(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 118555973 A
(43)申请公布日 2024.08.27

(21)申请号 202280076016.3
(22)申请日 2022.11.17
(30)优先权数据
63/280,494 2021.11.17 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.05.15
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2022/080043 2022.11.17
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/092006 EN 2023.05.25
(71)申请人 豪夫迈·罗氏有限公司
地址 瑞士巴塞尔
(72)发明人 J·T·马利根 S·L·奥卡达
J·R·基勒布鲁 D·L·霍伦堡
(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
专利代理师 封新琴
(51)Int.Cl.
A61K 47/68(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)

权利要求书4页 说明书176页
序列表（电子公布） 附图33页

(54)发明名称

蛋白质复合物的组合物及其使用方法

(57)摘要

本文提供了包含通过接头连接的传感器结构域和治疗性结构域的蛋白质复合物及其使用方法。在本公开的方面,所述治疗性结构域的活性包括对传感器结构域与靶标志物的结合的依赖性。

CN 118555973 A

1.一种复合物,其包含:

(a)包含IL-2肽的治疗性结构域;

(b)接头;以及

(c)包含抗体的传感器结构域,其中所述传感器结构域被配置为以互斥的方式结合PD-1和IL-2,

其中所述治疗性结构域通过所述接头与所述传感器结构域连接。

2.根据权利要求1所述的复合物,其中所述传感器结构域被配置为:

(i)在不存在PD-1的情况下结合IL-2;以及(ii)在存在PD-1的情况下不结合IL-2。

3.根据权利要求1或2所述的复合物,其中所述抗体为抗体片段或抗体衍生物。

4.根据权利要求1至3中任一项所述的复合物,其中所述传感器结构域包含被配置为结合PD-1和IL-2的单一双重结合抗体(DBA)。

5.根据权利要求1至4中任一项所述的复合物,其中所述DBA包含与SEQ ID NO:11至20、154至156、168至173、114至119、415、421、433、439、445、451、457、463、469、475、481、487、493、499、505、511、517、523、529、535、541、547、553、559、565、571、577、583、589、595、601、607、613、619、625、631、637、643、649、655、661或667中的任一者具有至少80%同一性的重链CDR3。

6.根据权利要求1至4中任一项所述的复合物,其中所述DBA包含含有与表3、表7、表8或表19中所列的序列中的任一者具有至少80%同一性的序列的重链CDR1、CDR2或CDR3。

7.根据权利要求1至4中任一项所述的复合物,其中所述DBA包含含有与表18中所列的序列中的任一者具有至少80%同一性的序列的V_H或V_L。

8.根据权利要求1至7中任一项所述的复合物,其中所述复合物包含Fc结构域。

9.根据权利要求8所述的复合物,其中所述Fc结构域是同二聚体的。

10.根据权利要求8所述的复合物,其中所述Fc结构域是异二聚体的。

11.根据权利要求10所述的复合物,其中所述Fc结构域包含:(a)包含杵突变的第一多肽以及(b)包含臼突变的第二多肽。

12.根据权利要求11所述的复合物,其中所述杵突变包含或者所述臼突变包含相对于IgG的以下残基对中的任一者的突变:366和407、405和394或者407和366。

13.根据权利要求12所述的复合物,其中所述杵突变包含精氨酸残基、苯丙氨酸残基、酪氨酸残基或色氨酸残基,并且所述臼突变包含丙氨酸残基、丝氨酸残基、苏氨酸残基或缬氨酸残基。

14.根据权利要求1至12中任一项所述的复合物,其中所述复合物包含含有全长DBA的传感器结构域,其中所述IL-2肽与所述全长DBA的重链的N末端连接,或者其中所述IL-2肽与所述全长DBA的轻链的N末端连接。

15.根据权利要求1至12中任一项所述的复合物,其中所述复合物包含含有全长DBA的传感器结构域,其中所述IL-2肽与所述全长DBA的重链的C末端连接。

16.根据权利要求1至9或13中任一项所述的复合物,其中所述复合物包含:

(a)根据N-[IL-2]-[接头]-[V_H]-[C_H]-[铰链]-Fc-C的第一多肽;以及

根据N-[V_L]-[C_L]-C的第二多肽,或者

(b)根据N-[V_H]-[C_H]-[铰链]-Fc-C的第一多肽;以及

根据N-[IL-2]-[接头]-[V_L]-[C_L]-C的第二多肽，

其中N-表示肽N末端，C-表示肽C末端，[接头]表示所述接头，

V_H指示所述DBA的重链可变结构域，C_H指示免疫球蛋白的重链恒定结构域，V_L表示所述DBA的轻链可变结构域，[铰链]表示免疫球蛋白的铰链区，Fc表示免疫球蛋白的Fc区，并且CL表示免疫球蛋白的轻链恒定结构域。

17.根据权利要求16所述的复合物，其中所述复合物包含AF003345、AF003243、AF003246、AF003247、AF003341、AF003644、AF003651、AF003657或AF003934中的任一者。

18.根据权利要求1至8、10至12或13中任一项所述的复合物，其中所述复合物包含：

(a)根据N-[IL-2]-[接头]-[V_H]-[C_H]-[铰链]-Fc[杵]-C的第一多肽；

根据N-[V_L]-[C_L]-C的第二多肽；以及

根据N-[V_H]-[C_H]-[铰链]-Fc[臼]-C的第三多肽，或者

(b)根据N-[IL-2]-[接头]-[V_H]-[C_H]-[铰链]-Fc[臼]-C的第一多肽；

根据N-[V_L]-[C_L]-C的第二多肽；以及

根据N-[V_H]-[C_H]-[铰链]-Fc[杵]-C的第三多肽，

其中N-表示肽N末端，C-表示肽C末端，[接头]表示所述接头，

V_H指示所述DBA的重链可变结构域，C_H指示免疫球蛋白的重链恒定结构域，V_L表示所述DBA的轻链可变结构域，[铰链]表示免疫球蛋白的铰链区，Fc[杵]表示包含杵突变的免疫球蛋白的Fc，Fc[臼]表示包含臼突变的免疫球蛋白的Fc区，并且C_L表示免疫球蛋白的轻链恒定结构域。

19.根据权利要求18所述的复合物，其中所述杵突变或所述臼突变包含相对于IgG的以下残基对中的任一者的突变：366和407、405和394或者407和366。

20.根据权利要求18至19中任一项所述的复合物，其中所述复合物包含AF003229、AF003230、AF003232、AF003740、AF003747、AF003749、AF003753、AF003945、AF003947、AF003951、AF003952、AF003953、AF003955、AF003956或AF003941中的任一者，根据权利要求1至9或15中任一项所述的复合物，其中所述复合物包含：

(a)根据N-[IL-2]-[接头]-[V_H]-[C_H]-[铰链]-Fc-[scFv]-C的第一多肽；以及

(b)根据N-[V_L]-[C_L]-C的第二多肽；或者

其中N-表示肽N末端，C-表示肽C末端，[接头]表示所述接头，

V_H指示抗PD-1单选择性抗体的重链可变结构域，C_H指示免疫球蛋白的重链恒定结构域，V_L表示抗PD-1单选择性抗体的轻链可变结构域，[铰链]表示免疫球蛋白的铰链区，Fc表示免疫球蛋白的Fc区，C_L表示免疫球蛋白的轻链恒定结构域，并且[scFv]表示包含所述DBA的V_H和V_L结构域的scFv。

21.根据权利要求20所述的复合物，其中所述scFv根据N-[V_H]-[接头2]-[V_L]-C定向。

22.根据权利要求20或21所述的复合物，其中包含所述DBA的V_H和V_L结构域的所述scFv包含：

(a)V_H结构域，其包含与AB002022_2B07v1、AB002328_2B07v4、AB002360_7A04v1、AB002413_2A11v3、AB002342_2B07v5、AB002345_2B07v6或AB002365_7A04v2中的任一者的V_H结构域具有至少80％同一性的序列；或者

(b)V_L结构域，其包含与AB002022_2B07v1、AB002328_2B07v4、AB002360_7A04v1、

AB002413_2A11v3、AB002342_2B07v5、AB002345_2B07v6或AB002365_7A04v2中的任一者的V_L结构域具有至少80％同一性的序列。

23.根据权利要求20或21所述的复合物,其中包含所述DBA的V_H和V_L结构域的所述scFv包含:

(a)AB002022_2B07v1、AB002328_2B07v4、AB002360_7A04v1、AB002413_2A11v3、AB002342_2B07v5、AB002345_2B07v6或AB002365_7A04v2中的任一者的重链CDR;或者

(b)AB002022_2B07v1、AB002328_2B07v4、AB002360_7A04v1、AB002413_2A11v3、AB002342_2B07v5、AB002345_2B07v6或AB002365_7A04v2中的任一者的轻链CDR。

24.根据权利要求20至22中任一项所述的复合物,其中所述复合物包含AF003864、AF003871、AF003872、AF003913、AF003918、AF003923、AF003927、AF004502、AF004503、AF004504、AF004505、AF004892或AF004893中的任一者。

25.根据权利要求1至8、10至12或15中任一项所述的复合物,其中所述复合物包含:

(a)根据N-[V_H]-[C_H]-[铰链]-Fc[杵]-[接头]-[IL-2]-C的第一多肽;

根据N-[V_L]-[C_L]-C的第二多肽;以及

根据N-[V_H]-[C_H]-[铰链]-Fc[臼]-[接头]-[scFv]-C的第三多肽,或者

(b)根据N-[V_H]-[C_H]-[铰链]-Fc[臼]-[接头]-[IL-2]-C的第一多肽;

根据N-[V_L]-[C_L]-C的第二多肽;以及

根据N-[V_H]-[C_H]-[铰链]-Fc[杵]-[接头]-[scFv]-C的第三多肽;

其中N-表示肽N末端,C-表示肽C末端,[接头]表示所述接头,

V_H指示所述DBA的重链可变结构域,C_H指示免疫球蛋白的重链恒定结构域,VL表示所述DBA的轻链可变结构域,[铰链]表示免疫球蛋白的铰链区,Fc[杵]表示包含杵突变的免疫球蛋白的Fc,Fc[臼]表示包含臼突变的免疫球蛋白的Fc区,

C_L表示免疫球蛋白的轻链恒定结构域,并且[scFv]表示所述DBA的scFv。

26.根据权利要求25所述的复合物,其中所述复合物包含AF004693、AF004695、AF004696、AF005416、AF005418或AF005419中的任一者。

27.根据权利要求1至8、10至12或15中任一项所述的复合物,其中所述复合物包含:

(a)根据N-[V_H]-[C_H]-[het-铰链]-Fc[杵]-[接头]-[IL-2]-C的第一多肽;

根据N-[V_L]-[C_L]-C的第二多肽;以及

根据N-[V_H]-[C_H]-[het-铰链]-Fc[臼]-C的第三多肽,或者

(b)根据N-[V_H]-[C_H]-[het-铰链]-Fc[臼]-[接头]-[IL-2]-C的第一多肽;

根据N-[V_L]-[C_L]-C的第二多肽;以及

根据N-[V_H]-[C_H]-[het-铰链]-Fc[杵]-C的第三多肽,

其中N-表示肽N末端,C-表示肽C末端,[接头]表示所述接头,

V_H指示所述DBA的重链可变结构域,C_H指示免疫球蛋白的重链恒定结构域,V_L表示所述DBA的轻链可变结构域,[het铰链]表示与所述Fc区异源的铰链区,Fc[杵]表示包含杵突变的免疫球蛋白的Fc,Fc[臼]表示包含臼突变的免疫球蛋白的Fc区,并且C_L表示免疫球蛋白的轻链恒定结构域。

28.根据权利要求27所述的复合物,其中与所述Fc区异源的所述铰链区为:(a)源自IgG3抗体的铰链区,或者(b)基于G4S的接头。

29.根据权利要求27或28所述的复合物,其中所述复合物包含AF003632或AF003634。

30.根据权利要求1至29中任一项所述的复合物,其中所述IL-2肽包含野生型人IL-2肽。

31.根据权利要求30所述的复合物,其中所述IL-2肽包含与人IL-2具有至少约80%、至少约81%、至少约82%、至少约83%、至少约84%、至少约85%、至少约86%、至少约87%、至少约88%、至少约89%、至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或基本上100%的序列同一性的序列。

32.根据权利要求31所述的复合物,其中所述复合物包含AF003232、AF003243、AF003246、AF003247、AF003341、AF003345、AF003632、AF003634、AF003644、AF003651、AF003652、AF003653、AF003657、AF003740、AF003744、AF003747、AF003749、AF003753、AF003864、AF003873、AF003876、AF003877、AF003913、AF003918、AF003923、AF003927、AF003930、AF003931、AF003933、AF003934、AF003935、AF003941、AF003945、AF003946、AF003947、AF003948、AF003951、AF003952、AF003953、AF003955、AF003956、AF004262、AF004265、AF004273、AF004276、AF004284、AF004287、AF004295、AF004298、AF004385、AF004386、AF004387、AF004388、AF004389、AF004404、AF004405、AF004413、AF004414、AF004415、AF004416、AF004504、AF004505、AF004693、AF004695、AF004696、AF004771、AF004773、AF004892或AF004893中的任一者。

33.一种增强对异源细胞的T细胞反应性的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用根据权利要求1至32中任一项所述的复合物。

34.根据权利要求33所述的方法,其中所述异源细胞为癌细胞。

35.一种治疗有此需要的受试者的方法,所述方法包括向所述有此需要的受试者施用根据权利要求1至32中任一项所述的复合物。

36.根据权利要求35所述的方法,其中所述施用包括静脉内、肌内或皮下施用。

37.根据权利要求35至36中任一项所述的方法,其中所述有此需要的受试者患有癌症。

38.根据权利要求35至37中任一项所述的方法,其中所述治疗性结构域治疗所述有此需要的受试者。

39.根据权利要求35至38中任一项所述的方法,其中所述有此需要的受试者为哺乳动物。

40.根据权利要求39所述的方法,其中所述有此需要的受试者为人。

41.一种组合物,其包含编码根据权利要求1至32中任一项所述的复合物的重组核酸。

42.一种药物组合物,其包含根据权利要求1至32中任一项所述的复合物以及药用赋形剂。

蛋白质复合物的组合物及其使用方法

[0001] 序列表

[0002] 本申请含有序列表,该序列表已经以XML格式以电子方式提交并且以全文引用的方式并入本文中。所述XML副本创建于2022年11月14日,命名为51177-046WO2_Sequence_Listing_11_14_22,并且大小为634,137字节。

背景技术

[0003] 白细胞介素2(IL-2)是一种强效细胞因子,其在全身施用后表现出毒性。需要一种可以被全身递送但可以被调节以对有效的T细胞子集表现出治疗活性的IL-2版本。

发明内容

[0004] 在一些方面,本公开提供了一种复合物,该复合物包含:(a)包含IL-2肽的治疗性结构域以及(b)包含抗体的传感器结构域,其中所述传感器结构域被配置为以互斥的方式结合PD-1和IL-2。在一些实施例中,复合物进一步包含将治疗性结构域与传感器结构域连接的接头。在一些实施例中,传感器结构域被配置为:(i)在不存在PD-1的情况下结合IL-2;以及(ii)在存在PD-1的情况下不结合IL-2。在一些实施例中,抗体为抗体片段或抗体衍生物。在一些实施例中,传感器结构域包含被配置为结合PD-1和IL-2的单一双重结合抗体(DBA)。在一些实施例中,DBA包含重链CDR3,其与SEQ ID NO:11至20、154至156、168至173、114至119、415、421、433、439、445、451、457、463、469、475、481、487、493、499、505、511、517、523、529、535、541、547、553、559、565、571、577、583、589、595、601、607、613、619、625、631、637、643、649、655、661或667中的任一者具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列同一性。在一些实施例中,DBA包含重链CDR1、CDR2或CDR3,其包含与表3、表7、表8或表19中记载的序列中的任一者具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列同一性的序列。在一些实施例中,DBA包含V_H或V_L,其包含与表18中记载的序列中的任一者具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列同一性的序列。在一些实施例中,复合物包含Fc结构域。在一些实施例中,Fc结构域来自IgG。在一些实施例中,Fc结构域为同源二聚体的。在一些实施例中,Fc结构域为异源二聚体的。在一些实施例中,Fc结构域包含:(a)包含杵突变的第一多肽以及(b)包含臼突变的第二多肽。在一些实施例中,杵突变或臼突变包含相对于IgG的以下残基对中的任一者的突变:366和407、405和394或者407和366。在一些实施例中,杵突变包含精氨酸残基、苯丙氨酸残基、酪氨酸残基或色氨酸残基,并且臼突变包含丙氨酸残基、丝氨酸残基、苏氨酸残基或缬氨酸残基。在一些实施例中,复合物包含含有全长DBA的

传感器结构域,其中IL-2肽与所述全长DBA的重链的N末端连接,或者其中IL-2肽与所述全长DBA的轻链的N末端连接。在一些实施例中,复合物包含含有全长DBA的传感器结构域,其中IL-2肽与所述全长DBA的重链的C末端连接。在一些实施例中,复合物包含:(a)根据N-[IL-2]-[接头]-[V_H]-[C_H]-[铰链]-Fc-C的第一多肽;以及根据N-[V_L]-[C_L]-C的第二多肽;或者(b)根据N-[V_H]-[C_H]-[铰链]-Fc-C的第一多肽;以及根据N-[IL-2]-[接头]-[V_L]-[C_L]-C的第二多肽,其中N-表示肽N末端,C-表示肽C末端,[接头]表示所述接头,V_H指示所述DBA的重链可变结构域,C_H指示免疫球蛋白的重链恒定结构域,V_L表示所述DBA的轻链可变结构域,[铰链]表示免疫球蛋白的铰链区,Fc表示免疫球蛋白的Fc区,并且CL表示免疫球蛋白的轻链恒定结构域。在一些实施例中,复合物包含AF003345、AF003243、AF003246、AF003247、AF003341、AF003644、AF003651、AF003657或AF003934中的任一者。在一些实施例中,复合物包含:(a)根据N-[IL-2]-[接头]-[V_H]-[C_H]-[铰链]-Fc[杵]-C的第一多肽;根据N-[V_L]-[C_L]-C的第二多肽;以及根据N-[V_H]-[C_H]-[铰链]-Fc[臼]-C的第三多肽,或者(b)根据N-[IL-2]-[接头]-[V_H]-[C_H]-[铰链]-Fc[臼]-C的第一多肽;根据N-[V_L]-[C_L]-C的第二多肽;以及根据N-[V_H]-[C_H]-[铰链]-Fc[杵]-C的第三多肽,其中N-表示肽N末端,C-表示肽C末端,[接头]表示所述接头,V_H指示所述DBA的重链可变结构域,C_H指示免疫球蛋白的重链恒定结构域,V_L表示所述DBA的轻链可变结构域,[铰链]表示免疫球蛋白的铰链区,Fc[杵]表示包含杵突变的免疫球蛋白的Fc,Fc[臼]表示包含臼突变的免疫球蛋白的Fc区,并且C_L表示免疫球蛋白的轻链恒定结构域。在一些实施例中,杵突变或臼突变包含相对于IgG的以下残基对中的任一者的突变:366和407、405和394或者407和366。在一些实施例中,复合物包含AF003229、AF003230、AF003232、AF003740、AF003747、AF003749、AF003753、AF003945、AF003947、AF003951、AF003952、AF003953、AF003955、AF003956或AF003941中的任一者。在一些实施例中,复合物包含:(a)根据N-[IL-2]-[接头]-[V_H]-[C_H]-[铰链]-Fc-[scFv]-C的第一多肽;以及(b)根据N-[V_L]-[C_L]-C的第二多肽,其中N-表示肽N末端,C-表示肽C末端,[接头]表示所述接头,V_H指示抗PD-1单选择性抗体的重链可变结构域,C_H指示免疫球蛋白的重链恒定结构域,V_L表示抗PD-1单选择性抗体的轻链可变结构域,[铰链]表示免疫球蛋白的铰链区,Fc表示免疫球蛋白的Fc区,C_L表示免疫球蛋白的轻链恒定结构域,并且[scFv]表示包含所述DBA的V_H和V_L结构域的scFv。在一些实施例中,所述scFv根据N-[V_H]-[接头2]-[V_L]-C定向。在一些实施例中,包含所述DBA的V_H和V_L结构域的所述scFv包含:(a)V_H结构域,其包含与AB002022_2B07v1、AB002328_2B07v4、AB002360_7A04v1、AB002413_2A11v3、AB002342_2B07v5、AB002345_2B07v6或AB002365_7A04v2中的任一者的V_H结构域具有至少80%同一性的序列;或者(b)V_L结构域,其包含与AB002022_2B07v1、AB002328_2B07v4、AB002360_7A04v1、AB002413_2A11v3、AB002342_2B07v5、AB002345_2B07v6或AB002365_7A04v2中的任一者的V_L结构域具有至少80%同一性的序列。在一些实施例中,包含所述DBA的V_H和V_L结构域的所述scFv包含:(a)AB002022_2B07v1、AB002328_2B07v4、AB002360_7A04v1、AB002413_2A11v3、AB002342_2B07v5、AB002345_2B07v6或AB002365_7A04v2中的任一者的重链CDR;或者(b)AB002022_2B07v1、AB002328_2B07v4、AB002360_7A04v1、AB002413_2A11v3、AB002342_2B07v5、AB002345_2B07v6或AB002365_7A04v2中的任一者的轻链CDR。在一些实施例中,复合物包含AF003864、AF003871、AF003872、AF003913、AF003918、AF003923、AF003927、AF004502、AF004503、AF004504、AF004505、AF004892或

AF004893中的任一者。在一些实施例中,复合物包含:(a)根据N-[V_H]-[C_H]-[铰链]-Fc[杵]-[接头]-[IL-2]-C的第一多肽;根据N-[V_L]-[C_L]-C的第二多肽;以及根据N-[V_H]-[C_H]-[铰链]-Fc[臼]-[接头]-[scFv]-C的第三多肽,或者(b)根据N-[V_H]-[C_H]-[铰链]-Fc[臼]-[接头]-[IL-2]-C的第一多肽;根据N-[V_L]-[C_L]-C的第二多肽;以及根据N-[V_H]-[C_H]-[铰链]-Fc[杵]-[接头]-[scFv]-C的第三多肽;其中N-表示肽N末端,C-表示肽C末端,[接头]表示所述接头,V_H指示所述DBA的重链可变结构域,C_H指示免疫球蛋白的重链恒定结构域,VL表示所述DBA的轻链可变结构域,[铰链]表示免疫球蛋白的铰链区,Fc[杵]表示包含杵突变的免疫球蛋白的Fc,Fc[臼]表示包含臼突变的免疫球蛋白的Fc区,C_L表示免疫球蛋白的轻链恒定结构域,并且[scFv]表示所述DBA的scFv。在一些实施例中,复合物包含AF004693、AF004695、AF004696、AF005416、AF005418或AF005419中的任一者。在一些实施例中,复合物包含:(a)根据N-[V_H]-[C_H]-[het-铰链]-Fc[杵]-[接头]-[IL-2]-C的第一多肽;根据N-[V_L]-[C_L]-C的第二多肽;以及根据N-[V_H]-[C_H]-[het-铰链]-Fc[臼]-C的第三多肽,或者(b)根据N-[V_H]-[C_H]-[het-铰链]-Fc[臼]-[接头]-[IL-2]-C的第一多肽;根据N-[V_L]-[C_L]-C的第二多肽;以及根据N-[V_H]-[C_H]-[het-铰链]-Fc[杵]-C的第三多肽,其中N-表示肽N末端,C-表示肽C末端,[接头]表示所述接头,V_H指示所述DBA的重链可变结构域,C_H指示免疫球蛋白的重链恒定结构域,V_L表示所述DBA的轻链可变结构域,[het铰链]表示与所述Fc区异源的铰链区,Fc[杵]表示包含杵突变的免疫球蛋白的Fc,Fc[臼]表示包含臼突变的免疫球蛋白的Fc区,并且C_L表示免疫球蛋白的轻链恒定结构域。在一些实施例中,与所述Fc区异源的铰链区为:(a)源自IgG3抗体的铰链区,或者(b)基于G4S的接头。在一些实施例中,复合物包含AF003632或AF003634。在一些实施例中,IL-2肽包含野生型人IL-2肽。在一些实施例中,IL-2肽包含与人IL-2具有至少约80%、至少约81%、至少约82%、至少约83%、至少约84%、至少约85%、至少约86%、至少约87%、至少约88%、至少约89%、至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或基本上100%序列同一性的序列。在一些实施例中,IL-2肽包含人IL-2的R38、K43、E61、F42、Y45、L72、T3或C125中的至少一者处的突变。在一些实施例中,复合物包含AF003232、AF003243、AF003246、AF003247、AF003341、AF003345、AF003632、AF003634、AF003644、AF003651、AF003652、AF003653、AF003657、AF003740、AF003744、AF003747、AF003749、AF003753、AF003864、AF003873、AF003876、AF003877、AF003913、AF003918、AF003923、AF003927、AF003930、AF003931、AF003933、AF003934、AF003935、AF003941、AF003945、AF003946、AF003947、AF003948、AF003951、AF003952、AF003953、AF003955、AF003956、AF004262、AF004265、AF004273、AF004276、AF004284、AF004287、AF004295、AF004298、AF004385、AF004386、AF004387、AF004388、AF004389、AF004404、AF004405、AF004413、AF004414、AF004415、AF004416、AF004504、AF004505、AF004693、AF004695、AF004696、AF004771、AF004773、AF004892或AF004893中的任一者。

[0005] 在一些方面,本公开提供了一种增强T细胞对异源细胞的反应性的方法,该方法包括向有此需要的受试者施用本文所述的复合物中的任一者。在一些实施例中,异源细胞为癌细胞。

[0006] 在一些方面,本公开提供了一种治疗有此需要的受试者的方法,该方法包括向有此需要的受试者施用权利要求[0162]1至[0162]32中任一项所述的复合物。在一些实施例

中,施用包括静脉内、肌内或皮下施用。在一些实施例中,有此需要的受试者患有癌症。在一些实施例中,治疗性结构域治疗有此需要的受试者。在一些实施例中,有此需要的受试者为哺乳动物。在一些实施例中,有此需要的受试者为人。

[0007] 在一些方面,本公开提供了一种包含编码本文所述的复合物中的任一者的重组核酸的组合物。在一些方面,本公开提供了一种包含编码本文所述的复合物中的任一者的重组核酸中的任一者的宿主细胞。

[0008] 在一些方面,本公开提供了一种包含本文所述的复合物中的任一者和药用赋形剂的药物组合物。

[0009] 在各种方面,本公开提供了一种复合物,其包含:a)治疗性结构域;b)接头;以及c)传感器结构域,其中该治疗性结构域为IL-2激动剂,该治疗性结构域通过该接头与该传感器结构域连接,并且其中该传感器结构域为能够结合该治疗性结构域(该IL-2激动剂结构域)和标记物的双重结合抗体(DBA),其中该标记物为PD-1。

[0010] 在一些方面,传感器结构域在不存在标记物的情况下与治疗性结构域结合。在一些方面,在传感器结构域与标记物结合后,阻断治疗性结构域与传感器结构域的结合。在一些方面,在治疗性结构域与传感器结构域结合后,治疗性结构域的活性降低。在一些方面,在传感器结构域与标记物结合后,治疗性结构域能够表现出治疗活性。在一些方面,在传感器结构域与标记物结合后,治疗性结构域具有治疗活性。

[0011] 在一些方面,传感器结构域包含抗体。在一些方面,抗体为抗体片段或抗体衍生物。在一些方面,复合物包含Fc结构域。在一些方面,复合物包含改善动力学性质的结构域。在一些方面,复合物包括两条重链和两条轻链。

[0012] 在一些方面,复合物包含两个治疗性结构域。在一些方面,复合物包含两个传感器结构域。在一些方面,复合物为经调节的治疗性蛋白。在一些方面,抗体或抗体片段包含IgG、单域抗体片段、纳米抗体或单链可变片段(scFv)。

[0013] 在一些方面,治疗性结构域为IL-2受体激动剂。在一些方面,IL-2受体激动剂为IL-2、IL-15或其变体或融合物。在一些方面,治疗性结构域与传感器结构域结合。

[0014] 在一些方面,接头为多肽接头。在一些方面,接头的长度包含2至200个氨基酸。在一些方面,接头:与传感器结构域的重链附接、与传感器结构域的轻链附接、为与传感器结构域的N末端的融合物或者为与传感器结构域的C末端的融合物。在一些方面,接头:与治疗性结构域的重链附接、与治疗性结构域的轻链附接、为与治疗性结构域的N末端的融合物或者为与治疗性结构域的C末端的融合物。

[0015] 在一些方面,当治疗性结构域与传感器结构域结合时,治疗性结构域的活性降低。在一些方面,治疗性结构域在与传感器结构域结合时无活性。在一些方面,传感器结构域在与治疗性结构域结合时阻断治疗性结构域的活性。在一些方面,当传感器结构域与标记物结合时,治疗性结构域具有活性。在一些方面,传感器结构域对标记物的亲和力等于或大于传感器结构域对治疗性结构域的亲和力。

[0016] 在一些方面,传感器结构域对标记物的亲和力是传感器结构域对治疗性结构域的亲和力的至少2倍、5倍、10倍、100倍、1000倍、10000倍或100000倍。

[0017] 在一些方面,传感器结构域为抗体或其片段。在一些方面,传感器结构域包含双特异性抗体的一个或两个抗原结合结构域。在一些方面,双特异性抗体包含能够与治疗性结

构域结合并且能够与标记物结合的第一抗原结合结构域,以及能够与标记物结合的第二抗原结合结构域。在一些方面,双特异性抗体包含单一治疗性结构域。

[0018] 在一些方面,传感器抗体与IL-2受体激动剂结合并且与PD-1结合。在一些方面,IL-2受体激动剂为IL-2、IL-15或其变体或融合物。

[0019] 在一些方面,传感器结构域包含选自表3、表7、表8或表19的互补决定区(CDR)。在一些方面,传感器结构域选自表8或表18。在一些方面,复合物选自表15或表2A。在一些方面,传感器结构域包含互补决定区,其与选自表3、表7、表8或表19的互补决定区中的任一者具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列同一性。在一些方面,传感器结构域包含V_H或V_L结构域,其与表8或表18中记载的V_H或V_L结构域中的任一者具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列同一性。在一些方面,传感器结构域包含互补决定区,其与SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:20或SEQ ID NO:142至SEQ ID NO:173或SEQ ID NO:238至252中的任一者具有至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列同一性。在一些方面,传感器结构域与SEQ ID NO:21至SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:31至SEQ ID NO:39或SEQ ID NO:127至SEQ ID NO:141中的任一者具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%的序列同一性。在一些方面,蛋白质复合物与SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:80至SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:174至175、SEQ ID NO:181至182、SEQ ID NO:195至196、SEQ ID NO:205至206、SEQ ID NO:210至212、SEQ ID NO:220至223、SEQ ID NO:226至231、SEQ ID NO:259至261、SEQ ID NO:266至282、SEQ ID NO:289至293或其片段中的任一者具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%的序列同一性。

[0020] 在各种方面,本公开提供了一种方法,该方法包括向有此需要的受试者施用上述复合物中的任一者。在各种方面,本公开提供了一种治疗有此需要的受试者的方法,该方法包括向有此需要的受试者施用上述复合物中的任一者。在一些方面,施用包括静脉内、肌内或皮下施用。在一些方面,有此需要的受试者患有癌症。在一些方面,治疗性结构域治疗有此需要的受试者。在一些方面,有此需要的受试者为哺乳动物。在一些方面,有此需要的受试者为人。

[0021] 在一些方面,本公开提供了可以全身递送但可以表现出降低的全身毒性的IL-2缀合物。

[0022] 通过引用合并

[0023] 本说明书中提到的所有出版物、专利和专利申请都以引用方式并入本文,所达到的程度如同每个单独的出版物、专利或专利申请都被具体地和单独地指出以引用方式并入。

附图说明

[0024] 本公开的新颖特征在所附的权利要求书中具体阐述。通过参考阐述了说明性实施例的以下详细描述(在其中利用了本公开的原理)以及附图,将更好地理解本公开的特征和优点,在附图中:

[0025] 图1A和1B显示了本公开的蛋白质复合物的示意图。图1A显示了处于非活性状态的示例性双重结合蛋白质复合物。该蛋白质复合物具有传感器结构域和治疗性结构域。传感器结构域和治疗性结构域通过接头连接。传感器结构域显示与治疗性结构域结合,使治疗性结构域无活性。图1B显示了处于活性状态的示例性双重结合蛋白质复合物。该蛋白质复合物具有传感器结构域和治疗性结构域。传感器结构域和治疗性结构域通过接头连接。传感器结构域显示与标记物结合,使治疗性结构域具有活性。

[0026] 图2显示了包含一个或多个传感器结构域和一个或多个治疗性结构域的本公开的蛋白质复合物的示意图。图2A、2B、2C、2D、2E、2F、2G、2H和2I显示了实例中详述的蛋白质复合物的布置的示例性示意图。

[0027] 图3显示了与对照IL-2-抗HER2蛋白质复合物(SEQ ID NO:65至SEQ ID NO:66)相比,五种示例性PD-1/IL-2 DBA-细胞因子蛋白质复合物(分别为2_A08、2_A11、2_B05、2_B07和7_A04,SEQ ID NO:67至SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69至SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:71至SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:73至SEQ ID NO:74和SEQ ID NO:75至SEQ ID NO:76)的IL-2信号传导减少。

[0028] 图4A、4B、4C、4D、4E和4F提供了包含图2B中描绘的结构的蛋白质复合物在PD-1-Fc或IgG1对照蛋白包被的孔中的IL-2活性。以来自HEK-Blue™IL-2报告细胞的630nm信号的增长的形式来测量活性。图4A至4C提供了三种不同PD-1/IL-2 DBA-IL-2复合物的IL-2活性。图4D提供了抗PD-1抗体-IL-2复合物的活性。图4E提供了抗Her-2抗体-IL-2复合物的活性。图4F提供了抗IL-2抗体-IL-2复合物的活性。

[0029] 图5A、5B、5C、5D、5E、5F、5G和5H提供了包含图2H中描绘的结构的蛋白质复合物在PD-1-Fc或IgG1对照蛋白包被的孔中的IL-2活性。以来自HEK-Blue™IL-2报告细胞的630nm信号的增长的形式来测量活性。图5B至5D提供了两种PD-1/IL-2 DBA复合物的结果,该复合物包含Fab臂中的抗PD-1结构域和Fc臂上的PD-1/IL-2 DBA scFv。图5A、5C和5E至5H提供了对照蛋白质复合物的结果

[0030] 图6提供了野生型小鼠血液中PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物('2B07 IL-2mut')和两种对照复合物的血清浓度降低速率。

[0031] 图7A、7B、7C和7D提供了用PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物('2B07 IL-2mut')和两种对照复合物处理后5天,从野生型小鼠收集的血液和脾脏组织中的$CD8^+$T细胞和NK细胞计数。

[0032] 图8提供了作为肿瘤细胞植入小鼠后天数的函数的肿瘤体积测量值。小鼠接受各种静脉内剂量的PD-1/IL-2 DBA-IL-2复合物、缺乏IL-2的PD-1/IL-2 DBA复合物或同种型对照。

[0033] 图9提供了包含图2E中描绘的结构的对称复合物的IL-2RBG结合。

[0034] 图10提供了包含图2B中描绘的结构的不对称复合物的IL-2RBG结合。

[0035] 图11显示了描绘PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物和未经调节的对照复合物的体

外IL-2RBG结合的图,并比较用两种不同形式的IL-2(包括WT IL-2和IL-2 3x)制备的复合物。图11A显示了含有野生型IL-2的复合物的IL-2RBG结合,并且图11B显示了含有IL-2 3x突变体的复合物的IL-2RBG结合。

[0036] 图12A、12B、13A、13B、14A、14B、15和16显示了描绘包含分别在图2E、2B、2H、2G和2I中描绘的结构的IL-2连接的蛋白质复合物在用PD-1-Fc或IgG1对照蛋白处理的细胞中的IL-2活性的图。以来自HEK-Blue™IL-2报告细胞(一种工程化的人肾细胞系,在激活其IL-2受体时生成可检测的颜色变化)的630nm信号的增长的形式来测量活性。

[0037] 图17显示了描绘包含图2H中描绘的结构的具有人Fc结构域的IL-2连接的蛋白质复合物在使用PD-1-Fc或IgG1对照蛋白处理的细胞中的IL-2活性的图。以来自HEK-Blue™IL-2报告细胞(一种工程化的人肾细胞系,在激活其IL-2受体时生成可检测的颜色变化)的630nm信号的增长的形式来测量活性。

[0038] 图18显示了描绘包含图2B中描绘的结构的具有IL-2 3x变体的蛋白质复合物中的IL-2活性的图。

[0039] 图19A、19B和19C显示了描绘包含图2H中描绘的结构的具有三种不同的抗PD-1Fab臂(分别为纳武单抗、4C10和Knd)的IL-2-3x连接的蛋白质复合物在铺于PD-1-Fc或IgG1对照蛋白包被的孔中的细胞中的IL-2活性的图。以来自HEK-Blue™IL-2报告细胞(一种工程化的人肾细胞系,在激活其IL-2受体时生成可检测的颜色变化)的630nm信号的增长的形式来测量活性。

[0040] 图20显示了描绘包含图2B中描绘的结构的具有不同长度的接头的IL-2连接的蛋白质复合物的IL-2活性的图。在PD-1-Fc或IgG1对照蛋白包被的孔中测试复合物。以来自HEK-Blue™IL-2报告细胞(一种工程化的人肾细胞系,在激活其IL-2受体时生成可检测的颜色变化)的630nm信号的增长的形式来测量活性。

[0041] 图21A和21B显示了描绘通过流式细胞术测量的人原代CD8+ T细胞中PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物对STAT5磷酸化的PD-1依赖性诱导的图。

[0042] 图22A和22B显示了描绘通过颗粒酶B释放评定的混合淋巴细胞反应中人T细胞激活的PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物调节的图。

[0043] 图23A和23B显示了描绘同基因肿瘤模型中抗肿瘤免疫的PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物调节的图。将500,000个MC38肿瘤细胞皮下植入人PD-1敲入小鼠,用复合物静脉内处理小鼠,并评定肿瘤体积。

具体实施方式

[0044] 本公开提供了蛋白质复合物的组合物及其使用方法。由于全身性在靶毒性,白细胞介素2疗法常常无法实现。本文提供了蛋白质复合物,其特异性地表现出对PD-1阳性细胞、特别是经历过抗原的T细胞的治疗功效。此外,本公开的蛋白质复合物是自我调节的,在不存在PD-1的情况下保持无活性并且在与PD-1结合时激活。本文公开的蛋白质复合物可以包括经由接头与IL-2受体激动剂(治疗性结构域)结合的传感器结构域(例如,抗体、Fab或scFv)。传感器结构域可以是对治疗性结构域和PD-1具有亲和力的双重结合抗体,使得PD-1和治疗性结构域竞争与传感器结构域结合。在没有PD-1的情况下,传感器结构域与治疗性结构域结合,使得治疗性结构域无法对IL-2受体发挥活性。当传感器结构域与PD-1结合时,

治疗性结构域未结合并且可以发挥活性。在一些实施例中,复合物对IL-2受体激动剂活性的调节可以是可逆的,即,当传感器结构域与PD-1解离时,传感器结构域可以结合治疗性结构域,使得治疗性结构域再次无法发挥活性。因此,本公开的蛋白质复合物包含传感器结构域,其在存在PD-1的情况下调节IL-2受体激动剂结构域、结合PD-1并使IL-2受体激动剂结构域具有活性。本文公开了蛋白质复合物的各种结构和组合物,包括药物制剂。本文还提供了通过向受试者施用蛋白质复合物来治疗有此需要的受试者的方法。

[0045] 如本文所用,“传感器结构域”通常是指能够结合PD-1并结合IL-2受体激动剂的双重结合抗体。

[0046] 如本文所用,“治疗性结构域”通常是指IL-2受体激动剂。治疗性结构域的非限制性实例包括IL-2、IL-15或以类似于IL-2的方式作用于IL-2受体的任何其他分子。

[0047] 如本文所用,“标记物”通常是指PD-1蛋白。

[0048] 如本文所用,“抗体”通常是指含有部分或全部抗体可变结构域的抗体、抗体衍生物或其片段。

[0049] 术语“重组核酸”通常是指具有非天然存在的核苷酸序列的合成核酸。重组核酸可以在实验室中合成。重组核酸是通过使用重组DNA技术,通过使用DNA的酶促修饰,诸如酶促限制性消化、连接和DNA克隆来制备的。如本文所用,重组核酸可以是DNA或RNA。重组DNA可以在体外转录以生成信使RNA(mRNA),重组mRNA可以被分离、纯化并用于转染细胞。重组核酸可以编码蛋白质或多肽。重组核酸在合适的条件下可以掺入活细胞中,并且可以在活细胞内表达。如本文所用,核酸的“表达”通常是指核酸的转录和/或翻译。核酸表达的产物通常是蛋白质,但也可以是mRNA。在已掺入重组核酸的细胞中检测到由重组核酸编码的mRNA被认为是该核酸在细胞中“表达”的确凿证据。

[0050] 如本文所用,术语“治疗性结构域”通常是指具有在细胞或生物体中激活给定治疗活性的最小序列特征的蛋白质结构域。在治疗性结构域是配体-受体对的配体的情况下,配体具有允许结合或激活受体的最小序列和/或结构特征。

[0051] 将核酸插入或掺入细胞中的过程可以经由转化、转染或转导进行。转化是细菌细胞摄取外源核酸的过程。该过程适用于质粒DNA的繁殖、蛋白质生产和其他应用。转化将重组质粒DNA引入感受态细菌细胞中,感受态细菌细胞从环境中摄取细胞外DNA。一些细菌物种在某些环境条件下天然是感受态的,但在实验室环境中人工诱导感染态。转染是将诸如DNA、RNA或抗体的小分子强制引入真核细胞中。令人困惑的是,‘转染’也指将噬菌体引入细菌细胞中。‘转导’多用于描述将重组病毒载体颗粒引入靶细胞中,而‘感染’则指野生型病毒自然感染人或动物。

[0052] 蛋白质复合物

[0053] 本公开提供了可以自我调节IL-2受体激动剂活性的复合物。本公开的蛋白质复合物可以包括对PD-1具有亲和力并且对IL-2受体激动剂(“传感器结构域”)和IL-2受体激动剂(“治疗性结构域”)具有亲和力的双重结合抗体。传感器结构域和治疗性结构域可以通过接头连接。传感器结构域可以调节治疗性结构域的活性。治疗性结构域的活性的调节可以包括传感器结构域与治疗性结构域的结合,使得治疗性结构域不能对IL-2受体发挥活性。治疗性结构域的活性的调节可以进一步包括在传感器结构域与PD-1结合后传感器结构域解除对治疗性结构域的结合或释放治疗性结构域。因此,本公开的蛋白质复合物是优异的

候选药物,因为IL-2受体激动剂的传感器结构域依赖性活性允许细胞特异性活性,甚至在蛋白质复合物的全身施用后也是如此。与单独施用的IL-2受体激动剂相比,本公开的蛋白质复合物表现出经调节的治疗活性。结果,与单独施用的游离IL-2受体激动剂相比,本公开的蛋白质复合物表现出降低的全身在靶毒性。

[0054] 本公开的蛋白质复合物可以具有Fc区。本公开的蛋白质复合物可以具有改善动力学特性的结构域。例如,本公开的蛋白质复合物可以进一步与半衰期延长剂(诸如Fc区、白蛋白、PEG或另一两性离子聚合物)偶联。本公开的蛋白质复合物可以具有两条重链和两条轻链。本公开的蛋白质复合物可以具有两条重链和一条轻链。本公开的蛋白质复合物可以包括多个传感器结构域和多个治疗性结构域。例如,本公开的蛋白质复合物可以包括两个传感器结构域和两个治疗性结构域,它们全部是连接的并且其中两个治疗性结构域与两个传感器结构域连接。在一些实施例中,本公开的蛋白质复合物可以包括两个传感器结构域和一个治疗性结构域,它们全部是连接的并且其中治疗性结构域可以与两个传感器结构域连接或者仅与两个传感器结构域中的一个连接。

[0055] 在一些实施例中,PD-1可以为表面蛋白,诸如细胞表面蛋白。在一些实施例中,PD-1可以在经历过抗原的T细胞上表达。

[0056] 在一些实施例中,IL-2受体激动剂可以为IL-2、IL-2的变体或IL-2的截短形式。在一些实施例中,IL-2受体激动剂可以为IL-15、IL-15-sushi、IL-15的变体或IL-15-sushi的变体。在一些实施例中,IL-2受体激动剂可以为结合IL2受体β和IL-2受体γ的工程化或设计的肽。在一些实施例中,IL-2受体激动剂可以为结合IL2受体β和IL-2受体γ的抗体。

[0057] 在一些实施例中,与传感器结构域与PD-1的结合相比的传感器结构域与治疗性结构域的结合通过传感器结构域对治疗性结构域的相对亲和力来调节。在一些实施例中,传感器结构域可以具有低于传感器结构域对于治疗性结构域的解离常数的PD-1解离常数(Kd)。因此,传感器对PD-1的亲和力可能比对治疗性结构域的亲和力更高(Kd更低)。本公开的传感器结构域可以被工程化,例如通过亲和力成熟工程化,以具有比对治疗性结构域更高的对PD-1的亲和力(更低的解离常数)。在不存在标记物的情况下,本公开的传感器结构域可以具有足够高的对治疗性结构域的亲和力,使得治疗性结构域被传感器结构域结合。在存在标记物的情况下,传感器结构域对PD-1的亲和力足够高(解离常数低),使得对于与传感器结构域的结合,PD-1胜过治疗性结构域。结果,平衡结合从传感器结构域与IL-2受体激动剂结构域结合的状态转变为IL-2受体激动剂结构域未结合且传感器结构域结合PD-1的状态。

[0058] 传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的至少2倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的至少5倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的至少10倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的至少15倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的至少20倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的至少25倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的至少30倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的至少35倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的至少40倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的至少45倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是

对治疗性结构域的亲和力的至少50倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的至少60倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的至少70倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的至少80倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的至少90倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的至少100倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的至少150倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的至少200倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的至少250倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的至少300倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的至少350倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的至少400倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的至少450倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的至少500倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的至少1000倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的至少10000倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的至少100000倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的2至10倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的10至20倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的20至30倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的30至40倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的40至50倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的50至100倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的100至150倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的150至200倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的200至250倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的250至300倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的300至350倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的350至400倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的400至450倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的450至500倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的500至1000倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的10至80倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的30至70倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的40至60倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的20至50倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的10至1000倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的70至500倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的100至500倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的500至750倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的250至750倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的1000至100000倍。传感器结构域对PD-1的亲和力可以是对治疗性结构域的亲和力的2至100000倍。

[0059] 本公开的蛋白质复合物或其片段可以包含一个或多个互补决定区(CDR),其与本文公开的CDR中的任一者具有至少约80％、至少约81％、至少约82％、至少约83％、至少约

84％、至少约85％、至少约86％、至少约87％、至少约88％、至少约89％、至少约90％、至少约91％、至少约92％、至少约93％、至少约94％、至少约95％、至少约96％、至少约97％、至少约98％、至少约99％或基本上100％的序列同一性。本公开的蛋白质复合物或其片段可以包含一个或多个重链或轻链可变区,其与本文描述的重链或轻链可变区中的任一者具有至少约80％、至少约81％、至少约82％、至少约83％、至少约84％、至少约85％、至少约86％、至少约87％、至少约88％、至少约89％、至少约90％、至少约91％、至少约92％、至少约93％、至少约94％、至少约95％、至少约96％、至少约97％、至少约98％、至少约99％或基本上100％的序列同一性。例如,本公开的蛋白质复合物或其片段可以包含一个或多个CDR,其与SEQ ID NO:1至20、SEQ ID NO:142至173或SEQ ID NO:238至252中的任一者具有至少80％的序列同一性。本公开的蛋白质复合物或其片段可以包含一个或多个CDR,其与SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:142至173或SEQ ID NO:238至252中的任一者具有至少85％的序列同一性。本公开的蛋白质复合物或其片段可以包含一个或多个CDR,其与SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:142至173或SEQ ID NO:238至252中的任一者具有至少90％的序列同一性。本公开的蛋白质复合物或其片段可以包含一个或多个CDR,其与SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:142至173或SEQ ID NO:238至252中的任一者具有至少92％的序列同一性。本公开的蛋白质复合物或其片段可以包含一个或多个CDR,其与SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:142至173或SEQ ID NO:238至252中的任一者具有至少95％的序列同一性。本公开的蛋白质复合物或其片段可以包含一个或多个CDR,其与SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:142至173或SEQ ID NO:238至252中的任一者具有至少97％的序列同一性。本公开的蛋白质复合物或其片段可以包含一个或多个CDR,其与SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:142至173或SEQ ID NO:238至252中的任一者具有至少99％的序列同一性。本公开的蛋白质复合物或其片段可以包含一个或多个CDR,其具有SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:142至173或SEQ ID NO:238至252中的任一者。

[0060] 蛋白质复合物或其片段可以与SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:80至SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:174至175、SEQ ID NO:181至182、SEQ ID NO:195至196、SEQ ID NO:205至206、SEQ ID NO:210至212、SEQ ID NO:220至223、SEQ ID NO:226至231、SEQ ID NO:259至261、SEQ ID NO:266至282或SEQ ID NO:289至293或其片段中的任一者具有至少80％的序列同一性。蛋白质复合物或其片段可以与SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:80至SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:174至175、SEQ ID NO:181至182、SEQ ID NO:195至196、SEQ ID NO:205至206、SEQ ID NO:210至212、SEQ ID NO:220至223、SEQ ID NO:226至231、SEQ ID NO:259至261、SEQ ID NO:266至282或SEQ ID NO:289至293或其片段中的任一者具有至少85％的序列同一性。蛋白质复合物或其片段可以与SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:80至SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:174至175、SEQ ID NO:181至182、SEQ ID NO:195至196、SEQ ID NO:205至206、SEQ ID NO:210至212、SEQ ID NO:220至223、SEQ ID NO:226至231、SEQ ID NO:259至261、SEQ ID NO:266至282或SEQ ID NO:289至293或其片段中的任一者具有至少90％的序列同一性。蛋白质复合物或其片段可以与SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:80至SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:174至175、SEQ ID NO:181至182、SEQ ID NO:195至196、SEQ ID NO:205至206、SEQ ID NO:210至212、SEQ ID NO:220至223、SEQ ID NO:226至231、SEQ ID NO:259至261、SEQ ID NO:266至282或SEQ ID NO:289至293或其片段

中的任一者具有至少92％的序列同一性。蛋白质复合物或其片段可以与SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:80至SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:174至175、SEQ ID NO:181至182、SEQ ID NO:195至196、SEQ ID NO:205至206、SEQ ID NO:210至212、SEQ ID NO:220至223、SEQ ID NO:226至231、SEQ ID NO:259至261、SEQ ID NO:266至282或SEQ ID NO:289至293或其片段中的任一者具有至少95％的序列同一性。蛋白质复合物或其片段可以与SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:80至SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:174至175、SEQ ID NO:181至182、SEQ ID NO:195至196、SEQ ID NO:205至206、SEQ ID NO:210至212、SEQ ID NO:220至223、SEQ ID NO:226至231、SEQ ID NO:259至261、SEQ ID NO:266至282或SEQ ID NO:289至293或其片段中的任一者具有至少97％的序列同一性。蛋白质复合物或其片段可以与SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:80至SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:174至175、SEQ ID NO:181至182、SEQ ID NO:195至196、SEQ ID NO:205至206、SEQ ID NO:210至212、SEQ ID NO:220至223、SEQ ID NO:226至231、SEQ ID NO:259至261、SEQ ID NO:266至282或SEQ ID NO:289至293或其片段中的任一者具有至少99％的序列同一性。蛋白质复合物为SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:80至SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:174至175、SEQ ID NO:181至182、SEQ ID NO:195至196、SEQ ID NO:205至206、SEQ ID NO:210至212、SEQ ID NO:220至223、SEQ ID NO:226至231、SEQ ID NO:259至261、SEQ ID NO:266至282或SEQ ID NO:289至293或其片段中的任一者。

[0061] 本公开的蛋白质复合物可以与SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:80至SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:174至175、SEQ ID NO:181至182、SEQ ID NO:195至196、SEQ ID NO:205至206、SEQ ID NO:210至212、SEQ ID NO:220至223、SEQ ID NO:226至231、SEQ ID NO:259至261、SEQ ID NO:266至282或SEQ ID NO:289至293或其片段中的任一者具有至少95％的序列同一性,并且具有与SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:142至173或SEQ ID NO:238至252中的任一者具有至少80％的序列同一性的一个或多个CDR。本发明的蛋白质复合物可以具有选自以任何组合或顺序布置的SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:142至173或SEQ ID NO:238至252的CDR。

[0062] 上述中任一者的片段可以保留传感器的功能结合结构域或治疗剂的任何功能治疗性结构域。例如,双重结合抗体蛋白质复合物可以包括完整抗体或具有能够与标记物和治疗性结构域结合的抗体区域的片段。在后一种情况下,片段可以为可以与标记物和治疗性结构域结合的scFv。本公开的蛋白质复合物的示例性序列如下表1所示。

[0063] 表1-示例性蛋白质复合物

[0064]

SEQ ID NO	序列	描述
SEQ ID NO: 769	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNS GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSKRYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAEDTAV YYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPL APVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWN SGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSST WPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPC PPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPI VTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQT QTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFK CKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLP PPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTN NGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEK KNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGA EVKKPGASVKVSCKASGDTFTRYYVHWVRQ APGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFI WGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHA SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRW LAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNRFPVT FGPGTKVDIK	PD1-IL2_3x_Cterm_Nivo_2B07_H_H37Y_L_A107Y_S109R; AF4695_pep2

[0065]

SEQ ID NO	序列	描述
SEQ ID NO: 759	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNS GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSKRYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAEDTAV YYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPL APVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWN SGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSST WPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPC PPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPI VTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQT QTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFK CKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLP PPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTN NGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEK KNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTP GGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLE HLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTFEFYMP KKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFH LRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETA TIVEFLNRWITFCQSIISTLT	PD1-IL2_3x_Cterm_Nivo_2B07_H_H37Y_L_A107Y_S109R； AF4695_pep1 和 AF4696_pep1
SEQ ID NO: 745	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYL AWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGS GSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPRTF GQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGAS VVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNS WTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYT CEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	PD1-IL2_3x_Cterm_Nivo_2B07_H_H37Y_L_A107Y_S109R； AF4695_pep3 和 AF4695_pep3

[0066]

SEQ ID NO	序列	描述
SEQ ID NO: 770	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNS GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSKRYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAEDTAV YYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPL APVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWN SGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSST WPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPC PPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPI VTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQT QTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFK CKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLP PPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTN NGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEK KNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTP GGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGA EVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYYMHWVRQ APGQGLEWMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTSGWD VWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSH ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIST WLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLDSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSFP VTFGQGTKVEIK	PD1-IL2_3x_Cterm_Nivo_704var AF4696_pep2

[0067]

SEQ ID NO	序列	描述
SEQ ID NO: 181	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYK NPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQCLEREL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEL KGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSII STLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQS GAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTRYYVHWV RQAPGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRV TMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAG LFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDT TGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGV HTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCN VAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPN AAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDV SEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYN STLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDL GAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKK QVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNY KNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNS YSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK	PD1-IL2_3x_Asym_PD1-IL2_2B07_H_H37Y_L_W38Y_A107Y AF4386_pep1
SEQ ID NO: 182	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTR YYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYASYA QKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYP LAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTW NSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSST WPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPC PPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPI VTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQT QTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFK CKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLP PPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTN NGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEK KNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTP GGGGSGGGSHHHHHH	PD1-IL2_3x_Asym_PD1-IL2_2B07_H_H37Y_L_W38Y_A107Y AF4386_pep2

[0068]

SEQ ID NO	序列	描述
SEQ ID NO: 212	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRYL AWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSFPVTF GPGTKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGAS VVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNS WTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYT CEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	PD1-IL2_3x_Asym_PD1-IL2_2B07_H_H37Y_L_W38Y_A107Y AF4386_pep3
SEQ ID NO: 183	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYK NPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQCLEREL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEL KGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSII STLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQS GAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWV RQAPGQGLEWMGIINPRAGYTSYALKFQGRV TMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTSG WDVWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCG DTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSS GVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSIT CNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPA PNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVV DVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHRED YNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMT KKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTEL NYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVE RNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK	PD1-IL2_3x_Asym_PD1-IL2_7A04_H_M115W_L_Q68D AF4387_pep1

[0069]

SEQ ID NO	序列	描述
SEQ ID NO: 184	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTD YYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYTSYA LKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCTSGWDVWGQGTLVTVSSAKTTAPSVY PLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTW NSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSST WPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPC PPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPI VTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQT QTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFK CKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLP PPEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTN NGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEK KNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTP GGGGSGGGSHHHHHH	PD1-IL2_3x_Asym_PD1-IL2_7A04_H_M115W_L_Q68D AF4387_pep2
SEQ ID NO: 185	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISTWL AWYQQKPGKAPKLLIYAASSLDSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSFPVTF GQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGAS VVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNS WTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYT CEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	PD1-IL2_3x_Asym_PD1-IL2_7A04_H_M115W_L_Q68D AF4387_pep3

[0070] A.传感器结构域

[0071] 本公开的蛋白质复合物包括由具有对PD-1的亲和力和对IL-2受体激动剂的亲和力的双重结合抗体构成的传感器结构域。传感器结构域可以为能够感测第一部分的存在并调节第二部分的任何蛋白质,其中第一部分为PD-1并且第二部分为IL-2受体激动剂。例如,本公开提供了传感器结构域,其可以为能够结合第一部分并且结合并阻断第二部分的活性的抗体或抗体片段,其中第一部分为PD-1并且第二部分为IL-2或另一IL-2受体激动剂。在不存在第一部分的情况下,传感器结构域结合第二部分。如果将第一部分引入系统中,则传感器结构域结合第一部分并解除对第二部分的结合。因此,第二部分的结合和解除结合是可逆的。传感器结构域通过结合IL-2受体激动剂结构域并阻止其与其靶标(IL-2受体)结合来灭活或阻断IL-2受体激动剂结构域的活性。传感器结构域通过在与PD-1结合后释放IL-2受体激动剂结构域以作用于其靶标来调节IL-2受体激动剂结构域。

[0072] 在一些实施例中,传感器结构域是双重结合抗体。双重结合抗体可能能够结合PD-1和IL-2受体激动剂结构域。可以选择或工程化本公开的双重结合抗体以结合PD-1和治疗性结构域。与IL-2受体激动剂结构域相比,双重结合蛋白可能对PD-1具有更高的亲和力。与IL-2受体激动剂结构域相比,双重结合蛋白可以是亲和力成熟的以对PD-1具有更高的亲和力。

[0073] 在一些实施例中,传感器结构域为抗体。传感器结构域也可以为抗体片段。与本文公开的传感器结构域一致的抗体片段保留其表现出与PD-1和IL-2受体激动剂结构域两者

双重结合的能力。双特异性抗体的一个或两个结构域可以为本公开的蛋白质复合物的传感器结构域。在使用双特异性抗体的情况下,双特异性抗体可以包括可以结合IL-2受体激动剂结构域和PD-1的第一抗原结合结构域,并且还可以包括能够结合PD-1的第二抗原结合结构域。

[0074] 在一些实施例中,传感器结构域为抗PD1抗体或其片段(例如,结合PD1或PD-L1的scFv)。

[0075] B.治疗性结构域

[0076] 本公开的蛋白质复合物包括由IL-2受体激动剂构成的治疗性结构域。本公开的治疗性结构域经由接头与传感器结构域连接以形成蛋白质复合物。治疗性结构域可以通过结合IL-2受体发挥治疗活性。

[0077] 在一些实施例中,本公开的蛋白质复合物包含治疗性结构域,其包含IL-2或该细胞因子的变体或融合物。治疗性结构域还可以为上述部分的片段。片段保留了与其靶标(例如,IL-2受体)结合所需的部分的功能区以及活性所需的任何功能区。

[0078] 在一些实施例中,本公开的蛋白质复合物包含治疗性结构域,其包含IL-15或该细胞因子的变体或融合物。治疗性结构域还可以为上述部分的片段。片段保留了与其靶标(例如,IL-2受体)结合所需的部分的功能区以及活性所需的任何功能区。

[0079] 在一些实施例中,本公开的蛋白质复合物包含治疗性结构域,其包含肽以及能够结合IL-2受体β和IL-2受体γ的工程化蛋白质或抗体。治疗性结构域还可以为上述部分的片段。片段保留了与其靶标(例如,IL-2受体)结合所需的部分的功能区以及活性所需的任何功能区。

[0080] C.接头

[0081] 本文公开的蛋白质复合物可以包含接头。接头可以连接两个结构域,诸如传感器结构域和治疗性结构域。各种接头与本公开的蛋白质复合物一致。在一些实施例中,接头可以为氨基酸接头或化学接头。

[0082] 接头可以为稳定的接头。例如,即使在传感器结构域与标记物结合后,接头也可以维持治疗性结构域和传感器结构域之间的连接,从而使治疗性结构域与传感器结构域解除结合。例如,虽然传感器结构域可以解除与治疗性结构域的结合,但是治疗性结构域可以经由接头保持与传感器结构域的连接。与该活性一致的接头的实例可以包括不可切割的接头。

[0083] 接头还可以是柔性接头。柔性接头是足够长的接头,一旦治疗性结构域与传感器结构域解除结合,就允许治疗性结构域与IL-2受体结合。接头的柔性可能会影响治疗功效。例如,当传感器结构域与PD-1结合并与治疗性结构域解除结合时,治疗性结构域需要能够遇到并结合其靶标IL-2受体。如果接头的柔性不足以使治疗性结构域结合IL-2受体,则治疗功效可能会降低或无法发挥。当接头是柔性的时,治疗性结构域可能能够结合IL-2受体并发挥高治疗功效。接头的柔性可以由接头的长度产生。例如,短接头可能在空间上阻碍治疗性结构域结合IL-2受体。较长的接头可能使蛋白质复合物更具柔性,并允许治疗性结构域结合IL-2受体。在一些实施例中,太长的接头可能影响传感器结构域结合治疗性结构域并在不存在PD-1的情况下抑制活性的能力。在一些实施例中,太长的接头可能影响蛋白质治疗性结构域的稳定性或蛋白质治疗性结构域的体内半衰期。

[0084] 在一些实施例中,接头可以与传感器结构域的重链或传感器结构域的轻链附接。接头可以与传感器结构域的N末端或C末端融合。在一些实施例中,接头可以与IL-2受体激动剂结构域的N末端或C末端融合。例如,接头可以与scFV或ScFab的N末端或C末端融合。

[0085] 氨基酸接头。氨基酸接头可以包含任何氨基酸残基。在一些实施例中,有利的氨基酸残基为熵柔性的氨基酸残基。本公开的氨基酸接头中有利的氨基酸残基可以包括甘氨酸和丝氨酸。其他优选的氨基酸残基可以包括丙氨酸、脯氨酸、苏氨酸和谷氨酸。在优选的实施例中,氨基酸接头的长度可以包含3至60个氨基酸残基。在一些实施例中,氨基酸接头可以包含20个氨基酸残基。在一些实施例中,氨基酸接头可以包含40个氨基酸残基。在一些实施例中,氨基酸接头可以包含60个氨基酸残基。在一些实施例中,氨基酸接头可以包含80个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少5个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少10个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少15个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少20个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少25个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少30个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少35个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少40个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少45个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少50个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少55个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少60个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少65个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少70个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少75个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少80个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少85个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少90个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少95个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少100个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少110个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少120个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少130个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少140个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少150个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少160个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少170个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少180个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少190个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少200个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少300个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少400个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含至少500个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含5至10个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含10至15个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含15至20个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含20至25个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含25至30个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含30至35个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含35至40个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含40至45个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含45至50个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含50至55个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含55至60个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含60至65个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含65至70个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含70至75个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含75至80个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含80至85个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含85至90个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含90至95个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含95至100个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含5至80个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含20至40个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含20至80个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含30至60个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含40至50个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含10至30个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含10至20个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含5至25个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含25至75个氨基酸残基。氨基酸

接头可以包含100至500个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含100至300个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含5至500个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过100个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过90个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过80个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过70个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过60个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过50个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过40个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过30个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过20个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过10个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过95个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过90个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过85个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过80个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过75个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过70个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过65个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过60个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过55个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过50个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过45个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过40个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过35个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过30个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过25个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过20个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过15个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过10个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过200个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过300个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过400个氨基酸残基。氨基酸接头可以包含不超过500个氨基酸残基。

[0086] 不可切割的接头。

[0087] 不可切割的接头可以包括不可蛋白水解切割的肽。不可蛋白水解切割的肽可能对给定样品或生物体中存在的蛋白酶呈惰性。例如,肽可以对所有人蛋白酶切割序列呈惰性,并且由此可以包含在人和人样品内高度的稳定性。此类肽还可以包含使蛋白酶切割位点对蛋白酶呈惰性或不能被蛋白酶接近的二级结构。本公开的不可切割的接头可以包含在人蛋白酶存在下在25℃在pH 7缓冲液中至少1小时、至少2小时、至少4小时、至少8小时、至少12小时、至少16小时、至少1天、至少2天、至少3天、至少1周、至少2周或至少1个月的切割半衰期。

[0088] D.蛋白质复合物结构

[0089] 本公开提供了跨越一系列结构的多种蛋白质复合物。本公开的蛋白质复合物可以包含表达为单一单元的IL-2受体激动剂结构域和传感器结构域。IL-2受体激动剂结构域可以表达为传感器结构域的N末端延伸、传感器结构域的C末端延伸、或置于传感器结构域内。例如,蛋白质复合物可以包含肽,该肽从N末端到C末端包含IL-2受体激动剂结构域、肽接头、scFv结构域和任选的标签,诸如纯化标签(例如,V5或myc标签)或定位信号。

[0090] 蛋白质复合物可以包含多个蛋白质亚基。多个蛋白质亚基(例如,IL-2受体激动剂结构域和传感器结构域、两个传感器结构域、或传感器结构域的两个亚基)可以在表达后化学或物理偶联。多个蛋白质亚基可以包含多个传感器和/或治疗性结构域。传感器和/或治疗性结构域可以由单一蛋白质亚基、多个蛋白质亚基或其部分构成。例如,传感器结构域可以包含抗体Fab区,其包含免疫球蛋白轻链和免疫球蛋白重链的若干部分。

[0091] 多个蛋白质亚基可以包含有利于它们选择性偶联的物理手柄。物理手柄可以实现蛋白质亚基之间自发的、不可逆的和/或非介导的(例如,不需要伴侣蛋白或催化复合物)偶

联,从而实现复杂和不对称的蛋白质复合物。例如,在单一中国仓鼠卵巢(CHO)细胞中表达的两个不同的蛋白质复合物亚基可能包含在细胞输出之前自发且不可逆地偶联的物理手柄。此类物理手柄可以包含'杵臼'(KIH)构建体或电荷交换构建体,其中两个蛋白质亚基包含具有相互结合亲和力和特异性的物理结构。此类物理手柄可以包含共价结合对,诸如配置为形成二硫键的多个硫醇。物理手柄可以使得能够容易地产生包含相同或不同结构域的蛋白质复合物。

[0092] 蛋白质复合物可以包含两个或更多个相同的结构域。图2E中提供了此类蛋白质复合物的实例,该图示出了与两个IL-2治疗性结构域偶联的抗体(多传感器结构域)。在该实施例中,蛋白质复合物包含两个蛋白质免疫球蛋白轻链亚基和两个免疫球蛋白重链亚基,它们复合以形成感受态抗体。两个免疫球蛋白重链亚基包含与IL-2治疗性结构域偶联的N末端接头。每个免疫球蛋白重链与免疫球蛋白轻链偶联,使得蛋白质复合物包含两个Fab区,每个Fab区通过接头与治疗性结构域单独偶联。图2D中提供了此类蛋白质复合物的第二个实例,该图示出了与两个IL-2治疗性结构域偶联的抗体(多传感器结构域)。在该实施例中,蛋白质复合物包含两个蛋白质免疫球蛋白轻链亚基和两个免疫球蛋白重链亚基,它们复合以形成感受态抗体。两个免疫球蛋白轻链亚基包含与IL-2治疗性结构域偶联的N末端接头。每个免疫球蛋白重链与免疫球蛋白轻链偶联,使得蛋白质复合物包含两个Fab区,每个Fab区通过接头与治疗性结构域单独偶联。图2G中提供了此类蛋白质复合物的第三个实例,该图示出了与两个IL-2治疗性结构域和四个传感器结构域偶联的抗体(多传感器结构域)。在该实施例中,蛋白质复合物包含两个蛋白质免疫球蛋白轻链亚基和两个免疫球蛋白重链亚基,它们复合以形成感受态抗体。两个免疫球蛋白重链亚基包含与IL-2治疗性结构域偶联的N末端接头,并包含与不靶向治疗性结构域(抗PD-1scFv结构域)的传感器结构域偶联的C末端接头。每个免疫球蛋白重链与免疫球蛋白轻链偶联,使得蛋白质复合物包含两个Fab区和两个Fc结构域,每个Fab区通过接头与治疗性结构域单独偶联,每个Fc结构域通过接头与传感器单独偶联。

[0093] 虽然上述实例提供了具有两个相同的传感器结构域和两个相同的治疗性结构域的对称蛋白质复合物,但蛋白质复合物还可以包含多个不同的传感器和/或治疗性结构域。此类蛋白质复合物可以包含免疫球蛋白单元,该免疫球蛋白单元具有由重链-轻链对构成的第一臂和由抗体片段(诸如scFv、scFab、VH或其片段)构成的第二臂。在此类情况下,重链、抗体片段或轻链可以包含具有接头和治疗性结构域的N末端延伸,分别如图2A、2C和2F所示。可替代地,重链、抗体片段或轻链可以包含具有接头和治疗性结构域的C末端延伸。蛋白质复合物还可以包含具有单一治疗性结构域的对称免疫球蛋白单元。例如,如图2B所示,免疫球蛋白单元可以包含在单条重链上的N末端接头和治疗单元。可替代地,免疫球蛋白单元可以包含在单条轻链上的N末端接头和治疗单元。免疫球蛋白单位还可以包含与单一Fc区偶联的抗体片段对。免疫球蛋白单元可以包含纳米抗体。免疫球蛋白单元可以包含双体抗体。

[0094] 蛋白质复合物可以包含感受态抗体的Fab臂和Fc结构域之间的柔性接头,使得Fab传感器结构域能够结合与Fc结构域的C末端连接的治疗性结构域,如图5I所示。在该实例中,蛋白质复合物包含两个蛋白质免疫球蛋白轻链亚基和两个免疫球蛋白重链亚基,它们复合以形成传感器抗体结构域。

[0095] 蛋白质复合物可以包含不靶向治疗性结构域的传感器结构域。此类传感器结构域可以帮助靶标定位,或者可以增强单独的传感器结构域与PD-1的结合。图2H中提供了包含不靶向治疗性结构域的传感器结构域的蛋白质复合物的实例。该系统包含单特异性抗PD-1抗体,其中第一重链包含与治疗性结构域偶联的C末端接头,并且第二重链包含与对IL-2受体激动剂结构域和PD-1具有双重特异性的传感器结构域偶联的C末端接头。

[0096] 蛋白质复合物可以包含一系列传感器与治疗性结构域的比率。蛋白质复合物可以包含相同数量的传感器结构域和治疗性结构域,其实例由图2D和2E提供,该图示出了具有2个传感器结构域和2个治疗性结构域的蛋白质复合物。蛋白质复合物可以包含比治疗性结构域数量更多的传感器结构域,诸如图2A、2B、2C、2F和2I的蛋白质复合物,其各自包含两个传感器结构域和一个治疗性结构域,或者诸如图2G,其包含四个传感器结构域和两个治疗性结构域,以及图2H,其包含三个传感器结构域和一个治疗性结构域。在这种情况下,治疗性结构域可能能够与多个传感器结构域相互作用,或者可能被限制与多于一个的传感器结构域相互作用。传感器结构域可以与之相互作用的治疗性结构域的数量可能取决于其接头。接头可以足够短以防止治疗性结构域与传感器结构域相互作用,或者可以足够长以允许治疗性结构域与多个传感器结构域相互作用。

[0097] 在特定情况下,蛋白质复合物可以包含具有Fc偶联的治疗性结构域和传感器结构域的抗体。如图2H所示,蛋白质复合物可以包含具有包含接头和治疗性结构域的第一重链C末端延伸和包含接头和传感器结构域的第二重链C末端延伸的抗体。这种设计的抗体可以包含跨越其Fab和C末端延伸传感器结构域的共同靶标。例如,抗体Fab区和C末端延伸传感器结构域可以各自靶向PD-1上的相同表位。相反,这种设计的抗体可以包含跨越其Fab区和C末端延伸传感器结构域的单独靶标。例如,抗体Fab区和C末端延伸传感器结构域可能各自靶向PD-1上的不同表位。如图2I所示,蛋白质复合物可以包含具有第一重链和第二第一重链的抗体,该第一重链包含柔性接头,CH1和CH2结构域(在Fab臂和Fc结构域之间)以及包含接头和治疗性结构域的重链C末端延伸,该第二第一重链包含柔性接头,CH1和CH2结构域(在Fab臂和Fc结构域之间),没有C末端延伸。

[0098] 在一些实施例中,本文所述的蛋白质复合物中的氨基酸可以包含保守取代。保守取代可以包括用具有相似生化特性(例如,电荷、疏水性和尺寸)的不同氨基酸取代一种氨基酸。下表2中提供了保守取代以及可能优选(但不必须)的取代的实例。

[0099] 表2-保守取代实例

[0100]

原始残基	取代实例	优选取代
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys

[0101]

原始残基	取代实例	优选取代
Asn (N)	Gln; His; Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu	Glu
Cys (C)	Ser	Ser
Gln (Q)	Asn	Asn
Glu (E)	Asp	Asp
Gly (G)	Pro; Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 正亮氨酸	Leu
Leu (L)	正亮氨酸; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Leu
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 正亮氨酸	Leu

[0102] 在一些实施例中,本公开描述了编码本文公开的蛋白质复合物的重组核酸。在一些实施例中,重组核酸包含编码整个蛋白质复合物的质粒或载体。在一些实施例中,重组核酸包含分别编码治疗性结构域、传感器结构域和接头的质粒或载体。在一些实施例中,重组核酸包含一起编码治疗性结构域、传感器结构域和接头中的任两者的质粒或载体。

[0103] 药物制剂

[0104] 本公开的蛋白质复合物或编码该蛋白质复合物的重组核酸可以配制为药物组合物。药物组合物可以包含药用载体或赋形剂。如本文所用,“药用”或“药理学上可接受的”包括在适当时施用于受试者时不产生不利、过敏或其他不良反应的分子实体和组合物。“药用载体”包括任何和所有溶剂、分散介质、包衣、抗细菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。此类介质和药剂用于药物活性物质的用途是本领域众所周知的。除了任何常规介质或药剂与活性成分不相容的情况之外,此类介质和药剂在治疗性组合物中的用途是可预期的。补充活性成分通常也掺入组合物中。

[0105] 应用

[0106] 本公开的蛋白质复合物可以用于各种治疗应用。本公开的蛋白质复合物可以用作治疗剂以施用于有此需要的受试者。受试者可以为人或非人哺乳动物。受试者可以患有疾病。该疾病可以是癌症。癌症可以为急性淋巴细胞性白血病(ALL);急性髓细胞性白血病

(AML);青少年癌症;肾上腺皮质癌;艾滋病相关癌症;卡波西肉瘤(软组织肉瘤);艾滋病相关淋巴瘤(淋巴瘤);原发性中枢神经系统淋巴瘤(淋巴瘤);肛门癌;阑尾癌-参见胃肠道类癌肿瘤;儿童星形细胞瘤(脑癌);儿童中枢神经系统非典型畸胎样/横纹肌样肿瘤(脑癌);皮肤基底细胞癌-参见皮肤癌;胆管癌;膀胱癌;骨癌(包括尤文氏肉瘤和骨肉瘤以及恶性纤维组织细胞瘤);脑肿瘤;乳腺癌;支气管肿瘤(肺癌);伯基特淋巴瘤-参见非霍奇金淋巴瘤;类癌肿瘤(胃肠道);原发灶不明的癌;儿童心(心脏)肿瘤;中枢神经系统;儿童非典型畸胎样/横纹肌样肿瘤(脑癌);儿童髓母细胞瘤和其他中枢神经系统胚胎性肿瘤(脑癌);儿童生殖细胞肿瘤(脑癌);原发性中枢神经系统淋巴瘤;子宫颈癌;儿童癌症;不常见的儿童癌症;胆管细胞癌-参见胆管癌;儿童脊索瘤(骨癌);慢性淋巴细胞性白血病(CLL);慢性粒细胞性白血病(CML);慢性骨髓增殖性肿瘤;结直肠癌;儿童颅咽管瘤(脑癌);皮肤t细胞淋巴瘤-参见淋巴瘤(蕈样真菌病和Sézary综合征);原位导管癌(DCIS)-参见乳腺癌;儿童胚胎瘤、髓母细胞瘤和其他中枢神经系统(脑癌);子宫内膜癌(子宫癌);儿童室管膜瘤(脑癌);食道癌;嗅神经母细胞瘤(头颈癌);尤文氏肉瘤(骨癌);儿童颅外生殖细胞肿瘤;性腺外生殖细胞肿瘤;眼癌;眼内黑色素瘤;视网膜母细胞瘤;输卵管癌;恶性骨纤维组织细胞瘤和骨肉瘤;胆囊癌;胃(gastric/stomach)癌;胃肠道类癌肿瘤;胃肠道间质瘤(GIST)(软组织肉瘤);生殖细胞肿瘤;儿童中枢神经系统生殖细胞肿瘤(脑癌);儿童颅外生殖细胞肿瘤;性腺外生殖细胞肿瘤;卵巢生殖细胞肿瘤;睾丸癌;妊娠滋养细胞疾病;毛细胞白血病;头颈癌;儿童心脏肿瘤;肝细胞(肝)癌;朗格汉斯细胞的组织细胞增多症;霍奇金淋巴瘤;下咽癌(头颈癌);眼内黑色素瘤;胰岛细胞肿瘤、胰腺神经内分泌肿瘤;卡波西肉瘤(软组织肉瘤);肾(肾细胞)癌;朗格汉斯细胞组织细胞增多症;喉癌(头颈癌);白血病;唇和口腔癌(头颈癌);肝癌;肺癌(非小细胞、小细胞、胸膜肺母细胞瘤和气管支气管肿瘤);淋巴瘤;男性乳腺癌;骨恶性纤维组织细胞瘤和骨肉瘤;黑色素瘤;眼内(眼睛)黑色素瘤;梅克尔细胞癌(皮肤癌);恶性间皮瘤;转移性癌症;隐匿原发性转移性鳞状颈癌(头颈癌);具有坚果基因改变的中线癌;口癌(头颈癌);多发性内分泌肿瘤综合征;多发性骨髓瘤/浆细胞肿瘤;蕈样真菌病(淋巴瘤);骨髓增生异常综合征、骨髓增生异常/骨髓增殖性肿瘤;慢性的粒细胞性白血病(CML);急性的髓细胞性白血病(AML);慢性骨髓增殖性肿瘤;鼻腔和鼻旁窦癌(头颈癌);鼻咽癌(头颈癌);神经母细胞瘤;非霍奇金淋巴瘤;非小细胞肺癌;口腔癌、唇和口腔癌以及口咽癌(头颈癌);骨肉瘤和骨恶性纤维组织细胞瘤;卵巢癌;胰腺癌;胰腺神经内分泌肿瘤(胰岛细胞肿瘤);乳头状瘤病(儿童喉);副神经节瘤;鼻旁窦和鼻腔癌(头颈癌);甲状旁腺癌;阴茎癌;咽癌(头颈癌);嗜铬细胞瘤;垂体瘤;浆细胞肿瘤/多发性骨髓瘤;胸膜肺母细胞瘤(肺癌);怀孕和乳腺癌;原发性中枢神经系统(CNS)淋巴瘤;原发性腹膜癌;前列腺癌;直肠癌;复发性癌症;肾细胞(肾)癌;视网膜母细胞瘤;儿童的横纹肌肉瘤(软组织肉瘤);唾液腺癌(头颈癌);肉瘤;儿童横纹肌肉瘤(软组织肉瘤);儿童血管肉瘤(软组织肉瘤);尤文氏肉瘤(骨癌);卡波西肉瘤(软组织肉瘤);骨肉瘤(骨癌);软组织肉瘤;子宫肉瘤;Sézary综合征(淋巴瘤);皮肤癌;小细胞肺癌;小肠癌;软组织肉瘤;小细胞肺癌;小肠癌;软组织肉瘤;皮肤鳞状细胞癌-参见皮肤癌;隐匿性原发性转移性的鳞状颈癌(头颈癌);胃(gastric/stomach)癌;t细胞淋巴瘤,皮肤-参见淋巴瘤(蕈样真菌病和Sèzary综合征);睾丸癌;喉癌(头颈癌);鼻咽癌;口咽癌;下咽癌;胸腺瘤和胸腺癌;甲状腺癌;气管支气管肿瘤(肺癌);肾盂和输尿管的移行细胞癌(肾(肾细胞)癌);未知原发性癌;儿童的不常见的癌症;输尿管和

肾盂移行细胞癌(肾(肾细胞)癌);尿道癌;子宫内膜的子宫癌;子宫肉瘤;阴道癌;血管肿瘤(软组织肉瘤);外阴癌;肾母细胞瘤和其他儿童肾肿瘤;或青年人的癌症或在https://www.cancer.gov/types提及的任何癌症。

[0107] 蛋白质复合物可以作为药物组合物施用。本公开的药物组合物可以为本文描述的任何蛋白质复合物与其他化学组分的组合,该其他化学组分诸如载体、稳定剂、稀释剂、分散剂、悬浮剂、增稠剂和/或赋形剂。该药物组合物有利于将本文所述的蛋白质复合物施用于生物体。药物组合物可以以治疗有效量作为药物组合物通过各种形式和途径施用,该途径包括例如静脉内、皮下、肌内、直肠、气溶胶、肠胃外、眼部、肺、经皮、阴道、眼部、鼻、经口、吸入、真皮、关节内、鞘内、鼻内和外用施用。药物组合物可以以局部或全身方式施用,例如,经由将本文描述的蛋白质复合物直接注射到器官中任选地在贮库中施用。

[0108] 肠胃外注射剂可以配制用于推注或连续输注。药物组合物可以呈适合于肠胃外注射剂的形式,作为油性或水性媒介物中的无菌悬浮液、溶液或乳液,并且可以含有配制剂,诸如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。用于肠胃外施用的药物制剂包括呈水溶性形式的本文所述蛋白质复合物的水溶液。本文所述的蛋白质复合物的悬浮液可以制备为油性注射悬浮液。合适的亲脂性溶剂或媒介物包括脂肪油,诸如芝麻油;或合成脂肪酸酯,诸如油酸乙酯或甘油三酯;或脂质体。水性注射悬浮液可以含有增加悬浮液粘度的物质,诸如羧甲基纤维素钠、山梨糖醇或葡聚糖。悬浮液还可以含有合适的稳定剂或药剂,其增加本文所述的此类蛋白质复合物的溶解度和/或减少该蛋白质复合物的聚集,以允许制备高度浓缩的溶液。可替代地,本文所述的蛋白质复合物可以是冻干的或呈粉末形式以用于在使用前用合适的媒介物(例如,无菌无热原水)重构。在一些实施例中,静脉内施用纯化的蛋白质复合物。本公开的蛋白质复合物可以包含足够长的血清半衰期(例如,如本文中例如在实例7中所证明的)以使得给药方案能够包括每日一次、隔日一次、每周两次、每周一次、每两周一次或每月一次的给药频率。本公开的蛋白质复合物可以包含至少12小时、至少24小时、至少36小时、至少48小时、至少72小时、至少96小时、至少120小时,至少168小时、至少250小时、至少320小时或至少400小时的血清半衰期。血清半衰期可以是人血清半衰期、鼠血清半衰期、猪血清半衰期、牛血清半衰期、犬血清半衰期、猫血清半衰期或兔血清半衰期。

[0109] 本公开的蛋白质复合物可以在外科手术期间或经由经皮、皮下、肌内、瘤内、鞘内、外用或局部递送直接应用于器官或器官组织或细胞。在一些实施例中,蛋白质复合物可以直接应用于癌组织(例如,肿瘤)。本文所述的蛋白质复合物可以外用施用并且可以配制成多种可外用施用的组合物,诸如溶液、悬浮液、洗剂、凝胶、糊剂、药棒、香膏、乳霜和软膏。此类药物组合物可以含有增溶剂、稳定剂、张力增强剂、缓冲剂和防腐剂。蛋白质复合物可以在螺旋藻中表达并经口递送。

[0110] 在实施本文提供的治疗或使用方法中,将治疗有效量的本文描述的蛋白质复合物以药物组合物的形式施用于患有癌症的受试者。在一些实施例中,受试者为哺乳动物,诸如人。治疗有效量可以根据疾病的严重程度、受试者的年龄和相对健康状况、所用化合物的效力以及其他因素而广泛变化。

[0111] 药物组合物可以使用一种或多种生理上可接受的载体(包含赋形剂和助剂)配制,该载体有助于将活性化合物加工成可以在药学上使用的制备物。可以根据所选择的施用途径改良制剂。包含本文所述的蛋白质复合物的药物组合物可以例如通过在重组系统中表达

蛋白质复合物、纯化蛋白质复合物、冻干蛋白质复合物、混合或溶解来制造。药物组合物可以包括至少一种药用载体、稀释剂或赋形剂和本文所述的呈游离碱或药用盐形式的化合物。

[0112] 用于制备本文所述的蛋白质复合物的方法包括将本文所述的蛋白质复合物与一种或多种惰性的、药用赋形剂或载体一起配制以形成固体、半固体或液体组合物。固体组合物包括例如粉末、片剂、可分散颗粒、胶囊、扁囊剂和栓剂。这些组合物还可以含有少量的无毒辅助物质,诸如湿润剂或乳化剂、pH缓冲剂和其他药用添加剂。

[0113] 本文所述的某些方法包括向受试者施用包含本公开的蛋白质复合物的静脉内药物组合物,例如,如本文所述的蛋白质复合物。蛋白质复合物的静脉内药物组合物包括适合经由任何静脉内方法施用于受试者的任何制剂,包括推注、随时间推移发生的输注或本领域已知的任何其他静脉内方法。在一些方面,输注速率使得剂量在小于五分钟、多于五分钟但小于15分钟或大于15分钟的时段内施用。在其他方面,输注速率使得剂量在小于5分钟的时段内施用。在其他方面,输注速率使得剂量在大于5分钟且小于15分钟的时段内施用。在一些其他方面,输注速率使得剂量在大于15分钟的时段内施用。

[0114] 如本文所用,“产品”或“剂型”是指用于施用的任何固体、半固体、冻干、水性、液体或冷冻制剂或制备物。施用后,活性部分从产品中释放的速率通常很大程度上受到构成产品本身的赋形剂和/或产品特性的影响。例如,片剂上的肠溶衣被设计成将片剂的内容物与胃内容物分开,以防止例如胃的降解,胃的降解常常引起胃肠道不适或损伤。根据目前公认的常规理解,活性部分的全身暴露对微小的制剂变化相对不敏感。

[0115] 药用赋形剂的非限制性实例可以见于例如Remington:The Science and Practice of Pharmacy,第十九版(Easton,Pa.:Mack Publishing Company,1995);Hoover,John E.,Remington’s Pharmaceutical Sciences,Mack Publishing Co.,Easton,Pennsylvania 1975;Liberman,H.A.和Lachman,L.,Eds.,Pharmaceutical Dosage Forms,Marcel Decker,New York,N.Y.,1980;以及Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,第七版(Lippincott Williams&Wilkins1999),其各自通过引用以其整体并入。

[0116] 本公开的蛋白质复合物可以以有效量施用于患者。如本文所用,术语“有效量”可以指所施用的药剂或化合物的足量,其将在一定程度上缓解所治疗的疾病或病症的一种或多种症状。该结果可能是疾病的征象、症状或原因的减轻和/或缓解或生物系统的任何其他所需的改变。可以施用含有此类药剂或化合物的组合物以用于预防性、增强性和/或治疗性治疗。在任何个别情况下合适的“有效”量可以是使用诸如剂量递增研究的技术确定的。

[0117] 本公开的方法、组合物和试剂盒可以包括预防、治疗、阻止、逆转或改善病症的症状的方法。治疗可以包括用本公开的蛋白质复合物治疗受试者(例如,患有疾病或病症的个体、家畜、野生动物或实验动物)。可以施用本公开的蛋白质复合物来治疗受试者的疾病。受试者可以为人。受试者可以为人;非人灵长类动物,诸如黑猩猩或其他猿或猴物种;农场动物,诸如牛、马、绵羊、山羊、猪;家畜,诸如兔、狗和猫;实验动物,包括啮齿动物,诸如大鼠、小鼠和豚鼠等。受试者可以是任何年龄的。受试者可以为例如老年人、成人、青少年、青春期前期的儿童、儿童、幼儿、婴儿或子宫内胎儿。

[0118] 可以在疾病临床发作之前向受试者提供治疗。可以在疾病临床发作之后向受试者

提供治疗。可以在疾病临床发作之后1天、1周、6个月、12个月或2年或更长时间后向受试者提供治疗。可以在疾病临床发作之后向受试者提供治疗，持续超过1天、1周、1个月、6个月、12个月、2年或更长时间。可以在疾病临床发作之后向受试者提供治疗，持续少于1天、1周、1个月、6个月、12个月或2年。治疗还可以包括在临床试验中治疗人。治疗可以包括向受试者施用药物组合物，诸如整个公开中描述的药物组合物中的一者或多者。治疗可以包括每日一次给药。治疗可以包括通过以下方式将本公开的蛋白质复合物递送至受试者：静脉内、皮下、肌内、通过吸入、真皮、关节内注射、经口、鞘内、经皮、鼻内、经由腹膜途径或直接递送到患病组织上或中，例如，经由外用、关节内注射途径或应用注射途径。

[0119] 在一些实施例中，本公开提供了用于治疗癌症的方法，该方法包括向有此需要的受试者施用有效量的本公开的蛋白质复合物。

[0120] 在一些实施例中，本公开提供了用于治疗癌症的方法，该方法包括向有此需要的患者施用有效量的药物组合物，该药物组合物包含本公开的蛋白质复合物和药用载体。

[0121] 试剂盒

[0122] 本公开的蛋白质复合物可以在各种试剂盒中提供。在一些实施例中，包含本公开的蛋白质复合物的药物组合物可以作为试剂盒供应。试剂盒可以包含含有蛋白质复合物的容器。治疗性蛋白质复合物可以以单剂量或多剂量的可注射溶液的形式提供，或者作为在注射前重构的无菌粉末提供。可替代地，此类试剂盒可以包括用于施用治疗性蛋白质复合物的干粉分散器、液体气溶胶发生器或喷雾器。此类试剂盒可以进一步包含关于药物组合物的适应症和用途的书面信息。

[0123] 除非另外定义，否则本文中使用的所有技术术语所具有的含义与本发明所属领域普通技术人员通常理解的含义相同。如在本说明书和所附权利要求中所用，除非上下文另外明确规定，否则单数形式“一个”、“一种”和“该”包括复数指代物。除非另有说明，否则本文中对“或”的任何引用旨在涵盖“和/或”。

[0124] 每当术语“至少”、“大于”或“大于或等于”出现在一系列两个或更多个数值中的第一个数值之前时，术语“至少”、“大于”或“大于或等于”适用于该系列数值中的每个数值。例如，大于或等于1、2或3相当于大于或等于1、大于或等于2或者大于或等于3。

[0125] 每当术语“不超过”、“小于”、“小于或等于”或“至多”出现在一系列两个或更多个数值中的第一个数值之前时，术语“不超过”、“小于”或“小于或等于”或“至多”适用于该系列数值中的每个数值。例如，小于或等于3、2或1相当于小于或等于3、小于或等于2或者小于或等于1。

[0126] 当值被描述为范围时，应当理解，此类公开包括公开在此类范围内的所有可能的子范围，以及落入此类范围内的具体数值，无论明确指出的是具体数值还是具体子范围。

[0127] 表2A-本文所述的多肽免疫细胞因子设计的示例性肽组分

[0128]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP000113	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNT AVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSR FSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHY TTPPTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQ LTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSE RQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTK DEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC		671
PEP000169	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSW LAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYST PLTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLT SGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQ NGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEY ERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC		672
PEP000243	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVDT SDNSFIHWYQQKPGQSPKLLIYRSSTLESGV PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQ QNYDVPWTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFP PSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKI DGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLT LTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNR NEC		673
PEP000244	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASESVDT SDNSFIHWYQQKPGQSPKLLIYRSSTLESGV PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQ QNYDVPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC		674
PEP000245	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSLLH SSSNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRE SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVY YCQQYYSTPITFGPGTKVDIKRADAAPTVSI FPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKW KIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSST LTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSF NRNEC		675

[0129]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP000288	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSS YTMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGRDIYY PDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCVLLTGRVYFALDSWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDEL TKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGG GGSGGGGSGGGGSAPASSSTKKTQLQLEHL LLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFAMP KKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNGAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYAD ETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT		676
PEP001315	MSTSTEQKLISEEDLQVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASGYTFTTYYMHWVRQAPGQG LEWMGIINPSGGGTLYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWG QGTTVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHAS DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSLLH SSSNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRE SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVY YCQQYYSTPITFGPGTKVDIKGSGLNDIFEA QKIEWHEGKPIPNPLLGLDST	PD1_R04_C10 - 内部抗 PD1 mAb	677
PEP003213	MSTSTEQKLISEEDLQVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASGDTFTRHYVHWVRQAPGQG LEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWG QGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHAS DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGR WLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYES FPVTFGPGTKVDIKGKPIPNPLLGLDST	AB002022_2B07v1	678

[0130]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP003626	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSS YTMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGRDIYY PDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCVLLTGRVYFALDSWGQGTLVTVS SAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLV KGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS DLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASS TKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGP SVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDD PDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTL RVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLG APIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTK KQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTEL NYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWV ERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGGG GGSGGGGSGGGGSAPASSSTKKTQLQLEHL LLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFAMP KKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNGAQSKN FHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYAD ETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT		679

[0131]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP003639	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFT RHYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYAS YAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAP SVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCM VTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVL DSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSV VHEGLHNHHTTESFSRTPGK		680
PEP003641	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNVGT NVGWYQQKPGKAPKALIYSASFRYSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQYYT YPYTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSER QNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDE YERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC		681
PEP003642	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGR WLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYES FPVTFGPGTKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSER QNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDE YERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC		682

[0132]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP003648	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTF TRHYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYA SYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCL VKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPV LKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCS VVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGSGGGSHH HHHH		683
PEP003654	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSE VQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSY TLAWVRQAPGKGLEWVAAIDSSSYTYSPDT VRGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDSNWDALDYWGQGTLVTVSSAKT TAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYF PEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTL SSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDK KIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSA LPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLT CMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTE PVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYS CSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK		684

[0133]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP003655	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSE VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKD TYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRY ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTV SSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLV KGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS DLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASS TKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGP SVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDD PDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTL RVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLG APIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTK KQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTEL NYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWV ERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK		685

[0134]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP003657	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFT RHYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYAS YAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAP SVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCM VTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVL DSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSV VHEGLHNHHTTKSFSRTPGK		686

[0135]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP003780	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFT RHYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYAS YAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK		687
PEP003782	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGR WLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYES FPVTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC		688
PEP003786	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRWL AWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYESFP VTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC		689

[0136]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP003791	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTF TRHYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYA SYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK		690
PEP004129	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSS YTMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGRDIYY PDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCVLLTGRVYFALDSWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTSPPSPEPKSSDTPP PSPRSPEPKSSDTPPPSPRSPEPKSCDTPPPCP RAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQV CTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSP		691

[0137]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004130	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSS YTMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGRDIYY PDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCVLLTGRVYFALDSWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTSPPSPEPKSSDTPP PSPRSPEPKSSDTPPPSPRSPEPKSCDTPPPCP RAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSAPASSS TKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLT RMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEEELKPLE EVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGS ETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIIST LT		692
PEP004133	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTF TRHYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYA SYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTSPPSPEPKSSDTPPPSPRSP EPKSSDTPPPSPRSPEPKSCDTPPPCPRAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPS RDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS P		693

[0138]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004134	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTF TRHYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYA SYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTSPPSPEPKSSDTPPPSPRSP EPKSSDTPPPSPRSPEPKSCDTPPPCPRAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPC RDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGGGGGSGGGGSGGGGSAPASSSTKKTQLQ LEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAK FAMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNGA QSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMC EYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT		694

[0139]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004153	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFT RYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYAS YAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAP SVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCM VTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVL DSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSV VHEGLHNHHTTKSFSRTPGK		695
PEP004158	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGR WLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYN RFPVTFGPGTKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQ LTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSE RQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTK DEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC		696
PEP004159	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGR WLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYN SFPVTFGPGTKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQ LTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSE RQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTK DEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC		697

[0140]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004161	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRY LAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNR FPVTFGPGTKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSER QNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDE YERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC		698
PEP004162	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRY LAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNS FPVTFGPGTKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSER QNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDE YERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC		699
PEP004163	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRY LAWYQQKPGKAPKLLIYYASNLETGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNS FPVTFGPGTKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSER QNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDE YERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC		700
PEP004191	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGDTFTRYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPS GGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSS ASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCRASQSIGRWLAWYQQKP GKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQYERFPVTFGPGT KVDIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPLLG LDST	AB002342_2 B07v5	701

[0141]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004192	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGDTFTRYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPS GGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSS ASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCRASQSIGRWLAWYQQKP GKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQYESFPVTFGPGT KVDIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPLLG LDST	AB002353_2 B07v9	702
PEP004195	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGDTFTRYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPS GGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSS ASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCRASQSIGRWLAWYQQKP GKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQYNRFPVTFGPGT KVDIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPLLG LDST	AB002328_2 B07v4	703
PEP004198	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGDTFTRYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPS GGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSS ASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCRASQSIGRWLAWYQQKP GKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQYNSFPVTFGPGT KVDIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPLLG LDST	AB002293_2 B07v2	704

[0142]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004207	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGDTFTRYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPS GGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSS ASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCRASQSIGRYLAWYQQKP GKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQYNRFPVTFGPGT KVDIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPLLG LDST	AB002347_2 B07v7	705
PEP004208	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGDTFTRYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPS GGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSS ASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCRASQSIGRYLAWYQQKP GKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQYNSFPVTFGPGT KVDIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPLLG LDST	AB002345_2 B07v6	706
PEP004210	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGDTFTRYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPS GGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSS ASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCRASQSIGRYLAWYQQKP GKAPKLLIYYASNLETGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQYNSFPVTFGPGT KVDIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPLLG LDST	AB002348_2 B07v8	707

[0143]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004211	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTRYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGSWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSFPVTFGPGTKVDIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPLLGLDST	AB002326_2B07v3	708
PEP004243	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTRYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK		709

[0144]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004247	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTF TRYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYA SYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCL VKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPV LKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCS VVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK		710
PEP004251	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT KNYMHWVRQAPGQGLEWLGWVSPDSGYT GYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCTTDLLSLELDDAFDIWGQGTMV TVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGC LVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVL QSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPA SSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAG GPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSE DDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYN STLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEE MTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGK TELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKN WVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPG K		711

[0145]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004261	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTSGWDVWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLDSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSFPVTFGQGTKVEIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPLLGLDST	AB002381_7A04v4	712
PEP004271	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHTFTRYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYATYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCASGLFIWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINSWLAWYQQKPGKAPKLLIYATSTLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYRFPVTFGQGTKVEIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPLLGLDST	AB002427_2A11v5	713
PEP004272	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHTFTRYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYATYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCASGLFIWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINSWLAWYQQKPGKAPKLLIYATSTLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYRFPVTFGQGTKVEIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPLLGLDST	AB002413_2A11v3	714

[0146]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004273	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHTFTRYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYATYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCASGLFIWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINSWLAWYQQKPGKAPKLLIYATSTLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYSFPVTFGQGTKVEIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPLLGLDST	AB002417_2A11v4	715
PEP004281	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHTFTRYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYATYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCASGWFVWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINSWLAWYQQKPGKAPKLLIYDTSTLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSFPVTFGQGTKVEIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPLLGLDST	AB002410_2A11v2	716
PEP004299	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTSGWDVWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLDSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSFPVTFGQGTKVEIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPLLGLDST	AB002360_7A04v1	717

[0147]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004340	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTRYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINP RAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCTSGWDVWGQGTLVTV SSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSP SSLSASVGDRVTITCRASQSISTWLAWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLDSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSFPVTFGQ GTKVEIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPL LGLDST	AB002365_7 A04v2	718
PEP004349	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTTYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINP RAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCTSGWDVWGQGTLVTV SSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQMTQSP SSLSASVGDRVTITCRASQSISTWLAWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLDSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSFPVTFGQ GTKVEIKAAAGSGSEQKLISEEDLGKPIPNPL LGLDST	AB002370_7 A04v3	719

[0148]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004356	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSS YTMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGRDIYY PDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCVLLTGRVYFALDSWGQGTLVTVS SAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLV KGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS DLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASS TKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGP SVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDD PDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTL RVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLG APIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTK KQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELN YKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVE RNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV KPGGSLRLSCAASGFTFSSYTLAWVRQAPG KGLEWVAAIDSSSYTYSPDTVRGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSNWD ALDYWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGG GGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKA SQNVGTNVGWYQQKPGKAPKALIYSASFR YSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY FCQQYYTYPYTFGGGTKLEIKGGGSGGGSH HHHHH		720

[0149]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004361	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFT RHYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYAS YAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAP SVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCM VTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVL DSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSV VHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTTYYMHWVRQAPGQGLEWM GIINPSGGGTLYAQKFQGRVTMTRDTSTSTV YMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTTV TVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIVMTQ SPDSLAVSLGERATINCKASQSLLHSSSNKN YLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDR FSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYY STPITFGPGTKVDIK		721

[0150]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004363	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFT RYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYAS YAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAP SVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCM VTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVL DSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSV VHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTTYYMHWVRQAPGQGLEWM GIINPSGGGTLYAQKFQGRVTMTRDTSTSTV YMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTTV TVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIVMTQ SPDSLAVSLGERATINCKASQSLLHSSSNKN YLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDR FSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYY STPITFGPGTKVDIK		722

[0151]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004395	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSS YTMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGRDIYY PDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCVLLTGRVYFALDSWGQGTLVTVS SAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLV KGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS DLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASS TKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGP SVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDD PDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTL RVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLG APIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTK KQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELN YKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVE RNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGDTFTRHYVHWVRQAP GQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGL FIWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGS HASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI GRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGV PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YESFPVTFGPGTKVDIKGGGSGGGSHHHHH H		723

[0152]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004398	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSS YTMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGRDIYY PDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCVLLTGRVYFALDSWGQGTLVTVS SAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLV KGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS DLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASS TKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGP SVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDD PDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTL RVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLG APIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTK KQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELN YKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVE RNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGDTFTRYYVHWVRQAP GQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGL FIWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGS HASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI GRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGV PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YNRFPVTFGPGTKVDIKGGGSGGGSHHHHH H		724

[0153]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004404	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSS YTMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGRDIYY PDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCVLLTGRVYFALDSWGQGTLVTVS SAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLV KGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS DLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASS TKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGP SVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDD PDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTL RVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLG APIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTK KQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELN YKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVE RNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGHTFTRYYMHWVRQAP GQGLEWMGIINPSGGYATYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCASGL FIWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGS HASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI NSWLAWYQQKPGKAPKLLIYATSTLESGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YYRFPVTFGQGTKVEIKGGGSGGGSHHHHH H		725

[0154]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004406	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSS YTMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGRDIYY PDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCVLLTGRVYFALDSWGQGTLVTVS SAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLV KGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS DLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASS TKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGP SVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDD PDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTL RVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLG APIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTK KQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELN YKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVE RNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWVRQAP GQGLEWMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTSGW DVWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGG SHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLDSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QSYSFPVTFGQGTKVEIKGGGSGGGSHHHH HH		726

[0155]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004416	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYTS YALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCTSGWDVWGQGTLVTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCM VTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVL DSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSV VHEGLHNHHTTKSFSRTPGK		727

[0156]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004418	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT RYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYTS YALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCTSGWDVWGQGTLVTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCM VTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVL DSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSV VHEGLHNHHTTKSFSRTPGK		728

[0157]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004419	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTT YYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYTSY ALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCTSGWDVWGQGTLVTVSSAKTTAP SVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCM VTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVL DSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSV VHEGLHNHHTTKSFSRTPGK		729
PEP004420	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGR WLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYE RFPVTFGPGTKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQ LTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSE RQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTK DEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC		730
PEP004421	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGS WLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYN SFPVTFGPGTKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQ LTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSE RQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTK DEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC		731

[0158]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004423	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINS WLAWYQQKPGKAPKLLIYATSTLESGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYY RFPVTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQ LTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSE RQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTK DEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC		732
PEP004426	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIST WLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLDSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSY RFPVTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQ LTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSE RQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTK DEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC		733
PEP004427	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIST WLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLDSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYS FPVTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSER QNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDE YERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC		734

[0159]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004431	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHTFT RYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYAT YAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCASGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAP SVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCM VTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVL DSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSV VHEGLHNHHTTESFSRTPGK		735

[0160]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004433	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYTS YALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCTSGWDVWGQGTLVTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCM VTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVL DSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSV VHEGLHNHHTTESFSRTPGK		736

[0161]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004435	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT RYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYTS YALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCTSGWDVWGQGTLVTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCM VTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVL DSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSV VHEGLHNHHTTESFSRTPGK		737

[0162]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004436	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTT YYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYTSY ALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCTSGWDVWGQGTLVTVSSAKTTAP SVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCM VTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVL DSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSV VHEGLHNHHTTESFSRTPGK		738
PEP004438	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTF TRYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYA SYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCL VKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPV LKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCS VVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGSGGGSHH HHHH		739

[0163]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004440	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHTF TRYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYA TYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCASGLFIWGQGTLVTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCL VKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPV LKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCS VVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGSGGGSHH HHHH		740
PEP004442	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TDYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYT SYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCTSGWDVWGQGTLVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPK IKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISW FVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALP IQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTIS KPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTC LVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEP VLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGSGGGSH HHHHH		741

[0164]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004443	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TKNYMHWVRQAPGQGLEWLGWVSPDSGY TGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLR SEDTAVYYCTTDLLSLELDDAFDIWGQGTM VTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTL GCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPA VLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAH PASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNA AGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDV SEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHRED YNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVN NKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPE KEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNN GKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEK KNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRT PGGGGSGGGSHHHHHH		742
PEP004445	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TRYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYT SYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCTSGWDVWGQGTLVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPK IKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISW FVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALP IQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTIS KPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTC LVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEP VLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGSGGGSH HHHHH		743

[0165]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004446	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TTYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYT SYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCTSGWDVWGQGTLVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPK IKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISW FVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALP IQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTIS KPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTC LVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEP VLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGSGGGSH HHHHH		744
PEP004729	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSY LAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARF SGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSN WPRTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQ LTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSE RQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTK DEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC		745

[0166]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004810	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGAS VKVSCKASGDTFTRYYVHWVRQAPGQGLE WMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTST STVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQG TLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVT LGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFP AVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVA HPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPN AAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVD VSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHRE DYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKV NNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPP EEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTN NGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVE KKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSR TPGK		746

[0167]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004813	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGAS VKVSCKASGYTFTRYYMHWVRQAPGQGLE WMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTMTRDTST STVYMELSSLRSEDTAVYYCTSGWDVWGQ GTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSS VTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHT FPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCN VAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPA PNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVV VDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTH REDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCK VNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPP PEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWT NNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLR VEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTES FSRTPGK		747
PEP004818	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TRYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYT SYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCTSGWDVWGQGTLVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPK IKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISW FVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALP IQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTIS KPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTC LVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEP VLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK		748

[0168]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004822	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEV KKPGASVKVSCKASGDTFTRYYVHWVRQA PGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVT MTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAG LFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCG DTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLS SGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQ SITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPC KCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIV TCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQ TQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKE FKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVY VLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYV EWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYS DLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHT TESFSRTPGK		749

[0169]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004825	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEV KKPGASVKVSCKASGYTFTRYYMHWVRQ APGQGLEWMGIINPRAGYTSYALKFQGRVT MTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTSG WDVWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVC GDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGS LSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWP SQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCP PCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPI VTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSG KEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQ VYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDI YVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFM YSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNH HTTESFSRTPGK		750

[0170]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004829	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQ SGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTRYYVH WVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKF QGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVY YCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPL APVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTW NSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTS STWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTI KPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMI SLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVE VHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDW MSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSV RAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDF MPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSD GSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHE GLHNHHTTESFSRTPGK		751

[0171]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004832	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQ SGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYYMH WVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYTSYALKF QGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVY YCTSGWDVWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYP LAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLT WNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVT SSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGP TIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNV EVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQD WMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGS VRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDF MPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSD GSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHE GLHNHHTTESFSRTPGK		752

[0172]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004836	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSG GGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GDTFTRYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPS GGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSS AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVK GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDL YTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTK VDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSV FIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPD VQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRV VSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPI ERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQ VTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNY KNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVER NSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK		753

[0173]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004839	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEE ELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSG GGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYTFTRYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPR AGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELS SLRSEDTAVYYCTSGWDVWGQGTLVTVSS AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVK GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDL YTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTK VDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSV FIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPD VQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRV VSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPI ERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQ VTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNY KNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVER NSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK		754

[0174]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004957	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQCLER ELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF CQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFT RYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYAS YAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAP SVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCM VTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVL DSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSV VHEGLHNHHTTESFSRTPGK		755

[0175]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004958	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQCLER ELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF CQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHTFT RYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYAT YAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCASGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAP SVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCM VTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVL DSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSV VHEGLHNHHTTESFSRTPGK		756

[0176]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004959	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQCLER ELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF CQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYTS YALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCTSGWDVWGQGTLVTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCM VTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVL DSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSV VHEGLHNHHTTESFSRTPGK		757

[0177]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004960	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNY KNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQCLER ELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF CQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTT YYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYTSY ALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCTSGWDVWGQGTLVTVSSAKTTAP SVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCM VTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVL DSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSV VHEGLHNHHTTESFSRTPGK		758

[0178]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004967	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFS NSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSKR YYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRA EDTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPK IKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISW FVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALP IQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTIS KPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTC MVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEP VLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTESFSRTPGGGGGSGGGG SGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMIL NGINNYKNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKH LQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLI SNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFL NRWITFCQSIISTLT		759

[0179]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004973	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFS NSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSKR YYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRA EDTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPK IKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISW FVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALP IQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTIS KPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTC LVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEP VLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGHTFTRYYMHWVRQAPGQGLE WMGIINPSGGYATYAQKFQGRVTMTRDTS TSTVYMELSSLRSEDTAVYYCASGLFIWGQ GTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINSWL AWYQQKPGKAPKLLIYATSTLESGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYRF PVTFGQGTKVEIKGGGSGGGSHHHHHH		760

[0180]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004974	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFS NSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSKR YYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRA EDTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPK IKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISW FVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALP IQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTIS KPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTC LVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEP VLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLE WMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTMTRDTST STVYMELSSLRSEDTAVYYCTSGWDVWGQ GTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISTWL AWYQQKPGKAPKLLIYAASSLDSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSFP VTFGQGTKVEIKGGGSGGGSHHHHHH		761

[0181]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004978	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TTYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGGT LYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTTVTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCM VTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVL DSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSV VHEGLHNHHTTESFSRTPGGGGGSGGGGSG GGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNG INNYKNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQ CLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNI NVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR WITFCQSIISTLT		762

[0182]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004981	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TTYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGGT LYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTTVTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCL VKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPV LKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCS VVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVK VSCKASGDTFTRYYVHWVRQAPGQGLEW MGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTS TVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGT LVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQM TQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRWLAW YQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYERFPVTF GPGTKVDIKGGGSGGGSHHHHHH		763

[0183]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004982	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TTYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGGT LYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTTVTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCL VKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPV LKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCS VVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVK VSCKASGDTFTRYYVHWVRQAPGQGLEW MGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTS TVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGT LVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQM TQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRYLAW YQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSFPVTF GPGTKVDIKGGGSGGGSHHHHHH		764

[0184]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004983	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TTYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGGT LYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTTVTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCL VKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPV LKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCS VVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVK VSCKASGHTFTRYYMHWVRQAPGQGLEW MGIINPSGGYATYAQKFQGRVTMTRDTSTS TVYMELSSLRSEDTAVYYCASGLFIWGQGT LVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQM TQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINSWLAW YQQKPGKAPKLLIYATSTLESGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYRFPVT FGQGTKVEIKGGGSGGGSHHHHHH		765

[0185]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP004984	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TTYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGGT LYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTTVTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSS VTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTCL VKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPV LKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCS VVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVK VSCKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLEW MGIINPRAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTS TVYMELSSLRSEDTAVYYCTSGWDVWGQG TLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISTWLA WYQQKPGKAPKLLIYAASSLDSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSFPV TFGQGTKVEIKGGGSGGGSHHHHHH		766

[0186]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP005089	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFS NSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSKR YYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRA EDTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPK IKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISW FVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALP IQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTIS KPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTC MVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEP VLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTESFSRTPGGGGGSGGGG SGGGGSAPASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMIL NGINNYKNPKLTRMLTAKFAMPKKATELK HLQCLEEELKPLEEVLNGAQSKNFHLRPRD LISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVE FLNRWITFAQSIISTLT		767

[0187]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP005090	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFS NSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSKR YYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRA EDTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPK IKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISW FVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALP IQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTIS KPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTC LVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEP VLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVA RIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMD YWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGS HASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQD VNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGV PSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ HYTTPPTFGQGTKVEIK	AB001203_trastuzumab 对照	768

[0188]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP005091	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFS NSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSKR YYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRA EDTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPK IKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISW FVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALP IQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTIS KPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTC LVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEP VLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGDTFTRYYVHWVRQAPGQGLE WMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTST STVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQG TLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRWLA WYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNRFPV TFGPGTKVDIK		769

[0189]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP005092	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFS NSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSKR YYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRA EDTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFP EPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPK IKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISW FVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALP IQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTIS KPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTC LVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEP VLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYTFTRYYMHWVRQAPGQGLE WMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTMTRDTST STVYMELSSLRSEDTAVYYCTSGWDVWGQ GTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISTWL AWYQQKPGKAPKLLIYAASSLDSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSFP VTFGQGTKVEIK		770
PEP005469	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTISRY LNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYST PRTFGQGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLT SGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQ NGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEY ERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC		771

[0190]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP005470	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFT AYYIHWVRQAPGQGLEFMGWIHPYSGGTN YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAIGYYYGKFDYWGQGTLVTVSSA KTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKG YFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLY TLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKV DKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFI FPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDV QISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVV SALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIE RTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQV TLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYK NTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERN SYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGGGGGS GGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLD LQMILNGINNYKNPKLTDMLTFEFYMPKKA TELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLR PRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETAT IVEFLNRWITFCQSIISTLT		772

[0191]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP005471	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFT AYYIHWVRQAPGQGLEFMGWIHPYSGGTN YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAIGYYYGKFDYWGQGTLVTVSSA KTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKG YFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLY TLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKV DKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFI FPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDV QISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVV SALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIE RTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQV SLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKN TEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKKNWVERNS YSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASGDTFTRYYVHWVRQAPGQG LEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWG QGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHAS DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGR WLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYN RFPVTFGPGTKVDIK		773
PEP005473	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHS NGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASG VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY CMQGTHWPPTFGQGTKVEIKRADAAPTVSI FPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKW KIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSST LTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSF NRNEC		774

[0192]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP005474	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFN GYDIHWVRQAPGQGLEWMGWMNPDNGN TGLAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRS EDTAVYYCARGMATRFPYYYYGMDVWGQ GTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSS VTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHT FPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCN VAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPA PNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVV VDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTH REDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCK VNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPP PEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWT NNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLR VEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTES FSRTPGGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKK TQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDM LTFEFYMPKKATELKHLQCLERELKPLEEVL NLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETT FMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT		775

[0193]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP005475	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFN GYDIHWVRQAPGQGLEWMGWMNPDNGN TGLAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRS EDTAVYYCARGMATRFPYYYYGMDVWGQ GTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSS VTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHT FPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCN VAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPA PNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVV VDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTH REDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCK VNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPP PEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTN NGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVE KKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFS RTPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLV QSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTRYYV HWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYASYAQK FQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAV YYCAAGLFIWGQGTLVTVSSASGGGGSGG GGSGGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSIGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYS ASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQYNRFPVTFGPGTKVDIK		776

[0194]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP005631	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSS YTMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGRDIYY PDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCVLLTGRVYFALDSWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGG SGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKK PGASVKVSCKASGDTFTRYYVHWVRQAPG QGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMT RDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFI WGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSH ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIG RWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQY NRFPVTFGPGTKVDIK		777

[0195]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP005634	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSS YTMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGRDIYY PDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCVLLTGRVYFALDSWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELT KNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGG SGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKK PGASVKVSCKASGYTFTRYYMHWVRQAPG QGLEWMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTMTR DTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTSGWDV WGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSH ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIS TWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLDSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQS YSFPVTFGQGTKVEIK		778
PEP005789	MSTSTQVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKAS GITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYD GSKRYYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMN SLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSS ASGGGGSGGGGSGGGGSHASEIVLTQSPAT LSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKP GQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDF TLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGT KVEIKEQKLISEEDLGSGLNDIFEAQKIEWHE GKPIPNPLLGLDSTNA	纳武单抗-scFV	779

[0196]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP005790	MSTSTQVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMYWVRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTNFNEKFKNRVTLTTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQGTTVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESGVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIKEQKLISEEDLGSGLNDIFEAQKIEWHEGKPIPNPLLGLDSTNA	派姆单抗-scFv	780
PEP005794	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDEFTRYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNRFPVTFGPGTKVDIKEQKLISEEDLGSGLNDIFEAQKIEWHEGKPIPNPLLGLDST	AB003178_2B07v12	781
PEP005797	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDEFTRYYVHWVRQAPGQGLEWMGIQNPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRELAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNRFPVTFGPGTKVDIKEQKLISEEDLGSGLNDIFEAQKIEWHEGKPIPNPLLGLDST	AB003183_2B07v14	782

[0197]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP005798	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDEFTRYYVHWVRQAPGQGLEWMGIQNPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNRFPVTFGPGTKVDIKEQKLISEEDLGSGLNDIFEAQKIEWHEGKPIPNPLLGLDST	AB003180_2B07v13	783
PEP005801	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTRYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRELAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNRFPVTFGPGTKVDIKEQKLISEEDLGSGLNDIFEAQKIEWHEGKPIPNPLLGLDST	AB003174_2B07v11	784
PEP005803	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTRYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNRFPVTFGPGTKVDIKEQKLISEEDLGSGLNDIFEAQKIEWHEGKPIPNPLLGLDST	AB002328_2B07v4	785

[0198]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP005817	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGETFTRYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNRFPVTFGPGTKVDIKEQKLISEEDLGSGLNDIFEAQKIEWHEGKPIPNPLLGLDST	AB003155_2B07v10	786
PEP005840	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTSGWDVWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLDEGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSFPVTFGQGTKVEIKEQKLISEEDLGSGLNDIFEAQKIEWHEGKPIPNPLLGLDST	AB003012_7A04v7	787
PEP005842	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTSGWDVWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLDSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSFPVTFGQGTKVEIKEQKLISEEDLGSGLNDIFEAQKIEWHEGKPIPNPLLGLDST	AB002365_7A04v2	788

[0199]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP005843	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTSGWEVWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLDEGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSFPVTFGQGTKVEIKEQKLISEEDLGSGLNDIFEAQKIEWHEGKPIPNPLLGLDST	AB003007_7A04v6	789
PEP005845	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYYMHWVRQAPGQGLEWMGIIQPRAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTSGWDVWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLDEGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSFPVTFGQGTKVEIKEQKLISEEDLGSGLNDIFEAQKIEWHEGKPIPNPLLGLDST	AB003005_7A04v5	790
PEP005847	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGETFTNYYIHWVRQAPGQGLEWMGIIDPRAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAGGWEDWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRISQSISSFLAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSFTSPITFGQGTRLEIKEQKLISEEDLGSGLNDIFEAQKIEWHEGKPIPNPLLGLDST	AB003209_2B05v4	791

[0200]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP005853	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGETFTNYYIHWVRQAPGQGLEWMGVINPRAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAGGWEDWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRISQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSFTSPITFGQGTRLEIKEQKLISEEDLGSGLNDIFEAQKIEWHEGKPIPNPLLGLDST	AB003200_2B05v1	792
PEP005860	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFTRYYMHWVRQAPGQGLEWMGVINPSGGYATYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCASGWDVWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYATSTLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSSPVTFGQGTKVEIKEQKLISEEDLGSGLNDIFEAQKIEWHEGKPIPNPLLGLDST	AB003021_2A11v7	793
PEP005863	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGGTFTNYYIHWVRQAPGQGLEWMGIIDPRAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAGGWEDWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRISQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSFTSPITFGQGTRLEIKEQKLISEEDLGSGLNDIFEAQKIEWHEGKPIPNPLLGLDST	AB003201_2B05v2	794

[0201]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP005867	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGHTFTRYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINP SGGYATYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCASGLFIWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCRASQSINSWLAWYQQKP GKAPKLLIYATSTLESGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQSYRFPVTFGQGTK VEIKEQKLISEEDLGSGLNDIFEAQKIEWHEG KPIPNPLLGLDST	AB002427_2 A11v5	795
PEP005868	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGHTFTRYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINP SGGYATYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCASGLFIWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCRASQSINSWLAWYQQKP GKAPKLLIYATSTLESGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQYYRFPVTFGQGTK VEIKEQKLISEEDLGSGLNDIFEAQKIEWHEG KPIPNPLLGLDST	AB002413_2 A11v3	796
PEP005869	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGHTFTRYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINP SGGYATYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCASGLFIWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCRASQSINSWLAWYQQKP GKAPKLLIYATSTLESGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQYYSFPVTFGQGTK VEIKEQKLISEEDLGSGLNDIFEAQKIEWHEG KPIPNPLLGLDST	AB002417_2 A11v4	797

[0202]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP005880	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHTFTRYYMHWVRQAPGQGLEWMGVINPSGGYATYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCASGWDVWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINSWLAWYQQKPGKAPKLLIYATSTLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSSPVTFGQGTKVEIKEQKLISEEDLGSGLNDIFEAQKIEWHEGKPIPNPLLGLDST	AB002864_2A11v6	798
PEP005887	MSTSTQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGSTFTNYYIHWVRQAPGQGLEWMGIIDPRAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAGGWEDWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRISQSISSFLAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSFTSPITFGQGTRLEIKEQKLISEEDLGSGLNDIFEAQKIEWHEGKPIPNPLLGLDST	AB003202_2B05v3	799

[0203]

肽 ID	序列	注释	SEQ ID NO:
PEP006177	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT		800

[0204] 实例

[0205] 以下实例是说明性的并且不限制本文描述的装置、方法、系统和试剂盒的范围。

[0206] 实例1

[0207] 一组结合人PD-1和人IL-2的双重结合抗体(DBA)的分离

[0208] 该实例描述了本公开的传感器结构域的分离,特别是结合人PD-1和人IL-2的一组DBA。从Tumbler抗体噬菌体展示文库(Distributed Bio,Inc.)中分离出抗PD-1和抗IL-2DBA。抗体噬菌体展示文库被构建为并入Superhuman 2.0抗体文库的重链CDR1、重链CDR2和轻链多样性与来自PD-1结合抗体的10个重链CDR3序列(SEQ ID NO:11至SEQ ID NO:20)的组合。

[0209] 表3-PD-1结合物的HC-CDR3

[0210]

SEQ ID NO	序列	描述
SEQ ID NO: 11	CAAGLFIW	PD-1 结合物的 HC-CDR3
SEQ ID NO: 12	CAGGWLDW	PD-1 结合物的 HC-CDR3

[0211]

SEQ ID NO	序列	描述
SEQ ID NO: 13	CARDHLGGSYQPW	PD-1 结合物的 HC-CDR3
SEQ ID NO: 14	CARDLVGVSPGINYVPRYYYYYYGMDVW	PD-1 结合物的 HC-CDR3
SEQ ID NO: 15	CARDTGLGYYYGSGDFDYW	PD-1 结合物的 HC-CDR3
SEQ ID NO: 16	CARSGYSYGYYFDYW	PD-1 结合物的 HC-CDR3
SEQ ID NO: 17	CARTGGYPAIDSW	PD-1 结合物的 HC-CDR3
SEQ ID NO: 18	CASGWDVW	PD-1 结合物的 HC-CDR3
SEQ ID NO: 19	CASSPLQWVDVW	PD-1 结合物的 HC-CDR3
SEQ ID NO: 20	CTSGMDVW	PD-1 结合物的 HC-CDR3

[0212] 按照标准方案对该文库进行了四轮选择。简而言之,将噬菌体文库与抗原一起孵育,然后在磁珠上捕获并在Kingfisher磁性颗粒处理器上洗涤,从磁珠中洗脱并通过在大肠杆菌(E.coli)中传代进行扩增。第1轮与50nM人PD-1-His融合物(R&D Systems,Prod.Num.8986-PD)一起孵育并用TRIS NTA生物素(Sigma-Aldrich Prod.Num.75543)和链霉亲和素磁珠捕获。第2轮与100nM生物素化IL-2(Creative Biomart,Prod.Num.IL2-501H,使用标准方案生物素化)一起孵育并在链霉亲和素磁珠上捕获。第3轮与50nM食蟹猴PD-1-Fc融合物(R&D Systems,Prod.Num.8578-PD)一起孵育并在G蛋白磁珠上捕获。第4轮与50nM生物素化人IL-2一起孵育,并在链霉亲和素磁珠上捕获。最终选择作为单菌落铺板,并挑取380个菌落进行Sanger测序。选择一百五十一个独特的克隆进行表达。针对大肠杆菌表达对每个克隆的scFv序列进行密码子优化,并将相应的DNA序列发送至Integrated DNA Technologies,Inc.(IDT),以合成为具有T7启动子、翻译起始位点和T7终止子的gBlock。使用PURExpress体外蛋白质合成试剂盒(New England Biolabs,Inc.,Prod.Num.E6800)表达来自编码scFv的每个gBlock的蛋白质。PURExpress scFv蛋白直接用于HTRF结合测定和基于细胞的功能测定。测试每个scFv与PD-1和人IL-2的结合。八十一种抗体显示出对PD-1和IL-2的双重结合活性,并且结合曲线的荧光信号值总结如表5所示。为了检查DBA结合结构域阻断IL-2受体结合的能力,将V5标记的DBA scFv在384孔板中进行连续稀释。铕标记的链

霉亲和素、生物素标记的IL-2(Acro Biosystems,Prod.Num.IL2-H82E4)、IL-2受体β(Fc-IL2RB)(Acro Biosystems,Prod.Num.ILB-H5253)和APC标记的抗Fc抗体。将板在室温下孵育2小时,并在Envision(Perkin Elmer)上读取HTRF信号作为IL-2:IL2RB结合的量度。四个scFv(SEQ ID NO:31至SEQ ID NO:34)结合PD-1、结合IL-2并阻断IL-2与IL-2RB的结合(表4)。

[0213] 表4-DBA和对照

SEQ ID NO	序列	描述
SEQ ID NO: 31	QVQLVQSGAEVKKPGVSVKVSCKASGYTF PRSYIHWVRQAPGQGLEWMGWINPHSGDT YYAQNFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLR SEDTAVYYCARDTGLGYYYGSGDFDYWG QGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHAS DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISR YLNWYQQKPGKAPKLLIYTASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAN RFPLTFGPGTKVDIK	能够结合 PD-1 标记物和 IL-2 治疗剂的 DBA
SEQ ID NO: 32	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF PRYHIHWVRQAPGQGLEWMGMINPSGGTT TYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLR SEDTAVYYCARDTGLGYYYGSGDFDYWG QGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHAS DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISS WLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQS HSFPLTFGGGTKVEIK	能够结合 PD-1 标记物和 IL-2 治疗剂的 DBA
SEQ ID NO: 33	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TRYYIHWVRQAPGQGLEWMGWINAYNGD TNYAQKLQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCARDSYYYDSFDYWGQGTL VTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQM TQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTITDWLA WYQQKPGKAPKLLIYGASNLQGGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYSS WTFGQGTKVEIK	能够结合 PD-1 标记物和 IL-2 治疗剂的 DBA

[0214]

SEQ ID NO	序列	描述
SEQ ID NO: 34	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSDGST TYAQSFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCASGWDVWGQGTLVTVSSASG GGGSGGGGSGGGGSHASDIVMTQSPDSLA VSLGERATINCKSSQSVFSSANNKNYLAWY QQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSG SGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYFGTPV TFGGGTKVEIK	能够结合 PD-1 标记物和 IL-2 治疗剂的 DBA

[0215]

[0216] 表5

名称	PD1 结合	IL2 结合	IL2RB 阻断
无 DNA	5	6	1,490
PD1-IL2-R01-H08	576	-9	1,829
PD1-IL2-R01-H09	1,015	131	1,772
PD1-IL2-R02-A03	1,508	635	1,714
PD1-IL2-R02-A04	909	978	1,618
PD1-IL2-R02-A05	1,557	23	1,735
PD1-IL2-R02-A06	357	515	1,772
PD1-IL2-R02-A08	995	520	1,612
PD1-IL2-R02-A09	1,421	1,470	1,495
PD1-IL2-R02-A10	500	838	1,847
PD1-IL2-R02-A11	1,625	1,559	1,783
PD1-IL2-R02-A12	1,725	130	1,586
PD1-IL2-R02-B01	746	1,077	1,516
PD1-IL2-R02-B02	1,740	1,107	1,849
PD1-IL2-R02-B04	11	2,346	1,536
PD1-IL2-R02-B05	1,665	2,489	1,613
PD1-IL2-R02-B06	1,527	32	1,605
PD1-IL2-R02-B07	1,685	628	1,814
PD1-IL2-R02-B08	1,446	92	1,680
PD1-IL2-R02-B10	211	343	1,607
PD1-IL2-R02-B11	1,426	915	1,509
PD1-IL2-R02-B12	1,264	316	1,762
PD1-IL2-R02-C01	1,463	296	1,743
PD1-IL2-R02-C02 (SEQ ID NO: 31)	1,299	298	1,069
PD1-IL2-R02-C03 (SEQ ID NO: 32)	1,383	293	1,211
PD1-IL2-R02-C04	1,622	575	1,857

[0217]

[0218]

名称	PD1 结合	IL2 结合	IL2RB 阻断
PD1-IL2-R02-C06	1,376	34	1,684
PD1-IL2-R02-C07	34	87	1,607
PD1-IL2-R02-C08	1,468	619	1,671
PD1-IL2-R02-C10	174	256	1,757
PD1-IL2-R02-C12	1,367	340	1,723
PD1-IL2-R02-D01	1,421	68	1,614
PD1-IL2-R02-D02	1,473	539	1,726
PD1-IL2-R06-A10	1,269	9	1,796
PD1-IL2-R06-A11	1,376	34	1,762
PD1-IL2-R06-A12	1,305	7	1,681
PD1-IL2-R06-B01	10	2,109	1,307
PD1-IL2-R06-B02	1,666	15	1,799
PD1-IL2-R06-B03	923	4	1,661
PD1-IL2-R06-B04	1,782	28	1,666
PD1-IL2-R06-B06	1,223	17	1,648
PD1-IL2-R06-B08	1,777	1,160	1,738
PD1-IL2-R06-B10	13	31	1,847
PD1-IL2-R06-B11	1,534	24	1,699
PD1-IL2-R06-B12	822	1,125	1,604
PD1-IL2-R06-C02	1,667	26	1,671
PD1-IL2-R06-C04	1,491	7	1,759
PD1-IL2-R06-C08	1,448	8	1,693
PD1-IL2-R06-C09	1,158	1,525	1,602
PD1-IL2-R06-C11	1,879	-2	1,785
PD1-IL2-R06-C12	1,669	1,998	1,033
PD1-IL2-R06-D02	280	432	1,677
PD1-IL2-R06-D03	9	93	1,606
PD1-IL2-R06-D05	505	-3	1,786
PD1-IL2-R06-D07	1,577	24	1,820
PD1-IL2-R06-D10	1,751	49	1,719
PD1-IL2-R06-D11	405	593	1,576
PD1-IL2-R06-D12	1,024	1,423	1,649
PD1-IL2-R06-E01	1,628	3	1,724
PD1-IL2-R06-E02	1,554	16	1,598
PD1-IL2-R06-E04 (SEQ ID NO: 33)	50	247	1,108
PD1-IL2-R06-E05	1,364	14	1,734
PD1-IL2-R06-E06	1,627	15	1,735
PD1-IL2-R06-E07	1,801	12	1,698

[0219]

名称	PD1 结合	IL2 结合	IL2RB 阻断
PD1-IL2-R06-E09	1,467	11	1,511
PD1-IL2-R06-E11	1,805	294	1,767
PD1-IL2-R06-E12	4	-7	1,735
PD1-IL2-R06-F01	196	280	1,629
PD1-IL2-R06-F03	1,377	28	1,642
PD1-IL2-R06-F04	26	779	1,726
PD1-IL2-R06-F05	1,493	18	1,625
PD1-IL2-R06-F06	1,577	46	1,595
PD1-IL2-R06-F07	1,544	335	1,682
PD1-IL2-R06-F08	1,570	9	1,780
PD1-IL2-R06-F09	30	41	1,776
PD1-IL2-R06-F10	1,745	24	1,607
PD1-IL2-R06-F11	1,586	12	1,574
PD1-IL2-R06-F12	623	8	1,645
PD1-IL2-R06-G01	130	184	1,640
PD1-IL2-R06-G02	1,754	20	1,623
PD1-IL2-R06-G04	1,348	13	1,596
PD1-IL2-R06-G05	1,382	10	1,846
PD1-IL2-R06-G06	1,383	4	1,744
PD1-IL2-R06-G08	1,708	124	1,533
PD1-IL2-R06-G09	557	756	1,527
PD1-IL2-R06-G10	1,595	35	1,703
PD1-IL2-R06-G11	1,469	17	1,709
PD1-IL2-R06-G12	1,281	1,479	1,713
PD1-IL2-R06-H01	381	4	1,647
PD1-IL2-R06-H02	1,501	20	1,748
PD1-IL2-R06-H03	1,132	1,449	1,617
PD1-IL2-R06-H04	355	1	1,677
PD1-IL2-R06-H05	1,409	21	1,561
PD1-IL2-R06-H06	1,491	23	1,650
PD1-IL2-R06-H07	12	13	1,701
PD1-IL2-R06-H08	847	1,118	1,746
PD1-IL2-R06-H09	1,732	22	1,662
PD1-IL2-R06-H10	830	1,151	1,569
PD1-IL2-R07-A03	1,786	28	1,511
PD1-IL2-R07-A04	730	973	1,613
PD1-IL2-R07-A05	477	663	1,327
PD1-IL2-R07-A08	1,628	841	1,618

[0220]

名称	PD1 结合	IL2 结合	IL2RB 阻断
PD1-IL2-R07-A09 (SEQ ID NO: 34)	1,235	2,040	910
PD1-IL2-R07-A10	1,716	63	1,518
PD1-IL2-R07-B01	1,397	32	1,565
PD1-IL2-R07-B02	192	321	1,634
PD1-IL2-R07-B03	65	202	1,604
PD1-IL2-R07-B04	1,862	410	1,527
PD1-IL2-R07-B05	965	351	1,389
PD1-IL2-R07-B06	1,882	44	1,497
PD1-IL2-R07-B07	6	2,549	1,517
PD1-IL2-R07-B08	906	1,047	1,475
PD1-IL2-R07-B09	1,788	27	1,384
PD1-IL2-R07-B10	18	19	1,635
PD1-IL2-R07-B11	1,765	9	1,641
PD1-IL2-R07-C01	230	367	1,536
PD1-IL2-R07-C02	236	304	1,500
PD1-IL2-R07-C03	20	1,347	1,536
PD1-IL2-R07-C07	15	275	1,665
PD1-IL2-R07-C10	1,064	317	1,550
PD1-IL2-R07-C11	1,523	642	1,460
PD1-IL2-R07-C12	1,377	49	1,707
PD1-IL2-R07-D01	1,541	79	1,657
PD1-IL2-R07-D03	1,483	33	1,481
PD1-IL2-R07-D04	923	1,104	1,517
PD1-IL2-R07-D06	1,664	416	1,734
PD1-IL2-R07-D07	6	835	1,512
PD1-IL2-R07-D10	1,580	193	1,572
PD1-IL2-R07-D11	1,401	798	1,614
PD1-IL2-R07-E02	1,473	992	1,830
PD1-IL2-R07-E03	1,459	422	1,683
PD1-IL2-R07-E05	512	913	1,513
PD1-IL2-R07-E06	1,483	1,178	1,526
PD1-IL2-R07-E07	1,181	1,060	1,524
PD1-IL2-R07-E08	1,604	472	1,717
PD1-IL2-R07-E09	1,733	23	1,569
PD1-IL2-R07-E10	1,472	251	1,545
PD1-IL2-R07-E11	1,146	56	1,777
PD1-IL2-R07-E12	1,698	106	1,764
PD1-IL2-R07-F01	3	17	1,529

[0221]

名称	PD1 结合	IL2 结合	IL2RB 阻断
PD1-IL2-R07-F02	348	752	1,537
PD1-IL2-R07-F03	1,788	520	1,750
PD1-IL2-R07-F04	1,416	145	1,767
PD1-IL2-R07-F06	1,422	438	1,579
PD1-IL2-R07-F09	1,589	17	1,456
PD1-IL2-R07-F10	24	19	1,778
PD1-IL2-R07-F12	505	196	1,553
PD1-IL2-R07-G01	4	214	1,560
PD1-IL2-R07-G02	1,610	61	1,735
PD1-IL2-R07-G04	82	147	1,600
PD1-IL2-R07-G05	981	216	1,475
PD1-IL2-R07-G06	860	512	1,655
PD1-R04-C10	1,552	4	1,550
PD1-R07-A05	653	19	1,730
PD1-R07-A10	484	25	2,290
PD1-R07-C09	1,911	20	2,080
PD1-R07-D03	1,733	22	2,208
PD1-R07-D05	1,760	16	1,578
PD1-R07-D06	1,997	22	1,749
PD1-R07-E05	633	24	2,246
PD1-R07-G12	907	11	1,577
PD1-R15-B02	1,671	28	1,797
PDL1-DB03-H02	18	11	1,725
抗 Her2 (SEQ ID NO: 28)	4	20	1,636

[0222] 实例2

[0223] 双重结合抗体(DBA)-细胞因子蛋白质复合物

[0224] 该实例描述了本公开的双重结合抗体(DBA)-细胞因子蛋白质复合物。本公开的各种DBA-细胞因子蛋白质复合物被设计为包括细胞因子、接头和一个或多个双重结合抗体结构域。示例性构建体的图示示于图5中。

[0225] 一系列DBA-细胞因子蛋白质复合物可以被设计为具有两个标记物结合结构域和一个治疗性结构域。具有表8中提供的序列的表6中提供的该系列中使用的DBA表现出对标记物和治疗性结构域的一系列亲和力。表6、表9和表10中提供了示例性DBA复合物。

[0226] 表6-示例性DBA细胞因子蛋白质复合物

[0227]

SEQ ID NO	序列	描述

[0228]

SEQ ID NO	序列	描述
SEQ ID NO: 51	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFST YYIHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGGTVYAQ KFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAV YYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPL APVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWN SGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSST WPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPC PPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPI VTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQ TQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEF KCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVL PPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWT NNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVE KKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRT PGK	PD1-IL2_6C12_N36T_Sym_L_Long_Pep1；对称 DBA-细胞因子复合物 IgG 格式
SEQ ID NO: 52	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYK NPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEEL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEL KGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSII STLTVPGVGVPGAGVPGVGVPGGGVPGVGVP GGGVPGAGVPGGGVPGVGVPGAGVPGVGVP GGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQYIS SGLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLDNGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYERL PLTFGGGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTS GGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNG VLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERH NSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	PD1-IL2_6C12_N36T_Sym_L_Long_Pep2；对称 DBA-细胞因子复合物 IgG 格式

[0229]

SEQ ID NO	序列	描述
SEQ ID NO: 53	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYK NPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEEL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEL KGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSII STLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQ SGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSTYYIHWV RQAPGQGLEWMGIINPSGGGTVYAQKFQGRV TMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAAG LFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDT TGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGV HTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCN VAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPN AAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDV SEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYN STLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDL GAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTK KQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELN YKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVER NSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK	PD1-IL2_6C12_N36T_D68E_Sym_H_Short_Pep1；对称 DBA-细胞因子复合物 IgG 格式
SEQ ID NO: 54	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQYISSGL AWYQQKPGKAPKLLIYKASSLENGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYERLPLT FGGGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGA SVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLN SWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSY TCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	PD1-IL2_6C12_N36T_D68E_Sym_H_Short_Pep2；对称 DBA-细胞因子复合物 IgG 格式

[0230]

SEQ ID NO	序列	描述
SEQ ID NO: 77	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTT YYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYA QNFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCASGWDVWGQGTTVTVSSAKTTAPSVY PLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLT WNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTS STWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIK PCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISL SPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHT AQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSG KEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQV YVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYV EWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSD LRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTES FSRTPGK	PD1-IL2_L_7A05scFv_PD1-R07-A05_Pep1；不对称 DBA-细胞因子复合物 IgG-scFv 格式
SEQ ID NO: 78	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTT YYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYA QNFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCASGWDVWGQGTTVTVSSASGGGGSG GGGSGGGGSHASEIVMTQSPATLSVSPGERAT LSCRASQSVNTYLAWYQQKPGQAPRLLIYGA STRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAV YYCQQYGSSPVTFGQGTRLEIKPRGPTIKPCPP CKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVT CVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQ THREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKC KVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPP PEKEMTKKQVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNN GKTELNYKNTEPVLKSDGSYFMYSKLTVEKK NWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG GGGSGGGSHHHHHH	PD1-IL2_L_7A05scFv_PD1-R07-A05_Pep2；不对称 DBA-细胞因子复合物 IgG-scFv 格式

[0231]

SEQ ID NO	序列	描述
SEQ ID NO: 79	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYK NPKLTDMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEEL KPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEL KGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSII STLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQS PATLSVSPGERATLSCRASQSVNTYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEF TLTISSLQSEDFAVYYCQQYGSSPVTFGQGTR LEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFL NNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQ DSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEAT HKTSTSPIVKSFNRNEC	PD1-IL2_L_7A05scFv_PD1-R07-A05_Pep3；不对称 DBA-细胞因子复合物 IgG-scFv 格式

[0232] 表7-双重结合抗体(DBA)

[0233]

双重结合抗体	标志物	治疗性	HV* SEQ ID NO:	LV** SEQ ID NO:	HV_ cdr1 SEQ ID NO:	HV_ cdr2 SEQ ID NO:	HV_ cdr3 SEQ ID NO:	LV_ cdr1 SEQ ID NO:	LV_ cdr2 SEQ ID NO:	LV_ cdr3 SEQ ID NO:
AB001718	PD-1	IL-2	127	135	142	148	154	157	163	168
AB001744	PD-1	IL-2	128	136	143	148	154	158	163	169
AB002022	PD-1	IL-2	129	137	144	149	154	159	164	170

[0234] *HV是指各抗体的重链可变区

[0235] **LV是指各抗体的轻链可变区

[0236] 表8-DBA蛋白质组分的序列

[0237]

SEQ ID NO:	DBA 蛋白质组分	序列
SEQ ID NO: 127	AB001718_HV	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDT FSTYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGG GTVYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSS LRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 128	AB001744_HV	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYT FSNYYIHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGG TVYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 129	AB002022_HV	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDT FTRHYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGG YASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSS LRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:	DBA 蛋白质组分	序列
SEQ ID NO: 135	AB001718_LV	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQYISS GLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLDNGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YERLPLTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 136	AB001744_LV	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGT GLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLDNGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YNRAPLTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 137	AB002022_LV	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGR WLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YESFPVTFGPGTKVDIK
SEQ ID NO: 142	AB001718_HV_cdr1	GDTFSTYYVH
SEQ ID NO: 146	AB001843_HV_cdr1	GYTFSGYYIH
SEQ ID NO: 147	AB001866_HV_cdr1	GYTFSNYYVH
SEQ ID NO: 148	AB001718_HV_cdr2	IINPSGGGTVYAQKFQG
	AB001744_HV_cdr2	IINPSGGGTVYAQKFQG
SEQ ID NO: 149	AB002022_HV_cdr2	IINPSGGYASYAQKFQG
SEQ ID NO: 154	AB001718_HV_cdr3	AAGLFI
SEQ ID NO: 157	AB001718_LV_cdr1	RASQYISSGLA
SEQ ID NO: 158	AB001744_LV_cdr1	RASQSIGTGLA
SEQ ID NO: 159	AB002022_LV_cdr1	RASQSIGRWLA
SEQ ID NO: 160	AB001609_LV_cdr1	RASQSISNRLA
SEQ ID NO: 161	AB001638_LV_cdr1	QASQSISNYLA
SEQ ID NO: 162	AB001843_LV_cdr1	RASQSISSYLN
SEQ ID NO: 163	AB001718_LV_cdr2	KASSLDN
	AB001744_LV_cdr2	KASSLDN
SEQ ID NO: 164	AB002022_LV_cdr2	SASNLET
SEQ ID NO: 168	AB001718_LV_cdr3	QQYERLPL
SEQ ID NO: 169	AB001744_LV_cdr3	QQYNRAPL
SEQ ID NO: 170	AB002022_LV_cdr3	QQYESFPV

[0238]

[0239] 表9-示例性DBA-细胞因子蛋白质复合物

[0240]

名称	DBA / 治疗性	DBA	类型	DBA 结构域	治疗性结构域	二抗结构域	重链 1 SEQ ID NO:	重链 2 SEQ ID NO:	重链 3 SEQ ID NO:
AF003229	PD-1 / IL-2	AB001718	图 2B	2	1	N/A	80	97	114

[0241]

名称	DBA / 治疗性	DBA	类型	DBA 结构域	治疗性结构域	二抗结构域	重链 1 SEQ ID NO:	重链 2 SEQ ID NO:	重链 3 SEQ ID NO:
AF003230	PD-1 / IL-2	AB001744	图 2B	2	1	N/A	81	98	115
AF003232	PD-1 / IL-2	AB002022	图 2B	2	1	N/A	82	99	116
AF003250	PD-1 / IL-2	AB001718	图 2A	1	1	抗 PD-1	83	100	117
AF003251	PD-1 / IL-2	AB001744	图 2A	1	1	抗 PD-1	84	101	118
AF003253	PD-1 / IL-2	AB002022	图 2A	1	1	抗 PD-1	85	102	119

[0242] 表10-表9中的肽的序列

[0243]

SEQ ID NO:	DBA	序列
SEQ ID NO: 80	AF003229_Pep1	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLT FKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRP RDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFC QSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGDTFSTYYVHWVRQAPGQGLEWMGII NPSGGGTVYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDT AVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDT TGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS DLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRG PTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCV VVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLR VVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGS VRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWT NNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERN SYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK

[0244]

SEQ ID NO:	DBA	序列
SEQ ID NO: 81	AF003230_Pep1	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLT FKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRP RDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFC QSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGYTFSNYYIHWVRQAPGQGLEWMGIIN PSGGGTVYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTT GSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSD LYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGP TIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCV VVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLR VVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGS VRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWT NNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERN SYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK
SEQ ID NO: 82	AF003232_Pep1	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLT FKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRP RDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFC QSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGDTFTRHYVHWVRQAPGQGLEWMGII NPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDT AVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDT TGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS DLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRG PTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCV VVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLR VVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGS VRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWT NNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERN SYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK

[0245]

SEQ ID NO:	DBA	序列
SEQ ID NO: 83	AF003250_Pep1	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLT FKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRP RDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFC QSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGDTFSTYYVHWVRQAPGQGLEWMGII NPSGGGTVYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDT AVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDT TGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS DLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRG PTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCV VVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLR VVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGS VRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWT NNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERN SYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK
SEQ ID NO: 84	AF003251_Pep1	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLT FKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRP RDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFC QSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGYTFSNYYIHWVRQAPGQGLEWMGIIN PSGGGTVYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTT GSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSD LYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGP TIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCV VVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLR VVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGS VRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWT NNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERN SYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK

[0246]

SEQ ID NO:	DBA	序列
SEQ ID NO: 85	AF003253 _Pep1	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLT FKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRP RDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFC QSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGDTFTRHYVHWVRQAPGQGLEWMGII NPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDT AVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDT TGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS DLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRG PTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCV VVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLR VVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGS VRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWT NNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVERN SYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK

[0247] 实例3

[0248] PD-1/IL-2双重结合抗体(DBA)细胞因子复合物减少$CD8^+$T细胞STAT5磷酸化

[0249] 该实例描述了通过融合将PD-1/IL-2 DBA部分添加到IL-2分子中来减少IL-2介导的信号传导,如使用CD8+ T细胞STAT5磷酸化读出的。合成表11中所示的PD-1/IL-2 DBA的基因并在HEK293中表达为IgG蛋白,其中IL-2通过接头(Genscript)与重链或轻链的N末端融合。尽管只有两种抗体作为scFv阻断IL-2与IL-2RB的结合,但是超过30种抗体能够通过呈如图2D和2E所示的格式的连接的IL-2结构域来减少IL-2信号传导。选择这些DBA的示例性组进行分析并与对照抗HER2-IL-2免疫细胞因子进行比较(表11和图3)。

[0250] 表11-IgG PD-1/IL-2 DBA蛋白质复合物

[0251]

名称	重链序列 SEQ ID NO	轻链序列 SEQ ID NO
抗 HER2	(SEQ ID NO: 65) EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWV ARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISAD TSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCS RWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTL GCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGV HTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTW PSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRG PTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFP PKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDD PDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHRE DYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKE FKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSV RAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTC MVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNY KNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKK NWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTT KSFSRTPGK	(SEQ ID NO: 66) APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQ MILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNI NVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFCQSIISTLTVP GVGVPGAGVPGVGVPGGGVPG VGVPGGGVPGAGVPGGGVPGV GVPGAGVPGVGVPGGGDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQD VNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYS ASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQHYTTPP TFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFP PSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPK DINVKWKIDGSERQNGVLNSWT DQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEY ERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSF NRNEC

[0252]

名称	重链序列 SEQ ID NO	轻链序列 SEQ ID NO
2-A08	(SEQ ID NO: 67) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKV SGYTFTSYDINWVRQAPGQGLEWM GWINPNSGDTGYAQKFQGRVTMTR DTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCA RDTGLGYYYGSGDFDYWGQGTLV TVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGS SVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSL SSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVT SSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKK IEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPS VFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVD VSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQT QTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDW MSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQ VTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGK TELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKL RVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLH NHHTTKSFSRTPGK	(SEQ ID NO: 68) APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQ MILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNI NVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFCQSIISTLTVP GVGVPGAGVPGVGVPGGGVPG VGVPGGGVPGAGVPGGGVPGV GVPGAGVPGVGVPGGGDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCQASQD IHNYLNWYQQKPGKAPKLLIYD VSNLETGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQAISFPLT FGGGTKVEIKRADAAPTVSIFPP SSEQLTSGGASVVCFLNNFYPK DINVKWKIDGSERQNGVLNSWT DQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEY ERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSF NRNEC

[0253]

名称	重链序列 SEQ ID NO	轻链序列 SEQ ID NO
2-A11	(SEQ ID NO: 69) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGHTFTRYYMHWVRQAPGQGLEW MGIINPSGGYATYAQKFQGRVTMT RDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC ASGWDVWGQGTLVTVSSAKTTAP SVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVK GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPA VLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSIT CNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKP CPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKD VLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQI SWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNST LRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKV NNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQV YVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDF MPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEP VLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVE RNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRT PGK	(SEQ ID NO: 70) APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQ MILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNI NVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFCQSIISTLTVP GVGVPGAGVPGVGVPGGGVPG VGVPGGGVPGAGVPGGGVPGV GVPGAGVPGVGVPGGGDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI NSWLAWYQQKPGKAPKLLIYA TSTLESGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQSYSFPPT FGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPP SSEQLTSGGASVVCFLNNFYPK DINVKWKIDGSERQNGVLNSWT DQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEY ERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSF NRNEC

[0254]

名称	重链序列 SEQ ID NO	轻链序列 SEQ ID NO
2-B05	(SEQ ID NO: 71) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTNYYIHWVRQAPGQGLEW MGIINPRAGYTSYALKFQGRVTMT RDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC AGGWLDWGQGTLVTVSSAKTTAP SVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVK GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPA VLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSIT CNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKP CPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKD VLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQI SWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNST LRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKV NNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQV YVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDF MPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEP VLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVE RNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRT PGK	(SEQ ID NO: 72) APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQ MILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNI NVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFCQSIISTLTVP GVGVPGAGVPGVGVPGGGVPG VGVPGGGVPGAGVPGGGVPGV GVPGAGVPGVGVPGGGDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI SSWLAWYQQKPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQSFTMPIT FGQGTRLEIKRADAAPTVSIFPPS SEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDI NVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYE RHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFN RNEC

[0255]

名称	重链序列 SEQ ID NO	轻链序列 SEQ ID NO
2-B07	(SEQ ID NO: 73) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGDTFTRHYVHWVRQAPGQGLEW MGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMT RDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC AAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSV YPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGY FPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVL QSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCN VAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPP CKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTL RVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVN NKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVY VLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFM PEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPV LDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVER NSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTP GK	(SEQ ID NO: 74) APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQ MILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNI NVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFCQSIISTLTVP GVGVPGAGVPGVGVPGGGVPG VGVPGGGVPGAGVPGGGVPGV GVPGAGVPGVGVPGGGDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI GRWLAWYQQKPGKAPKLLIYS ASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQANSFPV TFGPGTKVDIKRADAAPTVSIFP PSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPK DINVKWKIDGSERQNGVLNSWT DQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEY ERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSF NRNEC

[0256]

名称	重链序列 SEQ ID NO	轻链序列 SEQ ID NO
7-A04	(SEQ ID NO: 75) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLEW MGIINPRAGYTSYALKFQGRVTMT RDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC TSGMDVWGQGTLVTVSSAKTTAPS VYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKG YFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAV LQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITC NVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCP PCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTL RVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVN NKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVY VLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFM PEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPV LDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVER NSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTP GK	(SEQ ID NO: 76) APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQ MILNGINNYKNPKLTRMLTFKF YMPKKATELKHLQCLEEELKPL EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNI NVIVLELKGSETTFMCEYADET ATIVEFLNRWITFCQSIISTLTVP GVGVPGAGVPGVGVPGGGVPG VGVPGGGVPGAGVPGGGVPGV GVPGAGVPGVGVPGGGDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI STWLAWYQQKPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQSYSFPV TFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFP PSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPK DINVKWKIDGSERQNGVLNSWT DQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEY ERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSF NRNEC

[0257] PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物在完全RPMI(+10％FBS、2mM L-谷氨酰胺、丙酮酸钠)中连续稀释,并添加到96孔板中。将2x10^5个人PBMC添加到每个孔中,并将板在37℃孵育20分钟。然后将等体积的预热固定缓冲液(Biolegend)添加到每个孔中,并将板在37℃孵育10分钟。然后将细胞在预冷的Perm缓冲液III(BD Biosciences)中于4℃固定30分钟。用FACS洗涤缓冲液(PBS+2％FBS、2mM EDTA)洗涤细胞,并用在FACS洗涤液中按1:20稀释的针对CD3、CD4、CD8(BioLegend)和phospho-STAT5(BD Biosciences)的荧光团标记的抗体进行染色。将细胞在4℃孵育1小时,用FACS洗涤缓冲液洗涤,并在SA3800光谱分析仪上进行分析。在不存在PD-1的情况下,与单特异性对照抗HER2 IL-2免疫细胞因子相比,PD-1/IL-2 DBA/细胞因子复合物在T细胞中诱导较少的STAT5磷酸化(图3)。

[0258] 实例4

[0259] 通用方法:产生复合物以驱动人细胞中PD-1依赖性IL-2活性

[0260] 该实例描述了PD-1/IL-2蛋白质复合物在人细胞中的体外和体内PD-1依赖性IL-2活性。PD-1/IL-2蛋白质复合物包含经由接头与IL-2细胞因子治疗性结构域结合的PD-1传感器结构域(例如,抗PD-1抗体或抗PD-1scFv),其中IL-2细胞因子是治疗剂。在没有PD-1的情况下,PD-1传感器结构域结合IL-2治疗性结构域,使IL-2治疗剂呈惰性。在存在PD-1的情况下(例如,PD-1在细胞(诸如免疫细胞)上表达),PD-1传感器结构域结合PD-1,由此解除与IL-2治疗性结构域的结合并允许IL-2表现出治疗活性。

[0261] PD-1/IL-2蛋白质复合物是重组表达或化学合成的。PD-1/IL-2蛋白质复合物在体外施用于人细胞或在体内施用于有此需要的小鼠或人受试者。人细胞是表达PD-1的细胞。

对小鼠或人受试者的施用通过静脉内、肌内、皮下、皮内、腹膜内或粘膜进行。在不存在PD-1的情况下,IL-2治疗性结构域仍然与PD-1传感器结构域结合,并且没有观察到治疗功效(例如,体外和受试者体内的细胞激活未改变)。在存在PD-1的情况下,PD-1传感器结构域结合PD-1并解除与IL-2治疗性结构域的结合。观察到治疗功效(例如,在体外和在受试者体内观察到细胞激活)。受试者患有疾病。疾病是癌症。细胞可以内源地或者在激活后或者在引入编码PD-1的基因后表达PD-1。治疗效果可以是细胞生长、分化、激活或诱导IL2响应基因。在体外,如果细胞是细胞类型混合物的一部分,则可以监测混合物中的响应细胞群的这些变化中的任一者。

[0262] 实例5

[0263] 淋巴细胞细胞系中STAT5磷酸化的PD-1/IL-2 DBA细胞因子复合物诱导

[0264] 该实例描述了淋巴细胞细胞系中STAT5磷酸化的PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物诱导。为了评定PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物活性对与PD-1结合的依赖性,由IL-2R+ T细胞系(诸如Hut78或Jurkat E6.1)生成表达PD-1的变体。用滴定浓度的本公开的PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物处理PD-1+和PD-1-变异细胞系,并通过磷酸化流、TR-FRET或用于测量IL-2信号传导的其他测定评定STAT5磷酸化。

[0265] 将HEK 293IL-2报告细胞工程化以表达PD-1。用滴定浓度的PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物处理PD-1+和PD-1-变异细胞系,并评定报告基因活性作为IL-2信号传导的量度。PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物对PD-1+变异细胞系表现出增加的效力。

[0266] 实例6

[0267] 原代淋巴细胞中STAT5磷酸化和其他激活标记物以及增殖的PD-1/IL-2 DBA细胞因子复合物诱导

[0268] 该实例描述了原代淋巴细胞中STAT5磷酸化和其他激活标记物以及增殖的PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物诱导。PBMC用细胞增殖染料标记并与滴定浓度的本公开的PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物一起孵育4天。PBMC使用针对免疫细胞表型标记物的抗体进行染色,以区分CD4+和CD8+ T细胞、Treg细胞和自然杀伤(NK)细胞以及细胞激活标记物,诸如CD25。通过流式细胞术检查免疫细胞子集上的染料稀释度作为增殖的量度。

[0269] 使用免疫磁性阴性选择(STEMCELL)从PBMC中分离总T细胞,并用板结合的抗CD3和可溶性抗CD28刺激72小时以诱导PD-1的表达。将PD-1+ T细胞与滴定浓度的PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物一起孵育20分钟。通过流式细胞术测量固定和透化T细胞中的STAT5磷酸化。在一些实验中,在用PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物处理之前,可以用抗PD-1阻断T细胞上的PD-1,以评定PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物活性对与PD-1结合的依赖性。当PD-1被阻断时,PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物会诱导最小的STAT5磷酸化,显示出的活性取决于其结合PD-1的能力。

[0270] 实例7

[0271] 非肿瘤外周组织中的体内PD-1/IL-2 DBA细胞因子复合物信号传导

[0272] 该实例描述了野生型小鼠血液中的PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物药代动力学以及该复合物在非肿瘤外周组织中的信号传导。在用复合物静脉内(i.v.)给药的小鼠中测量PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物和合适的未经调节的对照(诸如抗PD-1、抗HER2-IL-2或抗PD-1-IL-2)的血清半衰期和外周组织活性。在处理后的各种时间点收集血液、脾脏或两

者并进行染色以鉴定CD8+ T细胞和NK细胞。

[0273] 为了检查循环中PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物的半衰期,野生型C57BL/6小鼠接受单次2.5毫克/千克静脉内剂量的如表13中所概述的PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物(2B07 IL-2突变体;SEQ ID NO:205至206)、抗HER2/IL-2-细胞因子复合物(始终打开的IL-2突变体;SEQ ID NO:64和SEQ ID NO:207)或抗IL-2/IL-2-细胞因子复合物(始终关闭的IL-2突变体;SEQ ID SEQ ID NO:208至209)。给药后30分钟、4小时、24小时、48小时、72小时、96小时和168小时经由眶后窦对小鼠放血。将血液收集到血清分离管中,并将分离的血清冷冻在-80℃直至分析。为了确定细胞因子复合物的血清水平,将96孔高结合ELISA板用碳酸盐-碳酸氢盐缓冲液中的1μg/mL兔抗hu IL-2捕获抗体(克隆ab9618,Abcam)在4℃包被过夜。将板洗涤三次并用SuperBlock封闭缓冲液(Thermo Scientific)封闭1小时。将来自各种时间点和处理组的血清样品在SuperBlock中稀释,添加到板中,并孵育1小时。为了检测细胞因子复合物,将板与山羊抗小鼠Fc-HRP(Jackson ImmunoResearch)以1:5000在SuperBlock中一起孵育1小时。然后洗涤板并用TMB底物显色。使用EnVision 2105微孔板读取器(PerkinElmer)在450nm处测量吸光度(OD)。如图6所示,在检查的所有时间点,检测到的PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物的血清浓度与抗IL-2/IL-2-细胞因子复合物相似。相反,未经调节的抗HER2/IL-2-细胞因子复合物的血清浓度显示出随时间推移的更大的血清浓度下降。

[0274] 表12-IgG PD-1/IL-2 DBA和对照蛋白质复合物

[0275]

蛋白质复合物	SEQ ID NO:	序列

[0276]

蛋白质复合物	SEQ ID NO:	序列
2B07 IL-2 突变体	SEQ ID NO: 205	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT AKFAMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNGAQSKNFHLR PRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEV KKPGASVKVSCKASGDTFTRHYVHWVRQAPGQGLEWMG IINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGD TTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQ SDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPR GPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTC VVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTL RVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPK GSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVE WTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVE RNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
	SEQ ID NO: 206	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRWLAWYQQKPG KAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYESFPVTFGPGTKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQLT SGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRNEC
抗 HER2/IL-2 细胞因子复合物	SEQ ID NO: 64	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRNEC

[0277]

蛋白质复合物	SEQ ID NO:	序列
	SEQ ID NO: 207	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT AKFAMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNGAQSKNFHLR PRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARI YPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDT AVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVY PLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGV HTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTK VDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQT HREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGA PIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTD FMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLR VEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
始终关闭的 IL-2 突变体	SEQ ID NO: 208	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT AKFAMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNGAQSKNFHLR PRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCAASGFTFSSYTLAWVRQAPGKGLEWVAAI DSSSYTYSPDTVRGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDSNWDALDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPV CGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPA VLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKI EPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPI VTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYN STLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISK PKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIY VEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNW VERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
	SEQ ID NO: 209	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNVGTNVGWYQQKP GKAPKALIYSASFRYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF ATYFCQQYYTYPYTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRNEC

[0278] 为了检查外周组织中PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物的活性,野生型C57BL/6小鼠接受单次2.5毫克/千克静脉内剂量的如表12或PBS中所示的PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物(2B07 IL-2突变体;SEQ ID NO:205至206)、抗HER2/IL-2-细胞因子复合物(始终打开的IL-2突变体;SEQ ID NO:64和SEQ ID NO:207)、抗IL-2/IL-2-细胞因子复合物(始终关闭的IL-2突变体;SEQ ID NO:208至209)。给药前,通过ELISA确认每个IL-2细胞因子复合物中完整IL-2的存在,作为验证其生物活性潜力的方法。处理后5天收集血液和脾脏,并通过流

式细胞术进行分析,以量化每个脾脏和每微升血液中CD8+ T细胞和NK细胞的数量。PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物不诱导CD8 T细胞或NK细胞的扩增,而HER2/IL-2-细胞因子复合物诱导外周CD8+ T细胞和NK细胞的扩增(图7A至7D)。

[0279] 实例8

[0280] 同基因肿瘤模型中抗肿瘤免疫的PD-1/IL-2 DBA细胞因子复合物调节

[0281] 该实例描述了MC38同基因小鼠肿瘤模型中抗肿瘤免疫的PD-1/IL-2 DBA细胞因子复合物调节。评定PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物在体内驱动抗肿瘤免疫的能力。将500,000个MC38肿瘤细胞皮下植入人PD-1敲入小鼠(GenOway)中。每周测量肿瘤两次,并且体积计算为(长×宽×宽/2)。将小鼠随机分至处理组,并且当肿瘤达到约100mm^3的体积时开始处理。在肿瘤植入后第7、10和13天以5或0.5毫克/千克的指定剂量用如下表13所示的PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物(2B07 IL-2突变体;SEQ ID NO:210至212)、缺乏IL-2的PD-1/IL-2 DBA(2B07;SEQ ID NO:212至213)或同种型对照(SEQ ID NO:214至215)静脉内处理小鼠。与缺乏IL-2的PD-1/IL-2 DBA或同种型对照相比,PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物显示出增加的肿瘤生长抑制(图8)。

[0282] 表13-IgG PD-1/IL-2 DBA和对照蛋白质复合物

[0283]

蛋白质复合物	SEQ ID NO:	序列

[0284]

蛋白质复合物	SEQ ID NO:	序列
2B07 IL-2 突变体	SEQ ID NO: 210	APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLT AKFAMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNGAQSKNFHLR PRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF AQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEV KKPGASVKVSCKASGDTFTRYYVHWVRQAPGQGLEWMG IINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGD TTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQ SDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPR GPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTC VVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTL RVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPK GSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVE WTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVE RNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK
	SEQ ID NO: 211	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTRYYVHWVR QAPGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTST VYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSL SSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHP ASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTC LVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFM YSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG K
	SEQ ID NO: 212	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRYLAWYQQKPG KAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYNSFPVTFGPGTKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQLT SGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRNEC
缺乏 IL-2 的 PD-1/IL-2 DBA	SEQ ID NO: 212	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRYLAWYQQKPG KAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYNSFPVTFGPGTKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQLT SGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRNEC

[0285]

蛋白质复合物	SEQ ID NO:	序列
	SEQ ID NO: 213	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTRYYVHWVR QAPGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTST VYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSL SSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHP ASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTC MVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFM YSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG K
同种型对照	SEQ ID NO: 214	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTV SSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTL TWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSIT CNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPS VFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNN VEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFK CKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKK QVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDS DGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTK SFSRTPGK
	SEQ ID NO: 215	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRNEC

[0286] 实例9

[0287] 异种移植物/人免疫细胞混合模型中抗肿瘤免疫的PD-1/IL-2 DBA细胞因子复合物调节

[0288] 该实例描述了异种移植物/人免疫细胞混合物模型中抗肿瘤免疫的PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物调节。为了检查PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物在体内环境中驱动抗肿瘤免疫的能力,使用混合体系。将总人PBMC或人T细胞和单核细胞衍生的树突状细胞(moDC)的组合与人肿瘤细胞(例如,HPAC、A375、H441)以1:4的比率混合,并皮下共同植入NSG小鼠的胁腹。一天后,启动用本公开的PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物或合适的未经调节对照(诸如抗PD-1、抗HER2-IL-2或抗PD-1-IL-2)进行的处理。每周至少两次测量肿瘤,并且体积计算为(长×宽×高/2)。与抗PD-1和抗HER2-IL-2相比,PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物表现出增加的抗肿瘤功效,并且与抗PD-1-IL-2相比,表现出降低的脱肿瘤活性。

[0289] 实例10

[0290] 通用方法:蛋白质复合物的体外和体内表征

[0291] 该实例描述了DBA-细胞因子复合物的体外和体内稳定性评估。本公开的蛋白质复合物是重组表达的或化学合成的。该蛋白质复合物包括与治疗性结构域连接的传感器结构域。接头为肽接头。传感器结构域能够与治疗性结构域和标记物结合。在不存在标记物的情况下,传感器结构域结合治疗性结构域,使得治疗性结构域不能与其靶标结合并且不能发挥治疗活性。在存在标记物的情况下,传感器结构域结合标记物,使得治疗性结构域自由地与其靶标结合并能够发挥治疗活性。

[0292] 在体外,使用测量片段化、展开或聚集的生物物理表征方法,和/或使用测试功能活性变化的方法,在基线处或在应激条件(诸如高温、pH变化、氧化缓冲液或血清/血浆)中孵育之后测试蛋白质复合物的稳定性和功能性。在体内,在哺乳动物(诸如小鼠、大鼠或非人灵长类动物)中给药后测量蛋白质的药代动力学特性,并且测量分布、清除和降解的特性。这些测量用于工程化或选择DBA-蛋白质复合物的最佳治疗形式。

[0293] 实例11

[0294] PD-1/IL-2双重结合抗体(DBA)细胞因子复合物的调节的IL-2受体信号传导

[0295] 该实例描述了HEK-Blue™IL-2报告细胞中PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物的PD-1调节的IL-2活性。使用标准方案通过在哺乳动物细胞中表达以图2E、2B和2H中所示的三种格式产生DBA-细胞因子复合物和对照抗体-细胞因子复合物。384孔ELISA板的孔包被有恒定浓度的PD-1-Fc或用抗Fc抗体(Jackson ImmunoResearch,产品号109-005-098)捕获的IgG1对照蛋白。将细胞因子复合物从起始浓度6nM开始在生长培养基中按1:4连续稀释8个点,并在添加HEK-Blue™IL-2报告细胞之前短暂孵育。

[0296] 包含图2E中所示结构的蛋白质复合物的结果如图9A至9D所示。如图2E所描绘的,这种对称格式由与每个抗体可变结构域连接的一个IL-2构成。包含SEQ ID NO:174至175的PD-1/IL-2 DBA-IL-2复合物AF4379的IL-2活性在PD-1包被的孔中为31pM的EC50,而在IgG1包被的孔中为62pM的EC50,如图9A所示,证明了PD-1依赖性。包含SEQ ID NO:64和176(抗Her2抗体)的抗体-细胞因子复合物AF4377和包含SEQ ID NO:177至178(抗IL-2抗体)的AF4378的IL-2活性在PD-1存在下没有改变(分别如图9B和图9C所示),而包含SEQ ID NO:179至180的抗PD-1抗体AF4376的IL-2活性在PD-1存在下降低,如图9D所示。蛋白质复合物的序列总结于下表14中。

[0297] 表14-具有重链IL-2治疗性结构域的IgG PD-1/IL-2 DBA和对照蛋白质复合物

[0298]

蛋白质复合物	SEQ ID NO:	序列
AF4379	SEQ ID NO: 174	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLT FEFYMPKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRP RDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFC QSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGDTFTRYYVHWVRQAPGQGLEWMGII NPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDT AVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDT TGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS DLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRG PTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCV VVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLR VVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKG SVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEW TNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVER NSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK

[0299]

蛋白质复合物	SEQ ID NO:	序列
	SEQ ID NO: 175	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRYLAWYQQKPG KAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYNSFPVTFGPGTKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQLT SGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRNEC
AF4377	SEQ ID NO: 64	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRNEC
	SEQ ID NO: 176	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLT FEFYMPKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRP RDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFC QSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIY PTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTA VYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYP LAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGV HTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTK VDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQT HREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGA PIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTD FMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLR VEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK

[0300]

蛋白质复合物	SEQ ID NO:	序列
AF4378	SEQ ID NO: 177	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLT FEFYMPKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRP RDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFC QSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV KPGGSLRLSCAASGFTFSSYTLAWVRQAPGKGLEWVAAID SSSYTYSPDTVRGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVY YCARDSNWDALDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVC GDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAV LQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIV TCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNS TLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKP KGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYV EWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWV ERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
	SEQ ID NO: 178	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNVGTNVGWYQQKP GKAPKALIYSASFRYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF ATYFCQQYYTYPYTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRNEC
AF4376	SEQ ID NO: 179	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLT FEFYMPKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRP RDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFC QSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVESGGGVV QPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVI WYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAEDT AVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGD TTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQ SDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPR GPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTC VVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTL RVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPK GSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVE WTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVE RNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK

[0301]

蛋白质复合物	SEQ ID NO:	序列
	SEQ ID NO: 180	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRNEC

[0302] 包含图2B中描绘的结构的蛋白质复合物的结果如图4A至4F所示。这种格式由不对称复合物构成,该不对称复合物包含两个抗体结构域和与其中一个结构域结合的单一IL-2。PD-1/IL-2 DBA-IL-2复合物AF4386(包含SEQ ID NO:212和181至182,结果如图4A所示)、AF4387(包含SEQ ID NO:183至185,结果如图4B所示)和AF4389(包含SEQ ID NO:186至188,结果如图4C所示)的IL-2活性在PD-1包被的孔中分别为50pM、57pM和118pM的EC50,并且在IgG1包被的孔中分别为1.79nM、419pM和1.67nM,证明了PD-1依赖性。抗PD1对照蛋白AF4380(包含SEQ ID NO:180、189至190,结果如图4D所示)、抗Her2对照蛋白AF4383(包含SEQ ID NO:64、191至192,结果如图4E所示)和抗IL-2对照蛋白AF4384(包含SEQ ID NO:178、193至194,结果如图4F所示)的IL-2活性没有变化。蛋白质复合物的序列总结于下表15中。

[0303] 表15-具有单一IL-2的IgG PD-1/IL-2 PDA和对照蛋白质复合物

[0304]

蛋白质复合物	SEQ ID NO:	序列

[0305]

蛋白质复合物	SEQ ID NO:	序列
AF4386	SEQ ID NO: 181	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLT FEFYMPKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRP RDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFC QSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGDTFTRYYVHWVRQAPGQGLEWMGII NPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDT AVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDT TGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS DLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRG PTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCV VVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLR VVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKG SVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEW TNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVER NSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK
	SEQ ID NO: 182	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGDTFTRYYVHWVR QAPGQGLEWMGIINPSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTST VYMELSSLRSEDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSL SSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHP ASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTC LVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFM YSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG GGGSGGGSHHHHHH
	SEQ ID NO: 212	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRYLAWYQQKPG KAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYNSFPVTFGPGTKVDIKRADAAPTVSIFPPSSEQLT SGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRNEC

[0306]

蛋白质复合物	SEQ ID NO:	序列
AF4387	SEQ ID NO: 183	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLT FEFYMPKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRP RDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFC QSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGII NPRAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDT AVYYCTSGWDVWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGD TTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQ SDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPR GPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTC VVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTL RVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPK GSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVE WTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVE RNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK
	SEQ ID NO: 184	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWVR QAPGQGLEWMGIINPRAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTST VYMELSSLRSEDTAVYYCTSGWDVWGQGTLVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGS LSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHP ASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTC LVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFM YSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG GGGSGGGSHHHHHH
	SEQ ID NO: 185	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISTWLAWYQQKPG KAPKLLIYAASSLDSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQSYSFPVTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLT SGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRNEC

[0307]

蛋白质复合物	SEQ ID NO:	序列
AF4389	SEQ ID NO: 186	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLT FEFYMPKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRP RDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFC QSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGHTFTRYYMHWVRQAPGQGLEWMGII NPSGGYATYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDT AVYYCASGLFIWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDT TGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS DLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRG PTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCV VVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLR VVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKG SVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEW TNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVER NSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK
	SEQ ID NO: 187	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHTFTRYYMHWVR QAPGQGLEWMGIINPSGGYATYAQKFQGRVTMTRDTSTST VYMELSSLRSEDTAVYYCASGLFIWGQGTLVTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSL SSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHP ASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTC LVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFM YSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG GGGSGGGSHHHHHH
	SEQ ID NO: 188	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINSWLAWYQQKPG KAPKLLIYATSTLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYYRFPVTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRNEC
AF4380	SEQ ID NO: 180	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRNEC

[0308]

蛋白质复合物	SEQ ID NO:	序列
	SEQ ID NO: 189	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLT FEFYMPKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRP RDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFC QSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVESGGGVV QPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVI WYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAEDT AVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGD TTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQ SDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPR GPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTC VVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTL RVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPK GSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVE WTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWVE RNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK
	SEQ ID NO: 190	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQ APGKGLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNSKNT LFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGS LSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHP ASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTC LVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFM YSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG GGGSGGGSHHHHHH
AF4383	SEQ ID NO: 64	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRNEC

[0309]

蛋白质复合物	SEQ ID NO:	序列
	SEQ ID NO: 191	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLT FEFYMPKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRP RDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFC QSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIY PTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTA VYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYP LAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGV HTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTK VDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQT HREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGA PIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTD FMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLR VEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK
	SEQ ID NO: 192	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTV SSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTL TWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSIT CNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPS VFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNN VEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFK CKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKK QVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSD GSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKS FSRTPGGGGSGGGSHHHHHH
AF4384	SEQ ID NO: 178	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNVGTNVGWYQQKP GKAPKALIYSASFRYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF ATYFCQQYYTYPYTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRNEC

[0310]

蛋白质复合物	SEQ ID NO:	序列
	SEQ ID NO: 193	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLT FEFYMPKKATELKHLQCLERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRP RDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFC QSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV KPGGSLRLSCAASGFTFSSYTLAWVRQAPGKGLEWVAAID SSSYTYSPDTVRGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVY YCARDSNWDALDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVC GDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAV LQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIV TCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNS TLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKP KGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYV EWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSDLRVEKKNWV ERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPGK
	SEQ ID NO: 194	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYTLAWVRQA PGKGLEWVAAIDSSSYTYSPDTVRGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARDSNWDALDYWGQGTLVTVSSAK TTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNS GSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVA HPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPP KIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHT AQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNN KDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLT CLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYF MYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRT PGGGGSGGGSHHHHHH

[0311] 包含图2H中描绘的结构的蛋白质复合物的结果如图5A至5H所示。如图2H所描绘的,这些复合物是不对称的并且由两个相同的单特异性Fab臂与通过柔性接头与一个Fc结构域附接的单一IL-2和通过柔性接头与另一Fc结构域附接的单一scFv构成。活性PD-1/IL-2 DBA复合物(包含SEQ ID NO:180、195、199的AF4403和包含SEQ ID NO:180、196、199的AF4404)由Fab臂中的抗PD-1结构域和Fc臂上的PD-1/IL-2 DBA scFv构成。对照抗体-细胞因子复合物由以下构成:a)具有在Fab臂上的不相关抗体和在Fc上的DBA scFv的抗体-细胞因子复合物(包含SEQ ID NO:64、197、202的AF4395和包含SEQ ID NO:64、198、202的AF4396),b)具有在Fc臂上的非DBA scFv的抗体-细胞因子复合物(包含SEQ ID NO:180、199至200的AF4400和包含SEQ ID NO:180、199、201的AF4401),以及c)具有在Fab和scFv结构域二者中的非DBA抗体的抗体-细胞因子复合物(包含SEQ ID NO:64、202至203的AF4392和包含SEQ ID NO:64、202、204的AF4393)。如图5B和5D所示,DBA-细胞因子复合物AF4403和AF4404的IL-2活性在PD-1包被的孔中分别为31pM和26pM的EC50,并且在对照孔中分别为62pM和64pM的EC50,证明了IL-2活性的PD-1依赖性。上述对照蛋白AF4395、AF4396、AF4400、AF4401、AF4392和AF4393均未显示出在PD-1包被的孔上的EC50比在IgG1蛋白包被的孔上更

低,如图5A、5C和5E至5H所示。蛋白质复合物的序列总结于下表16中。

[0312] 表16-具有C末端scFv和IL-2的IgG PD-1以及对照蛋白质复合物

[0313]

蛋白质复合物	SEQ ID NO:	序列
AF4403	SEQ ID NO: 180	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRNEC

[0314]

蛋白质复合物	SEQ ID NO:	序列
	SEQ ID NO: 195	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQ APGKGLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNSKNT LFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGS LSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHP ASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTC LVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFM YSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGDTFTRYYVHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGY ASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCA AGLFIWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQM TQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRYLAWYQQKPGKAPK LLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQYNSFPVTFGPGTKVDIKGGGSGGGSHHHHHH
	SEQ ID NO: 199	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQ APGKGLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNSKNT LFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGS LSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHP ASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTC MVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFM YSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPG GGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMIL NGINNYKNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQCLERELKP LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
AF4404	SEQ ID NO: 180	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRNEC

[0315]

蛋白质复合物	SEQ ID NO:	序列
	SEQ ID NO: 196	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQ APGKGLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNSKNT LFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGS LSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHP ASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTC LVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFM YSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRAGY TSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCT SGWDVWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISTWLAWYQQKPGKA PKLLIYAASSLDSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQSYSFPVTFGQGTKVEIKGGGSGGGSHHHHHH
	SEQ ID NO: 199	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQ APGKGLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNSKNT LFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGS LSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHP ASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTC MVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFM YSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPG GGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMIL NGINNYKNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQCLERELKP LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
AF4395	SEQ ID NO: 64	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRNEC

[0316]

蛋白质复合物	SEQ ID NO:	序列
	SEQ ID NO: 197	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTV SSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTL TWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSIT CNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPS VFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNN VEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFK CKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKK QVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSD GSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKS FSRTPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKK PGASVKVSCKASGDTFTRYYVHWVRQAPGQGLEWMGIIN PSGGYASYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCAAGLFIWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSH ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRYLAWYQQK PGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQYNSFPVTFGPGTKVDIKGGGSGGGSHHHHHH
	SEQ ID NO: 202	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTV SSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTL TWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSIT CNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPS VFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNN VEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFK CKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKK QVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDS DGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTE SFSRTPGGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLL DLQMILNGINNYKNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQCL ERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETT FMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
AF4396	SEQ ID NO: 64	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRNEC

[0317]

蛋白质复合物	SEQ ID NO:	序列
	SEQ ID NO: 198	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTV SSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTL TWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSIT CNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPS VFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNN VEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFK CKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKK QVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSD GSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKS FSRTPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKK PGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGIIN PRAGYTSYALKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCTSGWDVWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGS HASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISTWLAWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLDSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYSFPVTFGQGTKVEIKGGGSGGGSHHHHHH
	SEQ ID NO: 202	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTV SSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTL TWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSIT CNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPS VFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNN VEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFK CKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKK QVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDS DGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTE SFSRTPGGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLL DLQMILNGINNYKNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQCL ERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETT FMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
AF4400	SEQ ID NO: 180	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRNEC

[0318]

蛋白质复合物	SEQ ID NO:	序列
	SEQ ID NO: 199	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQ APGKGLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNSKNT LFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGS LSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHP ASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTC MVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFM YSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPG GGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMIL NGINNYKNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQCLERELKP LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
	SEQ ID NO: 200	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQ APGKGLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNSKNT LFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGS LSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHP ASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTC LVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFM YSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTR YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSR WGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGG SHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWY QQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGGSGGGSHHHH HH

[0319]

蛋白质复合物	SEQ ID NO:	序列
AF4401	SEQ ID NO: 180	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRNEC
	SEQ ID NO: 199	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQ APGKGLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNSKNT LFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGS LSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHP ASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTC MVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFM YSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTESFSRTPG GGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMIL NGINNYKNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQCLERELKP LEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEY ADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
	SEQ ID NO: 201	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQ APGKGLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNSKNT LFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSSAKTT APSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGS LSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHP ASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKI KDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKKQVSLTC LVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSDGSYFM YSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVKPGGSLR LSCAASGFTFSSYTLAWVRQAPGKGLEWVAAIDSSSYTYSP DTVRGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSN WDALDYWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSHASDI QMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNVGTNVGWYQQKPG KAPKALIYSASFRYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYFCQQYYTYPYTFGGGTKLEIKGGGSGGGSHHHHHH

[0320]

蛋白质复合物	SEQ ID NO:	序列
AF4392	SEQ ID NO: 64	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRNEC
	SEQ ID NO: 202	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTV SSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTL TWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSIT CNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPS VFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNN VEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFK CKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKK QVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDS DGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTE SFSRTPGGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLL DLQMILNGINNYKNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQCL ERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETT FMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT

[0321]

蛋白质复合物	SEQ ID NO:	序列
	SEQ ID NO: 203	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTV SSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTL TWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSIT CNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPS VFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNN VEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFK CKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKK QVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSD GSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKS FSRTPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPT NGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVY YCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGS GGGGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTA VAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGGSGGG SHHHHHH
AF4393	SEQ ID NO: 64	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQL TSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIV KSFNRNEC

[0322]

蛋白质复合物	SEQ ID NO:	序列
	SEQ ID NO: 202	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTV SSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTL TWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSIT CNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPS VFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNN VEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFK CKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKK QVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDS DGSYFMYSDLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTE SFSRTPGGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEHLLL DLQMILNGINNYKNPKLTDMLTFEFYMPKKATELKHLQCL ERELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETT FMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
	SEQ ID NO: 204	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQA PGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTV SSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTL TWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSIT CNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPS VFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNN VEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFK CKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEKEMTKK QVSLTCLVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLKSD GSYFMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKS FSRTPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVK PGGSLRLSCAASGFTFSSYTLAWVRQAPGKGLEWVAAIDS SSYTYSPDTVRGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVY YCARDSNWDALDYWGQGTLVTVSSASGGGGSGGGGSGG GGSHASDIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNVGTNVG WYQQKPGKAPKALIYSASFRYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYFCQQYYTYPYTFGGGTKLEIKGGGSGGGSH HHHHH

[0323] 实例12

[0324] 其他双重结合抗体与PD1和IL2的结合

[0325] 在之前的实例中已观察到双重结合抗体(DBA)的有效性后,又生成了另外的双重结合抗体scFv(参见下表17、表18和表19)。该实例描述了PD1和IL2与这些双重结合抗体scFv结合的测量。每个克隆的scFv DNA序列被合成为gBlock(Integrated DNA Technologies,Inc.),其具有T7启动子、翻译起始位点、具有cMyc和V5标签的scFv序列的编码序列以及T7终止子序列。使用无细胞转录/翻译系统(Cosmo Bio USA,Inc.,PURExpress2.1,产品号GFK-PF213,与DS Supplement,产品号GFK-PF005)表达来自gBlock片

段中每一者的蛋白质。对scFv样品进行ELISA分析以检测PD1和IL2结合。在这些实验中,384孔板的孔用抗V5抗体(Sv5-Pk1,BioRad)以1μg/ml在4度包被过夜。洗涤后,用SuperBlock(ThermoFisher,37515)封闭孔,然后添加在SuperBlock中的饱和水平的scFv。洗涤后,添加抗原并将板孵育一小时。为了检测PD1结合,使用生物素化重组PD1(PD1-HisAvi,Acro Biosystems,PD1-H82E4)。为了检测IL2结合,将IL2(R&D,202-IL)与生物素化抗IL2 mAb(mab202,使用标准方法生物素化)在SuperBlock缓冲液中以2:1的比率预孵育。使用标准方法使用链霉亲和素HRP检测生物素化抗原。添加各种量的标记测试抗原以显示结合并估计不同scFv的相对亲和力。表17A至17C显示了三组scFv的PD1和IL2结合的EC50值,证明了这些抗体的双重结合。

[0326] 数据表明表17A至17C中除对照抗体AB000694、AB000719、AB000880之外的所有抗体均能够有效结合PD1和IL2两者。

[0327] 表17A:在第一个实验中通过ELISA评定的根据本公开的另外的DBA对PD1和IL2的结合亲和力

[0328]

抗体 ID	蛋白质名称	PD1 EC50	IL2 EC50
AB002293_2B07v2	AF003676	0.2	6
AB002353_2B07v9	AF003736	0.9	30
AB002342_2B07v5	AF003725	0.2	7
AB002328_2B07v4	AF003711	0.2	0.4
AB002326_2B07v3	AF003709	0.2	30
AB002345_2B07v6	AF003728	0.2	60
AB002348_2B07v8	AF003731	0.3	100

[0329]

AB002022_2B07v1	AF002829	0.6	10
AB002347_2B07v7	AF003730	0.1	8

[0330] 表17B:在第二个实验中通过ELISA评定的根据本公开的另外的DBA对PD1和IL2的结合亲和力

[0331]

抗体ID	蛋白质名称	PD1 EC50	IL2 EC50
AB000694(抗PD1对照)	AF005039	0.7	-
AB000719(抗PD1对照)	AF005040	0.4	-
AB000880(抗PD1对照)	AF000327	4	-
AB003021_2A11v7	AF005103	0.6	40
AB002417_2A11v4	AF005148	4	50
AB002413_2A11v3	AF005147	2	2
AB002427_2A11v5	AF005149	3	0.9
AB003200_2B05v1	AF005131	0.5	弱
AB003209_2B05v4	AF005140	0.4	弱

AB003201_2B05v2	AF005132	0.5	弱
AB003202_2B05v3	AF005133	0.5	弱
AB003155_2B07v10	AF005042	0.7	0.4
AB002328_2B07v4	AF005041	2	1
AB003174_2B07v11	AF005062	0.6	7
AB003180_2B07v13	AF005068	0.6	0.8
AB003183_2B07v14	AF005071	0.3	40
AB003178_2B07v12	AF005066	1	0.3
AB003007_7A04v6	AF005087	1	10
AB002365_7A04v2	AF005095	1	8
AB003012_7A04v7	AF005092	1	7
AB003005_7A04v5	AF005085	4	3
AB002864_2A11v6	AF005116	0.4	60

[0332] 表17C:在第三个实验中通过ELISA评定的根据本公开的另外的DBA对PD1和IL2的结合亲和力

[0333]

抗体 ID	蛋白质名称	PD1 EC50	IL2 EC50
AB000880（抗 PD1 对照）	AF000327	8	-
AB002360_7A04v1	AF003765	1	70
AB002365_7A04v2	AF003770	1	30
AB002370_7A04v3	AF003775	0.7	30
AB002381_7A04v4	AF003786	0.7	30
AB002410_2A11v2	AF003815	3	100

[0334]

AB002413_2A11v3	AF003818	3	3
AB002417_2A11v4	AF003822	5	400
AB002427_2A11v5	AF003832	3	0.8
AB002022_2B07v1	AF002829	5	30
AB001938	AF002745	10	30

[0335]

表 18：实例 12 中描述的 DBA 的 V_H 和 V_L 区的序列

ID	抗体 ID	V_H	V_L	V_H SEQ ID NO:	V_L SEQ ID NO:
AB000694_nivo	AB000694	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDC KASGITFSNSGMHWVRQAPGKG LEWVAVIWYDGSKRYYADSVK GRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRA EDTAVYYCATNDDYWGQGTLV TVSS	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQS VSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDF AVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIK	329	330
AB000880_PD1_R04_C10	AB000880	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTTYYMHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGGTLYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAAGLFIWGQGTTVTV SS	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQS LLHSSSNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIY WASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISS LQAEDVAVYYCQQYYSTPITFGPGTKV DIK	331	332
AB002022_2B07v1	AB002022	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGDTFTRHYVHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGYASYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS IGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLE TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYESFPVTFGPGTKVDIK	333	334

[0336]

ID	抗体 ID	V_H	V_L	V_H SEQ ID NO:	V_L SEQ ID NO:
AB002293_2B07v2	AB002293	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGDTFTRYYVHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGYASYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS IGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLE TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYNSFPVTFGPGTKVDIK	335	336
AB002326_2B07v3	AB002326	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGDTFTRYYVHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGYASYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS IGSWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLE TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYNSFPVTFGPGTKVDIK	337	338
AB002328_2B07v4	AB002328	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGDTFTRYYVHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGYASYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS IGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLE TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYNRFPVTFGPGTKVDIK	339	340
AB002342_2B07v5	AB002342	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGDTFTRYYVHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGYASYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS IGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLE TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYERFPVTFGPGTKVDIK	341	342

[0337]

ID	抗体 ID	V_H	V_L	V_H SEQ ID NO:	V_L SEQ ID NO:
AB002345_2B07v6	AB002345	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGDTFTRYYVHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGYASYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS IGRYLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLE TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYNSFPVTFGPGTKVDIK	343	344
AB002347_2B07v7	AB002347	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGDTFTRYYVHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGYASYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS IGRYLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLE TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYNRFPVTFGPGTKVDIK	345	346
AB002348_2B07v8	AB002348	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGDTFTRYYVHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGYASYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS IGRYLAWYQQKPGKAPKLLIYYASNLE TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYNSFPVTFGPGTKVDIK	347	348
AB002353_2B07v9	AB002353	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGDTFTRYYVHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGYASYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS IGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLE TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYESFPVTFGPGTKVDIK	349	350

[0338]

ID	抗体 ID	V_H	V_L	V_H SEQ ID NO:	V_L SEQ ID NO:
AB002360_7A04v1	AB002360	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDYYMHWVRQAPGQ GLEWMGIINPRAGYTSYALKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCTSGWDVWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS ISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLD SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQSYSFPVTFGQGTKVEIK	351	352
AB002365_7A04v2	AB002365	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTRYYMHWVRQAPGQ GLEWMGIINPRAGYTSYALKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCTSGWDVWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS ISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLD SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQSYSFPVTFGQGTKVEIK	353	354
AB002370_7A04v3	AB002370	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTTYYMHWVRQAPGQ GLEWMGIINPRAGYTSYALKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCTSGWDVWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS ISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLD SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQSYSFPVTFGQGTKVEIK	355	356
AB002381_7A04v4	AB002381	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGDTFTDYYMHWVRQAPGQ GLEWMGIINPRAGYTSYALKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCTSGWDVWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS ISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLD SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQSYSFPVTFGQGTKVEIK	357	358

[0339]

ID	抗体 ID	V_H	V_L	V_H SEQ ID NO:	V_L SEQ ID NO:
AB002410_2A11v2	AB002410	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGHTFTRYYMHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGYATYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCASGWFVWGQGTLV TVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS INSWLAWYQQKPGKAPKLLIYDTSTLE SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQSYSFPVTFGQGTKVEIK	359	360
AB002413_2A11v3	AB002413	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGHTFTRYYMHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGYATYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCASGLFIWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS INSWLAWYQQKPGKAPKLLIYATSTLE SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYYRFPVTFGQGTKVEIK	361	362
AB002417_2A11v4	AB002417	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGHTFTRYYMHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGYATYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCASGLFIWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS INSWLAWYQQKPGKAPKLLIYATSTLE SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYYSFPVTFGQGTKVEIK	363	364
AB002427_2A11v5	AB002427	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGHTFTRYYMHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGYATYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCASGLFIWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS INSWLAWYQQKPGKAPKLLIYATSTLE SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQSYRFPVTFGQGTKVEIK	365	366

[0340]

ID	抗体 ID	V_H	V_L	V_H SEQ ID NO:	V_L SEQ ID NO:
AB002520_7A04v8	AB002520	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDYYMHWVRQAPGQ GLEWMGIINPRAGYTSYALKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCTSGWDVWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS ISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLD SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQSYRFPVTFGQGTKVEIK	367	368
AB002521_2A11v1	AB002521	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGHTFTRYYMHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGYATYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCASGLDIWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS INSWLAWYQQKPGKAPKLLIYATSTLE SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQSYRFPVTFGQGTKVEIK	369	370
AB002829_knd_A08	AB002829	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYIFNGYDIHWVRQAPGQG LEWMGWMNPDNGNTGLAQKFQ GRVTITADESTSTAYMELSSLRSE DTAVYYCARGMATRFPYYYYG MDVWGQGTLVTVSS	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSL LHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG SNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDVGVYYCMQGTHWPPTFGQGTKV EIK	371	372
AB002864_2A11v6	AB002864	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGHTFTRYYMHWVRQAPGQ GLEWMGVINPSGGYATYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCASGWDVWGQGTLV TVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS INSWLAWYQQKPGKAPKLLIYATSTLE SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQSYSSPVTFGQGTKVEIK	373	374

[0341]

ID	抗体 ID	V_H	V_L	V_H SEQ ID NO:	V_L SEQ ID NO:
AB003005_7A04v5	AB003005	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTRYYMHWVRQAPGQ GLEWMGIIQPRAGYTSYALKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCTSGWDVWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS ISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLD EGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQSYSFPVTFGQGTKVEIK	375	376
AB003007_7A04v6	AB003007	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTRYYMHWVRQAPGQ GLEWMGIINPRAGYTSYALKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCTSGWEVWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS ISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLD EGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQSYSFPVTFGQGTKVEIK	377	378
AB003012_7A04v7	AB003012	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTRYYMHWVRQAPGQ GLEWMGIINPRAGYTSYALKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCTSGWDVWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS ISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLD EGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQSYSFPVTFGQGTKVEIK	379	380
AB003021_2A11v7	AB003021	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGFTFTRYYMHWVRQAPGQ GLEWMGVINPSGGYATYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCASGWDVWGQGTLV TVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS ISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYATSTLE SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQSYSSPVTFGQGTKVEIK	381	382

[0342]

ID	抗体 ID	V_H	V_L	V_H SEQ ID NO:	V_L SEQ ID NO:
AB003155_2B07v10	AB003155	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGETFTRYYVHWVRQAPGQG LEWMGIINPSGGYASYAQKFQGR VTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVS S	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS IGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLE TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYNRFPVTFGPGTKVDIK	383	384
AB003174_2B07v11	AB003174	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGDTFTRYYVHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGYASYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS IGRELAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLE TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYNRFPVTFGPGTKVDIK	385	386
AB003178_2B07v12	AB003178	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGDEFTRYYVHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGYASYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS IGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLE TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYNRFPVTFGPGTKVDIK	387	388
AB003180_2B07v13	AB003180	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGDEFTRYYVHWVRQAPGQ GLEWMGIQNPSGGYASYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS IGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLE TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYNRFPVTFGPGTKVDIK	389	390

[0343]

ID	抗体 ID	V_H	V_L	V_H SEQ ID NO:	V_L SEQ ID NO:
AB003183_2B07v14	AB003183	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGDEFTRYYVHWVRQAPGQ GLEWMGIQNPSGGYASYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCAAGLFIWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS IGRELAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLE TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYNRFPVTFGPGTKVDIK	391	392
AB003200_2B05v1	AB003200	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGETFTNYYIHWVRQAPGQG LEWMGVINPRAGYTSYALKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAGGWEDWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRISQSI SSWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQSFTSPITFGQGTRLEIK	393	394
AB003201_2B05v2	AB003201	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGGTFTNYYIHWVRQAPGQG LEWMGIIDPRAGYTSYALKFQGR VTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAGGWEDWGQGTLVTV SS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRISQSI SSWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQSFTSPITFGQGTRLEIK	395	396
AB003202_2B05v3	AB003202	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGSTFTNYYIHWVRQAPGQG LEWMGIIDPRAGYTSYALKFQGR VTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAGGWEDWGQGTLVTV SS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRISQSI SSFLAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQSFTSPITFGQGTRLEIK	397	398

[0344]

ID	抗体 ID	V_H	V_L	V_H SEQ ID NO:	V_L SEQ ID NO:
AB003209_2B05v4	AB003209	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGETFTNYYIHWVRQAPGQG LEWMGIIDPRAGYTSYALKFQGR VTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAGGWEDWGQGTLVTV SS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRISQSI SSFLAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQSFTSPITFGQGTRLEIK	399	400
AB003232_2B05v5	AB003232	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGTTFTNYYIHWVRQAPGQG LEWMGVINPRAGYTSYALKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCTGGWLDWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS ISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQSVTMPVTFGQGTRLEIK	401	402
AB003422_2B05v5	AB003422	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTNYYIHWVRQAPGQG LEWMGVINPRAGYTSYALKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAGGWLDWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQR ISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQSFTMPVTFGQGTRLEIK	403	404
AB003465_2A11v9	AB003465	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGFTFTRYYMHWVRQAPGQ GLEWMGVINPSGGYATYAQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCASGWDVWGQGTLV TVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS ISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYATSTLE SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQSYSFPPTFGQGTKVEIK	405	406

[0345]

ID	抗体 ID	V_H	V_L	V_H SEQ ID NO:	V_L SEQ ID NO:
AB003466_2B07v10	AB003466	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGETFTRYYVHWVRQAPGQG LEWMGIINPSGGYASYAQKFQGR VTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAAGLFIWGQGTLVTVS S	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS IGRWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASNLE TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYNSFPVTFGPGTKVDIK	407	408
AB003467_7A04v9	AB003467	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTRYYMHWVRQAPGQ GLEWMGIINPRAGYTSYALKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCTSGWDVWGQGTLVT VSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS ISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLD TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQSYSFPVTFGQGTKVEIK	409	410
AB003470_knd_A04	AB003470	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSC KASGYTFTAYYIHWVRQAPGQG LEFMGWIHPYSGGTNYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAIGYYYGKFDYWGQG TLVTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQT ISRYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQSYSTPRTFGQGTKLEIK	411	412

表 19：实例 12 中描述的 DBA 的 V_H 和 V_L CDR 的序列

[0346]

ID	抗体 ID	V_H_cdr1	V_H_cdr2	V_H_cdr3	V_L_cdr1	V_L_c dr2	V_L_cdr 3	V_H_ cdr1 SEQ ID NO:	V_H_ cdr2 SEQ ID NO:	V_H_ cdr3 SEQ ID NO:	V_L_ cdr1 SEQ ID NO:	V_L_ cdr2 SEQ ID NO:	V_L_ cdr3 SEQ ID NO:
AB002022_	AB00	GDTFT	IINPSGGYAS		RASQSIGRW	SASN	QQYE						
2B07v1	2022	RHYVH	YAQKFQG	AAGLFI	LA	LET	SFPV	431	432	433	434	435	436
AB002293_	AB00	GDTFT	IINPSGGYAS		RASQSIGRW	SASN	QQYN						
2B07v2	2293	RYYVH	YAQKFQG	AAGLFI	LA	LET	SFPV	437	438	439	440	441	442
AB002326_	AB00	GDTFT	IINPSGGYAS		RASQSIGSW	SASN	QQYN						
2B07v3	2326	RYYVH	YAQKFQG	AAGLFI	LA	LET	SFPV	443	444	445	446	447	448
AB002328_	AB00	GDTFT	IINPSGGYAS		RASQSIGRW	SASN	QQYN						
2B07v4	2328	RYYVH	YAQKFQG	AAGLFI	LA	LET	RFPV	449	450	451	452	453	454
AB002342_	AB00	GDTFT	IINPSGGYAS		RASQSIGRW	SASN	QQYE						
2B07v5	2342	RYYVH	YAQKFQG	AAGLFI	LA	LET	RFPV	455	456	457	458	459	460
AB002345_	AB00	GDTFT	IINPSGGYAS		RASQSIGRY	SASN	QQYN						
2B07v6	2345	RYYVH	YAQKFQG	AAGLFI	LA	LET	SFPV	461	462	463	464	465	466
AB002347_	AB00	GDTFT	IINPSGGYAS		RASQSIGRY	SASN	QQYN						
2B07v7	2347	RYYVH	YAQKFQG	AAGLFI	LA	LET	RFPV	467	468	469	470	471	472
AB002348_	AB00	GDTFT	IINPSGGYAS		RASQSIGRY	YAS	QQYN						
2B07v8	2348	RYYVH	YAQKFQG	AAGLFI	LA	NLET	SFPV	473	474	475	476	477	478
AB002353_	AB00	GDTFT	IINPSGGYAS		RASQSIGRW	SASN	QQYE						
2B07v9	2353	RYYVH	YAQKFQG	AAGLFI	LA	LET	SFPV	479	480	481	482	483	484
AB002360_	AB00	GYTFT	IINPRAGYTS		RASQSISTW	AASS	QQSY						
7A04v1	2360	DYYMH	YALKFQG	TSGWDV	LA	LDS	SFPV	485	486	487	488	489	490

[0347]

ID	抗体 ID	V_H_cdr1	V_H_cdr2	V_H_cdr3	V_L_cdr1	V_L_c dr2	V_L_cdr 3	V_H_ cdr1 SEQ ID NO:	V_H_ cdr2 SEQ ID NO:	V_H_ cdr3 SEQ ID NO:	V_L_ cdr1 SEQ ID NO:	V_L_ cdr2 SEQ ID NO:	V_L_ cdr3 SEQ ID NO:
AB002365_	AB00	GYTFT	IINPRAGYTS		RASQSISTW	AASS	QQSY						
7A04v2	2365	RYYMH	YALKFQG	TSGWDV	LA	LDS	SFPV	491	492	493	494	495	496
AB002370_	AB00	GYTFTT	IINPRAGYTS		RASQSISTW	AASS	QQSY						
7A04v3	2370	YYMH	YALKFQG	TSGWDV	LA	LDS	SFPV	497	498	499	500	501	502
AB002381_	AB00	GDTFT	IINPRAGYTS		RASQSISTW	AASS	QQSY						
7A04v4	2381	DYYMH	YALKFQG	TSGWDV	LA	LDS	SFPV	503	504	505	506	507	508
AB002410_	AB00	GHTFT	IINPSGGYAT		RASQSINSW	DTST	QQSY						
2A11v2	2410	RYYMH	YAQKFQG	ASGWFV	LA	LES	SFPV	509	510	511	512	513	514
AB002413_	AB00	GHTFT	IINPSGGYAT		RASQSINSW	ATST	QQYY						
2A11v3	2413	RYYMH	YAQKFQG	ASGLFI	LA	LES	RFPV	515	516	517	518	519	520
AB002417_	AB00	GHTFT	IINPSGGYAT		RASQSINSW	ATST	QQYY						
2A11v4	2417	RYYMH	YAQKFQG	ASGLFI	LA	LES	SFPV	521	522	523	524	525	526
AB002427_	AB00	GHTFT	IINPSGGYAT		RASQSINSW	ATST	QQSY						
2A11v5	2427	RYYMH	YAQKFQG	ASGLFI	LA	LES	RFPV	527	528	529	530	531	532
AB002520_	AB00	GYTFT	IINPRAGYTS		RASQSISTW	AASS	QQSY						
7A04v8	2520	DYYMH	YALKFQG	TSGWDV	LA	LDS	RFPV	533	534	535	536	537	538
AB002521_	AB00	GHTFT	IINPSGGYAT		RASQSINSW	ATST	QQSY						
2A11v1	2521	RYYMH	YAQKFQG	ASGLDI	LA	LES	RFPV	539	540	541	542	543	544

[0348]

ID	抗体 ID	V_H_cdr1	V_H_cdr2	V_H_cdr3	V_L_cdr1	V_L_c dr2	V_L_cdr 3	V_H_ cdr1 SEQ ID NO:	V_H_ cdr2 SEQ ID NO:	V_H_ cdr3 SEQ ID NO:	V_L_ cdr1 SEQ ID NO:	V_L_ cdr2 SEQ ID NO:	V_L_ cdr3 SEQ ID NO:
AB002829_knd_A08	AB002829	GYIFNG	WMNPDNG	ARGMAT	RSSQSLLHS	LGSN	MQGT						
		YDIH	NTGLAQKF	RFPYYY	NGYNYLD	RAS	HWPP	545	546	547	548	549	550
			QG	YGMDV									
AB002864_2A11v6	AB002864	GHTFT	VINPSGGYA	ASGWDV	RASQSINSW	ATST	QQSY						
	2864	RYYMH	TYAQKFQG		LA	LES	SSPV	551	552	553	554	555	556
AB003005_7A04v5	AB003005	GYTFT	IIQPRAGYTS	TSGWDV	RASQSISTW	AASS	QQSY						
	3005	RYYMH	YALKFQG		LA	LDE	SFPV	557	558	559	560	561	562
AB003007_7A04v6	AB003007	GYTFT	IINPRAGYTS	TSGWEV	RASQSISTW	AASS	QQSY						
	3007	RYYMH	YALKFQG		LA	LDE	SFPV	563	564	565	566	567	568
AB003012_7A04v7	AB003012	GYTFT	IINPRAGYTS	TSGWDV	RASQSISTW	AASS	QQSY						
	3012	RYYMH	YALKFQG		LA	LDE	SFPV	569	570	571	572	573	574
AB003021_2A11v7	AB003021	GFTFTR	VINPSGGYA	ASGWDV	RASQSISSW	ATST	QQSY						
	3021	YYMH	TYAQKFQG		LA	LES	SSPV	575	576	577	578	579	580
AB003155_2B07v10	AB003155	GETFTR	IINPSGGYAS	AAGLFI	RASQSIGRW	SASN	QQYN						
		YYVH	YAQKFQG		LA	LET	RFPV	581	582	583	584	585	586
AB003174_2B07v11	AB003174	GDTFT	IINPSGGYAS	AAGLFI	RASQSIGRE	SASN	QQYN						
	3174	RYYVH	YAQKFQG		LA	LET	RFPV	587	588	589	590	591	592
AB003178_2B07v12	AB003178	GDEFT	IINPSGGYAS	AAGLFI	RASQSIGRW	SASN	QQYN						
	3178	RYYVH	YAQKFQG		LA	LET	RFPV	593	594	595	596	597	598

[0349]

ID	抗体 ID	V_H_cdr1	V_H_cdr2	V_H_cdr3	V_L_cdr1	V_L_c dr2	V_L_cdr 3	V_H_ cdr1 SEQ ID NO:	V_H_ cdr2 SEQ ID NO:	V_H_ cdr3 SEQ ID NO:	V_L_ cdr1 SEQ ID NO:	V_L_ cdr2 SEQ ID NO:	V_L_ cdr3 SEQ ID NO:
AB003180_	AB00	GDEFT	IQNPSGGYA		RASQSIGRW	SASN	QQYN						
2B07v13	3180	RYYVH	SYAQKFQG	AAGLFI	LA	LET	RFPV	599	600	601	602	603	604
AB003183_	AB00	GDEFT	IQNPSGGYA		RASQSIGRE	DAS	QQYN						
2B07v14	3183	RYYVH	SYAQKFQG	AAGLFI	LA	NLET	RFPV	605	606	607	608	609	610
AB003200_	AB00	GETFTN	VINPRAGYT		RISQSISSWL	SASS	QQSF						
2B05v1	3200	YYIH	SYALKFQG	AGGWED	A	LQS	TSPI	611	612	613	614	615	616
AB003201_	AB00	GGTFT	IIDPRAGYTS		RISQSISSWL	SASS	QQSF						
2B05v2	3201	NYYIH	YALKFQG	AGGWED	A	LQS	TSPI	617	618	619	620	621	622
AB003202_	AB00	GSTFTN	IIDPRAGYTS		RISQSISSFL	SASS	QQSF						
2B05v3	3202	YYIH	YALKFQG	AGGWED	A	LQS	TSPI	623	624	625	626	627	628
AB003209_	AB00	GETFTN	IIDPRAGYTS		RISQSISSFL	SASS	QQSF						
2B05v4	3209	YYIH	YALKFQG	AGGWED	A	LQS	TSPI	629	630	631	632	633	634
AB003232_	AB00	GTTFTN	VINPRAGYT		RASQSISSW	SASS	QQSV						
2B05v5	3232	YYIH	SYALKFQG	TGGWLD	LA	LQS	TMPV	635	636	637	638	639	640
AB003422_	AB00	GYTFT	VINPRAGYT		RASQRISSW	DASS	QQSF						
2B05v5	3422	NYYIH	SYALKFQG	AGGWLD	LA	LQS	TMPV	641	642	643	644	645	646
AB003465_	AB00	GFTFTR	VINPSGGYA		RASQSISSW	ATST	QQSY						
2A11v9	3465	YYMH	TYAQKFQG	ASGWDV	LA	LES	SFPP	647	648	649	650	651	652
AB003466_	AB00	GETFTR	IINPSGGYAS		RASQSIGRW	SASN	QQYN						
2B07v10	3466	YYVH	YAQKFQG	AAGLFI	LA	LET	SFPV	653	654	655	656	657	658

[0350]

ID	抗体ID	V_H_cdr1	V_H_cdr2	V_H_cdr3	V_L_cdr1	V_L_cdr2	V_L_cdr3	V_H_cdr1 SEQ ID NO:	V_H_cdr2 SEQ ID NO:	V_H_cdr3 SEQ ID NO:	V_L_cdr1 SEQ ID NO:	V_L_cdr2 SEQ ID NO:	V_L_cdr3 SEQ ID NO:
AB003467_7A04v9	AB003467	GYTFTRYYMH	IINPRAGYTSYALKFQG	TSGWDV	RASQSISTWLA	AASSLDT	QQSYSFPV	659	660	661	662	663	664
AB003470_knd_A04	AB003470	GYTFTAYYIH	WIHPYSGGTNYAQKFQG	AIGYYYGKFDY	RASQTISRYLN	AASLQS	QQSYSTPR	665	666	667	668	669	670

[0351] 实例13

[0352] 在体外含有另外双重结合抗体(DBA)结构域的PD-1/IL-2细胞因子复合物的调节

的IL-2受体结合

[0353] 该实例描述了包括实例12中描述的另外的DBA结合元件的PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物的PD-1调节的IL-2受体结合。分析抗PD-1/IL-2DBA-细胞因子复合物以及合适的未经调节的对照,诸如抗PD-1、抗Her2、抗PDL-1或抗IL-2细胞因子复合物。DBA-细胞因子复合物和对照抗体-细胞因子复合物以两种格式产生:(1)“对称”免疫细胞因子(如图2E所示);或(2)通过在哺乳动物细胞中表达并使用标准方案纯化的“不对称”免疫细胞因子(如图2B所示)。使用包被在每个孔上的恒定量的抗体-细胞因子构建体,通过用生物素化的IL-2受体βγ异源二聚体Fc(IL-2RBG;Acro目录号:ILG-H5254)在存在各种量的PD-1-Fc或hIgG1-Fc的情况下探测来进行ELISA测定。为了进行测定,将384孔ELISA板用在100mM碳酸氢盐溶液pH 9.0中的1微克/ml的抗Fc抗体在4℃包被过夜,并用SuperBlock洗涤两次。然后将抗体-细胞因子复合物以6nM的恒定浓度添加到每个孔中,并允许孵育1小时,并在PBS加0.05%Tween 20(PBST)中洗涤三次。添加滴定浓度的PD-1Fc或IgG1对照Fc,并允许孵育15分钟,然后添加恒定量的10nM生物素化IL-2RBG。将板再孵育30分钟,洗涤并使用链霉亲和素-HRP和标准ELISA方案进行生物素化IL-2RBG检测。

[0354] 对称设计

[0355] 包含图2E中所示结构的蛋白质复合物的结果如图9所示。如图2E所描绘的,这种对称格式由与每个抗体可变结构域连接的一个IL-2构成。从图9中这些构建体的行为可以看出,对于包含下表35中所示的肽ID(参考肽的序列可以在表2A中找到)的DBA-细胞因子复合物AF3247、AF3644、AF3651、AF3652、AF3653、AF3657、AF3930、AF3931、AF3933、AF3934和AF3935,IL-2RBG结合随着PD-1Fc的添加(但不随着阴性对照hIgG1 Fc蛋白的添加)以剂量依赖性方式增加。对于对照单特异性抗体-细胞因子复合物(包括抗Her2(AF3243)和抗IL-2(AF3246)),IL-2RBG结合不会随着PD-1Fc蛋白的添加而改变。

[0356] 表20:实例13中测试的“对称”免疫细胞因子设计和对照的多蛋白组分

[0357]

蛋白质复合物	肽 1	肽 2	肽 3	抗体 1
AF003232	PEP003639	PEP003648	PEP003642	AB002022_2B07v1
AF003740	PEP004243	PEP004247	PEP004159	AB002293_2B07v2
AF003747	PEP004243	PEP004247	PEP004162	AB002345_2B07v6
AF003749	PEP004243	PEP004247	PEP004163	AB002348_2B07v8
AF003753	PEP004243	PEP004247	PEP003642	AB002353_2B07v9
AF003941	PEP004251	PEP004443	PEP000169	AB001054_PDL1_DB02_D10 对照
AF003945	PEP004243	PEP004438	PEP004421	AB002326_2B07v3
AF003947	PEP004243	PEP004438	PEP004420	AB002342_2B07v5
AF003951	PEP004433	PEP004442	PEP004427	AB002360_7A04v1
AF003952	PEP004435	PEP004445	PEP004427	AB002365_7A04v2
AF003953	PEP004436	PEP004446	PEP004427	AB002370_7A04v3
AF003955	PEP004431	PEP004440	PEP004423	AB002413_2A11v3
AF003956	PEP004433	PEP004442	PEP004426	AB002520_7A04v8
AF003243	PEP003655	PEP000113		AB001203_trastuzumab 对照
AF003246	PEP003654	PEP003641		AB001923_抗 IL2 对照

[0358] 不对称设计

[0359] 包含图2B中描绘的结构(“不对称”免疫细胞因子设计)且描述于下表21的蛋白质复合物的结果如图10所示。这种格式由不对称复合物构成,该不对称复合物包含两个抗体结构域和与其中一个结构域连接的单一IL-2。对于包含下表21中所示的肽ID(参考肽的序列可在表2A中找到)的DBA-细胞因子复合物AF3232、AF3740、AF3747、AF3749、AF3753、AF3945、AF3947、AF3951、AF3952、AF3953、AF3955和AF3956,IL-2RBG结合随着PD-1Fc的添加(但不随着IgG1对照Fc蛋白的添加)以剂量依赖性方式增加。对于对照单特异性抗体-细胞因子复合物抗PDL-1(AF3941),IL-2RBG结合不会随着PD-1Fc蛋白的添加而改变。

[0360] 表21:实例13中测试的“不对称”免疫细胞因子设计和对照的多蛋白组分

[0361]

蛋白质复合物	肽1	肽2	肽2	抗体
AF003232	PEP003639	PEP003648	PEP003642	AB002022_2B07v1
AF003740	PEP004243	PEP004247	PEP004159	AB002293_2B07v2
AF003747	PEP004243	PEP004247	PEP004162	AB002345_2B07v6
AF003749	PEP004243	PEP004247	PEP004163	AB002348_2B07v8
AF003753	PEP004243	PEP004247	PEP003642	AB002353_2B07v9
AF003945	PEP004243	PEP004438	PEP004421	AB002326_2B07v3
AF003947	PEP004243	PEP004438	PEP004420	AB002342_2B07v5
AF003951	PEP004433	PEP004442	PEP004427	AB002360_7A04v1
AF003952	PEP004435	PEP004445	PEP004427	AB002365_7A04v2
AF003953	PEP004436	PEP004446	PEP004427	AB002370_7A04v3
AF003955	PEP004431	PEP004440	PEP004423	AB002413_2A11v3
AF003956	PEP004433	PEP004442	PEP004426	AB002520_7A04v8
AF003941	PEP004251	PEP004443	PEP000169	AB001054_PDL1_DB02_D10 对照

[0362] 实例14

[0363] PD-1/IL-2细胞因子复合物在体外对两种形式的IL-2与IL-2RBG的结合的抑制

[0364] 该实例描述了PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物中与IL-2RBG结合的两种形式的IL-2。用野生型(WT)IL-2或IL-2 3x(与IL-2Rα结合减少并具有R38D、K43E和E61R突变的IL-2变体,参见例如Vazquez-Lombardi等人Nat Commun.8:15371 2017,其通过引用以其整体并入本文)生成呈图2H中描绘的格式的抗体-细胞因子复合物。DBA-细胞因子复合物和对照抗体-细胞因子复合物通过在哺乳动物细胞中表达产生并使用标准方案纯化。为了检查DBA结合结构域阻断IL-2与IL-2RBG结合的能力,使用包被在每个孔上的恒定量的抗体-细胞因子构建体,通过用生物素化的IL-2受体βγ异源二聚体Fc(IL-2RBG;Acro目录号:ILG-H5254)探测来进行ELISA测定。在这些实验中,384孔ELISA板用在100mM碳酸氢盐溶液pH 9.0中1微克/ml的抗Fc抗体(Jackson ImmunoResearch)在4℃包被过夜,并用SuperBlock(ThermoFisher,37515)洗涤两次。然后将抗体-细胞因子复合物以6nM的恒定浓度添加到每个孔中,并允许孵育1小时,并在PBS加0.05%Tween 20(PBST)中洗涤三次。添加滴定浓度的生物素化IL-2RBG并将板再孵育45分钟。洗涤后,使用链霉亲和素-HRP和标准ELISA方案进行生物素化IL-2RBG检测。

[0365] 下表22中描述的蛋白质复合物的结果如图11所示。如图2H所描绘的,这些复合物是不对称的并且由两个相同的单特异性Fab臂与通过柔性接头与一个Fc结构域附接的单一IL-2(WT或3x)和通过柔性接头与另一Fc结构域附接的单一scFv构成。抗体-细胞因子复合物包含Fab臂中的抗PD-1结构域和Fc臂上的PD-1/IL-2 DBA scFv。对照抗体-细胞因子复合物包含Fab臂中的相同的抗PD-1结构域和Fc臂上的抗HER2单特异性scFv。在图11图A中,抗体-细胞因子复合物含有在Fc结构域上的WT IL-2形式,并且在图11图B中,抗体-细胞因子复合物含有在Fc上的3x IL-2形式。如图11图A所示,与抗Her2非DBA对照复合物AF5416相比,PD-1/IL-2 DBA复合物AF5418和AF5419具有降低的IL-2RBG结合,证明了DBA结构域阻断受体与WT IL-2结合的能力。如图11图B所示,与抗Her2非DBA对照复合物AF4693相比,PD-1/

IL-2 DBA复合物AF4695和AF4696具有降低的IL-2RBG结合,证明了DBA结构域阻断受体与IL-2 3x结合的能力。

[0366] 表22:实例14中测试的“C末端”免疫细胞因子设计和对照的多蛋白组分

[0367]

肽 ID	肽 1	肽 2	肽 3	抗体 1	抗体 2
AF004693	PEP004967	PEP005090	PEP004729	AB001203_trastuzumab 对照	AB000694_PD1_nivolumab 对照
AF004695	PEP004967	PEP005091	PEP004729	AB002328_2B07v4	AB000694_PD1_nivolumab 对照
AF004696	PEP004967	PEP005092	PEP004729	AB002365_7A04v2	AB000694_PD1_nivolumab 对照
AF005416	PEP006177	PEP005090	PEP004729	AB001203_trastuzumab 对照	AB000694_PD1_nivolumab 对照
AF005418	PEP006177	PEP005091	PEP004729	AB002328_2B07v4	AB000694_PD1_nivolumab 对照
AF005419	PEP006177	PEP005092	PEP004729	AB002365_7A04v2	AB000694_PD1_nivolumab 对照

[0368] 实例15

[0369] 细胞测定中PD-1/IL-2双重结合抗体(DBA)细胞因子复合物的调节的IL-2受体信号传导

[0370] 该实例描述了HEK-Blue™IL-2报告细胞中PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物的PD-1调节的IL-2活性。分析抗PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物以及合适的未经调节的对照,诸如抗Her2、抗PDL-1或抗IL-2细胞因子复合物。DBA-细胞因子复合物和对照抗体-细胞因子复合物通过在哺乳动物细胞中表达并使用标准方案纯化以图2B、2D、2E、2G、2H和2I中所示的五种格式产生;这些复合物的肽组分概述于下表23中(其中各个组分的序列可在表2A中找到)。在存在各种量的PD-1-Fc或hIgG1-Fc的情况下,对五种格式中的每一者进行基于细胞的报告基因测定。

[0371] 表23:实例15中测试的免疫细胞因子设计和对照的多蛋白组分

[0372]

蛋白质复合物	格式（图）	链 1	链 2	链 3	抗体 1	抗体 2
AF003232	2B	PEP003639	PEP003648	PEP003642	AB002022_2B07v1	-
AF003744	2B	PEP004243	PEP004247	PEP004158	AB002328_2B07v4	-
AF003747	2B	PEP004243	PEP004247	PEP004162	AB002345_2B07v6	-
AF003941	2B	PEP004251	PEP004443	PEP000169	AB001054_PDL1_DB02_D10 对照	-
AF003946	2B	PEP004243	PEP004438	PEP004158	AB002328_2B07v4	-
AF003948	2B	PEP004243	PEP004438	PEP004162	AB002345_2B07v6	-
AF003952	2B	PEP004435	PEP004445	PEP004427	AB002365_7A04v2	-
AF003955	2B	PEP004431	PEP004440	PEP004423	AB002413_2A11v3	-
AF003956	2B	PEP004433	PEP004442	PEP004426	AB002520_7A04v8	-
AF003345	2D	PEP003791	PEP003786		AB002022_2B07v1	-
AF003243	2E	PEP003655	PEP000113		AB001203_trastuzumab 对照	-

[0373]

蛋白质复合物	格式（图）	链 1	链 2	链 3	抗体 1	抗体 2
AF003246	2E	PEP003654	PEP003641		AB001923_抗 IL2 对照	-
AF003247	2E	PEP003657	PEP003642		AB002022_2B07v1	-
AF003341	2E	PEP003780	PEP003782		AB002022_2B07v1	-
AF003644	2E	PEP004153	PEP004159		AB002293_2B07v2	-
AF003651	2E	PEP004153	PEP004162		AB002345_2B07v6	-
AF003657	2E	PEP004153	PEP003642		AB002353_2B07v9	-
AF003934	2E	PEP004418	PEP004427		AB002365_7A04v2	-
AF003873	2G	PEP004361	PEP003642		AB002022_2B07v1	AB000880_PD1_4C10 对照
AF003876	2G	PEP004363	PEP004158		AB002328_2B07v4	AB000880_PD1_4C10 对照
AF003877	2G	PEP004363	PEP004162		AB002345_2B07v6	AB000880_PD1_4C10 对照
AF003864	2H	PEP003626	PEP004356	PEP000243	AB001923_抗 IL2 对照	AB000881_PD1_对照
AF003871	2H	PEP004360	PEP000113	PEP004360	AB001203_trastuzumab 对照	AB000880_PD1_4C10 对照
AF003872	2H	PEP004359	PEP003641	PEP004359	AB001923_抗 IL2 对照	AB000880_PD1_4C10 对照
AF003913	2H	PEP003626	PEP004395	PEP000243	AB002022_2B07v1	AB000881_PD1_对照
AF003918	2H	PEP003626	PEP004398	PEP000243	AB002328_2B07v4	AB000881_PD1_对照
AF003923	2H	PEP003626	PEP004406	PEP000243	AB002360_7A04v1	AB000881_PD1_对照
AF003927	2H	PEP003626	PEP004404	PEP000243	AB002413_2A11v3	AB000881_PD1_对照
AF004502	2H	PEP005089	PEP005090	PEP004729	AB000694_PD1_nivolumab 对照	AB001203_trastuzumab 对照

[0374]

蛋白质复合物	格式（图）	链 1	链 2	链 3	抗体 1	抗体 2
AF004503	2H	PEP003628	PEP005088	PEP000113	AB001203_trastuzumab 对照	AB001203_trastuzumab 对照
AF004504	2H	PEP005089	PEP005091	PEP004729	AB002328_2B07v4	AB000694_PD1_nivolumab 对照
AF004505	2H	PEP005089	PEP005092	PEP004729	AB002365_7A04v2	AB000694_PD1_nivolumab 对照
AF004892	2H	PEP000288	PEP005631	PEP000244	AB002328_2B07v4	AB000881_PD1_对照
AF004893	2H	PEP000288	PEP005634	PEP000244	AB002365_7A04v2	AB000881_PD1_对照
AF003632	2I	PEP004130	PEP004129	PEP000244	AB000881_PD1_对照	-
AF003634	2I	PEP004134	PEP004133	PEP003782	AB002022_2B07v1	-

[0375] 在图12A、12B、13A和25所示的实验中,将抗体-细胞因子复合物稀释到384孔TC处理板(Corning 3701)的含有完全DMEM(+10％FBS、2mM L-谷氨酰胺、丙酮酸钠)以及滴定浓度的PD-1Fc或IgG1对照Fc的孔中,终浓度为100pM(之前显示对于始终打开的对照具有强烈的报告信号,但对于始终关闭的对照几乎没有信号的浓度)。孵育15分钟后,将HEK-Blue™IL-2报告细胞(12,500个细胞)添加到每个孔中并孵育过夜。将每孔中的五微升转移至含有45微升QuantiBlue溶液(Invivogen,产品号rep-qbs)的新板中。30至60分钟后,使用Perkin-Elmer Envision确定630nm处的吸光度。

[0376] 在图13B、14A、14B、20和22所示的替代实验格式中,384孔ELISA板的孔用恒定浓度的PD-1-Fc或用抗Fc抗体(Jackson ImmunoResearch,产品号109-005-098)捕获的IgG1 Fc对照蛋白包被。将细胞因子复合物从起始浓度6nM开始在生长培养基中按1:4连续稀释8个点,并在添加HEK-Blue™IL-2报告细胞之前短暂孵育。

[0377] 包含图2E中所示结构的蛋白质复合物的结果如图12A和12B所示。如图2E所描绘的,这种对称格式由与每个抗体重链可变结构域连接的一个IL-2构成。对于DBA-细胞因子复合物AF3247、AF3644、AF3651、AF3657和AF3934,IL-2活性随着PD-1Fc的添加(但不随着hIgG1 Fc蛋白的添加)以剂量依赖性方式增加。对照抗Her2 AF3243和抗IL-2AF3246单特异性抗体-细胞因子复合物的IL-2活性不随着PD-1Fc蛋白的添加而改变。图12B中的对称格式类似于图12A中的DBA-细胞因子复合物,但是,IL-2与AF3341的重链可变结构域和AF3345的轻链可变结构域缀合。两种对称格式都证明,IL-2活性随着PD-1Fc的添加而增加,但不随着hIgG1 Fc的添加而增加。

[0378] 包含图2B中描绘的结构的蛋白质复合物的结果如图13A和13B所示。这种格式由不对称复合物构成,该不对称复合物包含两个抗体结构域和与其中一个结构域连接的单一IL-2。在图13A中,对于DBA-细胞因子复合物AF3232、AF3744和AF3747,IL-2活性随着PD-1Fc的添加(但不随着IgG1对照Fc蛋白的添加)以剂量依赖性方式增加。在图13B中显示了呈替代测定格式的不对称构建体的结果,其中PD-1Fc或hIgG1 Fc被捕获至板。与hIgG1 Fc包被

的孔相比,DBA-细胞因子复合物AF3946、AF3948、AF3952、AF3955和AF3956在PD-1包被的孔中展示出增加的IL-2活性。对照抗PDL-1单特异性抗体-细胞因子复合物AF3941的IL-2活性不随着PD-1Fc蛋白的添加而改变。

[0379] 包含图2H中描绘的结构的蛋白质复合物的结果如图14A和14B所示。如图2H所描绘的,这些复合物是不对称的并且由两个相同的单特异性Fab臂与通过柔性接头与一个Fc结构域附接的单一IL-2和通过柔性接头与另一Fc结构域附接的单一scFv构成。

[0380] 在图14A中,PD-1/IL-2 DBA复合物由Fab臂中的抗PD-1结构域(PD1-纳武单抗对照)和Fc臂上的PD-1/IL-2 DBA scFv构成。对照抗体-细胞因子复合物由Fab臂中的相同抗PD-1结构域和Fc臂上的非DBA scFv构成。当向细胞中添加滴定量的细胞因子复合物时,与等摩尔量的对照抗HER2 IL-2免疫细胞因子AF4502和AF4503相比,上图中含有细胞因子复合物AF4504和AF4505的PD-1/IL-2 DBA显示报告基因激活降低。将相同滴定量的细胞因子复合物添加到下图中PD-1Fc或人IgG1 Fc对照包被的孔中。与人IgG1 Fc包被的孔相比,AF4504和AF4505在PD-1包被的孔中均展示出增加的IL-2活性。与hIgG1 Fc对照相比,在用PD1 Fc包被的孔中,对照抗HER2 IL-2免疫细胞因子AF4502和AF4503的IL-2活性没有变化。在图14B中,PD-1/IL-2 DBA复合物由Fab臂中的不同抗PD-1结构域(AB000881_PD1_对照)和Fc臂上的PD-1/IL-2 DBA scFv构成。与hIgG1 Fc包被的孔相比,含有细胞因子复合物AF3913、AF3918、AF3923和AF3927的PD-1/IL-2 DBA在PD-1Fc包被的孔中展示出增加的IL-2活性。抗IL-2非DBA scFv对照抗体-细胞因子复合物AF3864的IL-2活性在PD-1包被的孔中没有变化。

[0381] 包含图2G中描绘的结构的蛋白质复合物的结果如图15所示。如图2G所描绘的,这种对称格式由Fab臂中与每个抗体重链可变结构域连接的一个IL-2和与每个Fc结构域附接的一个scFv构成。抗体-细胞因子复合物由Fab臂中的PD-1/IL-2 DBA和Fc结构域上的抗PD-1scFv(AB000880_PD1_4C10_对照)构成。对照抗体-细胞因子复合物由Fc结构域中的相同抗PD-1结构域和Fab臂中的非DBA构成。AF3871具有在Fab臂上的非DBA抗Her2抗体,并且AF3872具有在Fab臂上的非DBA抗IL-2抗体。与hIgG1包被的孔相比,含有PD-1/IL-2 DBA的复合物AF3873、AF3876和AF3877在PD-1Fc包被的孔中展示出增加的IL-2报告基因活性。在PD-1Fc包被的孔中,两种对照抗体-细胞因子复合物AF3871和AF3872的IL-2活性没有变化。

[0382] 包含图2I中描绘的结构的蛋白质复合物的结果如图16所示。如图2I所描绘的,这些复合物是不对称的,并且由Fab臂中的PD-1/IL-2 DBA与通过柔性接头与一个Fc结构域附接的单一IL-2构成。该抗体的铰链区是IgG1和IgG3的铰链序列的杂合体,其中去除了二硫桥以增加Fab臂与Fc结构域上的IL-2细胞因子之间的柔性。对照抗体-细胞因子复合物由Fab臂中的单特异性抗PD-1结构域和Fc结构域上的相同IL-2构成。对于DBA-细胞因子复合物AF3634,IL-2活性随着PD-1Fc的添加(但不随着hIgG1 Fc蛋白的添加)以剂量依赖性方式增加。对照抗PD-1单特异性抗体-细胞因子复合物AF3632的IL-2活性不随着PD-1Fc蛋白的添加而改变。

[0383] 包含图2H中描绘的结构的蛋白质复合物的结果如图17所示。如图2H)所描绘的,并且类似于图14A和14B中的构建体,这些复合物是不对称的并且由两个相同的单特异性Fab臂与通过柔性接头与一个Fc结构域附接的单一IL-2和通过柔性接头与另一Fc结构域附接的单一scFv构成。对于图17中的构建体而言独特的是该构建体的Fc部分是人IgG1同种型。

图17中描绘的两个构建体由Fab臂中的抗PD-1结构域(AB000881_PD1_对照)和Fc臂上的PD-1/IL-2 DBA scFv构成。与mIgG2a Fc对照包被的孔相比,含有PD-1/IL2 DBA的细胞因子复合物AF4892和AF4893在PD-1Fc包被的孔中均展示出增加的IL-2活性。

[0384] 实例16

[0385] 在体外PD-1/IL-2 3x双重结合抗体(DBA)细胞因子复合物的调节的IL-2 3x受体信号传导

[0386] 该实例描述了在HEK-Blue™IL-2报告细胞中PD-1/IL-2 3x DBA-细胞因子复合物的PD-1调节的IL-2 3x(与IL-2Rα结合减少的IL-2变体,Lombardi等人,2017)活性。分析抗PD-1/IL-2 3x DBA-细胞因子复合物以及合适的未经调节的对照,诸如抗Her2、抗PD-1或抗IL-2细胞因子复合物。DBA-细胞因子复合物和对照抗体-细胞因子复合物通过在哺乳动物细胞中表达并使用标准方案纯化以图2B和2H中所示的两种格式产生。在存在板结合的PD-1-Fc或hIgG1-Fc的情况下,对两种格式中的每一者进行基于细胞的报告基因测定。384孔ELISA板(Corning 3700)用100mM碳酸氢盐溶液pH 9.0中的1微克/ml的抗Fc抗体(Jackson ImmunoResearch)在4℃包被过夜,并用SuperBlock(ThermoFisher)洗涤两次。然后将PD1-Fc或IgG1对照Fc以6nM的恒定浓度添加到每个孔中,并允许孵育1小时,并在PBS加0.05%Tween 20(PBST)中洗涤三次。将抗体-细胞因子复合物在完全DMEM(+10%FBS、2mM L-谷氨酰胺、丙酮酸钠)中从6nM起始浓度开始按1:4连续稀释8个点。孵育15分钟后,将HEK-BlueTMIL-2报告细胞(12,500个细胞)添加到每个孔中并孵育过夜。将每孔中的五微升转移到含有45微升QuantiBlue溶液(Invivogen,产品号:rep-qbs)的新板中。30至60分钟后,使用Perkin-Elmer Envision确定630nm处的吸光度。

[0387] 包含图2B中描绘的结构的蛋白质复合物的结果如图18所示。这种格式由不对称复合物构成,该不对称复合物包含两个抗体结构域与和其中一个结构域连接的单一IL-2 3x。与hIgG1 Fc包被的孔相比,DBA-细胞因子复合物AF4385、AF4386、AF4387、AF4388和AF4389在PD-1Fc包被的孔中展示出增加的IL-2 3x活性。对照抗PD-1单特异性抗体-细胞因子复合物AF4380和抗IL-2单特异性抗体-细胞因子复合物AF4384的IL-2 3x活性不随着PD-1Fc蛋白的添加而改变。

[0388] 包含图2H中描绘的结构的蛋白质复合物的结果如图19A、19B和19C所示。如图2H所描绘的,这些复合物是不对称的并且包含两个相同的单特异性Fab臂与通过柔性接头与一个Fc结构域附接的单一IL-2 3x和通过柔性接头与另一Fc结构域附接的单一scFv。

[0389] 在图19A中,PD-1/IL-2 DBA复合物由Fab臂中的抗PD-1结构域(AB000694_nivo)和Fc臂上的PD-1/IL-2 DBA scFv构成。对照抗体-细胞因子复合物由Fab臂中的相同的抗PD-1结构域和Fc臂上的非DBA scFv构成。与hIgG1 Fc包被的孔相比,含有细胞因子复合物AF4404、AF4405、AF4695和AF4696的PD-1/IL-2 3x DBA在PD-1Fc包被的孔中展示出增加的IL-2 3x活性。抗IL-2非DBA scFv对照抗体-细胞因子复合物AF4401和抗Her2非DBA scFv对照抗体-细胞因子复合物AF4694的IL-2 3x活性在PD-1Fc包被的孔中没有变化。在图19B中,PD-1/IL-2 DBA复合物由Fab臂中的不同抗PD-1结构域(AB000880_PD1_R04_C10)和Fc臂上的PD-1/IL-2 DBA scFv构成。与hIgG1 Fc包被的孔相比,含有细胞因子复合物AF4413、AF4414、AF4415和AF4416的PD-1/IL-2 3xDBA在PD-1Fc包被的孔中展示出增加的IL-2 3x活性。抗IL-2非DBA scFv对照抗体-细胞因子复合物AF4412的IL-2 3x活性在PD-1Fc包被的孔

中没有变化。在图19C中,PD-1/IL-2 DBA复合物由Fab臂中的抗PD-1结构域构成,其不阻断PDL-1与PD-1的结合,也不阻断纳武单抗与PD-1的结合。与hIgG1 Fc包被的孔相比,含有PD-1/IL-2 DBA的复合物AF4771和AF4773在PD-1Fc包被的孔中展示出增加的IL-2 3x活性。

[0390] 表24:实例16中测试的免疫细胞因子设计和对照的多蛋白组分

[0391]

蛋白质复合物	格式（图）	链 1	链 2	链 3	抗体 1	抗体 2
AF004385	2B	PEP004957	PEP004438	PEP004420	AB002342_2B07v5	-
AF004386	2B	PEP004957	PEP004438	PEP004162	AB002345_2B07v6	-

[0392]

AF004387	2B	PEP004959	PEP004442	PEP004427	AB002360_7A04v1	-
AF004388	2B	PEP004960	PEP004446	PEP004427	AB002370_7A04v3	-
AF004389	2B	PEP004958	PEP004440	PEP004423	AB002413_2A11v3	-
AF004404	2H	PEP004967	PEP004974	PEP004729	AB002360_7A04v1	AB000694_PD1_nivolumab 对照
AF004405	2H	PEP004967	PEP004973	PEP004729	AB002413_2A11v3	AB000694_PD1_nivolumab 对照
AF004413	2H	PEP004978	PEP004981	PEP000245	AB002342_2B07v5	AB000880_PD1_4C10 对照
AF004414	2H	PEP004978	PEP004982	PEP000245	AB002345_2B07v6	AB000880_PD1_4C10 对照
AF004415	2H	PEP004978	PEP004984	PEP000245	AB002360_7A04v1	AB000880_PD1_4C10 对照
AF004416	2H	PEP004978	PEP004983	PEP000245	AB002413_2A11v3	AB000880_PD1_4C10 对照
AF004695	2H	PEP004967	PEP005091	PEP004729	AB002328_2B07v4	AB000694_PD1_nivolumab 对照
AF004696	2H	PEP004967	PEP005092	PEP004729	AB002365_7A04v2	AB000694_PD1_nivolumab 对照
AF004771	2H	PEP005470	PEP005471	PEP005469	AB002328_2B07v4	AB002829_knd_A04_PD1 抗体
AF004773	2H	PEP005474	PEP005475	PEP005473	AB002328_2B07v4	AB003470_knd_A08_PD1 抗体

[0393] 实例17

[0394] 在细胞中具有可变接头长度的PD-1/IL-2双重结合抗体(DBA)细胞因子复合物的调节的IL-2受体信号传导

[0395] 该实例描述了HEK-Blue™IL-2报告细胞模型中具有不同接头长度的PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物的PD-1调节的IL-2活性。DBA-细胞因子复合物以图2B中所示的格式产生,其中连接IL-2细胞因子与DBA结构域的甘氨酸-丝氨酸(GS)接头从5个GS重复序列到25个GS重复序列不等。DBA-细胞因子复合物在哺乳动物细胞中表达并使用标准方案进行纯

化。在存在板结合的PD-1-Fc或hIgG1-Fc的情况下进行基于细胞的报告基因测定。在本实验中,384孔ELISA板(Corning 3700)用100mM碳酸氢盐溶液pH 9.0中的1微克/ml的抗Fc抗体(Jackson ImmunoResearch)在4℃包被过夜,并用SuperBlock(ThermoFisher)洗涤两次。然后将PD1-Fc或IgG1对照Fc以6nM的恒定浓度添加到每个孔中,并允许孵育1小时,并在PBS加0.05%Tween 20(PBST)中洗涤三次。将抗体-细胞因子复合物在完全DMEM(+10%FBS、2mM L-谷氨酰胺、丙酮酸钠)中从6nM起始浓度开始按1:4连续稀释8个点。孵育15分钟后,将HEK-Blue™IL-2报告细胞(12,500个细胞)添加到每个孔中并孵育过夜。将每孔中的五微升转移到含有45微升QuantiBlue溶液(Invivogen,产品号:rep-qbs)的新板中。30至60分钟后,使用Perkin-Elmer Envision确定630nm处的吸光度。

[0396] 图2B中描绘的具有不同接头长度的蛋白质复合物的结果如图20所示。该不对称复合物由两个抗体结构域与和其中一个结构域连接的单一IL-2构成。从GS5至GS25中选择不同的接头长度来测试接头长度对PD-1调节的依赖性。与hIgG1 Fc包被的孔相比,AF4262、AF4273、AF4284和AF4295的含有PD-1/IL-2 DBA结构域2B07变体的细胞因子复合物在PD-1Fc包被的孔中均展示出增加的IL-2活性。在AF4265、AF4276、AF4287和AF4298的含有PD-1/IL-2 DBA结构域7A04变体的细胞因子复合物中观察到类似的结果。这些数据证明,PD-1调节可以通过从GS5至GS25不等的多种细胞因子抗体接头长度进行。

[0397] 实例18

[0398] 人原代CD8+ T细胞中PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物对STAT5磷酸化的PD-1依赖性诱导

[0399] 该实例描述了在原代人CD8+ T细胞中PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物对STAT5磷酸化的诱导。DBA-细胞因子复合物以图2H中所示的格式产生。使用免疫磁性阴性选择(STEMCELL)从人PBMC中分离出CD8+ T细胞,并用板结合的抗CD3和可溶性抗CD28刺激72小时以诱导PD-1的表达。将经刺激的CD8+ T细胞与抗PD-1阻断抗体或同种型对照抗体一起孵育1小时。然后将滴定浓度的PD-1/IL-2 DBA细胞因子复合物(PD-1调节的IL-2)或抗HER2/IL-2细胞因子复合物(始终打开的IL-2)添加到CD8+ T细胞中并在37℃孵育20分钟。CD8+T细胞用Perm缓冲液III(BD Biosciences)固定、洗涤并用针对CD8、CD45RA、CD45RO和pSTAT5的抗体染色。通过流式细胞术评定CD45RA+和CD45RO+ T细胞群内的STAT5磷酸化。该实验的结果描绘在图21A和21B中。在大部分PD-1阴性的CD8+CD45RA+ T细胞中,与未经调节的抗HER2/IL-2-细胞因子复合物对照相比,PD-1/IL-2 DBA细胞因子复合物诱导的STAT5磷酸化阳性CD8+ T细胞的频率较低。在大部分PD-1阳性的CD8+CD45RO+ T细胞中,与未经调节的抗HER2/IL-2-细胞因子复合物对照相比,PD-1/IL-2DBA细胞因子复合物诱导的STAT5磷酸化阳性CD8+ T细胞的频率相同。此外,用抗PD-1阻断抗体预处理的CD8+CD45RO+ T细胞在用PD-1/IL-2 DBA细胞因子复合物处理后,STAT5磷酸化阳性细胞的频率较低,显示出活性对PD-1结合的依赖性。综上所述,这些数据显示PD-1/IL-2DBA细胞因子复合物显示出对PD-1阴性细胞的活性降低。在PD-1阳性细胞上,PD-1阻断会降低PD-1/IL-2 DBA细胞因子复合物活性。

[0400] 实例19

[0401] 混合淋巴细胞反应中人T细胞激活的PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物调节

[0402] 该实例描述了混合淋巴细胞反应(MLR)模型中人CD4+ T细胞激活的PD-1/IL-2

DBA细胞因子复合物调节。在该模型中,我们评定了T细胞针对外来抗原呈递细胞的激活以及我们的免疫细胞因子构建体调节该激活的能力。使用免疫磁性阴性选择(STEMCELL)从人PBMC中分离出CD4+CD25-T细胞,并按照制造商的方案用CellTrace紫增殖染料(ThermoFisher)进行标记。为了生成单核细胞衍生的树突状细胞(MDDC),使用免疫磁阴性选择(STEMCELL)从不同供体的PBMC中分离出单核细胞,并在存在GM-CSF(100ng/mL)和IL-4(50ng/mL)的情况下培养。3天后更换培养基,并在第7天收集MDDC。将10,000个MDDC添加到96孔圆底板的每个孔中,然后添加50,000个增殖染料标记的CD4+ T细胞。生成每种免疫细胞因子复合物的稀释系列并将其添加到细胞培养物中。37℃5天后,用活/死活力染料(ThermoFisher)对细胞进行染色,并且然后在固定/透化缓冲液(BD Biosciences)中于4℃孵育20分钟。然后用针对CD4和颗粒酶B的荧光团缀合抗体(BD Bioscience)对细胞进行染色,并通过流式细胞术评定增殖CD4+ T细胞中表达颗粒酶B的细胞的频率。该实验的结果描绘在图22A和图22B中。虽然HER2-IL2诱导T细胞的最小特异性激活(如预期的,因为T细胞不携带HER2分子),但未经调节和经调节的PD1-IL2构建体能够刺激T细胞激活,如剂量依赖性颗粒酶B表达所指示的。这些数据证明了经调节的PD1-IL2复合物的PD-1结合依赖性活性(经由它们激活T细胞的能力)。此外,观察到的颗粒酶B诱导程度在经调节和未经调节的PD1-IL2复合物之间具有可比性,表明在适当允许的条件下向IL2添加调节部分不会降低IL2的活性。

[0403] 实例20

[0404] 同基因肿瘤模型中抗肿瘤免疫的PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物调节

[0405] 该实例描述了MC38同基因小鼠肿瘤模型中抗肿瘤免疫的PD-1/IL-2DBA细胞因子复合物调节。评定PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物在体内驱动抗肿瘤免疫的能力。将500,000个MC38肿瘤细胞皮下植入人PD-1敲入小鼠(GenOway)中。每周两次测量肿瘤,并且体积计算为(长×宽×宽/2)。将小鼠随机分至处理组,并且当肿瘤达到约100mm^{3}的体积时开始治疗。在肿瘤植入后第7、10和13天用0.5毫克/千克体重的PD-1/IL-2DBA-细胞因子复合物、未经调节的抗PD1-IL2、抗HER2-IL2、抗PD-1或抗HER2静脉内处理小鼠。该实验的结果呈现在图23A和23B中。PD-1/IL-2 DBA-细胞因子复合物与未经调节的PD1-IL2相比显示出相当的肿瘤生长抑制,并且与抗PD1和抗HER抗体相比显示出更优异的肿瘤生长抑制。

[0406] 实例21

[0407] T细胞双特异性接合器活性的PD1-IL2增强(预言)

[0408] 可以生成PD-1调节的免疫细胞因子,其中PD1调节的IL2用于增强T细胞双特异性抗体(TCB)的活性。在该实例中,可以生成PD1-IL2 TCB,其中PD1-IL2 DBA scFv与一条重链的C末端融合,并且IL-2变体与TCB的相对重链的C末端融合。PD1-IL2 TCB的N末端可变区可以针对CD3和肿瘤相关抗原(诸如PSMA、HER2、CD20),或者针对CD3和不相关抗原。为了评定PD1-IL2 TCB活性,从新鲜PBMC中分离出人T细胞,并与表达各种水平的肿瘤相关抗原的肿瘤细胞系共培养。将滴定浓度的裸TCB或PD1-IL2 TCB添加到T细胞:肿瘤细胞共培养物中。在各种时间点评定肿瘤杀伤以及T细胞激活和细胞因子产生。

[0409] 实例22

[0410] 靶向T细胞相关抗原的PD-1调节的IL-2活性(预言)

[0411] 可以生成PD-1调节的免疫细胞因子,其中使用任何T细胞标记物使PD1调节的IL2

靶向T细胞。例如,PD1-IL2 DBA scFv可以与一条重链的C末端融合,并且IL-2变体可以与针对T细胞表达标记物的抗体的相对重链的C末端融合,该标记物包括但不限于CD28、CD28H、OX40、GITR、CD137、CD27、HVEM、CTLA-4、PD-1、TIM-3、BTLA、VISTA、LAG-3、TIGIT、CD244、ICOS、CD40L、CD4、CD8、KLRG1、FasL和CD7。T细胞可以在各种条件下被激活,以诱导给定T细胞标记物的表达。然后可以添加滴定浓度的针对目标标记物或不相关标记物的含有PD1-IL2 DBA的免疫细胞因子。然后可以评定STAT5磷酸化作为靶向IL-2活性的量度。在一些实验中,可以在用含有PD1-IL2 DBA的免疫细胞因子处理之前添加针对目标标记物的阻断抗体以显示特异性。

[0412] 虽然本文已经示出和描述了本公开的优选实施例,但是对于本领域技术人员来说,这些实施例仅作为示例提供是显而易见的。在不脱离本公开的情况下,本领域技术人员现在将想到许多变更、变化和替换。应当理解,在实践本公开时可以采用本文所述的本公开的实施例的各种替代方案。以下权利要求旨在限定本公开的范围,并且由此涵盖在这些权利要求及其等同物的范围内的方法和结构。

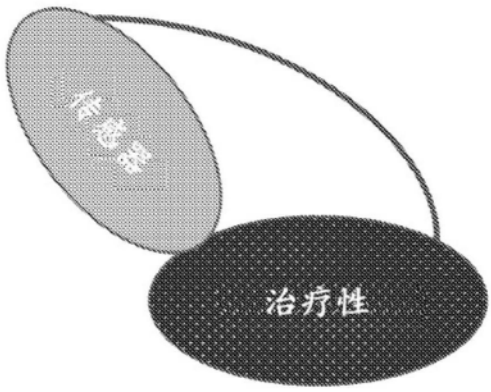


图 1A

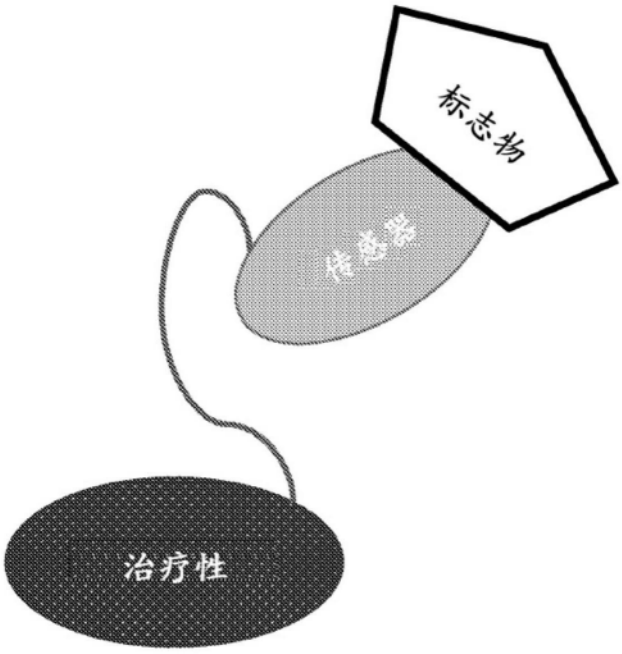


图 1B

图1

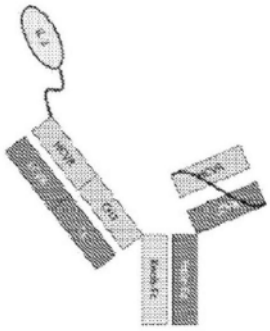


图 2A

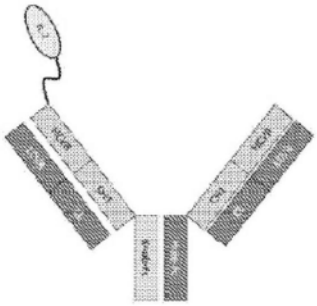


图 2B

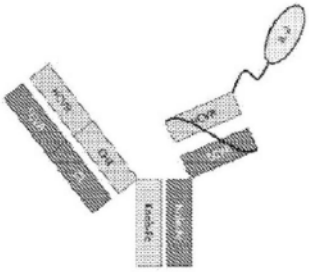


图 2C

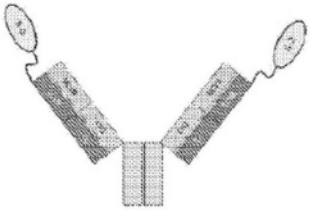


图 2D

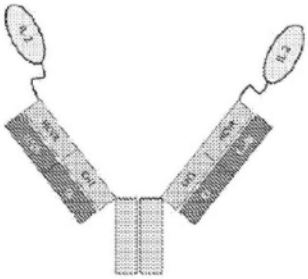


图 2E

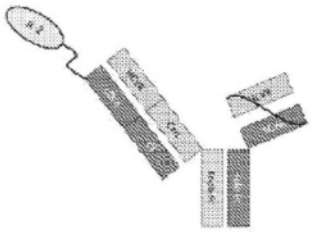


图 2F

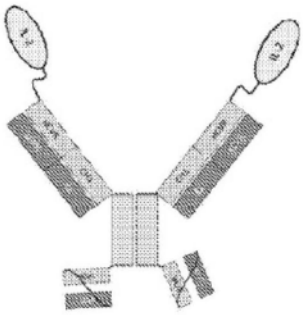


图 2G

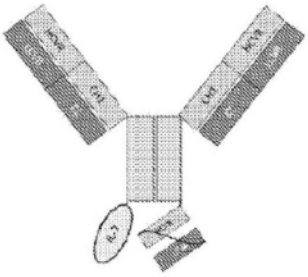


图 2H

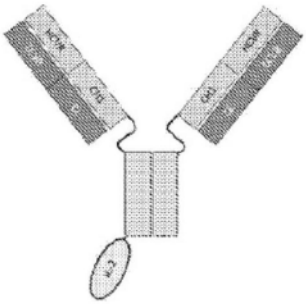


图 2I

图2

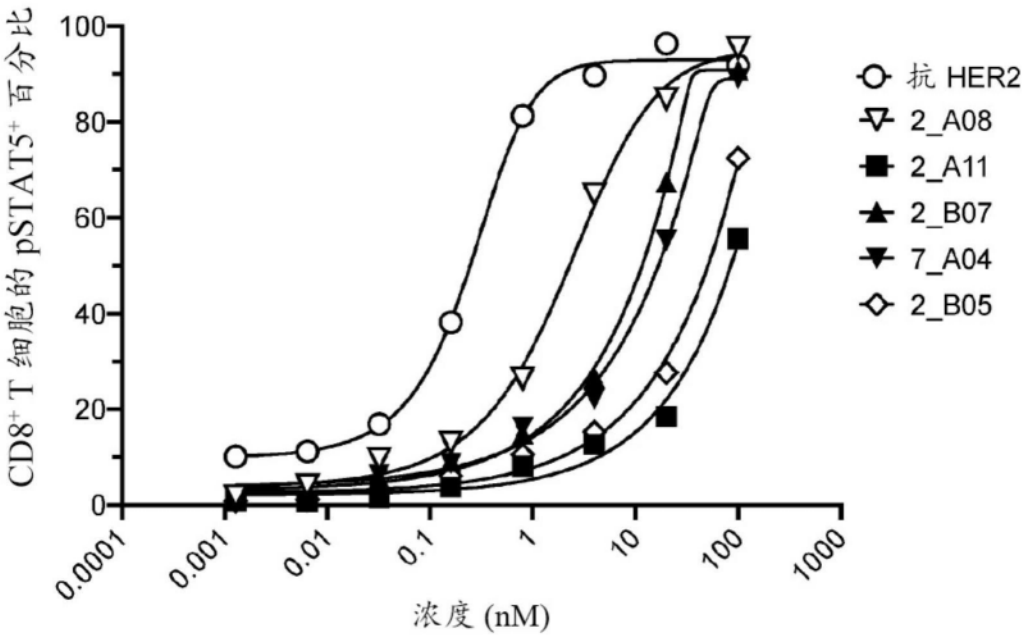

CD8⁺ T 细胞的 pSTAT5⁺ 百分比
100
80
60
40
20
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
浓度 (nM)
抗 HER2
2_A08
2_A11
2_B07
7_A04
2_B05

图3

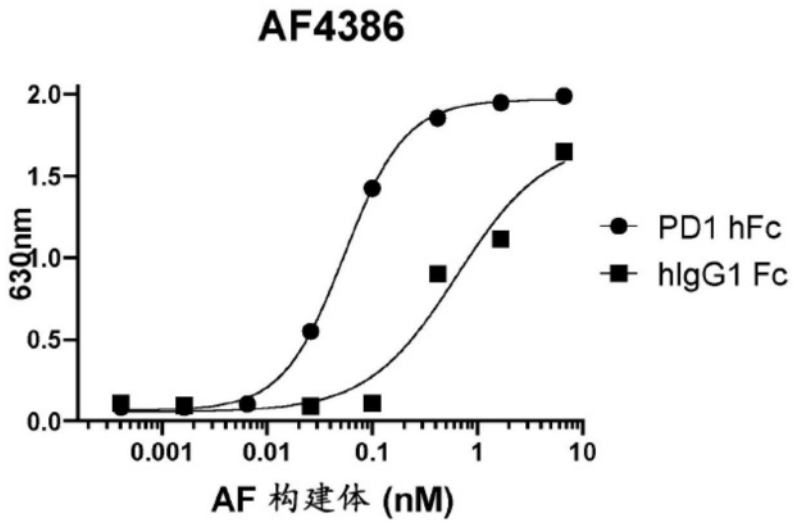

AF4386
630nm
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0.001
0.01
0.1
1
10
AF 构建体 (nM)
PD1 hFc
hIgG1 Fc

图4A

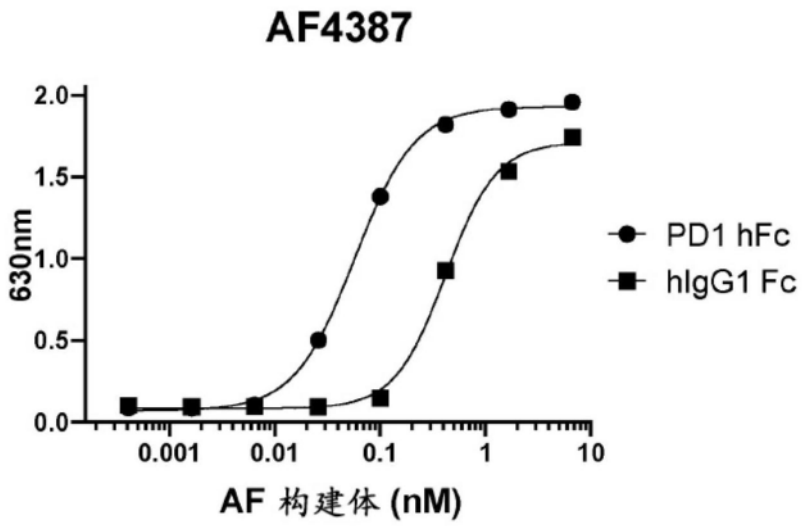

AF4387
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
630nm
0.001
0.01
0.1
1
10
AF 构建体 (nM)
PD1 hFc
hIgG1 Fc

图4B

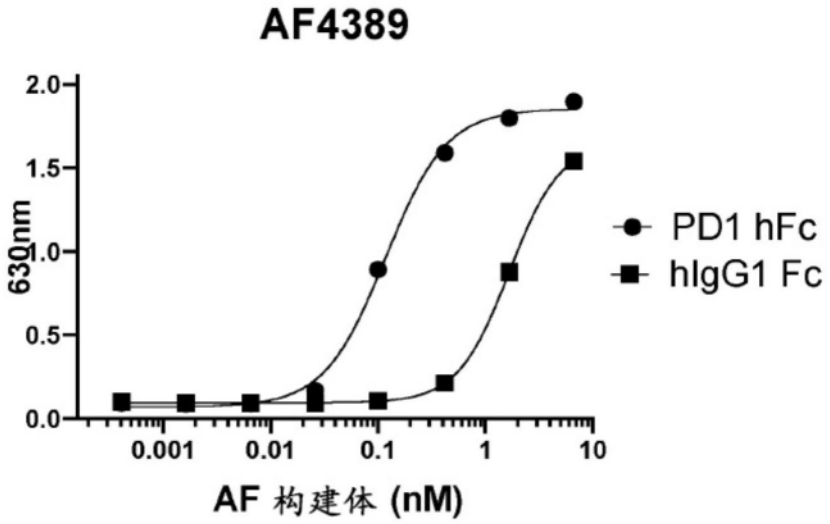

AF4389
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
630nm
0.001
0.01
0.1
1
10
AF 构建体 (nM)
PD1 hFc
hIgG1 Fc

图4C

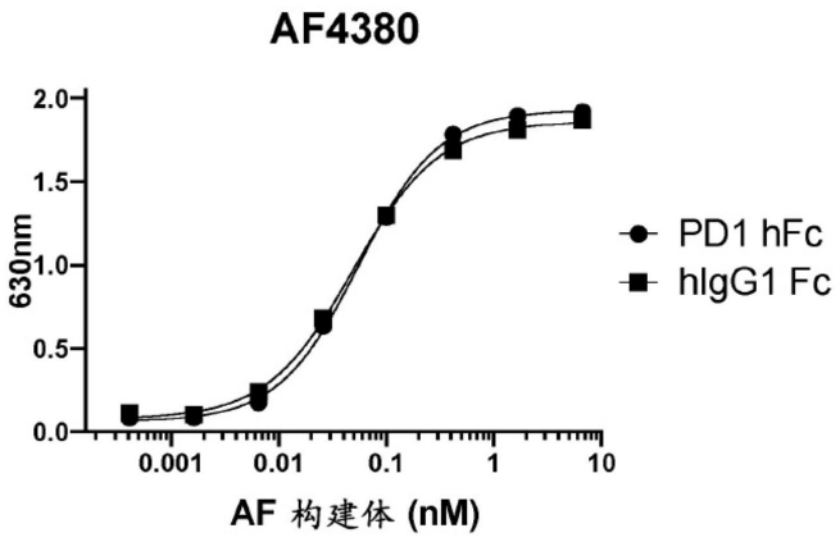

AF4380
630nm
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0.001
0.01
0.1
1
10
AF 构建体 (nM)
PD1 hFc
hIgG1 Fc

图4D

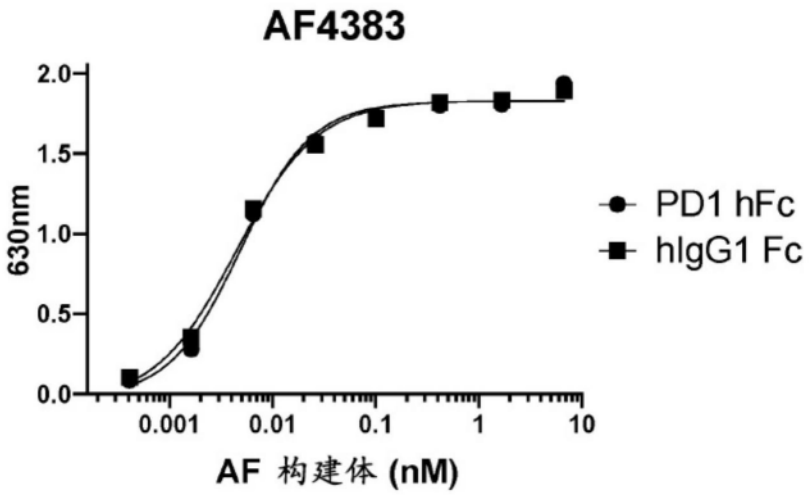

AF4383
630nm
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0.001
0.01
0.1
1
10
AF 构建体 (nM)
PD1 hFc
hIgG1 Fc

图4E

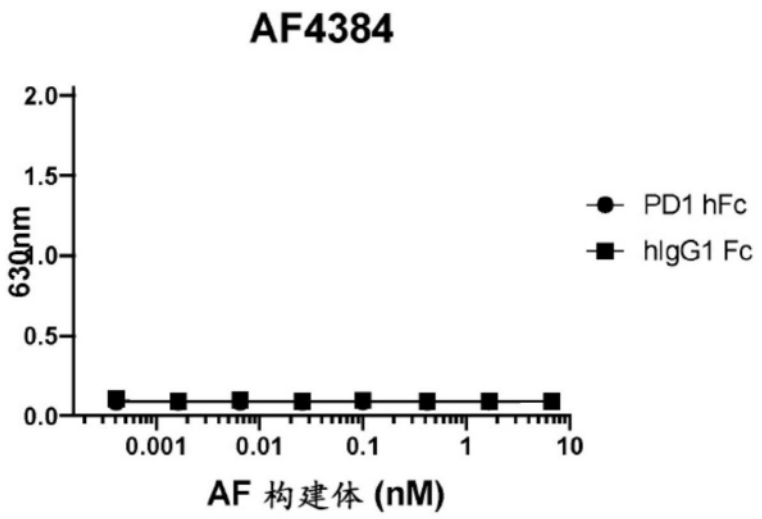


图4F

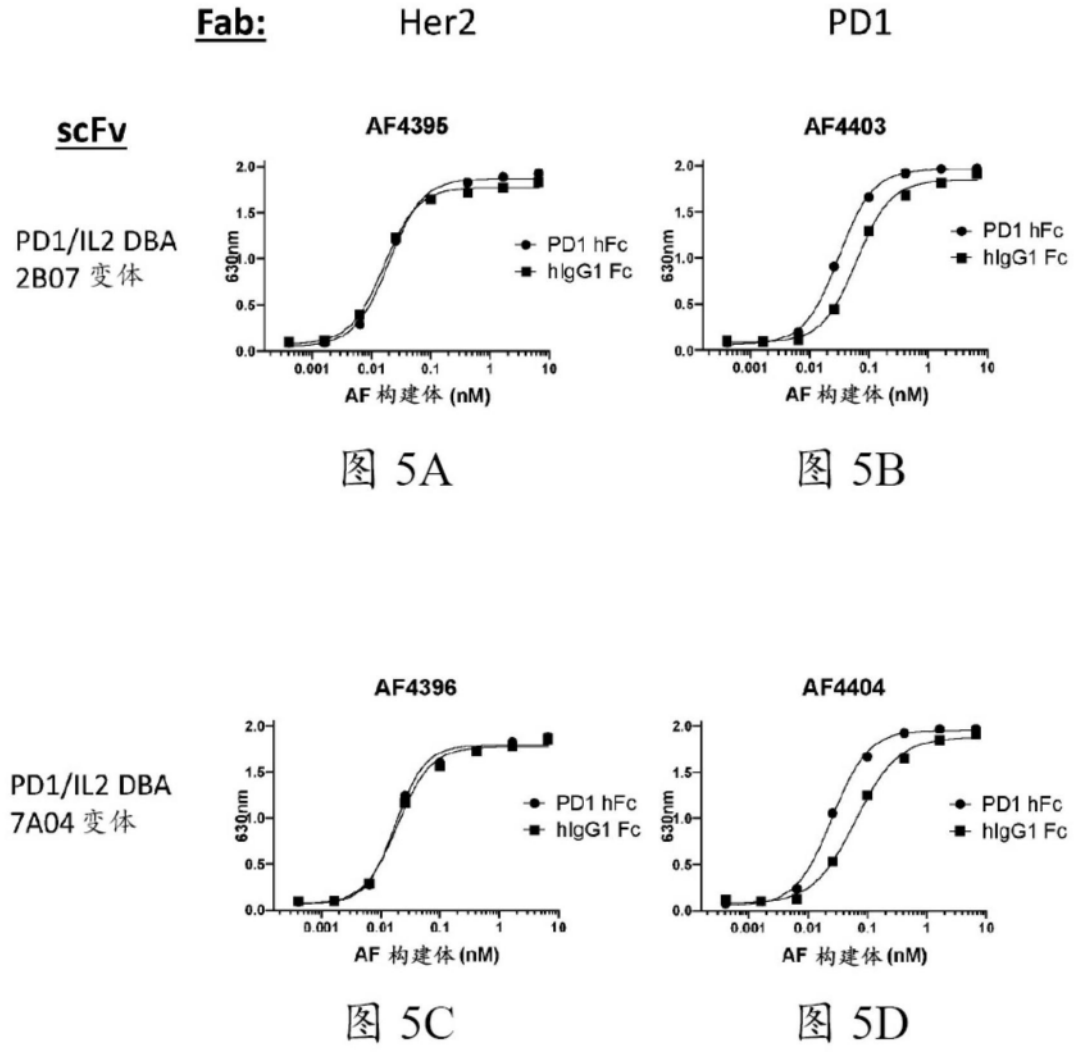


图 5A 图 5B

图 5C 图 5D

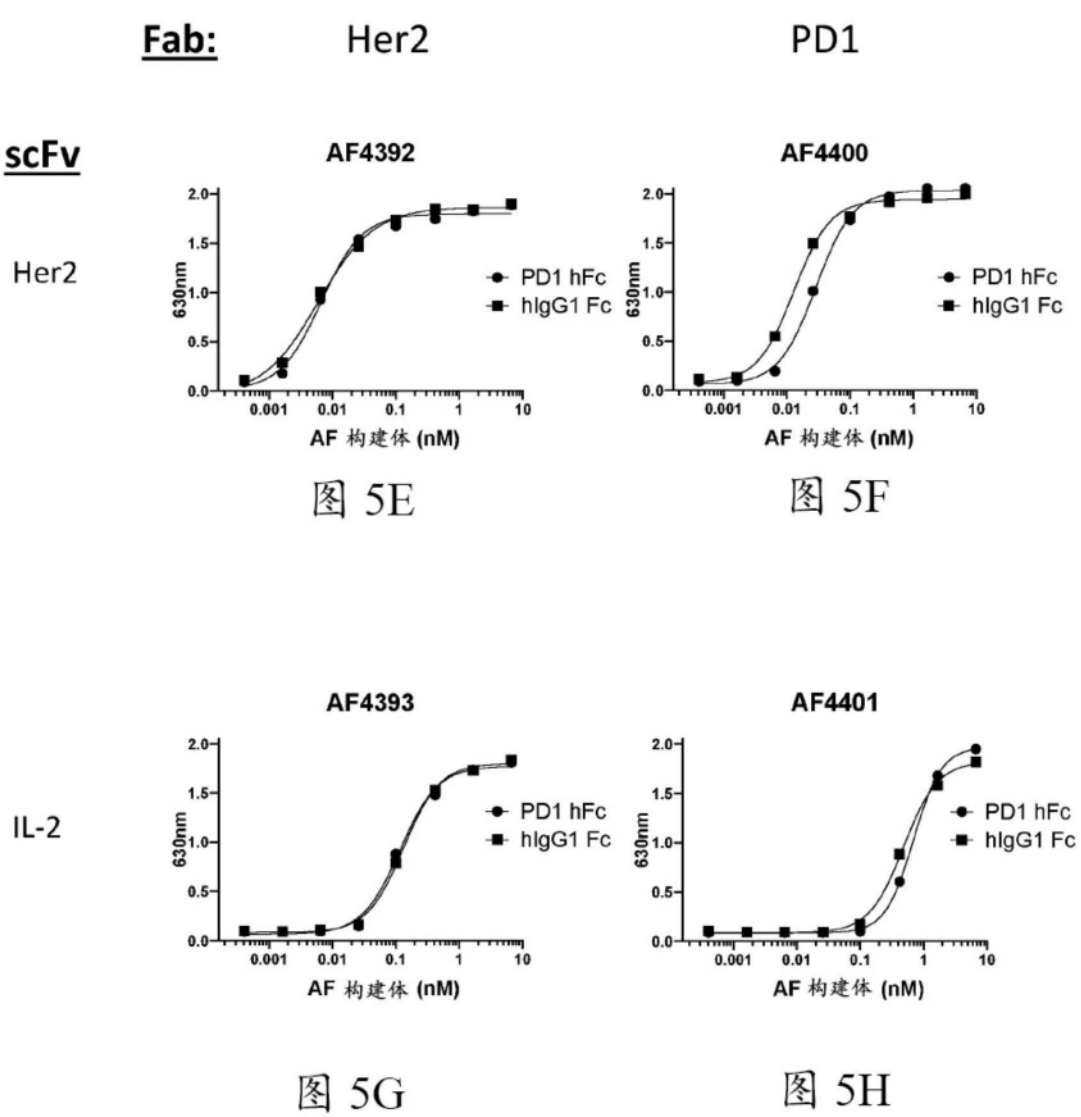


图 5E 图 5F

图 5G 图 5H

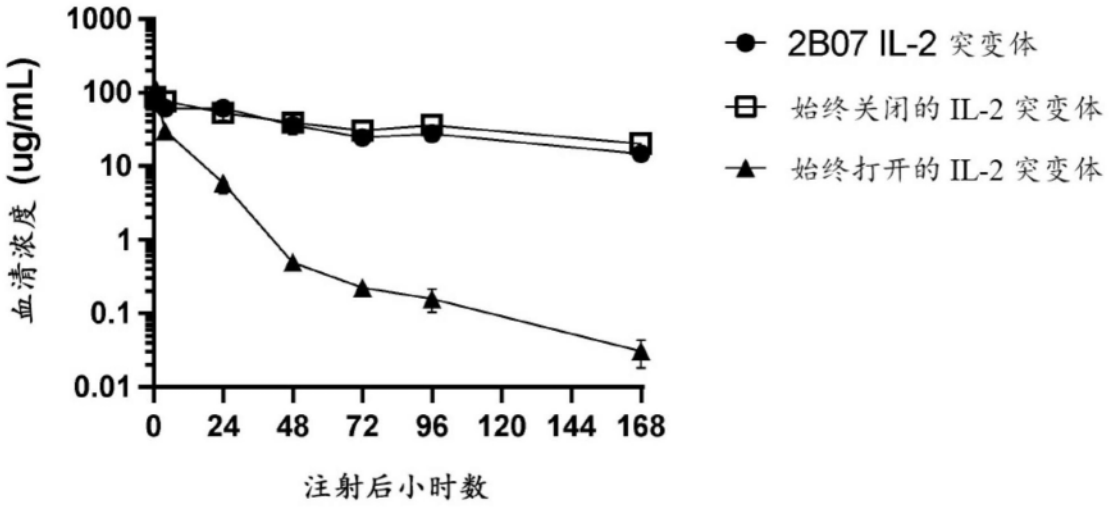

1000
100
10
1
0.1
0.01
血清浓度 (ug/mL)
0
24
48
72
96
120
144
168
注射后小时数
2B07 IL-2 突变体
始终关闭的 IL-2 突变体
始终打开的 IL-2 突变体

图6

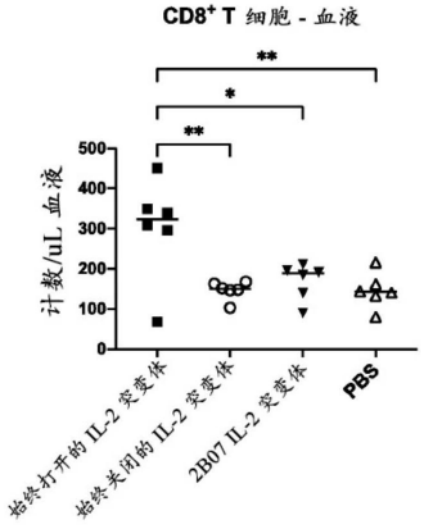

CD8+ T 细胞 - 血液
**
*
**
500
400
300
200
100
0
计数/uL 血液
始终打开的 IL-2 突变体
始终关闭的 IL-2 突变体
2B07 IL-2 突变体
PBS

图7A

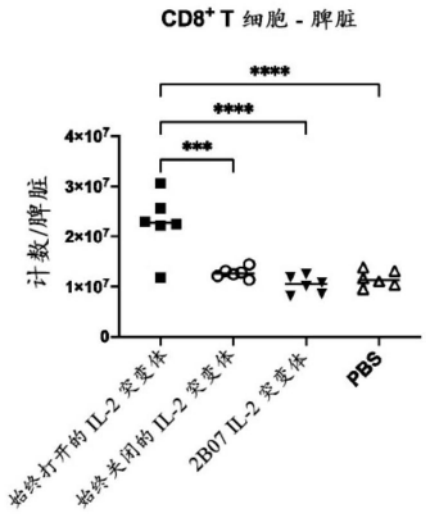

CD8+ T 细胞 - 脾脏
****
****
***
4×10^7
3×10^7
2×10^7
1×10^7
0
计数/脾脏
始终打开的 IL-2 突变体
始终关闭的 IL-2 突变体
2B07 IL-2 突变体
PBS

图7B

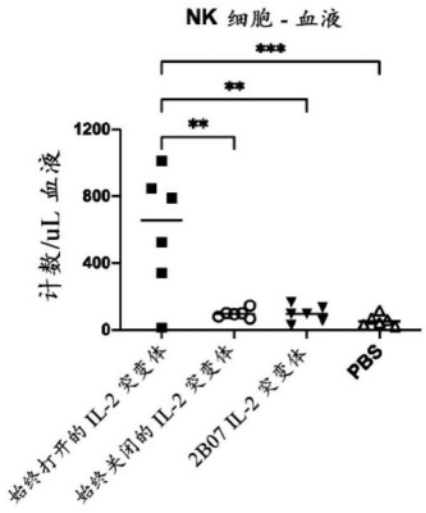

NK 细胞 - 血液
***
**
**
1200
800
400
0
计数/uL 血液
始终打开的 IL-2 突变体
始终关闭的 IL-2 突变体
2B07 IL-2 突变体
PBS

图7C

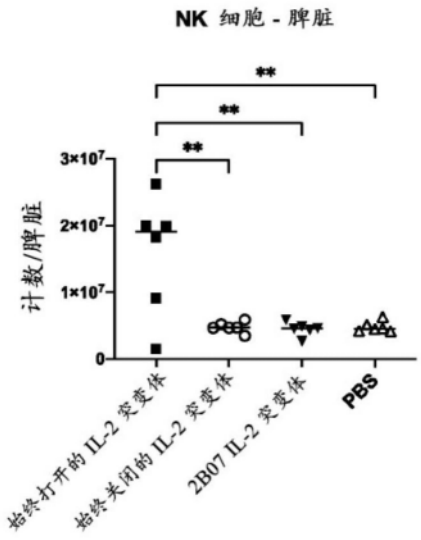

NK 细胞 - 脾脏
**
**
**
3×10^7
2×10^7
1×10^7
0
计数/脾脏
始终打开的 IL-2 突变体
始终关闭的 IL-2 突变体
2B07 IL-2 突变体
PBS

图7D

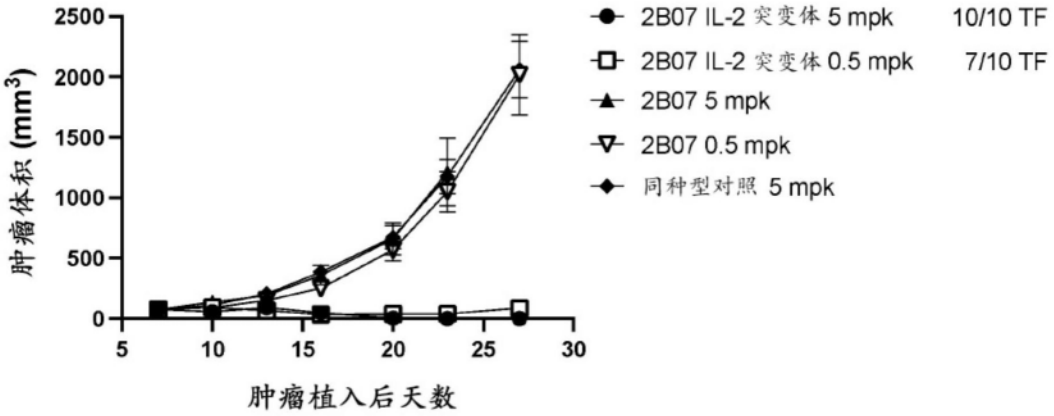

2500
2000
1500
1000
500
0
肿瘤体积 (mm3)
5
10
15
20
25
30
肿瘤植入后天数
2B07 IL-2 突变体 5 mpk 10/10 TF
2B07 IL-2 突变体 0.5 mpk 7/10 TF
2B07 5 mpk
2B07 0.5 mpk
同种型对照 5 mpk

图8

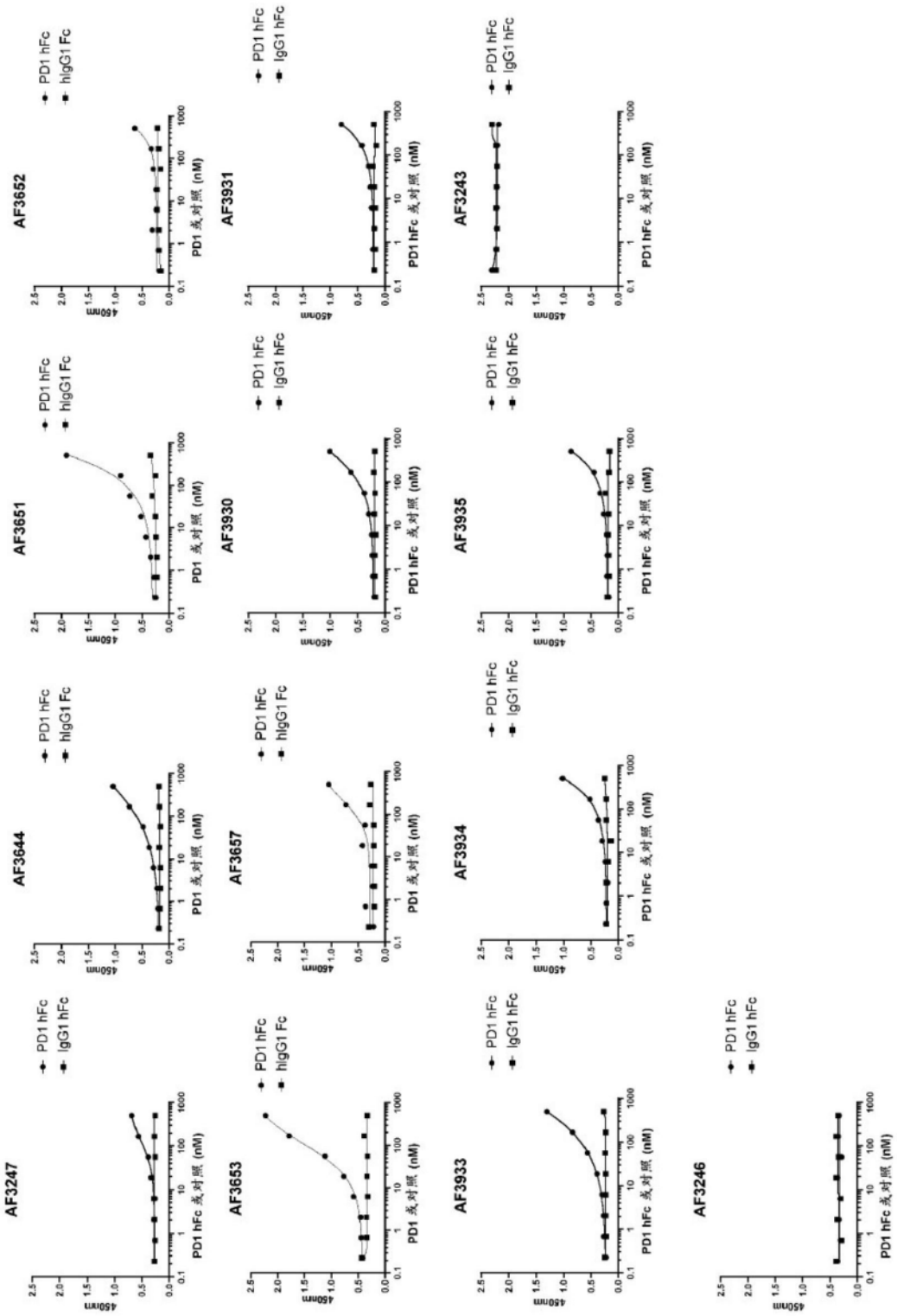

AF3652
PD1 hFc
hIgG1 Fc
AF3931
PD1 hFc
IgG1 hFc
AF3243
PD1 hFc
IgG1 hFc
AF3651
PD1 hFc
hIgG1 Fc
AF3930
PD1 hFc
IgG1 hFc
AF3935
PD1 hFc
IgG1 hFc
AF3644
PD1 hFc
hIgG1 Fc
AF3657
PD1 hFc
hIgG1 Fc
AF3934
PD1 hFc
IgG1 hFc
AF3247
PD1 hFc
IgG1 hFc
AF3653
PD1 hFc
hIgG1 Fc
AF3933
PD1 hFc
IgG1 hFc
AF3246
PD1 hFc
IgG1 hFc
450nm
PD1 或对照 (nM)
PD1 hFc 或对照 (nM)

图9

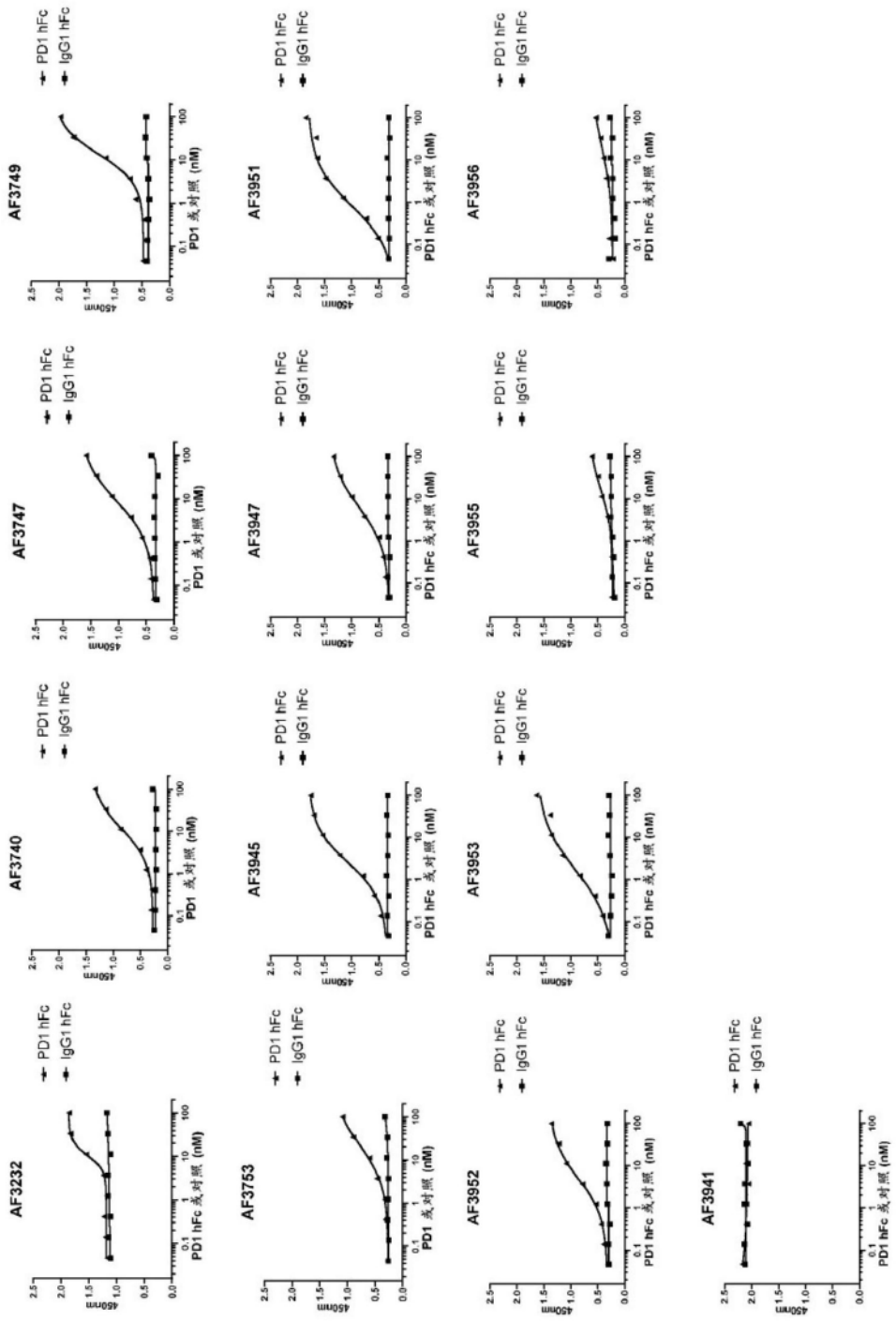

AF3749
AF3951
AF3956
AF3747
AF3947
AF3955
AF3740
AF3945
AF3953
AF3232
AF3753
AF3952
AF3941
PD1 hFc
IgG1 hFc
450nm
PD1 或对照 (nM)
PD1 hFc 或对照 (nM)

图10

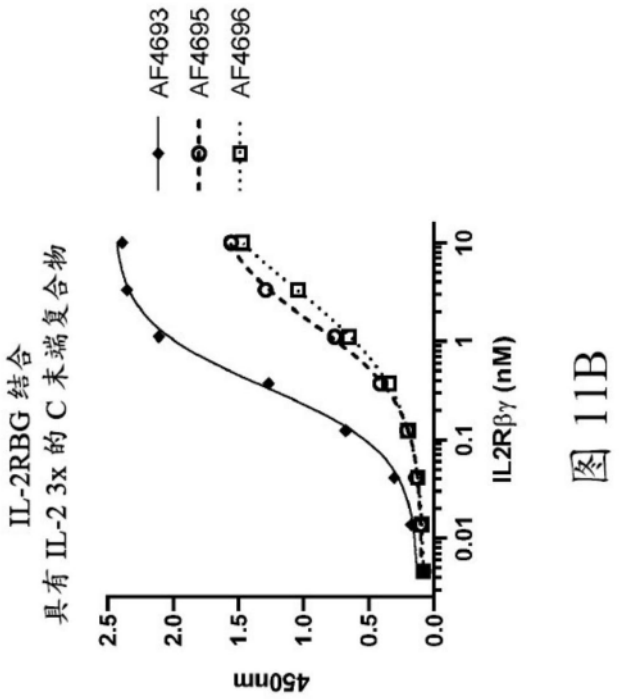


图 11B

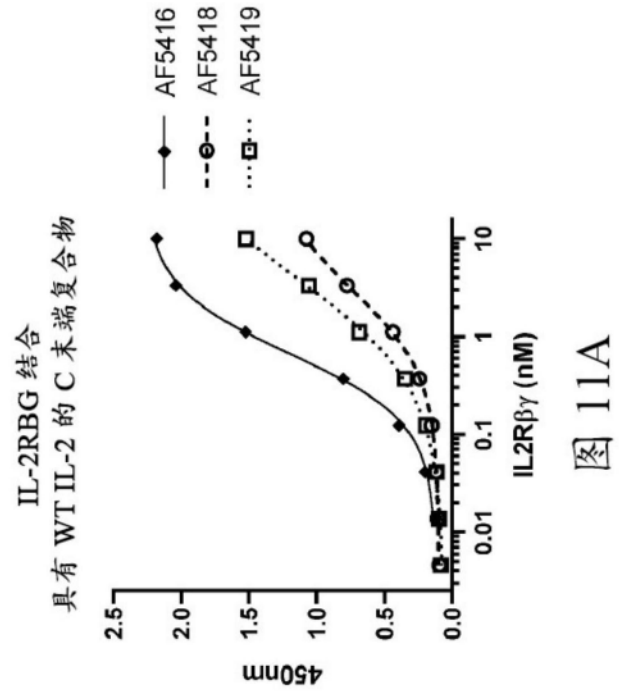


图 11A

图11

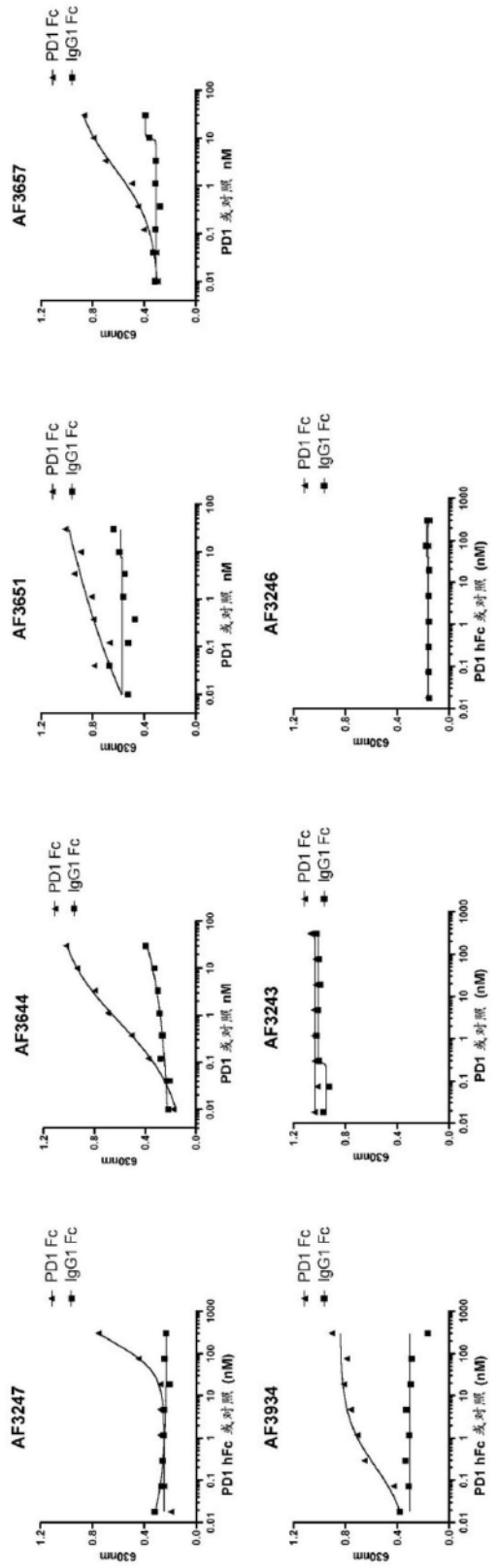

AF3657
AF3651
AF3246
AF3644
AF3243
AF3247
AF3934
PD1 Fc
IgG1 Fc
630nm
PD1 表对照 nM
PD1 hFc 表对照 (nM)

图12A

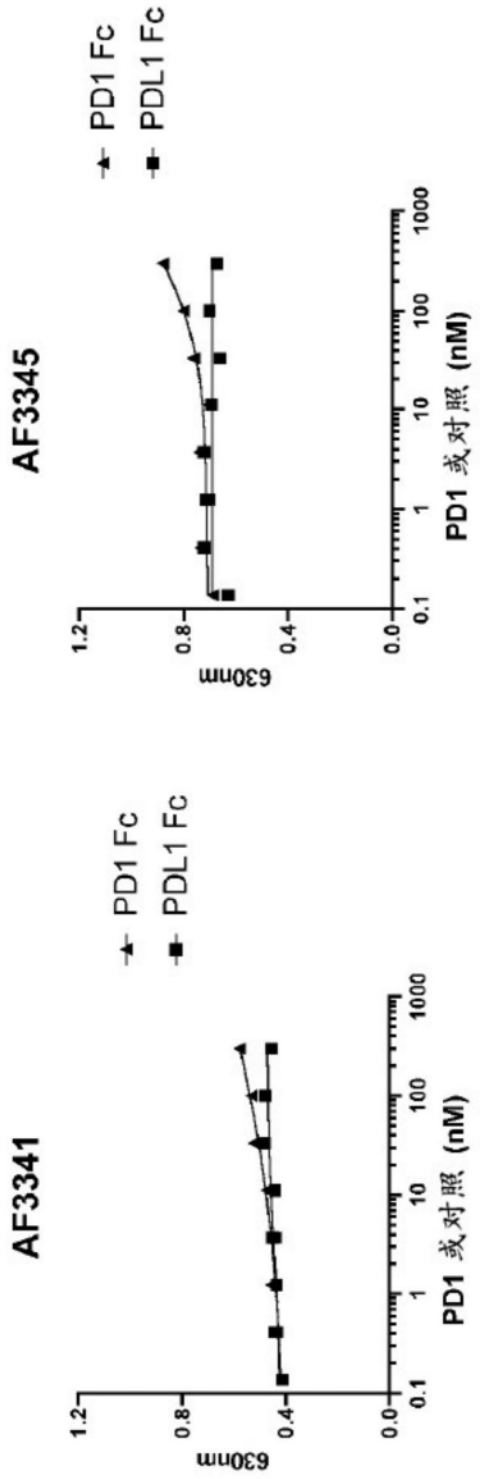

AF3345
PD1 Fc
PDL1 Fc
630nm
1.2
0.8
0.4
0.0
0.1
1
10
100
1000
PD1 或对照 (nM)
AF3341
PD1 Fc
PDL1 Fc
630nm
1.2
0.8
0.4
0.0
0.1
1
10
100
1000
PD1 或对照 (nM)

图12B

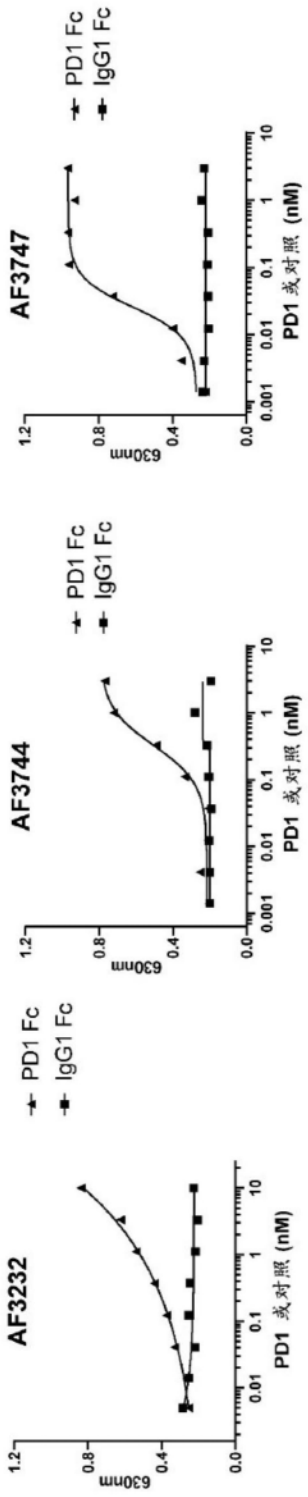

AF3232
AF3744
AF3747
PD1 Fc
IgG1 Fc
630nm
PD1 或对照 (nM)
0.0
0.4
0.8
1.2
0.001
0.01
0.1
1
10

图13A

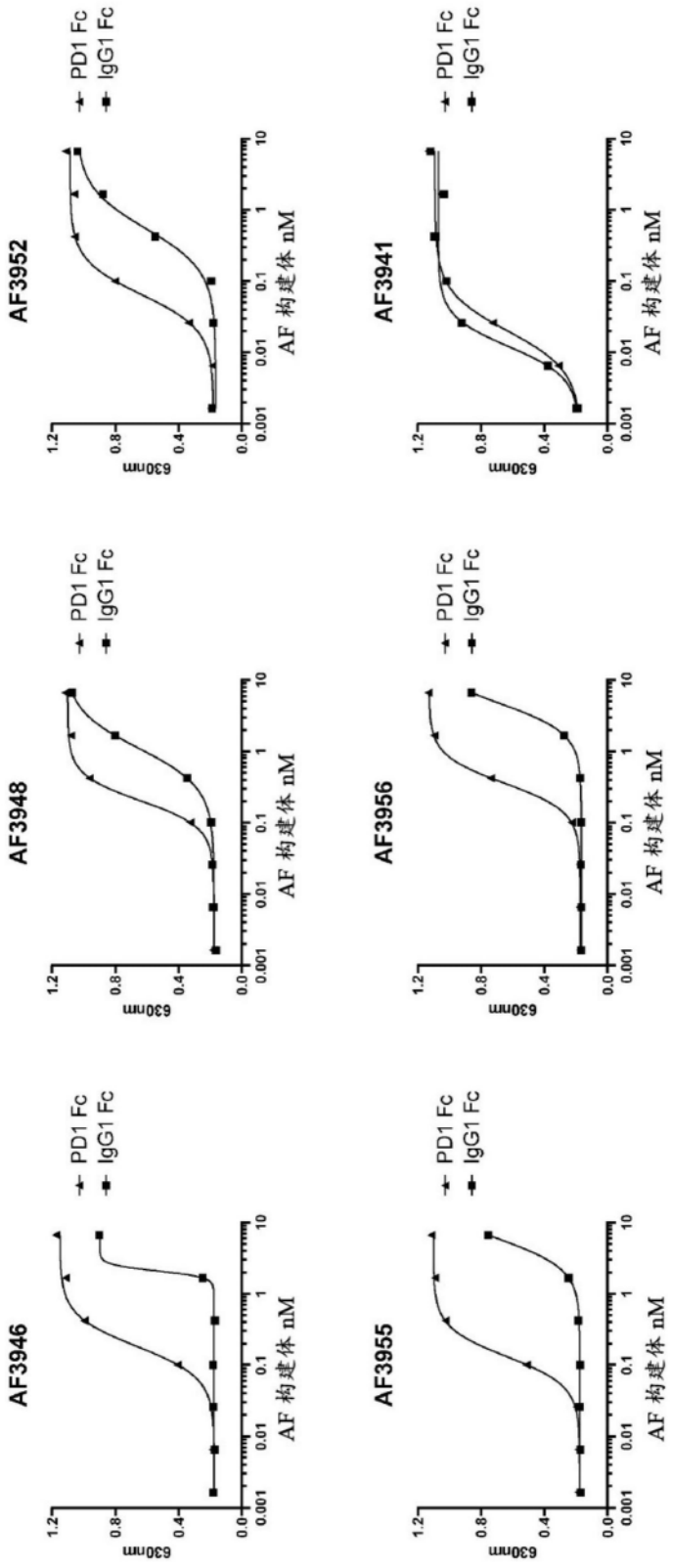

AF3952
AF3941
AF3948
AF3956
AF3946
AF3955
PD1 Fc
IgG1 Fc
630nm
AF 构建体 nM
1.2
0.8
0.4
0.0
0.001
0.01
0.1
1
10

图13B

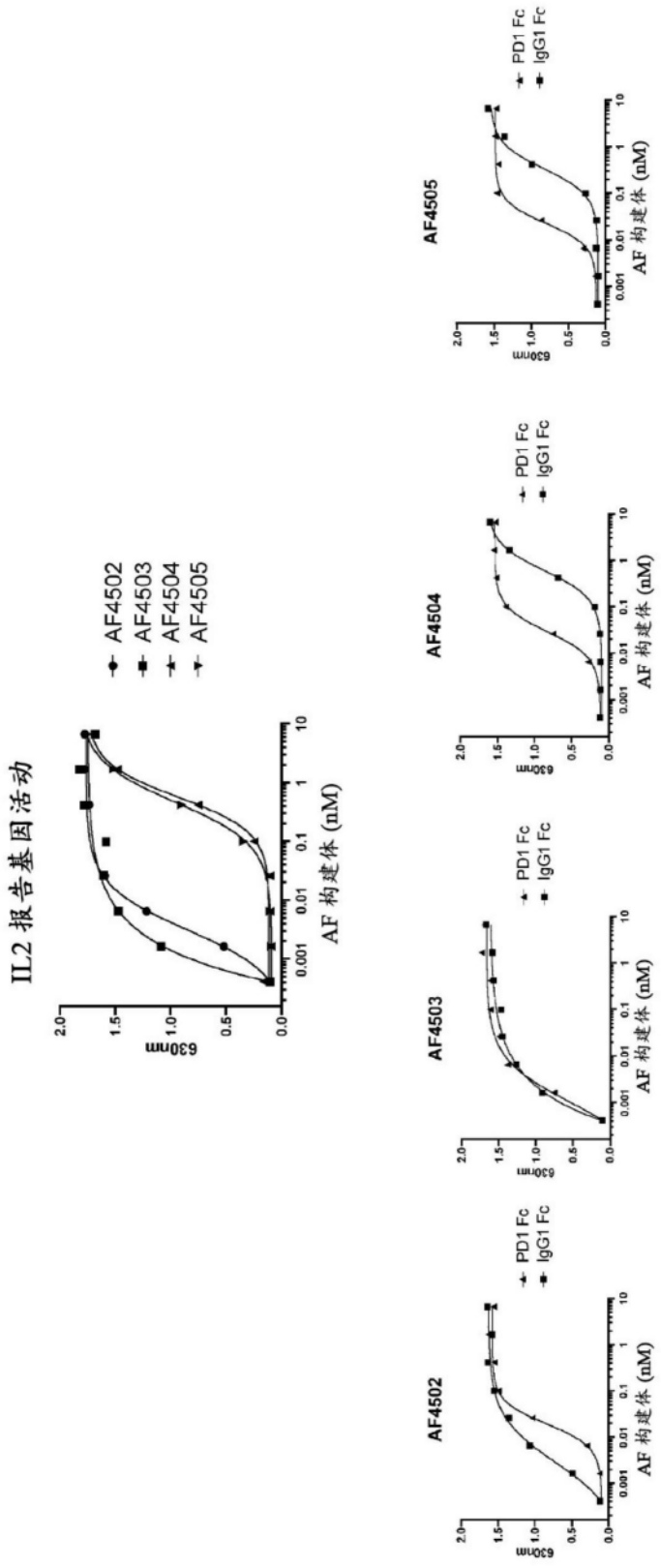

IL2 报告基因活动
AF4502
AF4503
AF4504
AF4505
630nm
AF 构建体 (nM)
PD1 Fc
IgG1 Fc

图14A

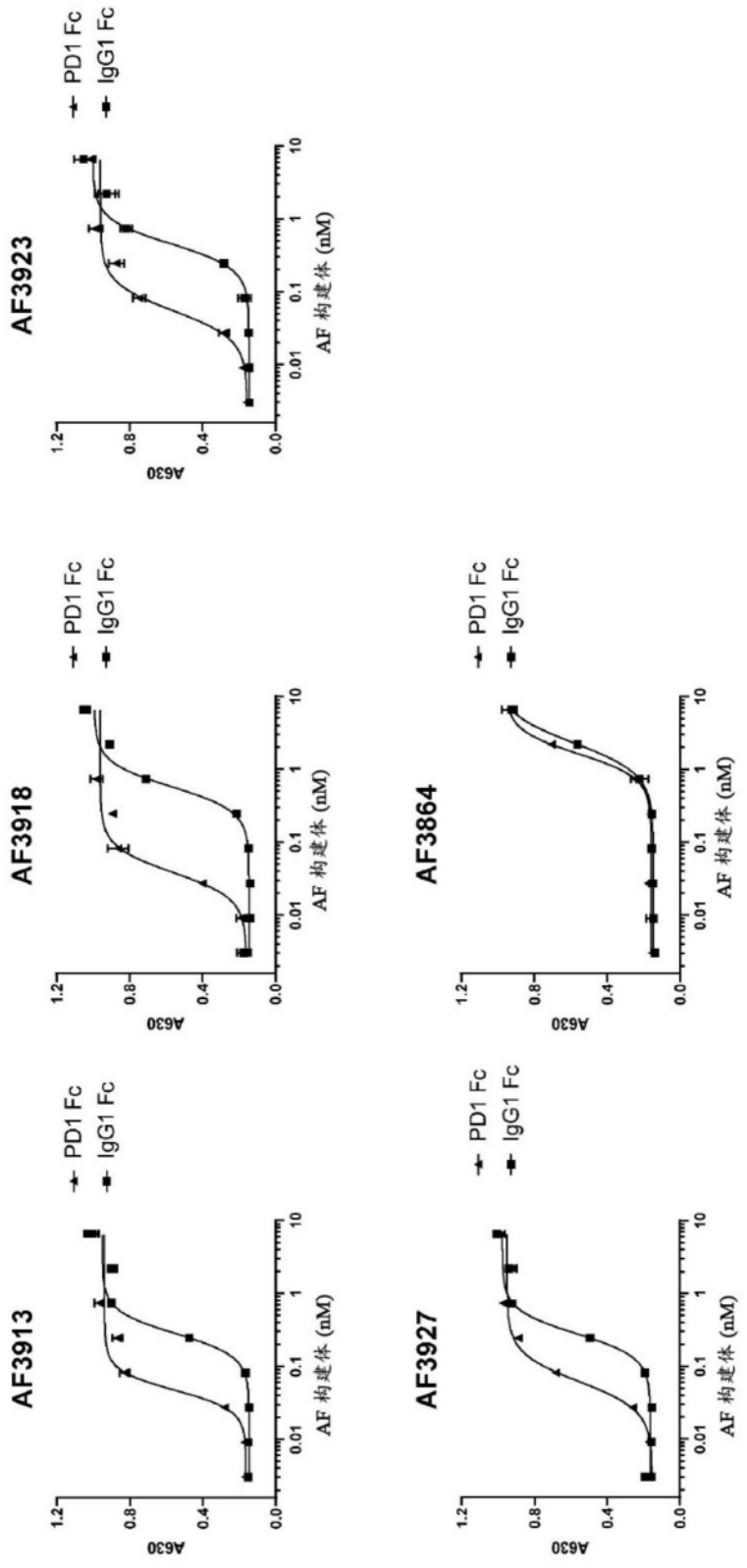

AF3923
AF3918
AF3864
AF3913
AF3927
PD1 Fc
IgG1 Fc
A630
AF 构建体 (nM)
0.0
0.4
0.8
1.2
0.01
0.1
1
10

图14B

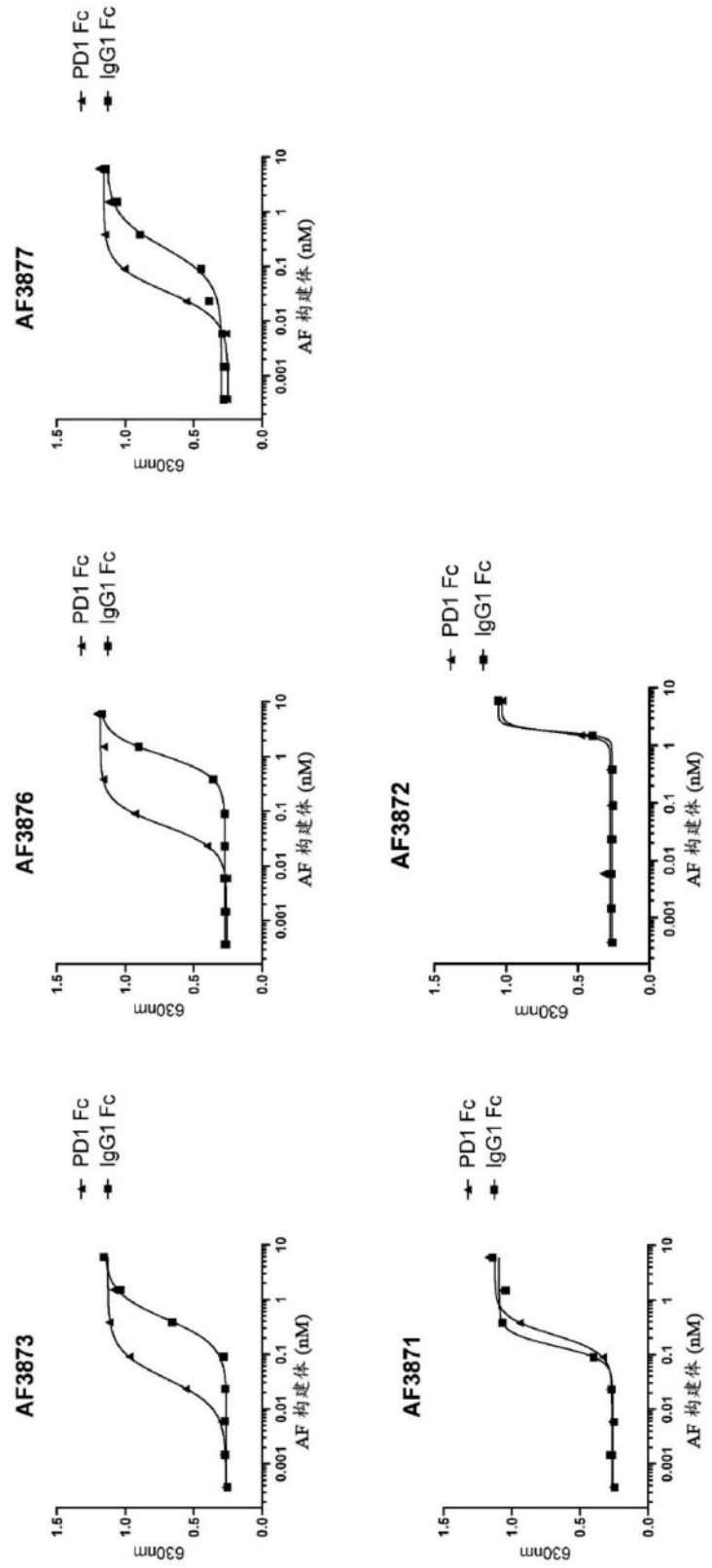

AF3877
AF3876
AF3872
AF3873
AF3871
PD1 Fc
IgG1 Fc
630nm
AF 构建体 (nM)
0.0
0.5
1.0
1.5
0.001
0.01
0.1
1
10

图15

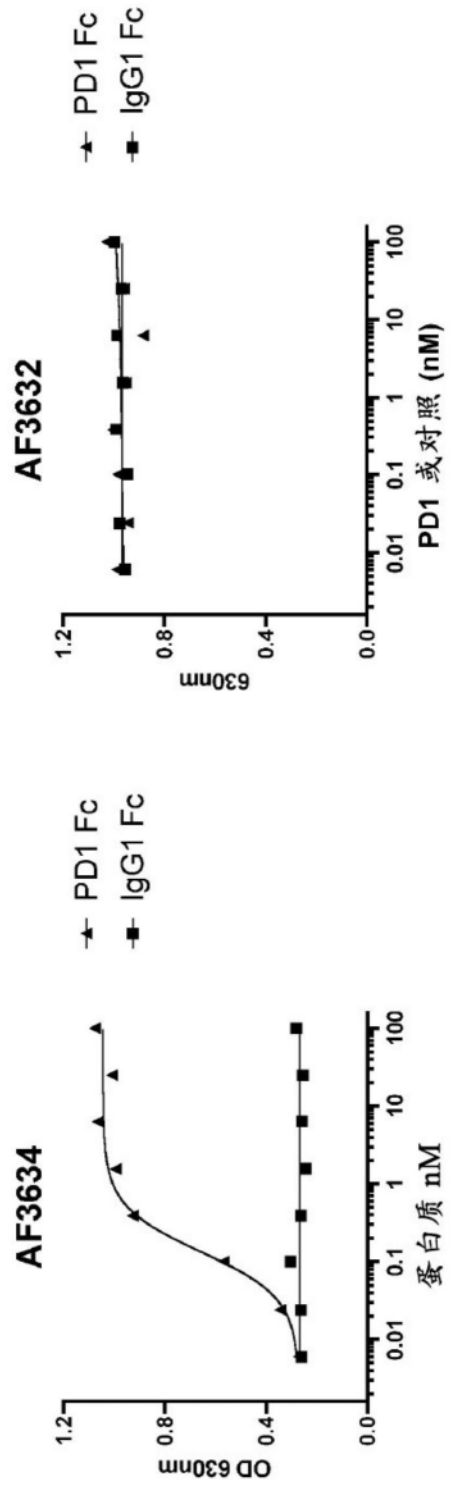

AF3632
PD1 Fc
IgG1 Fc
630nm
1.2
0.8
0.4
0.0
0.01
0.1
1
10
100
PD1 或对照 (nM)
AF3634
PD1 Fc
IgG1 Fc
OD 630nm
1.2
0.8
0.4
0.0
0.01
0.1
1
10
100
蛋白质 nM

图16

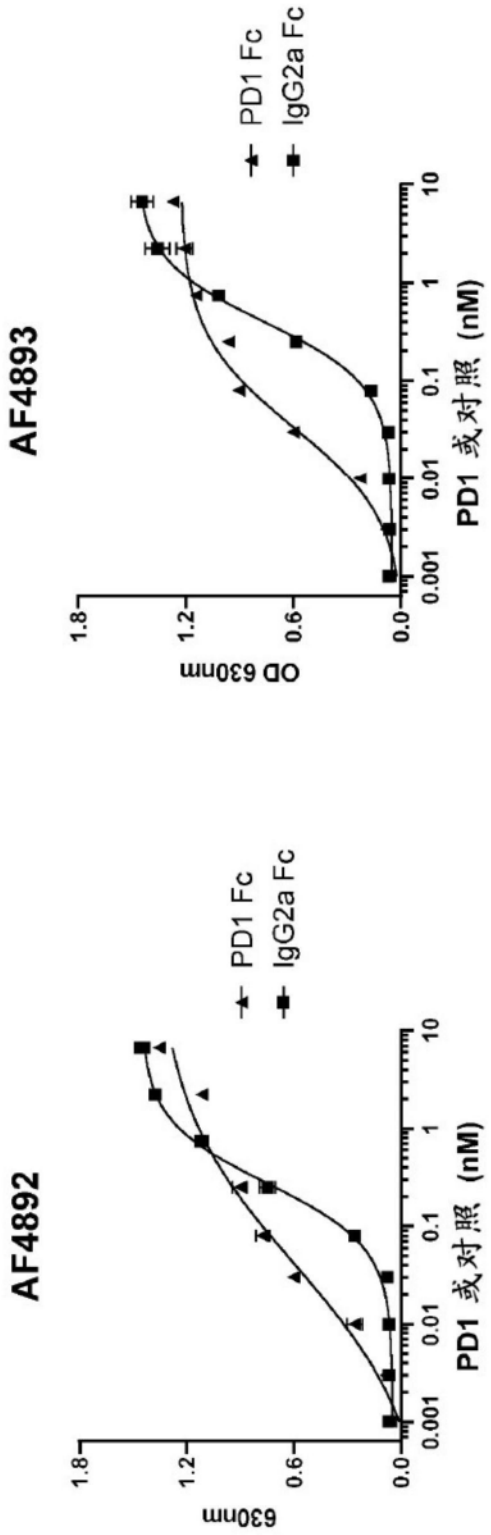

AF4893
PD1 Fc
IgG2a Fc
OD 630nm
1.8
1.2
0.6
0.0
0.001
0.01
0.1
1
10
PD1 或对照 (nM)
AF4892
PD1 Fc
IgG2a Fc
630nm
1.8
1.2
0.6
0.0
0.001
0.01
0.1
1
10
PD1 或对照 (nM)

图17

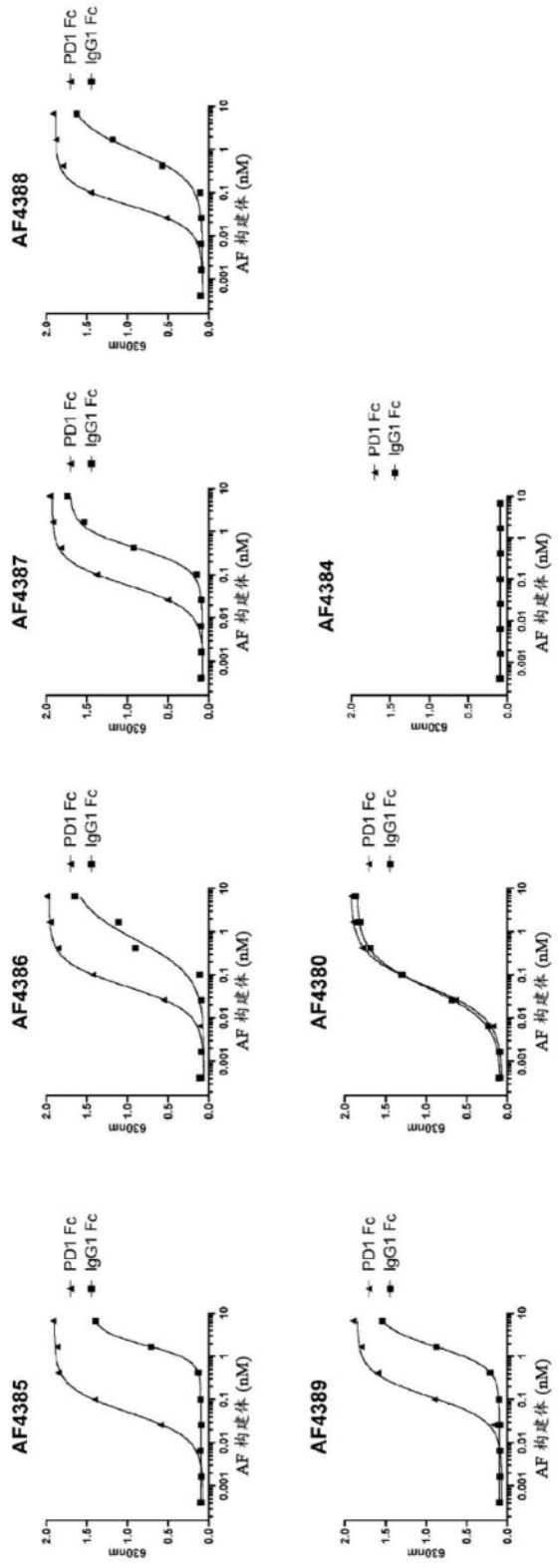

AF4388
AF4387
AF4384
AF4386
AF4380
AF4385
AF4389
PD1 Fc
IgG1 Fc
630nm
AF 构建体 (nM)

图18

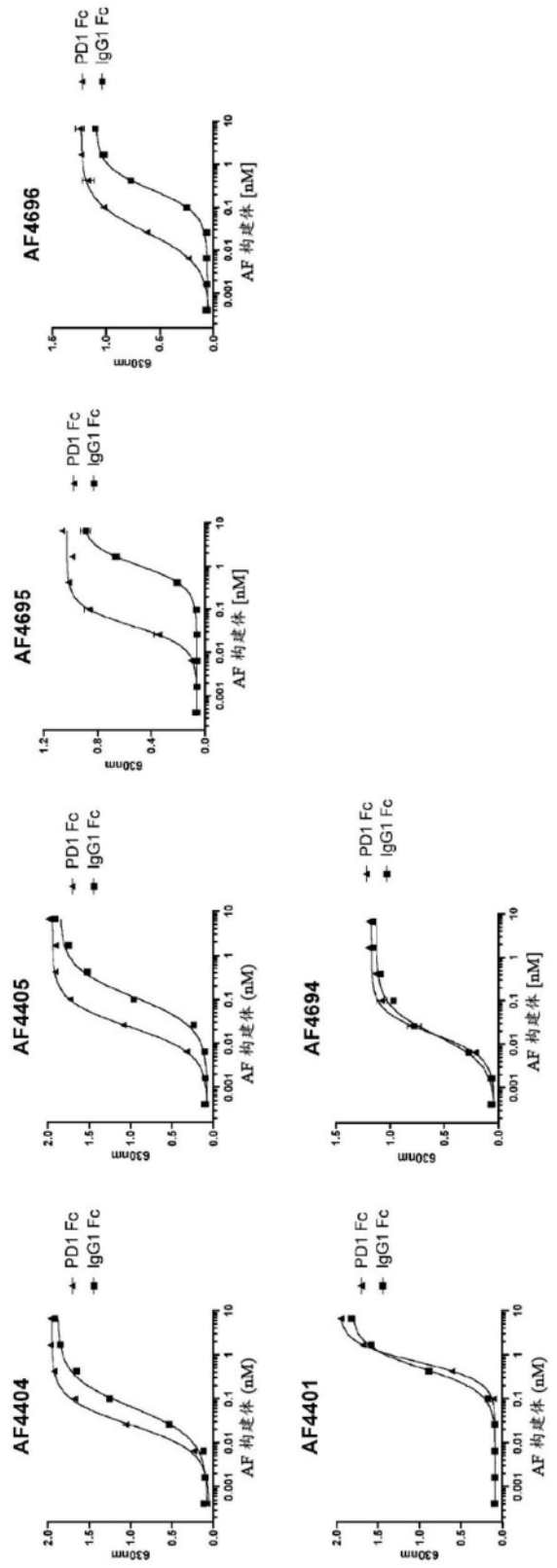

AF4696
AF4695
AF4405
AF4694
AF4404
AF4401
PD1 Fc
IgG1 Fc
630nm
AF 构建体 [nM]
AF 构建体 (nM)

图19A

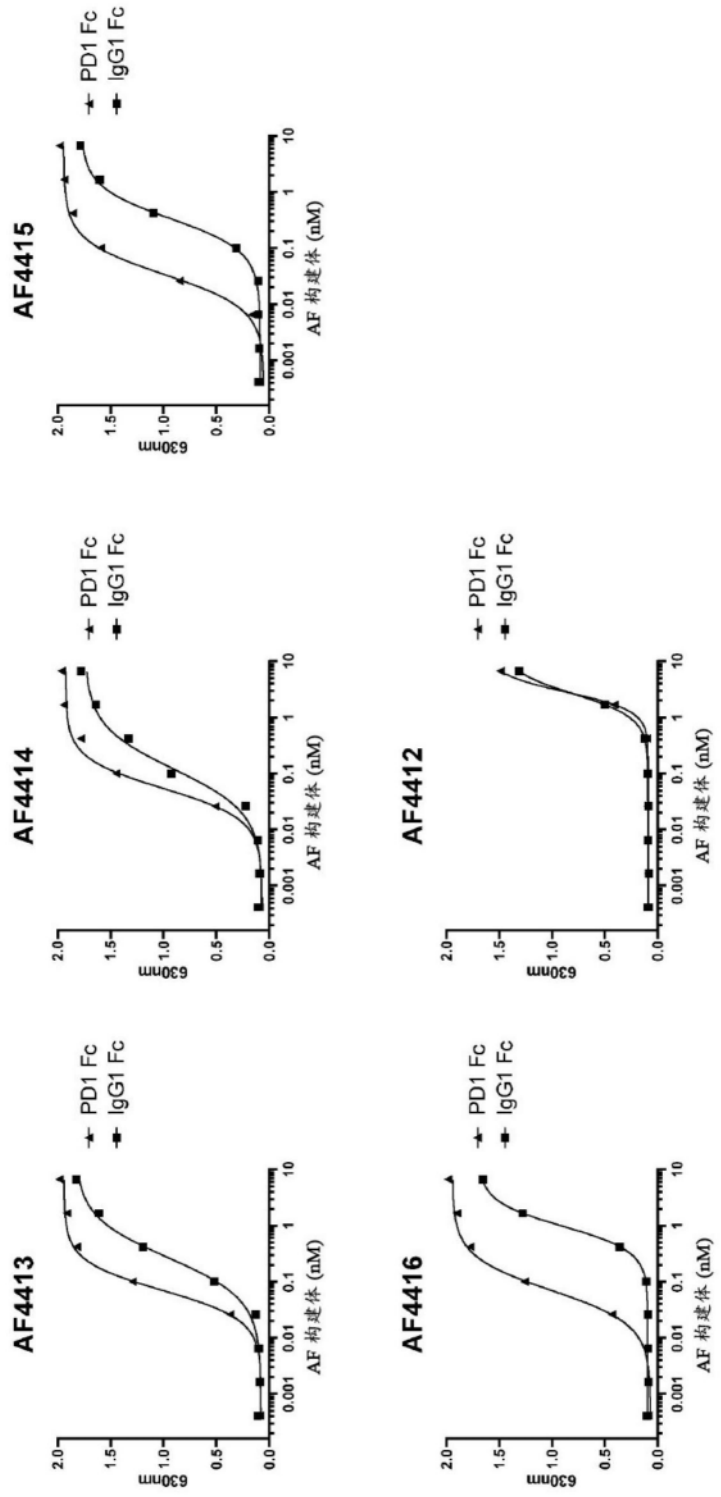

AF4415
AF4414
AF4412
AF4413
AF4416
PD1 Fc
IgG1 Fc
630nm
AF 构建体 (nM)
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
0.001
0.01
0.1
1
10

图19B

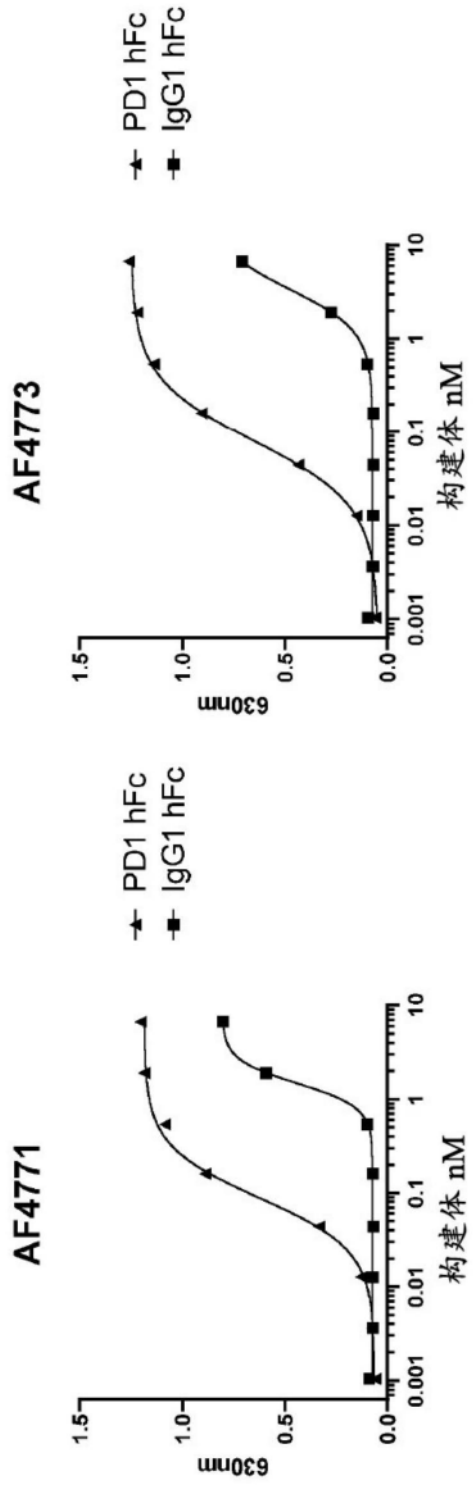

AF4773
PD1 hFc
IgG1 hFc
630nm
1.5
1.0
0.5
0.0
0.001
0.01
0.1
1
10
构建体 nM
AF4771
PD1 hFc
IgG1 hFc
630nm
1.5
1.0
0.5
0.0
0.001
0.01
0.1
1
10
构建体 nM

图19C

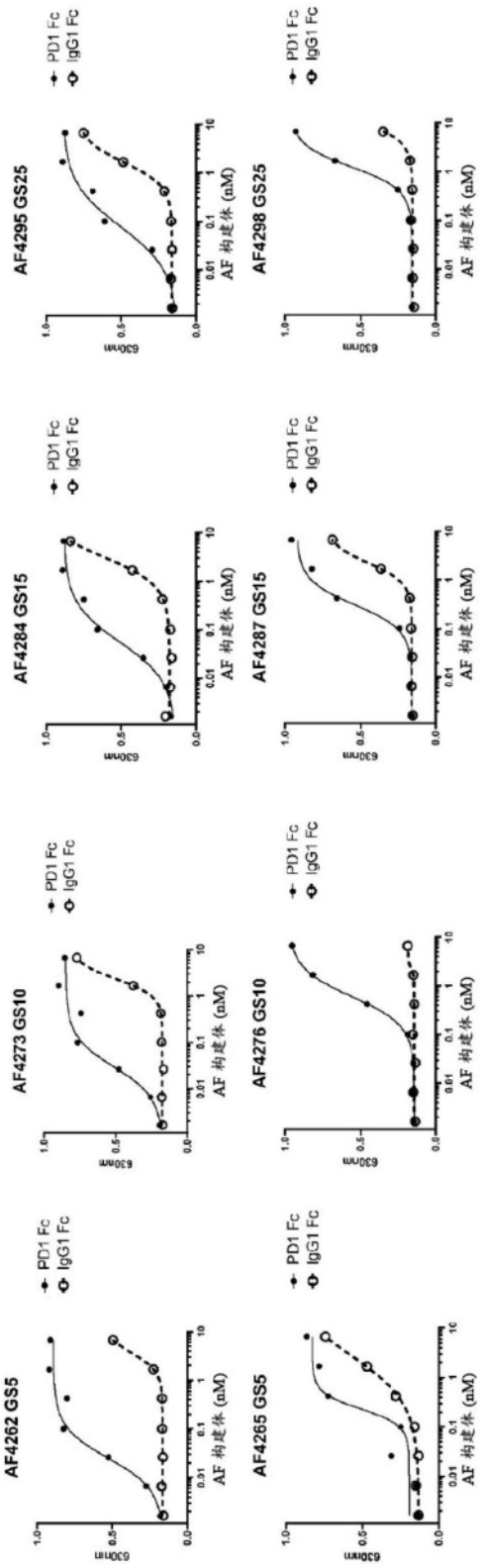

AF4262 GS5
AF4265 GS5
AF4273 GS10
AF4276 GS10
AF4284 GS15
AF4287 GS15
AF4295 GS25
AF4298 GS25
PD1 Fc
IgG1 Fc
630nm
AF 构建体 (nM)

图20

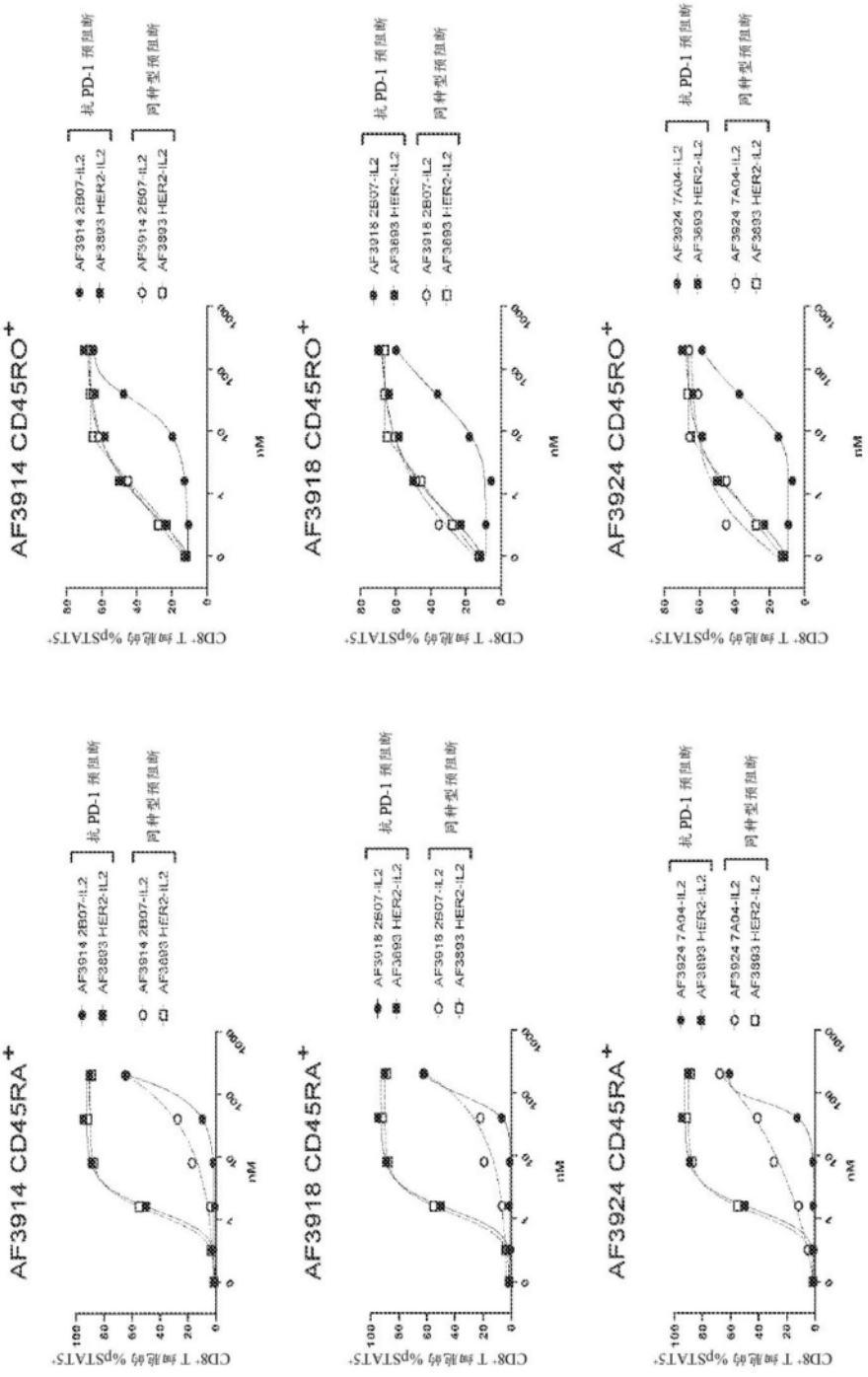

AF3914 CD45RO+
AF3918 CD45RO+
AF3924 CD45RO+
AF3914 CD45RA+
AF3918 CD45RA+
AF3924 CD45RA+
抗 PD-1 预阻断
同种型预阻断
AF3914 2B07-IL2
AF3893 HER2-IL2
AF3914 2B07-IL2
AF3893 HER2-IL2
AF3918 2B07-IL2
AF3893 HER2-IL2
AF3918 2B07-IL2
AF3893 HER2-IL2
AF3924 7A04-IL2
AF3893 HER2-IL2
AF3924 7A04-IL2
AF3893 HER2-IL2
CD8+ T 细胞的 %pSTAT5+
nM

图21A

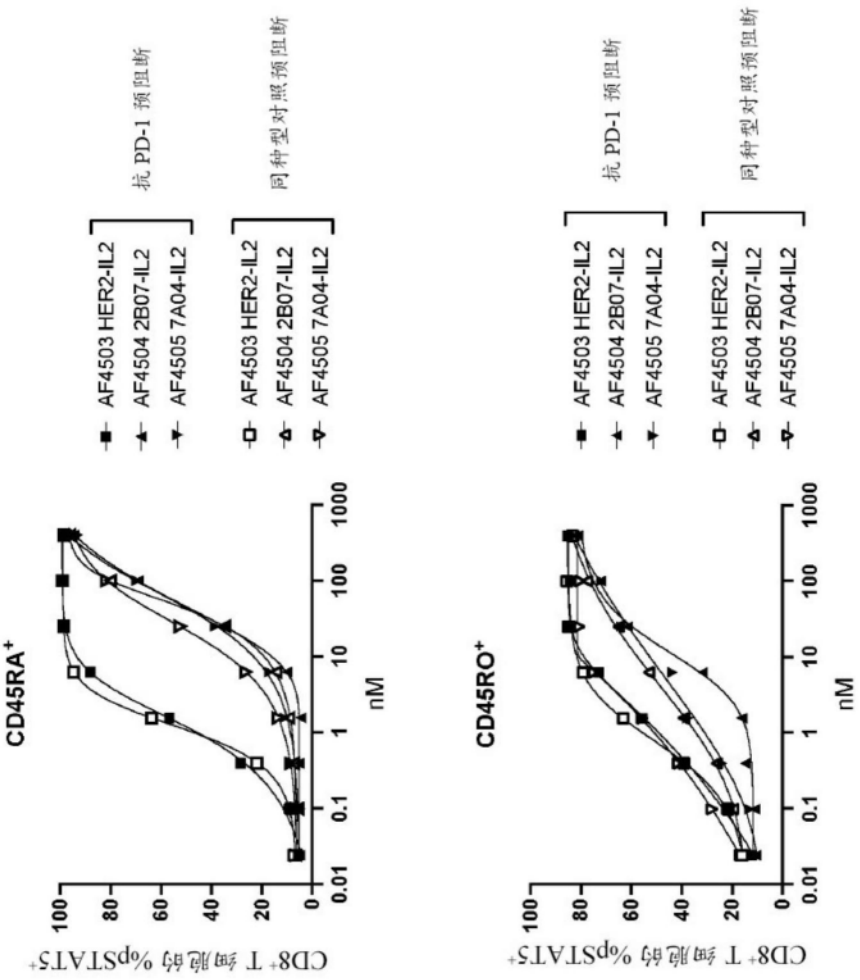

CD45RA+
CD45RO+
CD8+ T 细胞的 %pSTAT5+
nM
0.01
0.1
1
10
100
1000
0
20
40
60
80
100
抗 PD-1 预阻断
同种型对照预阻断
AF4503 HER2-IL2
AF4504 2B07-IL2
AF4505 7A04-IL2

图21B

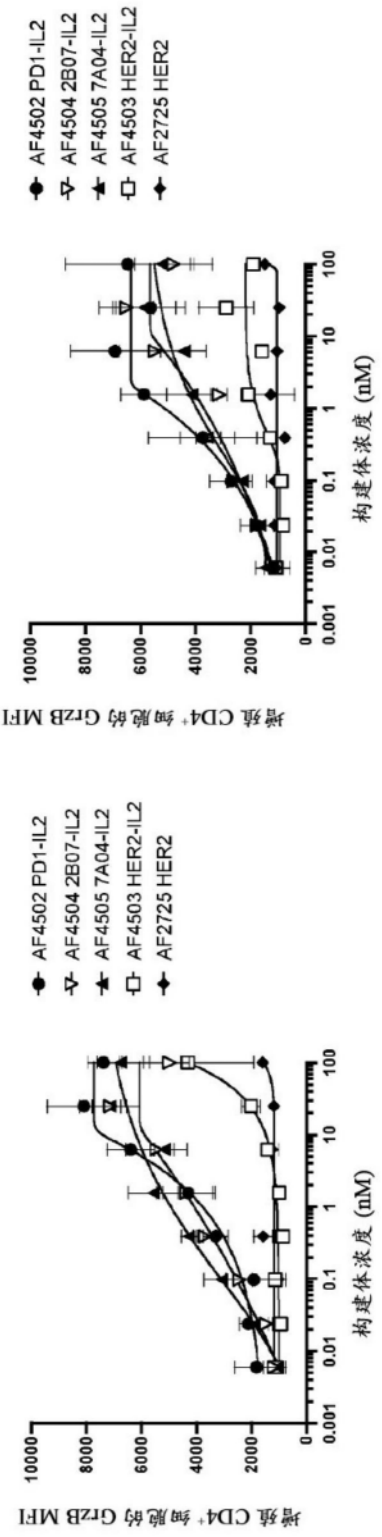

AF4502 PD1-IL2
AF4504 2B07-IL2
AF4505 7A04-IL2
AF4503 HER2-IL2
AF2725 HER2
增殖 CD4+ 细胞的 GrzB MFI
构建体浓度 (nM)
0
2000
4000
6000
8000
10000
0.001
0.01
0.1
1
10
100

图22A

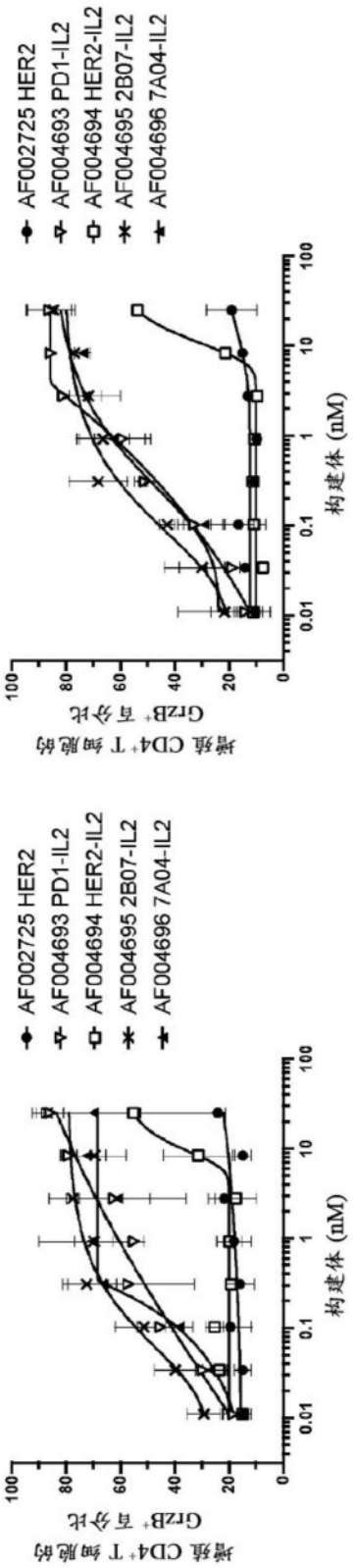

AF002725 HER2
AF004693 PD1-IL2
AF004694 HER2-IL2
AF004695 2B07-IL2
AF004696 7A04-IL2
增殖 CD4+ T 细胞的
GrzB+ 百分比
构建体 (nM)
0
20
40
60
80
100
0.01
0.1
1
10
100

图22B

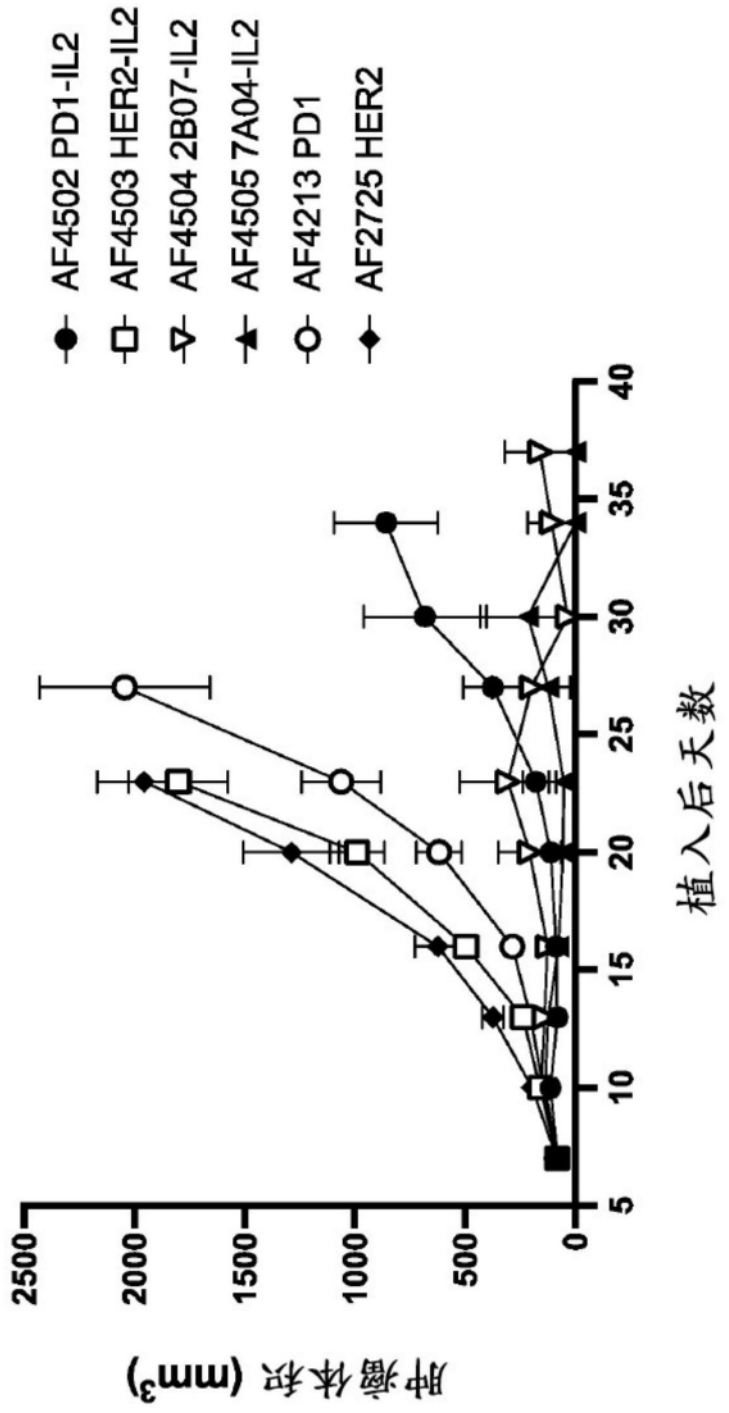

AF4502 PD1-IL2
AF4503 HER2-IL2
AF4504 2B07-IL2
AF4505 7A04-IL2
AF4213 PD1
AF2725 HER2
肿瘤体积 (mm³)
2500
2000
1500
1000
500
0
5
10
15
20
25
30
35
40
植入后天数

图23A

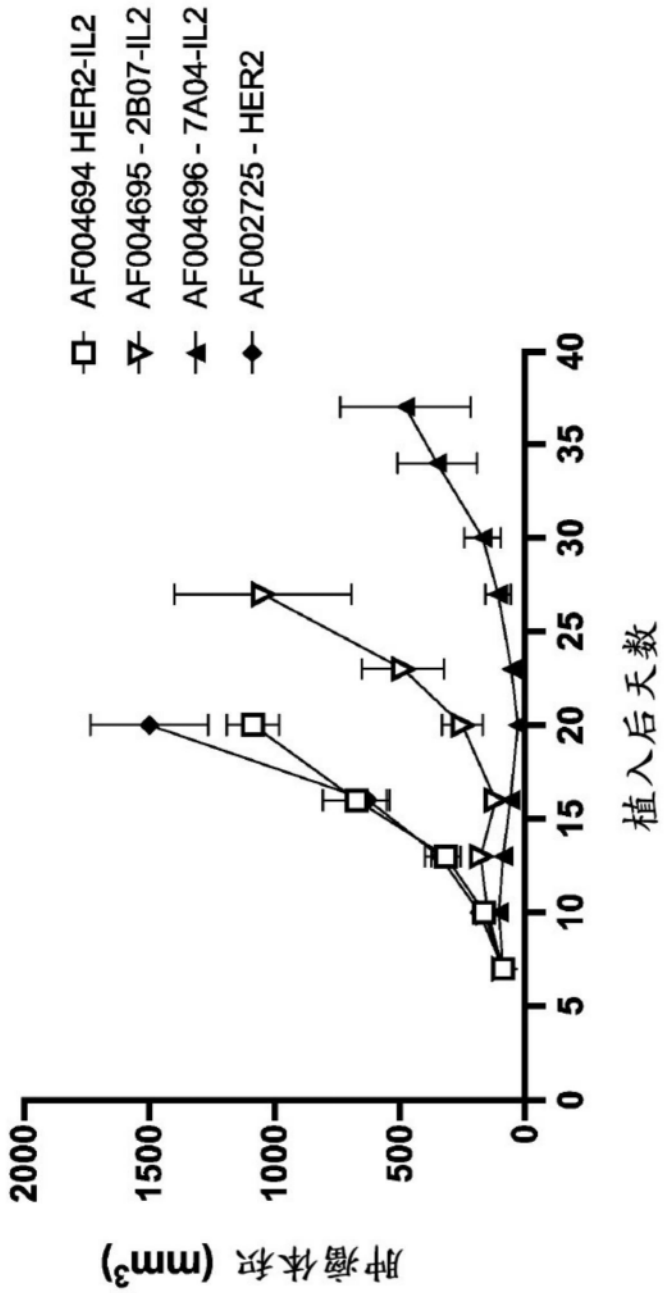

AF004694 HER2-IL2
AF004695 - 2B07-IL2
AF004696 - 7A04-IL2
AF002725 - HER2
肿瘤体积 (mm3)
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
25
30
35
40
植入后天数

图23B