MM2的偶联减小所述AB2的结合PDL1的能力。

[0544] 在结合免疫效应细胞的多特异性的可活化抗体的某些实施方案中,一种抗原是PDL1,且另一种抗原通常是存在于T-细胞、天然杀伤(NK)细胞、骨髓单核细胞、巨噬细胞和/或其它免疫效应细胞的表面上的刺激性或抑制性受体,例如,但不限于,B7-H4、BTLA、CD3、CD4、CD8、CD16a、CD25、CD27、CD28、CD32、CD56、CD137、CTLA-4、GITR、HVEM、ICOS、LAG3、NKG2D、OX40、PD1、TIGIT、TIM3或VISTA。在某些实施方案中,所述抗原是存在于T细胞或NK细胞的表面上的刺激性受体;这样的刺激性受体的例子包括、但不限于CD3、CD27、CD28、CD137(也被称作4-1BB)、GITR、HVEM、ICOS、NKG2D和OX40。在某些实施方案中,所述抗原是存在于T-细胞表面上的抑制性受体;这样的抑制性受体的例子包括、但不限于BTLA、CTLA-4、LAG3、PD1、TIGIT、TIM3和NK表达的KIR。赋予对T-细胞表面抗原的特异性的抗体结构域也可以用结合T-细胞受体、NK-细胞受体、巨噬细胞受体和/或其它免疫效应细胞受体(例如,但不限于,B7-1、B7-2、B7H3、PDL1、PDL2或TNFSF9)的配体或配体结构域置换。

[0545] 在某些实施方案中,所述结合T-细胞的多特异性的可活化抗体包括抗-CD3 ϵ (CD3 ϵ ,在本文中也称作CD3e和CD3) scFv和靶向抗体或其抗原结合片段,其中所述抗-CD3 ϵ scFv和/或所述靶向抗体或其抗原结合部分中的至少一个被掩蔽。在某些实施方案中,所述CD3 ϵ scFv包括结合CD3 ϵ 的第一抗体或其抗原结合片段(AB1),其中所述AB1连接至掩蔽部分(MM1),使得MM1的偶联减小所述AB1的结合CD3 ϵ 的能力。在某些实施方案中,所述靶向抗体或其抗原结合片段包括含有结合PDL1的第二抗体或其抗原结合片段(AB2)的第二抗体或其片段,其中所述AB2连接至掩蔽部分(MM2),使得MM2的偶联减小所述AB2的结合PDL1的能力。在某些实施方案中,所述CD3 ϵ scFv包括结合CD3 ϵ 的第一抗体或其抗原结合片段(AB1),其中所述AB1连接至掩蔽部分(MM1),使得MM1的偶联减小所述AB1的结合CD3 ϵ 的能力,且所述靶向抗体或其抗原结合片段包括含有结合PDL1的第二抗体或其抗原结合片段(AB2)的第二抗体或其片段,其中所述AB2连接至掩蔽部分(MM2),使得MM2的偶联减小所述AB2的结合PDL1的能力。

[0546] 在某些实施方案中,所述靶向多抗原的抗体和/或靶向多抗原的可活化抗体至少包括结合第一靶标和/或第一表位的第一抗体或其抗原结合片段以及结合第二靶标和/或第二表位的第二抗体或其抗原结合片段。在某些实施方案中,所述靶向多抗原的抗体和/或靶向多抗原的可活化抗体结合两种或更多种不同的靶标。在某些实施方案中,所述靶向多抗原的抗体和/或靶向多抗原的可活化抗体结合相同靶标上的2种或更多种不同表位。在某些实施方案中,所述靶向多抗原的抗体和/或靶向多抗原的可活化抗体结合两种或更多种不同的靶标的组合和相同靶标上的2种或更多种不同表位。

[0547] 在某些实施方案中,包含IgG的多特异性的可活化抗体具有被掩蔽的IgG可变结构域。在某些实施方案中,包含scFv的多特异性的可活化抗体具有被掩蔽的scFv结构域。在某些实施方案中,多特异性的可活化抗体具有IgG可变结构域和scFv结构域,其中所述IgG可变结构域中的至少一个偶联至掩蔽部分。在某些实施方案中,多特异性的可活化抗体具有IgG可变结构域和scFv结构域,其中所述scFv结构域中的至少一个偶联至掩蔽部分。在某些实施方案中,多特异性的可活化抗体具有IgG可变结构域和scFv结构域,其中所述IgG可变结构域中的至少一个偶联至掩蔽部分,且所述scFv结构域中的至少一个偶联至掩蔽部分。

在某些实施方案中,多特异性的可活化抗体具有IgG可变结构域和scFv结构域,其中所述IgG可变结构域和所述scFv结构域中的每一个偶联至它自身的掩蔽部分。在某些实施方案中,多特异性的可活化抗体的一个抗体结构域具有对靶抗原的特异性,且另一种抗体结构域具有对T-细胞表面抗原的特异性。在某些实施方案中,多特异性的可活化抗体的一个抗体结构域具有对靶抗原的特异性,且另一种抗体结构域具有对另一种靶抗原的特异性。在某些实施方案中,多特异性的可活化抗体的一个抗体结构域具有对靶抗原的一种表位的特异性,且另一种抗体结构域具有对靶抗原的另一种表位的特异性。

[0548] 在多特异性的可活化抗体中,可以将scFv融合至IgG可活化抗体的重链的羧基端、IgG可活化抗体的轻链的羧基端、或IgG可活化抗体的重链和轻链二者的羧基端。在多特异性的可活化抗体中,可以将scFv融合至IgG可活化抗体的重链的氨基端、IgG可活化抗体的轻链的氨基端、或IgG可活化抗体的重链和轻链二者的氨基端。在多特异性的可活化抗体中,可以将scFv融合至IgG可活化抗体的一个或多个羧基端和一个或多个氨基端的任意组合。在某些实施方案中,将与可切割部分(CM)连接的掩蔽部分(MM)连接至并掩蔽IgG的抗原结合结构域。在某些实施方案中,将与可切割部分(CM)连接的掩蔽部分(MM)连接至并掩蔽至少一种scFv的抗原结合结构域。在某些实施方案中,将与可切割部分(CM)连接的掩蔽部分(MM)连接至并掩蔽IgG的抗原结合结构域,并将与可切割部分(CM)连接的掩蔽部分(MM)连接至并掩蔽至少一种scFv的抗原结合结构域。

[0549] 本发明提供了多特异性的可活化抗体结构的例子,其包括、但不限于以下的:

(VL-CL)₂:(VH-CH1-CH2-

CH3-L4-VH*-L3-VL*-L2-CM-L1-MM)₂:(VL-CL)₂:(VH-CH1-CH2-CH3-L4-VL*-L3-VH*-L2-CM-L1-MM)₂:(MM-L1-CM-L2-VL-CL)₂:(VH-CH1-CH2-CH3-L4-VH*-L3-VL*)₂:(MM-L1-CM-L2-VL-CL)₂:(VH-CH1-CH2-CH3-L4-VL*-L3-VH*)₂:(VL-

[0550] CL)₂:(MM-L1-CM-L2-VL*-L3-VH*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)₂:(VL-CL)₂:(MM-L1-CM-L2-VH*-L3-VL*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)₂:(MM-L1-CM-L2-VL-CL)₂:(VL*-L3-VH*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)₂:(MM-L1-CM-L2-VL-CL)₂:(VH*-L3-VL*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)₂:(VL-CL-L4-VH*-L3-VL*-L2-CM-L1-MM)₂:(VH-CH1-CH2-CH3)₂:(VL-CL-L4-VL*-L3-VH*-L2-CM-L1-MM)₂:(VH-CH1-CH2-CH3)₂:(MM-L1-CM-L2-VL*-L3-VH*-L4-VL-CL)₂:(VH-CH1-CH2-CH3)₂:(MM-L1-CM-L2-VH*-L3-VL*-L4-VL-CL)₂:(VH-CH1-CH2-CH3)₂:(VL-CL-L4-VH*-L3-VL*-L2-CM-L1-MM)₂:(MM-L1-CM-L2-VL*-L3-VH*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)₂:(VL-CL-L4-VH*-L3-VL*-L2-CM-L1-MM)₂:(MM-L1-CM-L2-VH*-L3-VL*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)₂:(VL-CL-L4-VL*-L3-VH*-L2-CM-L1-MM)₂:(MM-L1-CM-L2-VL*-L3-VH*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)₂:(VL-CL-L4-VL*-L3-

VH*-L2-CM-L1-MM)₂; (MM-L1-CM-L2-VH*-L3-VL*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)₂; (VL-CL-L4-VH*-L3-VL*)₂; (MM-L1-CM-L2-VL*-L3-VH*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)₂; (VL-CL-L4-VH*-L3-VL*)₂; (MM-L1-CM-L2-VH*-L3-VL*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)₂; (VL-CL-L4-VL*-L3-VH*)₂; (MM-L1-CM-L2-VL*-L3-VH*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)₂; (VL-CL-L4-VL*-L3-VH*)₂; (MM-L1-CM-L2-VH*-L3-VL*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)₂; (VL-CL-L4-VH*-L3-VL*-L2-CM-L1-MM)₂; (VL*-L3-VH*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)₂; (VL-CL-L4-VH*-L3-VL*-L2-CM-L1-MM)₂; (VH*-L3-VL*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)₂; (VL-CL-L4-VL*-L3-VH*-L2-CM-L1-MM)₂; (VL*-L3-VH*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)₂; 或 (VL-CL-L4-VL*-L3-VH*-L2-CM-L1-MM)₂; (VH*-L3-VL*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)₂;

[0555] 其中:VL和VH代表在IgG中所含的第一特异性的轻链和重链可变结构域;VL*和VH*代表在scFv中所含的第二特异性的可变结构域;L1是连接所述掩蔽部分(MM)和所述可切割部分(CM)的接头肽;L2是连接所述可切割部分(CM)和所述抗体的接头肽;L3是连接所述scFv的可变结构域的接头肽;L4是连接所述第一特异性的抗体和所述第二特异性的抗体的接头肽;CL是轻链恒定结构域;且CH1、CH2、CH3是重链恒定结构域。所述第一和第二特异性可以针对任何抗原或表位。

[0556] 在结合T-细胞的多特异性的可活化抗体的某些实施方案中,一种抗原是PDL1,且另一种抗原通常是存在于T-细胞、天然杀伤(NK)细胞、骨髓单核细胞、巨噬细胞和/或其它免疫效应细胞的表面上的刺激性的(在本文中也称作活化性的)或抑制性的受体,例如,但不限于,B7-H4、BTLA、CD3、CD4、CD8、CD16a、CD25、CD27、CD28、CD32、CD56、CD137(也被称作TNFRSF9)、CTLA-4、GITR、HVEM、ICOS、LAG3、NKG2D、OX40、PD1、TIGIT、TIM3或VISTA。赋予对T-细胞表面抗原的特异性的抗体结构域也可以用结合T-细胞受体、NK-细胞受体、巨噬细胞受体和/或其它免疫效应细胞受体(例如,但不限于,PDL1)的配体或配体结构域置换。

[0557] 在某些实施方案中,所述靶向抗体是本文中公开的抗-PDL1抗体。在某些实施方案中,所述靶向抗体可以呈可活化抗体的形式。在某些实施方案中,所述scFv可以呈前-scFv的形式(参见,例如,WO 2009/025846、WO 2010/081173)。

[0558] 在某些实施方案中,所述scFv是对结合CD3 ϵ 特异性的,且包含或源自结合CD3 ϵ 的抗体或其片段,例如,CH2527、FN18、H2C、OKT3、2C11、UCHT1或V9。在某些实施方案中,所述scFv是对结合CTLA-4(在本文中也称作CTLA和CTLA4)特异性的。

[0559] 在某些实施方案中,所述抗-CTLA-4 scFv包括氨基酸序列:

GGGSGGGSGSGGGSGGGSGGGGEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQA
PRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYGGSSPLTFGGGTKVEIKRSG
GSTITSYNVYYTKLSSSGTQVQLVQTTGGGVVQPGRSLRLSCAASGSTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWV
SAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCATNSLYWYFDLWGRGTLVT
VSSAS (SEQ ID NO: 424)

[0561] 在某些实施方案中,所述抗-CTLA-4 scFv包括与SEQ ID NO: 424的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的氨基酸序列。

[0562] 在某些实施方案中,所述抗-CD3 ϵ scFv包括氨基酸序列:

GGGSGGGSGSGGGSGGGSGGGQVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKQRPQGQ
LEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTDDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQ
[0563] GTTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSQIVLTQSPAIMASAPGKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPK
RWIYDTSKLGASGVPAPFRGSGSGTSYSLTISGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEINR
(SEQ ID NO: 425)

[0564] 在某些实施方案中,所述抗-CD3 ϵ scFv包括与SEQ ID NO: 425的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的氨基酸序列。

[0565] 在某些实施方案中,所述scFv是对结合一种或多种T-细胞、一种或多种NK-细胞和/或一种或多种巨噬细胞特异性的。在某些实施方案中,所述scFv是对结合靶标特异性的,所述靶标选自B7-H4、BTLA、CD3、CD4、CD8、CD16a、CD25、CD27、CD28、CD32、CD56、CD137、CTLA-4、GITR、HVEM、ICOS、LAG3、NKG2D、OX40、PD1、TIGIT、TIM3或VISTA。

[0566] 在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体也包括与所述AB缀合的试剂。在某些实施方案中,所述试剂是治疗剂。在某些实施方案中,所述试剂是抗肿瘤剂。在某些实施方案中,所述试剂是毒素或其片段。在某些实施方案中,所述试剂经由接头缀合至多特异性的可活化抗体。在某些实施方案中,所述试剂经由可切割的接头缀合至所述AB。在某些实施方案中,所述接头是不可切割的接头。在某些实施方案中,所述试剂是微管抑制剂。在某些实施方案中,所述试剂是核酸损伤剂,诸如DNA烷化剂或DNA嵌入剂或其它DNA损伤剂。在某些实施方案中,所述接头是可切割的接头。在某些实施方案中,所述试剂是选自表11中所列的组的试剂。在某些实施方案中,所述试剂是多拉司他汀。在某些实施方案中,所述试剂是溴瑞他汀或其衍生物。在某些实施方案中,所述试剂是溴瑞他汀E或其衍生物。在某些实施方案中,所述试剂是单甲基溴瑞他汀E (MMAE)。在某些实施方案中,所述试剂是单甲基溴瑞他汀D (MMAD)。在某些实施方案中,所述试剂是美登木素生物碱或美登木素生物碱衍生物。在某些实施方案中,所述试剂是DM1或DM4。在某些实施方案中,所述试剂是倍癌霉素或其衍生物。在某些实施方案中,所述试剂是卡里奇霉素或其衍生物。在某些实施方案中,所述试剂是吡咯并苯并二氮杂草。在某些实施方案中,所述试剂是吡咯并苯并二氮杂草二聚体。

[0567] 在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体也包括可检测的部分。在某些实施方案中,所述可检测的部分是诊断剂。

[0568] 在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体天然地含有一个或多个二硫键。在某些实施方案中,所述多特异性的可活化抗体可以工程改造成包括一个或多个二硫键。

[0569] 本发明也提供了分离的编码本文描述的多特异性的可活化抗体的核酸分子,以及包括这些分离的核酸序列的载体。本发明提供了通过在导致所述可活化抗体的表达的条件下培养细胞来生产多特异性的可活化抗体的方法,其中所述细胞包含这样的核酸分子。在某些实施方案中,所述细胞包含这样的载体。

[0570] 本发明也提供了如下制备本发明的多特异性的可活化抗体的方法:(a)在导致多特异性的可活化抗体的表达的条件下培养细胞,所述细胞包含编码多特异性的可活化抗体的核酸构建体,和(b)回收所述多特异性的可活化抗体。合适的AB、MM和/或CM包括本文中公开的AB、MM和/或CM中的任一种。

[0571] 本发明也提供了多特异性的可活化抗体和/或多特异性的可活化抗体组合物,其

至少包括特异性地结合第一靶标或第一表位的第一抗体或其抗原结合片段 (AB1) 以及结合第二靶标或第二表位的第二抗体或其抗原结合片段 (AB2), 其中至少AB1偶联或以其它方式连接至掩蔽部分 (MM1), 以致于MM1的偶联减小AB1的结合其靶标的能力。在某些实施方案中, 所述MM1经由第一可切割部分 (CM1) 序列偶联至AB1, 所述第一可切割部分 (CM1) 序列包括蛋白酶 (例如, 与AB1的靶标共定位在受试者中的治疗部位或诊断部位处的蛋白酶) 的底物。本文提供的多特异性的可活化抗体在循环中是稳定的, 在预期的治疗和/或诊断部位处被活化, 但是在正常的 (例如, 健康的) 组织中不会被活化, 并且当被活化时, 表现出至少与对应的未修饰的多特异性抗体可比较的对AB1的靶标的结合。合适的AB、MM和/或CM包括本文中公开的AB、MM和/或CM中的任一种。

[0572] 本发明也提供了包括多特异性的可活化抗体的组合物和方法, 所述多特异性的可活化抗体至少包括特异性地结合靶标的第一抗体或抗体片段 (AB1) 以及第二抗体或抗体片段 (AB2), 其中至少所述多特异性的可活化抗体中的第一AB偶联至减小AB1的结合其靶标的能力的掩蔽部分 (MM1)。在某些实施方案中, 每个AB偶联至MM, 所述MM减小它的对应AB结合每个靶标的能力。例如, 在双特异性的可活化抗体实施方案中, AB1偶联至减小AB1的结合其靶标的能力的第一掩蔽部分 (MM1), 且AB2偶联至减小AB2的结合其靶标的能力的第二掩蔽部分 (MM2)。在某些实施方案中, 所述多特异性的可活化抗体包含超过2个AB区域; 在这样的实施方案中, AB1偶联至减小AB1的结合其靶标的能力的第一掩蔽部分 (MM1), AB2偶联至减小AB2的结合其靶标的能力的第二掩蔽部分 (MM2), AB3偶联至减小AB3的结合其靶标的能力的第三掩蔽部分 (MM3), 对于多特异性的可活化抗体中的每个AB, 以此类推。合适的AB、MM和/或CM包括本文中公开的AB、MM和/或CM中的任一种。

[0573] 在某些实施方案中, 所述多特异性的可活化抗体还包括至少一个可切割部分 (CM), 所述可切割部分 (CM) 是蛋白酶的底物, 其中所述CM将MM连接至AB。例如, 在某些实施方案中, 所述多特异性的可活化抗体至少包括特异性地结合靶标的第一抗体或抗体片段 (AB1) 以及第二抗体或抗体片段 (AB2), 其中至少所述多特异性的可活化抗体中的第一AB经由第一可切割部分 (CM1) 偶联至减小AB1的结合其靶标的能力的掩蔽部分 (MM1)。在某些双特异性的可活化抗体实施方案中, AB1经由CM1偶联至MM1, 且AB2经由第二可切割部分 (CM2) 偶联至减小AB2的结合其靶标的能力的第二掩蔽部分 (MM2)。在某些实施方案中, 所述多特异性的可活化抗体包含超过2个AB区域; 在这些实施方案中的某些中, AB1经由CM1偶联至MM1, AB2经由CM2偶联至MM2, 且AB3经由第三可切割部分 (CM3) 偶联至减小AB3的结合其靶标的能力的第三掩蔽部分 (MM3), 对于多特异性的可活化抗体中的每个AB以此类推。合适的AB、MM和/或CM包括本文中公开的AB、MM和/或CM中的任一种。

[0574] 具有非结合立体部分或非结合立体部分的结合配偶体的可活化抗体

[0575] 本发明也提供了包括非结合立体部分 (NB) 或非结合立体部分的结合配偶体 (BP) 的可活化抗体, 其中所述BP将所述NB募集或以其它方式吸引至所述可活化抗体。本文中提供的可活化抗体包括, 例如, 包括非结合立体部分 (NB)、可切割的接头 (CL) 和结合靶标的抗体或抗体片段 (AB) 的可活化抗体; 包括非结合立体部分的结合配偶体 (BP)、CL和AB的可活化抗体; 和包括BP (已经向其募集NB)、CL和AB (其结合靶标) 的可活化抗体。具有以下特征的可活化抗体在本文中被称作“含NB的可活化抗体”: 其中NB共价地连接至可活化抗体的CL和AB, 或通过相互作用与BP (其共价地连接至可活化抗体的CL和AB) 结合。“可活化的或可转换

的”是指,当可活化抗体处于被抑制、被掩蔽或未切割的状态(即,第一构象)时,所述可活化抗体表现出与靶标的第一结合水平,且当可活化抗体处于未抑制、未掩蔽和/或被切割的状态(即,第二构象,即,活化的抗体)时,表现出第二靶标结合水平,其中所述第二靶标结合水平大于所述第一靶标结合水平。与常规抗体治疗剂相比,所述可活化抗体组合物可以表现出增加的生物利用度和更有利的生物分布。

[0576] 在某些实施方案中,可活化抗体提供减小的毒性和/或不利副作用,如果所述AB没有被掩蔽或以其它方式抑制免于结合这样的位点,所述毒性和/或不利副作用否则会源自非治疗部位和/或非诊断部位处的结合。

[0577] 使用在PCT公开号W0 2013/192546(其内容特此通过引用以其整体并入)中所述的方法,可以制备包括非结合立体部分(NB)的抗-PDL1可活化抗体。

[0578] 抗体、缀合的抗体、可活化抗体和缀合的可活化抗体的用途

[0579] 应当理解,根据本发明的治疗实体的施用将与合适的载体、赋形剂和其它试剂(其被掺入制剂中以提供改善的转移、递送、耐受性等)一起施用。可以在所有药物化学家已知的处方中发现大量的许多适当的制剂:Remington's Pharmaceutical Sciences (第15版, Mack Publishing Company, Easton, PA (1975)),特别是其中Blaug、Seymour的第87章。这些制剂包括,例如,粉剂、糊剂、软膏剂、凝胶剂、蜡状物、油、脂质、含脂质(阳离子的或阴离子的)的小泡(诸如Lipofectin™)、DNA缀合物、无水吸收糊剂、水包油和油包水乳剂、乳剂碳蜡(不同分子量的聚乙二醇)、半固体凝胶和含有碳蜡的半固体混合物。前述混合物中的任一种在根据本发明的治疗和疗法中可能是适当的,条件是,制剂中的活性成分不被制剂灭活,并且所述制剂是与施用途径生理上相容的和可耐受的。也参见Baldrick P. "Pharmaceutical excipient development: the need for preclinical guidance." Regul. Toxicol Pharmacol. 32(2):210-8 (2000), Wang W. "Lyophilization and development of solid protein pharmaceuticals." Int. J. Pharm. 203(1-2):1-60 (2000), Charman WN "Lipids, lipophilic drugs, and oral drug delivery-some emerging concepts." J Pharm Sci. 89(8):967-78 (2000), Powell等人. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA J Pharm Sci Technol. 52:238-311 (1998),和其中关于药物化学家众所周知的与制剂、赋形剂和载体有关的其它信息的引文。

[0580] 将本发明的治疗制剂(其包括抗-PDL1抗体和/或可活化的抗-PDL1抗体,诸如作为非限制性例子,抗体、缀合的抗体、可活化抗体和/或缀合的可活化抗体)用于预防、治疗或以其它方式改善与异常靶标表达和/或活性有关的疾病或病症。例如,将本发明的治疗制剂(其包括抗体、缀合的抗体、可活化抗体和/或缀合的可活化抗体)用于治疗或以其它方式改善癌症或其它肿瘤病症、炎症、炎症性病症和/或自身免疫病。在某些实施方案中,所述癌症是在其中表达靶标的实体瘤或血液学恶性肿瘤。在某些实施方案中,所述癌症是在其中表达靶标的实体瘤。在某些实施方案中,所述癌症是在其中表达靶标的血液学恶性肿瘤。在某些实施方案中,所述靶标在实质上表达(例如,在癌症中,经常完成器官或组织的功能的器官或组织部分)。在某些实施方案中,所述靶标在细胞、组织或器官上表达。在某些实施方案中,所述靶标在间质(即,细胞、组织或器官的连接支持框架)上表达。在某些实施方案中,所述靶标在成骨细胞上表达。在某些实施方案中,所述靶标在内皮(脉管系统)上表达。在某些实施方案中,所述靶标在癌症干细胞上表达。在某些实施方案中,所述抗体和/或所述可活

化抗体缀合的试剂是微管抑制剂。在某些实施方案中,所述抗体和/或所述可活化抗体缀合的试剂是核酸损伤剂。

[0581] 与用于诊断或治疗与靶标表达和/或活性(例如,异常的靶标表达和/或活性)有关的疾病或病症的任何已知方法相结合,确定预防、改善或治疗的有效性。在受试者中延长受试者的存活或以其它方式延迟与靶标表达和/或活性(例如,异常的靶标表达和/或活性)有关的疾病或病症的进展,指示所述抗体、缀合的抗体、可活化抗体和/或缀合的可活化抗体会赋予临床益处。

[0582] 可以以药物组合物的形式施用抗体、缀合的抗体、可活化抗体和/或缀合的可活化抗体。在这样的组合物的制备中涉及的原理和考虑因素,以及组分的选择的指导,提供在,例如,Remington : The Science And Practice Of Pharmacy第19版(Alfonso R. Gennaro, 等人, 编著) Mack Pub. Co., Easton, Pa.: 1995; Drug Absorption Enhancement: Concepts, Possibilities, Limitations, And Trends, Harwood Academic Publishers, Langhorne, Pa., 1994;和Peptide And Protein Drug Delivery (Advances In Parenteral Sciences, 第4卷), 1991, M. Dekker, New York。

[0583] 在其中使用抗体片段的某些实施方案中,选择特异性地结合靶蛋白的结合结构域的最小片段。例如,基于抗体的可变区序列,可以设计保留结合靶蛋白序列的能力的肽分子。可以化学合成和/或通过重组DNA技术产生这样的肽。(参见,例如,Marasco等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 7889-7893 (1993))。所述制剂还可以含有超过一种正在治疗的特定适应症所必需的活性化合物,例如,在某些实施方案中,具有不会不利地影响彼此的互补活性的那些。在某些实施方案中,或另外,所述组合物可以包含增强其功能的试剂,例如,细胞毒性剂、细胞因子、化学治疗剂或生长-抑制剂。这样的分子适当地以对于预期目的而言有效的量存在于组合中。

[0584] 活性成分也可以包埋在微胶囊中,所述微胶囊例如通过凝聚技术或通过界面聚合来制备,例如,羟基甲基纤维素或明胶微胶囊和聚(甲基甲基丙烯酸酯)微胶囊,分别在胶体药物递送系统(例如,脂质体、白蛋白微球、微乳剂、纳米颗粒和纳米囊)中或在粗乳剂中。

[0585] 要用于体内施用的制剂必须是无菌的。这通过穿过无菌过滤膜过滤容易地实现。

[0586] 可以制备持续释放制品。持续释放制品的合适例子包括含有抗体的固体疏水聚合物的半渗透基质,所述基质处于成形物品(例如,薄膜或微胶囊)的形式。持续释放基质的例子包括聚酯、水凝胶(例如,聚(2-羟基乙基-甲基丙烯酸酯)或聚(乙烯醇))、聚丙烯交酯(美国专利号3,773,919)、L-谷氨酸和 γ -乙基-L-谷氨酸盐的共聚物、不可降解的乙烯-乙酸乙烯酯、可降解的乳酸-羟乙酸共聚物诸如LUPRON DEPOTTM(由乳酸-羟乙酸共聚物和醋酸亮丙瑞林组成的可注射微球)和聚-D-(-)-3-羟基丁酸。尽管聚合物诸如乙烯-乙酸乙烯酯和乳酸-羟乙酸能够释放分子超过100天,某些水凝胶释放蛋白更短的时间段。

[0587] 在某些实施方案中,所述抗体、缀合的抗体、可活化抗体和/或缀合的可活化抗体含有可检测标记。使用完整抗体或其片段(例如,Fab、scFv或F(ab)₂)。关于探针或抗体的术语“标记的”意图包括,通过将可检测物质偶联(即物理连接)至探针或抗体对探针或抗体的直接标记,以及通过与被直接标记的另一种试剂的反应性对探针或抗体的间接标记。间接标记的例子包括,使用荧光标记的第二抗体检测第一抗体,和用生物素对DNA探针进行末端标记使得它可以用荧光标记的抗生蛋白链菌素检测到。术语“生物样品”意图包括从受试者

分离的组织、细胞和生物流体,以及存在于受试者内的组织、细胞和流体。因此,在术语“生物样品”的用法中包括血液和血液的级分或组分,包括血清、血浆或淋巴。也就是说,本发明的检测方法可以用于检测体外以及体内生物样品中的分析物mRNA、蛋白或基因组DNA。例如,用于检测分析物mRNA的体外技术包括RNA印迹杂交和原位杂交。用于检测分析物蛋白的体外技术包括酶联免疫吸附测定(ELISA)、蛋白质印迹、免疫沉淀、免疫化学染色和免疫荧光。用于检测分析物基因组DNA的体外技术包括DNA杂交。用于进行免疫测定的操作描述在,例如“ELISA: Theory and Practice: Methods in Molecular Biology”,第42卷, J. R. Crowther (编) Human Press, Totowa, NJ, 1995; “Immunoassay”, E. Diamandis and T. Christopoulos, Academic Press, Inc., San Diego, CA, 1996; 和“Practice and Theory of Enzyme Immunoassays”, P. Tijssen, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1985。此外,用于检测分析物蛋白的体内技术包括将标记的抗-分析物蛋白抗体引入受试者中。例如,可以用放射性标志物标记抗体,所述放射性标志物在受试者中的存在和位置可以通过标准成像技术检测到。

[0588] 本发明的抗体、缀合的抗体、可活化抗体和/或缀合的可活化抗体也可用在多种诊断性和预防性制剂中。在一个实施方案中,将抗体、缀合的抗体、可活化抗体和/或缀合的可活化抗体施用给处于发生一种或多种前述病症的风险中的患者。使用遗传型、血清学或生化标志物可以确定患者或器官对一种或多种前述病症的倾向。

[0589] 在本发明的某些实施方案中,将抗体、缀合的抗体、可活化抗体和/或缀合的可活化抗体施用给诊断出与一种或多种前述病症有关的临床适应症的人个体。诊断后,施用抗体、缀合的抗体、可活化抗体和/或缀合的可活化抗体以减轻或逆转临床适应症的效应。

[0590] 本发明的抗体、缀合的抗体、可活化抗体和/或缀合的可活化抗体也可用于检测患者样品中的靶标,并因此可用作诊断剂。例如,将本发明的抗体和/或可活化抗体及其缀合形式用在体外测定(例如,ELISA)中,以检测患者样品中的靶标水平。

[0591] 在一个实施方案中,将本发明的抗体、缀合的抗体、可活化抗体和/或缀合的可活化抗体固定化在固体支持物(例如,微孔滴定板的孔)上。固定化的抗体、缀合的抗体、可活化抗体和/或缀合的可活化抗体充当可能存在于测试样品中的任何靶标的捕获抗体。在使固定化的抗体和/或可活化抗体和/或其缀合形式与患者样品接触之前,将固体支持物用封闭剂(诸如乳蛋白或白蛋白)冲洗和处理以阻止所述分析物的非特异性吸附。

[0592] 随后将所述孔用疑似含有抗原的测试样品处理,或者用含有标准量的抗原的溶液处理。这样的样品是,例如,来自疑似具有被视作病理学诊断的循环抗原水平的受试者的血清样品。冲洗掉测试样品或标准品以后,将固体支持物用可检测地标记的第二抗体处理。所述经标记的第二抗体充当检测抗体。测量可检测标记的水平,并通过与从标准样品产生的标准曲线进行对比来确定测试样品中靶抗原的浓度。

[0593] 应当理解,基于在体外诊断测定中使用本发明的抗体和可活化抗体及其缀合形式得到的结果,可能基于靶抗原的表达水平将受试者中的疾病分期。对于给定的疾病,血液样品取自被诊断为处于疾病进展的不同阶段和/或处于疾病的治疗性处理的不同点的受试者。使用提供进展或疗法的每个阶段的统计上显著的结果的样品群体,指定可以视作每个阶段的特征的抗原浓度范围。

[0594] 抗体、缀合的抗体、可活化抗体和/或缀合的可活化抗体也可以用在诊断和/或成

像方法中。在某些实施方案中,这样的方法是体外方法。在某些实施方案中,这样的方法是体内方法。在某些实施方案中,这样的方法是原位方法。在某些实施方案中,这样的方法是离体方法。例如,具有酶可切割的CM的可活化抗体可以用于检测能够切割CM的酶的存在或不存在。这样的可活化抗体可以用在诊断中,所述诊断可以包括通过测量活化的抗体(即,源自可活化抗体的切割的抗体)在给定宿主生物的给定细胞或组织中的积累对酶活性(或,在某些实施方案中,增加的还原电位的环境,诸如其可以提供二硫键的还原)的体内检测(例如,定性或定量)。这样的活化抗体的积累不仅指示所述组织表达酶活性(或增加的还原电位,取决于CM的性质),而且指示所述组织表达所述活化的抗体所结合的靶标。

[0595] 例如,可以将所述CM选择成在肿瘤部位处、在病毒或细菌感染部位处、在生物学上限定的部位处(例如,诸如在脓肿中,在器官中,等)等发现的至少一种蛋白酶的底物。所述AB可以是结合靶抗原的AB。使用如在本文中公开的方法,或当适当时,本领域技术人员熟知的方法,可以将可检测标记(例如,荧光标记或放射性标记或放射性示踪剂)缀合至抗体和/或可活化抗体的AB或其它区域。在以上筛选方法的背景下讨论了合适的可检测标记,且下面提供了另外的具体例子。使用对疾病状态的蛋白或肽特异性的AB,以及至少一种其活性在目标疾病组织中升高的蛋白酶,与其中CM特异性的酶不以可检测水平存在或以比在疾病组织中更低的水平存在或不具有活性(例如,呈酶原形式或与抑制剂形成复合物)的组织相比,可活化抗体将表现出增加的对疾病组织的结合速率。由于小蛋白和肽通过肾过滤系统从血液中快速清除,且因为对CM特异性的酶不以可检测水平存在(或以较低水平存在于非疾病组织中或以无活性构象存在),活化的抗体在疾病组织中的积累相对于非疾病组织增强。

[0596] 在另一个实施例中,可活化抗体可以用于检测切割剂在样品中的存在或不存在。例如,在可活化抗体含有易于被酶切割的CM的情况下,所述可活化抗体可以用于检测(定性或定量地)酶在样品中的存在。在另一个实施例中,在可活化抗体含有易于被还原剂切割的CM的情况下,所述可活化抗体可以用于检测(定性或定量地)还原条件在样品中的存在。为了便利这些方法中的分析,可以将可活化抗体可检测地标记,且可以结合至支持物(例如,固体支持物,诸如载玻片或珠子)。所述可检测标记可以位于在切割以后不释放的可活化抗体的部分上,例如,所述可检测标记可以是淬灭的荧光标记或在已经发生切割之前不可检测的其它标记。所述测定可以如下进行:例如,使固定化的、可检测地标记的可活化抗体与疑似含有酶和/或还原剂的样品接触足以使切割发生的时间,然后洗涤以除去多余的样品和污染物。然后通过样品接触之前可活化抗体的可检测信号的变化,例如,由样品中的切割剂对可活化抗体的切割引起的可检测信号的存在和/或增加,评估切割剂(例如,酶或还原剂)在样品中的存在或不存在。

[0597] 可以将这样的检测方法改造成也提供当被切割时能够结合可活化抗体的AB的靶标的存在或不存在的检测。因而,可以将测定改造成评估切割剂的存在或不存在和目标靶标的存在或不存在。通过如上所述的可活化抗体的可检测标记的存在和/或增加,可以检测切割剂的存在或不存在;并且通过检测靶标-AB复合物,例如,通过使用可检测地标记的抗-靶标抗体,可以检测靶标的存在或不存在。

[0598] 可活化抗体也可用在用于验证可活化抗体活化(例如,通过蛋白酶切割)和对特定靶标的结合的原位成像中。原位成像是能够定位生物样品(诸如细胞培养物或组织切片)中

的蛋白水解活性和靶标的技术。使用该技术,可能基于可检测标记(例如,荧光标记)的存在证实对给定靶标的结合和蛋白水解活性。

[0599] 这些技术可与源自疾病部位(例如肿瘤组织)或健康组织的任何冷冻的细胞或组织一起使用。这些技术也可与新鲜细胞或组织样品一起使用。

[0600] 在这些技术中,将可活化抗体用可检测标记进行标记。所述可检测标记可以是荧光染料(例如荧光团、异硫氰酸荧光素(FITC)、异硫氰酸罗丹明(TRITC)、Alexa Fluor® 标记)、近红外(NIR)染料(例如,Qdot® 纳米晶体)、胶体金属、半抗原、放射性标志物、生物素和扩增试剂诸如抗生蛋白链菌素或酶(例如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶)。

[0601] 已经与经标记的可活化抗体一起温育的样品中标记的检测指示,所述样品含有靶标且含有对所述可活化抗体的CM特异性的蛋白酶。在某些实施方案中,使用广谱蛋白酶抑制剂(诸如本文描述的那些)和/或通过使用对蛋白酶特异性的试剂(例如,抗体诸如A11,其对蛋白酶matriptase是特异性的,且抑制matriptase的蛋白水解活性;参见例如,国际公开号W0 2010/129609,2010年11月11日公开),可以证实蛋白酶的存在。使用广谱蛋白酶抑制剂(诸如本文描述的那些)和/或使用更有选择性的抑制剂的相同方案可以用于鉴别对所述可活化抗体的CM特异性的蛋白酶。在某些实施方案中,使用对靶标特异性的试剂(例如,另一种抗体),可以证实靶标的存在,或可检测标记可以与未标记的靶标竞争。在某些实施方案中,未标记的可活化抗体可以与经标记的第二抗体的检测或更复杂的检测系统一起使用。

[0602] 类似的技术也可用于体内成像,其中受试者(例如,哺乳动物,包括人)中荧光信号的检测指示,疾病部位含有靶标且含有对所述可活化抗体的CM特异性的蛋白酶。

[0603] 这些技术也可用在试剂盒中,和/或用作用于基于可活化抗体中的蛋白酶特异性的CM来检测、鉴别或表征多种细胞、组织和生物中的蛋白酶活性的试剂。

[0604] 本发明提供了在多种诊断和/或预防适应症中使用所述抗体和/或可活化抗体的方法。例如,本发明提供了如下检测切割剂和目标靶标在受试者或样品中的存在或不存在的方法:(i)使受试者或样品与可活化抗体接触,其中所述可活化抗体包含掩蔽部分(MM)、被切割剂(例如,蛋白酶)切割的可切割部分(CM)和特异性地结合目标靶标的抗原结合结构域或其片段(AB),其中处于未切割的非活化状态的可活化抗体包含如下从N-端至C-端的结构排列:MM-CM-AB或AB-CM-MM;(a)其中所述MM是抑制所述AB与靶标的结合的肽,且其中所述MM不具有所述AB的天然存在的结合配偶体的氨基酸序列,且不是所述AB的天然结合配偶体的修饰形式;和(b)其中,在未切割的非活化状态,所述MM干扰所述AB与靶标的特异性结合,和在切割的活化状态,所述MM不会干扰或竞争所述AB与靶标的特异性结合;和(ii)测量所述受试者或样品中经活化的可活化抗体的水平,其中所述受试者或样品中经活化的可活化抗体的可检测水平指示,所述切割剂和所述靶标存在于所述受试者或样品中,且其中所述受试者或样品中经活化的可活化抗体的不可检测水平指示,所述切割剂、所述靶标或所述切割剂和所述靶标二者在所述受试者或样品中不存在和/或不充分存在。在某些实施方案中,所述可活化抗体是治疗剂所缀合的可活化抗体。在某些实施方案中,所述可活化抗体没有缀合至试剂。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含可检测标记。在某些实施方案中,所述可检测标记位于所述AB上。在某些实施方案中,测量所述受试者或样品中可活化抗体的水平如下完成:使用特异性地结合活化的抗体的第二试剂,其中所述试剂包含可检测

标记。在某些实施方案中,所述第二试剂是包含可检测标记的抗体。

[0605] 本发明也提供了如下检测切割剂在受试者或样品中的存在或不存在的方法: (i) 在有目标靶标(例如,靶标)存在下使受试者或样品与可活化抗体接触,其中所述可活化抗体包含掩蔽部分(MM)、被切割剂(例如,蛋白酶)切割的可切割部分(CM)和特异性地结合目标靶标的抗原结合结构域或其片段(AB),其中处于未切割的非活化状态的可活化抗体包含如下从N-端至C-端的结构排列:MM-CM-AB或AB-CM-MM; (a) 其中所述MM是抑制所述AB与靶标的结合的肽,且其中所述MM不具有所述AB的天然存在的结合配偶体的氨基酸序列,且不是所述AB的天然结合配偶体的修饰形式;和 (b) 其中,在未切割的非活化状态,所述MM干扰所述AB与靶标的特异性结合,和在切割的活化状态,所述MM不会干扰或竞争所述AB与靶标的特异性结合;和 (ii) 测量所述受试者或样品中经活化的可活化抗体的水平,其中所述受试者或样品中经活化的可活化抗体的可检测水平指示,所述切割剂存在于所述受试者或样品中,且其中所述受试者或样品中经活化的可活化抗体的不可检测水平指示,所述切割剂在所述受试者或样品中不存在和/或不充分存在。在某些实施方案中,所述可活化抗体是治疗剂所缀合的可活化抗体。在某些实施方案中,所述可活化抗体没有缀合至试剂。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含可检测标记。在某些实施方案中,所述可检测标记位于所述AB上。在某些实施方案中,测量所述受试者或样品中可活化抗体的水平如下完成:使用特异性地结合活化的抗体的第二试剂,其中所述试剂包含可检测标记。在某些实施方案中,所述第二试剂是包含可检测标记的抗体。

[0606] 本发明也提供了用于用在检测切割剂和靶标在受试者或样品中的存在或不存在的方法中的试剂盒,其中所述试剂盒至少包括可活化抗体,所述可活化抗体包含掩蔽部分(MM)、被切割剂(例如,蛋白酶)切割的可切割部分(CM)和特异性地结合目标靶标的抗原结合结构域或其片段(AB),其中处于未切割的非活化状态的可活化抗体包含如下从N-端至C-端的结构排列:MM-CM-AB或AB-CM-MM; (a) 其中所述MM是抑制所述AB与靶标的结合的肽,且其中所述MM不具有所述AB的天然存在的结合配偶体的氨基酸序列,且不是所述AB的天然结合配偶体的修饰形式;和 (b) 其中,在未切割的非活化状态,所述MM干扰所述AB与靶标的特异性结合,和在切割的活化状态,所述MM不会干扰或竞争所述AB与靶标的特异性结合;和 (ii) 测量所述受试者或样品中经活化的可活化抗体的水平,其中所述受试者或样品中经活化的可活化抗体的可检测水平指示,所述切割剂存在于所述受试者或样品中,且其中所述受试者或样品中经活化的可活化抗体的不可检测水平指示,所述切割剂在所述受试者或样品中不存在和/或不充分存在。在某些实施方案中,所述可活化抗体是治疗剂所缀合的可活化抗体。在某些实施方案中,所述可活化抗体没有缀合至试剂。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含可检测标记。在某些实施方案中,所述可检测标记位于所述AB上。在某些实施方案中,测量所述受试者或样品中可活化抗体的水平如下完成:使用特异性地结合活化的抗体的第二试剂,其中所述试剂包含可检测标记。在某些实施方案中,所述第二试剂是包含可检测标记的抗体。

[0607] 本发明也提供了如下检测切割剂在受试者或样品中的存在或不存在的方法: (i) 使受试者或样品与可活化抗体接触,其中所述可活化抗体包含掩蔽部分(MM)、被切割剂(例如,蛋白酶)切割的可切割部分(CM)、特异性地结合靶标的抗原结合结构域(AB)和可检测标记,其中处于未切割的非活化状态的可活化抗体包含如下从N-端至C-端的结构排列:MM-

CM-AB或AB-CM-MM;其中所述MM是抑制所述AB与靶标的结合的肽,且其中所述MM不具有所述AB的天然存在的结合配偶体的氨基酸序列,且不是所述AB的天然结合配偶体的修饰形式;其中,在未切割的非活化状态,所述MM干扰所述AB与靶标的特异性结合,和在切割的活化状态,所述MM不会干扰或竞争所述AB与靶标的特异性结合;且其中所述可检测标记位于所述CM的切割以后释放的可活化抗体的部分上;和(ii)测量所述受试者或样品中可检测标记的水平,其中所述受试者或样品中可检测标记的可检测水平指示,所述切割剂在所述受试者或样品中不存在和/或不充分存在,且其中所述受试者或样品中可检测标记的不可检测水平指示,所述切割剂存在于所述受试者或样品中。在某些实施方案中,所述可活化抗体是治疗剂所缀合的可活化抗体。在某些实施方案中,所述可活化抗体没有缀合至试剂。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含可检测标记。在某些实施方案中,所述可检测标记位于所述AB上。在某些实施方案中,测量所述受试者或样品中可活化抗体的水平如下完成:使用特异性地结合活化的抗体的第二试剂,其中所述试剂包含可检测标记。在某些实施方案中,所述第二试剂是包含可检测标记的抗体。

[0608] 本发明也提供了用于用在检测切割剂和靶标在受试者或样品中的存在或不存在的方法中的试剂盒,其中所述试剂盒至少包括用于接触受试者或生物样品的本文描述的可活化抗体和/或缀合的可活化抗体(例如,治疗剂所缀合的可活化抗体)以及用于检测所述受试者或生物样品中的经活化的可活化抗体和/或缀合的可活化抗体的水平的装置,其中所述受试者或生物样品中经活化的可活化抗体的可检测水平指示,所述切割剂和所述靶标存在于所述受试者或生物样品中,且其中所述受试者或生物样品中经活化的可活化抗体的不可检测水平指示,所述切割剂、所述靶标或所述切割剂和所述靶标二者在所述受试者或生物样品中不存在和/或不充分存在,以致于不可在所述受试者或生物样品中检测到所述可活化抗体的靶标结合和/或蛋白酶切割。

[0609] 本发明也提供了如下检测切割剂在受试者或样品中的存在或不存在的方法:(i)在有靶标存在下使受试者或生物样品与可活化抗体接触,和(ii)测量所述受试者或生物样品中经活化的可活化抗体的水平,其中所述受试者或生物样品中经活化的可活化抗体的可检测水平指示,所述切割剂存在于所述受试者或生物样品中,且其中所述受试者或生物样品中经活化的可活化抗体的不可检测水平指示,所述切割剂在所述受试者或生物样品中不存在和/或不以可检测水平充分存在,以致于不可在所述受试者或生物样品中检测到所述可活化抗体的蛋白酶切割。这样的可活化抗体包括掩蔽部分(MM)、被切割剂(例如,蛋白酶)切割的可切割部分(CM)和特异性地结合靶标的抗原结合结构域或其片段(AB),其中处于未切割的(即,非活化的)状态的可活化抗体包含如下从N-端至C-端的结构排列:MM-CM-AB或AB-CM-MM;(a)其中所述MM是抑制所述AB与靶标的结合的肽,且其中所述MM不具有所述AB的天然存在的结合配偶体的氨基酸序列;和(b)其中处于未切割状态的可活化抗体的MM干扰所述AB与靶标的特异性结合,且其中处于切割的(即,活化的)状态的可活化抗体的MM不会干扰或竞争所述AB与靶标的特异性结合。在某些实施方案中,所述可活化抗体是治疗剂所缀合的可活化抗体。在某些实施方案中,所述可活化抗体没有缀合至试剂。在某些实施方案中,所述可检测标记连接至所述掩蔽部分。在某些实施方案中,所述可检测标记连接至在蛋白酶切割位点的N-端的可切割部分。在某些实施方案中,所述AB的单个抗原结合位点被掩蔽。在其中本发明的抗体具有至少两个抗原结合位点的某些实施方案中,至少一个抗原结

合位点被掩蔽,且至少一个抗原结合位点未被掩蔽。在某些实施方案中,所有抗原结合位点被掩蔽。在某些实施方案中,所述测量步骤包括使用包含可检测标记的第二试剂。

[0610] 本发明也提供了用于用在检测切割剂和靶标在受试者或样品中的存在或不存在的方法中的试剂盒,其中所述试剂盒至少包括本文描述的可活化抗体和/或缀合的可活化抗体,其用于在有靶标存在下使受试者或生物样品与可活化抗体接触和测量所述受试者或生物样品中经活化的可活化抗体的水平,其中所述受试者或生物样品中经活化的可活化抗体的可检测水平指示,所述切割剂存在于所述受试者或生物样品中,且其中所述受试者或生物样品中经活化的可活化抗体的不可检测水平指示,所述切割剂在所述受试者或生物样品中不存在和/或不以可检测水平充分存在,以致于不可在所述受试者或生物样品中检测到所述可活化抗体的蛋白酶切割。这样的可活化抗体包括掩蔽部分(MM)、被切割剂(例如,蛋白酶)切割的可切割部分(CM)和特异性地结合靶标的抗原结合结构域或其片段(AB),其中处于未切割的(即,非活化的)状态的可活化抗体包含如下从N-端至C-端的结构排列:MM-CM-AB或AB-CM-MM; (a) 其中所述MM是抑制所述AB与靶标的结合的肽,且其中所述MM不具有所述AB的天然存在的结合配偶体的氨基酸序列;和(b) 其中处于未切割状态的可活化抗体的MM干扰所述AB与靶标的特异性结合,且其中处于切割的(即,活化的)状态的可活化抗体的MM不会干扰或竞争所述AB与靶标的特异性结合。在某些实施方案中,所述可活化抗体是治疗剂所缀合的可活化抗体。在某些实施方案中,所述可活化抗体没有缀合至试剂。在某些实施方案中,所述可检测标记连接至所述掩蔽部分。在某些实施方案中,所述可检测标记连接至在蛋白酶切割位点的N-端的可切割部分。在某些实施方案中,所述AB的单个抗原结合位点被掩蔽。在其中本发明的抗体具有至少两个抗原结合位点的某些实施方案中,至少一个抗原结合位点被掩蔽,且至少一个抗原结合位点未被掩蔽。在某些实施方案中,所有抗原结合位点被掩蔽。在某些实施方案中,所述测量步骤包括使用包含可检测标记的第二试剂。

[0611] 本发明也提供了用于用在检测切割剂在受试者或样品中的存在或不存在的方法中的试剂盒,其中所述试剂盒至少包括用于接触受试者或生物样品的本文描述的可活化抗体和/或缀合的可活化抗体以及用于检测所述受试者或生物样品中的经活化的可活化抗体和/或缀合的可活化抗体的水平的装置,其中所述可活化抗体包括可检测标记,所述可检测标记位于在所述CM的切割以后释放的可活化抗体的部分上,其中所述受试者或生物样品中经活化的可活化抗体的可检测水平指示,所述切割剂在所述受试者或生物样品中不存在和/或不充分存在,以致于不可在所述受试者或生物样品中检测到所述可活化抗体的靶标结合和/或蛋白酶切割,且其中所述受试者或生物样品中经活化的可活化抗体的不可检测水平指示,所述切割剂以可检测水平存在于所述受试者或生物样品中。

[0612] 本发明提供了如下检测切割剂和靶标在受试者或样品中的存在或不存在的方法: (i) 使受试者或生物样品与可活化抗体接触,其中所述可活化抗体包括可检测标记,所述可检测标记位于在所述CM的切割以后释放的可活化抗体的部分上,和(ii) 测量所述受试者或生物样品中经活化的可活化抗体的水平,其中所述受试者或生物样品中经活化的可活化抗体的可检测水平指示,所述切割剂、所述靶标或所述切割剂和所述靶标二者在所述受试者或生物样品中不存在和/或不充分存在,以致于不可在所述受试者或生物样品中检测到所述可活化抗体的靶标结合和/或蛋白酶切割,且其中所述受试者或生物样品中经活化的可活化抗体的降低的可检测水平指示,所述切割剂和所述靶标存在于所述受试者或生物样品

中。降低的可检测标记水平是,例如,约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%和/或约100%的降低。这样的可活化抗体包括掩蔽部分(MM)、被切割剂切割的可切割部分(CM)和特异性地结合靶标的抗原结合结构域或其片段(AB),其中处于未切割的(即,非活化的)状态的可活化抗体包含如下从N-端至C-端的结构排列:MM-CM-AB或AB-CM-MM;(a)其中所述MM是抑制所述AB与靶标的结合的肽,且其中所述MM不具有所述AB的天然存在的结合配偶体的氨基酸序列;和(b)其中处于未切割状态的可活化抗体的MM干扰所述AB与靶标的特异性结合,且其中处于切割的(即,活化的)状态的可活化抗体的MM不会干扰或竞争所述AB与靶标的特异性结合。在某些实施方案中,所述可活化抗体是治疗剂所缀合的可活化抗体。在某些实施方案中,所述可活化抗体没有缀合至试剂。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含可检测标记。在某些实施方案中,所述可检测标记位于所述AB上。在某些实施方案中,测量所述受试者或样品中可活化抗体的水平如下完成:使用特异性地结合活化的抗体的第二试剂,其中所述试剂包含可检测标记。在某些实施方案中,所述第二试剂是包含可检测标记的抗体。

[0613] 本发明也提供了用于用在检测切割剂和靶标在受试者或样品中的存在或不存在的方法中的试剂盒,其中所述试剂盒至少包括用于接触受试者或生物样品的本文描述的可活化抗体和/或缀合的可活化抗体以及用于检测所述受试者或生物样品中的经活化的可活化抗体和/或缀合的可活化抗体的水平的装置,其中所述受试者或生物样品中经活化的可活化抗体的可检测水平指示,所述切割剂、所述靶标或所述切割剂和所述靶标二者在所述受试者或生物样品中不存在和/或不充分存在,以致于不可在所述受试者或生物样品中检测到所述可活化抗体的靶标结合和/或蛋白酶切割,且其中所述受试者或生物样品中经活化的可活化抗体的降低的可检测水平指示,所述切割剂和所述靶标存在于所述受试者或生物样品中。降低的可检测标记水平是,例如,约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%和/或约100%的降低。

[0614] 本发明也提供了如下检测切割剂在受试者或样品中的存在或不存在的方法:(i)使受试者或生物样品与可活化抗体接触,其中所述可活化抗体包括可检测标记,所述可检测标记位于在所述CM的切割以后释放的可活化抗体的部分上;和(ii)测量所述受试者或生物样品中可检测标记的水平,其中所述受试者或生物样品中可检测标记的可检测水平指示,所述切割剂在所述受试者或生物样品中不存在和/或不以可检测水平充分存在,以致于不可在所述受试者或生物样品中检测到所述可活化抗体的蛋白酶切割,且其中所述受试者或生物样品中可检测标记的降低的可检测水平指示,所述切割剂存在于所述受试者或生物样品中。降低的可检测标记水平是,例如,约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%和/或约100%的降低。这样的可活化抗体包括掩蔽部分(MM)、被切割剂切割的可切割部分(CM)和特异性地结合靶标的抗原结合结构域或其片段(AB),其中处于未切割的(即,非活化的)状态的可活化抗体包含如下从N-端至C-端的结构排列:MM-CM-AB或AB-CM-MM;(a)其中所述MM是抑制所述AB与靶标的结合的肽,且其中所述MM不具有所述AB的天然存在的结合配偶体的氨基酸序列;和(b)其中处于未切割状态的可活化抗体的MM干扰所述AB与靶标的特异性结合,且其中处于切割的(即,活化的)状态的可活化抗体的MM不会干扰或竞争所述AB与靶标

的特异性结合。在某些实施方案中,所述可活化抗体是治疗剂所缀合的可活化抗体。在某些实施方案中,所述可活化抗体没有缀合至试剂。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含可检测标记。在某些实施方案中,所述可检测标记位于所述AB上。在某些实施方案中,测量所述受试者或样品中可活化抗体的水平如下完成:使用特异性地结合活化的抗体的第二试剂,其中所述试剂包含可检测标记。在某些实施方案中,所述第二试剂是包含可检测标记的抗体。

[0615] 本发明也提供了用于用在检测目标切割剂在受试者或样品中的存在或不存在的方法中的试剂盒,其中所述试剂盒至少包括用于接触受试者或生物样品的本文描述的可活化抗体和/或缀合的可活化抗体以及用于检测所述受试者或生物样品中的经活化的可活化抗体和/或缀合的可活化抗体的水平的装置,其中所述可活化抗体包括可检测标记,所述可检测标记位于在所述CM的切割以后释放的可活化抗体的部分上,其中所述受试者或生物样品中可检测标记的可检测水平指示,所述切割剂、所述靶标、或所述切割剂和所述靶标二者在所述受试者或生物样品中不存在和/或不充分存在,以致于不可在所述受试者或生物样品中检测到所述可活化抗体的靶标结合和/或蛋白酶切割,且其中所述受试者或生物样品中可检测标记的降低的可检测水平指示,所述切割剂和所述靶标存在于所述受试者或生物样品中。降低的可检测标记水平是,例如,约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%和/或约100%的降低。

[0616] 在这些方法和试剂盒的某些实施方案中,所述可活化抗体包括可检测标记。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中,所述可检测标记包括成像剂、造影剂、酶、荧光标记、生色团、染料、一种或多种金属离子或基于配体的标记。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中,所述成像剂包含放射性同位素。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中,所述放射性同位素是铟或镅。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中,所述造影剂包含碘、钆或氧化铁。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中,所述酶包含辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶或 β -半乳糖苷酶。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中,所述荧光标记包含黄色荧光蛋白(YFP)、青色荧光蛋白(CFP)、绿色荧光蛋白(GFP)、经修饰的红色荧光蛋白(mRFP)、红色荧光蛋白t二聚体2(RFP t二聚体2)、HCRED或钬衍生物。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中,所述发光标记包含N-甲基acrydium衍生物。在这些方法的某些实施方案中,所述标记包含Alexa Fluor[®]标记,诸如Alex Fluor[®]680或Alexa Fluor[®]750。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中,所述基于配体的标记包含生物素、抗生物素蛋白、抗生蛋白链菌素或一种或多种半抗原。

[0617] 在这些方法和试剂盒的某些实施方案中,所述受试者是哺乳动物。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中,所述受试者是人。在某些实施方案中,所述受试者是非人哺乳动物,诸如非人灵长类动物、伴侣动物(例如,猫、狗、马)、耕作动物、工作动物或动物园动物。在某些实施方案中,所述受试者是啮齿动物。

[0618] 在这些方法的某些实施方案中,所述方法是体内方法。在这些方法的某些实施方案中,所述方法是原位方法。在这些方法的某些实施方案中,所述方法是离体方法。在这些方法的某些实施方案中,所述方法是体外方法。

[0619] 在某些实施方案中,原位成像和/或体内成像可用在鉴别治疗哪些患者的方法中。

例如,在原位成像中,使用所述可活化抗体来筛选患者样品以鉴别在适当位置处(例如,在肿瘤部位处)具有适当蛋白酶和靶标的那些患者。

[0620] 在某些实施方案中,使用原位成像来鉴别或以其它方式细化适合用本发明的可活化抗体治疗的患者群体。例如,就靶标(例如,靶标)和蛋白酶而言测试为阳性的患者被鉴别为用包含这样的CM的这类可活化抗体治疗的合适候选人,所述蛋白酶切割正在测试的可活化抗体的可切割部分(CM)中的底物(例如,在疾病部位处积累活化的抗体)。同样地,就靶标(例如,靶标)和蛋白酶中的任一种或两种而言测试为阴性的患者可能被鉴别为另一种治疗形式的合适候选人,所述蛋白酶切割正在使用这些方法测试的可活化抗体的CM中的底物。在某些实施方案中,就第一可活化抗体而言测试为阴性的这样的患者可以用包含不同CM的其它可活化抗体测试直到鉴别出对于治疗而言合适的可活化抗体(例如,包含在疾病部位处被患者切割的CM的可活化抗体)。在某些实施方案中,然后给所述患者施用治疗有效量的所述患者测试为阳性的可活化抗体。

[0621] 在某些实施方案中,使用体内成像来鉴别或以其它方式细化适合用本发明的可活化抗体治疗的患者群体。例如,就靶标(例如,靶标)和蛋白酶而言测试为阳性的患者被鉴别为用包含这样的CM的这类可活化抗体治疗的合适候选人,所述蛋白酶切割正在测试的可活化抗体的可切割部分(CM)中的底物(例如,在疾病部位处积累活化的抗体)。同样地,测试为阴性的患者可能被鉴别为另一种治疗形式的合适候选人。在某些实施方案中,就第一可活化抗体而言测试为阴性的这样的患者可以用包含不同CM的其它可活化抗体测试直到鉴别出对于治疗而言合适的可活化抗体(例如,包含在疾病部位处被患者切割的CM的可活化抗体)。在某些实施方案中,然后给所述患者施用治疗有效量的所述患者测试为阳性的可活化抗体。

[0622] 在所述方法和试剂盒的某些实施方案中,使用所述方法或试剂盒来鉴别或以其它方式细化适合用本发明的可活化抗体治疗的患者群体。例如,就靶标(例如,靶标)和蛋白酶而言测试为阳性的患者被鉴别为用包含这样的CM的这类可活化抗体治疗的合适候选人,所述蛋白酶切割在这些方法中正在测试的可活化抗体的可切割部分(CM)中的底物。同样地,就靶标(例如,靶标)和蛋白酶而言测试为阴性的患者可能被鉴别为另一种治疗形式的合适候选人,所述蛋白酶切割正在使用这些方法测试的可活化抗体的CM中的底物。在某些实施方案中,可以用其它可活化抗体测试这样的患者直到鉴别出对于治疗而言合适的可活化抗体(例如,包含在疾病部位处被患者切割的CM的可活化抗体)。在某些实施方案中,就所述靶标(例如,靶标)中的任一种测试为阴性的患者被鉴别为用包含这样的CM的这类可活化抗体治疗的合适候选人。在某些实施方案中,就所述靶标(例如,靶标)中的任一种测试为阴性的患者被鉴别为不是用包含这样的CM的这类可活化抗体治疗的合适候选人。在某些实施方案中,可以用其它可活化抗体测试这样的患者直到鉴别出对于治疗而言合适的可活化抗体(例如,包含在疾病部位处被患者切割的CM的可活化抗体)。在某些实施方案中,所述可活化抗体是治疗剂所缀合的可活化抗体。在某些实施方案中,所述可活化抗体没有缀合至试剂。在某些实施方案中,所述可活化抗体包含可检测标记。在某些实施方案中,所述可检测标记位于所述AB上。在某些实施方案中,测量所述受试者或样品中可活化抗体的水平如下完成:使用特异性地结合活化的抗体的第二试剂,其中所述试剂包含可检测标记。在某些实施方案中,所述第二试剂是包含可检测标记的抗体。

[0623] 在某些实施方案中,使用方法或试剂盒来鉴别或以其它方式细化适合用本发明的抗-靶标可活化抗体和/或缀合的可活化抗体(例如,治疗剂所缀合的可活化抗体)治疗的患者群体,随后通过给有此需要的受试者施用该可活化抗体和/或缀合的可活化抗体进行治疗。例如,就靶标(例如,靶标)和蛋白酶而言测试为阳性的患者被鉴别为用包含这样的CM的这类抗体和/或这类缀合的可活化抗体治疗的合适候选人,所述蛋白酶切割在这些方法中正在测试的可活化抗体和/或缀合的可活化抗体的可切割部分(CM)中的底物,并然后给所述患者施用治疗有效量的测试的可活化抗体和/或缀合的可活化抗体。同样地,就靶标(例如,靶标)和蛋白酶中的任一种或两种而言测试为阴性的患者可能被鉴别为另一种治疗形式的合适候选人,所述蛋白酶切割正在使用这些方法测试的可活化抗体的CM中的底物。在某些实施方案中,可以用其它抗体和/或缀合的可活化抗体测试这样的患者直到鉴别出对于治疗而言合适的抗体和/或缀合的可活化抗体(例如,包含在疾病部位处被患者切割的CM的可活化抗体和/或缀合的可活化抗体)。在某些实施方案中,然后给所述患者施用治疗有效量的所述患者测试为阳性的可活化抗体和/或缀合的可活化抗体。

[0624] 在这些方法和试剂盒的某些实施方案中,所述MM是具有约4-40个氨基酸的长度的肽。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中,所述可活化抗体包含接头肽,其中所述接头肽位于所述MM和所述CM之间。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中,所述可活化抗体包含接头肽,其中所述接头肽位于所述AB和所述CM之间。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中,所述可活化抗体包含第一接头肽(L1)和第二接头肽(L2),其中所述第一接头肽位于所述MM和所述CM之间,且所述第二接头肽位于所述AB和所述CM之间。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中,L1和L2中的每一个是约1-20个氨基酸长度的肽,且其中L1和L2中的每一个不需要是相同的接头。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中,L1和L2中的一个或两个包含甘氨酸-丝氨酸聚合物。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中,L1和L2中的至少一个包含选自以下的氨基酸序列:(GS)_n、(GSGGS)_n (SEQ ID NO: 191)和(GGGS)_n (SEQ ID NO: 192),其中n是至少1的整数。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中,L1和L2中的至少一个包含具有式(GGS)_n的氨基酸序列,其中n是至少1的整数。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中,L1和L2中的至少一个包含选自以下的氨基酸序列:Gly-Gly-Ser-Gly (SEQ ID NO: 193)、Gly-Gly-Ser-Gly-Gly (SEQ ID NO: 194)、Gly-Ser-Gly-Ser-Gly (SEQ ID NO: 195)、Gly-Ser-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO: 196)、Gly-Gly-Gly-Ser-Gly (SEQ ID NO: 197)和Gly-Ser-Ser-Ser-Gly (SEQ ID NO: 198)。

[0625] 在这些方法和试剂盒的某些实施方案中,所述AB包含选自本文呈现的交叉反应性抗体序列的抗体或抗体片段序列。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中,所述AB包含Fab片段、scFv或单链抗体(scAb)。

[0626] 在这些方法和试剂盒的某些实施方案中,所述切割剂是与靶标共定位在受试者或样品中的蛋白酶,且所述CM是作为蛋白酶的底物起作用的多肽,其中当所述可活化抗体暴露于所述蛋白酶时,所述蛋白酶切割所述可活化抗体中的CM。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中,所述CM是至多15个氨基酸长度的多肽。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中,所述CM偶联至所述AB的N-端。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中,所述CM偶联至所述AB的C-端。在这些方法和试剂盒的某些实施方案中,所述CM偶联至所述AB的VL链的N-端。

[0627] 将本发明的抗体、缀合的抗体、可活化抗体和/或缀合的可活化抗体用在诊断性和

预防性制剂中。在一个实施方案中,将可活化抗体施用给处于发生前述炎症、炎症性病症、癌症或其它病症中的一种或多种的风险中的患者。

[0628] 使用遗传型、血清学或生化标志物可以确定患者或器官对一种或多种前述病症的倾向。

[0629] 在本发明的某些实施方案中,将抗体、缀合的抗体、可活化抗体和/或缀合的可活化抗体施用给诊断出具有与一种或多种前述病症有关的临床适应症的人个体。在诊断后,施用抗体、缀合的抗体、可活化抗体和/或缀合的可活化抗体以减轻或逆转临床适应症的效应。

[0630] 本发明的抗体、缀合的抗体、可活化抗体和/或缀合的可活化抗体也可用于检测患者样品中的靶标,并因此可用作诊断剂。例如,将本发明的抗体、缀合的抗体、可活化抗体和/或缀合的可活化抗体用在体外测定(例如,ELISA)中,以检测患者样品中的靶标水平。

[0631] 在一个实施方案中,将本发明的抗体和/或可活化抗体固定化在固体支持物(例如,微孔滴定板的孔)上。固定化的抗体和/或可活化抗体充当可能存在于测试样品中的任何靶标的捕获抗体。在使固定化的抗体和/或可活化抗体与患者样品接触之前,将固体支持物用封闭剂(诸如乳蛋白或白蛋白)冲洗和处理以阻止所述分析物的非特异性吸附。

[0632] 随后将所述孔用疑似含有抗原的测试样品处理,或者用含有标准量的抗原的溶液处理。这样的样品是,例如,来自疑似具有被视作病理学诊断的循环抗原水平的受试者的血清样品。冲洗掉测试样品或标准品以后,将固体支持物用可检测地标记的第二抗体处理。所述经标记的第二抗体充当检测抗体。测量可检测标记的水平,并通过与从标准样品产生的标准曲线进行对比来确定测试样品中靶抗原的浓度。

[0633] 应当理解,基于在体外诊断测定中使用本发明的抗体和/或可活化抗体得到的结果,可能基于靶抗原的表达水平将受试者中的疾病分期。对于给定的疾病,血液样品取自被诊断为处于疾病进展的不同阶段和/或处于疾病的治疗性处理的不同点的受试者。使用提供进展或疗法的每个阶段的统计上显著的结果的样品群体,指定可以视作每个阶段的特征的抗原浓度范围。

[0634] 抗体、缀合的抗体、可活化抗体和/或缀合的可活化抗体也可以用在诊断和/或成像方法中。在某些实施方案中,这样的方法是体外方法。在某些实施方案中,这样的方法是体内方法。在某些实施方案中,这样的方法是原位方法。在某些实施方案中,这样的方法是离体方法。例如,具有酶可切割的CM的可活化抗体可以用于检测能够切割CM的酶的存在或不存在。这样的可活化抗体可以用在诊断中,所述诊断可以包括通过测量活化的抗体(即,源自可活化抗体的切割的抗体)在给定宿主生物的给定细胞或组织中的积累对酶活性(或,在某些实施方案中,增加的还原电位的环境,诸如其可以提供二硫键的还原)的体内检测(例如,定性或定量)。这样的活化抗体的积累不仅指示所述组织表达酶活性(或增加的还原电位,取决于CM的性质),而且指示所述组织表达所述活化的抗体所结合的靶标。

[0635] 例如,可以将所述CM选择成在肿瘤部位处、在病毒或细菌感染部位处、在生物学上限定的部位处(例如,诸如在脓肿中,在器官中,等)等发现的蛋白酶的蛋白酶底物。所述AB可以是结合靶抗原的AB。使用本领域技术人员熟知的方法,可以将可检测标记(例如,荧光标记或放射性标记或放射性示踪剂)缀合至可活化抗体的AB或其它区域。在以上筛选方法的背景下讨论了合适的可检测标记,且下面提供了另外的具体例子。使用对疾病状态的蛋

白或肽特异性的AB,以及一种其活性在目标疾病组织中升高的蛋白酶,与其中CM特异性的酶不以可检测水平存在或以比在疾病组织中更低的水平存在或不具有活性(例如,呈酶原形式或与抑制剂形成复合物)的组织相比,可活化抗体将表现出增加的对疾病组织的结合速率。由于小蛋白和肽通过肾过滤系统从血液中快速清除,且因为对CM特异性的酶不以可检测水平存在(或以较低水平存在于非疾病组织中或以无活性构象存在),活化的抗体在疾病组织中的积累相对于非疾病组织增强。

[0636] 在另一个实施例中,可活化抗体可以用于检测切割剂在样品中的存在或不存在。例如,在可活化抗体含有易于被酶切割的CM的情况下,所述可活化抗体可以用于检测(定性地或定量地)酶在样品中的存在。在另一个实施例中,在可活化抗体含有易于被还原剂切割的CM的情况下,所述可活化抗体可以用于检测(定性地或定量地)还原条件在样品中的存在。为了便利这些方法中的分析,可以将可活化抗体可检测地标记,且可以结合至支持物(例如,固体支持物,诸如载玻片或珠子)。所述可检测标记可以位于在切割以后不释放的可活化抗体的部分上,例如,所述可检测标记可以是淬灭的荧光标记或在已经发生切割之前不可检测的其它标记。所述测定可以如下进行:例如,使固定化的、可检测地标记的可活化抗体与疑似含有酶和/或还原剂的样品接触足以使切割发生的时间,然后洗涤以除去多余的样品和污染物。然后通过与样品接触之前可活化抗体的可检测信号的变化,例如,由样品中的切割剂对可活化抗体的切割引起的可检测信号的存在和/或增加,评估切割剂(例如,酶或还原剂)在样品中的存在或不存在。

[0637] 可以将这样的检测方法改造成也提供当被切割时能够结合可活化抗体的AB的靶标的存在或不存在的检测。因而,可以将测定改造成评估切割剂的存在或不存在和目标靶标的存在或不存在。通过如上所述的可活化抗体的可检测标记的存在和/或增加,可以检测切割剂的存在或不存在;并且通过检测靶标-AB复合物,例如,通过使用可检测地标记的抗-靶标抗体,可以检测靶标的存在或不存在。

[0638] 可活化抗体也可用在用于验证可活化抗体活化(例如,通过蛋白酶切割)和对特定靶标的结合的原位成像中。原位成像是能够定位生物样品(诸如细胞培养物或组织切片)中的蛋白水解活性和靶标的技术。使用该技术,可能基于可检测标记(例如,荧光标记)的存在证实对给定靶标的结合和蛋白水解活性。

[0639] 这些技术可与源自疾病部位(例如肿瘤组织)或健康组织的任何冷冻的细胞或组织一起使用。这些技术也可与新鲜细胞或组织样品一起使用。

[0640] 在这些技术中,将可活化抗体用可检测标记进行标记。所述可检测标记可以是荧光染料(例如异硫氰酸荧光素(FITC)、异硫氰酸罗丹明(TRITC))、近红外(NIR)染料(例如,Qdot®纳米晶体)、胶体金属、半抗原、放射性标志物、生物素和扩增试剂诸如抗生蛋白链菌素或酶(例如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶)。

[0641] 已经与经标记的可活化抗体一起温育的样品中标记的检测指示,所述样品含有靶标且含有对所述可活化抗体的CM特异性的蛋白酶。在某些实施方案中,使用广谱蛋白酶抑制剂(诸如本文描述的那些)和/或通过使用对蛋白酶特异性的试剂(例如,抗体诸如A11,其对蛋白酶matriptase是特异性的,且抑制matriptase的蛋白水解活性;参见例如,国际公开号WO 2010/129609,2010年11月11日公开),可以证实蛋白酶的存在。使用广谱蛋白酶抑制剂(诸如本文描述的那些)和/或使用更有选择性的抑制剂的相同方案可以用于鉴别对所述

可活化抗体的CM特异性的蛋白酶或蛋白酶类别。在某些实施方案中,使用对靶标特异性的试剂(例如,另一种抗体),可以证实靶标的存在,或可检测标记可以与未标记的靶标竞争。在某些实施方案中,未标记的可活化抗体可以与经标记的第二抗体的检测或更复杂的检测系统一起使用。

[0642] 类似的技术也可用于体内成像,其中受试者(例如,哺乳动物,包括人)中荧光信号的检测指示,疾病部位含有靶标且含有对所述可活化抗体的CM特异性的蛋白酶。

[0643] 这些技术也可用在试剂盒中,和/或用作用于基于可活化抗体中的蛋白酶特异性的CM来检测、鉴别或表征多种细胞、组织和生物中的蛋白酶活性的试剂。

[0644] 在某些实施方案中,原位成像和/或体内成像可用在鉴别治疗哪些患者的方法中。例如,在原位成像中,使用所述可活化抗体来筛选患者样品以鉴别在适当位置处(例如,在肿瘤部位处)具有适当蛋白酶和靶标的那些患者。

[0645] 在某些实施方案中,使用原位成像来鉴别或以其它方式细化适合用本发明的可活化抗体治疗的患者群体。例如,就靶标和蛋白酶而言测试为阳性的患者被鉴别为用包含这样的CM的这类可活化抗体治疗的合适候选人,所述蛋白酶切割正在测试的可活化抗体的可切割部分(CM)中的底物(例如,在疾病部位处积累活化的抗体)。同样地,就靶标和蛋白酶中的任一种或两种而言测试为阴性的患者被鉴别为另一种治疗形式(即,不适合用正在测试的可活化抗体治疗)的合适候选人,所述蛋白酶切割正在使用这些方法测试的可活化抗体的CM中的底物。在某些实施方案中,就第一可活化抗体而言测试为阴性的这样的患者可以用包含不同CM的其它可活化抗体测试直到鉴别出对于治疗而言合适的可活化抗体(例如,包含在疾病部位处被患者切割的CM的可活化抗体)。

[0646] 在某些实施方案中,使用体内成像来鉴别或以其它方式细化适合用本发明的可活化抗体治疗的患者群体。例如,就靶标和蛋白酶而言测试为阳性的患者被鉴别为用包含这样的CM的这类可活化抗体治疗的合适候选人,所述蛋白酶切割正在测试的可活化抗体的可切割部分(CM)中的底物(例如,在疾病部位处积累活化的抗体)。同样地,测试为阴性的患者被鉴别为另一种治疗形式(即,不适合用正在测试的可活化抗体治疗)的合适候选人。在某些实施方案中,就第一可活化抗体而言测试为阴性的这样的患者可以用包含不同CM的其它可活化抗体测试直到鉴别出对于治疗而言合适的可活化抗体(例如,包含在疾病部位处被患者切割的CM的可活化抗体)。

[0647] 药物组合物

[0648] 本发明的抗体、缀合的抗体、可活化抗体和/或缀合的可活化抗体(在本文中也称作“活性化合物”)、及其衍生物、片段、类似物和同系物可以掺入适合施用的药物组合物中。这样的组合物通常包含所述抗体、所述缀合的抗体、可活化抗体和/或缀合的可活化抗体和药学上可接受的载体。本文中使用的术语“药学上可接受的载体”意图包括与药物施用相容的任意的和所有的溶剂、分散介质、包衣剂、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。合适的载体描述在Remington's Pharmaceutical Sciences(本领域中的标准参考教科书,其通过引用并入本文)的最新版中。这样的载体或稀释剂的合适例子包括、但不限于水、盐水、林格氏溶液、右旋糖溶液和5%人血清白蛋白。也可以使用脂质体和非水性媒介物诸如不挥发性油。这样的介质和药剂用于药学活性物质的用途是本领域众所周知的。除了任何常规介质或试剂与活性化合物不相容以外,预见到其在所述组合物中的应用。还可将

补充性活性化合物掺入所述组合物中。

[0649] 将本发明的药物组合物配制成与它的预期施用途径相容。施用途径的例子包括胃肠外途径,例如,静脉内、真皮内、皮下、口服(例如,吸入)、透皮(即,局部)、透粘膜和直肠施用。用于胃肠外、真皮内或皮下应用的溶液或混悬液可以包括以下组分:无菌稀释剂诸如注射用水、盐水溶液、不挥发性油、聚乙二醇、丙三醇、丙二醇或其它合成溶剂;抗菌剂诸如苯甲醇或对羟基苯甲酸甲酯;抗氧化剂诸如抗坏血酸或亚硫酸氢钠;螯合剂诸如乙二胺四乙酸(EDTA);缓冲剂诸如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐,和用于调节张度的试剂诸如氯化钠或右旋糖。可以用酸或碱(诸如盐酸或氢氧化钠)调节pH。可以将胃肠外制剂包封在由玻璃或塑料制成的安瓿瓶、一次性注射器或多次剂量瓶中。

[0650] 适合于注射使用的药物组合物包括无菌水溶液(在水溶性的情况下)或分散体以及用于即时制备无菌可注射溶液或分散体的无菌粉剂。对于静脉内施用,合适的载体包括生理盐水、抑制细菌的水、Cremophor EL™(BASF, Parsippany, N.J.)或磷酸盐缓冲盐水(PBS)。在所有情况下,所述组合物必须是无菌的,且应当是流动的以达到存在容易注射性的程度。它在制备和贮存条件下必须是稳定的,并且必须被保存免于微生物(诸如细菌和真菌)的污染作用。所述载体可以是含有例如水、乙醇、多元醇(例如,甘油、丙二醇和液体聚乙二醇等)和它们的合适混合物的溶剂或分散介质。可以维持适当的流动性,例如,通过使用包衣剂诸如卵磷脂通过维持所需的粒度(在分散系的情况下)和通过使用表面活性剂。微生物的作用的阻止可以通过各种抗菌剂和抗真菌剂实现,例如,对羟基苯甲酸酯、三氯叔丁醇、苯酚、抗坏血酸、硫柳汞等。在某些实施方案中,将合乎需要的是在所述组合物中包括等渗剂,例如,糖、多元醇诸如甘露醇、山梨醇、氯化钠。通过在所述组合物中包括延迟吸收的试剂(例如,单硬脂酸铝和明胶),可以实现可注射组合物的延长吸收。

[0651] 可以如下制备无菌可注射溶液:将所需量的活性化合物掺入到含有一种或多种以上列出的成分的适当溶剂中,根据需要然后过滤除菌。通常,通过将所述活性化合物掺入无菌媒介物来制备分散体,所述媒介物含有基本分散介质和来自上文列举的那些的所需其它成分。就用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末而言,制备方法是产生活性成分与任何另外的期望成分的粉末的真空干燥和冷冻干燥,所述期望成分来自其以前无菌过滤的溶液。

[0652] 口服组合物一般包括惰性稀释剂或可食用的载体。它们可以包封在明胶胶囊剂中或压成片剂。为了口服治疗施用的目的,可以将活性化合物和赋形剂混合并以片剂、锭剂或胶囊剂的形式使用。口服组合物也可使用液体载体制备用作漱口剂,其中在流体载体中的化合物口服地施用,在漱口后吐出或咽下。可以包括药学上适合的粘合剂和/或辅料,作为组合物的一部分。片剂、丸剂、胶囊剂、锭剂等可含有任意下述成分或相似性质的化合物:粘合剂诸如微晶纤维素、黄蓍树胶或明胶;赋形剂诸如淀粉或乳糖;崩解剂诸如海藻酸、Primogel或玉米淀粉;润滑剂诸如硬脂酸镁或Sterotes;助流剂诸如胶体二氧化硅;甜味剂诸如蔗糖或糖精;或矫味剂诸如薄荷、水杨酸甲酯或橙味矫味剂。

[0653] 就吸入施用而言,所述化合物以气溶胶喷雾的形式从加压容器或分配器(其含有合适的推进剂,例如,气体诸如二氧化碳)或喷雾器递送。

[0654] 全身施用还可以是通过透粘膜或透皮方式。关于透粘膜或透皮施用,在制剂中使用适合要渗透的屏障的穿透剂。该穿透剂是本领域中普遍已知的,并且对于透粘膜施用而言,包括例如去污剂、胆汁盐和夫西地酸衍生物。透粘膜施用可以通过使用鼻喷雾或栓剂而

完成。对于透皮施用，将活性化合物配制成本领域普遍已知的软膏剂、油膏剂、凝胶或乳膏剂。

[0655] 也可以以用于直肠递送的栓剂(例如具有常规栓剂基质，如可可脂和其它甘油酯)或保留灌肠剂的形式，配制所述化合物。

[0656] 在一个实施方案中，将活性化合物与载体一起制备，所述载体会保护化合物免于从身体中快速消除，诸如控释制剂，包括植入剂和微囊化的递送系统。可以使用可生物降解的、生物相容的聚合物，诸如乙烯醋酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、胶原、聚原酸酯和聚乳酸。本领域技术人员会明白用于制备这样的制剂的方法。所述材料还可以商业上得自Alza Corporation和Nova Pharmaceuticals, Inc.脂质体混悬液(包括用针对病毒抗原的单克隆抗体靶向受感染的细胞的脂质体)也可以用作药学上可接受的载体。这些可以根据本领域技术人员已知的方法来制备，例如，如在美国专利号4,522,811中所述。

[0657] 特别有利的是，为了施用容易和剂量均匀以剂量单位形式配制口服或胃肠外组合物。本文中使用的剂量单位形式表示适合作为要治疗的受试者的单位剂量的物理上离散的单位；每个单位含有与所需药用载体组合的经计算会产生所需治疗效果的预定量的活性化合物。关于本发明的剂量单位形式的规范取决于并直接地依赖于活性化合物的独有特征以及要实现的特定治疗效果，和本领域中固有的为了治疗个体配制这样的活性化合物的限制。

[0658] 所述药物组合物可以与施用说明书一起包括在容器、包或分配器中。

[0659] 将在下述实施例中进一步描述本发明，所述实施例不会限制在权利要求书中描述的发明的范围。

实施例

[0660] 实施例1. 结合人和/或小鼠PDL1的实施方案的人ScFv的选择

[0661] 本实施例证实，结合PDL1的实施方案的ScFv (单链可变片段)可以选自具有不同CDR序列的ScFv的噬菌体展示文库，并且这样的结合可以抑制PDL1与PD1和B7-1的结合。

[0662] ScFv选自在M13细菌噬菌体上展示的全人ScFv文库；在与Creative Biolabs, Shirley, NY的合同下进行ScFv噬菌体选择。在针对在M13细菌噬菌体上展示的结合PDL1的ScFv的三个交替选择轮中，使用由具有羧基端His6标签的人PDL1或小鼠PDL1的细胞外结构域(ECD) (Sino Biological, 目录号10084-H02H-200)构成的融合蛋白作为抗原。在第一轮中，通过胰蛋白酶消化使结合的噬菌体释放，在随后的轮中，通过人PD1融合蛋白(R&D Systems;目录号1080-PD-050)竞争使噬菌体洗脱。分离五(5)种独特的结合PDL1的ScFv。表1列出了5种ScFv和它们各自的核酸序列和氨基酸序列的SEQ ID NO。

[0663] 表1. 选择的ScFv的SEQ ID NO

ScFv	核酸序列	氨基酸序列
PDL1 c8	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 2
PDL1 c12	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 4
PDL1 c16	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 6
PDL1 c20	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 8
PDL1 c60	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 10

[0664] 下面显示了每种抗-PDL1 ScFv的核酸和氨基酸序列(CDR标有下划线)：

SEQ ID NO: 1

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT
GGAGTGGGTCTCAGATATTACTGCGTCGGGTAGAGGACAACGTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGG
TTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG
ACACGGCCGTATATTACTGTGCGAGATCGAAGATTGCTTTTACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGT
CACCGTCTCGAGCGGTGGAGGCGGTTAGGCGGAGGTGGCAGCGGCGGTGGCGGGTCGACGGACATC
CAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGG
CAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCT
GATCTATAAGGCATCCCGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACA
GATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGCGTG
CGCTTAAGCCTGTGACGTTCCGCCAAGGGACCAAGGTGAAAATCAAACGG

[0665]

SEQ ID NO: 2

EVQLLES^{GGGLVQPGGSLRLS}CAASGFTFSS^{YAMSWVRQAPGK}GLEWVS^{DITASGQRTTYADSVKGR}
^{FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR}^{SKIAFDYWGQ}GLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSTD
I^{QMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIYKASRLQSGVPSRFS}SGSGST
DFTLTIS^{SLQPEDFATYYCQQRAL}KPVTFGQGTKVEIKR

SEQ ID NO: 3

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTATCCTGTG
CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT
GGAGTGGGTCTCAAGTATTAATAAGGATGGTCATTATACAAGTTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGG
TTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG
ACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAAATCTTGATGAGTTTACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGT

CACCGTCTCGAGCGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCAGCGCGGTGGCGGGTCGACGGACATC
CAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGG
CAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCT
GATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACA
GATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTT
ACAGTACCCCTAATACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

SEQ ID NO: 4

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSINKDGHYTSYADSVKGR
FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKNLDEFDYGQGTLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSTD
QMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT
DFTLTISLQPEDFATYYCQSYSTPNTFGQGTKVEIKR

SEQ ID NO: 5

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT
GGAGTGGGTCTCATCTATTATGGCTACTGGTGCTGGTACATTGTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGG
TTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG
ACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGATGGTGCGGGGTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGT
CACCGTCTCGAGCGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCAGCGCGGTGGCGGGTCGACGGACATC
CAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGG
CAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCT
GATCTATTCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACA
GATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGGCGA
ATTTCGCGGCCTTCTACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

[0666]

SEQ ID NO: 6

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIMATGAGTLYADSVKGR
FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGAGFDYGQGTLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSTD
QMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIYSASQLQSGVPSRFSGSGSGT
DFTLTISLQPEDFATYYCQANSRPSTFGQGTKVEIKR

SEQ ID NO: 7

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT
GTAGTGGGTCTCAACTATTACTTCTTCTGGTGCTGCTACATATTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGG
TTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG
ACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAAATTATACTGGTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGT

CACCGTCTCGAGCGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCAGCGGCGGTGGCGGGTCGACGGACATC
CAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGG
CAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCT
GATCTATAATGCATCCTCCTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACA
GATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGTATA
CTTATGGTCTGGTACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

SEQ ID NO: 8

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLQWVSTITSSGAATYYADSVKGR
FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKNYTGFDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSTD I
QMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIYNASSLQSGVPSRFSGSGSGT
DFTLTISSLPEDFATYYCQYTYGPGTFGQGTKVEIKR

SEQ ID NO: 9

[0667]

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT
GGAGTGGGTCTCAAGTATTTATTCTACTGGTGGTGCTACAGCTTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGG
TTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG
ACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAATCTTCTGCTGGTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGT
CACCGTCTCGAGCGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCAGCGGCGGTGGCGGGTCGACGGACATC
CAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGG
CAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCT
GATCTATTATGCATCCACTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACA
GATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGGATA
ATGGTTATCCTTCTACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

SEQ ID NO: 10

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIYSTGGATAYADSVKGR
FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSSAGFDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSTD I
QMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIYYASTLQSGVPSRFSGSGSGT
DFTLTISSLPEDFATYYCQQDNGYPSTFGQGTKVEIKR

[0668] 图1通过基于ELISA的结合表明,PDL1 c60 ScFv-噬菌体特异性地结合人和小鼠PDL1。简而言之,将人PDL1、小鼠PDL1、人PD1、小鼠PD1、人41BBLig或Notch1 (R&D Systems) 吸附至96-孔ELISA板的各个孔。将噬菌体应用于平板并允许结合。将结合的噬菌体用抗-M13-HRP缀合物 (GE Healthcare, Piscataway, NY) 显影并用生色底物四甲基联苯胺 (TMB) (Thermo Scientific, Rockford, IL) 显色。

[0669] 图2表明,PD1的包括可以在ELISA结合测定中抑制PDL1 ScFv-噬菌体与PDL1的结合。简而言之,将人PDL1或小鼠PDL1 (R&D Systems) 吸附至96-孔ELISA板的各个孔。在有人或小鼠PD1-Fc (R&D Systems) 存在下将噬菌体应用于平板并允许结合。将结合的噬菌体用抗-M13-HRP缀合物 (GE Healthcare, Piscataway, NY) 显影,并用生色底物四甲基联苯胺 (TMB) (Thermo Scientific, Rockford, IL) 显色。噬菌体结合在有PD1-Fc存在下

减少,从而证实噬菌体的结合表位与PD1结合表位重叠。

[0670] 实施例2. 全人抗-PDL1 c60 IgG抗体的生产和测试

[0671] 本实施例证实,结合人和小鼠PDL1的PDL1 c60 ScFv-噬菌体可以转化成保留人和小鼠PDL1结合的全人IgG抗体。

[0672] 使用与在PCT公开号W0 2010/081173中描述的那些类似的技术,完成包含PDL1 c60的可变结构域的全人IgG的生产。将编码PDL1 c60 ScFv-噬菌体的可变结构域的DNA分子克隆进用于表达全人IgG的表达载体中。从ScFv模板扩增轻链(Lc)可变结构域。将载体(Lcp0P (修饰自pCDNA3, Invitrogen, Carlsbad, CA))和扩增的DNA用BsiWI和EcoRI切割过夜,通过连接进行组合,并转化进大肠杆菌MC1061细胞中。从ScFv模板扩增重链(Hc)可变结构域。从瞬时转染的HEK-293细胞表达全人IgG抗-PDL1 c60,并通过蛋白A色谱法从培养物上清液纯化。

[0673] 图3表明,全人抗-PDL1 c60 IgG结合人和小鼠PDL1,对人PDL1的亲合力为1 nM,对小鼠PDL1的亲合力为30 nM。简而言之,将人PDL1-Fc或小鼠PDL1-Fc (R & D Systems, Minneapolis, MN)吸附至96-孔ELISA板的孔。将经纯化的抗-PDL1 c60应用于所述板并允许结合。将结合的抗体用抗-人IgG-HRP缀合物(Fab特异性的)(Sigma, St Louis, MO;目录号A0293-1ML)显影,并用生色底物TMB显色。

[0674] 实施例3. 实施方案的抗-PDL1抗体的亲和力成熟

[0675] 本实施例证实了具有改善的结合动力学和可制造性谱的实施方案的抗体的分离。

[0676] 用从抗-PDL1 c60修饰的CDR从文库分离抗-PDL1抗体。如在表2和3中所示,设计这样的文库。使用简并的合成DNA构建4个Fab-噬菌体文库,其基于抗-PDL1 c60的序列。通过在每个指定核苷酸处的随机化,改变残基。另外,在文库3和6内,将另外的随机化的残基添加至重链的CDR3。将文库转染进大肠杆菌菌株TG1中,并在用M13K07 (Invitrogen)重叠感染以后制备噬菌体。

[0677] 以递增的严谨性针对每个文库执行三轮选择。通过在Tris-缓冲盐水(TBS;40 mM Tris, 129 mM NaCl, pH 7.4)中将生物素化的人PDL1或生物素化的小鼠PDL1与用100 μ g/mL合并的人IgG (huIgG或hIgG)和2%脱脂干乳(NFDM)封闭的噬菌体混合,完成三个交替选择轮。在室温温育以后,将与噬菌体结合的Bio-PDL1用在37 $^{\circ}$ C充分洗涤的抗生蛋白链菌素磁珠捕获,并将剩余的结合的噬菌体用100 mM三乙醇胺(TEA) (Sigma, St. Louis, MO)洗脱,并通过大肠杆菌TG1繁殖。将选择的Lc文库与Hc文库组合,并将各自进行另外七轮选择。

[0678] 表2. 亲和力成熟可变重链文库的CDR序列

[illegible]

[0680] 表3. 亲和力成熟可变轻链文库的CDR序列

[0681]

IMG1	...	27	28	29	30	31	32	...	56	57	58	66	...	104	105	106	107	108	109	110	111	112		
Vk1-39 种系		Q	S	I	S	S	Y		A	A	S	S		C	Q	Q	S	Y	S	T	P	P		
		(SEQ ID NO: 174)							(SEQ ID NO: 175)							(SEQ ID NO: 177)								
克隆60		Q	S	I	S	S	Y		Y	A	S	T		C	Q	Q	D	N	G	Y	P	S	T	
																							1.26E+07	
(SEQ ID NO: 174)									(SEQ ID NO: 176)									(SEQ ID NO: 178)						
									X									X						
									(SEQ ID NO: 179)									X						
									(SEQ ID NO: 180)									X						
									(SEQ ID NO: 181)									X						
									(SEQ ID NO: 182)									X						
									(SEQ ID NO: 183)									X						
									(SEQ ID NO: 184)									X						
									(SEQ ID NO: 185)									X						
									(SEQ ID NO: 186)									X						
									(SEQ ID NO: 187)									X						
									(SEQ ID NO: 188)									X						
									(SEQ ID NO: 189)									X						
									(SEQ ID NO: 190)									X						
L2nk + L3 walk																								

[0682] 从最终的集合选择四十七 (47) 个单个分离物。从每个分离物衍生出噬菌体,并测定与人PDL1-Fc、人B7-1-Fc和人CD28-Fc抗原 (R&D Systems) 的结合。简而言之,将抗原吸附至96-孔ELISA板的孔,每种配体在单独板上。将噬菌体应用于每个板上的相关孔并允许结合。将结合的噬菌体用抗-M13-HRP缀合物显影并用生色底物TMB显色。基于ELISA和DNA序列的结果,选择6个具有成熟重链可变CDR3结构域和10个重链可变CDR2结构域的独特克隆用

于将来研究。针对它们的结合小鼠和人PDL1的能力分析13个噬菌体克隆(10个CDR2和3个CDR3),并将噬菌体ELISA的结果显示在图4A和图4B中。所有噬菌体克隆结合人PDL1,但是不结合B7-1,另外,CDR2克隆C05和G12表现出与小鼠PDL1的强结合,且CDR3克隆H9表现出与小鼠PDL1的弱结合。表4列出了由所述克隆编码的重链可变结构域以及它们各自的重链的核酸序列和氨基酸序列的SEQ ID NO。各自的轻链可变结构域与c60相同(SEQ ID NO 11和12)。

SEQ ID NO: 11

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTT
GCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAA
GCTCCTGATCTATTATGCATCCACTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCT
GGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAAC
AGGATAATGGTTATCCTTCTACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGG

[0683]

SEQ ID NO: 12

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYYASTLQSGVPSRFSGSGS
GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQDNGYPSTFGQGTKVEIKR

[0684] 表4: 成熟的抗-PDL1可变结构域

VH	核酸序列	氨基酸序列
PDL1 c1	SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 14
PDL1 d1	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 16
PDL1 g7	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 18
PDL1 h9	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 20
PDL1 b10	SEQ ID NO: 21	SEQ ID NO: 22
PDL1 E10	SEQ ID NO: 23	SEQ ID NO: 24
PDL1 A05	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 26
PDL1 C05	SEQ ID NO: 27	SEQ ID NO: 28
PDL1 C10	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 30
PDL1 D08	SEQ ID NO: 31	SEQ ID NO: 32
PDL1 G09	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 34
PDL1 G10	SEQ ID NO: 35	SEQ ID NO: 36
PDL1 G12	SEQ ID NO: 37	SEQ ID NO: 38
PDL1 E11	SEQ ID NO: 39	SEQ ID NO: 40
PDL1 D01	SEQ ID NO: 41	SEQ ID NO: 42
PDL1 H06	SEQ ID NO: 43	SEQ ID NO: 44

SEQ ID NO: 13

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT
GGAGTGGGTCTCAAGTATTTATTCTACTGGTGGTGCTACAGCTTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGG
TTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG
ACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAATCTTCTGCTGGTAGTCGGCCGGGTTTTGACTACTGGGGCCA
GGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGC

SEQ ID NO: 14

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIYSTGGATAYADSVKGR
FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSSAGQSRPGFDYWGQGTLLTVSS

[0685]

SEQ ID NO: 15

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT
GGAGTGGGTCTCAAGTATTTATTCTACTGGTGGTGCTACAGCTTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGG
TTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG
ACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAATCTTCTGCTGGTTCGTGGCCGGGTTTTGACTACTGGGGCCA
GGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGC

SEQ ID NO: 16

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIYSTGGATAYADSVKGR
FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSSAGQSWPGFDYWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO: 17

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT
GGAGTGGGTCTCAAGTATTTATTCTACTGGTGGTGTACAGCTTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGG
TTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG
ACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAATCTTCTGCTGGTCAGTCGTTTCCGGGTTTTGACTACTGGGG
CCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGC

SEQ ID NO: 18

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIYSTGGATAYADSVKGR
FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSSAGQSFPGFYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 19

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT
GGAGTGGGTCTCAAGTATTTATTCTACTGGTGGTGTACAGCTTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGG
TTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG
ACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAATGGTCTGCTGCTTTTACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGT
CACCGTCTCGAGC

[0686]

SEQ ID NO: 20

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIYSTGGATAYADSVKGR
FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWSAAFYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 21

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT
GGAGTGGGTCTCAAGTATTTATTCTACTGGTGGTGTACAGCTTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGG
TTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG
ACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAATGGTCTGCTGCTTTTACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGT
CACCGTCTCGAGC

SEQ ID NO: 22

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIYSTGGATAYADSVKGR
FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWSAGYDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 23

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT
GGAGTGGGTCTCAAGTATTTATTCTACTGGTGGTGTACAGCTTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGG
TTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG
ACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAATGGTCTAAGGGTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGT
CACCGTCTCGAGC

SEQ ID NO: 24

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIYSTGGATAYADSVKGR
FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWSKGFYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO: 25

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT
GGAGTGGGTCTCAAGTATTTGGAAGTAGGGTATTGTGACAGTGAGCTTACGCAGACTCCGTGAAGGG
CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCC
GAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAATCTTCTGCTGGTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCC
TGGTCACCGTCTCGAGC

[0687]

SEQ ID NO: 26

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIWKQGIIVTVYDSVKGRF
TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSSAGFDYWGQGLVTV

SEQ ID NO: 27

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT
GGAGTGGGTCTCAAGTATTTGGCGGAATGGTATTGTTACAGTTAGCTTACGCAGACTCCGTGAAGGG
CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCC
GAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAATCTTCTGCTGGTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCC
TGGTCACCGTCTCGAGC

SEQ ID NO: 28

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIWRNGIIVTVYDSVKGRF
TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSSAGFDYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO: 29

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT
GGAGTGGGTCTCAGATATTTGGAAGTAGGGTATGGTTACAGTGAGCTTACGCAGACTCCGTGAAGGG
CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCC
GAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAATCTTCTGCTGGTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCC
TGGTCACCGTCTCGAGC

SEQ ID NO: 30

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSDIWKQGMVTVYDSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSSAGFDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 31

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT
GGAGTGGGTCTCATCGATTTGGAGGTAGGGTCTGGCGACAGCGAGCTTACGCAGACTCCGTGAAGGG
CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCC
GAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAATCTTCTGCTGGTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCC
TGGTCACCGTCTCGAGC

[0688]

SEQ ID NO: 32

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIWRQGLATAYDSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSSAGFDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 33

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT
GGAGTGGGTCTCAGAGATTGTGGCTACTGGTATTTTGACAAGTAGCTTACGCAGACTCCGTGAAGGG
CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCC
GAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAATCTTCTGCTGGTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCC
TGGTCACCGTCTCGAGC

SEQ ID NO: 34

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSEIVATGILTSYDSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSSAGFDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 35

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG

CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT
GGAGTGGGTCTCATCGATTGGTCGGTAGGGTTTGATTACAGTTAGCTTACGCAGACTCCGTGAAGGG
CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCC
GAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAATCTTCTGCTGGTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCC
TGGTCACCGTCTCGAGC

SEQ ID NO: 36

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIQRQLITVYDSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSSAGFDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 37

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT
GGAGTGGGTCTCATCTATTTGGTATTAGGGTCTGGTGACAGTTAGCTTACGCAGACTCCGTGAAGGG
CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCC
GAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAATCTTCTGCTGGTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCC
TGGTCACCGTCTCGAGC

[0689]

SEQ ID NO: 38

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIWYQGLTVYDSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSSAGFDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 39

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT
GGAGTGGGTCTCAGATATTTGGAAGTAGGGTTTTGCTACAGCGAGCTTACGCAGACTCCGTGAAGGG
CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCC
GAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAATCTTCTGCTGGTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCC
TGGTCACCGTCTCGAGC

SEQ ID NO: 40

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSDIWKQGFATADSVKGRFT
ISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSSAGFDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 41

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT

GGAGTGGGTCTCAAGTATTTGGAAGTAGGGTATTGTGACAGTGAGCTTACGCAGACTCCGTGAAGGG
CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCC
GAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAATCTTCTGCTGGTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCC
TGGTCACCGTCTCGAGC

SEQ ID NO: 42

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIWKQGIVTVYDSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSSAGFDYWGQGLVTVSS

[0690]

SEQ ID NO: 43

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT
GGAGTGGGTCTCATCGATTTGGAGGTAGGGTCTGGCGACAGCGAGCTTACGCAGACTCCGTGAAGGG
CCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCC
GAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAATCTTCTGCTGGTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCC
TGGTCACCGTCTCGAGC

SEQ ID NO: 44

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIWRQGLATAYDSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSSAGFDYWGQGLVTVSS

[0691] 实施例4. 实施方案的亲合力成熟的抗-PDL1抗体的分离和测试

[0692] 本实施例证实,可以将结合人和小鼠PDL1的成熟PDL1 Fab-噬菌体转化成保留人PDL1结合并表现出增强的小鼠PDL1结合的全人IgG抗体。

[0693] 使用与在PCT公开号W0 2010/081173中描述的那些类似的技术,完成包含成熟克隆的可变结构域的全人IgG的生产。将编码以下结构域的DNA克隆进用于表达全人IgG的表达载体中:抗-PDL1 Fab-噬菌体克隆C1、D1、G7、C05、G12的可变结构域,和抗-PDL1 Fab-噬菌体克隆C05或G12的重链可变CDR3结构域与抗-PDL1 Fab-噬菌体克隆B10、E10或H9的重链可变CDR2结构域的组合。各自的轻链可变结构域与c60相同(SEQ ID NO: 10)。从Fab模板扩增轻链(Lc)可变结构域。将载体(Lcp0P (修饰自pCDNA3, Invitrogen, Carlsbad, CA))和扩增的DNA用*Bsi*WI和*Eco*RI切割过夜,通过连接进行组合并转化进大肠杆菌MC1061细胞中。从Fab模板扩增重链(Hc)可变结构域。从瞬时转染的HEK-293细胞表达全人IgG抗-PDL1抗体,并通过蛋白A色谱法从培养物上清液纯化。

[0694] 针对它们的结合人和小鼠PDL1的能力分析亲合力成熟的抗-PDL1抗体。简而言之,将人PDL1-Fc或小鼠PDL1-Fc (R & D Systems, Minneapolis, MN)吸附至96-孔ELISA板的孔。将纯化的抗-PDL1抗体应用于所述板并允许结合。将结合的抗体用抗-人IgG-HRP缀合物(Fab特异性的)(Sigma, St Louis, MO;目录号A0293-1ML)显影并用生色底物TMB显色。图5表明,将成熟的重链可变CDR3结构域与重链可变CDR2结构域组合会产生具有增强的对人PDL1的亲合力的抗体。另外,成熟的重链可变CDR2结构域C05与重链可变CD3结构域H9的组合会产生对人和小鼠PDL1具有高亲和力的抗体。表5提供了各种可变重链的核酸序列和氨基酸序列的SEQ ID NO。

[0695] 关于它们对结合PDL1和其它密切相关蛋白的物种特异性,进一步表征抗-PDL1抗体C5H9、C5B10和C5E10。简而言之,将人PDL1-Fc、小鼠PDL1-Fc (R & D Systems, Minneapolis, MN) 或食蟹猴(cyno) PDL1-Fc (Sino biological) 吸附至96-孔ELISA板的孔。将经纯化的抗-PDL1抗体应用于所述板并允许结合。将结合的抗体用抗-人IgG-HRP缀合物(Fab特异性的) (Sigma, St Louis, MO; 目录号A0293-1ML) 显影并用生色底物TMB显色。图6A和6B表明,C5H9以几乎相等的亲和力结合人和小鼠PDL1,且C5B10和C5E10仅结合人PDL1。测试的抗体都不结合人B7-1 (图6D) 或人CD28 (图6C),这是两种密切相关的蛋白。图7表明,抗-PDL1抗体C5H9以高和相等的亲和力结合人、小鼠和食蟹猴PDL1,但是不结合人B7H3 (也被称作B7-H3) (R&D Systems, Minneapolis, MN)。

[0696] 表5: 实施方案的PDL1抗体的可变重链结构域

VH	核酸序列	氨基酸序列
PDL1 C5H9	SEQ ID NO: 45	SEQ ID NO: 46
PDL1 C5B10	SEQ ID NO: 47	SEQ ID NO: 48
PDL1 C5E10	SEQ ID NO: 49	SEQ ID NO: 50
PDL1 G12H9	SEQ ID NO: 51	SEQ ID NO: 52
PDL1 G12B10	SEQ ID NO: 53	SEQ ID NO: 54
PDL1 G12E10	SEQ ID NO: 55	SEQ ID NO: 56

SEQ ID NO: 45

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT
GGAGTGGGTCTCAAGTATTTGGCGGAATGGTATTGTTACAGTTTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGG
TTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG
ACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAATGGTCTGCTGCTTTTACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGT
CACCGTCTCGAGC

SEQ ID NO: 46

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIWRNGIVTVYADSVKGR
FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWSAAFDYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO: 47

[0697]

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT
GGAGTGGGTCTCAAGTATTTGGCGGAATGGTATTGTTACAGTTTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGG
TTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG
ACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAATGGTCTGCTGGTTATGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGT
CACCGTCTCGAGC

SEQ ID NO: 48

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIWRNGIVTVYADSVKGR
FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWSAGYDYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO: 49

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT
GGAGTGGGTCTCAAGTATTTGGCGGAATGGTATTGTTACAGTTTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGG
TTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG

ACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAATGGTCTAAGGGTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGT
CACCGTCTCGAGC

SEQ ID NO: 50

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIWRNGIVTVYADSVKGR
FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWSKGF DYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO: 51

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT
GGAGTGGGTCTCATCTATTTGGTATCAGGGTCTGGTGACAGTTTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGG
TTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG
ACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAATGGTCTGCTGCTTTTACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGT
CACCGTCTCGAGC

SEQ ID NO: 52

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIWYQGLVTVYADSVK
GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWSAAF DYWGQGLVTVSS

[0698]

SEQ ID NO: 53

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT
GGAGTGGGTCTCAAGTATTTGGCGGAATGGTATTGTTACAGTTTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGG
TTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG
ACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAATGGTCTGCTGGTTATGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGT
CACCGTCTCGAGC

SEQ ID NO: 54

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIWYQGLVTVYADSVKGR
FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWSAGYDYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO: 55

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG
CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT
GGAGTGGGTCTCAAGTATTTGGCGGAATGGTATTGTTACAGTTTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGG
TTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG

ACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAATGGTCTAAGGGTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGT
CACCGTCTCGAGC

[0699]

SEQ ID NO: 56
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIWYQGLVTYADSVKGR
FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWSKGFYWGQGLTVTVSS

。

[0700] 实施例5. 抗-PDL1抗体C5H9轻链可变结构域中的种系修正增强可制造性和减小潜在免疫原性。

[0701] 本实施例描述了另一个抗-PDL1抗体实施方案,其表现出减小的预测的免疫原性、减小的聚集和改善的表达。

[0702] 使用ProPred的计算机环境免疫原性预测揭示了C5H9的轻链可变结构域的CDR2中的强潜在表位;抗-PDL1抗体C5H9(在本文中也称作C5H9)含有包含SEQ ID NO: 12的轻链和包含SEQ ID NO: 46的重链。C5H9的轻链可变结构域与人种系抗体的比对揭示了当恢复至种系时会消除预测表位的CDR2中的2个氨基酸。所述残基在下面SEQ ID NO: 12所示的序列中标有下划线且以粗体文字显示。

[0703] 此外,如SEQ ID NO: 58中的粗斜体字所示,通过用甘氨酸(G)置换J区域中的谷氨酰胺(Q),修饰C5H9轻链的框架4。该修饰的目的在于增加可变区和恒定区之间的连接部的柔性,从而潜在地减小C5H9的形成聚集体的趋势。得到的DNA和氨基酸序列分别由SEQ ID NO: 57和SEQ ID NO: 58描述。得到的抗-PDL1抗体(在本文中被称作抗-PDL1抗体C5H9v2,在本文中也称作C5H9v2)含有包含SEQ ID NO: 58的轻链和包含SEQ ID NO: 46的重链。

SEQ ID NO: 12
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIY**YAS****TL**QSGVPSRFSGSGS
GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQDNGYPSTFGQGTKVEIKR

[0704]

SEQ ID NO: 57
GATATTCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCTGAGCGCGAGCGTGGGCGATCGCGTGACCATTACCT
GCCGCGCGAGCCAGAGCATTAGCAGCTATCTGAACTGGTATCAGCAGAAACCGGGCAAAGCGCCGAA
ACTGCTGATTTATGCGGCGAGCAGCCTGCAGAGCGGCGTGCCGAGCCGCTTTAGCGGCAGCGGCAGC
GGCACCGATTTTACCCTGACCATTAGCAGCCTGCAGCCGGAAGATTTTGCAGCCTATTATTGCCAGC
AGGATAACGGCTATCCGAGCACCTTTGGCGGCGGCACCAAAGTGGAATTAACGC

[0705]

SEQ ID NO: 58
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIY**AASS****TL**QSGVPSRFSGSGS
GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQDNGYPSTFG**GG**GTKVEIKR

[0706] 图8A和8B表明,在SEQ ID NO: 58中描述的种系修正会减小预测的免疫原性(顶图)和聚集潜力,并使表达水平增加3倍。

[0707] 实施例6. 抗-PDL1抗体C5H9和C5H9v2的体外表征。

[0708] 本实施例证实了本发明的抗-PDL1抗体的结合特异性和生物活性。

[0709] 使用与在PCT公开号WO 2010/081173中描述的那些类似的技术,完成包含成熟克隆的可变结构域的全人IgG的生产。将编码抗-PDL1抗体C5H9的重链可变结构域的DNA (核酸SEQ ID NO: 45;氨基酸SEQ ID NO: 46) 扩增并克隆进用于表达全人IgG的载体中。将编码抗-PDL1抗体C5H9的轻链可变结构域的DNA (核酸SEQ ID NO: 11;氨基酸SEQ ID NO: 12) 扩增并克隆进用于表达全人IgG的载体中。类似地,将编码抗-PDL1抗体C5H9的重链可变结构域的DNA (核酸SEQ ID NO: 45;氨基酸SEQ ID NO: 46) 扩增并克隆进用于表达嵌合的小鼠IgG2as的载体中。将编码抗-PDL1抗体C5H9v2的轻链可变结构域的DNA (核酸SEQ ID NO: 57;氨基酸SEQ ID NO: 58) 扩增并克隆进用于表达嵌合的小鼠IgG2as的载体中。将全人IgG或嵌合的小鼠IgG2a抗-PDL1抗体从瞬时转染的HEK-293细胞表达,并通过蛋白A色谱法从培养物上清液纯化。抗-PDL1 IgG抗体C5H9包含重链和轻链,所述重链包含含有SEQ ID NO: 46的重链可变结构域,所述轻链包含含有SEQ ID NO: 12的轻链可变结构域。抗-PDL1 IgG抗体C5H9v2包含重链和轻链,所述重链包含含有SEQ ID NO: 46的重链可变结构域,所述轻链包含含有SEQ ID NO: 58的轻链可变结构域。

[0710] 关于对PDL1的物种特异性结合和该抗体是否结合一组人蛋白,表征抗-PDL1抗体C5H9v2。简而言之,将人PDL1-Fc、小鼠PDL1-Fc (R & D Systems, Minneapolis, MN) 或食蟹猴(cyno) PDL1-Fc (Sino biological) 吸附至96-孔ELISA板的孔。将经纯化的抗-PDL1抗体C5H9和C5H9v2应用于所述板并允许结合。将结合的抗体用抗-人IgG-HRP缀合物(Fab特异性的)(Sigma, St Louis, MO;目录号A0293-1ML) 显影并用生色底物TMB显色。图9表明,抗-PDL1抗体C5H9和C5H9v2都以几乎相等的亲和力结合人、小鼠和食蟹猴PDL1。抗-PDL1抗体C5H9v2对人、食蟹猴、大鼠和小鼠PDL1的 EC_{50} 值也是类似的:分别是0.25 nM、0.28 nM、0.31 nM和0.30 nM。

[0711] 在一个类似的实验中,关于与一组人和小鼠蛋白的结合评价了抗-PDL1抗体C5H9的结合。简而言之,将在图10中列出的每种蛋白吸附至ELISA板的孔。将经纯化的抗-PDL1抗体C5H9和C5H9v2应用于所述板并允许结合。将结合的抗体用抗-人IgG-HRP缀合物(Fab特异性的)(Sigma, St Louis, MO;目录号A0293-1ML) 显影并用生色底物TMB显色。抗-PDL1抗体C5H9v2仅结合人和小鼠PDL1,从而证实了对PDL1的特异性。

[0712] PDL1的生物活性是通过与PD1和/或B7-1的结合来介导。结合的阻断是治疗性抗体的期望特征;因此,测量了阻断PDL1与PD1和B7-1的相互作用的效能。简而言之,将人、小鼠或食蟹猴PDL1吸附至ELISA板的孔。在没有或有递增浓度的抗-PDL1抗体C5H9或抗-PDL1抗体C5H9v2存在下将生物素化的人、小鼠或食蟹猴PD1或B7-1应用于孔,并允许结合。将结合的生物素化的PD1或B7-1用抗生物素链菌素-HRP缀合物(Thermo Scientific, 目录号21126) 显影并用生色底物TMB显色。图11表明,抗-PDL1抗体C5H9和抗-PDL1抗体C5H9v2是B7-1或PD1与PDL1的结合的有效封闭剂,并且阻断包括所有三个物种人、食蟹猴和小鼠(以单数nM EC_{50})。

[0713] 实施例7: 本发明的抗-PDL1抗体加速NOD小鼠中糖尿病的诱导

[0714] 在该实施例中,针对在NOD小鼠中诱导糖尿病的能力,分析抗-PDL1抗体C5H9。

[0715] NOD小鼠、次代品系NOD/ShiLtJ在6周时得自Jackson Laboratory,并在场所适应1周。在7周时,在招募之前针对糖尿病检查小鼠,分组,并如表6所示给药。

[0716] 表6. NOD研究的组和剂量

[0717]

组	计数	治疗	剂量(mg/kg) 负载/常规	剂量体积 (mL/kg)	计划	途径
1	6	对照	20/10	10	q2dx6	IP
2	6	抗-PDL1(C5H9)	20/10	10	q2dx6	IP
3	6	抗-PDL1 (10F9G2)	20/10	10	q2dx6	IP

[0718] 图12(其绘制了%非糖尿病相对于初始剂量后的天数)表明,与阳性对照抗-PDL1抗体10F9G2抗体类似地,抗-PDL1抗体C5H9抗体(Gr2-C5H9)在NOD小鼠中诱导糖尿病。对照大鼠IgG2b没有在NOD小鼠中诱导糖尿病。

[0719] 还使用在表7中所示的组和剂量用9-周龄动物使用与上述方法类似的方法以剂量依赖性的方式针对在NOD小鼠中诱导糖尿病的能力测试了抗-PDL1抗体C5H9v2。

[0720] 表7. 用于剂量依赖性的NOD研究的组和剂量

[0721]

组	计数	性别	治疗	剂量 (mg/kg)	剂量体 积 (mL/kg)	计划	途径
1	8	F	mIgG2a (C1.18.4)	25	10	单剂量	IP
2	8	F	抗-PDL1(C5H9v2)	25	10	单剂量	IP
3	8	F	抗-PDL1(C5H9v2)	5	10	单剂量	IP
4	8	F	抗-PDL1(C5H9v2)	1	10	单剂量	IP
5	8	F	抗-PDL1(C5H9v2)	0.2	10	单剂量	IP

[0722] 图13(其绘制了%非糖尿病相对于初始剂量后的天数)证实,抗-PDL1抗体C5H9v2以剂量依赖性的方式在NOD小鼠中诱导糖尿病。

[0723] 实施例8. 实施方案的抗-PDL1抗体减少小鼠中的MC38肿瘤

[0724] 在该实施例中,针对减少MC38同基因肿瘤的生长的能力分析了抗-PDL1抗体C5H9v2。

[0725] 小鼠结肠癌细胞系MC38得自ATCC (美国典型培养物保藏中心, Manassas, VA)。在空气中在5%CO₂的气氛中在37℃在补充了10%胎牛血清的RPMI-1640中培养MC38细胞。将细胞在对数生长期中收获,再悬浮于PBS中,并保持的冰上进行肿瘤诱导。

[0726] 在右肋腹给每只小鼠皮下地接种1X10⁶个在PBS中的MC38细胞用于肿瘤发生。当平均肿瘤大小达到大约100-200 mm³ (不超过200 mm³)时,开始治疗。每周在两个维度使用测径器测量肿瘤大小2次,并使用下式表达体积(mm³): $V = 0.5 a \times b^2$,其中a和b分别是肿瘤的长和短直径。

[0727] 将小鼠分组并如表8所示给药。

[0728] 表8.MC38同基因研究的组和剂量

[0729]

组	计数	治疗	剂量 (mg/kg)	剂量体积 (mL/kg)	计划	途径
1	10	抗-PDL1 (10F9G2)	10	10	每周 2 次持续 2 周 (MWF)	IP
2	10	抗-PDL1(C5H9v2)	10	10	每周 2 次持续 2 周 (MWF)	IP
3	10	mIgG2a + 仓鼠 IgG1	10	10	每周 2 次持续 2 周 (MWF)	IP

[0730] 图14(其描绘了肿瘤体积相对于初始剂量后的天数)证实,与阳性对照抗-PDL1抗体10F9G2类似地,抗-PDL1抗体C5H9v2抑制MC38同基因肿瘤的生长。

[0731] 实施例9. 抗-PDL1可活化抗体C5H9v2掩蔽部分

[0732] 本实施例描述了用于减少抗-PDL1抗体C5H9v2的可活化抗体与它们的靶标的结合的掩蔽部分(MM)的鉴别。

[0733] 使用与在PCT国际公开号W0 2010/081173(2010年7月15日公开)中描述的方法类似的方法,使用抗-PDL1抗体C5H9v2和Fab筛选文库。所述筛选由一轮MACS和三轮FACS分选组成。最初的MACS用蛋白-A Dynabeads (Invitrogen) 和100 nM浓度的抗-PDL1抗体C5H9v2完成。对于MACS,针对结合筛选大约 1×10^{11} 个细胞,并收集 6×10^6 个细胞。使用抗-PDL1抗体C5H9v2(用Alexafluor-488直接标记)作为所有FACS选择的探针。在第一轮FACS中,将细胞用100 nM AlexaFluor-抗-PDL1抗体C5H9v2标记。在第二轮FACS中,将细胞用10 nM AlexaFluor-抗-PDL1抗体C5H9v2标记。在第三轮FACS中,将细胞用1 nM AlexaFluor-抗-PDL1抗体C5H9v2标记。将来自第三轮FACS的阳性群体验证为被重组人PDL1蛋白抑制免于结合抗-PDL1抗体C5H9v2和Fab。通过序列分析来鉴别各个肽克隆,并随后针对它们的结合抗-PDL1抗体C5H9v2和Fab的能力进行验证。

[0734] 在表9中列出了抗-PDL1抗体C5H9v2掩蔽部分的序列。

[0735] 表9. 抗-PDL1抗体C5H9v2掩蔽部分(MM)

MM	氨基酸序列	SEQ ID NO
PL01	YCEVSELFVLPWCMG	SEQ ID NO: 208
PL02	SCLMHPHYAHDYCYV	SEQ ID NO: 426
PL03	LCEVLMMLQHPWCMG	SEQ ID NO: 59
PL04	IACRHFMEQLPFCHH	SEQ ID NO: 60
PL05	FGPRCGEASTCVPYE	SEQ ID NO: 61
PL06	ILYCDSWGAGCLTRP	SEQ ID NO: 62
PL07	GIALCPSHFQQLPQT	SEQ ID NO: 63
PL08	DGPRCFVSGECSPIG	SEQ ID NO: 64
PL09	LCYKLDYDDRSYCHI	SEQ ID NO: 65
PL10	PCHPHPYDARPYCNV	SEQ ID NO: 66
PL11	PCYWHPFFAYRYCNT	SEQ ID NO: 67
PL12	VCYYMDWLGRNWCSS	SEQ ID NO: 68
PL13	LCDLFLKREFPYCMG	SEQ ID NO: 69
PL14	YLPCHFVPIGACNNK	SEQ ID NO: 70
PL15	IFCHMGVVVPQCANY	SEQ ID NO: 71
PL16	ACHPHPYDARPYCNV	SEQ ID NO: 72
PL17	PCHPAPYDARPYCNV	SEQ ID NO: 73
PL18	PCHPHAYDARPYCNV	SEQ ID NO: 74
PL19	PCHPHPADARPYCNV	SEQ ID NO: 75
PL20	PCHPHPYAARPYCNV	SEQ ID NO: 76
PL21	PCHPHPYDAAPYCNV	SEQ ID NO: 77

PL22	PCHPHPYDARPACNV	SEQ ID NO: 78
PL23	PCHPHPYDARPYCAV	SEQ ID NO: 79
PL24	PCHAHPYDARPYCNV	SEQ ID NO: 80
PL25	PCHPHPYDARAYCNV	SEQ ID NO: 81

[0736] 实施例10. 包含抗-PDL1抗体C5H9v2的可活化抗体

[0737] 本实施例描述了包含抗-PDL1抗体C5H9v2的本发明的可活化抗体的实施例。

[0738] 根据与在PCT公开号W0 2009/025846和W0 2010/081173中描述的方法类似的方法,生产包含抗-PDL1抗体C5H9v2掩蔽部分、可切割部分和抗-PDL1抗体C5H9v2的抗-PDL1可活化抗体。得到的可活化抗体的质量控制指示主要包含至少95%单体。下面提供了几种包含抗-PDL1抗体C5H9v2的可活化抗体的氨基酸和核酸序列。每种可活化抗体包含具有以下序列的抗-PDL1抗体C5H9v2:在SEQ ID NO: 46中所示的可变重链氨基酸序列,和选自下面SEQ ID NO: 83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157、931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1144-1191、1200和1201所示的氨基酸序列的轻链氨基酸序列。

[0739] 尽管下面显示的序列包括SEQ ID NO: 923的间隔物序列,但是本领域普通技术人员会明白,本发明的可活化的抗-PDL1抗体可以包括任意合适的间隔物序列,例如,选自以下的间隔物序列:QGQSGS (SEQ ID NO: 923);GQSGS (SEQ ID NO: 1192);QSGS (SEQ ID NO: 1193);SGS (SEQ ID NO: 1194);GS (SEQ ID NO: 1195);S;QGQSGQG (SEQ ID NO: 924);GQSGQG (SEQ ID NO: 395);QSGQG (SEQ ID NO: 925);SGQG (SEQ ID NO: 926);GQG (SEQ ID NO: 927);QG (SEQ ID NO: 928);G;QGQSGQ (SEQ ID NO: 1196);GQSGQ (SEQ ID NO: 1197);QSGQ (SEQ ID NO: 1198);SGQ (SEQ ID NO: 1198);GQ (SEQ ID NO: 1199);和Q。尽管下面显示的序列包括SEQ ID NO: 923的间隔物序列,但是本领域普通技术人员还会明白,本发明的可活化的抗-PDL1抗体在某些实施方案中不包括间隔物序列。

[0740] C5H9v2 VH氨基酸序列

[0741] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIWRNGIVTVYADSVKGR
FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWSAAFDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 46)

[0742] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL01-0003 LC (SEQ ID NO: 930)]

[CAAGGTCAGTCTGGATCC] [TATTGCGAGGTTAGTGAGCTGTTTGTTCCTTGGTGCATGGGTG
GAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCC
ACGTGGCGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGAC
AGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGC
[0743] CCGGCAAGGCCCCCAAAGTCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATT
TTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAATCA
AGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTG
T] (SEQ ID NO: 82)

[0744] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL01-0003 LC (SEQ ID NO: 931)]

- [0745] [QGQSGS] [YCEVSELFVLPWCMGGGGSSGGSGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASV
GDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 83)
- [0746] PL01-0003 LC核苷酸序列
- TATTGCGAGGTTAGTGAGCTGTTTGTTCCTTGGTGCATGGGTGGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCA
GCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCACGTGGCGGCGGTTCTGACAT
CCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGAAGGCCCCCAAAGTGC
TGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTCCGGCAGCGGCTCTGGCAC
CGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGAC
AACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACA
AGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT (SEQ ID NO: 930)
- [0748] PL01-0003 LC氨基酸序列
- YCEVSELFVLPWCMGGGGSSGGSGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCR
ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQD
NGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 931)
- [0750] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL02-0003 LC (SEQ ID NO: 932)]
- [CAAGGTCAGTCTGGATCC] [TCTTGCCCTTATGCATCCGCATTATGCTCATGATTATTGCTATGTTG
GAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACC
ACGTGGCGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGAC
AGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGC
CCGGCAAGGCCCCCAAAGTGCCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATT
TTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCA
AGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTG
T] (SEQ ID NO: 84)
- [0752] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL02-0003 LC (SEQ ID NO: 933)]
- [QGQSGS] [SCLMHPHYAHDYCYVGGGSSGGSGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASV
GDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 85)
- [0754] PL02-0003 LC核苷酸序列

- [0755] TCTTGCCCTTATGCATCCGCATTATGCTCATGATTATTGCTATGTTGGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCA
GCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCCACGTGGCGGCGGTTCTGACAT
CCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAAGTGC
TGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCAC
CGACTTCACCCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGAC
AACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACA
AGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT (SEQ ID NO: 932)
- [0756] PL02-0003 LC氨基酸序列
- [0757] SCLMHPHYAHDYCYVGGGSSGGSSGGTSTSGRSANPRGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCR
ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQOD
NGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 933)
- [0758] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL03-0003 LC (SEQ ID NO: 934)]
- [0759] [CAAGGTCAGTCTGGATCC] [TTGTGCGAGGTTTTGATGTTGTTGCAGCATCCGTGGTGCATGGGGG
GAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCC
ACGTGGCGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGAC
AGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGC
CCGGCAAGGCCCCCAAAGTGCCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATT
TTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCA
AGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTG
T] (SEQ ID NO: 86)
- [0760] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL03-0003 LC (SEQ ID NO: 935)]
- [0761] [QGQSGS] [LCEVLMLLQHPWCMGGGSSGGSSGGTSTSGRSANPRGGSDIQMTQSPSSLSASV
GDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 87)
- [0762] PL03-0003 LC核苷酸序列
- [0763] TTGTGCGAGGTTTTGATGTTGTTGCAGCATCCGTGGTGCATGGGGGGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCA
GCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCCACGTGGCGGCGGTTCTGACAT
CCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAAGTGC
TGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCAC
CGACTTCACCCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGAC
AACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACA
AGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT (SEQ ID NO: 934)
- [0764] PL03-0003 LC氨基酸序列

- [0765] LCEVLMLLQHPWCMGGGGSSGGSGGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITICR
ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQD
NGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 935)
- [0766] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL04-0003 LC (SEQ ID NO: 936)]
[CAAGGTCAGTCTGGATCC] [ATTGCGTGCCGGCATTATGGAGCAGTTGCCGTTTTGCCATCATG
GAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCC
ACGTGGCGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGAC
AGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGC
[0767] CCGGCAAGGCCCCAACTGCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATT
TTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCA
AGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTG
T] (SEQ ID NO: 88)
- [0768] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL04-0003 LC (SEQ ID NO: 937)]
[QQQSGS] [IACRHFMEQLPFCHHGGGSSGGSGGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASV
[0769] GDRVITICRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
FATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 89)
- [0770] PL04-0003 LC核苷酸序列
ATTGCGTGCCGGCATTATGGAGCAGTTGCCGTTTTGCCATCATGGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCA
GCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCACGTTGGCGGCGGTTCTGACAT
CCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCAACTGC
[0771] TGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTCCGGCAGCGGCTCTGGCAC
CGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGAC
AACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACA
AGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT (SEQ ID NO: 936)
- [0772] PL04-0003 LC氨基酸序列
IACRHFMEQLPFCHHGGGSSGGSGGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITICR
[0773] ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQD
NGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 937)
- [0774] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL05-0003 LC (SEQ ID NO: 938)]

- [0775] [CAAGGTCAGTCTGGATCC] [TTTGGTCCTAGGTGCGGTGAGGCTTCTACTTGCGTTCCGTATGAGG
GAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCC
ACGTGGCGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGAC
AGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGC
CCGGCAAGGCCCCCAAAGTCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATT
TTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCA
AGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTG
T] (SEQ ID NO: 90)
- [0776] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL05-0003 LC (SEQ ID NO: 939)]
- [0777] [QGQSGS] [FGPRCGEASTCVPYEGGGSSGGSGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASV
GDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 91)
- [0778] PL05-0003 LC核苷酸序列
- [0779] TTTGGTCCTAGGTGCGGTGAGGCTTCTACTTGCGTTCCGTATGAGGGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCA
GCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCCACGTGGCGGCGGTTCTGACAT
CCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCCGGAAGGCCCCCAAAGTGC
TGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCAC
CGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGAC
AACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACA
AGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT (SEQ ID NO: 938)
- [0780] PL05-0003 LC氨基酸序列
- [0781] FGPRCGEASTCVPYEGGGSSGGSGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASV
GDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 939)
- [0782] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL06-0003 LC (SEQ ID NO: 940)]
- [0783] [CAAGGTCAGTCTGGATCC] [ATTCTTTATTGCGATAGTTGGGGGGCGGGGTGCTTGACGCGGCCGG
GAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCC
ACGTGGCGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGAC
AGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGC
CCGGCAAGGCCCCCAAAGTCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATT
TTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCA
AGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTG
T] (SEQ ID NO: 92)
- [0784] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL06-0003 LC (SEQ ID NO: 941)]

- [0785] [QQQSGS] [ILYCDSWGAGCLTRPGGGSSGGSGGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASV
GDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
FATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 93)
- [0786] PL06-0003 LC核苷酸序列
- ATTCTTTATTGCGATAGTTGGGGGGCGGGGTGCTTGACGCGGCCGGGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCA
GCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCCACGTGGCGGCGGTTCTGACAT
CCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGAAGGCCCCAAACTGC
[0787] TGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCAC
CGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGAC
AACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACA
AGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT (SEQ ID NO: 940)
- [0788] PL06-0003 LC氨基酸序列
- ILYCDSWGAGCLTRPGGGSSGGSGGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCR
[0789] ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQD
NGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 941)
- [0790] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL07-0003 LC (SEQ ID NO: 942)]
- [CAAGGTCAGTCTGGATCC] [GGGATTGCGTTGTGCCCCGTCTCATTTTTGCCAGCTGCCTCAGACTG
GAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCC
ACGTGGCGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGAC
AGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGC
[0791] CCGGCAAGGCCCCAAACTGCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATT
TTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAATCA
AGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTG
T] (SEQ ID NO: 94)
- [0792] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL07-0003 LC (SEQ ID NO: 943)]
- [QQQSGS] [GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASV
[0793] GDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
FATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 95)
- [0794] PL07-0003 LC核苷酸序列

- [0795] GGGATTGCGTTGTGCCCCGTCTCATTTTTGCCAGCTGCCTCAGACTGGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCA
GCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCCACGTGGCGGCGGTTCTGACAT
CCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCAACTGC
TGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTCCGGCAGCGGCTCTGGCAC
CGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGAC
AACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACA
AGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT (SEQ ID NO: 942)
- [0796] PL07-0003 LC氨基酸序列
- [0797] GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITICR
ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQD
NGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 943)
- [0798] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL08-0003 LC (SEQ ID NO: 944)]
[CAAGGTCAGTCTGGATCC] [GATGGGCCGCGTTGCTTTGTGTGCGGGGAGTGCTCTCCGATTGGTG
GAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCC
ACGTGGCGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGAC
AGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGC
[0799] CCGGCAAGGCCCCAACTGCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATT
TTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCA
AGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTG
T] (SEQ ID NO: 96)
- [0800] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL08-0003 LC (SEQ ID NO: 945)]
[QGQSGS] [DGPRCFVSGECSPIGGGSSGGSGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASV
[0801] GDRVITICRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
FATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 97)
- [0802] PL08-0003 LC核苷酸序列
- [0803] GATGGGCCGCGTTGCTTTGTGTGCGGGGAGTGCTCTCCGATTGGTGGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCA
GCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCCACGTGGCGGCGGTTCTGACAT
CCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCAACTGC
TGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTCCGGCAGCGGCTCTGGCAC
CGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGAC
AACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACA
AGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT (SEQ ID NO: 944)
- [0804] PL08-0003 LC氨基酸序列
- [0805] DGPRCFVSGECSPIGGGSSGGSGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITICR
ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQD
NGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 945)

- [0806] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL09-0003 LC (SEQ ID NO: 946)]
[CAAGGTCAGTCTGGATCC] [TTGTGCTATAAGCTGGATTATGATGATAGGTCTTATTGCCATATTG
GAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCC
ACGTGGCGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGAC
AGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGC
[0807] CCGGCAAGGCCCCCAAAGTCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATT
TTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCA
AGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTG
T] (SEQ ID NO: 98)
- [0808] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL09-0003 LC (SEQ ID NO: 947)]
[QGQSGS] [LCYKLDYDDRSYCHIGGGSSGGSGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASV
[0809] GDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPED
FATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 99)
- [0810] PL09-0003 LC核苷酸序列
TTGTGCTATAAGCTGGATTATGATGATAGGTCTTATTGCCATATTGGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCA
GCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCCACGTGGCGGCGGTTCTGACAT
CCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCCAAAGTGC
[0811] TGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCAC
CGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGAC
AACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACA
AGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT (SEQ ID NO: 946)
- [0812] PL09-0003 LC氨基酸序列
LCYKLDYDDRSYCHIGGGSSGGSGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASV
[0813] ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQD
NGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 947)
- [0814] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL10-0003 LC (SEQ ID NO: 948)]
[CAAGGTCAGTCTGGATCC] [CCGTGCCATCCGCATCCTTATGATGCTCGTCCTTATTGCAATGTGG
GAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCC
ACGTGGCGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGAC
AGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGC
[0815] CCGGCAAGGCCCCCAAAGTCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATT
TTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCA
AGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTG
T] (SEQ ID NO: 100)
- [0816] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL10-0003 LC (SEQ ID NO: 949)]

- [0817] [QGQSGS] [PCHPHYDARPYCNVGGSSGGSSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASV
GDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
FATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 101)
- [0818] PL10-0003 LC核苷酸序列
- [0819] CCGTGCCATCCGCATCCTTATGATGCTCGTCCTTATTGCAATGTGGGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCA
GCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCACAGTGGCGGCGGTTCTGACAT
CCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCCAAAGTGC
TGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCAC
CGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGAC
AACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACA
AGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT (SEQ ID NO: 948)
- [0820] PL10-0003 LC氨基酸序列
- [0821] PCHPHYDARPYCNVGGSSGGSSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCR
ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQD
NGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 949)
- [0822] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL11-0003 LC (SEQ ID NO: 950)]
- [0823] [CAAGGTCAGTCTGGATCC] [CCTTGCTATTGGCATCCTTTTTTTGCGTATAGGTATTGCAATACTG
GAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACC
ACGTGGCGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGAC
AGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGC
CCGGCAAGGCCCCCAAAGTGCCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATT
TTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCA
AGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTG
T] (SEQ ID NO: 102)
- [0824] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL11-0003 LC (SEQ ID NO: 951)]
- [0825] [QGQSGS] [PCYWHPFFAYRYCNTGGGSSGGSSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASV
GDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
FATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 103)
- [0826] PL11-0003 LC核苷酸序列

- [0827] CCTTGCTATTGGCATCCTTTTTTTGCGTATAGGTATTGCAATACTGGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCA
GCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCACGTGGCGGCGGTCTTGACAT
CCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCAACTGC
TGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCAC
CGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGAC
AACGGCTACCCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACA
AGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT (SEQ ID NO: 950)
- [0828] PL11-0003 LC氨基酸序列
- [0829] PCYWHPPFAYRYCNTGGGSSGGSSGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITICR
ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQD
NGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 951)
- [0830] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL12-0003 LC (SEQ ID NO: 952)]
- [0831] [CAAGGTCAGTCTGGATCC] [GTTTGCTATTATATGGATTGGTTGGGGCGGAATTGGTGCTCTTCGG
GAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACC
ACGTGGCGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGAC
AGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGC
CCGGCAAGGCCCCAACTGCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATT
TTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCA
AGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTG
T] (SEQ ID NO: 104)
- [0832] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL12-0003 LC (SEQ ID NO: 953)]
- [0833] [QGQSGS] [VCYYMDWLGRNWCSSGGGSSGGSSGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASV
GDRVITICRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
FATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 105)
- [0834] PL12-0003 LC核苷酸序列
- [0835] GTTTGCTATTATATGGATTGGTTGGGGCGGAATTGGTGCTCTTCGGGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCA
GCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCACGTGGCGGCGGTCTTGACAT
CCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCAACTGC
TGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCAC
CGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGAC
AACGGCTACCCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACA
AGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT (SEQ ID NO: 952)
- [0836] PL12-0003 LC氨基酸序列

- [0837] VCYYMDWLGRNWCSSGGGSSGGSGGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCR
ASQSISSYLNWYQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIISSLQPEDFATYYCQQD
NGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 953)
- [0838] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL13-0003 LC (SEQ ID NO: 954)]
[CAAGGTCAGTCTGGATCC] [CTGTGCGATCTGTTTAAAGTTGCGTGAGTTTCCTTATTGCATGGGGG
GAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCC
ACGTGGCGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGAC
AGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGC
[0839] CCGGCAAGGCCCCCAAAGTCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATT
TTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCA
AGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTG
T] (SEQ ID NO: 106)
- [0840] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL13-0003 LC (SEQ ID NO: 955)]
[QGQSGS] [LCDLFKLREFPYCMGGGGSSGGSGGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASV
[0841] GDRVITITCRASQSISSYLNWYQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIISSLQPED
FATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 107)
- [0842] PL13-0003 LC核苷酸序列
CTGTGCGATCTGTTTAAAGTTGCGTGAGTTTCCTTATTGCATGGGGGGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCA
GCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCCACGTGGCGGCGGTTCTGACAT
CCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCCGGCAAGGCCCCCAAAGTGC
[0843] TGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCAC
CGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGAC
AACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACA
AGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT (SEQ ID NO: 954)
- [0844] PL13-0003 LC氨基酸序列
LCDLFKLREFPYCMGGGGSSGGSGGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCR
[0845] ASQSISSYLNWYQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIISSLQPEDFATYYCQQD
NGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 955)
- [0846] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL14-0003 LC (SEQ ID NO: 956)]

- [0847] [CAAGGTCAGTCTGGATCC] [TATCTTCCGTGCCATTTTGTTCGGATTGGGGCTTGCAATAATAAGG
GAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCC
ACGTGGCGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGAC
AGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGC
CCGGCAAGGCCCCCAAAGTCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATT
TTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCA
AGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTG
T] (SEQ ID NO: 108)
- [0848] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL14-0003 LC (SEQ ID NO: 957)]
- [0849] [QGQSGS] [YLPCHFVPIGACNNKGGSSGGSSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASV
GDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
FATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 109)
- [0850] PL14-0003 LC核苷酸序列
- [0851] TATCTTCCGTGCCATTTTGTTCGGATTGGGGCTTGCAATAATAAGGGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCA
GCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCACGTGGCGGCGGTTCTGACAT
CCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCCAAAGTGC
TGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCAC
CGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGAC
AACGGCTACCCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACA
AGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT (SEQ ID NO: 956)
- [0852] PL14-0003 LC氨基酸序列
- [0853] YLPCHFVPIGACNNKGGSSGGSSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCR
ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQD
NGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 957)
- [0854] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL15-0003 LC (SEQ ID NO: 958)]
- [0855] [CAAGGTCAGTCTGGATCC] [ATTTTTTGCCATATGGGTGTTGTGGTTCCTCAGTGCGCAATTATG
GAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCC
ACGTGGCGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGAC
AGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGC
CCGGCAAGGCCCCCAAAGTCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATT
TTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCA
AGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTG
T] (SEQ ID NO: 110)
- [0856] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL15-0003 LC (SEQ ID NO: 959)]

- [0857] [QQQSGS] [IFCHMGVVVPQCANYGGGSSGGSGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASV
GDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
FATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 111)
- [0858] PL15-0003 LC核苷酸序列
- ATTTTTTGCCATATGGGTGTTGTGGTTCCTCAGTGCGCGAATTATGGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCA
GCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCCACGTGGCGGCGGTTCTGACAT
CCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAAGTGC
[0859] TGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCAC
CGACTTCACCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGAC
AACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACA
AGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT (SEQ ID NO: 958)
- [0860] PL15-0003 LC氨基酸序列
- IFCHMGVVVPQCANYGGGSSGGSGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCR
- [0861] ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQD
NGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 959)
- [0862] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL16-0003 LC (SEQ ID NO: 960)]
- [CAAGGTCAGTCTGGATCC] [GCGTGCCATCCGCATCCTTATGATGCTCGTCCTTATTGCAATGTGG
GAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCC
ACGTGGCGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGAC
AGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGC
[0863] CCGGCAAGGCCCCCAAAGTGCCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATT
TTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAATCA
AGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTG
T] (SEQ ID NO: 112)
- [0864] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL16-0003 LC (SEQ ID NO: 961)]
- [QQQSGS] [ACHPHYDARPYCNVGGSSGGSGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASV
- [0865] GDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
FATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 113)
- [0866] PL16-0003 LC核苷酸序列

- [0867] GCGTGCCATCCGCATCCTTATGATGCTCGTCCTTATTGCAATGTGGGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCA
GCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCACGTGGCGGCGGTTCTGACAT
CCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCCAAAGTGC
TGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCAC
CGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGAC
AACGGCTACCCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACA
AGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT (SEQ ID NO: 960)
- [0868] PL16-0003 LC氨基酸序列
- [0869] ACHPHPYDARPYCNVGGGSSGGSSGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCR
ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQD
NGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 961)
- [0870] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL17-0003 LC (SEQ ID NO: 962)]
[CAAGGTCAGTCTGGATCC] [CCGTGCCATCCGGCTCCTTATGATGCTCGTCCTTATTGCAATGTGG
GAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACC
ACGTGGCGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGAC
AGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGC
CCGGCAAGGCCCCCAAAGTGCCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATT
TTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCA
AGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTG
T] (SEQ ID NO: 114)
- [0871] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL17-0003 LC (SEQ ID NO: 963)]
[QQQSGS] [PCHPAPYDARPYCNVGGGSSGGSSGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASV
GDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
FATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 115)
- [0872] PL17-0003 LC核苷酸序列
- [0873] CCGTGCCATCCGGCTCCTTATGATGCTCGTCCTTATTGCAATGTGGGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCA
GCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCACGTGGCGGCGGTTCTGACAT
CCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCCAAAGTGC
TGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCAC
CGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGAC
AACGGCTACCCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACA
AGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT (SEQ ID NO: 962)
- [0874] PL17-0003 LC氨基酸序列

- [0877] PCHPAPYDARPYCNVGGGSSGGSGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLASVGDRTITCR
ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQDD
NGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 963)
- [0878] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL18-0003 LC (SEQ ID NO: 964)]
[CAAGGTCAGTCTGGATCC] [CCGTGCCATCCGCATGCTTATGATGCTCGTCCTTATTGCAATGTGG
GAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCC
ACGTGGCGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGAC
AGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGC
[0879] CCGGCAAGGCCCCAACTGCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATT
TTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCGTACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAATCA
AGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTG
T] (SEQ ID NO: 116)
- [0880] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL18-0003 LC (SEQ ID NO: 965)]
[QGQSGS] [PCHPHAYDARPYCNVGGGSSGGSGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLASV
[0881] GDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
FATYYCQDDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 117)
- [0882] PL18-0003 LC核苷酸序列
CCGTGCCATCCGCATGCTTATGATGCTCGTCCTTATTGCAATGTGGGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCA
GCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCACGTGGCGGCGGTTCTGACAT
CCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCAACTGC
[0883] TGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCAC
CGACTTCACCCGTACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGAC
AACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACA
AGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT (SEQ ID NO: 964)
- [0884] PL18-0003 LC氨基酸序列
PCHPHAYDARPYCNVGGGSSGGSGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLASVGDRTITCR
[0885] ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQDD
NGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 965)
- [0886] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL19-0003 LC (SEQ ID NO: 966)]

- [0887] [CAAGGTCAGTCTGGATCC] [CCGTGCCATCCGCATCCTGCTGATGCTCGTCCTTATTGCAATGTGG
GAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCC
ACGTGGCGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGAC
AGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGC
CCGGCAAGGCCCCCAAAGTCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATT
TTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCA
AGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTG
T] (SEQ ID NO: 118)
- [0888] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL19-0003 LC (SEQ ID NO: 967)]
- [0889] [QGQSGS] [PCHPHPADARPYCNVGGSSGGSSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASV
GDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPED
FATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 119)
- [0890] PL19-0003 LC核苷酸序列
- [0891] CCGTGCCATCCGCATCCTGCTGATGCTCGTCCTTATTGCAATGTGGGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCA
GCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCACGTGGCGGCGGTTCTGACAT
CCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCCAAAGTGC
TGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCAC
CGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGAC
AACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACA
AGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT (SEQ ID NO: 966)
- [0892] PL19-0003 LC氨基酸序列
- [0893] PCHPHPADARPYCNVGGSSGGSSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASV
ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQD
NGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 967)
- [0894] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL20-0003 LC (SEQ ID NO: 968)]
- [0895] [CAAGGTCAGTCTGGATCC] [CCGTGCCATCCGCATCCTTATGCTGCTCGTCCTTATTGCAATGTGG
GAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCC
ACGTGGCGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGAC
AGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGC
CCGGCAAGGCCCCCAAAGTCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATT
TTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCA
AGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTG
T] (SEQ ID NO: 120)
- [0896] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL20-0003 LC (SEQ ID NO: 969)]

- [0897] [QGQSGS] [PCHPHPYAARPYCNVGGGSSGGSGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASV
GDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
FATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 121)
- [0898] PL20-0003 LC核苷酸序列
- [0899] CCGTGCCATCCGCATCCTTATGCTGCTCGTCCTTATTGCAATGTGGGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCA
GCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCACGTGGCGGCGGTTCTGACAT
CCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCAACTGC
TGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTCCGGCAGCGGCTCTGGCAC
CGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGAC
AACGGCTACCCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACA
AGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT (SEQ ID NO: 968)
- [0900] PL20-0003 LC氨基酸序列
- [0901] PCHPHPYAARPYCNVGGGSSGGSGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCR
ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQD
NGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 969)
- [0902] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL21-0003 LC (SEQ ID NO: 970)]
- [0903] [CAAGGTCAGTCTGGATCC] [CCGTGCCATCCGCATCCTTATGATGCTGCTCCTTATTGCAATGTGG
GAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACC
ACGTGGCGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGAC
AGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGC
CCGGCAAGGCCCCAACTGCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATT
TTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCA
AGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTG
T] (SEQ ID NO: 122)
- [0904] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL21-0003 LC (SEQ ID NO: 971)]
- [0905] [QGQSGS] [PCHPHPYDAAPYCNVGGGSSGGSGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASV
GDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
FATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 123)
- [0906] PL21-0003 LC核苷酸序列

- [0907] CCGTGCCATCCGCATCCTTATGATGCTGCTCCTTATTGCAATGTGGGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCA
GCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCACGTGGCGGCGGTTCTGACAT
CCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAAGTGC
TGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCAC
CGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGAC
AACGGCTACCCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACA
AGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT (SEQ ID NO: 970)
- [0908] PL21-0003 LC氨基酸序列
- [0909] PCHPHYDAAPYCNVGGGSSGGSGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITICR
ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQD
NGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 971)
- [0910] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL22-0003 LC (SEQ ID NO: 972)]
- [0911] [CAAGGTCAGTCTGGATCC] [CCGTGCCATCCGCATCCTTATGATGCTCGTCCTGCTTGCAATGTGG
GAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACC
ACGTGGCGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGAC
AGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGC
CCGGCAAGGCCCCCAAAGTGCCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATT
TTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCA
AGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTG
T] (SEQ ID NO: 124)
- [0912] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL22-0003 LC (SEQ ID NO: 973)]
- [0913] [QQQSGS] [PCHPHYDARPCNVGGGSSGGSGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASV
GDRVITICRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
FATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 125)
- [0914] PL22-0003 LC核苷酸序列
- [0915] CCGTGCCATCCGCATCCTTATGATGCTCGTCCTGCTTGCAATGTGGGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCA
GCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCACGTGGCGGCGGTTCTGACAT
CCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAAGTGC
TGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCAC
CGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGAC
AACGGCTACCCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACA
AGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT (SEQ ID NO: 972)
- [0916] PL22-0003 LC氨基酸序列

- [0917] PCHPHPYDARPA CNVGGGSSGGSGGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR
ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQD
NGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 973)
- [0918] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL23-0003 LC (SEQ ID NO: 974)]
[CAAGGTCAGTCTGGATCC] [CCGTGCCATCCGCATCCTTATGATGCTCGTCCTTATTGCGCTGTGG
GAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCC
ACGTGGCGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGAC
AGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGC
[0919] CCGGCAAGGCCCCCAAAGTCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATT
TTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCA
AGCGTTGTGAGGCCACTCACAAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTG
T] (SEQ ID NO: 126)
- [0920] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL23-0003 LC (SEQ ID NO: 975)]
[QQQSGS] [PCHPHPYDARPYCAVGGGSSGGSGGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASV
[0921] GDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
FATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 127)
- [0922] PL23-0003 LC核苷酸序列
CCGTGCCATCCGCATCCTTATGATGCTCGTCCTTATTGCGCTGTGGGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCA
GCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCCACGTGGCGGCGGTTCTGACAT
CCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
[0923] GCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCCGCAAGGCCCCCAAAGTGC
TGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCAC
CGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGAC
AACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACA
AGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT (SEQ ID NO: 974)
- [0924] PL23-0003 LC氨基酸序列
PCHPHPYDARPYCAVGGGSSGGSGGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR
[0925] ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQD
NGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 975)
- [0926] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL24-0003 LC (SEQ ID NO: 976)]

- [0927] [CAAGGTCAGTCTGGATCC] [CCGTGCCATGCGCATCCTTATGATGCTCGTCCTTATTGCAATGTGG
GAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCC
ACGTGGCGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGAC
AGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGC
CCGGCAAGGCCCCCAAAGTCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATT
TTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCA
AGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTG
T] (SEQ ID NO: 128)
- [0928] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL24-0003 LC (SEQ ID NO: 977)]
- [0929] [QGQSGS] [PCHAHPYDARPYCNVGGGSSGGSGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASV
GDRVITITCRASQSISSYLNWYQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
FATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 129)
- [0930] PL24-0003 LC核苷酸序列
- [0931] CCGTGCCATGCGCATCCTTATGATGCTCGTCCTTATTGCAATGTGGGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCA
GCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCACGTGGCGGCGGTTCTGACAT
CCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCCAAAGTGC
TGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCAC
CGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGAC
AACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACA
AGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT (SEQ ID NO: 976)
- [0932] PL24-0003 LC氨基酸序列
- [0933] PCHAHPYDARPYCNVGGGSSGGSGGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCR
ASQSISSYLNWYQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQD
NGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 977)
- [0934] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL25-0003 LC (SEQ ID NO: 978)]
- [0935] [CAAGGTCAGTCTGGATCC] [CCGTGCCATCCGCATCCTTATGATGCTCGTGCTTATTGCAATGTGG
GAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCC
ACGTGGCGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGAC
AGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGC
CCGGCAAGGCCCCCAAAGTCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATT
TTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCC
ACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCA
AGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTG
T] (SEQ ID NO: 130)
- [0936] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL25-0003 LC (SEQ ID NO: 979)]

- [0937] [QGQSGS] [PCHPHYDARAYCNVGGSSGGSGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASV
GDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
FATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 131)
- [0938] PL25-0003 LC核苷酸序列
CCGTGCCATCCGCATCCTTATGATGCTCGTGCTTATTGCAATGTGGGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCA
GCGGTGGCTCTGGTGGTACTAGCACCTCTGGTCGTTCCGCTAACCCACGTGGCGGCGGTTCTGACAT
CCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGA
GCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCAACTGC
TGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCAC
CGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGAC
AACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACA
AGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT (SEQ ID NO: 978)
- [0940] PL25-0003 LC氨基酸序列
PCHPHYDARAYCNVGGSSGGSGSGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITICR
- [0941] ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQD
NGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 979)
- [0942] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL03-2001 LC (SEQ ID NO: 980)]
[CAAGGTCAGTCTGGATCC] [GGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTATTAGCA
GTGGTCTGTTAAGCGGTCTAGCGATAATCATGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAG
CAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGC
TACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCAACTGCTGATCTACGCCGCCAGCTCTC
TGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAG
CTCCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTT
GGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTG
TCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT] (SEQ ID NO: 132)
- [0944] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL03-2001 LC (SEQ ID NO: 981)]
[QGQSGS] [LCEVLMLLQHPWCMGGGSSGGSGSGGISSGLLSGRSDNHGSDIQMTQSPSSLSAS
- [0945] VGDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 133)
- [0946] PL03-2001 LC核苷酸序列
GGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTATTAGCAGTGGTCTGTTAAGCGGTCTGTA
GCGATAATCATGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGG
CGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAG
AAGCCCGGCAAGGCCCCAACTGCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCA
GATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGAGGACTT
CGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAA
ATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATG
AGTGT (SEQ ID NO: 980)
- [0948] PL03-2001 LC氨基酸序列

- [0949] LCEVLMLLQHPWCMGGGGSSGGSSGGSSGGISSGLLSGRSDNHGGSIDIQMTQSPSSLSASVGDRVITC
RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ
DNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 981)
- [0950] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL04-2001 LC (SEQ ID NO: 1183)]
- [0951] [QGQSGS] [IACRHFMEQLPFCHHGGGSSGGSSGGSSGGISSGLLSGRSDNHGGSIDIQMTQSPSSLSAS
VGDRVITICRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 1182)
- [0952] PL04-2001 LC氨基酸序列
- [0953] IACRHFMEQLPFCHHGGGSSGGSSGGSSGGISSGLLSGRSDNHGGSIDIQMTQSPSSLSASVGDRVITC
RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ
DNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1183)
- [0954] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL06-2001-mk LC (SEQ ID NO: 982)]
- [0955] [CAAGGTCAGTCTGGATCC] [GGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTATTAGCA
GTGGTCTGTTAAGCGGTCTGATCGATAATCATGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAG
CAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGC
TACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCAACTGCTGATCTACGCCGCCAGCTCTC
TGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCAGCTTCACCTGACCATCAG
CTCCCTGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTT
GGCGGAGGTACCAAGGTGGAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTG
TCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT] (SEQ ID NO: 134)
- [0956] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL06-2001-mk LC (SEQ ID NO: 983)]
- [0957] [QGQSGS] [ILYCDSWGAGCLTRPGGGSSGGSSGGSSGGISSGLLSGRSDNHGGSIDIQMTQSPSSLSAS
VGDRVITICRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 135)
- [0958] PL06-2001-mk LC核苷酸序列
- [0959] GGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTATTAGCAGTGGTCTGTTAAGCGGTCTGTA
GCGATAATCATGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGG
CGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAG
AAGCCCGGCAAGGCCCCAACTGCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCA
GATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCAGCTTCACCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGAGGACTT
CGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGA
ATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATG
AGTGT (SEQ ID NO: 982)
- [0960] PL06-2001-mk LC氨基酸序列
- [0961] ILYCDSWGAGCLTRPGGGSSGGSSGGSSGGISSGLLSGRSDNHGGSIDIQMTQSPSSLSASVGDRVITC
RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ
DNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 983)
- [0962] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL07-2001 LC (SEQ ID NO: 984)]

- [0963] [CAAGGTCAGTCTGGATCC] [GGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTATTAGCA GTGGTCTGTTAAGCGGTCTAGCGATAATCATGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAG CAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGC TACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCCGGCAAGGCCCCCAAAGTCTGATCTACGCCGCCAGCTCTC TGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAG CTCCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTT GGCGGAGGTACCAAGGTGGAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTG TCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT] (SEQ ID NO: 136)
- [0964] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL07-2001 LC (SEQ ID NO: 985)]
- [0965] [QGQSGS] [GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGSGGSISSGLLSGRSDNHGGS DIQMTQSPSSLSAS VGDRVITICRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 137)
- [0966] PL07-2001 LC核苷酸序列
- [0967] GGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTATTAGCAGTGGTCTGTTAAGCGGTCTGTA GCGATAATCATGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGG CGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAG AAGCCCCGGCAAGGCCCCCAAAGTCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCA GATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGAGGACTT CGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGA AATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATG AGTGT (SEQ ID NO: 984)
- [0968] PL07-2001 LC氨基酸序列
- [0969] GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGSGGSISSGLLSGRSDNHGGS DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIC RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ DNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 985)
- [0970] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL10-2001 LC (SEQ ID NO: 986)]
- [0971] [CAAGGTCAGTCTGGATCC] [GGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTATTAGCA GTGGTCTGTTAAGCGGTCTAGCGATAATCATGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAG CAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGC TACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCCGGCAAGGCCCCCAAAGTCTGATCTACGCCGCCAGCTCTC TGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAG CTCCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTT GGCGGAGGTACCAAGGTGGAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTG TCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT] (SEQ ID NO: 138)
- [0972] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL10-2001 LC (SEQ ID NO: 987)]
- [0973] [QGQSGS] [PCHPHYDARPYCNVGGSSGGSGSGGSISSGLLSGRSDNHGGS DIQMTQSPSSLSAS VGDRVITICRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 139)

[0974] PL10-2001 LC核苷酸序列

GGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTATTAGCAGTGGTCTGTTAAGCGGTCTGTA
GCGATAATCATGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGG
CGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAG
AAGCCCCGGCAAGGCCCCAACTGCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCA
[0975] GATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTT
CGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAA
ATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATG
AGTGT (SEQ ID NO: 986)

[0976] PL10-2001 LC氨基酸序列

PCHPHPYDARPYCNVGGSSGGSSGGSSGGLLSGRSDNHGGSIDIQMTQSPSSLSASVGDRVITC
[0977] RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ
DNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 987)

[0978] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL11-2001 LC (SEQ ID NO: 1185)]

[QGQSGS] [PCYWHPPFAIRYCNVGGSSGGSSGGSSGGLLSGRSDNHGGSIDIQMTQSPSSLSAS
[0979] VGDRVITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 1184)

[0980] PL11-2001 LC氨基酸序列

PCYWHPPFAIRYCNVGGSSGGSSGGSSGGLLSGRSDNHGGSIDIQMTQSPSSLSASVGDRVITC
[0981] RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ
DNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1185)

[0982] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL12-2001 LC (SEQ ID NO: 1187)]

[QGQSGS] [VCYYMDWLGRNWCSSGGSSGGSSGGSSGGLLSGRSDNHGGSIDIQMTQSPSSLSAS
[0983] VGDRVITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 1186)

[0984] PL12-2001 LC氨基酸序列

VCYYMDWLGRNWCSSGGSSGGSSGGSSGGLLSGRSDNHGGSIDIQMTQSPSSLSASVGDRVITC
[0985] RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ
DNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1187)

[0986] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL14-2001 LC (SEQ ID NO: 988)]

[CAAGGTCAGTCTGGATCC] [GGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTATTAGCA
GTGGTCTGTTAAGCGGTCTAGCGATAATCATGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAG
CAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGC
TACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCAACTGCTGATCTACGCCGCCAGCTCTC
[0987] TGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAG
CTCCCTGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTT
GGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTG
TCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT] (SEQ ID NO: 140)

- [0988] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL14-2001 LC (SEQ ID NO: 989)]
[QGQSGS] [YLPCHFVPIGACNNKGGGSSGGSGSGSGISSGLLSGRSDNHGGSDIQMTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 141)
- [0990] PL14-2001 LC核苷酸序列
GGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTATTAGCAGTGGTCTGTTAAGCGGTCTGTA
GCGATAATCATGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGG
CGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAG
AAGCCCCGGCAAGGCCCCCAAACCTGCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCA
[0991] GATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCGAGGACTT
CGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAA
ATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATG
AGTGT (SEQ ID NO: 988)
- [0992] PL14-2001 LC氨基酸序列
YLPCHFVPIGACNNKGGGSSGGSGSGSGISSGLLSGRSDNHGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC
- [0993] RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ
DNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 989)
- [0994] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL15-2001 LC (SEQ ID NO: 990)]
[CAAGGTCAGTCTGGATCC] [GGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTATTAGCA
GTGGTCTGTTAAGCGGTCTGAGCGATAATCATGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAG
CAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGC
TACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCCGCAAGGCCCCCAAACCTGCTGATCTACGCCGCCAGCTCTC
[0995] TGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCTGACCATCAG
CTCCCTGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTT
GGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTG
TCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT] (SEQ ID NO: 142)
- [0996] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL15-2001 LC (SEQ ID NO: 991)]
[QGQSGS] [IFCHMGVVVPQCANYGGGSSGGSGSGSGISSGLLSGRSDNHGGSDIQMTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 143)
- [0997] VGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 143)
- [0998] PL15-2001 LC核苷酸序列

- [0999] GGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTATTAGCAGTGGTCTGTTAAGCGGTGCGTA
GCGATAATCATGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGG
CGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAG
AAGCCCCGGCAAGGCCCCCAAAGTCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCA
GATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCAGCTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCAGGACTT
CGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAA
ATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATG
AGTGT (SEQ ID NO: 990)
- [1000] PL15-2001 LC氨基酸序列
- [1001] IFCHMGVVVPQCANYGGGSSGGSSGGISSGLLSGRSDNHGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITC
RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ
DNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 991)
- [1002] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL18-2001 LC (SEQ ID NO: 992)]
[CAAGGTCAGTCTGGATCC] [GGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTATTAGCA
GTGGTCTGTTAAGCGGTCTGAGCGATAATCATGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAG
CAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGC
TACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCCGGCAAGGCCCCCAAAGTCTGATCTACGCCGCCAGCTCTC
TGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCAGCTTCACCCTGACCATCAG
CTCCCTGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTT
GGCGGAGGTACCAAGGTGGAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTG
TCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT] (SEQ ID NO: 144)
- [1003] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL18-2001 LC (SEQ ID NO: 993)]
[QGQSGS] [PCHPHAYDARPYCNVGGGSSGGSSGGISSGLLSGRSDNHGGSDIQMTQSPSSLSAS
VGDRVITICRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 145)
- [1004] PL18-2001 LC核苷酸序列
- [1005] GGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGGCTCTGGTGGTATTAGCAGTGGTCTGTTAAGCGGTGCGTA
GCGATAATCATGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGG
CGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAG
AAGCCCCGGCAAGGCCCCCAAAGTCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCA
GATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCAGCTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCCAGGACTT
CGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAA
ATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATG
AGTGT (SEQ ID NO: 992)
- [1006] PL18-2001 LC氨基酸序列
- [1007] PCHPHAYDARPYCNVGGGSSGGSSGGISSGLLSGRSDNHGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITC
RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ
DNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 993)
- [1008]
- [1009]

- [1010] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL19-2001 LC (SEQ ID NO: 1189)]
[QGQSGS] [PCHPHPADARPYCNVGGGSSGGSGGGISSGLLSGRSDNHGGSDIQMTQSPSSLSAS
[1011] VGDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 1188)
- [1012] PL19-2001 LC氨基酸序列
PCHPHPADARPYCNVGGGSSGGSGGGISSGLLSGRSDNHGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITC
[1013] RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ
DNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1189)
- [1014] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL20-2001 LC (SEQ ID NO: 1191)]
[QGQSGS] [PCHPHPYAARPYCNVGGGSSGGSGGGISSGLLSGRSDNHGGSDIQMTQSPSSLSAS
[1015] VGDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 1190)
- [1016] PL20-2001 LC氨基酸序列
PCHPHPYAARPYCNVGGGSSGGSGGGISSGLLSGRSDNHGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITC
[1017] RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ
DNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1191)
- [1018] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL03-1004/GG/0001 (在本文中也称作PL03-
3001) LC (SEQ ID NO: 994)]
[CAAGGTCAGTCTGGATCC] [GGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGCTGTGGGTCTCCTGGCTC
CCCCGGGCGGCCTGTCCGGCCGACGATAATCATGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCC
CAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGC
[1019] AGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCAACTGCTGATCTACGCCGCCAGCT
CTCTGCAGTCTGGCGTGCCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACCAT
CAGCTCCCTGCAGCCCAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCCAGCACC
TTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCA
TTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT] (SEQ ID NO: 146)
- [1020] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL03-1004/GG/0001 LC (SEQ ID NO: 995)]
[QGQSGS] [LCEVLMLLQHPWCMGGGSSGGSGAVGLLAPPGGLSGRSDNHGGSDIQMTQSPSSLSA
[1021] SVGDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
EDFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 147)
- [1022] PL03-1004/GG/0001 LC核苷酸序列

- [1023] GGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGCTGTGGGTCTCCTGGCTCCCCGGGCGGCCTGTCCGGCC
GCAGCGATAATCATGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGT
GGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAG
CAGAAGCCCCGGCAAGGCCCCCAAAGTCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCCA
GCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCAGCTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGAGGA
CTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTG
GAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGA
ATGAGTGT (SEQ ID NO: 994)
- [1024] PL03-1004/GG/0001 LC氨基酸序列
- [1025] LCEVLMLLQHPWCMGGGSSGGSGAVGLLAPPGGLSGRSDNHGGSIDIQMTQSPSSLSASVGDRVIT
CRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ
QDNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 995)
- [1026] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL06-1004/GG/0001 (在本文中也被称作PL06-
3001) LC (SEQ ID NO: 996)]
- [1027] [CAAGGTCAGTCTGGATCC] [GGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGCTGTGGGTCTCCTGGCTC
CCCCGGGCGGCCTGTCCGGCCGACAGCGATAATCATGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCC
CAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGC
AGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCCGGCAAGGCCCCCAAAGTCTGATCTACGCCGCCAGCT
CTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCAGCTTCACCCTGACCAT
CAGCTCCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCCAGCACCC
TTTGGCGGAGGTACCAAGGTGAAATCAAGCGTTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCCG
TCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT] (SEQ ID NO: 148)
- [1028] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL06-1004/GG/0001 LC (SEQ ID NO: 997)]
- [1029] [QQQSGS] [ILYCDSWGAGCLTRPGGSSGGSGAVGLLAPPGGLSGRSDNHGGSIDIQMTQSPSSLSA
SVGDRVITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
EDFATYYCQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 149)
- [1030] PL06-1004/GG/0001 LC核苷酸序列
- [1031] GGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGCTGTGGGTCTCCTGGCTCCCCGGGCGGCCTGTCCGGCC
GCAGCGATAATCATGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGT
GGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAG
CAGAAGCCCCGGCAAGGCCCCCAAAGTCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCCA
GCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCAGCTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGAGGA
CTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTG
GAAATCAAGCGTTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGG
GAGAGTGT (SEQ ID NO: 996)
- [1032] PL06-1004/GG/0001 LC氨基酸序列

ILYCDSWGAGCLTRPGGGSSGGSGAVGLLAPPGGLSGRSDNHGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT
[1033] CRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIISSLPEDFATYYCQ
QDNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 997)

[1034] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL07-1004/GG/0001 (在本文中也被称作PL07-3001) LC (SEQ ID NO: 998)]

[1035] [CAAGGTCAGTCTGGATCC] [GGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGCTGTGGGTCTCCTGGCTC
CCCCGGGCGGCCTGTCCGGCCGAGCGATAATCATGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCC
CAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGC
AGCTACCTGAAGTGGTATCAGCAGAAGCCCCGCAAGGCCCCAACTGCTGATCTACGCCGCCAGCT
CTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCAGACTTCACCCTGACCAT
CAGCTCCCTGCAGCCCAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCCAGCACC
TTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAATCAAGCGTTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCG
TCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT] (SEQ ID NO: 150)

[1036] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL01-1004/GG/0001 LC (SEQ ID NO: 999)]

[1037] [QGQSGS] [GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGAVGLLAPPGGLSGRSDNHGGSDIQMTQSPSSLSA
SVGDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIISSLP
EDFATYYCQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 151)

[1038] PL07-1004/GG/0001 LC核苷酸序列

[1039] GGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGCTGTGGGTCTCCTGGCTCCCCGGGCGGCCTGTCCGGCC
GCAGCGATAATCATGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGT
GGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAAGTGGTATCAG
CAGAAGCCCCGCAAGGCCCCAACTGCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCCA
GCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCAGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCAGGA
CTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTG
GAAATCAAGCGTTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGG
GAGAGTGT (SEQ ID NO: 998)

[1040] PL07-1004/GG/0001 LC氨基酸序列

[1041] GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGAVGLLAPPGGLSGRSDNHGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT
CRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIISSLPEDFATYYCQ
QDNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 999)

[1042] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL14-1004/GG/0001 (在本文中也被称作PL14-3001) LC (SEQ ID NO: 1000)]

- [1043] [CAAGGTCAGTCTGGATCC] [GGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGCTGTGGGTCTCCTGGCTC
CCCCGGGCGGCCTGTCCGGCCGAGCGATAATCATGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCC
CAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGC
AGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCCGGCAAGGCCCCAACTGCTGATCTACGCCGCCAGCT
CTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCAGACTTCACCCTGACCAT
CAGCTCCCTGCAGCCCAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCCAGCACC
TTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAATCAAGCGTTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCG
TCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT] (SEQ ID NO: 152)
- [1044] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL14-1004/GG/0001 LC (SEQ ID NO: 1001)]
- [1045] [QGQSGS] [YLPCHFVPIGACNNKGGSSGGSGAVGLLAPPGGLSGRSDNHGGSIDIQMTQSPSSLSA
SVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 153)
- [1046] PL14-1004/GG/0001 LC核苷酸序列
- [1047] GGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGCTGTGGGTCTCCTGGCTCCCCGGGCGGCCTGTCCGGCC
GCAGCGATAATCATGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGT
GGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAG
CAGAAGCCCCGGCAAGGCCCCAACTGCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCCA
GCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCAGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGAGGA
CTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTG
GAAATCAAGCGTTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGG
GAGAGTGT (SEQ ID NO: 1000)
- [1048] PL14-1004/GG/0001 LC氨基酸序列
- [1049] YLPCHFVPIGACNNKGGSSGGSGAVGLLAPPGGLSGRSDNHGGSIDIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT
CRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ
QDNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1001)
- [1050] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL15-1004/GG/0001 (在本文中也称作PL15-
3001) LC (SEQ ID NO: 1002)]
- [1051] [CAAGGTCAGTCTGGATCC] [GGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGCTGTGGGTCTCCTGGCTC
CCCCGGGCGGCCTGTCCGGCCGAGCGATAATCATGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCC
CAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGC
AGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCCGGCAAGGCCCCAACTGCTGATCTACGCCGCCAGCT
CTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCAGACTTCACCCTGACCAT
CAGCTCCCTGCAGCCCAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCCAGCACC
TTTGGCGGAGGTACCAAGGTGGAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCA
TTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT] (SEQ ID NO: 154)
- [1052] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL15-1004/GG/0001 LC (SEQ ID NO: 1003)]

- [1053] [QGQSGS] [IFCHMGVVVPQCANYGGGSSGGSGAVGLLAPPGGLSGRSDNHGGSIDIQMTQSPSSLSA
SVGDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 155)
- [1054] PL15-1004/GG/0001 LC核苷酸序列
- GGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGCTGTGGGTCTCCTGGCTCCCCGGGCGGCCTGTCCGGCC
GCAGCGATAATCATGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGT
GGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAG
CAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAACCTGCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCCA
[1055] GCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCGTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGAGGA
CTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTG
GAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGA
ATGAGTGT (SEQ ID NO: 1002)
- [1056] PL15-1004/GG/0001 LC氨基酸序列
- IFCHMGVVVPQCANYGGGSSGGSGAVGLLAPPGGLSGRSDNHGGSIDIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT
- [1057] CRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ
QDNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1003)
- [1058] [间隔物 (SEQ ID NO: 929)] [PL18-1004/GG/0001 (在本文中也称作PL18-
3001) LC (SEQ ID NO: 1004)]
- [CAAGGTCAGTCTGGATCC] [GGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGCTGTGGGTCTCCTGGCTC
CCCCGGGCGGCCTGTCCGGCCGCAGCGATAATCATGGCGGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCC
CAGCAGCCTGTCTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGC
AGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAACCTGCTGATCTACGCCGCCAGCT
[1059] CTCTGCAGTCTGGCGTGCCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCGTGACCAT
CAGCTCCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCCAGCACCC
TTTGGCGGAGGTACCAAGGTGAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCA
TTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT] (SEQ ID NO: 156)
- [1060] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL18-1004/GG/0001 LC (SEQ ID NO: 1005)]
- [QGQSGS] [PCHPHAYDARPYCNVGGSSGGSGAVGLLAPPGGLSGRSDNHGGSIDIQMTQSPSSLSA
- [1061] SVGDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 157)
- [1062] PL18-1004/GG/0001 LC核苷酸序列

- [1063] GGAGGTGGCTCGAGCGGTGGCAGCGGTGCTGTGGGTCTCCTGGCTCCCCGGGCGGCCTGTCCGGCC
GCAGCGATAATCATGGCGTTCTGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCTAGCGT
GGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAG
CAGAAGCCCCGGCAAGGCCCCAACTGCTGATCTACGCCGCCAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCCA
GCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCAGCTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGAGGA
CTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACAACGGCTACCCCAGCACCTTTGGCGGAGGTACCAAGGTG
GAAATCAAGCGTTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGA
ATGAGTGT (SEQ ID NO: 1004)
- [1064] PL18-1004/GG/0001 LC氨基酸序列
- [1065] PCHPHAYDARPYCNVGGGSSGGSGAVGLLAPPGGLSGRSDNHGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVIT
CRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ
QDNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1005)
- [1066] PL07-0001
- [1067] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL07-0001 LC (SEQ ID NO: 1145)]
[QGQSGS] [GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGSLSGRSDNHGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRV
- [1068] TITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY
YCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 1144)
- [1069] PL07-0001 LC氨基酸序列
- [1070] GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGSLSGRSDNHGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQS
ISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQDNGYP
STFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1145)
- [1071] PL07-0002
- [1072] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL07-0002 LC (SEQ ID NO: 1147)]
[QGQSGS] [GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGSLSGRSGNHGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRV
- [1073] TITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY
YCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 1146)
- [1074] PL07-0002 LC氨基酸序列
- [1075] GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGSLSGRSGNHGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQS
ISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQDNGYP
STFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1147)
- [1076] PL07-1001
- [1077] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL07-1001 LC (SEQ ID NO: 1149)]
[QGQSGS] [GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGSGGISSGGLSSGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRV
- [1078] TITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY
YCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 1148)
- [1079] PL07-1001 LC氨基酸序列

- [1080] GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGISSGLLSSGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQDNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1149)
- [1081] PL07-1002
- [1082] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL07-1002 LC (SEQ ID NO: 1151)]
[QGQSGS] [GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGQNALRMAGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRV
- [1083] TITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 1150)
- [1084] PL07-1002 LC氨基酸序列
- [1085] GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGQNALRMAGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQDNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1151)
- [1086] PL07-1003
- [1087] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL07-1003 LC (SEQ ID NO: 1153)]
[QGQSGS] [GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGVHMPGLGFLPGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 1152)
- [1088] RVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 1152)
- [1089] PL07-1003 LC氨基酸序列
- [1090] GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGVHMPGLGFLPGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQDNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1153)
- [1091] PL07-1004
- [1092] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL07-1004 LC (SEQ ID NO: 1201)]
[QGQSGS] [GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGAVGLLAPPGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRV
- [1093] TITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 1200)
- [1094] PL07-1004 LC氨基酸序列
- [1095] GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGAVGLLAPPGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQDNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1201)
- [1096] PL07-2002
- [1097] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL07-2002 LC (SEQ ID NO: 1155)]
[QGQSGS] [GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGISSGLLSGRSGNHGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 1154)
- [1098] VGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 1154)
- [1099] PL07-2002 LC氨基酸序列

- [1100] GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGISSGLLSGRSGNHGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC
RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ
DNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1155)
- [1101] PL07-2003
- [1102] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL07-2003 LC (SEQ ID NO: 1157)]
[QGQSGS] [GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGISSGLLSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLS
[1103] ASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQ
PEDFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 1156)
- [1104] PL07-2003 LC氨基酸序列
- [1105] GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGISSGLLSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTI
TCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC
QQDNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1157)
- [1106] PL07-2004
- [1107] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL07-2004 LC (SEQ ID NO: 1159)]
[QGQSGS] [GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGSGGAVGLLAPPTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPS
[1108] SLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS
SLQPEDFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 1158)
- [1109] PL07-2004 LC氨基酸序列
- [1110] GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGSGGAVGLLAPPTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDR
VTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAT
YYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1159)
- [1111] PL07-2005
- [1112] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL07-2005 LC (SEQ ID NO: 1161)]
[QGQSGS] [GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGSGGAVGLLAPPSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSS
[1113] LSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS
LQPEDFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 1160)
- [1114] PL07-2005 LC氨基酸序列
- [1115] GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGSGGAVGLLAPPSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRV
TITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY
YCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1161)
- [1116] PL07-2006
- [1117] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL07-2006 LC (SEQ ID NO: 1163)]
[QGQSGS] [GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGISSGLLSGRSDDHGGSDIQMTQSPSSLSAS
[1118] VGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 1162)
- [1119] PL07-2006 LC氨基酸序列

- [1120] GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGISSGLLSGRSDDHGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITC
RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ
DNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1163)
- [1121] PL07-2007
- [1122] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL07-2007 LC (SEQ ID NO: 1165)]
[QGQSGS] [GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGISSGLLSGRSDIHGGSDIQMTQSPSSLSAS
VGDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE
DFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 1164)
- [1124] PL07-2007 LC氨基酸序列
- [1125] GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGISSGLLSGRSDIHGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITC
RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ
DNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1165)
- [1126] PL07-2008
- [1127] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL07-2008 LC (SEQ ID NO: 1167)]
[QGQSGS] [GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGISSGLLSGRSDQHGGSDIQMTQSPSSLSAS
VGDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE
DFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 1166)
- [1129] PL07-2008 LC氨基酸序列
- [1130] GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGISSGLLSGRSDQHGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITC
RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ
DNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1167)
- [1131] PL07-2009
- [1132] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL07-2009 LC (SEQ ID NO: 1169)]
[QGQSGS] [GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGISSGLLSGRSDTHGGSDIQMTQSPSSLSAS
VGDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE
DFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 1168)
- [1134] PL07-2009 LC氨基酸序列
- [1135] GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGISSGLLSGRSDTHGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITC
RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ
DNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1169)
- [1136] PL07-2010
- [1137] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL07-2010 LC (SEQ ID NO: 1171)]
[QGQSGS] [GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGISSGLLSGRSDYHGGSDIQMTQSPSSLSAS
VGDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE
DFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 1170)
- [1139] PL07-2010 LC氨基酸序列

- [1140] GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGISSGLLSGRSDYHGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC
RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ
DNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1171)
- [1141] PL07-2011
- [1142] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL07-2011 LC (SEQ ID NO: 1173)]
[QGQSGS] [GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGISSGLLSGRSDNPGGSDIQMTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 1172)
- [1144] PL07-2011 LC氨基酸序列
GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGISSGLLSGRSDNPGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC
RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ
DNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1173)
- [1146] PL07-2012
- [1147] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL07-2012 LC (SEQ ID NO: 1175)]
[QGQSGS] [GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGISSGLLSGRSANPGGSDIQMTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 1174)
- [1149] PL07-2012 LC氨基酸序列
GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGISSGLLSGRSANPGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC
RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ
DNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1175)
- [1151] PL07-2013
- [1152] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL07-2013 LC (SEQ ID NO: 1177)]
[QGQSGS] [GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGISSGLLSGRSANIGGSDIQMTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 1176)
- [1154] PL07-2013 LC氨基酸序列
GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGISSGLLSGRSANIGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC
RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ
DNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1177)
- [1156] PL07-2014
- [1157] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL07-2014 LC (SEQ ID NO: 1179)]
[QGQSGS] [GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGISSGLLSGRSDNIGGSDIQMTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 1178)
- [1159] PL07-2014 LC氨基酸序列

[1160] GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGISSGLLSGRSDNIGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC
RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ
DNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1179)

[1161] PL07-1004/GG/0003

[1162] [间隔物 (SEQ ID NO: 923)] [PL07-1004/GG/0003 LC (SEQ ID NO: 1181)]

[1163] [QQSGS] [GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGAVGLLAPPGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMT
QSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFT
LTISLQPEDFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR] (SEQ ID NO: 1180)

[1164] PL07-1004/GG/0003 LC氨基酸序列

[1165] GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGAVGLLAPPGGTSTSGRSANPRGGGSDIQMTQSPSSLSAS
VGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO: 1181)

[1166] 实施例11. 本发明的抗-PDL1可活化抗体

[1167] 本实施例证实, 可以以MM、CM、VL和VH结构域的多种组合以及在多种不同的人同种型中制备抗-PDL1可活化抗体。

[1168] 表18. 抗-PDL1可活化抗体组分

掩蔽序列 (MM)	底物序列 (CM)	VL	VH
YCEVSELFVLPWCMG (SEQ ID NO: 208)	LSGRSDNH (SEQ ID NO: 341)	SEQ ID NO: 12	SEQ ID NO: 14

[1170]

SCLMHPHYAHDYCYV (SEQ ID NO: 426)	TGRGPSWV (SEQ ID NO: 338)	SEQ ID NO: 58	SEQ ID NO: 16
LCEVLMLLQHPWCMG (SEQ ID NO: 59)	PLTGRSGG (SEQ ID NO: 344)		SEQ ID NO: 18
IACRHFMEQLPFCHH (SEQ ID NO: 60)	TARGPSFK (SEQ ID NO: 340)		SEQ ID NO: 20
FGPRCGEASTCVPYE (SEQ ID NO: 61)	NTLSGRSENHSG (SEQ ID NO: 435)		SEQ ID NO: 22
ILYCDSWGAGCLTRP (SEQ ID NO: 62)	NTLSGRSGNHGS (SEQ ID NO: 436)		SEQ ID NO: 24
GIALCPSHFCQLPQT (SEQ ID NO: 63)	TSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 437)		SEQ ID NO: 26
DGPRCFVSGECSPIG (SEQ ID NO: 64)	TSGRSANP (SEQ ID NO: 438)		SEQ ID NO: 28
LCYKLDYDDRSYCHI (SEQ ID NO: 65)	VHMPGLGFLGP (SEQ ID NO: 352)		SEQ ID NO: 30
PCHPHPYDARPYCNV (SEQ ID NO: 66)	AVGLLAPP (SEQ ID NO: 372)		SEQ ID NO: 32
PCYWHPFFAYRYCNT (SEQ ID NO: 67)	AQNLLGMV (SEQ ID NO: 360)		SEQ ID NO: 34
VCYYMDWLGRNWCSS (SEQ ID NO: 68)	QNQALRMA (SEQ ID NO: 359)		SEQ ID NO: 36
LCDLFLKLREFPYCMG (SEQ ID NO: 69)	LAAPLGLL (SEQ ID NO: 371)		SEQ ID NO: 38
YLPCHFVPIGACNNK (SEQ ID NO: 70)	STFPFGMF (SEQ ID NO: 361)		SEQ ID NO: 40
IFCHMGVVVPQCANY (SEQ ID NO: 71)	ISSGLLSS (SEQ ID NO: 364)		SEQ ID NO: 42
ACHPHPYDARPYCNV (SEQ ID NO: 72)	PAGLWLDP (SEQ ID NO: 374)		SEQ ID NO: 44
PCHPAPYDARPYCNV (SEQ ID NO: 73)	VAGRSMRP (SEQ ID NO: 439)		SEQ ID NO: 46
PCHPHAYDARPYCNV (SEQ ID NO: 74)	VVPEGRRS (SEQ ID NO: 440)		SEQ ID NO: 48

[1171]

PCHPHPADARPYCNV (SEQ ID NO: 75)	ILPRSPAF (SEQ ID NO: 441)		SEQ ID NO: 50
PCHPHPYAARPYCNV (SEQ ID NO: 76)	MVLGRSLL (SEQ ID NO: 442)		SEQ ID NO: 52
PCHPHPYDAAPYCNV (SEQ ID NO: 77)	QGRAITFI (SEQ ID NO: 443)		SEQ ID NO: 54
PCHPHPYDARPYCNV (SEQ ID NO: 78)	SPRSIMLA (SEQ ID NO: 444)		SEQ ID NO: 56
PCHPHPYDARPYCAV (SEQ ID NO: 79)	SMLRSMPL (SEQ ID NO: 445)		
PCHAHPYDARPYCNV (SEQ ID NO: 80)	ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 377)		
PCHPHPYDARAYCNV (SEQ ID NO: 81)	AVGLLAPPGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 383)		
	ISSGLLSSGGSGGSLSGRSDNH (SEQ ID NO: 378)		
	LSGRSGNH (SEQ ID NO: 883)		
	SGRSANPRG (SEQ ID NO: 884)		
	LSGRSDDH (SEQ ID NO: 885)		
	LSGRSDIH (SEQ ID NO: 886)		
	LSGRSDQH (SEQ ID NO: 887)		
	LSGRSDTH (SEQ ID NO: 888)		
	LSGRSDYH (SEQ ID NO: 889)		
	LSGRSDNP (SEQ ID NO: 890)		
	LSGRSANP (SEQ ID NO: 891)		
	LSGRSANI (SEQ ID NO: 892)		

[1172]

	LSGRSDNI (SEQ ID NO: 893)		
	MIAPVAYR (SEQ ID NO: 894)		
	RPSPMWAY (SEQ ID NO: 895)		
	WATPRPMR (SEQ ID NO: 896)		
	FRLLDWQW (SEQ ID NO: 897)		
	ISSGL (SEQ ID NO: 898)		
	ISSGLLS (SEQ ID NO: 899)		
	ISSGLL (SEQ ID NO: 900)		
	ISSGLLSGRSANPRG (SEQ ID NO: 901)		
	AVGLLAPPTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 902)		
	AVGLLAPPSGRSANPRG (SEQ ID NO: 903)		
	ISSGLLSGRSDDH (SEQ ID NO: 904)		
	ISSGLLSGRSDIH (SEQ ID NO: 905)		
	ISSGLLSGRSDQH (SEQ ID NO: 906)		
	ISSGLLSGRSDTH (SEQ ID NO: 907)		
	ISSGLLSGRSDYH (SEQ ID NO: 908)		
	ISSGLLSGRSDNP (SEQ ID NO: 909)		
	ISSGLLSGRSANP (SEQ ID NO: 910)		

[1173]

	ISSGLLSGRSANI (SEQ ID NO: 911)		
	AVGLLAPPGGLSGRSDDH (SEQ ID NO: 912)		
	AVGLLAPPGGLSGRSDIH (SEQ ID NO: 913)		
	AVGLLAPPGGLSGRSDQH (SEQ ID NO: 914)		
	AVGLLAPPGGLSGRSDTH (SEQ ID NO: 915)		
	AVGLLAPPGGLSGRSDYH (SEQ ID NO: 916)		
	AVGLLAPPGGLSGRSDNP (SEQ ID NO: 917)		
	AVGLLAPPGGLSGRSANP (SEQ ID NO: 918)		
	AVGLLAPPGGLSGRSANI (SEQ ID NO: 919)		
	ISSGLLSGRSDNI (SEQ ID NO: 920)		
	AVGLLAPPGGLSGRSDNI (SEQ ID NO: 921)		
	GLSGRSDNHGGAVGLLAPP (SEQ ID NO: 1009)		
	GLSGRSDNHGGVHMPLGFLGP (SEQ ID NO: 1010)		

[1174] 在表18中描述的组合中的任一种可以与人免疫球蛋白恒定区组合以产生包括IgG1、IgG2、IgG4或突变的恒定区的全人IgG,从而产生具有改变的功能的人IgG,诸如IgG1 N297A、IgG1 N297Q或IgG4 S228P。在表18中描述的组合不受任何给定行所示的特定组合限制,且包括来自第1列的任何掩蔽序列,其匹配来自第2列的任何底物序列,其匹配来自第3列的任何VL序列,其匹配来自第4列的任何VH序列。除了在第2列中公开的底物序列以外,可以使用本文中公开的任何CM。

[1175] 作为一个例子,可以将间隔物序列(SEQ ID NO: 923)和掩蔽SEQ ID NO: 63与底物ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 377)、VL SEQ ID NO: 58组合,并与人κ恒定结构域组合以产生SEQ ID NO: 428;或可以将掩蔽SEQ ID NO: 63与底物ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 377)、VL SEQ ID NO: 58组合,并与人κ恒定结构域组合以产生SEQ ID NO: 1008。此外,可以将VH SEQ ID NO: 46与人免疫球蛋白重链恒定结构域组合以产生人IgG1 (SEQ ID NO: 430)、突变的人IgG4 S228P (SEQ ID NO: 432)、突变的人IgG1 N297A (SEQ ID NO: 434)或突变的人IgG1 N297Q (SEQ ID NO: 1202)。SEQ ID NO: 427与SEQ ID NO: 429的共表达

将产生全人IgG1抗-PDL1可活化抗体。SEQ ID NO: 427与SEQ ID NO: 431的共表达将产生全人IgG4S228P抗-PDL1可活化抗体。SEQ ID NO: 427与SEQ ID NO: 433的共表达将产生全人IgG1 N297A抗-PDL1可活化抗体。SEQ ID NO: 427与编码SEQ ID NO: 1202的氨基酸序列的核酸序列的共表达将产生全人IgG1 N297Q抗-PDL1可活化抗体。

[1176] [具有间隔物(SEQ ID NO: 1006)的轻链序列(SEQ ID NO: 1007)] (SEQ ID NO: 427)

[CAGGGCCAGTCCGGCTCA] [TATCTGCCCTGCCACTTCGTGCCAATCGGGGCCTGTAACAATAAGG
GCGGTGGATCTAGTGGTGGCTCAGGCGGGTCTGGCGGCATTTCCAGTGGACTCTTGTCAGGACGATC
CGATAATCATGGCGGGTCCGACATCCAGATGACACAGAGCCCTTCTTCCCTCTCCGCAAGCGTTGGC
GACAGGGTCACCATTACCTGTAGGGCTTCTCAGAGCATCTCAAGCTATCTGAACTGGTACCAGCAGA
AACCTGGAAAGGCTCCAAAACCTGCTGATTTACGCTGCCTCCAGTCTTCAGTCAGGCGTCCCCCTCCAG
ATTTAGCGGATCAGGTAGTGGAAGTATTTTACCCCTTACAATATCTTCTCTGCAGCCAGAGGACTTC
GCCACATACTATTGTGTCAGCAAGACAATGGTTACCCAGTACATTTGGCGGAGGGACAAAGGTCGAGA
TCAAAAGGACCGTAGCAGCACCAAGCGTCTTTATTTTCCCCCCCAGTGACGAACAGCTGAAGAGCGG
AACAGCTTCAGTGGTGTGTCTCCTGAATAACTTCTATCCACGCGAGGCAAAGGTGCAGTGGAAGGTG
GACAATGCACTGCAGTCTGGTAATTCCCAAGAAAGTGTTACTGAGCAGGATTCCAAGGATTCAACTT
ACTCTCTGTCTAGCACCTGACTCTTTCTAAAGCAGATTATGAGAAGCATAAGGTCTACGCTTGCGA
GGTGACCCACCAGGGGCTTTCTCTCCAGTTACCAAGTCATTCAACCGGGGTGAGTGTGATGAGAA
TTC] (SEQ ID NO: 427)

[1177] 没有间隔物的轻链序列

TATCTGCCCTGCCACTTCGTGCCAATCGGGGCCTGTAACAATAAGGGCGGTGGATCTAGTGGTGGCT
CAGGCGGGTCTGGCGGCATTTCCAGTGGACTCTTGTCAGGACGATCCGATAATCATGGCGGGTCCGA
CATCCAGATGACACAGAGCCCTTCTTCCCTCTCCGCAAGCGTTGGCGACAGGGTCACCATTACCTGT
AGGGCTTCTCAGAGCATCTCAAGCTATCTGAACTGGTACCAGCAGAAACCTGGAAAGGCTCCAAAAC
TGCTGATTTACGCTGCCTCCAGTCTTCAGTCAGGCGTCCCCCTCCAGATTTAGCGGATCAGGTAGTGG
AACTGATTTTACCCCTTACAATATCTTCTCTGCAGCCAGAGGACTTCGCCACATACTATTGTGTCAGCAA
GACAATGGTTACCCAGTACATTTGGCGGAGGGACAAAGGTGAGATCAAAAGGACCGTAGCAGCAC
CAAGCGTCTTTATTTTCCCCCCCAGTGACGAACAGCTGAAGAGCGGAACAGCTTCAGTGGTGTGTCT
CCTGAATAACTTCTATCCACGCGAGGCAAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCACTGCAGTCTGGT
AATTCCCAAGAAAGTGTTACTGAGCAGGATTCCAAGGATTCAACTTACTCTCTGTCTAGCACCTGA
CTCTTTCTAAAGCAGATTATGAGAAGCATAAGGTCTACGCTTGCGAGGTGACCCACCAGGGGCTTTC
CTCTCCAGTTACCAAGTCATTCAACCGGGGTGAGTGTGATGAGAATTC (SEQ ID NO: 1007)

[1179] [具有间隔物(SEQ ID NO: 923)的轻链序列(SEQ ID NO: 1008)] (SEQ ID NO: 428)

[QGQSGS] [GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGSGSGISSGLLSGRSDNHGGSIDIQMTQSPSSLSAS
VGDRVITICRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQQDNGYPSTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC]
(SEQ ID NO: 428)

[1181] 没有间隔物的轻链序列

- [1183] GIALCPSHFCQLPQTGGGSSGGSGGGISSGLLSGRSDNHGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC
RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ
DNGYPSTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG
NSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID
NO: 1008)
- [1184] SEQ ID NO: 429
GAAGTGCAGCTGCTCGAAAGCGGCGGAGGCTTGGTGCAGCCAGGAGGGAGCCTGCGACTGTCTTGCG
CAGCCAGCGGATTCACTTTCTCTTCTATGCCATGAGCTGGGTTCGACAGGCACCCGGCAAAGGTCT
CGAGTGGGTGTCTAGCATCTGGCGAAACGGAATAGTTACAGTGTATGCCGATAGCGTGAAGGGTCGC
TTTACTATTTACGGGATAATTCTAAGAACACCCTCTACCTGCAAATGAATAGCCTTAGGGCAGAAG
ATACCGCCGTGTACTACTGTGCCAAATGGTCCGCAGCCTTTGACTACTGGGGCCAGGGGACACTGGT
GACCGTGTCTCTGCATCAACCAAGGGGCCATCAGTGTTCCTACTCGCCCCATCTTCCAAGAGTACT
TCCGGCGGAACCGCAGCCCTTGGCTGCCTTGTTAAGGACTATTTCCAGAACCCGTGACCGTAAGTT
GGAActCTGGCGCCCTTACTTCTGGGGTGCACACCTTCCCAGCAGTGTTCAGTCCAGTGGCCTTTA
CTCTCTGTCTAGTGTAGTACTGTGCCTTCCTCTAGTCTCGGTACCCAGACCTATATTTGTAATGTT
AACCATAAGCCCAGCAATACAAAGGTTGATAAGAAAGTGGAACCCAAGAGCTGCGATAAGACACATA
CCTGCCCACCTTGTCCAGCTCCCGAGCTGCTGGGCGGACCCTCAGTCTTTCTCTTCCCACCTAAACC
CAAGGATACCCTTATGATCTCCAGGACTCCTGAGGTGACCTGCGTTGTGGTCGACGTGTACATGAG
GACCTGAGGTAAAGTTTAACTGGTACGTGGACGGTGTGGAGGTACATAACGCTAAGACTAAGCCAC
GAGAGGAGCAATACGCTTCCACTTACAGGGTGGTCAGCGTCCTGACCGTTCTCCATCAGGACTGGCT
GAACGGGAAGGAATATAAGTGTAAGGTTAGCAACAAAGCTCTCCCTGCACCAATCGAGAAGACAATC
AGCAAGGCAAAAGGGCAGCCTCGGGAACCTCAGGTCTACACCCTCCCTCCTAGCAGGGAAGAGATGA
CAAAGAACCAGGTCTCTCTCACCTGCCTGGTGAAAGGCTTCTATCCATCTGACATTGCTGTGGAGTG
GGAATCCAACGGCCAGCCTGAAAATAATTATAAGACCACACCCCCGTCCTTGATTCCGATGGATCT
TTCTTCCTGTACAGTAAACTCACCGTCGACAAATCACGGTGGCAGCAAGGTAACGTGTTTCACTGTT
CTGTCATGCATGAGGCTCTGCATAACCATTACACACAAAAGTCTTTGTCATTGTCTCCAGGATGATG
AGAATTCATTGATCATAATCAGCCATACCAC
- [1185] TTTACTATTTACGGGATAATTCTAAGAACACCCTCTACCTGCAAATGAATAGCCTTAGGGCAGAAG
ATACCGCCGTGTACTACTGTGCCAAATGGTCCGCAGCCTTTGACTACTGGGGCCAGGGGACACTGGT
GACCGTGTCTCTGCATCAACCAAGGGGCCATCAGTGTTCCTACTCGCCCCATCTTCCAAGAGTACT
TCCGGCGGAACCGCAGCCCTTGGCTGCCTTGTTAAGGACTATTTCCAGAACCCGTGACCGTAAGTT
GGAActCTGGCGCCCTTACTTCTGGGGTGCACACCTTCCCAGCAGTGTTCAGTCCAGTGGCCTTTA
CTCTCTGTCTAGTGTAGTACTGTGCCTTCCTCTAGTCTCGGTACCCAGACCTATATTTGTAATGTT
AACCATAAGCCCAGCAATACAAAGGTTGATAAGAAAGTGGAACCCAAGAGCTGCGATAAGACACATA
CCTGCCCACCTTGTCCAGCTCCCGAGCTGCTGGGCGGACCCTCAGTCTTTCTCTTCCCACCTAAACC
CAAGGATACCCTTATGATCTCCAGGACTCCTGAGGTGACCTGCGTTGTGGTCGACGTGTACATGAG
GACCTGAGGTAAAGTTTAACTGGTACGTGGACGGTGTGGAGGTACATAACGCTAAGACTAAGCCAC
GAGAGGAGCAATACGCTTCCACTTACAGGGTGGTCAGCGTCCTGACCGTTCTCCATCAGGACTGGCT
GAACGGGAAGGAATATAAGTGTAAGGTTAGCAACAAAGCTCTCCCTGCACCAATCGAGAAGACAATC
AGCAAGGCAAAAGGGCAGCCTCGGGAACCTCAGGTCTACACCCTCCCTCCTAGCAGGGAAGAGATGA
CAAAGAACCAGGTCTCTCTCACCTGCCTGGTGAAAGGCTTCTATCCATCTGACATTGCTGTGGAGTG
GGAATCCAACGGCCAGCCTGAAAATAATTATAAGACCACACCCCCGTCCTTGATTCCGATGGATCT
TTCTTCCTGTACAGTAAACTCACCGTCGACAAATCACGGTGGCAGCAAGGTAACGTGTTTCACTGTT
CTGTCATGCATGAGGCTCTGCATAACCATTACACACAAAAGTCTTTGTCATTGTCTCCAGGATGATG
AGAATTCATTGATCATAATCAGCCATACCAC
- [1186] CCTGCCCACCTTGTCCAGCTCCCGAGCTGCTGGGCGGACCCTCAGTCTTTCTCTTCCCACCTAAACC
CAAGGATACCCTTATGATCTCCAGGACTCCTGAGGTGACCTGCGTTGTGGTCGACGTGTACATGAG
GACCTGAGGTAAAGTTTAACTGGTACGTGGACGGTGTGGAGGTACATAACGCTAAGACTAAGCCAC
GAGAGGAGCAATACGCTTCCACTTACAGGGTGGTCAGCGTCCTGACCGTTCTCCATCAGGACTGGCT
GAACGGGAAGGAATATAAGTGTAAGGTTAGCAACAAAGCTCTCCCTGCACCAATCGAGAAGACAATC
AGCAAGGCAAAAGGGCAGCCTCGGGAACCTCAGGTCTACACCCTCCCTCCTAGCAGGGAAGAGATGA
CAAAGAACCAGGTCTCTCTCACCTGCCTGGTGAAAGGCTTCTATCCATCTGACATTGCTGTGGAGTG
GGAATCCAACGGCCAGCCTGAAAATAATTATAAGACCACACCCCCGTCCTTGATTCCGATGGATCT
TTCTTCCTGTACAGTAAACTCACCGTCGACAAATCACGGTGGCAGCAAGGTAACGTGTTTCACTGTT
CTGTCATGCATGAGGCTCTGCATAACCATTACACACAAAAGTCTTTGTCATTGTCTCCAGGATGATG
AGAATTCATTGATCATAATCAGCCATACCAC
- [1187] GGAATCCAACGGCCAGCCTGAAAATAATTATAAGACCACACCCCCGTCCTTGATTCCGATGGATCT
TTCTTCCTGTACAGTAAACTCACCGTCGACAAATCACGGTGGCAGCAAGGTAACGTGTTTCACTGTT
CTGTCATGCATGAGGCTCTGCATAACCATTACACACAAAAGTCTTTGTCATTGTCTCCAGGATGATG
AGAATTCATTGATCATAATCAGCCATACCAC
- [1188] SEQ ID NO: 430
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIWRNGIVTVYADSVKGR
FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWSAAF DYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNV
NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHE
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
- [1189] NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHE
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
- [1190] SEQ ID NO: 431

[1191]

GAAGTGCAGCTGCTCGAAAGCGGCGGAGGCTTGGTGCAGCCAGGAGGGAGCCTGCGACTGTCTTGCG
CAGCCAGCGGATTCACTTTCTCTTCTATGCCATGAGCTGGGTTCGACAGGCACCCGGCAAAGGTCT
CGAGTGGGTGTCTAGCATCTGGCGAAACGGAATAGTTACAGTGTATGCCGATAGCGTGAAGGGTCGC
TTTACTATTTACGGGATAATTCTAAGAACACCCTCTACCTGCAAATGAATAGCCTTAGGGCAGAAG
ATACCGCCGTGTACTACTGTGCCAAATGGTCCGCAGCCTTTGACTACTGGGGCCAGGGGACACTGGT
GACCGTGTCTCTGCATCAACCAAGGGGCCATCAGTGTTCCCACTCGCCCCATGTAGCAGATCAACA
TCTGAATCCACCGCAGCCCTTGGCTGCCTTGTTAAGGACTATTTCCAGAACCCGTGACCGTAAGTT
GGAACCTCTGGCGCCCTTACTTCTGGGGTGCACACCTTCCCAGCAGTGTTGCAGTCCAGTGGCCTTTA
CTCTCTGTCTAGTGTAGTGAAGTGTGCCTTCTCTAGTCTCGGTACCAAGACCTATACCTGCAACGTA
GATCATAAGCCCAGCAATACAAAGGTTGATAAGAGAGTAGAGTCAAAGTACGGCCCACCCTGCCCAC
CTTGTCAGCTCCCGAGTTCCTGGGCGGACCCTCAGTCTTTCTCTTCCACCTAAACCCAGGATAC
CCTTATGATCTCCAGGACTCCTGAGGTGACCTGCGTTGTGGTCGACGTGTCACAAGAGGACCCTGAG
GTACAGTTTAACTGGTACGTGGACGGTGTGGAGGTACATAACGCTAAGACTAAGCCACGAGAGGAGC
AATTTAACTCCACTTACAGGGTGGTCAGCGTCTGACCGTTCTCCATCAGGACTGGCTGAACGGGAA
GGAATATAAGTGTAAGGTTAGCAACAAAGGTCTGCCCAGTTCTATCGAGAAGACAATCAGCAAGGCA
AAAGGGCAGCCTCGGGAACCTCAGGTCTACACCCTCCCTCCTAGCCAGGAAGAGATGACAAAGAACC
AGGTCTCTCTCACCTGCCTGGTGAAAGGCTTCTATCCATCTGACATTGCTGTGGAGTGGGAATCCAA
CGGCCAGCCTGAAAATAATTATAAGACCACACCCCCGTCCTTGATTCCGATGGATCTTTCTTCTCTG
TACAGTCGCCTCACCGTCGACAAATCACGGTGGCAGGAAGGTAACGTGTTTACGCTGTTCTGTATGC
ATGAGGCTCTGCATAACCATTACACACAAAAGTCTTTGTGATTGTCTCTCGGATGATGAGAATTCAT
TGATCATAATCAGCCATACCAC

[1193] SEQ ID NO: 432

[1194]

EVQLLESGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIWRNGIVTVYADSVKGR
FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWSAAF DYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTKYTCNV
DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP[CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPE
VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKA
KGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL
YSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG

[1195] SEQ ID NO: 433

- [1196] GAAGTGCAGCTGCTCGAAAGCGGCGGAGGCTTGGTGCAGCCAGGAGGGAGCCTGCGACTGTCTTGCG
CAGCCAGCGGATTCACTTTCTCTTCTATGCCATGAGCTGGGTTCGACAGGCACCCGGCAAAGGTCT
CGAGTGGGTGTCTAGCATCTGGCGAAACGGAATAGTTACAGTGTATGCCGATAGCGTGAAGGGTCGC
TTTACTATTTCACGGGATAATTCTAAGAACACCCCTCTACCTGCAAAATGAATAGCCTTAGGGCAGAAG
ATACCGCCGTGTACTACTGTGCCAAATGGTCCGCAGCCTTTGACTACTGGGGCCAGGGGACACTGGT
GACCGTGTCCCTCTGCATCAACCAAGGGGCCATCAGTGTTCCTCACTCGCCCCATCTTCCAAGAGTACT
TCCGGCGGAACCGCAGCCCTTGGCTGCCTTGTTAAGGACTATTTCCCAGAACCCGTGACCGTAAGTT
GGAACTCTGGCGCCCTTACTTCTGGGGTGCACACCTTCCCAGCAGTGTTCAGTCCAGTGGCCTTTA
CTCTCTGTCTAGTGTAGTACTGTGCCTTCTCTAGTCTCGGTACCCAGACCTATATTTGTAATGTT
AACCATAAGCCCAGCAATACAAAGGTTGATAAGAAAGTGGAACCCAAGAGCTGCGATAAGACACATA
CCTGCCCACCTTGTCCAGCTCCCGAGCTGCTGGGCGGACCCCTCAGTCTTTCTCTTCCCACCTAAACC
CAAGGATACCCCTTATGATCTCCAGGACTCCTGAGGTGACCTGCGTTGTGGTCGACGTGTACATGAG
GACCCCTGAGGTAAAGTTTAACTGGTACGTGGACGGTGTGGAGGTACATAACGCTAAGACTAAGCCAC
GAGAGGAGCAATACGCTTCCACTTACAGGGTGGTCAAGCTCCTGACCGTTCTCCATCAGGACTGGCT
GAACGGGAAGGAATATAAGTGTAAAGTTAGCAACAAAGCTCTCCCTGCACCAATCGAGAAGACAATC
AGCAAGGCAAAAGGGCAGCCTCGGGAACCTCAGGTCTACACCCTCCCTCCTAGCAGGGAAGAGATGA
CAAAGAACCAGGTCTCTCTCACCTGCCTGGTGAAAGGCTTCTATCCATCTGACATTGCTGTGGAGTG
GGAATCCAACGGCCAGCCTGAAAATAATTATAAGACCACACCCCCCGTCCTTGATTCCGATGGATCT
TTCTTCCTGTACAGTAAACTCACCGTCGACAAATCACGGTGGCAGCAAGGTAACGTGTTCAAGTGT
CTGTCTATGCATGAGGCTCTGCATAACCATACACACAAAAGTCTTTGTTCATTGTCTCCAGGATGATG
AGAATTCATTGATCATAATCAGCCATACCAC
- [1197]
- [1198] SEQ ID NO: 434
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIWRNGIVTVYADSVKGR
FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWSAAFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV
NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHE
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY[]STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
- [1199]
- [1200] SEQ ID NO: 1202
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSSIWRNGIVTVYADSVKGR
FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWSAAFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV
NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHE
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY[]STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
- [1201]
- [1202] 重链恒定结构域的其他例子包括、但不限于在以下氨基酸中的一个或多个处具有
突变或缺失的重链恒定区: Ser 228、Leu234、Leu235、Gly236、Gly237、Asp265、Asp270、

Asn297、Lys 320、Lys 322、Glu328、Pro329、Pro331,如在Kabat所述的EU索引中编号,使得Fc结构域对Fc- γ 受体具有更少的亲和力。

[1203] 实施例12. 掩蔽部分的效率的评价

[1204] 该测定测量掩蔽肽的阻断可活化抗体与抗原的结合(相对于未修饰的抗体与抗原的结合)的能力。

[1205] 该测定的一般概要如下:将Nunc、Maxisorp平板用100 μ l/孔的1 μ g/mL的人PDL1 (R & D Systems)在PBS中的溶液(pH 7.4)在4 $^{\circ}$ C包被过夜。将平板用PBST (PBS, pH 7.4, 0.05%吐温-20)洗涤3次,并将孔用200 μ l/孔的10 mg/mL的BSA在PBST中的溶液在室温封闭2小时。将平板用PBST (PBS, pH 7.4, 0.05%吐温-20)洗涤3次。在10 mg/mL的BSA在PBST中的溶液中制备稀释曲线,如下面表10中所示。

[1206] 表10. 关于掩蔽效率测定的板布局,每个时间点一个板。

	[抗体] = nM 第 1-3 列	[可活化抗体 1] = nM 第 4-6 列	[可活化抗体 2] = nM 第 7-9 列	[可活化抗体 3] = nM 第 10-12 列
A	37	1000	1000	1000
B	12.3	333	333	333
C	4.1	111	111	111
D	1.34	37	37	37
E	0.45	12.3	12.3	12.3
F	0.15	4.1	4.1	4.1
G	0.03	1.34	1.34	1.34
H	0.01	0.45	0.45	空白

[1208] 将结合溶液加入平板中,然后将其在室温(RT)温育1小时,然后用PBST (PBS, pH 7.4, 0.05%吐温-20)洗涤3次。加入一百(100) μ l/孔的山羊-抗-人IgG (Fab特异性的, Sigma目录号A0293)在10 mg/mL的BSA在PBST中的溶液中的1:4000稀释液,并将平板在室温温育1小时。将平板用TMB和1N HCl显影。在图15-17中显示了本文描述的包括抗-PDL1抗体C5H9v2的抗-PDL1可活化抗体的结合等温线的图。在Prizm (Sigma Plot)中产生图,且将数据拟合至单个位点饱和模型,并确定Kd。在图17中,PL03+是效应物阳性的可活化抗体,即野生型IgG1。PL03-是效应物阴性的可活化抗体,即突变的IgG1 N297Q。

[1209] 通过将可活化抗体的结合的Kd除以母体抗体的Kd,计算掩蔽效率。掩蔽效率显示在图15-17中。

[1210] 实施例13. 本发明的抗-PDL1可活化抗体延迟NOD小鼠中糖尿病的诱导

[1211] 在该实施例中,针对在NOD小鼠中诱导糖尿病的能力,分析抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2和PL18-0003-C5H9v2。NOD小鼠、次代品系NOD/ShiLtJ在6周时得自Jackson Laboratory,并在场所适应。在9.5周时,在招募之前针对糖尿病检查小鼠,分组,并如表19所示给药。

[1212] 表19. 抗-PDL1可活化抗体用于糖尿病研究的组和剂量

[1213]

组	计数	治疗	剂量 (mg/kg)	剂量体积 (mL/kg)	计划	途径
1	8	mIgG2a (C1.18.4)	3	10	第 0 天	IP
2	8	抗-PDL1(C5H9v2)	1	10	第 0 天	IP
3	8	抗-PDL1(C5H9v2)	0.3	10	第 0 天	IP
4	8	可活化抗体 PL15-0003-C5H9v2	1	10	第 0 天	IP
5	8	可活化抗体 PL18-0003-C5H9v2	1	10	第 0 天	IP

[1214] 图18A(其绘制了%非糖尿病相对于初始剂量后的天数)表明,抗-PDL1抗体C5H9v2在1 mg/kg在NOD小鼠中诱导糖尿病,而抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2(在本文中标记为Gr4 - PF15)没有诱导糖尿病,抗-PDL1可活化抗体PL18-0003-C5H9v2(在图18中标记为Gr 5 - PL18)在1 mg/kg表现出延迟的糖尿病。对照mIgG2a和抗-PDL1抗体C5H9v2在0.3 mg/kg没有在NOD小鼠中诱导糖尿病。在另一组中,以10 mL/kg的剂量体积在腹膜内施用的单次3 mg/kg剂量的抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2在8只小鼠中的2只(75%非糖尿病的)中诱导糖尿病,从而提供相对于抗-PDL1抗体C5H9v2(集合2)的大于3倍的安全裕度。结果显示在图18B中。

[1215] 实施例14. 本发明的抗-PDL1可活化抗体减少小鼠中的MC38肿瘤

[1216] 在该实施例中,针对减少MC38同基因肿瘤的生长的能力,分析了抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2和PL18-0003-C5H9v2。

[1217] 小鼠结肠癌细胞系MC38得自ATCC。在空气中在5%CO₂的气氛中在37℃在补充了10%胎牛血清的RPMI-1640中培养MC38。将细胞在对数生长期中收获,以适当细胞浓度再悬浮于PBS中,并保持在冰上进行肿瘤诱导。

[1218] 在右胁腹给每只小鼠皮下地接种0.5X10⁶个在PBS中的MC38细胞用于肿瘤发生。当平均肿瘤大小达到大约100-200 mm³(不超过200 mm³)时,开始治疗。每周在两个维度使用测径器测量肿瘤大小2次,并使用下式表达体积(mm³): $V = 0.5 a \times b^2$,其中a和b分别是肿瘤的长和短直径。

[1219] 将小鼠分组并如表20所示给药。

[1220] 表20. 使用抗-PDL1可活化抗体的MC38同基因研究的组和剂量

[1221]

组	计数	治疗	剂量 (mg/kg)	剂量体积 (mL/kg)	计划	途径
1	9	mIgG2a (C1.18.4)	10	10	每周 2 次持续 2 周	IP
2	9	抗-PDL1(C5H9v2)	10	10	每周 2 次持续 2 周	IP
4	9	PL18-0003- C5H9v2	10	10	每周 2 次持续 2 周	IP
6	9	PL15-0003- C5H9v2	10	10	每周 2 次持续 2 周	IP

[1222] 图19(其描绘了肿瘤体积相对于初始剂量后的天数)证实,抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2和PL18-0003-C5H9v2与阳性对照抗-PDL1抗体C5H9v2类似地抑制MC38同基因肿瘤的生长。

[1223] 实施例15. 本发明的抗-PDL1可活化抗体表现出在来自C57B1/6小鼠的血液和脾中减少的PDL1占据

[1224] 不同于无差别地结合靶抗原的抗体,可活化抗体可以是在肿瘤微环境中活化之前为惰性的分子。一旦被活化,被切割的可活化抗体仅可以结合肿瘤内的靶向的抗原,从而赦免周围区域中的抗原。PDL1在肿瘤细胞以及循环和脾内的T细胞(CD4⁺和CD8⁺)中表达。本实施例证实,用抗-PDL1可活化抗体治疗的动物在周围的T细胞上不具有可检测的可活化抗体,而用抗-PDL1抗体治疗的动物表现出抗体在周围的T细胞上的可检测的剂量依赖性的存在。

[1225] 为了测量抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2与抗-PDL1抗体C5H9v2相比是否被保护免于结合循环和脾中的T细胞,给14-周龄C57B1/6小鼠(具有38-671mm³范围内的肿瘤)如在表21中所示给药。使用测径器在两个纬度测量肿瘤大小,并使用下式表达体积(mm³): $V = 0.5 a \times b^2$,其中a和b分别是肿瘤的长和短直径。约20小时以后,将动物安乐死;并从每只动物收获血液、脾和血浆。

[1226] 表21. PDL1占据研究的组和剂量

组	计数	治疗	剂量 (mg/kg)	剂量体积 (mL/kg)	计划	途径
1	2	mIgG2a (C1.18.4)	1	10	第0天	IP
2	2	抗-PDL1(C5H9v2)	1	10	第0天	IP
3	2	抗-PDL1(C5H9v2)	0.3	10	第0天	IP
4	2	抗-PDL1(C5H9v2)	0.1	10	第0天	IP
5	2	PL15-0003--C5H9v2	1	10	第0天	IP
6	2	PL15-0003-C5H9v2	0.3	10	第0天	IP

[1228] 如下处理全血:将1体积的血液加入10体积的RBC裂解溶液(130-094-183 Miltenyi Biotec)中,并使用生产商的方案进行处理。将淋巴细胞再悬浮于染色缓冲液(HBSS 2%FBS)中。如下处理脾:将脾与1 mL无血清RPMI-1640一起放在70uM细胞粗滤器(352350Corning/BD Falcon)中。使用3-mL注射器的背部以圆周运动捣碎脾。用培养基洗涤粗滤器。将脾细胞使用离心进行沉淀,并将血液使用10体积的RBC裂解溶液(130-094-183 Miltenyi Biotec)根据生产商的方案进行裂解。将脾细胞再悬浮于染色缓冲液(HBSS 2%FBS)中以后重新过滤。将来自全血的淋巴细胞和来自脾的淋巴细胞计数,并等分至96-孔圆底平板的孔(5e5个细胞/孔)。将细胞沉淀,并根据生产商的方案(130-092-575 Miltenyi Biotec)加入1:10稀释的小鼠FcR试剂。将一组细胞用饱和量(100nM)的抗-PDL1抗体C5H9v2染色60分钟以得到最大饱和值。将细胞洗涤3次,并用生物素化的'a'同种异型抗体抗-mIgG2a(a)克隆8.3(553502 BD Biosciences)在300ng/mL染色60分钟。将细胞洗涤3次,并然后用1 ug/mL(在本文中也称作“ug/mL”)的抗-CD4-Pacific Blue(558107 BD Bioscience)、1ug/mL抗-CD8-APC(553035 BD Bioscience)和SAPE(S-866 Life

Technologies)的1:500稀释液染色30分钟。将细胞洗涤2次,并根据生产商的方案(559925 BD Bioscience)用7-AAD染色。使用MACSQuant流式细胞计测量与来自全血和脾的T细胞结合的抗-PDL1抗体C5H9v2和抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2的量。简而言之,在淋巴细胞闸门中收集最多30,000个事件。从7AAD阴性闸门门控活细胞。分别门控CD4⁺和CD8⁺细胞,并针对CD4和CD8记录抗-PDL1 mAb和抗-PDL1可活化抗体MFI。针对最大结合MFI,通过取样品的MFI相对于MFI的平均值确定占据百分比。图20A-20D证实了与来自外周血(图20A, 20B)或脾(图20C, 20D)的CD4⁺和CD8⁺ T细胞结合的抗-PDL1抗体C5H9v2和抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2的百分比。在所有图中,圆圈代表同种型,正方形代表抗-PDL1抗体C5H9v2,且三角形代表抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2。抗-PDL1抗体C5H9v2的占据百分比是剂量滴定的反映。1 mg/kg的抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2的占据百分比类似于1 mg/kg的同种型对照mIgG2a。

[1229] 实施例16. 本发明的抗-PDL1可活化抗体表现出在来自C57B1/6小鼠的血液和脾中减少的PDL1占据

[1230] 本实施例证实,在多种剂量,与本发明的抗-PDL1抗体表现出的结合相比,用本发明的抗-PDL1可活化抗体治疗的动物表现出减少的与来自荷瘤小鼠的血液T细胞的结合。

[1231] 以与在实施例15中描述的方式类似的方式进行研究。简而言之,如在图21A和21B中所示,将带有100-200 mm³的MC38肿瘤的小鼠用单剂量的抗-PDL1抗体C5H9v2或抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2治疗,并在给药后4天通过流式细胞计量术针对表面结合的抗体分析血液。通过ELISA确定抗体和可活化抗体的血浆浓度。图21A和21 B证实,能够切割可活化抗体的肿瘤衍生的蛋白酶的存在没有导致血液中高水平的经活化的可活化抗体(图21A);即,可活化抗体(由正方形表示)在荷瘤小鼠中表现出与所述抗体(由圆圈表示)或同种型抗体(由三角形表示)相比减少的周围PDL1结合,尽管可活化抗体的血浆浓度高于所述抗体的血浆浓度(图21B)。

[1232] 实施例17. 实施方案的抗-PDL1抗体和抗-PDL1可活化抗体在人T-细胞重新刺激测定中的活性

[1233] 在该实施例中,在有CMV病毒裂解物和本发明的抗-PDL1抗体或抗-PDL1可活化抗体存在下将来自CMV-阳性供体的外周血单核细胞温育以评估这样的抗-PDL1抗体或抗-PDL1可活化抗体对于干扰素 γ (IFN- γ)细胞因子分泌的影响。

[1234] 在有4 μ g/mL CMV病毒裂解物(Astarte)和抗-PDL1抗体C5H9v2、抗-PDL1可活化抗体PL07-2001-C5H9v2或hIgG4同种型对照抗体存在下,将来自CMV-阳性供体(Hemacare Donor C)的PBMC以 3.5×10^5 个细胞/孔铺板。4天以后,从每个孔取出上清液,并使用IFN- γ ELISA试剂盒(Life Technologies, Carlsbad, CA)测定IFN- γ 水平。图22证实,抗-PDL1可活化抗体PL07-2001-C5H9v2表现出与对照hIgG4相比增加的CMV-刺激的IFN- γ 分泌,但是与抗-PDL1母体抗体C5H9v2相比降低的效能(由于所述可活化抗体被掩蔽)。

[1235] 实施例18. 本发明的抗-PDL1可活化抗体的原位成像

[1236] 本实施例使用原位成像方法证实了抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2被活化和结合冷冻的MC38小鼠癌组织的能力。

[1237] 在有或没有PCT国际公开号W0 2014/107599(2014年7月10日公开)所描述的广谱抑制剂混合液存在下,在蛋白酶相容的缓冲液中将荧光地标记的抗-PDL1可活化抗体PL15-

0003-C5H9v2或抗-PDL1抗体C5H9v2在冷冻的PDL1+ MC38肿瘤切片上温育1小时。

[1238] 结果显示在图23中。图23A中的组织图像证实了抗-PDL1抗体C5H9v2与肿瘤切片的结合,从而指示PDL1抗原在肿瘤切片中的存在。图23B中的组织图像证实,抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2通过抗-PDL1可活化抗体的肿瘤衍生的蛋白水解性裂解而活化,以产生与肿瘤切片中的PDL1靶标结合的抗-PDL1抗体。图23D中的组织图像证实,图23B中所示的荧光信号通过广谱抑制剂混合液集合III的1:100稀释液和50 mM EDTA对肿瘤切片的预处理而得到抑制,而在抗-PDL1抗体C5H9v2与肿瘤切片的结合方面没有检测到广谱蛋白酶抑制剂的的作用,如在图23C中的组织图像所证实的。这些结果证实,所述肿瘤切片包含足够的蛋白酶活性以活化本发明的可活化抗体。

[1239] 实施例19. 本发明的可活化抗体在体外表现出蛋白酶依赖性结合和阻断活性的能力

[1240] 本实施例证实了抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2在体外表现出蛋白酶依赖性结合和阻断活性的能力。

[1241] 除了用0.5 $\mu\text{g/mL}$ PDL1包被平板以外,以与实施例别处描述的那些类似的方式,对抗-PDL1抗体C5H9v2和抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2进行结合和阻断研究。

[1242] 图24描绘了抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2与抗-PDL1抗体相比表现出就PDL1结合和PD1阻断而言更高的 EC_{50} ,如通过ELISA测得的。该图进一步证实,matriptase对抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2的活化将PDL1结合和PD1阻断活性完全恢复至与抗-PDL1抗体C5H9v2相当的水平。

[1243] 实施例20. 本发明的抗-PDL1可活化抗体在体外减少与PDL1的结合和表现出蛋白酶依赖性的阻断活性的能力

[1244] 本实施例测量了与母体抗体在体外结合PDL1的能力相比,掩蔽肽减少本发明的抗-PDL1可活化抗体与PDL1的结合的能力。本实施例也证实了本发明的抗-PDL1可活化抗体在体外表现出蛋白酶依赖性的阻断活性的能力。

[1245] 以与实施例别处描述的技术类似的方式,测试了抗-PDL1可活化抗体PL07-2001-C5H9v2和PF07-3001-C5H9v2和抗-PDL1抗体C5H9v2的结合人或鼠PDL1的能力。结果显示在图25中。

[1246] 以与实施例别处描述的技术类似的方式,测试了抗-PDL1可活化抗体PL07-2001-C5H9v2、uPA-活化的抗-PDL1可活化抗体PL07-2001-C5H9v2、MMP14-活化的抗-PDL1可活化抗体PL07-2001-C5H9v2和抗-PDL1抗体C5H9v2的阻断PD1 (PD-1) 或B7-1与PDL1的结合的能力。

[1247] 简而言之,对于PD1阻断测定,将人、食蟹猴或大鼠PDL1吸附至ELISA板的孔。在没有或有递增浓度的抗-PDL1可活化抗体PL07-2001-C5H9v2、uPA-活化的抗-PDL1可活化抗体PL07-2001-C5H9v2、MMP14-活化的抗-PDL1可活化抗体PL07-2001-C5H9v2或抗-PDL1抗体C5H9v2存在下,将生物素化的人、食蟹猴或大鼠PD1应用于孔。图26中所示的结果指示,可活化抗体PF07-2001-C5H9v2与抗-PDL1抗体相比表现出就PD1阻断而言更高的 EC_{50} ,如通过ELISA测得的。但是,uPA或MMP14对可活化抗体的活化将PD1阻断活性恢复至与抗-PDL1抗体C5H9v2相当的水平。

[1248] 简而言之,对于B7-1阻断测定,将人或食蟹猴PDL1吸附至ELISA板的孔。在没有或

有递增浓度的抗-PDL1可活化抗体PL07-2001-C5H9v2、uPA-活化的抗-PDL1可活化抗体PL07-2001-C5H9v2、MMP14-活化的抗-PDL1可活化抗体PL07-2001-C5H9v2或抗-PDL1抗体C5H9v2存在下将生物素化的人或食蟹猴B7-1应用于孔。图27中所示的结果指示,可活化抗体PF07-2001-C5H9v2与抗-PDL1抗体相比表现出就B7-1阻断而言更高的 EC_{50} ,如通过ELISA测得的。但是,uPA或MMP14对可活化抗体的活化将B7-1阻断活性恢复至与抗-PDL1抗体C5H9v2相当的水平。

[1249] 实施例21. 本发明的抗-PDL1可活化抗体减少小鼠中的MC38肿瘤

[1250] 在该实施例中,针对减少MC38同基因肿瘤的生长的能力分析了抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2、PL15-2001-C5H9v2和PL15-3001-C5H9v2。

[1251] 小鼠结肠癌细胞系MC38得自ATCC。在空气中在5%CO₂的气氛中在37℃在补充了10%胎牛血清的RPMI-1640中培养MC38。将细胞在对数生长期中收获,以适当细胞浓度再悬浮于PBS中,并保持在冰上进行肿瘤诱导。

[1252] 在右肋腹给每只小鼠皮下地接种 0.5×10^6 个在PBS中的MC38细胞用于肿瘤发生。当平均肿瘤大小达到大约100-200 mm³ (不超过200 mm³)时,开始治疗。每周在两个维度使用测径器测量肿瘤大小2次,并使用下式表达体积(mm³): $V = 0.5 a \times b^2$,其中a和b分别是肿瘤的长和短直径。

[1253] 将小鼠分组并如表24所示给药。

[1254] 表24. 使用抗-PDL1可活化抗体的MC38同基因研究的组和剂量

[1255]

组	计数	治疗	剂量 (mg/kg)	剂量体积 (mL/kg)	计划	途径
1	9	mIgG2a (C1.18.4)	5	10	每周 2 次; 4 剂	IP
2	9	抗-PDL1 (C5H9v2)	5	10	每周 2 次; 4 剂	IP
3	9	PL15-0003- C5H9v2	5	10	每周 2 次; 4 剂	IP
4	9	PL15-2001- C5H9v2	5	10	每周 2 次; 4 剂	IP
5	9	PL15-3001- C5H9v2	5	10	每周 2 次; 4 剂	IP

[1256] 图28(其描绘了肿瘤体积相对于初始剂量后的天数)证实,抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2、PL15-2001-C5H9v2和PL15-3001-C5H9v2与阳性对照抗-PDL1抗体C5H9v2类似地抑制MC38同基因肿瘤的生长。

[1257] 实施例22. 本发明的抗-PDL1可活化抗体在来自C57B1/6小鼠的血液中表现出减少的PDL1占据

[1258] 本实施例证实,与本发明的抗-PDL1抗体表现出的结合相比,用本发明的抗-PDL1可活化抗体治疗的动物表现出减少的与来自荷瘤小鼠的血液T细胞的结合。

[1259] 以与实施例15中描述的方式类似的方式进行研究。简而言之,如在表25中所示,将携带100-200 mm³之间的MC38肿瘤的小鼠用单剂量的抗-PDL1抗体C5H9v2或抗-PDL1可活化抗体PL15-0003-C5H9v2、PL15-2001-C5H9v2或PL15-3001-C5H9v2治疗,并在给药后4和8天通过流式细胞计量术针对表面结合的抗体分析血液。如在实施例15中所述计算占据百分

比。

[1260] 表25. PDL1占据研究的组和剂量

组	计数	治疗	剂量 (mg/kg)	剂量体积 (mL/kg)	计划	途径
1	9	mIgG2a (C1.18.4)	5	10	每周 2 次; 4 剂	IP
2	9	抗-PD-L1(C5H9v2)	5	10	每周 2 次; 4 剂	IP
3	9	抗-PD-L1(C5H9v2)	3	10	每周 2 次; 4 剂	IP
4	9	PL15-0003-C5H9v2	5	10	每周 2 次; 4 剂	IP
5	9	PL15-0003-C5H9v2	3	10	每周 2 次; 4 剂	IP
6	9	PL15-2001-C5H9v2	5	10	每周 2 次; 4 剂	IP
7	9	PL15-2001-C5H9v2	3	10	每周 2 次; 4 剂	IP
8	9	PL15-3001-C5H9v2	5	10	每周 2 次; 4 剂	IP
9	9	PL15-3001-C5H9v2	3	10	每周 2 次; 4 剂	IP

[1262] 通过ELISA确定所述抗体和可活化抗体的血浆浓度。图29证实,能够切割可活化抗体的肿瘤衍生的蛋白酶的存在没有导致血液中高水平的经活化的可活化抗体。

[1263] 实施例23. 本发明的抗-PDL1可活化抗体的体内成像

[1264] 本实施例证实了移植进小鼠中的肿瘤内的蛋白酶活化本发明的抗-PDL1可活化抗体的能力。

[1265] 将MDA-MB-231-luc2常位异种移植物乳腺癌模型用于这些研究。雌性nu/nu小鼠购自Charles River Laboratories,在7周龄到达。顺应1周以后,将在30微升 (ul,在本文中也称作为“μl”) 无血清RPMI (1:1基质胶) 中的300万MDA-MD-231-luc2-4D3LN细胞 (Perkin Elmer) 注射进左侧第四个腹部乳房脂肪垫中。使肿瘤生长至110-159 mm³。给每组3只小鼠静脉内地施用5 mg/kg Alexa750-缀合的抗-PDL1抗体C5H9v2或抗-PDL1可活化抗体PL07-2001-C5H9v2。给4只小鼠静脉内地施用5 mg/kg Alexa750-缀合的抗-RSV抗体对照帕利珠单抗 (Synagis)。施用以后96小时,从每只小鼠收集光学图像。结果显示在图30中。仅在施用抗-PDL1抗体或抗-PDL1可活化抗体PL07-2001-C5H9v2的小鼠的肿瘤中检测到高强度荧光信号,从而提示,抗-PDL1可活化抗体通过PDL1结合而被活化且在肿瘤中积累。

[1266] 实施例24. 本发明的可活化抗体在人血浆样品中的活化

[1267] 本实施例确定本发明的可活化抗体是否在人血浆样品中被活化。

[1268] 给抗-PDL1可活化抗体PL07-2001-C5H9v2缀合Oregon Green染料 (ThermoFisher 目录号06149)。用分光光度计确定浓度和标记程度。以30:70的最终可活化抗体:血浆比率将3 uM (在本文中也称作为“μM”) 的经标记的抗-PDL1可活化抗体PL07-2001-C5H9v2加入得自健康供体、黑素瘤患者或肺癌患者的血浆样品中。将样品在恒湿室中在37℃温育48小时。在0或48小时,通过将样品在-80℃冷冻或在Wes运行缓冲液 (ProteinSimple 目录号PS-MK14) 中变性,停止经标记的抗-PDL1可活化抗体PL07-2001-C5H9v2在血浆中的反应。使用针对Oregon Green染料的抗体 (ThermoFisher 目录号A-11095,在100μg/ml),继之以HRP缀合的第二抗体 (Jackson ImmunoResearch 目录号705-035-147,在1/40稀释度),通过Wes毛

细管蛋白质印迹系统 (ProteinSimple) 分析样品。使用 Compass (ProteinSimple) 软件确定经标记的抗-PDL1可活化抗体 PL07-2001-C5H9v2 的活化百分比的分析。

[1269] 在5个正常患者样品中,在5个黑素瘤患者样品中(3个在淋巴结中的转移灶,2个在脑中,和1个在背部的皮肤上),在5个肺癌患者样品中(1个在左肺下叶中的转移灶(IV期),1个在右肺下叶中(IV期),1个在左肺上叶中(IA期),和2个在右肺上叶中(IIIA和IB期)),都不存在可检测的可活化抗体活化。

[1270] 其它实施方案

[1271] 尽管已经结合其详细说明描述了本发明,但是前述说明书意在只是说明性的,并且不限制本发明的范围,本发明的范围由随后的权利要求的范围限定。其它方面、优点和修改是在下述权利要求书的范围内。

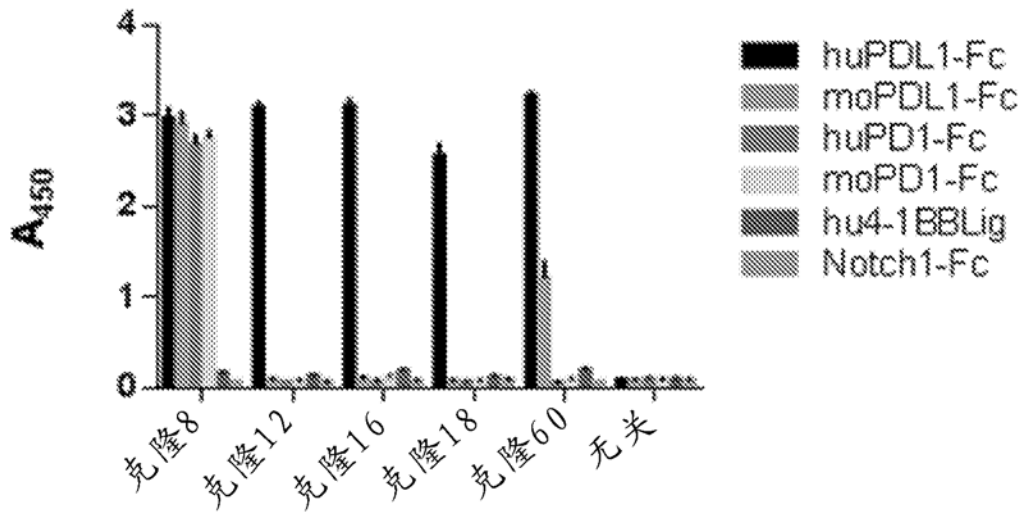


图 1

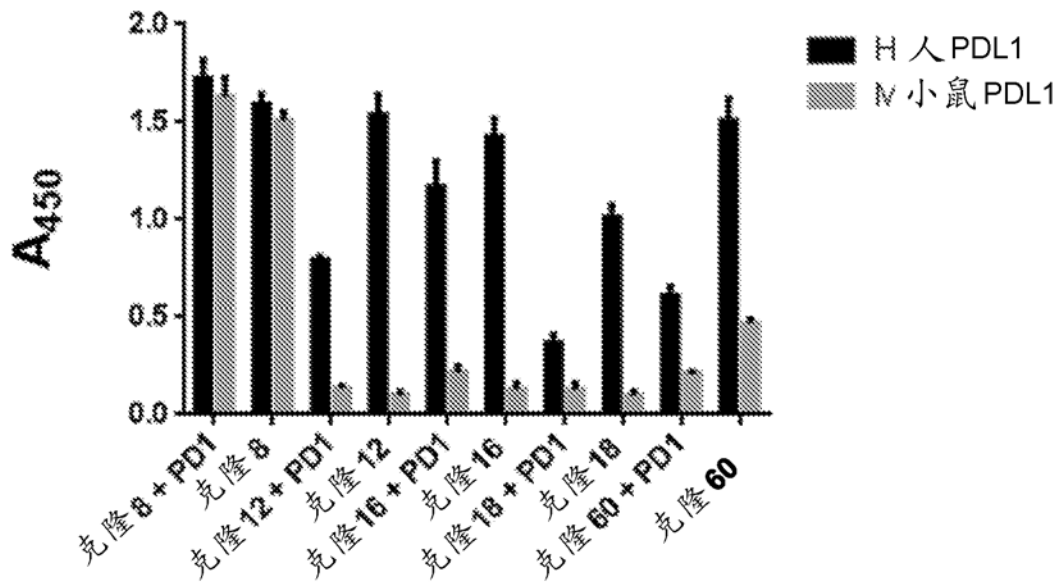


图 2

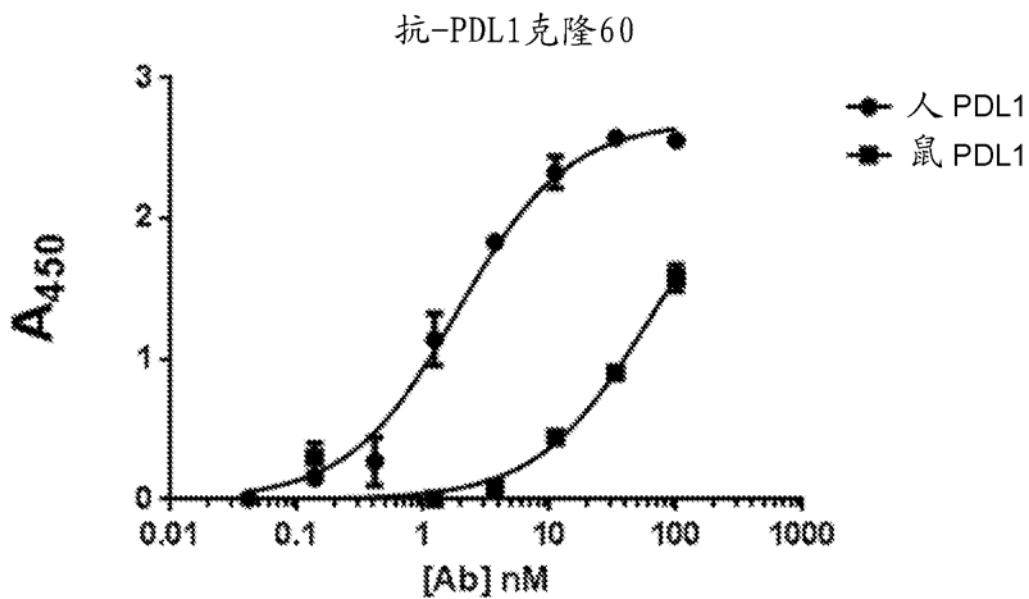


图 3

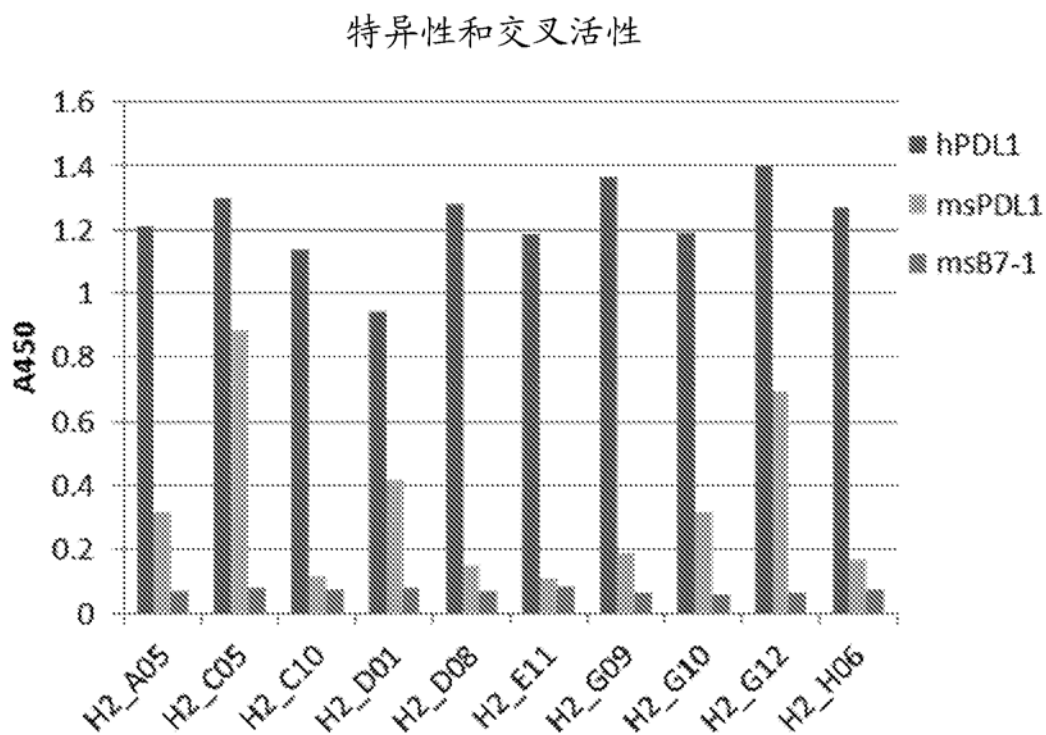


图 4A

H3W特异性和交叉活性

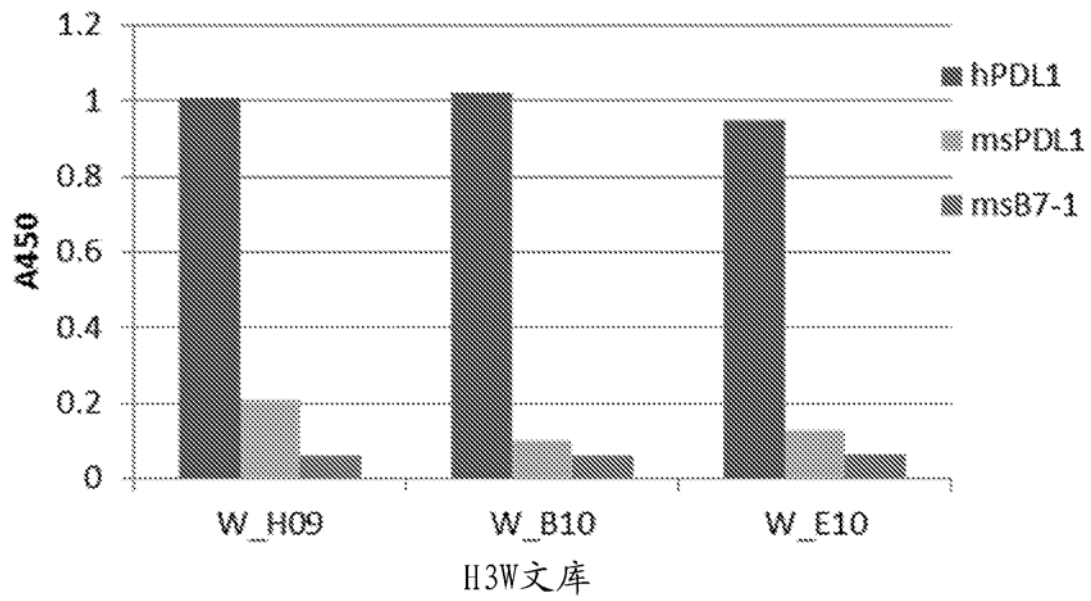


图 4B

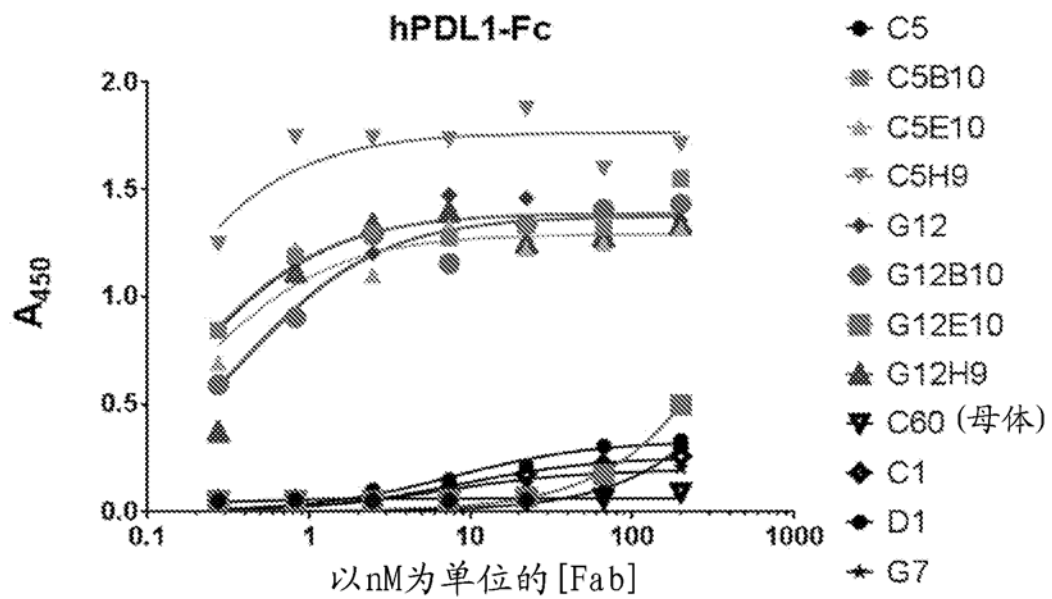


图 5A

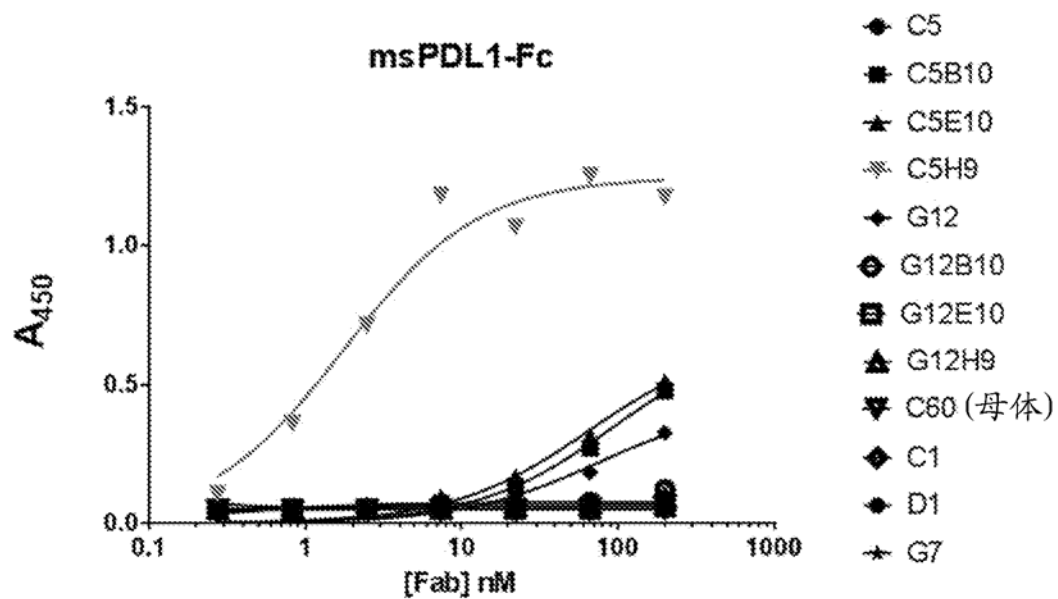


图 5B

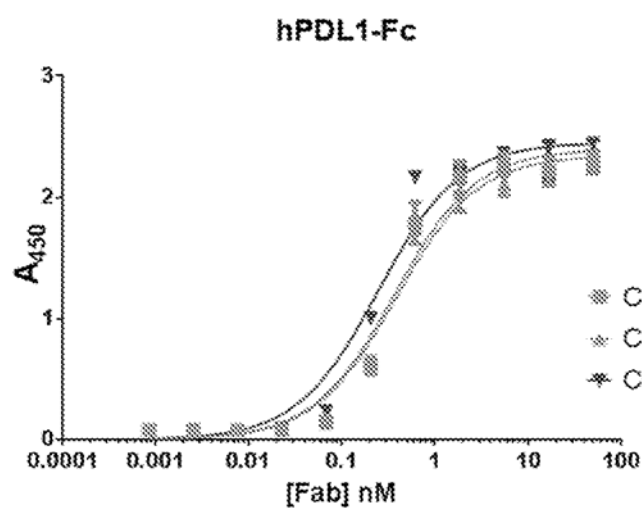


图 6A

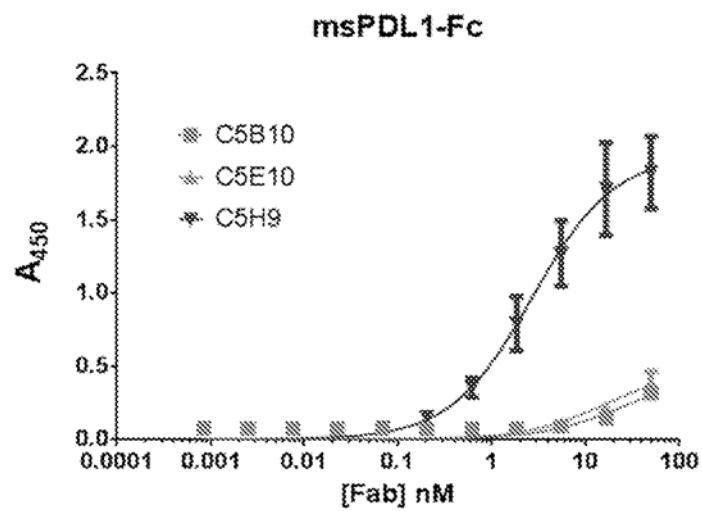


图 6B

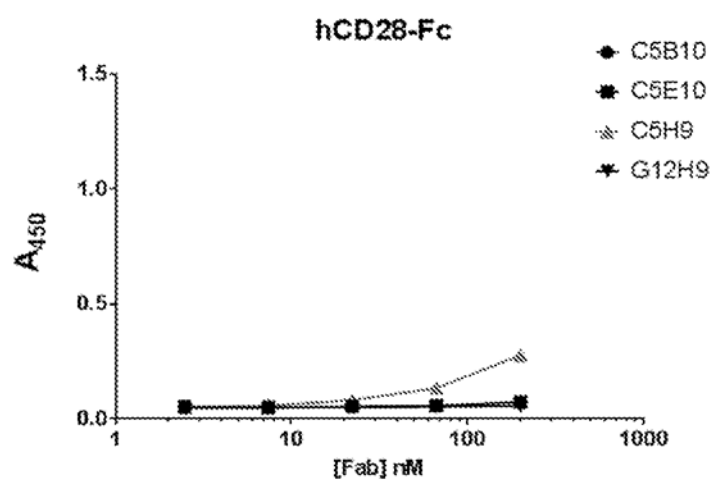


图 6C

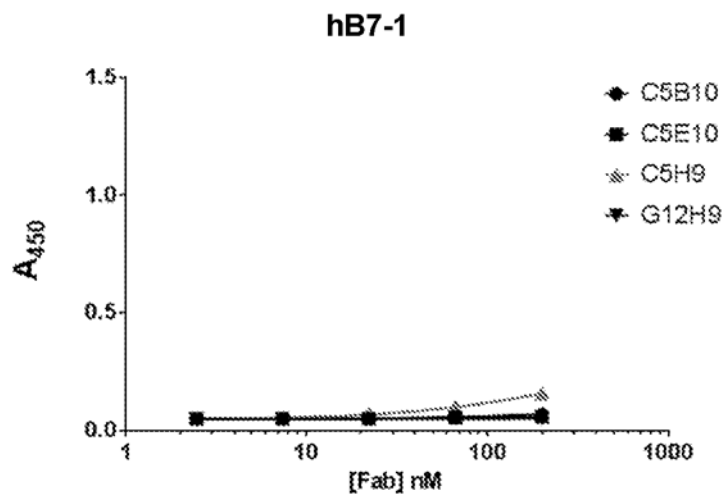
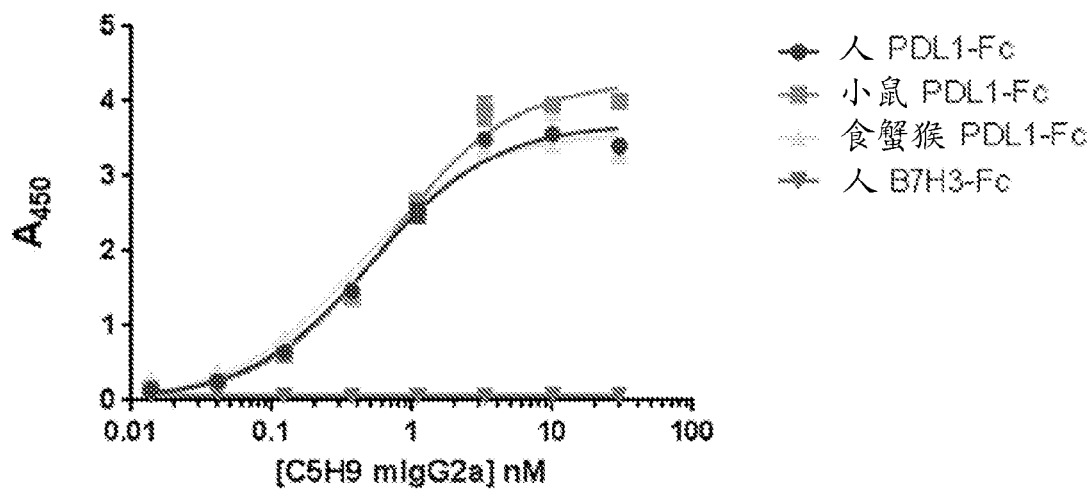


图 6D



	人	小鼠	食蟹猴
K_d nM	0.5150	0.6657	0.3994

图 7

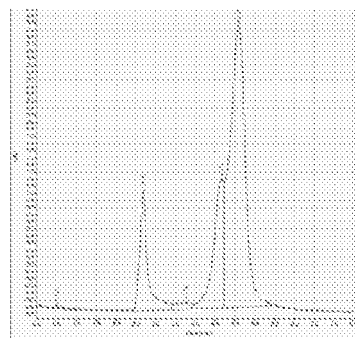
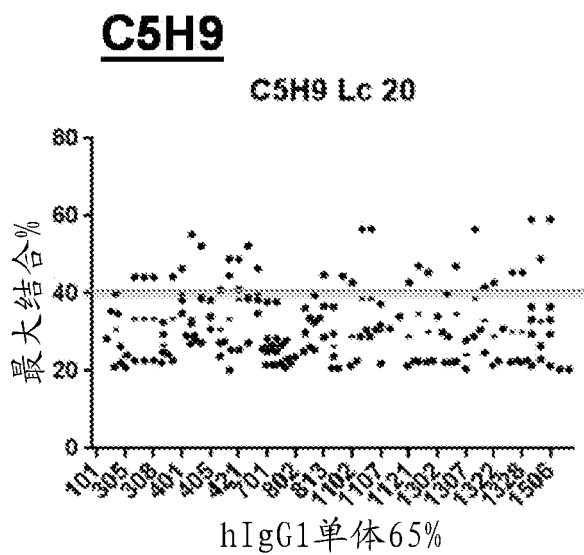


图 8A

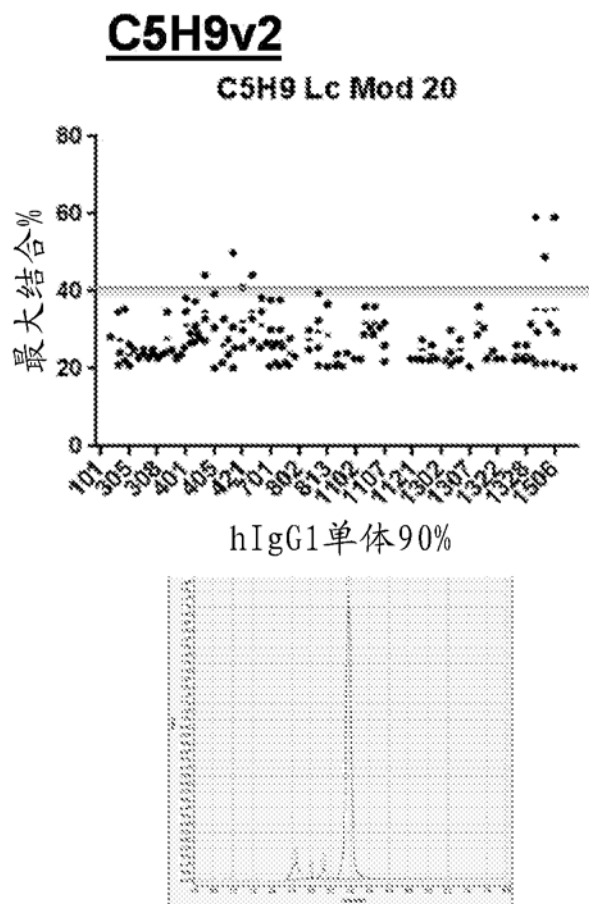


图 8B

小鼠

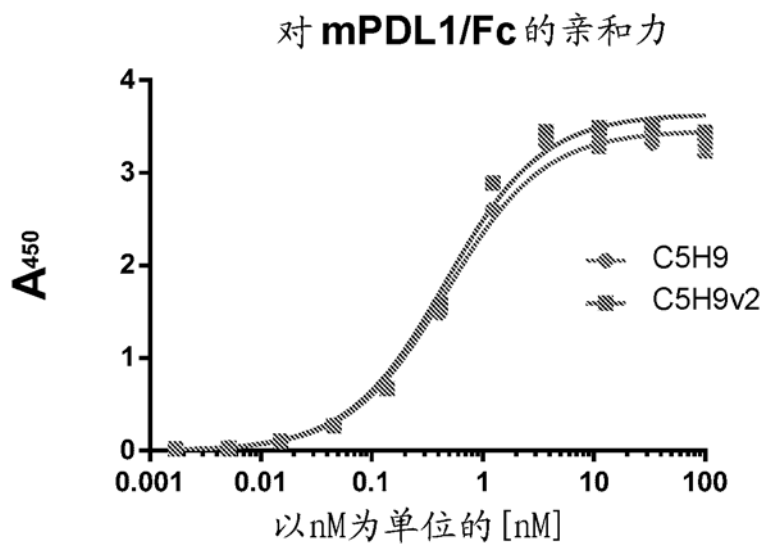


图 9A

食蟹猴

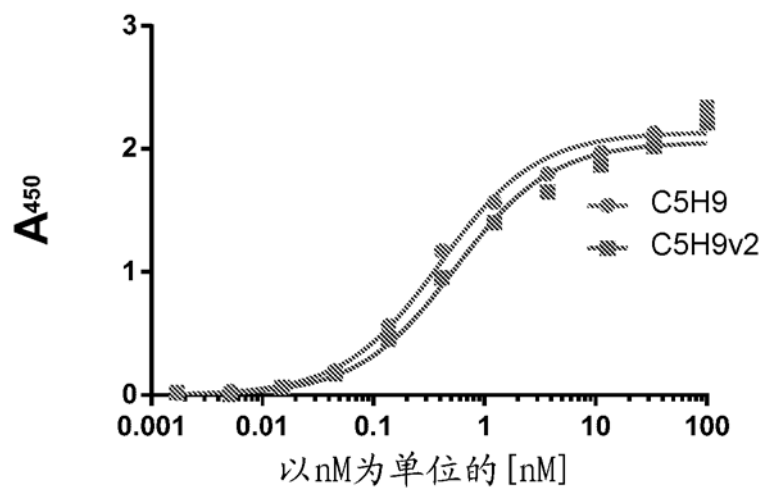
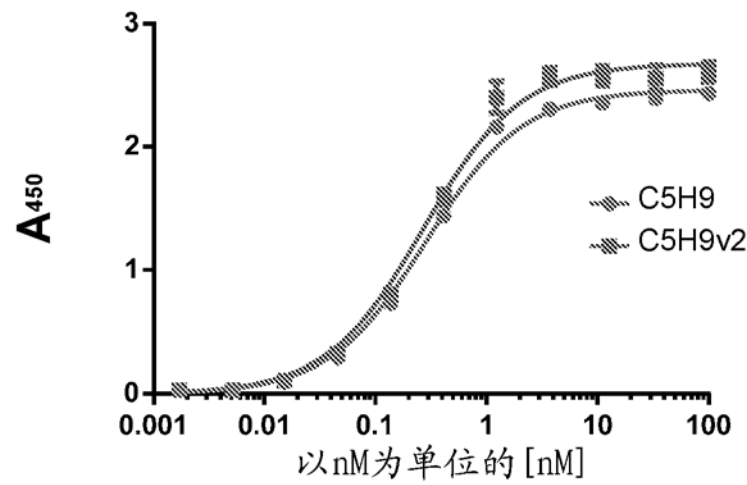
对食蟹猴 **PDL1/Fc** 的亲和力

图 9B

人

对 hPDL1/Fc 的亲合力



	Kd (nM)	
	C5H9	C5H9v2
小鼠	0.4754	0.4637
食蟹猴	0.3981	0.5439
人	0.2865	0.2716

图 9C

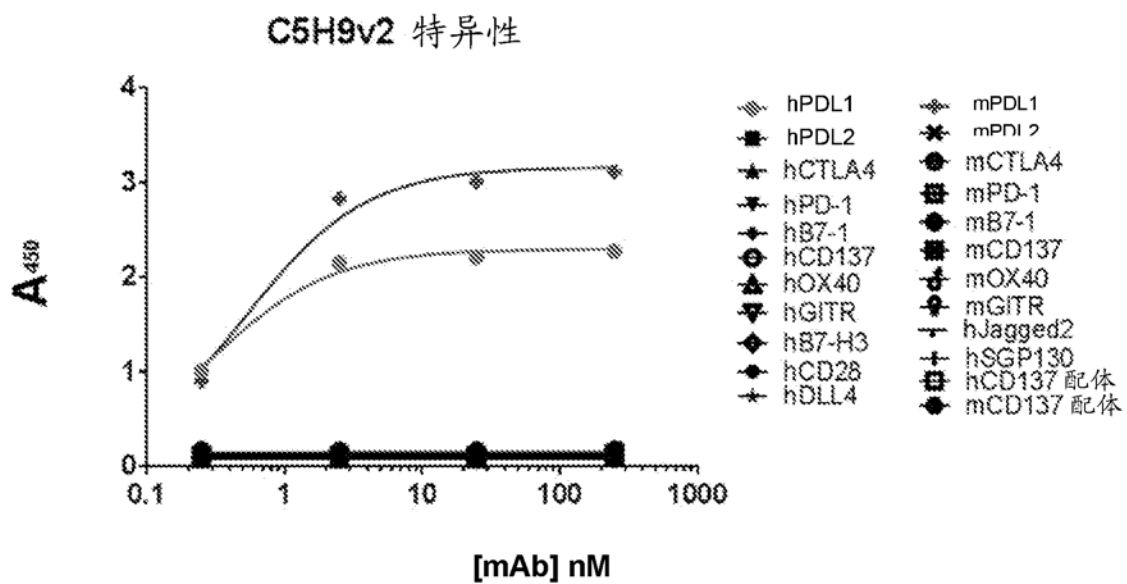


图 10

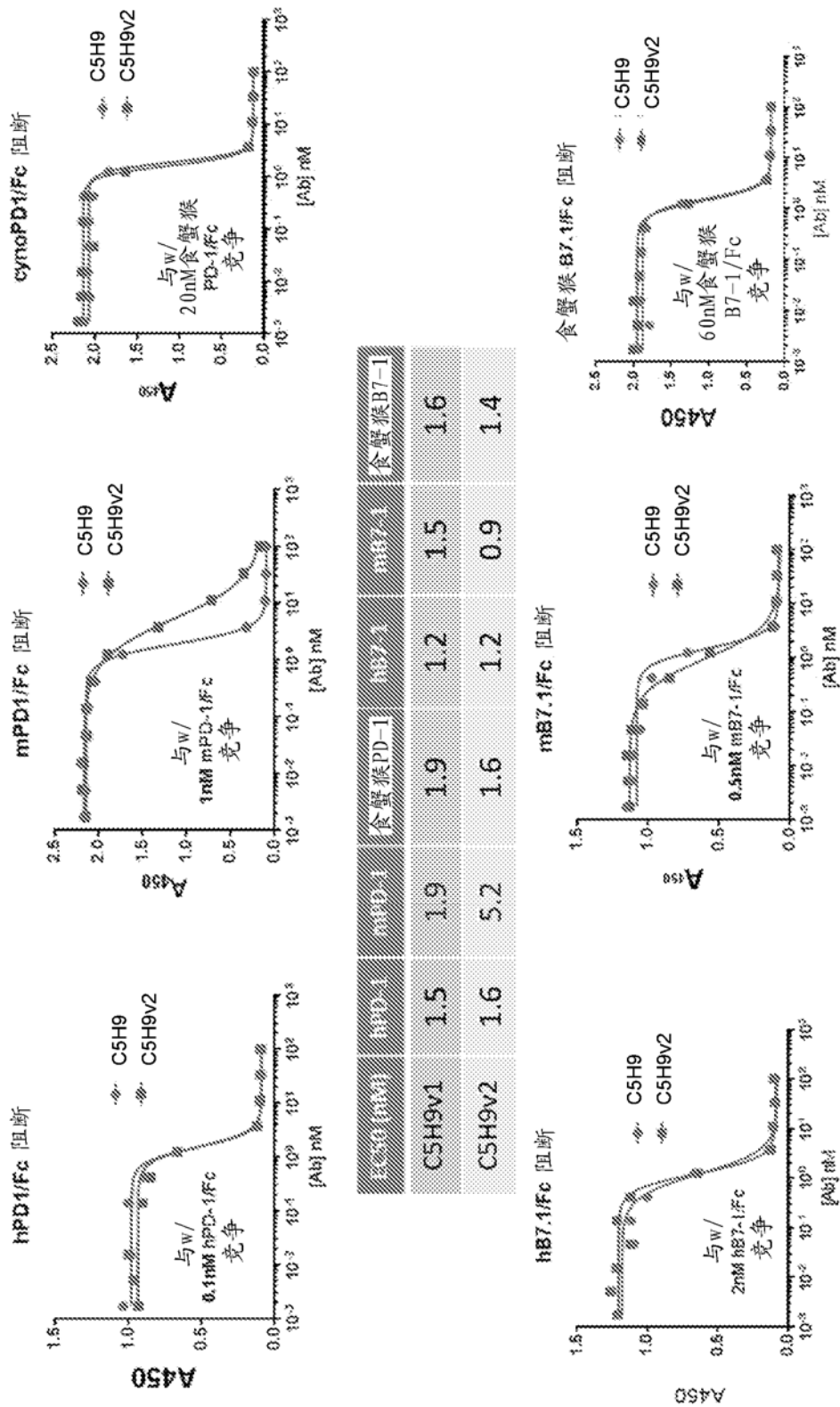


图 11

C5H9相对于10F9G2(多剂量)

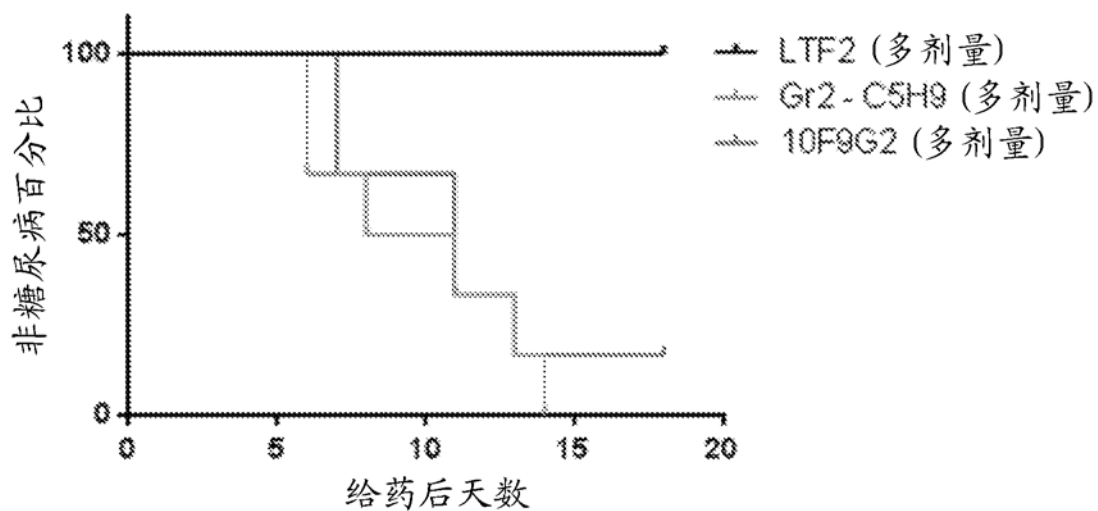


图 12

在9周龄雌性NOD小鼠中
的抗-PDL1
C14-055 - C5H9v2 剂量滴定

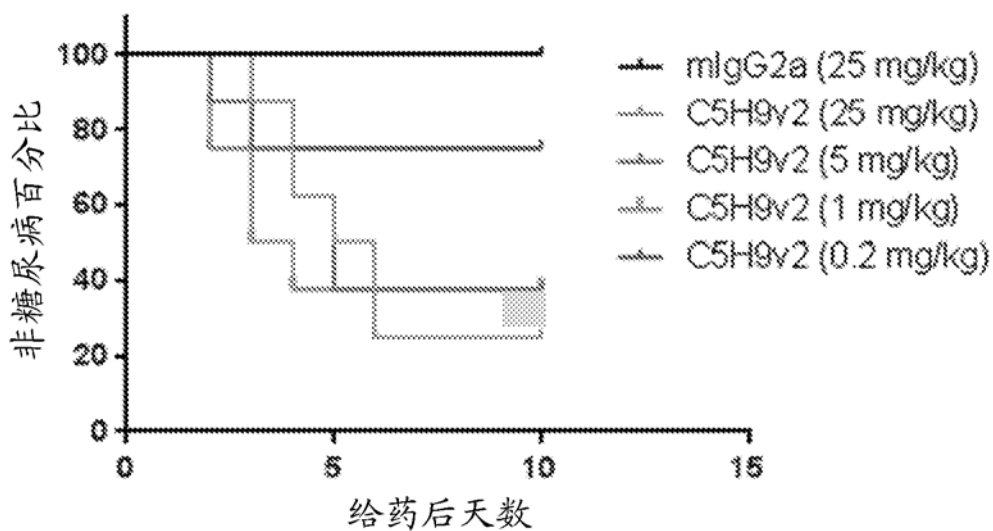


图 13

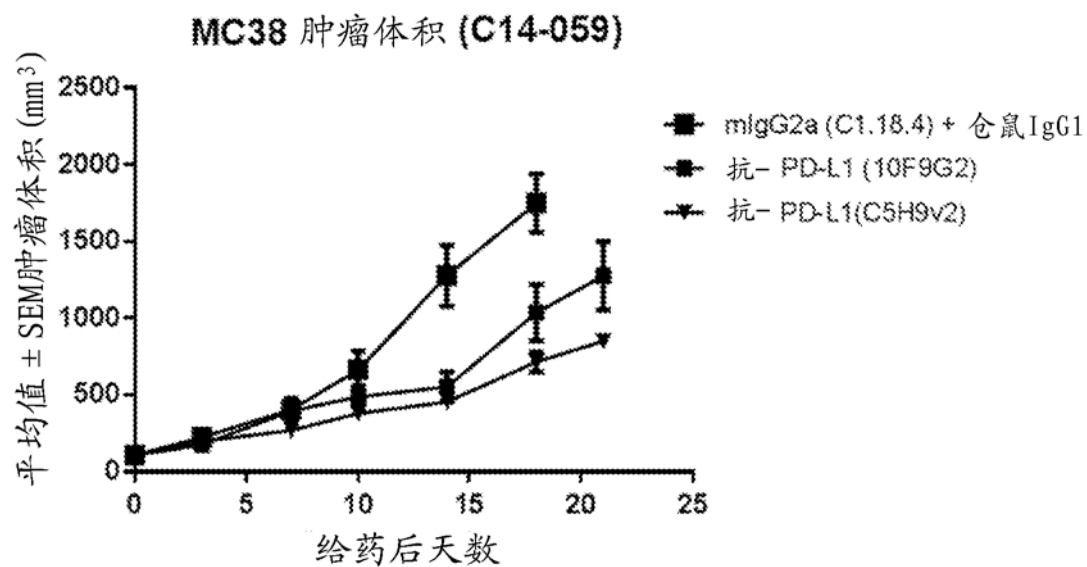


图 14

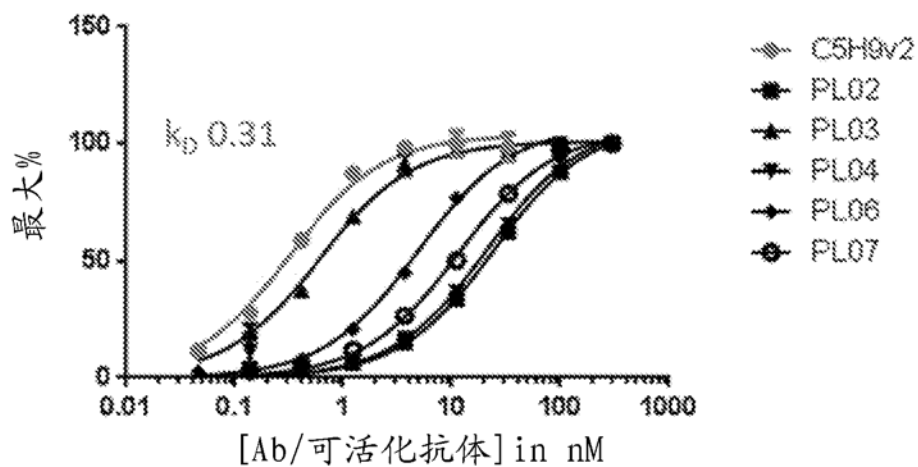
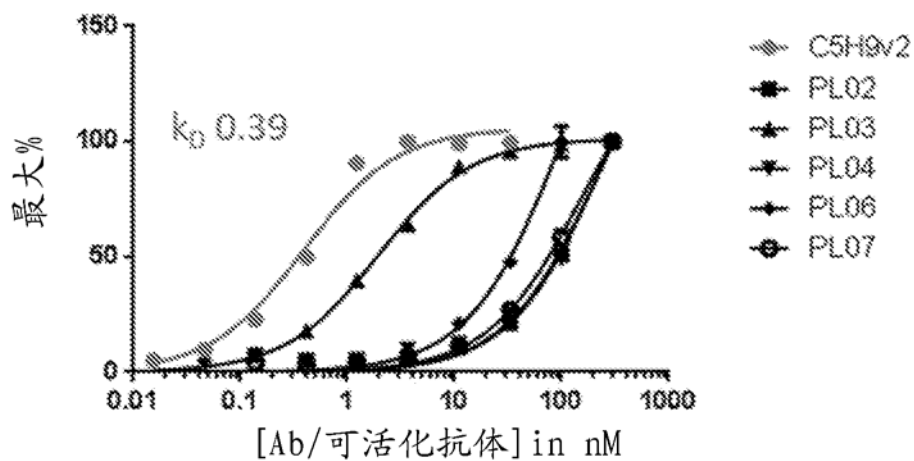
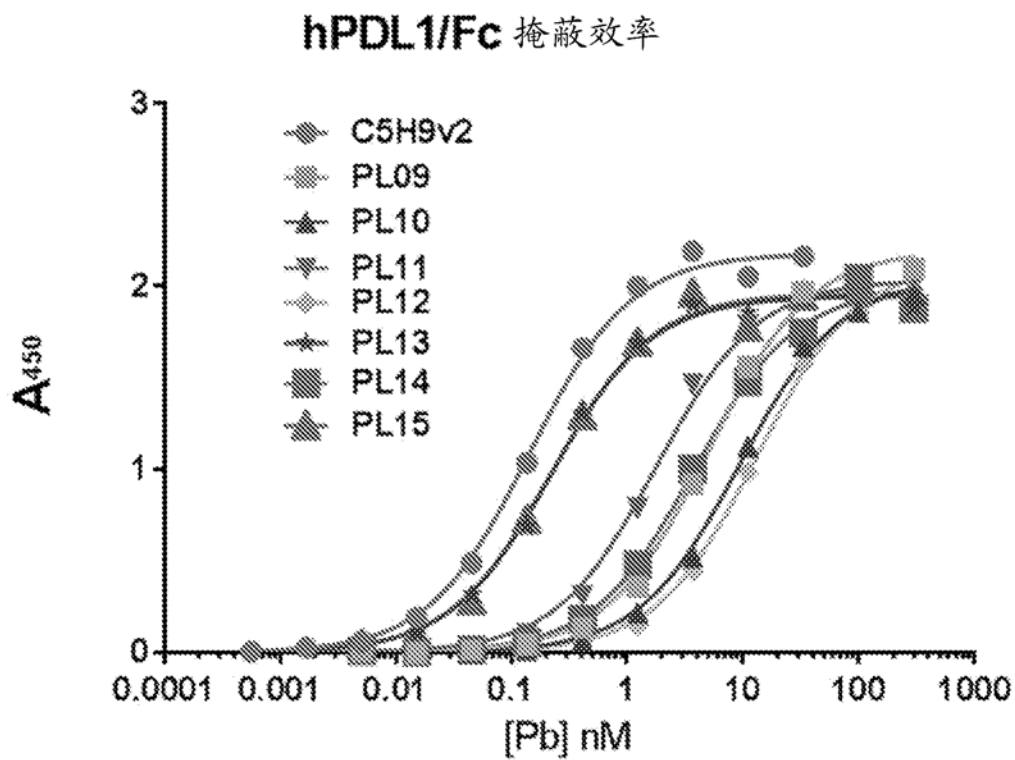


图 15A



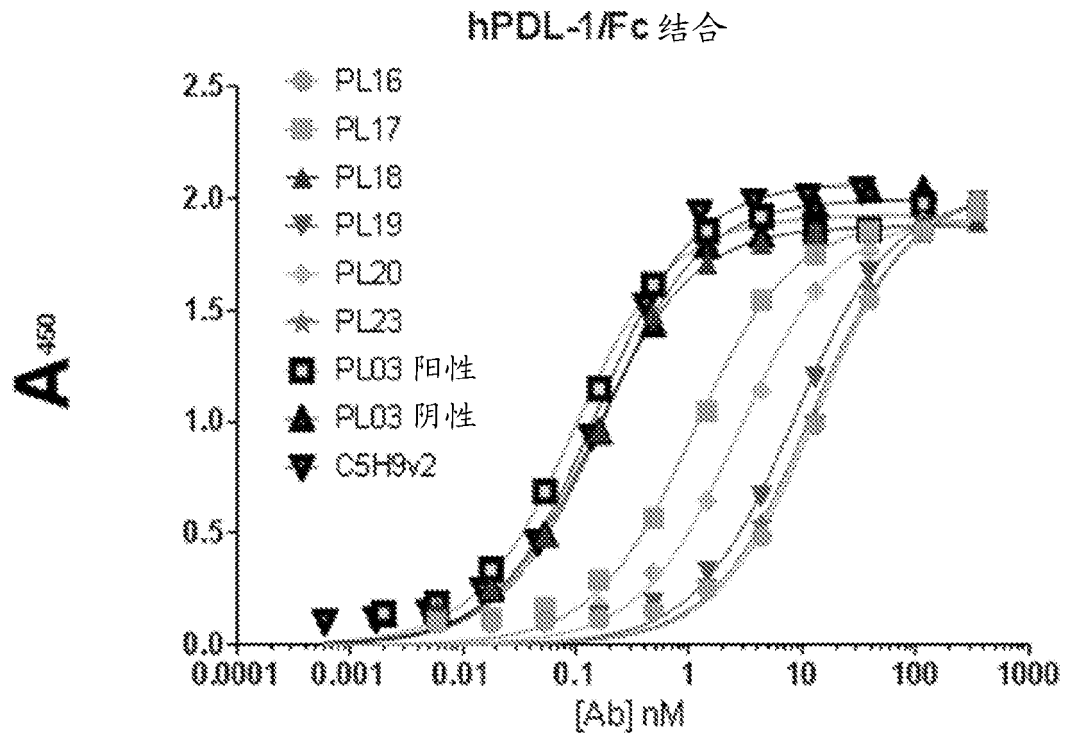
	掩蔽效率		
	培养基	经纯化	
	人	人	小鼠
PL02	12	80	650
PL03	5	2	5
PL04	52	70	574
PL06	23	16	259
PL07	38	37	389

图 15B



掩蔽效率	PL09	PL10	PL11	PL12	PL13	PL14	PL15
hPDL1	31	63	12	88	1.4	26	2
mPDL1	1518	2246	251	2940	4	1012	48

图 16



ME	PL16	PL17	PL18	PL19	PL20	PL23	PL03+	PL03-
hPDL1	88	7.2	1.0	56	18.3	77.7	0.6	1.1
mPDL1	n/a	421	25	954	645	n/a	1	2.2

图 17

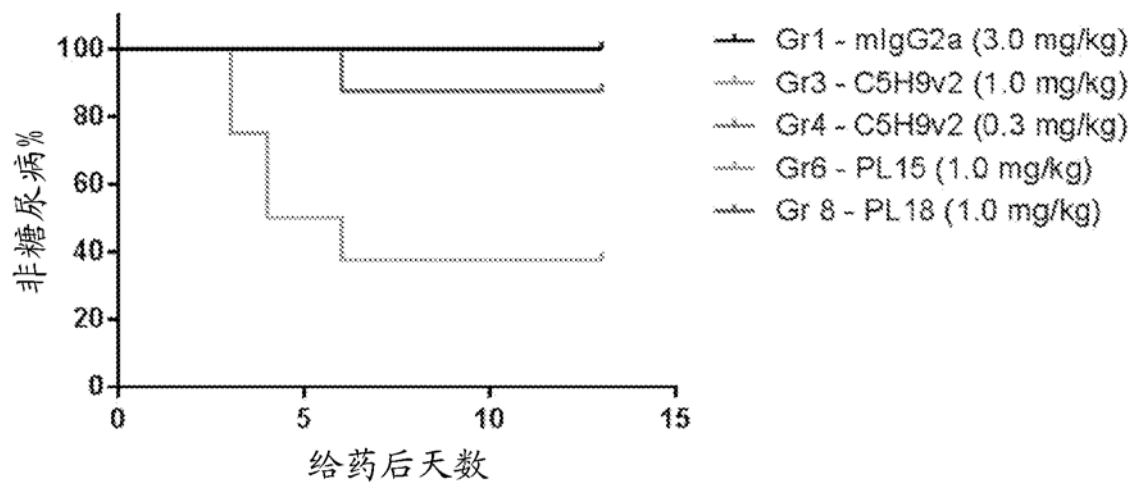


图 18A

在9周龄雌性NOD小鼠中的
C15-002 PD-L1 Pb

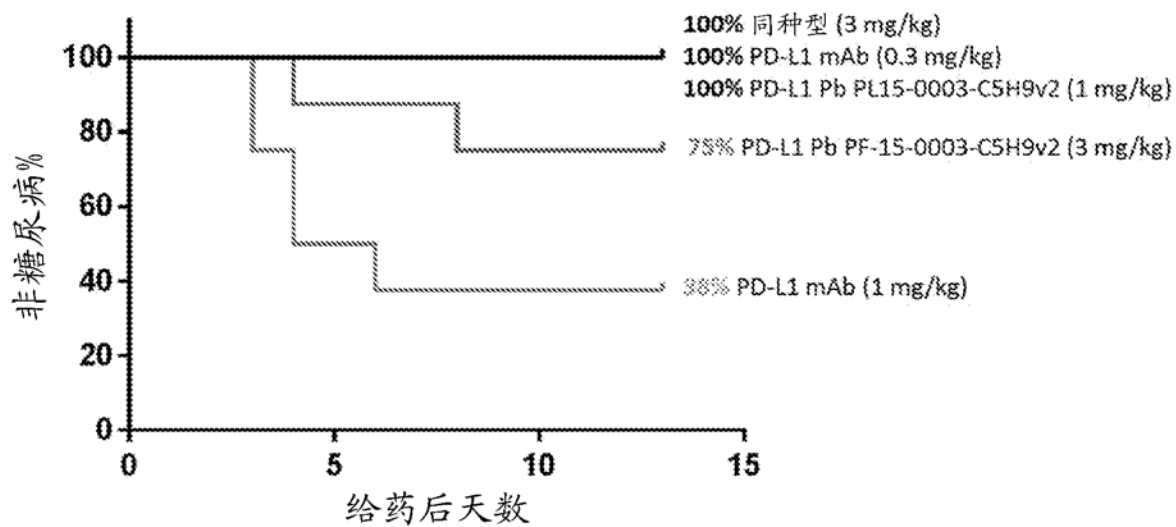


图 18B

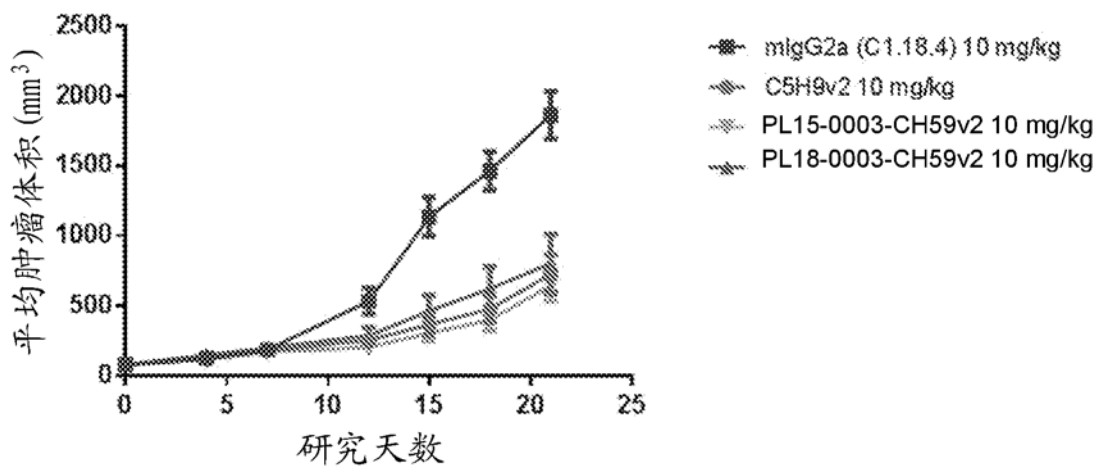


图 19

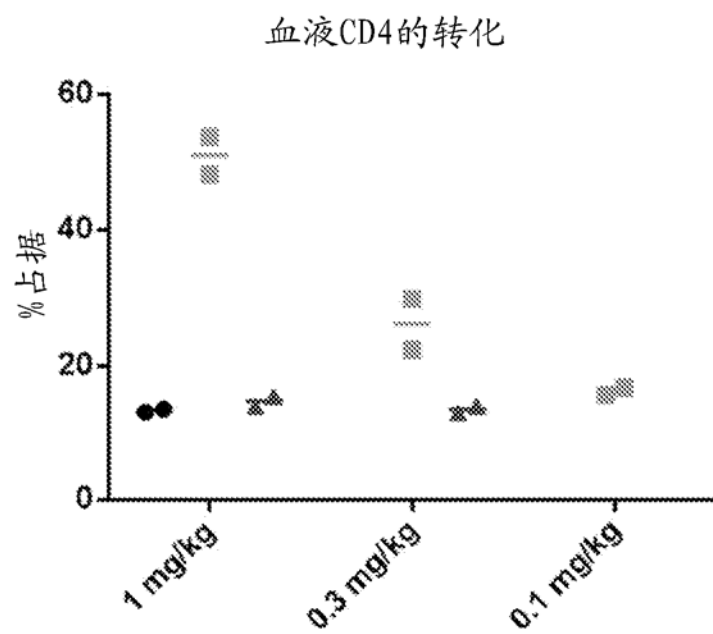


图 20A

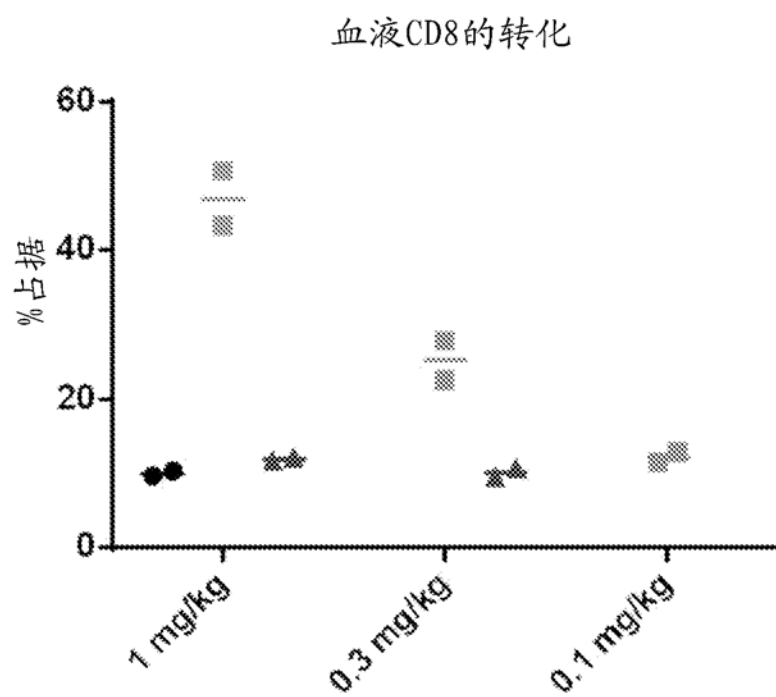


图 20B

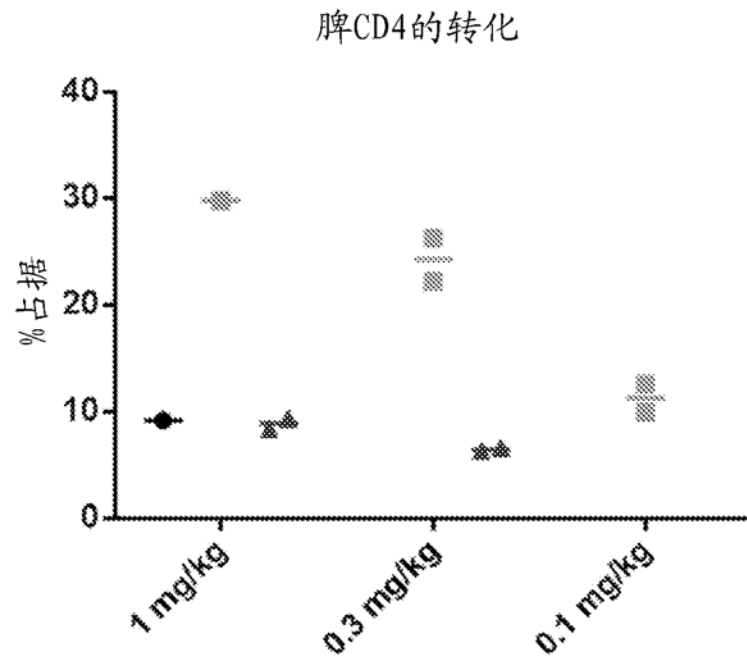


图 20C

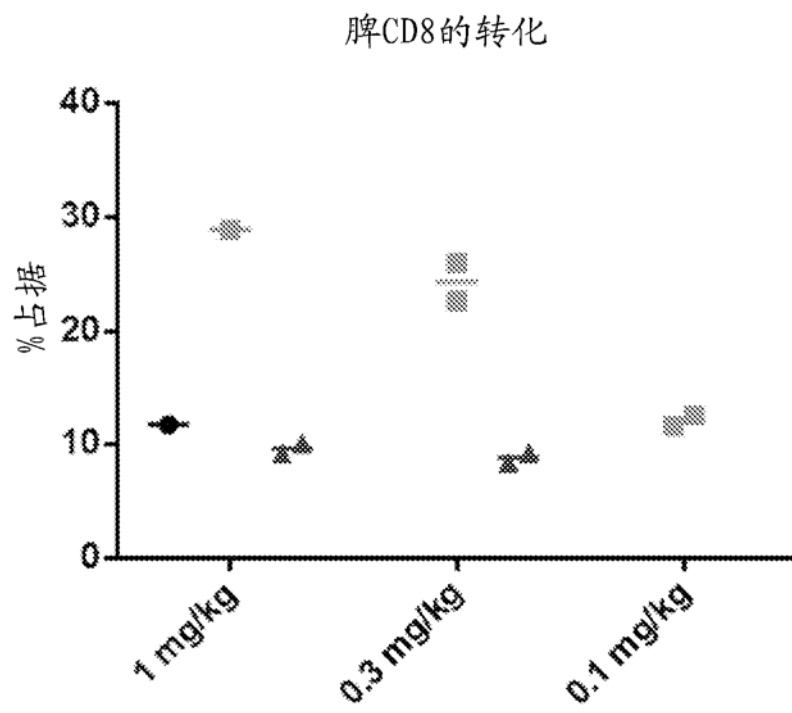


图 20D

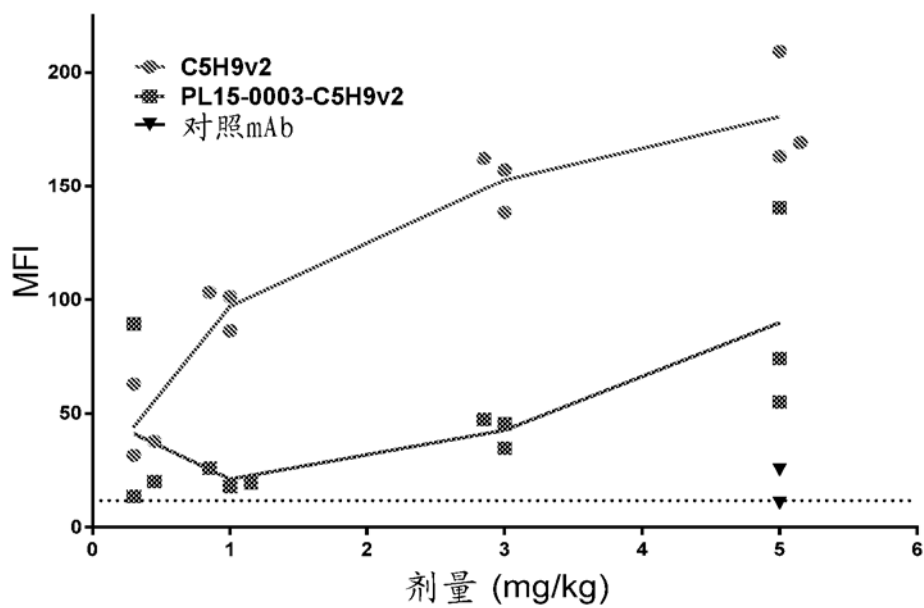


图 21A

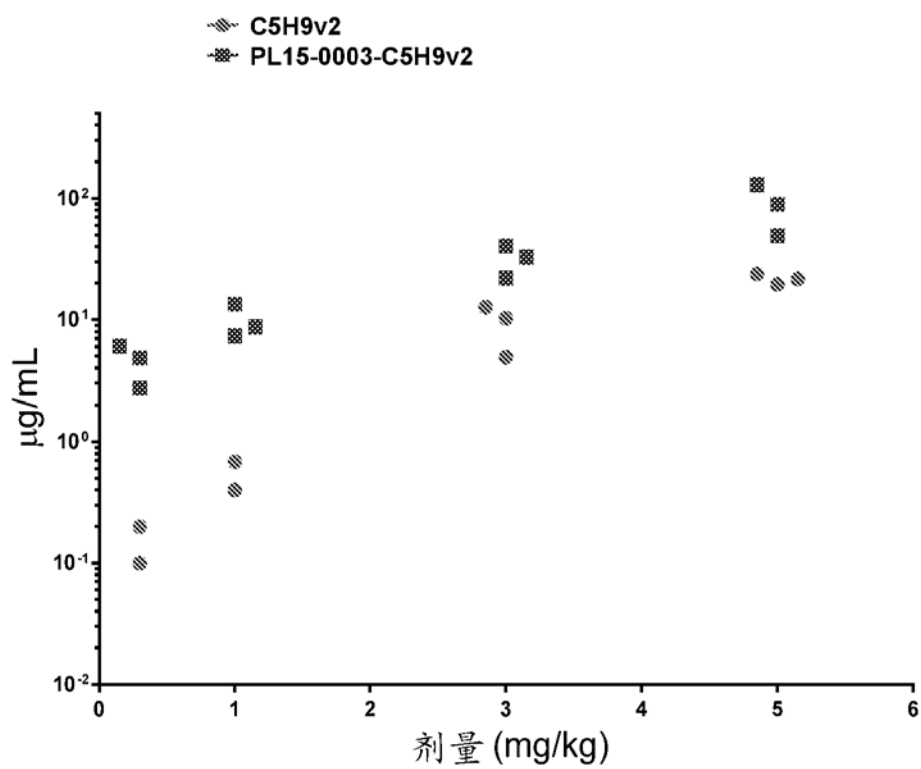


图 21B

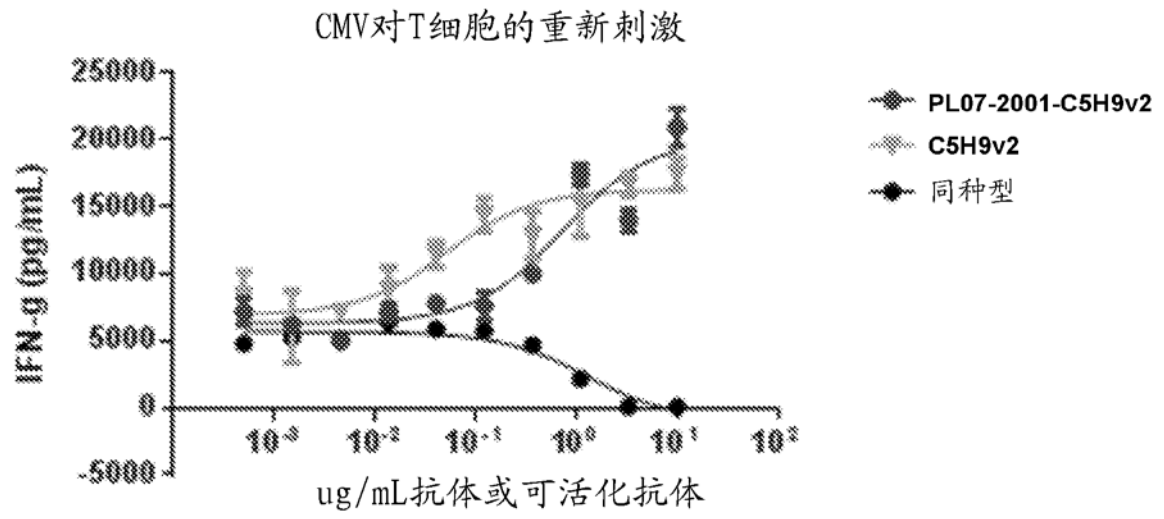


图 22

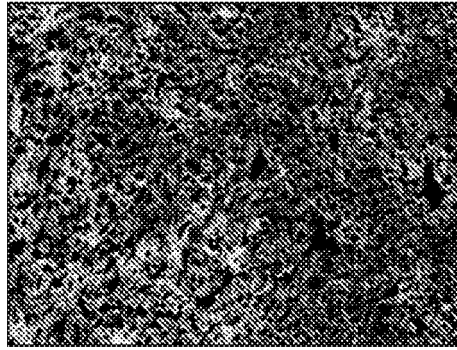


图 23A

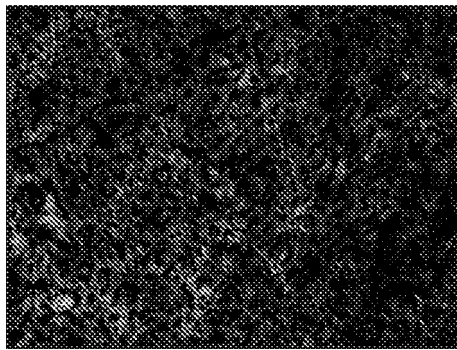


图 23B

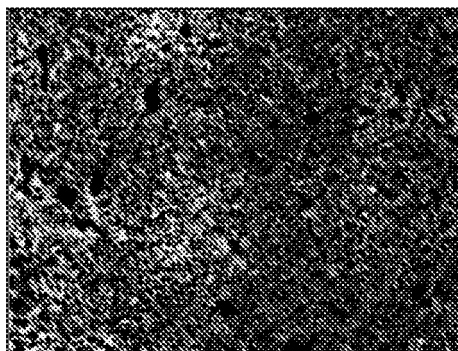


图 23C

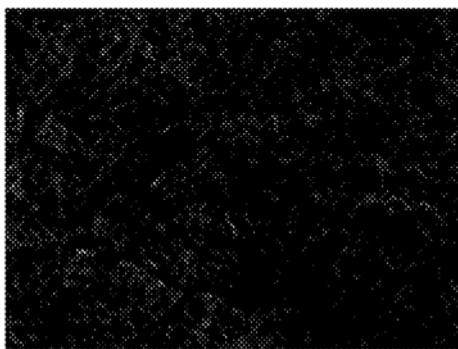


图 23D

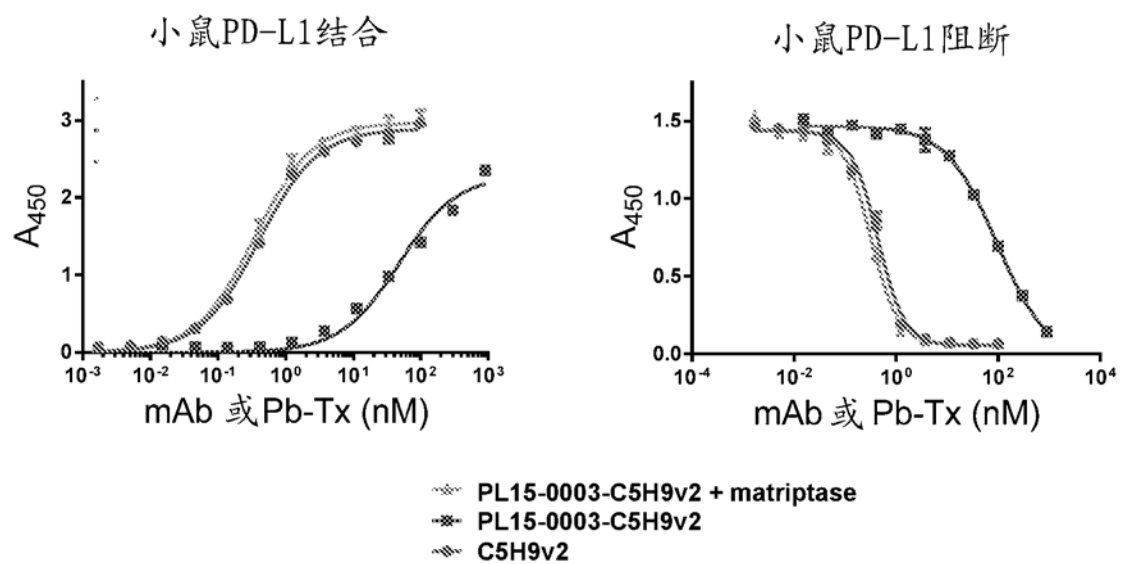


图 24

hPDL1 结合

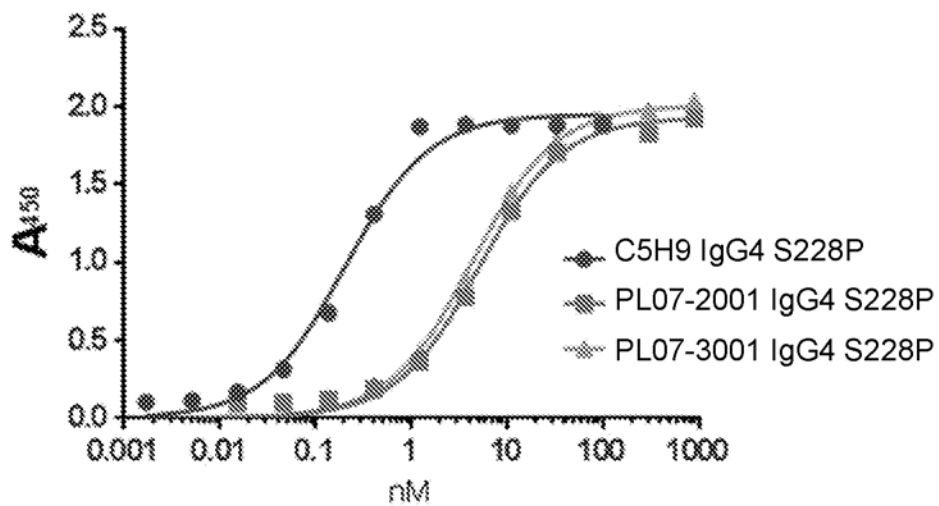


图 25A

mPDL1 结合

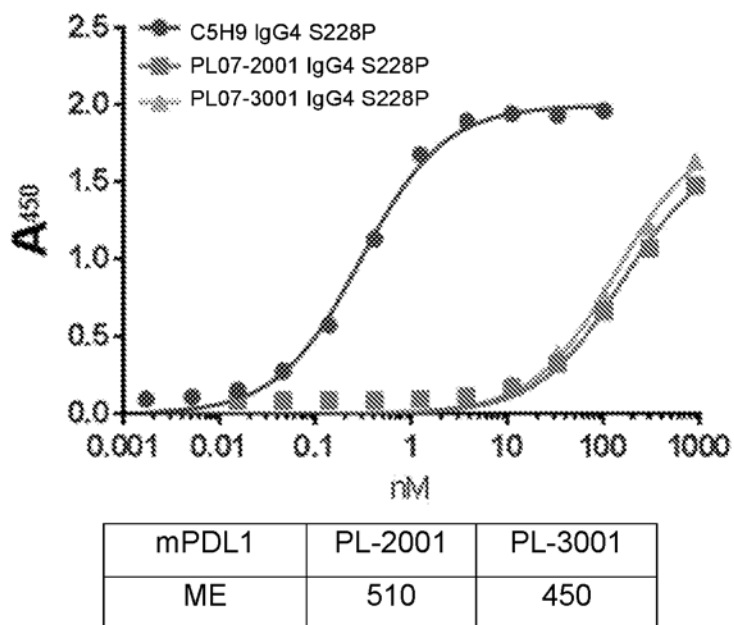


图 25B

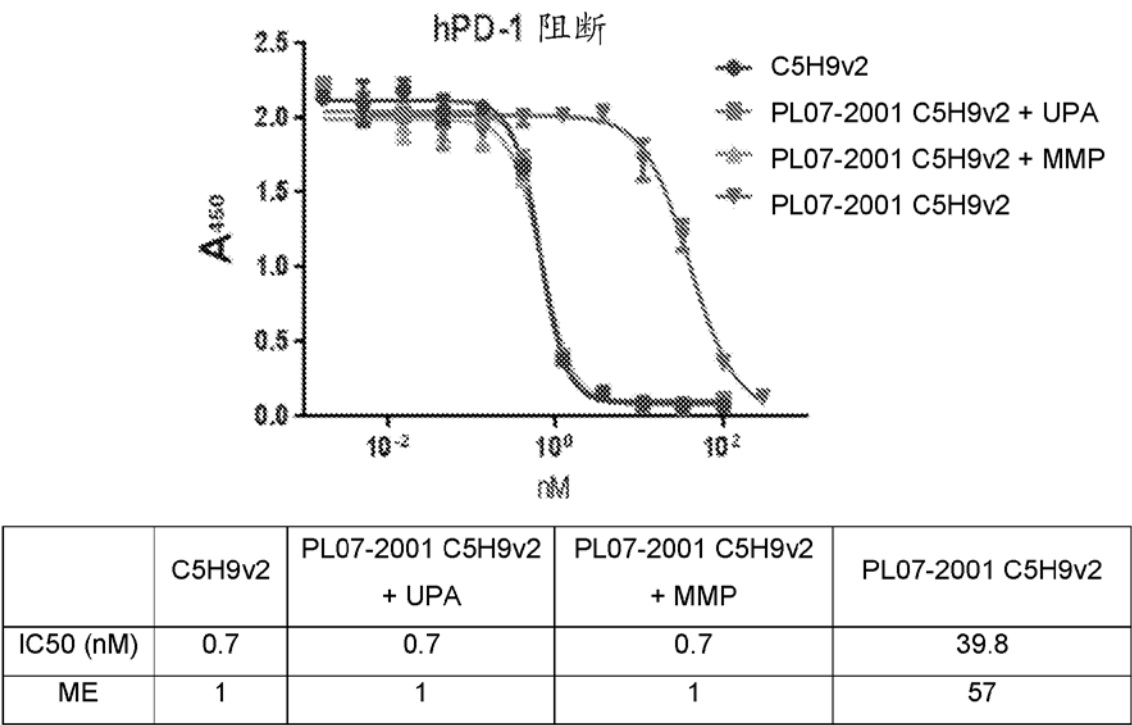


图 26A

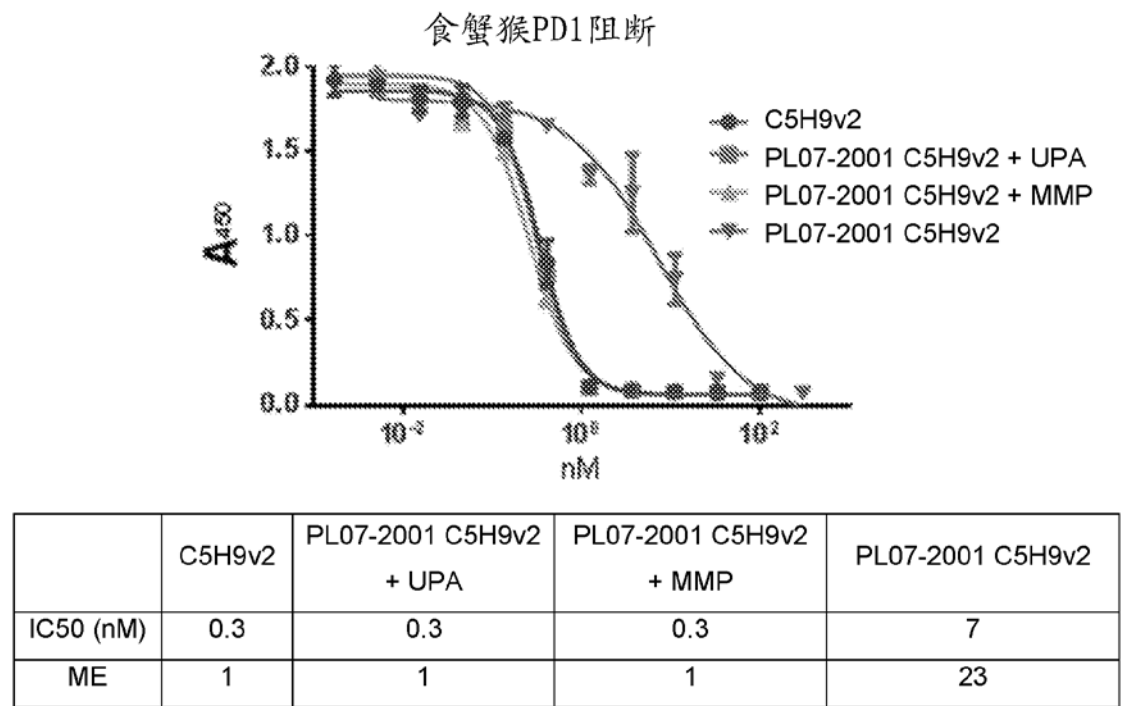
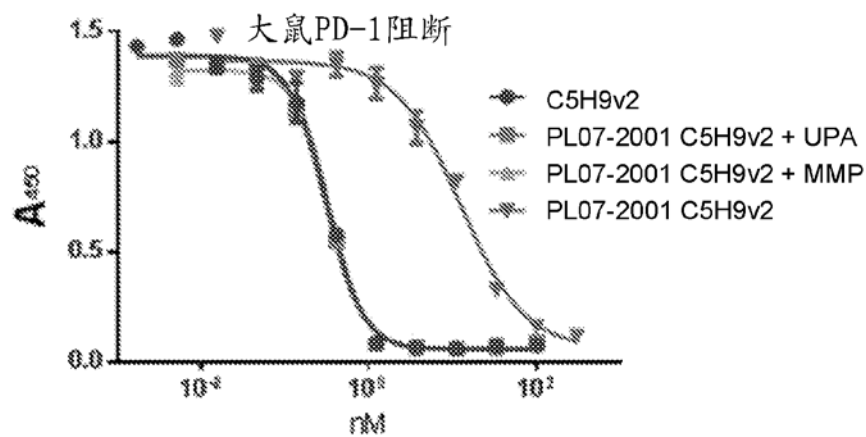
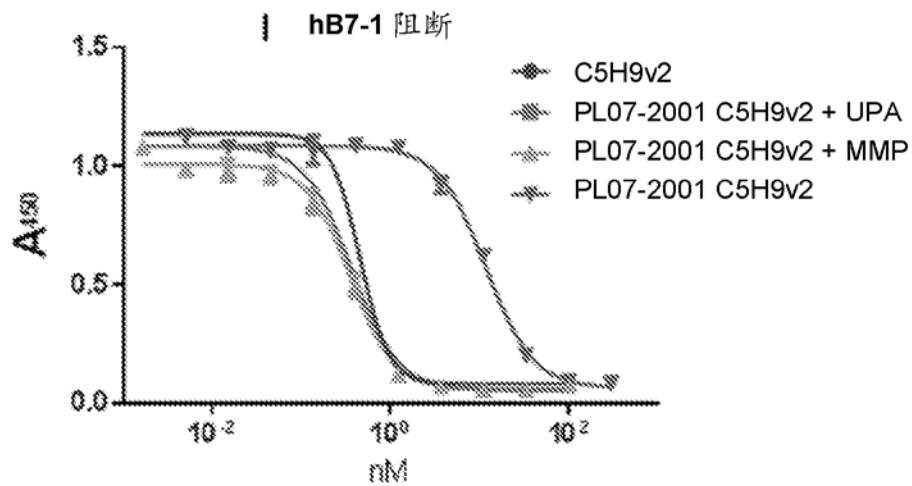


图 26B



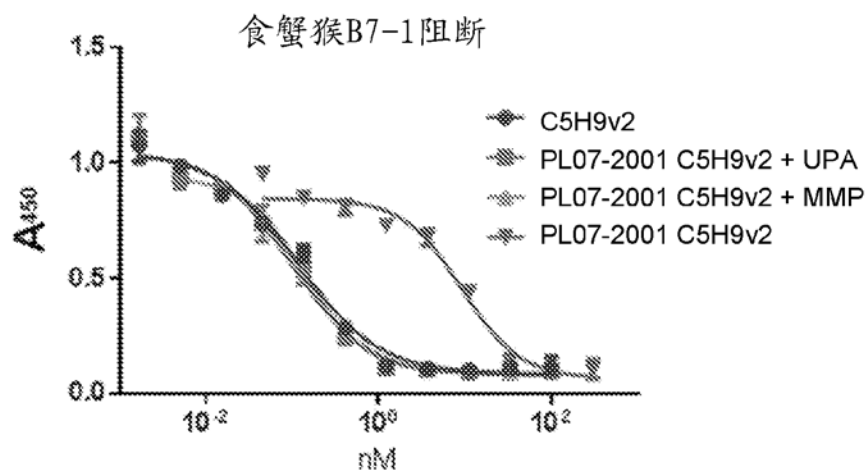
	C5H9v2	PL07-2001 C5H9v2 + UPA	PL07-2001 C5H9v2 + MMP	PL07-2001 C5H9v2
IC ₅₀ (nM)	0.3	0.3	0.3	11.9
ME	1	1	1	40

图 26C



	C5H9v2	PL07-2001 C5H9v2 + UPA	PL07-2001 C5H9v2 + MMP	PL07-2001 C5H9v2
IC ₅₀ (nM)	0.5	0.5	0.4	11.7
ME	1	1	1	29

图 27A



	C5H9v2	PL07-2001 C5H9v2 + UPA	PL07-2001 C5H9v2 + MMP	PL07-2001 C5H9v2
IC50 (nM)	0.1	0.1	0.1	9.6
ME	1	1	1	96

图 27B

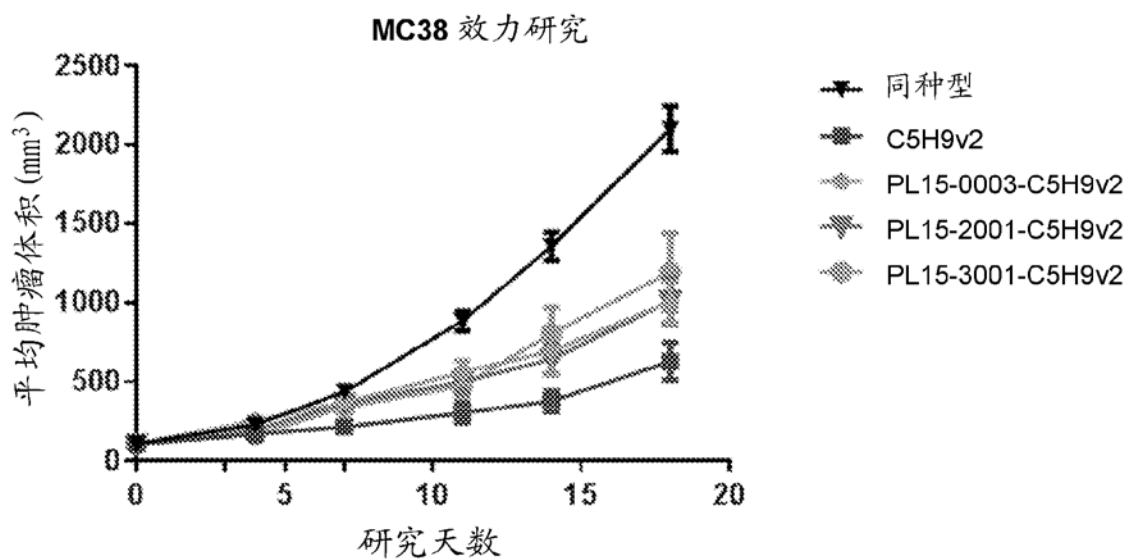


图 28

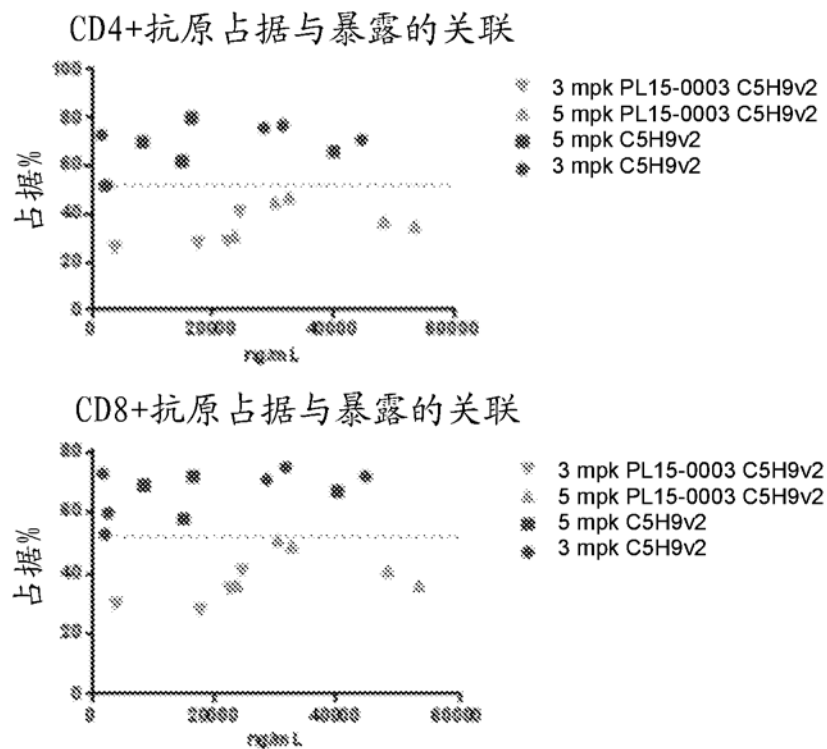


图 29A

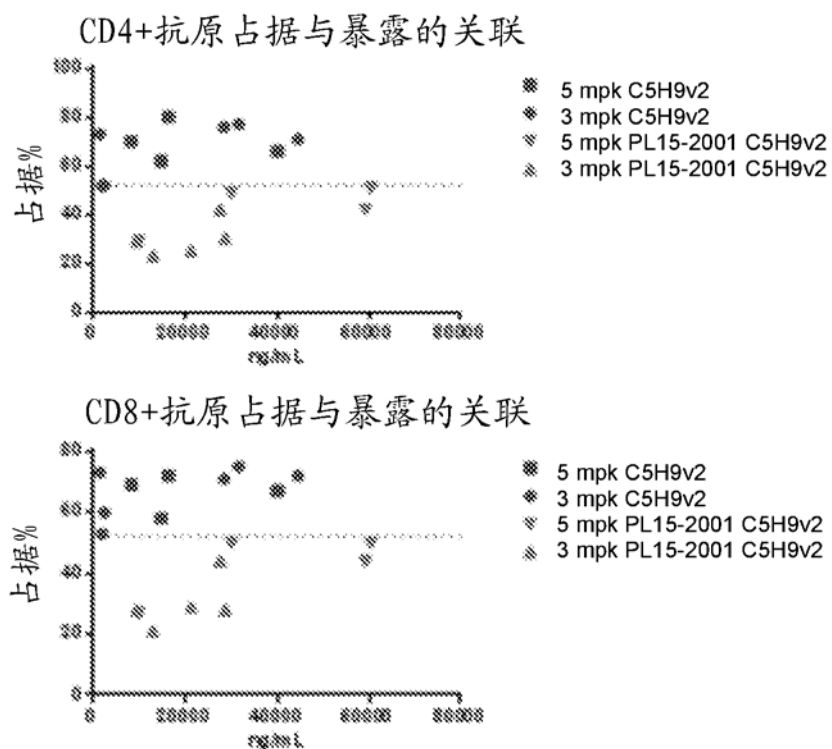


图 29B

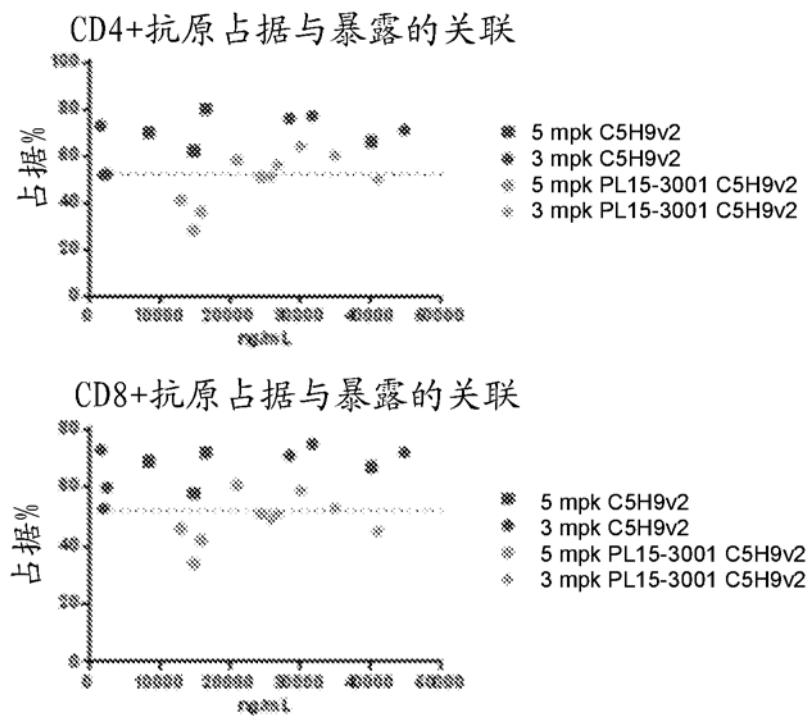


图 29C

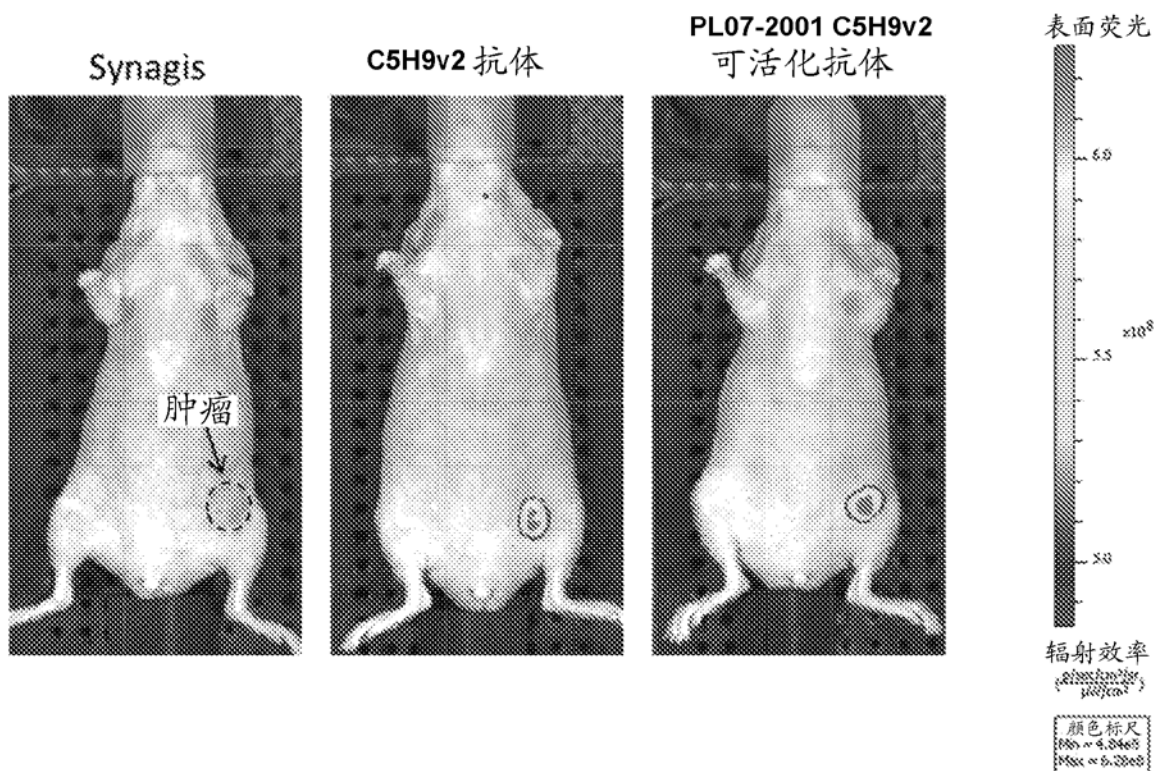


图 30