



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111094341 A

(43)申请公布日 2020.05.01

(21)申请号 201880048796.4

(22)申请日 2018.07.30

(30)优先权数据

PCT/EP2017/069357 2017.07.31 EP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2020.01.20

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2018/070640 2018.07.30

(87)PCT国际申请的公布数据

W02019/025391 EN 2019.02.07

(71)申请人 生物医学研究院

地址 瑞士贝林佐纳

(72)发明人 安东尼奥·兰扎伟基亚

卢卡·皮科利

(74)专利代理机构 北京柏杉松知识产权代理事
务所(普通合伙) 11413

代理人 王春伟 刘继富

(51)Int.Cl.

C07K 16/24(2006.01)

C07K 16/16(2006.01)

C07K 16/00(2006.01)

C07K 14/705(2006.01)

C07K 16/10(2006.01)

C07K 16/12(2006.01)

权利要求书6页 说明书72页

序列表120页 附图9页

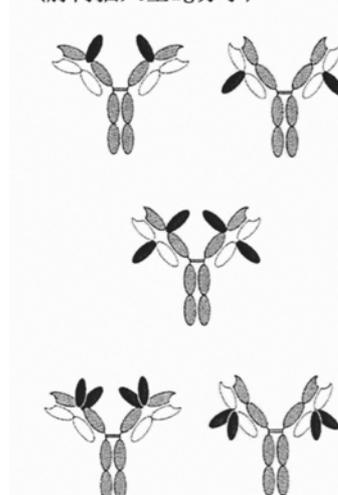
(54)发明名称

在可变域和恒定域之间的肘区中具有功能域的抗体

(57)摘要

本发明提供了工程化抗体和抗原结合片段,其中将附加功能域插入抗体或抗原结合片段的肘区。本发明还提供了编码这种抗体和抗原结合片段的核酸分子例如载体、包含这种抗体、抗原结合片段或核酸分子的宿主细胞和组合物及其用途。例如提供了多特异性抗体形式,其中将附加的结合位点(特异性)插入抗体或抗原结合片段的肘区。

B) 新形式: IEI-Ig
(肘内插入型Ig分子)



1. 一种包含第一多肽链和第二多肽链的抗体或其抗原结合片段，其中所述第一多肽链在N端至C端方向包含
 - (i) 一个或多个可变域；
 - (ii) 功能域；和
 - (iii) 一个或多个恒定域；和其中所述第二多肽链在N端至C端方向包含
 - (iv) 一个或多个可变域，其与第一多肽链的一个或多个可变域形成抗原结合位点；
 - (v) 任选的功能域；和
 - (vi) 一个或多个恒定域，其特征在于，第一多肽链的功能域(ii)不包含第二多肽链的片段，并且第二多肽链的任选的功能域(v)不包含第一多肽链的片段。
2. 根据权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段，其中第二多肽链不包含功能域(v)，并且其中第二多肽链的最C端可变域的C端直接与第二多肽链的最N端恒定域的N端连接。
3. 一种包含第一多肽链和第二多肽链的抗体或其抗原结合片段，其中所述第一多肽链在N端至C端方向包含
 - (i) 一个或多个可变域；
 - (ii) 功能域和
 - (iii) 一个或多个恒定域；和其中所述第二多肽链在N端至C端方向包含
 - (iv) 一个或多个可变域，其与第一多肽链的一个或多个可变域形成抗原结合位点；和
 - (v) 一个或多个恒定域，其特征在于第二多肽链的最C端可变域的C端直接与第二多肽链的最N端恒定域的N端连接。
4. 根据权利要求1至3中任一项所述的抗体或其抗原结合片段，其中
 - (a) 第一多肽链的一个或多个恒定域是至少包含CH1恒定域的重链恒定域，第一多肽链的一个或多个可变域是重链可变域VH，第二多肽链的恒定域是轻链恒定域CL，并且第二多肽链的一个或多个可变域是轻链可变域VL；或
 - (b) 第一多肽链的恒定域是轻链恒定域CL，第一多肽链的一个或多个可变域是轻链可变域VL，第二多肽链的一个或多个恒定域是至少包含CH1恒定域的重链恒定域，并且第二多肽链的一个或多个可变域是重链可变域VH。
5. 根据权利要求4所述的抗体或其抗原结合片段，其中CH1结构域和任选的任何其他重链恒定域选自以下类别： γ 、 α 、 μ 、 ϵ 和 δ ；优选 γ ，例如选自IgG1、IgG2、IgG3或IgG4。
6. 根据权利要求4或5所述的抗体或其抗原结合片段，其中CL结构域选自以下类别： κ 和 λ 。
7. 根据权利要求1至6中任一项所述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为重组抗体或抗原结合片段。
8. 根据权利要求1至7中任一项所述的抗体或其抗原结合片段，其中第一多肽链的功能

域(ii)和/或第二多肽链的功能域(v)不是接头,尤其不是GS接头。

9.根据权利要求1至8中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中第一多肽链的功能域(ii)和/或第二多肽链的功能域(v)包含或组成为Ig样结构域。

10.根据权利要求9所述的抗体或其抗原结合片段,其中Ig样结构域选自PD1、SLAM、CD2、CD3、CD4、CD8、CD19、CD22、CD33、CD80或CD86的Ig样结构域,优选CD4的Ig样结构域。

11.根据权利要求1至10中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中第一多肽链的功能域(ii)和/或第二多肽链的功能域(v)包含或组成为载体结构域、报告结构域、标签、定位结构域、(独立的)结合位点、酶结构域或酶促结构域、受体或其功能片段、或配体或其功能片段。

12.根据权利要求11所述的抗体或其抗原结合片段,其中第一多肽链的功能域(ii)和/或第二多肽链的功能域(v)包含或组成为载体结构域。

13.根据权利要求12所述的抗体或其抗原结合片段,其中载体结构域提供了抗体或其抗原结合片段与药物或显像剂的缀合。

14.根据权利要求11所述的抗体或其抗原结合片段,其中第一多肽链的功能域(ii)和/或第二多肽链的功能域(v)包含或组成为报告结构域。

15.根据权利要求14所述的抗体或其抗原结合片段,其中报告结构域包含或组成为编码GFP、YFP、RFP、CFP、萤光素酶、 β -半乳糖苷酶或过氧化物酶的氨基酸序列。

16.根据权利要求11所述的抗体或其抗原结合片段,其中第一多肽链的功能域(ii)和/或第二多肽链的功能域(v)包含或组成为定位结构域。

17.根据权利要求11所述的抗体或其抗原结合片段,其中第一多肽链的功能域(ii)和/或第二多肽链的功能域(v)包含或组成为酶结构域或酶促结构域,例如催化结构域。

18.根据权利要求11所述的抗体或其抗原结合片段,其中第一多肽链的功能域(ii)和/或第二多肽链的功能域(v)包含或组成为标签。

19.根据权利要求18所述的抗体或其抗原结合片段,其中标签是亲和标签、增溶标签、色谱标签、表位标签或荧光标签。

20.根据权利要求11所述的抗体或其抗原结合片段,其中第一多肽链的功能域(ii)和/或第二多肽链的功能域(v)包含或组成为受体或其功能片段,例如受体的Ig样结构域。

21.根据权利要求20所述的抗体或其抗原结合片段,其中功能域包含或组成为:(i)选自PD1、SLAM、LAIR1、CTLA4、BTLA、TIM-3、TIGIT、CD200R1、2B4(CD244)、TLT2、LILRB4、KIR2DL2、ICOS或CD28的受体,或(ii)受体的功能片段,例如以下任一种受体的Ig样结构域:PD1、SLAM、LAIR1、CTLA4、BTLA、TIM-3、TIGIT、CD200R1、2B4(CD244)、TLT2、LILRB4、KIR2DL2、ICOS或CD28。

22.根据权利要求11所述的抗体或其抗原结合片段,其中第一多肽链的功能域(ii)和/或第二多肽链的功能域(v)包含或组成为配体或其功能片段。

23.根据权利要求22所述的抗体或其抗原结合片段,其中配体是细胞因子和/或PD1、SLAM、LAIR1、CTLA4、BTLA、TIM-3、TIGIT、CD200R1、2B4(CD244)、TLT2、LILRB4、KIR2DL2、ICOS或CD28的配体。

24.根据权利要求22所述的抗体或其抗原结合片段,其中配体选自PD-L1、PD-L2、B7-1、B7-2、B7-H4(B7同源物)、半乳凝素-9、脊髓灰质炎病毒受体(PVR)、OX-2膜糖蛋白、CD48、B7-

H3 (B7同源物)、MHCI、ICOS-L。

25. 根据权利要求22所述的抗体或其抗原结合片段,其中配体选自细胞因子SIS家族、细胞因子SIG家族、细胞因子SCY家族、血小板因子-4超家族和间分泌素、CC趋化因子配体(CCL)-1至28、CXCL1至CXCL17、XCL1(淋巴细胞趋化因子- α)和XCL2(淋巴细胞趋化因子- β)、分形趋化因子(或CX₃CL1);干扰素,例如I型IFN、II型IFN和III型FN,特别是IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ 、IFN- ϵ 、IFN- κ 、IFN- ω 、IL10R2(也称为CRF2-4)和IFNLR1(也称为CRF2-12);白介素,例如IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-13、IL-14、IL-15、IL-16、IL-17、IL-18、IL-19、IL-20、IL-21、IL-22、IL-23、IL-24、IL-25、IL-26、IL-27、IL-28、IL-29、IL-30、IL-31、IL-32、IL-33、IL-34、IL-35和IL-36;淋巴因子,例如IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、GM-CSF和干扰素- γ ;肿瘤坏死因子,例如CD40LG(TNFSF5);CD70(TNFSF7);EDA;FASLG(TNFSF6);LTA(TNFSF1);LTB(TNFSF3);TNF、TNF α 、TNFSF4(OX40L);TNFSF8(CD153);TNFSF9;TNFSF10(TRAIL);TNFSF11(RANKL);TNFSF12(TWEAK);TNFSF13;TNFSF13B;TNFSF14;TNFSF15;和TNFSF18;和集落刺激因子,例如CSF1(巨噬细胞集落刺激因子)、CSF2(GM-CSF)、CSF3(G-CSF)、以及合成的CSF,例如Promegapoietin。

26. 根据权利要求11所述的抗体或其抗原结合片段,其中第一多肽链的功能域(ii)和/或第二多肽链的功能域(v)包含或组成为(独立的)结合位点。

27. 根据权利要求26所述的抗体或其抗原结合片段,其中(独立的)结合位点包括或组成为包含结合位点的受体或其功能片段、包含结合位点的配体或其功能片段、CD分子或其功能片段、单链抗体或其抗原结合片段、抗原或其功能片段、或包含结合位点的标签。

28. 根据权利要求27所述的抗体或其抗原结合片段,其中(独立的)结合位点包含或组成为单链抗体(例如scFv或VHH)或其抗原结合片段、或抗原或其功能片段。

29. 根据权利要求1至28中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中功能域包含或组成为Ig样结构域、scFv、VHH或Strep标签。

30. 根据权利要求29所述的抗体或其抗原结合片段,其中功能域包含或组成为SEQ ID NO:13至20中任一项所示的氨基酸序列或具有至少80%、优选至少85%、更优选至少90%、甚至更优选至少95%、最优选至少98%序列同一性的其功能性序列变体。

31. 根据权利要求1至30中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中第一多肽链在功能域(ii)的N端包含一个单一可变域(i),第二多肽链在任选的功能域(v)的N端或一个或多个恒定域(vi)的N端包含一个单一可变域(iv),其中第二多肽链的一个单一可变域(iv)与第一多肽链的可变域(i)形成抗原结合位点。

32. 根据权利要求1至30中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中第一多肽链在功能域(ii)的N端包含两个或两个以上可变域(i),第二多肽链在任选的功能域(v)的N端或一个或多个恒定域(vi)的N端包含两个或两个以上可变域(iv),其中第二多肽链的两个或两个以上可变域(iv)与第一多肽链的两个或两个以上可变域(i)形成抗原结合位点。

33. 根据权利要求1至32中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中第一多肽链在最N端可变域(i)的N端和/或最C端恒定域(iii)的C端包含单链抗体例如scFv或单结构域抗体例如VHH。

34. 根据权利要求1至33中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中第二多肽链在最N端可变域(i)的N端和/或最C端恒定域(vi)的C端包含单链抗体例如scFv或单结构域抗体

例如VHH。

35. 根据权利要求1至34中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中第一多肽链和第二多肽链各自分别包含一个单一恒定域,特别是CL结构域和CH1结构域。

36. 根据权利要求1至35中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中第一多肽链或第二多肽链包含一个单一恒定域,特别是CL结构域;第一多肽链或第二多肽链中的另一个包含CH1结构域和一个或多个其他恒定域,例如CH2结构域和/或CH3结构域。

37. 根据权利要求1至36中任一项所述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Fc部分或Fc区。

38. 根据权利要求1至37中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中第一多肽链和/或第二多肽链包含一个或多个接头。

39. 根据权利要求1至38中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中第一多肽链和/或第二多肽链不包含任何接头。

40. 根据权利要求1至39中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中第一多肽链包含或组成为V-D-CH1,其中

V是可变域(i);

D是功能域(ii);和

CH1是CH1恒定域(iii)。

41. 根据权利要求40所述的抗体或其抗原结合片段,其中第一多肽链包含或组成为V-D-CH1-CH2-CH3,其中CH2和CH3分别是CH2恒定域和CH3恒定域。

42. 根据权利要求39至41中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中第一多肽链包含或组成为(V)_A-D-CH1,其中A为1至5,优选1至4,更优选1至3,甚至更优选1或2的整数,并且其中可变域V能够直接或通过接头彼此连接。

43. 根据权利要求1至41中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中第二多肽链包含或组成为V-CL,其中

V是可变域(iv);和

CL是恒定域(vi)。

44. 根据权利要求43所述的抗体或其抗原结合片段,其中第二多肽链包含或组成为(V)_A-CL,其中A为1至5,优选1至4,更优选1至3,甚至更优选1或2的整数,并且其中可变域V能够直接或通过接头彼此连接。

45. 根据权利要求1至44中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中第一多肽链的可变域(i)包含或组成为SEQ ID NO:1、5、8或10中任一项所示的氨基酸序列或具有至少80%、优选至少85%、更优选至少90%、甚至更优选至少95%、最优选至少98%序列同一性的其功能性序列变体。

46. 根据权利要求1至45中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中第二多肽链的可变域(iv)包含或组成为SEQ ID NO:2、6、9或11中任一项所示的氨基酸序列或具有至少80%、优选至少85%、更优选至少90%、甚至更优选至少95%、最优选至少98%序列同一性的其功能性序列变体。

47. 根据权利要求1至46中任一项所述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单个或两个第一多肽链和单个或两个第二多肽链。

48. 根据权利要求1至47中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中第一多肽链和第二多肽链通过二硫键连接,从而形成一对。

49. 根据权利要求47或48所述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两个第一多肽链和两个第二多肽链,并且其中两个第一多肽链和/或两个第二多肽链通过一个或多个二硫键例如两个二硫键连接。

50. 根据权利要求1至49中任一项所述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对于每种特异性/抗原是二价的。

51. 根据权利要求1至49中任一项所述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对于每种特异性(抗原)是单价的。

52. 根据权利要求50或51所述的抗体或其抗原结合片段,其中由第一对第一多肽链和第二多肽链的一个或多个可变域形成的抗原结合位点和由第二对第一多肽链和第二多肽链的一个或多个可变域形成的抗原结合位点是相同或不同的。

53. 根据权利要求1至52中任一项所述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至少两个可以是相同或不同的功能域。

54. 根据权利要求1至53中任一项所述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形成第一对第一多肽链和第二多肽链和第二对第一多肽链和第二多肽链的两个第一多肽链和两个第二多肽链,其中第一对第一多肽链和第二多肽链包含至少一个功能域和/或第二对第一多肽链和第二多肽链包含至少一个功能域。

55. 根据权利要求1至54中任一项所述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衍生自IgG样抗体、Fab或F(ab)₂。

56. 根据权利要求1至55中任一项所述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的两个或多个可变域(i)和(iv)衍生自单克隆抗体。

57. 根据权利要求1至56中任一项所述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的可变域和/或恒定域是人的或人源化的。

58. 根据权利要求1至57中任一项所述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的(附加)功能域包含或组成为人的或人源化的氨基酸序列。

59. 根据权利要求1至58中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中第一多肽链包含或组成为SEQ ID NO:53、55、56、58、59、60、61、62、64、65、66、68、69或70中任一项所示的氨基酸序列或具有至少80%、优选至少85%、更优选至少90%、甚至更优选至少95%、最优选至少98%序列同一性的其功能性序列变体,和/或第二多肽链包含或组成为SEQ ID NO:54、57、63或67中任一项所示的氨基酸序列或具有至少80%、优选至少85%、更优选至少90%、甚至更优选至少95%和最优选至少98%序列同一性的其功能性序列变体。

60. 根据权利要求1至59中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中第一多肽链和/或第二多肽链不包含或组成为SEQ ID NO:75至92或96至112中任一项所示的氨基酸序列,优选地,第一多肽链和/或第二多肽链不包含或组成为SEQ ID NO:75至95中任一项所示的氨基酸序列,更优选地,第一多肽链和/或第二多肽链的功能域不包含或组成为SEQ ID NO:113至130中任一项所示的氨基酸序列,甚至更优选地,第一多肽链和/或第二多肽链的功能域不包含或组成为SEQ ID NO:113至133中任一项所示的氨基酸序列,最优选地,第一多肽链和/或第二多肽链不包含或组成为SEQ ID NO:75至133中任一项所示的氨基酸序列。

61. 一种核酸分子,其包含编码根据权利要求1至60中任一项所述的抗体或其抗原结合片段的第一多肽链的第一多核苷酸和/或编码根据权利要求1至60中任一项所述的抗体或其抗原结合片段的第二多肽链的第二多核苷酸。

62. 一种核酸分子,其包含编码根据权利要求1至60中任一项所述的抗体或其抗原结合片段的第一多肽链和第二多肽链的多核苷酸。

63. 根据权利要求61或62所述的核酸分子,其中所述核酸分子是DNA分子或RNA分子。

64. 一种载体,其包含根据权利要求61至63中任一项所述的核酸分子。

65. 一种宿主细胞,其包含根据权利要求61至63中任一项所述的核酸分子或根据权利要求64所述的载体。

66. 一种组合物,其包含根据权利要求1至60中任一项所述的抗体或其抗原结合片段、根据权利要求61至63中任一项所述的核酸分子、根据权利要求64所述的载体或根据权利要求65所述的宿主细胞。

67. 一种产生根据权利要求1至60中任一项所述的抗体或其抗原结合片段的方法,其包括:

a) 通过引入编码第一多肽链和第二多肽链的权利要求61至63中任一项的一种或多种核酸分子来转化真核宿主细胞;

b) 在合适的条件下培养宿主细胞以表达所述核酸分子;

c) 引起或使得第一多肽链和第二多肽链结合以形成抗体或其抗原结合片段;和

d) 任选地,从培养基中纯化抗体或其抗原结合片段。

68. 根据权利要求1至60中任一项所述的抗体或其抗原结合片段、根据权利要求61至63中任一项所述的核酸分子、根据权利要求64所述的载体、根据权利要求65所述的宿主细胞、或根据权利要求66所述的组合物,其用于医药。

69. 一种预防或治疗对象的疾病或病症的方法,其包括将根据权利要求1至60中任一项所述的抗体或其抗原结合片段、根据权利要求61至63中任一项所述的核酸分子、根据权利要求64所述的载体、根据权利要求65所述的宿主细胞或根据权利要求66所述的组合物施用于对象的步骤。

70. 一种检测抗原或定量抗原结合的测定方法,其包括:

a) 在允许抗原与多价抗体结合的条件下,将抗原与权利要求1至60中任一项所述的抗体或其抗原结合片段一起孵育;和

b) 检测抗原-抗体结合。

在可变域和恒定域之间的肘区中具有功能域的抗体

[0001] 本发明涉及具有附加功能域的工程化抗体,例如多特异性抗体形式的领域。特别地,本发明涉及工程化抗体,其中在抗体的肘区中插入了附加功能域。因此,例如提供了多特异性抗体形式,其中将附加的结合位点(特异性)插入抗体的肘区中。

[0002] 近年来,基于特异性结合一种抗原类型的经典的天然存在的抗体例如IgG的分子工程,出现了多种多特异性抗体形式。与经典的天然存在的抗体例如IgG相反,多特异性抗体能够与两种或多于两种不同的靶标结合,从而提供了广泛的应用范围。

[0003] 经典的天然存在的抗体是Y形分子,包含四条多肽链:两条重链和两条轻链(图1A)。每条轻链由两个结构域组成,即被称为可变域或VL结构域的N端结构域和被称为恒定域或CL结构域的C端结构域。每条重链由四个或五个结构域组成,这取决于抗体的类别。重链的N端结构域称为可变域或VH结构域。沿N端到C端方向的下一个结构域称为第一恒定域或CH1结构域。重链的下一部分称为铰链区,通常在其后分别为第二恒定域、第三恒定域和某些情况下的第四恒定域或CH2、CH3和CH4结构域。包含恒定域的恒定区在相同同种型的所有抗体中均相同,但在不同同种型的抗体中不同。重链 γ 、 α 和 δ 具有由三个串联(线性)的Ig结构域构成的恒定区和用于增加柔韧性的铰链区;重链 μ 和 ϵ 具有由四个免疫球蛋白结构域构成的恒定区。

[0004] 除了铰链区以外,已知肘区也为抗原结合提供了灵活性。肘区是抗体重链和轻链中可变域和恒定域之间的连接点。通常,可变域(VH或VL)的C端直接连接到最N端恒定域(通常为CH1或CL)的N端,可变域(VH或VL)的C端和最N端恒定域(通常为CH1或CL)的N端之间的连接处被称为“肘”或“肘区”。肘区允许可变域相对于恒定域发生弯曲和旋转。基于肘区提供的运动范围,肘区也称为“分子球窝关节”(Lesk AM, Chothia C. Elbow motion in the immunoglobulins involves a molecular ball-and-socket joint. Nature. 1988年9月8日; 335(6186):188-90)。

[0005] 在装配的抗体中,VL和VH结构域缔合在一起形成抗原结合位点。而且,CL和CH1结构域缔合在一起以保持一条重链与一条轻链缔合。每个重链铰链区包括至少一个且经常是几个半胱氨酸残基。在装配的抗体中,重链中的半胱氨酸残基是对齐的,从而可以在铰链区的半胱氨酸残基之间形成二硫键,该二硫键将两个重链轻链异二聚体共价结合在一起。因此,完全装配的抗体是单特异性的,因为它们结合一种抗原类型,并且是二价的,因为它们具有两个独立的抗原结合位点。

[0006] 基于此类单特异性二价经典天然存在抗体的结构,设计了多种多特异性抗体形式(参见Spiess C, Zhai Q, Carter PJ. Alternative molecular formats and therapeutic applications for bispecific antibodies. Mol Immunol. 2015年10月; 67(2Pt A):95-106和Weidle UH, Tiefenthaler G, Weiss EH, Georges G, Brinkmann U. The intriguing options of multispecific antibody formats for treatment of cancer. Cancer Genomics Proteomics. 2013年1月至2月; 10(1):1-18)。通常,现有技术的多特异性抗体形式可分为五个不同的结构组:(i)多特异性IgG、(ii)附加的IgG、(iii)多特异性抗体片段、(iv)多特异性融合蛋白和(v)多特异性抗体缀合物(Spiess C, Zhai Q, Carter

PJ. Alternative molecular formats and therapeutic applications for bispecific antibodies. *Mol Immunol*. 2015年10月; 67 (2 Pt A): 95-106。

[0007] 对于每种特异性(抗原),多特异性IgG抗体形式通常是单价的。联合两种完整抗体对不同靶抗原的结合特异性以用于治疗目的的初步尝试利用了化学融合的异源缀合物分子(Staerz等人(1985), *Nature* 314:628-631)。通过异源杂交瘤技术从杂合杂交瘤产生双特异性抗体(Milstein和Cuellar(1983) *Nature* 305:537-540)。多特异性IgG抗体形式包括CrossMab、DAF(二合一)、DAF(四合一)、DutaMab、DT-IgG、杵臼结构(Knobs-in-holes, KIH) 普通LC、杵臼结构装配、电荷对、Fab臂交换、SEEDbody、Triomab、LUZ-Y、Fcab、 $\kappa\lambda$ -body和正交Fab,例如Spiess C, Zhai Q, Carter PJ. Alternative molecular formats and therapeutic applications for bispecific antibodies. *Mol Immunol*. 2015年10月; 67 (2 Pt A): 95-106中所述。

[0008] 在附加的IgG抗体形式中,经典的单特异性IgG是通过在重链和/或轻链的N端和/或C端附加额外的抗原结合部分来改造的。这种额外的抗原结合部分的实例包括单结构域抗体(未成对的VH或VL)、成对的抗体可变域,例如Fv或scFv、或工程化的蛋白支架。附加的IgG抗体形式包括DVD-IgG、IgG(H)-scFv、scFv-(H) IgG、IgG(L)-scFv、scFv-(L) IgG、IgG(L, H)-Fv、IgG(H)-V、V(H)-IgG、IgG(L)-V、V(L)-IgG、KIH IgG-scFab、2scFv-IgG、IgG-2scFv、scFv4-Ig、和Zybody,例如Spiess C, Zhai Q, Carter PJ. Alternative molecular formats and therapeutic applications for bispecific antibodies. *Mol Immunol*. 2015年10月; 67 (2 Pt A): 95-106中所述。DVI-IgG(四合一)是与如上所述的多特异性IgG抗体形式组合的附加的IgG抗体形式。附加的多特异性IgG形式的一个潜在优势是它们可以使抗原同时结合到所有可变域,从而提供更高的特异性结合能力。

[0009] 与天然存在的抗体相比,多特异性抗体片段通常缺乏一个或多个恒定域。多特异性抗体片段包括纳米抗体;纳米抗体-HAS;BiTE;双抗体;DART;TandAb;sc双抗体;sc-双抗体-CH3;双抗体-CH3;三特异抗体;微型抗体(Miniantibody);微型特异抗体(Minibody);TriBi微型特异抗体;scFv-CH3 KIH;Fab-scFv;scFv-CH-CL-scFv;F(ab')₂;F(ab')₂-scFv₂;scFv-KIH;Fab-scFv-Fc;四价HCAb;sc双抗体-Fc;双抗体-Fc;串联scFv-Fc;和内抗体,例如Spiess C, Zhai Q, Carter PJ. Alternative molecular formats and therapeutic applications for bispecific antibodies. *Mol Immunol*. 2015年10月; 67 (2 Pt A): 95-106中所述。多特异性融合蛋白包括Dock和Lock;ImmTAC;HSAbody;sc双抗体-HAS;和串联scFv-毒素,例如Spiess C., Zhai Q. 和 Carter P.J. (2015) *Molecular Immunology* 67:95-106中所述,特别是图1和相应的描述,例如第95至101页中所述。多特异性抗体缀合物包括IgG-IgG;Cov-X-Body;和scFv1-PEG-scFv2,例如Spiess C., Zhai Q. 和 Carter P.J. (2015) *Molecular Immunology* 67:95-106中所述,特别是图1和相应的描述,例如第95至101页中所述。

[0010] 通常,根据设想的应用选择抗体形式。例如,在许多应用中,需要较长的药物半衰期。这通常可以通过包含Fc区来实现,而对于其他应用,短半衰期(因而没有Fc区)可能是有利的。此外,产量可能起一定作用,特别是因为已知通过在单个宿主细胞中共表达两条不同的轻链和重链来产生多特异性IgG抗体形式具有很高的挑战性并且可能导致抗体错配,而这可能很难去除。此外,许多抗体形式例如附加的IgG抗体形式通常都需要接头,以便为同

时结合不同的抗原提供足够的灵活性,但是接头的柔性性质可能会使它们更易于蛋白水解,从而可能导致不良的抗体稳定性、聚集性和增强的免疫原性。值得注意的是,对于某些应用,取决于该应用,抗体稳定性可能比结合能力更重要,反之亦然。此外,可以根据特异性来选择抗体形式,即某些抗原结合位点在某些抗体形式下可获得更好的产量、稳定性和/或结合值,而其他特异性在其他抗体形式下可获得更好的特性(例如,由于靶抗原的大小/结构/性质)。

[0011] 因此,需要提供不同特征的其他抗体形式。鉴于此,本发明的目的是提供具有附加功能的新型抗体形式,例如多特异性抗体或经工程改造以提供其他功能例如报道功能、易位功能或载体功能的抗体。新型抗体形式可以任选地与已知抗体形式组合,例如以获得具有多个结合位点的抗体或具有附加功能的双特异性抗体。这些目的通过下面和所附权利要求书中示出的主题来实现。

[0012] 尽管下面详细描述了本发明,但应理解的是,本发明不限于本文所述的特定方法、方案和试剂,因为它们可以变化。还应理解,本文使用的术语并不旨在限制本发明的范围,本发明的范围仅受所附权利要求的限制。除非另外定义,否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本领域普通技术人员通常理解的含义相同的含义。

[0013] 在下文中,将描述本发明的元素。这些元素与特定实施方案一起列出,但应该理解的是,它们可以以任何方式和任何数量组合以创建额外的实施方案。不同描述的实施例和优选实施方案不应被解释为将本发明限制为仅明确描述的实施方案。该描述应被理解为支持并涵盖将明确描述的实施方案与任何数量的所公开和/或优选元素相结合的实施方案。此外,除非上下文另外指出,否则应认为本申请的描述中公开了本申请中所有所描述元素的任何排列和组合。

[0014] 在整个本说明书和随后的权利要求书中,除非上下文另外要求,否则术语“包括”及其变体例如“包含”和“含有”应理解为暗示包括所述的构件、整数或步骤,但不排除任何其他未陈述的构件、整数或步骤。术语“由.....组成”或“组成为”是术语“包括”的特定实施方案,其中排除任何其他未陈述的构件、整数或步骤。在本发明的上下文中,术语“包括”涵盖术语“由.....组成”。因此,术语“包括”涵盖“包含”以及“由.....组成”,例如,“包含”X的组合物可以仅由X组成、或可以包含其他内容,例如X+Y。

[0015] 在描述本发明的上下文中(特别是在权利要求的上下文中),术语前不使用数量词限应被解释为涵盖单数和复数,除非本文中另有说明或者与上下文明显矛盾。本文中对数值范围的引用仅旨在用作单独提到落入该范围内的每个单独值的简写方法。除非本文另有说明,将每个单独的值并入本说明书中,如同其在本文中单独引用一样。说明书中的任何语言都不应解释为表示对于本发明的实践必不可少的任何未要求保护的要素。

[0016] 术语“基本上”不排除“完全”,例如,“基本上没有”Y的组合物可以完全没有Y。必要时,可以从本发明的定义中删除术语“基本上”。

[0017] 涉及数值x的术语“约”是指 $x \pm 10\%$ 。

[0018] 如本文所用,术语“肽”、“多肽”、“蛋白质”分别是指肽、寡肽或包括融合蛋白的蛋白质,其包含至少两个彼此相连的氨基酸,优选地通过正常的肽键彼此相连,或替代地,通过经修饰的肽键(例如在等构肽的情况下)彼此相连。特别地,术语“肽”、“多肽”、“蛋白质”还包括“肽模拟物”,其被定义为包含非肽结构元件的肽类似物,该肽能够模拟或拮抗天然

亲本肽的生物作用。肽模拟物缺乏经典的肽特征,例如酶促可裂解的肽键。肽、多肽或蛋白质可以由遗传密码确定的20种氨基酸中的任何构成。此外,除了这些氨基酸以外,肽、多肽或蛋白质还可以包含遗传密码确定的20种氨基酸以外的氨基酸,或可以由遗传密码确定的20种氨基酸以外的氨基酸构成。具体而言,本发明上下文中的肽、多肽或蛋白质同样可以由本领域技术人员熟知的通过自然过程如翻译后成熟过程或化学过程修饰的氨基酸组成。这些修饰在文献中有详细描述。这些修饰可以出现在多肽的任何位置:在肽骨架中、在氨基酸链中或甚至在羧基或氨基末端。特别地,肽或多肽可以在泛素化之后分支或在具有或没有分支的情况下是环状的。这种修饰可以是本领域技术人员众所周知的天然或合成的翻译后过程的结果。在本发明的上下文中,术语“肽”、“多肽”、“蛋白质”特别还包括经修饰的肽、多肽和蛋白质。例如,肽、多肽或蛋白质的修饰可包括乙酰化、酰化、ADP-核糖基化、酰胺化、核苷酸或核苷酸衍生物的共价固定、脂质或脂质衍生物的共价固定、磷脂酰肌醇的共价固定、共价或非共价交联、环化、二硫键形成、去甲基化、糖基化(包括聚乙二醇化)、羟基化、碘化、甲基化、肉豆蔻酰基化、氧化、蛋白水解过程、磷酸化、异戊二烯基化、外消旋化、硒化、硫化、氨基酸添加例如精氨酸或泛素化。此类修饰在文献(Proteins Structure and Molecular Properties (1993) 第二版, T.E. Creighton, New York; Post-translational Covalent Modifications of Proteins (1983) B.C. Johnson, 编辑, Academic Press, New York; Seifter等人(1990) Analysis for protein modifications and nonprotein cofactors, Meth. Enzymol. 182:626-646和Rattan等人, (1992) Protein Synthesis: Post-translational Modifications and Aging, Ann NY Acad Sci, 663:48-62)中有详细描述。因此,术语“肽”、“多肽”、“蛋白质”优选包括例如脂肽、脂蛋白、糖肽、糖蛋白等。

[0019] 然而,优选地,蛋白质、多肽或肽是“经典的”肽、多肽或蛋白质,其中“经典的”肽、多肽或蛋白质通常由选自遗传密码确定的20种氨基酸、彼此通过正常肽键相连的氨基酸构成。

[0020] 本文所用的术语“第一多肽链”是指与第二多肽(“第二多肽链”)连接的多肽。特别地,第一多肽链和第二多肽链通过二硫键相连。第一多肽链可包含一个、两个、三个抗体重链恒定域。在一个优选的实施方案中,其包含三个抗体重链恒定域:CH1、CH2和CH3,以及CH1和CH2之间的铰链区。所述重链恒定域可衍生自鼠、嵌合、合成、人源化或人以及单克隆或多克隆的抗体。第一多肽链可包含一个或多个可变域,优选抗体重链的可变域。

[0021] 本文所用的术语“第二多肽链”是指与第一多肽(“第一多肽链”)连接的多肽。特别地,第一多肽链和第二多肽链通过二硫键相连。第二条多肽链可包含抗体轻链恒定域CL。所述轻链恒定域可以衍生自鼠、嵌合、合成、人源化或人以及单克隆或多克隆的抗体。第二多肽链可包含一个或多个可变域,优选抗体轻链的可变域。

[0022] 通常,“抗体”是与抗原特异性结合的蛋白质。通常,抗体包含使其能够特异性结合其相应抗原的独特结构,但是,通常,抗体具有相似的结构,特别是也称为免疫球蛋白(Ig)。如本文所用,术语“抗体”涵盖各种形式的抗体,包括但不限于完整抗体、抗体片段,特别是抗原结合片段、人抗体、嵌合抗体、人源化抗体、重组抗体和基因工程化抗体(变体或突变抗体),只要保留本发明的特征即可。尽管说明书(包括权利要求书)在某些地方明确地提及抗原结合片段、抗体片段、抗体的变体和/或衍生物,但应理解的是,术语“抗体”包括所有类别的抗体,即抗原结合片段、抗体片段、抗体的变体和衍生物。

[0023] 如本文所用,术语“抗原结合片段”、“片段”和“抗体片段”可互换使用,指本发明抗体的任何片段,其保留(i)抗体的抗原结合活性以及(ii)由(附加)功能域提供的附加功能,例如由(独立的)结合位点提供的结合活性。在根据本发明的抗原结合片段中,保留了根据本发明的特征。通常,抗体片段的实例包括但不限于单链抗体、Fab、Fab'或F(ab')₂。抗体的片段可通过以下方法从抗体获得:用酶如胃蛋白酶或木瓜蛋白酶消化,和/或通过由化学反应造成的二硫键裂解。替代地,可以通过克隆和表达重链或轻链的部分序列来获得抗体的片段。此外,本文所用的术语“抗体”包括抗体及其抗原结合片段。

[0024] 如本文所用,术语“人抗体”旨在包括具有衍生自人免疫球蛋白序列的可变域和恒定域的抗体。人抗体在现有技术中是众所周知的(van Dijk,M.A.和van de Winkel,J.G.,*Curr.Opin.Chem.Biol.*5(2001)368-374)。人抗体也可以在转基因动物(例如小鼠)中产生,所述动物在免疫后能够在不产生内源性免疫球蛋白的情况下产生完整的人抗体库或选项。人种系免疫球蛋白基因阵列在此类种系突变小鼠中的转移将导致抗原攻击后产生人抗体(参见例如Jakobovits,A.,等人,*Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 90(1993)2551-2555;Jakobovits,A.,等人,*Nature* 362(1993)255-258;Bruggemann,M.,等人,*Year Immunol.*7(1993)3340)。人抗体也可以在噬菌体展示文库中产生(Hoogenboom,H.R.,和Winter,G.,*J.Mol.Biol.*227(1992)381-388;Marks,J.D.,等人,*J.Mol.Biol.*222(1991)581-597)。Cole等人和Boerner等人的技术也可用于制备人单克隆抗体(Cole等人,*Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*,Alan R.Liss,第77页(1985)和Boerner,P.,等人,*J.Immunol.*,147(1991)86-95)。优选地,通过使用改良的永生化EBV-B细胞来制备人单克隆抗体,如Traggiai E,Becker S,Subbarao K,Kolesnikova L,Uematsu Y,Gismondo MR,Murphy BR,Rappuoli R,Lanzavecchia A.(2004):An efficient method to make human monoclonal antibodies from memory B cells:potent neutralization of SARS coronavirus.*Nat Med.*10(8):871-5中所述。如本文所用,术语“人抗体”还包含经修饰以产生如本文所述的根据本发明的性质的此类抗体。

[0025] 本发明的抗体可以以纯化形式提供。因此,根据本发明的抗体或其抗原结合片段可以是纯化的抗体或抗原结合片段。通常,抗体将存在于基本上不含其他多肽的组合物中,例如,其中少于90重量%,通常少于60重量%,更通常少于50重量%的组合物由其他多肽构成。

[0026] 如本文使用的术语“可变域”(也称为“可变区”;轻链可变域(VL)、重链可变域(VH))指抗体或其抗原结合片段的结构域,其是经典天然抗体中的N端结构域,通常是在经典天然抗体中提供最高可变性的结构域,并且直接参与抗体与抗原的结合。通常,可变人轻链结构域和可变人重链结构域具有相同的一般结构,并且每个结构域均包含具有广泛保守序列的框架(FR)区(特别是四个框架(FR)区)和三个“高变区”或互补决定区CDR(特别是三个“高变区”/CDR)。框架区通常采用 β -折叠构象,并且CDR可以形成连接 β -折叠结构的环。每条链中的CDR通常被框架区保持在其三维结构中,并与来自另一条链的CDR一起形成抗原结合位点。

[0027] 如本文所用,术语“高变区”是指负责抗原结合的抗体的氨基酸残基。高变区包括“互补决定区”或“CDR”。“框架”区或“FR”区是除本文定义的高变区残基以外的那些可变域区域。CDR和FR区可以根据Kabat等人,*Sequences of Proteins of Immunological*

Interest, 第五版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991) 的标准定义来确定。通常, 特别是在天然单特异性IgG抗体中, 三个CDR (CDR1、CDR2和CDR3) 非连续地排列在可变域中。换句话说, 重链和/或轻链上的CDR可以例如被框架区分开, 其中框架区 (FR) 是可变域中比CDR具有更少“可变性”的区域。例如, 在抗体中, 可变域 (或每个可变域分别地) 可优选包含被三个CDR分开的四个框架区。特别地, 抗体的可变域 (轻链或重链可变域VH或VL) 从N端到C端包含结构域FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。每条链上的CDR被这种框架氨基酸分开。通常, 重链的三个CDR和连接的轻链的三个CDR一起形成抗原结合位点 (互补位)。换句话说, 由于特别是在天然单特异性IgG抗体中, 抗原结合位点通常由两个可变域构成, 因此每个抗原结合位点有六个CDR (重链: CDRH1、CDRH2和CDRH3; 轻链: CDRL1、CDRL2和CDRL3)。单个抗体, 特别是单个天然单特异性IgG抗体, 通常具有两个 (相同的) 抗原结合位点, 因此包含十二个CDR (即 2×6 个CDR)。

[0028] 由于多特异性抗体的“多特异性”, 即不同的抗原结合位点, 多特异性抗体的重链和/或轻链或其抗原结合片段可以 (各自) 包含三个以上的CDR, 特别是三个以上的不同CDR。例如, 多特异性抗体或其抗原结合片段可包含至少两个不同的可变域, 其中所述至少两个不同的可变域中的每一个均衍生自不同的单特异性抗体, 例如IgG型单特异性抗体。由于这种单特异性抗体通常在重链中包含三个CDR, 在轻链中包含三个CDR, 从而形成抗原结合位点, 因此根据本发明的多特异性抗体可以特别地包含第一抗体的重链的三个CDR和第一抗体的轻链的三个CDR, 第二抗体的重链的三个CDR和第二抗体的轻链的三个CDR, 任选地, 第三抗体的重链的三个CDR和第三抗体的轻链的三个CDR等。因此, 多特异性抗体的重链和/或轻链所包含的CDR的数目优选为三的倍数, 例如三个、六个、九个, 十二个等。因此, 还优选地, 多特异性抗体的重链和轻链两者所包含的CDR的总和是六的倍数, 例如六个、十二个、十八个等。由于“抗原结合位点”通常以CDR即CDRH1、CDRH2和CDRH3以及CDRL1、CDRL2和CDRL3为特征, 因此在本发明的多特异性抗体中, CDR的排列方式优选为保持该顺序 (例如, 衍生自同一单特异性抗体的CDRH1、CDRH2和CDRH3和/或CDRL1、CDRL2和CDRL3) 以保留抗原结合位点, 即保留特异性结合至抗原中某个位点的能力。这意味着例如衍生自第一单特异性抗体的CDRH1、CDRH2和CDRH3在氨基酸序列中的顺序优选不被任何衍生自第二单特异性抗体的CDR打断。重要的是, 如果多特异性抗体包含衍生自至少两种不同的单特异性抗体的抗原结合位点, 则在根据本发明的多特异性抗体中排列这些单特异性抗体的CDR或可变域, 以使得衍生CDR (或可变域) 的每种单特异性抗体的“抗原接受位”被保留, 即其与抗原中特定位点特异性结合的能力被保留。

[0029] 在本发明的上下文中, 可变域可以是天然存在的抗体的任何可变域 (特别是VH和/或VL), 或可变域可以是经修饰的/工程化的可变域。经修饰的/工程化的可变域是本领域已知的。通常, 例如通过“种系化”体细胞突变 (“去除”体细胞突变) 或通过人源化来修饰的/改造可变域以删除或添加一种或多于一种功能。

[0030] 如本文所用, 术语“恒定域”是指不直接参与抗体与抗原的结合但表现出多种效应功能的抗体结构域。通常, 根据免疫球蛋白类别, 重链包含三个或四个恒定域: CH1、CH2、CH3和任选的CH4 (在N端至C端方向)。因此, 重链的恒定区通常通过以下方式形成 (在N端至C端方向): CH1-铰链 (在重链第一恒定域和第二恒定域之间的包含氨基酸的柔性多肽) -CH2-CH3 (-CH4)。轻链通常仅包含一个单一恒定域, 称为CL, 其通常还形成轻链的恒定区。在本发

明的上下文中,恒定域可以是天然存在的抗体的任何恒定域(特别是CL、CH1、CH2、CH3和/或CH4),或者恒定域可以是经修饰的/工程化的恒定域。经修饰的/工程化的恒定域是本领域已知的。通常,例如在涉及Fc区的功能性的上下文中,对恒定域进行修饰/工程化以删除或添加一种或多于一种功能。根据抗体或免疫球蛋白的重链恒定区的氨基酸序列,抗体或免疫球蛋白分为以下类别:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,其中的一些可以进一步分为亚类,例如IgG1、IgG2、IgG3和IgG4,IgA1和IgA2。对应于不同类别的免疫球蛋白的重链恒定区分别称为 α 、 ϵ 、 γ 和 μ 。根据本发明的抗体优选是IgG类型。

[0031] 通常,抗体可以是任何同种型(例如,IgA、IgG、IgM,即 α 、 γ 或 μ 重链),但优选是IgG。在IgG同种型中,抗体可以是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4亚类,其中IgG1是优选的。抗体可具有 κ 或 λ 轻链。

[0032] 如本文所用,术语“重组抗体”旨在包括自然界中不存在的所有抗体,例如使用转染至宿主细胞中的重组表达载体(例如,提供一个或多于一个恒定域)所表达的抗体。

[0033] 如本文所用,在抗体或其抗原结合片段的上下文中,术语“多特异性”是指抗体或抗原结合片段结合例如不同抗原或同一抗原上的至少两种不同表位的能力。因此,诸如“双特异性”、“三特异性”、“四特异性”等术语是指抗体可以结合的不同表位的数目。例如,常规的单特异性IgG型抗体具有两个相同的抗原结合位点(互补位),因此仅可以结合相同的表位(而不是结合不同的表位)。相比之下,多特异性抗体具有至少两种不同类型的互补位/结合位点,因此可以结合至少两种不同的表位。如本文所用,“互补位”是指抗体的抗原结合位点。此外,单个“特异性”可以指单个抗体中的一个、两个、三个或多于三个相同的互补位(一个单个抗体分子中的互补位/结合位点的实际数量称为“价”)。例如,单个天然IgG抗体是单特异性和二价的,因为它具有两个相同的互补位。相应地,多特异性抗体包含至少两种(不同的)互补位/结合位点。因此,术语“多特异性抗体”是指具有多于一个互补位并具有结合两种或多于两种不同表位的能力的抗体。术语“多特异性抗体”特别地包括如上文所定义的双特异性抗体,但是通常还包括蛋白质,例如特别结合三种或多于三种不同的表位的抗体、支架,即具有三种或多于三种互补位/结合位点的抗体。

[0034] 特别地,多特异性抗体或其抗原结合片段可以包含两个或多于两个互补位/结合位点,其中一些互补位/结合位点可以是相同的,以使得抗体的所有互补位/结合位点属于至少两种不同的互补位/结合位点类型,因此抗体具有至少两种特异性。例如,多特异性抗体或其抗原结合片段可包含四个互补位/结合位点,其中每两个互补位/结合位点是相同的(即具有相同的特异性),因此,抗体或其片段是双特异性和四价的(两个相同的互补位/结合位点对应两种特异性中的每种)。因此,“一种特异性”特别是指表现出相同特异性的一个或多于一个互补位/结合位点(这通常意味着这样的—一个或多于一个互补位/结合位点是相同的),因此,“两种特异性”可以通过两个、三个、四个、五个、六个或多于六个互补位/结合位点来实现,只要它们仅指两个特异性即可。替代地,多特异性抗体可针对(至少两种)特异性中的每一种包含一个单个互补位/结合位点,即多特异性抗体总共包含至少两个互补位/结合位点。例如,双特异性抗体对于两种特异性中的每一种包含一个单个互补位/结合位点,即该抗体总共包含两个互补位/结合位点。抗体还优选针对两种特异性的每一种包含两个(相同的)互补位/结合位点,即抗体总共包含四个互补位/结合位点。优选地,抗体针对两种特异性的每一种包含三个(相同的)互补位/结合位点,即抗体总共包含六个互补位/结合

位点。

[0035] 如本文所用,术语“抗原”是指充当适应性免疫应答受体的靶标,特别是充当抗体、T细胞受体和/或B细胞受体的靶标的任何结构性物质。“表位”也称为“抗原决定簇”,是被免疫系统,特别是被抗体、T细胞受体和/或B细胞受体识别的抗原的部分(或片段)。因此,一种抗原具有至少一种表位,即单个抗原具有一个或多于一个表位。抗原可以是(i)肽、多肽或蛋白质,(ii)多糖,(iii)脂质,(iv)脂蛋白或脂肽,(v)糖脂,(vi)核酸,或(vii)小分子药物或毒素。因此,抗原可以是肽、蛋白质、多糖、脂质、其组合,包括脂蛋白和糖脂、核酸(例如DNA、siRNA、shRNA、反义寡核苷酸、诱饵DNA、质粒)或小分子药物(例如环孢霉素A、紫杉醇、阿霉素、甲氨蝶呤、5-氨基乙酰丙酸)或其任何组合。优选地,抗原选自(i)肽、多肽或蛋白质,(ii)多糖,(iii)脂质,(iv)脂蛋白或脂肽,和(v)糖脂;更优选地,抗原是肽、多肽或蛋白质。

[0036] 本文使用的术语“抗原结合位点”是指包含与抗原的部分或全部特异性结合并互补的区域的抗体部分。在抗原较大的情况下,抗体只能与抗原的特定部分结合,该部分称为“表位”。通常,两个可变域,特别是重链可变域VH和轻链可变域VL,缔合形成一个抗原结合位点。特别地,如上所述,抗原结合位点由重链可变域的三个CDR和轻链可变域的三个CDR一起形成,即由六个CDR形成。

[0037] 术语“特异性结合”和类似用语不包括非特异性黏附。

[0038] 本文使用的术语“接头”(也称为“间隔物”)是指适于连接多肽或蛋白质例如抗体或其抗原结合片段的不同结构域的肽。接头在本领域中是已知的,并在例如Reddy Chichili VP,Kumar V,Sivaraman J.Linkers in the structural biology of protein-protein interactions.Protein Science:A Publication of the Protein Society.2013;22(2):153-167中有详细描述。通常,接头的设计不会影响功能。特别地,接头不会特异性结合靶标。接头可包含任何氨基酸,氨基酸甘氨酸(G)和丝氨酸(S)可以是优选的。优选地,接头由氨基酸甘氨酸(G)和丝氨酸(S)组成(“GS-接头”)。如果一种多肽或蛋白质中存在两个或多于两个接头,则这些接头可以彼此相同或不同。此外,接头的长度可以是1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个或20个氨基酸。

[0039] 如本文所用,术语“核酸或核酸分子”旨在包括DNA分子和RNA分子。核酸分子可以是单链的或双链的。

[0040] 如本文所用,术语“细胞”、“细胞系”和“细胞培养物”可互换使用,并且所有此类名称均包括后代。因此,词语“转化体”和“转化的细胞”包括原代对象细胞和从其衍生的培养物,且与转化次数无关。还应理解的是,由于故意或无意的突变,所有后代的DNA内容物可能不完全相同。包括在最初转化的细胞中筛选出的具有相同功能或生物活性的变异后代。如果旨在使用不同的指代,则从上下文中可以清楚地看出。

[0041] 如本文所用,“序列变体”(也称为“变体”)是指参考序列中的任何改变,其中参考序列是“序列和SEQ ID编号表”(序列表)中列出的任何序列,即SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:133。因此,术语“序列变体”包括核苷酸序列变体和氨基酸序列变体。值得注意的是,本文所指的序列变体特别是功能性序列变体,即维持例如抗体的生物学功能的序列变体。在本发明的上下文中优选的维持的生物学功能包括(i)抗体与其抗原的结合和(ii)由(附加)功能

域提供的功能,例如(独立的)结合位点与其靶标的结合。因此,优选的序列变体是与参考序列具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少88%、至少90%、至少92%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的功能性序列变体。本文所用的短语“具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少88%、至少90%、至少92%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的功能性序列变体”指(i)序列变体如本文所述行使功能,并且(ii)序列同一性百分比越高,则序列变体越优选。换句话说,短语“具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少88%、至少90%、至少92%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的功能性序列变体”特别指功能性序列变体与各自的参考序列具有至少70%的序列同一性,优选至少75%的序列同一性,优选至少80%的序列同一性,更优选至少85%的序列同一性,更优选至少88%的序列同一性,甚至更优选至少90%的序列同一性,甚至更优选至少92%的序列同一性,还更优选至少95%的序列同一性,还更优选至少96%的序列同一性,特别优选至少97%的序列同一性,特别优选至少98%的序列同一性,最优选至少99%的序列同一性。

[0042] 术语“序列变体”特别包括与参考序列相比包含突变和/或置换的变体。Fc部分序列的示例性变体包括但不限于在位置CH24、CH25或两者具有L置换为A的那些变体。

[0043] 通常根据参考序列(即本申请中所述的序列)的全长来计算序列同一性。如本文所指,百分比同一性可以例如使用BLAST采用由NCBI(美国国家生物技术信息中心;<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)指定的默认参数[Blosum 62矩阵;空位开放罚分=11,空位延伸罚分=1]来确定。

[0044] 如本文所用,“核苷酸序列变体”具有改变的序列,其中将参考序列中的一个或多个核苷酸删除或置换,或将一个或多个核苷酸插入参考核苷酸序列的序列中。核苷酸在本文中用标准的一个字母表示(A、C、G或T)。由于遗传密码的简并性,“核苷酸序列变体”可以导致相应的参考氨基酸序列的改变,即“氨基酸序列变体”或不改变。优选的序列变体是不产生氨基酸序列变体(沉默突变)的核苷酸序列变体,但是其他非沉默突变也在范围内,特别是突变核苷酸序列,其产生与参考序列具有至少80%,优选至少90%,更优选至少95%序列同一性的氨基酸序列。

[0045] “氨基酸序列变体”具有改变的序列,其中将参考序列中的一个或多个氨基酸删除或置换,或将一个或多个氨基酸插入参考氨基酸序列的序列中。作为改变的结果,该氨基酸序列变体具有与参考序列具有至少80%同一性,优选至少90%同一性,更优选至少95%同一性,最优选至少99%同一性的氨基酸序列。具有至少90%同一性的变体序列相对于参考序列的每100个氨基酸具有不超过10个改变,即缺失、插入或置换的任意组合。

[0046] 尽管可以具有非保守的氨基酸置换,但优选地,置换是保守的氨基酸置换,其中置换的氨基酸与参考序列中相应的氨基酸具有相似的结构或化学性质。举例来说,保守的氨基酸置换涉及用一种脂肪族或疏水性氨基酸置换另一种脂肪族或疏水性氨基酸例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸;用一种含羟基的氨基酸置换另一种含羟基的氨基酸例如丝氨酸和苏氨酸;用一种酸性氨基酸置换另一种酸性氨基酸残基例如谷氨酸或天冬氨酸;用一种含酰胺的氨基酸置换另一种含酰胺的氨基酸残基例如天冬酰胺和谷氨酰胺;用一种芳香族氨基酸置换另一种芳香族氨基酸残基例如苯丙氨酸和酪氨酸;用一种碱性氨基酸置换另一种碱性氨基酸残基例如赖氨酸、精氨酸和组氨酸;用一种小氨基酸置换另一种小氨基

酸例如丙氨酸、丝氨酸、苏氨酸、蛋氨酸和甘氨酸。

[0047] 氨基酸序列插入包括长度为一个残基到含有一百个或多于一百个残基的多肽的氨基和/或羧基末端融合,以及单个或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的实例包括氨基酸序列的N端或C端与报告分子或酶的融合。

[0048] 重要的是,在本申请中,序列变体的改变不消除相应参考序列的功能,例如抗体序列或其抗原结合片段结合其抗原的功能和/或功能域提供的附加功能,例如结合(独立)结合位点的靶标的附加功能。通过使用本领域众所周知的计算机程序,可以找到在不消除这种功能的情况下分别确定哪些核苷酸和氨基酸残基可以被置换、插入或删除的指导。

[0049] 如本文所用,核酸序列或氨基酸序列“衍生自”指定的核酸、肽、多肽或蛋白质是指核酸、肽、多肽或蛋白质的来源。优选地,衍生自特定序列的核酸序列或氨基酸序列具有与衍生该序列的序列或其部分基本相同的氨基酸序列,由此“基本相同”包括如上定义的序列变体。优选地,衍生自特定肽或蛋白质的核酸序列或氨基酸序列衍生自特定肽或蛋白质中的相应结构域。由此,“相应”特别是指相同的功能。例如,“细胞外结构域”对应于(另一种蛋白质的)另一种“细胞外结构域”,或“跨膜结构域”对应于(另一种蛋白质的)另一种“跨膜结构域”。肽、蛋白质和核酸的“相应”部分因此对于本领域普通技术人员而言是容易确定的。同样,“衍生自”其他序列的序列由于其来源于该序列通常容易被本领域普通技术人员确定。

[0050] 优选地,衍生自另一种核酸、肽、多肽或蛋白质的核酸序列或氨基酸序列可以与(衍生它的)起始核酸、肽、多肽或蛋白质相同。然而,衍生自另一种核酸、肽、多肽或蛋白质的核酸序列或氨基酸序列也可以相对于(衍生它的)起始核酸、肽、多肽或蛋白质具有一个或多个突变,特别地,衍生自另一种核酸、肽、多肽或蛋白质的核酸序列或氨基酸序列可以是如上所述的(衍生它的)起始核酸、肽、多肽或蛋白质的功能性序列变体。例如,在肽/蛋白质中,一个或多个氨基酸残基可以被其他氨基酸残基置换,或一个或多个氨基酸残基可以被插入或删除。

[0051] 如本文所用,术语“突变”是指与参考序列例如相应的基因组序列相比,核酸序列和/或氨基酸序列的变化。例如与基因组序列相比,突变可以是例如(天然存在的)体细胞突变、自发突变、诱导突变,例如由酶、化学物质或辐射引起的诱导突变,或通过定点诱变获得的突变(用于在核酸序列和/或氨基酸序列中进行特异性和有意改变的分子生物学方法)。因此,术语“突变”应被理解为还包括例如在核酸序列或氨基酸序列中用物理的方式进行突变。突变包括一个或多个核苷酸或氨基酸的置换、缺失和插入,以及几个(两个或多个)连续核苷酸或氨基酸的倒位。为了实现氨基酸序列的突变,优选可以将突变引入编码所述氨基酸序列的核苷酸序列中,以表达(重组)突变的多肽。突变可以例如通过例如定点诱变从而改变编码一个氨基酸的核酸分子的密码子以产生编码不同氨基酸的密码子来实现,或通过合成序列变体来实现,例如通过知晓编码多肽的核酸分子的核苷酸序列,并且通过设计包含编码多肽变体的核苷酸序列的核酸分子的合成而无需突变核酸分子的一个或多个核苷酸来实现。

[0052] 在本发明的上下文中使用的术语“疾病”意在通常与术语“病症”和“症状”(如在医学病况中)同义,并可互换使用,因为所有这些都反映了人类或动物身体或其一个部分的正常功能受损的异常状况,并且通常通过有区别的病症和症状来表现,并导致人类或动物具

有缩短的生命持续时间或降低的生活质量。

[0053] 在本说明书的全文中引用了若干文献。无论是上文还是下文，本文引用的每个文件(包括所有专利、专利申请、科学出版物、制造商的说明书、说明等)均通过引用全文并入本文。本文中的任何内容均不应被解释为承认本发明无权享有先于先前发明的公开内容的权利。

[0054] 应当理解的是，本发明不限于这里描述的特定方法、方案和试剂，因为它们可以变化。还应理解，本文使用的术语仅用于描述特定实施方案的目的，并不意图限制本发明的范围，本发明的范围仅受所附权利要求的限制。除非另外定义，否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本领域普通技术人员通常理解的含义相同的含义。

[0055] 在肘区具有功能域的抗体和抗原结合片段

[0056] 在第一方面，本发明提供了包含第一多肽链和第二多肽链的抗体或其抗原结合片段，

[0057] 其中所述第一多肽链在N端至C端的方向包含

[0058] (i) 一个或多个可变域；

[0059] (ii) (附加) 功能域；和

[0060] (iii) 一个或多个恒定域；和

[0061] 其中所述第二多肽链在N端至C端的方向包含

[0062] (iv) 一个或多个可变域，其与第一多肽链的一个或多个可变域(i) 形成抗原结合位点；

[0063] (v) 任选的(附加) 功能域；和

[0064] (vi) 一个或多个恒定域，

[0065] 其特征在于，第一多肽链的(附加) 功能域(ii) 不包含第二多肽链的片段，并且第二多肽链的任选的(附加) 功能域(v) 不包含第一多肽链的片段。

[0066] 本发明基于令人惊讶的发现，即将(附加) 功能域插入抗体的肘区，即可变域和最N端恒定域之间，特别是可变域和CH1或CL之间。图1A显示了具有箭头指示的肘区的经典天然存在的抗体。本发明人出人意料地发现，在肘区中改造以包含这样的附加功能域的抗体可以例如同时结合(1) 由其可变域靶向的抗原和(2) 由引入抗体肘区的结合位点靶向的附加靶标，如本文所述的实施例所示。与现有技术的多特异性抗体形式(其通过以下方式获得附加结合位点：将重链/轻链对替换为另一具有不同特异性的重链/轻链对(如上述的多特异性IgG抗体形式，其对于每种特异性通常是单价的) 或在重链或轻链的N端或C端附加额外的结合位点(如上述的附加的IgG抗体形式) 相比，在本发明的抗体中，将附加功能域，例如附加结合位点(特异性) 插入重链和/或轻链中，即插入肘区中。令人惊讶的是，所插入的功能域如结合位点的可变域(例如VH) N端仍与另一多肽链的相应可变域(例如VL) 形成全功能性抗原结合位点，即使另一多肽链在肘部未修饰。这同样适用于多特异性抗体：尽管插入了功能域，所插入的功能域的可变域N端仍与另一多肽链中的相应可变域结合，形成功能性抗原结合位点(例如，一条多肽链上的VH1-VH2与另一条多肽链上的VL1-VL2，等)。

[0067] 因此，根据本发明的抗体及其抗原结合片段被称为“肘内插入型(In-Elbow-Insert)” Ig分子(“IEI-Ig”)。本发明人的发现的重要意义反映在以下事实中：该发现产生了多种新的抗体形式，如图1所示。根据本发明的IEI-Ig抗体及其抗原结合片段可以基于经

典的天然存在的抗体,如图1B所示,或者可以与其他(多特异性)抗体形式组合以获得具有更高特异性的新抗体形式,如图1C所示。

[0068] 例如,为了获得根据本发明的抗体,经典的单特异性抗体,优选人单克隆抗体,可以用作“支架”抗体,并将附加功能域例如结合位点插入支架抗体的重链和/或轻链的肘区(即,可变域和最N端恒定域之间,特别是分别在可变域的C端和CH1的N端之间和/或可变域的C端和CL的N端之间)。在其他实例中,经典单特异性抗体的片段,优选人单克隆抗体的片段(其包含(i)至少两条多肽链,例如重链和轻链,和(ii)在每条多肽链中的至少一个可变域和恒定域)可以用作“支架抗体”,并且将功能域例如结合位点插入到支架抗体片段的第一多肽链和/或第二多肽链的肘区。此类抗体片段的优选实例包括Fab、Fab'和F(ab')₂,所述抗体片段可用作支架以通过将功能域例如结合位点插入肘区而获得根据本发明的抗体。此外,任何重组抗体或其片段,例如多特异性抗体,特别是双特异性抗体或其片段(其包含(i)至少两条多肽链,例如重链和轻链,和(ii)在每条多肽链中的至少一个可变域和恒定域)也可以用作“支架抗体”,并且将功能域例如结合位点插入到重组支架抗体(片段)的第一多肽链和/或第二多肽链的肘区。

[0069] 可用作支架抗体的抗体的优选实例包括抗体GCE536(VH.:SEQ ID NO:1、VL:SEQ ID NO:2、重链恒定区:SEQ ID NO:3、轻链恒定区:SEQ ID NO:4;Piecoli,L.,等人Neutralization and clearance of GM-CSF by autoantibodies in pulmonary alveolar proteinosis.Nature communications 6,7375(2015));“C1”(参见实施例1;VH:SEQ ID NO:5、VL:SEQ ID NO:6、重链恒定区:SEQ ID NO:3、轻链恒定区:SEQ ID NO:7);“C1b”(VH:SEQ ID NO:8、VL:SEQ ID NO:9、重链恒定区:SEQ ID NO:3、轻链恒定区:SEQ ID NO:4)和FI174(VH.:SEQ ID NO:10、VL:SEQ ID NO:11、重链恒定区:SEQ ID NO:3、轻链恒定区:SEQ ID NO:4;Pappas,L.,等人Rapid development of broadly influenza neutralizing antibodies through redundant mutations.Nature 516,418-422(2014))。

[0070] 根据本发明的抗体或其抗原结合片段也可以通过克隆技术获得,例如通过商业上可获得的IgG载体或包含例如重链和/或轻链的恒定域/恒定区的载体组获得。例如,可以将第一抗体的相应可变域,例如重链和轻链可变域VH和VL克隆到由载体提供的相应多肽链中;并且,另外可以将附加功能域克隆到第一多肽链和/或第二多肽链中,使得其位于(最C端)可变域和(最N端)恒定域之间,即位于肘区。

[0071] 根据本发明的抗体的第一多肽链和多肽链/或第二多肽链或其抗原结合片段包含(附加)功能域。特别地,“功能域”是通过(常规的)肽键与抗体或抗原结合片段的多肽链的相邻结构域连接的肽或多肽。特别地,(附加)功能域的N端与(最C端)可变域的C端通过肽键连接,(附加)功能域的C端与(最N端)恒定域的N端通过肽键连接。

[0072] 通常,术语“功能域”是指功能单元,例如抗体或抗原结合片段的功能单元。通常,功能域为蛋白质例如抗体或抗原结合片段提供(附加)功能。因此,(附加)功能域通常包含提供(附加)功能所需的所有氨基酸/序列。特别地,第一多肽链的(附加)功能域(ii)不包含第二多肽链的片段,并且第二多肽链的任选的(附加)功能域(v)不包含第一多肽链的片段。换句话说,第二多肽链(特别是其任何片段,例如甚至是单个氨基酸)既不需要也不涉及第一多肽链的(附加)功能域(的功能)。此外,如果第二多肽链也包含(附加)功能域,则第一多

肽链(特别是其任何片段,例如甚至单个氨基酸)既不需要也不涉及第二多肽链的(附加)功能域(的功能)。相反,第一多肽链和/或第二多肽链的(附加)功能域的功能所需或所涉及的所有氨基酸(氨基酸序列)都包含在该多肽链本身的(附加)功能域中,即不需要/不涉及其他多肽链的片段或氨基酸。因此,(附加)功能域例如不同于由第一多肽链的可变域与第二多肽链的可变域一起形成的抗原结合位点。换句话说,(附加)功能域例如不同于由两种不同多肽链的可变域形成的抗原结合位点(然而,如果所涉及的可变域位于单个多肽链上,则(附加)功能域可以仍然包含抗原结合位点,如下面更详细描述)。

[0073] 特别优选地,第一多肽链和/或第二多肽链的(附加)功能域包含或组成为Ig样结构域;例如蛋白质或(多)肽的Ig样结构域,例如下面举例说明的。免疫球蛋白(Ig)分子的基本结构是通过二硫键连接的两条轻链和两条重链的四聚体。轻链有两种类型: κ 和 λ ,每种轻链由恒定域(CL)和可变域(VL)组成。重链共有五种类型: α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ ,其均由可变域(VH)和三个(α 、 δ 和 γ)或四个(ϵ 和 μ)恒定域(CH1至CH4)组成。Ig分子是高度模块化的蛋白质,其中可变域和恒定域具有清晰、保守的序列模式。Ig和Ig样分子中的结构域分为四种类型:V组(可变)、C1组(恒定1)、C2组(恒定2)和I组(中间)。结构研究表明,这些结构域具有共同的核心希腊键 β -夹层结构,各类型的区别在于 β -折叠中的链数以及它们的序列模式。序列和结构相关的免疫球蛋白样结构域可以存在于几种不同的蛋白质家族。Ig样结构域涉及多种功能,包括细胞-细胞识别、细胞表面受体、肌肉结构和免疫系统。

[0074] Ig样结构域的优选实例包括以下蛋白质或(多)肽中的任何一种的Ig样结构域:A1BG(α -1-B糖蛋白)、ACAM、ADAMTSL1(ADAMTS样1)、ADAMTSL3(ADAMTS样3)、AGER(晚期糖基化终产物特异性受体)、ALCAM(活化的白细胞黏附分子)、ALPK3(α 激酶3)、AMIG01(具有Ig样结构域1的黏附分子)、AMIG02(具有Ig样结构域2的黏附分子)、AMIG03(具有Ig样结构域3的黏附分子)、AXL(AXL受体酪氨酸激酶)、BCAM(基底细胞黏附分子(Lutheran血型))、BOC(与BOC细胞黏附相关,致癌基因调节)、BSG(basigin(Ok血型))、BTLA(与B淋巴细胞和T淋巴细胞相关)、C10orf72、C20orf102、CADM1(细胞黏附分子1)、CADM3(细胞黏附分子3)、CADM4(细胞黏附分子4)、CCDC141(含卷曲螺旋结构域141)、CD2、CD3、CD4、CD8、CD19、CD22、CD33、CD47、CD48、CD80、CD84、CD86、CD96、CD101、CD160、CD200、CD244、CD276、CDON(与细胞黏附相关,致癌基因调节)、CEACAM1(与癌胚抗原相关的细胞黏附分子1)、CEACAM5(与癌胚抗原相关的细胞黏附分子5)、CEACAM6(与癌胚抗原相关的细胞黏附分子6)、CEACAM7(与癌胚抗原相关的细胞黏附分子7)、CEACAM8(与癌胚抗原相关的细胞黏附分子8)、CEACAM16(与癌胚抗原相关的细胞黏附分子16)、CEACAM18(与癌胚抗原相关的细胞黏附分子18)、CEACAM20(与癌胚抗原相关的细胞黏附分子20)、CEACAM21(与癌胚抗原相关的细胞黏附分子21)、CHL1(细胞黏附分子L1样)、CILP(软骨中间层蛋白)、CILP2(软骨中间层蛋白2)、CLMP(CXADR样膜蛋白)、CNTFR(睫状神经营养因子受体)、CNTN1(接触素1)、CNTN2(接触素2)、CNTN3(接触素3)、CNTN4(接触素4)、CNTN5(接触素5)、CNTN6(接触素6)、CSF1R(集落刺激因子1受体)、CXADR(CXADR,Ig样细胞黏附分子)、DSCAM(DS细胞黏附分子)、DSCAML1(DS细胞黏附分子样1)、EMB(embigin)、ESAM(内皮细胞黏附分子)、F11R(F11受体)、FAIM3、FCMR(IgM受体的Fc片段)、HMCN1(半椎蛋白1)、HMCN2(半椎蛋白2)、FCAR(IgA受体的Fc片段)、FCER1A(IgE受体Ia的Fc片段)、FCGR1A(IgG受体Ia的Fc片段)、FCGR1B(IgG受体Ib的Fc片段)、FCGR1CP(IgG受体Ic的Fc片段,假基因)、FCGR2A(IgG受体IIa的Fc片段)、FCGR2B(IgG受体IIb的Fc片段)、

FCGR2C (IgG受体IIc的Fc片段)、FCGR3A (IgG受体IIIa的Fc片段)、FCGR3B (IgG受体IIIb的Fc片段)、FCRH1、FCRH3、FCRH4、FCRL1 (Fc受体样1)、FCRL2 (Fc受体样2)、FCRL3 (Fc受体样3)、FCRL4 (Fc受体样4)、FCRL5 (Fc受体样5)、FCRL6 (Fc受体样6)、FCRLA (Fc受体样A)、FCRLB (Fc受体样B)、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFRL1、FLT1 (fms相关酪氨酸激酶1)、FLT3 (fms相关酪氨酸激酶3)、FLT4 (fms相关酪氨酸激酶4)、FSTL4 (卵泡抑素样4)、FSTL5 (卵泡抑素样5)、GP6 (糖蛋白VI血小板)、GPA33 (糖蛋白A33)、GPR116、GPR125、ADGRF5 (黏附G蛋白偶联受体F5)、ADGRA2 (黏附G蛋白偶联受体A2)、hEMMPRIN、HEPACAM (肝和神经胶质细胞黏附分子)、HEPACAM2 (HEPACAM家庭成员2)、HLA-DMA、HLA-DMB、HLA-DQB、HLA-DQB1、HNT、HSPG2 (硫酸乙酰肝素蛋白聚糖2)、HYST2477、ICAM1 (细胞间黏附分子1)、ICAM2 (细胞间黏附分子2)、ICAM3 (细胞间黏附分子3)、ICAM4 (细胞间黏附分子4 (Landsteiner-Wiener血型))、ICAM5 (细胞间黏附分子5)、DCC (DCC神经导向因子1受体)、NEO1 (再生蛋白1)、IGHA1、IGHD、IGHE、IGDCC4 (免疫球蛋白超家族DCC亚类成员4)、IGLON5 (IgLON家族成员5)、IGSF1 (免疫球蛋白超家族成员1)、IGSF2 (免疫球蛋白超家族成员2)、IGSF3 (免疫球蛋白超家族成员3)、IGSF5 (免疫球蛋白超家族成员5)、IGSF9 (免疫球蛋白超家族成员9)、IGSF9B (免疫球蛋白超家族成员9B)、IGSF10 (免疫球蛋白超家族成员10)、IGSF11 (免疫球蛋白超家族成员11)、IGSF21 (免疫球蛋白超家族成员21)、IGSF23 (免疫球蛋白超家族成员23)、IL1R1 (白介素1受体1型)、IL1R2 (白介素1受体2型)、IL1RAP (白介素1受体辅助蛋白)、IL1RAPL1 (白介素1受体辅助蛋白样1)、IL1RAPL2 (白介素1受体辅助蛋白样2)、IL1RL1 (白介素1受体样1)、IL1RL2 (白介素1受体样2)、IL6R (白介素6受体)、IL11RA (白介素11受体亚基 α)、IL12B (白介素12B)、IL18BP (白介素18结合蛋白)、IL18R1 (白介素18受体1)、IL18RAP (白介素18受体辅助蛋白)、ISLR2 (含有富含亮氨酸的重复序列的免疫球蛋白超家族2)、JAM2 (连接黏附分子2)、JAM3 (连接黏附分子3)、KDR (激酶插入结构域受体)、KIR-123FM、KIR2DL1 (杀伤细胞免疫球蛋白样受体,两个Ig结构域和长胞质尾1)、KIR2DL2 (杀伤细胞免疫球蛋白样受体,两个Ig结构域和长胞质尾2)、KIR2DL3 (杀伤细胞免疫球蛋白样受体,两个Ig结构域和长胞质尾3)、KIR2DL4 (杀伤细胞免疫球蛋白样受体,两个Ig结构域和长胞质尾4)、KIR2DL5A (杀伤细胞免疫球蛋白样受体,两个Ig结构域和长胞质尾5A)、KIR2DL5B (杀伤细胞免疫球蛋白样受体,两个Ig结构域和长胞质尾5B)、KIR2DLX、KIR2DS1 (杀伤细胞免疫球蛋白样受体,两个Ig结构域和短胞质尾1)、KIR2DS2 (杀伤细胞免疫球蛋白样受体,两个Ig结构域和短胞质尾2)、KIR2DS3 (杀伤细胞免疫球蛋白样受体,两个Ig结构域和短胞质尾3)、KIR2DS4 (杀伤细胞免疫球蛋白样受体,两个Ig结构域和短胞质尾4)、KIR2DS5 (杀伤细胞免疫球蛋白样受体,两个Ig结构域和短胞质尾5)、kir3d、KIR3DL1 (杀伤细胞免疫球蛋白样受体,三个Ig结构域和长胞质尾1)、KIR3DL2 (杀伤细胞免疫球蛋白样受体,三个Ig结构域和长胞质尾2)、KIR3DL3 (杀伤细胞免疫球蛋白样受体,三个Ig结构域和长胞质尾3)、KIR3DP1 (杀伤细胞免疫球蛋白样受体,三个Ig结构域假基因1)、KIR3DS1 (杀伤细胞免疫球蛋白样受体,三个Ig结构域和短胞质尾1)、KIR3DX1 (杀伤细胞免疫球蛋白样受体,三个Ig结构域X1)、KIRREL1 (kirre样肾病蛋白家族黏附分子1)、KIRREL2 (kirre样肾病蛋白家族黏附分子2)、KIRREL3 (kirre样肾病蛋白家族黏附分子3)、KIT (KIT原癌基因受体酪氨酸激酶)、L1CAM、LAG3 (淋巴细胞激活3)、LAIR1 (白细胞相关免疫球蛋白样受体1)、LAIR2 (白细胞相关免疫球蛋白样受体2)、LEPR (瘦素受体)、LILRA1 (白细胞免疫球蛋白样受体A1)、LILRA2 (白细胞免疫球蛋白样受体A2)、LILRA3 (白细胞免疫球蛋

白样受体A3)、LILRA4(白细胞免疫球蛋白样受体A4)、LILRA5(白细胞免疫球蛋白样受体A5)、LILRA6(白细胞免疫球蛋白样受体A6)、LILRB1(白细胞免疫球蛋白样受体B1)、LILRB2(白细胞免疫球蛋白样受体B2)、LILRB3(白细胞免疫球蛋白样受体B3)、LILRB4(白细胞免疫球蛋白样受体B4)、LILRB5(白细胞免疫球蛋白样受体B5)、LILRP2、LRIG1、LRIG2、LRIG3、LRIT1、LRRC4、LSAMP、LSR(脂解刺激脂蛋白受体)、LY9(淋巴细胞抗原9)、MADCAM1(黏膜血管地址素蛋白细胞黏附分子1)、MAG(髓磷脂相关糖蛋白)、MALT1(MALT1Paracaspase)、MCAM(黑色素瘤细胞黏附分子)、MDGA1(含MAM结构域的糖基磷脂酰肌醇锚定蛋白1)、MDGA2(含MAM结构域的糖基磷脂酰肌醇锚定蛋白2)、MERTK(MER原癌基因,酪氨酸激酶)、MFAP3、MIR、MILR1(肥大细胞免疫球蛋白样受体1)、MMP23A(基质金属肽酶23A(假基因))、MMP23B(基质金属肽酶23B)、MUSK(肌肉相关受体酪氨酸激酶)、MXRA5(基质重构相关5)、MYBPC3、MYOM1(肌间蛋白1)、MYOM2(肌间蛋白2)、MYOM3(肌间蛋白3)、NCA、NCAM1、NCAM2、NCR1(天然细胞毒性触发受体1)、NEGR1、NEO1、NFASC、NOPE、NPHS1(NPHS1,肾病蛋白)、NPTN(神经丝束蛋白)、NRCAM(神经细胞黏附分子)、NTRK1(神经营养受体酪氨酸激酶1)、NRG1、NT、NTRK3、OBSCN、OBSL1(遮蔽蛋白样1)、OPCML、OSCAR(破骨细胞相关免疫球蛋白样受体)、PAPLN、PDCD1LG2(程序性细胞死亡1配体2)、PDGFRA(血小板衍生生长因子受体 α)、PDGFRB(血小板衍生生长因子受体 β)、PDGFRL(血小板衍生生长因子受体样)、PECAM1(血小板和内皮细胞黏附分子1)、PRODH2、PSG1(妊娠特异性 β -1糖蛋白1)、PSG2(妊娠特异性 β -1糖蛋白2)、PSG3(妊娠特异性 β -1糖蛋白3)、PSG4(妊娠特异性 β -1糖蛋白4)、PSG5(妊娠特异性 β -1糖蛋白5)、PSG6(妊娠特异性 β -1糖蛋白6)、PSG7(妊娠特异性 β -1糖蛋白7(基因/假基因))、PSG8(妊娠特异性 β -1糖蛋白8)、PSG9(妊娠特异性 β -1糖蛋白9)、PSG10(妊娠特异性 β -1糖蛋白10)、PSG11(妊娠特异性 β -1糖蛋白11)、PSG11s'(妊娠特异性 β -1糖蛋白11s')、PTGFRN(前列腺素F2受体抑制剂)、PTK7(蛋白酪氨酸激酶7(未激活))、PTPRD(蛋白酪氨酸磷酸酶,D型受体)、PTPRK(蛋白酪氨酸磷酸酶,K型受体)、PTPRM(蛋白酪氨酸磷酸酶,M型受体)、PTPRS(蛋白酪氨酸磷酸酶,S型受体)、PTPRT(蛋白酪氨酸磷酸酶,T型受体)、PTP σ 、PUNC、PVR(脊髓灰质炎病毒受体)、PVRL1、PVRL2、PVRL4、NECTIN1(连接蛋白细胞黏附分子1)、NECTIN2(连接蛋白细胞黏附分子2)、NECTIN3(连接蛋白细胞黏附分子3)、RAGE、ROBO3(环回引导受体3)、SCN1B(钠电压门控通道 β 亚基1)、SDK1(辅助细胞黏附分子1)、SDK2(辅助细胞黏附分子2)、SEMA3A(神经导向蛋白(semaphorin)3A)、SEMA3B(神经导向蛋白3B)、SEMA3E(神经导向蛋白3E)、SEMA3F(神经导向蛋白3F)、SEMA3G(神经导向蛋白3G)、SEMA4C(神经导向蛋白4C)、SEMA4D(神经导向蛋白4D)、SEMA4G(神经导向蛋白4G)、SEMA7A(神经导向蛋白7A(John Milton Hagen血型))、SIGIRR(包含单个Ig和TIR结构域)、SIGLEC1(唾液酸结合Ig样凝集素1)、SIGLEC5(唾液酸结合Ig样凝集素5)、SIGLEC6(唾液酸结合Ig样凝集素6)、SIGLEC7(唾液酸结合Ig样凝集素7)、SIGLEC8(唾液酸结合Ig样凝集素8)、SIGLEC9(唾液酸结合Ig样凝集素9)、SIGLEC10(唾液酸结合Ig样凝集素10)、SIGLEC11(唾液酸结合Ig样凝集素11)、SIGLEC12(唾液酸结合Ig样凝集素12(基因/假基因))、SIGLEC14(唾液酸结合Ig样凝集素14)、SIGLEC15(唾液酸结合Ig样凝集素15)、SLAMF1(信号传导淋巴细胞激活分子家族成员1)、SLAMF6(SLAM家族成员6)、SLAMF8(SLAM家族成员8)、SIRPG、TARM1(与T细胞相互作用,髓样细胞上的活化受体1)、TEK(TEK受体酪氨酸激酶)、THY1(Thy-1细胞表面抗原)、TIE1(含免疫球蛋白样和EGF样结构域的酪氨酸激酶1)、TMEM81(跨膜蛋白81)、TMIGD1(含跨膜和免疫球蛋白结构域1)、TMIGD2(含

有跨膜和免疫球蛋白结构域2)、TTN(肌巨蛋白)、TYRO3(TYRO3蛋白酪氨酸激酶)、UNC5D、VCAM1(血管细胞黏附分子1)、VSIG1(含V组和免疫球蛋白域1)、VSIG2(含V组和免疫球蛋白域2)、VSIG4(含V组和免疫球蛋白域4)、VSIG10(含V组和免疫球蛋白域10)、VSIG10L(含V组和免疫球蛋白结构域10样)、VSTM1(含V组和跨膜结构域1)、VTCN1(含V组结构域的T细胞活化抑制剂1)、ZPBP(透明带结合蛋白)或ZPBP2(透明带结合蛋白2)。

[0075] 更优选地,Ig样结构域是以下任何一种蛋白质的Ig样结构域:CD2、CD3、CD4、CD8、CD19、CD22、CD33、CD80、CD86,尤其是CD4的Ig样结构域。

[0076] Ig样结构域的其他优选实例在下文描述。

[0077] 还优选地,第一多肽链和/或第二多肽链的(附加)功能域包含或组成为(已知)蛋白的胞外结构域和/或胞内结构域。此外,第一多肽链和/或第二多肽链的(附加)功能域可优选包含或组成为(已知)可溶性球状蛋白的结构域。更优选地,第一多肽链和/或第二多肽链的(附加)功能域包含或组成为(已知)蛋白的胞外结构域或(已知)可溶性球状蛋白的结构域。

[0078] 优选地,第一多肽链和/或第二多肽链的(附加)功能域具有至多1000个氨基酸的长度,更优选至多750个氨基酸的长度,甚至更优选至多500个氨基酸的长度,更优选至多400个氨基酸的长度,特别优选至多300个氨基酸的长度,最优选至多275个或250个氨基酸的长度。此外,优选第一多肽链和/或第二多肽链的(附加)功能域具有5个至1000个氨基酸的长度,更优选10个至750个氨基酸的长度,甚至更优选20个至500个氨基酸的长度,更优选50个至400个氨基酸的长度,特别优选70个至300个氨基酸的长度,最优选75个至275或100个至250个氨基酸的长度。

[0079] 还优选地,第一多肽链和/或第二多肽链的(附加)功能域的大小为至多150kDa,更优选为至多100kDa,甚至更优选为至多80kDa,更优选为至多70kDa,特别优选为至多50kDa,最优选为至多30kDa或25kDa。此外,优选第一多肽链和/或第二多肽链的(附加)功能域的大小为0.5kDa至150kDa,更优选为1kDa至100kDa,甚至更优选为2.5kDa至80kDa,更优选为5kDa至70kDa,特别优选为7.5kDa至50kDa,最优选为10kDa至30kDa或25kDa。

[0080] 第一多肽链和/或第二多肽链的(附加)功能域可包含单体域或多聚体域。单体域是在不涉及任何其他(附加)结构域的情况下介导其功能的结构域。多聚体域例如形成二聚体的两个结构域或形成三聚体的三个结构域共同介导它们的功能,特别是作为多聚体例如作为二聚体或三聚体。在多聚体域的情况下,第一多肽链和/或第二多肽链的(附加)功能域可包含如本文所述的接头以提供足够的灵活性以形成多聚体,特别是接头可以(直接)位于一个或多于一个多聚体域附近,例如在两个多聚体域之间或在所有多聚体域的每一侧。优选地,第一多肽链和/或第二多肽链的(附加)功能域包含一个或多于一个单体域或由其组成。

[0081] 通常,第一多肽链和/或第二多肽链的(附加)功能域可以包含或组成为一个蛋白质结构域或多于一个蛋白质结构域。“多于一个蛋白质结构域”可以是如上所述的多聚体域和/或如上所述的一个或多于一个单体域。例如,第一多肽链和/或第二多肽链的(附加)功能域可包含或组成为两个或三个单体域,所述两个或三个单体域可介导相同或不同的功能和/或可任选地通过接头连接。例如,第一多肽链和/或第二多肽链的(附加)功能域可包含1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个(不同的)蛋白结构域。

[0082] 优选地, (附加) 功能域是人蛋白质、肽或多肽或其片段 (特别是结构域) 或其衍生物。

[0083] 特别地, (附加) 功能域不是接头 (肽) 例如GS-接头。即使 (附加) 功能域可以任选地包含接头 (肽) 例如GS-接头, 但是其优选地不由接头 (肽) 例如GS-接头组成。换句话说, 即使 (附加) 功能域包含接头 (肽) 例如GS-接头, 其也优选包含介导不同于 (纯) 连接两个肽的功能的附加氨基酸序列。因此, (附加) 功能域优选不同于接头 (肽) 例如GS-接头。特别地, (附加) 功能域可以不包含接头 (肽) 例如GS-接头。通常, 由 (附加) 功能域提供的功能优选不是仅仅连接两个 (多) 肽。即使 (附加) 功能域可以“连接”两个 (多) 肽, 例如相邻的可变域和恒定域, 并且任选地提供灵活性, 但 (附加) 功能域仍优选提供不同于 (多) 肽连接和灵活性的 (附加) 功能。

[0084] 优选地, 第二多肽链包含 (附加) 功能域 (v)。在这种情况下, 第一多肽链和第二多肽链均包含 (附加) 功能域, 从而产生具有两个不同的 (独立的) (附加) 功能域的抗体或其抗原结合片段。第一多肽链和第二多肽链的 (附加) 功能域可以相同或不同, 即相同或不同的功能域。换句话说, 即使第一多肽链和第二多肽链的 (附加) 功能域具有相同的氨基酸序列, 那些 (附加) 功能域也是“独立的”, 即它们彼此独立地介导其功能。例如, 第一多肽链和第二多肽链的 (附加) 功能域结合至分离的靶标 (例如, 分离的抗原或同一抗原的分离的表位; 分离的分子或同一分子的分离的部分), 并且不需要或不涉及另一个独立的结合位点用以结合其靶标。

[0085] 然而, 更优选地, 第二多肽链不包含 (附加) 功能域 (v), 并且第二多肽链的最C端可变域的C端优选直接连接至第二多肽链的最N端恒定域的N端。例如, 如果第二多肽链是轻链, 则最C端的VL结构域 (或唯一的VL结构域) 的C端优选直接连接至CL结构域的N端。例如, 如果第二多肽链是重链, 则最C端的VH结构域 (或唯一的VH结构域) 的C端优选直接连接至CH1结构域的N端。

[0086] 相应地, 本发明还提供了包含第一多肽链和第二多肽链的抗体或其抗原结合片段, 其中所述第一多肽链在N端至C端的方向包含

[0087] (i) 一个或多个可变域;

[0088] (ii) (附加) 功能域, 和

[0089] (iii) 一个或多个恒定域; 和

[0090] 其中所述第二多肽链在N端至C端的方向包含

[0091] (iv) 一个或多个可变域, 其与第一多肽链的一个或多个可变域形成抗原结合位点; 和

[0092] (v) 一个或多个恒定域,

[0093] 其特征在于第二多肽链的最C端可变域的C端直接与第二多肽链的最N端恒定域的N端连接。

[0094] 此外, 术语“功能域”是指功能单元, 例如如上所述的抗体或抗原结合片段的功能单元。简而言之, 功能域通常为蛋白质例如抗体或抗原结合片段提供如上所述的 (附加) 功能。因此, (附加) 功能域通常包含提供 (附加) 功能所需的所有氨基酸/序列。特别地, 如上文详细描述, 第一多肽链的 (附加) 功能域 (ii) 不包含第二多肽链的片段。

[0095] 特别优选地, 第一多肽链的 (附加) 功能域包含如上所述的Ig样结构域或其组

成。Ig样结构域的优选实例包括上述那些和下文所述的那些。

[0096] 还优选第一多肽链的(附加)功能域包含或组成为(已知)蛋白的胞外和/或胞内结构域。此外,第一多肽链的(附加)功能域可优选包含或组成为(已知)可溶性球状蛋白的结构域。更优选地,第一多肽链的(附加)功能域包含或组成为(已知)蛋白的胞外结构域或(已知)可溶性球状蛋白的结构域。

[0097] 优选地,第一多肽链的(附加)功能域具有至多1000个氨基酸的长度,更优选至多750个氨基酸的长度,甚至更优选至多500个氨基酸的长度,更优选至多400个氨基酸的长度,特别优选至多300个氨基酸的长度,最优选至多275个或250个氨基酸的长度。此外,优选第一多肽链的(附加)功能域具有5个至1000个氨基酸的长度,更优选10个至750个氨基酸,甚至更优选20个至500个氨基酸的长度,更优选50个至400个氨基酸的长度,特别优选70个至300个氨基酸的长度,最优选75个至275或100个至250个氨基酸的长度。

[0098] 还优选第一多肽链的(附加)功能域的大小为至多150kDa,更优选为至多100kDa,甚至更优选为至多80kDa,更优选为至多70kDa,特别优选为至多50kDa,最优选为至多30kDa或25kDa。此外,优选第一多肽链的(附加)功能域的大小为0.5kDa至150kDa,更优选为1kDa至100kDa,甚至更优选为2.5kDa至80kDa,更优选为5kDa至70kDa,特别优选为7.5kDa至50kDa,最优选为10kDa至30kDa或25kDa。

[0099] 第一多肽链的(附加)功能域可包含如上所述的单体域或多聚体域。此外,如上所述,第一多肽链的(附加)功能域可以包含或组成为一个蛋白质结构域或多于一个蛋白质结构域。

[0100] 优选地,(附加)功能域是人蛋白质、肽或多肽或其片段(特别是结构域)或其衍生物。

[0101] 特别地,如上所述,(附加)功能域不是接头(肽)例如GS接头。即使(附加)功能域可以任选地包含接头(肽)例如GS-接头,但是其优选地不由接头(肽)例如GS-接头组成。换句话说,即使(附加)功能域包含接头(肽)例如GS-接头,其仍优选包含介导不同于(纯)连接两个肽的功能的附加氨基酸序列。因此,(附加)功能域优选不同于接头(肽)例如GS-接头。特别地,(附加)功能域可以不包含接头(肽)例如GS-接头。通常,由(附加)功能域提供的功能优选不是仅仅连接两个(多)肽。即使(附加)功能域可以“连接”两个(多)肽,例如相邻的可变域和恒定域,并且任选地提供灵活性,但(附加)功能域优选仍提供不同于(多)肽连接和灵活性的(附加)功能。

[0102] 此外,第二多肽链的最C端可变域的C端优选直接连接至第二多肽链的最N端恒定域的N端。例如,如果第二多肽链是轻链,则最C端的VL结构域(或唯一的VL结构域)的C端优选直接连接至CL结构域的N端。例如,如果第二多肽链是重链,则最C端的VH结构域(或唯一的VH结构域)的C端优选直接连接至CH1结构域的N端。

[0103] 通常,在根据本发明的抗体或其抗原结合片段中,优选的是,第一多肽链的一个或多于一个恒定域是重链恒定域,优选至少包含CH1恒定域,并且第二多肽链的恒定域为轻链恒定域CL。更优选地,第一多肽链的一个或多于一个恒定域是重链恒定域,优选至少包含CH1恒定域,第一多肽链的一个或多于一个可变域是重链可变域VH,第二多肽链的恒定域是轻链恒定域CL,并且第二多肽链的一个或多于一个可变域是轻链可变域VL。换句话说,优选地,第一多肽链是重链或衍生自重链,第二多肽链是轻链或衍生自轻链。特别优选地,第一

多肽链的恒定区包含三个恒定域,即CH1、CH2和CH3(特别是在N端至C端的方向为CH1-CH2-CH3),最优选在CH1和CH2之间具有铰链区。

[0104] 或者,在本发明的抗体或其抗原结合片段中,优选的是,第一多肽链的恒定域是轻链恒定域CL且第二多肽链的一个或多个恒定域是重链恒定域,优选至少包含CH1恒定域。更优选地,第一多肽链的恒定域是轻链恒定域CL,第一多肽链的一个或多个可变域是轻链可变域VL,第二多肽链的一个或多个恒定域是重链恒定域,优选至少包含CH1恒定域,并且第二多肽链的一个或多个可变域是重链可变域VH。换句话说,优选地,第二多肽链是重链或衍生自重链,第一多肽链是轻链或衍生自轻链。特别优选地,第二多肽链的恒定区包含三个恒定域,即CH1、CH2和CH3(特别是在N端至C端的方向为CH1-CH2-CH3),最优选在CH1和CH2之间具有铰链区。

[0105] 此外,优选地,在第一多肽链和/或第二多肽链中,与(附加)功能域(和/或可变区,如果第二多肽不包含(附加)功能域)直接相邻的恒定域对Fc区没有贡献。在天然抗体中,与可变域相邻的恒定区CH1和CL通常对Fc区没有贡献。因此,优选一条多肽链(第一多肽链或第二多肽链)包含CH1恒定域,而另一条多肽链(第一多肽链或第二多肽链中的另一个)包含CL恒定域。

[0106] 优选地,重链恒定域,特别是CH1或任何其他重链恒定域,选自以下类别: γ 、 α 、 μ 、 ϵ 和 δ ;优选 γ ,例如选自IgG1、IgG2、IgG3或IgG4。

[0107] 此外,优选地,轻链恒定域,特别是CL,选自以下类别: κ 和 λ 。

[0108] 优选地,根据本发明的抗体或其抗原结合片段是重组抗体或其抗原结合片段。如本文所用,术语“重组”是指重组抗体或抗体片段不是天然存在的。

[0109] 优选地,根据本发明的抗体或抗原结合片段的第一多肽链的功能域(ii)和/或第二多肽链的功能域(v)包含或组成为载体结构域、报告结构域、标签、定位结构域、(独立的)结合位点、酶或酶促结构域、受体或其功能片段、或配体或其功能片段。

[0110] 优选地,根据本发明的抗体或其抗原结合片段的第一多肽链的功能域(ii)和/或第二多肽链的功能域(v)包含或组成为酶或其酶促结构域。“酶”是多肽或蛋白质催化剂,即,酶通常加速化学反应。酶可能起作用的分子称为底物,酶将底物转化为不同的称为产物的分子。细胞中几乎所有的代谢过程都需要酶,以便以足够快的速度维持生命。优选的酶包括氧化还原酶、转移酶、水解酶、裂解酶、异构酶和连接酶。对于形成二聚体的酶,第一多肽链和/或第二多肽链的功能域可包含两个通过接头连接的相同结构域。例如,酶可用于在特定位点例如肿瘤激活前药。优选的酶的实例和包含这种酶的抗体的用途描述于Andrady C, Sharma SK, Chester KA; Antibody-enzyme fusion proteins for cancer therapy; Immunotherapy. 2011Feb; 3(2):193-211和Boado RJ1, Zhang Y, Zhang Y, Xia CF, Wang Y, Pardridge WM; Genetic engineering of a lysosomal enzyme fusion protein for targeted delivery across the human blood-brain barrier; Biotechnol Bioeng. 2008 Feb 1; 99(2):475-84。

[0111] 优选的酶选自脱氢酶、荧光素酶、DMSO还原酶、醇脱氢酶(NAD)、醇脱氢酶(NADP)、高丝氨酸脱氢酶、氨基丙醇氧化还原酶、二乙酰基还原酶、甘油脱氢酶、丙二醇磷酸脱氢酶、甘油-3-磷酸脱氢酶(NAD⁺)、D-木酮糖还原酶、L-木酮糖还原酶、乳酸脱氢酶、苹果酸脱氢酶、异柠檬酸脱氢酶、HMG-CoA还原酶、葡萄糖氧化酶、L-古洛内酯氧化酶、硫胺素氧化酶、黄

嘌呤氧化酶、乙醛脱氢酶、甘油醛3-磷酸脱氢酶、丙酮酸脱氢酶、氧戊二酸脱氢酶、胆绿素还原酶、单胺氧化酶、二氢叶酸还原酶、亚甲基四氢叶酸还原酶、肌氨酸氧化酶、二氢苯并菲啉氧化酶、NADH脱氢酶、尿酸氧化酶、亚硝酸还原酶、硝酸还原酶、谷胱甘肽还原酶、硫氧还蛋白还原酶、亚硫酸盐氧化酶、细胞色素c氧化酶、辅酶Q-细胞色素c还原酶、儿茶酚氧化酶、漆酶、细胞色素c过氧化物酶、过氧化氢酶、髓过氧化物酶、甲状腺过氧化物酶、谷胱甘肽过氧化物酶、4-羟苯基丙酮酸双加氧酶、海肾萤光素2单加氧酶、海萤萤光素2单加氧酶、萤火虫萤光素酶、萤火虫萤光素2单加氧酶、刺虾萤光素2单加氧酶、芳香酶、CYP2D6、CYP2E1、CYP3A4、细胞色素P450氧化酶、一氧化氮双加氧酶、一氧化氮合酶、芳香酶、苯丙氨酸羟化酶、酪氨酸酶、超氧化物歧化酶、血浆铜蓝蛋白、固氮酶、脱碘酶、谷胱甘肽S转移酶、儿茶酚-O-甲基转移酶、DNA甲基转移酶、组蛋白甲基转移酶、ATC酶、鸟氨酸转氨甲酰酶、氨基乙酰丙酸合酶、胆碱乙酰基转移酶、XIII因子、 γ -谷氨酰胺基转肽酶、转谷氨酰胺酶、次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖基转移酶、硫胺酶、丙氨酸转氨酶、天冬氨酸转氨酶、丁酸激酶、核酸酶、核酸内切酶、核酸外切酶、酸性水解酶、磷脂酶A、磷脂酶C、乙酰胆碱酯酶、胆碱酯酶、脂蛋白脂酶、泛素羧基末端水解酶L1、磷酸酶、碱性磷酸酶、果糖双磷酸酶、CGMP特异性磷酸二酯酶5型、磷脂酶D、限制性酶1型、限制性酶2型、限制性酶3型、限制性酶4型、脱氧核糖核酸酶I、RNA酶H、核糖核酸酶、淀粉酶、蔗糖酶、几丁质酶、溶菌酶、麦芽糖酶、乳糖酶、 β -半乳糖苷酶、透明质酸酶、腺苷甲硫氨酸水解酶、S-腺苷-L-同型半胱氨酸水解酶、烯基甘油磷酸胆碱水解酶、烯基甘油磷酸乙醇胺水解酶、胆固醇-5,6-氧化物水解酶、肝氧蛋白-环氧化物水解酶、异分支酸酶、白三烯A4水解酶、柠檬烯-1,2-环氧化物水解酶、微粒体环氧化物水解酶、反式环氧琥珀酸水解酶、丙氨酸氨基肽酶、血管紧张素转化酶、丝氨酸蛋白酶、糜蛋白酶、胰蛋白酶、凝血酶、X因子、纤溶酶、顶体酶、VII因子、IX因子、脯氨酰寡肽酶、XI因子、弹性蛋白酶、XII因子、蛋白酶K、组织纤溶酶原激活剂、蛋白C、分离酶、胃蛋白酶、凝乳酶、肾素、胰蛋白酶原、血浆蛋白酶、基质金属蛋白酶、金属内肽酶、脲酶、 β -内酰胺酶、精氨酸酶、腺苷脱氨酶、GTP环水解酶I、腓水解酶、解旋酶、DnaB解旋酶、RecQ解旋酶、ATP酶、NaKATP酶、ATP合酶、犬尿氨酸酶、卤代乙酸脱卤酶、裂解酶、鸟氨酸脱羧酶、尿苷单磷酸合成酶、芳族-L-氨基酸脱羧酶、核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶(RubisCO)、碳酸酐酶、色氨酸合酶、苯丙氨酸氨裂合酶、胱硫醚 γ -裂合酶、胱硫醚 β -裂合酶、白三烯C4合酶、二氯甲烷脱卤酶、卤代醇脱卤酶、腺苷酸环化酶、鸟苷酸环化酶、氨基酸消旋酶：苯丙氨酸消旋酶、丝氨酸消旋酶、扁桃酸消旋酶、UDP-葡萄糖4-表异构酶、甲基丙二酰辅酶A差向异构酶、FKBP：FKBP1A、FKBP1B、FKBP2、FKBP3、FKBP5、FKBP6、FKBP8、FKBP9、FKBP10、FKBP52、FKBPL、亲环蛋白、细小蛋白、脯氨酰异构酶、2-氯-4-羧甲基丁-2-烯-1,4-羧酸内酯异构酶、 β -胡萝卜素异构酶、法尼醇2-异构酶、咪喃基咪喃酰胺异构酶、亚油酸酯异构酶、马来酸酯异构酶、马来酰乙酰乙酸酯异构酶、马来酰丙酮酸异构酶、细小蛋白、光异构酶、前番茄红素异构酶、脯氨酰基异构酶、视网膜异构酶、视黄醇异构酶、 ζ -胡萝卜素异构酶、烯酰辅酶A异构酶、蛋白二硫化物异构酶、磷酸葡萄糖变位酶、黏康酸环异构酶、3-羧基-顺式，顺式-黏康酸环异构酶、四羟基蝶啶环异构酶、肌醇-3-磷酸合酶、羧基-顺式，顺式-黏康酸环化酶、查尔酮异构酶、氯黏康酸环异构酶、(+)-冰片基二磷酸合酶、环桉烯醇环异构酶、 α -蒎烯氧化物脱环酶、二氯黏康酸环异构酶、**珞玢**基二磷酸合酶、Ent-**珞玢**基二磷酸合酶、Syn-**珞玢**基二磷酸合酶、喹二烯基二磷酸合酶、卤代二烯基二磷酸合酶、(S)- β -大果烯合酶、番茄红素 ϵ -环化酶、番茄红素 β -环化酶、

Prosolanapyrone-III环异构酶、D-核糖吡喃酶、类固醇 δ 异构酶、拓扑异构酶、6-羧基四氢蝶呤合酶、FARSB、谷氨酰胺合成酶、CTP合酶、精氨酸琥珀酸合成酶、丙酮酸羧化酶、乙酰辅酶A羧化酶和DNA连接酶。

[0112] 更优选的酶可以选自羧肽酶、 β -内酰胺酶、胞嘧啶脱氨酶、 β -葡糖醛酸糖苷酶、嘌呤核苷磷酸化酶、颗粒酶B、胱天蛋白酶和RNA酶例如HPR (人胰腺RNA酶)、芽孢杆菌RNA酶、牛精液RNA酶、豹蛙酶、RapLR1、血管生成素、Dicer、DIS3样核酸外切酶2、磷酸二酯酶ELAC2、RNA酶HIII、RNA酶T2和tRNA剪接核糖核酸酶。

[0113] 酶的功能片段可以是能够介导功能的任何酶片段。通常,此类片段称为“结构域”。因此,酶的功能片段可以是酶的任何结构域。优选的实例包括上述(示例性)酶的功能片段(例如结构域)。优选地,(附加)功能域包含的酶的功能片段是酶的催化结构域。酶的催化结构域是与其底物相互作用以引起酶促反应的酶区域。例如,第一多肽链和/或第二多肽链的(附加)功能域可以是以下任何一种酶的催化结构域:羧肽酶、 β -内酰胺酶、胞嘧啶脱氨酶、 β -葡糖醛酸糖苷酶、嘌呤核苷磷酸化酶、颗粒酶B、胱天蛋白酶和RNA酶例如HPR (人胰腺RNA酶)、芽孢杆菌RNA酶、牛精液RNA酶、豹蛙酶、RapLR1、血管生成素、Dicer、DIS3样核酸外切酶2、磷酸二酯酶ELAC2、RNA酶HIII、RNA酶T2和tRNA剪接核糖核酸酶。

[0114] 优选地,根据本发明的抗体或抗原结合片段的第一多肽链的功能域(ii)和/或第二多肽链的功能域(v)包含载体结构域或由其组成。如本文所用,“载体结构域”是指提供抗体与另一分子的缀合的氨基酸序列。在一个优选的实例中,载体结构域提供了抗体或其抗原结合片段与例如药物、显像剂或纳米颗粒的缀合。总的来说,在本发明的上下文中可能有用的缀合物的优选实例描述于Wu, A. M. 和 Senter, P. D. (2005) *Arming antibodies: Prospects and challenges for immunoconjugates*. *Nat. Biotechnol.* 23, 1137-1146。

[0115] 例如,可以与抗体缀合的药物包括抗癌药,例如在Thomas A, Teicher BA, Hassan R; *Antibody-drug conjugates for cancer therapy*; *Lancet Oncol.* 2016 Jun; 17(6): e254-62. doi:10.1016/S1470-2045(16)30030-4中描述的那些。例如,可以与抗体缀合的显像剂描述于Steve Knutson, Erum Raja, Ryan Bomgarden, Marie Nlend, Aoshuang Chen, Ramaswamy Kalyanasundaram和Surbhi Desai; *Development and Evaluation of a Fluorescent Antibody-Drug Conjugate for Molecular Imaging and Targeted Therapy of Pancreatic Cancer*; *PLoS One* 2016; 11(6): e0157762。这样的药物优选是细胞毒性剂。可以与本发明的抗体或抗原结合片段缀合的药物的优选实例包括阿霉素、截短的假单胞菌外毒素A、美登素DM1。

[0116] 可以与本发明的抗体或抗原结合片段缀合的显像剂的实例包括放射性同位素,例如在Schubert M, Bergmann R, Förster C, Sihver W, Vonhoff S, Klussmann S, Bethge L, Walther M, Schlesinger J, Pietzsch J, Steinbach J, Pietzsch HJ; *Novel Tumor Pretargeting System Based on Complementary 1-Configured Oligonucleotides*; *Bioconjug Chem.* 2017 Apr 19; 28(4): 1176-1188和Bhusari P, Vatsa R, Singh G, Parmar M, Bal A, Dhawan DK, Mittal BR, Shukla J; *Development of Lu-177-trastuzumab for radioimmunotherapy of HER2 expressing breast cancer and its feasibility assessment in breast cancer patients*; *Iht J Cancer.* 2017 Feb 15; 140(4): 938-947中描述的那些。放射性同位素的优选实例包括 ^{90}Y 、 ^{131}I 和 ^{177}Lu 。

[0117] 可与本发明的抗体或抗原结合片段缀合的显像剂的其他实例包括荧光染料、量子点和铁氧化物。荧光染料的实例包括以下描述为报告结构域的那些。铁氧化物纳米颗粒的实例描述于Hengyi Xu,Zoraida P.Aguilar,Lily Yang,Min Kuang,Hongwei Duan,Yonghua Xiong,Hua Wei和Andrew Wang:Antibody Conjugated Magnetic Iron Oxide Nanoparticles for Cancer Cell Separation in Fresh Whole Blood.Biomaterials.2011Dec;32(36):9758-9765。

[0118] 抗体缀合物(即与其他分子缀合的抗体)是本领域已知的。特别地,与抗体缀合的分子可通过可切割或不可切割的接头与抗体连接(例如,如Thomas H.Pillow.Novel linkers and connections for antibody-drug conjugates to treat cancer and infectious disease.Pharmaceutical Patent Analyst第6卷,第1期,2017年2月3日,<https://doi.org/10.4155/ppa-2016-0032>;或Beck A,Goetsch L,Dumontet C,Corvaia N.Strategies and challenges for the next generation of antibody-drug conjugates.Nat Rev Drug Discov.2017 May;16(5):315-337中所述)。可以用于连接分子与抗体或抗原结合片段的此类接头的实例描述于例如EP 2927227和Thomas H.Pillow.Novel linkers and connections for antibody-drug conjugates to treat cancer and infectious disease.Pharmaceutical Patent Analyst第6卷,第1期,2017年2月3日,<https://doi.org/10.4155/ppa-2016-0032>。然而,在现有技术中,接头直接连接至抗体的Ig结构域(即,抗体的可变域和/或恒定域),这可能会干扰抗体的Ig结构域的功能。鉴于此,根据本发明的抗体或抗原结合片段的(附加)功能域可用于接头与抗体的连接。优选的接头与“经典”接头的不同之处在于,它们被改造成含有额外的半胱氨酸或赖氨酸。优选地,载体结构域包含一种或多于一种可用于位点特异性缀合的非典型氨基酸,例如,如Link AJ,Mock ML,Tirrell DA.Non-canonical amino acids in protein engineering.Curr Opin Biotechnol.2003Dec;14(6):603-9中所述。此外,可以设计载体结构域,使其被特定的酶(例如甲酰甘氨酸生成酶、分选酶和/或转谷氨酰胺酶)识别,该特定的酶可以修饰特定的氨基酸,使得该氨基酸随后可以用于缀合,如Dennler P.,Fischer E.,Schibli R.Antibody conjugates:From heterogeneous populations to defined reagents.Antibodies.2015;4:197-224第六部分所述。

[0119] 进一步优选的载体结构域是用于缀合的结构域,例如白喉毒素、破伤风类毒素(T)、脑膜炎球菌外膜蛋白复合物(OMPC)、白喉类毒素(D)和流感嗜血杆菌蛋白D(HiD)的经遗传修饰的交叉反应材料(CRM),例如,如Pichichero ME:Protein carriers of conjugate vaccines:characteristics,development,and clinical trials,Hum Vaccin Immunother.2013年12月;9(12):2505-23中所述。

[0120] 优选地,根据本发明的抗体或抗原结合片段的第一多肽链的功能域(ii)和/或第二多肽链的功能域(v)包含报告结构域或由其组成。报告结构域通常由报告基因编码。报告结构域是其存在(例如在细胞、生物体中)可以容易地观察到的结构域。报告结构域包括例如荧光蛋白,例如GFP/EGFP(绿色荧光蛋白/增强的绿色荧光蛋白)、YFP(黄色荧光蛋白)、RFP(红色荧光蛋白)和CFP(蓝绿色荧光蛋白)、萤光素酶和酶例如 β -半乳糖苷酶和过氧化物酶。报告结构域可用于体内和体外方法。例如,荧光蛋白使细胞在被特定波长的光激发时发出荧光,萤光素酶使细胞催化产生光的反应,酶例如 β -半乳糖苷酶将底物转化为有色产物。

存在根据特定的报告物和所需的表征数据来测量或定量报告物的几种不同的方法。通常，显微术可用于获得有关报告物活性的空间和时间信息，特别是在单个细胞水平上。流式细胞仪最适合于测量细胞群体中报告物活性的分布。平板读取器通常最适合随时间对许多不同样品进行总体平均测量。可以与给定底物反应的酶，例如 β -半乳糖苷酶和过氧化物酶，可用于例如人类样品的体外染色，例如用于肿瘤诊断中。

[0121] 优选地，报告结构域包含或组成为编码GFP/EGFP、YFP、RFP、CFP、萤光素酶、 β -半乳糖苷酶或过氧化物酶的氨基酸序列。另外，如下所述的荧光标签也可用作报告结构域。

[0122] 优选地，根据本发明的抗体或抗原结合片段的第一多肽链的功能域(ii)和/或第二多肽链的功能域(v)包含定位结构域或由其组成。通常，定位结构域例如在生物体或细胞的水平上将蛋白质引导至特定靶标。定位结构域可以将根据本发明的抗体或抗原结合片段引导至细胞中的特定物理位置例如细胞核、细胞膜、细胞周质、细胞外分泌物，引导至身体的特定部位或其他地方。

[0123] 例如，为了将根据本发明的抗体或抗原结合片段引导至细胞，(附加)功能域可以包含细胞穿透肽或由其组成。术语“细胞穿透肽”(“CPP”，也称为“蛋白转导域”/“PTD”)通常用于表示能够穿过质膜运输不同类型的货物分子，从而促进细胞摄取各种货物分子(从纳米尺寸颗粒到小化学分子和大的DNA片段)的短肽。细胞穿透肽通常具有以下氨基酸组成：包含高相对丰度的带正电荷的氨基酸，例如赖氨酸或精氨酸，或具有包含交替模式的极性/带电荷的氨基酸和非极性的疏水性氨基酸的序列。这两种类型的结构分别称为聚阳离子细胞穿透肽或两亲细胞穿透肽。通常，细胞穿透肽(CPP)是具有8个至50个残基的具有穿过细胞膜并进入大多数细胞类型的能力的肽。或者，它们也称为蛋白转导域(PTD)，这反映了它们的来源是存在于天然蛋白质中。Frankel和Pabo与Green和Lowenstein同时描述了人免疫缺陷病毒1的反式激活转录激活因子(HIV-TAT)渗透到细胞中的能力(Frankel, A.D. 和 C.O.Pabo, Cellular uptake of the tat protein from human immunodeficiency virus. *Cell*, 1988. 55 (6) : p. 1189-93)。在1991年，描述了来自黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)的触角足同源结构域(DNA结合结构域)向神经细胞中的转导(Joliot, A., 等人, Antennapedia homeobox peptide regulates neural morphogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1991. 88 (5) : p. 1864-8)。在1994年，被称为穿膜肽(Penetratin)的第一种16聚体肽CPP的特征来自于触角足同源结构域的第三个螺旋(Derossi, D., 等人, The third helix of the Antennapedia homeodomain translocates through biological membranes. *J Biol Chem*, 1994. 269 (14) : p. 10444-50)，随后在1998年鉴定了蛋白质转导所需的TAT的最小结构域(Vives, E., P. Brodin和B. Lebleu, A truncated HIV-1 Tat protein basic domain rapidly translocates through the plasma membrane and accumulates in the cell nucleus. *J Biol Chem*, 1997. 272 (25) : p. 16010-7)。在过去的二十年中，描述了数十种来自不同来源的肽，包括病毒蛋白，例如VP22 (Elliott, G. 和 P. O'Hare, Intercellular trafficking and protein delivery by a herpesvirus structural protein. *Cell*, 1997. 88 (2) : p. 223-33)，或来自毒液，例如蜂毒素 (Dempsey, C.E., The actions of melittin on membranes. *Biochim Biophys Acta*, 1990. 1031 (2) : p. 143-61)、肥大细胞脱粒肽(mastoparan) (Konno, K. 等人, Structure and biological activities of eumenine mastoparan-AF (EMP-AF), a new mast cell degranulating peptide in

the venom of the solitary wasp (*Anterhynchium flavomarginatum micado*). *Toxicon*, 2000.38 (11) :p.1505-15)、maurocalcin (Esteve, E. 等人, Transduction of the scorpion toxin maurocalcine into cells. Evidence that the toxin crosses the plasma membrane. *J Biol Chem*, 2005.280 (13) :p.12833-9)、响尾蛇胺 (Nascimento, F.D. 等人, Crotonamine mediates gene delivery into cells through the binding to heparan sulfate proteoglycans. *J Biol Chem*, 2007.282 (29) :p.21349-60) 或 buforin (Kobayashi, S. 等人, Membrane translocation mechanism of the antimicrobial peptide buforin 2. *Biochemistry*, 2004.43 (49) :p.15610-6)。还设计了合成的 CPP, 其包含聚精氨酸 (R8、R9、R10 和 R12) (Futaki, S. 等人, Arginine-rich peptides. An abundant source of membrane-permeable peptides having potential as carriers for intracellular protein delivery. *J Biol Chem*, 2001.276 (8) :p.583640) 或转运肽 (Pooga, M. 等人, Cell penetration by transportan. *FASEB J*, 1998.12 (1) :p.67-77)。任何上述 CPP 都可以用作本发明的抗体或抗原结合片段中的细胞穿透肽。可用作本发明的抗体或抗原结合片段中的细胞穿透肽的各种 CPP 也在以下综述中公开: Milletti, F., Cell-penetrating peptides: classes, origin, and current landscape. *Drug Discov Today* 17 (15-16) :850-60, 2012。

[0124] 可以在根据本发明的抗体或抗原结合片段中使用的定位结构域的另一个实例是用于穿过血脑屏障的结构域, 例如, 如在 Farrington GK, Caram-Salas N, Haqqani AS, Brunette E, Eldredge J, Pepinsky B, Antognetti G, Baumann E, Ding W, Garber E, Jiang S, Delaney C, Boileau E, Sisk WP, Stanimirovic DB. A novel platform for engineering blood-brain barrier-crossing bispecific biologics. *FASEB J*. 2014 年 11 月; 28 (11) :4764-78 中所述。

[0125] 定位结构域的另一个实例是核定位结构域。核定位结构域将蛋白质, 特别是根据本发明的抗体或抗原结合片段引导至细胞核。可将核定位结构域用于抗体或抗原结合片段来阻断转录因子的活性并调节基因表达。核定位结构域的优选实例描述于 Kalderon D, Roberts BL, Richardson WD, Smith AE (1984) "A short amino acid sequence able to specify nuclear location" *Cell* 39 (3Pt 2) :499-509 和 Lusk CP, Blobel G, King MC (May 2007) "Highway to the inner nuclear membrane: rules for the road" *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 8 (5) :414-20。

[0126] 优选地, 根据本发明的抗体或其抗原结合片段的第一多肽链的功能域 (ii) 和/或第二多肽链的功能域 (v) 包含标签或由其组成。更优选地, 标签是亲和标签、增溶标签、色谱标签、表位标签或荧光标签。

[0127] 标签是接枝到重组蛋白上的肽序列。标签的实例包括亲和标签、增溶标签、色谱标签、表位标签、荧光标签和蛋白标签。亲和标签可用于使用亲和技术从其原始生物来源中纯化蛋白质。亲和标签的实例包括几丁质结合蛋白 (CBP)、麦芽糖结合蛋白 (MBP) 和谷胱甘肽-S-转移酶 (GST)。另一个实例是与金属基质结合的聚 (His) 标签。可以使用增溶标签, 特别是对于在伴侣蛋白缺失的物种 (例如大肠杆菌) 中表达的重组蛋白, 以帮助蛋白质的正确折叠并防止它们沉淀。增溶标签的实例包括硫氧还蛋白 (TRX) 和聚 (NANP)。色谱标签可用于改变蛋白质的色谱特性, 以在特定的分离技术中提供不同的分辨率。色谱标签通常由聚阴离子

氨基酸组成,例如FLAG标签。表位标签是短肽序列,选择它是因为其可以在许多不同物种中可靠地产生高亲和力抗体。这些标签通常来自病毒基因,这解释了它们的高免疫反应性。表位标签包括V5标签、Myc标签、HA标签和NE标签。这些标签特别可用于蛋白质印迹、免疫荧光和免疫沉淀实验,但是它们也可用于抗体纯化。荧光标签可用于提供蛋白质的视觉读取。GFP及其变体是最常用的荧光标签。GFP可用作折叠报告分子(折叠后为荧光,不折叠则无色)。蛋白标签可以允许进行特定的酶促修饰(例如通过生物素连接酶进行生物素化)或化学修饰(例如与FlAsH-EDT2反应以用于荧光成像)。可以组合各种标签,例如,以便将蛋白质连接到多个其他部件。标签可以通过化学试剂或通过酶促手段例如蛋白水解或内含肽剪接去除。

[0128] 标签的优选实例包括但不限于以下:双Strep标签

(SAWSHPQFEKGGGSGGGSGGSAWSHPQFEK;SEQ ID NO:20);AviTag,一种允许被BirA酶生物素化的肽并因此该蛋白可以通过链霉亲和素被分离(GLNDIFEAQKIEWHE;SEQ ID NO:21);钙调蛋白标签,一种与蛋白质钙调蛋白结合的肽(KRRWKKNFIAVSAANRFKKISSSGAL;SEQ ID NO:22);聚谷氨酸标签,一种与阴离子交换树脂例如Mono-Q结合的肽(EEEEEEE;SEQ ID NO:23);E标签,一种被抗体识别的肽(GAPVPYPDPLEPR;SEQ ID NO:24);FLAG标签,一种被抗体识别的肽(DYKDDDDK;SEQ ID NO:25);HA标签,一种被抗体识别的来自血凝素的肽(YPYDVPDYA;SEQ ID NO:26);与镍或钴螯合物结合的5个至10个组氨酸的His标签(HHHHHH;SEQ ID NO:27);Myc标签,一种被抗体识别的衍生自c-myc的肽(EQKLISEEDL;SEQ ID NO:28);NE标签,一种被单克隆IgG1抗体识别的18个氨基酸的合成肽(TKENPRSNQEE SYDDNES;SEQ ID NO:29),其可用于多种应用,包括蛋白质印迹、ELISA、流式细胞术、免疫细胞化学、免疫沉淀和重组蛋白的亲亲和纯化;S标签,一种衍生自核糖核酸酶A的肽(KETAAAKFERQHMS;SEQ ID NO:30);SBP标签,一种与链霉亲和素结合的肽(MDEKTTGWRGGHVVEGLAGELEQLRARLEHHPQGQREP;SEQ ID NO:31);用于哺乳动物表达的Softag 1(SLAELLNAGLGGS;SEQ ID NO:32);用于原核表达的Softag 3(TQDPSRVG;SEQ ID NO:33);Strep标签,一种与链霉亲和素或经修饰的链霉亲和素(称为streptactin)结合的肽(Strep标签II:WSHPQFEK;SEQ ID NO:34);TC标签,一种被FlAsH和ReAsH双砷化合物识别的四半胱氨酸标签(CCPGCC;SEQ ID NO:35);V5标签,一种被抗体识别的肽(GKPIPNPLLGLDST;SEQ ID NO:36);VSV标签,一种被抗体识别的肽(YTDIEMNRLGK;SEQ ID NO:37);Xpress标签(DLYDDDDK;SEQ ID NO:38);Isopeptag,一种与菌毛蛋白C蛋白共价结合的肽(TDKDMTITFTNKKDAE;SEQ ID NO:39);SpyTag,一种与SpyCatcher蛋白共价结合的肽(AHIVMVDAYKPTK;SEQ ID NO:40);SnoopTag,一种与SnoopCatcher蛋白共价结合的肽(KLGDIEFIKVNK;SEQ ID NO:41);Ty1标签(EVHTNQDPLD;SEQ ID NO:42);BCCP(生物素羧基载体蛋白),一种被BirA生物素化的蛋白结构域,其可被链霉亲和素识别;谷胱甘肽-S-转移酶(GST)标签,一种与固定的谷胱甘肽结合的蛋白质;绿色荧光蛋白标签,一种自发荧光且可以与纳米抗体结合的蛋白;HaloTag是一种突变的细菌卤代烷脱卤酶,可共价结合至反应性卤代烷底物,从而可附着于多种底物上;麦芽糖结合蛋白(MBP)标签,一种与直链淀粉琼脂糖结合的蛋白;Nus(利用N的物质)标签;硫氧还蛋白(Trx)标签;肝片吸虫8-kDa抗原(Fh8)标签;小泛素修饰的(SUMO)标签;溶解度增强肽序列(SET)标签;蛋白G的IgG结构域B1(GB1)标签;蛋白A的IgG重复结构域ZZ(ZZ)标签;溶解度增强通用标签(SNUT)标签;17kd蛋白(Skp)标签;噬菌体T7蛋白激酶(T7PK)标签;大肠杆菌分

泌蛋白A (EspA) 标签; 单体噬菌体T70.3蛋白 (Orc蛋白) /Mocr-标签; 大肠杆菌胰蛋白酶抑制剂 (Ecotin) 标签; 钙结合蛋白 (CaBP) 标签; 应激反应型砷酸还原酶 (ArsC) 标签; 翻译起始因子IF2的N端片段 (IF2-结构域I) 标签; 表达标签 (翻译起始因子IF2的N端片段); 应激反应蛋白RpoA、SlyD、Tsf、RpoS、PotD、Crr标签; 大肠杆菌酸性蛋白msyB、yjdD、rpoD标签 (参见, 例如Costa S, Almeida A, Castro A, Domingues L. Fusion tags for protein solubility, purification and immunogenicity in Escherichia coli: the novel Fh8 system. *Frontiers in Microbiology*. 2014; 5:63, 特别是Costa等人, 2014中的表1)。

[0129] 因此, 优选标签包含或组成为根据SEQ ID NO: 20至42中任一项的氨基酸序列或其序列变体。最优选地, 标签是Strep标签, 特别是根据SEQ ID NO: 20或34的Strep标签。

[0130] 优选地, 根据本发明的抗体或其抗原结合片段的第一多肽链的功能域 (ii) 和/或第二多肽链的功能域 (v) 包含或组成为受体或其功能片段。“受体”是一种多肽或蛋白质, 其与特定 (信号) 分子及其配体结合, 并可例如在细胞中引发应答。实际上, 受体尤其位于细胞膜上或细胞膜中 (细胞表面受体) 或细胞内 (细胞内受体)。优选的受体包括离子通道连接的 (离子型) 受体、G蛋白连接的 (代谢型) 激素受体和酶联激素受体、细胞质受体和核受体。对于形成二聚体的受体, 第一多肽链和/或第二多肽链的功能域可包含两个由接头连接的相同结构域。

[0131] 优选的受体是包含Ig样结构域的受体。特别地, 受体可以是包含Ig样结构域的抑制性受体或包含Ig样结构域的活化受体。包含Ig样结构域的抑制性受体的优选实例包括程序性细胞死亡蛋白1 (PD-1或PD1)、细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4 (CTLA4)、B淋巴细胞和T淋巴细胞减毒剂 (BTLA)、含T细胞免疫球蛋白和黏蛋白结构域分子3 (TIM-3; 也称为甲型肝炎病毒细胞受体2 (HAVCR2))、具有Ig和ITIM结构域的T细胞免疫受体 (TIGIT)、细胞表面糖蛋白CD200受体1 (CD200R1)、2B4 (CD244; SLAMF4)、Trem (在髓样细胞上表达的触发受体) 样转录物2 (TLT2)、白细胞免疫球蛋白样受体亚家族B成员4 (LILRB4) 和杀伤细胞免疫球蛋白样受体、两个Ig结构域和长胞质尾2 (KIR2DL2)。包含Ig样结构域的活化受体的优选实例包括诱导型T细胞共刺激分子 (ICOS) 和CD28。特别优选地, 所述受体是程序性细胞死亡蛋白1 (PD-1或PD1) 或信号传导性淋巴细胞活化分子 (SLAM)。

[0132] 还优选的受体是可溶性受体, 例如在Heaney ML, Golde DW. Soluble receptors in human disease. *J Leukoc Biol*. 1998 Aug; 64 (2): 135-46中公开的受体。其实例包括TNFR (肿瘤坏死因子受体)、p55、p75、Fas (CD95)、神经生长因子受体、CD27、CD30、生长激素受体、GM-CSF受体、促红细胞生成素受体 (EpoR)、血小板生成素受体、G-CSF受体、IL-1RI (白介素1受体I)、IL-1RII (白介素1受体II)、IL-2R α (白介素2受体 α 、Tac、CD25)、IL-4R (白介素4受体)、IL-5R α (白介素5受体 α)、IL-7R (白介素7受体)、IL-6R α (白介素6受体 α)、gp130、CNTFR (睫状神经营养因子受体)、LIFR (白血病抑制因子受体)、瘦素受体、IL-11R (白介素11受体)、IL-12p40 (白介素12受体p40)、干细胞因子受体 (c-kit)、干扰素受体、脂多糖受体 (CD14)、I型补体受体 (CD35)、透明质酸受体 (CD44)、CD58、IgE受体 (Fc ϵ R II、CD23)、IgG受体 (Fc γ R II)、ICAM-1 (CD54)、ICAM-3 (CD50)、转化生长因子 β 受体III、表皮生长因子受体 (c-erb B)、血管内皮生长因子受体、血小板衍生生长因子受体、成纤维细胞生长因子、集落刺激因子1受体 (MCFR, c-fms)、ARK (肾上腺素能受体激酶)、Tie (血管生成素受体)、胰岛素受体、胰岛素样生长因子II受体和甘露糖6磷酸受体。

[0133] 更优选地,可溶性受体是可溶性细胞因子受体,例如I类细胞因子受体超家族受体、II类细胞因子受体超家族受体、IL-1/TLR家族受体、TGF- β 受体家族受体、TNFR超家族受体或IL-17R。优选的I类细胞因子受体超家族受体包括IL-4R α 、IL-5R α 、IL-6R α 、IL-7R α 、IL-9R α 、EpoR、G-CSFR、GM-CSFR α 、gp130和LIFR α 。优选的II类细胞因子受体超家族受体包括I型IFNR,例如IFNAR1和IFNAR2 α 。优选的IL-1/TLR家族受体包括IL-1RII和IL-1RacP。优选的TGF- β 受体家族受体包括TBR-1和激活素受体样激酶7。优选的TNFR超家族受体包括TNFRSF6/Fas/CD95和TNFRSF9/4-1BB/CD137。相应地,细胞因子受体的优选实例包括IL-4R α 、IL-5R α 、IL-6R α 、IL-7R α 、IL-9R α 、EpoR、G-CSFR、GM-CSFR α 、gp130、LIFR α 、IFNAR1、IFNAR2 α 、IL-1RII、IL-1RacP、TBR-1、激活素受体样激酶7、TNFRSF6/Fas/CD95、TNFRSF9/4-1BB/CD137和IL-17R。包含含有这种受体或其功能片段的功能域的抗体或抗原结合片段在抗体到达其靶标时,可以调节炎症反应。例如,主要是通过响应于各种刺激的蛋白裂解而产生的可溶性II型IL-1受体(sIL-1RII)可以通过优先结合IL-1 β 来减弱过度的IL-1生物活性。例如,可溶性IL-1RacP通过选择性剪接产生而不是通过胞外域切割产生。例如,可溶性IL-6受体以类似于与膜IL-6R的亲和力结合IL-6,从而延长了IL-6的半衰期。

[0134] 受体的功能片段可以是任何能够介导功能的受体片段。通常,此类片段称为“结构域”。因此,受体的功能片段可以是受体的任何结构域。优选的实例包括上述(示例性)受体的功能片段(例如结构域)。优选地,由(附加)功能域包含的受体的功能片段是受体的胞外结构域。例如,第一多肽链和/或第二多肽链的(附加)功能域可以是以下任何受体的胞外结构域:IL-4R α 、IL-5R α 、IL-6R α 、IL-7R α 、IL-9R α 、EpoR、G-CSFR、GM-CSFR α 、gp130、LIFR α 、IFNAR1、IFNAR2 α 、IL-1RII、IL-1RacP、TBR-1、激活素受体样激酶7、TNFRSF6/Fas/CD95、TNFRSF9/4-1BB/CD137、IL-17R、p55、p75、神经生长因子受体、CD27、CD30、生长激素受体、血小板生成素受体、IL-1RI(白介素1受体I)、IL-2R α (白介素2受体 α 、Tac、CD25)、CNTFR(睫状神经营养因子受体)、瘦素受体、IL-11R(白介素11受体)、IL-12p40(白介素12受体p40)、干细胞因子受体(c-kit)、干扰素受体、脂多糖受体(CD14)、I型补体受体(CD35)、透明质酸受体(CD44)、CD58、IgE受体(Fc ϵ RII、CD23)、IgG受体(Fc γ RII)、ICAM-1(CD54)、ICAM-3(CD50)、转化生长因子 β 受体III、表皮生长因子受体(c-erb B)、血管内皮生长因子受体、血小板衍生生长因子受体、成纤维细胞生长因子、集落刺激因子1受体(MCFR、c-fms)、ARK(肾上腺素能受体激酶)、Tie(血管生成素受体)、胰岛素受体、胰岛素样生长因子II受体和甘露糖6磷酸受体。

[0135] 优选地,由(附加)功能域包含的受体的功能片段是Ig样结构域。例如,第一多肽链和/或第二多肽链的(附加)功能域可以是以下任何受体的Ig样结构域:PD1、SLAM、LAIR1、CTLA4、BTLA、TIM-3、TIGIT、CD200R1、2B4(CD244)、TLT2、LILRB4、KIR2DL2、ICOS或CD28。优选地,根据本发明的抗体或其抗原结合片段的第一多肽链的功能域(i i)和/或第二多肽链的功能域(v)不包含跨膜结构域。最优选地,受体包含或组成为SEQ ID NO:13至15中任一项所示的氨基酸序列或其功能性序列变体。

[0136] 此外,特别优选地,第一多肽链和/或第二多肽链的功能域包含或组成为如W0 2016/207402 A1中所述的突变的白细胞相关免疫球蛋白样受体1(LAIR1)片段。最优选的是SEQ ID NO:13中所示的突变LAIR1片段或具有至少70%,优选至少75%,更优选至少80%,甚至更优选至少85%,还更优选90%,特别优选95%,最优选至少98%序列同一性的其序列

变体。

[0137] 特别优选地,第一多肽链和/或第二多肽链的功能域包含或组成为PD1或SLAM的Ig样片段,例如SEQ ID NO:14或SEQ ID NO:15中列出的氨基酸序列,或具有至少70%,优选至少75%,更优选至少80%,甚至更优选至少85%,还更优选90%,特别优选95%,最优选至少98%序列同一性的其序列变体。

[0138] 优选地,根据本发明的抗体或其抗原结合片段的第一多肽链的功能域(ii)和/或第二多肽链的功能域(v)包含或组成为配体或其功能片段。“配体”是与蛋白质或任何其他分子上的特定位点特异性结合的分子。在本发明的上下文中,因为配体包含在多肽链中,因此其为肽、多肽或蛋白质。配体的结合特别是通过分子间力例如离子键、氢键和范德华力发生。配体的优选实例是细胞因子和上述任何一种受体的配体,特别是受体PD1、SLAM、LAIR1、CTLA4、BTLA、TIM-3、TIGIT、CD200R1、2B4 (CD244)、TLT2、LILRB4、KIR2DL2、ICOS或CD28,例如PD-L1、PD-L2、B7-1、B7-2、B7-H4 (B7同源物)、半乳凝素9、脊髓灰质炎病毒受体(PVR)、OX-2膜糖蛋白、CD48、B7-H3 (B7同系物)、MHCI和ICOS-L的配体。

[0139] 优选地,配体是细胞因子或其功能片段。细胞因子通常是小蛋白质(约5kDa至20kDa),这在细胞信号传导中很重要。它们由细胞释放并影响其他细胞的行为,有时会影响释放细胞本身的行为。细胞因子可以选自趋化因子,例如细胞因子SIS家族、细胞因子SIG家族、细胞因子SCY家族、血小板因子-4超家族和间分泌素(intercrine)、CC趋化因子配体(CCL)1至28(特别是CCL12)、CXCL1至CXCL17、XCL1(淋巴细胞趋化因子- α)和XCL2(淋巴细胞趋化因子- β)、分形趋化因子(或CX₃CL1);干扰素,例如I型IFN、II型IFN和III型IFN,特别是IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ 、IFN- ϵ 、IFN- κ 、IFN- ω 、IL10R2(也称为CRF2-4)和IFNLR1(也称为CRF2-12);白介素,例如IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-13、IL-14、IL-15、IL-16、IL-17、IL-18、IL-19、IL-20、IL-21、IL-22、IL-23、IL-24、IL-25、IL-26、IL-27、IL-28、IL-29、IL-30、IL-31、IL-32、IL-33、IL-34、IL-35和IL-36;淋巴因子,例如IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、GM-CSF和干扰素- γ ;肿瘤坏死因子,例如CD40LG (TNFSF5);CD70 (TNFSF7);EDA;FASLG (TNFSF6);LTA (TNFSF1);LTB (TNFSF3);TNF、TNF α 、TNFSF4 (OX40L);TNFSF8 (CD153);TNFSF9;TNFSF10 (TRAIL);TNFSF11 (RANKL);TNFSF12 (TWEAK);TNFSF13;TNFSF13B;TNFSF14;TNFSF15;和TNFSF18;和集落刺激因子,例如CSF1(也称为“巨噬细胞集落刺激因子”)、CSF2 (GM-CSF)(也称为“粒细胞巨噬细胞集落刺激因子”;GM-CSF和沙格司亭)、CSF3(也称为“粒细胞集落刺激因子”;G-CSF和非格司亭)、以及合成的CSF,例如Promegapoeitin。相应地,细胞因子的优选实例包括IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-13、IL-14、IL-15、IL-16、IL-17、IL-18、IL-19、IL-20、IL-21、IL-22、IL-23、IL-24、IL-25、IL-26、IL-27、IL-28、IL-29、IL-30、IL-31、IL-32、IL-33、IL-34、IL-35、IL-36、CCL-1、CCL-2、CCL-3、CCL-4、CCL-5、CCL-6、CCL-7、CCL-8、CCL-9、CCL-10、CCL-11、CCL-12、CCL-13、CCL-14、CCL-15、CCL-16、CCL-17、CCL-18、CCL-19、CCL-20、CCL-21、CCL-22、CCL-23、CCL-24、CCL-25、CCL-26、CCL-27、CCL-28、CXCL1、CXCL2、CXCL3、CXCL4、CXCL5、CXCL6、CXCL7、CXCL8、CXCL9、CXCL10、CXCL11、CXCL12、CXCL13、CXCL14、CXCL15、CXCL16、CXCL17、XCL1、XCL2、分形趋化因子、IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ 、IFN- ϵ 、IFN- κ 、IFN- ω 、IL10R2、IFNLR1、CD40LG、CD70、EDA、FASLG (TNFSF6)、LTA (TNFSF1)、LTB (TNFSF3)、TNF α 、TNFSF4 (OX40L)、TNFSF8 (CD153)、TNFSF9、TNFSF10 (TRAIL)、TNFSF11

(RANKL)、TNFSF12 (TWEAK)、TNFSF13、TNFSF13B、TNFSF14、TNFSF15、TNFSF18、CSF1、CSF2 (GM-CSF)、和CSF3 (G-CSF)。细胞因子的更优选实例包括IL-2、IL6、IL-10、IL-12、IL-15、IL-17、干扰素、GM-CSF和TNF。细胞因子是由多种细胞产生的,包括免疫细胞例如巨噬细胞、B淋巴细胞、T淋巴细胞和肥大细胞,以及内皮细胞、成纤维细胞和各种基质细胞,由此给定的细胞因子可以由多于一种类型的细胞产生。根据所选择的细胞因子,包含含有这种细胞因子或其功能片段的功能域的抗体或抗原结合片段可引发促炎性免疫刺激反应或抗炎性免疫抑制反应或细胞毒性反应。

[0140] 其他优选的配体包括例如作为肽、多肽或蛋白质的激素。激素是信号传导分子,由循环系统输送到远处的靶器官,特别是用于调节生理和行为。激素通常由多细胞生物体中的腺体产生。特别优选的激素是(人)生长激素。激素的其他实例包括TRH、加压素、胰岛素、催乳素、ACTH、催产素、心房钠尿肽(ANP)、胰高血糖素、生长抑素、胆囊收缩素、胃泌素、瘦素、血管紧张素II、碱性成纤维细胞生长因子2和甲状旁腺激素相关蛋白。

[0141] 配体的功能片段可以是任何能够介导功能的配体片段。通常,此类片段称为“结构域”。因此,配体的功能片段可以是配体的任何结构域。优选的实例包括上述(示例性)配体的功能片段(例如结构域)。优选地,由(附加)功能域包含的配体的功能片段是Ig样结构域。

[0142] 优选地,根据本发明的抗体或抗原结合片段的第一多肽链的功能域(ii)和/或第二多肽链的功能域(v)包含(独立的)结合位点或由其组成。因此,优选地,根据本发明的抗体或其抗原结合片段的第一多肽链和/或第二多肽链包含(独立的)结合位点。

[0143] 通常,“(独立的)结合位点”是特定靶标(例如分子和/或离子)可以结合,特别是通过形成化学键例如非共价键结合的多肽链区域。非共价键是相对弱的化学键,不涉及电子的紧密共享。多个非共价键通常稳定大分子的构象并介导分子之间的高度特异性相互作用。因此,结合位点是提供结合功能的第一多肽链和/或第二多肽链的功能域。特别地,结合位点不是接头例如GS-接头。虽然结合位点可以任选地包含接头(肽)例如GS-接头,但是其优选地不由接头(肽)例如GS-接头组成。换句话说,即使结合位点包含接头(肽)例如GS-接头,其优选仍包含介导不同于(纯)连接两个肽的功能的附加氨基酸序列。因此,结合位点优选不同于接头(肽)例如GS接头。特别地,结合位点可以不包含接头(肽)例如GS接头。接头通常不提供结合功能。

[0144] 重要的是,第一多肽链的(独立的)结合位点(ii)不包含第二多肽链的片段。相应地,第二多肽链的任意的独立的结合位点(v)不包含第一多肽链的片段。换句话说,第二多肽链(特别是其任何片段,例如甚至单个氨基酸)不需要或不涉及第一多肽链的独立结合位点。此外,如果第二多肽链也包含独立的结合位点,则第一多肽链(特别是其任何片段,例如甚至单个氨基酸)不需要或不涉及第二多肽链的独立结合位点。因此,独立结合位点不同于由第一多肽链的可变域和第二多肽链的可变域一起形成的抗原结合位点。换句话说,独立结合位点不同于由两种不同多肽链的可变域形成的抗原结合位点(然而,如果所涉及的可变域位于单个多肽链上,则独立结合位点仍可包含抗原结合位点,如以下更详细描述)。

[0145] 优选地,(独立的)结合位点选自:受体及其功能片段、配体及其功能片段、CD分子及其功能片段、单链抗体及其抗原结合片段、抗原及其功能片段、和标签。

[0146] 更优选地,(独立的)结合位点包含或组成为受体或其功能片段。受体通常能够结合(特异性)配体。因此,受体也可以称为(独立的)结合位点。以上描述了各种受体,并且相

应地应用了优选的实施方案及其实例。

[0147] 在结合位点的背景下,受体的功能片段是保留了受体与其配体结合的能力的受体片段。由于结合位点可包含受体或其功能片段,因此在结合位点的上下文中术语“功能”是指受体的结合功能。受体的其他片段/结构域可以优选地不被(独立的)结合位点所包含。例如,受体可以包含一个或多个跨膜结构域,该结构域通常不参与受体的结合功能,因此优选不包含在(独立的)结合位点中。因此,最优选的是,(独立的)结合位点所包含的受体片段仅仅是受体的结合位点(特别是没有受体的任何其他结构域)。

[0148] 还更优选地,(独立的)结合位点包含或组成为配体或其功能片段。配体通常能够结合(特异性)受体。因此,配体也可以称为(独立的)结合位点。以上描述了各种配体,并且相应地应用了优选的实施方案及其实例。

[0149] 在结合位点的背景下,配体的功能片段是保留了配体的结合能力的配体片段。由于结合位点可包含配体或其功能片段,因此在结合位点的上下文中术语“功能”是指配体的结合功能。配体的其他片段/结构域可以优选地不被(独立的)结合位点所包含。因此,最优选的是,(独立的)结合位点所包含的配体的片段仅仅是配体的结合位点(特别是没有配体的任何其他结构域)。

[0150] 优选地,第一多肽链和/或第二多肽链的(独立的)结合位点是CD(分化簇)分子或其功能片段。CD(分化簇)分子是细胞表面标志物。CD分子通常充当受体或配体或参与细胞黏附。CD的命名法是通过1982年发起的HLDA(人白细胞分化抗原)研讨会来开发和维护的。可在本发明的上下文中用作结合位点的CD分子的实例可例如从本领域技术人员已知的多种来源进行检索,例如<http://www.ebioscience.com/resources/human-cd-chart.htm>,即BD Bioscience的“Human and Mouse CD Marker Handbook”(可从https://www.bdbiosciences.com/documents/cd_marker_handbook.pdf进行检索)或从www.hcdm.org获得。因此,第一多肽链和/或第二多肽链的(独立的)结合位点可以是CD标志物或其功能片段,例如在BD Bioscience的“Human and Mouse CD Marker Handbook”(可从https://www.bdbiosciences.com/documents/cd_marker_handbook.pdf进行检索)中或“CD标志物图”的其他来源中描述的(人)CD标志物,其通常还指出了结合伴侣,因此可以选择适当的结合位点。

[0151] CD分子的功能片段是保留了CD分子的结合能力的CD分子片段。在本发明的上下文中,结合位点可包含CD分子或其功能片段,因此,术语“功能”是指CD分子的结合功能。CD分子的其他片段/结构域可以优选地不被(独立的)结合位点所包含。因此,最优选的是,(独立的)结合位点所包含的CD分子的片段仅仅是CD分子的结合位点(特别是没有CD分子的任何其他结构域)。优选地,(独立的)结合位点所包含的CD分子的功能片段是Ig样结构域。

[0152] 优选地,第一多肽链和/或第二多肽链的(独立的)结合位点是单链抗体(例如scFv或VHH)或其抗原结合片段。还优选的是,第一多肽链和/或第二多肽链的(独立的)结合位点是抗原或其功能片段,例如表位。

[0153] 优选地,第一多肽链和/或第二多肽链的(独立的)结合位点是单链抗体或其抗原结合片段。单链抗体是仅由一条单个多肽链组成的重组抗体。单链抗体的优选实例包括不具有恒定域的单链抗体,例如单结构域抗体、基于单链可变片段(scFv)的单链抗体和单链双抗体(scDb)的单链抗体、以及具有恒定域例如单链Fab片段的单链抗体(scFab;Hust M,

Jostock T, Menzel C, Voedisch B, Mohr A, Brenneis M, Kirsch MI, Meier D, Dübel S. Single chain Fab (scFab) fragment. BMC Biotechnol. 2007 Mar 8; 7:14)。

[0154] 基于单链可变片段 (scFv) 的单链抗体的优选实例包括 scFv (一个 VH 和一个 VL 结构域) 和串联 scFv, 例如串联双 scFv (BiTE)、串联三 scFv 和串联四 scFv。

[0155] 单结构域抗体 (也称为“纳米抗体”) 是仅包含/组成为单个 (单体) 可变域的抗体片段。像完整抗体一样, 单结构域抗体也能够选择性结合特定抗原。第一个单结构域抗体是由在骆驼科动物中发现的重链抗体改造而来; 这些抗体被称为“VHH”或“VHH 片段”。软骨鱼类还具有重链抗体 (IgNAR, “免疫球蛋白新抗原受体”), 可从中获得称为“V_{NAR}”或“V_{NAR} 片段”的单结构域抗体。一种替代方法是将来自人或小鼠的常见免疫球蛋白 G (IgG) 的二聚体可变域分裂为单体。因此, 单结构域抗体可以衍生自重链或轻链可变域 (VH 或 VL)。单结构域抗体的优选实例包括 VHH、V_{NAR}、IgG 衍生的 VH 和 IgG 衍生的 VL。

[0156] 最优选地, 第一多肽链和/或第二多肽链的功能域是 VHH 或 scFv。VHH 的最优选实例是 T3-VHH 或 F4-VHH。例如, 单结构域抗体优选包含或组成为 SEQ ID NO: 16 或 18 中所示的氨基酸序列或具有至少 70%, 优选至少 75%, 更优选至少 80%, 甚至更优选至少 85%, 还更优选 90%, 特别优选 95%, 最优选至少 98% 序列同一性的其序列变体。scFv 的最优选实例是 TT39.7-scFv 或 MPE8-scFv。例如, 单结构域抗体优选包含或组成为 SEQ ID NO: 17 或 19 中所示的氨基酸序列或具有至少 70%, 优选至少 75%, 更优选至少 80%, 甚至更优选至少 85%, 还更优选 90%, 特别优选 95%, 最优选至少 98% 序列同一性的其序列变体。

[0157] 优选地, 第一多肽链和/或第二多肽链的 (独立的) 结合位点是抗原或其功能片段, 特别是表位。抗原是能够被抗体结合的分子或分子的一部分。由于抗原或其功能片段由多肽链所包含, 因此应理解的是, 在本发明的上下文中, 如果结合位点是抗原或其功能片段, 则所述抗原或其功能片段是肽或多肽。抗原通常包含一个或多个表位。表位是与抗体结合 (被抗体“识别”) 的抗原的一部分。抗原的优选实例包括但不限于血清蛋白, 例如细胞因子如 IL4、IL5、IL9 和 IL13、生物活性肽、细胞表面分子如受体、转运蛋白、离子通道、病毒和细菌蛋白、RAGE (晚期糖基化终产物的受体)、GPVI 和胶原蛋白。

[0158] 抗原的功能片段是保留了抗原的结合能力的抗原片段。因此, 抗原的片段优选是表位或包含一个或多个表位。抗原的其他片段/结构域可以优选地不被 (独立的) 结合位点所包含。因此, 最优选地, (独立的) 结合位点所包含的抗原片段是表位或包含一个以上表位 (特别是没有抗原的任何其他结构域)。

[0159] 还优选地, 第一多肽链和/或第二多肽链的 (独立的) 结合位点是包含结合位点的标签。大多数标签都可以结合, 例如亲和标签。因此, 那些具有结合另一分子的能力的标签也可以称为 (独立的) 结合位点。上文描述了各种标签, 包括包含结合位点的标签, 并且相应地应用了优选的实施方式和实例。

[0160] 最优选地, 第一多肽链和/或第二多肽链的 (附加) 功能域是 Ig 样结构域、scFv、VHH 或 Strep 标签。特别地, 第一多肽链和/或第二多肽链的 (附加) 功能域优选包含或组成为 SEQ ID NO: 13 至 20 中任一项所示的氨基酸序列或具有至少 80%, 优选至少 85%, 更优选至少 90%, 甚至更优选至少 95%, 最优选至少 98% 序列同一性的其功能性序列变体。

[0161] 优选地, 第一多肽链在 (附加) 功能结构域 (i) 的 N 端包含单个可变域 (i), 且第二多肽链在任意的 (附加) 功能结构域 (v) 的 N 端或一个或多个恒定结构域 (vi) 的 N 端包含

单个可变域 (iv), 第二多肽链的单个可变域 (iv) 与第一多肽链的可变域 (i) 形成抗原结合位点。根据本发明的此类抗体和抗原结合片段的优选实例显示在图1B和1C中 (图1B和1C的所有形式, 除了显示在图1C最下面的基于DVD-Ig的抗体)。

[0162] 替代地, 第一多肽链可以在 (附加) 功能结构域 (ii) 的N端包含两个或两个以上可变域 (i), 且第二多肽链可以在 (附加) 功能结构域 (v) 的N端或一个或两个以上恒定结构域 (vi) 的N端包含两个或两个以上可变域 (iv), 第二多肽链的两个或两个以上可变域 (iv) 与第一多肽链的两个或两个以上可变域 (i) 形成抗原结合位点。例如, 肘区中插入了 (附加) 功能域的支架抗体可以是DVD-Ig形式的双特异性抗体, 例如如图1C最下面所示的“DVD-Ig”。

[0163] 还优选的是, 第一多肽链在最N端可变域 (i) 的N端和/或最C端恒定域 (iii) 的C端包含单链抗体如scFv或单结构域抗体如VHH。替代地或另外地, 第二多肽链在最N端可变域 (i) 的N端或最C端恒定域 (vi) 的C端可以包含单链抗体如scFv或单结构域抗体如VHH。其优选实例显示在图1C中, 包括scFv-(H) IgG、IgG (H)-scFv、scFv-(L) IgG、IgG (L)-scFv、V-(H) IgG、IgG (H)-V、V-(L) IgG和IgG (L)-V抗体, 其中一个或两个以上 (附加) 功能域插入重链和/或轻链的肘区中。

[0164] 优选地, 第一多肽链和第二多肽链各自分别包含一个单一恒定域, 特别是CL结构域和CH1结构域。其优选实例在图1C中示出, 包括F(ab)₂和Fab抗体片段, 其中一个或两个以上 (附加) 功能域插入重链和/或轻链的肘区中。

[0165] 替代地, 还优选地, 第一多肽链或第二多肽链包含一个单一恒定域, 特别是CL结构域; 第一多肽链或第二多肽链中的另一个包含CH1结构域和一个或两个以上其他恒定域, 例如CH2和/或CH3结构域。根据本发明的此类抗体和抗原结合片段的优选实例显示在图1B和1C中 (图1B和1C的所有形式, 除了显示在图1C上面的基于F(ab)₂和Fab的抗体片段)。

[0166] 优选地, 根据本发明的抗体或其抗原结合片段包含Fc部分, 特别是Fc区。更优选地, Fc部分衍生自人来源, 例如衍生自人IgG1、人IgG2、人IgG3和/或人IgG4, 其中人IgG1是特别优选的。

[0167] 如本文所用, 术语“Fc部分”指衍生自免疫球蛋白重链部分的序列, 该序列始于铰链区在木瓜蛋白酶切割位点 (例如, 天然IgG中的残基216, 重链恒定区的第一个残基为114) 的正上游, 终止于免疫球蛋白重链的C端。相应地, Fc部分可以是完整的Fc部分或其一部分 (例如结构域)。完整的Fc部分至少包含铰链结构域、CH2结构域和CH3结构域 (例如, EU氨基酸第216至446位)。附加的赖氨酸残基 (K) 有时会出现于Fc部分的最C端, 但通常会从成熟抗体上切割下来。Fc部分内的每个氨基酸位置已经根据本领域公认的Kabat EU编号系统进行编号, 参见例如Kabat等人的“Sequences of Proteins of Immunological Interest”, U.S. Dept. Health and Human Services, 1983和1987。

[0168] 优选地, 在本发明的上下文中, Fc部分包含以下至少之一: 铰链 (例如, 上部、中部和/或下部铰链区) 结构域、CH2结构域、CH3结构域或其变体、部分或片段。在优选的实施方案中, Fc部分至少包含铰链结构域、CH2结构域或CH3结构域。更优选地, Fc部分是完整的Fc部分。相对于天然存在的Fc部分, Fc部分还可包含一个或两个以上氨基酸插入、缺失或置换。例如, 可以删除铰链结构域、CH2结构域或CH3结构域 (或其部分) 中的至少一个。例如, Fc部分可包含或组成为: (i) 与CH2结构域 (或其部分) 融合的铰链结构域 (或其部分)、(ii) 与CH3结构域 (或其部分) 融合的铰链结构域 (或其部分)、(iii) 与CH3结构域 (或其部分) 融合

的CH2结构域(或其部分)、(iv) 铰链结构域(或其部分)、(v) CH2结构域(或其部分)或(vi) CH3结构域或其部分。

[0169] 本领域普通技术人员将理解,可以修饰Fc部分,使得其氨基酸序列与天然存在的免疫球蛋白分子的完整Fc部分不同,同时保留天然存在的Fc部分所赋予的至少一种所需功能。这样的功能包括Fc受体(FcR)结合、抗体半衰期调节、ADCC功能、蛋白A结合、蛋白G结合和补体结合。负责这种功能和/或这种功能必需的天然存在的Fc部分的一部分是本领域技术人员众所周知的。

[0170] 例如,为了激活补体级联,C1q与至少两个IgG1分子或一个IgM分子结合,并与抗原靶标连接(Ward, E. S. 和Ghetie, V., *Ther. Immunol.* 2 (1995) 77-94)。Burton, D. R. (*Mol. Immunol.* 22 (1985) 161-206) 描述了包含氨基酸残基第318至337位的重链区参与补体固定。Duncan, A. R. 和Winter, G. (*Nature* 332 (1988) 738-740) 使用定点诱变,报道了Glu318、Lys320和Lys322形成C1q的结合位点。Glu318、Lys320和Lys322残基在C1q结合中的作用被含有这些残基的短合成肽的抑制补体介导的裂解的能力所证实。

[0171] 例如,FcR结合可以通过(抗体的)Fc部分与Fc受体(FcR)的相互作用来介导,所述Fc受体是造血细胞上的特化细胞表面受体。Fc受体属于免疫球蛋白超家族,并显示出通过免疫复合体的吞噬作用介导抗体包覆的病原体的去除,以及通过抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)来介导红细胞和由相应抗体包覆的各种其他细胞靶标(例如肿瘤细胞)的裂解(Van de Winkel, J. G. 和Anderson, C. L., *J. Leukoc. Biol.* 49 (1991) 511-524)。FcR通过其对免疫球蛋白类别的特异性来定义;IgG抗体的Fc受体称为Fc γ R、IgE抗体的Fc受体称为Fc ϵ R、IgA抗体的Fc受体称为Fc α R,依此类推,新生Fc受体称为FcRn。Fc受体结合描述于例如Ravetch, J. V. 和Kinet, J. P., *Annu. Rev. Immunol.* 9 (1991) 457-492; Capel, P. J. 等人, *Immunomethods* 4 (1994) 25-34; de Haas, M. 等人, *J. Lab. Clin. Med.* 126 (1995) 330-341; 和Gessner, J. E. 等人, *Ann. Hematol.* 76 (1998) 231-248。

[0172] 受体与天然IgG抗体的Fc结构域交联(Fc γ R)触发了多种效应功能,包括吞噬作用、抗体依赖性细胞毒性、炎症介质的释放以及免疫复合体清除和抗体产生的调节。因此,优选提供受体交联的Fc部分(Fc γ R)。在人类中,已鉴定出三类Fc γ R,它们是:(i) Fc γ RI (CD64),其以高亲和力结合单体IgG,并在巨噬细胞、单核细胞、嗜中性粒细胞和嗜酸性粒细胞上表达;(ii) Fc γ R II (CD32),其中以中等至低亲和力结合复合的IgG,并且广泛表达,特别是在白细胞上表达,并且已知在抗体介导的免疫中的起关键作用,其可分为Fc γ R IIA、Fc γ R IIB和Fc γ R IIC并在免疫系统中发挥不同的功能,但具有与IgG-Fc相似的低亲和力,这些受体的胞外域高度同源;(iii) Fc γ R III (CD16),其中以中等至低亲和力结合IgG,并分为两种类型:存在于NK细胞、巨噬细胞、嗜酸性粒细胞以及一些单核细胞和T细胞上并介导ADCC的Fc γ R IIIA,和在嗜中性粒细胞上高度表达的Fc γ R IIIB。Fc γ R IIA存在于参与杀伤的许多细胞(例如巨噬细胞、单核细胞、嗜中性粒细胞)中,并且其似乎能够激活杀伤过程。Fc γ R IIB似乎在抑制过程中发挥作用,并存在于B细胞、巨噬细胞以及肥大细胞和嗜酸性粒细胞中。

[0173] 关于Fc γ RI结合,天然IgG中E233-G236、P238、D265、N297、A327和P329中的至少一个的修饰降低了与Fc γ RI的结合。位于第233至236位的IgG2残基被置换为IgG1和IgG4导致与Fc γ RI的结合降低了 10^3 倍,并消除了人单核细胞对抗体致敏的红细胞的反应(Armour,

K.L. 等人 *Eur. J. Immunol.* 29 (1999) 2613-2624)。关于Fc γ RII结合,发现例如E233-G236、P238、D265、N297、A327、P329、D270、Q295、A327、R292和K414中至少一个的IgG突变降低了与Fc γ RIIA的结合。关于Fc γ RIII结合,发现例如E233-G236、P238、D265、N297、A327、P329、D270、Q295、A327、S239、E269、E293、Y296、V303、A327、K338和D376中的至少一个的突变降低了与Fc γ RIHA的结合。对人IgG1上与Fc受体的结合位点进行映射,上述突变位点和测量与Fc γ RI和Fc γ RIIA结合的方法描述于Shields, R.L. 等人, *J. Biol. Chem.* 276 (2001) 6591-6604。

[0174] 关于与关键的Fc γ RII的结合,天然IgG Fc的两个区域似乎对Fc γ RII和IgG的相互作用至关重要,即 (i) IgG Fc的下部铰链位点,特别是氨基酸残基L、L、G、G (234至237, EU编号),和 (ii) IgG Fc的CH2结构域的相邻区域,特别是与下部铰链区相邻的上部CH2结构域中的环和链,例如在P331的区域 (Wines, B.D., 等人, *J. Immunol.* 2000; 164: 5313-5318)。此外,Fc γ RI似乎与IgG Fc上的同一位点结合,而FcRn和蛋白A结合于IgG Fc上的似乎位于CH2-CH3交接处的不同位点 (Wines, B.D., 等人, *J. Immunol.* 2000; 164: 5313-5318)。

[0175] 例如, Fc部分可以包含或组成为Fc部分的至少一部分,该Fc部分的至少一部分是本领域已知的用于FcRn结合或延长半衰期所需的部分。替代地或附加地,本发明抗体的Fc部分包含本领域已知的用于蛋白A结合所需的Fc分子的至少一部分,和/或本发明抗体的Fc部分包含本领域已知的用于蛋白G结合所需的Fc分子的至少一部分。因此,优选的Fc部分包含本领域已知的用于Fc γ R结合所需的至少一部分。如上所述,优选的Fc部分可因此至少包含 (i) 天然IgG Fc的下部铰链位点,尤其是氨基酸残基L、L、G、G (234-237, EU编号),和 (ii) 天然IgG Fc的CH2结构域的相邻区域,特别是与下部铰链区相邻的上部CH2结构域中的环和链,例如在P331的区域,例如在P331周围的天然IgG Fc的上部CH2结构域中的至少3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个连续氨基酸的区域,例如在天然IgG Fc的氨基酸第320和340位之间 (EU编号) 的区域。

[0176] 优选地,根据本发明的抗体或其抗原结合片段包含Fc区。如本文所用,术语“Fc区”是指由抗体重链的两个或多于两个Fc部分形成的免疫球蛋白的部分。例如, Fc区可以是单体Fc区或“单链”Fc区 (即, scFc区)。单链Fc区由在单个多肽链内连接的Fc部分 (例如, 在单个连续核酸序列中编码) 组成。W02008/143954A2中公开了示例性scFc区。优选地, Fc区是二聚Fc区。“二聚Fc区”或“dcFc”是指由两个分开的免疫球蛋白重链的Fc部分形成的二聚体。二聚Fc区可以是两个相同的Fc部分的同二聚体 (例如, 天然存在的免疫球蛋白的Fc区) 或两个不同的Fc部分的异二聚体。

[0177] Fc区的Fc部分可以是相同或不同的类和/或亚类。例如, Fc部分可以衍生自IgG1、IgG2、IgG3或IgG4亚类的免疫球蛋白 (例如人免疫球蛋白)。优选地, Fc区的Fc部分具有相同的类和亚类。然而, Fc区 (或Fc区的一个或多于一个Fc部分) 也可以是嵌合的, 由此嵌合Fc区可以包含衍生自不同免疫球蛋白类和/或亚类的Fc部分。例如, 二聚Fc区或单链Fc区的至少两个Fc部分可以来自不同的免疫球蛋白类和/或亚类。另外地或可替代地, 嵌合Fc区可包含一个或多于一个嵌合Fc部分。例如, 嵌合Fc区或部分可包含衍生自第一亚类免疫球蛋白 (例如IgG1、IgG2或IgG3亚类) 的一个或多于一个部分, 而Fc区或部分的其余部分属于不同的亚类。例如, Fc多肽的Fc区或部分可以包含衍生自第一亚类免疫球蛋白 (例如, IgG1、IgG2或IgG4亚类) 的CH2和/或CH3结构域和衍生自第二亚类免疫球蛋白 (例如, IgG3亚类) 的铰链

区。例如，Fc区或部分可以包含衍生自第一亚类免疫球蛋白（例如，IgG4亚类）的铰链结构域和/或CH2结构域和衍生自第二亚类免疫球蛋白（例如，IgG1、IgG2或IgG3亚类）的CH3结构域。例如，嵌合Fc区可以包含来自第一亚类免疫球蛋白（例如，IgG4亚类）的Fc部分（例如，完整Fc部分）和来自第二亚类免疫球蛋白（例如，IgG1、IgG2或IgG3亚类）的Fc部分。例如，Fc区或部分可包含来自IgG4免疫球蛋白的CH2结构域和来自IgG1免疫球蛋白的CH3结构域。例如，Fc区或部分可包含来自IgG4分子的CH1结构域和CH2结构域以及来自IgG1分子的CH3结构域。例如，Fc区或部分可包含来自抗体的特定亚类的CH2结构域的一部分，例如CH2结构域的EU第292至340位。例如，Fc区或Fc部分可包含以下氨基酸，其中CH2的第292至340位衍生自IgG4部分，而CH2的其余部分衍生自IgG1部分（替代地，CH2的第292至340位可衍生自IgG1部分，并且CH2的其余部分衍生自IgG4部分）。

[0178] 而且，Fc区或部分可（另外或替代地）例如包含嵌合铰链区。例如，嵌合铰链可以例如部分衍生自IgG1、IgG2或IgG4分子（例如，上部、下部、中部铰链序列），并且部分衍生自IgG3分子（例如，中部铰链序列）。在另一个实例中，Fc区或部分可包含部分衍生自IgG1分子且部分衍生自IgG4分子的嵌合铰链。在另一个实例中，嵌合铰链可包含来自IgG4分子的上部和下部铰链结构域以及来自IgG1分子的中部铰链结构域。可以例如通过在IgG4铰链区的中部铰链结构域的EU第228位引入脯氨酸置换（Ser228Pro）来制备这种嵌合铰链。在另一个实施方案中，嵌合铰链可包含来自IgG2抗体的EU第233至236位的氨基酸和/或Ser228Pro突变，其中铰链的剩余氨基酸来自IgG4抗体。可以在根据本发明的抗体的Fc部分中使用的嵌合铰链描述于US 2005/0163783 A1中。

[0179] 在本发明中，优选的是，Fc部分或Fc区包含或组成为衍生自人免疫球蛋白序列的氨基酸序列（例如，衍生自人IgG分子的Fc区或Fc部分）。然而，多肽可包含来自另一哺乳动物物种的一个或多个氨基酸。例如，灵长类动物Fc部分或灵长类动物结合位点可包含在主题多肽中。或者，在Fc部分或Fc区中可存在一个或多个鼠类氨基酸。

[0180] 优选地，根据本发明的抗体，特别是除了如上所述的Fc部分之外，还包含衍生自恒定区，特别是衍生自IgG的恒定区，优选衍生自IgG1的恒定区，更优选衍生自人IgG1恒定区的其他部分。更优选地，根据本发明的抗体，特别是除了如上所述的Fc部分之外，还包含恒定区的所有其他部分，特别是IgG恒定区的所有其他部分，优选IgG1恒定区的所有其他部分，更优选人IgG1恒定区的所有其他部分。

[0181] 恒定区的特别优选的序列是根据SEQ ID NO:3、4或7的氨基酸序列。优选地，重链恒定区包含或组成为IgG1 CH1-CH2-CH3，特别是包含或组成为如本文所述的根据SEQ ID NO:3的氨基酸序列或其功能性序列变体。优选地，轻链恒定区包含或组成为IgG1 CL，特别是包含或组成为如本文所述的根据SEQ ID NO:4的氨基酸序列或其功能性序列变体。

[0182] 还优选地，根据本发明的抗体或其抗原结合片段不包含Fc区或Fc部分。特别地，肘区所需的恒定域（CH1和CL）通常不包含在Fc部分或Fc区中。因此，根据本发明的抗体或其抗原结合片段优选不包含Fc区或Fc部分。这样的抗体（或抗体片段）的实例包括基于Fab或F(ab)₂的抗体（IEI-Fab或IEI-F(ab)₂）。

[0183] 优选地，根据本发明的抗体或抗原结合片段的第一多肽链和/或第二多肽链包含一个或多个接头。例如，根据本发明的抗体或抗原结合片段的第一多肽链和/或第二多肽链可包含1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个接头。更优选地，根据本发明的

抗体或抗原结合片段的第一多肽链和/或第二多肽链包含一个接头或两个接头。还优选地,根据本发明的抗体或抗原结合片段的第一多肽链和/或第二多肽链包含三个或四个接头。通常,接头可以为多肽链提供更大的灵活性。优选地,第一多肽链和/或第二多肽链在恒定区和(附加)功能域之间包含接头。替代地,第一多肽链和/或第二多肽链在恒定区和(附加)功能域之间可以不包含接头。如果第二多肽链不包含(附加)功能域,则第二多肽链可以在恒定区和可变区之间包含接头。替代地,第二多肽链在恒定区和可变区之间可以不包含接头。优选地,第一多肽链和/或第二多肽链在(附加)功能域和可变域之间,特别是在(附加)功能域和最C端可变域之间包含接头。替代地,第一多肽链和/或第二多肽链在(附加)功能域和可变域,特别是在(附加)功能域和最C端可变域之间可以不包含接头。如果第一多肽链和/或第二多肽链包含多于一个可变域,则还优选地,第一多肽链和/或第二多肽链在可变域之间包含一个或多于一个接头。替代地,第一多肽链和/或第二多肽链在可变域之间可以不包含一个或多于一个接头。更优选地,第一多肽链和/或第二多肽链在恒定区和(附加)功能域之间包含接头,并在(附加)功能域和可变域之间,特别是在(附加)功能域和最C端可变域之间包含接头。替代地,第一多肽链和/或第二多肽链可以在恒定区与(附加)功能域之间不包含接头,在(附加)功能域与可变域之间,特别是在(附加)功能域和最C端可变域之间也不包含接头。此外,第一多肽链可在恒定区和(附加)功能域之间包含接头,并在(附加)功能域和可变域之间,特别是在(附加)功能域和最C端可变域之间包含接头,而第二多肽链可以既不包含(附加)功能域也不在恒定区和可变区之间包含接头。还优选地,如果第一多肽链和/或第二多肽链包含多于一个可变域,则第一多肽链和/或第二多肽链在恒定区和(附加)功能域之间包含接头;在(附加)功能域和可变域之间,特别是在(附加)功能域和最C端可变域之间包含接头;并且在可变域之间包含一个或多于一个接头。

[0184] 如果第一多肽链和/或第二多肽链包含多于一个接头,则这些接头可以相同或不同。

[0185] 优选地,接头由至多20个氨基酸组成,例如由1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个或20个氨基酸组成,更优选由至多15个氨基酸组成,例如由1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个或15个氨基酸组成,甚至更优选由至多10个氨基酸组成,例如由1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸组成,还更优选由至多5个氨基酸组成,例如由1个、2个、3个、4个或5个氨基酸组成。接头可以衍生自天然存在的氨基酸序列例如侧翼区,或衍生自非天然氨基酸序列。优选地,(附加)功能域对应于单个外显子或多于一个外显子,并且接头的氨基酸序列由该单个外显子或多于一个外显子侧翼的内含子序列中反推得到。例如,(i)可变区和(附加)功能域(由外显子或其序列变体编码)之间的接头可以由紧接在用作“(附加)功能域”的外显子或其序列变体之前(在5'至3'方向)的侧翼内含子序列编码,和/或(ii)(附加)功能域(由外显子或其序列变体编码)和恒定区之间的接头可以由紧接在用作“(附加)功能域”的外显子或序列变体之后(在5'至3'方向)的侧翼内含子序列编码。优选地,接头不包含任何Cys(C)残基。优选地,接头包含或组成为一个或多于一个甘氨酸(Gly)残基和/或一个或多于一个丝氨酸(Ser)残基(“GS接头”)。GS接头的优选实例包括根据SEQ ID NO:43至48的氨基酸序列,最优选根据SEQ ID NO:45的接头。内含子序列接头的优选实例包括根据SEQ ID NO:49至52的氨基酸序列。最优选地,接头包含或组成为SEQ ID

NO:43至52中任一项所示的氨基酸序列。

[0186] 例如,第一多肽链和/或第二多肽链可(在N端至C端方向)包含SEQ ID NO:49所示的接头或其功能性序列变体,其后紧接SEQ ID NO:14所示的(附加)功能域或其功能性序列变体。此外,第一多肽链和/或第二多肽链可(在N端至C端方向)包含SEQ ID NO:14所示的(附加)功能域或其功能性序列变体,其后紧接SEQ ID NO:50所示的接头或其功能性序列变体。最优选地,第一多肽链和/或第二多肽链可(在N端至C端方向)包含(可变域,其后紧接)SEQ ID NO:49所示的接头或其功能性序列变体,其后紧接SEQ ID NO:14所示的(附加)功能域或其功能性序列变体,其后紧接SEQ ID NO:50所示的接头或其功能性序列变体(其后紧接恒定域)。

[0187] 例如,第一多肽链和/或第二多肽链可(在N端至C端方向)包含SEQ ID NO:51所示的接头或其功能性序列变体,其后紧接SEQ ID NO:15所示的(附加)功能域或其功能性序列变体。此外,第一多肽链和/或第二多肽链可(在N端至C端方向)包含SEQ ID NO:15所示的(附加)功能域或其功能性序列变体,其后紧接SEQ ID NO:52所示的接头或其功能性序列变体。最优选地,第一多肽链和/或第二多肽链可(在N端至C端方向)包含(可变域,其后紧接)SEQ ID NO:51所示的接头或其功能性序列变体,其后紧接SEQ ID NO:15所示的(附加)功能域或其功能性序列变体,其后紧接SEQ ID NO:52所示的接头或其功能性序列变体(其后紧接恒定域)。

[0188] 替代地,还优选地,第一多肽链和/或第二多肽不包含任何接头。

[0189] 优选地,根据本发明的抗体或其抗原结合片段的第一多肽链(在N端至C端方向)包含或组成为:V-D-CH1,其中

[0190] V是可变域(i);

[0191] D是(附加)功能域(ii);和

[0192] CH1是CH1恒定域(iii)。

[0193] V和D和/或D和CH1可如上所述通过接头连接或可直接彼此连接。

[0194] 更优选地,根据本发明的抗体或其抗原结合片段的第一多肽链(在N端至C端方向)包含或组成为:V-D-CH1-CH2-CH3,其中

[0195] V-D-CH1如上所述;和

[0196] CH2和CH3分别是CH2恒定域和CH3恒定域。

[0197] 还优选地,根据本发明的抗体或其抗原结合片段的第一多肽链(在N端至C端方向)包含或组成为:(V)_A-D-CH1,其中

[0198] V-D-CH1如上所述;

[0199] A为1至5,优选1至4,更优选1至3,甚至更优选1或2的整数;和

[0200] 可变域V可以直接或通过接头彼此连接。

[0201] 优选地,根据本发明的抗体或其抗原结合片段的第二多肽链(在N端至C端方向)包含或组成为:V-CL,其中

[0202] V是可变域(iv);和

[0203] CL是恒定域(vi)。

[0204] V和CL可如上所述通过接头连接或可彼此直接连接。

[0205] 还优选地,根据本发明的抗体或其抗原结合片段的第二多肽链(在N端至C端方向)

包含或组成为： $(V)_A$ -CL，其中

[0206] V-CL如上所述；

[0207] A为1至5，优选1至4，更优选1至3，甚至更优选1或2的整数；和

[0208] 可变域V可以直接或通过接头彼此连接。

[0209] 例如，根据本发明的抗体或其抗原结合片段的第一多肽链的可变域(i)可以包含或组成为SEQ ID NO:1、5、8、或10中任一项所示的氨基酸序列或具有至少80%，优选至少85%，更优选至少90%，甚至更优选至少95%和最优选至少98%序列同一性的其功能性序列变体。

[0210] 例如，根据本发明的抗体或其抗原结合片段的第二多肽链的可变域(iv)可以包含或组成为SEQ ID NO:2、6、9、或11中任一项所示的氨基酸序列或具有至少80%，优选至少85%，更优选至少90%，甚至更优选至少95%和最优选至少98%序列同一性的其功能性序列变体。

[0211] 优选地，根据本发明的抗体或其抗原结合片段包含一个单个或两个第一多肽链和一个单个或两个第二多肽链。这样的抗体或其抗原结合片段的实例在图1B和1C中示出。还优选地，第一多肽链和第二多肽链通过二硫键连接，从而形成一对。特别地，根据本发明的抗体或其抗原结合片段的重链和轻链可以通过二硫键连接，从而形成一对。此外，还优选地，抗体或其抗原结合片段包含两个第一多肽链和两个第二多肽链，并且两个第一多肽链和/或两个第二多肽链通过一个或多个例如两个二硫键连接。特别地，抗体的两条重链或其抗原结合片段可以通过一个或多个例如两个二硫键连接。

[0212] 优选地，根据本发明的抗体或其抗原结合片段对于每种特异性/抗原是二价的。特别地，优选的是，(附加)功能域包含或组成为(独立的)结合位点，和(1)(独立的)结合位点和(2)对应于(1)(独立的)结合位点的由第一对第一多肽链和第二多肽链的一个或多个可变域形成的抗原结合位点，和(2)由第二对第一多肽链和第二多肽链的一个或多个可变域形成的抗原结合位点。替代地，抗体或其抗原结合片段对于每种特异性(抗原)可以是单价的。

[0213] 因此，优选地，由第一对第一多肽链和第二多肽链的一个或多个可变域形成的抗原结合位点和由第二对第一多肽链和第二多肽链的一个或多个可变域形成的抗原结合位点是相同或不同的。

[0214] 此外，优选地，根据本发明的抗体或其抗原结合片段包含至少两个(附加)功能域，其可以相同或不同。例如，根据本发明的抗体或其抗原结合片段可以包含2个或4个(附加)功能域，其可以相同或不同。

[0215] 如果本发明的抗体或抗原结合片段例如在相同或不同的多肽链中包含多于一个(附加)功能域，则这些(附加)功能域可以相同或不同。优选地，它们可以属于相同或不同的功能域组。例如，至少两个或所有(附加)功能域可以包含或组成为(独立的)结合位点。例如，至少两个或所有(附加)功能域可以包含或组成为载体结构域。例如，至少两个或所有(附加)功能域可以包含或组成为报告结构域。例如，至少两个或所有(附加)功能域可以包含或组成为标签。例如，至少两个或所有(附加)功能域可以包含或组成为定位结构域。即使(附加)功能域属于同一功能域组，该亚组，尤其是其氨基酸序列仍可以相同或不同。例如，至少两个或所有(附加)功能域可以包含或组成为相同的氨基酸序列。可替代地，还优选的

同一性的或其功能性序列变体,和/或根据本发明的抗体或其抗原结合片段的第二多肽链包含或组成为SEQ ID NO:54、57、63或67中任一项所示的氨基酸序列或具有至少80%,优选至少85%,更优选至少90%,甚至更优选至少95%和最优选至少98%序列同一性的其功能性序列变体。

[0222] 优选地,根据本发明的抗体或其抗原结合片段的第一多肽链和/或第二多肽链可以不包含或组成为SEQ ID NO:75至92中任一项所示的氨基酸序列。还优选地,根据本发明的抗体或其抗原结合片段的第一多肽链和/或第二多肽链可以不包含或组成为SEQ ID NO:96至112中任一项所示的氨基酸序列。更优选地,根据本发明的抗体或其抗原结合片段的第一多肽链和/或第二多肽链可以不包含或组成为SEQ ID NO:75至95中任一项所示的氨基酸序列。甚至更优选地,根据本发明的抗体或其抗原结合片段的第一多肽链和/或第二多肽链所包含的(附加)功能域可以不包含或组成为SEQ ID NO:113至130中任一项所示的氨基酸序列。更优选地,根据本发明的抗体或其抗原结合片段的第一多肽链和/或第二多肽链所包含的(附加)功能域可以不包含或组成为SEQ ID NO:113至133中任一项所示的氨基酸序列。最优选地,根据本发明的抗体或其抗原结合片段的第一多肽链和/或第二多肽链可以不包含或组成为SEQ ID NO:75至133中任一项所示的氨基酸序列。任选地,根据本发明的抗体或其抗原结合片段的第一多肽链和/或第二多肽链所包含的(附加)功能域可以不包含或组成为(突变的)LAIR1片段。

[0223] 核酸分子

[0224] 在另一方面,本发明还提供了一种核酸分子,其包含编码本发明抗体或其抗原结合片段的第一多肽链的第一多核苷酸和/或编码本发明抗体或其抗原结合片段的第二多肽链的第二多核苷酸。

[0225] 核酸分子是包含核酸组分,优选由核酸组分组成的分子。术语核酸分子优选是指DNA或RNA分子。特别地,其与术语“多核苷酸”同义使用。优选地,核酸分子是包含核苷酸单体或由核苷酸单体组成的聚合物,所述核苷酸单体通过糖/磷酸骨架的磷酸二酯键彼此共价连接。术语“核酸分子”还涵盖经修饰的核酸分子,例如经碱基修饰、经糖修饰或经骨架修饰等的DNA或RNA分子。

[0226] 优选地,核酸分子是DNA分子或RNA分子。核酸分子和/或多核苷酸的实例包括例如重组多核苷酸,载体,寡核苷酸,RNA分子例如rRNA、mRNA、miRNA、siRNA或tRNA,或DNA分子例如cDNA。编码第一多肽链和/或第二多肽链的一部分或全部的核酸序列是优选的。因此,本文中优选提供的是编码轻链和重链的一部分或全部,特别是本发明的示例性抗体或抗原结合片段的VH和VL序列和/或(附加)功能域的核酸序列。

[0227] 还优选的是,根据本发明的核酸分子包括与编码根据本发明的(示例性)抗体或其抗原结合片段中使用的(附加)功能域、VH序列和/或VL序列的核酸具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少88%、至少90%、至少92%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的核酸序列。

[0228] 通常,可以操纵核酸分子以插入、删除或改变某些核酸序列。这种操作的变化包括但不限于引入限制性位点、修改密码子使用、添加或优化转录和/或翻译调节序列等的变化。也可以改变核酸以改变编码的氨基酸。例如,在抗体的氨基酸序列中引入一个或多个(例如1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个等)氨基酸置换、缺失和/或插入可

能是有用的。这样的点突变可以修饰效应功能、抗原结合亲和力、翻译后修饰、免疫原性等，可以引入氨基酸以连接共价基团（例如标记），或可以引入标签（例如出于纯化目的）。突变可以被引入特定位点或可以被随机引入，然后进行选择（例如分子进化）。例如，可以将编码本发明的（示例性）抗体的任何（附加）功能域、VH序列和/或VL序列中的任一个的一种或多种核酸随机或定向突变以在编码的氨基酸中引入不同的性质。此类变化可能是迭代过程的结果，其中保留了初始变化，并在其他核苷酸位置引入了新变化。此外，可以组合在独立步骤中实现的变化。引入编码的氨基酸中的不同性质可以包括但不限于增强的亲和力。

[0229] 载体

[0230] 还包含在本发明范围内的是包含根据本发明的核酸分子的载体，例如表达载体。优选地，载体包含如上所述的核酸分子。

[0231] 术语“载体”是指核酸分子，优选指重组核酸分子，即自然界中不存在的核酸分子。在本发明的上下文中，载体适合于掺入或包含所需的核酸序列。这样的载体可以是储存载体、表达载体、克隆载体、转移载体等。储存载体是允许方便地储存核酸分子的载体。因此，载体可以包含例如对应于根据本发明的所需抗体或其抗体片段的序列。表达载体可用于产生表达产物例如RNA例如mRNA，或肽、多肽或蛋白质。例如，表达载体可以包含转录载体的序列段所需的序列，例如启动子序列。克隆载体通常是包含克隆位点的载体，其可用于将核酸序列掺入载体中。克隆载体可以是例如质粒载体或噬菌体载体。转移载体可以是适于将核酸分子转移到细胞或生物体中的载体，例如病毒载体。在本发明的上下文中，载体可以是例如RNA载体或DNA载体。优选地，载体是DNA分子。例如，在本申请意义上的载体包含克隆位点、选择标记例如抗生素抗性因子、和适合于载体复制的序列例如复制起点。优选地，在本申请的上下文中，载体是质粒载体。

[0232] 细胞

[0233] 另一方面，本发明还提供了表达根据本发明的抗体或其抗原结合片段的细胞和/或包含根据本发明的核酸分子或载体的细胞。

[0234] 这种细胞的实例包括但不限于真核细胞例如酵母细胞、动物细胞或植物细胞。优选地，细胞是哺乳动物细胞，更优选地是哺乳动物细胞系。优选的实例包括人细胞、CHO细胞、HEK293T细胞、PER.C6细胞、NS0细胞、人肝细胞、骨髓瘤细胞或杂交瘤细胞。

[0235] 特别地，可以用根据本发明的载体，优选表达载体来转染细胞。术语“转染”是指将核酸分子，例如DNA或RNA（例如mRNA）分子引入细胞，优选引入真核细胞。在本发明的上下文中，术语“转染”涵盖技术人员已知的用于将核酸分子引入细胞，优选地引入真核细胞例如哺乳动物细胞中的任何方法。这样的方法包括例如电穿孔、脂质转染例如基于阳离子脂质和/或脂质体的脂质转染、磷酸钙沉淀、基于纳米颗粒的转染、基于病毒的转染或基于阳离子聚合物例如基于DEAE-葡聚糖或聚乙烯亚胺的转染等。优选地，引入是非病毒性的。

[0236] 此外，可以用根据本发明的载体稳定或瞬时转染本发明的细胞，例如以用于表达根据本发明的抗体或其抗原结合片段。优选地，用编码本发明的抗体或其抗原结合片段的根据本发明的载体稳定转染细胞。替代地，还优选编码本发明的抗体或其抗原结合片段的根据本发明载体瞬时转染细胞。

[0237] 组合物

[0238] 本发明还提供了一种包含以下一种或多种的组合物：

[0239] (i) 根据本发明的抗体或其抗体片段；

[0240] (ii) 根据本发明的核酸分子；

[0241] (iii) 包含根据本发明的核酸的载体；和/或

[0242] (iv) 表达根据本发明的抗体和/或包含根据本发明的载体或核酸分子的细胞。

[0243] 换句话说，本发明还提供了包含根据本发明的抗体或其抗原结合片段、根据本发明的核酸、根据本发明的载体和/或根据本发明的细胞的组合物。

[0244] 优选地，组合物是药物组合物。药物组合物可优选地还包含药学上可接受的载剂、稀释剂和/或赋形剂。尽管载剂或赋形剂可以促进施用，但其本身不应诱导产生对接收组合物的个体有害的抗体。它也不应是有毒的。合适的载剂可以是大的缓慢代谢的大分子，例如蛋白质、多肽、脂质体、多糖、聚乳酸、聚乙醇酸、聚合氨基酸、氨基酸共聚物和无活性的病毒颗粒。通常，根据本发明的药物组合物中的药学上可接受的载剂可以是活性组分或非活性组分。

[0245] 可以使用药学上可接受的盐，例如无机酸盐，例如盐酸盐、氢溴酸盐、磷酸盐和硫酸盐，或有机酸盐，例如乙酸盐、丙酸盐、丙二酸盐和苯甲酸盐。

[0246] 药物组合物中的药学上可接受的载剂可以另外包含液体，例如水、盐水、甘油和乙醇。另外，这种组合物中可以存在辅助物质，例如湿润剂或乳化剂或pH缓冲物质。这样的载剂使得药物组合物能够被配制成片剂、丸剂、糖衣丸剂、胶囊剂、液体、凝胶剂、糖浆剂、浆液剂和混悬剂，以供对象摄取。

[0247] 本发明的药物组合物可以制备成各种形式。例如，可以将组合物制备成可注射的液体溶液剂或混悬剂。也可以制备适合于在注射之前在液体载剂中溶解或混悬的固体形式（例如，类似于Synagis™和Herceptin™的冻干组合物，以使用含有防腐剂的无菌水重构）。组合物可以例如制备成软膏剂、乳膏剂或散剂的形式。组合物可以制备为例如片剂或胶囊剂、气雾剂或糖浆剂（任选地调味）。可以使用细粉或喷雾将组合物制备成例如吸入剂。组合物可以制备成例如滴剂。组合物可以是试剂盒形式，其被设计成使得合并的组合物可以例如在施用前被重构。例如，冻干抗体可以以试剂盒形式与无菌水或无菌缓冲液一起提供。

[0248] 优选地，根据本发明，组合物中的活性成分是抗体分子、抗体片段或其变体和衍生物，特别地，组合物中的活性成分是抗体、抗体片段或其变体和衍生物。组合物可以包含保护抗体免于在胃肠道中降解但是一旦从胃肠道被吸收则释放抗体的试剂。

[0249] Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第20版，ISBN: 0683306472提供了对药学上可接受的载剂的全面描述。

[0250] 本发明的药物组合物的pH通常为5.5至8.5，在一些实施方案中，其可以为6至8，并且在其他实施方案中，为约7。可以通过使用缓冲液来维持pH。组合物可以是无菌的和/或无热原的。组合物可以是对人等渗的。在一个实施方案中，本发明的药物组合物在气密容器中提供。

[0251] 组合物可以是在油性或水性载剂中的混悬剂、溶液剂或乳剂的形式，特别地，其可以含有配方剂，例如助悬剂、防腐剂、稳定剂和/或分散剂。替代地，抗体分子可以是干燥形式，以在使用之前用适当的无菌液体进行重构。

[0252] 组合物可以包含载剂，例如水或盐水。通常将载剂理解为适合于储存、运输和/或施用化合物例如药物活性化合物，特别是根据本发明的抗体的物质。例如，载剂可以是生理

上可接受的液体,其适合于储存、运输和/或施用药物活性化合物,特别是根据本发明的抗体。

[0253] 组合物可以是无热原且具有合适的pH、等渗性和稳定性的水溶液。本领域相关技术人员能够使用例如等渗载剂例如氯化钠注射液、林格注射液、乳酸林格注射液来制备合适的溶液。如果需要,可以包含防腐剂、稳定剂、缓冲剂、抗氧化剂和/或其他添加剂。本发明的组合物可以例如在预填充的注射器中提供。

[0254] 如上定义的组合物也可以是以下剂型,包括但不限于胶囊剂、片剂、水性混悬剂或溶液剂。对于片剂,常用的载剂包括乳糖和玉米淀粉。通常还添加润滑剂,例如硬脂酸镁。对于胶囊形式,有用的稀释剂包括乳糖和干燥的玉米淀粉。当需要水性混悬剂时,可以将活性成分与乳化剂和助悬剂混合。如果需要,还可以添加某些甜味剂、调味剂或着色剂。

[0255] 组合物包含的载剂的其他实例包括但不限于矿物油、液体凡士林、白凡士林、丙二醇、聚氧乙烯、聚氧丙烯化合物、乳化蜡和水。或者,可以将组合物配制成合适的洗剂或霜剂。在本发明的上下文中,合适的载剂包括但不限于矿物油、脱水山梨糖醇单硬脂酸酯、聚山梨醇酯60、十六烷基酯蜡、鲸蜡硬脂醇、2-辛基十二醇、苾醇和水。

[0256] 在一个实施方案中,本发明的组合物可以包含本发明的抗体,其中所述抗体可以占组合物中总蛋白的至少50重量%(例如60重量%、70重量%、75%重量、80重量%、85重量%、90重量%、95重量%、96重量%、97重量%、98重量%、99重量%或高于99重量%)。在这样的组合物中,抗体优选为纯化形式。

[0257] 特别地,如果以多剂量形式包装,则药物组合物可以包含抗微生物剂。它们可以包含洗涤剂,例如吐温(聚山梨醇酯),例如吐温80。表面活性剂通常以低水平存在,例如小于0.01%。组合物还可包含钠盐(例如氯化钠)以产生张力。例如,典型的NaCl浓度为 $10 \pm 2\text{mg/ml}$ 。

[0258] 此外,特别地,如果药物组合物要冻干或者如果药物组合物包含已经从冻干材料重构的物质,则药物组合物可以包含例如约 15mg/ml 至 30mg/ml (例如 25mg/ml)的糖醇(例如甘露醇)或二糖(例如蔗糖或海藻糖)。冻干前,可将用于冻干的组合物的pH调节至5至8、或5.5至7、或约6.1。

[0259] 本发明的组合物还可包含一种或多种免疫调节剂。在一个实施方案中,一种或多种免疫调节剂包括佐剂。

[0260] 抗体制备

[0261] 可以通过本领域已知的任何方法来制备根据本发明的抗体。例如,可以提供支架抗体并在肘区对其进行基因工程化。为了获得支架抗体,例如,使用杂交瘤技术制备单克隆抗体的常用方法是众所周知的(Kohler,G.和Milstein,C.,1975;Kozbar等人1983)。特别地,可以使用W02004/076677中描述的替代性EBV永生方法。

[0262] 在W0 2004/076677中描述了一种优选的方法。在该方法中,用EBV和多克隆B细胞激活剂转化产生本发明抗体的B细胞。可以在转化步骤中任选地添加细胞生长和分化的其他刺激物,以进一步提高效率。这些刺激物可以是细胞因子,例如IL-2和IL-15。一方面,在永生步骤中加入IL-2以进一步提高永生效率,但是其使用不是必需的。然后可以使用本领域已知的方法培养使用这些方法产生的永生B细胞,并从中分离出抗体。

[0263] W0 2010/046775中描述了另一种优选方法。在这种方法中,以有限的数量培养浆

细胞,或者在微孔培养板中将其作为单个浆细胞进行培养。可以从浆细胞培养物中分离出抗体。此外,可以使用本领域已知的方法从浆细胞培养物中提取RNA并进行PCR。可以通过RT-PCR(逆转录酶PCR)扩增抗体的VH和VL区,对其进行测序并克隆到表达载体中,然后将其转染到HEK293T细胞或其他宿主细胞中。表达载体中的核酸的克隆、宿主细胞的转染、转染的宿主细胞的培养以及所产生的抗体的分离可以使用本领域技术人员已知的任何方法进行。

[0264] 本发明的抗体的片段可通过方法从抗体获得,该方法包括用酶,例如胃蛋白酶或木瓜蛋白酶消化,和/或通过由化学还原裂解二硫键。替代地,可以通过克隆和表达重链或轻链的部分序列来获得抗体的片段。抗体“片段”包括Fab、Fab'和F(ab')₂片段。

[0265] 例如,本发明还提供了用于产生根据本发明的抗体或其抗原结合片段的方法,其包括:

[0266] -通过(例如如上所述)掺入编码第一多肽链和第二多肽链的一个或多个如上所述的核酸分子,例如如上所述的根据本发明的载体来转化真核宿主细胞;

[0267] -在合适的条件下培养宿主细胞以表达所述核酸分子;

[0268] -引起或使得所述第一多肽链和第二多肽链结合以形成抗体或其抗原结合片段;
和

[0269] -任选地,从培养基中纯化抗体或其抗原结合片段。

[0270] 分子生物学的标准技术可用于制备编码本发明的抗体或抗体片段的DNA序列。所需的DNA序列可以使用寡核苷酸合成技术完全或部分合成。可以视情况使用定点诱变和聚合酶链反应(PCR)技术。

[0271] 任何合适的宿主细胞/载体系统均可用于表达编码本发明抗体分子或其片段的DNA序列。细菌例如大肠杆菌和其他微生物系统可部分用于表达抗体片段例如Fab和F(ab')₂片段,特别是Fv片段和单链抗体片段例如单链Fv。真核生物宿主细胞例如哺乳动物宿主细胞表达系统可以用于制备更大的抗体分子,包括完整的抗体分子。合适的哺乳动物宿主细胞包括但不限于CHO、HEK293T、PER.C6、NS0、骨髓瘤或杂交瘤细胞。

[0272] 例如,可以用两种载体转染细胞系,其中第一载体编码第一多肽链,例如重链多肽,且第二载体编码第二多肽链,例如轻链多肽。替代地,可以使用单个载体,该载体包括编码第一多肽链和第二多肽链例如轻链和重链多肽的序列。

[0273] 如果需要,可以使用过滤、离心和各种色谱方法例如HPLC或亲和色谱法进一步纯化抗体。包括产生药物级抗体的技术在内的纯化抗体例如单克隆抗体的技术在本领域中是众所周知的。

[0274] 方法和用途

[0275] 在另一方面,本发明提供了根据本发明的抗体或其抗原结合片段、根据本发明的核酸、根据本发明的载体、根据本发明的细胞或根据本发明的(药物)组合物在医药中的用途。

[0276] 相应地,本发明还提供了一种预防或治疗对象的疾病或病症的方法,其包括向对象施用根据本发明的抗体或其抗原结合片段、根据本发明的核酸、根据本发明的载体、根据本发明的细胞或根据本发明的(药物)组合物的步骤。

[0277] 应当理解的是,可以根据待预防和/或治疗的疾病或病症来选择根据本发明的抗

体或其抗原结合片段的一种或多种特异性。例如,为了预防和/或治疗疟疾,抗体或其抗原结合片段可包括针对疟疾抗原的特异性,例如在肘区与疟疾抗原特异性结合的抗原结合位点(由可变域形成)和/或(附加)功能域。其实例是本文所述的突变LAIR1片段,特别是WO 2016/207402 A1中所述的突变LAIR1片段,例如该片段包含根据SEQ ID NO:13的氨基酸序列或具有至少70%,优选至少75%,更优选至少80%,甚至更优选至少85%,还更优选90%,特别优选95%,最优选至少98%序列同一性的其序列变体。包含这样的特异性(这样的(抗原)结合位点)的抗体可特别用于提供对血液阶段疟疾寄生虫(特别是恶性疟原虫(*Plasmodium falciparum*))的免疫力。

[0278] 通过使用根据本发明的抗体/抗原结合片段;根据本发明的核酸分子;根据本发明的载体;根据本发明的细胞;或根据本发明的组合物来治疗和/或预防的疾病包括癌症、传染病和自身免疫性疾病。因此,癌症和/或传染病的治疗和/或预防是优选的。

[0279] 优选地,根据本发明的抗体/抗原结合片段;根据本发明的核酸分子;根据本发明的载体;根据本发明的细胞;或根据本发明的组合物可以用于预防、治疗和/或改善癌症或肿瘤疾病(的药物的制备)。通常,术语“癌症”包括实体瘤,特别是恶性实体瘤例如肉瘤、癌和淋巴瘤、以及血液癌例如白血病。癌症包括癌、肉瘤、淋巴瘤、白血病、生殖细胞肿瘤和母细胞瘤。

[0280] 优选地,根据本发明的抗体/抗原结合片段;根据本发明的核酸分子;根据本发明的载体;根据本发明的细胞;或根据本发明的组合物可以用于预防、治疗和/或改善传染病(的药物的制备)。传染病包括病毒传染病、逆转录病毒传染病、细菌传染病和原生动植物传染病。

[0281] 此外,根据本发明的抗体/抗原结合片段;根据本发明的核酸分子;根据本发明的载体;根据本发明的细胞;或根据本发明的组合物可以用于预防、治疗和/或改善自身免疫性疾病(的药物的制备)。通常,自身免疫性疾病是由机体对正常存在于体内的物质和组织的异常免疫反应引起的(自身免疫性)。这可能仅限于某些器官或可能涉及不同位置的特定组织。自身免疫性疾病可按相应的超敏反应类型分类:I型(即由自体血清引起的荨麻疹)、II型、III型或IV型。

[0282] 此外,根据本发明的抗体或其抗原结合片段、根据本发明的核酸、根据本发明的载体、根据本发明的细胞或根据本发明的(药物)组合物也可用于(体外)诊断。诊断方法可以包括使抗体或抗体片段与样品接触。这样的样品可以从对象中分离,例如从例如鼻腔、鼻窦、唾液腺、肺、肝、胰腺、肾、耳、眼、胎盘、消化道、心脏、卵巢、垂体、肾上腺、甲状腺、脑、皮肤或血液,优选血浆或血清中获得的分离组织样品。诊断方法还可以包括检测抗原/抗体复合物,特别是在抗体或抗体片段与样品接触之后。这种检测步骤通常在工作台上进行,即不与人体或动物体产生任何接触。检测方法的实例是本领域技术人员众所周知的,并且包括例如ELISA(酶联免疫吸附测定)。

[0283] 此外,对于诊断,应理解的是,根据本发明的抗体或其抗原结合片段的一种或多种特异性可以根据待预防和/或治疗的疾病或病症进行选择,基本上如上所述用于预防和/或治疗的疾病。

[0284] 此外,本发明还提供了用于检测抗原或定量抗原结合的测定方法,其包括:

[0285] -在允许抗原与多价抗体结合的条件下,将抗原与根据本发明的抗体或其抗原结

合片段一起孵育;和

[0286] -检测抗原-抗体结合。

[0287] 例如,这种测定方法在如上所述的诊断中可能是有用的。

[0288] 附图简要说明

[0289] 在下文中,将给出附图的简要描述。这些附图旨在更详细地说明本发明。然而,它们无意以任何方式限制本发明的主题。

[0290] 图1:(A)经典单特异性抗体,其包含两条重链(灰色)和两条轻链(白色),每条重链具有单个可变域VH和三个恒定域CH1、CH2和CH3,每条轻链具有单个可变域VL和单个恒定域CL。肘区由箭头指示。

[0291] (B)衍生自(A)中所示的经典单特异性抗体的根据本发明的抗体的优选实例(肘内插入型Ig分子;IEI Ig):在每条重链的肘区中包含一个单个(附加)功能域,但在轻链中没有肘插入物的抗体;在每条轻链的肘区中包含一个单个(附加)功能域,但在重链中没有肘插入物的抗体;在每条重链和每条轻链的肘区中包含一个单个(附加)功能域的抗体;在每条重链的肘区中包含两个(附加)功能域,但在轻链中没有肘插入物的抗体;和在每条轻链的肘区中包含两个(附加)功能域,但在重链中没有肘插入物的抗体。

[0292] (C)衍生自抗体片段或双特异性抗体的根据本发明的抗原结合片段和抗体的优选实例(肘内插入型Ig分子;IEI Ig):在每条重链的肘区中包含一个单个(附加)功能域,但在轻链中没有肘插入物的F(ab)₂片段;在每条轻链的肘区中包含一个单个(附加)功能域,但在重链中没有肘插入物的F(ab)₂片段;在每条重链的肘区中包含一个单个(附加)功能域,但在轻链中没有肘插入物的Fab片段;在每条轻链的肘区中包含一个单个(附加)功能域,但在重链中没有肘插入物的Fab片段;在一个单一重链的肘区中包含一个单个(附加)功能域,但在轻链和另一条重链中没有肘插入物的CrossMab/杵臼结构/正交Fab/Fab臂交换抗体;在每条重链的肘区中包含一个单个(附加)功能域,但在轻链中没有肘插入物的scFv-(H)IgG;在每条重链的肘区中包含一个单个(附加)功能域,但在轻链中没有肘插入物IgG(H)-scFv;在每条重链的肘区中包含一个单个(附加)功能域,但在轻链中没有肘插入物的scFv-(L)IgG;在每条重链的肘区中包含一个单个(附加)功能域,但在轻链中没有肘插入物的IgG(L)-scFv;和在每条重链的肘区中包含一个单个(附加)功能域,但在轻链中没有肘插入物的DVD-Ig。

[0293] 图2显示了与支架抗体(GCE536,C1)相比,根据本发明的七种抗体构建体(C2至C8)的实施例1的方案。

[0294] 图3显示了实施例2的EC₅₀值,该值在使用一组抗原或抗结构域抗体进行的ELISA测试中,通过结合值(OD)和相对抗体浓度的非线性回归分析来确定。还测试了构建体与IE(分离物9215)的结合,并显示了浓度为1μg/ml下的结合值(%)。

[0295] 图4显示了实施例3的C4和不同对照与GM-CSF和胶原的SPR结合曲线。使用GCE536作为支架的C4和C5与GM-CSF结合,但只有C4还与胶原结合。非特异性FI174和胶原特异性MGD^{UCA}抗体未显示出任何特异性结合信号。

[0296] 图5显示了实施例3的C4和不同对照与GM-CSF和胶原的SPR结合曲线。C4和GCE536与GM-CSF结合,但只有C4被胶原识别。胶原特异性MGD^{UCA}抗体仅与胶原结合。对照抗体TT107是TT特异性单克隆抗体,其在SPR实验中未显示出任何特异性结合信号。

[0297] 图6显示了实施例4中与支架抗体(GCE536)相比,C5、C5b、C6和C6b构建体与GM-CSF或抗PD1或抗SLAM抗体的ELISA结合曲线。含PD1的C5和C5b以及含SLAM的C6和C6b构建体分别被抗PD1或抗SLAM抗体识别。与GCE536一样,所有构建体都与GM-CSF结合。C5b和C6中接头的存在不影响结合。

[0298] 图7显示了实施例6中与支架C1b相比,Strep-tactin抗体与C9构建体的ELISA结合曲线。插入C9构建体肘区中的双Strep标签被Strep-tactin抗体特异性识别。

[0299] 图8显示了与支架抗体(FI174)相比,四种另外的抗体构建体(C9至C12)的实施例7方案。

[0300] 图9显示了实施例8中C9和C10以及不同对照与H1和TT的SPR结合曲线。C9和C10显示出与H1和TT的双重结合。TT107是TT特异性单克隆抗体。

[0301] 图10显示了实施例8中C11和C12以及不同对照与H1和RSV F蛋白的SPR结合曲线。C11和C12显示出与H1和RSV F蛋白的双重结合。MPE8是RSV F蛋白特异性单克隆抗体。

实施例

[0302] 在下文中,呈现了示出本发明的各种实施方案和方面的特定实施例。但是,本发明的范围不应受到本文所述的具体实施方案的限制。给出以下制备和实施例以使本领域技术人员能够更清楚地理解和实施本发明。然而,本发明的范围不受示例性实施方案的限制,这些示例性实施方案仅意在作为本发明的单个方面的说明,并且功能上等效的方法在本发明的范围内。实际上,根据本文的前述描述、附图和以下实施例,除本文所述的内容外,本发明的各种修改对于本领域技术人员而言将变得显而易见。所有这些修改都落入所附权利要求的范围内。

[0303] 实施例1:将不同的Ig样功能域插入支架抗体的肘区的抗体变体的设计和构建。

[0304] 为研究插入抗体肘区中的不同(附加)功能域对抗体特异性的影响,设计了七种不同的构建体(命名为“C2至C8”),其中将未突变的LAIR1(SEQ ID NO:12)、突变的LAIR1(SEQ ID NO:13)或其他Ig样结构域插入用作支架的抗体的肘区。构建体C2至C3与构建体C1(VH:SEQ ID NO:5、VL SEQ ID NO:6、重链恒定区:SEQ ID NO:3、轻链恒定区:SEQ ID NO:7)具有相同的完整重链恒定区。构建体C4至C6与抗体GCE536(VH:SEQ ID NO:1、VL:SEQ ID NO:2、重链恒定区:SEQ ID NO:3、轻链κ恒定区:SEQ ID NO:4;Piccoli,L.等人Neutralization and clearance of GM-CSF by autoantibodies in pulmonary alveolar proteinosis.Nature communications 6,7375(2015))具有相同的完整重链恒定区。构建体C7至C8与构建体C1b(VH:SEQ ID NO:8、VL:SEQ ID NO:9、重链恒定区:SEQ ID NO:3、轻链恒定区:SEQ ID NO:4)具有相同的完整重链恒定区。与支架抗体相比,构建体的轻链没有被修饰。最后,所有构建体均表达为单克隆抗体(重链和轻链)。

[0305] 产生了以下构建体,并在图2中进行示意性显示:

[0306] 1.“C1”(VH:SEQ ID NO:5、VL:SEQ ID NO:6、重链恒定区:SEQ ID NO:3、轻链λ恒定区:SEQ ID NO:7)是用作对照的重组单特异性抗体。C1由(从N端到C端顺序)以下形成:重链可变域的V(可变)基因区段的表达产物(“VH3-30”);重链可变域的D(多样性)基因区段的表达产物(“D”);重链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物(“JH6”);重链恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物(IgG1同种型);在另一条链上:轻链可变域的V(可变)基因区段的

表达产物和轻链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物;轻链λ恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物。

[0307] 2. “C1b” (VH:SEQ ID NO:8、VL:SEQ ID NO:9、重链恒定区:SEQ ID NO:3、轻链κ恒定区:SEQ ID NO:4) 是用作对照的重组单特异性抗体。C1由(从N端到C端顺序)以下形成:重链可变域的V(可变)基因区段的表达产物(“VH3-20”);重链可变域的D(多样性)基因区段的表达产物(“D”);重链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物(“JH3”);重链恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物(IgG1同种型);在另一条链上:轻链可变域的V(可变)基因区段的表达产物和轻链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物;轻链κ恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物。

[0308] 3. 在构建体“C2”中,将突变的LAIR-1片段(“LAIR1^{突变}”;SEQ ID NO:13)插入重组单特异性抗体“C1”(参见上文)的肘区。在突变的LAIR1片段中,消除LAIR1与胶原蛋白的结合,但是突变的LAIR1片段与恶性疟原虫感染的红细胞强结合(Tan, J., Pieper, K., Piccoli, L., 等人 A LAIR1 insertion generates broadly reactive antibodies against malaria variant antigens. Nature 529, 105-109 (2016); WO 2016/207402 A1)。构建体“C2”(完整的重链:SEQ ID NO:53、完整的轻链:SEQ ID NO:54)由(从N端到C端顺序)以下形成:C1的重链可变域的V(可变)基因区段的表达产物(“VH3-30”);C1的重链可变域的D(多样性)基因区段的表达产物(“D”);C1的重链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物(“JH6”);MGD21的突变的LAIR-1片段的表达产物(“LAIR1^{D21}”);重链恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物(IgG1同种型);在另一条链上:C1的轻链可变域的V(可变)基因区段的表达产物和C1的轻链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物;轻链恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物。

[0309] 4. 在构建体“C3”中,将未突变的LAIR-1片段(“LAIR1^{野生}”;SEQ ID NO:12)插入重组单特异性抗体“C1”(参见上文)的肘区。构建体“C3”(完整的重链:SEQ ID NO:55、完整的轻链:SEQ ID NO:54)由(从N端到C端顺序)以下形成:C1的重链可变域的V(可变)基因区段的表达产物(“VH3-30”);C1的重链可变域的D(多样性)基因区段的表达产物(“D”);C1的重链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物(“JH6”);未突变的LAIR-1片段的表达产物(“LAIR1^{野生}”);重链恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物(IgG1同种型);在另一条链上:C1的轻链可变域的V(可变)基因区段的表达产物和C1的轻链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物;轻链恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物。

[0310] 5. 在构建体“C4”中,将未突变的LAIR-1片段(“LAIR1^{野生}”;SEQ ID NO:13)插入抗体GCE536的肘区。构建体“C4”(完整的重链:SEQ ID NO:56、完整的轻链:SEQ ID NO:57)由(从N端到C端顺序)以下形成:GCE536的重链可变域的V(可变)基因区段的表达产物(“VH1-46”);GCE536的重链可变域的D(多样性)基因区段的表达产物(“D”);GCE536的重链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物(“JH6”);未突变的LAIR-1片段的表达产物(“LAIR1^{野生}”);重链恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物(IgG1同种型);在另一条链上:GCE536的轻链可变域的V(可变)基因区段的表达产物和GCE536的轻链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物;轻链恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物。

[0311] 6. 在构建体“C5”中,将PD1分子的胞外Ig样结构域(“PD1”;SEQ ID NO:14)插入抗体GCE536的肘区。构建体“C5”(完整的重链:SEQ ID NO:58、完整的轻链:SEQ ID NO:57)由

(从N端到C端顺序)以下形成:GCE536的重链可变域的V(可变)基因区段的表达产物(“VH1-46”);GCE536的重链可变域的D(多样性)基因区段的表达产物(“D”);GCE536的重链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物(“JH6”);PD1分子的胞外Ig样结构域的表达产物(“PD1”);重链恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物(IgG1同种型);在另一条链上:GCE536的轻链可变域的V(可变)基因区段的表达产物和GCE536的轻链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物;轻链恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物。

[0312] 7.在构建体“C5b”中,将具有侧翼内含子序列(“15聚体JH-PD1”;SEQ ID NO:49和“15聚体PD1-CH1”接头;SEQ ID NO:50)的PD1分子的胞外Ig样结构域(“PD1”;SEQ ID NO:14)插入抗体GCE536的肘区。构建体“C5”(完整的重链:SEQ ID NO:59、完整的轻链:SEQ ID NO:57)由(从N端到C端顺序)以下形成:GCE536的重链可变域的V(可变)基因区段的表达产物(“VH1-46”);GCE536的重链可变域的D(多样性)基因区段的表达产物(“D”);GCE536的重链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物(“JH6”);接头的表达产物(“15聚体JH-PD1”);PD1分子的胞外Ig样结构域的表达产物(“PD1”);接头的表达产物(“15聚体PD1-CH”);重链恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物(IgG1同种型);在另一条链上:GCE536的轻链可变域的V(可变)基因区段的表达产物和GCE536的轻链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物;轻链κ恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物。

[0313] 8.在构建体“C6”中,将SLAM分子的胞外Ig样结构域(“SLAM”;SEQ ID NO:15)插入抗体GCE536的肘区。构建体“C6”(完整的重链:SEQ ID NO:60、完整的轻链:SEQ ID NO:57)由(从N端到C端顺序)以下形成:GCE536的重链可变域的V(可变)基因区段的表达产物(“VH1-46”);GCE536的重链可变域的D(多样性)基因区段的表达产物(“D”);GCE536的重链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物(“JH6”);SLAM分子的胞外Ig样结构域的表达产物(“SLAM”);重链恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物(IgG1同种型);在另一条链上:GCE536的轻链可变域的V(可变)基因区段的表达产物和GCE536的轻链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物;轻链恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物。

[0314] 9.在构建体“C6b”中,将具有侧翼内含子序列(“15聚体JH-SLAM”;SEQ ID NO:51和“15聚体SLAM-CH1”接头;SEQ ID NO:52)的SLAM分子的胞外Ig样结构域(“SLAM”;SEQ ID NO:15)插入抗体GCE536的肘区。构建体“C6”(完整的重链:SEQ ID NO:61、完整的轻链:SEQ ID NO:57)由(从N端到C端顺序)以下形成:GCE536的重链可变域的V(可变)基因区段的表达产物(“VH1-46”);GCE536的重链可变域的D(多样性)基因区段的表达产物(“D”);GCE536的重链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物(“JH6”);接头的表达产物(“15聚体JH-SLAM”);SLAM分子的胞外Ig样结构域的表达产物(“SLAM”);接头的表达产物(“15聚体SLAM-CH”);重链恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物(IgG1同种型);在另一条链上:GCE536的轻链可变域的V(可变)基因区段的表达产物和GCE536的轻链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物;轻链κ恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物。

[0315] 10.在构建体“C7”中,将PD1分子的胞外Ig样结构域(“PD1”;SEQ ID NO:14)插入重组单特异性抗体“C1b”(参见上文)的肘区。构建体“C7”(完整的重链:SEQ ID NO:62、完整的轻链:SEQ ID NO:63)由(从N端到C端顺序)以下形成:重链可变域的V(可变)基因区段的表达产物(“VH3-20”);重链可变域的D(多样性)基因区段的表达产物(“D”);重链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物(“JH3”);PD1分子的胞外Ig样结构域的表达产物(“PD1”);

重链恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物(IgG1同种型);在另一条链上:轻链可变域的V(可变)基因区段的表达产物和轻链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物;轻链恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物。

[0316] 11.在构建体“C8”中,将SLAM分子的胞外Ig样结构域(“SLAM”;SEQ ID NO:15)插入重组单特异性抗体“C1b”(参见上文)的肘区。构建体“C8”(完整的重链:SEQ ID NO:64、完整的轻链:SEQ ID NO:63)由(从N端到C端顺序)以下形成:重链可变域的V(可变)基因区段的表达产物(“VH3-20”);重链可变域的D(多样性)基因区段的表达产物(“D”);重链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物(“JH3”);SLAM分子的胞外Ig样结构域的表达产物(“SLAM”);重链恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物(IgG1同种型);在另一条链上:轻链可变域的V(可变)基因区段的表达产物和轻链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物;轻链恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物。

[0317] 实施例2:可将Ig样结构域插入抗体的肘区从而产生功能性抗体

[0318] 通过瞬时转染重组产生实施例1中描述的八种抗体构建体。为此,将抗体重链和轻链克隆到人IgG1、Ig κ 和Ig λ 表达载体中,并通过使用聚乙烯亚胺(PEI)瞬时转染Expi293F细胞(ThermoFisher Scientific)进行表达。常规测试细胞系的支原体污染。

[0319] 接下来,测试了抗体构建体C1至C8和对照抗体GCE536(参见实施例1)的9215 IE染色(感染的红细胞),并通过拟合到S形曲线模型(Graphpad Prism 6)的结合曲线内插法来计算1 μ g/ml抗体浓度的结合值(%)。另外,通过ELISA测试了与重组人胶原、抗人LAIR1抗体、重组人GM-CSF、抗PD1和抗SLAM抗体的结合。简而言之,使用经过认证的参考材料470(ERMs-DA470,Sigma-Aldrich)作为标准品,用经山羊抗人IgG(SouthernBiotech,2040-01)包被的96孔MaxiSorp板(Nunc)对总IgG进行定量。为了测试抗体构建体的特异性结合,将ELISA板用2 μ g ml⁻¹的I型重组人胶原(Millipore,CC050)、2 μ g ml⁻¹的抗人LAIR1抗体(DX26克隆,BD Biosciences 550810)、1 μ g ml⁻¹的重组人GM-CSF(Gentaur)、2 μ g ml⁻¹的抗PD1或抗SLAM抗体(R&D Systems,AF1086和AF164)包被。将板用1%牛血清白蛋白(BSA)封闭,并与滴定的抗体一起孵育,然后与AP偶联的山羊抗人IgG、Fc γ 片段特异性抗体(Jackson Immuno Research,109-056-098)一起孵育。然后洗涤板,加入底物(p-NPP,Sigma),并在405nm下读取板。

[0320] 不同结合研究的结果如图3所示。携带LAIR1的抗体构建体被IE染色,并被抗LAIR1抗体识别。将LAIR1、PD1或SLAM Ig样结构域插入抗GM-CSF抗体的肘区不会影响与GM-CSF的结合(构建体C4至C6),这表明该位点允许插入不同的结构域而不会影响原始抗体的特异性。相反,将LAIR1插入CDR3则消除了与GM-CSF的结合(数据未显示)。因此,肘区允许插入不同的结构域,而不影响原始抗体特异性。

[0321] 实施例3:在肘区含有Ig样结构域的构建体可以同时结合两种不同的抗原

[0322] 为了测试在肘区中携带结合位点的双特异性构建体是否能够同时结合两种特异性,通过表面等离子共振共振(SPR)研究了同时结合。为此,通过表面等离子共振共振(SPR)测试了双特异性构建体C4对GM-CSF和胶原的同时结合,该双特异性构建体C4具有对GM-CSF特异的V(D)J区域,并在肘区中携带未突变的LAIR1(胶原的结合位点)。

[0323] 在一项实验中,将GM-CSF固定在传感器芯片的表面上,然后注入构建体,然后注入胶原。将抗体C5和GCE536(参见上文)、抗体MGD^{UCA}(包含未突变的LAIR1,因此能够结合胶原;

Tan, J., Pieper, K., Piccoli, L. 等人 A LAIR1 insertion generates broadly reactive antibodies against malaria variant antigens. *Nature* 529, 105-109 (2016); VH:SEQ ID NO:71、VL:SEQ ID NO:72、重链恒定区:SEQ ID NO:3、轻链恒定区:SEQ ID NO:4) 和抗体 FI174 (对流感 H1 血凝素具有特异性; Pappas, L. 等人 Rapid development of broadly influenza neutralizing antibodies through redundant mutations. *Nature* 516, 418-422 (2014); VH:SEQ ID NO:10、VL:SEQ ID NO:11、重链恒定区:SEQ ID NO:3、轻链恒定区:SEQ ID NO:4) 用作对照。简而言之, 将 GM-CSF (200nM) 稳定在 pH4.5 的 10mM 乙酸盐缓冲液中, 并通过胺偶联固定在乙基 (二甲基氨基丙基) 碳化二亚胺/N-羟基琥珀酰亚胺 (EDC/NHS) 预活化的 ProteOnSensor 芯片 (Bio-Rad) 上; 通过注射 1M 乙醇胺 HCl 封闭未反应的基团。将 HEPES 缓冲盐水 (HBS) (10mM HEPES pH7.4、150mM NaCl、3mM EDTA、0.005% 表面活性剂吐温-20) 用作运行缓冲液。所有进样均以 100 μ l/min 的流速进行。将单克隆抗体在 HBS 中稀释至 10nM, 并在 GM-CSF 包被的芯片上注射持续 240s, 然后注射胶原 (50nM) 持续 120s。芯片的一个通道注入了 HBS, 并用作分析的参考。使用 ProteOn XPR36 仪器 (Bio-Rad) 评估单克隆抗体与 GM-CSF 和胶原的各自结合相互作用, 并使用 ProteOn Manager 软件处理数据。

[0324] 结果示于图 4。使用 GCE536 作为支架的构建体 C4 和 C5 (参见实施例 1) 均与 GM-CSF 结合。然后, 对于 C4 和 C5, 只有 C4 (其在肘区携带 LAIR1, 而 C5 在肘区携带 PD1 的 Ig 样结构域) 与胶原结合。单特异性抗 GM-CSF 抗体 GCE536 仅与 GM-CSF 结合, 而不与胶原结合。抗 H1 抗体 FI174 和胶原特异性 MGD^{UCA} 抗体未显示任何特异性结合信号。总之, 这些数据表明, 双特异性构建体 C4 与 GM-CSF 结合, 并且胶原与 C4 的 LAIR1 结构域结合。

[0325] 在第二个实验中, 蛋白 A 用于捕获构建体, 然后共注入分析物 (GM-CSF, 然后注入胶原)。在该实验中, 将抗体 GCE536 和 MGD^{UCA} (均在实施例 1 和 2 中进行了描述) 和抗体 TT107 (对破伤风类毒素 (TT) 具有特异性; VH:SEQ ID NO:73、VL:SEQ ID NO:74、重链恒定区:SEQ ID NO:3、轻链恒定区:SEQ ID NO:4) 用作对照。简而言之, 将蛋白 A (25 μ g/ml) 稳定在 pH 4.5 的 10mM 乙酸盐缓冲液中, 并通过胺偶联固定在乙基 (二甲基氨基丙基) 碳化二亚胺/N-羟基琥珀酰亚胺 (EDC/NHS) 预活化的 ProteOnSensor 芯片 (Bio-Rad) 上; 通过注射 1M 乙醇胺 HCl 封闭未反应的基团。将 HEPES 缓冲盐水 (HBS) (10mM HEPES pH7.4、150mM NaCl、3mM EDTA、0.005% 表面活性剂吐温-20) 用作运行缓冲液。所有进样均以 100 μ l/min 的流速进行。将单克隆抗体在 HBS 中稀释至 10nM, 并在用于捕获的蛋白 A 包被的芯片上注射持续 240s, 然后共同注入 GM-CSF 胶原 (50nM), 随后立即注入胶原 (50nM) 持续 110s。芯片的一个通道注入了 HBS, 并用作分析的参考。使用 ProteOn XPR36 仪器 (Bio-Rad) 评估单克隆抗体与 GM-CSF 和胶原的各自结合相互作用, 并使用 ProteOn Manager 软件处理数据。

[0326] 结果示于图 5。构建体 C4 和 GCE536 与 GM-CSF 结合。但是, 只有 C4 随后被胶原识别。胶原特异性 MGD^{UCA} 抗体仅与胶原结合。对照抗体 TT107 是 TT (破伤风类毒素) 特异性单克隆抗体, 其在该 SPR 实验中未显示任何特异性结合信号。总之, 这些结果表明, 在肘区中包含 (附加) 功能域, 例如 Ig 样结构域的构建体可以同时结合 (i) 肘结合位点的结合伴侣和 (ii) 由支架抗体的可变结构域识别的抗原。

[0327] 实施例 4: 可将 Ig 样结构域与侧翼接头一起插入抗体的肘区从而产生功能性抗体

[0328] 抗体构建体 C5b 和 C6b 包含分别插入 C5 和 C6 构建体肘区中的相同结构域 (PD1 或 SLAM), 并且在 JH 和该结构域之间以及在该结构域和 CH1 之间插入了两个附加的 15 聚体氨基

酸接头。通过ELISA测试了构建体与重组人GM-CSF、抗PD1和抗SLAM抗体的结合。简而言之，使用经过认证的参考材料470 (ERMs-DA470, Sigma-Aldrich) 作为标准品，用经山羊抗人IgG (SouthernBiotech, 2040-01) 包被的96孔MaxiSorp板 (Nunc) 对总IgG进行定量。为了测试抗体构建体的特异性结合，将ELISA板用 $1\mu\text{g ml}^{-1}$ 的重组人GM-CSF (Gentaur)、 $2\mu\text{g ml}^{-1}$ 的抗PD1或抗SLAM抗体 (R&D Systems, AF1086和AF164) 包被。将板用1%牛血清白蛋白 (BSA) 封闭，并与滴定的抗体一起孵育，然后与AP偶联的山羊抗人IgG、Fc γ 片段特异性抗体 (Jackson Immuno Research, 109-056-098) 一起孵育。然后洗涤板，加入底物 (p-NPP, Sigma)，并在405nm下读取板。

[0329] 不同结合研究的结果如图6所示。将PD1或SLAM Ig样结构域与侧翼接头一起插入抗GM-CSF抗体的肘区不会影响与GM-CSF的结合，这表明该位点也允许不同结构域和侧翼接头的一起插入而不会影响原始抗体特异性。另外，接头的存在没有改变Ig样结构域，因为C5和C5b均同样被抗PD1抗体识别。对于被抗SLAM抗体识别的C6和C6b，获得了相似的结果。综上所述，这些发现表明，结构域可以与其他接头一起插入肘区，这些接头将这些结构域与主要抗体支架隔开。不受任何理论的束缚，假定接头可增强插入物的柔性。

[0330] 实施例5: 包含插入肘区中的分子标签的抗体的设计

[0331] 为了研究使用插入到抗体肘区中的标签进行抗体检测的可能性，设计了一种构建体 (名为“C9”)，其中将双Strep标签插入支架抗体C1b重链的肘区 (参见实施例1)。与支架抗体相比，该构建体的轻链没有变化。最后将该构建体表达为单克隆抗体 (重链和轻链)。

[0332] 构建体“C9”如图2所示。在构建体“C9”中，将双Strep标签 (“2XST”; SEQ ID NO:20) 插入重组单特异性抗体“C1b” (参见上文) 的肘区。构建体“C9” (完整的重链: SEQ ID NO:65、完整的轻链: SEQ ID NO:63) 由 (从N端到C端顺序) 以下形成: 重链可变域的V (可变) 基因区段的表达产物 (“VH3-20”); 重链可变域的D (多样性) 基因区段的表达产物 (“D”); 重链可变域的J (连接) 基因区段元件的表达产物 (“JH3”); 双Strep标签的表达产物 (“2XST”); 重链恒定区的C (恒定) 基因区段的表达产物 (IgG1同种型); 在另一条链上: 轻链可变域的V (可变) 基因区段的表达产物和轻链可变域的J (连接) 基因区段元件的表达产物; 轻链 κ 恒定区的C (恒定) 基因区段的表达产物。

[0333] 实施例6: 可将分子标签插入抗体的肘区从而产生功能性抗体

[0334] 通过瞬时转染重组产生实施例5中描述的抗体构建体“C9”。为此，将抗体重链和轻链克隆到人IgG1和Ig κ 表达载体中，并通过使用聚乙烯亚胺 (PEI) 瞬时转染Expi293F细胞 (ThermoFisher Scientific) 进行表达。常规测试细胞系的支原体污染。

[0335] 接下来，通过ELISA测试Strep标签特异性Strep-tactin分子对抗体构建体C9和对照抗体C1b (参见实施例1) 的识别。简而言之，使用经过认证的参考材料470 (ERMs-DA470, Sigma-Aldrich) 作为标准品，用经山羊抗人IgG (SouthernBiotech, 2040-01) 包被的96孔MaxiSorp板 (Nunc) 对总IgG进行定量。为了测试抗体构建体的特异性识别，将ELISA板用 $10\mu\text{g ml}^{-1}$ 的抗人IgG抗体 (SouthernBiotech) 包被，将板用1%牛血清白蛋白 (BSA) 封闭，并与滴定的抗体一起孵育，然后与AP缀合的Strep-Tactin (Iba Lifesciences) 一起孵育。然后洗涤板，加入底物 (p-NPP, Sigma)，并在405nm下读取板。

[0336] 结果示于图7。携带Strep标签的抗体构建体“C9”被Strep标签特异Strep-tactin有效且特异性地识别，而不带有Strep标签的对照“C1b”抗体未被识别。这些结果表明，肘区

允许插入能够识别和追踪抗体的分子标签。

[0337] 实施例7:包含插入肘区中的单链抗体可变域(VHH)或单链可变片段(ScFv)的抗体的设计

[0338] 为了研究将除Ig样结构域以外的(附加)功能域插入肘区是否会产生功能性多特异性抗体,设计了四种新的构建体(C9至C12)。在四种新的构建体C9至C12中,将对破伤风类毒素(TT)或呼吸道合胞病毒(RSV)融合(F)蛋白特异的单链抗体可变域(VHH)或单链可变片段(ScFv)分别插入对流感H1血凝素特异的抗体(FI174;Pappas,L.等人Rapid development of broadly influenza neutralizing antibodies through redundant mutations.Nature 516,418-422(2014);VH:SEQ ID NO:10、VL:SEQ ID NO:11、重链恒定区:SEQ ID NO:3、轻链κ恒定区:SEQ ID NO:12/SEQ ID NO:4)的肘区。与支架抗体FI174相比,构建体的轻链没有变化。最后,所有构建体均表达为单克隆抗体(重链和轻链)。

[0339] 产生了以下变体,并在图8中进行了示意性显示:

[0340] 1.在构建体“C10”中,将抗TT VHH(“T3-VHH”;Rossotti,M.A.等人Increasing the potency of neutralizing single-domain antibodies by functionalization with a CD11b/CD 18binding domain.mAbs 7,820-828(2015);SEQ ID NO:16)插入到FI174的肘区。构建体“C10”(完整的重链:SEQ ID NO:66、完整的轻链:SEQ ID NO:67)由(N端到C端顺序)以下形成:FI174的重链可变域的V(可变)基因区段的表达产物(“VH”);FI174的重链可变域的D(多样性)基因区段的表达产物(“D”);FI174的重链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物(“JH”);抗TT VHH的表达产物(“T3-VHH”;Rossotti,M.A.等人Increasing the potency of neutralizing single-domain antibodies by functionalization with a CD11b/CD18 binding domain.mAbs 7,820-828(2015));重链恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物(IgG1同种型);在另一条链上:FI174的轻链可变域的V(可变)基因区段的表达产物和FI174的轻链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物;轻链恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物。

[0341] 2.在构建体“C11”中,将抗TT ScFv(“TT39.7-ScFv”;SEQ ID NO:17)插入FI174的肘区。构建体“C11”(完整的重链:SEQ ID NO:68、完整的轻链:SEQ ID NO:67)由(从N端到C端顺序)以下形成:FI174的重链可变域的V(可变)基因区段的表达产物(“VH”);FI174的重链可变域的D(多样性)基因区段的表达产物(“D”);FI174的重链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物(“JH”);抗TT ScFv的表达产物(“TT39.7-ScFv”);重链恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物(IgG1同种型);在另一条链上:FI174的轻链可变域的V(可变)基因区段的表达产物和FI174的轻链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物;轻链恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物。

[0342] 3.在构建体“C12”中,将抗RSV F蛋白VHH(“F4-VHH”;Rossey,I.等人Potent single-domain antibodies that arrest respiratory syncytial virus fusion protein in its prefusion state.Nature communications 8,14158(2017);SEQ ID NO:18)插入FI174的肘区。构建体“C12”(完整的重链:SEQ ID NO:69、完整的轻链:SEQ ID NO:67)由(从N端到C端顺序)以下形成:FI174的重链可变域的V(可变)基因区段的表达产物(“VH”);FI174的重链可变域的D(多样性)基因区段的表达产物(“D”);FI174的重链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物(“JH”);抗RSV F蛋白VHH的表达产物(“F4-VHH”);

Rossey, I. 等人 Potent single-domain antibodies that arrest respiratory syncytial virus fusion protein in its prefusion state. *Nature communications* 8, 14158 (2017); 重链恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物(IgG1同种型); 在另一条链上: FI174的轻链可变域的V(可变)基因区段的表达产物和FI174的轻链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物; 轻链恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物。

[0343] 4. 在构建体“C13”中, 将抗RSV F蛋白ScFv (“MPE8-ScFv”; Corti, D. 等人 Cross-neutralization of four paramyxoviruses by a human monoclonal antibody. *Nature* 501, 439-443 (2013); SEQ ID NO:19) 插入FI174的肘区。构建体“C13”(完整的重链: SEQ ID NO:70、完整的轻链: SEQ ID NO:67) 由(从N端到C端顺序)以下形成: FI174的重链可变域的V(可变)基因区段的表达产物(“VH”); FI174的重链可变域的D(多样性)基因区段的表达产物(“D”); FI174的重链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物(“JH”); 抗RSV F蛋白ScFv的表达产物(“MPE8-ScFv”; Corti, D. 等人 Cross-neutralization of four paramyxoviruses by a human monoclonal antibody. *Nature* 501, 439-443 (2013)); 重链恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物(IgG1同种型); 在另一条链上: FI174的轻链可变域的V(可变)基因区段的表达产物和FI174的轻链可变域的J(连接)基因区段元件的表达产物; 轻链恒定区的C(恒定)基因区段的表达产物。

[0344] 实施例8: 可将VHH和ScFv插入肘区从而产生功能性双特异性抗体

[0345] 通过瞬时转染重组产生实施例4中描述的四种新的抗体构建体。为此, 将抗体重链和轻链克隆到人IgG1、Ig κ 和Ig λ 表达载体中, 并通过使用聚乙烯亚胺(PEI)瞬时转染 Expi293F细胞(ThermoFisher Scientific)进行表达。通过表面等离子共振(SPR)测试了构建体与(i) H1和(ii) TT或RSV F蛋白的双重结合。

[0346] 在第一个实验中, 分析了构建体C10和C11(在FI174的肘区具有TT特异性VHH或scFv)。为此, 使用蛋白A捕获构建体, 然后共同注入分析物(H1作为第一分析物, 紧接着是TT)。作为对照, 使用TT特异性抗体TT107和H1特异性抗体FI174。简而言之, 将蛋白A(25 μ g/ml)稳定在pH 4.5的10mM乙酸盐缓冲液中, 并通过胺偶联固定在乙基(二甲基氨基丙基)碳化二亚胺/N-羟基琥珀酰亚胺(EDC/NHS)预活化的ProteOnsensor芯片(Bio-Rad)上; 通过注射1M乙醇胺HCl封闭未反应的基团。将HEPES缓冲盐水(HBS)(10mM HEPES pH7.4、150mM NaCl、3mM EDTA、0.005%表面活性剂吐温-20)用作运行缓冲液。所有进样均以100 μ l/min的流速进行。将单克隆抗体在HBS中稀释至10nM, 并在用于捕获的蛋白A包被的芯片上注射持续240s, 然后共同注入H1加州血凝素(50nM), 紧接着注入破伤风类毒素(50nM), 持续110s。芯片的一个通道注入了HBS, 并用作分析的参考。使用ProteONXPR36仪器(Bio-Rad)评估单克隆抗体与H1和TT的各自结合相互作用, 并使用ProteOn Manager软件处理数据。结果示于图9。构建体C10和C11(携带TT特异性结构域(VHH或ScFv))结合H1和TT两者, 而对照抗体FI174和TT107分别仅识别H1或仅识别TT。

[0347] 在第二个实验中, 分析了构建体C12和C13(在FI174的肘区具有RSV F蛋白特异性VHH或scFv)。为此, 使用蛋白A捕获构建体, 然后共同注入分析物(H1作为第一分析物, 紧接着是RSV F蛋白)。使用RSV F蛋白特异性抗体MPE8和H1特异性抗体FI174作为对照。简而言之, 将蛋白A(25 μ g/ml)稳定在pH 4.5的10mM乙酸盐缓冲液中, 并通过胺偶联固定在乙基(二甲基氨基丙基)碳化二亚胺/N-羟基琥珀酰亚胺(EDC/NHS)预活化的ProteOnsensor芯片

(Bio-Rad) 上;通过注射1M乙醇胺HCl封闭未反应的基团。将HEPES缓冲盐水(HBS)(10mM HEPES pH7.4、150mM NaCl、3mM EDTA、0.005%表面活性剂吐温-20)用作运行缓冲液。所有进样均以100 μ l/min的流速进行。将单克隆抗体在HBS中稀释至10nM,并在用于捕获的蛋白A包被的芯片上注射持续240s,然后共同注入H1加州血凝素(50nM),紧接着注入RSV F蛋白(50nM),持续110s。芯片的一个通道注入了HBS,并用作分析的参考。使用ProteONXPR36仪器(Bio-Rad)评估单克隆抗体与H1和RSV F蛋白的各自结合相互作用,并使用ProteOn Manager软件处理数据。结果示于图10。构建体C12和C13(携带RSV F蛋白特异性结构域(VHH或ScFv))结合H1和RSV F蛋白两者,而对照抗体FI174和MPE8分别仅识别H1或仅识别RSV F蛋白。

[0348] 总之,数据表明,将VHH或ScFv结构域插入FI174的肘区不会影响与H1血凝素的结合,这表明该位点允许插入不同的结构域,而不影响原始抗体特异性,如上文针对Ig样结构域所示。抗体支架的VDJ区和插入肘区中的VHH或ScFv结构域对两种不同特异性抗原的双重同时识别表明,有可能在肘区产生携带不同类型插入物的功能性双特异性抗体。

[0349] 序列和SEQ ID编号表(序列表):

[0350]

SEQ ID NO	序列	注释
SEQ ID NO: 1	QLQLVQSGTEVKKPGASVKVSCKSSGYVFTSYLLV WVRQAPGQGLEWMATISPGDVNTSYEQRFQGRV TVTTDASTNTVDMELRSLRSEDTAVYYCARGPRSKP PYLYFALDVWGQGTAVTVSS	GCE536 VH aa
SEQ ID NO: 2	EIVLTQSPGTLISLSPGETAILS CRASQSVSSLLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASN RATGIRGRFSGSGSGTDFTL TISRLEPEDFVLYYCQHYGSRVTFGQGTKLEIK	GCE536 VL aa
SEQ ID NO: 3	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLTGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKHT CPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFLL YSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKS LSLSPGK	人 HC IgG1 恒定区 aa
SEQ ID NO: 4	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	人 LC κ 恒定区 aa
SEQ ID NO: 5	QVQLAQYGGGAVQP GGSRLSCVVS GFRFSLYGI HWVRQAPGKGLEWLSLIENHGRKIYYAESVKGRIT VSRDNFKNVAYLEMYRLSTEDTAIYYCARNDGLGR YTDAGGTHRTAYLDYWGRGLTVTVSS	C1 VH aa
SEQ ID NO: 6	SYEVTQPPSVSVSPGQAARITCSGDELPRDISWYQ QTSGQAPVLVIYEGTKRPSGIPERFSGSVSGAMATL MISEAQLEDEGDYYCFSIDTSGNHGGAFGTGKLT VL	C1 VL aa
SEQ ID NO: 7	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGA VTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYL SLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	人 LC λ 恒定区 aa
SEQ ID NO: 8	DVQLVESGGGVVRRPGVSLRLSCV A S G F S F K N Y D M AWVRQVPGKGLEWVCGINWNGSLRGYADSVK G RFLISR DHAKDSL Y L Q M S R L R A E D T A L Y Y C A R D P G Y NTGRDHPYDLWGQGTMTVTVSS	C1b VH aa
SEQ ID NO: 9	DIQMTQSPSTLSASVGRVTITCRASQSISSWLAWY QQKPGKAPKLLIYKASSLGSVPSRFSGSGSGTQFT LTISSLQPDDFATYYCQQYNNYPYTFGQGTKLEIK	C1b VL aa

SEQ ID NO: 10	QVQLVQSGAEVRKPGSSVKV SCKTSGGIIRKYALS WVRQAPGQGLEWMGGIIAIFGTTNYAQKFQGRV TINADESTSTVYLELSSLTSEDTAIYYCAGSATYYESRF DYWGQGLTVTVSS	F1174 VH aa
SEQ ID NO: 11	EIVLTQSPGTLSPGARATLSCRASQSVSSSLAWY QQKPGQAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGSGSGTDF LTISRLEPEDFAVYYCHQYGDSRKTFCGQGTKVEIK	F1174 VL aa
SEQ ID NO: 12	EDLPRPSISAEPGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRL ERESRSTYNDTEDVVSQASPSESEARFRIDSVSEGNAG PYRCIYYKPPKWSEQSDYLELLVK	未突变的 LAIR1 片段 aa
SEQ ID NO: 13	EDLPRPSISAEPGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRL ERERNLYSDTEDVVSQSPSESEARFRIDSVNAGNA GLFRCIYYKSRKWSEQSDYLELVK	突变的 LAIR1 片段 aa
SEQ ID NO: 14	DSPDRPWNPPTFSPALLVVEGDNATFTCSFSNTSE SFVLNMYRMSPSNQTDKLAAPEDRSQPGQDCRF RVTQLPNGRDFHMSVVRARRNDSGTYLCGAISLAP KAQIKESLRAELRV	PD-1 片段 aa
SEQ ID NO: 15	EQVSTPEIKVLNKTQENGTCTLILGCTVEKGDHVAY SWSEKAGTHPLNPANSSHLLSLTLGPQHADNIYICT VSNPISNNSQTFSPWPGCRTDPS	SLAM 片段 aa
SEQ ID NO: 16	MAQVQLVESGGGLVQACGSLTLSCAASGSTRSY ALGWFRQAPGKEREFAHVGGQAEFAQGRFTISR DFAKNTVSLQMNDLKSDDTAIYYCVASNRGWSPS RVSYWGQGTQVTVSS	T3-VHH aa
SEQ ID NO: 17	QITLKESGPTLVKPTQTLTLCTFSGFSLSTRVGVG WIRQPPGKALEWLSLIYWDEKHYSPSLKKNRVTISK DSSKNQVVLTLTMDPVDGTYYCAHRGVDTS WGFDYWQCALVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS QSALTQPASVSGSPGQSITISCSGAGSDVGGHNFV SWYQQYPGKAPKLMYDVKNRPSGVSYRFSKSG YTASLTISGLQAEDEATYFCSSYSSSSTLIIFGGGTRLT VL	TT39.7-scFv aa
SEQ ID NO: 18	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDYIYIG WFRQAPGKEREAVSCISGSSGSTYYPDSVKGRFTISR DNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCATIRSSSWGG CVHYGMDYWGKGTQVTVSS	F4-VHH aa
SEQ ID NO: 19	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMN WVRQAPGKGLEWVSSISASSSYSDYADSAKGRFTIS RDNAKTSLFLQMNSLRAEDTAIFYCARARATGYSSI TPYFDIWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQ SVVTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVH WYQQLPGTAPKLLIYDNNNRPSGVPDRFSASKSGT SASLAITGLQAEDEADYQCYSYDRNLSGVFGTGTK VTVL	MPE8-scFv aa
SEQ ID NO: 20	SAWSHPQFEKGGGSGGGSGGSAWSHPQFEK	StrepTag aa

[0351]

[0352]

SEQ ID NO: 21	GLNDIFEAQKIEWHE	AviTag
SEQ ID NO: 22	KRRWKKNFIAVSAANRFKKISSGAL	钙调蛋白-标签
SEQ ID NO: 23	EEEEEE	聚谷氨酸标签
SEQ ID NO: 24	GAPVPYPDPLEPR	E-标签
SEQ ID NO: 25	DYKDDDDK	FLAG-标签
SEQ ID NO: 26	YPYDVPDYA	HA-标签
SEQ ID NO: 27	HHHHHH	His-标签
SEQ ID NO: 28	EOKLISEEDL	Myc-标签
SEQ ID NO: 29	TKENPRSNQEESYDDNES	NE-标签
SEQ ID NO: 30	KETAALKFERQHMD5	S-标签
SEQ ID NO: 31	MDEKTTGWRGCHVVEGLAGELEQLRARLEHHPQ COREP	SBP-标签
SEQ ID NO: 32	SLAELLNAGLGG5	Softag 1
SEQ ID NO: 33	TQDPSRVG	Softag 3
SEQ ID NO: 34	WSHPOFEK	Strep-标签
SEQ ID NO: 35	CCPGCC	TC 标签
SEQ ID NO: 36	GKPIPPLLGLDST	V5 标签
SEQ ID NO: 37	YTDIEMNRLGK	VSV-标签
SEQ ID NO: 38	DLYDDDDK	Xpress 标签
SEQ ID NO: 39	TDKDMTITFTNKKDAE	Isopeptag
SEQ ID NO: 40	AHIVMVDAYKPTK	SpyTag
SEQ ID NO: 41	KLGDIEFIKVNK	SnoopTag
SEQ ID NO: 42	EVHTNQDPLD	Ty1 标签
SEQ ID NO: 43	GCGGS	接头
SEQ ID NO: 44	GCGGSGGGGS	接头
SEQ ID NO: 45	GCGGSGGGGSGGGGS	接头
SEQ ID NO: 46	GCGGSGGGGSGGGGSGGGGS	接头
SEQ ID NO: 47	GCGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	接头
SEQ ID NO: 48	GCGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	接头
SEQ ID NO: 49	FVGI'PSPFLTSLHLS	接头
SEQ ID NO: 50	GAASEAPGQGLAEPV	接头
SEQ ID NO: 51	QGFTSVMAPFLPLT	接头
SEQ ID NO: 52	GEYTGGSCLCATLMSM	接头

[0353]

<p>SEQ ID NO: 53</p>	<p>QVQLAQYGGGAVQPGGSLRLSCVVS⁵³GF⁵⁴R⁵⁵FLYGI HWVRQAPGKGLEWLSLIENHGRKIYYAESVKGRITV SRDNFKNVAYLEMYRLSTEDTAIYYCARNDGLGRY TDAGGTHRTAYLDYWGRGTLVTVSSEDLPRPSISAE PGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRLERERNYLYSD TEDVSQTSPSESEARFRIDSVNAGNAGLFRCIYYKSR KWSEQSDYLELVKASTKGPSVFPLAPSSKSTSCGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSGCSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>	<p>C2 重链 aa</p>
<p>SEQ ID NO: 54</p>	<p>SYEVTQPPSVSVSPGQAARITCSGDELPRTDISWYQ QTSGQAPVLVIYEGTKRPSGIPERFSGSVSGAMATL MISEAQLEDEGDYYCFSIDTSGNHGGAFGTGKLT VLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYP GAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAAS SYLSLTPEQWKS⁵⁴HRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTEC S</p>	<p>C2/C3 轻链 aa</p>
<p>SEQ ID NO: 55</p>	<p>QVQLAQYGGGAVQPGGSLRLSCVVS⁵⁵GF⁵⁶R⁵⁷FLYGI HWVRQAPGKGLEWLSLIENHGRKIYYAESVKGRIT VSRDNFKNVAYLEMYRLSTEDTAIYYCARNDGLGR YTDAGGTHRTAYLDYWGRGTLVTVSSEDLPRPSIS AEPGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRLERESRSTY NDTEDVSQASPSESEARFRIDSVSEGNAGPYRCIYY KPPKWSEQSDYLELVKASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKRVEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSGCSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>	<p>C3 重链 aa</p>

[0354]

<p>SEQ ID NO: 56</p>	<p>QLQLVQSGTEVKKPGASVKVSCKSSGYVFTSYLLV WVRQAPGQGLEWMATISPGDVNTSYEQRFQGR VTVTTDASTNTVDMELRSLRSEDTAVYYCARGPRS KPPYLYFALDVGQGTAVTVSSEDLPRPSISAEPGT VIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRLERESRSTYNDTED VSQASPSESEARFRIDSVSEGNAGPYRCIYYKPPKW SEQSDYLELLVKASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK RVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NINYYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTOKLSLSPGK</p>	<p>C4 重链 aa</p>
<p>SEQ ID NO: 57</p>	<p>EIVLTQSPGTLSPGETAILSCRASQSVSSLLAWY QQKPCQAPRLLIYGASNRATGIRGRFSGSGCTDF TLTISRLEPEDFVLYYCQHYGSRVTFGQGTKLEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>	<p>C4/C5/C6 轻链 aa</p>
<p>SEQ ID NO: 58</p>	<p>QLQLVQSGTEVKKPGASVKVSCKSSGYVFTSYLLV WVRQAPGQGLEWMATISPGDVNTSYEQRFQGR VTVTTDASTNTVDMELRSLRSEDTAVYYCARGPRS KPPYLYFALDVGQGTAVTVSSDSPDRPWNPPTF SPALLVTEGDNATFTCSFSNTSEFVLNWYRMSPS NQTDKLAAPEDRSQPGQDCRFVTVQLPNGRDF HMSVVRARRNDSTYLCGAIKSLAQIKESLRAEL RVTASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKD KHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYYKTTTPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKLSLSPGK</p>	<p>C5 重链 aa</p>

[0355]

<p>SEQ ID NO: 59</p>	<p>QLQLVQSGTEVKKPGASVKVSCKSSGYVFTSYLLV WVRQAPGQGLEWMATISPGDVNTSYEQRFQGRV TVTTDASTNTVDMELRSLRSEDVAVYYCARGPRSKP PYLYFALDWWGQGTAVTVSSFVGPSPFLTSLHLSLSD SPDRPWNPPTFSPALLVTEGDNATFTCSFSNTSESF VLNHWYRMSPSNQTDKLAAPFEDRSQPGQDCRFRV TQLPNGRDFHMSVVRARRNDSGTYLCCGAIAPKA QIKESLRAELRVTGAASEAPGQGLAEPVASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>	<p>C5b 重链 aa</p>
<p>SEQ ID NO: 60</p>	<p>QLQLVQSGTEVKKPGASVKVSCKSSGYVFTSYLLV WVRQAPGQGLEWMATISPGDVNTSYEQRFQGRV TVTTDASTNTVDMELRSLRSEDVAVYYCARGPRSKP PYLYFALDWWGQGTAVTVSSFVGPSPFLTSLHLSLSD SPDRPWNPPTFSPALLVTEGDNATFTCSFSNTSESF VLNHWYRMSPSNQTDKLAAPFEDRSQPGQDCRFRV TQLPNGRDFHMSVVRARRNDSGTYLCCGAIAPKA QIKESLRAELRVTGAASEAPGQGLAEPVASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>	<p>C6 重链 aa</p>

[0356]

<p>SEQ ID NO: 61</p>	<p>QLQLVQSGTEVKKPGASVKVSCIKSSGYVFTSYYL WVVRQAPGQGLEWMATISPGDVNTSYEQRFQGR VTVTTDASTNTVDMELRSLRSEDTAVYYCARGPRS KPPYLYFALDWWGQGTAVTVSSQGFTSVMAPFLPL LTEQVSTPEIKVLNKTQENGTCTLILGCTVEKGDHV AYSWSEKAGTHPLNPANSSIHLLSLTLGPQHADNIY ICTVSNPISNNSQTFSPWPGCRTDPSGEYTCGSLC ATLMSMASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK</p>	<p>C6b 重链 aa</p>
<p>SEQ ID NO: 62</p>	<p>DVQLVESGGGVVRPGVSLRLSCVASGFSFKNYDM AWVRQVPGKLEWVCCINWNGSLRGYADSVKG RFLISRDHAKDSLQLMSRLRAEDTALYCARDPG YNTGRDHPYDLWGQGTMTVSSDSPDRPWNPP TFSPALLVTEGDNATFTCSFSNTSESVLNWYRMS PSNQTDKLAAPEDRSQPGQDCRFRTQLPNGR DFHMSVVRARRNDSGYLCAISLAPKAQIKESLR AELRVTASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK</p>	<p>C7 重链 aa</p>
<p>SEQ ID NO: 63</p>	<p>DIQMTQSPSTLSASVGRVTITCRASQSISSWLA YQQKPGKAPKLLIYKASSLGSVPSRFSGSGSGTQF TLTISSLQPDDFATYYCQQYNNYPYTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSST LTLKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C</p>	<p>C7/C8/C9 轻链 aa</p>

[0357]

SEQ ID NO: 64	DVQLVESGGGVVVRPGVSLRLSCVASGFSFKNYDMA WVRQVPGKGLEWVCGINWNGSLRGYADSVKGRF LISRDHAKDSLYLQMSRLRAEDTALYYCARDPGYNT GRDHPYDLWGQGTMTVTSSEQVSTPEIKVLNKTQ ENGTCTLILGCTVEKGDHVAYSWSKAGTHPLNPA NSSHL ₁ SLTLGPQHADNIYICTVSNPISNNSQTFSFW PGCRTDPSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSCVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPK SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPV LDS ₁ DG ₁ SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV ₁ FSCSV ₁ MHEAL HNHYTQKSLSLSPGK	C8 重链 aa
SEQ ID NO: 65	DVQLVESGGGVVVRPGVSLRLSCVASGFSFKNYDM AWVRQVPGKGLEWVCGINWNGSLRGYADSVKGRF RFLISRDHAKDSLYLQMSRLRAEDTALYYCARDPG YNTGRDHPYDLWGQGTMTVSSSAWSHPQFEK GGCGGGGSGGSAWSHPQFEKASTKGPSVFLAPSS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSC VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDG ₁ SFFLYSKLTVDK SRWQQGNV ₁ FSCSV ₁ MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	C9 重链 aa

[0358]

SEQ ID NO: 66	QVQLVQSGAEVRKPGSSVKVSCKTSGGIIRKYALS WVRQAPGQGLEWMGGIIAIFGTTNYAQKFQGRV TINADESTSTVYLELSSLTSEDTAIYYCAGSATYYESR FDYWGQGTLLTVSSMAQVQLVESGGGLVQAGG SLTSCAASGSTRSYALGWFRQAPGKEREFVAHV GQTAFAAQGRFTISRDFAKNTVSLQMNDLKSDDT AIYYCVASNRGWSPSRVSYWGQGTQVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK	C10 重链 aa
SEQ ID NO: 67	EIVLTQSPGTLSPGARATLSCRASQSVSSSLAWY QQKPGQAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGSGSGTDF TLISRLEPEDFAVYYCHQYGDSRKTFGQGTKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGE C	C10/C11/C12/C13 轻链 aa

[0359]

SEQ ID NO: 68	<p>QVQLVQSGAEVRKPGSSVKV SCKTSGGIIRKYALS WVROAPGQGLEWMGGIIAIFGTTNYAQKFQGRV TINADESTSTVYLELSSLTSEDTAIYYCAGSATYYESR FDYWGQGT LVTVSSQITLKESGPTLVKPTQTLTLC TFSGFSLSTRVGVGWIRQPPGKALEWLSLIYWDD EKHYSPSLKNRVTISKDSSKNQWVLTLDMDPVD GTYYCAHRGVDTSGWGFDYWGQALVTVSSGG GGSGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITIS CSGAGSDVGGHNFVSWYQQYPGKAPKLMYDV KNRPSGVSYRFSGSKSGYASLTISGLQAEDEATYF CSSYSSSSTLIIFGGGTRLTVLASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCKDKHTCPPAPPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK</p>	C11 重链 aa
SEQ ID NO: 69	<p>QVQLVQSGAEVRKPGSSVKV SCKTSGGIIRKYALS VRQAPGQGLEWMGGIIAIFGTTNYAQKFQGRVTI NADESTSTVYLELSSLTSEDTAIYYCAGSATYYESRFD YWGQGT LVTVSSQVQLQESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFTLDYYYIGWFRQAPGKEREAIVSCISGSSGST YYPDSVKGRFTISRDNKNTVYVYLMNSLKPEDTAV YYCATIRSSSWGGCVHYGMDYWGKGTQVTVSSAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCKDKHTCPP CPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLS LSLSPGK</p>	C12 重链 aa

[0360]

SEQ ID NO: 70	QVQLVQSGAEVRKPGSSVKVSCKTSGGIIRKYALS WVRQAPGQGLEWMGGIIAIFGTTNYAQKFQGRV TINADESTSTVYLELSSLTSEDTAIYYCAGSATYYESR FDYWGQGTLLVTVSSEVQLVESGGGLVKPGGSLRL SCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISASS SYSDYADSAKGRFTISRDNAKTSLFLQMNSLRAEDT AIYFCARARATGYSSITPYFDIWCQGTLLTVSSGG GSGGGGSGGGGSQSVVTQPPSVSGAPCQRVTI SCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYDNN NRPSGVPDRFSASKSGTSASLAITGLQAEDEADYYC QSYDRNLSCVFGTGTKVTVLASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTHTCPPCPAPPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVYVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	C13 重链 aa
SEQ ID NO: 71	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSISSSNW WSWVRQPPGKGLEWIGEIYHSGSTNYPNLSKSRV TISVDKSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARASPLKS QRDTEDLPRPSISAEPGTVIPLGSHVTFVCRGPVGV QTFRLERESRSTYNDTEDVSEQASPSESEARFRIDSVS EGNAGPYRCIYYKPPKWSEQSDYLELLVKGEDVTW ALPQSQLDPRACPQGEPISTDIYYMDVWGKGT TVVSS	MGD ^{UCA} VH aa
SEQ ID NO: 72	AIRMTQSPSSFSASTGDRVITICRASQGISSYLAWY QQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTDF LTISCLQSEDFATYYCQQYYSYPPDFGQGTREIK	MGD ^{UCA} VL aa
SEQ ID NO: 73	QVQLIQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMS WIRQVPGKGLEWISVISATTGYTDYADSVKGRFTIS RDNAKNSVFLQMNSLRVDDMAVYYCAREVLGTA WFDYWGQGTLLTVISS	IT107 VH aa
SEQ ID NO: 74	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVTSNYLAWY QQKPGQAPRLLIYGVSRRATGIPDRFSGSGSGTDF ALTISRLEPEDFAVYYCQYRSSPRTFGPGTKVEFK	IT107 VL aa

[0361]

SEQ ID NO: 75	EVQLVESGGGVVRRPGEISLRISCAASGFIFNDFGMN WVRQPPGRGLEWVAGIKWRGGVALVPSVTGRF TISGDNDKNSLYLQMTSLRDEDTAVYYCARDGFR GGRGHAFDLWGQGTMTVISAEDLPRPSISAEPGTV IPLGSHVTFVCRGPVGVHTFRLERESRSTYNETEDVS QASPSESEARFRIDSVSEGNAGPYRCIYYKPPKWSEQ SDYLELLVK	MGJ1 VH
SEQ ID NO: 76	EVQVVESGGRVARPGGSLRLSCLASGFHLDDYDM SWVRQPPGKGLEWVAGINWNGGRTGYADSVKGR RLTISRDNACKFLYLEMKSLRAEDTALYYCARDPGYS SGRRNALDIWGQGTMTVSLLEDLPRPSISAEPGTVI PLGSHVTFVCRGPVGVQTFRLERESRFTYNDTEDVS QASPSESEARFRIDSVSEGNAGPYRCIYYKPPKWSEQ SDYLELLVK	MGJ2 VH
SEQ ID NO: 77	EVQLVQSGGGVVRPGGFLRLSCLASGFTFENYAVA WVRQVAGKGLEWLCVINWDAGTTNYADSVKGRF TISRDIVKNSLVLEMSLRAEDTALYYCARDPVYGS RGDVFDMWGQGTVVTVSSDLPRPSISAEPGTVIPL GSHVTFVCRGPVGVQTFRLERESRSTYNETEDVSQA SPSESEARFRIDSVSEGNAGPYRCIYYKPPKWSEQSD YLELLVK	MGJ3 VH
SEQ ID NO: 78	DVQLVESGGGVVRRPGVSLRLSCVASGFSFKNYDMA WVRQVPGKGLEWVCGINWNGSLRGYADSVKGRF LISRDHAKDSLQMSRLRAEDTALYYCARDPGYNT GRDHYPDLWGQGTMTVSSLEDLPRPSISAEPGTVI PLGSHVTFVCRGPVGVQTFRLERESRSTYNETEDVS QVSPSESEARFRIDSVSEGNAGPYRCIYYKPPKWSEQ SDYLELLVK	MGJ5 VH
SEQ ID NO: 79	EVQLVESGGRVRRPGEISLRISCEVSGVSINDYDMS WVRQPLGKGLEWVSGIDRKGVTGYADSVKGRFT ISRDHAKNSLYLQMNSLTGDGDTAFYYCVRDPGESS GRGHIFNIWGQGTMTVSLLEDLPRPSISAEPGTVIPL GSHVTFVCRGPVGVQTFRLERESRSTYNETEDVSQV SPSESEARFRIDSVSEGNAGPYRCIYYKPPKWSEQSD YLELLVK	MMJ1 VH
SEQ ID NO: 80	EVQLVESGGGVVRRPGEISLRISCEVSGVNINDYDMS WVRQFLGKGLEWVSCIDRKGVTGYADSVKGRFT ISRDHAKNSLYLQMNSLRGEDTALYYCVRDPGDT GRGHIFNVWGQGTMTVSLLEDLPRPSISAEPGTVIP LGSHVTFVCRGPVGVQTFRLERESRSTYNETEDVSQ VSPSESEARFRIDSVSEGNAGPYRCIYYKPPKWSEQS DYLELLVK	MMJ2 VH

[0362]

SEQ ID NO: 81	EVQLVESGGGVVRRPGESLRRLSCEVSGVNINDYDMS WVRQPLGKGLEWVSGIDRKGVTGYADSVKGRFT ISRDNQKNSLYLQMNSLRGDTALYYCVRDPGDRS GRGHIFNIWGQGTMTVTSLEDLPRPSISAEPGTVIPL GSHVTFVCRGPVGVQTFRLERESRSTYNETEDVSQV SPSESEARFRIDSVSEGNAGPYRCIYYKPPKWSEQSD YLELLVK	MMJ5 VH
SEQ ID NO: 82	EVQLVESGGGVVRRPGESLRRLSCEVSGVSINDYDMS WVRQPLGKGLEWVSGIDRKGVTGYADSVKGRFT ISRDHAKNSLYLQMNSLRGDTALYYCVRDPGDSS GRGQIFNIWGQGTMTVTSLEDLPRPSISAEPGTVIPL GSHVTFVCRGPVGVQTFRLERESRSTYNETEDVSQV SPSESEARFRIDSVSEGNAGPYRCIYYKPPKWSEQSD YLELLVK	MMJ6 VH
SEQ ID NO: 83	EVQLVESGGGVVRRPGESLRRLSCEVSGVSINDYDMS WVRQRLGKGLEWVSGIDRKGVTGYADSVKGRFT ISRDHAKNSLYLQMNSLRGDTALYYCVRDPGESS GRGHIFNIWGQGTMTVTSLEDLPRPSISAEPGTVIPL GSHVTFVCRGPVGVQTFRLERESRSTYNETEDVSQV SPSESEARFRIDSVSEGNAGPYRCIYYKPPKWSEQSD YLELLVK	MMJ7 VH
SEQ ID NO: 84	EVQLVESGGGVVRRPGESLRRLSCEVSGVNINDYDMS WVRQFLGKGLEWVSGIDRKGVTGYADSVKGRFT ISRDHAKNSLYLQMNSLRGDTALYYCVRDPGDTS GRGHIFNVWGQGTMTVTSLEDLPRPSISAEPGTVIP LGSHVTFVCRGPVGVQTFRLERESRSTYNETEDVSQ VSPSESEARFRIDSVSEGNAGPYRCIYYKPPKWSEQS DYLELLVK	MMJ8 VH
SEQ ID NO: 85	EVQLVESGGGVVRRPGESLRRLSCEVSGVNINDYDMS WVRQFLGKGLEWVSGIDRKGVTGYADSVKGRFT ISRDHAKNSLYLQMNSLRGDTALYYCVRDPGDTS GRGHIFNVWGQGTMTVTSLEDLPRPSISAEPGTVIP LGSHVTFVCRGPVGVQTFRLERESRSTYNETEDVSQ VSPSESEARFRIDSVSEGNAGPYRCIYYKPPKWSEQS DYLELLVK	MMJ10 VH
SEQ ID NO: 86	EVQLVESGGGVVRRPGESLRRLSCEVSGVNINDYDMS WVRQFLGKGLEWVSGIDRKGVTGYADSVKGRFT ISRDHAKNSLYLQMNSLRGDTALYYCVRDPGDTS GRGHIFNVWGQGTMTVTSLEDLPRPSISAEPGTVIP LGSHVTFVCRGPVGVQTFRLERESRSTYNETEDVSQ VSPSESEARFRIDSVSEGNAGPYRCIYYKPPKWSEQS DYLELLGK	MMJ16 VH

[0363]

SEQ ID NO: 87	EVQLVESGGGVVRRPGESLRLSCEVSGVNINDYDMS WVRQPLGKGLEWVSGIDRKGVTGYADSVKGRFT ISRDNNGKNSLYLQMNSLRGEDTALYYCVRDPGDRS GRGHIFNIWGGQTMVTVSLEDLPRPSISAEPGTVIPL GSHVTFVCRGPVGVQTFRLERESRSTYNEDVSQV SPSESEARFRIDSVSEGNAGPYRCIYYKPPKWSEQSD YLELLVK	MMJ23 VH
SEQ ID NO: 88	EVQLVESGGGVVRRPGESLRLSCEVSGVSINDYDMS WVRQPLGKGLEWVSGIDRKGVTGYADSVKGRFT ISRDHAKNSLYLQMNSLRGADTALYYCVRDPGDSS GRGHIFNIWGGQTMVTVSLEDLPRPSISAEPGTVIPL GSHVTFVCRGPVGVQTFRLERESRSTYNEDVSQV SPSESEARFRIDSVSEGNAGPYRCIYYKPPKWSEQSD YLELLVK	MMJ25 VH
SEQ ID NO: 89	QVQLAQYGGGAVQPGGSLRLSCVVSQFRFSLYGI HWVRQAPGKGLEWLSLIENHGRKIYYAESVKGRITV SRDNFKNVAYLEMYRLSTEDTAIYYCARNDGLGRY TDAGGTHRTAYLDYWGRGTLVTVSSEDLPRPSISAE PGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRLERESRSTYND TEDVSQASPSESEARFRIDSVSEGNAGPYRCVYYKPP KWSEQSDYLDLLVK	MGM1 VH
SEQ ID NO: 90	QVQLVESGGDVVQPGGSLRLSCAVSFGKFNIDIH WVRQAPGKGLEWVSFIRHDGNNQEYADSVKGRF TISRDNFKNIIDLQMHSRLRTEDTALYYCATNQSGG SDDTWETNRSAFFPHWGQGLTVTVSSDLPRPSISAE PGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRLERESRSIYNDT EDVSQASPSESEARFRIDSVSEGNAGPYRCVYYKPPK WSEESDYLELLVK	MGM3 VH
SEQ ID NO: 91	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCEVSGFRFSTYGIH WARQAPGKGLEWVAFIRYDGNKNSYADSVKGRFT ISRDNKNTLYLQMNSLRIEDTAVYYCAKNQASGG YDDTWGTYSAYLDYWGGQGLTVTVSSEDLPRPSIS AEPGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRLERESRSTYN DTEEDVSQASPSESEARFRIDSVSEGNAGPYRCVYYKPP PKWSEESDSLELLVK	MGM4 VH
SEQ ID NO: 92	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCKMSGFKFSAFGIH WVRQAPGKGLEWVAFVRYDGGDKYYADSVKGRF TISRDNKNTVHLQLNSLKPADTAVYYCAKNQPSG QSDDTWGTSLAYLDYWGGQGTQVSVSPEDLPRPSI SAEPGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRLERESRSTY NDTEEDVSQASPSESEARFRIDSVSEGNAGPYRCVYY KPPKWSEQSDYLELLVK	MGM5 VH
SEQ ID NO: 93	EAQVVDHGNRGRARDLEIKRRARDLEYEDLPRP SISAEPGTVIPLGSRVTFVCRGPVGVQTFRLERESRSK YNETEDVSQASPSESEARFRIDSVSEGNAGPYRCIYY KPPKWSEHSDFLELLVK	MGB2 VH

[0364]

SEQ ID NO: 94	VAEVEEHINKRRARDLEYEDLPRPSISAEPGTVIPLGS HVTFCVCRGPVGVQTFRLERESRSRYNETEDVSQTSP SESEARFRIDSVSEGNAGPYRCLYYKTPKWSEQSDFL ELLVK	MGB43 VH
SEQ ID NO: 95	EAEVVEHVNKRRARALEYEDLPRPSISAEPGTVIPLGS HVTFCVCRGPVGVQTFRLERESRSRYTETEDVSQTSPS ESEARFRIDSVSEGNAGPYRCLYYKPPKWSEQSDFLE LLVK	MGB47 VH
SEQ ID NO: 96	DFQMTQSPSTLSASVGDRTTITCRASQNVNTWLA WYQQAAGKAPKLLIYEASTLQSGVPSRFRGGGSGT EFTLTITSLQPEDFATYYCHQYKSHPFTEGPGTKVDV R	MGJ1 VL
SEQ ID NO: 97	DIQMTQSPSTLSASVGDRTTITCRASQTISSWLAWY QQKPGKAPKFLIYKASFLENGVPSRFGSGESGTEFTLT INSLQPDDFATYYCQQYKSYPFTEGPGTKVEIK	MGJ2 VL
SEQ ID NO: 98	DIQMTQSPSTLSASVGDRTTITCRASQSIIDCLAW YQQKPGKDPKLLIYKASRLEAGVPARFSASGSGTEFT FTIRSMQPEDFATYYCQQCYSPFTEGPGTKVDLK	MGJ3 VL
SEQ ID NO: 99	DIQMTQSPSTLSASVGDRTTITCRASQSISSWLAWY QQKPGKAPKLLIYKASSLGGVPSRFGSGSGTQFTL TISSLPDDFATYYCQQYNNYPYTFGQGTKLEIK	MGJ5 VL
SEQ ID NO: 100	DIQMTQSPSTVSASIGDRVTITCRASQIIRSLAWYQ QKPGKSPKALIYKTSNLEDGVPSRFGSGSGTDFTLT VSSLQPDDFANYCQQYDTPFTEGPGTTVTLR	MMJ1 VL
SEQ ID NO: 101	DIQMTQSPSTLSASIGDRVTITCRASQVIDRSLAWF QQKPGKSPRPLIYKASTLEGGVPSRFGSGSGTDFTL TVSSLQPDDFANYCQQYDTPFTEGPGTTVTLR	MMJ5 VL
SEQ ID NO: 102	DIQMTQSPSTLSASIGDRVTITCRASQIIRSLAWYQ QKPGKSPRALIYKASNLEGGVPSRFGSGSGTDFTLT VSSLQPDDFANYCQQYDTPFTEGPGTTVTLR	MMJ6 VL
SEQ ID NO: 103	DIQMTQSPSTLSASIGDRVTITCRASQSIDRSLAWY QQKPGKSPKALIYKASNLEGGVPSRFGSGSGTDFT LTVSSLQPDDFADYYCQQYDTPFTEGPGTTVTLR	MMJ7 VL
SEQ ID NO: 104	DIQMTQSPSTLSASIGDRVTITCRASQIIDRSLAWYQ QKPGKSPKALIYKASNLEGGVPSRFGSGSGTDFTLT VSSLQPDDFANYCQQYDTPFTEGPGTTVTLR	MMJ8 VL
SEQ ID NO: 105	DIQMTQSPSTLSASIGDRVTITCRASQIIDRSLAWYQ QKPGKSPKALIYKASNLEGGVPSRFGSGSGTDFTLT VSSLQPDDFANYCQQYDTPFTEGPGTTVTLR	MMJ10 VL
SEQ ID NO: 106	DIQMTQSPSTLSASIGDRVTITCRASQIIDRSLAWYQ QKPGKSPKALIYKASNLEGGVPSRFGSGSGTDFTLT VSSLQPDDFANYCQQYDTPFTEGPGTTVTLR	MMJ16 VL

[0365]

SEQ ID NO: 107	DIQMTQSPSTLSASIGDRVTITCRASQVIDRSLAWF QQKPGKSPRPLIYKASTLEGGVPSRFSGSGSGTDFTL TVSSLQPDDFANYCQQYDTPFTFGPGTTVTLR	MMJ23 VL
SEQ ID NO: 108	DIQMTQSPSTLSASIGDRVTITCRASQVIDRSLAWY QQKPGKSPKALYKASNLEDGVPSRFSGSGSGTDFL LTVSSLQPDDFALYYCQQYDTPFTFGPGTTVTLR	MMJ25 VL
SEQ ID NO: 109	SYEVTQPPSVSVSPGQAARITCSGDELPRTDISWYQ QTSGQAPVLVIYEGTKRPSGIPERFSGSVSGAMATL MISEAQLDEGDYYCFSIDTSGNHGGAFGTGTLKLT VL	MGM1 VL
SEQ ID NO: 110	SYELIQPPSXSVSPGQTARITCSGEPLPRTSTSWYRQK SGQAPVLIIYEVSKRPSGIPERXSGSNTGKATLFVIG AQVEDEGDYYCYSTNTSGGSRCAFGTGTSLSLTVL	MGM3 VL
SEQ ID NO: 111	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDAVPNTYTYWYQ QKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFSGSSSGTMATFII SGAQVEDEADYYCYSTDTSDDHRGAFGTGTKVTV L	MGM4 VL
SEQ ID NO: 112	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPRTFIYWYQ QKSRQAPVVVIYEDVKRPSGIPERFSGSISGTQATLII TGAQVEDEADYYCYSTDNTNTHRGAFGTGTKVTV L	MGM5 VL
SEQ ID NO: 113	EDLPRPSISAEPGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVHTFRL ERESRSTYNEDVVSQASPSESEARFRIDSVSEGNAGP YRCIYYKPPKWSEQSDYLELLVK	MJ1 LAIR1
SEQ ID NO: 114	EDLPRPSISAEPGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRL ERESRFTYNDTEDVVSQASPSESEARFRIDSVSEGNAG PYRCIYYKPPKWSEQSDYLELLVK	MJ2 LAIR1
SEQ ID NO: 115	DLPRPSISAEPGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRL RESRSTYNEDVVSQASPSESEARFRIDSVSEGNAGP YRCIYYKPPKWSEQSDYLELLVK	MJ3 LAIR1
SEQ ID NO: 116	EDLPRPSISAEPGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRL ERESRSTYNEDVVSQVSPSESEARFRIDSVSEGNAGP YRCIYYKPPKWSEQSDYLELLVK	MJ5 LAIR1
SEQ ID NO: 117	EDLPRPSISAEPGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRL ERESRSTYNEDVVSQVSPSESEARFRIDSVSEGNAGP YRCIYYKPPKWSEQSDYLELLVK	MMJ1 LAIR1
SEQ ID NO: 118	EDLPRPSISAEPGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRL ERESRSTYNEDVVSQVSPSESEARFRIDSVSEGNAGP YRCIYYKPPKWSEQSDYLELLVK	MMJ2 LAIR1
SEQ ID NO: 119	EDLPRPSISAEPGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRL ERESRSTYNEDVVSQVSPSESEARFRIDSVSEGNAGP YRCIYYKPPKWSEQSDYLELLVK	MMJ5 LAIR1
SEQ ID NO: 120	EDLPRPSISAEPGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRL ERESRSTYNEDVVSQVSPSESEARFRIDSVSEGNAGP YRCIYYKPPKWSEQSDYLELLVK	MMJ6 LAIR1

[0366]

SEQ ID NO: 121	EDLPRPSISAEPGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRL ERESRSTYNETEDVSQVSPSESEARFRIDSVSEGNAGP YRCIYYKPPKWSEQSDYLELLVK	MMJ7 LAIR1
SEQ ID NO: 122	EDLPRPSISAEPGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRL ERESRSTYNETEDVSQVSPSESEARFRIDSVSEGNAGP YRCIYYKPPKWSEQSDYLELLVK	MMJ8 LAIR1
SEQ ID NO: 123	EDLPRPSISAEPGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRL ERESRSTYNETEDVSQVSPSESEARFRIDSVSEGNAGP YRCIYYKPPKWSEQSDYLELLVK	MMJ10 LAIR1
SEQ ID NO: 124	EDLPRPSISAEPGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRL ERESRSTYNETEDVSQVSPSESEARFRIDSVSEGNAGP YRCIYYKPPKWSEQSDYLELLGK	MMJ16 LAIR1
SEQ ID NO: 125	EDLPRPSISAEPGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRL ERESRSTYNETEDVSQVSPSESEARFRIDSVSEGNAGP YRCIYYKPPKWSEQSDYLELLVK	MMJ23 LAIR1
SEQ ID NO: 126	EDLPRPSISAEPGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRL ERESRSTYNETEDVSQVSPSESEARFRIDSVSEGNAGP YRCIYYKPPKWSEQSDYLELLVK	MMJ25 LAIR1
SEQ ID NO: 127	EDLPRPSISAEPGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRL ERESRSTYNDTEDVSQASPSESEARFRIDSVSEGNAG PYRCVYYKPPKWSEQSDYLDLLVK	MGM1 LAIR1
SEQ ID NO: 128	DLPRPSISAEPGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRLE RESRSIYNDTEDVSQASPSESEARFRIDSVSEGNAGP YRCVYYKPPKWSEESDYLELLVK	MGM3 LAIR1
SEQ ID NO: 129	EDLPRPSISAEPGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRL ERESRSTYNDTEDVSQASPSESEARFRIDSVSEGNAG PYRCVYYKPPKWSEESDSLELLVK	MGM4 LAIR1
SEQ ID NO: 130	EDLPRPSISAEPGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRL ERESRSTYNDTEDVSQASPSESEARFRIDSVSEGNAG PYRCVYYKPPKWSEQSDYLELLVK	MGM5 LAIR1
SEQ ID NO: 131	EDLPRPSISAEPGTVIPLGSRVTFVCRGPVGVQTFRLE RESRSKYNETEDVSQASPSESEARFRIDSVSEGNAGP YRCIYYKPPKWSEHSDFLELLVK	MGB2 LAIR1
SEQ ID NO: 132	EDLPRPSISAEPGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRL ERESRSRYNETEDVSQTSPESEARFRIDSVSEGNAGP YRCLYYKTPKWSEQSDFLELLVK	MGB43 LAIR1
SEQ ID NO: 133	EDLPRPSISAEPGTVIPLGSHVTFVCRGPVGVQTFRL ERESRSRYTETEDVSQTSPESEARFRIDSVSEGNAGP YRCLYYKPPKWSEQSDFLELLVK	MGB47 LAIR1

序列表

- <110> 生物医学研究院
 <120> 在可变域和恒定域之间的肘区中具有功能域的抗体
 <130> IR01P005W01
 <160> 133
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> GCE536 VH aa
 <400> 1

Gln Leu Gln Leu Val Gln Ser Gly Thr Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ser Ser Gly Tyr Val Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

[0001]

Tyr Leu Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Ala Thr Ile Ser Pro Gly Asp Val Asn Thr Ser Tyr Glu Gln Arg Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Val Thr Thr Asp Ala Ser Thr Asn Thr Val Asp
 65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Pro Arg Ser Lys Pro Pro Tyr Leu Tyr Phe Ala Leu Asp
 100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Ala Val Thr Val Ser Ser
 115 120

- <210> 2
 <211> 107
 <212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> GCE536 VL aa

<400> 2

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Thr Ala Ile Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Leu Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Arg Gly Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

[0002] Pro Glu Asp Phe Val Leu Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Gly Ser Arg Val
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 3

<211> 330

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 3

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110
 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 [0003]
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 4
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 4

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

[0004] Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 5
<211> 130
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> C1 VH aa

<400> 5

Gln Val Gln Leu Ala Gln Tyr Gly Gly Gly Ala Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Val Ser Gly Phe Arg Phe Ser Leu Tyr
20 25 30

Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Ser Leu Ile Glu Asn His Gly Arg Lys Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Ile Thr Val Ser Arg Asp Asn Phe Lys Asn Val Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Met Tyr Arg Leu Ser Thr Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asn Asp Gly Leu Gly Arg Tyr Thr Asp Ala Gly Gly Thr His
100 105 110

[0005]

Arg Thr Ala Tyr Leu Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val
115 120 125

Ser Ser
130

<210> 6
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> C1 VL aa

<400> 6

Ser Tyr Glu Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ala Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asp Glu Leu Pro Arg Thr Asp Ile
20 25 30

Ser Trp Tyr Gln Gln Thr Ser Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Glu Gly Thr Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Val Ser Gly Ala Met Ala Thr Leu Met Ile Ser Glu Ala Gln Leu Glu
65 70 75 80

Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Phe Ser Ile Asp Thr Ser Gly Asn His
85 90 95

Gly Gly Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 7
<211> 106
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 7

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

[0006] Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 8
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> C1b VH aa

<400> 8

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Val
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Ser Phe Lys Asn Tyr
 20 25 30

Asp Met Ala Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Cys Gly Ile Asn Trp Asn Gly Ser Leu Arg Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Leu Ile Ser Arg Asp His Ala Lys Asp Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Arg Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95

[0007]

Ala Arg Asp Pro Gly Tyr Asn Thr Gly Arg Asp His Pro Tyr Asp Leu
 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 9

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> C1b VL aa

<400> 9

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Gly Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 10

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> FI174 VH aa

<400> 10

[0008] Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Arg Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Thr Ser Gly Gly Ile Ile Arg Lys Tyr
20 25 30

Ala Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Ala Ile Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Asn Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Ser Ala Thr Tyr Tyr Glu Ser Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 11
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> FI174 VL aa

<400> 11

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

Ala Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

Ser Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

[0009]

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Gly Asp Ser Arg
 85 90 95

Lys Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 12
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 12

Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile
 1 5 10 15

Pro Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val
 20 25 30

Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Asp Thr

<210> 14
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> PD-1片段aa

<400> 14

Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu
 1 5 10 15

Leu Val Val Thr Glu Gly Asp Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser
 20 25 30

Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser
 35 40 45

Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro
 50 55 60

Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp
 65 70 75 80

[0011]

Phe His Met Ser Val Val Arg Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr
 85 90 95

Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser
 100 105 110

Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val Thr
 115 120

<210> 15
 <211> 95
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> SLAM片段aa

<400> 15

Glu Gln Val Ser Thr Pro Glu Ile Lys Val Leu Asn Lys Thr Gln Glu
 1 5 10 15

Asn Gly Thr Cys Thr Leu Ile Leu Gly Cys Thr Val Glu Lys Gly Asp

	20	25	30
His Val	Ala Tyr Ser Trp Ser Glu Lys Ala Gly Thr	His Pro Leu Asn	
	35	40	45
Pro Ala Asn Ser Ser His Leu Leu Ser Leu Thr	Leu Gly Pro Gln His		
	50	55	60
Ala Asp Asn Ile Tyr Ile Cys Thr Val Ser Asn Pro Ile Ser Asn Asn			
65	70	75	80
Ser Gln Thr Phe Ser Pro Trp Pro Gly Cys Arg Thr Asp Pro Ser			
	85	90	95
<210>	16		
<211>	117		
<212>	PRT		
<213>	人工序列(Artificial Sequence)		
<220>			
<223>	T3-VHH aa		
[0012]	<400>	16	
Met Ala Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala			
1	5	10	15
Gly Gly Ser Leu Thr Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Ser Arg			
	20	25	30
Ser Tyr Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu			
	35	40	45
Phe Val Ala His Val Gly Gln Thr Ala Glu Phe Ala Gln Gly Arg Phe			
	50	55	60
Thr Ile Ser Arg Asp Phe Ala Lys Asn Thr Val Ser Leu Gln Met Asn			
65	70	75	80
Asp Leu Lys Ser Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Val Ala Ser Asn			
	85	90	95
Arg Gly Trp Ser Pro Ser Arg Val Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln			
	100	105	110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 17

<211> 248

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> TT39.7-scFv aa

<400> 17

Gln Ile Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Thr Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30

Arg Val Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
35 40 45

[0013] Trp Leu Ser Leu Ile Tyr Trp Asp Asp Glu Lys His Tyr Ser Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Ser Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Thr Leu Thr Asp Met Asp Pro Val Asp Thr Gly Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala His Arg Gly Val Asp Thr Ser Gly Trp Gly Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Ala Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro
130 135 140

Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile Ser Cys Ser
145 150 155 160

Gly Ala Gly Ser Asp Val Gly Gly His Asn Phe Val Ser Trp Tyr Gln
165 170 175

Gln Tyr Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Asp Val Lys Asn
180 185 190

Arg Pro Ser Gly Val Ser Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Tyr
195 200 205

Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Thr
210 215 220

Tyr Phe Cys Ser Ser Tyr Ser Ser Ser Ser Thr Leu Ile Ile Phe Gly
225 230 235 240

Gly Gly Thr Arg Leu Thr Val Leu
245

<210> 18

<211> 125

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> F4-VHH aa

[0014]

<400> 18

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Tyr Tyr
20 25 30

Tyr Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ala Val
35 40 45

Ser Cys Ile Ser Gly Ser Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Thr Ile Arg Ser Ser Ser Trp Gly Gly Cys Val His Tyr Gly Met
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 19

<211> 249

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> MPE8-scFv aa

<400> 19

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

[0015] Ser Ser Ile Ser Ala Ser Ser Ser Tyr Ser Asp Tyr Ala Asp Ser Ala
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Ser Leu Phe
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Phe Cys
 85 90 95

Ala Arg Ala Arg Ala Thr Gly Tyr Ser Ser Ile Thr Pro Tyr Phe Asp
 100 105 110

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
 115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Val Thr
 130 135 140

Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser
 145 150 155 160

Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp Val His Trp

<212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 钙调蛋白标签

<400> 22

Lys Arg Arg Trp Lys Lys Asn Phe Ile Ala Val Ser Ala Ala Asn Arg
 1 5 10 15

Phe Lys Lys Ile Ser Ser Ser Gly Ala Leu
 20 25

<210> 23
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> 聚谷氨酸标签

<400> 23

[0017] Glu Glu Glu Glu Glu Glu
 1 5

<210> 24
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> E标签

<400> 24

Gly Ala Pro Val Pro Tyr Pro Asp Pro Leu Glu Pro Arg
 1 5 10

<210> 25
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> FLAG标签

<400> 25

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 1 5

<210> 26
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> HA标签

<400> 26

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala
 1 5

<210> 27
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> His标签

<400> 27

His His His His His His
 1 5

[0018]

<210> 28
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> Myc标签

<400> 28

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
 1 5 10

<210> 29
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> NE标签

<400> 29

Thr Lys Glu Asn Pro Arg Ser Asn Gln Glu Glu Ser Tyr Asp Asp Asn
 1 5 10 15

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> Softag 3

<400> 33

Thr Gln Asp Pro Ser Arg Val Gly

1 5

<210> 34

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> Strep标签

<400> 34

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys

1 5

<210> 35

<211> 6

<212> PRT

[0020] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> TC标签

<400> 35

Cys Cys Pro Gly Cys Cys

1 5

<210> 36

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> V5标签

<400> 36

Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr

1 5 10

<210> 37

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> SnoopTag

<400> 41

Lys Leu Gly Asp Ile Glu Phe Ile Lys Val Asn Lys
 1 5 10

<210> 42

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> Ty1标签

<400> 42

Glu Val His Thr Asn Gln Asp Pro Leu Asp
 1 5 10

<210> 43

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0022] <220>

<223> 接头

<400> 43

Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5

<210> 44

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 接头

<400> 44

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10

<210> 45

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 接头

<400> 45

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 46

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 接头

<400> 46

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser
20

<210> 47

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 接头

<400> 47

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25

<210> 48

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 接头

<400> 48

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

[0023]

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25 30

<210> 49
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 接头

<400> 49

Phe Val Gly Pro Pro Ser Pro Phe Leu Thr Ser Leu His Leu Ser
1 5 10 15

<210> 50
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 接头

<400> 50

[0024]

Gly Ala Ala Ser Glu Ala Pro Gly Gln Gly Leu Ala Glu Pro Val
1 5 10 15

<210> 51
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 接头

<400> 51

Gln Gly Phe Thr Ser Val Met Ala Pro Phe Leu Pro Leu Leu Thr
1 5 10 15

<210> 52
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 接头

<400> 52

Gly Glu Tyr Thr Gly Gly Ser Leu Cys Ala Thr Leu Met Ser Met
1 5 10 15

<210> 53
<211> 558
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> C2重链aa

<400> 53

Gln Val Gln Leu Ala Gln Tyr Gly Gly Gly Ala Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Val Ser Gly Phe Arg Phe Ser Leu Tyr
20 25 30

Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

[0025] Ser Leu Ile Glu Asn His Gly Arg Lys Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Ile Thr Val Ser Arg Asp Asn Phe Lys Asn Val Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Met Tyr Arg Leu Ser Thr Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asn Asp Gly Leu Gly Arg Tyr Thr Asp Ala Gly Gly Thr His
100 105 110

Arg Thr Ala Tyr Leu Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val
115 120 125

Ser Ser Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr
130 135 140

Val Ile Pro Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val
145 150 155 160

Gly Val Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Arg Asn Tyr Leu Tyr Ser
165 170 175

Asp Thr Glu Asp Val Ser Gln Thr Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg
 180 185 190

Phe Arg Ile Asp Ser Val Asn Ala Gly Asn Ala Gly Leu Phe Arg Cys
 195 200 205

Ile Tyr Tyr Lys Ser Arg Lys Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu
 210 215 220

Leu Val Val Lys Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
 225 230 235 240

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
 245 250 255

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
 260 265 270

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
 275 280 285

[0026]

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
 290 295 300

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
 305 310 315 320

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
 325 330 335

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 340 345 350

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 355 360 365

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 370 375 380

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 385 390 395 400

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
405 410 415

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
420 425 430

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
435 440 445

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
450 455 460

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
465 470 475 480

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
485 490 495

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
500 505 510

[0027] Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
515 520 525

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
530 535 540

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
545 550 555

<210> 54

<211> 215

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> C2/C3轻链aa

<400> 54

Ser Tyr Glu Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ala Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asp Glu Leu Pro Arg Thr Asp Ile
20 25 30

Ser Trp Tyr Gln Gln Thr Ser Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Glu Gly Thr Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Val Ser Gly Ala Met Ala Thr Leu Met Ile Ser Glu Ala Gln Leu Glu
65 70 75 80

Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Phe Ser Ile Asp Thr Ser Gly Asn His
85 90 95

Gly Gly Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
100 105 110

Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
115 120 125

Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
130 135 140

[0028]

Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
145 150 155 160

Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
165 170 175

Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
180 185 190

Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
195 200 205

Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 55

<211> 558

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> C3重链aa

<400> 55

Gln Val Gln Leu Ala Gln Tyr Gly Gly Gly Ala Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Val Ser Gly Phe Arg Phe Ser Leu Tyr
20 25 30

Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Ser Leu Ile Glu Asn His Gly Arg Lys Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Ile Thr Val Ser Arg Asp Asn Phe Lys Asn Val Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Met Tyr Arg Leu Ser Thr Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asn Asp Gly Leu Gly Arg Tyr Thr Asp Ala Gly Gly Thr His
100 105 110

[0029]

Arg Thr Ala Tyr Leu Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val
115 120 125

Ser Ser Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr
130 135 140

Val Ile Pro Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val
145 150 155 160

Gly Val Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn
165 170 175

Asp Thr Glu Asp Val Ser Gln Ala Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg
180 185 190

Phe Arg Ile Asp Ser Val Ser Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys
195 200 205

Ile Tyr Tyr Lys Pro Pro Lys Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu
210 215 220

Leu Leu Val Lys Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
 225 230 235 240
 Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
 245 250 255
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
 260 265 270
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
 275 280 285
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
 290 295 300
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
 305 310 315 320
 Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
 325 330 335
 [0030]
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 340 345 350
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 355 360 365
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 370 375 380
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 385 390 395 400
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 405 410 415
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 420 425 430
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 435 440 445

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 450 455 460
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 465 470 475 480
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 485 490 495
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 500 505 510
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 515 520 525
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 530 535 540
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 545 550 555

[0031]

<210> 56
 <211> 552
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> C4重链aa
 <400> 56
 Gln Leu Gln Leu Val Gln Ser Gly Thr Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ser Ser Gly Tyr Val Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Leu Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Ala Thr Ile Ser Pro Gly Asp Val Asn Thr Ser Tyr Glu Gln Arg Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Val Thr Thr Asp Ala Ser Thr Asn Thr Val Asp
 65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Pro Arg Ser Lys Pro Pro Tyr Leu Tyr Phe Ala Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Ala Val Thr Val Ser Ser Glu Asp Leu Pro
115 120 125

Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile Pro Leu Gly Ser
130 135 140

His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val Gln Thr Phe Arg
145 150 155 160

Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Asp Thr Glu Asp Val Ser
165 170 175

Gln Ala Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg Ile Asp Ser Val
180 185 190

[0032]

Ser Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr Tyr Lys Pro Pro
195 200 205

Lys Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu Val Lys Ala Ser
210 215 220

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
225 230 235 240

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
245 250 255

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
260 265 270

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
275 280 285

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
290 295 300

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
 305 310 315 320
 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 325 330 335
 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 340 345 350
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 355 360 365
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 370 375 380
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 385 390 395 400
 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 405 410 415
 [0033] Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 420 425 430
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 435 440 445
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
 450 455 460
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 465 470 475 480
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 485 490 495
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 500 505 510
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 515 520 525
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

	530	535	540
	Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
	545	550	
<210>	57		
<211>	214		
<212>	PRT		
<213>	人工序列(Artificial Sequence)		
<220>			
<223>	C4/C5/C6轻链aa		
<400>	57		
	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
	1	5	10 15
	Glu Thr Ala Ile Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser		
		20	25 30
	Leu Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu		
		35	40 45
[0034]	Ile Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Arg Gly Arg Phe Ser		
		50	55 60
	Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu		
		65	70 75 80
	Pro Glu Asp Phe Val Leu Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Gly Ser Arg Val		
		85	90 95
	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala		
		100	105 110
	Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly		
		115	120 125
	Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala		
		130	135 140
	Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln		
		145	150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 58

<211> 574

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> C5重链aa

<400> 58

[0035] Gln Leu Gln Leu Val Gln Ser Gly Thr Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ser Ser Gly Tyr Val Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Leu Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Ala Thr Ile Ser Pro Gly Asp Val Asn Thr Ser Tyr Glu Gln Arg Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Val Thr Thr Asp Ala Ser Thr Asn Thr Val Asp
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Pro Arg Ser Lys Pro Pro Tyr Leu Tyr Phe Ala Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Ala Val Thr Val Ser Ser Asp Ser Pro Asp
115 120 125

Arg Pro Trp Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr
 130 135 140

Glu Gly Asp Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu
 145 150 155 160

Ser Phe Val Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp
 165 170 175

Lys Leu Ala Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys
 180 185 190

Arg Phe Arg Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser
 195 200 205

Val Val Arg Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala
 210 215 220

Ile Ser Leu Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu
 225 230 235 240

[0036]

Leu Arg Val Thr Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
 245 250 255

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
 260 265 270

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
 275 280 285

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
 290 295 300

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
 305 310 315 320

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
 325 330 335

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
 340 345 350

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 355 360 365

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 370 375 380

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 385 390 395 400

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 405 410 415

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 420 425 430

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 435 440 445

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 450 455 460

[0037] Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 465 470 475 480

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 485 490 495

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 500 505 510

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 515 520 525

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 530 535 540

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 545 550 555 560

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 565 570

<210> 59

<211> 604
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> C5b重链aa

<400> 59

Gln Leu Gln Leu Val Gln Ser Gly Thr Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ser Ser Gly Tyr Val Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Tyr Leu Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Ala Thr Ile Ser Pro Gly Asp Val Asn Thr Ser Tyr Glu Gln Arg Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Val Thr Thr Asp Ala Ser Thr Asn Thr Val Asp
 65 70 75 80

[0038]

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Pro Arg Ser Lys Pro Pro Tyr Leu Tyr Phe Ala Leu Asp
 100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Ala Val Thr Val Ser Ser Phe Val Gly Pro
 115 120 125

Pro Ser Pro Phe Leu Thr Ser Leu His Leu Ser Asp Ser Pro Asp Arg
 130 135 140

Pro Trp Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu
 145 150 155 160

Gly Asp Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser
 165 170 175

Phe Val Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys
 180 185 190

Leu Ala Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg
 195 200 205

Phe Arg Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val
 210 215 220

Val Arg Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile
 225 230 235 240

Ser Leu Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu
 245 250 255

Arg Val Thr Gly Ala Ala Ser Glu Ala Pro Gly Gln Gly Leu Ala Glu
 260 265 270

Pro Val Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
 275 280 285

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
 290 295 300

[0039] Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
 305 310 315 320

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
 325 330 335

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
 340 345 350

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
 355 360 365

Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
 370 375 380

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 385 390 395 400

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 405 410 415

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe

	420	425	430	
	Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro 435 440 445			
	Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr 450 455 460			
	Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val 465 470 475 480			
	Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala 485 490 495			
	Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg 500 505 510			
	Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly 515 520 525			
[0040]	Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro 530 535 540			
	Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser 545 550 555 560			
	Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln 565 570 575			
	Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His 580 585 590			
	Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys 595 600			
	<210> 60			
	<211> 604			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
	<220>			
	<223> C6重链aa			
	<400> 60			

Gln Leu Gln Leu Val Gln Ser Gly Thr Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ser Ser Gly Tyr Val Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Leu Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Ala Thr Ile Ser Pro Gly Asp Val Asn Thr Ser Tyr Glu Gln Arg Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Val Thr Thr Asp Ala Ser Thr Asn Thr Val Asp
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Pro Arg Ser Lys Pro Pro Tyr Leu Tyr Phe Ala Leu Asp
 100 105 110
 [0041] Val Trp Gly Gln Gly Thr Ala Val Thr Val Ser Ser Phe Val Gly Pro
 115 120 125
 Pro Ser Pro Phe Leu Thr Ser Leu His Leu Ser Asp Ser Pro Asp Arg
 130 135 140
 Pro Trp Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu
 145 150 155 160
 Gly Asp Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser
 165 170 175
 Phe Val Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys
 180 185 190
 Leu Ala Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg
 195 200 205
 Phe Arg Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val
 210 215 220
 Val Arg Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile

	225		230		235		240									
	Ser	Leu	Ala	Pro	Lys	Ala	Gln	Ile	Lys	Glu	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Leu
					245					250					255	
	Arg	Val	Thr	Gly	Ala	Ala	Ser	Glu	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Ala	Glu
				260					265					270		
	Pro	Val	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser
			275					280					285			
	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys
		290					295					300				
	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu
	305					310					315					320
	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu
					325					330						335
[0042]	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr
				340					345						350	
	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val
			355					360					365			
	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro
		370					375					380				
	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe
	385					390					395					400
	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val
					405					410					415	
	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe
				420					425					430		
	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro
			435					440					445			
	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr
		450					455						460			

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
465 470 475 480

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
485 490 495

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
500 505 510

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
515 520 525

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
530 535 540

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
545 550 555 560

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
565 570 575

[0043]

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
580 585 590

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
595 600

<210> 61
<211> 579
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> C6b重链aa

<400> 61

Gln Leu Gln Leu Val Gln Ser Gly Thr Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ser Ser Gly Tyr Val Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Leu Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

	35	40	45	
	Ala Thr Ile Ser Pro Gly	Asp Val Asn Thr Ser	Tyr Glu Gln Arg Phe	50 55 60
	Gln Gly Arg Val Thr Val Thr Thr Asp Ala Ser Thr Asn Thr Val Asp			65 70 75 80
	Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			85 90 95
	Ala Arg Gly Pro Arg Ser Lys Pro Pro Tyr Leu Tyr Phe Ala Leu Asp			100 105 110
	Val Trp Gly Gln Gly Thr Ala Val Thr Val Ser Ser Gln Gly Phe Thr			115 120 125
	Ser Val Met Ala Pro Phe Leu Pro Leu Leu Thr Glu Gln Val Ser Thr			130 135 140
[0044]	Pro Glu Ile Lys Val Leu Asn Lys Thr Gln Glu Asn Gly Thr Cys Thr			145 150 155 160
	Leu Ile Leu Gly Cys Thr Val Glu Lys Gly Asp His Val Ala Tyr Ser			165 170 175
	Trp Ser Glu Lys Ala Gly Thr His Pro Leu Asn Pro Ala Asn Ser Ser			180 185 190
	His Leu Leu Ser Leu Thr Leu Gly Pro Gln His Ala Asp Asn Ile Tyr			195 200 205
	Ile Cys Thr Val Ser Asn Pro Ile Ser Asn Asn Ser Gln Thr Phe Ser			210 215 220
	Pro Trp Pro Gly Cys Arg Thr Asp Pro Ser Gly Glu Tyr Thr Gly Gly			225 230 235 240
	Ser Leu Cys Ala Thr Leu Met Ser Met Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser			245 250 255
	Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala			260 265 270

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
275 280 285

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
290 295 300

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
305 310 315 320

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
325 330 335

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
340 345 350

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
355 360 365

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
370 375 380

[0045]

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
385 390 395 400

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
405 410 415

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
420 425 430

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
435 440 445

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
450 455 460

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
465 470 475 480

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
485 490 495

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
500 505 510

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
515 520 525

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
530 535 540

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
545 550 555 560

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
565 570 575

Pro Gly Lys

<210> 62

<211> 573

<212> PRT

[0046] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> C7重链aa

<400> 62

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Val
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Ser Phe Lys Asn Tyr
20 25 30

Asp Met Ala Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Cys Gly Ile Asn Trp Asn Gly Ser Leu Arg Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Leu Ile Ser Arg Asp His Ala Lys Asp Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Arg Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Pro Gly Tyr Asn Thr Gly Arg Asp His Pro Tyr Asp Leu
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Asp Ser Pro Asp Arg
115 120 125

Pro Trp Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu
130 135 140

Gly Asp Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser
145 150 155 160

Phe Val Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys
165 170 175

Leu Ala Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg
180 185 190

Phe Arg Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val
195 200 205

[0047]

Val Arg Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile
210 215 220

Ser Leu Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu
225 230 235 240

Arg Val Thr Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
245 250 255

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
260 265 270

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
275 280 285

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
290 295 300

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
305 310 315 320

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
 325 330 335

Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
 340 345 350

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
 355 360 365

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 370 375 380

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
 385 390 395 400

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 405 410 415

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
 420 425 430

[0048]

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 435 440 445

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 450 455 460

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
 465 470 475 480

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
 485 490 495

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 500 505 510

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
 515 520 525

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 530 535 540

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
545 550 555 560

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
565 570

<210> 63
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> C7/C8/C9轻链aa

<400> 63

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp
20 25 30

[0049] Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Gly Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 64

<211> 548

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> C8重链aa

<400> 64

[0050] Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Val
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Ser Phe Lys Asn Tyr
20 25 30

Asp Met Ala Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Cys Gly Ile Asn Trp Asn Gly Ser Leu Arg Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Leu Ile Ser Arg Asp His Ala Lys Asp Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Arg Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Pro Gly Tyr Asn Thr Gly Arg Asp His Pro Tyr Asp Leu
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Glu Gln Val Ser Thr
115 120 125

Pro Glu Ile Lys Val Leu Asn Lys Thr Gln Glu Asn Gly Thr Cys Thr
 130 135 140

Leu Ile Leu Gly Cys Thr Val Glu Lys Gly Asp His Val Ala Tyr Ser
 145 150 155 160

Trp Ser Glu Lys Ala Gly Thr His Pro Leu Asn Pro Ala Asn Ser Ser
 165 170 175

His Leu Leu Ser Leu Thr Leu Gly Pro Gln His Ala Asp Asn Ile Tyr
 180 185 190

Ile Cys Thr Val Ser Asn Pro Ile Ser Asn Asn Ser Gln Thr Phe Ser
 195 200 205

Pro Trp Pro Gly Cys Arg Thr Asp Pro Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 210 215 220

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 225 230 235 240

[0051]

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 245 250 255

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 260 265 270

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 275 280 285

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 290 295 300

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
 305 310 315 320

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
 325 330 335

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 340 345 350

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
355 360 365

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
370 375 380

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
385 390 395 400

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
405 410 415

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
420 425 430

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
435 440 445

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
450 455 460

[0052]

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
465 470 475 480

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
485 490 495

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
500 505 510

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
515 520 525

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
530 535 540

Ser Pro Gly Lys
545

<210> 65
<211> 483
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> C9重链aa

<400> 65

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Val
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Ser Phe Lys Asn Tyr
20 25 30

Asp Met Ala Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Cys Gly Ile Asn Trp Asn Gly Ser Leu Arg Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Leu Ile Ser Arg Asp His Ala Lys Asp Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Arg Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

[0053]

Ala Arg Asp Pro Gly Tyr Asn Thr Gly Arg Asp His Pro Tyr Asp Leu
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ser Ala Trp Ser His
115 120 125

Pro Gln Phe Glu Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser
130 135 140

Ala Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
145 150 155 160

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
165 170 175

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
180 185 190

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
195 200 205

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 210 215 220

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 225 230 235 240

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
 245 250 255

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 260 265 270

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 275 280 285

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 290 295 300

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 305 310 315 320

[0054]

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 325 330 335

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 340 345 350

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 355 360 365

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 370 375 380

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 385 390 395 400

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 405 410 415

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 420 425 430

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 435 440 445

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 450 455 460

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 465 470 475 480

Pro Gly Lys

<210> 66
 <211> 567
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> C10重链aa

<400> 66

[0055] Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Arg Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Thr Ser Gly Gly Ile Ile Arg Lys Tyr
 20 25 30

Ala Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Gly Ile Ile Ala Ile Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Asn Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Gly Ser Ala Thr Tyr Tyr Glu Ser Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Met Ala Gln Val Gln Leu Val Glu
 115 120 125

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Thr Leu Ser Cys
 130 135 140

Ala Ala Ser Gly Ser Thr Ser Arg Ser Tyr Ala Leu Gly Trp Phe Arg
 145 150 155 160

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala His Val Gly Gln Thr
 165 170 175

Ala Glu Phe Ala Gln Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Phe Ala Lys
 180 185 190

Asn Thr Val Ser Leu Gln Met Asn Asp Leu Lys Ser Asp Asp Thr Ala
 195 200 205

Ile Tyr Tyr Cys Val Ala Ser Asn Arg Gly Trp Ser Pro Ser Arg Val
 210 215 220

Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
 225 230 235 240

[0056]

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
 245 250 255

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
 260 265 270

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
 275 280 285

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
 290 295 300

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
 305 310 315 320

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu
 325 330 335

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 340 345 350

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 355 360 365

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 370 375 380

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 385 390 395 400

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 405 410 415

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 420 425 430

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 435 440 445

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 450 455 460

[0057] Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
 465 470 475 480

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 485 490 495

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 500 505 510

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 515 520 525

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 530 535 540

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 545 550 555 560

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 565

<210> 67

<211> 215
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> C10/C11/C12/C13轻链aa

<400> 67

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

Ala Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

Ser Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80

[0058]

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Gly Asp Ser Arg
 85 90 95

Lys Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
 100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
 115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
 130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
 145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
 165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
 180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 68
 <211> 698
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> C11重链aa

<400> 68

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Arg Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Thr Ser Gly Gly Ile Ile Arg Lys Tyr
 20 25 30

[0059] Ala Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Gly Ile Ile Ala Ile Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Asn Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Gly Ser Ala Thr Tyr Tyr Glu Ser Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gln Ile Thr Leu Lys Glu Ser Gly
 115 120 125

Pro Thr Leu Val Lys Pro Thr Gln Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe
 130 135 140

Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Arg Val Gly Val Gly Trp Ile Arg
 145 150 155 160

Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu Ser Leu Ile Tyr Trp Asp
 165 170 175

Asp Glu Lys His Tyr Ser Pro Ser Leu Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser
 180 185 190

Lys Asp Ser Ser Lys Asn Gln Val Val Leu Thr Leu Thr Asp Met Asp
 195 200 205

Pro Val Asp Thr Gly Thr Tyr Tyr Cys Ala His Arg Gly Val Asp Thr
 210 215 220

Ser Gly Trp Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Ala Leu Val Thr Val
 225 230 235 240

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 245 250 255

Ser Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly
 260 265 270

[0060]

Gln Ser Ile Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ala Gly Ser Asp Val Gly Gly
 275 280 285

His Asn Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln Tyr Pro Gly Lys Ala Pro Lys
 290 295 300

Leu Met Ile Tyr Asp Val Lys Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Tyr Arg
 305 310 315 320

Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Tyr Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly
 325 330 335

Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Thr Tyr Phe Cys Ser Ser Tyr Ser Ser
 340 345 350

Ser Ser Thr Leu Ile Ile Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Thr Val Leu
 355 360 365

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 370 375 380

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 385 390 395 400
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 405 410 415
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 420 425 430
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 435 440 445
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 450 455 460
 Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 465 470 475 480
 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 485 490 495
 [0061] Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 500 505 510
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 515 520 525
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 530 535 540
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 545 550 555 560
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 565 570 575
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 580 585 590
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 595 600 605
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

	610		615		620														
	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn			
	625					630					635					640			
	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe			
				645						650					655				
	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn			
				660					665					670					
	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr			
			675					680					685						
	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys									
		690					695												
	<210>	69																	
	<211>	575																	
	<212>	PRT																	
	<213>	人工序列(Artificial Sequence)																	
[0062]	<220>																		
	<223>	C12重链aa																	
	<400>	69																	
	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Arg	Lys	Pro	Gly	Ser			
	1			5						10				15					
	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Thr	Ser	Gly	Gly	Ile	Ile	Arg	Lys	Tyr			
			20						25					30					
	Ala	Leu	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met			
			35					40					45						
	Gly	Gly	Ile	Ile	Ala	Ile	Phe	Gly	Thr	Thr	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe			
		50					55					60							
	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Asn	Ala	Asp	Glu	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr			
	65					70					75					80			
	Leu	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Ile	Tyr	Tyr	Cys			
				85						90					95				

Ala Gly Ser Ala Thr Tyr Tyr Glu Ser Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
130 135 140

Ser Gly Phe Thr Leu Asp Tyr Tyr Tyr Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala
145 150 155 160

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ala Val Ser Cys Ile Ser Gly Ser Ser Gly
165 170 175

Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
180 185 190

Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro
195 200 205

[0063] Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Ile Arg Ser Ser Ser Trp
210 215 220

Gly Gly Cys Val His Tyr Gly Met Asp Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Gln
225 230 235 240

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
245 250 255

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
260 265 270

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
275 280 285

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
290 295 300

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
305 310 315 320

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn

	325	330	335
	Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His 340	345	350
	Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val 355	360	365
	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr 370	375	380
	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu 385	390	395
	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys 405	410	415
	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser 420	425	430
[0064]	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys 435	440	445
	Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile 450	455	460
	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro 465	470	475
	Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu 485	490	495
	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn 500	505	510
	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser 515	520	525
	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg 530	535	540
	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu 545	550	555
			560

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
565 570 575

<210> 70
<211> 699
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> C13重链aa

<400> 70

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Arg Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Thr Ser Gly Gly Ile Ile Arg Lys Tyr
20 25 30

Ala Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

[0065] Gly Gly Ile Ile Ala Ile Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Asn Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Ser Ala Thr Tyr Tyr Glu Ser Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
130 135 140

Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala
145 150 155 160

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Ala Ser Ser Ser

	165	170	175
	Tyr Ser Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg 180 185 190		
	Asp Asn Ala Lys Thr Ser Leu Phe Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala 195 200 205		
	Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Arg Ala Arg Ala Thr Gly Tyr 210 215 220		
	Ser Ser Ile Thr Pro Tyr Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val 225 230 235 240		
	Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly 245 250 255		
	Gly Gly Ser Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala 260 265 270		
[0066]	Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile 275 280 285		
	Gly Ala Gly Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala 290 295 300		
	Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Asn Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro 305 310 315 320		
	Asp Arg Phe Ser Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile 325 330 335		
	Thr Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr 340 345 350		
	Asp Arg Asn Leu Ser Gly Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val 355 360 365		
	Leu Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser 370 375 380		
	Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp 385 390 395 400		

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
405 410 415

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
420 425 430

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
435 440 445

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
450 455 460

Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
465 470 475 480

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
485 490 495

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
500 505 510

[0067]

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
515 520 525

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
530 535 540

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
545 550 555 560

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
565 570 575

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
580 585 590

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
595 600 605

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
610 615 620

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
625 630 635 640

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
645 650 655

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
660 665 670

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
675 680 685

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
690 695

<210> 71
<211> 251
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> MGDUCA VH aa

[0068] <400> 71

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ala Ser Pro Leu Lys Ser Gln Arg Asp Thr Glu Asp Leu Pro
100 105 110

Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile Pro Leu Gly Ser
115 120 125

His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val Gln Thr Phe Arg
130 135 140

Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Asp Thr Glu Asp Val Ser
145 150 155 160

Gln Ala Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg Ile Asp Ser Val
165 170 175

Ser Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr Tyr Lys Pro Pro
180 185 190

Lys Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu Val Lys Gly Glu
195 200 205

Asp Val Thr Trp Ala Leu Pro Gln Ser Gln Leu Asp Pro Arg Ala Cys
210 215 220

[0069]

Pro Gln Gly Glu Leu Pro Ile Ser Thr Asp Ile Tyr Tyr Met Asp Val
225 230 235 240

Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 72
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> MGDUCA VL aa

<400> 72

Ala Ile Arg Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Phe Ser Ala Ser Thr Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

	35	40	45	
	Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
	50	55	60	
	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Cys Leu Gln Ser			
	65	70	75	80
	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Pro			
		85	90	95
	Asp Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys			
		100	105	
	<210> 73			
	<211> 119			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
	<220>			
	<223> TT107 VH aa			
[0070]	<400> 73			
	Gln Val Gln Leu Ile Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly			
	1	5	10	15
	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr			
		20	25	30
	Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile			
		35	40	45
	Ser Val Ile Ser Ala Thr Thr Gly Tyr Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val			
		50	55	60
	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Val Phe			
	65	70	75	80
	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Asp Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys			
		85	90	95
	Ala Arg Glu Val Leu Gly Thr Ala Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly			
		100	105	110

Thr Leu Val Thr Ile Ser Ser
115

<210> 74
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> TT107 VL aa

<400> 74

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Asn
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Val Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

[0071]

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ala Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Ser Ser Pro
85 90 95

Arg Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Phe Lys
100 105

<210> 75
<211> 221
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> MGJ1 VH

<400> 75

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Asn Asp Phe

	20	25	30
	Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val 35 40 45		
	Ala Gly Ile Lys Trp Arg Gly Gly Gly Val Ala Leu Val Pro Ser Val 50 55 60		
	Thr Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gly Asp Asn Asp Lys Asn Ser Leu Tyr 65 70 75 80		
	Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 85 90 95		
	Ala Arg Asp Ser Gly Phe Arg Gly Gly Arg Gly His Ala Phe Asp Leu 100 105 110		
	Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Ile Ser Ala Glu Asp Leu Pro Arg 115 120 125		
[0072]	Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile Pro Leu Gly Ser His 130 135 140		
	Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val His Thr Phe Arg Leu 145 150 155 160		
	Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Glu Thr Glu Asp Val Ser Gln 165 170 175		
	Ala Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg Ile Asp Ser Val Ser 180 185 190		
	Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr Tyr Lys Pro Pro Lys 195 200 205		
	Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu Val Lys 210 215 220		
	<210> 76		
	<211> 221		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
	<220>		

<223> MGJ2 VH
 <400> 76
 Glu Val Gln Val Val Glu Ser Gly Gly Arg Val Ala Arg Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe His Leu Asp Asp Tyr
 20 25 30
 Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Gly Ile Asn Trp Asn Gly Gly Arg Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Phe Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Glu Met Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 [0073] Ala Arg Asp Pro Gly Tyr Ser Ser Gly Arg Arg Asn Ala Leu Asp Ile
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Leu Glu Asp Leu Pro Arg
 115 120 125
 Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile Pro Leu Gly Ser His
 130 135 140
 Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val Gln Thr Phe Arg Leu
 145 150 155 160
 Glu Arg Glu Ser Arg Phe Thr Tyr Asn Asp Thr Glu Asp Val Ser Gln
 165 170 175
 Ala Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg Ile Asp Ser Val Ser
 180 185 190
 Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr Tyr Lys Pro Pro Lys
 195 200 205
 Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu Val Lys

210	215	220
<210> 77		
<211> 220		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> MGJ3 VH		
<400> 77		
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Gly		
1	5	10 15
Phe Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Glu Asn Tyr		
	20	25 30
Ala Val Ala Trp Val Arg Gln Val Ala Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu		
	35	40 45
Cys Val Ile Asn Trp Asp Ala Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val		
	50	55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ile Val Lys Asn Ser Leu Val		
65	70	75 80
Leu Glu Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys		
	85	90 95
Ala Arg Asp Pro Val Tyr Gly Ser Asp Arg Gly Asp Val Phe Asp Met		
	100	105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Asp Leu Pro Arg Pro		
	115	120 125
Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile Pro Leu Gly Ser His Val		
	130	135 140
Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val Gln Thr Phe Arg Leu Glu		
145	150	155 160
Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Glu Thr Glu Asp Val Ser Gln Ala		
	165	170 175

[0074]

Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg Ile Asp Ser Val Ser Glu
180 185 190

Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr Tyr Lys Pro Pro Lys Trp
195 200 205

Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu Val Lys
210 215 220

<210> 78

<211> 221

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> MGJ5 VH

<400> 78

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Val
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Ser Phe Lys Asn Tyr
20 25 30

[0075]

Asp Met Ala Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Cys Gly Ile Asn Trp Asn Gly Ser Leu Arg Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Leu Ile Ser Arg Asp His Ala Lys Asp Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Arg Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Pro Gly Tyr Asn Thr Gly Arg Asp His Pro Tyr Asp Leu
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Glu Asp Leu Pro Arg
115 120 125

Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile Pro Leu Gly Ser His
130 135 140

Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val Gln Thr Phe Arg Leu
145 150 155 160

Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Glu Thr Glu Asp Val Ser Gln
165 170 175

Val Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg Ile Asp Ser Val Ser
180 185 190

Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr Tyr Lys Pro Pro Lys
195 200 205

Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu Val Lys
210 215 220

<210> 79

<211> 221

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> MMJ1 VH

[0076]

<400> 79

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Arg Val Val Arg Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Val Ser Ile Asn Asp Tyr
20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Pro Leu Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Gly Ile Asp Arg Lys Gly Val Gly Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp His Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Thr Gly Asp Asp Thr Ala Phe Tyr Tyr Cys
85 90 95

Val Arg Asp Pro Gly Glu Ser Ser Gly Arg Gly His Ile Phe Asn Ile
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Leu Glu Asp Leu Pro Arg
 115 120 125
 Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile Pro Leu Gly Ser His
 130 135 140
 Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val Gln Thr Phe Arg Leu
 145 150 155 160
 Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Glu Thr Glu Asp Val Ser Gln
 165 170 175
 Val Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg Ile Asp Ser Val Ser
 180 185 190
 Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr Tyr Lys Pro Pro Lys
 195 200 205
 Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu Val Lys
 210 215 220

[0077]

<210> 80
 <211> 221
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> MMJ2 VH
 <400> 80
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Glu
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Val Asn Ile Asn Asp Tyr
 20 25 30
 Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Phe Leu Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Ile Asp Arg Lys Gly Val Gly Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp His Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys	85	90	95
Val Arg Asp Pro Gly Asp Thr Ser Gly Arg Gly His Ile Phe Asn Val	100	105	110
Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Leu Glu Asp Leu Pro Arg	115	120	125
Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile Pro Leu Gly Ser His	130	135	140
Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val Gln Thr Phe Arg Leu	145	150	160
Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Glu Thr Glu Asp Val Ser Gln	165	170	175
[0078] Val Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg Ile Asp Ser Val Ser	180	185	190
Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr Tyr Lys Pro Pro Lys	195	200	205
Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu Val Lys	210	215	220
<210> 81			
<211> 221			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<223> MMJ5 VH			
<400> 81			
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Glu	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Val Asn Ile Asn Asp Tyr	20	25	30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Pro Leu Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Gly Ile Asp Arg Lys Gly Val Gly Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Gly Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Val Arg Asp Pro Gly Asp Arg Ser Gly Arg Gly His Ile Phe Asn Ile
 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Leu Glu Asp Leu Pro Arg
 115 120 125

Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile Pro Leu Gly Ser His
 130 135 140

[0079] Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val Gln Thr Phe Arg Leu
 145 150 155 160

Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Glu Thr Glu Asp Val Ser Gln
 165 170 175

Val Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg Ile Asp Ser Val Ser
 180 185 190

Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr Tyr Lys Pro Pro Lys
 195 200 205

Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu Val Lys
 210 215 220

<210> 82
 <211> 221
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> MMJ6 VH

<400> 82

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Glu
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Val Ser Ile Asn Asp Tyr
 20 25 30
 Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Pro Leu Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Ile Asp Arg Lys Gly Val Gly Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp His Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Arg Asp Pro Gly Asp Ser Ser Gly Arg Gly Gln Ile Phe Asn Ile
 100 105 110
 [0080]
 Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Leu Glu Asp Leu Pro Arg
 115 120 125
 Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile Pro Leu Gly Ser His
 130 135 140
 Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val Gln Thr Phe Arg Leu
 145 150 155 160
 Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Glu Thr Glu Asp Val Ser Gln
 165 170 175
 Val Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg Ile Asp Ser Val Ser
 180 185 190
 Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr Tyr Lys Pro Pro Lys
 195 200 205
 Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu Val Lys
 210 215 220

<210> 83
 <211> 221
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> MMJ7 VH

<400> 83

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Glu
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Val Ser Ile Asn Asp Tyr
 20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Arg Leu Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Gly Ile Asp Arg Lys Gly Val Gly Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

[0081] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp His Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Val Arg Asp Pro Gly Glu Ser Ser Gly Arg Gly His Ile Phe Asn Ile
 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Ile Ser Leu Glu Asp Leu Pro Arg
 115 120 125

Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile Pro Leu Gly Ser His
 130 135 140

Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val Gln Thr Phe Arg Leu
 145 150 155 160

Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Glu Thr Glu Asp Val Ser Gln
 165 170 175

Val Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg Ile Asp Ser Val Ser
 180 185 190

Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr Tyr Lys Pro Pro Lys
 195 200 205

Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu Val Lys
 210 215 220

<210> 84
 <211> 221
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> MMJ8 VH

<400> 84

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Glu
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Val Asn Ile Asn Asp Tyr
 20 25 30

[0082] Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Phe Leu Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Gly Ile Asp Arg Lys Gly Val Gly Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp His Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Val Arg Asp Pro Gly Asp Thr Ser Gly Arg Gly His Ile Phe Asn Val
 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Leu Glu Asp Leu Pro Arg
 115 120 125

Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile Pro Leu Gly Ser His
 130 135 140

Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val Gln Thr Phe Arg Leu
 145 150 155 160

Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Glu Thr Glu Asp Val Ser Gln
165 170 175

Val Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg Ile Asp Ser Val Ser
180 185 190

Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr Tyr Lys Pro Pro Lys
195 200 205

Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu Val Lys
210 215 220

<210> 85

<211> 221

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> MMJ10 VH

<400> 85

[0083] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Val Asn Ile Asn Asp Tyr
20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Phe Leu Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Gly Ile Asp Arg Lys Gly Val Gly Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp His Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Val Arg Asp Pro Gly Asp Thr Ser Gly Arg Gly His Ile Phe Asn Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Leu Glu Asp Leu Pro Arg

115	120	125
Pro Ser Ile Ser Ala Glu	Pro Gly Thr Val Ile	Pro Leu Gly Ser His
130	135	140
Val Thr Phe Val Cys Arg	Gly Pro Val Gly Val	Gln Thr Phe Arg Leu
145	150	155
Glu Arg Glu Ser Arg Ser	Thr Tyr Asn Glu Thr	Glu Asp Val Ser Gln
165	170	175
Val Ser Pro Ser Glu Ser	Glu Ala Arg Phe Arg	Ile Asp Ser Val Ser
180	185	190
Glu Gly Asn Ala Gly Pro	Tyr Arg Cys Ile Tyr	Tyr Lys Pro Pro Lys
195	200	205
Trp Ser Glu Gln Ser Asp	Tyr Leu Glu Leu Leu	Val Lys
210	215	220

[0084] <210> 86
 <211> 221
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> MMJ16 VH

<400> 86

Glu Val Gln Leu Val	Glu Ser Gly Gly Gly	Val Val Arg Pro Gly Glu
1	5	10
Ser Leu Arg Leu Ser	Cys Glu Val Ser Gly	Val Asn Ile Asn Asp Tyr
20	25	30
Asp Met Ser Trp Val	Arg Gln Phe Leu Gly	Lys Gly Leu Glu Trp Val
35	40	45
Ser Gly Ile Asp Arg	Lys Gly Val Gly Thr	Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr	Ile Ser Arg Asp His	Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65	70	75
		80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Val Arg Asp Pro Gly Asp Thr Ser Gly Arg Gly His Ile Phe Asn Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Leu Glu Asp Leu Pro Arg
115 120 125

Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile Pro Leu Gly Ser His
130 135 140

Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val Gln Thr Phe Arg Leu
145 150 155 160

Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Glu Thr Glu Asp Val Ser Gln
165 170 175

Val Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg Ile Asp Ser Val Ser
180 185 190

[0085]

Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr Tyr Lys Pro Pro Lys
195 200 205

Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu Gly Lys
210 215 220

<210> 87

<211> 221

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> MMJ23 VH

<400> 87

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Val Asn Ile Asn Asp Tyr
20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Pro Leu Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Gly Ile Asp Arg Lys Gly Val Gly Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Gly Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Val Arg Asp Pro Gly Asp Arg Ser Gly Arg Gly His Ile Phe Asn Ile
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Leu Glu Asp Leu Pro Arg
115 120 125

Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile Pro Leu Gly Ser His
130 135 140

Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val Gln Thr Phe Arg Leu
145 150 155 160

[0086]

Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Glu Thr Glu Asp Val Ser Gln
165 170 175

Val Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg Ile Asp Ser Val Ser
180 185 190

Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr Tyr Lys Pro Pro Lys
195 200 205

Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu Val Lys
210 215 220

<210> 88

<211> 221

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> MMJ25 VH

<400> 88

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Val Ser Ile Asn Asp Tyr
20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Pro Leu Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Gly Ile Asp Arg Lys Gly Val Gly Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp His Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Gly Ala Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Val Arg Asp Pro Gly Asp Ser Ser Gly Arg Gly His Ile Phe Asn Ile
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Leu Glu Asp Leu Pro Arg
115 120 125

[0087]

Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile Pro Leu Gly Ser His
130 135 140

Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val Gln Thr Phe Arg Leu
145 150 155 160

Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Glu Thr Glu Asp Val Ser Gln
165 170 175

Val Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg Ile Asp Ser Val Ser
180 185 190

Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr Tyr Lys Pro Pro Lys
195 200 205

Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu Val Lys
210 215 220

<210> 89
<211> 228
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> MGM1 VH

<400> 89

Gln Val Gln Leu Ala Gln Tyr Gly Gly Gly Ala Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Val Ser Gly Phe Arg Phe Ser Leu Tyr
20 25 30

Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Ser Leu Ile Glu Asn His Gly Arg Lys Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Ile Thr Val Ser Arg Asp Asn Phe Lys Asn Val Ala Tyr
65 70 75 80

[0088] Leu Glu Met Tyr Arg Leu Ser Thr Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asn Asp Gly Leu Gly Arg Tyr Thr Asp Ala Gly Gly Thr His
100 105 110

Arg Thr Ala Tyr Leu Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val
115 120 125

Ser Ser Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr
130 135 140

Val Ile Pro Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val
145 150 155 160

Gly Val Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn
165 170 175

Asp Thr Glu Asp Val Ser Gln Ala Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg
180 185 190

Phe Arg Ile Asp Ser Val Ser Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys
195 200 205

Val Tyr Tyr Lys Pro Pro Lys Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Asp
 210 215 220

Leu Leu Val Lys
 225

<210> 90
 <211> 227
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> MGM3 VH

<400> 90

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Val Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Lys Phe Asn Ile Tyr
 20 25 30

[0089] Asp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Phe Ile Arg His Asp Gly Asn Asn Gln Glu Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Phe Lys Asn Ile Ile Asp
 65 70 75 80

Leu Gln Met His Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Thr Asn Gln Gly Ser Gly Gly Ser Asp Asp Thr Trp Glu Thr Asn
 100 105 110

Arg Ser Ala Phe Phe Pro His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
 115 120 125

Ser Ser Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val
 130 135 140

Ile Pro Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly

Ala Lys Asn Gln Ala Ser Gly Gly Tyr Asp Asp Thr Trp Gly Thr Tyr
100 105 110

Arg Ser Ala Tyr Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
115 120 125

Ser Ser Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr
130 135 140

Val Ile Pro Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val
145 150 155 160

Gly Val Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn
165 170 175

Asp Thr Glu Asp Val Ser Gln Ala Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg
180 185 190

Phe Arg Ile Asp Ser Val Ser Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys
195 200 205

[0091]

Val Tyr Tyr Lys Pro Pro Lys Trp Ser Glu Glu Ser Asp Ser Leu Glu
210 215 220

Leu Leu Val Lys
225

<210> 92
<211> 228
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> MGM5 VH

<400> 92

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Met Ser Gly Phe Lys Phe Ser Ala Phe
20 25 30

Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Phe Val Arg Tyr Asp Gly Gly Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val His
65 70 75 80

Leu Gln Leu Asn Ser Leu Lys Pro Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asn Gln Pro Ser Gly Gln Ser Asp Asp Thr Trp Gly Thr Ser
100 105 110

Leu Ser Ala Tyr Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Ser Val
115 120 125

Ser Pro Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr
130 135 140

Val Ile Pro Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val
145 150 155 160

[0092]

Gly Val Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn
165 170 175

Asp Thr Glu Asp Val Ser Gln Ala Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg
180 185 190

Phe Arg Ile Asp Ser Val Ser Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys
195 200 205

Val Tyr Tyr Lys Pro Pro Lys Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu
210 215 220

Leu Leu Val Lys
225

<210> 93
<211> 127
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> MGB2 VH

<400> 93

Glu Ala Gln Val Val Asp His Gly Asn Arg Gly Arg Ala Arg Asp Leu
1 5 10 15

Glu Asp Ile Lys Lys Arg Arg Ala Arg Asp Leu Glu Tyr Glu Asp Leu
20 25 30

Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile Pro Leu Gly
35 40 45

Ser Arg Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val Gln Thr Phe
50 55 60

Arg Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Lys Tyr Asn Glu Thr Glu Asp Val
65 70 75 80

Ser Gln Ala Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg Ile Asp Ser
85 90 95

Val Ser Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr Tyr Lys Pro
100 105 110

[0093]

Pro Lys Trp Ser Glu His Ser Asp Phe Leu Glu Leu Leu Val Lys
115 120 125

<210> 94

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> MGB43 VH

<400> 94

Val Ala Glu Val Glu Glu His Ile Asn Lys Arg Arg Ala Arg Asp Leu
1 5 10 15

Glu Tyr Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr
20 25 30

Val Ile Pro Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val
35 40 45

Gly Val Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Arg Tyr Asn

	50		55		60														
	Glu	Thr	Glu	Asp	Val	Ser	Gln	Thr	Ser	Pro	Ser	Glu	Ser	Glu	Ala	Arg			
	65					70					75					80			
	Phe	Arg	Ile	Asp	Ser	Val	Ser	Glu	Gly	Asn	Ala	Gly	Pro	Tyr	Arg	Cys			
					85					90					95				
	Leu	Tyr	Tyr	Lys	Thr	Pro	Lys	Trp	Ser	Glu	Gln	Ser	Asp	Phe	Leu	Glu			
				100					105					110					
	Leu	Leu	Val	Lys															
				115															
	<210>		95																
	<211>		116																
	<212>		PRT																
	<213>		人工序列(Artificial Sequence)																
	<220>																		
	<223>		MGB47 VH																
[0094]	<400>		95																
	Glu	Ala	Glu	Val	Val	Glu	His	Val	Asn	Lys	Arg	Arg	Ala	Arg	Ala	Leu			
	1				5					10					15				
	Glu	Tyr	Glu	Asp	Leu	Pro	Arg	Pro	Ser	Ile	Ser	Ala	Glu	Pro	Gly	Thr			
				20					25					30					
	Val	Ile	Pro	Leu	Gly	Ser	His	Val	Thr	Phe	Val	Cys	Arg	Gly	Pro	Val			
				35				40					45						
	Gly	Val	Gln	Thr	Phe	Arg	Leu	Glu	Arg	Glu	Ser	Arg	Ser	Arg	Tyr	Thr			
		50					55					60							
	Glu	Thr	Glu	Asp	Val	Ser	Gln	Thr	Ser	Pro	Ser	Glu	Ser	Glu	Ala	Arg			
	65					70					75					80			
	Phe	Arg	Ile	Asp	Ser	Val	Ser	Glu	Gly	Asn	Ala	Gly	Pro	Tyr	Arg	Cys			
					85					90					95				
	Leu	Tyr	Tyr	Lys	Pro	Pro	Lys	Trp	Ser	Glu	Gln	Ser	Asp	Phe	Leu	Glu			
				100					105					110					

Leu Leu Val Lys
115

<210> 96
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> MGJ1 VL

<400> 96

Asp Phe Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Val Asn Thr Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Ala Ala Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Arg Gly
50 55 60

[0095]

Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Lys Ser His Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Val Arg
100 105

<210> 97
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> MGJ2 VL

<400> 97

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Ser Trp

	20	25	30
	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys	Pro Gly Lys Ala Pro	Lys Phe Leu Ile
	35	40	45
	Tyr Lys Ala Ser Phe Leu Glu Asn Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
	50	55	60
	Ser Glu Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro		
	65	70	75 80
	Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Pro Phe		
	85	90	95
	Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
	100	105	
	<210> 98		
	<211> 107		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0096]	<220>		
	<223> MGJ3 VL		
	<400> 98		
	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly		
	1	5	10 15
	Asp Arg Val Thr Phe Thr Cys Gly Ala Ser Gln Ser Ile Thr Asp Cys		
	20	25	30
	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Asp Pro Lys Leu Leu Ile		
	35	40	45
	Tyr Lys Ala Ser Arg Leu Glu Ala Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Ala		
	50	55	60
	Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Phe Thr Ile Arg Ser Met Gln Pro		
	65	70	75 80
	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Cys Tyr Ser Tyr Pro Phe		
	85	90	95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Leu Lys
100 105

<210> 99
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> MGJ5 VL

<400> 99

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Gly Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

[0097]

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 100
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> MMJ1 VL

<400> 100

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Val Ser Ala Ser Ile Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ile Ile Glu Arg Ser

	20	25	30
	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Ala Leu Ile 35 40 45		
	Tyr Lys Thr Ser Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly 50 55 60		
	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Val Ser Ser Leu Gln Pro 65 70 75 80		
	Asp Asp Phe Ala Asn Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Thr Tyr Pro Phe 85 90 95		
	Thr Phe Gly Pro Gly Thr Thr Val Thr Leu Arg 100 105		
	<210> 101		
	<211> 107		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0098]	<220>		
	<223> MMJ5 VL		
	<400> 101		
	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Ile Gly 1 5 10 15		
	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Val Ile Asp Arg Ser 20 25 30		
	Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Pro Leu Ile 35 40 45		
	Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Glu Gly Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly 50 55 60		
	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Val Ser Ser Leu Gln Pro 65 70 75 80		
	Asp Asp Phe Ala Asn Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Thr Tyr Pro Phe 85 90 95		

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Thr Val Thr Leu Arg
100 105

<210> 102
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> MMJ6 VL

<400> 102

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Ile Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ile Ile His Arg Ser
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Ala Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu Glu Gly Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

[0099]

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Val Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Thr Tyr Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Thr Val Thr Leu Arg
100 105

<210> 103
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> MMJ7 VL

<400> 103

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Ile Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asp Arg Ser

	20	25	30
	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Ala Leu Ile 35 40 45		
	Tyr Lys Ala Ser Asn Leu Glu Gly Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly 50 55 60		
	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Val Ser Ser Leu Gln Pro 65 70 75 80		
	Asp Asp Phe Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Thr Tyr Pro Phe 85 90 95		
	Thr Phe Gly Pro Gly Thr Thr Val Thr Leu Arg 100 105		
	<210> 104		
	<211> 107		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0100]	<220>		
	<223> MMJ8 VL		
	<400> 104		
	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Ile Gly 1 5 10 15		
	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ile Ile Asp Arg Ser 20 25 30		
	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Ala Leu Ile 35 40 45		
	Tyr Lys Ala Ser Asn Leu Glu Gly Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly 50 55 60		
	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Val Ser Ser Leu Gln Pro 65 70 75 80		
	Asp Asp Phe Ala Asn Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Thr Tyr Pro Phe 85 90 95		

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Thr Val Thr Leu Arg
100 105

<210> 105
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> MMJ10 VL

<400> 105

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Ile Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ile Ile Asp Arg Ser
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu Glu Gly Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

[0101]

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Val Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Asn Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Thr Tyr Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Thr Val Thr Leu Arg
100 105

<210> 106
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> MMJ16 VL

<400> 106

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Ile Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ile Ile Asp Arg Ser

	20	25	30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Ala Leu Ile	35	40	45
Tyr Lys Ala Ser Asn Leu Glu Gly Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Val Ser Ser Leu Gln Pro	65	70	75
Asp Asp Phe Ala Asn Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Thr Tyr Pro Phe	85	90	95
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Thr Val Thr Leu Arg	100	105	
<210> 107			
<211> 107			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<223> MMJ23 VL			
<400> 107			
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Ile Gly	1	5	10
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Val Ile Asp Arg Ser	20	25	30
Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Pro Leu Ile	35	40	45
Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Glu Gly Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Val Ser Ser Leu Gln Pro	65	70	75
Asp Asp Phe Ala Asn Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Thr Tyr Pro Phe	85	90	95

[0102]

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Thr Val Thr Leu Arg
100 105

<210> 108
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> MMJ25 VL

<400> 108

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Ile Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Asp Arg Ser
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

[0103]

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Val Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Thr Tyr Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Thr Val Thr Leu Arg
100 105

<210> 109
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> MGM1 VL

<400> 109

Ser Tyr Glu Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ala Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asp Glu Leu Pro Arg Thr Asp Ile

	20	25	30
	Ser Trp Tyr Gln Gln Thr Ser Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr 35 40 45		
	Glu Gly Thr Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser 50 55 60		
	Val Ser Gly Ala Met Ala Thr Leu Met Ile Ser Glu Ala Gln Leu Glu 65 70 75 80		
	Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Phe Ser Ile Asp Thr Ser Gly Asn His 85 90 95		
	Gly Gly Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu 100 105		
	<210> 110 <211> 109 <212> PRT <213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0104]	<220> <223> MGM3 VL		
	<220> <221> misc_feature <222> (10).. (10) <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid		
	<220> <221> misc_feature <222> (61).. (61) <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid		
	<400> 110		
	Ser Tyr Glu Leu Ile Gln Pro Pro Ser Xaa Ser Val Ser Pro Gly Gln 1 5 10 15		
	Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Glu Pro Leu Pro Arg Thr Ser Thr 20 25 30		
	Ser Trp Tyr Arg Gln Lys Ser Gly Gln Ala Pro Val Leu Ile Ile Tyr 35 40 45		
	Glu Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Xaa Ser Gly Ser		

50 55 60

Asn Thr Gly Thr Lys Ala Thr Leu Phe Ile Val Gly Ala Gln Val Glu
65 70 75 80

Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Tyr Ser Thr Asn Thr Ser Gly Gly Ser
85 90 95

Arg Gly Ala Phe Gly Thr Gly Thr Ser Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 111
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> MGM4 VL

<400> 111

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

[0105]

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asp Ala Val Pro Asn Thr Tyr Thr
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Glu Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Ser Ser Gly Thr Met Ala Thr Phe Ile Ile Ser Gly Ala Gln Val Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Tyr Ser Thr Asp Thr Ser Asp Asp His
85 90 95

Arg Gly Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105

<210> 112
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> MGM5 VL

<400> 112

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asp Ala Leu Pro Arg Thr Phe Ile
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Arg Gln Ala Pro Val Val Val Ile Tyr
35 40 45

Glu Asp Val Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Ile Ser Gly Thr Gln Ala Thr Leu Ile Ile Thr Gly Ala Gln Val Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Tyr Ser Thr Asp Thr Asn Asn Thr His
85 90 95

[0106]

Arg Gly Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105

<210> 113

<211> 98

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> MGJ1 LAIR1

<400> 113

Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile
1 5 10 15

Pro Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val
20 25 30

His Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Glu Thr
35 40 45

Glu Asp Val Ser Gln Ala Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg

50

55

60

Ile Asp Ser Val Ser Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr
65 70 75 80

Tyr Lys Pro Pro Lys Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu
85 90 95

Val Lys

<210> 114
<211> 98
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> MGJ2 LAIR1

<400> 114

Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile
1 5 10 15

[0107]

Pro Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val
20 25 30

Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser Arg Phe Thr Tyr Asn Asp Thr
35 40 45

Glu Asp Val Ser Gln Ala Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg
50 55 60

Ile Asp Ser Val Ser Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr
65 70 75 80

Tyr Lys Pro Pro Lys Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu
85 90 95

Val Lys

<210> 115
<211> 97
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> MGJ3 LAIR1

<400> 115

Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile Pro
1 5 10 15

Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val Gln
20 25 30

Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Glu Thr Glu
35 40 45

Asp Val Ser Gln Ala Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg Ile
50 55 60

Asp Ser Val Ser Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr Tyr
65 70 75 80

Lys Pro Pro Lys Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu Val
85 90 95

[0108]

Lys

<210> 116

<211> 98

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> MGJ5 LAIR1

<400> 116

Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile
1 5 10 15

Pro Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val
20 25 30

Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Glu Thr
35 40 45

Glu Asp Val Ser Gln Val Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg

50

55

60

Ile Asp Ser Val Ser Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr
65 70 75 80

Tyr Lys Pro Pro Lys Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu
85 90 95

Val Lys

<210> 117
<211> 98
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> MMJ1 LAIR1

<400> 117

Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile
1 5 10 15

[0109]

Pro Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val
20 25 30

Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Glu Thr
35 40 45

Glu Asp Val Ser Gln Val Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg
50 55 60

Ile Asp Ser Val Ser Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr
65 70 75 80

Tyr Lys Pro Pro Lys Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu
85 90 95

Val Lys

<210> 118
<211> 98
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> MMJ2 LAIR1

<400> 118

Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile
1 5 10 15

Pro Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val
20 25 30

Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Glu Thr
35 40 45

Glu Asp Val Ser Gln Val Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg
50 55 60

Ile Asp Ser Val Ser Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr
65 70 75 80

Tyr Lys Pro Pro Lys Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu
85 90 95

[0110]

Val Lys

<210> 119

<211> 98

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> MMJ5 LAIR1

<400> 119

Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile
1 5 10 15

Pro Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val
20 25 30

Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Glu Thr
35 40 45

Glu Asp Val Ser Gln Val Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg

<220>

<223> MMJ7 LAIR1

<400> 121

Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile
 1 5 10 15

Pro Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val
 20 25 30

Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Glu Thr
 35 40 45

Glu Asp Val Ser Gln Val Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg
 50 55 60

Ile Asp Ser Val Ser Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr
 65 70 75 80

Tyr Lys Pro Pro Lys Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu
 85 90 95

[0112]

Val Lys

<210> 122

<211> 98

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> MMJ8 LAIR1

<400> 122

Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile
 1 5 10 15

Pro Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val
 20 25 30

Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Glu Thr
 35 40 45

Glu Asp Val Ser Gln Val Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg

<220>

<223> MMJ16 LAIR1

<400> 124

Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile
 1 5 10 15

Pro Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val
 20 25 30

Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Glu Thr
 35 40 45

Glu Asp Val Ser Gln Val Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg
 50 55 60

Ile Asp Ser Val Ser Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr
 65 70 75 80

Tyr Lys Pro Pro Lys Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu
 85 90 95

[0114]

Gly Lys

<210> 125

<211> 98

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> MMJ23 LAIR1

<400> 125

Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile
 1 5 10 15

Pro Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val
 20 25 30

Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Glu Thr
 35 40 45

Glu Asp Val Ser Gln Val Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg

50

55

60

Ile Asp Ser Val Ser Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr
65 70 75 80

Tyr Lys Pro Pro Lys Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu
85 90 95

Val Lys

<210> 126
<211> 98
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> MMJ25 LAIR1

<400> 126

Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile
1 5 10 15

[0115]

Pro Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val
20 25 30

Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Glu Thr
35 40 45

Glu Asp Val Ser Gln Val Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg
50 55 60

Ile Asp Ser Val Ser Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr
65 70 75 80

Tyr Lys Pro Pro Lys Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu
85 90 95

Val Lys

<210> 127
<211> 98
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> MGM1 LAIR1

<400> 127

Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile
 1 5 10 15

Pro Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val
 20 25 30

Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Asp Thr
 35 40 45

Glu Asp Val Ser Gln Ala Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg
 50 55 60

Ile Asp Ser Val Ser Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Val Tyr
 65 70 75 80

Tyr Lys Pro Pro Lys Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Asp Leu Leu
 85 90 95

[0116]

Val Lys

<210> 128

<211> 97

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> MGM3 LAIR1

<400> 128

Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile Pro
 1 5 10 15

Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val Gln
 20 25 30

Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Ile Tyr Asn Asp Thr Glu
 35 40 45

Asp Val Ser Gln Ala Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg Ile

<220>

<223> MGM5 LAIR1

<400> 130

Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile
1 5 10 15

Pro Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val
20 25 30

Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Asp Thr
35 40 45

Glu Asp Val Ser Gln Ala Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg
50 55 60

Ile Asp Ser Val Ser Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Val Tyr
65 70 75 80

Tyr Lys Pro Pro Lys Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu
85 90 95

[0118]

Val Lys

<210> 131

<211> 98

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> MGB2 LAIR1

<400> 131

Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile
1 5 10 15

Pro Leu Gly Ser Arg Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val
20 25 30

Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Lys Tyr Asn Glu Thr
35 40 45

Glu Asp Val Ser Gln Ala Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg

50

55

60

Ile Asp Ser Val Ser Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr
65 70 75 80

Tyr Lys Pro Pro Lys Trp Ser Glu His Ser Asp Phe Leu Glu Leu Leu
85 90 95

Val Lys

<210> 132
<211> 98
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> MGB43 LAIR1

<400> 132

Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile
1 5 10 15

[0119]

Pro Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val
20 25 30

Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Arg Tyr Asn Glu Thr
35 40 45

Glu Asp Val Ser Gln Thr Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg
50 55 60

Ile Asp Ser Val Ser Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Leu Tyr
65 70 75 80

Tyr Lys Thr Pro Lys Trp Ser Glu Gln Ser Asp Phe Leu Glu Leu Leu
85 90 95

Val Lys

<210> 133
<211> 98
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> MGB47 LAIR1

<400> 133

Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile
 1 5 10 15

Pro Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val
 20 25 30

[0120] Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Arg Tyr Thr Glu Thr
 35 40 45

Glu Asp Val Ser Gln Thr Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg
 50 55 60

Ile Asp Ser Val Ser Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Leu Tyr
 65 70 75 80

Tyr Lys Pro Pro Lys Trp Ser Glu Gln Ser Asp Phe Leu Glu Leu Leu
 85 90 95

Val Lys

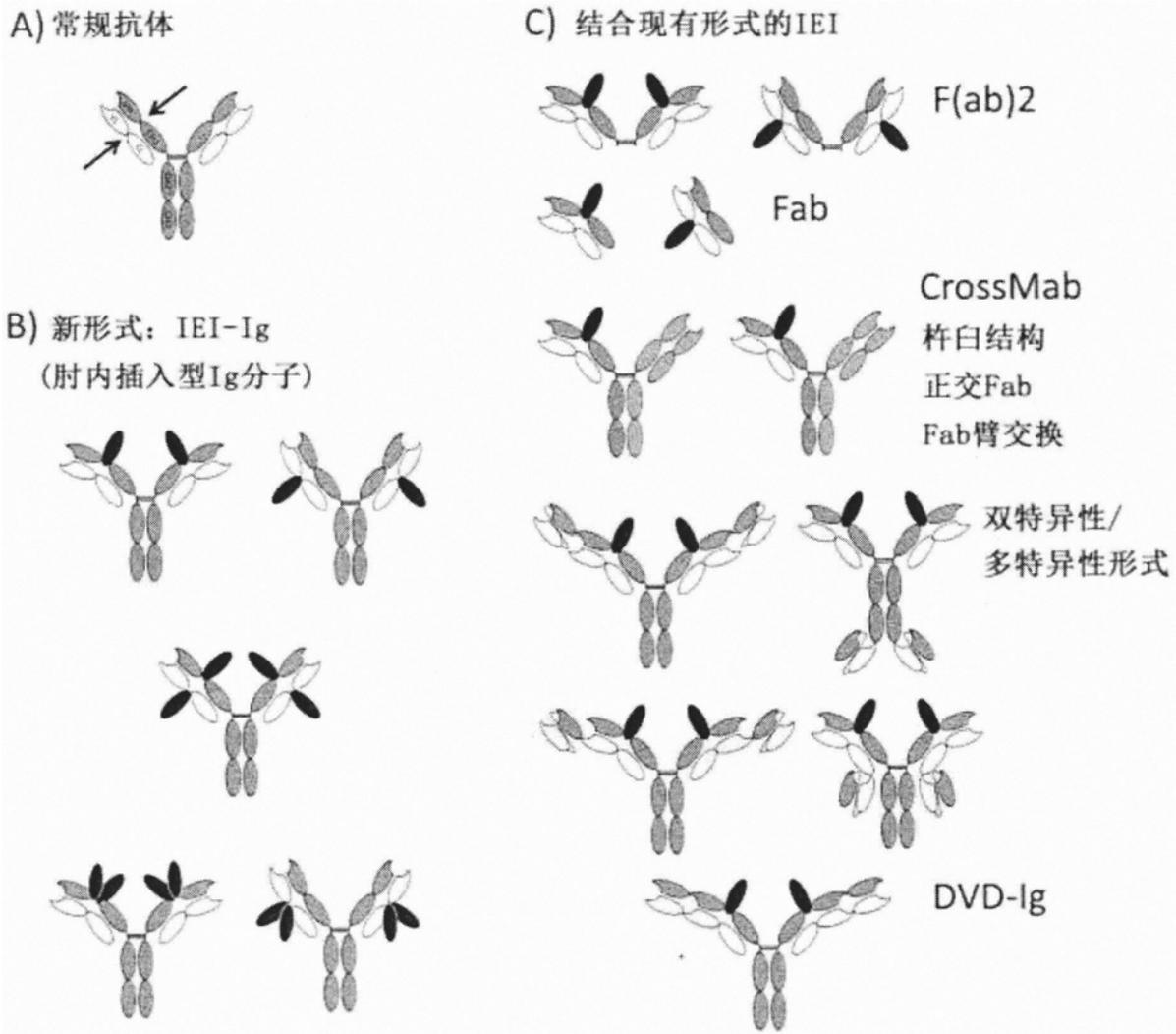


图1

GCE536	VH1-46	D	JH6	
C1	VH3-30	D	JH6	
C1b	VH3-20	D	JH3	
C2	VH3-30	D	JH6	LAIR1 ^{突变}
C3	VH3-30	D	JH6	LAIR1 ^{基因}
C4	VH1-46	D	JH6	LAIR1 ^{基因}
C5	VH1-46	D	JH6	PD1
C5b	VH1-46	D	JH6	PD1
C6	VH1-46	D	JH6	SLAM
C6b	VH1-46	D	JH6	SLAM
C7	VH3-20	D	JH3	PD1
C8	VH3-20	D	JH3	SLAM
C9	VH3-20	D	JH3	2XST

图2

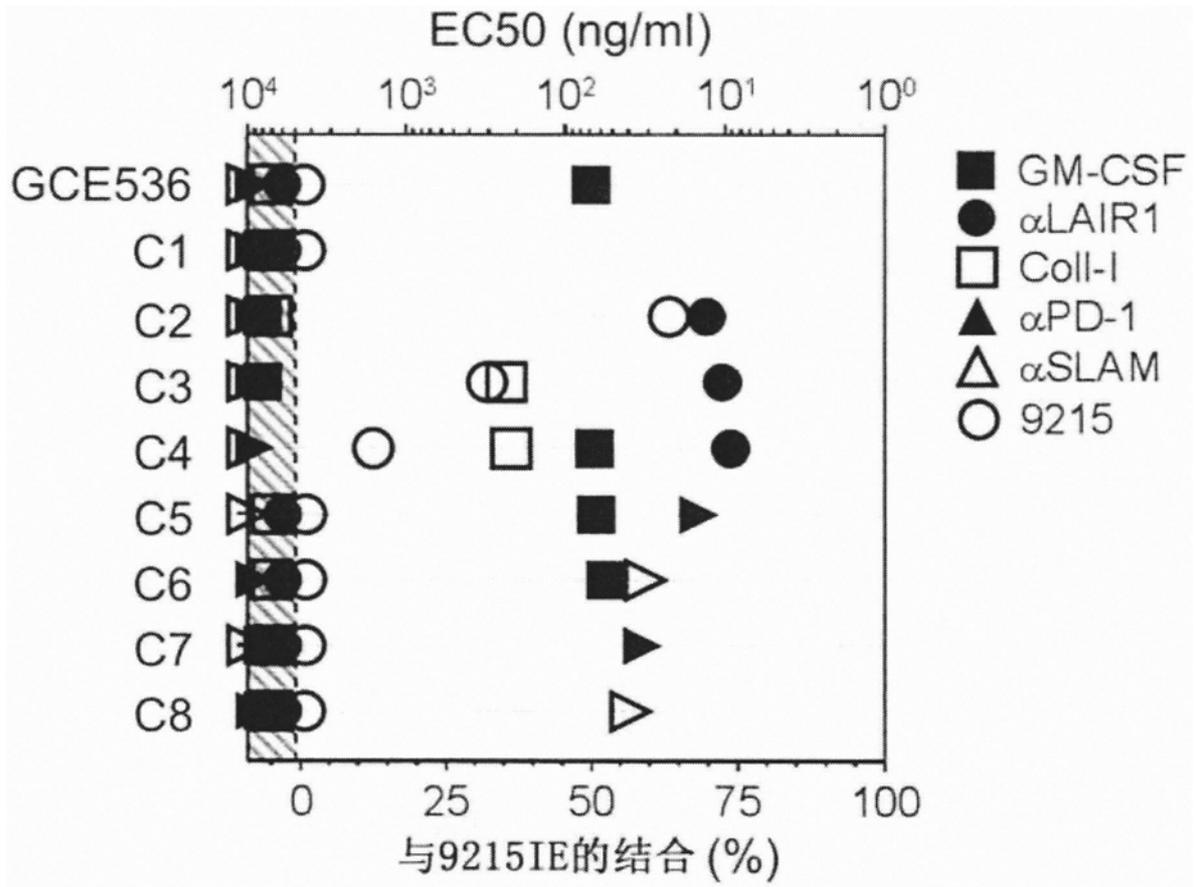


图3

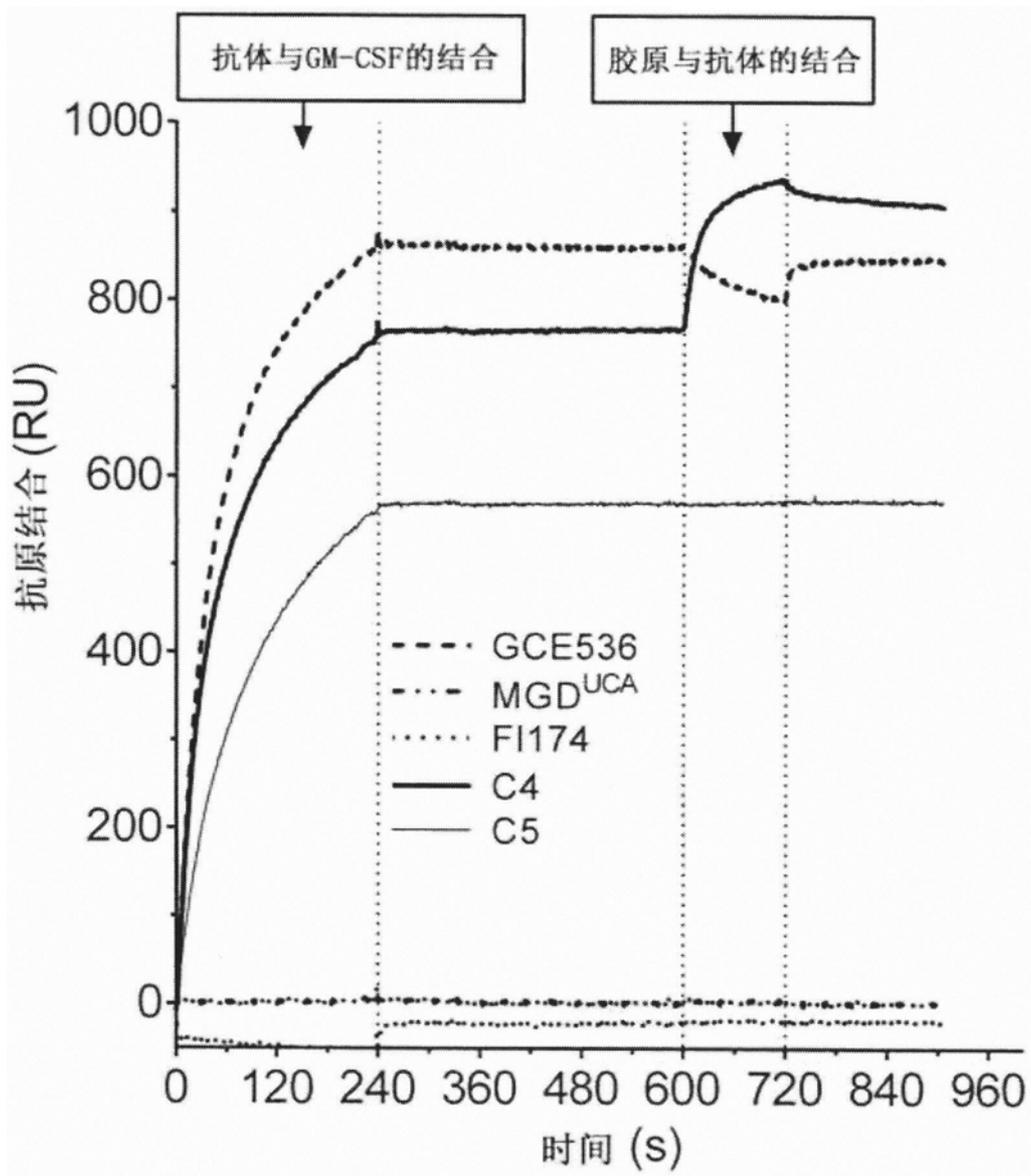


图4

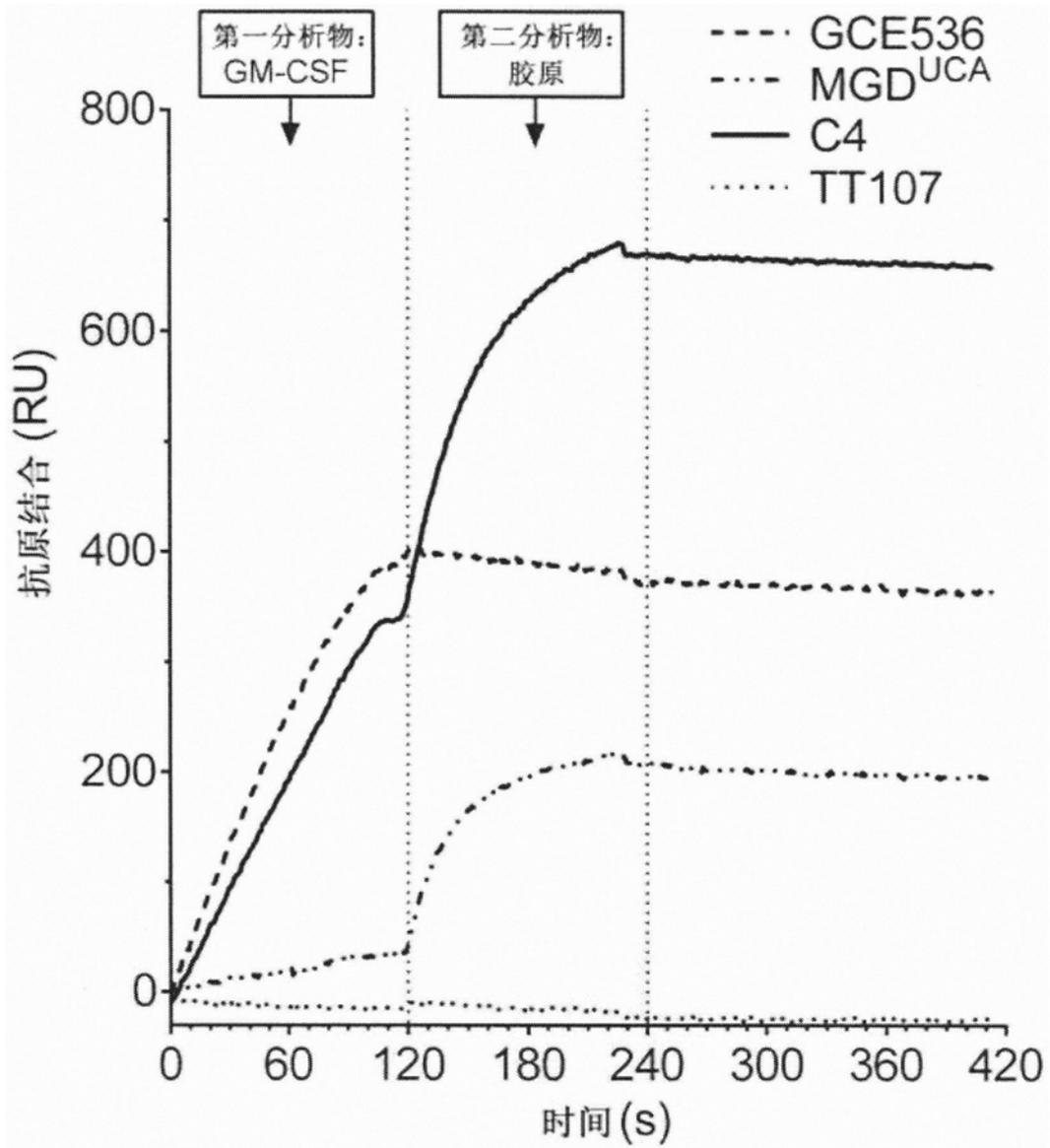


图5

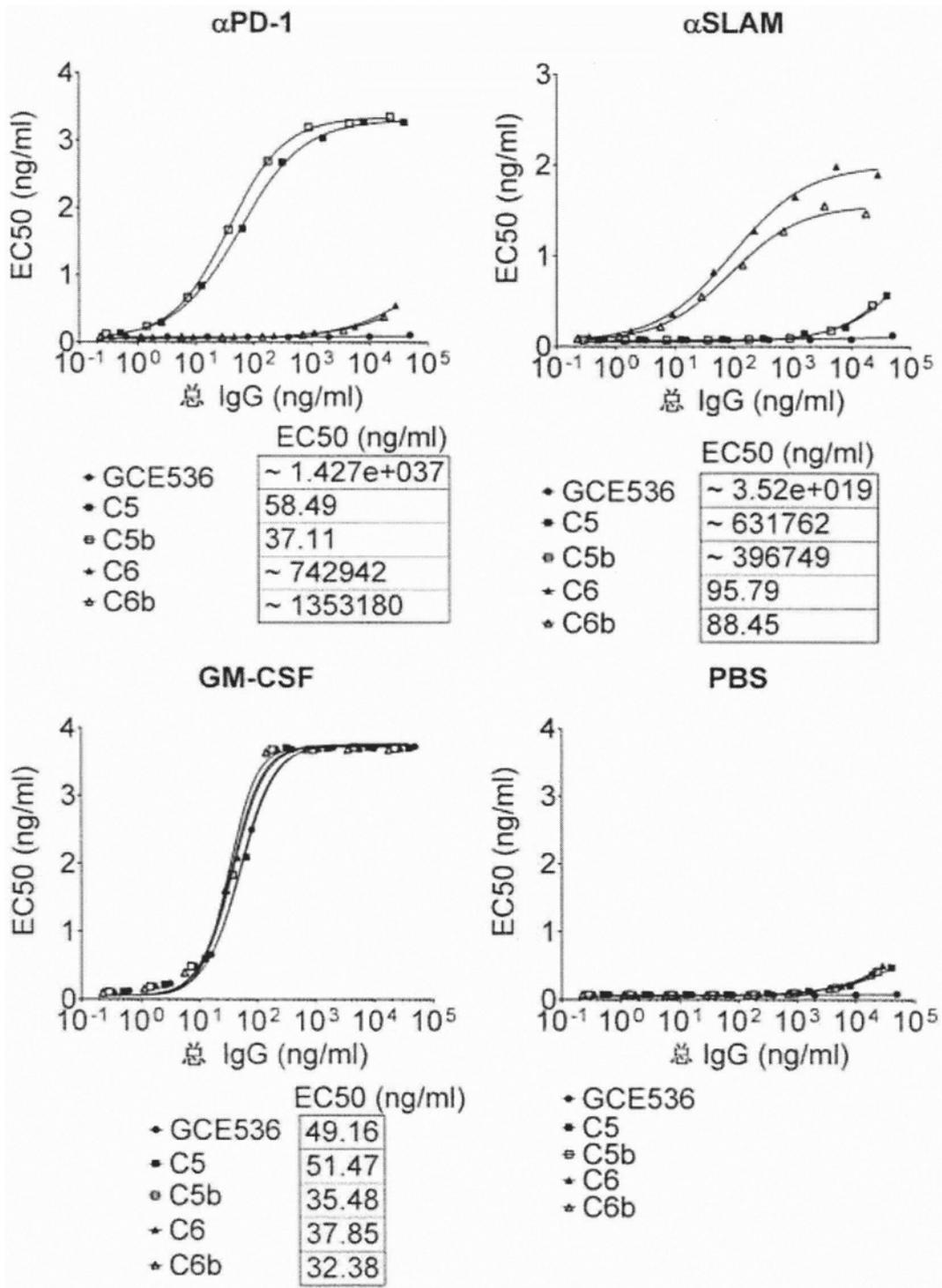


图6

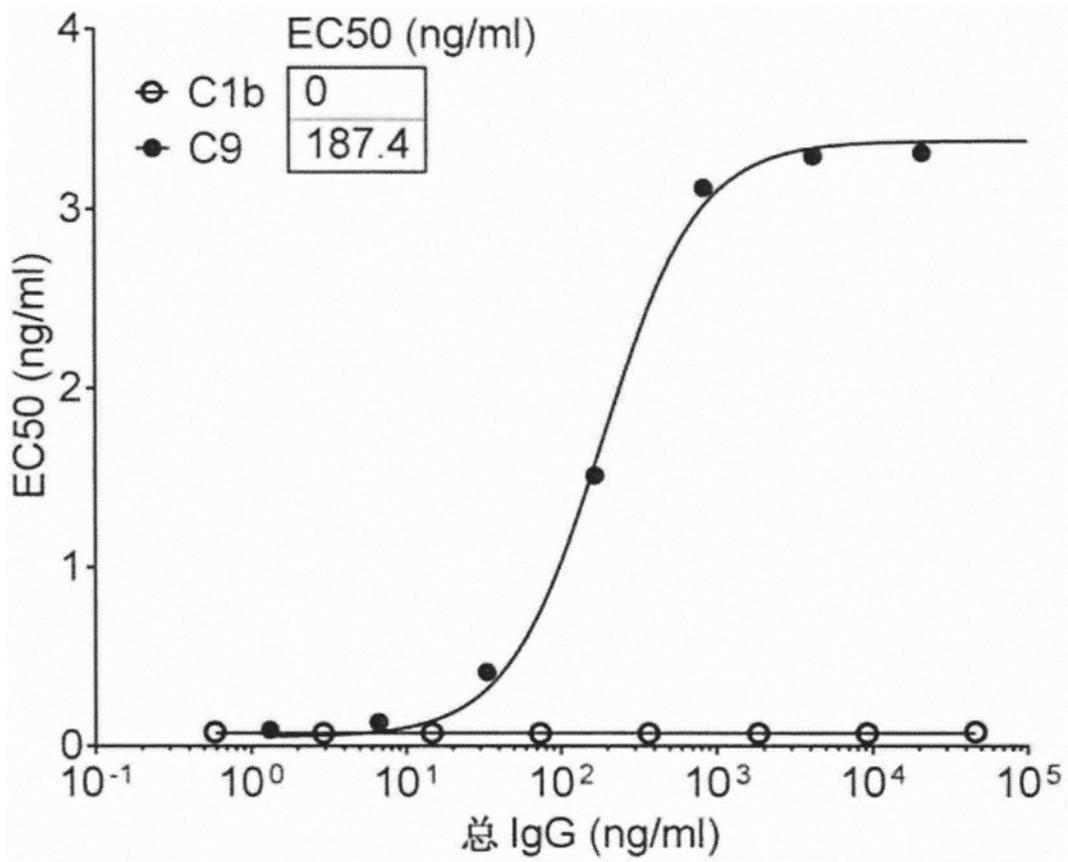


图7

FI174	VH1-69	D	JH4	
C10	VH1-69	D	JH4	T3-VHH
C11	VH1-69	D	JH4	TT39.7-ScFv
C12	VH1-69	D	JH4	F4-VHH
C13	VH1-69	D	JH4	MPE8-ScFv

图8

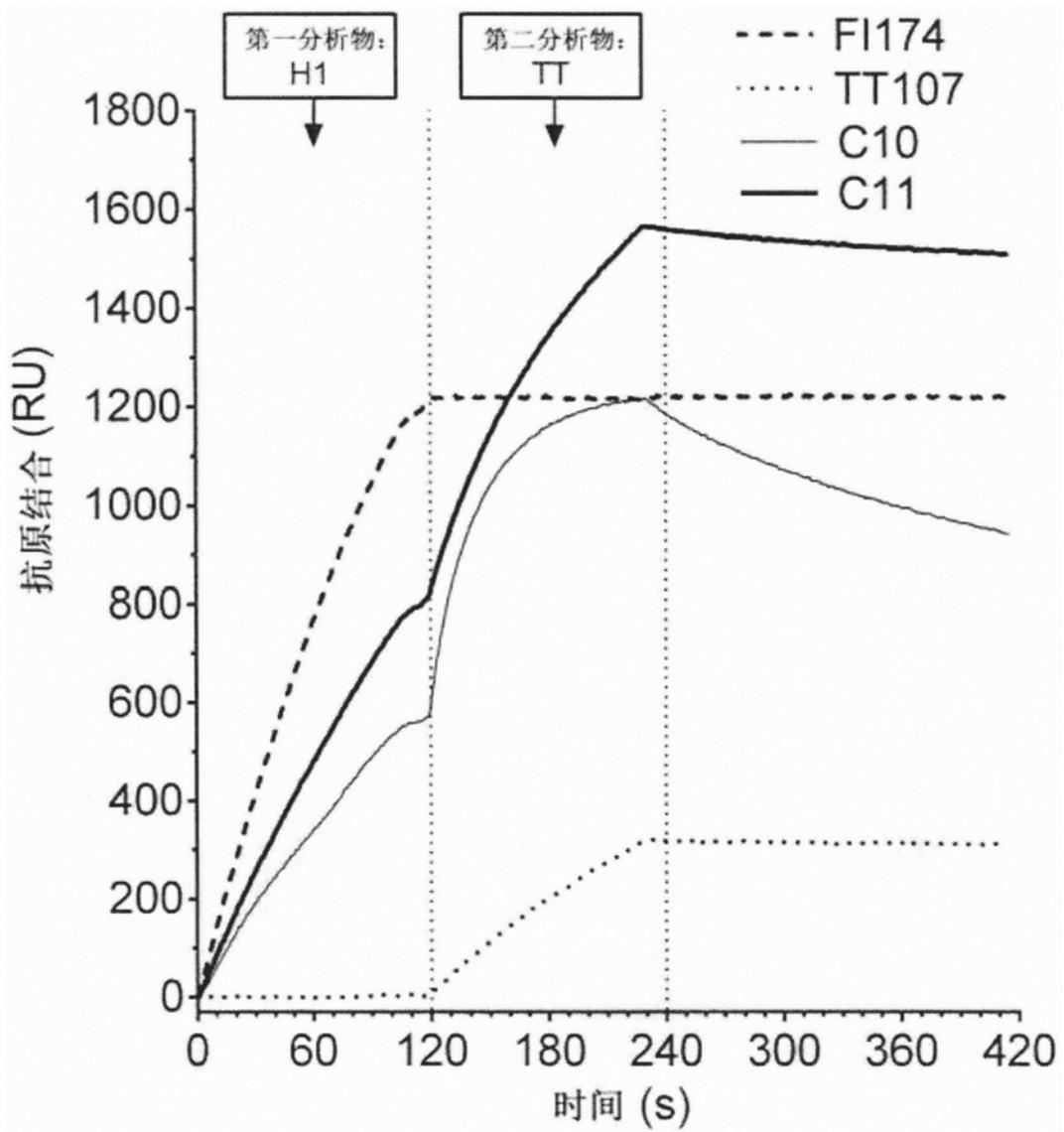


图9

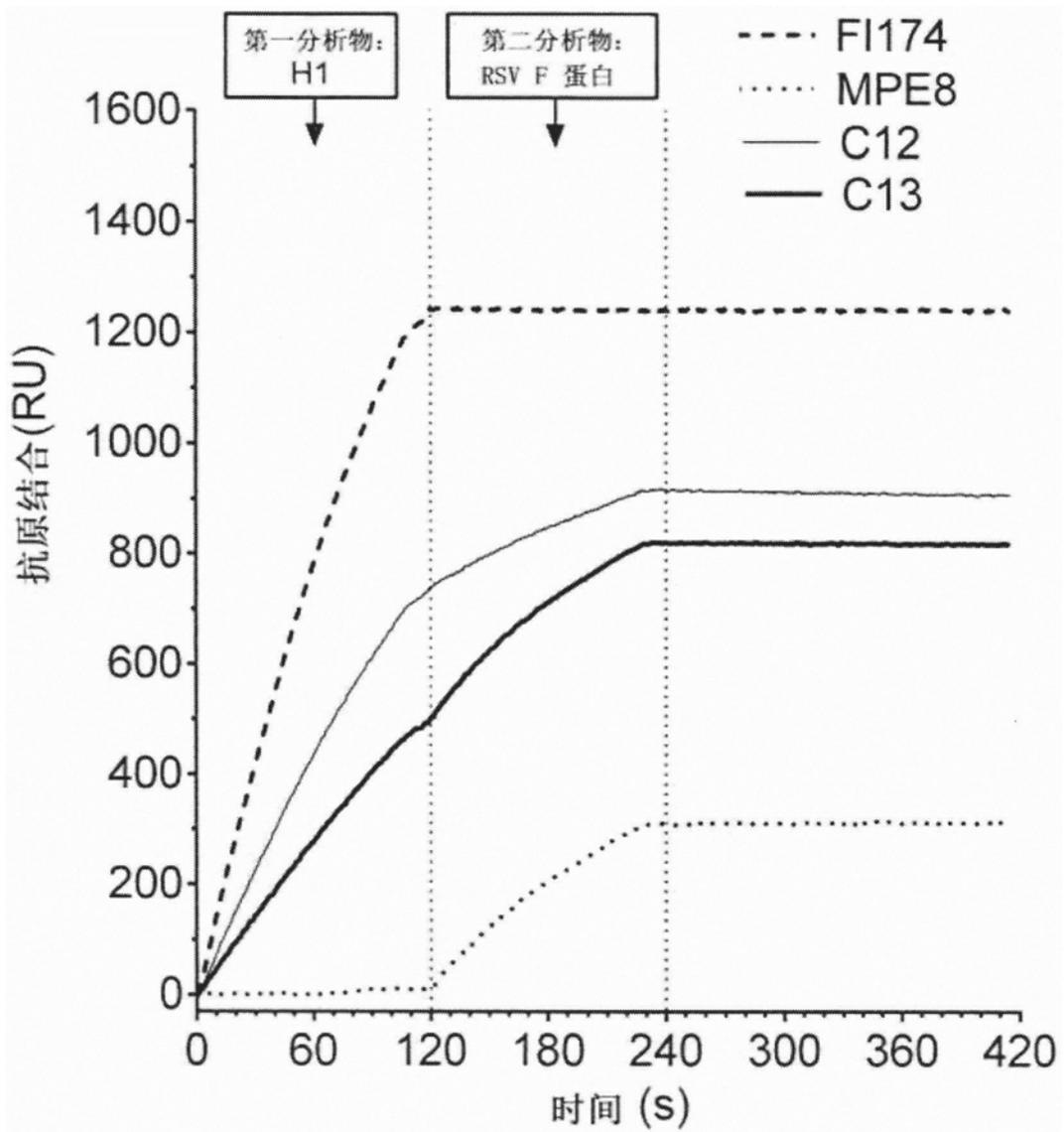


图10