201808991

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 201808991 A

(43)公開日： 中華民國 107 (2018) 年 03 月 16 日

(21)申請案號：106126614 (22)申請日： 中華民國 106 (2017) 年 08 月 07 日

(51)Int. Cl.： *C07K16/18 (2006.01)* *A61K39/395 (2006.01)*

C12N15/13 (2006.01) *A61P35/00 (2006.01)*

(30)優先權：2016/08/05 美國 62/371,671

(71)申請人：美商建南德克公司 (美國) GENENTECH, INC. (US)

美國

(72)發明人：拉薩 葛瑞格 LAZAR, GREG (US) ；楊 艷麗 YANG, YANLI (US) ；康斯坦丁 艾林 H CHRISTENSEN, ERIN H. (US) ；韓 茱莉 HANG, JULIE (US) ；金 杰翁 KIM, JEONG (US) ；合李斯 塞夫 HARRIS, SETH (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：107 項 圖式數：45 共 635 頁

(54)名稱

具有促效活性之多價及多抗原決定基抗體以及使用方法

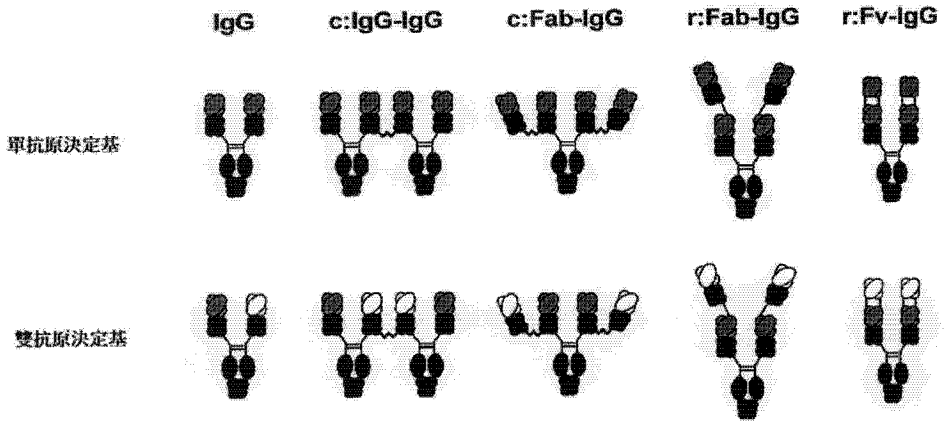
MULTIVALENT AND MULTIEPITOPIC ANTIBODIES HAVING AGONISTIC ACTIVITY AND METHODS OF USE

(57)摘要

本文中提供對細胞表面受體具有促效活性之四價抗原結合複合物。在一些實施例中，該等複合物包含對相同細胞表面受體之多個抗原決定基的結合特異性。本文中進一步提供核酸、載體、宿主細胞、醫藥組合物及與其相關之製造方法。

Provided herein are tetravalent antigen binding complexes having agonist activity for a cell surface receptor. In some embodiments, the complexes comprise binding specificities for multiple epitopes of the same cell surface receptor. Further provided herein are nucleic acids, vectors, host cells, pharmaceutical compositions, and methods of production related thereto.

指定代表圖：



【圖 3B】

【發明說明書】

【中文發明名稱】具有促效活性之多價及多抗原決定基抗體以及使用方法

【英文發明名稱】MULTIVALENT AND MULTIEPITOPIC ANTIBODIES HAVING AGONISTIC ACTIVITY AND METHODS OF USE

【技術領域】

【0001】 本申請案主張 2016 年 8 月 5 日申請之美國臨時申請案第 62/371,671 號之優先權權益，該案以全文引用之方式併入在此。

【0002】 ASCII 文本文檔上之以下提交內容以全文引用之方式併入本文中：序列表之電腦可讀形式(CRF) (文檔名：146392037740SEQLIST.txt，記錄日期：2017 年 8 月 4 日，大小：353 KB)。

【0003】 本發明係關於具有促效活性之多價及多抗原決定基抗原結合複合物以及其使用方法。

【先前技術】

【0004】 功能抗體及抗原結合複合物為用於治療多種疾病之重要治療選擇。此項技術中需要用於自候選分子庫中鑑別出功能抗體及抗原結合複合物，尤其是具有促效活性之功能抗體及抗原結合複合物的更佳手段。此項技術中進一步需要具有更有效之促效活性的抗體及抗原結合複合物。本發明針對此等及其他需要。

【0005】 本文中所引用之所有專利及科學文獻的揭示內容明確地以全文引用的方式併入。

【發明內容】

【0006】 本發明提供具有促效活性之抗原結合複合物(例如多價及多抗原決定基抗體/抗原結合複合物)及其使用方法。

【0007】 在一個態樣中，本文中提供一種具有促效活性之四價抗原結合

複合物，該複合物包含：第一次單元及第二次單元，其中該第一次單元及該第二次單元中之每一者包含：(i)第一半抗體，該第一半抗體包含第一抗體重鏈可變域(VH_1)及第一抗體輕鏈可變域(VL_1)，其中該第一半抗體特異性結合細胞表面受體之第一抗原決定基；及(ii)第二半抗體，該第二半抗體包含第二抗體重鏈可變域(VH_2)及第二抗體輕鏈可變域(VL_2)，其中該第二半抗體特異性結合該細胞表面受體之第二抗原決定基；其中該第一次單元與該第二次單元偶聯，且其中該複合物對被該複合物結合之該細胞表面受體具有促效活性。在一些實施例中，本發明之抗原結合複合物顯示試管內促效活性。在一些實施例中，該第一次單元及該第二次單元中之每一者包含：(i)該第一半抗體，其中該第一半抗體包含：(a)第一抗體重鏈，該第一抗體重鏈自 N 末端至 C 末端包含該第一抗體重鏈可變域(VH_1)、第一抗體重鏈 CH1 結構域、第一抗體重鏈 CH2 結構域及第一抗體重鏈 CH3 結構域；及(b)第一抗體輕鏈，該第一抗體輕鏈自 N 末端至 C 末端包含該第一抗體輕鏈可變域(VL_1)及第一抗體輕鏈恆定域(CL)；以及(i)該第二半抗體，其中該第二半抗體包含：(a)第二抗體重鏈，該第二抗體重鏈自 N 末端至 C 末端包含該第二抗體重鏈可變域(VH_2)、第二抗體重鏈 CH1 結構域、第二抗體重鏈 CH2 結構域及第二抗體重鏈 CH3 結構域；及(b)第二抗體輕鏈，該第二抗體輕鏈自 N 末端至 C 末端包含該第二抗體輕鏈可變域(VL_2)及第二抗體輕鏈恆定域(CL)。在一些實施例中，該第一次單元與該第二次單元化學偶聯。在一些實施例中，該細胞表面受體之該第一抗原決定基與該第二抗原決定基相同。在一些實施例中，該細胞表面受體之該第一抗原決定基與該第二抗原決定基不同。在一些實施例中，該第一次單元及該第二次單元中之每一者包含雙特異性抗體，該雙特異性抗體包含兩個具有兩個 CH3 結構域之抗體 Fc 區，該兩個 CH3 結構域中之每一者包含突起或凹穴，且該兩個 CH3 結構域

中之第一個中的該突起或凹穴分別可置於該兩個 CH3 結構域中之第二個中的該凹穴或突起中。在一些實施例中，該兩個次單元係經由連接子發生化學偶聯。在一些實施例中，該兩個次單元中之每一者包含兩個重鏈及兩個輕鏈，且各次單元之該等重鏈之一包含選自以下之重鏈半胱胺酸胺基酸：根據 EU 編號之 T114C、A118C、A140C、L174C、L179C、T187C、T209C、V262C、G371C、Y373C、E382C、S400C、S424C、N434C 及 Q438C。在一些實施例中，該兩個次單元各自包含兩個重鏈及兩個輕鏈，且各次單元之該等輕鏈之一包含選自以下之輕鏈半胱氨酸胺基酸：根據 Kabat 編號之 I106C、R108C、R142C、K149C 及 V205C。在一些實施例中，該兩個次單元係經由點擊化學反應而化學偶聯。在一些實施例中，該兩個次單元係經由四嗪反式環辛烯(TCO)點擊反應而偶聯。在一些實施例中，該連接子之長度介於約 10 Å 與約 100 Å 之間。在一些實施例中，該連接子為雙馬來醯亞胺基聚乙二醇(PEG)連接子。在一些實施例中，該 PEG 連接子包含介於 1 與 11 個之間的 PEG 次單元。在一些實施例中，該 PEG 連接子包含 1、2 或 3 個 PEG 次單元。在一些實施例中，該等次單元中之每一者包含有包含用於減弱效應功能之修飾的 Fc 區。在一些實施例中，該等次單元中之每一者包含在選自以下之一或多個胺基酸殘基(EU 編號)處包含胺基酸取代的 Fc 區：(a)人類 IgG1 之 Fc 區中之 297；(b)人類 IgG1 之 Fc 區中之 234 及 235；(c)人類 IgG1 之 Fc 區中之 234、235 及 329；(d)人類 IgG2 之 Fc 區中之 234 及 237；(e)人類 IgG4 之 Fc 區中之 235、237 及 318；(f)人類 IgG4 之 Fc 區中之 228 及 236；(g)人類 IgG2 之 Fc 區中之 268、309、330 及 331；(h)人類 IgG1 之 Fc 區中之 220、226、229 及 238；(i)人類 IgG1 之 Fc 區中之 226、229、233、234 及 235；(j)人類 IgG1 之 Fc 區中之 234、235 及 331；(k)人類 IgG1 之 Fc 區中之 226 及 230；以及(l)人類 IgG1 之 Fc 區中之 267 及 328。在一些

實施例中，該等次單元中之每一者包含有包含選自以下之一或多個胺基酸取代(EU 編號)的 Fc 區：(a)人類 IgG1 之 Fc 區中之 N297A；(b)人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234A 及 L235A；(c)人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234A、L235A 及 P329G；(d)人類 IgG2 之 Fc 區中之 V234A 及 G237A；(e)人類 IgG4 之 Fc 區中之 L235A、G237A 及 E318A；(f)人類 IgG4 之 Fc 區中之 S228P 及 L236E；(g)跨越人類 IgG2 之 Fc 區中之胺基酸殘基 118 至 260 的區域中或跨越人類 IgG4 之 Fc 區中之胺基酸 261 至 447 的區域中的一或多個取代；(h)人類 IgG2 之 Fc 區中之 H268Q、V309L、A330S 及 A331S；(i)人類 IgG1 之 Fc 區中之 C220S、C226S、C229S 及 P238S；(j)人類 IgG1 之 Fc 區中之 C226S、C229S、E233P、L234V 及 L235A；(k)人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234F、L235E 及 P331S；(l)人類 IgG1 之 Fc 區中之 C226S 及 P230S；以及(m)人類 IgG1 之 Fc 區中之 S267E 及 L328F。在一些實施例中，該等次單元中之每一者包含有包含用於減弱效應功能之修飾的 Fc 區，該修飾產生無糖基化 Fc 區。在一些實施例中，該等次單元中之每一者包含有包含用於減弱效應功能之修飾的 Fc 區，該修飾不會引起對該 Fc 區之糖基化模式的修飾。在一些實施例中，該細胞表面受體為選自由以下各項組成之群的受體家族的成員：腫瘤壞死因子受體(TNFR)超家族及 G 蛋白偶聯受體(GPCR)超家族。在一些實施例中，該細胞表面受體係選自 OX40、DR5、GITR、CD27、CD137 及 Tie2。在一些實施例中，該 VH_1 包含：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；且該 VL_1 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及 (iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列。在一些實施例中，該 VH_2 包含：(a) VH 結構域，其包含(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之

胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；且該 VL_2 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39 之胺基酸序列；及(iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。

【0008】 在另一個態樣中，本文中提供一種具有促效活性之四價抗原結合複合物，其中該複合物包含：(a)抗體，該抗體包含兩個抗體重鏈，各抗體重鏈包含第一抗體重鏈可變域(VH_1)；及兩個抗體輕鏈，各抗體輕鏈包含第一抗體輕鏈可變域(VL_1)，其中該抗體特異性結合細胞表面受體之第一抗原決定基；及(b)與該抗體偶聯之兩個抗體 Fab 片段，其中該兩個抗體 Fab 片段中之每一者包含第二抗體重鏈可變域(VH_2)及第二抗體輕鏈可變域(VL_2)，其中該兩個抗體 Fab 片段中之每一者特異性結合該細胞表面受體之第二抗原決定基；其中該複合物對被該複合物結合之該細胞表面受體具有促效活性。在一些實施例中，本發明之抗原結合複合物顯示試管內促效活性。在一些實施例中，各抗體重鏈自 N 末端至 C 末端包含該第一抗體重鏈可變域(VH_1)、第一抗體重鏈 CH1 結構域、第一抗體重鏈 CH2 結構域及第一抗體重鏈 CH3 結構域；各抗體輕鏈自 N 末端至 C 末端包含該第一抗體輕鏈可變域(VL_1)及第一抗體輕鏈恆定域(CL)；該兩個抗體 Fab 片段中之每一者包含重鏈 Fab 片段，該重鏈 Fab 片段自 N 末端至 C 末端包含該第二抗體重鏈可變域(VH_2)及第二抗體重鏈 CH1 結構域；且該兩個抗體 Fab 片段中之每一者包含輕鏈 Fab 片段，該輕鏈 Fab 片段自 N 末端至 C 末端包含該第二抗體輕鏈可變域(VL_2)及第二抗體輕鏈恆定域(CL)。在一些實施例中，該兩個抗體 Fab 片段之第一個與該兩個抗體輕鏈之第一個或該兩個抗體重鏈之第一個化學偶聯，且該兩個抗體 Fab 片段之第二個與該兩個抗體輕鏈之第二個或該兩個抗體重鏈之第二個化學偶聯。在一些實施例中，該兩個 Fab

片段中之每一者經由連接子與該抗體化學偶聯。在一些實施例中，該複合物包含：(i)第一連接子，其接合該抗體之第一工程改造游離半胱胺酸與該兩個 Fab 片段之第一個之經工程改造游離半胱胺酸；及(ii)第二連接子，其接合該抗體之第二工程改造游離半胱胺酸與該兩個 Fab 片段之第二個之經工程改造游離半胱胺酸。在一些實施例中，該抗體之該兩個抗體重鏈中之每一者包含獨立地選自以下之半胱胺酸胺基酸：根據 EU 編號之 T114C、A118C、A140C、L174C、L179C、T187C、T209C、V262C、G371C、Y373C、E382C、S400C、S424C、N434C 及 Q438C。在一些實施例中，該抗體之該兩個抗體輕鏈中之每一者包含獨立地選自以下之半胱胺酸胺基酸：根據 Kabat 編號之 I106C、R108C、R142C、K149C 及 V205C。在一些實施例中，該兩個抗體 Fab 片段中之每一者包含 C 末端半胱胺酸胺基酸。在一些實施例中，該抗體與該兩個抗體 Fab 片段均經由點擊化學反應而偶聯。在一些實施例中，該抗體與該兩個抗體 Fab 片段均經由四嗪反式環辛烯(TCO)點擊反應而偶聯。在一些實施例中，該連接子之長度介於約 10 Å 與約 100 Å 之間。在一些實施例中，該連接子為雙馬來醯亞胺基聚乙二醇(PEG)連接子。在一些實施例中，該 PEG 連接子包含介於 1 與 11 個之間的 PEG 次單元。在一些實施例中，該 PEG 連接子包含 1、2 或 3 個 PEG 次單元。在一些實施例中，該兩個抗體 Fab 片段與該抗體基因偶聯；各抗體重鏈自 N 末端至 C 末端包含該第一抗體重鏈可變域(VH_1)、第一抗體重鏈 CH1 結構域、該第二重鏈可變域(VH_2)、第二重鏈 CH1 結構域、抗體重鏈 CH2 結構域及抗體重鏈 CH3 結構域；且該複合物包含：第一抗體輕鏈，該第一抗體輕鏈自 N 末端至 C 末端包含該第一抗體輕鏈可變域(VL_1)及第一抗體輕鏈恆定域(CL)；及第二抗體輕鏈，該第二抗體輕鏈自 N 末端至 C 末端包含該第二抗體輕鏈可變域(VL_2)及第二抗體輕鏈恆定域(CL)。在一些實施例中，該第一抗體輕

鏈包含用於與該抗體重鏈之該第一抗體重鏈可變域(VH_1)和/或該第一抗體重鏈 CH1 結構域之修飾正交配對的修飾，且該第二抗體輕鏈包含用於與該抗體重鏈之該第二重鏈可變域(VH_2)及/或該第二重鏈 CH1 結構域之修飾正交配對的修飾。在一些實施例中，該細胞表面受體之該第一抗原決定基與該第二抗原決定基相同。在一些實施例中，該細胞表面受體之該第一抗原決定基與該第二抗原決定基不同。在一些實施例中，該抗體之該等抗體重鏈中之每一者包含有包含用於減弱效應功能之修飾的 Fc 區。在一些實施例中，該抗體之該等抗體重鏈中之每一者在選自以下之一或多個胺基酸殘基(EU 編號)處包含胺基酸取代：(a)人類 IgG1 之 Fc 區中之 297；(b)人類 IgG1 之 Fc 區中之 234 及 235；(c)人類 IgG1 之 Fc 區中之 234、235 及 329；(d)人類 IgG2 之 Fc 區中之 234 及 237；(e)人類 IgG4 之 Fc 區中之 235、237 及 318；(f)人類 IgG4 之 Fc 區中之 228 及 236；(g)人類 IgG2 之 Fc 區中之 268、309、330 及 331；(h)人類 IgG1 之 Fc 區中之 220、226、229 及 238；(i)人類 IgG1 之 Fc 區中之 226、229、233、234 及 235；(j)人類 IgG1 之 Fc 區中之 234、235 及 331；(k)人類 IgG1 之 Fc 區中之 226 及 230；以及(l)人類 IgG1 之 Fc 區中之 267 及 328。在一些實施例中，該抗體之該等抗體重鏈中之每一者在選自以下之一或多個胺基酸殘基(EU 編號)處包含胺基酸取代：(a)人類 IgG1 之 Fc 區中之 N297A；(b)人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234A 及 L235A；(c)人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234A、L235A 及 P329G；(d)人類 IgG2 之 Fc 區中之 V234A 及 G237A；(e)人類 IgG4 之 Fc 區中之 L235A、G237A 及 E318A；(f)人類 IgG4 之 Fc 區中之 S228P 及 L236E；(g)跨越人類 IgG2 之 Fc 區中之胺基酸殘基 118 至 260 的區域中或跨越人類 IgG4 之 Fc 區中之胺基酸 261 至 447 的區域中的一或多個取代；(h)人類 IgG2 之 Fc 區中之 H268Q、V309L、A330S 及 A331S；(i)人類 IgG1 之 Fc 區中之 C220S、C226S、C229S 及 P238S；

(j)人類 IgG1 之 Fc 區中之 C226S、C229S、E233P、L234V 及 L235A；(k)人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234F、L235E 及 P331S；(l)人類 IgG1 之 Fc 區中之 C226S 及 P230S；以及(m)人類 IgG1 之 Fc 區中之 S267E 及 L328F。在一些實施例中，該抗體之該等抗體重鏈中之每一者包含有包含用於減弱效應功能之修飾的 Fc 區，該修飾產生無糖基化 Fc 區。在一些實施例中，該抗體之該等抗體重鏈中之每一者包含用於減弱效應功能之修飾，該修飾不會引起對該 Fc 區之糖基化模式的修飾。在一些實施例中，該細胞表面受體為選自由以下各項組成之群的受體家族的成員：腫瘤壞死因子受體(TNFR)超家族及 G 蛋白偶聯受體(GPCR)超家族。在一些實施例中，該細胞表面受體係選自由以下各項組成之群：OX40、DR5、GITR、CD27、CD137 及 Tie2。在一些實施例中，該 VH_1 包含：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；且其中該 VL_1 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列。在一些實施例中，該 VH_2 包含：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；且其中該 VL_2 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39 之胺基酸序列；及(iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。在一些實施例中，該 VH_2 包含：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；且其中該 VL_2 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺

基酸序列；及(iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列。在一些實施例中，該 VH_1 包含：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；且其中該 VL_1 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(ii) HVR- L2，其包含 SEQ ID NO:39 之胺基酸序列；及(iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。

【0009】 在另一態樣中，本文中提供編碼根據以上實施例中之任一者的複合物的核酸。在一些實施例中，該核酸包含編碼該第一抗體重鏈之第一聚核苷酸、編碼該第一抗體輕鏈之第二聚核苷酸、編碼該第二抗體重鏈之第三聚核苷酸及編碼該第二抗體輕鏈之第四聚核苷酸。在一些實施例中，該核酸包含編碼該抗體重鏈之第一聚核苷酸、編碼該抗體輕鏈之第二聚核苷酸、編碼該重鏈 Fab 片段之第三聚核苷酸及編碼該輕鏈 Fab 片段之第四聚核苷酸。在一些實施例中，該核酸包含第一聚核苷酸，其編碼抗體重鏈，該抗體重鏈自 N 末端至 C 末端包含該第一抗體重鏈可變域(VH_1)、第一抗體重鏈 CH1 結構域、該第二重鏈可變域(VH_2)、第二重鏈 CH1 結構域、抗體重鏈 CH2 結構域及抗體重鏈 CH3 結構域；第二聚核苷酸，其編碼抗體輕鏈，該抗體輕鏈自 N 末端至 C 末端包含該第一抗體輕鏈可變域(VL_1)及第一抗體輕鏈恆定域(CL)；及第三聚核苷酸，其編碼抗體輕鏈，該抗體輕鏈自 N 末端至 C 末端包含該第二抗體輕鏈可變域(VL_2)及第二抗體輕鏈恆定域(CL)。本文中進一步提供一種載體，其包含根據以上實施例中之任一個的核酸。在一些實施例中，該載體為表現載體。本文中進一步提供一種宿主細胞，其包含根據以上實施例中之任一個的載體及/或根據以上實施例中之任一個的核酸。在一些實施例中，該宿主細胞為原核細胞。在一些實施例中，該宿主細胞為真核細胞。本文中進一步提供一種產生四價抗原結合複合物之

方法，該方法包括培養根據以上實施例中之任一個的宿主細胞，從而產生該複合物。在一些實施例中，該方法進一步包括自該宿主細胞回收該複合物。

【0010】 在另一態樣中，本文中提供一種醫藥組合物，該醫藥組合物包含根據以上實施例中之任一個的複合物及醫藥學上可接受之載劑。

【0011】 在另一態樣中，本文中提供一種產生四價抗原結合複合物之方法，該四價抗原結合複合物對被該複合物結合之細胞表面受體具有促效活性，該方法包括：(a)提供：(i)第一半抗體，該第一半抗體包含第一抗體重鏈可變域(VH_1)及第一抗體輕鏈可變域(VL_1)，其中該第一半抗體特異性結合細胞表面受體之第一抗原決定基，且其中該第一半抗體包含第一工程改造游離半胱胺酸；及(ii)第二半抗體，該第二半抗體包含第二抗體重鏈可變域(VH_2)及第二抗體輕鏈可變域(VL_2)，其中該第二半抗體特異性結合該細胞表面受體之第二抗原決定基，其中該第一半抗體及該第二半抗體中之每一者包含具有 CH3 結構域之抗體 Fc 區，其中該兩個 CH3 結構域中之每一者包含突起或凹穴，其中該兩個 CH3 結構域中之第一個中的該突起或凹穴分別可置於該兩個 CH3 結構域中之第二個中的凹穴或突起中；(b)在試管內組裝該第一半抗體及該第二半抗體以形成第一次單元；(c)提供：(iii)第三半抗體，該第三半抗體包含該第一抗體重鏈可變域(VH_1)及該第一抗體輕鏈可變域(VL_1)，其中該第三半抗體特異性結合細胞表面受體之第一抗原決定基，且其中該第三半抗體包含第二工程改造游離半胱胺酸；及(iv)第四半抗體，該第四半抗體包含該第二抗體重鏈可變域(VH_2)及該第二抗體輕鏈可變域(VL_2)，其中該第四半抗體特異性結合該細胞表面受體之該第二抗原決定基，其中該第三半抗體及該第四半抗體中之每一者包含具有 CH3 結構域之抗體 Fc 區，其中該兩個 CH3 結構域中之每一者包含突起或凹穴，其中該兩個

CH3 結構域中之第一個中的該突起或凹穴分別可置於該兩個 CH3 結構域中之第二個中的凹穴或突起中；(d)在試管內組裝該第三半抗體及該第四半抗體以形成第二次單元；及(e)使用該第一游離工程改造半胱胺酸及該第二游離工程改造半胱胺酸，使該第一次單元與該第二次單元經由連接子偶聯，從而產生該複合物。在一些實施例中，本發明之抗原結合複合物顯示試管內促效活性。在一些實施例中，該細胞表面受體之該第一抗原決定基與該第二抗原決定基相同。在一些實施例中，該細胞表面受體之該第一抗原決定基與該第二抗原決定基不同。在一些實施例中，該第一工程改造游離半胱胺酸及該第二工程改造游離半胱胺酸中之每一者為獨立地選自以下之重鏈半胱胺酸胺基酸：根據 EU 編號之 T114C、A118C、A140C、L174C、L179C、T187C、T209C、V262C、G371C、Y373C、E382C、S400C、S424C、N434C 及 Q438C。在一些實施例中，該第一工程改造游離半胱胺酸及該第二工程改造游離半胱胺酸中之每一者為獨立地選自以下之輕鏈半胱胺酸胺基酸：根據 Kabat 編號之 I106C、R108C、R142C、K149C 及 V205C。在一些實施例中，該連接子為雙馬來醯亞胺基聚乙二醇(PEG)連接子。在一些實施例中，步驟(e)包括：(1)使該兩個次單元與該雙馬來醯亞胺基聚乙二醇(PEG)連接子反應；及(2)純化該複合物。在一些實施例中，純化該複合物包括對該複合物進行尺寸排阻層析法及/或陰離子交換層析法。在一些實施例中，該 PEG 連接子包含介於 1 與 11 個之間的 PEG 次單元。在一些實施例中，該 PEG 連接子包含 1、2 或 3 個 PEG 次單元。在一些實施例中，該第一次單元及該第二次單元中之每一者包含有包含用於減弱效應功能之修飾的 Fc 區。在一些實施例中，該第一次單元及該第二次單元中之每一者包含在選自以下之一或多個胺基酸殘基(EU 編號)處包含胺基酸取代的 Fc 區：(a)人類 IgG1 之 Fc 區中之 297；(b)人類 IgG1 之 Fc 區中之 234 及 235；(c)人類 IgG1 之 Fc

區中之 234、235 及 329；(d)人類 IgG2 之 Fc 區中之 234 及 237；(e)人類 IgG4 之 Fc 區中之 235、237 及 318；(f)人類 IgG4 之 Fc 區中之 228 及 236；(g)人類 IgG2 之 Fc 區中之 268、309、330 及 331；(h)人類 IgG1 之 Fc 區中之 220、226、229 及 238；(i)人類 IgG1 之 Fc 區中之 226、229、233、234 及 235；(j)人類 IgG1 之 Fc 區中之 234、235 及 331；(k)人類 IgG1 之 Fc 區中之 226 及 230；以及(l)人類 IgG1 之 Fc 區中之 267 及 328。在一些實施例中，該第一次單元及該第二次單元中之每一者包含有包含選自以下之一或多個胺基酸取代(EU 編號)的 Fc 區：(a)人類 IgG1 之 Fc 區中之 N297A；(b)人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234A 及 L235A；(c)人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234A、L235A 及 P329G；(d)人類 IgG2 之 Fc 區中之 V234A 及 G237A；(e)人類 IgG4 之 Fc 區中之 L235A、G237A 及 E318A；(f)人類 IgG4 之 Fc 區中之 S228P 及 L236E；(g)跨越人類 IgG2 之 Fc 區中之胺基酸殘基 118 至 260 的區域中或跨越人類 IgG4 之 Fc 區中之胺基酸 261 至 447 的區域中的一或多個取代；(h)人類 IgG2 之 Fc 區中之 H268Q、V309L、A330S 及 A331S；(i)人類 IgG1 之 Fc 區中之 C220S、C226S、C229S 及 P238S；(j)人類 IgG1 之 Fc 區中之 C226S、C229S、E233P、L234V 及 L235A；(k)人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234F、L235E 及 P331S；(l)人類 IgG1 之 Fc 區中之 C226S 及 P230S；以及(m)人類 IgG1 之 Fc 區中之 S267E 及 L328F。在一些實施例中，該第一次單元及該第二次單元中之每一者包含有包含用於減弱效應功能之修飾的 Fc 區，該修飾產生無糖基化 Fc 區。在一些實施例中，該第一次單元及該第二次單元中之每一者包含有包含用於減弱效應功能之修飾的 Fc 區，該修飾不會引起對該 Fc 區之糖基化模式的修飾。

【0012】 在另一態樣中，本文中提供一種產生四價抗原結合複合物之方法，該四價抗原結合複合物對被該複合物結合之細胞表面受體具有促效活

性，該方法包括：(a)提供抗體，該抗體包含兩個半抗體，其中各半抗體包含有包含第一抗體重鏈可變域(VH_1)之抗體重鏈及包含第一抗體輕鏈可變域(VL_1)之抗體輕鏈，其中該抗體特異性結合細胞表面受體之第一抗原決定基，且其中該兩個半抗體中之每一者包含第一工程改造游離半胱胺酸；(b)提供兩個抗體 Fab 片段，其中該兩個抗體 Fab 片段中之每一者包含第二抗體重鏈可變域(VH_2)及第二抗體輕鏈可變域(VL_2)，其中該兩個抗體 Fab 片段中之每一者特異性結合該細胞表面受體之第二抗原決定基，且其中該兩個抗體 Fab 片段中之每一者包含第二工程改造游離半胱胺酸；及(c)使該等抗體 Fab 片段之一與該兩個半抗體中之每一者經由連接子偶聯，從而產生該複合物。在一些實施例中，本發明之抗原結合複合物顯示試管內促效活性。在一些實施例中，該細胞表面受體之該第一抗原決定基與該第二抗原決定基相同。在一些實施例中，該細胞表面受體之該第一抗原決定基與該第二抗原決定基不同。在一些實施例中，該第一工程改造游離半胱胺酸為獨立地選自以下各項之重鏈半胱胺酸胺基酸：根據 EU 編號之 T114C、A118C、A140C、L174C、L179C、T187C、T209C、V262C、G371C、Y373C、E382C、S400C、S424C、N434C 及 Q438C。在一些實施例中，該第一工程改造游離半胱胺酸為獨立地選自以下各項之輕鏈半胱胺酸胺基酸：根據 Kabat 編號之 I106C、R108C、R142C、K149C 及 V205C。在一些實施例中，該第二工程改造游離半胱胺酸為 C 末端半胱胺酸胺基酸。在一些實施例中，該連接子為雙馬來醯亞胺基聚乙二醇(PEG)連接子。在一些實施例中，步驟(c)包括：(i)使該兩個抗體 Fab 片段中之每一者與雙馬來醯亞胺基聚乙二醇(PEG)連接子反應，以形成兩個雙馬來醯亞胺基結合之抗體 Fab 片段；(ii)移除過量雙馬來醯亞胺基 PEG 連接子；(iii)使該兩個雙馬來醯亞胺基結合之抗體 Fab 片段中之每一者與該抗體反應，以形成該複合物；及(iv)純化該複合物。在

一些實施例中，純化該複合物包括對該複合物進行尺寸排阻層析法及/或陰離子交換層析法。在一些實施例中，該 PEG 連接子包含介於 1 與 11 個之間的 PEG 次單元。在一些實施例中，該 PEG 連接子包含 1、2 或 3 個 PEG 次單元。在一些實施例中，該抗體包含有包含用於減弱效應功能之修飾的 Fc 區。在一些實施例中，該抗體包含在選自以下之一或多個胺基酸殘基(EU 編號)處包含胺基酸取代的 Fc 區：(a)人類 IgG1 之 Fc 區中之 297；(b)人類 IgG1 之 Fc 區中之 234 及 235；(c)人類 IgG1 之 Fc 區中之 234、235 及 329；(d)人類 IgG2 之 Fc 區中之 234 及 237；(e)人類 IgG4 之 Fc 區中之 235、237 及 318；(f)人類 IgG4 之 Fc 區中之 228 及 236；(g)人類 IgG2 之 Fc 區中之 268、309、330 及 331；(h)人類 IgG1 之 Fc 區中之 220、226、229 及 238；(i)人類 IgG1 之 Fc 區中之 226、229、233、234 及 235；(j)人類 IgG1 之 Fc 區中之 234、235 及 331；(k)人類 IgG1 之 Fc 區中之 226 及 230；以及(l)人類 IgG1 之 Fc 區中之 267 及 328。在一些實施例中，該抗體包含有包含選自以下之一或多個胺基酸取代(EU 編號)的 Fc 區：(a)人類 IgG1 之 Fc 區中之 N297A；(b)人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234A 及 L235A；(c)人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234A、L235A 及 P329G；(d)人類 IgG2 之 Fc 區中之 V234A 及 G237A；(e)人類 IgG4 之 Fc 區中之 L235A、G237A 及 E318A；(f)人類 IgG4 之 Fc 區中之 S228P 及 L236E；(g)跨越人類 IgG2 之 Fc 區中之胺基酸殘基 118 至 260 的區域中或跨越人類 IgG4 之 Fc 區中之胺基酸 261 至 447 的區域中的一或多個取代；(h)人類 IgG2 之 Fc 區中之 H268Q、V309L、A330S 及 A331S；(i)人類 IgG1 之 Fc 區中之 C220S、C226S、C229S 及 P238S；(j)人類 IgG1 之 Fc 區中之 C226S、C229S、E233P、L234V 及 L235A；(k)人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234F、L235E 及 P331S；(l)人類 IgG1 之 Fc 區中之 C226S 及 P230S；以及(m)人類 IgG1 之 Fc 區中之 S267E 及 L328F。在一些實施例中，該抗體包含有包含用

於減弱效應功能之修飾的 Fc 區，該修飾產生無糖基化 Fc 區。在一些實施例中，該抗體包含有包含用於減弱效應功能之修飾的 Fc 區，該修飾不會引起對該 Fc 區之糖基化模式的修飾。

【0013】 在另一態樣中，本文中提供一種產生四價抗原結合複合物之方法，該四價抗原結合複合物對被該複合物結合之細胞表面受體具有促效活性，該方法包括：(a)在宿主細胞中表現兩個抗體重鏈，其中各抗體重鏈自 N 末端至 C 末端包含第一抗體重鏈可變域(VH_1)、第一抗體重鏈 CH1 結構域($CH1_1$)、第二重鏈可變域(VH_2)、第二重鏈 CH1 結構域($CH1_2$)、抗體重鏈 CH2 結構域及抗體重鏈 CH3 結構域，其中各 VH_1 及/或各 $CH1_1$ 包含用於正交配對之第一修飾，其中各 VH_2 及/或各 $CH1_2$ 包含用於正交配對之第二修飾，且其中該第一修飾與該第二修飾不同；(b)在該宿主細胞中表現兩個第一抗體輕鏈，其中該兩個第一抗體輕鏈中之每一者自 N 末端至 C 末端包含第一抗體輕鏈可變域(VL_1)及第一抗體輕鏈恆定域(CL_1)，且其中該 VL_1 及/或該 CL_1 包含用於與該抗體重鏈之該第一修飾進行正交配對的修飾；及(c)在該宿主細胞中表現兩個第二抗體輕鏈，其中該兩個第二抗體輕鏈中之每一者自 N 末端至 C 末端包含第二抗體輕鏈可變域(VL_2)及第二抗體輕鏈恆定域(CL_2)，且其中該 VL_2 及/或該 CL_2 包含用於與該抗體重鏈之該第二修飾進行正交配對的修飾；其中該 VH_1 及該 VL_1 特異性結合該細胞表面受體之第一抗原決定基；其中該 VH_2 及該 VL_2 特異性結合該細胞表面受體之第二抗原決定基；且其中在該宿主細胞中表現後，該兩個抗體重鏈締合，該兩個重鏈中之每一者與第一抗體輕鏈經由正交配對而偶聯，且該兩個重鏈中之每一者與第二抗體輕鏈經由正交配對而偶聯，從而產生該複合物。在一些實施例中，該抗體重鏈之該第一修飾及該第二修飾中之每一者係獨立地選自 VH-Q39K、VH-Q39E、CH1-S183E、CH1-S183K、CH1-A141I、CH1-F170S、

CH1-S181M、CH1-S183A 及 CH1-V185A (EU 編號)。在一些實施例中，該第一抗體輕鏈及該第二抗體輕鏈之該等修飾中之每一者係獨立地選自 VL-Q38E、VL-Q38K、CL-V133K、CL-V133E、CL-F116A、CL-L135V、CL-S174A、CL-S176F 及 CL-T178V (EU 編號)。在一些實施例中，該細胞表面受體之該第一抗原決定基與該第二抗原決定基相同。在一些實施例中，該細胞表面受體之該第一抗原決定基與該第二抗原決定基不同。在一些實施例中，各抗體重鏈包含有包含用於減弱效應功能之修飾的 Fc 區。在一些實施例中，各抗體重鏈包含在選自以下之一或多個胺基酸殘基(EU 編號)處包含胺基酸取代的 Fc 區：(a)人類 IgG1 之 Fc 區中之 297；(b)人類 IgG1 之 Fc 區中之 234 及 235；(c)人類 IgG1 之 Fc 區中之 234、235 及 329；(d)人類 IgG2 之 Fc 區中之 234 及 237；(e)人類 IgG4 之 Fc 區中之 235、237 及 318；(f)人類 IgG4 之 Fc 區中之 228 及 236；(g)人類 IgG2 之 Fc 區中之 268、309、330 及 331；(h)人類 IgG1 之 Fc 區中之 220、226、229 及 238；(i)人類 IgG1 之 Fc 區中之 226、229、233、234 及 235；(j)人類 IgG1 之 Fc 區中之 234、235 及 331；(k)人類 IgG1 之 Fc 區中之 226 及 230；以及(l)人類 IgG1 之 Fc 區中之 267 及 328。在一些實施例中，各抗體重鏈包含有包含選自以下之一或多個胺基酸取代(EU 編號)的 Fc 區：(a)人類 IgG1 之 Fc 區中之 N297A；(b)人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234A 及 L235A；(c)人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234A、L235A 及 P329G；(d)人類 IgG2 之 Fc 區中之 V234A 及 G237A；(e)人類 IgG4 之 Fc 區中之 L235A、G237A 及 E318A；(f)人類 IgG4 之 Fc 區中之 S228P 及 L236E；(g)跨越人類 IgG2 之 Fc 區中之胺基酸殘基 118 至 260 的區域中或跨越人類 IgG4 之 Fc 區中之胺基酸 261 至 447 的區域中的一或多個取代；(h)人類 IgG2 之 Fc 區中之 H268Q、V309L、A330S 及 A331S；(i)人類 IgG1 之 Fc 區中之 C220S、C226S、C229S 及 P238S；(j)人類 IgG1 之 Fc 區中之

C226S、C229S、E233P、L234V 及 L235A；(k)人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234F、L235E 及 P331S；(l)人類 IgG1 之 Fc 區中之 C226S 及 P230S；以及(m)人類 IgG1 之 Fc 區中之 S267E 及 L328F。在一些實施例中，各抗體重鏈包含有包含用於減弱效應功能之修飾的 Fc 區，該修飾產生無糖基化 Fc 區。在一些實施例中，各抗體重鏈包含有包含用於減弱效應功能之修飾的 Fc 區，該修飾不會引起對該 Fc 區之糖基化模式的修飾。

【0014】 在以上實施例中之任一個的一些實施例中，該細胞表面受體為選自由以下各項組成之群的受體家族的成員：腫瘤壞死因子受體(TNFR)超家族及 G 蛋白偶聯受體(GPCR)超家族。在以上實施例中之任一個的一些實施例中，該細胞表面受體係選自由以下各項組成之群：OX40、DR5、GITR、CD27、CD137 及 Tie2。在以上實施例中之任一個的一些實施例中，該 VH_1 包含：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；且其中該 VL_1 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列。在以上實施例中之任一個的一些實施例中，該 VH_2 包含：(a) VH 結構域，其包含(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；且其中該 VL_2 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39 之胺基酸序列；及(iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。在以上實施例中之任一個的一些實施例中，該 VH_2 包含：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；

且其中該 VL_2 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列。在以上實施例中之任一個的一些實施例中，該 VH_1 包含：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；且其中該 VL_1 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39 之胺基酸序列；及(iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。

【0015】 在一些實施例中，本發明之抗原結合複合物在試管內顯示促效活性。

【0016】 本文中亦提供結合 OX40 且對 OX40 具有一或多種本文中所描述之促效活性的抗原結合複合物(例如，四價及雙抗原決定基抗原結合複合物)。

【0017】 在一個態樣中，本文中提供一種對 OX40 具有促效活性之四價抗原結合複合物，該複合物包含四個結合 OX40 之抗原結合域，其中該四個抗原結合域中之每一者包含抗體重鏈可變(VH)域及抗體輕鏈可變(VL)域，其中該複合物包含一或多個結合 OX40 之第一抗原決定基的抗原結合域及一或多個結合 OX40 之第二抗原決定基的抗原結合域，且 OX40 之該第一抗原決定基與該第二抗原決定基不同。在一些實施例中，該結合該第一抗原決定基之抗原結合域不與該結合該第二抗原決定基之抗原結合域交叉競爭結合 OX40。

【0018】 在一個態樣中，本文中提供一種對 OX40 具有促效活性之四價抗原結合複合物，該複合物包含四個結合 OX40 之抗原結合域，其中該四個抗原結合域中之每一者包含抗體重鏈可變(VH)域及抗體輕鏈可變(VL)域，

其中該複合物包含一或多個結合 OX40 之第一抗原決定基的抗原結合域及一或多個結合 OX40 之第二抗原決定基的抗原結合域，且該結合該第一抗原決定基之抗原結合域不與該結合該第二抗原決定基之抗原結合域交叉競爭結合 OX40。在一些實施例中，該複合物包含兩個結合該第一抗原決定基之抗原結合域及兩個結合該第二抗原決定基之抗原結合域。

【0019】 在一些實施例中，該第一抗原決定基包含選自由以下各項組成之群的一或多個胺基酸殘基：SEQ ID NO:281 之 114-119、124、126、127、129、130、132、140 及 142。在一些實施例中，該第一抗原決定基包含 SEQ ID NO:281 之胺基酸殘基 114-119、124、126、127、129、130、132、140 及 142。在一些實施例中，該結合 OX40 之第一抗原決定基之抗原結合域包含：(a) VH 結構域，其包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 之 HVR-H3；及(b) VL 結構域，其包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。在一些實施例中，該抗原結合域中結合 OX40 之該第一抗原決定基之該 VH 結構域包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，且該抗原結合域中結合 OX40 之該第一抗原決定基之該 VL 結構域包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57。在一些實施例中，該第二抗原決定基包含選自由以下各項組成之群的一或多個胺基酸殘基：SEQ ID NO:281 之 68-71、83-90、95 及 98。在一些實施例中，該第二抗原決定基包含 SEQ ID NO:281 之胺基酸殘基 68-71、83-90、95 及 98。在一些實施例中，該結合 OX40 之該第二抗原決定基之抗原結合域包含：(a) VH 結構域，其包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；及(b) VL 結構域，其包含有包含胺基酸

序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3。在一些實施例中，該抗原結合域中結合 OX40 之該第二抗原決定基之該 VH 結構域包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，且該抗原結合域中結合 OX40 之該第二抗原決定基之該 VL 結構域包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129。在一些實施例中，該結合 OX40 之第一抗原決定基之抗原結合域包含：(a) VH 結構域，其包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 之 HVR-H3；及(b) VL 結構域，其包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3；且該結合 OX40 之該第二抗原決定基之抗原結合域包含：(c) VH 結構域，其包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；及(d) VL 結構域，其包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3。在一些實施例中，該抗原結合域中結合 OX40 之該第一抗原決定基之該 VH 結構域包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，該抗原結合域中結合 OX40 之該第一抗原決定基之該 VL 結構域包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57；該抗原結合域中結合 OX40 之該第二抗原決定基之該 VH 結構域包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，且該抗原結合域中結合 OX40 之該第二抗原決定基之該 VL 結構域包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129。

【0020】 在一些實施例中，該複合物包含兩個抗體重鏈多肽及兩個抗體輕鏈多肽；其中該等抗體重鏈多肽中之每一者包含：VH_1-L_1-VH_2-L_2-CH_1-鉸鏈-CH_2-CH_3 [I]；其中該等抗體輕鏈多肽中之每一者包含：

VL_1-L_3-VL_2-L_4-CL [II]；其中該等抗體重鏈多肽中之每一者與一個抗體輕鏈多肽締合，以便VH_1與VL_1形成抗原結合域且VH_2與VL_2形成抗原結合域；VH_1為第一抗體重鏈可變域，VH_2為第二抗體重鏈可變域，VL_1為第一抗體輕鏈可變域，VL_2為第二抗體輕鏈可變域，CL 為抗體輕鏈恆定域，CH_1為抗體第一重鏈恆定域，鉸鏈為抗體鉸鏈區，CH_2為抗體第二重鏈恆定域，CH_3為抗體第三重鏈恆定域，且 L_1、L_2、L_3及 L_4為胺基酸連接子。在一些實施例中，VH_1與 VL_1形成結合 OX40 之該第一抗原決定基之抗原結合域，且 VH_2與 VL_2形成結合 OX40 之該第二抗原決定基之抗原結合域。在一些實施例中，VH_1與 VL_1形成結合 OX40 之該第二抗原決定基之抗原結合域，且 VH_2與 VL_2形成結合 OX40 之該第一抗原決定基之抗原結合域。在一些實施例中，L_2及 L_4之長度為 0 個胺基酸。在一些實施例中，L_1之長度介於 0 與 20 個胺基酸之間。在一些實施例中，L_1之該等胺基酸中有至少 90%為甘胺酸及/或絲胺酸胺基酸。在一些實施例中，L_1包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：GGGGSG (SEQ ID NO:270)、GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:272)及 GGGGSGGGGSGGGG (SEQ ID NO:273)。在一些實施例中，L_3包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：GGSGG (SEQ ID NO:271)、GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:272)及 GGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:274)。在一些實施例中，L_1包含胺基酸序列 GGGGSG (SEQ ID NO:270)，且 L_3包含胺基酸序列 GGSGG (SEQ ID NO:271)。在一些實施例中，L_1及 L_3皆包含胺基酸序列 GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:272)。在一些實施例中，L_1包含胺基酸序列 GGGGSGGGGSGGGG (SEQ ID NO:273)，且 L_3包含胺基酸序列 GGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:274)。在一些實施例中，L_1包含在人類抗體恆定域序列內發現之胺基酸序列。在一些實施例中，L_1包含胺基酸序列 ASTKGP (SEQ ID NO:275)或 ASTKGPSVFPLAP (SEQ ID NO:277)。在一些

實施例中，L_3 包含胺基酸序列 RTVAAP (SEQ ID NO:276) 或 RTVAAPSVFIFPP (SEQ ID NO:278)。在一些實施例中，L_1 包含胺基酸序列 ASTKGP (SEQ ID NO:275)，且 L_3 包含胺基酸序列 RTVAAP (SEQ ID NO:276)。在一些實施例中，L_1 包含胺基酸序列 ASTKGPSVFPLAP (SEQ ID NO:277)，且 L_3 包含胺基酸序列 RTVAAPSVFIFPP (SEQ ID NO:278)。在以上實施例中任一者之一些實施例中，VH_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 或 288 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 或 289 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；VL_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；VH_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 或 282 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 或 283 之 HVR-H3；且 VL_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 或 286 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。在一些實施例中，VH_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 或 288 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 或 289 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；VL_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；VH_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 或 282 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 或 283 之 HVR-H3；且 VL_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 或 286 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。在一些實施例中，VH_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，VL_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，VH_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，

且 VL_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57。在一些實施例中，VH_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128 或 290，VL_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，VH_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56、284 或 285，且 VL_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57 或 287。在以上所描述之複合物中之任一者中，VH_1、VH_2、VL_1 及/或 VL_2 包含有包含表 4 及表 5 中所列出之序列中之一或多個的 HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1、HVR-L2 及/或 HVR-L3。在一些實施例中，該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:240，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:241；該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:242，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:243；該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:250，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:251；該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:252，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:253；該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:254，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:255；該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:256，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:257；該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:258，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:259；該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:260，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:261；該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:262，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:263；該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:264，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:265；或該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:266，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:267。在一些實施例中，該兩個抗體重

鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:240，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:241；或該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:242，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:243。在以上實施例中任一者之一些實施例中，重鏈多肽之 C 末端離胺酸可能不存在或已移除。在一些實施例中，該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:242 或 291，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:243。

【0021】 在一些實施例中，該複合物包含兩個抗體重鏈多肽及四個抗體輕鏈多肽；其中該等抗體重鏈多肽中之每一者包含：VH_1-L_1-$(CH_1)_x$-L_2-VH_2-L_3-$(CH_1)_y$-鉸鏈-CH_2-CH_3 [III]；其中該四個抗體輕鏈多肽中有兩個包含：VL_1-$(CL)_x$ [IV]；且其中該四個抗體輕鏈多肽中有兩個包含：VL_2-$(CL)_y$ [V]；其中該等抗體重鏈多肽中之每一者與一個包含式[IV]之輕鏈多肽締合，以便 VH_1 與 VL_1 形成抗原結合域且與一個包含式[V]之輕鏈多肽締合，以便 VH_2 與 VL_2 形成抗原結合域；且 VH_1 為第一抗體重鏈可變域，VH_2 為第二抗體重鏈可變域，VL_1 為第一抗體輕鏈可變域，VL_2 為第二抗體輕鏈可變域，$(CL)_x$ 及 $(CL)_y$ 為抗體輕鏈恆定域，$(CH_1)_x$ 及 $(CH_1)_y$ 為抗體第一重鏈恆定域，鉸鏈為抗體鉸鏈區，CH_2 為抗體第二重鏈恆定域，CH_3 為抗體第三重鏈恆定域，且 L_1、L_2 及 L_3 為胺基酸連接子。在一些實施例中，該複合物在 VH_1、VL_1、$(CH_1)_x$ 或 $(CL)_x$ 中包含一或多個促進 VH_1 與 VL_1 形成抗原結合域之胺基酸取代；及/或在 VH_2、VL_2、$(CH_1)_y$ 或 $(CL)_y$ 中包含一或多個促進 VH_2 與 VL_2 形成抗原結合域之胺基酸取代。在一些實施例中，該複合物包含以下胺基酸取代配對中之一或多個：VH_1 中之 Q39K 取代及 VL_1 中之 Q38E 取代，根據 Kabat 進行編號；VH_2 中之 Q39K 取代及 VL_2 中之 Q38E 取代，根據 Kabat 進行編號；VH_1 中之 Q39E 取代及 VL_1 中之 Q38K

取代，根據 Kabat 進行編號；VH_2 中之 Q39E 取代及 VL_2 中之 Q38K 取代，根據 Kabat 進行編號；$(CH_1)_x$ 中之 S183E 取代及$(CL)_x$ 中之 V133K 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_1)_x$ 中之 S183K 取代及$(CL)_x$ 中之 V133E 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_1)_y$ 中之 S183E 取代及$(CL)_y$ 中之 V133K 取代，根據 EU 指數進行編號；以及$(CH_1)_y$ 中之 S183K 取代及$(CL)_y$ 中之 V133E 取代，根據 EU 指數進行編號。在一些實施例中，該複合物包含以下各組胺基酸取代中之一或多個：VH_1 中之 Q39K 取代及 VL_1 中之 Q38E 取代，以及 VH_2 中之 Q39E 取代及 VL_2 中之 Q38K 取代，根據 Kabat 進行編號；VH_2 中之 Q39K 取代及 VL_2 中之 Q38E 取代，以及 VH_1 中之 Q39E 取代及 VL_1 中之 Q38K 取代，根據 Kabat 進行編號；$(CH_1)_x$ 中之 S183E 取代及$(CL)_x$ 中之 V133K 取代，以及$(CH_1)_y$ 中之 S183K 取代及$(CL)_y$ 中之 V133E 取代，根據 EU 指數進行編號；或$(CH_1)_y$ 中之 S183E 取代及$(CL)_y$ 中之 V133K 取代，以及$(CH_1)_x$ 中之 S183K 取代及$(CL)_x$ 中之 V133E 取代，根據 EU 指數進行編號。在一些實施例中，該複合物包含：VH_1 中之 Q39K 取代及 VL_1 中之 Q38E 取代，以及 VH_2 中之 Q39E 取代及 VL_2 中之 Q38K 取代，根據 Kabat 進行編號；以及$(CH_1)_x$ 中之 S183E 取代及$(CL)_x$ 中之 V133K 取代，以及$(CH_1)_y$ 中之 S183K 取代及$(CL)_y$ 中之 V133E 取代，根據 EU 指數進行編號；或 VH_2 中之 Q39K 取代及 VL_2 中之 Q38E 取代，以及 VH_1 中之 Q39E 取代及 VL_1 中之 Q38K 取代，根據 Kabat 進行編號；及或$(CH_1)_y$ 中之 S183E 取代及$(CL)_y$ 中之 V133K 取代，以及$(CH_1)_x$ 中之 S183K 取代及$(CL)_x$ 中之 V133E 取代，根據 EU 指數進行編號。在一些實施例中，VH_1 與 VL_1 形成結合 OX40 之該第一抗原決定基之抗原結合域，且 VH_2 與 VL_2 形成結合 OX40 之該第二抗原決定基之抗原結合域。在一些實施例中，VH_1 與 VL_1 形成結合 OX40 之該第二抗原決定基之抗原結合域，且 VH_2 與 VL_2 形成結合 OX40 之該第一抗原決定基之抗原結合

域。在一些實施例中，L_2包含在人類抗體恆定域序列內發現之胺基酸序列。在一些實施例中，L_2包含胺基酸序列 DKTHT (SEQ ID NO:268)或 DKTHTGGGGSGG (SEQ ID NO:269)。在一些實施例中，L_1及L_3之長度為 0 個胺基酸。在以上實施例中任一者之一些實施例中，VH_1包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 或 288 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 或 289 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；VL_1包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；VH_2包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 或 282 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 或 283 之 HVR-H3；且VL_2包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 或 286 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。在一些實施例中，VH_2包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 或 288 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 或 289 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；VL_2包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；VH_1包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 或 282 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 或 283 之 HVR-H3；且VL_1包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 或 286 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。在一些實施例中，VH_1包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，VL_1包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，VH_2包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，且 VL_2包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57。在一些實施例中，VH_2包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128 或 290，VL_2包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，VH_1包

含胺基酸序列 SEQ ID NO:56、284 或 285，且 VL_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57 或 287。在以上所描述之複合物中之任一者中，VH_1、VH_2、VL_1 及/或 VL_2 包含有包含表 4 及表 5 中所列出之序列中之一或多個的 HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1、HVR-L2 及/或 HVR-L3。在一些實施例中，該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:244 或 292，該兩個包含式[IV]之抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:245，且該兩個包含式[V]之抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:246；或該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:247 或 293，該兩個包含式[IV]之抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:248，且該兩個包含式[V]之抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:249。在以上實施例中任一者之一些實施例中，重鏈多肽之 C 末端離胺酸可能不存在或已移除。

【0022】 在一些實施例中，該複合物包含：第一抗體重鏈多肽，其包含：VH_1-L_1-CH_1-L_2-VH_1-L_3-CH_1-鉸鏈-CH_2-$(CH_3)_x$ [VI]；兩個第一抗體輕鏈多肽，其各自包含：VL_1-CL [VII]；第二抗體重鏈多肽，其包含：VH_2-L_7-CH_1-L_8-VH_2-L_9-CH_1-鉸鏈-CH_2-$(CH_3)_y$ [VIII]；及兩個第二抗體輕鏈多肽，其各自包含：VL_2-CL [IX]；其中該第一抗體重鏈多肽與兩個包含式[VII]之第一抗體輕鏈多肽締合，以便各 VH_1 與 VL_1 形成抗原結合域；其中該第二抗體重鏈多肽與兩個包含式[IX]之第二抗體輕鏈多肽締合，以便各 VH_2 與 VL_2 形成抗原結合域；且 VH_1 為第一抗體重鏈可變域，VH_2 為第二抗體重鏈可變域，VL_1 為第一抗體輕鏈可變域，VL_2 為第二抗體輕鏈可變域，CL 為抗體輕鏈恆定域，CH_1 為抗體第一重鏈恆定域，鉸鏈為抗體鉸鏈區，CH_2 為抗體第二重鏈恆定域，$(CH_3)_x$ 及 $(CH_3)_y$ 為抗體第三重鏈恆定域，且 L_1、L_2、L_3、L_7、L_8 及 L_9 為胺基酸連接子。在一些實施例中，$(CH_3)_x$ 包含突起或凹穴，$(CH_3)_y$ 包含突起或凹穴，且 $(CH_3)_x$ 之突起或凹穴可位於 $(CH_3)_y$ 之突起或

凹穴中。在一些實施例中，$(CH_3)_x$包含 T366Y 取代且$(CH_3)_y$包含 Y407T 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_x$包含 T366W 取代且$(CH_3)_y$包含 Y407A 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_x$包含 F405A 取代且$(CH_3)_y$包含 T394W 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_x$包含 Y407T 取代且$(CH_3)_y$包含 T366Y 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_x$包含 T366Y 及 F405A 取代且$(CH_3)_y$包含 T394W 及 Y407T 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_x$包含 T366W 及 F405W 取代且$(CH_3)_y$包含 T394S 及 Y407A 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_x$包含 F405W 及 Y407A 取代且$(CH_3)_y$包含 T366W 及 T394S 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_x$包含 F405W 取代且$(CH_3)_y$包含 T394S 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_y$包含 T366Y 取代且$(CH_3)_x$包含 Y407T 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_y$包含 T366W 取代且$(CH_3)_x$包含 Y407A 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_y$包含 F405A 取代且$(CH_3)_x$包含 T394W 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_y$包含 Y407T 取代且$(CH_3)_x$包含 T366Y 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_y$包含 T366Y 及 F405A 取代且$(CH_3)_x$包含 T394W 及 Y407T 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_y$包含 T366W 及 F405W 取代且$(CH_3)_x$包含 T394S 及 Y407A 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_y$包含 F405W 及 Y407A 取代且$(CH_3)_x$包含 T366W 及 T394S 取代，根據 EU 指數進行編號；或$(CH_3)_y$包含 F405W 取代且$(CH_3)_x$包含 T394S 取代，根據 EU 指數進行編號。在一些實施例中，VH_1與 VL_1形成結合 OX40 之該第一抗原決定基之抗原結合域，且 VH_2與 VL_2形成結合 OX40 之該第二抗原決定基之抗原結合域。在一些實施例中，VH_1與 VL_1形成結合 OX40 之該第二抗原決定基之抗原結合域，且 VH_2與 VL_2形成結合 OX40 之該第一抗原決定基之抗原結合域。在一些實施例中，L_2及 L_8皆包含在人類抗體恆定域序列內發現之胺基酸序列。在一些實施例中，L_2及 L_8皆包含選自由以下各項

組成之群的相同胺基酸序列：DKTHT (SEQ ID NO:268)及DKTHTGGGGSGG (SEQ ID NO:269)。在一些實施例中，L_1、L_3、L_7及L_9之長度為0個胺基酸。在以上實施例中任一者之一些實施例中，VH_1包含有包含胺基酸序列SEQ ID NO:29或288之HVR-H1、包含胺基酸序列SEQ ID NO:30或289之HVR-H2及包含胺基酸序列SEQ ID NO:33之HVR-H3；VL_1包含有包含胺基酸序列SEQ ID NO:37之HVR-L1、包含胺基酸序列SEQ ID NO:39之HVR-L2及包含胺基酸序列SEQ ID NO:42之HVR-L3；VH_2包含有包含胺基酸序列SEQ ID NO:2或282之HVR-H1、包含胺基酸序列SEQ ID NO:3之HVR-H2及包含胺基酸序列SEQ ID NO:4或283之HVR-H3；且VL_2包含有包含胺基酸序列SEQ ID NO:5之HVR-L1、包含胺基酸序列SEQ ID NO:6或286之HVR-L2及包含胺基酸序列SEQ ID NO:7之HVR-L3。在一些實施例中，VH_2包含有包含胺基酸序列SEQ ID NO:29或288之HVR-H1、包含胺基酸序列SEQ ID NO:30或289之HVR-H2及包含胺基酸序列SEQ ID NO:33之HVR-H3；VL_2包含有包含胺基酸序列SEQ ID NO:37之HVR-L1、包含胺基酸序列SEQ ID NO:39之HVR-L2及包含胺基酸序列SEQ ID NO:42之HVR-L3；VH_1包含有包含胺基酸序列SEQ ID NO:2或282之HVR-H1、包含胺基酸序列SEQ ID NO:3之HVR-H2及包含胺基酸序列SEQ ID NO:4或283之HVR-H3；且VL_1包含有包含胺基酸序列SEQ ID NO:5之HVR-L1、包含胺基酸序列SEQ ID NO:6或286之HVR-L2及包含胺基酸序列SEQ ID NO:7之HVR-L3。在一些實施例中，VH_1包含胺基酸序列SEQ ID NO:128，VL_1包含胺基酸序列SEQ ID NO:129，VH_2包含胺基酸序列SEQ ID NO:56，且VL_2包含胺基酸序列SEQ ID NO:57。在一些實施例中，VH_2包含胺基酸序列SEQ ID NO:128或290，VL_2包含胺基酸序列SEQ ID NO:129，VH_1包含胺基酸序列SEQ ID NO:56、284或285，且VL_1包含胺基酸序列SEQ ID

NO:57 或 287。在以上所描述之複合物中之任一者中，VH_1、VH_2、VL_1及/或 VL_2包含有包含表 4 及表 5 中所列出之序列中之一或多個的 HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1、HVR-L2 及/或 HVR-L3。

【0023】 在一些實施例中，該複合物包含有包含與兩個抗體輕鏈締合之兩個抗體重鏈之抗體，及兩個抗體 Fab 片段；其中該抗體之該等抗體重鏈中之每一者包含：VH_1-CH_1-鉸鏈-CH_2-CH_3 [X]；其中該抗體之該等抗體輕鏈中之每一者包含：VL_1-CL [VII]；其中該等抗體 Fab 片段中之每一者包含：重鏈片段，其包含：VH_2-CH_1 [XI]；及輕鏈，其包含：VL_2-CL [IX]；其中該等抗體重鏈中之每一者與該等抗體輕鏈之一締合，以便 VH_1與 VL_1形成抗原結合域；其中該等抗體 Fab 片段中之每一者包含與一個包含式[IX]之輕鏈片段締合之一個包含式[XI]之重鏈片段，以便 VH_2與 VL_2形成抗原結合域；該等抗體 Fab 片段中之每一者經由連接子 L_1與該抗體之該等抗體重鏈之一或該等抗體輕鏈之一偶聯；且 VH_1為第一抗體重鏈可變域，VH_2為第二抗體重鏈可變域，VL_1為第一抗體輕鏈可變域，VL_2為第二抗體輕鏈可變域，CL 為抗體輕鏈恆定域，CH_1為抗體第一重鏈恆定域，鉸鏈為抗體鉸鏈區，CH_2為抗體第二重鏈恆定域，且 CH_3為抗體第三重鏈恆定域。在一些實施例中，該等 L_1連接子中之每一者為雙馬來醯亞胺基聚乙二醇(PEG)連接子。在一些實施例中，該 PEG 連接子包含介於一個與十一個之間的 PEG 次單元。在一些實施例中，該 PEG 連接子包含一個、兩個或三個 PEG 次單元。在一些實施例中，該等 L_1連接子中之每一者使該等抗體重鏈之一或該等抗體輕鏈之一的第一經工程改造游離半胱胺酸與該等抗體 Fab 片段之一的第二經工程改造游離半胱胺酸偶聯。在一些實施例中，該第一經工程改造游離半胱胺酸為該抗體重鏈中獨立地選自由以下各項組成之群的半胱胺酸胺基酸：根據 EU 編號之 T114C、A118C、A140C、L174C、L179C、T187C、

T209C、V262C、G371C、Y373C、E382C、S400C、S424C、N434C 及 Q438C。在一些實施例中，該第一經工程改造游離半胱胺酸為該抗體輕鏈中獨立地選自由以下各項組成之群的半胱胺酸胺基酸：根據 Kabat 編號之 I106C、R108C、R142C、K149C 及 V205C。在一些實施例中，該第二經工程改造游離半胱胺酸為 C 末端半胱胺酸殘基。在一些實施例中，VH_1 與 VL_1 形成結合 OX40 之該第一抗原決定基之抗原結合域，且 VH_2 與 VL_2 形成結合 OX40 之該第二抗原決定基之抗原結合域。在一些實施例中，VH_1 與 VL_1 形成結合 OX40 之該第二抗原決定基之抗原結合域，且 VH_2 與 VL_2 形成結合 OX40 之該第一抗原決定基之抗原結合域。在以上實施例中任一者之一些實施例中，VH_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 或 288 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 或 289 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；VL_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；VH_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 或 282 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 或 283 之 HVR-H3；且 VL_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 或 286 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。在一些實施例中，VH_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 或 288 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 或 289 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；VL_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；VH_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 或 282 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 或 283 之 HVR-H3；且 VL_1 包含有包含胺基酸

序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 或 286 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。在一些實施例中，VH_1包含胺基酸序列SEQ ID NO:128，VL_1包含胺基酸序列SEQ ID NO:129，VH_2包含胺基酸序列SEQ ID NO:56，且VL_2包含胺基酸序列SEQ ID NO:57。在一些實施例中，VH_2包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128 或 290，VL_2包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，VH_1包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56、284 或 285，且 VL_1包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57 或 287。在以上所描述之複合物中之任一者中，VH_1、VH_2、VL_1及/或 VL_2包含有包含表 4 及表 5 中所列出之序列中之一或多個的 HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1、HVR-L2 及/或 HVR-L3。在一些實施例中，該抗體之該等抗體重鏈中之每一者包含胺基酸序列 SEQ ID NO:232，該抗體之該等抗體輕鏈中之每一者包含胺基酸序列 SEQ ID NO:237，該等抗體 Fab 片段中之每一者包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:239 之重鏈片段，且該等抗體 Fab 片段中之每一者包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:231 之輕鏈片段。在一些實施例中，該抗體之該等抗體重鏈中之每一者包含胺基酸序列 SEQ ID NO:230 或 294，該抗體之該等抗體輕鏈中之每一者包含胺基酸序列 SEQ ID NO:236，該等抗體 Fab 片段中之每一者包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:238 之重鏈片段，且該等抗體 Fab 片段中之每一者包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:233 之輕鏈片段。在以上實施例中任一者之一些實施例中，重鏈多肽之 C 末端離胺酸可能不存在或已移除。

【0024】 在一些實施例中，該複合物包含兩個抗體，其中該等抗體中之每一者包含：第一抗體重鏈，其包含：VH_1-CH_1-鉸鏈-CH_2-$(CH_3)_x$ [X]；第一抗體輕鏈，其包含：VL_1-CL [VII]；第二抗體重鏈，其包含：VH_2-CH_1-鉸鏈-CH_2-$(CH_3)_y$ [XII]；及第二抗體輕鏈，其包含：VL_2-CL [IX]；其中該第一抗

體重鏈與該第一抗體輕鏈締合，以便 VH_1 與 VL_1 形成抗原結合域；其中該第二抗體重鏈與該第二抗體輕鏈締合，以便 VH_2 與 VL_2 形成抗原結合域；其中該兩個抗體係經由連接子 L_1 偶聯；且 VH_1 為第一抗體重鏈可變域，VH_2 為第二抗體重鏈可變域，VL_1 為第一抗體輕鏈可變域，VL_2 為第二抗體輕鏈可變域，CL 為抗體輕鏈恆定域，CH_1 為抗體第一重鏈恆定域，鉸鏈為抗體鉸鏈區，CH_2 為抗體第二重鏈恆定域，且$(CH_3)_x$及$(CH_3)_y$為抗體第三重鏈恆定域。在一些實施例中，$(CH_3)_x$包含突起或凹穴，$(CH_3)_y$包含突起或凹穴，且$(CH_3)_x$之突起或凹穴可位於$(CH_3)_y$之突起或凹穴中。在一些實施例中，$(CH_3)_x$包含 T366Y 取代且$(CH_3)_y$包含 Y407T 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_x$包含 T366W 取代且$(CH_3)_y$包含 Y407A 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_x$包含 F405A 取代且$(CH_3)_y$包含 T394W 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_x$包含 Y407T 取代且$(CH_3)_y$包含 T366Y 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_x$包含 T366Y 及 F405A 取代且$(CH_3)_y$包含 T394W 及 Y407T 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_x$包含 T366W 及 F405W 取代且$(CH_3)_y$包含 T394S 及 Y407A 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_x$包含 F405W 及 Y407A 取代且 t$(CH_3)_y$包含 T366W 及 T394S 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_x$包含 F405W 取代且$(CH_3)_y$包含 T394S 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_y$包含 T366Y 取代且$(CH_3)_x$包含 Y407T 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_y$包含 T366W 取代且$(CH_3)_x$包含 Y407A 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_y$包含 F405A 取代且$(CH_3)_x$包含 T394W 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_y$包含 Y407T 取代且$(CH_3)_x$包含 T366Y 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_y$包含 T366Y 及 F405A 取代且$(CH_3)_x$包含 T394W 及 Y407T 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_y$包含 T366W 及 F405W 取代且$(CH_3)_x$包含 T394S 及 Y407A 取代，根據 EU 指數進行編號；$(CH_3)_y$包含 F405W 及 Y407A 取代且

$(CH_3)_x$包含 T366W 及 T394S 取代，根據 EU 指數進行編號；或$(CH_3)_y$包含 F405W 取代且$(CH_3)_x$包含 T394S 取代，根據 EU 指數進行編號。在一些實施例中，該 L_1 連接子為雙馬來醯亞胺基聚乙二醇(PEG)連接子。在一些實施例中，該 PEG 連接子包含介於一個與十一個之間的 PEG 次單元。在一些實施例中，該 PEG 連接子包含一個、兩個或三個 PEG 次單元。在一些實施例中，該 L_1 連接子使該兩個抗體中第一個之第一經工程改造游離半胱胺酸與該兩個抗體中第二個之第二經工程改造游離半胱胺酸偶聯。在一些實施例中，該第一經工程改造游離半胱胺酸或該第二經工程改造游離半胱胺酸中之至少一者為獨立地選自由以下各項組成之群的重鏈半胱胺酸殘基：根據 EU 編號之 T114C、A118C、A140C、L174C、L179C、T187C、T209C、V262C、G371C、Y373C、E382C、S400C、S424C、N434C 及 Q438C。在一些實施例中，該第一經工程改造游離半胱胺酸或該第二經工程改造游離半胱胺酸中之至少一者為獨立地選自由以下各項組成之群的輕鏈半胱胺酸殘基：根據 Kabat 編號之 I106C、R108C、R142C、K149C 及 V205C。在一些實施例中，VH_1 與 VL_1 形成結合 OX40 之該第一抗原決定基之抗原結合域，且 VH_2 與 VL_2 形成結合 OX40 之該第二抗原決定基之抗原結合域。在一些實施例中，VH_1 與 VL_1 形成結合 OX40 之該第二抗原決定基之抗原結合域，且 VH_2 與 VL_2 形成結合 OX40 之該第一抗原決定基之抗原結合域。在以上實施例中任一者之一些實施例中，VH_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 或 288 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 或 289 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；VL_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；VH_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 或 282 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基

酸序列 SEQ ID NO:4 或 283 之 HVR-H3；且 VL_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 或 286 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。在一些實施例中，VH_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 或 288 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 或 289 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；VL_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；VH_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 或 282 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 或 283 之 HVR-H3；且 VL_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 或 286 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。在一些實施例中，VH_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，VL_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，VH_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，且 VL_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57。在一些實施例中，VH_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128 或 290，VL_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，VH_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56、284 或 285，且 VL_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57 或 287。在以上所描述之複合物中之任一者中，VH_1、VH_2、VL_1 及/或 VL_2 包含有包含表 4 及表 5 中所列出之序列中之一或多個的 HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1、HVR-L2 及/或 HVR-L3。

【0025】 在一些實施例中，該複合物包含第一抗體，該第一抗體包含兩個抗體重鏈及兩個抗體輕鏈，該第一抗體之該兩個抗體重鏈中之每一者包含：VH_1-CH_1-鉸鏈-CH_2-CH_3 [X]；且該第一抗體之該兩個抗體輕鏈中之每一者包含：VL_1-CL [VII]；及第二抗體，該第二抗體包含兩個抗體重鏈及兩個抗體輕鏈，該第二抗體之該兩個抗體重鏈中之每一者包含：VH_2-CH_1-鉸鏈-CH_2-

CH_3-[XII]；且該第二抗體之該兩個抗體輕鏈中之每一者包含：VL_2-CL [IX]；該第一抗體之該等抗體重鏈中之每一者與該第一抗體之該等抗體輕鏈之一締合，以便 VH_1 與 VL_1 形成抗原結合域；其中該第二抗體之該等抗體重鏈中之每一者與該第二抗體之該等抗體輕鏈之一締合，以便 VH_2 與 VL_2 形成抗原結合域；該第一抗體及該第二抗體係經由連接子 L_1 偶聯；且 VH_1 為第一抗體重鏈可變域，VH_2 為第二抗體重鏈可變域，VL_1 為第一抗體輕鏈可變域，VL_2 為第二抗體輕鏈可變域，CL 為抗體輕鏈恆定域，CH_1 為抗體第一重鏈恆定域，鉸鏈為抗體鉸鏈區，CH_2 為抗體第二重鏈恆定域，且 CH_3 為抗體第三重鏈恆定域。在一些實施例中，該 L_1 連接子為雙馬來醯亞胺基聚乙二醇(PEG)連接子。在一些實施例中，該 PEG 連接子包含介於一個與十一個之間的 PEG 次單元。在一些實施例中，該 PEG 連接子包含一個、兩個或三個 PEG 次單元。在一些實施例中，該 L_1 連接子使該兩個抗體中第一個之第一經工程改造游離半胱胺酸與該兩個抗體中第二個之第二經工程改造游離半胱胺酸偶聯。在一些實施例中，該第一經工程改造游離半胱胺酸或該第二經工程改造游離半胱胺酸中之至少一者為獨立地選自由以下各項組成之群的重鏈半胱胺酸殘基：根據 EU 編號之 T114C、A118C、A140C、L174C、L179C、T187C、T209C、V262C、G371C、Y373C、E382C、S400C、S424C、N434C 及 Q438C。在一些實施例中，該第一經工程改造游離半胱胺酸或該第二經工程改造游離半胱胺酸中之至少一者為獨立地選自由以下各項組成之群的輕鏈半胱胺酸殘基：根據 Kabat 編號之 I106C、R108C、R142C、K149C 及 V205C。在一些實施例中，VH_1 與 VL_1 形成結合 OX40 之該第一抗原決定基之抗原結合域，且 VH_2 與 VL_2 形成結合 OX40 之該第二抗原決定基之抗原結合域。在一些實施例中，VH_1 與 VL_1 形成結合 OX40 之該第二抗原決定基之抗原結合域，且 VH_2 與 VL_2 形成結合 OX40 之該第

一抗原決定基之抗原結合域。在以上實施例中任一者之一些實施例中，VH_1包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 或 288 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 或 289 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；VL_1包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；VH_2包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 或 282 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 或 283 之 HVR-H3；且 VL_2包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 或 286 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。在一些實施例中，VH_2包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 或 288 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 或 289 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；VL_2包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；VH_1包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 或 282 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 或 283 之 HVR-H3；且 VL_1包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 或 286 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。在一些實施例中，VH_1包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，VL_1包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，VH_2包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，且 VL_2包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57。在一些實施例中，VH_2包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128 或 290，VL_2包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，VH_1包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56、284 或 285，且 VL_1包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57 或 287。在以上所描述之複合物中之任一者中，VH_1、VH_2、VL_1及/或 VL_2包含有包含表 4 及表 5 中所列出

之序列中之一或多個的 HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1、HVR-L2及/或 HVR-L3。

【0026】 在以上實施例中任一者之一些實施例中，VH_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；VL_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；VH_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 之 HVR-H3；且 VL_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。在一些實施例中，VH_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；VL_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；VH_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 之 HVR-H3；且 VL_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。在一些實施例中，VH_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，VL_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，VH_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，且 VL_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57。在一些實施例中，VH_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，VL_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，VH_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，且 VL_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57。

【0027】 在以上實施例中任一者之一些實施例中，該複合物包含一或多個包含選自由 SEQ ID NO:279 及 295-297 組成之群的序列的 CL 結構域。在以上實施例中任一者之一些實施例中，該複合物包含一或多個包含選自由 SEQ ID NO:298-303 組成之群的序列的 CH_1-鉸鏈-CH_2-CH_3 區。在以上實施例中任一者之一些實施例中，本文中所描述之複合物中之任一者中的 CL、CH_1、鉸鏈、CH_2 或 CH_3 結構域中之一或多者可包括一或多個胺基酸取代。

【0028】 在以上實施例中任一者之一些實施例中，該複合物包含有包含用於減弱效應功能之修飾的抗體 Fc 區。在一些實施例中，該複合物包含在選自由以下各項組成之群的一或多個胺基酸位置(EU 編號)上包含胺基酸取代的抗體 Fc 區：

(a) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 297；

(b) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 234 及 235；

(c) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 234、235 及 329；

(d) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 234 及 237；

(e) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 235、237 及 318；

(f) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 228 及 236；

(g) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 268、309、330 及 331；

(h) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 220、226、229 及 238；

(i) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 226、229、233、234 及 235；

(j) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 234、235 及 331；

(k) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 226 及 230；以及

(l) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 267 及 328。

【0029】 在一些實施例中，該複合物包含有包含選自由以下各項組成之群的一或多個胺基酸取代(EU 編號)的抗體 Fc 區：

(a) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 N297A；

(b) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234A 及 L235A；

(c) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234A、L235A 及 P329G；

(d) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 V234A 及 G237A；

(e) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 L235A、G237A 及 E318A；

(f) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 S228P 及 L236E；

(g) 跨越人類 IgG2 之 Fc 區中之胺基酸殘基 118 至 260 的區域中或跨越人類 IgG4 之 Fc 區中之胺基酸 261 至 447 的區域中的一或多個取代；

(h) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 H268Q、V309L、A330S 及 A331S；

(i) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 C220S、C226S、C229S 及 P238S；

(j) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 C226S、C229S、E233P、L234V 及 L235A；

(k) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234F、L235E 及 P331S；

(l) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 C226S 及 P230S；以及

(m) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 S267E 及 L328F。

【0030】 在一些實施例中，該複合物包含有包含用於減弱效應功能之修飾的抗體 Fc 區，該修飾產生無糖基化 Fc 區。在一些實施例中，該複合物包含有包含用於減弱效應功能之修飾的抗體 Fc 區，該修飾不會消除該 Fc 區之糖基化。

【0031】 本文中進一步提供一或多種聚核苷酸，其編碼如以上實施例中任一者之複合物的一或多種多肽。本文中進一步提供一或多種載體，其包含如以上實施例中任一者之一或多種聚核苷酸。本文中進一步提供一或多種宿主細胞，其包含如以上實施例中任一者之一或多種聚核苷酸或如以上實施例中任一者之一或多種載體。本文中進一步提供一種醫藥調配物，其包含如以上實施例中任一者之複合物及醫藥學上可接受之載劑。

【0032】 本文中進一步提供一種治療患有癌症之個體的方法，其包括對該個體投與有效量之如以上實施例中任一者之複合物。在一些實施例中，該方法進一步包括對該個體投與額外治療劑。在一些實施例中，該額外治療劑包含化學治療劑。在一些實施例中，該額外治療劑包含 PD-1 軸結合拮抗劑。在一些實施例中，該癌症為上皮卵巢癌、輸卵管癌、原發性腹膜癌、鱗狀細胞癌、肺癌(包括小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌及肺鱗狀癌)、腹膜癌、肝細胞癌、胃癌(包括胃腸癌)、胰臟癌、神經膠質母細胞瘤、子宮頸癌、卵巢癌(包括鉑敏感性及鉑抗性卵巢癌)、肝癌、膀胱癌、肝瘤、乳癌、結腸癌、結腸直腸癌、輸卵管癌、腹膜癌、子宮內膜癌或子宮癌、唾液腺癌、腎臟癌或腎癌、肝癌、前列腺癌、陰門癌、甲狀腺癌、肝癌及各種類型之頭頸癌，以及 B 細胞淋巴瘤(包括低級/濾泡性非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma，NHL)、小淋巴細胞性(SL) NHL、中級/濾泡性 NHL、中級瀰漫性 NHL、高級免疫母細胞 NHL、高級淋巴母細胞性 NHL、高級小無裂細胞 NHL、大體積疾病 NHL、套細胞淋巴瘤、AIDS 相關淋巴瘤；及華氏巨球蛋白血症)、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、急性淋巴母細胞性白血病(ALL)、毛細胞白血病、慢性髓母細胞性白血病；移植後淋巴組織增生症(PTLD)，或與斑痣性錯構瘤相關之異常血管增殖、水腫(諸如與腦腫瘤相關之水腫)及梅格斯症候群(Meigs' syndrome)，包括彼等癌症之轉移性形式。在一些實施例中，該癌症為尿路上皮癌(uBC)、黑色素瘤、非小細胞肺癌(NSCLC)、三陰性乳癌(TNBC)、腎癌或膀胱癌。

【0033】 應理解，可組合本文中所描述之各種實施例的一種、一些或所有性質，以形成本發明之其他實施例。本發明之此等及其他態樣對熟習此項技術者將顯而易見。藉由以下詳細描述來進一步描述本發明之此等及其他實施例。

【圖式簡單說明】

【0034】 圖 1 顯示分析型尺寸排阻層析法(aSEC)層析譜，其顯示相對於單抗原決定基抗體，雙抗原決定基 1A7/3C8 抗 OX40 抗體能夠在靶抗原存在下促進高階複合物。

【0035】 圖 2 說明可用於構建本文中所描述之新穎抗體形式的抗體元件。

【0036】 圖 3A 及圖 3B 顯示本發明之例示性抗體形式。提供針對以下各項之示意性說明：偶聯 IgG-IgG (c:IgG-IgG)，其中兩個全長 IgG 偶聯(例如化學偶聯)；偶聯 Fab-IgG (c:Fab-IgG)，其中兩個 Fab 偶聯(例如化學偶聯)至全長 IgG；重組 Fab-IgG (r:Fab-IgG)，其中額外一組 Fab 臂重組融合至 IgG；及重組 Fv-IgG (r:Fv-IgG)，其中額外一組 Fv 區重組融合至 IgG。針對各形式說明單抗原決定基型式(上列)，其中所有四個可變區結合靶抗原上之相同抗原決定基，及雙抗原決定基型式(下列)，其中兩個可變區結合一個抗原決定基且其他可變區結合靶抗原上之不同的抗原決定基。抗體之間或抗體與 Fab 片段之間的線表示連接子，且星形表示連接子化學偶聯(例如在抗體或 Fab 片段之經工程改造半胱胺酸處)之連接點。

【0037】 圖 4 描繪根據一些實施例之雙抗原決定基 c:IgG-IgG 形式的第一種型式。

【0038】 圖 5 描繪根據一些實施例之雙抗原決定基 c:IgG-IgG 形式的第二種型式。

【0039】 圖 6 描繪根據一些實施例之雙抗原決定基 c:Fab-IgG 形式。

【0040】 圖 7 描繪根據一些實施例之雙抗原決定基 r:Fv-IgG 形式。

【0041】 圖 8 描繪根據一些實施例之雙抗原決定基 r:Fab-IgG 形式的第一種型式。

【0042】 圖 9 描繪根據一些實施例之雙抗原決定基 r:Fab-IgG 形式的第二種型式。

【0043】 圖 10 顯示抗 OX40 或對照抗體在抗 CD3 抗體及 CD80+ FcγRIIa+ L 細胞存在下共刺激 CD4+記憶 T 細胞增殖。藉由 CellTiter-Glo® (Promega) 來監測 T 細胞增殖。所有群組均包括抗 CD3。偶聯 IgG 包括單抗原決定基 1A7_hIgG1(N297G)-BM(PEG)2-1A7_hIgG1(N297G) 及雙抗原決定基 1A7/3C8_hIgG1(N297G)-BM(PEG)3-1A7/3C8_hIgG1(N297G)。

【0044】 圖 11 顯示抗 OX40 或對照抗體在抗 CD3 抗體及 FcγRIIa+ L 細胞存在下共刺激 CD4+記憶 T 細胞增殖。藉由 CellTiter-Glo® (Promega)來監測 T 細胞增殖。偶聯 IgG 包括單抗原決定基 1A7_hIgG1(N297G)-BM(PEG)3-1A7_hIgG1(N297G) 、單抗原決定基 3C8_hIgG1(N297G)-BM(PEG)3-3C8_hIgG1(N297G) 及雙抗原決定基 1A7/3C8_hIgG1(N297G)-BM(PEG)3-1A7/3C8_hIgG1(N297G)。此分析中之 L 細胞為 FcγRII$^+$但缺少 CD80。四種對照物為 L 細胞、L 細胞+抗 CD3、L 細胞+T 細胞及 L 細胞+T 細胞+抗 CD3。除非指出，否則所有測試抗體均包括抗 CD3 ("-αCD3)。

【0045】 圖 12 顯示關於偶聯 Fab-IgG 1A7/3C8 及 1A7(N297G)/3C8 之 SEC-MALS 資料。

【0046】 圖 13 顯示抗 OX40 或對照抗體在抗 CD3 抗體及 FcγRIIa+ L 細胞存在下共刺激 CD4+記憶 T 細胞增殖。藉由 CellTiter-Glo® (Promega)來監測 T 細胞增殖。此分析中之 L 細胞為 FcγRII$^+$但缺少 CD80。四種對照物為 L 細胞、L 細胞+抗 CD3、L 細胞+T 細胞及 L 細胞+T 細胞+抗 CD3。所有測試抗體均包括抗 CD3。偶聯 Fab-IgG 形式為兩個 3C8 Fab 經由 BM(PEG)3 連接子與 1A7_hIgG1(K149C)偶聯。

【0047】 **圖 14** 顯示抗 OX40 或對照抗體在抗 CD3 抗體及 FcγRIIa+ L 細胞存在下共刺激 CD4+記憶 T 細胞增殖。藉由 CellTiter-Glo® (Promega)來監測 T 細胞增殖。此分析中之 L 細胞為 $FcγRII^+$但缺少 CD80。四種對照物為 L 細胞、L 細胞+抗 CD3、L 細胞+T 細胞及 L 細胞+T 細胞+抗 CD3。所有測試抗體均包括抗 CD3。偶聯 Fab-IgG 形式為兩個 3C8 Fab 經由 BM(PEG)3 連接子與 1A7_hIgG1(K149C/N297G)偶聯。

【0048】 **圖 15** 顯示使用具有螢光素酶報告基因之表現 OX40 之 Jurkat 細胞時，抗 OX40 天然(1A7)及重組 Fv-IgG 單抗原決定基(1A7-1A7 及 3C8-3C8)及雙抗原決定基(1A7-3C8 及 3C8-1A7)抗體之促效活性。

【0049】 **圖 16** 顯示抗 OX40 天然(1A7)或 r:Fv-IgG 抗體在抗 CD3 抗體及 FcγRIIa+ L 細胞存在下共刺激 CD4+記憶 T 細胞增殖。藉由 CellTiter-Glo® (Promega)來監測 T 細胞增殖。此分析中之 L 細胞為 $FcγRII^+$但缺少 CD80。四種對照物為 L 細胞、L 細胞+抗 CD3、L 細胞+T 細胞及 L 細胞+T 細胞+抗 CD3。所有測試抗體均包括抗 CD3。

【0050】 **圖 17** 顯示 r:Fab-IgG 3C8-1A7 抗 OX40 抗體與天然 IgG1 抗體相比之 SEC-MALS 資料，如所標記。

【0051】 **圖 18** 顯示 r:Fab-IgG 1A7-3C8 抗 OX40 抗體與天然 IgG1 抗體相比之 SEC-MALS 資料，如所標記。

【0052】 **圖 19** 顯示使用具有螢光素酶報告基因之表現 OX40 之 Jurkat 細胞時，抗 OX40 天然重組 Fab-IgG 單抗原決定基(1A7-1A7 及 3C8-3C8)及雙抗原決定基(1A7-3C8 及 3C8-1A7)抗體之促效活性。

【0053】 **圖 20** 顯示抗 OX40 天然(1A7)或 r:Fab-IgG 抗體在抗 CD3 抗體及 FcγRIIa+ L 細胞存在下共刺激 CD4+記憶 T 細胞增殖。藉由 CellTiter-Glo® (Promega)來監測 T 細胞增殖。此分析中之 L 細胞為 $FcγRII^+$但缺少 CD80。

四種對照物為 L 細胞、L 細胞+抗 CD3、L 細胞+T 細胞及 L 細胞+T 細胞+抗 CD3。所有測試抗體均包括抗 CD3。

【0054】 **圖 21** 顯示抗 OX40 抗體在抗 CD3 抗體及 FcγRIIa+ L 細胞存在下共刺激 CD4+記憶 T 細胞增殖。左圖顯示 r:Fv-IgG 之 IgG1 型式之結果，而右圖顯示 IgG1 LALAPG 型式之結果。所包括之 r:Fv-IgG 為 3C8-1A7、1A7-3C8、3C8-3C8 及 1A7-1A7。該圖之左圖及右圖上之 IgG1 1A7 係指 1A7 抗體之人類 IgG1 型式。

【0055】 **圖 22** 顯示抗 OX40 對照物以及 r:Fab-IgG 及 r:Fv-IgG 抗體在表現 OX40 之 Jurkat 細胞螢光素酶報告基因分析中之促效活性。r:Fab-IgG (左圖)及 r:Fv-IgG (右圖)包括雙抗原決定基(1A7-3C8 及 3C8-1A7)形式以及單抗原決定基 1A7-1A7 形式。二價 IgG1 對照物包括 1A7、3C8 及二價雙抗原決定基抗體 1A7/3C8。在此等分析中，所有重鏈恆定區均為人類 IgG1。

【0056】 **圖 23** 顯示抗 OX40 對照物以及 cIgG-IgG 及 c:Fab-IgG 抗體在表現 OX40 之 Jurkat 細胞螢光素酶報告基因分析中之促效活性。c:IgG-IgG (左圖)及 c:Fab-IgG (右圖)包括雙抗原決定基形式(c:IgG-IgG 1A7/3C8-1A7/3C8 及 c:Fab-IgG 1A7-3C8)以及單抗原決定基 1A7-1A7 形式。二價 IgG1 對照物包括 1A7、3C8 及二價雙抗原決定基抗體 1A7/3C8。在此等分析中，所有重鏈恆定區均為人類 IgG1。

【0057】 **圖 24** 顯示對照物及四價雙抗原決定基抗 OX40 抗體在表現 OX40 之 Jurkat 細胞螢光素酶報告基因分析中之促效活性。在此等分析中，所有重鏈恆定區均為人類 IgG1。

【0058】 **圖 25** 顯示雙抗原決定基 r:Fv-IgG 1A7-3C8 (黑色)及單抗原決定基 r:Fv-IgG 1A7-1A7 (灰色)在單獨(實線)及呈與標靶 OX40 之複合物形式時(虛線)的尺寸排阻層析(SEC)層析譜。溶離時間愈早，蛋白質尺寸愈大。

【0059】 圖 26 顯示 SEC 管柱溶離後多角度光散射(MALS)資料之結果。Y 軸體現抗體/OX40 複合物之尺寸(KDa)。單抗原決定基形式顯示為灰色柱條，雙抗原決定基形式顯示為空心白色柱條。

【0060】 圖 27 顯示抗 OX40 r:Fv-IgG 及 r:Fab-IgG 抗體形式在 C.B-17 SCID 小鼠中之藥物動力學(PK)。包括 IgG1 1A7 及 IgG1 抗 gD 作為對照物。

【0061】 圖 28 顯示抗 OX40 c:Fab-IgG 及 c:IgG-IgG 抗體形式在 C.B-17 SCID 小鼠中之 PK。包括 IgG1 1A7 及 IgG1 抗 gD 作為對照物。

【0062】 圖 29 顯示抗 OX40 r:Fv-IgG、r:Fab-IgG、c:Fab-IgG 及 c:IgG-IgG 抗體形式在 C57BL-6 小鼠中之 PK。包括 IgG1 1A7 作為對照。

【0063】 圖 30 顯示在人類 OX40 敲入(hOX40ki)小鼠中比較 r:Fv-IgG 1A7-3C8 與 1A7 及 3C8 之 IgG1 型式的 KLH 免疫 PD 實驗之結果。左圖顯示所偵測之抗 KLH IgG 之水準，且右圖顯示 CD4 T 細胞擴增百分比。顯示比較 r:Fv-IgG 與 IgG1 1A7 之 p 值。

【0064】 圖 31 顯示在 hOX40ki 小鼠中比較 r:Fv-IgG 1A7-3C8 與 1A7 及 3C8 之 IgG1 型式的 KLH 免疫 PD 實驗之結果。左圖顯示引流淋巴結中之 CD8+ T 細胞之總數，且右圖顯示細胞總數。顯示比較 r:Fv-IgG 與 IgG1 1A7 之 p 值。

【0065】 圖 32 顯示在 hOX40ki 小鼠中比較 r:Fv-IgG 1A7-3C8 與 1A7 及 3C8 之 IgG1 型式的 KLH 免疫 PD 實驗之結果。該圖顯示用 KLH 對經純化之 CD4+ T 細胞進行離體再刺激之後的干擾素 γ (IFN-γ)釋放。顯示比較 r:Fv-IgG 與 IgG1 1A7 之 p 值。

【0066】 圖 33 顯示在 hOX40ki 小鼠中比較抗 OX40 雙抗原決定基 r:Fv-IgG、r:Fab-IgG 及 c:Fab-IgG 抗體形式以及 1A7 及 3C8 之 IgG1 型式的 KLH 免疫 PD 實驗之結果。左圖顯示引流淋巴結中之 CD4 T 細胞之總數，

且右圖顯示 CD8 T 細胞總數。顯示如所指示來比較四價雙抗原決定基形式與 IgG1 3C8（「相對於 3C8」）、IgG1 1A7（「相對於 1A7」）及對照物 IgG1 抗 gD（「相對於對照物」）之三個 p 值。星號數目表示 p 值如下：* < 0.05，** < 0.005，*** < 0.0005，* < 0.00005。

【0067】 **圖 34** 顯示抗體在雌性 hOX40ki C57BL/6 小鼠之同基因型 E.G7-OVA (表現 EL4 之雞卵白蛋白(OVA))淋巴瘤腫瘤模型中之抗腫瘤活性。測試物品包括四價雙抗原決定基 r:Fv-IgG 3C8-1A7、IgG1 1A7 及同型對照物 IgG1 抗 gD。

【0068】 **圖 35** 顯示 OX40 與 1A7 及 3C8 Fab 之間的三元複合物的結晶學結構。突出顯示 OX40 受體之 160 位上的 N 連接型糖基化。

【0069】 **圖 36** 顯示基於三元複合物結構之人類 OX40 序列，其突出顯示 1A7 之結合抗原決定基(灰色方框)及 3C8 之結合抗原決定基(黑色輪廓方框)。顯示 SEQ ID NO:281 之殘基 29-214。

【0070】 **圖 37** 顯示所測試之 IgG 及 r:Fv-IgG 抗體在 OX40+ Jurkat 細胞螢光素酶報告基因分析中之促效活性。在此等分析中，所有重鏈恆定區均為人類 IgG1。

【0071】 **圖 38** 顯示 r:Fv-IgG 之經工程改造連接子變異體及 1A7 人類 IgG1 (1A7)對照抗體在原代人類 T 細胞分析(左圖)及 OX40+ Jurkat 細胞螢光素酶報告基因分析(右圖)中之 OX40 促效活性。原代細胞分析包括 CD4+記憶 T 細胞、抗 CD3 抗體及 FcγRIIa+ L 細胞。GS(長)、GS(中)、GS(短)、肘彎(長)及肘彎(短)係指如實例 16 中所描述之 r:Fv-IgG 3C8-1A7 之連接子變異體。

【0072】 **圖 39** 顯示 IgG1 及 r:Fv-IgG 形式之高及低親和力變異體型式之親和力的圖。H 對應於高(較低 KD、較強親和力)，且 L 對應於低(較高 KD、較弱親和力)變異體。括弧指出 3C8 Fv 及/或 1A7 Fv 在親和力方面是增高或

是降低。舉例而言，3C8(H)/1A7(L)對應於 r:Fv-IgG 3C8-1A7，其中 3C8 Fv 具有較強親和力(N31I/K64L 變異體)且其中 1A7 Fv 具有較弱親和力(P96A 變異體)，相對於 r:Fv-IgG 3C8-1A7 親本。

【0073】 **圖 40** 顯示 r:Fv-IgG 之經工程改造親和力變異體以及 1A7 人類 IgG1 (1A7)及 3C8 人類 IgG1 (3C8)對照抗體在原代人類 T 細胞分析(左圖)及 OX40+ Jurkat 細胞螢光素酶報告基因分析(右圖)中之 OX40 促效活性。原代細胞分析包括 CD4+記憶 T 細胞、抗 CD3 抗體及 FcγRIIa+ L 細胞。高對應於較強親和力(較低 KD)且低對應於較弱親和力(較高 KD)變異體，相對於 r:Fv-IgG 3C8-1A7 親本。括弧指出 3C8 Fv 及/或 1A7 Fv 在親和力方面是增高或是降低。舉例而言，3C8(高)-1A7(低)對應於 r:Fv-IgG 3C8-1A7，其中 3C8 Fv 具有較強親和力(N31I/K64L 變異體)且其中 1A7 Fv 具有較弱親和力(P96A 變異體)，相對於 r:Fv-IgG 3C8-1A7 親本。

【0074】 **圖 41** 顯示抗 DR5 抗體之 IgG1、雙抗原決定基 IgG1 及雙抗原決定基 r:Fab-IgG 型式對 HT-29 細胞之凋亡蛋白酶 8 活性。在 50 nM 濃度下測試抗體。德羅圖單抗(Drozitumab)縮寫為 Droz。IgG1 抗體包括德羅圖單抗、13E3、3H3、4D9 及 11H12。二價雙抗原決定基 IgG1 抗體包括 IgG1 Droz-4D9、IgG1 13E3-3H3 及 IgG1 11H12-4D9。r:Fab-IgG 包括四價單抗原決定基 r:Fab-IgG 4D9-4D9 及 r:Fab-IgG Droz-Droz 以及四價雙抗原決定基 r:Fab-IgG Droz-4D9、r:Fab-IgG 13E3-3H3 及 r:Fab-IgG 11H12-4D9。

【0075】 **圖 42** 顯示抗 DR5 抗體之 IgG1、雙抗原決定基 IgG1 及雙抗原決定基 r:Fab-IgG 型式對 HT-29 細胞之劑量-反應凋亡蛋白酶 8 活性。德羅圖單抗縮寫為 Droz。IgG1 抗體包括 IgG1 Droz 及 IgG1 4D9。二價雙抗原決定基 IgG1 抗體包括 IgG1 Droz-4D9。r:Fab-IgG 包括四價單抗原決定基 r:Fab-IgG 4D9-4D9 及 r:Fab-IgG Droz-Droz 以及四價雙抗原決定基 r:Fab-IgG

Droz-4D9。

【0076】 **圖 43** 顯示抗 DR5 抗體之 IgG1、雙抗原決定基 IgG1 及雙抗原決定基 r:Fab-IgG 型式對 HT-29 細胞之劑量-反應抗增殖活性。德羅圖單抗縮寫為 Droz。IgG1 抗體包括 IgG1 Droz 及 IgG1 4D9。二價雙抗原決定基 IgG1 抗體包括 IgG1 Droz-4D9。r:Fab-IgG 包括四價單抗原決定基 r:Fab-IgG 4D9-4D9 及 r:Fab-IgG Droz-Droz 以及四價雙抗原決定基 r:Fab-IgG Droz-4D9。

【0077】 **圖 44** 顯示抗 DR5 抗體之 IgG1、雙抗原決定基 IgG1 及雙抗原決定基 r:Fab-IgG 型式對 Colo205 細胞之劑量-反應凋亡蛋白酶 8 活性。德羅圖單抗縮寫為 Droz。IgG1 抗體包括 IgG1 Droz 及 IgG1 4D9。二價雙抗原決定基 IgG1 抗體包括 IgG1 Droz-4D9。r:Fab-IgG 包括四價單抗原決定基 r:Fab-IgG 4D9-4D9 及 r:Fab-IgG Droz-Droz 以及四價雙抗原決定基 r:Fab-IgG Droz-4D9。

【0078】 **圖 45** 顯示抗 DR5 抗體之 IgG1、雙抗原決定基 IgG1 及雙抗原決定基 r:Fab-IgG 型式對 Colo205 細胞之劑量-反應抗增殖活性。德羅圖單抗縮寫為 Droz。IgG1 抗體包括 IgG1 Droz 及 IgG1 4D9。二價雙抗原決定基 IgG1 抗體包括 IgG1 Droz-4D9。r:Fab-IgG 包括四價單抗原決定基 r:Fab-IgG 4D9-4D9 及 r:Fab-IgG Droz-Droz 以及四價雙抗原決定基 r:Fab-IgG Droz-4D9。

【實施方式】

I. 定義

【0079】 術語「多肽」或「蛋白質」在本文中可互換用於指任何長度之胺基酸聚合物。該聚合物可為線性或分枝的，其可包含經修飾之胺基酸，且其可能間雜非胺基酸。該術語亦涵蓋經天然或藉由干預加以修飾之胺基

酸聚合物；該干預為例如二硫鍵形成、糖基化、脂質化、乙醯化、磷酸化或任何其他處理或修飾，諸如與標記組分或毒素結合。該定義內亦包括例如含有一或多種胺基酸類似物(包括例如非天然胺基酸等)以及此項技術中已知的其他修飾的多肽。如本文中所使用之術語「多肽」及「蛋白質」明確涵蓋抗體。

【0080】 術語「抗體」在本文中以最廣泛意義使用且涵蓋各種抗體結構，包括但不限於單株抗體、多株抗體、多特異性抗體(例如雙特異性抗體)及抗體片段，只要其展現所要抗原結合活性即可。術語「免疫球蛋白」(Ig)與抗體在本文中可互換使用。

【0081】 抗體為具有不同結構之天然存在之免疫球蛋白分子，所有結構均基於免疫球蛋白摺疊。舉例而言，IgG 抗體具有經二硫鍵鍵結以形成功能抗體之兩個「重」鏈及兩個「輕」鏈。各重鏈及輕鏈本身包含「恆定」(C)區及「可變」(V)區。V 區決定抗體之抗原結合特異性，而 C 區在與免疫效應因子之非抗原特異性相互作用中提供結構支持及功能。抗體或抗體之抗原結合片段的抗原結合特異性為抗體特異性結合特定抗原之能力。

【0082】 術語「可變」係指可變域之某些部分在抗體間在序列上廣泛不同這一事實，並且用於各特定抗體對其特定抗原之結合及特異性。然而，可變性並非均勻分佈在抗體之可變域中。其集中於輕鏈及重鏈可變域兩者中稱為高變區之三個區段中。可變域中更高度保守之部分稱為構架區(FR)。天然重鏈及輕鏈之可變域各自包含四個 FR，主要採取 β 片構形，由三個高變區連接，由此形成環連接，且在一些情況下形成 β 片結構之一部分。各鏈中之高變區由 FR 保持緊密鄰近，且與來自另一鏈之高變區一起促成抗體之抗原結合位點之形成(參見 Kabat 等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第 5 版. Public Health Service, National Institutes of

Health, Bethesda, MD. (1991))。恆定域不直接參與抗體與抗原之結合，而是展現多種效應功能，諸如抗體參與抗體依賴性細胞毒性(ADCC)。

【0083】 如本文中所使用之術語「高變區」或「HVR」係指抗體可變域中序列具有高變性(「互補性決定區」或「CDR」)及/或形成結構確定之環(「高變環」)及/或含有抗原接觸殘基(「抗原觸點」)之各區域。一般而言，抗體包含六個 HVR：三個在 VH 中(H1、H2、H3)，且三個在 VL 中(L1、L2、L3)。本文中之例示性 HVR 包括：

(a) 存在於胺基酸殘基 26-32 (L1)、50-52 (L2)、91-96 (L3)、26-32 (H1)、53-55 (H2)及 96-101 (H3)處之高變環(Chothia 及 Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987))；

(b) 存在於胺基酸殘基 24-34 (L1)、50-56 (L2)、89-97 (L3)、31-35b (H1)、50-65 (H2)及 95-102 (H3)處之 CDR (Kabat 等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第 5 版. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991))；

(c) 存在於胺基酸殘基 27c-36 (L1)、46-55 (L2)、89-96 (L3)、30-35b (H1)、47-58 (H2)及 93-101 (H3)處之抗原觸點(MacCallum 等人, *J. Mol. Biol.* 262: 732-745 (1996))；及

(d) (a)、(b)及/或(c)之組合，包括 HVR 胺基酸殘基 46-56 (L2)、47-56 (L2)、48-56 (L2)、49-56 (L2)、26-35 (H1)、26-35b (H1)、49-65 (H2)、93-102 (H3)及 94-102 (H3)。

【0084】 「構架」或「FR」係指除高變區(HVR)殘基以外之可變域殘基。可變域之 FR 一般由 4 個 FR 結構域組成：FR1、FR2、FR3 及 FR4。因此，HVR 及 FR 序列一般按以下順序出現在 VH (或 VL)中：FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

【0085】 「抗體片段」包含完整抗體之一部分，較佳包含其結合「抗原結合區」。抗體片段之實例包括 Fab、Fab'、F(ab')2 及 Fv 片段；雙功能抗體；串聯雙功能抗體(taDb)、線性抗體(例如美國專利第 5,641,870 號實例 2；Zapata 等人, Protein Eng. 8(10): 1057-1062 (1995))；單臂抗體、單可變域抗體、迷你抗體、單鏈抗體分子；由抗體片段形成之多特異性抗體(例如，包括但不限於 Db-Fc、taDb-Fc、taDb-CH3、(scFV)4-Fc、二-scFv、雙-scFv 或串聯(二,三)-scFv)；及雙特異性 T 細胞銜接子(BiTE)。

【0086】 木瓜蛋白酶消化抗體產生兩個一致抗原結合片段，稱為「Fab」片段，各自具有單一抗原結合位點，及一個殘餘「Fc」片段，其名稱體現其易於結晶之能力。胃蛋白酶處理產生具有兩個抗原結合位點且仍能夠使抗原交聯之 F(ab')2 片段。

【0087】 「Fv」為最小抗體片段，其含有完整抗原識別及結合位點。此區域由一個重鏈可變域與一個輕鏈可變域緊密非共價締合之二聚體組成。在此構形中，各可變域之三個高變區相互作用以定義 VH-VL 二聚體表面上之抗原結合位點。總之，該六個高變區賦予該抗體以抗原結合特異性。然而，即使單一可變域(或僅包含三個抗原特異性高變區之半 Fv)亦具有識別並結合抗原之能力，但親和力低於整個結合位點。

【0088】 該 Fab 片段亦含有該輕鏈之恆定域及該重鏈之第一恆定域(CHI)。Fab'片段與 Fab 片段之不同之處在於，在重鏈 CHI 結構域之羧基末端處添加數個殘基，包括來自於抗體鉸鏈區之一或多個半胱胺酸。Fab'-SH 為本文中用於恆定域之半胱胺酸殘基攜帶至少一個游離硫醇基之 Fab'的名稱。F(ab')2 抗體片段起初產生為成對 Fab'片段，在其之間具有鉸鏈半胱胺酸。抗體片段之其他化學偶聯亦為已知的。

【0089】 來自任何脊椎動物物種之抗體(免疫球蛋白）的「輕鏈」可根據

其恆定域之胺基酸序列而分配為稱為κ(kappa)及λ(lambda)之兩種截然不同的類型之一。

【0090】 視其重鏈恆定域之胺基酸序列而定，抗體可分配至不同的類別。有五種主要完整抗體類別：IgA、IgD、IgE、IgG 及 IgM，且此等中之若干種可進一步分成子類(同型)，例如 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA 及 IgA2。對應於不同抗體類別之重鏈恆定域分別稱為 α、δ、ε、γ 及 μ。不同類別免疫球蛋白之次單元結構及三維構形為眾所周知的。

【0091】 「單鏈 Fv」或「scFv」抗體片段包含抗體之 VH 及 VL 結構域，其中此等結構域存在於單一多肽鏈中。在一些實施例中，Fv 多肽進一步包含介於 VH 與 VL 結構域之間的多肽連接子，其使得該 scFv 能夠形成抗原結合所需之結構。關於 scFv 之綜述，參見 Pliickthun, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, 第 113 卷, Rosenburg 及 Moore 編, Springer-Verlag, New York, 第 269-315 頁(1994)。

【0092】 術語「雙功能抗體」係指具有兩個抗原結合位點之小抗體片段，該等片段包含與相同多肽鏈(VH-VL)中之輕鏈可變域(VL)連接的重鏈可變域(VH)。藉由使用因過短而不允許在相同鏈上之兩個結構域之間進行配對的連接子，該等結構域被迫與另一鏈之互補結構域配對並且產生兩個抗原結合位點。雙功能抗體更充分描述於例如以下文獻中：EP 404,097；WO 93/11161；及 Hollinger 等人, Proc. Natl. Acad. Set USA 90:6444-6448 (1993)。

【0093】 術語「多特異性抗體」以最廣泛意義使用，且明確涵蓋具有多抗原決定基特異性之抗體。此種多特異性抗體包括但不限於包含重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)之抗體，其中 VHVL 單元具有多抗原決定基特異性；具有兩個或更多個 VL 及 VH 結構域之抗體，其中各 VHVL 單元結合不同的抗原決定基的情況下；具有兩個或更多個單一可變域之抗體，其中

各單一可變域結合不同的抗原決定基；全長抗體；抗體片段，諸如 Fab、Fv、dsFv、scFv、雙功能抗體、雙特異性雙功能抗體、三功能抗體、三重功能抗體、已共價或非共價連接之抗體片段。「多抗原決定基特異性」係指特異性結合相同或不同標靶上之兩個或更多個不同的抗原決定基的能力。「單特異性」係指僅結合一個抗原決定基之能力。根據一個實施例，該多特異性抗體為以 5 μM 至 0.001 pM、3 μM 至 0.001 pM、1 μM 至 0.001 pM、0.5 μM 至 0.001 pM 或 0.1 μM 至 0.001 pM 之親和力結合各抗原決定基之 IgG 抗體。

【0094】 表述「單結構域抗體」(sdAb)或「單可變域(SVD)抗體」一般係指單一可變域(VH 或 VL)可賦予抗原結合之抗體。換言之，該單可變域不需要與另一可變域相互作用以便識別靶抗原。單結構域抗體之實例包括來源於駱駝(羊駝及駱駝)及軟骨魚(例如鬚鯊)之單結構域抗體及由重組方法來源於人類及小鼠抗體之單結構域抗體(Nature (1989) 341:544-546；Dev Comp Immunol (2006) 30:43-56；Trend Biochem Sci (2001) 26:230-235；Trends Biotechnol (2003):21:484-490；WO 2005/035572；WO 03/035694；Febs Lett (1994) 339:285-290；WO 00/29004；WO 02/051870)。

【0095】 如本文中所使用之術語「單株抗體」係指獲自實質上均質之抗體群體的抗體，亦即，構成該群體之個別抗體為一致的及/或結合相同抗原決定基，但產生單株抗體期間可能出現之可能變異體除外，此種變異體一般以微量存在。與典型地包括針對不同決定子(抗原決定基)之不同抗體的多株抗體製劑相反，各單株抗體針對抗原上之單一決定子。除了其特異性以外，該等單株抗體之有利之處亦在於其未受其他免疫球蛋白污染。修飾語「單株」指示抗體之特徵為獲自實質上均質之抗體群體，而不應被視為需要藉由任何特定方法來產生抗體。舉例而言，根據本文中所提供之方法加以使用的單株抗體可藉由 Kohler 等人, Nature 256:495 (1975)首先描述之雜

交瘤方法來製造，或可藉由重組 DNA 方法(參見例如美國專利第 4,816,567 號)來製造。舉例而言，亦可使用 Clackson 等人, Nature 352:624-628 (1991) 及 Marks 等人, J. Mol. Biol. 222:581-597 (1991)中所描述之技術自噬菌體抗體庫分離「單株抗體」。

【0096】 本文中之單株抗體明確包括「嵌合」抗體(免疫球蛋白)，其中重鏈及/或輕鏈之一部分與來源於特定物種或屬於特定抗體類別或子類之抗體中的相應序列一致或同源，而該(等)鏈之其餘部分與來源於另一物種或屬於另一抗體類別或子類之抗體中的相應序列以及該等抗體之片段一致或同源，只要其展現所要生物活性即可(美國專利第 4,816,567 號; Morrison 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855 (1984))。本文中之相關嵌合抗體包括「靈長類化」抗體，該等靈長類化抗體包含來源於非人類靈長類(例如舊世界猴，諸如狒狒、恆河猴或石蟹獼猴)之可變域抗原結合序列及人類恆定區序列(美國專利第 5,693,780 號)。

【0097】 出於本文中之目的，「受體人類構架」為包含來源於如下文所定義之人類免疫球蛋白構架或人類一致架構之輕鏈可變域(VL)構架或重鏈可變域(VH)構架的胺基酸序列的構架。「來源於」人類免疫球蛋白構架或人類一致構架之受體人類構架可包含與其相同之胺基酸序列，或其可含有胺基酸序列變化。在一些實施例中，胺基酸變化之數目為 10 以下、9 以下、8 以下、7 以下、6 以下、5 以下、4 以下、3 以下或 2 以下。在一些實施例中，VL 受體人類構架在序列上與 VL 人類免疫球蛋白構架序列或人類一致構架序列一致。

【0098】 「人類一致構架」為代表在選擇人類免疫球蛋白 VL 或 VH 構架序列時最常存在之胺基酸殘基的構架。一般而言，人類免疫球蛋白 VL 或 VH 序列係來自於可變域序列之亞組。一般而言，序列亞組為如 Kabat 等人,

Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第五版, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991),第 1-3 卷中之亞組。在一個實施例中，對於 VL 而言，該亞組為如 Kabat 等人, 同上中之亞組 κI。在一個實施例中，對於 VH 而言，該亞組為如 Kabat 等人, 同上中之亞組 III。

【0099】 非人類(例如鼠類)抗體之「人類化」形式為含有來源於非人類免疫球蛋白之最小序列的嵌合抗體。在很大程度上，人類化抗體為人類免疫球蛋白(受體抗體)，其中來自於受體高變區之殘基由具有所要特異性、親和力及容量之來自於諸如小鼠、大鼠、兔或非人類靈長類動物之非人類物種(供體抗體)之高變區的殘基置換。在一些情況下，人類免疫球蛋白之構架區(FR)殘基由相應非人類殘基置換。此外，人類化抗體可包含受體抗體或供體抗體中未發現之殘基。進行此等修飾以進一步改善抗體效能。一般而言，人類化抗體將包含實質上所有至少一個且典型地兩個可變域，其中所有或實質上所有高變環對應於非人類免疫球蛋白序列之高變環，且所有或實質上所有 FR 為人類免疫球蛋白序列之 FR，但如以上所指出之 FR 取代除外。人類化抗體亦將視情況包含免疫球蛋白恆定區，典型地人類免疫球蛋白恆定區之至少一部分。關於進一步細節，參見 Jones 等人, Nature 321:522-525 (1986)；Riechmann 等人, Nature 332:323-329 (1988)；及 Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992)。

【0100】 「人類抗體」為胺基酸序列對應於由人類或人類細胞產生或利用人類抗體譜系或其他人類抗體編碼序列之來源於非人類來源之抗體的胺基酸序列的抗體。此人類抗體定義明確排除包含非人類抗原結合殘基之人類化抗體。

【0101】 在一些實施例中，抗體「效應功能」係指可歸因於抗體 Fc 區(天然序列 Fc 區或胺基酸序列變異 Fc 區)且隨抗體同型而變化之彼等生物學活

性。抗體效應功能之實例包括：Clq 結合及補體依賴性細胞毒性(CDC)；Fc 受體結合；抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)；吞噬作用；細胞表面受體下調。

【0102】 「抗體依賴性細胞介導之細胞毒性」或「ADCC」係指細胞介導之反應，其中表現 Fc 受體(FcR)之非特異性細胞毒性細胞(例如天然殺手(NK)細胞、嗜中性白血球及巨噬細胞)識別靶細胞上所結合之抗體且隨後引起靶細胞溶解。用於介導 ADCC 之主要細胞 NK 細胞僅表現 FcγRIII，而單核細胞表現 FcγRI、FcγRII 及 FcγRIII。造血細胞上之 FcR 表現彙總於 Ravetch 及 Kinet, Annu. Rev. Immunol 9:457-92 (1991)第 464 頁之表 3 中。為了評定相關分子之 ADCC 活性，可進行試管內 ADCC 分析，諸如美國專利第 5,500,362 號或第 5,821,337 號中所描述者。適用於該等分析之效應細胞包括外周血單核細胞(PBMC)及天然殺手(NK)細胞。替代地，或另外，可在活體內，例如在諸如 Clynes 等人, Proc. Natl. Acad. Set (USA) 95:652-656 (1998)中所揭示之動物模型的動物模型中評定相關分子之 ADCC 活性。

【0103】 「人類效應細胞」為表現一或多種 FcR 且執行效應功能之白血球。在一些實施例中，該等細胞至少表現 FcγRIII 且進行 ADCC 效應功能。介導 ADCC 之人類白血球之實例包括外周血單核細胞(PBMC)、天然殺手(NK)細胞、單核細胞、細胞毒性 T 細胞及嗜中性白血球；其中 PBMC 及 NK 細胞較佳。

【0104】 「補體依賴性細胞毒性」或「CDC」係指分子在補體存在下溶解標靶之能力。補體活化途徑由補體系統之第一組分(Clq)與分子(例如多肽(例如抗體))跟同源抗原之複合物結合而引發。為了評定補體活化，可進行 CDC 分析，例如，如 Gazzano-Santoro 等人, J. Immunol. Methods 202: 163 (1996)中所描述。

【0105】 術語「Fc 受體」或「FcR」用於描述結合抗體 Fc 區之受體。在一些實施例中，FcR 為天然序列人類 FcR。

【0106】 此外，較佳 FcR 為結合 IgG 抗體之 FcR (γ 受體)，且包括 FcγRI、FcγRII 及 FcγRIII 子類受體，包括此等受體之對偶基因變異體及交替剪接形式。FcγRII 受體包括 FcγRIIA (活化受體)及 FcγRIIB (抑制受體)，其具有相似之胺基酸序列，主要在其胞質域中不同。活化受體 FcγRIIA 在其胞質域中含有基於免疫受體酪胺酸之活化基元(ITAM)。抑制受體 FcγRIIB 在其胞質域中含有基於免疫受體酪胺酸之抑制基元(ITIM) (參見 Daeron, Annu. Rev. Immunol. 15:203-234 (1997))。FcR 綜述於以下文獻中：Ravetch 及 Kinet, Annu. Rev. Immunol 9:457-92 (1991)；Capel 等人, Immunomethods 4:25-34 (1994)；以及 de Haas 等人, J. Lab. Clin. Med. 126:330-41 (1995)。在本文中，術語「FcR」涵蓋其他 FcR，包括有待將來鑑定之彼等 FcR。該術語亦包括新生兒受體 FcRn，其負責轉移母體 IgG 至胎兒(Guyer 等人, J. Immunol. 117:587 (1976)；及 Kim 等人, J. Immunol. 24:249 (1994))。

【0107】 如本文中所使用之術語「Fc 區」一般係指包含免疫球蛋白重鏈之 C 末端多肽序列的二聚體複合物，其中 C 末端多肽序列為可藉由木瓜蛋白酶消化完整抗體而獲得者。Fc 區可包含天然或變異 Fc 序列。雖然免疫球蛋白重鏈 Fc 序列之邊界可能變化，但人類 IgG 重鏈 Fc 序列通常定義為自約位置 Cys226 上之胺基酸殘基或自約位置 Pro230 延伸至該 Fc 序列之羧基末端。除非本文中另外規定，否則 Fc 區或恆定區中之胺基酸殘基之編號係根據如 Kabat 等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第 5 版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991 中所描述之 EU 編號系統，亦稱為 EU 指數來進行。免疫球蛋白之 Fc 序列一般包含兩個恆定域，即 CH2 結構域及 CH3 結構域，且視情況包含 CH4 結構域。

「Fc 多肽」在本文中意謂組成 Fc 區之多肽之一，例如單體 Fc。Fc 區可獲自任何適合之免疫球蛋白，諸如 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 亞型、IgA、IgE、IgD 或 IgM。Fc 區包含由二硫鍵維持在一起之兩個 H 鏈的羧基末端部分。抗體之效應功能由 Fc 區中之序列決定；此區域亦為在某些類型細胞上發現之 Fc 受體(FcR)所識別的部分。在一些實施例中，Fc 多肽包含部分或全部野生型鉸鏈序列(一般在其 N 末端)。在一些實施例中，Fc 多肽不包含功能或野生型鉸鏈序列。

【0108】 「經修飾之 Fc 區」或「Fc 變異體」包含因存在至少一個胺基酸修飾、較佳一或多個胺基酸取代而與天然序列 Fc 區之胺基酸序列不同的胺基酸序列。較佳地，與天然序列 Fc 區或與親本多肽之 Fc 區相比，經修飾之 Fc 區在天然序列 Fc 區或在該母體多肽之 Fc 區中具有至少一個胺基酸取代，例如約一至約十個胺基酸取代，且較佳約一至約五個胺基酸取代。本文中之經修飾之 Fc 區較佳將與天然序列 Fc 區及/或與母體多肽之 Fc 區具有至少約 80%同源性，且最佳與其具有至少約 90%同源性，更佳與其具有至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%或至少約 99%同源性。

【0109】 如本文中所使用之術語「促效劑」、「促效作用」或「促效」一般係指結合細胞表面上之受體且能夠引發/模擬/刺激與該受體之天然配體所引發/模擬/刺激之反應或活性類似或相同的反應或活性的結合分子(例如抗原結合多肽或抗原結合複合物)。在例示性實施例中，如本文中所描述之促效劑能夠誘導/加強/增強/刺激與該受體相關之信號轉導途徑之活化。

【0110】 除非另外指示，否則如本文中所使用之術語「細胞表面受體」係指來自於任何脊椎動物來源，包括哺乳動物，諸如靈長類(例如人類)及嚙齒動物(例如小鼠及大鼠)之任何天然細胞表面受體。該術語涵蓋「全長」未處理細胞表面受體以及由在細胞中進行處理而產生之任何形式之細胞表面

受體。該術語亦涵蓋天然存在之細胞表面受體變異體，例如剪接變異體或對偶基因變異體。

【0111】 術語「癌症」及「癌瘤」係指或描述哺乳動物中典型地以不受調節之細胞生長為特徵的生理狀況。此定義中包括良性及惡性癌症。癌症之實例包括但不限於癌瘤、淋巴瘤、母細胞瘤、肉瘤及白血病。該等癌症之更特定實例包括上皮卵巢癌、輸卵管癌、原發性腹膜癌、鱗狀細胞癌、肺癌(包括小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌及肺鱗狀癌)、腹膜癌、肝細胞癌、胃癌(包括胃腸癌)、胰臟癌、神經膠質母細胞瘤、子宮頸癌、卵巢癌(包括鉑敏感性及鉑抗性卵巢癌)、肝癌、膀胱癌、肝瘤、乳癌、結腸癌、結腸直腸癌、輸卵管癌、腹膜癌、子宮內膜癌或子宮癌、唾液腺癌、腎臟癌或腎癌、肝癌、前列腺癌、陰門癌、甲狀腺癌、肝癌及各種類型之頭頸癌，以及 B 細胞淋巴瘤(包括低級/濾泡性非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、小淋巴細胞(SL) NHL、中級/濾泡性 NHL、中級瀰漫性 NHL、高級免疫母細胞 NHL、高級淋巴母細胞 NHL、高級小無裂細胞 NHL、大體積疾病 NHL、套細胞淋巴瘤、AIDS 相關淋巴瘤及華氏巨球蛋白血症)、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、急性淋巴母細胞性白血病(ALL)、毛細胞白血病、慢性髓母細胞性白血病及移植後淋巴組織增生症(PTLD)，以及與斑痣性錯構瘤相關之異常血管增殖、水腫(諸如與腦腫瘤相關之水腫)及梅格斯症候群。

【0112】 「親和力成熟」抗體係指在一或多個高變區(HVR)中具有一或多個變化之抗體，與不具有該等改變之親本抗體相比，該等改變引起該抗體對抗原之親和力的提高。

【0113】 藥劑，例如醫藥調配物之「有效量」係指在必需之劑量及時間段下有效達成所要治療或預防結果的量。

【0114】 術語「全長抗體」、「完整抗體」及「整抗體」在本文中可互

換用於指結構實質上類似於天然抗體結構或重鏈含有如本文中所定義之 Fc 區的抗體。

【0115】 術語「宿主細胞」、「宿主細胞株」及「宿主細胞培養物」可互換使用並且係指已引入外源核酸之細胞，包括該等細胞之後代。宿主細胞包括「轉形株」及「轉型細胞」，其包括原代轉型細胞及由其衍生之子代，不考慮繼代次數。子代在核酸內容方面可能與親本細胞不完全一致，而是可能含有突變。本文中包括具有與針對原始轉型細胞所篩選或選擇者相同之功能或生物活性的突變子代。

【0116】 在本文中，除非另外指示，否則可變域中之 HVR 殘基及其他殘基(例如，FR 殘基)係根據 Kabat 等人, 同上進行編號。

【0117】 「個人」或「個體」為哺乳動物。哺乳動物包括但不限於馴化動物(例如，牛、綿羊、貓、狗及馬)、靈長類動物(例如，人類及非人類靈長類動物，諸如猴)、兔及嚙齒動物(例如，小鼠及大鼠)。在某些實施例中，該個人或個體為人類。

【0118】 「經分離之」抗體為已與其天然環境之組分分離的抗體。在一些實施例中，抗體純化至大於 95%或 99%純度，如藉由例如電泳(例如 SDS-PAGE、等電聚焦(IEF)、毛細管電泳)或層析(例如離子交換或逆相 HPLC)所測定。關於用於評定抗體純度之方法的綜述，參見例如 Flatman 等人, *J. Chromatogr. B* 848:79-87 (2007)。

【0119】 「經分離之」核酸係指已與其天然環境之組分分離的核酸分子。經分離之核酸包括一般含有該核酸分子但該核酸分子存在於染色體外或與其天然染色體位置不同的染色體位置之細胞中所含有的核酸分子。

【0120】 「天然抗體」係指具有不同結構之天然存在之免疫球蛋白分子。舉例而言，天然 IgG 抗體為由經二硫鍵鍵合之兩個一致輕鏈及兩個一致重

鏈構成的約 150,000 道爾頓之異源四聚糖蛋白。自 N 末端至 C 末端，各重鏈具有可變區(VH，亦稱為可變重鏈結構域或重鏈可變域)，繼之以三個恆定結構域(CH1、CH2 及 CH3)。類似地，自 N 末端至 C 末端，各輕鏈具有可變區(VL，亦稱為可變輕鏈結構域或輕鏈可變域)，繼之以恆定輕鏈(CL)結構域。抗體輕鏈可基於其恆定域之胺基酸序列而分配為稱為 κ(kappa)及 λ(lambda)之兩種類型之一。

【0121】 相對於參考多肽序列之「胺基酸序列一致性百分比(%)」定義為在將序列對準並且在必要時引入間隙以實現最大序列一致性百分比，且不將任何保守取代視為序列一致性之一部分之後，候選序列中與參考多肽序列中之胺基酸殘基一致的胺基酸殘基的百分比。出於確定胺基酸序列一致性百分比之目的而進行的比對可用在熟習此項技術者能力範圍內的多種方式，例如使用公開可獲得之電腦軟體，諸如 BLAST、BLAST-2、ALIGN 或 Megalign (DNASTAR)軟體來達成。熟習此項技術者可確定適用於比對序列之參數，包括在所比較之序列的全長上達成最大程度之對準所需的任何算法。然而，出於本文中之目的，使用序列比較電腦程式 ALIGN-2 來產生胺基酸序列一致性%值。ALIGN-2 序列比較電腦程式由 Genentech, Inc.編寫，且原始碼已與用戶文件一起提交至美國著作權局(Washington D.C.，20559)，登記在美國著作權登記號 TXU510087 之下。ALIGN-2 程式公開可得自 Genentech, Inc. (South San Francisco，California)，或可由原始碼編譯。應對 ALIGN-2 程式進行編譯以用於 UNIX 操作系統，包括數位 UNIX V4.0D。所有序列比較參數均由 ALIGN-2 程式設定且不做變化。

【0122】 在採用 ALIGN-2 進行胺基酸序列比較之情形下，如下計算指定胺基酸序列 A 針對、與或相對於指定胺基酸序列 B 之胺基酸序列一致性%(其可替代地表述為指定胺基酸序列 A 針對、與或相對於指定胺基酸序列 B

具有或包含某一胺基酸序列一致性%)：

100×分數 X/Y

其中 X 為由序列比對程式 ALIGN-2 在該程式之 A 與 B 比對中評分為一致匹配的胺基酸殘基數，且其中 Y 為 B 中之胺基酸殘基總數。應瞭解，若胺基酸序列 A 之長度與胺基酸序列 B 之長度不相等，則 A 相對於 B 之胺基酸序列一致性%將不等於 B 相對於 A 之胺基酸序列一致性%。除非另外明確陳述，否則本文中所使用之所有胺基酸序列一致性%值均如前一段中所描述，使用 ALIGN-2 電腦程式獲得。

【0123】 術語「醫藥組合物」或「醫藥調配物」係指呈允許其中所含有之活性成分之生物活性有效的形式且不含對將投與該調配物之個體具有不可接受之毒性的其他組分的製劑。

【0124】 「醫藥學上可接受之載劑」係指醫藥調配物中除活性成分以外對個體無毒之成分。醫藥學上可接受之載劑包括但不限於緩衝劑、賦形劑、穩定劑或防腐劑。

【0125】 如本文中所使用之術語「載體」係指能夠使其所連接之另一核酸增殖的核酸分子。該術語包括呈自複製核酸結構以及併入已引入其之宿主細胞之基因組中的載體形式的載體。某些載體能夠指導與其可操作地連接之核酸的表現。該等載體在本文中稱為「表現載體」。

II. 具有促效活性之抗原結合複合物

【0126】 本文中提供具有促效活性之抗原結合複合物，例如四價抗原結合複合物。本文中描述並說明本發明之抗原結合複合物的各種構形，其中不同的形式包括單抗原決定基及雙或多抗原決定基形式(參見例如**圖 3A 及圖 3B**)。如本文中所說明，用對細胞表面受體具有促效活性之四價抗原結合複合物靶向該細胞表面受體引起強受體活化。此外，本發明之一個令人驚

訝之發現為用對細胞表面受體具有促效活性之抗原結合複合物(例如四價抗原結合複合物)靶向該細胞表面受體之多個抗原決定基引起受體介導之信號傳導的協同增加(例如，與用相等數目之抗原結合部分僅靶向單一抗原決定基相比)。重要的是，本發明顯示抗體中在呈單價形式時已顯示促效活性之抗原結合區(例如抗體 CDR 及/或可變域)在用於本文中所描述之多價雙抗原決定基形式中時顯示優良促效活性。例示性抗原結合複合物形式如下文所描述。

【0127】 在一些實施例中，本發明之抗原結合複合物(例如四價抗原結合複合物)包含兩個次單元。在一些實施例中，各次單元包含抗體。在一些實施例中，該抗體為雙特異性抗體。舉例而言，在一些實施例中，各次單元包含第一半抗體，該第一半抗體包含第一抗體重鏈可變域(VH_1)及第一抗體輕鏈可變域(VL_1)，及第二半抗體，該第二半抗體包含第二抗體重鏈可變域(VH_2)及第二抗體輕鏈可變域(VL_2)。如本文中所使用，「半抗體」可指與單一抗體重鏈配對之單一抗體輕鏈。

【0128】 在一些實施例中，該第一半抗體包含第一抗體重鏈，該第一抗體重鏈自 N 末端至 C 末端包含偶聯之該第一抗體重鏈可變域(VH_1)、第一抗體重鏈 CH1 結構域、第一抗體重鏈 CH2 結構域及第一抗體重鏈 CH3 結構域；及第一抗體輕鏈，該第一抗體輕鏈自 N 末端至 C 末端包含偶聯之該第一抗體輕鏈可變域(VL_1)及第一抗體輕鏈恆定域(CL)。在一些實施例中，該第二半抗體包含第二抗體重鏈，該第二抗體重鏈自 N 末端至 C 末端包含偶聯之該第二抗體重鏈可變域(VH_2)、第二抗體重鏈 CH1 結構域、第二抗體重鏈 CH2 結構域及第二抗體重鏈 CH3 結構域；及第二抗體輕鏈，該第二抗體輕鏈自 N 末端至 C 末端包含偶聯之該第二抗體輕鏈可變域(VL_2)及第二抗體輕鏈恆定域(CL)。

【0129】 在一些實施例中，複合物包含第一抗體，該第一抗體包含兩個抗體重鏈及兩個抗體輕鏈，其中該第一抗體之該兩個抗體重鏈中之每一者包含：VH_1-CH_1-鉸鏈-CH_2-CH_3 [X]；且其中該第一抗體之該兩個抗體輕鏈中之每一者包含：VL_1-CL [VII]；及第二抗體，該第二抗體包含兩個抗體重鏈及兩個抗體輕鏈，其中該第二抗體之該兩個抗體重鏈中之每一者包含：VH_2-CH_1-鉸鏈-CH_2-CH_3 [XII]；且其中該第二抗體之該兩個抗體輕鏈中之每一者包含：VL_2-CL [IX]；其中該第一抗體之該等抗體重鏈中之每一者與該第一抗體之該等抗體輕鏈之一締合，以便 VH_1 與 VL_1 形成抗原結合域；其中該第二抗體之該等抗體重鏈中之每一者與該第二抗體之該等抗體輕鏈之一締合，以便 VH_2 與 VL_2 形成抗原結合域；其中該第一抗體及該第二抗體係經由連接子 L_1 偶聯；且其中 VH_1 為第一抗體重鏈可變域，VH_2 為第二抗體重鏈可變域，VL_1 為第一抗體輕鏈可變域，VL_2 為第二抗體輕鏈可變域，CL 為抗體輕鏈恆定域，CH_1 為抗體第一重鏈恆定域，鉸鏈為抗體鉸鏈區，CH_2 為抗體第二重鏈恆定域，且 CH_3 為抗體第三重鏈恆定域。

【0130】 在一些實施例中，該等次單元之一或兩者皆包含特異性結合(例如，細胞表面受體之)一個抗原決定基的第一半抗體(例如 VH_1 及 VL_1)及特異性結合(例如，相同細胞表面受體之)不同的抗原決定基的第二半抗體(例如 VH_2 及 VL_2)。在一些實施例中，該等次單元之一或兩者皆包含特異性結合(例如，細胞表面受體之)一個抗原決定基的第一半抗體(例如 VH_1 及 VL_1)及特異性結合相同抗原決定基的第二半抗體(例如 VH_2 及 VL_2)。在一些實施例中，該第一半抗體與該第二半抗體偶聯，例如，如本文中所描述(包括但不限於化學或基因偶聯，諸如利用本發明之連接子偶聯)。如本文中所使用，「不同的」抗原決定基可指與另一抗原決定基部分或完全不重疊之抗原決定基。本文中將該抗原結合複合物之一種例示性構形描述並說明為

「c:IgG-IgG」形式(參見例如**圖 3A 及圖 3B**)。

【0131】 在一些實施例中，複合物包含兩個抗體，其中該等抗體中之每一者包含：第一抗體重鏈，其包含：VH_1-CH_1-鉸鏈-CH_2-$(CH_3)_x$ [X]；該第一抗體重鏈與第一抗體輕鏈締合，該第一抗體輕鏈包含：VL_1-CL [VII]；及第二抗體重鏈，其包含：VH_2-CH_1-鉸鏈-CH_2-$(CH_3)_y$ [XII]；該第二抗體重鏈與第二抗體輕鏈締合，該第二抗體輕鏈包含：VL_2-CL [IX]；其中該等第一抗體重鏈中之每一者與該等第一抗體輕鏈之一締合，以便 VH_1 與 VL_1 形成抗原結合域；其中該等第二抗體重鏈中之每一者與該等第二抗體輕鏈之一締合，以便 VH_2 與 VL_2 形成抗原結合域；其中該兩個抗體係經由連接子 L_1 偶聯；且其中 VH_1 為第一抗體重鏈可變域，VH_2 為第二抗體重鏈可變域，VL_1 為第一抗體輕鏈可變域，VL_2 為第二抗體輕鏈可變域，CL 為抗體輕鏈恆定域，CH_1 為抗體第一重鏈恆定域，鉸鏈為抗體鉸鏈區，CH_2 為抗體第二重鏈恆定域，且$(CH_3)_x$及$(CH_3)_y$為抗體第三重鏈恆定域。

【0132】 在一些實施例中，VH_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；其中 VL_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；其中 VH_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 之 HVR-H3；且其中 VL_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。在一些實施例中，VH_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；其中 VL_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID

NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；其中 VH_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 之 HVR-H3；且其中 VL_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。在一些實施例中，VH_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，其中 VL_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，其中 VH_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，且其中 VL_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57。在一些實施例中，VH_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，其中 VL_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，其中 VH_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，且其中 VL_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57。在一些實施例中，VH 結構域包含與 SEQ ID NO:56 或 128 具有至少 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%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，VL 結構域包含與 SEQ ID NO:57 或 129 具有至少 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%一致性之胺基酸序列。

【0133】 與參考抗體「結合相同抗原決定基之抗體」係指在競爭分析法中阻斷參考抗體與其抗原結合達 50%以上的抗體，且相反，參考抗體在競爭分析法中阻斷該抗體與其抗原結合達 50%以上。本文中提供例示性競爭分析法。

【0134】 在一些實施例中，本發明之抗原結合複合物(例如四價抗原結合複合物)包含抗體及與該抗體偶聯之兩個或更多個抗體 Fab 片段。在一些實施例中，該抗體包含兩個抗體重鏈及兩個抗體輕鏈。在一些實施例中，該複合物包括兩個抗體 Fab 片段(參見例如**圖 3A 及圖 3B**)。在一些實施例中，

該等抗體重鏈之一或兩者皆包含第一抗體重鏈可變域(VH_1)。在一些實施例中，該等抗體輕鏈之一或兩者皆包含第一抗體輕鏈可變域(VL_1)。

【0135】 在一些實施例中，各抗體重鏈自 N 末端至 C 末端包含偶聯之該第一抗體重鏈可變域(VH_1)、第一抗體重鏈 CH1 結構域、第一抗體重鏈 CH2 結構域及第一抗體重鏈 CH3 結構域。在一些實施例中，各抗體輕鏈自 N 末端至 C 末端包含偶聯之該第一抗體輕鏈可變域(VL_1)及第一抗體輕鏈恆定域(CL)。在一些實施例中，該兩個抗體Fab片段中之每一者包含重鏈Fab片段，該重鏈Fab片段自N末端至C末端包含偶聯之該第二抗體重鏈可變域(VH_2)及第二抗體重鏈 CH1 結構域。在一些實施例中，該兩個抗體 Fab 片段中之每一者包含輕鏈 Fab 片段，該輕鏈 Fab 片段自 N 末端至 C 末端包含偶聯之該第二抗體輕鏈可變域(VL_2)及第二抗體輕鏈恆定域(CL)。

【0136】 在一些實施例中，該抗體特異性結合本發明之細胞表面受體之抗原決定基。在一些實施例中，該等抗體 Fab 片段之一或兩者皆包含第二抗體重鏈可變域(VH_2)及第二抗體輕鏈可變域(VL_2)。在一些實施例中，該等抗體 Fab 片段之一或兩者皆特異性結合相同細胞表面受體中與該抗體所結合者不同的抗原決定基。在一些實施例中，該等抗體 Fab 片段之一或兩者皆特異性結合該細胞表面受體中與該抗體所結合者相同的抗原決定基。在一些實施例中，該複合物對被該複合物結合之該細胞表面受體具有促效活性。

【0137】 在一些實施例中，該兩個 Fab 片段與該抗體化學偶聯，例如，利用本發明之連接子。在一些實施例中，該兩個 Fab 片段與該抗體基因偶聯，例如，利用本發明之多肽連接子。

【0138】 在一些實施例中，該兩個 Fab 片段中之每一者與該抗體之不同的重鏈或輕鏈偶聯。本文中將該抗原結合複合物之一種例示性構形描述並

說明為「c:Fab-IgG」形式(參見例如**圖 3A 及圖 3B**)。本文中描述 Fab 片段可藉以與抗體重鏈或輕鏈偶聯之各種構形，包括基因或化學偶聯且使用本發明之各種連接子。在一些實施例中，超過兩個 Fab 片段與該抗體偶聯。

【0139】 在一些實施例中，該兩個 Fab 片段例如藉由產生分別包含超過一個 VH 或 VL 結構域之抗體重鏈及/或輕鏈而與該抗體基因偶聯。

【0140】 在一些實施例中，複合物包含有包含與兩個抗體輕鏈締合之兩個抗體重鏈之抗體，及兩個抗體 Fab 片段；其中該抗體之該等抗體重鏈中之每一者包含：VH_1-$(CH_1)_x$-鉸鏈-CH_2-CH_3 [X]；其中該抗體之該等抗體輕鏈中之每一者包含：VL_1-$(CL)_x$ [VII]；其中該等抗體 Fab 片段中之每一者包含：重鏈片段，其包含：VH_2-$(CH_1)_y$ [XI]；及輕鏈，其包含：VL_2-$(CL)_y$ [IX]；其中該等抗體重鏈中之每一者與該等抗體輕鏈之一締合，以便 VH_1 與 VL_1 形成抗原結合域；其中該等抗體 Fab 片段中之每一者包含與一個包含式[IX]之輕鏈片段締合之一個包含式[XI]之重鏈片段，以便 VH_2 與 VL_2 形成抗原結合域；其中該等抗體 Fab 片段中之每一者經由連接子 L_1 與該抗體之該等抗體重鏈之一或該等抗體輕鏈之一偶聯；且其中 VH_1 為第一抗體重鏈可變域，VH_2 為第二抗體重鏈可變域，VL_1 為第一抗體輕鏈可變域，VL_2 為第二抗體輕鏈可變域，$(CL)_x$ 及 $(CL)_y$ 為抗體輕鏈恆定域，$(CH_1)_x$ 及 $(CH_1)_y$ 為抗體第一重鏈恆定域，鉸鏈為抗體鉸鏈區，CH_2 為抗體第二重鏈恆定域，且 CH_3 為抗體第三重鏈恆定域。

【0141】 在一些實施例中，VH_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；其中 VL_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；其中 VH_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 之

HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 之 HVR-H3；且其中 VL_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。在一些實施例中，VH_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；其中 VL_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；其中 VH_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 之 HVR-H3；且其中 VL_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。在一些實施例中，VH_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，其中 VL_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，其中 VH_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，且其中 VL_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57。在一些實施例中，VH_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，其中 VL_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，其中 VH_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，且其中 VL_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57。在一些實施例中，VH 結構域包含與 SEQ ID NO:56 或 128 具有至少 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%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，VL 結構域包含與 SEQ ID NO:57 或 129 具有至少 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%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗體之該等抗體重鏈中之每一者包含與 SEQ ID NO:232 具有至少 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%一致性之胺基酸序列，該抗體之該等抗體輕鏈中之每一者包含與 SEQ ID NO:237 具有至少 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%一致性之胺基酸序列，該等抗體 Fab 片段中之每一者包含有包含與 SEQ ID NO:239 具有至少 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%一致性之胺基酸序列的重鏈片段，且該等抗體 Fab 片段中之每一者包含有包含與 SEQ ID NO:231 具有至少 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%一致性之胺基酸序列的輕鏈片段。在一些實施例中，該抗體之該等抗體重鏈中之每一者包含與 SEQ ID NO:230 具有至少 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%一致性之胺基酸序列，該抗體之該等抗體輕鏈中之每一者包含與 SEQ ID NO:236 具有至少 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%一致性之胺基酸序列，該等抗體 Fab 片段中之每一者包含有包含與 SEQ ID NO:238 具有至少 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%一致性之胺基酸序列的重鏈片段，且該等抗體 Fab 片段中之每一者包含有包含與 SEQ ID NO:233 具有至少 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%一致性之胺基酸序列的輕鏈片段。在一些實施例中，該抗體之該等抗體重鏈中之每一者包含胺基酸序列 SEQ ID NO:230 或 294，該抗體之該等抗體輕鏈中之每一者包含胺基酸序列 SEQ ID NO:236，該等抗體 Fab 片段中之每一者包含有

包含胺基酸序列 SEQ ID NO:238 之重鏈片段，且該等抗體 Fab 片段中之每一者包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:233 之輕鏈片段。

【0142】 本文中將該抗原結合複合物之一種例示性構形描述並說明為「r:Fab-IgG」形式(參見例如**圖 3A 及圖 3B**)。涵蓋各種構形，包括單抗原決定基及雙或多抗原決定基形式。舉例而言，在一些實施例中，該抗體重鏈自 N 末端至 C 末端包含第一重鏈可變域(VH_1)、第一重鏈 CH1 結構域、第二重鏈可變域(VH_2)、第二重鏈 CH1 結構域、重鏈 CH2 結構域、重鏈 CH3 結構域及視情況存在之(例如，對於 IgM 或 IgE 抗體)重鏈 CH4 結構域。在一些實施例中，該抗體輕鏈自 N 末端至 C 末端包含第一輕鏈可變域(VL_1)、第一輕鏈恆定域(例如 VK 或 VL)、第二輕鏈可變域(VL_2)及第二輕鏈恆定域(例如 VK 或 VL)。在一些實施例中，該第一重鏈可變域(VH_1)及該第一輕鏈可變域(VL_1)識別細胞表面受體之第一抗原決定基，且該第二重鏈可變域(VH_2)及該第二輕鏈可變域(VL_2)識別該細胞表面受體之相同抗原決定基。在一些實施例中，該第一重鏈可變域(VH_1)及該第一輕鏈可變域(VL_1)識別細胞表面受體之第一抗原決定基，且該第二重鏈可變域(VH_2)及該第二輕鏈可變域(VL_2)識別相同細胞表面受體之不同的抗原決定基。在一些實施例中，該兩個 Fab 片段藉由表現自 N 末端至 C 末端包含第一重鏈可變域(VH_1)、第一重鏈 CH1 結構域、第二重鏈可變域(VH_2)、第二重鏈 CH1 結構域、重鏈 CH2 結構域、重鏈 CH3 結構域及視情況存在之(例如，對於 IgM 或 IgE 抗體)、重鏈 CH4 結構域之抗體重鏈且與該抗體一起共表現(或在試管內組裝)自 N 末端至 C 末端包含第一輕鏈可變域(VL_1)及第一輕鏈恆定域(CL)之第一輕鏈(例如，VK 或 VL)及自 N 末端至 C 末端包含第二輕鏈可變域(VL_2)及第二輕鏈恆定域(CL)之第二輕鏈(例如 VK 或 VL)而與該抗體偶聯。因而，該抗原結合複合物包含兩個修飾重鏈，每一者具有兩個與其偶聯的獨特輕鏈。

【0143】 對適合產生r:Fab-IgG抗原結合複合物之技術的描述可見於例如國際專利公開案第WO/2010/145792號中。本發明之一個令人驚訝之發現為多抗原決定基r:Fab-IgG抗原結合複合物在Jurkat T細胞及原代T細胞系統中均顯示優良促效活性(參見**圖19**及**圖20**)。

【0144】 在一些實施例中，該第一抗體輕鏈包含用於與該抗體重鏈之第一修飾正交配對之修飾，且該第二抗體輕鏈包含用於與該抗體重鏈之第二修飾正交配對之修飾。舉例而言，VH_1及VL_1中之每一者及/或CH1及CL中之每一者可包括正交變異體配對之同源修飾，使得該抗體之VH_1及VH_2結構域各自與其各別輕鏈VL結構域偶聯。在一些實施例中，該第一抗體輕鏈之VL_1結構域包含用於與該抗體重鏈之VH_1結構域之修飾正交配對之修飾。在一些實施例中，該第一抗體輕鏈之CL結構域包含用於與該抗體重鏈之第一CH1結構域之修飾正交配對之修飾。在一些實施例中，該第二抗體輕鏈之VL_2結構域包含用於與該抗體重鏈之VH_2結構域之修飾正交配對之修飾。在一些實施例中，該第二抗體輕鏈之CL結構域包含用於與該抗體重鏈之第二CH1結構域之修飾正交配對之修飾。用於促進此種配對之例示性正交變異體配對描述於PCT/US2016/028850中，並且可包括但不限於具有變異體配對VH-Q39K/VL-Q38E或VH Q39E/VL Q38K之VH/VL區(Kabat編號)；具有變異體配對CH1-S183E/CL-V133K或CH1-S183K/CL-V133E之CH1/CL區(EU編號)；或選自CH1 A141I、F170S、S181M、S183A、V185A以及CL F116A、L135V、S174A、S176F及T178V之變異體(EU編號)。

【0145】 在一些實施例中，本發明之複合物包含兩個抗體重鏈多肽及四個抗體輕鏈多肽；其中該等抗體重鏈多肽中之每一者包含：VH_1-L_1-$(CH_1)_x$-L_2-VH_2-L_3-$(CH_1)_y$-鉸鏈-CH_2-CH_3 [III]；其中該四個抗體輕鏈多肽中有兩個包含：VL_1-$(CL)_x$ [IV]；且其中該四個抗體輕鏈多肽中有兩個

包含：VL_2-$(CL)_y$ [V]；其中該等抗體重鏈多肽中之每一者與一個包含式[IV]之輕鏈多肽締合，以便 VH_1 與 VL_1 形成抗原結合域且與一個包含式[V]之輕鏈多肽締合，以便 VH_2 與 VL_2 形成抗原結合域；且其中 VH_1 為第一抗體重鏈可變域，VH_2 為第二抗體重鏈可變域，VL_1 為第一抗體輕鏈可變域，VL_2 為第二抗體輕鏈可變域，$(CL)_x$ 及 $(CL)_y$ 為抗體輕鏈恆定域，$(CH_1)_x$ 及 $(CH_1)_y$ 為抗體第一重鏈恆定域，鉸鏈為抗體鉸鏈區，CH_2 為抗體第二重鏈恆定域，CH_3 為抗體第三重鏈恆定域，且 L_1、L_2 及 L_3 為胺基酸連接子。在一些實施例中，該複合物在 VH_1、VL_1、$(CH_1)_x$ 或 $(CL)_x$ 中包含一或多個促進 VH_1 與 VL_1 形成抗原結合域之胺基酸取代；及/或在 VH_2、VL_2、$(CH_1)_y$ 或 $(CL)_y$ 中包含一或多個促進 VH_2 與 VL_2 形成抗原結合域之胺基酸取代。參見例如國際公開案第 WO2016172485 號及實例 6。舉例而言，例示性取代包括但不限於 VH-Q39K/VL-Q38E 或 VH Q39E/VL Q38K (Kabat 編號)、CH1-S183E/CL-V133K 或 CH1-S183K/CL-V133E (EU 編號)；CH1 A141I、F170S、S181M、S183A、V185A；及 CL F116A、L135V、S174A、S176F 及 T178V (EU 編號)。在一些實施例中，該兩個抗體重鏈多肽皆包含與 SEQ ID NO:244 具有至少 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%一致性之胺基酸序列，該兩個包含式[IV]之抗體輕鏈多肽皆包含與 SEQ ID NO:245 具有至少 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%一致性之胺基酸序列，且該兩個包含式[V]之抗體輕鏈多肽皆包含與 SEQ ID NO:246 具有至少 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%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:244 或 292，該兩個包含

式[IV]之抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:245，且該兩個包含式[V]之抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:246。在一些實施例中，該兩個抗體重鏈多肽皆包含與 SEQ ID NO:247 具有至少 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%一致性之胺基酸序列，該兩個包含式[IV]之抗體輕鏈多肽皆包含與 SEQ ID NO:248 具有至少 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%一致性之胺基酸序列，且該兩個包含式[V]之抗體輕鏈多肽皆包含與 SEQ ID NO:249 具有至少 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%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:247 或 293，該兩個包含式[IV]之抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:249，且該兩個包含式[V]之抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:248。

【0146】 在一些實施例中，複合物包含：第一抗體重鏈多肽，其包含：VH_1-L_1-CH_1-L_2-VH_1-L_3-CH_1-鉸鏈-CH_2-$(CH_3)_x$ [VI]；兩個第一抗體輕鏈多肽，其各自包含：VL_1-CL [VII]；第二抗體重鏈多肽，其包含：VH_2-L_7-CH_1-L_8-VH_2-L_9-CH_1-鉸鏈-CH_2-$(CH_3)_y$ [VIII]；及兩個第二抗體輕鏈多肽，其各自包含：VL_2-CL [IX]；其中該第一抗體重鏈多肽與兩個包含式[VII]之第一抗體輕鏈多肽締合，以便各 VH_1 與 VL_1 形成抗原結合域；其中該第二抗體重鏈多肽與兩個包含式[IX]之第二抗體輕鏈多肽締合，以便各 VH_2 與 VL_2 形成抗原結合域；且其中 VH_1 為第一抗體重鏈可變域，VH_2 為第二抗體重鏈可變域，VL_1 為第一抗體輕鏈可變域，VL_2 為第二抗體輕鏈可變域，CL 為抗體輕鏈恆定域，CH_1 為抗體第一重鏈恆定域，鉸鏈為抗體鉸鏈區，

CH_2為抗體第二重鏈恆定域，$(CH_3)_x$及$(CH_3)_y$為抗體第三重鏈恆定域，且L_1、L_2、L_3、L_7、L_8及 L_9為胺基酸連接子。在一些實施例中，$(CH_3)_x$包含突起或凹穴，其中$(CH_3)_y$包含突起或凹穴，且其中$(CH_3)_x$之突起或凹穴可位於$(CH_3)_y$之突起或凹穴中。參見例如表 C。

【0147】 在一些實施例中，VH_1包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；其中 VL_1包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；其中 VH_2包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 之 HVR-H3；且其中 VL_2包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。在一些實施例中，VH_2包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；其中 VL_2包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；其中 VH_1包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 之 HVR-H3；且其中 VL_1包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。在一些實施例中，VH_1包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，其中 VL_1包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，其中 VH_2包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，且其中 VL_2包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57。在一些實施例中，VH_2包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，其中 VL_2包含胺基酸序列

SEQ ID NO:129，其中 VH_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，且其中 VL_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57。在一些實施例中，VH 結構域包含與 SEQ ID NO:56 或 128 具有至少 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%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，VL 結構域包含與 SEQ ID NO:57 或 129 具有至少 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%一致性之胺基酸序列。

【0148】 本文中將該抗原結合複合物之另一種例示性構形描述並說明為「r:Fv-IgG」形式(參見例如**圖 3A 及圖 3B**)。涵蓋各種構形，包括單抗原決定基及雙或多抗原決定基形式。舉例而言，在一些實施例中，該抗體重鏈自 N 末端至 C 末端包含第一重鏈可變域(VH_1)、第二重鏈可變域(VH_2)、重鏈 CH1 結構域、重鏈 CH2 結構域、重鏈 CH3 結構域及視情況存在之重鏈 CH4 結構域。在一些實施例中，該抗體輕鏈自 N 末端至 C 末端包含第一輕鏈可變域(VL_1)、第二輕鏈可變域(VL_2)及輕鏈恆定域(例如 VK 或 VL)。在一些實施例中，該第一重鏈可變域(VH_1)及該第一輕鏈可變域(VL_1)識別細胞表面受體之第一抗原決定基，且該第二重鏈可變域(VH_2)及該第二輕鏈可變域(VL_2)識別該細胞表面受體之相同抗原決定基。在一些實施例中，該第一重鏈可變域(VH_1)及該第一輕鏈可變域(VL_1)識別細胞表面受體之第一抗原決定基，且該第二重鏈可變域(VH_2)及該第二輕鏈可變域(VL_2)識別相同細胞表面受體之不同的抗原決定基。

【0149】 在一些實施例中，本發明之抗原結合複合物(例如四價抗原結合複合物)包含兩個或更多個抗體重鏈及/或兩個或更多個抗體輕鏈。在一些實施例中，各重鏈包含重鏈可變域(VH)及一組重鏈恆定域，例如 CH1 結構域、CH2 結構域、CH3 結構域及視情況存在之(例如，對於 IgM 或 IgE 抗體) CH4

結構域。在一些實施例中，各輕鏈包含輕鏈可變域(VL)及恆定輕鏈(CL)結構域(例如 κ 或 λ)。在一些實施例中，各次單元之重鏈包含一或多個減弱效應功能之修飾，例如，如本文中所描述。

【0150】 在以上形式中任一種之某些實施例中，該 VH_1 包含：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；及/或該 VL_1 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列。在一些實施例中，該 VH_1 包含選自以下之一個、兩個或三個抗體 HVR 序列：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；及/或該 VL_1 包含選自以下之一個、兩個或三個抗體 HVR 序列：(iv) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(v) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(vi) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列。在一些實施例中，該 VH_1 包含 SEQ ID NO:56 之胺基酸序列，及/或該 VL_1 包含 SEQ ID NO:57 之胺基酸序列。在以上形式中任一種之某些實施例中，該 VH_2 包含：(a) VH 結構域，其包含(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；及/或該 VL_2 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39 之胺基酸序列；及(iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。在一些實施例中，該 VH_2 包含選自以下之一、二或三個抗體 HVR 序列：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含

SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；及/或該 VL_2 包含選自以下之一、二或三個抗體 HVR 序列：(iv) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(v) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39 之胺基酸序列；及(vi) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。在一些實施例中，該 VH_2 包含 SEQ ID NO:126 之胺基酸序列，及/或該 VL_2 包含 SEQ ID NO:129 之胺基酸序列。在以上形式中任一種之某些實施例中，該 VH_1 包含：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；該 VL_1 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列；該 VH_2 包含：(a) VH 結構域，其包含(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；且該 VL_2 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39 之胺基酸序列；及(iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。在某些實施例中，該 VH_1 包含 SEQ ID NO:56 之胺基酸序列，該 VL_1 包含 SEQ ID NO:57 之胺基酸序列，該 VH_2 包含 SEQ ID NO:126 之胺基酸序列，且該 VL_2 包含 SEQ ID NO:129 之胺基酸序列。

【0151】 在以上形式中任一種之某些實施例中，該 VH_2 包含：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；及/或該 VL_2 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列。在一些實施例中，該 VH_2 包含選自以下之一、二或三

個抗體 HVR 序列：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；及/或該 VL_2 包含選自以下之一、二或三個抗體 HVR 序列：(iv) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(v) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(vi) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列。在一些實施例中，該 VH_2 包含 SEQ ID NO:56 之胺基酸序列，及/或該 VL_2 包含 SEQ ID NO:57 之胺基酸序列。在以上形式中任一種之某些實施例中，該 VH_1 包含：(a) VH 結構域，其包含(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；及/或該 VL_1 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39 之胺基酸序列；及(iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。在一些實施例中，該 VH_1 包含選自以下之一個、兩個或三個抗體 HVR 序列：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；及/或該 VL_1 包含選自以下之一個、兩個或三個抗體 HVR 序列：(iv) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(v) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39 之胺基酸序列；及(vi) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。在一些實施例中，該 VH_1 包含 SEQ ID NO:126 之胺基酸序列，及/或該 VL_1 包含 SEQ ID NO:129 之胺基酸序列。在以上形式中任一種之某些實施例中，該 VH_2 包含：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；該 VL_2 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之

胺基酸序列；及(iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列；該 VH_1 包含：(a) VH 結構域，其包含(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；且該 VL_1 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39 之胺基酸序列；及(iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。在某些實施例中，該 VH_1 包含 SEQ ID NO:126 之胺基酸序列，該 VL_1 包含 SEQ ID NO:129 之胺基酸序列，該 VH_2 包含 SEQ ID NO:56 之胺基酸序列，且該 VL_2 包含 SEQ ID NO:57 之胺基酸序列。

【0152】 在一些實施例中，複合物包含兩個抗體重鏈多肽及兩個抗體輕鏈多肽；其中該等抗體重鏈多肽中之每一者包含：VH_1-L_1-VH_2-L_2-CH_1-鉸鏈-CH_2-CH_3 [I]；其中該等抗體輕鏈多肽中之每一者包含：VL_1-L_3-VL_2-L_4-CL [II]；其中該等抗體重鏈多肽中之每一者與一個抗體輕鏈多肽締合，使得 VH_1 與 VL_1 形成抗原結合域且 VH_2 與 VL_2 形成抗原結合域；其中 VH_1 為第一抗體重鏈可變域，VH_2 為第二抗體重鏈可變域，VL_1 為第一抗體輕鏈可變域，VL_2 為第二抗體輕鏈可變域，CL 為抗體輕鏈恆定域，CH_1 為抗體第一重鏈恆定域，鉸鏈為抗體鉸鏈區，CH_2 為抗體第二重鏈恆定域，CH_3 為抗體第三重鏈恆定域，且 L_1、L_2、L_3 及 L_4 為胺基酸連接子。

【0153】 在一些實施例中，VH_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；其中 VL_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；其中 VH_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ

ID NO:4 之 HVR-H3；且其中 VL_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。在一些實施例中，VH_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；其中 VL_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；其中 VH_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 之 HVR-H3；且其中 VL_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。在一些實施例中，VH_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，其中 VL_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，其中 VH_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，且其中 VL_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57。在一些實施例中，VH_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，其中 VL_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，其中 VH_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，且其中 VL_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57。在一些實施例中，VH 結構域包含與 SEQ ID NO:56 或 128 具有至少 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%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，VL 結構域包含與 SEQ ID NO:57 或 129 具有至少 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%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，根據式[I]之抗體重鏈多肽包含與 SEQ ID NO:240、242、250、252、254、256、258、260、262、264 或 266 具有至少 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%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，根據式[I]之抗體重鏈多肽包含與 SEQ ID NO:240 或 242 具有至少 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%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，根據式[I]之抗體重鏈多肽包含胺基酸序列 SEQ ID NO:242 或 291。

【0154】 在以上所描述之複合物中之任一者中，VH_1、VH_2、VL_1 及/或 VL_2 包含有包含表 4 及表 5 中所列出之序列中之一或多個的 HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1、HVR-L2 及/或 HVR-L3。

【0155】 本發明之複合物可具有以下描述之促效活性中之一或多種。

【0156】 在一些實施例中，該 OX40 促效複合物以小於或等於約 0.45 nM 之親和力結合人類 OX40。在一些實施例中，該 OX40 促效複合物以小於或等於約 1 nM 之親和力結合人類 OX40。在一些實施例中，該 OX40 複合物以小於或等於約 0.4 nM 之親和力結合人類 OX40。在一些實施例中，該 OX40 複合物以小於或等於約 0.5 nM 之親和力結合人類 OX40。在一些實施例中，使用放射免疫分析法來測定結合親和力。

【0157】 在一些實施例中，該 OX40 促效複合物結合人類 OX40 及石蟹獼猴 OX40。在一些實施例中，使用 FACS 分析法來測定結合。在一些實施例中，與人類 OX40 之結合具有約 0.2 μg/ml 之 EC50。在一些實施例中，與人類 OX40 之結合具有約 0.3 μg/ml 以下之 EC50。在一些實施例中，與石蟹獼猴 OX40 之結合具有約 1.5 μg/ml 之 EC50。在一些實施例中，與石蟹獼猴 OX40 之結合具有約 1.4 μg/ml 之 EC50。

【0158】 在一些實施例中，該 OX40 促效複合物不結合大鼠 OX40 或小鼠 OX40。

【0159】 在一些實施例中，該 OX40 促效複合物在表現 OX40 之細胞(例

如 Treg)中不誘導細胞凋亡。在一些實施例中，使用 30 μg/ml 之抗體濃度，例如藉由使用經膜聯蛋白 V 及碘化丙啶染色之 Treg 確定是否已發生細胞凋亡來分析細胞凋亡。

【0160】 在一些實施例中，該 OX40 促效複合物增加記憶 T 細胞增殖及/或增加該記憶細胞之細胞因子產生。在一些實施例中，該細胞因子為 IFN-γ。在一些實施例中，該 OX40 促效複合物增強記憶 T 細胞功能，例如藉由增加記憶 T 細胞增殖及/或增加該記憶細胞之細胞因子產生。在一些實施例中，該細胞因子為 γ 干擾素。

【0161】 在一些實施例中，與用該 OX40 促效複合物進行治療之前的增殖及/或細胞因子產生相比，該 OX40 促效複合物增加 CD4+效應 T 細胞增殖及/或增加該 CD4+效應 T 細胞之細胞因子產生。在一些實施例中，該細胞因子為 IFN-γ。

【0162】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效複合物增強 CD4+效應 T 細胞功能，例如藉由增加 CD4+效應 T 細胞增殖及/或增加該 CD4+效應 T 細胞之 γ 干擾素產生(例如，與用抗人類 OX40 促效複合物進行治療之前的增殖及/或細胞因子產生相比)。在一些實施例中，該細胞因子為 γ 干擾素。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效複合物增加腫瘤內(浸潤) CD4+效應 T 細胞之數目(例如 CD4+效應 T 細胞之總數目，或例如 CD4+細胞佔 CD45+細胞之百分比)，例如，與用抗人類 OX40 促效複合物進行治療之前的腫瘤內(浸潤) CD4+ T 細胞之數目相比。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效複合物增加表現 γ 干擾素之腫瘤內(浸潤) CD4+效應 T 細胞之數目(例如總表現 γ 干擾素之 CD4+細胞，或例如表現 γ 干擾素之 CD4+細胞佔總 CD4+細胞之百分比)，例如，與用抗人類 OX40 促效複合物進行治療之前的表現 γ 干擾素之腫瘤內(浸潤) CD4+ T 細胞之數目相比。

【0163】 在一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效複合物之前，CD4+效應 T 細胞之數目有所升高。在一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效複合物之前，CD4+效應 T 細胞細胞因子分泌有所升高。在該等方法中任一種之一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效複合物之前，個體中之 CD8+效應 T 細胞具有增強之增殖、細胞因子分泌及/或細胞溶解活性。在一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效複合物之前，CD8+效應 T 細胞之數目有所升高。在一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效複合物之前，CD8+效應 T 細胞細胞因子分泌有所升高。

【0164】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效複合物增加腫瘤內(浸潤) CD8+效應 T 細胞之數目(例如 CD8+效應 T 細胞之總數目，或例如 CD8+佔 CD45+細胞之百分比)，例如，與用抗人類 OX40 促效複合物進行治療之前的腫瘤內(浸潤) CD8+ T 效應細胞之數目相比。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效複合物增加表現 γ 干擾素之腫瘤內(浸潤) CD8+效應 T 細胞之數目(例如表現 γ 干擾素之 CD8+細胞佔總 CD8+細胞之百分比)，例如，與用抗人類 OX40 促效複合物進行治療之前的表現 γ 干擾素之腫瘤內(浸潤)CD8+ T 細胞之數目相比。

【0165】 在一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效複合物之前，腫瘤內(浸潤) CD8+效應 T 細胞之數目(例如 CD8+效應 T 細胞之總數目，或例如 CD8+佔 CD45+細胞之百分比)有所升高。在本發明方法中之任一種的一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效複合物之前，表現 γ 干擾素之腫瘤內(浸潤) CD8+效應 T 細胞之數目(例如表現 γ 干擾素之 CD8+細胞佔總 CD8+細胞之百分比)有所增加。

【0166】 在一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效複合物之前，個體中之記憶 T 細胞具有增強之增殖及/或細胞因子分泌。在一些實施例中，相

對於投與該 OX40 促效複合物之前，記憶 T 細胞之數目有所升高。在一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效複合物之前，記憶 T 細胞細胞因子分泌(水準)有所升高。在該等方法中任一種之一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效複合物之前，個體中之 Treg 對效應 T 細胞功能(例如增殖及/或細胞因子分泌)之抑制有所減弱。在一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效複合物之前，效應 T 細胞之數目有所升高。在一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效複合物之前，效應 T 細胞細胞因子分泌(水準)有所升高。

【0167】 在一些實施例中，該 OX40 促效複合物抑制 Treg 對效應 T 細胞功能之抑制。在一些實施例中，效應 T 細胞功能為效應 T 細胞增殖及/或細胞因子產生。在一些實施例中，該效應 T 細胞為 CD4+效應 T 細胞。

【0168】 在一些實施例中，該 OX40 促效複合物抑制 Treg 功能，例如藉由減弱 Treg 對效應 T 細胞功能(例如效應 T 細胞增殖及/或效應 T 細胞細胞因子分泌)之抑制。在一些實施例中，該效應 T 細胞為 CD4+效應 T 細胞。在一些實施例中，該 OX40 促效複合物減少腫瘤內(浸潤) Treg 之數目(例如，Treg 之總數目，或例如 Fox3p+細胞佔 CD4+細胞之百分比)。

【0169】 在一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效複合物之前，腫瘤內(浸潤) Treg 之數目(例如，Treg 之總數目，或例如 Fox3p+細胞佔 CD4+細胞之百分比)有所減少。

【0170】 在一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效複合物之前，腫瘤內(浸潤) CD4+效應 T 細胞之數目(例如 CD4+效應 T 細胞之總數目，或例如 CD4+細胞佔 CD45+細胞之百分比)有所升高。在本發明方法中之任一種的一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效複合物之前，表現 γ 干擾素之腫瘤內(浸潤) CD4+效應 T 細胞之數目(例如總表現 γ 干擾素之 CD4+細胞，或例如表現 γ 干擾素之 CD4+細胞佔總 CD4+細胞之百分比)有所升高。

【0171】 在一些實施例中，該 OX40 促效複合物增加表現 OX40 之靶細胞中的 OX40 信號轉導。在一些實施例中，藉由監測 NFkB 下游信號傳導來偵測 OX40 信號轉導。

【0172】 在一些實施例中，該 OX40 促效複合物在 40°C下處理兩週之後為穩定的。

【0173】 在一些實施例中，該 OX40 促效複合物與 OX40L 競爭同人類 OX40 結合。在一些實施例中，添加 OX40L 不增強試管內分析中之 OX40 複合物功能。

【0174】 根據另一實施例，該 OX40 促效複合物包括以下性質中之任一種、任何組合或所有：(1)以小於或等於約 0.45 nM 之親和力結合人類 OX40，在一些實施例中以小於或等於約 0.4 nM 之親和力結合人類 OX40，在一些實施例中以小於或等於約 0.5 nM 之親和力結合人類 OX40，在一些實施例中使用放射免疫分析法來測定結合親和力；(2)結合人類 OX40 及石蟹獼猴 OX40，在一些實施例中使用 FACS 分析法來測定結合；(3)以約 0.2 μg/ml 之 EC50 結合人類 OX40，在一些實施例中以約 0.3 μg/ml 以下之 EC50 結合人類 OX40，在一些實施例中以約 1.5 μg/ml 之 EC50 結合石蟹獼猴 OX40，在一些實施例中以約 1.4 μg/ml 之 EC50 結合石蟹獼猴 OX40；(4)實質上不結合大鼠 OX40 或小鼠 OX40；(5)增強 CD4+效應 T 細胞功能，例如，藉由增加 CD4+效應 T 細胞增殖及/或增加該 CD4+效應 T 細胞之 γ 干擾素產生(例如，與用抗人類 OX40 促效複合物進行治療之前的增殖及/或細胞因子產生相比)；(6)增強記憶 T 細胞功能，例如藉由增加記憶 T 細胞增殖及/或增加該記憶細胞之細胞因子產生；(7)抑制 Treg 功能，例如藉由減弱 Treg 對效應 T 細胞功能(例如效應 T 細胞增殖及/或效應 T 細胞細胞因子分泌)之抑制。在一些實施例中，該效應 T 細胞為 CD4+效應 T 細胞；(8)增加表現 OX40 之靶

細胞中之 OX40 信號轉導(在一些實施例中，藉由監測 NFkB 下游信號傳導來偵測 OX40 信號轉導)；及(9)在 40°C下處理兩週之後為穩定的。

【0175】 本文中進一步涵蓋雙特異性或多特異性抗體，其中雙特異性或多特異性抗體之各臂結合相同的細胞表面受體，例如 OX40。在一些實施例中，雙特異性或多特異性抗體之各臂結合相同細胞表面受體(例如 OX40)之不同的抗原決定基。舉例而言，在某些實施例中，雙特異性抗體可包含兩個臂，其中各臂結合 OX40 之不同的抗原決定基。應理解，結合 OX40 之例示性抗體、抗原結合域及/或抗體片段中之任一者(例如，本文中所描述之 OX40 促效抗體中之任一者的 HVR、VH 及/或 VL 結構域)均可呈任何組合之形式組合於雙特異性或多特異性抗體中。

【0176】 本文中所描述之其他抗體 HVR 序列、VH/VL 序列及/或結合特異性中之任一個均可連同或替代以上所描述之序列中的一或多個使用。

抗原結合多肽

【0177】 適合於形成本文中所描述之複合物的抗原結合多肽或次單元包含至少一個針對細胞表面受體之抗原結合區。本文中所描述之抗原結合多肽可包含抗體、與 Fc 區融合之抗體抗原結合區(例如抗體片段)或與 Fc 區融合之非抗體抗原結合區蛋白。在例示性實施例中，該抗原結合多肽為結合細胞表面受體且具有經修飾之 Fc 區的抗體。

【0178】 在一些實施例中，本文中所描述之抗體或次單元含有至少兩個多肽。在一些實施例中，該兩個多肽為半抗體，例如單一重鏈(包含重鏈可變區、CH1 結構域及 Fc 結構域)及單一輕鏈(包含輕鏈可變區及 CL 結構域)。特定言之，各抗體之 Fc 區為兩個多肽之間形成的二聚體(如以下進一步描述之同源二聚體或異源二聚體)。類似地，與 Fc 區多肽之一連接的抗原結合區可含有兩個多肽，例如，當抗原結合區為抗體片段時，其可含有重鏈可變

區及輕鏈可變區。

抗體

【0179】 在某些實施例中，本文中所提供之本發明抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)或其次單元為嵌合抗體。某些嵌合抗體描述於例如美國專利第 4,816,567 號及 Morrison 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984))中。在一個實例中，嵌合抗體包含非人類可變區(例如，來源於小鼠、大鼠、倉鼠、兔或諸如猴之非人類靈長類動物的可變區)及人類恆定區。在另一實例中，嵌合抗體為「類別轉換」抗體，其中類別或子類相對於親本抗體之類別或子類已發生變化。

【0180】 在某些實施例中，嵌合抗體為人類化抗體。典型地，非人類抗體經人類化以降低對人類之免疫原性，而保留親本非人類抗體之特異性及親和力。一般而言，人類化抗體包含一或多個可變域，其中 HVR，例如 CDR (或其部分)來源於非人類抗體，而 FR (或其部分)來源於人類抗體序列。人類化抗體視情況亦將包含人類恆定區之至少一部分。在一些實施例中，人類化抗體中之一些 FR 殘基經來自非人類抗體(例如，HVR 殘基所來源之抗體)之相應殘基取代，例如，以恢復或改良抗體特異性或親和力。

【0181】 人類化抗體及其製造方法綜述於例如 Almagro 及 Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)中，且進一步描述於例如以下文獻中：Riechmann 等人, *Nature* 332:323-329 (1988)；Queen 等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989)；美國專利第 5,821,337 號、第 7,527,791 號、第 6,982,321 號及第 7,087,409 號；Kashmiri 等人, *Methods* 36:25-34 (2005) (描述特異性決定區(SDR)接枝)；Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991) (描述「表面重整」)；Dall'Acqua 等人, *Methods* 36:43-60 (2005) (描述「FR 改組」)；以及 Osbourn 等人, *Methods* 36:61-68 (2005)和 Klimka 等人, *Br. J. Cancer*,

83:252-260 (2000) (描述用於 FR 改組之「導向選擇」方法)。

【0182】 可用於人類化之人類構架區包括但不限於：使用「最佳擬合」法選擇之構架區(參見例如 Sims 等人, *J. Immunol.* 151:2296 (1993))；來源於特定輕鏈或重鏈可變區亞組之人類抗體一致序列的構架區(參見例如 Carter 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992)；及 Presta 等人, *J. Immunol.*, 151:2623 (1993))；人類成熟(體細胞突變)構架區或人類生殖系構架區(參見例如 Almagro 及 Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008))；及來源於篩選 FR 文庫之構架區(參見例如 Baca 等人, *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997)及 Rosok 等人, *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996))。

【0183】 在某些實施例中，本文中所提供之本發明抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)或其次單元為人類抗體。人類抗體可使用此項技術中已知的各種技術來產生。人類抗體大體上描述於以下文獻中：van Dijk 及 van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74 (2001)；及 Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008)。

【0184】 人類抗體可藉由向經修飾以響應於抗原攻擊而產生完整人類抗體或具有人類可變區之完整抗體的轉殖基因動物投與免疫原來製備。該等動物典型地含有全部或一部分人類免疫球蛋白基因座，該等基因座置換內源性免疫球蛋白基因座或存在於染色體外或隨機整合至動物之染色體中。在該等轉殖基因小鼠中，內源性免疫球蛋白基因座一般已不活化。關於自轉殖基因動物獲得人類抗體之方法的綜述，參見 Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125 (2005)。亦參見例如描述 XENOMOUSE™技術之美國專利第 6,075,181 號及第 6,150,584 號；描述 HuMAb®技術之美國專利第 5,770,429 號；描述 K-M MOUSE®技術之美國專利第 7,041,870 號；及描述 VelociMouse®技術之美國專利申請公開案第 US 2007/0061900 號。可進一

步修飾來自由該等動物產生之完整抗體的人類可變區，例如，藉由與不同的人類恆定區組合。

【0185】 亦可藉由基於雜交瘤之方法來產生人類抗體。已描述用於產生人類單株抗體之人類骨髓瘤及小鼠-人類異源骨髓瘤細胞株。(參見例如 Kozbor *J. Immunol.*, 133: 3001 (1984)；Brodeur 等人, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, 第 51-63 頁(Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)；及 Boerner 等人, *J. Immunol.*, 147: 86 (1991)。)經由人類 B 細胞雜交瘤技術產生之人類抗體亦描述於 Li 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006)中。其他方法包括例如以下文獻中所描述者：美國專利第 7,189,826 號(描述由雜交瘤細胞株產生單株人類 IgM 抗體)；及 Ni, *Xiandai Mianyixue*, 26(4):265-268 (2006) (描述人類-人類雜交瘤)。人類雜交瘤技術(三源雜交瘤(Trioma)技術)亦描述於以下文獻中：Vollmers 及 Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20(3):927-937 (2005)；以及 Vollmers 及 Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3):185-91 (2005)。

【0186】 亦可藉由自來源於人類之噬菌體呈現庫分離所選 Fv 純系可變域序列來產生人類抗體。接著可將該等可變域序列與所要人類恆定域組合。以下描述用於自抗體庫選擇人類抗體之技術。

【0187】 可藉由篩選組合庫中具有所要活性之多肽來分離適合作為如本文中所描述之抗原結合多肽或次單元之抗體。舉例而言，此項技術中已知用於產生噬菌體呈現庫及篩選該等庫中具有所要結合特徵之抗體的各種方法。該等方法綜述於例如以下文獻中：Hoogenboom 等人, *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien 等人編, Human Press, Totowa, NJ, 2001)，且進一步描述於例如以下文獻中：McCafferty 等人, *Nature* 348:552-554；

Clackson 等人, *Nature* 352: 624-628 (1991)；Marks 等人, *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992)；Marks 及 Bradbury, *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo 編, Human Press, Totowa, NJ, 2003)；Sidhu 等人, *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004)；Lee 等人, *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004)；Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472 (2004)；及 Lee 等人, *J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132(2004)。

【0188】 在某些噬菌體呈現方法中，藉由聚合酶連鎖反應(PCR)單獨選殖 VH 及 VL 基因譜系且隨機重組於噬菌體庫中，接著可篩選抗原結合噬菌體，如 Winter 等人, *Ann. Rev. Immunol.*, 12: 433-455 (1994)中所描述。噬菌體典型地呈現呈單鏈 Fv (scFv)片段形式或呈 Fab 片段形式之抗體片段。來自於經免疫來源之庫在不需要構建雜交瘤之情況下提供對免疫原具有高親和力之抗體。替代地，可選殖(例如，自人類)天然譜系以便在不進行任何免疫之情況下提供單一抗體來源至大範圍非自體以及自體抗原，如 Griffiths 等人, *EMBO J,* 12: 725-734 (1993)所描述。最後，亦可藉由選殖來自幹細胞之非重排 V 基因區段及使用含有隨機序列之 PCR 引子來編碼高變 CDR3 區且在試管內實現重排而合成產生天然庫，如 Hoogenboom 及 Winter, *J. Mol. Biol.*, 227: 381-388 (1992)所描述。描述人類抗體噬菌體庫之專利公開案包括例如：美國專利第 5,750,373 號及美國專利公開案第 2005/0079574 號、第 2005/0119455 號、第 2005/0266000 號、第 2007/0117126 號、第 2007/0160598 號、第 2007/0237764 號、第 2007/0292936 號及第 2009/0002360 號。在本文中，自人類抗體庫分離之抗體或抗體片段被視為人類抗體或人類抗體片段。

抗體之抗原結合區

【0189】 在某些實施例中，本文中所描述之本發明抗原結合複合物(例如

具有促效活性之四價抗原結合複合物)或其次單元包含結合細胞表面受體之抗原結合區及Fc區。在一例示性實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽、抗體或次單元包含結合細胞表面受體之抗體抗原結合區與 Fc 區的融合物。在一些實施例中，本發明之抗原結合區係指包含重鏈可變域(VH)及輕鏈可變域(VL)之抗原結合域。在例示性實施例中，抗體之抗原結合區係指抗體片段，舉例而言，諸如 Fab、Fab'、Fab'-SH、$F(ab')_2$、Fv 及 scFv 片段以及以下所描述之其他片段。關於某些抗體片段之綜述，參見 Hudson 等人, *Nat. Med.* 9:129-134 (2003)。關於 scFv 片段之綜述，參見例如 Pluckthün, *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, 第 113 卷, Rosenburg 及 Moore 編, (Springer-Verlag, New York), 第 269-315 頁(1994)；亦參見 WO 93/16185，以及美國專利第 5,571,894 號及第 5,587,458 號。關於包含救助受體結合抗原決定基殘基且具有增加之活體內半衰期的 Fab 及 $F(ab')_2$ 片段的論述，參見美國專利第 5,869,046 號。

【0190】 雙功能抗體為具有兩個抗原結合位點之抗體片段，其可能為二價或雙特異性的。參見例如 EP 404,097；WO 1993/01161；Hudson 等人, *Nat. Med.* 9:129-134 (2003)；及 Hollinger 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448 (1993)。三功能抗體及四功能抗體亦描述於 Hudson 等人, *Nat. Med.* 9:129-134 (2003)中。

【0191】 單域抗體為包含抗體之全部或一部分重鏈可變域或者全部或一部分輕鏈可變域的抗體片段。在某些實施例中，單域抗體為人類單域抗體(Domantis, Inc.，Waltham，MA；參見例如美國專利第 6,248,516 B1 號)。

【0192】 抗體片段可藉由各種技術來產生，包括但不限於完整抗體之蛋白水解消化以及由重組宿主細胞(例如大腸桿菌或噬菌體)產生，如本文中所描述。可由本文中所描述之任何抗體來產生抗體片段，包括例如單株、嵌

合、人類化、人類、雙特異性、多特異性、DAF 等抗體形式。

【0193】 本文中所描述之本發明抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)或其次單元可包含一或多個多肽。在某些實施例中，抗原結合區包含一個多肽，舉例而言，諸如單鏈 Fv (scFv)，其中抗體之重鏈可變區及輕鏈可變區經由連接子連接。在其他實施例中，抗原結合區包含兩個多肽，舉例而言，諸如 Fab 抗體片段，其中重鏈可變區及輕鏈可變區為在天然情況下締合以形成具有 6 個 CDR 之抗原結合區的單獨多肽鏈。

【0194】 在一些實施例中，該複合物在 VH_1、VL_1、$(CH_1)_x$ 或$(CL)_x$ 中包含一或多個促進 VH_1 與 VL_1 形成抗原結合域之胺基酸取代；及/或在 VH_2、VL_2、$(CH_1)_y$ 或$(CL)_y$ 中包含一或多個促進 VH_2 與 VL_2 形成抗原結合域之胺基酸取代。參見例如國際公開案第 WO2016172485 號及實例 6。舉例而言，例示性取代包括但不限於 VH-Q39K/VL-Q38E 或 VH Q39E/VL Q38K (Kabat 編號)、CH1-S183E/CL-V133K 或 CH1-S183K/CL-V133E (EU 編號)；CH1 A141I、F170S、S181M、S183A、V185A；及 CL F116A、L135V、S174A、S176F 及 T178V (EU 編號)。

【0195】 在某些實施例中，多特異性抗原結合蛋白質包含有包含以下各項(包括由其組成及基本上由其組成)之 H1 之 CH1 結構域：A141I、F170S、S181M、S183A 及 V185A 突變(EU 編號)；及包含以下各項(包括由其組成或基本上由其組成)之 L1 之 CL 結構域：F116A、L135V、S174A、S176F 及 T178V 突變(EU 編號)。

【0196】 在某些實施例中，該多特異性抗原結合蛋白質之 H1 之 VH 結構域包含 Q39E 取代突變(Kabat 編號)，該多特異性抗原結合蛋白質之 L1 之 VL 結構域包含 Q38K 取代突變(Kabat 編號)，該多特異性抗原結合蛋白質之 H2 之 CH1 結構域包含(諸如由其組成或基本上由其組成) S183E 取代突變

(EU 編號)，且該多特異性抗原結合蛋白質之 L2 之 CL 結構域包含(諸如由其組成或基本上由其組成) V133K 取代突變(EU 編號)。

【0197】 在某些實施例中，該多特異性抗原結合蛋白質之 H1 之 VH 結構域包含 Q39K 取代突變(Kabat 編號)，該多特異性抗原結合蛋白質之 L1 之 VL 結構域包含 Q38E 取代突變(Kabat 編號)，該多特異性抗原結合蛋白質之 H2 之 CH1 結構域包含(諸如由其組成或基本上由其組成) S183E 取代突變(EU 編號)，且該多特異性抗原結合蛋白質之 L2 之 CL 結構域包含(諸如由其組成或基本上由其組成) V133K 取代突變(EU 編號)。

非抗體抗原結合區

【0198】 在某些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽包含結合細胞表面受體之抗原結合區及 Fc 區。在一例示性實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽包含結合細胞表面受體之非抗體抗原結合區與 Fc 區的融合物。非抗體抗原結合區之實例包括例如結合細胞表面受體之配體、配體片段或其多聚體。以下描述結合 OX40 之非抗體抗原結合區之實例。結合 Tie2 之非抗體結合區之實例描述於 WO 2008/049227 中。

抗原結合區與 Fc 區之連接

【0199】 本文中所描述之抗原結合區(來源於抗原結合區及非抗體抗原結合區域兩者之抗體)可與如本文中所描述之變異 Fc 區融合。用於共價連接兩個多肽之任何方法均可用於使抗原結合區與 Fc 結構域融合在一起，包括例如表現為單一多肽(有或無插入多肽連接子)、化學鍵聯或經由聚合基團(舉例而言，諸如單一或分枝聚乙二醇(PEG)連接子)鍵聯。在某些實施例中，該連接子可為可裂解連接子。

【0200】 在某些實施例中，連接子可為多肽連接子。在一個實施例中，該多肽連接子為來自於抗體之鉸鏈序列或其變異體。舉例而言，鉸鏈序列

可包含抗體，舉例而言，諸如 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 抗體之胺基酸殘基 216-238 (EU 編號)或者其片段或衍生物。在一例示性實施例中，基於鉸鏈之連接子包含序列 CDKTHTCPPCPAPELLGGP (SEQ ID NO:219)或者其片段或衍生物。在某些實施例中，該多肽連接子可為具有不同長度(例如 5、10、15、20、25、30、35、40、45、50 個以上胺基酸)之可撓性連接子。適合之連接子為此項技術中已知的，參見例如 Protein Engineering, 9(3), 299-305, 1996。例示性肽連接子包括例如：

Ser

Gly-Ser

Gly-Gly-Ser

Ser-Gly-Gly

Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:220)

Ser-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO:221)

Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:222)

Ser-Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO:223)

Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:224)

Ser-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO:225)

Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:226)

Ser-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO:227)

$(Gly\text{-}Gly\text{-}Gly\text{-}Gly\text{-}Ser)_n$ (SEQ ID NO:228)及

$(Ser\text{-}Gly\text{-}Gly\text{-}Gly\text{-}Gly)_n$ (SEQ ID NO:229)

其中 n 為不小於 1 之整數。在某些實施例中，n 可為 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15 或 20。

【0201】 在一些實施例中，連接子之長度介於 0 與 20 個胺基酸之間(包括

端點)，例如，長度為 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 或 20 個胺基酸。

【0202】 在一些實施例中，連接子之胺基酸中有至少 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%為甘胺酸及/或絲胺酸胺基酸。舉例而言，在一些實施例中，本發明之連接子包含序列 GGGGSG (SEQ ID NO:270)、GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:272)、GGGGSGGGGSGGGG (SEQ ID NO:273)、GGSGG (SEQ ID NO:271)、GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:272) 或 GGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:274)。

【0203】 在一些實施例中，連接子包含在人類抗體恆定域序列內發現之胺基酸序列(例如 CH_1 結構域或鉸鏈區序列)。在一些實施例中，本發明之連接子包含序列 ASTKGP (SEQ ID NO:275)、ASTKGPSVFPLAP (SEQ ID NO:277)、RTVAAP (SEQ ID NO:276)或RTVAAPSVFIFPP (SEQ ID NO:278)。在一些實施例中，連接子包含在人類抗體恆定域序列內發現之胺基酸序列(例如 CH_1 結構域或鉸鏈區序列)及具有至少 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%甘胺酸及/或絲胺酸胺基酸之序列。

【0204】 在某些實施例中，連接子可為化學連接子。適合之化學連接子為此項技術中已知的且可購自市面。例示性化學連接子包括例如 N-羥基琥珀醯亞胺(NHS)、辛二酸二琥珀醯亞胺酯(DSS)、辛二酸雙(磺基琥珀醯亞胺基)酯(BS^3)、二硫代雙(丙酸琥珀醯亞胺酯) (DSP)、二硫代雙(丙酸磺基琥珀醯亞胺酯) (DTSSP)、乙二醇雙(琥珀酸琥珀醯亞胺酯) (EGS)、乙二醇雙(琥珀酸磺基琥珀醯亞胺酯) (sulfo-EGS)、酒石酸二琥珀醯亞胺酯(DST)、酒石酸二磺基琥珀醯亞胺酯(sulfo-DST)、雙[2-(琥珀醯亞胺基氧基羰氧基)乙基]

碸(BSOCOES)及雙[2-(磺基琥珀醯亞胺基氧基羰氧基)乙基]碸(sulfo-BSOCOES)。

【0205】 在某些實施例中，抗體之抗原結合區表現為具有Fc結構域之單一多肽。在Fc結構域為二聚體時，Fc二聚體中所含有之各多肽可與抗體之抗原結合區融合，或Fc二聚體中所含有之多肽中僅一個可與抗體之抗原結合區融合。

【0206】 在某些實施例中，非抗體抗原結合區表現為具有Fc結構域之單一多肽。在Fc結構域為二聚體時，Fc二聚體中所含有之各多肽可與非抗體抗原結合區融合，或Fc二聚體中所含有之多肽中僅一個可與非抗體抗原結合區融合。

包含OX40促效劑之抗原結合區

【0207】 在一個實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽或複合物包含結合並促效人類 OX40 之抗原結合區。在某些實施例中，該抗原結合多肽包含抗人類 OX40 促效抗體之抗原結合區。在某些實施例中，該抗原結合多肽包含作為非抗體 OX40 促效劑之抗原結合區。下文所描述之例示性OX40促效抗體中任一種之任何可變域均可用於本發明之複合物中。

OX40促效抗體

【0208】 本發明之某些態樣係關於結合 OX40 之抗原結合複合物。在一些實施例中，該複合物為對OX40 (例如人類OX40)具有促效活性之四價抗原結合複合物。下文描述例示性抗體次單元及其例示性特徵。不希望受理論束縛，認為促效抗原結合複合物(例如四價促效抗原結合複合物)可能尤其有利於以下情境：效應細胞所致之抗體交聯對促效活性非常重要(例如藉由誘導標靶之簇集及後續信號傳導)，但在作用位點處，效應細胞未必豐足(例如在具有低水準效應細胞之腫瘤中)。在此等情境下，促效抗原結合複合物，

諸如四價促效抗原結合複合物，可在不存在豐足效應細胞之情況下允許及/或增強促效活性。

【0209】 在一些實施例中，該抗原結合複合物包含有包含如表 A 中所列出之相同抗體之至少一個、兩個、三個、四個、五個或所有六個 HVR 的抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段。舉例而言，在某些實施例中，該複合物中所包括之 OX40 抗體或 Fab 片段含有來自如表 A 中所列出之相同抗體的所有六個 HVR。在其他實施例中，該複合物包含有包含如以下表 A 中所列出之相同抗體之重鏈可變區(V_H)及/或輕鏈可變區(V_L)的抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段。然而，應瞭解，如表 A 中關於特定抗體所列出之 HVR、V_H 及/或 V_L 序列不限於此等特定抗體；替代地，此等序列可由熟習此項技術者適當地組合於表 A 中未明確列出之多種構形中。

【0210】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含選自以下之至少一、二、三、四、五或六個 HVR：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列。

【0211】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VH HVR 序列：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；及(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列。在一個實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列。在另一實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；及 HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列。在

另一實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列；及 HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列。在另一實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；及(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列。

【0212】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VL HVR 序列：(a) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(b) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列。在一個實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：(a) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(b) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列。

【0213】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含：(a) VH 結構域，該 VH 結構域包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VH HVR 序列：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含選自 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；以及(b) VL 結構域，該 VL 結構域包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VL HVR 序列：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列。

【0214】 在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；(d)

HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列。

【0215】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含選自以下之至少一、二、三、四、五或六個 HVR：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:26 之胺基酸序列。

【0216】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含：HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；及 HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:26 之胺基酸序列。在另一實施例中，該抗體包含：HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:26 之胺基酸序列；及 HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列。

【0217】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含：(a) VH 結構域，該 VH 結構域包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VH HVR 序列：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含選自 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；以及(b) VL 結構域，該 VL 結構域包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VL HVR 序列：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:26 之胺基酸序列。

【0218】 在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID

NO:3 之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:26 之胺基酸序列。

【0219】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含選自以下之至少一、二、三、四、五或六個 HVR：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:27 之胺基酸序列。

【0220】 在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含 HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；及 HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:27 之胺基酸序列。在另一實施例中，該抗體包含：HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:27 之胺基酸序列；及 HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列。

【0221】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含：(a) VH 結構域，該 VH 結構域包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VH HVR 序列：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含選自 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；以及(b) VL 結構域，該 VL 結構域包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VL HVR 序列：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:27 之胺基酸序列。

【0222】 在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含(a)

HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:27 之胺基酸序列。

【0223】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含選自以下之至少一、二、三、四、五或六個 HVR：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2、8 或 9 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3、10、11、12、13 或 14 之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4、15 或 19 之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:7、22、23、24、25、26、27 或 28 之胺基酸序列。

【0224】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VH HVR 序列：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2、8 或 9 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3、10、11、12、13 或 14 之胺基酸序列；及(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4、15 或 19 之胺基酸序列。在一個實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4、15 或 19 之胺基酸序列。在另一實施例中，該抗體包含：HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4、15 或 19 之胺基酸序列；及 HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:7、22、23、24、25、26、27 或 28 之胺基酸序列。在另一實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4、15 或 19 之胺基酸序列；HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:7、22、23、24、25、26、27 或 28 之胺基酸序列；及 HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3、10、11、12、13 或 14 之胺基酸序列。在另一實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：(a)

HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2、8 或 9 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3、10、11、12、13 或 14 之胺基酸序列；及(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4、15 或 19 之胺基酸序列。

【0225】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VL HVR 序列：(a) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(b) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:7、22、23、24、25、26、27 或 28 之胺基酸序列。在一個實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：(a) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(b) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:7、22、23、24、25、26、27 或 28 之胺基酸序列。

【0226】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含：(a) VH 結構域，該 VH 結構域包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VH HVR 序列：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2、8 或 9 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3、10、11、12、13 或 14 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含選自 SEQ ID NO:4、15 或 19 之胺基酸序列；以及(b) VL 結構域，該 VL 結構域包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VL HVR 序列：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:7、22、23、24、25、26、27 或 28 之胺基酸序列。

【0227】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2、8 或 9 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3、10、11、12、13 或 14 之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4、15 或 19 之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5

之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:7、22、23、24、25、26、27 或 28 之胺基酸序列。

【0228】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含選自以下之至少一、二、三、四、五或六個 HVR：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:172 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:173 之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:174 之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:175 之胺基酸序列。在一些實施例中，HVR-H2 不為 DMYPDAAAASYNQKFRE (SEQ ID NO:216)。在一些實施例中，HVR-H3 不為 APRWAAAA (SEQ ID NO:217)。在一些實施例中，HVR-L3 不為 QAAAAAAAT (SEQ ID NO:218)。

【0229】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VH HVR 序列：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:172 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:173 之胺基酸序列；及(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:174 之胺基酸序列。在一個實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:174 之胺基酸序列。在另一實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:174 之胺基酸序列；及 HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:175 之胺基酸序列。在另一實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:174 之胺基酸序列；HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:175 之胺基酸序列；及 HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:173 之胺基酸序列。在另一實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:172 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:173 之胺基酸序列；及(c) HVR-H3，

其包含 SEQ ID NO:174 之胺基酸序列。在一些實施例中，HVR-H2 不為 DMYPDAAAASYNQKFRE (SEQ ID NO:216)。在一些實施例中，HVR-H3 不為 APRWAAAA (SEQ ID NO:217)。在一些實施例中，HVR-L3 不為 QAAAAAAAT (SEQ ID NO:218)。

【0230】 在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含(a) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(b) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:175 之胺基酸序列。在一些實施例中，HVR-L3 不為 QAAAAAAAT (SEQ ID NO:218)。

【0231】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VH HVR 序列：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:172 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:173 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含選自 SEQ ID NO:174 之胺基酸序列；以及(b) VL 結構域，該 VL 結構域包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VL HVR 序列：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:175 之胺基酸序列。

【0232】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:172 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:173 之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:174 之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:175 之胺基酸序列。在一些實施例中，HVR-H2 不為 DMYPDAAAASYNQKFRE (SEQ ID NO:216)。在一些實施例中，HVR-H3 不為 APRWAAAA (SEQ ID NO:217)。在一些實施例中，HVR-L3 不為 QAAAAAAAT (SEQ ID NO:218)。

【0233】 SEQ ID NO:172、173、174 及 175 之一致序列涵蓋以上取代之所有可能組合。

【0234】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含選自以下之至少一、二、三、四、五或六個 HVR：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39 之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。

【0235】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VH HVR 序列：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；及(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列。在一個實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列。在另一實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；及 HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。在另一實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列；及 HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列。在另一實施例中，該抗體包含：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；及(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列。

【0236】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VL HVR 序列：(a) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(b) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39 之

胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。在一個實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：(a) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(b) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VH HVR 序列：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；及(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列。在一個實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；及(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列。

【0237】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含：(a) VH 結構域，該 VH 結構域包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VH HVR 序列：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含選自 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；以及(b) VL 結構域，該 VL 結構域包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VL HVR 序列：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:38 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。

【0238】 在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39 之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包選自 SEQ ID NO:42 之胺基酸

序列。

【0239】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VL HVR 序列：(a) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(b) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。在一個實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：(a) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(b) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VH HVR 序列：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；及(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列。在一個實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；及(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列。

【0240】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含：(a) VH 結構域，該 VH 結構域包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VH HVR 序列：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含選自 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；以及(b) VL 結構域，該 VL 結構域包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VL HVR 序列：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。

【0241】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含選

自以下之至少一、二、三、四、五或六個 HVR：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:40 之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。

【0242】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VL HVR 序列：(a) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(b) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:40 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。在一個實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：(a) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(b) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:40 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。

【0243】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含：(a) VH 結構域，該 VH 結構域包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VH HVR 序列：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含選自 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；以及(b) VL 結構域，該 VL 結構域包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VL HVR 序列：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:40 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。

【0244】 在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 SEQ

ID NO:40 之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。

【0245】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含選自以下之至少一、二、三、四、五或六個 HVR：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30、31 或 32 之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39、40 或 41 之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:42、43 或 44 之胺基酸序列。

【0246】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VH HVR 序列：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30、31 或 32 之胺基酸序列；及(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列。在另一實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；及 HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:42、43 或 44 之胺基酸序列。在另一實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:42、43 或 44 之胺基酸序列；及 HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:39、40 或 41 之胺基酸序列。在另一實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30、31 或 32 之胺基酸序列；及(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列。

【0247】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VL HVR 序列：(a) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(b) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39、

40 或 41 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:42、43 或 44 之胺基酸序列。在一個實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：(a) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(b) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39、40 或 41 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:42、43 或 44 之胺基酸序列。

【0248】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含：(a) VH 結構域，該 VH 結構域包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VH HVR 序列：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30、31 或 32 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含選自 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；以及(b) VL 結構域，該 VL 結構域包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VL HVR 序列：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39、40 或 41 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:42、43 或 44 之胺基酸序列。

【0249】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30、31 或 32 之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39、40 或 41 之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:42、43 或 44 之胺基酸序列。

【0250】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VH HVR 序列：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:175 之胺基酸序列；及(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列。在另

一實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；及 HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:177 之胺基酸序列。在另一實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:178 之胺基酸序列；及 HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:176 之胺基酸序列。在另一實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:176 之胺基酸序列；及(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列。

【0251】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VL HVR 序列：(a) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(b) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:177 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:177 之胺基酸序列。在一個實施例中，該抗體或 Fab 片段包含：(a) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(b) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:177 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:178 之胺基酸序列。

【0252】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含：(a) VH 結構域，該 VH 結構域包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VH HVR 序列：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:176 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含選自 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；以及(b) VL 結構域，該 VL 結構域包含選自以下之至少一個、至少兩個或全部三個 VL HVR 序列：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:177 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:178 之胺基酸序列。

【0253】 在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含：(a)

HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:176 之胺基酸序列；(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；(d) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(e) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:177 之胺基酸序列；及(f) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:178 之胺基酸序列。

【0254】 在以上實施例中之任一個中，抗 OX40 促效抗體或 Fab 片段經人類化。在一個實施例中，抗 OX40 抗體或 Fab 片段包含如以上實施例中之任一者中的 HVR，且進一步包含受體人類構架，例如人類免疫球蛋白構架或人類一致構架。

【0255】 在另一實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含與 SEQ ID NO:56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、108、114、116、183 或 184 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列一致性的重鏈可變域(VH)序列。在某些實施例中，相對於參考序列，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%一致性之 VH 序列含有取代(例如保守取代)、插入或缺失，但包含該序列之抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段保留結合 OX40 之能力。在某些實施例中，SEQ ID NO:56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、108、114、116、183 或 184 中已取代、插入及/或缺失總計 1 至 10 個胺基酸。在某些實施例中，取代、插入或缺失出現在 HVR 以外之區域中(亦即，FR 中)。視情況，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含 SEQ ID NO:SEQ ID NO:56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、108、114、116、183 或 184 中之 VH 序列，包括該

序列之轉譯後修飾。在一特定實施例中，該 VH 包含一個、兩個或三個選自以下之 HVR：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；及(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列。

【0256】 在另一實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含與 SEQ ID NO:57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、109、115 或 117 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100% 序列一致性的輕鏈可變域(VL)。在某些實施例中，相對於參考序列，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%一致性之 VL 序列含有取代(例如保守取代)、插入或缺失，但包含該序列之抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段保留結合 OX40 之能力。在某些實施例中，SEQ ID NO:57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、109、115 或 117 中已取代、插入及/或缺失總計 1 至 10 個胺基酸。在某些實施例中，該等取代、插入或缺失出現在 HVR 以外之區域中(亦即，FR 中)。視情況，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含 SEQ ID NO:57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、109、115 或 117 中之 VL 序列，包括該序列之轉譯後修飾。在一特定實施例中，該 VL 包含一個、兩個或三個選自以下之 HVR：(a) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(b) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列。

【0257】 在另一實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含與 SEQ ID NO:56 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、

96%、97%、98%、99%或 100%序列一致性的重鏈可變域(VH)序列。在某些實施例中，相對於參考序列，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%一致性之 VH 序列含有取代(例如保守取代)、插入或缺失，但包含該序列之抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段保留結合 OX40 之能力。在某些實施例中，SEQ ID NO:56 中已取代、插入及/或缺失總計 1 至 10 個胺基酸。在某些實施例中，取代、插入或缺失出現在 HVR 以外之區域中(亦即，FR 中)。視情況，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含 SEQ ID NO:56 中之 VH 序列，包括該序列之轉譯後修飾。在一特定實施例中，該 VH 包含一個、兩個或三個選自以下之 HVR：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；及(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列。

【0258】 在另一實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含與 SEQ ID NO:57 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列一致性的輕鏈可變域(VL)序列。在某些實施例中，相對於參考序列，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%一致性之 VL 序列含有取代(例如保守取代)、插入或缺失，但包含該序列之抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段保留結合 OX40 之能力。在某些實施例中，SEQ ID NO:57 中已取代、插入及/或缺失總計 1 至 10 個胺基酸。在某些實施例中，該等取代、插入或缺失出現在 HVR 以外之區域中(亦即，FR 中)。視情況，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含 SEQ ID NO:57 中之 VL 序列，包括該序列之轉譯後修飾。在一特定實施例中，該 VL 包含一個、兩個或三個選自以下之 HVR：(a) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(b) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列。

【0259】 在另一實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含與 SEQ ID NO:180 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列一致性的重鏈可變域(VH)序列。在某些實施例中，相對於參考序列，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%一致性之 VH 序列含有取代(例如保守取代)、插入或缺失，但包含該序列之抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段保留結合 OX40 之能力。在某些實施例中，SEQ ID NO:180 中已取代、插入及/或缺失總計 1 至 10 個胺基酸。在某些實施例中，取代、插入或缺失出現在 HVR 以外之區域中(亦即，FR 中)。視情況，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含 SEQ ID NO:180 中之 VH 序列，包括該序列之轉譯後修飾。在一特定實施例中，該 VH 包含一個、兩個或三個選自以下之 HVR：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；及(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列。

【0260】 在另一實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含與 SEQ ID NO:179 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列一致性的輕鏈可變域(VL)序列。在某些實施例中，相對於參考序列，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%一致性之 VL 序列含有取代(例如保守取代)、插入或缺失，但包含該序列之抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段保留結合 OX40 之能力。在某些實施例中，SEQ ID NO:179 中已取代、插入及/或缺失總計 1 至 10 個胺基酸。在某些實施例中，該等取代、插入或缺失出現在 HVR 以外之區域中(亦即，FR 中)。視情況，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含 SEQ ID NO:179 中之 VL 序列，包括該序列之轉譯後修飾。在一特定實施例中，該 VL 包含一個、兩個或三個選自以下之 HVR：(a) HVR-L1，

其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(b) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列。

【0261】 在另一實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含與 SEQ ID NO:94 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列一致性的重鏈可變域(VH)序列。在某些實施例中，相對於參考序列，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%一致性之 VH 序列含有取代(例如保守取代)、插入或缺失，但包含該序列之抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段保留結合 OX40 之能力。在某些實施例中，SEQ ID NO:94 中已取代、插入及/或缺失總計 1 至 10 個胺基酸。在某些實施例中，取代、插入或缺失出現在 HVR 以外之區域中(亦即，FR 中)。視情況，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含 SEQ ID NO:94 中之 VH 序列，包括該序列之轉譯後修飾。在一特定實施例中，該 VH 包含一個、兩個或三個選自以下之 HVR：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；及(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列。

【0262】 在另一實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含與 SEQ ID NO:95 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列一致性的輕鏈可變域(VL)序列。在某些實施例中，相對於參考序列，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%一致性之 VL 序列含有取代(例如保守取代)、插入或缺失，但包含該序列之抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段保留結合 OX40 之能力。在某些實施例中，SEQ ID NO:95 中已取代、插入及/或缺失總計 1 至 10 個胺基酸。在某些實施例中，該等取代、插入或缺失出現在 HVR 以外之區域中(亦即，FR 中)。視情況，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片

段包含 SEQ ID NO:95 中之 VL 序列，包括該序列之轉譯後修飾。在一特定實施例中，該 VL 包含一個、兩個或三個選自以下之 HVR：(a) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(b) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:26 之胺基酸序列。

【0263】 在另一實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含與 SEQ ID NO:96 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列一致性的重鏈可變域(VH)序列。在某些實施例中，相對於參考序列，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%一致性之 VH 序列含有取代(例如保守取代)、插入或缺失，但包含該序列之抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段保留結合 OX40 之能力。在某些實施例中，SEQ ID NO:96 中已取代、插入及/或缺失總計 1 至 10 個胺基酸。在某些實施例中，取代、插入或缺失出現在 HVR 以外之區域中(亦即，FR 中)。視情況，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含 SEQ ID NO:96 中之 VH 序列，包括該序列之轉譯後修飾。在一特定實施例中，該 VH 包含一個、兩個或三個選自以下之 HVR：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；及(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列。

【0264】 在另一實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含與 SEQ ID NO:97 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列一致性的輕鏈可變域(VL)序列。在某些實施例中，相對於參考序列，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%一致性之 VL 序列含有取代(例如保守取代)、插入或缺失，但包含該序列之抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段保留結合 OX40 之能力。在某些實施例中，SEQ ID NO:97 中已取代、插入及/或缺失

總計 1 至 10 個胺基酸。在某些實施例中，該等取代、插入或缺失出現在 HVR 以外之區域中(亦即，FR 中)。視情況，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含 SEQ ID NO:97 中之 VL 序列，包括該序列之轉譯後修飾。在一特定實施例中，該 VL 包含一個、兩個或三個選自以下之 HVR：(a) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(b) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:27 之胺基酸序列。

【0265】 在另一實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含與 SEQ ID NO:118、120、122、124、126、128、130、132、134、136、138、140、142、144、146 或 148 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列一致性的重鏈可變域(VH)序列。在某些實施例中，相對於參考序列，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%一致性之 VH 序列含有取代(例如保守取代)、插入或缺失，但包含該序列之抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段保留結合 OX40 之能力。在某些實施例中，SEQ ID NO:118、120、122、124、126、128、130、132、134、136、138、140、142、144、146 或 148 中已取代、插入及/或缺失總計 1 至 10 個胺基酸。在某些實施例中，取代、插入或缺失出現在 HVR 以外之區域中(亦即，FR 中)。視情況，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含 SEQ ID NO:SEQ ID NO:118、120、122、124、126、128、130、132、134、136、138、140、142、144、146 或 148 中之 VH 序列，包括該序列之轉譯後修飾。在一特定實施例中，該 VH 包含一個、兩個或三個選自以下之 HVR：(a) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(b) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；及(c) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列。

【0266】 在另一實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含與

SEQ ID NO:119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147 或 149 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列一致性的輕鏈可變域(VL)序列。在某些實施例中，相對於參考序列，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%一致性之 VL 序列含有取代(例如保守取代)、插入或缺失，但包含該序列之抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段保留結合 OX40 之能力。在某些實施例中，SEQ ID NO:119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147 或 149 中已取代、插入及/或缺失總計 1 至 10 個胺基酸。在某些實施例中，該等取代、插入或缺失出現在 HVR 以外之區域中(亦即，FR 中)。視情況，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含 SEQ ID NO:119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147 或 149 中之 VL 序列，包括該序列之轉譯後修飾。在一特定實施例中，該 VL 包含一個、兩個或三個選自以下之 HVR：(a) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(b) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39 之胺基酸序列；及(c) HVR-L3，其包含 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。

【0267】 在某些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含分別於 SEQ ID NO:56 及 SEQ ID NO:57 中之 VH 及 VL 序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含分別於 SEQ ID NO:58 及 SEQ ID NO:59 中之 VH 及 VL 序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含分別於 SEQ ID NO:60 及 SEQ ID NO:61 中之 VH 及 VL 序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含分別於 SEQ ID NO:62 及 SEQ ID NO:63 中之 VH 及 VL 序列，包括彼

等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含分別於 SEQ ID NO:64 及 SEQ ID NO:65 中之 VH 及 VL 序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含分別於 SEQ ID NO:66 及 SEQ ID NO:67 中之 VH 及 VL 序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或Fab片段包含分別於SEQ ID NO:68及SEQ ID NO:69中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或Fab片段包含分別於SEQ ID NO:70及SEQ ID NO:71中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或Fab片段包含分別於SEQ ID NO:72及SEQ ID NO:73中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或Fab片段包含分別於SEQ ID NO:74及SEQ ID NO:75中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或Fab片段包含分別於SEQ ID NO:76及SEQ ID NO:77中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或Fab片段包含分別於SEQ ID NO:78及SEQ ID NO:79中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或Fab片段包含分別於SEQ ID NO:80及SEQ ID NO:81中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或Fab片段包含分別於SEQ ID NO:82及SEQ ID NO:83中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或Fab片段包含分別於SEQ ID NO:84及SEQ ID NO:85中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或Fab片段包含分別於SEQ ID NO:86及SEQ ID NO:87中之VH及VL序列，

包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或Fab片段包含分別於SEQ ID NO:88及SEQ ID NO:89中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或Fab片段包含分別於SEQ ID NO:90及SEQ ID NO:91中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或Fab片段包含分別於SEQ ID NO:92及SEQ ID NO:93中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或Fab片段包含分別於SEQ ID NO:94及SEQ ID NO:95中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或Fab片段包含分別於SEQ ID NO:96及SEQ ID NO:97中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或Fab片段包含分別於SEQ ID NO:98及SEQ ID NO:99中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含分別於 SEQ ID NO:100 及 SEQ ID NO:101 中之 VH 及 VL 序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含分別於 SEQ ID NO:108 及 SEQ ID NO:109 中之 VH 及 VL 序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含分別於 SEQ ID NO:114 及 SEQ ID NO:115 中之 VH 及 VL 序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含分別於 SEQ ID NO:116 及 SEQ ID NO:117 中之 VH 及 VL 序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗體或 Fab 片段包含分別於 SEQ ID NO:183 及 SEQ ID NO:65 中之 VH 及 VL 序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗體或 Fab 片段包含分別於 SEQ ID NO:184 及 SEQ ID NO:69 中之 VH 及 VL 序列，包括彼等序列之

轉譯後修飾。

【0268】 在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含分別於 SEQ ID NO:118 及 SEQ ID NO:119 中之 VH 及 VL 序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含分別於 SEQ ID NO:120 及 SEQ ID NO:121 中之 VH 及 VL 序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含分別於 SEQ ID NO:122 及 SEQ ID NO:123 中之 VH 及 VL 序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含分別於 SEQ ID NO:124 及 SEQ ID NO:125 中之 VH 及 VL 序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含分別於 SEQ ID NO:126 及 SEQ ID NO:127 中之 VH 及 VL 序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含分別於 SEQ ID NO:128 及 SEQ ID NO:129 中之 VH 及 VL 序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含分別於 SEQ ID NO:130 及 SEQ ID NO:131 中之 VH 及 VL 序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含分別於 SEQ ID NO:132 及 SEQ ID NO:133 中之 VH 及 VL 序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含分別於 SEQ ID NO:134 及 SEQ ID NO:135 中之 VH 及 VL 序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含分別於 SEQ ID NO:136 及 SEQ ID NO:137 中之 VH 及 VL 序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體或 Fab 片段包含分別於 SEQ ID NO:138 及 SEQ ID NO:139 中之 VH 及 VL 序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類 OX40

促效抗體或Fab片段包含分別於SEQ ID NO:140及SEQ ID NO:141中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類OX40促效抗體或Fab片段包含分別於SEQ ID NO:142及SEQ ID NO:143中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類OX40促效抗體或Fab片段包含分別於SEQ ID NO:144及SEQ ID NO:145中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。在一個實施例中，該抗人類OX40促效抗體或Fab片段包含分別於SEQ ID NO:146及SEQ ID NO:147中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。

【0269】 如以上所描述，本發明之某些態樣係關於複合物。應理解，結合OX40之例示性抗體、抗原結合域及/或抗體Fab片段中之任一者(例如，本文中所描述之OX40促效抗體中之任一者的HVR、VH及/或VL結構域)均可以任何組合或構形之形式組合於本發明複合物中。在一些實施例中，複合物可包含結合OX40之相同抗原決定基的兩種或更多種不同的OX40促效劑抗體或抗原結合多肽。在一些實施例中，複合物可包含結合OX40之不同的抗原決定基(例如，諸如人類OX40之OX40多肽的部分不重疊或完全不重疊抗原決定基)的兩種或更多種不同的OX40促效抗體或抗原結合多肽。

【0270】 在一些實施例中，本發明之複合物包含四個結合OX40之抗原結合域，其中該四個抗原結合域中之每一者包含抗體重鏈可變(VH)域及抗體輕鏈可變(VL)域，其中該複合物包含一或多個結合OX40之第一抗原決定基的抗原結合域及一或多個結合OX40之第二抗原決定基的抗原結合域，且其中OX40之第一抗原決定基與第二抗原決定基不同。在一些實施例中，結合該第一抗原決定基之抗原結合域不與結合該第二抗原決定基之抗原結合域交叉競爭結合OX40。

【0271】 在一些實施例中，本發明之複合物包含四個結合 OX40 之抗原結合域，該四個抗原結合域中之每一者包含抗體重鏈可變(VH)域及抗體輕鏈可變(VL)域。在一些實施例中，該複合物包含一或多個結合 OX40 之第一抗原決定基的抗原結合域及一或多個結合 OX40 之第二抗原決定基的抗原結合域，其中結合該第一抗原決定基之抗原結合域不與結合該第二抗原決定基之抗原結合域交叉競爭結合 OX40。在一些實施例中，藉由測試作為單獨抗體或其片段之一部分的各抗原結合域，而非測試作為共用複合物之一部分的兩個結構域來進行兩個抗原結合域之間的競爭。下文提供例示性競爭分析法。在一些實施例中，不與第二抗原結合域交叉競爭同 OX40 結合之第一抗原結合域在競爭分析中阻斷該第二抗原結合域與 OX40 之結合達 50%以下。

【0272】 在一些實施例中，本發明之抗原結合域結合 OX40 (例如人類 OX40)之包含選自以下之一或多個胺基酸殘基(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13 或 14 個殘基)的抗原決定基：SEQ ID NO:281 之殘基 114-119、124、126、127、129、130、132、140 及 142。在一些實施例中，本發明之抗原結合域結合 OX40 (例如人類 OX40)之包含選自以下之一或多個胺基酸殘基(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13 或 14 個殘基)的抗原決定基：SEQ ID NO:281 之殘基 68-71、83-90、95 及 98。

【0273】 具有信號肽之人類 OX40 之完全序列(信號肽加下劃線)：

MCVGARRLGRGPCAALLLLGLGLSTVTGLHCVGDTYPSNDRCCHECRP
GNGMVSRCSRSQNTVCRPCGPGFYNDVVSSKPCKPCTWCNLRSGSERK
QLCTATQDTVCRCRAGTQPLDSYKPGVDCAPCPPGHFSPGDNQACKPW
TNCTLAGKHTLQPASNSSDAICEDRDPPATQPQETQGPPARPITVQPTEA
WPRTSQGPSTRPVEVPGGRAVAAILGLGLVLGLLGPLAILLALYLLRRD

QRLPPDAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI (SEQ ID NO:281)。

【0274】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體以小於或等於約 0.45 nM 之親和力結合人類 OX40。在一些實施例中，該 OX40 促效抗體以小於或等於約 1 nM 之親和力結合人類 OX40。在一些實施例中，該 OX40 抗體以小於或等於約 0.4 nM 之親和力結合人類 OX40。在一些實施例中，該 OX40 抗體以小於或等於約 0.5 nM 之親和力結合人類 OX40。在一些實施例中，使用放射免疫分析法來測定結合親和力。

【0275】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體結合人類 OX40 及石蟹獼猴 OX40。在一些實施例中，結合係使用 FACS 分析法來測定。在一些實施例中，與人類 OX40 之結合具有約 0.2 μg/ml 之 EC50。在一些實施例中，與人類 OX40 之結合具有約 0.3 μg/ml 以下之 EC50。在一些實施例中，與石蟹獼猴 OX40 之結合具有約 1.5 μg/ml 之 EC50。在一些實施例中，與石蟹獼猴 OX40 之結合具有約 1.4 μg/ml 之 EC50。

【0276】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體不結合大鼠 OX40 或小鼠 OX40。

【0277】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體在表現 OX40 之細胞(例如 Treg)中不誘導細胞凋亡。在一些實施例中，使用 30 μg/ml 之抗體濃度，例如藉由使用經膜聯蛋白 V 及碘化丙啶染色之 Treg 確定是否已發生細胞凋亡來分析細胞凋亡。

【0278】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體增加記憶 T 細胞增殖及/或增加該記憶細胞之細胞因子產生。在一些實施例中，該細胞因子為 IFN-γ。在一些實施例中，該 OX40 促效抗體增強記憶 T 細胞功能，例如藉由增加記憶 T 細胞增殖及/或增加該記憶細胞之細胞因子產生。在一些實施例中，該細胞因子為 γ 干擾素。

【0279】 在一些實施例中，與用該 OX40 促效抗體進行治療之前的增殖及/或細胞因子產生相比，該 OX40 促效抗體增加 CD4+效應 T 細胞增殖及/或增加該 CD4+效應 T 細胞之細胞因子產生。在一些實施例中，該細胞因子為 IFN-γ。

【0280】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體增強 CD4+效應 T 細胞功能，例如藉由增加 CD4+效應 T 細胞增殖及/或增加該 CD4+效應 T 細胞之 γ 干擾素產生(例如，與用抗人類 OX40 促效抗體進行治療之前的增殖及/或細胞因子產生相比)。在一些實施例中，該細胞因子為 γ 干擾素。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體增加腫瘤內(浸潤) CD4+效應 T 細胞之數目(例如 CD4+效應 T 細胞之總數目，或例如 CD4+細胞佔 CD45+細胞之百分比)，例如，與用抗人類 OX40 促效抗體進行治療之前的腫瘤內(浸潤) CD4+ T 細胞之數目相比。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體增加表現 γ 干擾素之腫瘤內(浸潤) CD4+效應 T 細胞之數目(例如總表現 γ 干擾素之 CD4+細胞，或例如表現 γ 干擾素之 CD4+細胞佔總 CD4+細胞之百分比)，例如，與用抗人類 OX40 促效抗體進行治療之前的表現 γ 干擾素之腫瘤內(浸潤) CD4+ T 細胞之數目相比。

【0281】 在一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效抗體之前，CD4+效應 T 細胞之數目有所升高。在一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效抗體之前，CD4+效應 T 細胞細胞因子分泌有所升高。在該等方法中任一種之一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效抗體之前，個體中之 CD8+效應 T 細胞具有增強之增殖、細胞因子分泌及/或細胞溶解活性。在一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效抗體之前，CD8+效應 T 細胞之數目有所升高。在一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效抗體之前，CD8+效應 T 細胞細胞因子分泌有所升高。

【0282】 在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體增加腫瘤內(浸潤) CD8+效應 T 細胞之數目(例如 CD8+效應 T 細胞之總數目，或例如 CD8+佔 CD45+細胞之百分比)，例如，與用抗人類 OX40 促效抗體進行治療之前的腫瘤內(浸潤) CD8+ T 效應細胞之數目相比。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體增加表現 γ 干擾素之腫瘤內(浸潤) CD8+效應 T 細胞之數目(例如表現 γ 干擾素之 CD8+細胞佔總 CD8+細胞之百分比)，例如，與用抗人類 OX40 促效抗體進行治療之前的表現 γ 干擾素之腫瘤內(浸潤)CD8+ T 細胞之數目相比。

【0283】 在一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效抗體之前，腫瘤內(浸潤) CD8+效應 T 細胞之數目(例如 CD8+效應 T 細胞之總數目，或例如 CD8+佔 CD45+細胞之百分比)有所升高。在本發明方法中之任一種的一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效抗體之前，表現 γ 干擾素之腫瘤內(浸潤) CD8+效應T細胞之數目(例如表現γ干擾素之CD8+細胞佔總CD8+細胞之百分比)有所增加。

【0284】 在一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效抗體之前，個體中之記憶 T 細胞具有增強之增殖及/或細胞因子分泌。在一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效抗體之前，記憶 T 細胞之數目有所升高。在一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效抗體之前，記憶 T 細胞細胞因子分泌(水準)有所升高。在該等方法中任一種之一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效抗體之前，個體中之 Treg 對效應 T 細胞功能(例如增殖及/或細胞因子分泌)之抑制有所減弱。在一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效抗體之前，效應 T 細胞之數目有所升高。在一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效抗體之前，效應 T 細胞細胞因子分泌(水準)有所升高。

【0285】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體抑制 Treg 對效應 T 細胞功

能之抑制。在一些實施例中，效應 T 細胞功能為效應 T 細胞增殖及/或細胞因子產生。在一些實施例中，該效應 T 細胞為 CD4+效應 T 細胞。

【0286】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體抑制 Treg 功能，例如藉由減弱 Treg 對效應 T 細胞功能(例如效應 T 細胞增殖及/或效應 T 細胞細胞因子分泌)之抑制。在一些實施例中，該效應 T 細胞為 CD4+效應 T 細胞。在一些實施例中，該 OX40 促效抗體減少腫瘤內(浸潤) Treg 之數目(例如，Treg 之總數目，或例如 Fox3p+細胞佔 CD4+細胞之百分比)。

【0287】 在一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效抗體之前，腫瘤內(浸潤) Treg 之數目(例如，Treg 之總數目，或例如 Fox3p+細胞佔 CD4+細胞之百分比)有所減少。

【0288】 在一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效抗體之前，腫瘤內(浸潤) CD4+效應 T 細胞之數目(例如 CD4+效應 T 細胞之總數目，或例如 CD4+細胞佔 CD45+細胞之百分比)有所升高。在本發明方法中之任一種的一些實施例中，相對於投與該 OX40 促效抗體之前，表現 γ 干擾素之腫瘤內(浸潤) CD4+效應 T 細胞之數目(例如總表現 γ 干擾素之 CD4+細胞，或例如表現 γ 干擾素之 CD4+細胞佔總 CD4+細胞之百分比)有所升高。

【0289】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體增加表現 OX40 之靶細胞中的 OX40 信號轉導。在一些實施例中，藉由監測 NFkB 下游信號傳導來偵測 OX40 信號轉導。

【0290】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體在 40°C下處理兩週之後為穩定的。

【0291】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體與 OX40L 競爭同人類 OX40 結合。在一些實施例中，添加 OX40L 不增強試管內分析中之 OX40 抗體功能。

【0292】 根據另一實施例，該 OX40 促效抗體包括以下性質中之任一種、任何組合或所有：(1)以小於或等於約 0.45 nM 之親和力結合人類 OX40，在一些實施例中以小於或等於約 0.4 nM 之親和力結合人類 OX40，在一些實施例中以小於或等於約 0.5 nM 之親和力結合人類 OX40，在一些實施例中使用放射免疫分析法來測定結合親和力；(2)結合人類 OX40 及石蟹獼猴 OX40，在一些實施例中使用 FACS 分析法來測定結合；(3)以約 0.2 μg/ml 之 EC50 結合人類 OX40，在一些實施例中以約 0.3 μg/ml 以下之 EC50 結合人類 OX40，在一些實施例中以約 1.5 μg/ml 之 EC50 結合石蟹獼猴 OX40，在一些實施例中以約 1.4 μg/ml 之 EC50 結合石蟹獼猴 OX40；(4)實質上不結合大鼠 OX40 或小鼠 OX40；(5)增強 CD4+效應 T 細胞功能，例如，藉由增加 CD4+效應 T 細胞增殖及/或增加該 CD4+效應 T 細胞之 γ 干擾素產生(例如，與用抗人類 OX40 促效抗體進行治療之前的增殖及/或細胞因子產生相比)；(6)增強記憶 T 細胞功能，例如藉由增加記憶 T 細胞增殖及/或增加該記憶細胞之細胞因子產生；(7)抑制 Treg 功能，例如藉由減弱 Treg 對效應 T 細胞功能(例如效應 T 細胞增殖及/或效應 T 細胞細胞因子分泌)之抑制。在一些實施例中，該效應 T 細胞為 CD4+效應 T 細胞；(8)增加表現 OX40 之靶細胞中之 OX40 信號轉導(在一些實施例中，藉由監測 NFkB 下游信號傳導來偵測 OX40 信號轉導)；及(9)在 40°C下處理兩週之後為穩定的。

【0293】 適用於本文中所描述之抗體及/或 Fab 片段中之任一者的例示性抗 OX40 HVR、VH 及 VL 序列以本發明之任何適合之組合提供於表 A 中。

表 A. *OX40 抗體序列*

名稱	序列	SEQ ID NO:
人類 OX40 (缺少信號肽)	LHCVGDTYPSNDRCCHECRPGNGMVSRCSRSQNTVC RPCGPGFYNDVVSSKPCKPCTWCNLRSGSERKQLCT ATQDTVCRCRAGTQPLDSYKPGVDCAPCPPGHFSPG DNQACKPWTNCTLAGKHTLQPASNSSDAICEDRDPP ATQPQETQGPPARPITVQPTEAWPRTSQGPSTRPVEV PGGRAVAAILGLGLVLGLLGPLAILLALYLLRRDQRL PPDAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI	1
HVR-H1- 1A7.gr.1 1A7.gr.2 1A7.gr.3 1A7.gr.4 1A7.gr.5 IA7.gr.5' 1A7.gr.6 1A7.gr.7 1A7.gr.7' 1A7.gr.NADS 1A7.gr.NADA 1A7.gr.NGDA 1A7.gr.SGDS 1A7.gr.NGSS 1A7.Ala.1 1A7.Ala.2 1A7.Ala.3 1A7.Ala.4 1A7.Ala.5 1A7.Ala.6 1A7.Ala.7 1A7.Ala.8 1A7.Ala.9 1A7.Ala.10 1A7.Ala.11 1A7.Ala.12 1A7.Ala.13 1A7.Ala.14 1A7.Ala.15 1A7.Ala.16	DSYMS	2
HVR-H2- 1A7.gr.1 1A7.gr.2 1A7.gr.3 1A7.gr.4 1A7.gr.5 1A7.gr.5' 1A7.gr.6	DMYPDNGDSSYNQKFRE	3

1A7.gr.7 1A7.gr.7' 1A7.gr.DA 1A7.gr.ES 1A7.Ala.1 1A7.Ala.2 1A7.Ala.3 1A7.Ala.4 1A7.Ala.5 1A7.Ala.6 1A7.Ala.7 1A7.Ala.8 1A7.Ala.9 1A7.Ala.10 1A7.Ala.11 1A7.Ala.12 1A7.Ala.13 1A7.Ala.14 1A7.Ala.15 1A7.Ala.16		
HVR-H3- 1A7.gr.1 1A7.gr.2 1A7.gr.3 1A7.gr.4 1A7.gr.5 1A7.gr.5' 1A7.gr.6 1A7.gr.7 1A7.gr.7' 1A7.gr.DA 1A7.gr.ES 1A7.gr.NADS 1A7.gr.NADA 1A7.gr.NGDA 1A7.gr.SGDS 1A7.gr.NGSS 1A7.gr.DANADA 1A7.Ala.1 1A7.Ala.2 1A7.Ala.3 1A7.Ala.4 1A7.Ala.5 1A7.Ala.6 1A7.Ala.7 1A7-Ala.15 1A7.Ala.16	APRWYFSV	4
HVR-L1- 1A7.gr.1 1A7.gr.2	RASQDISNYLN	5

1A7.gr.3 1A7.gr.4 1A7.gr.5 1A7.gr.5' 1A7.gr.6 1A7.gr.7 1A7.gr.7' 1A7.gr.DA 1A7.gr.ES 1A7.gr.NADS 1A7.gr.NADA 1A7.gr.NGDA 1A7.gr.SGDS 1A7.gr.NGSS 1A7.gr.DANADA 1A7.Ala.1 1A7.Ala.2 1A7.Ala.3 1A7.Ala.4 1A7.Ala.5 1A7.Ala.6 1A7.Ala.7 1A7.Ala.8 1A7.Ala.9 1A7.Ala.10 1A7.Ala.11 1A7.Ala.12 1A7.Ala.13 1A7.Ala.14 1A7.Ala.15 1A7.Ala.16		
HVR-L2- 1A7.gr.1 1A7.gr.2 1A7.gr.3 1A7.gr.4 1A7.gr.5 1A7.gr.5' 1A7.gr.6 1A7.gr.7 1A7.gr.7' 1A7.gr.DA 1A7.gr.ES 1A7.gr.NADS 1A7.gr.NADA 1A7.gr.NGDA 1A7.gr.SGDS 1A7.gr.NGSS 1A7.gr.DANADA	YTSRLRS	6

1A7.Ala.1 1A7.Ala.2 1A7.Ala.3 1A7.Ala.4 1A7.Ala.5 1A7.Ala.6 1A7.Ala.7 1A7.Ala.8 1A7.Ala.9 1A7.Ala.10 1A7.Ala.11 1A7.Ala.12 1A7.Ala.13 1A7.Ala.14 1A7.Ala.15 1A7.Ala.16		
HVR-L3- 1A7.gr.1 1A7.gr.2 1A7.gr.3 1A7.gr.4 1A7.gr.5 1A7.gr.5' 1A7.gr.6 1A7.gr.7 1A7.gr.7' 1A7.gr.DA 1A7.gr.ES 1A7.gr.NADS 1A7.gr.NADA 1A7.gr.NGDA 1A7.gr.SGDS 1A7.gr.NGSS 1A7.gr.DANADA 1A7.Ala.8 1A7.Ala.9 1A7.Ala.10 1A7.Ala.11 1A7.Ala.12 1A7.Ala.13 1A7.Ala.14 1A7.Ala.15 1A7.Ala.16	QQGHTLPPT	7
HVR-H1- 1A7.gr.DA	DAYMS	8
HVR-H1- 1A7.gr.ES 1A7.gr.DANADA	ESYMS	9
HVR-H2-	DMYPDNADSSYNQKFRE	10

1A7.gr.NADS		
HVR-H2-1A7.gr.NADA 1A7.gr.DANADA	DMYPDNADASYNQKFRE	11
HVR-H2-1A7.gr.NGDA	DMYPDNGDASYNQKFRE	12
HVR-H2-1A7.gr.SGDS	DMYPDSGDSSYNQKFRE	13
HVR-H2-1A7.gr.NGSS	DMYPDNGSSSYNQKFRE	14
HVR-H3-1A7.Ala.8	APRWYFSA	15
HVR-H3-1A7.Ala.9	APRWYASV	16
HVR-H3-1A7.Ala.10	APRWAFSV	17
HVR-H3-1A7.Ala.11	APAWYFSV	18
HVR-H3-1A7.Ala.12	APRWYFAV	19
HVR-H3-1A7.Ala.13	APRAYFSV	20
HVR-H3-1A7.Ala.14	AARWYFSV	21
HVR-L3-1A7.Ala.1	QQGHTLPAT	22
HVR-L3-1A7.Ala.2	QQGHTAPPT	23
HVR-L3-1A7.Ala.3	QQGATLPPT	24
HVR-L3-1A7.Ala.4	QQGHALPPT	25
HVR-L3-1A7.Al	QQAHTLPPT	26

a.5		
HVR-L3-1A7.Al a.6	QQGHTLAPT	27
HVR-L3-1A7.Al a.7	QAGHTLPPT	28
HVR-H1- 3C8.gr.1 3C8.gr.2 3C8.gr.3 3C8.gr.4 3C8.gr.5 3C8.gr.5.SG 3C8.gr.5.EG 3C8.gr.5.QG 3C9.gr.5.DQ 3C8.gr.5.DA 3C8.gr.6 3C8.gr.7 3C8.gr.8 3C8.gr.9 3C8.gr.10 3C8.gr.11 3C8.A.1 3C8.A.2 3C8.A.3 3C8.A.4 3C8.A.5 3C8.A.6 3C8.A.7 3C8.A.8 3C8.A.9 3C8.A.10	NYLIE	29
HVR-H2- 3C8.gr.1 3C8.gr.2 3C8.gr.3 3C8.gr.4 3C8.gr.5 3C8.gr.5.SG 3C8.gr.5.EG 3C8.gr.5.QG 3C8.gr.6 3C8.gr.7 3C8.gr.8 3C8.gr.9 3C8.gr.10 3C8.gr.11	VINPGSGDTYYSEKFKG	30

3C8.A.1 3C8.A.2 3C8.A.3 3C8.A.4 3C8.A.5 3C8.A.6 3C8.A.7 3C8.A.8 3C8.A.9 3C8.A.10		
HVR-H2- 3C8.gr.5.DA	VINPGSGDAYYSEKFKG	31
HVR-H2- 3C8.gr.5.DQ	VINPGSGDQYYSEKFKG	32
HVR-H3- 3C8.gr.1 3C8.gr.2 3C8.gr.3 3C8.gr.4 3C8.gr.5 3C8.gr.5.SG 3C8.gr.5.EG 3C8.gr.5.QG 3C8.gr.5.DA 3C8.gr.5.DQ 3C8.gr.6 3C8.gr.7 3C8.gr.8 3C8.gr.9 3C8.gr.10 3C8.gr.11 3C8.A.1 3C8.A.2 3C8.A.3 3C8.A.4 3C8.A.5 3C8.A.6 3C8.A.7	DRLDY	33
HVR-H3- 3C8.A.8	ARLDY	34
HVR-H3- 3C8.A.9	DALDY	35
HVR-H3- 3C8.A.10	DRADY	36
HVR-L1- 3C8.gr.1 3C8.gr.2 3C8.gr.3	HASQDISSYIV	37

3C8.gr.4 3C8.gr.5 3C8.gr.5.SG 3C8.gr.5.EG 3C8.gr.5.QG 3C8.gr.5.DA 3C8.gr.5.DQ 3C8.gr.6 3C8.gr.7 3C8.gr.8 3C8.gr.9 3C8.gr.10 3C8.gr.11 3C8.A.1 3C8.A.2 3C8.A.3 3C8.A.4 3C8.A.5 3C8.A.6 3C8.A.7 3C8.A.8 3C8.A.9 3C8.A.10		
HVR-L2- 3C8.gr.1 3C8.gr.2 3C8.gr.3 3C8.gr.4 3C8.gr.5 3C8.gr.5.DA 3C8.gr.5.DQ 3C8.gr.6 3C8.gr.7 3C8.gr.8 3C8.gr.9 3C8.gr.10 3C8.gr.11 3C8.A.1 3C8.A.2 3C8.A.3 3C8.A.4 3C8.A.5 3C8.A.6 3C8.A.7 3C8.A.8 3C8.A.9 3C8.A.10	HGTNLED	38
HVR-L2-3C8.gr5.SG	HGTNLES	39

HVR-L2-3C8.gr.5.EG	HGTNLEE	40
HVR-L2-3C8.gr.5.QG	HGTNLEQ	41
HVR-L3 3C8.gr.1 3C8.gr.2 3C8.gr.3 3C8.gr.4 3C8.gr.5 3C8.gr.5.SG 3C8.gr.5.EG 3C8.gr.5.QG 3C8.gr.5.DA 3C8.gr.5.DQ 3C8.gr.6 3C8.gr.7 3C8.gr.8 3C8.gr.9 3C8.gr.10 3C8.gr.11 3C8.A.8 3C8.A.9 3C8.A.10	VHYAQFPYT	42
HVR-L3-3C8.A.1	AHYAQFPYT	43
HVR-L3-3C8.A.2	VAYAQFPYT	44
HVR-L3-3C8.A.3	VHAAQFPYT	45
HVR-L3-3C8.A.4	VHYAAFPYT	46
HVR-L3-3C8.A.5	VHYAQAPYT	47
HVR-L3-3C8.A.6	VHYAQFAYT	48
HVR-L3-3C8.A.7	VHYAQFPAT	49
HVR-H1-1D2.gr.1 1D2.gr.2 1D2.gr.3	DYGVL	50

HVR-H2-1D2.gr.1 1D2.gr.2 1D2.gr.3	MIWSGGTTDYNAAFIS	51
HVR-H3-1D2.gr.1 1D2.gr.2 1D2.gr.3	EEMDY	52
HVR-L1-1D2.gr.1 1D2.gr.2 1D2.gr.3	RASQDISNFLN	53
HVR-L2-1D2.gr.1 1D2.gr.2 1D2.gr.3	YTSRLHS	54
HVR-L3-1D2.gr.1 1D2.gr.2 1D2.gr.3	QQGNTLPWT	55
1A7.gr.1 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTI TRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSV WGQGTLVTVSS	56
1A7.gr.1 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIK	57
1A7.gr.2 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTI TVDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSV WGQGTLVTVSS	58
1A7.gr.2 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIK	59
1A7.gr.3 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTL TVDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSV WGQGTLVTVSS	60
1A7.gr.3 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIK	61
1A7.gr.4 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTI TVDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSV WGQGTLVTVSS	62
1A7.gr.4 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKTVKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIK	63
1A7.gr.5 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTI TVDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSV WGQGTLVTVSS	64

1A7.gr.5 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKTVKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIK	65
1A7.gr.6 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTI TVDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSV WGQGTLVTVSS	66
1A7.gr.6 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKTVKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGKDYTLTI SSLQPEDFATYFCQQGHTLPPTFGQGTKVEIK	67
1A7.gr.7 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTI TVDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSV WGQGTLVTVSS	68
1A7.gr.7 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKTVKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGKDYTLTI SSLQPEDFATYFCQQGHTLPPTFGQGTKVEIK	69
1A7.gr.DA V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDAYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTI TRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSV WGQGTLVTVSS	70
1A7.gr.DA V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIK	71
1A7.gr.ES V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTESYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTI TRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSV WGQGTLVTVSS	72
1A7.gr.ES V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIK	73
1A7.gr.NADS V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNADSSYNQKFRERVTI TRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSV WGQGTLVTVSS	74
1A7.gr.NADS V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIK	75
1A7.gr.NADA V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNADASYNQKFRERVTI TRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSV WGQGTLVTVSS	76
1A7.gr.NADA V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIK	77
1A7.gr.NGDA V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDASYNQKFRERVTI TRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSV WGQGTLVTVSS	78
1A7.gr.NGDA V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIK	79

1A7.gr.SGDS V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDSGDSSYNQKFRERVTIT RDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSVW GQGTLVTVSS	80
1A7.gr.SGDS V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIK	81
1A7.gr.NGSS V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGSSSYNQKFRERVTIT RDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSVW GQGTLVTVSS	82
1A7.gr.NGSS V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIK	83
1A7.gr.DANADA V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDAYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNADASYNQKFRERVTI TRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSV WGQGTLVTVSS	84
1A7.gr.DANADA V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIK	85
1A7.Ala.1 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTI TRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSV WGQGTLVTVSS	86
1A7.Ala.1 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGHTLPATFGQGTKVEIK	87
1A7.Ala.2 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTI TRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSV WGQGTLVTVSS	88
1A7.Ala.2 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGHTAPPTFGQGTKVEIK	89
1A7.Ala.3 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTI TRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSV WGQGTLVTVSS	90
1A7.Ala.3 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGATLPPTFGQGTKVEIK	91
1A7.Ala.4 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTI TRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSV WGQGTLVTVSS	92
1A7.Ala.4 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGHALPPTFGQGTKVEIK	93
1A7.Ala.5 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTI TRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSV	94

	WGQGTLVTVSS	
1A7.Ala.5 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQAHTLPPTFGQGTKVEIK	95
1A7.Ala.6 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTI TRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSV WGQGTLVTVSS	96
1A7.Ala.6 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGHTLAPTFGQGTKVEIK	97
1A7.Ala.7 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTI TRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSV WGQGTLVTVSS	98
1A7.Ala.7 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQAGHTLPPTFGQGTKVEIK	99
1A7.Ala.8 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTI TRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSA WGQGTLVTVSS	100
1A7.Ala.8 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIK	101
1A7.Ala.9 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTI TRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYASV WGQGTLVTVSS	102
1A7.Ala.9 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIK	103
1A7.Ala.10 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTI TRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWAFSV WGQGTLVTVSS	104
1A7.Ala.10 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIK	105
1A7.Ala.11 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTI TRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPAWYFSV WGQGTLVTVSS	106
1A7.Ala.11 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIK	107
1A7.Ala.12 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTI TRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFAV WGQGTLVTVSS	108
1A7.Ala.12 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI	109

	SSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIK	
1A7.Ala.13 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTI TRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRAYFSVW GQGTLVTVSS	110
1A7.Ala.13 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIK	111
1A7.Ala.14 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTI TRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAARWYFSV WGQGTLVTVSS	112
1A7.Ala.14 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIK	113
1A7.Ala.15 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTI TRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCALAPRWYFSV WGQGTLVTVSS	114
1A7.Ala.15 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIK	115
1A7.Ala.16 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTI TRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVAAPRWYFSV WGQGTLVTVSS	116
1A7.Ala.16 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIK	117
3C8.gr.1 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEW VRQAPGQGLEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTITRD TSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDRLDYWGQGTL VTVSS	118
3C8.gr.1 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQ QKPGKAPKLLIYHGTNLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQGTKVEIK	119
3C8.gr.2 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEW VRQAPGQGLEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTITAD TSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDRLDYWGQGTL VTVSS	120
3C8.gr.2 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQ QKPGKAPKLLIYHGTNLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQGTKVEIK	121
3C8.gr.3 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEW VRQAPGQGLEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTA DTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDRLDYWGQGT LVTVSS	122
3C8.gr.3 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQ QKPGKAPKLLIYHGTNLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQGTKVEIK	123
3C8.gr.4	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEW	124

V_H	VRQAPGQGLEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTITAD TSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDRLDYWGQGTL VTVSS	
3C8.gr.4 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQ QKPGKSFKGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQGTKVEIK	125
3C8.gr.5 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEW VRQAPGQGLEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTA DTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDRLDYWGQGT LVTVSS	126
3C8.gr.5 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQ QKPGKSFKGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQGTKVEIK	127
3C8.gr.5.SG V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEW VRQAPGQGLEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTA DTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDRLDYWGQGT LVTVSS	128
3C8.gr.5.SG V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQ QKPGKSFKGLIYHGTNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQGTKVEIK	129
3C8.gr.5.EG V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEW VRQAPGQGLEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTA DTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDRLDYWGQGT LVTVSS	130
3C8.gr.5.EG V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQ QKPGKSFKGLIYHGTNLEEGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQGTKVEIK	131
3C8.gr.5.QG V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEW VRQAPGQGLEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTA DTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDRLDYWGQGT LVTVSS	132
3C8.gr.5.QG V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQ QKPGKSFKGLIYHGTNLEQGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQGTKVEIK	133
3C8.gr.6 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEW VRQAPGQGLEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTITAD TSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDRLDYWGQGTL VTVSS	134
3C8.gr.6 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQ QKPGKSFKGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSGSGADYTLT ISSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQGTKVEIK	135
3C8.gr.7 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEW VRQAPGQGLEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTA DTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDRLDYWGQGT LVTVSS	136
3C8.gr.7 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQ QKPGKSFKGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSGSGADYTLT ISSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQGTKVEIK	137
3C8.gr.8 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEW VRQAPGQGLEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTR DTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDRLDYWGQGT LVTVSS	138

3C8.gr.8 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQ QKPGKSFKGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQGTKVEIK	139
3C8.gr.9 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEW VRQAPGQGLEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTR DTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDRLDYWGQGT LVTVSS	140
3C8.gr.9 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQ QKPGKSPKLLIYHGTNLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQGTKVEIK	141
3C8.gr.10 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEW VRQAPGQGLEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTR DTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDRLDYWGQGT LVTVSS	142
3C8.gr.10 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQ QKPGKAFKLLIYHGTNLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQGTKVEIK	143
3C8.gr.11 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEW VRQAPGQGLEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTR DTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDRLDYWGQGT LVTVSS	144
3C8.gr.11 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQ QKPGKAPKGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQGTKVEIK	145
3C8.A.1 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEW VRQAPGQGLEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTA DTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDRLDYWGQGT LVTVSS	146
3C8.A.1 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQ QKPGKSFKGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCAHYAQFPYTFGQGTKVEIK	147
3C8.A.2 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEW VRQAPGQGLEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTA DTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDRLDYWGQGT LVTVSS	148
3C8.A.2 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQ QKPGKSFKGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCVAYAQFPYTFGQGTKVEIK	149
3C8.A.3 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEW VRQAPGQGLEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTA DTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDRLDYWGQGT LVTVSS	150
3C8.A.3 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQ QKPGKSFKGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCVHAAQFPYTFGQGTKVEIK	151
3C8.A.4 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEW VRQAPGQGLEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTA DTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDRLDYWGQGT LVTVSS	152
3C8.A.4	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQ	153

V_L	QKPGKSFKGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCVHYAAFPYTFGQGTKVEIK	
3C8.A.5 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEW VRQAPGQGLEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTA DTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDRLDYWGQGT LVTVSS	154
3C8.A.5 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQ QKPGKSFKGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCVHYAQAPYTFGQGTKVEIK	155
3C8.A.6 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEW VRQAPGQGLEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTA DTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDRLDYWGQGT LVTVSS	156
3C8.A.6 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQ QKPGKSFKGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCVHYAQFAYTFGQGTKVEIK	157
3C8.A.7 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEW VRQAPGQGLEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTA DTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDRLDYWGQGT LVTVSS	158
3C8.A.7 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQ QKPGKSFKGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCVHYAQFPATFGQGTKVEIK	159
3C8.A.8 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEW VRQAPGQGLEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTA DTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARARLDYWGQGT LVTVSS	160
3C8.A.8 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQ QKPGKSFKGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQGTKVEIK	161
3C8.A.9 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEW VRQAPGQGLEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTA DTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDALDYWGQGT LVTVSS	162
3C8.A.9 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQ QKPGKSFKGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQGTKVEIK	163
3C8.A.10 V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEW VRQAPGQGLEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTA DTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDRADYWGQGT LVTVSS	164
3C8.A.10 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQ QKPGKSFKGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQGTKVEIK	165
1D2.gr.1 V_H	EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTDYGVLWI RQPPGKGLEWIGMIWSGGTTDYNAAFISRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCVREEMDYWGQGTLV TVSS	166
1D2.gr.1 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNFLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEIK	167
1D2.gr.2	EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTDYGVLWI	168

V_H	RQPPGKGLEWIGMIWSGGTTDYNAAFISRVTISKDTS KNQVSLKLSSVTAADTAVYYCVREEMDYWGQGTLV TVSS	
1D2.gr.2 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNFLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEIK	169
1D2.gr.3 V_H	EVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTDYGVLWV RQPPGKGLEWLGMIWSGGTTDYNAAFISRLTISKDTS KNQVSLKLSSVTAADTAVYYCVREEMDYWGQGTLV TVSS	170
1D2.gr.3 V_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNFLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEIK	171
CON1 (1A7)HVR-H1	X_1X_2YMS，其中 X_1 為 D 或 E，且 X_2 為 S 或 A	172
CON1 (1A7) HVR-H2	DMYPD$X_1X_2X_3X_4$SYNQKFRE，其中 X_1 為 N 或 S，X_1 為 A 或 G，X_3 為 D 或 S，且 X_4 為 A 或 S	173
CON1 (1A7) HVR-H3	APRW$X_1X_2X_3X_4$，其中 X_1 為 Y 或 A，X_2 為 A 或 F，X_3 為 S 或 A，且 X_4 為 A 或 V。	174
CON1 (1A7) HVR-L3	Q$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$T，其中 X_1 為 A 或 Q，X_2 為 A 或 G，X_3 為 A 或 H，X_4 為 A 或 T，X_5 為 A 或 L，X_6 為 A 或 P，且 X_7 為 A 或 P。	175
CON2 (3C8) HVR-H2	VINPGSGDX_1YYSEKFKG，其中 X_1 為 T、A 或 Q。	176
CON2 (3C8) HVR-L2	HGTNLEX_1，其中 X_1 為 S、E 或 Q。	177
CON2 (3C8) HVR-L3	X_1X_2YAQFPYX_3，其中 X_1 為 V 或 A，X_2 為 H 或 A，且 X_3 為 Y 或 A。	178
1A7 V_L	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQ QKPDGTVKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGKDYFLTI SNLEQEDVAAYFCQQGHTLPPTFGGGTKLEIK	179
1A7 V_H	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDSYMSW VKQSHGKTLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFREKVTLT VDKSSTTAYMEFRSLTSEDSAVYYCVLAPRWYFSVW GTGTTVTVSS	180
3C8 V_L	DILMTQSPSSMSVSLGDTVSITCHASQDISSYIVWLQQ KPGKSFRGLIYHGTNLEDGIPSRFSGSGSGADYSLTIS SLESEDFADYYCVHYAQFPYTFGGGTKLEIK	181
3C8 V_H	QVQLQQSGAELVRPGTSVKVSCKASGYAFTNYLIEW VKQRPGQGLEWIGVINPGSGDTYYSEKFKGKVTLTA DKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARDRLDYWGQGT TLTVSS	182
1A7.gr.5' V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTL TVDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSV WGQGTLVTVSS	183
1A7.gr.7' V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTL	184

	TVDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSV WGQGTLVTVSS	
1A7 HVR-H1 M34I 變異體	DSYIS	282
1A7 HVR-H3 P96A 變異體	AARWYFSV	283
1A7 VH M34I 變異體	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYISW VRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTITR DTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSVWG QGTLVTVSS	284
1A7 VH P96A 變異體	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMS WVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTI TRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAARWYFSV WGQGTLVTVSS	285
1A7 HVR-L2 R53Y 變異體	YTSYLRS	286
1A7 VL R53Y 變異體	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYYTSYLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIK	287
3C8 HVR-H1 N31I 變異體	IYLIE	288
3C8 HVR-H2 K64L 變異體	VINPGSGDTYYSEKFLG	289
3C8 VH N31I + K64L 變異體	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTIYLIEW VRQAPGQGLEWIGVINPGSGDTYYSEKFLGRVTLTA DTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDRLDYWGQGT LVTVSS	290

【0294】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體為美國專利第 7,550,140 號中所描述之抗人類 OX40 促效抗體。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體包含有包含以下序列之重鏈：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYTMNWVRQAPGKGLEW

VSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC

AKDRYSQVHYALDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA

ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP

SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS

VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA

KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI

SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG

QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:185)；及/或包含以下序列之輕鏈：

DIVMTQSPDSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKAGQSP QLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQYYN HPTTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:186)。在一些實施例中，該抗體包含如美國專利第 7,550,140 號中所描述之抗體 008 之至少一、二、三、四、五或六個高變區(HVR)序列。在一些實施例中，該抗體包含如美國專利第 7,550,140 號中所描述之抗體 008 之重鏈可變區序列及/或輕鏈可變區序列。

【0295】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體為美國專利第 7,550,140 號中所描述之抗人類 OX40 促效抗體。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體包含序列

DIQMTQSPDSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKAGQSP QLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQYYN HPTTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:187)。在一些實施例中，該抗體包含如美國專利第 7,550,140 號中所描述之抗體 SC02008 之至少一、二、三、四、五或六個高變區(HVR)序列。在一些實施例中，該抗體包含如美國專利第 7,550,140 號中所描述之抗體 SC02008 之重鏈可變區序列及/或輕鏈可變區序列。

【0296】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體為美國專利第 7,550,140 號

中所描述之抗人類 OX40 促效抗體。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體包含有包含以下序列之重鏈：

EVQLVESGGGLVHPGGSLRLSCAGSGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEW
VSAIGTGGGTYYADSVMGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
ARYDNVMGLYWFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA
ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP
SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:188)；及/或包含以下序列之輕鏈：

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYD
ASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPAFGG
GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK
VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH
QGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:189)。在一些實施例中，該抗體包含如美國專利第 7,550,140 號中所描述之抗體 023 之至少一、二、三、四、五或六個高變區(HVR)序列。在一些實施例中，該抗體包含如美國專利第 7,550,140 號中所描述之抗體 023 之重鏈可變區序列及/或輕鏈可變區序列。

【0297】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體為美國專利第 7,960,515 號中所描述之抗人類 OX40 促效抗體。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體包含有包含以下序列之重鏈可變區：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWV

SYISSSSSTIDYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAR ESGWYLFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:190)；及/或包含以下序列之輕鏈可變區：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPPTFGGG TKVEIK (SEQ ID NO:191)。在一些實施例中，該抗體包含如美國專利第 7,960,515 號中所描述之抗體 11D4 之至少一、二、三、四、五或六個高變區(HVR)序列。在一些實施例中，該抗體包含如美國專利第 7,960,515 號中所描述之抗體 11D4 之重鏈可變區序列及/或輕鏈可變區序列。

【0298】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體為美國專利第 7,960,515 號中所描述之抗人類 OX40 促效抗體。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體包含有包含以下序列之重鏈可變區：

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEW VSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYC AKDQSTADYYFYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:192)；及/或包含以下序列之輕鏈可變區：

EIVVTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYD ASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPTFGQG TKVEIK (SEQ ID NO:193)。在一些實施例中，該抗體包含如美國專利第 7,960,515 號中所描述之抗體 18D8 之至少一、二、三、四、五或六個高變區(HVR)序列。在一些實施例中，該抗體包含如美國專利第 7,960,515 號中所描述之抗體 18D8 之重鏈可變區序列及/或輕鏈可變區序列。

【0299】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體為 WO 2012/027328 中所描述之抗人類 OX40 促效抗體。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體包

含有包含以下序列之重鏈可變區：

QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYSMHWVRQAPGQGLKW MGWINTETGEPTYADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYC ANPYYDYVSYYAMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:194)；及/或包含以下序列之輕鏈可變區：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIY SASYLYTGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQHYSTPRTFGQ GTKLEIK (SEQ ID NO:195)。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2012/027328 中所描述之抗體 hu106-222 之至少一、二、三、四、五或六個高變區(HVR)序列。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2012/027328 中所描述之抗體 hu106-222 之重鏈可變區序列及/或輕鏈可變區序列。

【0300】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體為 WO 2012/027328 中所描述之抗人類 OX40 促效抗體。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體包含有包含以下序列之重鏈可變區：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASEYEFPSHDMSWVRQAPGKGLELV AAINSDGGSTYYPDTMERRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARHYDDYYAWFAYWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO:196)；及/或包含以下序列之輕鏈可變區：

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQAPR LLIYLASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRELPL TFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:197)。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2012/027328 中所描述之抗體 Hu119-122 之至少一、二、三、四、五或六個高變區(HVR)序列。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2012/027328 中所描述之抗體 Hu119-122 之重鏈可變區序列及/或輕鏈可變區序列。

【0301】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體為 WO 2013/028231 中所描述之抗人類 OX40 促效抗體。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體包含有包含以下序列之重鏈：

MYLGLNYVFIVFLLNGVQSEVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCAASGFTFS
DAWMDWVRQSPEKGLEWVAEIRSKANNHATYYAESVNGRFTISRDDS
KSSVYLQMNSLRAEDTGIYYCTWGEVFYFDYWGQGTTLTVSSASTKGP
SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYITCNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL
VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:198)；及/或包含以下序列之輕鏈：

MRPSIQFLGLLLFWLHGAQCDIQMTQSPSSLSASLGGKVTITCKSSQDIN
KYIAWYQHKPGKGPRLLIHYTSTLQPGIPSRFSGSGSGRDYSFSISNLEPE
DIATYYCLQYDNLLTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV
VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL
SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:199)。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體包含有包含以下序列之重鏈可變區：

MYLGLNYVFIVFLLNGVQSEVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCAASGFTFS
DAWMDWVRQSPEKGLEWVAEIRSKANNHATYYAESVNGRFTISRDDS
KSSVYLQMNSLRAEDTGIYYCTWGEVFYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:214)；及/或包含以下序列之輕鏈可變區：

MRPSIQFLGLLLFWLHGAQCDIQMTQSPSSLSASLGGKVTITCKSSQDIN KYIAWYQHKPGKGPRLLIHYTSTLQPGIPSRFSGSGSGRDYSFSISNLEPE DIATYYCLQYDNLLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO:215)。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2013/028231 中所描述之抗體 Mab CH 119-43-1 之至少一、二、三、四、五或六個高變區(HVR)序列。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2013/028231 中所描述之抗體 Mab CH 119-43-1 之重鏈可變區序列及/或輕鏈可變區序列。

【0302】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體為 WO 2013/038191 中所描述之抗人類 OX40 促效抗體。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體包含有包含以下序列之重鏈可變區：

EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGLEW IGYINPYNDGTKYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYC ANYYGSSLSMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO:200)；及/或包含以下序列之輕鏈可變區：

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYY TSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPWTFGG GTKLEIKR (SEQ ID NO:201)。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2013/038191 中所描述之抗體純系 20E5 之至少一、二、三、四、五或六個高變區(HVR)序列。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2013/038191 中所描述之抗體純系 20E5 之重鏈可變區序列及/或輕鏈可變區序列。

【0303】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體為 WO 2013/038191 中所描述之抗人類 OX40 促效抗體。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體包含有包含以下序列之重鏈可變區：

EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKTSGYTFKDYTMHWVKQSHGKSLEWI

GGIYPNNGGSTYNQNFKDKATLTVDKSSSTAYMEFRSLTSEDSAVYYCA
RMGYHGPHLDFDVWGAGTTVTVSP (SEQ ID NO:202)；及/或包含以下序列之輕鏈可變區：

DIVMTQSHKFMSTSLGDRVSITCKASQDVGAAVAWYQQKPGQSPKLLI
YWASTRHTGVPDRFTGGGSGTDFTLTISNVQSEDLTDYFCQQYINYPLTF
GGGTKLEIKR (SEQ ID NO:203)。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2013/038191 中所描述之抗體純系 12H3 之至少一、二、三、四、五或六個高變區(HVR)序列。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2013/038191 中所描述之抗體純系 12H3 之重鏈可變區序列及/或輕鏈可變區序列。

【0304】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體為 WO 2014/148895A1 中所描述之抗人類 OX40 促效抗體。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體包含有包含以下序列之重鏈可變區：

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYVMHWVRQAPGQRLEW
MGYINPYNDGTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYC
ANYYGSSLSMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:204)；及/或包含以下序列之輕鏈可變區：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYY
TSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQ
GTKVEIKR (SEQ ID NO:205)。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2014/148895A1 中所描述之抗體純系 20E5 之至少一、二、三、四、五或六個高變區(HVR)序列。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2014/148895A1 中所描述之抗體純系 20E5 之重鏈可變區序列及/或輕鏈可變區序列。

【0305】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體為 WO 2014/148895A1 中所描述之抗人類 OX40 促效抗體。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗

體包含有包含以下序列之重鏈可變區：

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYVMHWVRQAPGQRLEW
MGYINPYNDGTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYC
ANYYGSSLSMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:204)；及/或包含以下序列之輕鏈可變區：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKLLIY
YTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQGNTLPWTFG
QGTKVEIKR (SEQ ID NO:206)。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2014/148895A1 中所描述之抗體純系 20E5 之至少一、二、三、四、五或六個高變區(HVR)序列。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2014/148895A1 中所描述之抗體純系 20E5 之重鏈可變區序列及/或輕鏈可變區序列。

【0306】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體為 WO 2014/148895A1 中所描述之抗人類 OX40 促效抗體。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體包含有包含以下序列之重鏈可變區：

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYVMHWVRQAPGQRLEW
IGYINPYNDGTKYNEKFKGRATITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCA
NYYGSSLSMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:207)；及/或包含以下序列之輕鏈可變區：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYY
TSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQ
GTKVEIKR (SEQ ID NO:205)。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2014/148895A1 中所描述之抗體純系 20E5 之至少一、二、三、四、五或六個高變區(HVR)序列。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2014/148895A1 中所描述之抗體純系 20E5 之重鏈可變區序列及/或輕鏈可變區序列。

【0307】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體為 WO 2014/148895A1 中所描述之抗人類 OX40 促效抗體。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體包含有包含以下序列之重鏈可變區：

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYVMHWVRQAPGQRLEWIGYINPYNDGTKYNEKFKGRATITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCANYYGSSLSMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:207)；及/或包含以下序列之輕鏈可變區：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQGNTLPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:206)。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2014/148895A1 中所描述之抗體純系 20E5 之至少一、二、三、四、五或六個高變區(HVR)序列。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2014/148895A1 中所描述之抗體純系 20E5 之重鏈可變區序列及/或輕鏈可變區序列。

【0308】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體為 WO 2014/148895A1 中所描述之抗人類 OX40 促效抗體。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體包含有包含以下序列之重鏈可變區：

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYVMHWVRQAPGQRLEWIGYINPYNDGTKYNEKFKGRATLTSDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCANYYGSSLSMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:208)；及/或包含以下序列之輕鏈可變區：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:205)。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2014/148895A1 中所描述之抗體純系 20E5 之至少一、二、三、四、五或六

個高變區(HVR)序列。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2014/148895A1 中所描述之抗體純系 20E5 之重鏈可變區序列及/或輕鏈可變區序列。

【0309】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體為 WO 2014/148895A1 中所描述之抗人類 OX40 促效抗體。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體包含有包含以下序列之重鏈可變區：

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYVMHWVRQAPGQRLEW IGYINPYNDGTKYNEKFKGRATLTSDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYC ANYYGSSLSMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:208)；及/或包含以下序列之輕鏈可變區：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKLLIY YTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQGNTLPWTFG QGTKVEIKR (SEQ ID NO:206)。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2014/148895A1 中所描述之抗體純系 20E5 之至少一、二、三、四、五或六個高變區(HVR)序列。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2014/148895A1 中所描述之抗體純系 20E5 之重鏈可變區序列及/或輕鏈可變區序列。

【0310】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體為 WO 2014/148895A1 中所描述之抗人類 OX40 促效抗體。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體包含有包含以下序列之重鏈可變區：

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFKDYTMHWVRQAPGQGLE WMGGIYPNNGGSTYNQNFKDRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVY YCARMGYHGPHLDFDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:209)；及/或包含以下序列之輕鏈可變區：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGAAVAWYQQKPGKAPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYINYPLTFG

GGTKVEIKR (SEQ ID NO:210)。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2014/148895A1 中所描述之抗體純系 12H3 之至少一、二、三、四、五或六個高變區(HVR)序列。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2014/148895A1 中所描述之抗體純系 12H3 之重鏈可變區序列及/或輕鏈可變區序列。

【0311】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體為 WO 2014/148895A1 中所描述之抗人類 OX40 促效抗體。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體包含有包含以下序列之重鏈可變區：

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFKDYTMHWVRQAPGQGLE WMGGIYPNNGGSTYNQNFKDRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVY YCARMGYHGPHLDFDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:209)；及/或包含以下序列之輕鏈可變區：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGAAVAWYQQKPGKAPKLLIY WASTRHTGVPDRFSGGGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYINYPLTFG GGTKVEIKR (SEQ ID NO:211)。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2014/148895A1 中所描述之抗體純系 12H3 之至少一、二、三、四、五或六個高變區(HVR)序列。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2014/148895A1 中所描述之抗體純系 12H3 之重鏈可變區序列及/或輕鏈可變區序列。

【0312】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體為 WO 2014/148895A1 中所描述之抗人類 OX40 促效抗體。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體包含有包含以下序列之重鏈可變區：

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFKDYTMHWVRQAPGQGLE WIGGIYPNNGGSTYNQNFKDRVTLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CARMGYHGPHLDFDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:212)；及/或包含以下序列之輕鏈可變區：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGAAVAWYQQKPGKAPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYINYPLTFG GGTKVEIKR (SEQ ID NO:210)。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2014/148895A1 中所描述之抗體純系 12H3 之至少一、二、三、四、五或六個高變區(HVR)序列。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2014/148895A1 中所描述之抗體純系 12H3 之重鏈可變區序列及/或輕鏈可變區序列。

【0313】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體為 WO 2014/148895A1 中所描述之抗人類 OX40 促效抗體。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體包含有包含以下序列之重鏈可變區：

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFKDYTMHWVRQAPGQGLE WIGGIYPNNGGSTYNQNFKDRVTLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CARMGYHGPHLDFDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:212)；及/或包含以下序列之輕鏈可變區：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGAAVAWYQQKPGKAPKLLIY WASTRHTGVPDRFSGGGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYINYPLTFG GGTKVEIKR (SEQ ID NO:211)。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2014/148895A1 中所描述之抗體純系 12H3 之至少一、二、三、四、五或六個高變區(HVR)序列。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2014/148895A1 中所描述之抗體純系 12H3 之重鏈可變區序列及/或輕鏈可變區序列。

【0314】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體為 WO 2014/148895A1 中所描述之抗人類 OX40 促效抗體。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體包含有包含以下序列之重鏈可變區：

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFKDYTMHWVRQAPGQGLE WIGGIYPNNGGSTYNQNFKDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY

CARMGYHGPHLDFDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:213)；及/或包含以下序列之輕鏈可變區：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGAAVAWYQQKPGKAPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYINYPLTFG GGTKVEIKR (SEQ ID NO:210)。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2014/148895A1 中所描述之抗體純系 12H3 之至少一、二、三、四、五或六個高變區(HVR)序列。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2014/148895A1 中所描述之抗體純系 12H3 之重鏈可變區序列及/或輕鏈可變區序列。

【0315】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體為 WO 2014/148895A1 中所描述之抗人類 OX40 促效抗體。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗體包含有包含以下序列之重鏈可變區：

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFKDYTMHWVRQAPGQGLE WIGGIYPNNGGSTYNQNFKDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CARMGYHGPHLDFDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:213)；及/或包含以下序列之輕鏈可變區：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGAAVAWYQQKPGKAPKLLIY WASTRHTGVPDRFSGGGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYINYPLTFG GGTKVEIKR (SEQ ID NO:211)。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2014/148895A1 中所描述之抗體純系 12H3 之至少一、二、三、四、五或六個高變區(HVR)序列。在一些實施例中，該抗體包含如 WO 2014/148895A1 中所描述之抗體純系 12H3 之重鏈可變區序列及/或輕鏈可變區序列。

【0316】 在一些實施例中，該促效抗人類 OX40 抗體為 L106 BD (Pharmingen，產品編號 340420)。在一些實施例中，該抗體包含抗體 L106 (BD Pharmingen，產品編號 340420)之至少一、二、三、四、五或六個高變區(HVR)

序列。在一些實施例中，該抗體包含抗體 L106 (BD Pharmingen，產品編號 340420)之重鏈可變區序列及/或輕鏈可變區序列。

【0317】 在一些實施例中，該促效抗人類 OX40 抗體為 ACT35 (Santa Cruz Biotechnology，目錄號 20073)。在一些實施例中，該抗體包含抗體 ACT35 (Santa Cruz Biotechnology，目錄號 20073)之至少一、二、三、四、五或六個高變區(HVR)序列。在一些實施例中，該抗體包含抗體 ACT35 (Santa Cruz Biotechnology，目錄號 20073)之重鏈可變區序列及/或輕鏈可變區序列。

【0318】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體為 MEDI6469。在一些實施例中，該抗體包含抗體 MEDI6469 之至少一、二、三、四、五或六個高變區(HVR)序列。在一些實施例中，該抗體包含抗體 MEDI6469 之重鏈可變區序列及/或輕鏈可變區序列。

【0319】 在一些實施例中，該 OX40 促效抗體為 MEDI0562。在一些實施例中，該抗體包含抗體 MEDI0562 之至少一、二、三、四、五或六個高變區(HVR)序列。在一些實施例中，該抗體包含抗體 MEDI0562 之重鏈可變區序列及/或輕鏈可變區序列。

非抗體 OX40 促效劑

【0320】 在某些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽包含有包含非抗體 OX40 促效劑之抗原結合區。非抗體 OX40 促效劑在此項技術中為眾所周知的。

【0321】 OX40L (亦稱為 CD134L)充當 OX40 之配位體。因而，呈現部分或整個 OX40L 之促效劑可充當 OX40 促效劑。在一些實施例中，OX40 促效劑可包括 OX40L 之一或多個細胞外域。OX40L 之細胞外域之實例可包括 OX40 結合域。在一些實施例中，OX40 促效劑可為包括 OX40L 之一或多個細胞外域但缺少該蛋白質之其他不可溶結構域(例如跨膜域)的 OX40L 可溶

形式。在一些實施例中，OX40 促效劑為包括 OX40L 之一或多個能夠結合 OX40L 之細胞外域的可溶蛋白質。

【0322】 在一些實施例中，OX40 促效劑可為美國專利第 7,696,175 號或歐洲專利第 EP0672141 B1 號中所描述之 OX40 促效劑中的任一種。在一些實施例中，OX40 促效劑可為國際公開案第 WO2006/121810 號中所描述之 OX40 促效劑中之任一種，諸如 OX40 免疫黏著素。在一些實施例中，該 OX40 促效劑為 MEDI6383。

減弱效應功能之 Fc 修飾

【0323】 在某些實施例中，本文中所描述之抗體、次單元或抗原結合多肽包含一或多個用於減弱效應功能(諸如 CDC 及/或 ADCC)之胺基酸修飾。在例示性實施例中，用於減弱效應功能之修飾為改變 Fc 區之糖基化模式的修飾，例如，產生無糖基化 Fc 區之修飾。在例示性實施例中，用於減弱效應功能之修飾為不改變 Fc 區之糖基化模式的修飾。在某些實施例中，用於減弱效應功能之修飾減少或消除與人類效應細胞之結合、與一或多種 Fc 受體之結合及/或與表現 Fc 受體之細胞的結合。在一例示性實施例中，本文中所描述之 Fc 變異體包含人類 IgG1 之 Fc 區中之 N297G 或 N297A 修飾。在一例示性實施例中，本文中所描述之 Fc 變異體包含以下修飾：人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234A、L235A 及 P329G，該等修飾引起減弱之效應功能。

【0324】 在各種實施例中，具有減弱之效應功能的 Fc 變異體係指與由野生型 Fc 區(例如不具有可減弱效應功能之突變的 Fc 區，但其可具有其他突變)所達成之效應功能相比，效應功能(例如 CDC、ADCC 及/或與 FcR 結合等活性)減弱至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、97%、98%、99%以上的 Fc 變異體。在某些實施例中，具有減弱之效應功能的 Fc 變異體係指與野生型 Fc 區相比消除所有可偵測效應功能的 Fc

變異體。用於量測效應功能之分析法在此項技術中為已知的且描述於下文。

【0325】 可進行試管內及/或活體內細胞毒性分析以證實 CDC 及/或 ADCC 活性之減弱/消耗。舉例而言，可進行 Fc 受體(FcR)結合分析以確保抗體缺少 FcγR 結合(因此可能缺少 ADCC 活性)。用於介導 ADCC 之主要細胞 NK 細胞僅表現 FcγRIII，而單核細胞表現 FcγRI、FcγRII 及 FcγRIII。造血細胞上之 FcR 表現彙總於 Ravetch 及 Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991)中。用於評定相關分子之 ADCC 活性的試管內分析之非限制性實例描述於以下文獻中：美國專利第 5,500,362 號(參見例如 Hellstrom, I.等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986))及 Hellstrom, I 等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985)；第 5,821,337 號(參見 Bruggemann, M.等人, *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987))。替代地，可採用非放射性分析法(參見例如用於流式細胞術之 ACTI™非放射性細胞毒性分析法(CellTechnology, Inc.，Mountain View，CA；及 CytoTox 96®非放射性細胞毒性分析法(Promega，Madison，WI)。適用於該等分析之效應細胞包括外周血單核細胞(PBMC)及天然殺手(NK)細胞。替代地，或另外，可在活體內，例如在諸如 Clynes 等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998)中所揭示之動物模型的動物模型中評定相關分子之 ADCC 活性。亦可進行 C1q 結合分析以證實抗體不能夠結合 C1q 且因此缺少 CDC 活性。參見例如 WO 2006/029879 及 WO 2005/100402 中之 C1q 及 C3c 結合 ELISA。為了評定補體活化，可進行 CDC 分析(參見例如 Gazzano-Santoro 等人, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996)；Cragg, M.S.等人, *Blood* 101:1045-1052 (2003)；以及 Cragg, M.S.及 M.J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004))。

【0326】 具有減弱之效應功能的Fc變異體包括在一或多個以下胺基酸殘

基處具有胺基酸取代之 Fc 變異體：238、265、269、270、297、327 及 329 (美國專利第 6,737,056 號)。該等 Fc 變異體包括在胺基酸位置 265、269、270、297 及 327 中之兩個或更多個上具有取代的 Fc 變異體，包括殘基 265 及 297 取代為丙胺酸之所謂「DANA」Fc 變異體(美國專利第 7,332,581 號)。

【0327】 描述與 FcR 之結合得到改良或削弱之某些抗體變異體(參見例如美國專利第 6,737,056 號；WO 2004/056312；及 Shields 等人, *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001))。

【0328】 在某些實施例中，本發明涵蓋具有一些而非所有效應功能，由此使其成為複合物活體內半衰期重要但某些效應功能(諸如補體及 ADCC)不必要或不利之應用的理想候選物的抗原結合複合物變異體。可進行試管內及/或活體內細胞毒性分析以證實 CDC 及/或 ADCC 活性之減弱/消耗。舉例而言，可進行 Fc 受體(FcR)結合分析以確保抗體缺少 FcγR 結合(因此可能缺少 ADCC 活性)，但保留 FcRn 結合能力。用於介導 ADCC 之主要細胞 NK 細胞僅表現 FcγRIII，而單核細胞表現 FcγRI、FcγRII 及 FcγRIII。造血細胞上之 FcR 表現彙總於 Ravetch 及 Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991) 第 464 頁之表 3 中。用於評定相關分子之 ADCC 活性的試管內分析之非限制性實例描述於以下文獻中：美國專利第 5,500,362 號(參見例如 Hellstrom, I. 等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986))及 Hellstrom, I 等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985)；第 5,821,337 號(參見 Bruggemann, M.等人, *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987))。替代地，可採用非放射性分析法(參見例如用於流式細胞術之 ACTI™非放射性細胞毒性分析法(CellTechnology, Inc.，Mountain View，CA；及 CytoTox 96®非放射性細胞毒性分析法(Promega，Madison，WI)。適用於該等分析之效應細胞包括外周血單核細胞(PBMC)及天然殺手(NK)細胞。替代地，或另外，可在活

體內，例如在諸如 Clynes 等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998) 中所揭示之動物模型的動物模型中評定相關分子之 ADCC 活性。亦可進行 C1q 結合分析以證實抗體不能夠結合 C1q 且因此缺少 CDC 活性。參見例如 WO 2006/029879 及 WO 2005/100402 中之 C1q 及 C3c 結合 ELISA。為了評定補體活化，可進行 CDC 分析(參見例如 Gazzano-Santoro 等人, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996)；Cragg, M.S.等人, *Blood* 101:1045-1052 (2003)；以及 Cragg, M.S.及 M.J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004))。亦可使用此項技術中已知的方法來進行 FcRn 結合及活體內清除率/半衰期測定(參見例如 Petkova, S.B.等人, *Int'l. Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006))。

【0329】 在某些實施例中，本文中所描述之 Fc 變異體可在 Fc 區中包含一或多個引起C1q結合及/或補體依賴性細胞毒性(CDC)削弱之修飾，例如，如以下文獻中所描述：美國專利第 6,194,551 號；WO 99/51642；及 Idusogie 等人, *J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000)。在例示性實施例中，本文中所描述之 Fc 變異體在人類 IgG1 之 Fc 區中之離胺酸 322 處包含修飾(殘基之 EU 編號)。在一些實施例中，該(等)修飾導致 C1q 結合及/或 CDC 削弱，例如，與無修飾之 Fc 區相比。舉例而言，在某些實施例中，本文中所描述之 Fc 變異體在人類 IgG1 之 Fc 區中包含 K322A 修飾(殘基之 EU 編號)，例如，如美國專利第 6,194,551 號、WO 99/51642 及 Idusogie 等人, *J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000)中所描述。其他此種例示性修飾(在人類 IgG1 之 Fc 區中，且根據殘基之 EU 編號)包括但不限於 D270K、D270V、P329A 及 P331A。

【0330】 在某些實施例中，本文中所描述之 Fc 變異體包含如 Strohl, Current Opinion in Biotechnology, 20;685-691 (2009)中所描述之減弱效應功能之對 Fc 區之修飾。在例示性實施例中，本文中所描述之 Fc 變異體在選自以下之一或多個胺基酸殘基處包含修飾(殘基之 EU 編號)：

(a) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 N297A；

(b) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 234 及 235；

(c) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 234、235 及 329；

(d) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 234 及 237；

(e) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 235、237 及 318；

(f) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 228 及 236；

(g) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 268、309、330 及 331；

(h) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 220、226、229 及 238；

(i) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 226、229、233、234 及 235；

(j) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 234、235 及 331；

(k) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 226 及 230；以及

(l) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 267 及 328，

其中該等修飾減弱 Fc 結構域之效應功能。

【0331】 在其他例示性實施例中，本文中所描述之 Fc 變異體包含選自以下之減弱效應功能之修飾(殘基之 EU 編號)：

(a) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 N297A；

(b) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234A 及 L235A；

(c) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234A、L235A 及 P329G；

(d) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 V234A 及 G237A；

(e) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 L235A、G237A 及 E318A；

(f) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 S228P 及 L236E；

(g) 跨越人類 IgG2 之 Fc 區中之胺基酸殘基 118 至 260 的區域中或跨越人類 IgG4 之 Fc 區中之胺基酸 261 至 447 的區域中的一或多個取代；

(h) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 H268Q、V309L、A330S 及 A331S；

(i) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 C220S、C226S、C229S 及 P238S；

(j) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 C226S、C229S、E233P、L234V 及 L235A；

(k) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234F、L235E 及 P331S；

(l) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 C226S 及 P230S；以及

(m) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 S267E 及 L328F。

【0332】 在某些實施例中，本文中所描述之 Fc 變異體不包含減弱效應功能之 N297A 修飾。

【0333】 在一例示性實施例中，本文中所提供之促效抗原結合複合物在不存在 FcR 結合之情況下結合並促效 OX40。在一例示性實施例中，本文中所提供之促效抗原結合複合物結合並促效 OX40，同時與在 Fc 區中不含有減弱效應功能之突變的等效抗原結合複合物相比，具有減弱之 FcR 結合。在各種實施例中，本文中所提供之促效抗原結合複合物結合並促效 OX40，同時與Fc區中不含有減弱效應功能之突變的等效抗原結合複合物相比，FcR 結合減少至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95% 以上。在某些實施例中，本文中所提供之促效抗原結合複合物結合並促效 OX40，同時與 Fc 區中不含有減弱效應功能之突變的等效抗原結合複合物相比，FcR 結合減少至少 50%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98% 以上。

III. 具有促效活性之抗原結合複合物之產生

【0334】 本發明之某些態樣係關於產生對細胞表面受體具有促效活性之抗原結合複合物(例如四價抗原結合複合物)的方法。

【0335】 在一些實施例中，該等方法包括組裝第一次單元及第二次單元，以及經由連接子使該第一次單元與該第二次單元偶聯。在一些實施例中，該第一次單元及/或該第二次單元為雙特異性抗體。用於組裝雙或多特異性

抗體之多種技術為此項技術中已知的且描述於本文中(例如參見下文)。舉例而言，在一些實施例中，該等方法包括提供第一半抗體及第二半抗體，接著在試管內組裝該第一半抗體及該第二半抗體以形成第一次單元或雙特異性抗體。在一些實施例中，該第一半抗體包含第一抗體重鏈可變域(VH_1)及第一抗體輕鏈可變域(VL_1)。在一些實施例中，該第二半抗體包含第二抗體重鏈可變域(VH_2)及第二抗體輕鏈可變域(VL_2)。在一些實施例中，該等方法進一步包括提供第三半抗體及第四半抗體，接著在試管內組裝該第三半抗體及該第四半抗體以形成第二次單元或雙特異性抗體。在一些實施例中，該第三半抗體包含該第一抗體重鏈可變域(VH_1)及該第一抗體輕鏈可變域(VL_1)。在一些實施例中，該第四半抗體包含該第二抗體重鏈可變域(VH_2)及該第二抗體輕鏈可變域(VL_2)。在一些實施例中，該等次單元之一或兩者皆包含特異性結合(例如，細胞表面受體之)一個抗原決定基的第一半抗體(例如 VH_1 及 VL_1)及特異性結合(例如，相同細胞表面受體之)不同的抗原決定基的第二半抗體(例如 VH_2 及 VL_2)。在一些實施例中，該等次單元之一或兩者皆包含特異性結合(例如，細胞表面受體之)一個抗原決定基的第一半抗體(例如 VH_1 及 VL_1)及特異性結合相同抗原決定基的第二半抗體(例如 VH_2 及 VL_2)。儘管此代表用於產生抗原結合複合物(例如，如**圖 3A 及圖 3B** 中所說明之「c:IgG-IgG」形式)之例示性方法，但本發明涵蓋使用此項技術中已知的技術，包括用於產生雙特異性抗體的其他技術、不同的連接子、不同的偶聯策略等的其他適合之產生方法。

【0336】 在一些實施例中，該第一次單元及該第二次單元經由連接子化學偶聯。多種化學偶聯技術為此項技術中已知的且描述於本文中(例如，參見下文)。舉例而言，在一些實施例中，來自各次單元之一個半抗體包括經工程改造之游離半胱胺酸，且使用此項技術中已知及本文中所描述之技術

來偶聯該經工程改造之游離半胱胺酸(例如，參見下文)。因而，此不對稱性允許該複合物之一致構形，因為僅一種配對為可能的。例示性游離半胱胺酸描述於本文中且包括但不限於選自根據 EU 編號之 T114C、A118C、A140C、L174C、L179C、T187C、T209C、V262C、G371C、Y373C、E382C、S400C、S424C、N434C 及 Q438C 之重鏈半胱胺酸胺基酸；及選自根據 Kabat 編號之 I106C、R108C、R142C、K149C 及 V205C 之輕鏈半胱胺酸胺基酸。

【0337】 在一些實施例中，該第一次單元及該第二次單元經由本發明之雙馬來醯亞胺基聚乙二醇(PEG)連接子發生化學偶聯。舉例而言，在一些實施例中，使該等次單元偶聯包括使該兩個次單元與本發明之雙馬來醯亞胺基聚乙二醇(PEG)連接子反應，及純化該複合物。可使用此項技術中已知的多種純化技術。在一些實施例中，該純化包括尺寸排阻層析法及/或陰離子交換層析法。

【0338】 在一些實施例中，該等方法包括提供抗體及兩個抗體Fab片段，接著經由連接子使該等抗體 Fab 片段之一與該兩個半抗體中之每一個偶聯。在一些實施例中，該抗體包含兩個半抗體。在一些實施例中，各半抗體包含有包含第一抗體重鏈可變域(VH_1)之抗體重鏈及包含第一抗體輕鏈可變域(VL_1)之抗體輕鏈。在一些實施例中，各抗體 Fab 片段包含第二抗體重鏈可變域(VH_2)及第二抗體輕鏈可變域(VL_2)。在一些實施例中，該複合物包含兩個半抗體，各自具有特異性結合(例如，細胞表面受體之)一個抗原決定基的 VH_1 及 VL_1；及兩個 Fab 片段，各自具有特異性結合(例如，相同細胞表面受體之)不同的抗原決定基的 VH_2 及 VL_2。在一些實施例中，該複合物包含兩個半抗體，各自具有特異性結合(例如，細胞表面受體之)一個抗原決定基的 VH_1 及 VL_1；及兩個 Fab 片段，各自具有特異性結合該細胞表面受體之相同抗原決定基的 VH_2 及 VL_2。儘管此代表用於產生抗原結合複合物(例

如，如**圖 3A 及圖 3B** 中所說明之「c:Fab-IgG」形式)之例示性方法，但本發明涵蓋使用此項技術中已知的技術，包括不同的連接子(例如多肽連接子)、不同的偶聯策略(例如，使用與 Fab 片段連接之單鏈抗體或半抗體之基因偶聯)等的其他適合之產生方法。

【0339】 在一些實施例中，該兩個 Fab 片段各自經由連接子與該抗體化學偶聯。多種化學偶聯技術為此項技術中已知的且描述於本文中(例如，參見下文)。舉例而言，在一些實施例中，各半抗體及 Fab 片段包括經工程改造之游離半胱胺酸，各 Fab 片段經由該經工程改造之游離半胱胺酸與一個半抗體偶聯，且使用此項技術中已知的及本文中所描述的技術來偶聯該經工程改造之游離半胱胺酸(例如，參見下文)。例示性游離半胱胺酸描述於本文中且包括但不限於選自根據 EU 編號之 T114C、A118C、A140C、L174C、L179C、T187C、T209C、V262C、G371C、Y373C、E382C、S400C、S424C、N434C 及 Q438C 之重鏈半胱胺酸胺基酸；及選自根據 Kabat 編號之 C 末端半胱胺酸 I106C、R108C、R142C、K149C 及 V205C 之輕鏈半胱胺酸胺基酸。舉例而言，在某些實施例中(例如，如參考**圖 6 及圖 7** 所描述)，各 Fab 片段經由連接子，使用 Fab 片段上之 C 末端經工程改造之游離半胱胺酸及抗體輕鏈上之 K149C 經工程改造之游離半胱胺酸與抗體輕鏈發生化學偶聯。

【0340】 在一些實施例中，該抗體及該兩個 Fab 片段經由本發明之雙馬來醯亞胺基聚乙二醇(PEG)連接子發生化學偶聯。舉例而言，在一些實施例中，使該等次單元偶聯包括使該兩個抗體 Fab 片段中之每一者與雙馬來醯亞胺基聚乙二醇(PEG)連接子反應以形成兩個雙馬來醯亞胺基結合之抗體 Fab 片段，移除過量雙馬來醯亞胺基 PEG 連接子，使該兩個雙馬來醯亞胺基結合之抗體 Fab 片段中之每一者與該抗體反應以形成該複合物，及純化該複合物。可使用此項技術中已知的多種純化技術。在一些實施例中，該

純化包括尺寸排阻層析法及/或陰離子交換層析法。

【0341】 在一些實施例中，該等方法包括在宿主細胞中表現兩個抗體重鏈。在一些實施例中，各抗體重鏈自 N 末端至 C 末端包含第一抗體重鏈可變域(VH_1)、第一抗體重鏈 CH1 結構域($CH1_1$)、第二重鏈可變域(VH_2)、第二重鏈 CH1 結構域($CH1_2$)、抗體重鏈 CH2 結構域及抗體重鏈 CH3 結構域。在一些實施例中，各 VH_1 及/或各 $CH1_1$ 包含用於正交配對之第一修飾，且各 VH_2 及/或各 $CH1_2$ 包含不同的(例如與該 VH_1 及/或 $CH1_1$ 之修飾相比)用於正交配對之第二修飾。在一些實施例中，該等方法進一步包括在宿主細胞中表現兩個第一抗體輕鏈。在一些實施例中，該兩個第一抗體輕鏈中之每一者自 N 末端至 C 末端包含第一抗體輕鏈可變域(VL_1)及第一抗體輕鏈恆定域(CL_1)。在一些實施例中，該 VL_1 及/或該 CL_1 包含用於與該抗體重鏈之第一修飾正交配對之修飾。在一些實施例中，該等方法進一步包括在宿主細胞中表現兩個第二抗體輕鏈。在一些實施例中，該兩個第二抗體輕鏈中之每一者自 N 末端至 C 末端包含第二抗體輕鏈可變域(VL_2)及第二抗體輕鏈恆定域(CL_2)。在一些實施例中，該 VL_2 及/或該 CL_2 包含用於與該抗體重鏈之第二修飾正交配對之修飾。在該宿主細胞中表現後，該兩個抗體重鏈締合，該兩個重鏈中之每一者與第一抗體輕鏈經由正交配對而偶聯，且該兩個重鏈中之每一者與第二抗體輕鏈經由正交配對而偶聯。在一些實施例中，該抗原結合複合物為雙抗原決定基的。儘管此代表用於產生抗原結合複合物(例如，如**圖 3A 及圖 3B** 中所說明之「r:Fab-IgG」形式)之例示性方法，但本發明涵蓋使用此項技術中已知的技術，包括不同的連接子(例如多肽連接子)、不同的偶聯策略(例如，使用與 Fab 片段連接之單鏈抗體或半抗體之基因偶聯)等的其他適合之產生方法。

【0342】 例示性正交變異體配對描述於本文中；關於進一步描述，參見

例如 PCT/US2016/028850。舉例而言，在一些實施例中，該抗體重鏈之該第一修飾及/或該第二修飾選自 VH-Q39K、VH-Q39E、CH1-S183E、CH1-S183K、CH1-A141I、CH1-F170S、CH1-S181M、CH1-S183A 及 CH1-V185A (EU 編號)。在一些實施例中，該第一抗體輕鏈及/或該第二抗體輕鏈之該等修飾選自 VL-Q38E、VL-Q38K、CL-V133K、CL-V133E、CL-F116A、CL-L135V、CL-S174A、CL-S176F 及 CL-T178V (EU 編號)。

雙特異性抗體

【0343】 在某些實施例中，本文中所提供之抗原結合多肽、次單元或抗體為多特異性的，例如雙特異性的。多特異性抗體為對至少兩個不同的位點或抗原決定基具有結合特異性之單株抗體。在一些實施例中，雙特異性抗體、次單元或抗原結合多肽對相同標靶，例如細胞表面受體之至少兩個不同的抗原決定基具有結合特異性。

【0344】 用於製造多特異性抗體之技術包括但不限於重組共表現具有不同特異性之兩個免疫球蛋白重鏈-輕鏈配對(參見 Milstein 及 Cuello, *Nature* 305: 537 (1983))、WO 93/08829 及 Traunecker 等人, *EMBO J.* 10 : 3655 (1991))及「杵入臼」工程改造(參見例如美國專利第 5,731,168 號)。多特異性抗體亦可藉由以下方式來製造：對靜電牽引效應進行工程改造以製造抗體 Fc 異源二聚分子(WO 2009/089004A1)；使兩個或更多個抗體或片段交聯(參見例如美國專利第 4,676,980 號及 Brennan 等人, *Science*, 229: 81 (1985))；使用白胺酸拉鏈產生雙特異性抗體(參見例如 Kostelny 等人, *J. Immunol.*, 148(5):1547-1553 (1992))；使用「雙功能抗體」技術來製造雙特異性抗體片段(參見例如 Hollinger 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993))；及使用單鏈 Fv (sFv)二聚體(參見例如 Gruber 等人, *J. Immunol.*,152:5368 (1994))；及製備三特異性抗體，例如，如 Tutt 等人, *J. Immunol.* 147: 60 (1991)

中所描述。

【0345】 在一些實施例中，例如，如下文所例示，藉由「杵入臼」工程改造來產生雙特異性抗體。舉例而言，兩個半抗體可以試管內組裝成雙特異性抗體，其中第一半抗體在其CH3結構域中包含形成突起之胺基酸修飾，而第二半抗體在其 CH3 結構域中包含形成凹穴之胺基酸修飾。該突起可置於該凹穴中，從而在組裝後形成雙特異性抗體。

【0346】 在此方法中，兩個免疫球蛋白多肽(例如重鏈多肽)各自包含界面。一個免疫球蛋白多肽之界面與另一免疫球蛋白多肽之相應界面相互作用，從而允許該兩個免疫球蛋白多肽締合。此等界面可經工程改造以使得位於一個免疫球蛋白多肽之界面中的「杵」或「突起」(此等術語在本文中可互換使用)對應於位於另一免疫球蛋白多肽之界面中的「臼」或「凹穴」(此等術語在本文中可互換使用)。在一些實施例中，該臼與該杵具有相同或相似之尺寸，且適當地定位，以使得當該兩個界面相互作用時，一個界面之杵可位於另一界面之相應臼中。不希望受理論束縛，認為此可穩定異源多聚體且有利於形成異源多聚體而非其他物質，例如同源多聚體。在一些實施例中，此方法可用於促進兩個不同的免疫球蛋白多肽之異源多聚，從而產生對不同的抗原決定基具有結合特異性之包含兩個免疫球蛋白多肽之雙特異性抗體。

【0347】 在一些實施例中，可藉由用較大側鏈置換小胺基酸側鏈來構建杵狀結構。在一些實施例中，可藉由用較小側鏈置換大胺基酸側鏈來構建臼狀結構。杵或臼可存在於原始界面中，或其可合成引入。舉例而言，杵或臼可藉由改變編碼界面之核酸序列以便用至少一個「輸入」胺基酸殘基置換至少一個「原始」胺基酸殘基而合成引入。用於改變核酸序列之方法可包括此項技術中眾所周知的標準分子生物學技術。各種胺基酸殘基之側

鏈體積示於下表中。在一些實施例中，原始殘基具有小側鏈體積(例如丙胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、甘胺酸、絲胺酸、蘇胺酸或纈胺酸)，而用於形成杵狀結構之輸入殘基為天然存在之胺基酸且可包括精胺酸、苯丙胺酸、酪胺酸及色胺酸。在一些實施例中，原始殘基具有大側鏈體積(例如精胺酸、苯丙胺酸、酪胺酸及色胺酸)，而用於形成臼之輸入殘基為天然存在之胺基酸且可包括丙胺酸、絲胺酸、蘇胺酸及纈胺酸。

表 B. 胺基酸殘基之性質

胺基酸	單字母縮寫	質量 [a] (道爾頓)	體積 [b] ($Å^3$)	可及表面積 [c] ($Å^2$)
丙胺酸(Ala)	A	71.08	88.6	115
精胺酸(Arg)	R	156.20	173.4	225
天冬醯胺(Asn)	N	114.11	117.7	160
天冬胺酸(Asp)	D	115.09	111.1	150
半胱胺酸(Cys)	C	103.14	108.5	135
麩醯胺酸(Gln)	Q	128.14	143.9	180
麩胺酸(Glu)	E	129.12	138.4	190
甘胺酸(Gly)	G	57.06	60.1	75
組胺酸(His)	H	137.15	153.2	195
異白胺酸(Ile)	I	113.17	166.7	175
白胺酸(Leu)	L	113.17	166.7	170
離胺酸(Lys)	K	128.18	168.6	200
甲硫胺酸(Met)	M	131.21	162.9	185
苯丙胺酸(Phe)	F	147.18	189.9	210
脯胺酸(Pro)	P	97.12	122.7	145
絲胺酸(Ser)	S	87.08	89.0	115
蘇胺酸(Thr)	T	101.11	116.1	140
色胺酸(Trp)	W	186.21	227.8	255
酪胺酸(Tyr)	Y	163.18	193.6	230
纈胺酸(Val)	V	99.14	140.0	155

[a] 胺基酸之分子量減水之分子量。來自於 Handbook of Chemistry and Physics 第 43 版, Cleveland, Chemical Rubber Publishing Co., 1961 之值。

[b] 來自於 A.A. Zamyatnin, Prog. Biophys. Mol. Biol. 24:107-123, 1972 之值。

°來自於 C. Chothia, J. Mol. Biol. 105:1-14, 1975 之值。可及表面積定義於此參考文獻之圖 6 至圖 20 中。

【0348】 在一些實施例中，基於異源多聚體之三維結構來鑑定用於形成杵或臼之原始殘基。此項技術中已知的用於獲得三維結構之技術可包括 X 射線結晶學及 NMR。在一些實施例中，該界面為免疫球蛋白恆定域之 CH3 結構域。在此等實施例中，人類 IgG_1 之 CH3/CH3 界面涉及各結構域之位於四個反平行 β 股上的十六個殘基。不希望受理論束縛，突變殘基較佳位於兩個中心反平行 β 股上，以便將杵狀結構可容納於周圍溶劑而非伴侶 CH3 結構域中之互補臼狀結構中的風險減至最小。在一些實施例中，形成兩個免疫球蛋白多肽中之相應杵狀結構及臼狀結構之突變對應於下表中所提供之一或多個配對。

表 C. 相應杵形成突變及臼形成突變之例示性組

第一免疫球蛋白之 CH3	**第二免疫球蛋白之 CH3**
T366Y	Y407T
T366W	Y407A
F405A	T394W
Y407T	T366Y
T366Y:F405A	T394W:Y407T
T366W:F405W	T394S:Y407A
F405W:Y407A	T366W:T394S
F405W	T394S

突變由原始殘基繼之以使用 Kabat 編號系統之位置接著為輸入殘基來表示(所有殘基均以單字母胺基酸代碼給出)。多個突變由冒號分開。

【0349】 在一些實施例中，免疫球蛋白多肽包含有包含以上表 C 中所列出之一或多個胺基酸取代之 CH3 結構域。在一些實施例中，雙特異性抗體包含第一免疫球蛋白多肽，該第一免疫球蛋白多肽包含有包含表 C 之左側行中所列出之一或多個胺基酸取代的CH3結構域;及第二免疫球蛋白多肽，該第二免疫球蛋白多肽包含有包含表 C 之右側行中所列出之一或多個相應

胺基酸取代的 CH3 結構域。

【0350】 在如以上所論述之 DNA 突變後，可使用此項技術中已知的標準重組技術及細胞系統來表現並純化編碼具有一或多個相應杵形成突變或臼形成突變之經修飾免疫球蛋白多肽之聚核苷酸。參見例如美國專利第 5,731,168 號、第 5,807,706 號、第 5,821,333 號、第 7,642,228 號、第 7,695,936 號、第 8,216,805 號；美國公開案第 2013/0089553 號；及 Spiess 等人, Nature Biotechnology 31: 753-758, 2013。經修飾免疫球蛋白多肽可使用諸如大腸桿菌之原核宿主細胞或諸如 CHO 細胞之真核宿主細胞來產生。攜帶相應杵及臼之免疫球蛋白多肽可在宿主細胞中表現於共同培養物中且共同純化為異源多聚體，或其可表現於單一培養物中，單獨純化，並且在試管內組裝。在一些實施例中，使用此項技術中已知的標準細菌培養技術共同培養兩個細菌宿主細胞菌株(一個表現具有杵狀結構之免疫球蛋白多肽，而另一個表現具有臼狀結構之免疫球蛋白多肽)。在一些實施例中，可將該兩個菌株以特定比率混合，例如，以便在培養物中達成相等表現水準。在一些實施例中，可將該兩個菌株以 50:50、60:40 或 70:30 比率混合。在多肽表現之後，可使該等細胞共同溶解，並且可提取蛋白質。此項技術中已知的允許量測同源多聚物質相對於異源多聚物質之豐度的標準技術可包括尺寸排阻層析法。在一些實施例中，使用標準重組技術單獨表現各經修飾之免疫球蛋白多肽，並且可在試管內將其組裝在一起。組裝可例如藉由純化各經修飾免疫球蛋白多肽、將其以相等質量混合在一起並培育、還原二硫鍵(例如藉由用二硫蘇糖醇處理)、濃縮並且使多肽再氧化來達成。可使用標準技術(包括陽離子交換層析法)純化並且使用標準技術(包括尺寸排阻層析法)量測所形成之雙特異性抗體。關於此等方法之更詳細描述，參見 Speiss 等人, *Nat Biotechnol* 31:753-8, 2013。在一些實施例中，可在 CHO 細胞中單獨表現經

修飾之免疫球蛋白多肽，並且使用以上描述之方法在試管內進行組裝。

【0351】 根據一種不同的方法，使具有所要結合特異性之抗體可變域(抗體-抗原結合部位)與免疫球蛋白恆定域序列融合。該融合較佳與免疫球蛋白重鏈恆定域進行，包含鉸鏈區、CH2 區及 CH3 區之至少一部分。具有含有至少一種融合物中所存在之輕鏈結合所必需的位點的第一重鏈恆定區(CH1)為典型的。將編碼免疫球蛋白重鏈融合物及需要時免疫球蛋白輕鏈之 DNA 插入單獨的表現載體中，且共轉染至適合之宿主生物體中。由此，在諸多實施例中，當用於構建之三個多肽鏈的不相等比率提供最佳產率時，在調節三個多肽片段之相互比例方面提供較大靈活性。然而，當至少兩個多肽鏈以相等比率表現導致高產率時或當該等比率不具有特定顯著性時，有可能在一個表現載體中插入兩個或全部三個多肽鏈的編碼序列。

【0352】 在此方法之一個實施例中，雙特異性抗體由一個臂中之具有第一結合特異性之混雜免疫球蛋白重鏈及另一臂中之混雜免疫球蛋白重鏈-輕鏈配對(提供第二結合特異性)構成。據發現，此不對稱結構促進所要雙特異性化合物與不需要之免疫球蛋白鏈組合分離，因為僅一半雙特異性分子中存在免疫球蛋白輕鏈提供一種易行之分離方式。此方法揭示於 WO 94/04690 中。關於產生雙特異性抗體之進一步細節，參見例如 Suresh 等人, *Methods in Enzymology*, 121:210 (1986)。

【0353】 根據 WO96/27011 中所描述之另一種方法，一對抗體分子之間的界面可經工程改造以使自重組細胞培養物中回收之異源二聚體之百分比最大化。一個界面包含抗體恆定域之 C_H3 結構域的至少一部分。在此方法中，用較大側鏈(例如酪胺酸或色胺酸)置換來自第一抗體分子之界面的一或多個小胺基酸側鏈。藉由用較小胺基酸側鏈(例如丙胺酸或蘇胺酸)置換大胺基酸側鏈而在第二抗體分子之界面上產生具有與大側鏈相同或相似尺寸之

互補「凹穴」。由此提供一種用於使異源二聚體之產率增加，從而超過其他不需要之最終產物(諸如同源二聚體)的機制。

【0354】 雙特異性抗體包括交聯或「異源結合物」抗體。舉例而言，異源結合物中之抗體中一個可與親和素偶聯，而另一個與生物素偶聯。舉例而言，已提出此種抗體使免疫系統細胞靶向不需要之細胞(美國專利第4,676,980號)，且用於治療 HIV 感染(WO 91/00360、WO 92/200373 及 EP 03089)。可使用任何便利之交聯方法來製造異源結合物抗體。適合之交聯劑為此項技術中眾所周知的，且連同許多交聯技術一起揭示於美國專利第4,676,980號中。

【0355】 用於由抗體片段產生雙特異性抗體之技術亦描述於文獻中。舉例而言，可使用化學鍵聯來製備雙特異性抗體。Brennan 等人, *Science*, 229: 81 (1985)描述了一種程序，其中使完整抗體發生蛋白水解裂解以產生 $F(ab')_2$ 片段。此等片段在二硫醇複合劑亞砷酸鈉存在下經還原以穩定鄰位二硫醇且防止分子間二硫鍵形成。接著將所產生之 Fab'片段轉化成硫代硝基苯甲酸酯(TNB)衍生物。然後藉由用巰基乙胺還原而將 Fab'-TNB 衍生物之一再轉化成 Fab'-硫醇，並且與等莫耳量之另一 Fab'-TNB 衍生物混合以形成雙特異性抗體。所產生之雙特異性抗體可用作用於對酶進行選擇性固定之試劑。

【0356】 最新進展已有助於自大腸桿菌直接回收 Fab'-SH 片段，其可化學偶聯以形成雙特異性抗體。Shalaby 等人, *J. Exp. Med.*, 175: 217-225 (1992)描述完全人類化雙特異性抗體 $F(ab')_2$ 分子之產生。各 Fab'片段單獨自大腸桿菌分泌且在試管內經歷直接化學偶聯以形成雙特異性抗體。

【0357】 亦已描述用於由重組細胞培養物直接製造及分離雙特異性抗體片段之各種技術。舉例而言，已使用白胺酸拉鏈來產生雙特異性抗體。

Kostelny 等人, *J. Immunol.*, 148(5):1547-1553 (1992)。藉由基因融合將來自 Fos 及 Jun 蛋白之白胺酸拉鏈肽連接至兩個不同的抗體之 Fab'部分。抗體同源二聚體在鉸鏈區經還原以形成單體，接著再氧化以形成抗體異源二聚體。此方法亦可用於產生抗體同源二聚體。Hollinger 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993)所描述之「雙功能抗體」技術已提供用於製造雙特異性抗體片段之替代機制。該等片段包含藉由因過短而不允許相同鏈上之兩個結構域之間發生配對的連接子與輕鏈可變域(V_L)連接之重鏈可變域(V_H)。因此，促使一個片段之 V_H 及 V_L 結構域與另一片段之互補 V_L 及 V_H 結構域配對，從而形成兩個抗原結合位點。亦已報導藉由使用單鏈 Fv (sFv) 二聚體來製造雙特異性抗體片段之另一策略。參見 Gruber 等人, *J. Immunol*, 152:5368 (1994)。

【0358】 用於製造雙特異性抗體片段之另一技術為「雙特異性 T 細胞銜接子」或 BiTE® 方法(參見例如 WO2004/106381、WO2005/061547、WO2007/042261 及 WO2008/119567)。此方法利用排列在單一多肽上之兩個抗體可變域。舉例而言，單一多肽鏈包括兩個單鏈 Fv (scFv)片段，各 scFv 片段具有可變重鏈(V_H)及可變輕鏈(V_L)結構域，該兩個結構域由長度足以允許該兩個結構域之間發生分子內締合之多肽連接子隔開。此單一多肽進一步包括介於該兩個 scFv 片段之間的多肽間隔子序列。各 scFv 識別不同的抗原決定基，且此等抗原決定基可對不同的細胞類型具有特異性，使得當各 scFv 與其同源抗原決定基接合時，屬於兩個不同的細胞類型的細胞緊密鄰近或拴系。此方法之一個特定實施例包括將識別由免疫細胞表現之細胞表面抗原，例如 T 細胞上之 CD3 多肽的 scFv 與識別由靶細胞(諸如惡性或腫瘤細胞)表現之細胞表面抗原的另一 scFv 連接。

【0359】 由於其為單一多肽，故可使用此項技術中已知的任何原核或真

核細胞表現系統，例如 CHO 細胞株來表現雙特異性 T 細胞銜接子。然而，可能必需特定純化技術(參見例如 EP1691833)來分離單體雙特異性 T 細胞銜接子與可能具有除預定單體活性以外之生物學活性的其他多聚物質。在一個例示性純化流程中，首先對含有分泌多肽之溶液進行金屬親和力層析法，且用咪唑濃度梯度來溶離多肽。使用陰離子交換層析法進一步純化此溶離液，且使用氯化鈉濃度梯度來溶離多肽。最後，對此溶離液進行尺寸排阻層析以分離單體與多聚物質。

【0360】 對用於製造多特異性抗體之方法的額外描述可見於 Spiess, C.等人, (2015) *Mol. Immunol.* 67:95-106 中(參見例如表 2)。此等包括但不限於以下技術(其中第一重鏈及第二重鏈中之例示性突變包括)：杵入臼(第一重鏈中之 T366W；第二重鏈中之 T366S、L368A 及 Y407V)、DuoBody® (第一重鏈中之 F405L；第二重鏈中之 K409R)、Azymetric™ (第一重鏈中之 T350V、L351Y、F405A 及 Y407V；第二重鏈中之 T350V、T366L、K392L 及 T394W)、Amgen 電荷對(第一重鏈中之 K409D 及 K392D；第二重鏈中之 D399K 及 E356K)、Rinat-Pfizer 電荷對(第一重鏈中之 D221E、P228E 及 L368E；第二重鏈中之 D221R、P228R 及 K409R)、HA-TF (第一重鏈中之 S364H 及 F405A；第二重鏈中之 Y349T 及 T394F)、SEEDBody (第一重鏈及第二重鏈中之 IgA/G 嵌合體)及差異性蛋白 A 親和力(第一重鏈中之 H435R)。

偶聯

【0361】 在一些實施例中，兩個抗原結合多肽、抗體或次單元偶聯。在一些實施例中，抗體與一或多個 Fab 片段偶聯。如本文中所使用，偶聯及其語法變化形式可能指兩個或更多個大分子由一或多種化學鍵或力(例如非共價鍵、共價鍵、離子鍵或電荷-電荷相互作用、氫鍵、芳族堆疊相互作用或凡得瓦相互作用)連接或接合的狀態。

【0362】 在一些實施例中，該等大分子可作為單獨實體提供及化學偶聯在一起，例如，經由化學反應。作為非限制性實例，本文中所描述及說明之 c:IgG-IgG 及 c:Fab-IgG 形式(參見**圖 3A 及圖 3B**)分別可藉由化學偶聯兩個抗體(例如雙特異性抗體)或抗體與兩個或更多個 Fab 片段而產生。在一些實施例中，化學偶聯兩個大分子可包括用本發明之連接子接合該等大分子。

【0363】 在一些實施例中，該等大分子可包括可分辨單元或模組，但基因或重組產生為單一實體(例如單一多肽鏈)。作為非限制性實例，本文中描述及說明之 r:Fab-IgG 及 r:Fv-IgG 形式(參見**圖 3A 及圖 3B**)可藉由偶聯 Fab 片段或 Fv 來產生。在一些實施例中，偶聯兩個大分子可包括基因偶聯，藉此將該兩個大分子工程改造(例如使用重組技術)以便由單一聚核苷酸或開放閱讀框編碼並且表現為單一多肽鏈。在一些實施例中，基因偶聯兩個大分子可包括用本發明之連接子對該等大分子進行工程改造。

【0364】 在一些實施例中，兩個抗原結合多肽或次單元經由連接子偶聯。在一些實施例中，抗體與兩個或更多個 Fab 片段經由連接子偶聯。舉例而言，兩個抗體(例如兩個雙特異性抗體)或抗體與兩個或更多個 Fab 片段可經由連接子偶聯。

【0365】 在一些實施例中，本發明之連接子的長度介於約 10 Å 與約 100 Å 之間。舉例而言，本發明之連接子可具有在具有 15 Å、20 Å、25 Å、30 Å、35 Å、40 Å、45 Å、50 Å、55 Å、60 Å、65 Å、70 Å、75 Å、80 Å、85 Å、90 Å、95 Å 及 100 Å 之上限以及 10 Å、15 Å、20 Å、25 Å、30 Å、35 Å、40 Å、45 Å、50 Å、55 Å、60 Å、65 Å、70 Å、75 Å、80 Å、85 Å、90 Å 及 95 Å 之獨立選擇之下限的長度範圍內的任何長度，其中該上限大於該下限。

【0366】 多種連接子為此項技術中已知的。在一些實施例中，連接子可為化學連接子。適合之化學連接子為此項技術中已知的且可購自市面。例示性化學連接子包括例如 N-羥基琥珀醯亞胺(NHS)、辛二酸二琥珀醯亞胺酯(DSS)、辛二酸雙(磺基琥珀醯亞胺基)酯(BS^3)、二硫代雙(丙酸琥珀醯亞胺酯) (DSP)、二硫代雙(丙酸磺基琥珀醯亞胺酯) (DTSSP)、乙二醇雙(琥珀酸琥珀醯亞胺酯) (EGS)、乙二醇雙(琥珀酸磺基琥珀醯亞胺酯) (sulfo-EGS)、酒石酸二琥珀醯亞胺酯(DST)、酒石酸二磺基琥珀醯亞胺酯(sulfo-DST)、雙[2-(琥珀醯亞胺基氧基羰氧基)乙基]碸(BSOCOES)及雙[2-(磺基琥珀醯亞胺基氧基羰氧基)乙基]碸(sulfo-BSOCOES)。

【0367】 在某些實施例中，該連接子可為雙馬來醯亞胺基聚乙二醇(PEG)連接子。該 PEG 連接子可由許多 PEG 單元或單體構成，例如，以達成所要長度。預期可利用各種 PEG 長度。舉例而言，在一些實施例中，該 PEG 連接子包含介於 1 與 11 個之間的 PEG 次單元。在一些實施例中，該 PEG 連接子包含 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 或 11 個 PEG 次單元。在某些實施例中，該 PEG 連接子包含 1、2 或 3 個 PEG 次單元。

【0368】 在一些實施例中，連接子可為多肽連接子。在一個實施例中，該多肽連接子為來自於抗體之鉸鏈序列或其變異體。舉例而言，鉸鏈序列可包含抗體，舉例而言，諸如 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 抗體之胺基酸殘基 216-238 (EU 編號)或者其片段或衍生物。在一例示性實施例中，基於鉸鏈之連接子包含序列 CDKTHTCPPCPAPELLGGP (SEQ ID NO:219)或者其片段或衍生物。在某些實施例中，該多肽連接子可為具有不同長度(例如 5、10、15、20、25、30、35、40、45、50 個以上胺基酸)之可撓性連接子。適合之連接子為此項技術中已知的，參見例如 Protein Engineering, 9(3), 299-305, 1996。例示性肽連接子包括例如：

Ser

Gly-Ser

Gly-Gly-Ser

Ser-Gly-Gly

Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:220)

Ser-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO:221)

Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:222)

Ser-Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO:223)

Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:224)

Ser-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO:225)

Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:226)

Ser-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO:227)

$(Gly\text{-}Gly\text{-}Gly\text{-}Gly\text{-}Ser)_n$ (SEQ ID NO:228)及

$(Ser\text{-}Gly\text{-}Gly\text{-}Gly\text{-}Gly)_n$ (SEQ ID NO:229)

其中 n 為不小於 1 之整數。在某些實施例中，n 可為 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15 或 20。

【0369】 在一些實施例中，兩個抗原結合多肽或次單元經由點擊化學反應而偶聯。在一些實施例中，抗體與兩個或更多個 Fab 片段經由點擊化學反應而偶聯。舉例而言，兩個抗體(例如兩個雙特異性抗體)或抗體與兩個或更多個 Fab 片段可經由點擊化學反應而偶聯。如此項技術中已知，點擊化學反應可能指各種化學反應，典型地本質上為雙正交的且用於接合兩個或更多個模組化學單元，易於形成、廣泛適用、高產率、立體特異性及/或區位特異性、對氧及水不敏感、使用容易獲得之試劑及/或產生可藉由非層析法移除之無害副產物。例示性點擊反應類別包括但不限於環加成(例如，1,3-

偶極環加成)、非丁醇醛羰基化學反應、親核性開環及碳-碳多重鍵加成。點擊化學反應及例示性點擊反應之其他描述可見於例如 Thirumurugan, P.等人, (2013) *Chem. Rev.* 113:4905-4979 中。

【0370】 在一些實施例中，兩個抗原結合多肽經由四嗪-反式環辛烯(TCO)點擊反應而偶聯。舉例而言，一個抗原結合多肽可與四嗪偶聯，而另一個抗原結合多肽可與 TCO 偶聯；在點擊反應後，該兩個抗原結合多肽偶聯。四嗪-TCO 點擊反應之例示性描述可見於例如 Blackman, M.L.等人, (2008) *J. Am. Chem. Soc.* 130:13518-9 中。

經工程改造之半胱胺酸

【0371】 在一些實施例中，兩個抗原結合多肽、抗體或次單元經由經工程改造之游離半胱胺酸而偶聯。在一些實施例中，抗體與一或多個 Fab 片段經由經工程改造之游離半胱胺酸而偶聯。舉例而言，在一些實施例中，兩個抗原結合多肽或次單元或抗體與一或多個 Fab 片段經由 THIOMAB™ (Genentech)抗體技術而偶聯。對 THIOMAB™抗體技術之例示性描述可見於例如美國專利第 7,521,541 號、第 7,855,275 號、第 8,309,300 號及第 9,000,130 號以及美國專利公開案第 20160130358 號中。在一些實施例中，THIOMAB™ 抗體技術用於經由連接子來偶聯抗原結合多肽、次單元、抗體或 Fab 片段。

【0372】 與大部分胺在接近 pH 7 時發生質子化且具有較低親核性不同，半胱胺酸硫醇在中性 pH 值下具有反應性。因為游離硫醇(RSH，巯基)基團相對具有反應性，故具有半胱胺酸殘基之蛋白質通常以其氧化形式作為二硫鍵連接之寡聚物存在或具有內部橋接二硫基。與抗體胺或羥基相比，抗體半胱胺酸硫醇基一般對親電子性結合試劑更具反應性，即，更具親核性。藉由使蛋白質之各種胺基酸殘基突變成半胱胺酸胺基酸而在半胱胺酸硫醇基中進行工程改造可能產生問題，尤其在未配對(游離 Cys)殘基或相對易於

反應或氧化之殘基的情況下。在蛋白質之濃溶液中，不論是在大腸桿菌之胞外質、培養物上清液或是經部分或完全純化之蛋白質中，蛋白質表面上之未配對 Cys 殘基均可配對並氧化，以形成分子間二硫鍵，且由此形成蛋白質二聚體或多聚體。二硫鍵二聚體形成致使新 Cys 在與藥物、配體或其他標記結合時不具反應性。此外，若蛋白氧化形成介於新工程改造之 Cys 與現存 Cys 殘基之間的分子內二硫鍵，則兩個 Cys 基團皆不可用於活性位點參與及相互作用。此外，可藉由錯摺疊或損失三級結構而致使蛋白質無活性或無特異性(Zhang 等人, (2002) Anal. Biochem. 311:1-9)。

【0373】 在工程改造半胱胺酸可用於結合但不干擾免疫球蛋白摺疊及組裝或改變抗原結合及效應功能之位點具有半胱胺酸取代之抗體/次單元/Fab 片段(THIOMAB™抗體) (Junutula 等人, 2008b Nature Biotech., 26(8):925-932；Dornan 等人, (2009) Blood 114(13):2721-2729；US 7521541；US 7723485；WO2009/052249)。

【0374】 在一些實施例中，半胱胺酸工程改造抗體/次單元/Fab 片段係指其中抗體之一或多個殘基經半胱胺酸殘基取代之抗體。半胱胺酸工程改造抗體之硫醇基可經由連接子結合。在特定實施例中，經取代之殘基存在於該抗體之可及位點上。藉由用半胱胺酸取代彼等殘基，反應性硫醇基從而位於抗體之可及位點上，並且可用於結合抗體或 Fab 片段與其他部分。舉例而言，THIOMAB™抗體可為非半胱胺酸天然殘基至半胱胺酸之單一突變處於輕鏈中(例如根據 Kabat 編號之 G64C、I106C、R108C、K149C 或 R142C)或處於重鏈中(例如根據Kabat編號之HC-D101C、HC-V184C或HC-T205C，或者根據 EU 編號之 HC-T114C、HC-A140C、HC-L174C、HC-L179C、HC-T187C、HC-T209C、HC-V262C、HC-G371C、HC-Y373C、HC-E382C、HC-S424C、HC-N434C 及 HC-Q438C (亦即，根據 Kabat 編號之 HC-A136C

為根據 EU 編號之 HC-A140C)的抗體。

【0375】 在一些實施例中，游離半胱胺酸胺基酸係指已工程改造至母體抗體中、具有硫醇官能基(-SH)且未配對為分子內或分子間二硫橋之半胱胺酸胺基酸殘基。

【0376】 例示性游離工程改造半胱胺酸胺基酸為此項技術中已知的且描述於本文中。在一些實施例中，重鏈包含選自根據 EU 編號之 T114C、A118C、A140C、L174C、L179C、T187C、T209C、V262C、G371C、Y373C、E382C、S400C、S424C、N434C 及 Q438C 之重鏈半胱胺酸胺基酸。在一些實施例中，輕鏈包含選自根據 Kabat 編號之 I106C、R108C、R142C、K149C 及 V205C 之輕鏈半胱胺酸胺基酸。在一些實施例中，Fab 片段包含 C 末端半胱胺酸胺基酸。

【0377】 應注意，在 ThioFab 中，單一位點突變產生單一工程改造半胱胺酸殘基，而在 THIOMAB™抗體中，單一位點突變產生兩個工程改造半胱胺酸殘基，此係由於 IgG 抗體之二聚特性所致。評估具有工程改造半胱胺酸(Cys)殘基之突變體中新引入之經工程改造半胱胺酸硫醇基的反應性。硫醇反應性值為介於 0 至 1.0 範圍內之相對數值項，且可針對任何半胱胺酸工程改造抗體進行量測。本發明之半胱胺酸工程改造抗體之硫醇反應性值介於 0.0 至 1.0 之範圍內。特定言之，本發明之半胱胺酸工程改造抗體之硫醇反應性值介於 0.1 至 1.0 之範圍內。在某些實施例中，本發明之半胱胺酸工程改造抗體之硫醇反應性值介於 0.0 至 0.1、0.1 至 0.5、0.1 至 0.6、0.1 至 0.7、0.1 至 0.8、0.1 至 0.9 或 0.1 至 1.0 之範圍內。在某些實施例中，本發明之半胱胺酸工程改造抗體之硫醇反應性值介於 0.2 至 1.0、0.3 至 1.0、0.4 至 1.0、0.5 至 1.0、0.6 至 1.0、0.7 至 1.0 或 0.8 至 1.0 之範圍內。在某些實施例中，本發明之半胱胺酸工程改造抗體之硫醇反應性值介於 0.6 至 1.0 之範圍

內。在某些實施例中，本發明之半胱胺酸工程改造抗體之硫醇反應性值介於 0.7 至 1.0 之範圍內。在某些實施例中，本發明之半胱胺酸工程改造抗體之硫醇反應性值介於 0.8 至 10 之範圍內。在某些實施例中，本發明之半胱胺酸工程改造抗體之硫醇反應性值介於 0.5 至 0.8 之範圍內。在某些實施例中，本發明之半胱胺酸工程改造抗體之硫醇反應性值介於 0.5 至 0.9 之範圍內。在某些實施例中，本發明之半胱胺酸工程改造抗體之硫醇反應性值介於 0.5 至 0.7 之範圍內。在某些實施例中，本發明之半胱胺酸工程改造抗體之硫醇反應性值介於 0.5 至 1.0 之範圍內。

【0378】 本發明之設計、選擇及製備方法能夠獲得與親電子性官能基具有反應性之半胱胺酸工程改造抗體。抗體表面上之反應性半胱胺酸殘基允許經由諸如馬來醯亞胺或鹵基乙醯基之硫醇反應基團而偶聯。Cys 殘基之硫醇官能基對馬來醯亞胺基團之親核反應性與蛋白質中之任何其他胺基酸官能基，諸如離胺酸殘基之胺基或 N 末端胺基相比高出約 1000 倍。碘基乙醯基及馬來醯亞胺試劑中之硫醇特異性官能基可與胺基反應，但需要更高 pH 值 (>9.0) 及更長反應時間 (Garman, 1997, Non-Radioactive Labelling: A Practical Approach, Academic Press, London)。

【0379】 本發明之半胱胺酸工程改造抗體/次單元/Fab 片段較佳保留其野生型母體對應物之抗原結合能力。因而，半胱胺酸工程改造抗體能夠結合、較佳特異性結合抗原，例如細胞表面受體之抗原決定基。

【0380】 本發明之半胱胺酸工程改造抗體/次單元/Fab 片段可位點特異性地且有效地與硫醇反應性試劑偶聯。硫醇反應性試劑之一個實例為 N-乙基馬來醯亞胺(NEM)。在一例示性實施例中，THIOMAB™抗體與生物素-連接子試劑之反應提供生物素化 THIOMAB™抗體，藉此可偵測及量測工程改造半胱胺酸殘基之存在及反應性。THIOMAB™抗體與多官能連接子試劑之

反應提供具有官能化連接子之 THIOMAB™抗體，其可與抗體或 Fab 片段進一步反應。在某些實施例中，該 THIOMAB™抗體為 ThioFab。

【0381】 一般而言，在此描述之例示性方法可應用於抗體之鑑定及產生，且更一般而言，藉由應用本文中所描述之設計及篩選步驟而應用於其他蛋白質。

【0382】 此種方法可應用於結合其他硫醇反應劑，其中反應基團為例如馬來醯亞胺、碘乙醯胺、吡啶基二硫化物或其他硫醇反應性結合伴侶(Haugland, 2003, Molecular Probes Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals, Molecular Probes, Inc.; Brinkley, 1992, Bioconjugate Chem. 3:2; Garman, 1997, Non-Radioactive Labelling: A Practical Approach, Academic Press, London ; Means (1990) Bioconjugate Chem. 1:2 ; Hermanson, G., Bioconjugate Techniques (1996) Academic Press, San Diego, 第 40-55 頁、第 643-671 頁)。

載體、宿主細胞及重組方法

【0383】 為了重組產生本文中所提供之本發明抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)或其次單元，分離編碼其之核酸並且插入可複製載體中以用於進一步選殖(擴增 DNA)或用於表現。使用習知程序容易地分離編碼抗原結合多肽之 DNA 並且進行定序(例如藉由使用能夠特異性結合編碼抗體重鏈及輕鏈之基因的寡核苷酸探針)。可利用許多載體。載體之選擇部分視欲使用之宿主細胞而定。一般而言，較佳宿主細胞具有原核或真核(一般為哺乳動物，但亦包括真菌(例如酵母)、昆蟲、植物及來自其他多細胞生物體之有核細胞)起源。在一些實施例中，該宿主細胞為經分離之宿主細胞，例如生長為經分離之細胞的來源於多細胞生物體之宿主細胞，諸如在細胞培養物中生長之來源於無脊椎動物(例如昆蟲)或脊椎動物

(例如小鼠、人類、中國倉鼠卵巢(CHO)細胞等)生物體之細胞株。在抗原結合多肽為抗體之情況下，應瞭解，任何同型之恆定區均可用於此目的，包括 IgG、IgM、IgA、IgD 及 IgE 恆定區，且該等恆定區可獲自任何人類或動物物種。

a. 使用原核宿主細胞產生抗原結合多肽

i. 載體構建

【0384】 編碼本文中所提供之本發明抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)或其次單元之多肽組分的聚核苷酸序列可使用標準重組技術獲得。舉例而言，可自諸如雜交瘤細胞之抗體產生細胞分離所要多核苷酸序列並且定序。替代地，可使用核苷酸合成儀或 PCR 技術合成聚核苷酸。在獲得後，將編碼多肽之序列插入能夠在原核宿主中複製並表現異源聚核苷酸之重組載體中。此項技術中可利用且已知的許多載體可用於本發明之目的。適當載體之選擇將主要視欲插入載體中之核酸之尺寸及欲用該載體轉型之特定宿主細胞而定。各載體含有不同的組分，視其功能(擴增或表現異源聚核苷酸或兩者)及其與其所駐留之特定宿主細胞之相容性而定。載體組分一般包括但不限於：複製起點、選擇標記基因、啟動子、核糖體結合位點(RBS)、信號序列、異源核酸插入物及轉錄終止序列。

【0385】 在一些實施例中，本發明之聚核苷酸序列包括突變，例如編碼本文中所描述之胺基酸取代之突變，諸如工程改造游離半胱胺酸或用於減弱 Fc 區效應功能之修飾。藉由此項技術中已知的多種方法來製備編碼起始多肽之胺基酸序列變異體的 DNA。此等方法包括但不限於藉由對先前製備之編碼該多肽之 DNA 進行定點(或寡核苷酸介導之)突變誘發、PCR 突變誘發及卡匣突變誘發來製備。亦可藉由限制片段操縱或藉由用合成寡核苷酸進行重疊延伸 PCR 來構建重組抗體變異體。突變誘發引子編碼半胱胺酸密

碼子置換。可採用標準突變誘發技術來產生編碼該等突變半胱胺酸工程改造抗體之 DNA。一般性指導可見於以下文獻中：Sambrook 等人, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989；及 Ausubel 等人, Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley-Interscience, New York, N.Y., 1993。

【0386】 定點突變誘發為一種用於製備取代變異體，亦即突變蛋白質之方法。此技術在此項技術中為眾所周知的(參見例如 Carter 等人, (1985) Nucleic Acids Res. 13:4431-4443；Ho 等人, (1989) Gene (Amst.) 77:51-59；及 Kunkel 等人, (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:488)。簡而言之，在進行 DNA 之定點突變誘發時，藉由首先使編碼所要突變之寡核苷酸與該起始 DNA 之單一股雜交來改變起始 DNA。在雜交之後，使用經雜交之寡核苷酸作為引子且使用該起始 DNA 之該單一股作為模板，使用 DNA 聚合酶來合成整個第二股。因而，將編碼所要突變之寡核苷酸併入所得雙股 DNA 中。可在欲在表現質體中進行突變誘發之表現蛋白質之基因內進行定點突變誘發，並且可對所得質體進行定序以證實所要半胱胺酸置換突變之引入(Liu 等人, (1998) J. Biol. Chem. 273:20252-20260)。定點方案及形式包括可購自市面之彼等，例如 QuikChange®多點突變誘發套組(Stratagene，La Jolla，CA)。

【0387】 PCR 突變誘發亦適合於製造起始多肽之胺基酸序列變異體。參見 Higuchi (1990), PCR Protocols, 第 177-183 頁, Academic Press；Ito 等人, (1991) Gene 102:67-70；Bernhard 等人, (1994) Bioconjugate Chem. 5:126-132；及 Vallette 等人, (1989) Nuc. Acids Res. 17:723-733。簡而言之，當使用少量模板 DNA 作為 PCR 中之起始物質時，在序列上與模板 DNA 中之相應區域稍微不同的引子可用於產生相對大量的僅在引子與模板不同的位置上與模板序列不同的特定 DNA 片段。

【0388】 用於製備變異體之另一方法卡匣突變誘發係基於 Wells 等人, (1985) Gene 34:315-323 所描述的技術。起始物質為包含欲突變之起始多肽 DNA 的質體(或其他載體)。鑑定欲突變之起始 DNA 中之密碼子。所鑑定之突變位點之每一側上必定存在惟一限制酶位點。若不存在該等限制位點，則其可使用以上描述之寡核苷酸介導之突變誘發法將其引入在起始多肽 DNA 中之適當位置上來產生。在此等位點上切割質體 DNA 以使其線性化。使用標準程序合成編碼介於限制位點之間但含有所要突變之 DNA 序列的雙股寡核苷酸，其中單獨合成該寡核苷酸之兩個股鏈，接著使用標準技術雜交在一起。藉由亞磷醯胺合成法來製備寡核苷酸(US 4415732；US 4458066；Beaucage, S.及 Iyer, R. (1992)「Advances in the synthesis of oligonucleotides by the phosphoramidite approach」, Tetrahedron 48:2223-2311)。此雙股寡核苷酸稱為卡匣。此卡匣經設計以具有與線性化質體之末端相容的 5'及 3'端，使其可直接與質體連結。此質體現含有突變之 DNA 序列。可藉由 DNA 定序來證實含有編碼半胱胺酸置換之突變 DNA。

【0389】 亦藉由寡核苷酸定點突變誘發，使用雙股質體 DNA 作為模板，藉由基於 PCR 之突變誘發來產生單一突變(Sambrook 及 Russel, (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第 3 版；Zoller 等人, (1983) Methods Enzymol. 100:468-500；Zoller, M.J.及 Smith, M. (1982) Nucl. Acids Res. 10:6487-6500)。

【0390】 一般而言，含有來源於與宿主細胞相容之物種的複製子及控制序列之質體載體與此等宿主聯合使用。載體一般攜帶複製位點，以及能夠在轉型細胞中提供表型選擇之標記序列。舉例而言，典型地使用來源於大腸桿菌屬之質體 pBR322 對大腸桿菌進行轉型。pBR322 含有編碼安比西林(Amp)及四環素(Tet)抗性之基因，且因而提供容易鑑定轉型細胞之手段。

pBR322、其衍生物或其他微生物質體或噬菌體亦可含有或經修飾而含有可由微生物體用於表現內源蛋白質之啟動子。用於表現特定抗體之 pBR322 衍生物之實例詳細描述於 Carter 等人, 美國專利第 5,648,237 號中。

【0391】 另外，含有與宿主微生物相容之複製子及控制序列之噬菌體載體可作為轉型載體與此等宿主聯合使用。舉例而言，諸如 λGEM.TM.-11 之噬菌體可用於製造可用於轉型諸如大腸桿菌 LE392 之易感宿主細胞的重組載體。

【0392】 本發明之表現載體可包含兩個或更多個編碼各多肽組分之啟動子-順反子配對。啟動子為位於順反子上游(5')之非轉譯調節序列，其調節順反子之表現。原核啟動子典型地屬於誘導型及組成型兩種類別。誘導型啟動子為響應於培養條件之變化(例如存在或不存在營養物質或者溫度變化)而引發受其控制之順反子之轉錄水準增高的啟動子。

【0393】 由多種潛在宿主細胞識別之大量啟動子為眾所周知的。可藉由經由限制酶消化自源DNA中移除啟動子並且將分離之啟動子序列插入本發明之載體中而將所選啟動子可操作地連接至編碼例如輕鏈或重鏈之順反子DNA。天然啟動子序列及許多異源啟動子皆可用於直接擴增及/或表現靶基因。在一些實施例中，利用異源啟動子，因為與天然靶多肽啟動子相比，其一般允許所表現之靶基因的更大程度轉錄及更高產率。

【0394】 適合與原核宿主一起使用之啟動子包括 PhoA 啟動子、β-半乳糖苷酶及乳糖啟動子系統、色胺酸(trp)啟動子系統及混雜啟動子，諸如 tac 或 trc 啟動子。然而，在細菌中具有功能之其他啟動子(諸如其他已知細菌或噬菌體啟動子)亦為適合的。已公開其核苷酸序列，從而使得熟習此項技術者能夠使用連接子或銜接子來供應任何所需限制位點將其可操作地連結至編碼抗原結合多肽蛋白(例如靶輕鏈及重鏈)基因之順反子(Siebenlist 等人,

(1980) Cell 20: 269)。

【0395】 在一個實施例中，重組載體內之各順反子包含指導所表現之多肽跨膜易位之分泌信號序列組分。一般而言，該信號序列可為載體之組分，或其可為插入載體中之靶多肽 DNA 之一部分。所選信號序列應為由宿主細胞識別並處理(亦即，由信號肽酶裂解)之信號序列。對於不識別及處理異源多肽之天然信號序列的原核宿主細胞，以例如選自由以下各項組成之群的原核信號序列來取代該信號序列：鹼性磷酸酶、青黴素酶、Ipp 或熱穩定腸毒素 II (STII)前導序列、LamB、PhoE、PelB、OmpA 及 MBP。在本發明之一個實施例中，表現系統之兩個順反子中所使用之信號序列為 STII 信號序列或其變異體。

【0396】 在另一實施例中，免疫球蛋白之產生可發生在宿主細胞之細胞質中，且因此各順反子內不需要存在分泌信號序列。就此而言，在細胞質內表現、摺疊及組裝免疫球蛋白輕鏈及重鏈以形成功能性免疫球蛋白。某些宿主菌株(例如大腸桿菌 trxB 菌株)提供有利於二硫鍵形成之細胞質條件，從而允許所表現之蛋白質次單元的適當摺疊及組裝。參見 Proba 及 Pluckthun Gene, 159:203 (1995)。

【0397】 適合於表現本發明之抗原結合多肽(例如抗體)之原核宿主細胞包括古細菌及真細菌，諸如革蘭氏陰性或革蘭氏陽性生物體。適用細菌之實例包括埃希氏菌屬(例如大腸桿菌)、芽孢桿菌屬(例如枯草芽孢桿菌)、腸內細菌、假單胞菌屬(例如綠膿桿菌)、鼠傷寒沙門氏菌、黏質沙雷氏菌、克雷伯氏菌屬、變形桿菌屬、志賀氏菌屬、根瘤菌屬、透明顫菌屬或副球菌屬。在一個實施例中，使用革蘭氏陰性細胞。在一個實施例中，將大腸桿菌細胞用作本發明之宿主。大腸桿菌菌株之實例包括菌株 W3110 (Bachmann, Cellular and Molecular Biology, 第 2 卷(Washington, D.C.，美國微生物學學會,

1987), 第 1190-1219 頁；ATCC 寄存號 27,325)及其衍生物，包括具有基因型 W3110 AfhuA (AtonA) ptr3 lac Iq lacL8 AompTA(nmpc-fepE) degP41 kanR 之菌株 33D3 (美國專利第 5,639,635 號)。其他菌株及其衍生物，諸如大腸桿菌 294 (ATCC 31,446)、大腸桿菌 B、大腸桿菌 1776 (ATCC 31,537)及大腸桿菌 RV308 (ATCC 31,608)亦為適合的。在一個實施例中，特別使用大腸菌 Alpp。此等實例為說明性的而非限制性的。用於構建具有限定基因型之任何上述細菌衍生物的方法為此項技術中已知，且描述於例如 Bass 等人, Proteins, 8:309-314 (1990)中。一般必需考慮複製子在細菌細胞中之可複製性來選擇適當的細菌。舉例而言，當使用諸如 pBR322、pBR325、pACYC177 或 pKN410 之熟知質體來供應複製子時，大腸桿菌、沙雷氏菌屬或沙門氏菌屬可能適合用作宿主。典型地，宿主細胞將分泌極少量之蛋白水解酶，並且可能需要在細胞培養物中併入其他蛋白酶抑制劑。

ii. 多肽產生

【0398】 用上述表現載體對宿主細胞進行轉型，並且在視情況經改良之習知培養基中培養以便誘導啟動子、選擇轉型體或擴增編碼所要序列之基因。

【0399】 轉型意謂將 DNA 引入原核宿主中，使得 DNA 可作為染色體外元件或由染色體成分進行複製。視所使用之宿主細胞而定，使用適用於該等細胞之標準技術進行轉型。採用氯化鈣之鈣處理一般用於含有堅固細胞壁屏障之細菌細胞。另一種轉型方法採用聚乙二醇/DMSO。所用另一種技術為電穿孔。

【0400】 使用於產生本發明多肽之原核細胞在此項技術中已知的且適於培養所選宿主細胞之培養基中生長。適合之培養基之實例包括 LB 培養基 (Luria broth，LB)加必需營養補充劑。在一些實施例中，培養基亦含有基於

表現載體之構建而選擇之選擇劑，以選擇性地允許含有表現載體之原核細胞生長。舉例而言，向用於生長表現安比西林抗性基因之細胞的培養基中添加安比西林。

【0401】 除碳、氮及無機磷酸鹽來源以外，亦可以適當濃度包括單獨引入或作為與另一補充劑或培養基之混合物的任何必需補充劑，諸如複合氮源。視情況，培養基可含有一或多種選自由以下各項組成之群的還原劑：麩胱甘肽、半胱胺酸、胱胺、巰基乙酸酯、二硫赤蘚糖醇及二硫蘇糖醇。

【0402】 在適合之溫度下培養原核宿主細胞。舉例而言，對於大腸桿菌生長，較佳溫度介於約 20°C至約 39°C之範圍內，更佳為約 25°C至約 37°C，甚至更佳為約 30°C。培養基之 pH 值可為介於約 5 至約 9 之範圍內的任何 pH 值，主要視宿主生物體而定。對於大腸桿菌，pH 值較佳為約 6.8 至約 7.4，且更佳為約 7.0。

【0403】 若本發明之表現載體使用誘導型啟動子中，則在適合於活化該啟動子之條件下誘導蛋白質表現。在本發明之一個實施例中，使用 PhoA 啟動子來控制多肽之轉錄。因此，在磷酸鹽限制培養基中培養經轉型之宿主細胞以進行誘導。較佳地，磷酸鹽限制培養基為 C.R.A.P 培養基(參見例如 Simmons 等人, J. Immunol. Methods (2002), 263:133-147)。如此項技術中已知，可根據所採用之載體構建體使用多種其他誘導劑。

【0404】 在本發明之一個實施例中，藉由發酵方法大量進行抗原結合多肽(舉例而言，諸如抗體)產生。多種大規模饋料-分批發酵程序可用於產生重組蛋白質。大規模發酵具有至少 1000 公升之容量，較佳約 1,000 至 100,000 公升之容量。此等發酵罐使用攪拌器葉輪來分佈氧及營養物質，尤其是葡萄糖(較佳碳源/能源)。小規模發酵一般係指在體積容量不超過約 100 公升，並且可以介於約 1 公升至約 100 公升之範圍內的發酵罐中進行的發酵。

【0405】 在發酵過程中，典型地在細胞已在適合條件下生長至所要密度(例如約 180-220 之 OD550，在此階段細胞處於早期穩定期)之後起始蛋白質表現之誘導。如此項技術中已知及以上所描述，可根據所採用之載體構建體使用多種誘導劑。可在誘導前使細胞生長較短時段。通常將細胞誘導約 12-50 小時，但可使用更長或更短之誘導時間。

【0406】 為了將所表現之抗原結合多肽(尤其是對蛋白水解敏感之抗原結合多肽)的蛋白水解減至最少，可將缺少蛋白水解酶之某些宿主菌株用於本發明。舉例而言，可修飾宿主細胞菌株，以便在編碼已知細菌蛋白酶，諸如蛋白酶 III、OmpT、DegP、Tsp、蛋白酶 I、蛋白酶 Mi、蛋白酶 V、蛋白酶 VI 及其組合之基因中實現基因突變。一些大腸桿菌蛋白酶缺少菌株可利用且描述於例如以下文獻中：Joly 等人, (1998), Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:2773-2777；Georgiou 等人, 美國專利第 5,264,365 號；Georgiou 等人, 美國專利第 5,508,192 號；Hara 等人, Microbial Drug Resistance, 2:63-72 (1996)。

【0407】 在一個實施例中，將缺少蛋白水解酶且用過度表現一或多種侶伴蛋白之質體加以轉型之大腸桿菌菌株作為宿主細胞用於本發明之表現系統中。在第二實施例中，大腸桿菌菌株缺少外膜脂蛋白(ΔIpp)。

iii. 抗原結合多肽純化

【0408】 在一個實施例中，進一步純化本文中所產生之本發明抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)或其次單元以獲得實質上同源之製劑供用於進一步分析及使用。可採用此項技術中已知的標準蛋白質純化方法。以下程序為例示性適合純化程序：在免疫親和力或離子交換管柱上進行分餾、乙醇沈澱、逆相 HPLC、在二氧化矽上或在諸如 DEAE 之陽離子交換樹脂上進行層析、層析聚焦、SDS-PAGE、硫酸銨沈澱及使用例如 Sephadex G-75 之凝膠過濾。

【0409】 在一個實施例中，將固定於固相上之蛋白 A 用於對例如本發明之抗原結合多肽進行免疫親和力純化。蛋白 A 為來自金黃色葡萄球菌之 41 kD 細胞壁蛋白，其以高親和力結合抗原結合多肽之 Fc 區。Lindmark 等人, (1983) J. Immunol. Meth. 62:1-13。固定蛋白 A 之固相較佳為包含玻璃或二氧化矽表面之管柱，更佳為受控孔隙玻璃管柱或矽酸管柱。在一些應用中，管柱已塗佈有諸如甘油之試劑，以試圖防止污染物之非特異性黏附。

【0410】 作為純化之第一步驟，將來源於如以上所描述之細胞培養物的製劑施加至蛋白 A 固定化固相上，以允許相關抗原結合多肽與蛋白 A 之特異性結合。接著洗滌固相以移除與固相非特異性結合之污染物。藉由溶離自固相回收抗原結合多肽(舉例而言，諸如抗體)。

b. 使用真核宿主細胞產生抗原結合多肽

【0411】 載體組分一般包括但不限於以下各項中之一或多項:信號序列、複製起點、一或多個標記基因、增強子元件、啟動子及轉錄終止序列。

i. 信號序列組分

【0412】 用於真核宿主細胞中之載體亦可含有信號序列或者在相關成熟蛋白質或多肽之 N 末端具有特定裂解位點之其他多肽。所選異源信號序列較佳為由宿主細胞識別並處理(亦即，由信號肽酶裂解)之異源信號序列。在哺乳動物細胞表現中，可利用哺乳動物信號序列以及病毒分泌前導序列，例如單純性疱疹 gD 信號。將此種前驅區之 DNA 連結至編碼所要抗原結合多肽(例如抗體)之 DNA 的閱讀框中。

ii. 複製起點

【0413】 一般而言，哺乳動物表現載體不需要複製起點組分。舉例而言，典型地可使用 SV40 起點，但僅因為其含有早期啟動子。

iii. 選擇基因組分

【0414】 表現及選殖載體可含有選擇基因，亦稱為選擇標記物。典型的選擇標記基因編碼如下蛋白質：(a)賦予針對抗生素或其他毒素(例如安比西林、新黴素、胺甲喋呤或四環素)之抗性；(b)補充相關營養缺少；或(c)提供不可得自複合培養基之重要營養物質。

【0415】 選擇流程之一個實例利用藥物來阻滯宿主細胞之生長。經異源基因成功轉型之彼等細胞產生賦予藥物抗性之蛋白質，且因而通過選擇方案。此種顯性選擇之實例使用藥物新黴素、黴酚酸及潮黴素。

【0416】 適合哺乳動物細胞之選擇標記物的另一實例為使得能夠鑑定勝任攝取抗體核酸之細胞的選擇標記物，諸如 DHFR、胸苷激酶、金屬硫蛋白 I 及 II，較佳為靈長類金屬硫蛋白基因、腺苷脫胺酶、鳥胺酸脫羧酶等。

【0417】 舉例而言，首先藉由在含有 DHFR 之競爭拮抗劑即胺甲喋呤(Mtx)之培養基中培養所有轉型體來鑑定經 DHFR 選擇基因轉型之細胞。在採用野生型 DHFR 時，適當之宿主細胞為缺少 DHFR 活性之中國倉鼠卵巢(CHO)細胞株(例如 ATCC CRL-9096)。

【0418】 替代地，可藉由在含有針對選擇標記物之選擇劑，諸如胺基糖苷抗生素，例如卡那黴素、新黴素或 G418 之培養基中進行細胞生長來選擇經編碼抗體、野生型 DHFR 蛋白及另一選擇標記物(諸如胺基糖苷 3'-磷酸轉移酶(APH))之 DNA 序列轉型或共轉型之宿主細胞(特定言之，含有內源 DHFR 之野生型宿主)。參見美國專利第 4,965,199 號。

iv. 啟動子組分

【0419】 表現及選殖載體通常包含由宿主生物體識別之啟動子，並且可操作地連接至所要含 Fc 之多肽(例如抗體)核酸。已知真核細胞之啟動子序列。實際上，所有真核基因均具有位於轉錄起始位點上游約 25 至 30 個鹼基處之富 AT 區。在許多基因之轉錄起點上游 70 至 80 個鹼基處發現的另一

個序列為 CNCAAT 區，其中 N 可為任何核苷酸。在大部分真核基因之 3' 端為 AATAAA 序列，其可能為用於添加 poly A 尾至編碼序列之 3'端的信號。所有此等序列均適合插入真核表現載體中。

【0420】 為了產生含 Fc 之多肽(舉例而言，諸如抗體)，例如藉由獲自病毒(舉例而言，諸如多形瘤病毒、禽痘病毒、腺病毒(諸如腺病毒 2)、牛乳頭狀瘤病毒、禽肉瘤病毒、巨細胞病毒、逆轉錄病毒、B 型肝炎病毒及猿猴病毒 40 (SV40))基因組、異源哺乳動物啟動子(例如肌動蛋白啟動子或免疫球蛋白啟動子)或熱休克啟動子之啟動子在哺乳動物宿主細胞中控制自載體轉錄，其限制條件為該等啟動子與宿主細胞系統相容。

【0421】 便利地獲得呈 SV40 限制片段形式之 SV40 病毒早期及晚期啟動子，該片段亦含有 SV40 病毒複製起點。便利地獲得呈 Hind 111 E 限制片段形式之人類巨細胞病毒立即早期啟動子。美國專利第 4,419,446 號中揭示使用牛乳頭狀瘤病毒作為載體在哺乳動物宿主中表現 DNA 之系統。此系統之改良描述於美國專利第 4,601,978 號中。關於在來自單純疱疹病毒之胸苷激酶啟動子控制下在小鼠細胞中表現人類 β-干擾素 cDNA，亦參見 Reyes 等人, Nature 297:598-601(1982)。替代地，可使用勞氏肉瘤病毒長末端重複序列作為啟動子。

v. 增強子元件組分

【0422】 可藉由將增強子序列插入載體中來增加高等真核細胞對編碼抗原結合多肽(舉例而言，諸如抗體)之 DNA 的轉錄。現已知來自哺乳動物基因(例如球蛋白、彈性蛋白酶、白蛋白、a-胎蛋白及胰島素基因)之許多增強子序列。亦可使用來自真核細胞病毒之增強子。實例包括 SV40 複製起點晚期側增強子(bp 100-270)、巨細胞病毒早期啟動子增強子、多形瘤複製起點晚期側增強子及腺病毒增強子。關於用於增強真核啟動子活化之元件的描

述，亦參見 Yaniv, Nature 297:17-18 (1982)。增強子可剪接至載體中，位於抗體多肽編碼序列之 5'或 3'位置，條件為達成增強，但一般位於啟動子之 5'位點。

vi. 轉錄終止組分

【0423】 用於真核宿主細胞中之表現載體典型地亦將含有終止轉錄及穩定 mRNA 所必需之序列。該等序列通常可得自真核或病毒 DNA 或 cDNA 非轉譯區之 5'及偶爾地 3'。此等區域含有在編碼抗體之 mRNA 之非轉譯區中轉錄為聚腺苷酸化片段的核苷酸區段。一種適用之轉錄終止組分為牛生長激素聚腺苷酸化區。參見 W094/11026 及其中所揭示之表現載體。

vii. 宿主細胞之選擇及轉型

【0424】 適於選殖或表現本文中之載體中的 DNA 的宿主細胞包括本文中所描述之高等真核細胞，包括脊椎動物宿主細胞。在培養物(組織培養物)中繁殖脊椎動物細胞已成為常規程序。適用哺乳動物宿主細胞株之實例為經 SV40 轉型之猴腎 CV1 細胞株(COS-7，ATCC CRL 1651)；人類胚胎腎細胞株(293 或經次選殖以便在懸浮液培養物中生長之 293 細胞，Graham 等人, J. Gen Virol. 36:59(1977))；幼倉鼠腎細胞(BHK，ATCC CCL 10)；中國倉鼠卵巢細胞/-DHFR (CHO，Urlaub 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980))；小鼠賽特利細胞(TM4，Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980))；猴腎細胞(CV1，ATCC CCL 70)；非洲綠猴腎細胞(VERO-76，ATCC CRL-1587)；人類子宮頸癌細胞(HELA，ATCC CCL 2)；犬腎細胞(MDCK，ATCC CCL 34)；水牛鼠肝細胞(BRL 3A，ATCC CRL 1442)；人類肺細胞(W138，ATCC CCL 75)；人類肝細胞(Hep G2，HB 8065)；小鼠乳房腫瘤(MMT 060562，ATCC CCL51)；TRI 細胞(Mather 等人, Annals N. Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982))；MRC 5 細胞；FS4 細胞；及人類肝細胞瘤細胞株(Hep G2)。

【0425】 用以上所描述之表現或選殖載體對宿主細胞進行轉型，以進行所要抗原結合多肽(舉例而言，諸如抗體)產生，並且在視情況改良之習知營養培養基中進行培養，以便誘導啟動子、選擇轉型體或擴增編碼所要序列之基因。

viii. 培養宿主細胞

【0426】 可在多種培養基中培養用於產生本發明之所要抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)或其次單元之宿主細胞。市售培養基，諸如 Ham 氏 F10 (Sigma)、最低必需培養基((MEM)，(Sigma)、RPMI-1640 (Sigma)及杜爾貝科氏改良伊格爾氏培養基((DMEM)，Sigma)，適合於培養該等宿主細胞。另外，可使用以下文獻中所描述之任何培養基作為宿主細胞之培養基：Ham 等人, Meth. Enz. 58:44 (1979)；Barnes 等人, Anal. Biochem.102:255 (1980)；美國專利第 4,767,704 號、第 4,657,866 號、第 4,927,762 號、第 4,560,655 號或第 5,122,469 號；WO 90/03430；WO 87/00195；或美國專利複審 30,985。此等培養基中之任一種均可根據需要補充激素及/或其他生長因子(諸如胰島素、轉鐵蛋白或表皮生長因子)、鹽(諸如氯化鈉、鈣、鎂及磷酸鹽)、緩衝劑(諸如 HEPES)、核苷酸(諸如腺苷及胸苷)、抗生素(諸如 GENTAMYCIN™藥物)、痕量元素(定義為通常以微莫耳範圍內之最終濃度存在的無機化合物)及葡萄糖或等效能源。亦可以適當濃度包括熟習此項技術者已知的任何其他必需補充物。諸如溫度、pH 值及其類似條件之培養條件為先前用於表現所選宿主細胞之彼等培養條件，且對一般熟習此項技術者將為顯而易知的。

ix. 純化抗原結合多肽

【0427】 當使用重組技術時，本發明之抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)或其次單元可在細胞內產生，或者直接分泌至培

養基中。若在細胞內產生多肽，則作為第一步驟，藉由例如離心或超濾移除顆粒狀碎片，其或為宿主細胞或為溶解片段。在多肽分泌至培養基中時，則一般首先使用市售蛋白質濃縮過濾器，例如 Amicon 或 Millipore Pellicon 超濾單元濃縮來自該等表現系統之上清液。任何上述步驟中均可包括諸如 PMSF 之蛋白酶抑制劑，以抑制蛋白水解作用，並且可包括抗生素以防止偶生污染物之生長。

【0428】 可使用例如羥磷灰石層析法、凝膠電泳、透析及親和力層析法來純化由細胞製備之多肽組合物，以親和力層析法為較佳純化技術。蛋白 A 作為親和力配位體之適合性視抗體中存在之任何免疫球蛋白 Fc 結構域的種類及同型而定。蛋白 A 可用於純化基於人類 γ1、γ2 或 γ4 重鏈之抗體 (Lindmark 等人, J. Immunol. Meth. 62: 1-13 (1983))。推薦蛋白 G 用於所有小鼠同型及人類 γ3 (Guss 等人, EMBO J. 5:15671575 (1986))。親和力配位體所連接之基質為最常用之瓊脂糖，但可利用其他基質。機械穩定之基質，諸如受控孔隙玻璃或聚(苯乙烯二乙烯)苯允許比瓊脂糖更快之流速及更短之處理時間。在抗體包含 CH3 結構域時，Bakerbond ABX™樹脂(J. T. Baker，Phillipsburg，NJ)適用於進行純化。視欲回收之抗體而定，亦可利用其他蛋白質純化技術，諸如在離子交換管柱上分餾、乙醇沈澱、逆相 HPLC、在二氧化矽上層析、在肝素 SEPHAROSE™上層析、在陰離子或陽離子交換樹脂(諸如聚天冬胺酸管柱)上層析、層析聚焦、SDS-PAGE 及硫酸銨沈澱。

【0429】 在任何初步純化步驟後，可使用 pH 值介於約 2.5 至 4.5 之間的溶離緩衝液對包含相關抗體及污染物之混合物進行低 pH 值疏水性相互作用層析法，較佳在低鹽濃度(例如約 0 至 0.25 M 鹽)下進行。抗原結合多肽之產生可替代地或另外(除上述特定方法中之任一種以外)包括對包含多肽混合物之溶液進行透析。

x. 使用桿狀病毒之抗原結合多肽產生

【0430】 可藉由使用例如脂質轉染素(可購自 GIBCO-BRL)將編碼抗原結合多肽之質體及 BaculoGold™病毒 DNA (Pharmingen)共轉染至諸如草地貪夜蛾(Spodoptera frugiperda)細胞(例如 Sf9 細胞；ATCC CRL 1711)或黑腹果蠅(Drosophila melanogaster)S2 細胞之昆蟲細胞中來產生重組桿狀病毒。在一特定實例中，抗原結合多肽序列融合在桿狀病毒表現載體內所含有之抗原決定基標籤上游。該等抗原決定基標籤包括聚His標籤。可採用多種質體，包括來源於市售質體之質體，諸如 pVL1393 (Novagen)或 pAcGP67B (Pharmingen)。簡而言之，可藉由利用與 5'及 3'區互補之引子進行 PCR 來擴增編碼抗原結合多肽之序列。5'引子可併入側接(所選)限制酶位點。接著可用所選限制酶來消化產物，並且次選殖至表現載體中。

【0431】 用表現載體轉染之後，在 28°C下將宿主細胞(例如 Sf9 細胞)培育 4 至 5 天且收集所釋放之病毒並用於進一步擴增。可如例如 O'Reilley 等人(Baculovirus expression vectors: A Laboratory Manual. Oxford: Oxford University Press (1994))所描述來進行病毒感染及蛋白質表現。

【0432】 接著可例如藉由如下之 Ni2+螯合親和力層析法來純化所表現之聚 His 標籤化抗原結合多肽。可如 Rupert 等人(Nature 362:175-179 (1993))所描述，由經重組病毒感染之 Sf9 細胞製備提取物。簡而言之，洗滌 Sf9 細胞，再懸浮於超音波處理緩衝液(25 mL HEPES pH 7.9；12.5 mM $MgCl_2$；0.1 mM EDTA；10%甘油；0.1% NP-40；0.4 M KCl)中，並且在冰上進行超音波處理兩次 20 秒。藉由離心使超音波處理物澄清，且將上清液 50 倍稀釋在負載緩衝液(50 mM 磷酸鹽；300 mM NaCl；10%甘油 pH 7.8)中，並且通過 0.45 μm 過濾器進行過濾。以 5 mL 柱床體積製備 Ni^{2+}-NTA 瓊脂糖管柱(可購自 Qiagen)，用 25 mL 水洗滌，且用 25 mL 負載緩衝液進行平衡。以每分

鐘 0.5 mL 將經過濾之細胞提取物負載至管柱上。用負載緩衝液洗滌管柱至基線 A280，此時開始收集溶離份。接下來，用第二洗滌緩衝液(50 mM 磷酸鹽；300 mM Nal；10%甘油 pH 6.0)洗滌管柱，由此溶離非特異性結合之蛋白質。再次達到 A280 基線之後，用含 0 至 500 mM 咪唑梯度之第二洗滌緩衝液使管柱顯色。收集 1 mL 溶離份，並且用與鹼性磷酸酶結合之 Ni^{2+}-NTA (Qiagen)藉由 SDS-PAGE 及銀染色或西方點墨法加以分析。彙集含有溶離之 His10 標籤化抗原結合多肽之溶離份並且相對於負載緩衝液進行透析。

【0433】 替代地，可使用已知層析技術，包括例如蛋白 A 或蛋白 G 管柱層析法，進行抗原結合多肽之純化。在一個實施例中，藉由溶離至含有離液劑或溫和清潔劑之溶液中而自管柱之固相回收相關抗原結合多肽。例示性離液劑及溫和清潔劑包括但不限於鹽酸胍、尿素、過氯酸鋰、精胺酸、組胺酸、SDS (十二烷基硫酸鈉)、Tween、Triton 及 NP-40，所有各項均可購自市面。

【0434】 THIOMAB™抗體為包括可在抗體內形成二硫鍵之天然半胱胺酸殘基之全長抗體。因此，此等天然半胱胺酸殘基不會使任何反應性硫醇基與藥物-馬來醯亞胺結合(除非用還原劑處理)。因此，新工程改造之 Cys 殘基可保持未配對，並且能夠與親電子連接子試劑或藥物-連接子中間物(諸如藥物-馬來醯亞胺)反應，亦即，結合。

【0435】 硫醇反應性亦可普及至抗體之某些結構域，諸如輕鏈恆定域(CL)及重鏈恆定域 CH1、CH2 及 CH3。產生約 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9 及 0.95 以上之硫醇反應性值的半胱胺酸置換可分別在以下完整抗體之重鏈恆定域 α、δ、ε、γ 及 μ 中進行：IgA、IgD、IgE、IgG 及 IgM，包括 IgG 子類：IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA 及 IgA2。

靶分子及使用方法

【0436】 本發明之抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)或其次單元可用於與標靶相互作用以活化信號轉導途徑。在某些實施例中，該標靶可為活化、引發、調節及/或調控信號轉導途徑之任何標靶。可由如本文中所描述之抗原結合多肽或抗原結合複合物靶向之分子的實例包括但不限於細胞表面受體。在某些實施例中，該細胞表面受體可為藉由與配位體組合而寡聚，例如二聚(同源二聚或異源二聚)且從而將信號轉導至細胞中的受體。

【0437】 在某些實施例中，該標靶可為例如在與其配位體相互作用後寡聚以活化信號轉導途徑之任何標靶。在某些實施例中，該標靶可為多聚受體。如本文中所使用之術語「多聚受體」係指需要例如屬於相同類型及/或來自相同家族之兩個以上、三個以上、四個以上、五個以上或六個以上受體寡聚以獲得信號傳導活性之受體。參見例如 Heidin (1995) Cell 80:213-223。

【0438】 在某些實施例中，靶受體可為「二聚的」且需要兩個受體寡聚以獲得活性。二聚受體之非限制性實例包括神經營養受體、神經生長因子、生長因子、絲胺酸/蘇胺酸激酶受體及受體酪胺酸激酶(RTK)。參見例如 Li 及 Hristova (2010) Cell Adhesion and Migration 4(2):249-254。

【0439】 在某些實施例中，靶受體可為「三聚的」且需要三個受體寡聚以獲得活性。三聚受體之非限制性實例包括腫瘤壞死因子受體(TNFR)。參見例如 Brazil (2006) Nature Reviews Drug Discovery 5:20。

【0440】 在某些實施例中，該標靶可為當與本發明之抗原結合多肽或抗原結合複合物相互作用時引起如以上所定義之「促效作用」之任何標靶，其中該促效作用相對於單體親本抗體有所增強。

【0441】 細胞表面受體包括例如屬於諸如造血因子受體家族、細胞因子受體家族、酪胺酸激酶受體家族、絲胺酸/蘇胺酸激酶受體家族、TNF 受體家族、G 蛋白偶聯受體(GPCR)家族、GPI 錨定受體家族、酪胺酸磷酸酶受體家族、黏附因子家族及激素受體家族之受體家族的受體。可獲得關於屬於此等受體家族之受體及其特徵的各種參考文獻，且包括例如 Cooke B A., King R J B., van der Molen H J.編, New Comprehensive Biochemistry 第 18B 卷,「Hormones and their Actions Part II」第 1-46 頁(1988) Elsevier Science Publishers BV., New York, USA；Patthy L. (1990) Cell, 61: 13-14；Ullrich A. 等人, (1990) Cell, 61: 203-212；Massagul J. (1992) Cell, 69: 1067-1070；Miyajima A.等人, (1992)Annu. Rev. Immunol., 10: 295-331；Taga T.及 Kishimoto T. (1992) FASEB J., 7: 3387-3396；Fantl W I.等人, (1993) Annu. Rev. Biochem., 62: 453-481；Smith C A.等人, (1994) Cell, 76: 959-962；Flower D R. (1999) Biochim. Biophys. Acta, 1422: 207-234；及 M. Miyasaka 編, Cell Technology, 補充卷, Handbook series,「Handbook for Adhesion Factors」(1994) (Shujunsha, Tokyo, Japan)。

【0442】 在某些實施例中，細胞表面受體包括例如激素受體及細胞因子受體。例示性激素受體包括例如雌激素受體。例示性細胞因子受體包括例如造血因子受體、淋巴因子受體、生長因子受體、分化控制因子受體及其類似物。細胞因子受體之實例為紅血球生成素(EPO)受體、促血小板生成素(TPO)受體、顆粒球群落刺激因子(G-CSF)受體、巨噬球群落刺激因子(M-CSF)受體、粒狀巨噬球群落刺激因子(GM-CSF)受體、腫瘤壞死因子(TNF)受體、介白素-1 (IL-1)受體、介白素-2 (IL-2)受體、介白素-3 (IL-3)受體、介白素-4 (IL-4)受體、介白素-5 (IL-5)受體、介白素-6 (IL-6)受體、介白素-7 (IL-7)受體、介白素-9 (IL-9)受體、介白素-10 (IL-10)受體、介白素-11 (IL-11)受體、

介白素-12 (IL-12)受體、介白素-13 (IL-13)受體、介白素-15 (IL-15)受體、干擾素-α (IFN-α)受體、干擾素-β (IFN-β)受體、干擾素-γ (IFN-γ)受體、生長激素(GH)受體、胰島素受體、血液幹細胞增殖因子(SCF)受體、血管表皮生長因子(VEGF)受體、表皮細胞生長因子(EGF)受體、神經生長因子(NGF)受體、纖維母細胞生長因子(FGF)受體、血小板衍生生長因子(PDGF)受體、轉型生長因子-β (TGF-β)受體、白血球遷移抑制因子(LIF)受體、睫狀神經營養性因子(CNTF)受體、抑癌素 M (OSM)受體及 Notch 家庭受體。細胞因子受體之其他非限制性實例揭示於 Wang 等人, (2009) Ann. Rev. Immunol. 27:29-60 中。

【0443】 在某些實施例中，該標靶可包括腫瘤壞死因子受體(TNFR)家族之成員。TNFR 之非限制性實例包括 TNFR1、TNFR2、淋巴細胞毒素 β 受體、OX40、CD40、Fas、誘餌受體 3、CD27、CD70、CD226、CD137、ICOS、2B4、CD30、4-1BB、死亡受體 3 (DR3)、死亡受體 4 (DR4)、死亡受體 5 (DR5)、死亡受體 6 (DR6)、誘餌受體 1、誘餌受體 2、NFκB 受體活化因子(RANK)、骨保護素(OPG)、TWEAK 受體、TACI、BAFF 受體(BAFF-R)、HVEM (疱疹病毒進入介體、神經生長因子受體、B 細胞成熟抗原(BCMA)、糖皮質激素誘導型 TNF 受體(GITR)、毒性及 JNK 誘導因子(TAJ)、RELT、TNFRSF22、TNFRSF23、外胚葉發育不全 A2 同型異構受體及止汗受體外胚葉發育不全 1。TNFR 之其他非限制性實例揭示於 Naismith 及 Sprang (1998) Trends in Biochemical Sciences 23(2):74-79 中。

【0444】 在某些實施例中，該標靶可包括低密度脂蛋白受體(LDLR)家族之成員。LDLR 之非限制性實例包括 LDLR、低密度脂蛋白受體相關蛋白(LRP)1、LRP10、LRP1B、LRP2、LRP4、LRP5、LRP5L、LRP6、LRP8、巢蛋白(Nidogen) (NID)-1、NID2、分揀蛋白(Sortilin)相關受體、L (SORL1)

及極低密度脂蛋白受體(VLDLR)。

【0445】 在某些實施例中，該標靶可包括受體酪胺酸激酶(RTK)家族之成員。RTK之非限制性實例包括白血球受體酪胺酸激酶(LTK)、受體酪胺酸激酶樣孤兒受體(ROR)、Ephrin受體(Eph)、Trk受體、胰島素受體(IR)及Tie2。RTK之其他非限制性實例揭示於以下文獻中：Alexander等人, (2013) The Concise Guide to Pharmacology 2013/14: Enzymes. Br. J. Pharmacol. 170: 1797-1867；Li及Hristova (2010)；以及Lemmon及Schlessinger (2010) Cell 141(7):1117-1134。

【0446】 在其他實施例中，該細胞表面受體可為生長激素受體、胰島素受體、瘦素受體、Flt-3配位體受體或胰島素樣生長因子(IGF)-I受體。例示性受體包括例如 hEPOR (Simon, S.等人, (1990) Blood 76, 31-3)；mEPOR (D'Andrea, AD.等人, (1989) Cell 57, 277-285)；hG-CSFR (Fukunaga, R.等人, (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 87, 8702-8706)；mG-CSFR (Fukunaga, R. 等人, (1990) Cell 61, 341-350)；hTPOR (Vigon, I.等人, (1992) 89, 5640-5644)；mTPOR (Skoda, RC.等人, (1993) 12, 2645-2653)；hInsR (Ullrich, A.等人, (1985) Nature 313, 756-761)；hFlt-3 (Small, D.等人, (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 91, 459-463)；hPDGFR (Gronwald, R GK.等人, (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 85, 3435-3439)；hIFNa/b R (Uze, G.等人, (1990) Cell 60, 225-234；及 Novick, D.等人, (1994) Cell 77, 391-400)。

【0447】 在某些實施例中，該標靶可包括神經生長因子受體家族及/或神經滋養素受體家族之成員。神經生長因子受體及神經滋養素受體之非限制性實例包括p75 (亦稱為低親和力神經生長因子受體(LNGFR))、TrkA、TrkB及TrkC。神經生長因子受體及神經滋養素受體之其他非限制性實例揭示於Lotz等人, (1996) J. of Leukocyte Biology 60(1):1-7中。

【0448】 在某些實施例中，該標靶可包括生長因子受體家族之成員。舉例而言且不具限制性，生長因子受體可為經由 JAK/STAT、MAP 激酶及 PI3 激酶途徑進行信號傳導之受體。生長因子受體之非限制性實例包括纖維母細胞生長因子受體(FGFR)、ErbB 家族受體(例如表皮生長因子受體(EGFR))、血管內皮生長因子受體(VEGFR)及血小板衍生生長因子受體(PDGFR)。

【0449】 在某些實施例中，該標靶可包括形成異源二聚體或異源三聚體以誘導細胞信號之受體。舉例而言但不具限制性，該標靶可為絲胺酸/蘇胺酸激酶受體家族之成員。絲胺酸/蘇胺酸激酶受體之非限制性實例包括類 II 型活化素 A 受體 I (ALK1)、I 型活化素 A 受體(ALK2)、IA 型骨形態發生蛋白受體(BMPR1A)、IB 型活化素 A 受體(ALK4)、IC 型活化素 A 受體(ALK7)、轉型生長因子 β 受體 1 (TGFBR1)、IB 型骨形態發生蛋白受體(BMPR1B)、轉型生長因子 β 受體 II (TGFBR2)、II 型骨形態發生蛋白受體(BMPR2)、II 型抗繆勒氏管激素受體(MISR2)、IIA 型活化素 A 受體(ActR2)、IIB 型活化素 A 受體(ActR2B)及轉型生長因子 β 受體 III (TGFBR3)。

【0450】 在某些實施例中，潛在標靶不包括以下各項：5T4；ADAM-10；ADAM-12；ADAM 17；AFP；AXL；ANGPT2 炭疽抗原；BSG；CAIX；CAXII；CA 72-4；癌瘤相關抗原 CTAA16.88；CCL11；CCL2；CCR4；CCR5；CCR6；CD2；CD3E；CD4；CD5；CD6；CD15；CD18；CD19；CD20；CD22；CD24；CD25；CD29；CD30；CD32B；CD33；CD37；CD38；CD40；CD40LG；CD44；CD47；CD52；CD56；CD66E；CD72；CD74；CD79a；CD79b；CD80；CD86；CD98；CD137；CD147；CD138；CD168；CD200；CD248；CD254；CD257；CDH3；CEA；CEACAM5；CEACAM6；CEACAM8；Claudin4；CS-1；CSF2RA；CSPG-4；CTLA4；Cripto；DLL4；ED-B；EFNA2；EGFR；內皮素 B 受體；ENPP3；EPCAM；ERBB2；ERBB3；FAPα；Fcγ RI；

FCER2；FGFR3；纖維蛋白 IIβ 鏈；FLT1；FOLH1；FOLR1；FRP-1；GD3 神經節苷脂；GDF2；GLP1R；磷脂醯肌醇蛋白聚糖-3；GPNMB；HBV (B 型肝炎病毒)；HCMV (人類巨細胞病毒)；熱休克蛋白 90 同系物[白色念珠菌]；單純疱疹病毒 gD 糖蛋白；HGF；HIV-1；HIV-1 IIIB gpl20 V3 環；HLA-DRB (HLA-DRβ)；人類呼吸道合胞病毒糖蛋白 F；ICAM 1；IFNA1；IFNA1；雙特異性 IFNB1；IgE Fc；IGF1R；IGHE 連接區；IL12B；IL13；IL15；IL17A；ILIA；IL1B；IL2RA；IL4；IL5；IL5RA；IL6；IL6R；IL9；介白素-2 受體 β 次單元；ITGA2；ITGA2B；ITGB3；ITGA4 ITGB7；ITGA5；ITGAL；ITGAV_ITGB3；ITGB2；KDR；L1CAM；Lewis-y；脂聚糖 LPS 之結構域脂質 A；LTA；MET；MM P14；MMpl5；MST1R；MSTN；MUC1；MUC4；MUC16；MUC5AC；NCA-90 顆粒球細胞抗原；Nectin 4；NGF；NRP；NY-ESO-1；OX40L；PLAC-1；PLGF；PDGFRA；PD1；PDL1；PSCA；磷脂絲胺酸；PTK-7；綠膿桿菌血清型 IATS Oil；RSV (人類呼吸道合胞病毒糖蛋白 F)；ROR1；RTN4；SELL；SELP；STEAP1；志賀樣毒素 II B 次單元[大腸桿菌]；SLAM7；SLC44A4；SOST；表皮葡萄球菌脂壁酸；T 細胞受體 α_β；TF；TGFB1；TGFB2；TMEFF2；TNC；TNF；TNFRSF10A；TNFRSF10B；TNFRSF12A；TNFSF13；TNFSF14；TNFSF2；TNFSF7；TRAILR2；TROP2；TYRP1；VAP-1；及中間絲蛋白。

【0451】 在一例示性實施例中，該細胞表面受體為 OX40。

【0452】 在另一例示性實施例中，該細胞表面受體為 DR5。

【0453】 在另一例示性實施例中，該細胞表面受體為 GITR。

【0454】 在另一例示性實施例中，該細胞表面受體為 CD27。

【0455】 在另一例示性實施例中，該細胞表面受體為 CD137。

【0456】 在另一例示性實施例中，該細胞表面受體為 Tie2。

【0457】 在某些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽或抗原結合複合物可用於促效個體之細胞表面受體，此舉包括向該個體投與本文中所描述之複合物或抗原結合多肽。

【0458】 在某些實施例中，本文中所提供之本發明抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)或其次單元可用於治療或預防將受益於受體促效作用之各種疾病或病症，包括例如腫瘤，包括癌前腫瘤、非轉移性腫瘤、轉移性腫瘤及癌性腫瘤(例如早期癌症)；癌症、過敏性或炎症性病症、自體免疫疾病、激素病症，或用於治療處於發展癌症(例如乳癌、結腸直腸癌、肺癌、腎細胞癌、神經膠質瘤或卵巢癌)、過敏性或炎症性病症或自體免疫疾病之風險下的個體。在一些實施例中，該癌症為尿路上皮癌(uBC)、黑色素瘤、非小細胞肺癌(NSCLC)、三陰性乳癌(TNBC)、腎癌或膀胱癌。

【0459】 在某些實施例中，該標靶可包括眼中所表現之細胞表面受體。不希望受理論束縛，認為本文中所描述之抗原結合複合物可有益於眼部治療，此係由於例如其增強之對細胞表面受體之促效作用及/或其增加之尺寸(例如，與典型單株抗體相比)，由此引起更長效之治療。例示性眼標靶包括但不限於上皮生長因子(EGF)受體、血管內皮生長因子(VEGF)受體、Tie2及纖維母細胞生長因子受體。眼標靶更詳細論述於 Rodrigues, E.B.等人, (2009) *Prog. Retin. Eye Res.* 28:117-44 中。

【0460】 在某些實施例中，該標靶可包括癌症或其他惡性細胞上所表現之用於靶向抗體-藥物結合物(ADC)之細胞表面受體。不希望受理論束縛，認為本文中所描述之抗原結合複合物可藉由靶向受體及促進細胞內在化，從而遞送相關治療化合物而有益於作為 ADC 之用途。一般而言，ADC 靶向由癌症細胞或癌症治療標靶表現之細胞表面抗原。該等抗原包括例如腫瘤

相關抗原(TAA)、細胞表面受體蛋白及其他細胞表面分子、跨膜蛋白、信號傳導蛋白、細胞存活調控因子、細胞增殖調控因子、與(因例如已知或疑似在功能上促成)組織發育或分化相關之分子、淋巴因子、細胞因子、涉及細胞週期調控之分子、涉及血管發生之分子及與(因例如已知或疑似在功能上促成)血管生成相關之分子。腫瘤相關抗原可為群落分化因子(亦即，CD 蛋白)。抗原結合複合物能夠結合之抗原可為以上提及之類別之一的子集之成員，其中該類別之其他子集包含具有不同的特徵(相對於該相關抗原)的其他分子/抗原。ADC 之例示性標靶包括但不限於 HER2、MUC16、STEAP1、NAPI2B、LY6E、B7H4、CD79B 及 CD22。

【0461】 抗體-藥物結合物(ADC)化合物之一例示性實施例包含抗原結合複合物(Ab)及藥物部分(D)，其中該複合物由連接子部分(L)連接至 D；該組合物具有式 I：

$$Ab–(L–D)_p \qquad I,$$

其中 p 為 1、2、3 或 4。可例如使用具有游離工程改造半胱胺酸之半胱胺酸工程改造抗體將藥物部分連接至本發明之複合物。

【0462】 本發明之 ADC 化合物包括對於抗癌活性而言具有效用之 ADC 化合物。特定言之，該等化合物包括藉由連接子與藥物部分(亦即，毒素)結合(亦即，共價連接)之複合物。當藥物未與抗體結合時，該藥物具有細胞毒性或細胞抑制效應。因而藉由與抗原結合複合物結合來調節藥物部分之生物活性。本發明之抗體-藥物結合物(ADC)選擇性地遞送有效劑量之細胞毒性劑至腫瘤組織，藉此可達成較大選擇性，亦即，較低有效劑量。

【0463】 抗體-藥物結合物(ADC)之藥物部分(D)包括具有細胞毒性或細胞抑制效應之任何化合物、部分或基團。藥物部分包括：(i)化學治療劑，其可充當微管蛋白抑制劑、有絲分裂抑制劑、拓撲異構酶抑制劑或 DNA 插

入劑；(ii)蛋白質毒素，其可具有酶功能；及(iii)放射性同位素。

【0464】 例示性藥物部分包括但不限於類美登素(maytansinoid)、奧里斯他汀(auristatin)、多拉司他汀(dolastatin)、單端孢黴素、CC1065、卡奇黴素及其他烯二炔抗生素、紫杉烷、吡咯并苯并二氮呼(PBD)、1-(氯甲基)-2,3-二氫-1H-苯并[e]吲哚(CBI)二聚體、CBI-PBD 異源二聚體、蒽環類及其立體異構體、同電子排列體、類似物或衍生物。

【0465】 適合用作類美登素藥物部分之美登素化合物在此項技術中為眾所周知的，並且可根據已知方法自天然來源分離，使用基因工程改造技術產生(參見 Yu 等人, (2002) PROC. NAT. ACAD. SCI. (USA) 99:7968-7973)，或者根據已知方法合成製備美登醇及美登醇類似物。

【0466】 例示性類美登素藥物部分包括具有經修飾之芳族環的類美登素藥物部分，諸如：C-19-脫氯(美國專利第 4256746 號) (藉由氫化鋰鋁還原安絲菌素 P2 來製備)；C-20-羥基(或 C-20-脫甲基+/-C-19-脫氯(美國專利第 4361650 號及第 4307016 號) (藉由使用鏈黴菌或放線菌進行脫甲基或使用 LAH 進行脫氯來製備)；及 C-20-脫甲氧基 C-20-醯氧基(-OCOR)+/-脫氯(美國專利第 4,294,757 號) (藉由使用醯基氯進行醯化來製備)，以及在其他位置具有修飾之類美登素藥物部分。

【0467】 例示性類美登素藥物部分亦包括具有以下修飾之類美登素藥物部分，諸如：C-9-SH (US 4424219) (藉由美登醇與 H_2S 或 P_2S_5 之反應來製備)；C-14-烷氧基甲基(脫甲氧基/CH_2 OR) (US 4331598)；C-14-羥甲基或醯氧基甲基(CH_2OH 或 CH_2OAc) (US 4450254) (由奴卡菌屬製備)；C-15-羥基/醯氧基(US 4364866) (藉由以鏈黴菌轉化美登醇來製備)；C-15-甲氧基(美國專利第 4313946 號及第 4315929 號) (自滑桃樹分離)；C-18-N-脫甲基(美國專利第 4362663 號及第 4322348 號) (藉由以鏈黴菌對美登醇進行脫甲基來製備)；

及 4,5-脫氧(US 4371533) (藉由三氯化鈦/LAH 還原美登醇來製備)。已知美登素化合物上之許多位置適用作鍵聯位置，視連接類型而定。舉例而言，對於形成酯鍵聯而言，具有羥基之 C-3 位置、經羥甲基修飾之 C-14 位置、經羥基修飾之 C-15 位置及具有羥基之 C-20 位置均為適合的。

【0468】 藥物部分包括卡奇黴素以及其類似物及衍生物。卡奇黴素家族抗生素能夠在亞皮莫耳濃度下產生雙股 DNA 斷裂。關於卡奇黴素家族之結合物之製備，參見 US 5712374、US 5714586、US 5739116、US 5767285、US 5770701、US 5770710、US 5773001、US 5877296。可使用之卡奇黴素結構類似物包括但不限於 γ_1^I、α_2^I、α_3^I、N-乙醯基-γ_1^I、PSAG 及 θ^I_1 (Hinman 等人, Cancer Research 53:3336-3342 (1993)；Lode 等人, Cancer Research 58:2925-2928 (1998)。

【0469】 在一些實施例中，ADC 包含吡咯并苯并二氮呯(PBD)。在一些實施例中，PDB 二聚體識別並結合特定 DNA 序列。1965 年首次報導天然產物安麴黴素 PBD (Leimgruber 等人, (1965) *J. Am. Chem. Soc.*, 87:5793-5795；Leimgruber 等人, (1965) *J. Am. Chem. Soc.*, 87:5791-5793)。自此，已報導許多天然存在之 PBD 及類似物(Thurston 等人, (1994) Chem. Rev. 1994, 433-465)，包括三環 PBD 支架之二聚體(US 6884799；US 7049311；US 7067511；US 7265105；US 7511032；US 7528126；US 7557099)。不欲受任何特定理論束縛，據信二聚體結構賦予適當三維形狀以便與 B 型 DNA 之小溝形成等螺旋，從而在結合位點處適貼配合(Kohn, Antibiotics III. Springer-Verlag, New York, 第 3-11 頁(1975)；Hurley 及 Needham-VanDevanter, (1986) *Acc. Chem. Res.*, 19:230-237)。帶有 C2 芳基取代基之二聚 PBD 化合物已顯示適用作細胞毒性劑(Hartley 等人, (2010) *Cancer Res.* 70(17):6849-6858；Antonow (2010) *J. Med. Chem.* 53(7):2927-2941；Howard

等人, (2009) *Bioorganic and Med. Chem. Letters* 19(22):6463-6466)。

【0470】 在一些實施例中，PBD 化合物可藉由在 N10 位置上用活體內可移除之氮保護基對其進行保護而用作前藥(WO 00/12507；WO 2005/023814)。

【0471】 在一些實施例中，該免疫結合物包含與一或多個卡奇黴素分子結合之抗原結合複合物。卡奇黴素家族抗生素及其類似物能夠在亞皮莫耳濃度下產生雙股 DNA 斷裂(Hinman 等人, (1993) *Cancer Research* 53:3336-3342；Lode 等人, (1998) *Cancer Research* 58:2925-2928)。卡奇黴素具有細胞內作用位點，但在某些情況下不容易越過胞質膜。因此，在一些實施例中，藉由抗體介導之內在化對此等藥劑進行細胞攝取可大幅增強其細胞毒性效應。用卡奇黴素藥物部分製備抗體-藥物結合物之非限制性例示性方法描述於例如 US 5712374、US 5714586、US 5739116 及 US 5767285 中。

【0472】 在一些實施例中，ADC 包含吡咯并苯并二氮呯(PBD)。在一些實施例中，PDB 二聚體識別並結合特定 DNA 序列。1965 年首次報導天然產物安麴黴素 PBD (Leimgruber 等人, (1965) *J. Am. Chem. Soc.*, 87:5793-5795；Leimgruber 等人, (1965) *J. Am. Chem. Soc.*, 87:5791-5793)。自此，已報導許多天然存在之 PBD 及類似物(Thurston 等人, (1994) Chem. Rev. 1994, 433-465)，包括三環 PBD 支架之二聚體(US 6884799；US 7049311；US 7067511；US 7265105；US 7511032；US 7528126；US 7557099)。不欲受任何特定理論束縛，據信二聚體結構賦予適當三維形狀以便與 B 型 DNA 之小溝形成等螺旋，從而在結合位點處適貼配合(Kohn, Antibiotics III. Springer-Verlag, New York, 第 3-11 頁(1975)；Hurley 及 Needham-VanDevanter, (1986) *Acc. Chem. Res.*, 19:230-237)。帶有 C2 芳基取代基之二聚 PBD 化合

物已顯示適用作細胞毒性劑(Hartley 等人, (2010) *Cancer Res.* 70(17):6849-6858；Antonow (2010) *J. Med. Chem.* 53(7):2927-2941；Howard 等人, (2009) *Bioorganic and Med. Chem. Letters* 19(22):6463-6466)。

【0473】 在一些實施例中，ADC 包含蒽環類。蒽環類為展現細胞毒性活性之抗生素化合物。儘管不欲受任何特定理論束縛，但研究指示蒽環類可用於藉由許多不同的機制殺死細胞，包括：1)將藥物分子插入細胞之 DNA 中，從而抑制 DNA 依賴性核酸合成；2)由藥物產生自由基，接著與細胞大分子反應以便對細胞造成損傷；及/或 3)藥物分子與細胞膜之相互作用(參見例如 C. Peterson 等人，「Transport And Storage Of Anthracycline In Experimental Systems And Human Leukemia」, Anthracycline Antibiotics In Cancer Therapy；N.R. Bachur,「Free Radical Damage」同上第 97-102 頁)。由於其細胞毒性潛力，蒽環類已用於治療許多癌症，諸如白血病、乳癌、肺癌、卵巢腺癌及肉瘤(參見例如 P.H-Wiernik, Anthracycline: Current Status And New Developments 第 11 頁)。

【0474】 非限制性例示性蒽環類包括多柔比星、表柔比星、伊達比星、道諾黴素、奈莫柔比星及其衍生物。已製備並研究道諾黴素及多柔比星之免疫結合物及前藥(Kratz 等人, (2006) *Current Med. Chem.* 13:477-523；Jeffrey 等人, (2006) *Bioorganic & Med. Chem. Letters* 16:358-362；Torgov 等人, (2005) *Bioconj. Chem.* 16:717-721；Nagy 等人, (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:829-834；Dubowchik 等人, (2002) *Bioorg. & Med. Chem. Letters* 12:1529-1532；King 等人, (2002) *J. Med. Chem.* 45:4336-4343；EP 0328147；US 6630579)。抗體-藥物結合物 BR96-多柔比星特異性地與腫瘤相關抗原 Lewis-Y 反應且已在 I 期及 II 期研究中加以評估(Saleh 等人, (2000) *J. Clin. Oncology* 18:2282-2292；Ajani 等人, (2000) *Cancer Jour.* 6:78-81；Tolcher 等

人, (1999) *J. Clin. Oncology* 17:478-484)。

【0475】 在一些實施例中，該免疫結合物包含與一或多個毒傘肽分子結合之抗原結合複合物。毒傘肽為由 8 個胺基酸組成之環肽。其可自毒鵝膏蕈菌分離或合成製備。毒傘肽特異性抑制哺乳動物細胞之 DNA 依賴性 RNA 聚合酶 II，且從而亦抑制受影響細胞之轉錄及蛋白質生物合成。對細胞中之轉錄之抑制導致生長及增殖停止。參見例如 Moldenhauer 等人, JNCI 104:1-13 (2012)；WO2010115629、WO2012041504、WO2012119787、WO2014043403、WO2014135282 及 WO2012119787，該等文獻以全文引用之方式併入在此。在一些實施例中，該一或多個毒傘肽分子為一或多個 α-毒鵝膏菌素分子。

【0476】 其他藥物部分包括蛋白質毒素，諸如：白喉毒素 A 鏈、白喉毒素之非結合活性片段、外毒素 A 鏈(來自綠膿桿菌)、篦麻毒素 A 鏈(Vitetta 等人, (1987) Science, 238:1098)、相思子毒素 A 鏈、蒴蓮根毒素 A 鏈、α-帚麴黴素、油桐蛋白、香石竹蛋白、美洲商陸蛋白(PAPI、PAPII 及 PAP-S)、苦瓜抑制劑、麻瘋樹毒素、巴豆毒素、肥皂草抑制劑、白樹毒素、絲林黴素(mitogellin)、侷限麴菌素、酚黴素、依諾黴素(enomycin)及單端孢菌素(WO 93/21232)。

【0477】 在某些實施例中，該抗原結合複合物為雙特異性的，且該等標靶可包括癌症或其他惡性細胞上所表現之細胞表面受體及諸如 T 細胞之免疫細胞所表現之細胞表面受體(例如T細胞依賴性雙特異性複合物或TDB)。不希望受理論束縛，認為本文中所描述之抗原結合複合物可能有益於作為 TDB 之用途，例如，由於其改良之親合力，由此可獲得更大細胞選擇性及/或治療指數。

【0478】 例示性 T 細胞表現之標靶包括但不限於 CD3。CD3 (分化簇 3) T

細胞共受體為蛋白質複合物且由四個不同的鏈組成。在哺乳動物中，該複合物含有 CD3γ 鏈、CD3δ 鏈及兩個 CD3ε 鏈。此等鏈與 T 細胞受體(TCR)及ζ鏈締合，以便在 T 淋巴細胞中產生活化信號。TCR、ζ鏈及 CD3 分子共同形成 TCR 複合物。如本文中所使用之術語「CD3」係指來自任何人類來源之任何天然 CD3。該術語涵蓋「全長」及未處理蛋白質以及由在細胞中處理產生之蛋白質或者一或多個CD3鏈(多肽)之任何形式(例如成熟多肽)。該術語亦涵蓋 CD3 之天然存在之變異體及同功異形體，例如剪接變異體或對偶基因變異體。舉例而言，CD3γ 鏈、CD3δ 鏈及 CD3ε 鏈及序列之描述提供於 www.uniprot.org/uniprot/P04234 、 www.uniprot.org/uniprot/P07766 及 www.uniprot.org/uniprot/P09693。

【0479】 在一些實施例中，該雙特異性複合物結合人類 CD3ε 多肽。在一些實施例中，該雙特異性複合物結合與其他 TCR 次單元締合之天然 T 細胞受體(TCR)複合物中的人類 CD3ε 多肽。在一些實施例中，該雙特異性複合物結合人類 CD3γ 多肽。在一些實施例中，該雙特異性複合物結合與其他 TCR 次單元締合之天然 T 細胞受體(TCR)複合物中的人類 CD3γ 多肽。

【0480】 已知用於鑑別其具有生物活性之抗 CD3 抗體的分析法。生物活性可包括例如在活體內、試管內或離體與 CD3 多肽(例如 T 細胞表面上之 CD3)或其肽片段之結合。在本發明之多特異性(例如雙特異性)抗原結合複合物(例如具有一個抗癌抗原臂及另一 CD3 多肽識別臂之 TDB 抗體)的情況下，生物活性亦可包括例如效應細胞活化(例如 T 細胞(例如 CD8+及/或 CD4+ T 細胞)活化)、效應細胞群體擴增(亦即，T 細胞計數增加)、靶細胞群體減少(亦即，在其細胞表面上表現 HER2 之細胞群體減少)及/或靶細胞殺死。提供在活體內及/或試管內具有此種生物活性之抗體。在某些實施方案中，測試本發明複合物之此種生物活性。

【0481】 在某些實施例中，該標靶可包括血腦屏障(BBB)細胞上所表現之細胞表面受體。不希望受理論束縛，認為本文中所描述之抗原結合複合物可能有益於輸送治療劑(例如治療化合物或對相關標靶及 BBB 組分具有特異性之雙特異性抗原結合複合物)越過 BBB，例如，以便治療由於其可能發生受體介導之吸收而致的腦部病症或疾病。BBB 細胞表現之例示性標靶包括但不限於轉鐵蛋白受體、胰島素樣生長因子受體、胰島素受體、低密度脂蛋白受體相關蛋白 1 及 2 以及白喉毒素受體。BBB 靶向治療劑之進一步描述可見於例如 Jones, A.R. and Shusta, E.V. (2007) *Pharm. Res.* 24:1759-71。

OX40 促效劑之用途

【0482】 在某些實施例中，如本文中所描述之結合 OX40 之本發明抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)可用於在個體中增強免疫反應、治療癌症、預防癌症、增強其他癌症療法之效力、增強疫苗效力、治療病毒性或細菌性疾病或病症或者調節 T 細胞反應。

【0483】 在一個態樣中，提供一種用於在患有癌症之個體中增強免疫功能(例如藉由上調細胞介導之免疫反應)之方法，該方法包括向該個體投與有效量之如本文中所描述之結合 OX40 之抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)。在一個態樣中，提供一種用於在患有癌症之個體中增強 T 細胞功能之方法，該方法包括向該個體投與有效量之如本文中所描述之結合 OX40 之抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)。

【0484】 在一些實施例中，「增強 T 細胞功能」包括誘導、引起或刺激效應或記憶 T 細胞以具有更新、持續或擴增之生物功能。增強 T 細胞功能之實例包括：相對於干預前之水準，CD8+效應 T 細胞之 γ-干擾素分泌增加、CD4+記憶及/或效應 T 細胞之 γ-干擾素分泌增加、CD4+效應及/或記憶 T 細

胞之增殖增加、CD8+效應 T 細胞之增殖增加、抗原反應性(例如清除率)增加。在一個實施例中，增強程度為至少 50%，或者 60%、70%、80%、90%、100%、120%、150%、200%。量測此增強之方式為熟習此項技術者已知的。

【0485】 在一個態樣中，提供一種用於在患有癌症之個體中增強免疫功能(例如藉由減少免疫功能障礙及/或功能障礙免疫反應或免疫細胞)之方法，該方法包括向該個體投與有效量之如本文中所描述之結合 OX40 之抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)。在一些實施例中，在免疫功能障礙之情形下，「功能障礙」係指對抗原刺激之免疫反應性降低的狀態。在一些實施例中，「功能障礙」亦包括對抗原識別無感受性或無反應，特定言之，將抗原識別轉譯成諸如增殖、細胞因子產生(例如 γ 干擾素)及/或靶細胞殺死之下游 T 細胞效應功能的能力受損。

【0486】 在一個態樣中，提供一種用於在患有癌症之個體中治療腫瘤免疫及/或增強腫瘤免疫原性之方法，該方法包括向該個體投與有效量之如本文中所描述之結合 OX40 之抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)。在一些實施例中，「腫瘤免疫」係指腫瘤逃避免疫識別及清除之過程。因而，在一些實施例中，作為治療原理，當此種逃避減弱時，腫瘤免疫得以「治療」，且腫瘤被免疫系統識別並受到攻擊。腫瘤識別之實例包括腫瘤結合、腫瘤收縮及腫瘤清除。在一些實施例中，「免疫原性」係指特定物質激起免疫反應之能力。腫瘤具有免疫原性且增強腫瘤免疫原性有助於藉由免疫反應清除腫瘤細胞。

【0487】 在一些實施例中，如本文中所描述之結合 OX40 之抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)增強 CD4+效應 T 細胞功能，例如，藉由增加 CD4+效應 T 細胞增殖及/或增加 CD4+效應 T 細胞之 γ 干擾素產生(例如，與用結合 OX40 之促效抗原結合複合物進行治療之前的增殖

及/或細胞因子產生相比)。在一些實施例中，該細胞因子為γ干擾素。在一些實施例中，如本文中所描述之結合 OX40 之抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)增加腫瘤內(浸潤) CD4+效應 T 細胞之數目(例如，CD4+效應 T 細胞之總數目，或例如 CD4+細胞佔 CD45+細胞之百分比)，例如，與用結合 OX40 之促效抗原結合複合物進行治療之前的腫瘤內(浸潤) CD4+ T 細胞數目相比。在一些實施例中，如本文中所描述之結合 OX40 之抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)增加表現γ干擾素之腫瘤內(浸潤) CD4+效應 T 細胞之數目(例如，總表現γ干擾素之 CD4+細胞，或例如表現γ干擾素之 CD4+細胞佔總 CD4+細胞之百分比)，例如，與用結合 OX40 之促效抗原結合複合物進行治療之前表現γ干擾素之腫瘤內(浸潤) CD4+ T 細胞數目相比。

【0488】 在一些實施例中，如本文中所描述之結合 OX40 之抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)增加腫瘤內(浸潤) CD8+效應 T 細胞之數目(例如，CD8+效應 T 細胞之總數目，或例如 CD8+佔 CD45+細胞之百分比)，例如，與用抗人類 OX40 促效抗體進行治療之前的腫瘤內(浸潤) CD8+ T 效應細胞數目相比。在一些實施例中，如本文中所描述之結合 OX40 之抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)增加表現γ干擾素之腫瘤內(浸潤) CD8+效應 T 細胞之數目(例如，表現γ干擾素之 CD8+細胞佔總 CD8+細胞之百分比)，例如，與用結合 OX40 之促效抗原結合複合物進行治療之前表現 γ 干擾素之腫瘤內(浸潤) CD8+ T 細胞數目相比。

【0489】 在一些實施例中，如本文中所描述之結合 OX40 之抗原結合複合物(例如，具有促效活性之四價抗原結合複合物)增強記憶 T 細胞功能，例如，藉由增加記憶 T 細胞增殖及/或增加該記憶細胞之細胞因子產生。在一

些實施例中，該細胞因子為γ干擾素。

【0490】 在一些實施例中，如本文中所描述之結合 OX40 之抗原結合複合物(例如，具有促效活性之四價抗原結合複合物)抑制 Treg 功能，例如，藉由降低對效應T細胞功能(例如效應T細胞增殖及/或效應T細胞細胞因子分泌)之 Treg 抑制。在一些實施例中，該效應 T 細胞為 CD4+效應 T 細胞。在一些實施例中，該抗人類 OX40 促效抗原結合複合物減少腫瘤內(浸潤) Treg 之數目(例如，Treg 之總數目，或例如 Fox3p+細胞佔 CD4+細胞之百分比)。

【0491】 在一個實施例中，本發明提供用於增強哺乳動物之免疫反應之方法，該等方法包括向該哺乳動物投與治療有效量之結合 OX40 之抗原結合複合物(例如，具有促效活性之四價抗原結合複合物)。在某些實施例中，該等方法包括刺激、激起、增加、改良或加強哺乳動物免疫系統之任何反應。該免疫反應可為細胞反應(亦即，細胞介導之反應，諸如細胞毒性 T 淋巴細胞介導之反應)或體液反應(亦即，抗體介導之反應)，且可為原發性或繼發性免疫反應。免疫反應增強之實例包括 CD4+輔助 T 細胞活性增加及產生細胞溶解性 T 細胞。可使用熟習此項技術者已知的眾多試管內或活體內量測來評定免疫反應增強，包括但不限於細胞毒性 T 淋巴細胞分析、細胞因子釋放(例如 IL-2 產生)、腫瘤消退、攜帶腫瘤之動物的存活時間、抗體產生、免疫細胞增殖、細胞表面標記物之表現及細胞毒性。典型地，當與未治療哺乳動物或未使用所主張之方法加以治療之動物的免疫反應相比時，本發明之方法增強哺乳動物之免疫反應。在一個實施例中，該方法增強細胞免疫反應，尤其是細胞毒性 T 細胞反應。在另一實施例中，該細胞免疫反應為 T 輔助細胞反應。在再另一個實施例中，該免疫反應為細胞因子產生，尤其是 IL-2 產生。

【0492】 在另一實施例中，本發明提供治療哺乳動物之癌症之方法，該方法包括向該哺乳動物投與治療有效量之結合 OX40 之抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)。在某些實施例中，該方法包括在診斷患有癌症之哺乳動物中引起理想或有益之效應。該理想或有益效應可包括抑制癌細胞進一步生長或擴散、癌細胞死亡、抑制癌症復發、減輕與癌症相關之疼痛或提高動物之存活率。抑制癌症復發涵蓋先前已藉由輻射、化學療法、手術或其他技術加以治療之癌症位點及周圍組織。該效應可為主觀的或客觀的。舉例而言，若該動物為人類，則該人類可指出活力或生命力得到改良或疼痛有所減輕，作為主觀症狀改善或對治療之反應。替代地，臨床醫師可基於身體檢查、實驗室參數、腫瘤標記物或射線照相發現而注意到腫瘤大小或腫瘤負荷之減小。臨床醫師可針對治療反應觀測之一些實驗室指標包括規範化測試，諸如白血球計數、紅細球計數、血小板計數、紅血球沈降率及各種酶水準。另外，臨床醫師可觀測可偵測腫瘤標記物之減少。替代地，可使用其他測試來評估客觀改良，諸如音波圖、核磁共振測試及正電子發射測試。

【0493】 在一個實施例中，本發明提供用於預防哺乳動物之癌症之方法，該等方法包括向該哺乳動物投與治療有效量之結合 OX40 之抗原結合複合物(例如，具有促效活性之四價抗原結合複合物)。在某些實施例中，該方法包括在未證明瘤形成或腫瘤發生但鑑別到癌症素因(無論是藉由基因篩選或是其他方式確定)之哺乳動物中延遲、抑制或預防癌症發作。該術語亦涵蓋治療具有惡變前病狀之哺乳動物以終止該惡變前病狀向惡性病進展或引起該惡變前病狀消退。惡變前病狀之實例包括增生、發育異常及組織變形。

【0494】 在某些實施例中，順應如本文中所描述之結合 OX40 之抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)治療之癌症包括乳癌、

結腸直腸癌、直腸癌、非小細胞肺癌、神經膠質母細胞瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、腎細胞癌、前列腺癌、肝癌、胰臟癌、軟組織肉瘤、卡波西氏肉瘤、類癌瘤、頭頸癌、卵巢癌、間皮瘤及多發性骨髓瘤。在一些實施例中，該癌症選自：非小細胞肺癌、神經膠質母細胞瘤、神經母細胞瘤、黑色素瘤、乳癌(例如三陰性乳癌)、胃癌、結腸直腸癌(CRC)及肝細胞癌。又，在一些實施例中，該癌症選自：非小細胞肺癌、結腸直腸癌、神經膠質母細胞瘤及乳癌(例如三陰性乳癌)，包括彼等癌症之轉移形式。在一些實施例中，該癌症為尿路上皮癌(uBC)、黑色素瘤、非小細胞肺癌(NSCLC)、三陰性乳癌(TNBC)、腎癌或膀胱癌。

【0495】 在一些實施例中，癌症之實例進一步包括但不限於 B 細胞淋巴瘤(包括低級/濾泡性非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)；小淋巴細胞(SL) NHL；中級/濾泡性 NHL；中級瀰漫性 NHL；高級免疫母細胞 NHL；高級淋巴母細胞 NHL；高級小無裂細胞 NHL；大體積疾病 NHL；套細胞淋巴瘤；AIDS 相關淋巴瘤；及瓦登斯特隆氏巨球蛋白血症)；慢性淋巴細胞性白血病(CLL)；急性淋巴母細胞性白血病(ALL)；毛細胞白血病；慢性髓母細胞性白血病；及移植後淋巴組織增生性病症(PTLD)，以及與斑痣性錯構瘤相關之異常血管增殖、水腫(諸如與腦腫瘤相關之水腫)、B 細胞增殖病症及梅格斯氏症候群。更特定實例包括但不限於復發性或難治性 NHL、第一線低級 NHL、第 III/IV 階段 NHL、化學療法抗性 NHL、前驅 B 淋巴母細胞性白血病及/或淋巴瘤、小淋巴細胞性淋巴瘤、B 細胞慢性淋巴細胞性白血病及/或前淋巴細胞性白血病及/或小淋巴細胞性淋巴瘤、B 細胞前淋巴細胞性淋巴瘤、免疫細胞瘤及/或淋巴漿細胞性淋巴瘤、淋巴漿細胞性淋巴瘤、邊緣區 B 細胞淋巴瘤、脾邊緣區淋巴瘤、結節外邊緣區-MALT 淋巴瘤、結節性邊緣區淋巴瘤、毛細胞白血病、漿細胞瘤及/或漿細胞骨髓瘤、低級/濾泡性淋巴瘤、中

級/濾泡性 NHL、套細胞淋巴瘤、濾泡中心性淋巴瘤(濾泡性)、中級瀰漫性 NHL、瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤、侵襲性 NHL (包括侵襲性前線 NHL 及侵襲性復發性 NHL)、自體幹細胞移植後或難治性 NHL 復發、原代縱隔大 B 細胞淋巴瘤、原代滲出性淋巴瘤、高級免疫母細胞NHL、高級淋巴母細胞NHL、高級小無裂細胞 NHL、大體積疾病 NHL、伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)、前驅(外周)大顆粒狀淋巴細胞性白血病、蕈樣真菌病及/或塞紮萊症候群、皮膚淋巴瘤、退行性大細胞淋巴瘤、血管中心淋巴瘤。

【0496】 在一些實施例中，癌症之實例進一步包括但不限於 B 細胞增殖病症，其進一步包括但不限於淋巴瘤(例如 B 細胞非霍奇金氏淋巴瘤(NHL))及淋巴細胞性白血病。該等淋巴瘤及淋巴細胞性白血病包括例如 a)濾泡性淋巴瘤；b)小無裂細胞淋巴瘤/伯基特氏淋巴瘤(包括地方性伯基特氏淋巴瘤、偶發性伯基特氏淋巴瘤及非伯基特氏淋巴瘤)；c)邊緣區淋巴瘤(包括結節外邊緣區 B 細胞淋巴瘤(黏膜相關淋巴組織淋巴瘤，MALT)、結節性邊緣區 B 細胞淋巴瘤及脾邊緣區淋巴瘤)；d)套細胞淋巴瘤(MCL)；e)大細胞淋巴瘤(包括 B 細胞瀰漫性大細胞淋巴瘤(DLCL)、瀰漫性混合型細胞淋巴瘤、免疫母細胞淋巴瘤、原代縱隔 B 細胞淋巴瘤、血管中心淋巴瘤-肺 B 細胞淋巴瘤)；f)毛細胞白血病；g)淋巴細胞性淋巴瘤、瓦爾登斯托姆氏巨球蛋白血症(Waldenstrom's macroglobulinemia)；h)急性淋巴細胞性白血病(ALL)、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)/小淋巴細胞性淋巴瘤(SLL)、B 細胞前淋巴細胞性白血病；i)漿細胞腫瘤、漿細胞骨髓瘤、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤；及/或 j)霍奇金氏病(Hodgkin's disease)。

【0497】 在該等方法中任一種之一些實施例中，該癌症為 B 細胞增殖性病症。在一些實施例中，該 B 細胞增殖性病症為淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、侵襲性 NHL、復發性侵襲性 NHL、復發性無痛性 NHL、難治性

NHL、難治性無痛性 NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)或套細胞淋巴瘤。在一些實施例中，該 B 細胞增殖性病症為 NHL，諸如無痛性 NHL 及/或侵襲性 NHL。在一些實施例中，該 B 細胞增殖性病症為無痛性濾泡性淋巴瘤或瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤。

【0498】 在任一種本發明方法之一些實施例中，該癌症呈現人類效應細胞(例如受人類效應細胞浸潤)。用於檢測人類效應細胞之方法為此項技術中眾所周知的，包括例如藉由 IHC。在一些實施例中，該癌症呈現高水準之人類效應細胞。在一些實施例中，人類效應細胞為 NK 細胞、巨噬細胞、單核細胞中之一或多種。在一些實施例中，該癌症為本文中所描述之任何癌症。在一些實施例中，該癌症為非小細胞肺癌(NSCLC)、神經膠質母細胞瘤、神經母細胞瘤、黑色素瘤、乳癌(例如三陰性乳癌)、胃癌、結腸直腸癌(CRC)或肝細胞癌。

【0499】 本文中所描述之抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)可單獨或與其他試劑組合用於療法中。舉例而言，本文中所描述之抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)可與至少一種額外治療劑共同投與。

【0500】 以上所指出之該等組合療法涵蓋組合投與(其中兩種以上治療劑包括在相同或單獨調配物中)及單獨投與(在此情況下，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物之投與可在投與該(等)額外治療劑之前、同時及/或之後發生)。在一個實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物之投與及額外治療劑之投與在彼此相距約一個月內或在約一、二或三週內或在約一、二、三、四、五或六天內。本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物亦可與輻射療法組合使用。

【0501】 在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與化學療法或化學治療劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與輻射療法或放射治療劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與靶向療法或靶向治療劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與免疫療法或免疫治療劑(例如單株抗體)聯合投與。

【0502】 「化學治療劑」包括適用於治療癌症之化學化合物。化學治療劑之實例包括埃羅替尼(erlotinib) (TARCEVA®，Genentech/OSI Pharm.)、硼替佐米(bortezomib) (VELCADE®，Millennium Pharm.)、二硫龍(disulfiram)、沒食子酸表兒茶素、鹽孢菌醯胺 A、卡非佐米(carfilzomib)、17-AAG (格爾德黴素(geldanamycin))、根赤殼菌素、乳酸脫氫酶 A (LDH-A)、氟維司群(fulvestrant) (FASLODEX®，AstraZeneca)、舒尼替尼(sunitib) (SUTENT®，Pfizer/Sugen)、來曲唑(letrozole) (FEMARA®，Novartis)、甲磺酸伊馬替尼(GLEEVEC®，Novartis)、非那舒特(finasunate) (VATALANIB®，Novartis)、奧沙利鉑(oxaliplatin) (ELOXATIN®，Sanofi)、5-FU (5-氟尿嘧啶)、甲醯四氫葉酸、雷帕黴素(Rapamycin) (Sirolimus，RAPAMUNE®，Wyeth)、拉帕替尼(Lapatinib) (TYKERB®，GSK572016，Glaxo Smith Kline)、氯那法尼(Lonafamib) (SCH 66336)、索拉非尼(sorafenib) (NEXAVAR®，Bayer Labs)、吉非替尼(gefitinib) (IRESSA®，AstraZeneca)、AG1478、烷基化劑，諸如噻替派(thiotepa)及 CYTOXAN®環磷醯胺；烷基磺酸酯，諸如白消安(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)及哌泊舒凡(piposulfan)；氮丙啶，諸如苯佐替派(benzodopa)、卡巴醌(carboquone)、美妥替哌(meturedopa)及烏瑞替派(uredopa)；乙烯亞胺及甲基蜜胺，包括六甲蜜胺、三乙烯蜜胺、三乙烯磷醯

胺、三乙烯硫代磷醯胺及三甲基蜜胺；聚乙醯(尤其布拉他辛(bullatacin)及布拉他辛酮(bullatacinone))；喜樹鹼(包括拓撲替康(topotecan)及伊立替康(irinotecan))；苔蘚抑素；海綿抑素；CC-1065 (包括其阿多來新(adozelesin)、卡折來新(carzelesin)及比折來新(bizelesin)合成類似物)；念珠藻素(尤其念珠藻素 1 及念珠藻素 8)；腎上腺類固醇(包括強體松(prednisone)及培尼皮質醇(prednisolone))；醋酸環妊酮；5α-還原酶，包括菲那雄胺(finasteride)及度他雄胺(dutasteride)；伏立諾他(vorinostat)、羅米地辛(romidepsin)、帕比司他(panobinostat)、丙戊酸(valproic acid)、莫西司他(mocetinostat)、多拉司他汀；阿地白介素、滑石倍癌黴素(包括合成類似物 KW-2189 及 CB1-TM1)；艾榴塞洛素(eleutherobin)；水鬼蕉鹼(pancratistatin)；匍枝珊瑚醇(sarcodictyin)；海綿抑素(spongistatin)；氮芥類，諸如苯丁酸氮芥(chlorambucil)、萘氮芥(chlomaphazine)、氯磷醯胺(chlorophosphamide)、雌莫司汀(estramustine)、異環磷醯胺(ifosfamide)、甲氮芥(mechlorethamine)、鹽酸氧甲氮芥、美法侖(melphalan)、新氮芥(novembichin)、苯芥膽甾醇(phenesterine)、潑尼莫司汀(prednimustine)、曲磷胺(trofosfamide)、尿嘧啶氮芥(uracil mustard)；亞硝基脲，諸如卡莫司汀(carmustine)、氯脲菌素(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、尼莫司汀(nimustine)及雷莫司汀(ranimnustine)；抗生素，諸如烯二炔抗生素(例如卡奇黴素，尤其卡奇黴素 γ1I 及卡奇黴素 ω1I (Angew Chem. Intl. Ed. Engl. 1994 33:183-186)；達內黴素(dynemicin)，包括達內黴素 A；雙膦酸鹽，諸如氯膦酸鹽；埃斯培拉黴素(esperamicin)；以及新制癌菌素髮色團及相關色蛋白烯二炔類抗生素發色團)、阿克拉黴素類(aclacinomysins)、放線菌素、安麴黴素(anthramycin)、重氮絲胺酸、博來黴素、放線菌素 C、卡柔比星(carabicin)、洋紅黴素(caminomycin)、嗜癌菌素(carzinophilin)、色黴素類(chromomycinis)、放線菌素 D、道諾黴素、

地托比星、6-重氮-5-側氧基-L-正白胺酸、ADRIAMYCIN® (多柔比星)、嗎啉基多柔比星、氰基嗎啉基多柔比星、2-吡咯啉基多柔比星及脫氧多柔比星)、表柔比星、依索比星、伊達比星、麻西羅黴素、絲裂黴素(諸如絲裂黴素 C)、黴酚酸、諾拉黴素、橄欖黴素、培洛黴素、泊非黴素(porfiromycin)、嘌呤黴素、三鐵阿黴素、羅多比星、鏈黑菌素、鏈脲黴素、殺結核菌素、烏苯美司、淨司他丁、佐柔比星；抗代謝物，諸如胺甲蝶呤及 5-氟尿嘧啶(5-FU)；葉酸類似物，諸如二甲葉酸、胺甲蝶呤、蝶醯蝶呤、三甲曲沙；嘌呤類似物，諸如氟達拉濱、6-巰基嘌呤、硫咪嘌呤、硫鳥嘌呤；嘧啶類似物，諸如安西他濱(ancitabine)、阿紮胞苷(azacitidine)、6-氮雜尿苷、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷(cytarabine)、雙去氧尿苷(dideoxyuridine)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、依諾他濱(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine)；雄激素，諸如卡魯睾酮(calusterone)、丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate)、環硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、睾內酯(testolactone)；抗腎上腺劑，諸如胺魯米特、米托坦、曲洛司坦；葉酸補充劑，諸如亞葉酸；醋葡內酯；醛磷醯胺糖苷；胺基乙醯丙酸；恩尿嘧啶(eniluracil)；安吖啶；貝斯尿嘧啶(bestrabucil)；比生群(bisantrene)；依達曲沙(edatraxate)；地磷醯胺(defofamine)；秋水仙胺(demecolcine)；地吖醌(diaziquone)；依氟鳥胺酸(elfomithine)；依利醋銨；埃博黴素(epothilone)；依託格魯(etoglucid)；硝酸鎵；羥基脲；蘑菇多糖(lentinan)；洛尼達寧(lonidainine)；類美登素類(maytansinoids)，諸如美登素(maytansine)及安絲菌素類(ansamitocins)；丙脒腙(mitoguazone)；米托蒽醌(mitoxantrone)；莫哌達醇(mopidamnol)；二胺硝吖啶(nitraerine)；噴司他丁(pentostatin)；蛋胺氮芥(phenamet)；吡柔比星(pirarubicin)；洛索蒽醌(losoxantrone)；足葉草酸；2-乙基醯肼；丙卡巴肼(procarbazine)；PSK®聚糖複合物(JHS Natural Products，Eugene，Oreg.)；雷佐生(razoxane)；根黴素

(rhizoxin)；西佐喃(sizofuran)；螺旋鍺(spirogermanium)；細交鏈孢菌酮酸(tenuazonic acid)；三亞胺醌(triaziquone)；2,2',2"-三氯三乙胺；單端孢黴烯類(trichothecenes) (尤其 T-2 毒素、疣孢黴素 A (verracurin A)、桿孢菌素 A (roridin A)及蛇形菌素(anguidine))；烏拉坦(urethan)；長春地辛(vindesine)；達卡巴嗪(dacarbazine)；甘露醇氮芥(mannomustine)；二溴甘露醇；二溴衛矛醇；哌泊溴烷；加西托辛；阿拉伯糖苷(「Ara-C」)；環磷醯胺；噻替派；類紫杉醇，例如 TAXOL (太平洋紫杉醇；Bristol-Myers Squibb Oncology，Princeton，N.J.)、ABRAXANE® (無 Cremophor)白蛋白工程改造太平洋紫杉醇奈米粒子調配物(American Pharmaceutical Partners，Schaumberg，Ill.)及 TAXOTERE® (多烯紫杉醇、多西他塞；Sanofi-Aventis)；苯丁酸氮芥；GEMZAR® (吉西他濱)；6-硫鳥嘌呤；巰基嘌呤；胺甲喋呤；鉑類似物，諸如順鉑及卡鉑；長春花鹼；伊妥普賽(VP-16)；依弗醯胺；米托蒽醌；長春新鹼；NAVELBINE® (長春瑞濱)；能滅瘤；替尼泊苷；依達曲沙；道諾黴素；胺基蝶呤；卡培他濱(XELODA®)；伊班膦酸鹽；CPT-11；拓撲異構酶抑制劑 RFS 2000；二氟甲基鳥胺酸(DMFO)；類視黃醇，諸如視黃酸；以及以上任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸及衍生物。

【0503】 化學治療劑亦包括(i)用於調節或抑制對腫瘤之激素作用的抗激素劑，諸如抗雌激素及選擇性雌激素受體調節劑(SERM)，包括例如他莫西芬(tamoxifen) (包括 NOLVADEX®；檸檬酸他莫西芬)、雷洛昔芬(raloxifene)、屈洛昔芬(droloxifene)、愛多昔芬(iodoxyfene)、4-羥基他莫昔芬、曲沃昔芬(trioxifene)、雷洛西芬(keoxifene)、LY117018、奧那司酮(onapristone)及 FARESTON® (檸檬酸托瑞米芬(toremifine))；(ii)抑制可調節腎上腺中之雌激素產生的酶芳香酶的芳香酶抑制劑，諸如例如 4(5)-咪唑、胺魯米特、MEGASE® (醋酸甲地孕酮)、AROMASIN® (依西美坦(exemestane)；Pfizer)、

福美坦(formestanie)、法倔唑(fadrozole)、RIVISOR® (伏氯唑(vorozole))、FEMARA® (來曲唑；Novartis)及 ARIMIDEX® (阿那曲唑(anastrozole)；AstraZeneca)；(iii)抗雄激素藥物，諸如氟他胺(flutamide)、尼魯米特(nilutamide)、比卡米特(bicalutamide)、亮丙瑞林(leuprolide)及戈舍瑞林(goserelin)；布舍瑞林(buserelin)、曲普瑞林(tripterelin)、醋酸甲羥孕酮(medroxyprogesterone acetate)、己烯雌酚(diethylstilbestrol)、普雷馬林(premarin)、氟甲睪酮(fluoxymesterone)、所有反式視黃酸、芬維 a 胺(fenretinide)以及曲沙他濱(troxacitabine)(1,3-二噁烷核苷胞嘧啶類似物)；(iv)蛋白激酶抑制劑；(v)脂質激酶抑制劑；(vi)反義寡核苷酸，尤其是抑制牽涉異常細胞增殖之信號傳導途徑中之基因，舉例而言，諸如 PKC-α、Ralf 及 H-Ras 之表現的反義寡核苷酸；(vii)核糖酶，諸如 VEGF 表現抑制劑(例如 ANGIOZYME®)及 HER2 表現抑制劑；(viii)疫苗，諸如基因療法疫苗，例如 ALLOVECTIN®、LEUVECTIN®及 VAXID®；PROLEUKIN®、rIL-2；拓撲異構酶 1 抑制劑，諸如 LURTOTECAN®；ABARELIX® rmRH；及(ix)以及以上任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸及衍生物。

【0504】 化學治療劑亦包括抗體，諸如阿侖單抗(alemtuzumab)(Campath)、貝伐珠單抗(bevacizumab)(AVASTIN®，Genentech)；西妥昔單抗(cetuximab)(ERBITUX®，Imclone)；帕尼單抗(panitumumab) (VECTIBIX®，Amgen)、利妥昔單抗(rituximab) (RITUXAN®，Genentech/Biogen Idec)、帕妥珠單抗(pertuzumab) (OMNITARG®、2C4，Genentech)、曲妥珠單抗(trastuzumab)(HERCEPTIN®，Genentech)、托西莫單抗(tositumomab) (Bexxar, Corixia)及抗體藥物結合物吉妥珠單抗奧佐米星(gemtuzumab ozogamicin)(MYLOTARG®，Wyeth)。可作為與本發明化合物組合之藥劑的具有治療潛力的其他人類化單株抗體包括：阿泊珠單抗(apolizumab)、阿塞珠單抗

(aselizumab)、阿特珠單抗(atlizumab)、巴匹珠單抗(bapineuzumab)、貝伐珠單抗美坦新(bivatuzumab mertansine)、坎妥珠單抗美坦新(cantuzumab mertansine)、西利珠單抗(cedelizumab)、聚乙二醇化賽妥珠單抗(certolizumab pegol)、西福妥珠單抗(cidfusituzumab)、西妥珠單抗(cidtuzumab)、達利珠單抗(daclizumab)、依庫珠單抗(eculizumab)、依法利珠單抗(efalizumab)、依帕珠單抗(epratuzumab)、厄利珠單抗(erlizumab)、泛維珠單抗(felvizumab)、芳妥珠單抗(fontolizumab)、吉妥珠單抗奧佐米星、伊妥珠單抗奧佐米星(inotuzumab ozogamicin)、伊匹單抗(ipilimumab)、拉貝珠單抗(labetuzumab)、林妥珠單抗(lintuzumab)、馬妥珠單抗(matuzumab)、美泊珠單抗(mepolizumab)、莫維珠單抗(motavizumab)、莫托珠單抗(motovizumab)、那他珠單抗(natalizumab)、尼妥珠單抗(nimotuzumab)、尼洛珠單抗(nolovizumab)、奴馬珠單抗(numavizumab)、奧瑞珠單抗(ocrelizumab)、奧瑪珠單抗(omalizumab)、帕利珠單抗(palivizumab)、帕考珠單抗(pascolizumab)、培福妥珠單抗(pecfusituzumab)、培妥珠單抗(pectuzumab)、培克珠單抗(pexelizumab)、雷利珠單抗(ralivizumab)、雷尼珠單抗(ranibizumab)、瑞西珠單抗(reslivizumab)、瑞利珠單抗(reslizumab)、瑞維珠單抗(resyvizumab)、羅維珠單抗(rovelizumab)、盧利珠單抗(ruplizumab)、西羅珠單抗(sibrotuzumab)、西利珠單抗(siplizumab)、松妥珠單抗(sontuzumab)、他卡珠單抗替塞坦(tacatuzumab tetraxetan)、他度珠單抗(tadocizumab)、他利珠單抗(talizumab)、替非珠單抗(tefibazumab)、托西珠單抗(tocilizumab)、托拉珠單抗(toralizumab)、圖妥珠單抗西莫介白素(tucotuzumab celmoleukin)、圖庫珠單抗(tucusituzumab)、烏馬珠單抗(umavizumab)、烏托珠單抗(urtoxazumab)、優特克單抗(ustekinumab)、維西珠單抗(visilizumab)及抗介白素-12(ABT-874/J695，Wyeth Research 及 Abbott Laboratories)，其為重組專用人類

序列，經基因修飾以識別介白素-12 p40 蛋白之全長 IgG1λ 抗體。

【0505】 化學治療劑亦包括「EGFR 抑制劑」，其係指可結合或以其他方式直接與 EGFR 相互作用且防止或降低其信號傳導活性之化合物，且替代地稱為「EGFR 拮抗劑」。該等藥劑之實例包括結合 EGFR 之抗體及小分子。結合 EGFR 之抗體的實例包括 MAb 579 (ATCC CRL HB 8506)、MAb 455 (ATCC CRL HB8507)、MAb 225 (ATCC CRL 8508)、MAb 528 (ATCC CRL 8509) (參見 Mendelsohn 等人之美國專利第 4,943,533 號)及其變異體，諸如嵌合 225 (C225 或西妥昔單抗；ERBUTIX®)及重整人類 225 (H225) (參見 Imclone Systems Inc.之 WO 96/40210)；完全人類 EGFR 靶向抗體 IMC-11F8 (Imclone)；結合 II 型突變 EGFR 之抗體(美國專利第 5,212,290 號)；如美國專利第 5,891,996 號中所描述之結合 EGFR 之人類化及嵌合抗體；及結合 EGFR 之人類抗體，諸如 ABX-EGF 或帕尼單抗(參見 WO98/50433，Abgenix/Amgen)；EMD 55900 (Stragliotto 等人, Eur. J. Cancer 32A:636-640 (1996))；EMD7200 (馬妥珠單抗)，其為與 EGF 及 TGF-α 兩者競爭 EGFR 結合之針對 EGFR 之人類化 EGFR 抗體(EMD/Merck)；人類 EGFR 抗體 HuMax-EGFR (GenMab)；稱為 E1.1、E2.4、E2.5、E6.2、E6.4、E2.11、E6.3 及 E7.6.3 且描述於 US 6,235,883 中之完全人類抗體；MDX-447 (Medarex Inc)；及 mAb 806 或人類化 mAb 806 (Johns 等人, J. Biol. Chem. 279(29):30375-30384 (2004))。抗 EGFR 抗體可與細胞毒性劑結合，因而產生免疫結合物(參見例如 EP659,439A2，Merck Patent GmbH)。EGFR 拮抗劑包括小分子，諸如美國專利第 5,616,582 號、第 5,457,105 號、第 5,475,001 號、第 5,654,307 號、第 5,679,683 號、第 6,084,095 號、第 6,265,410 號、第 6,455,534 號、第 6,521,620 號、第 6,596,726 號、第 6,713,484 號、第 5,770,599 號、第 6,140,332 號、第 5,866,572 號、第 6,399,602 號、第 6,344,459 號、第

6,602,863 號、第 6,391,874 號、第 6,344,455 號、第 5,760,041 號、第 6,002,008 號及第 5,747,498 號以及以下 PCT 公開案 WO98/14451、WO98/50038、WO99/09016 及 WO99/24037 中所描述之化合物。特定小分子 EGFR 拮抗劑包括 OSI-774 (CP-358774、埃羅替尼、TARCEVA® (Genentech/OSI Pharmaceuticals)；PD 183805 (CI 1033、2-丙醯胺、N-[4-[(3-氯-4-氟苯基)胺基]-7-[3-(4-嗎啉基)丙氧基]-6-喹唑啉基]-二鹽酸鹽，Pfizer Inc.)；ZD1839、吉非替尼(IRESSA®) 4-(3'-氯-4'-氟苯胺基)-7-甲氧基-6-(3-嗎啉基丙氧基)喹唑啉，AstraZeneca)；ZM 105180 ((6-胺基-4-(3-甲基苯基-胺基)-喹唑啉，Zeneca)；BIBX-1382 (N8-(3-氯-4-氟-苯基)-N2-(1-甲基-哌啶-4-基)-嘧啶[5,4-d]嘧啶-2,8-二胺，Boehringer Ingelheim)；PKI-166 ((R)-4-[4-[(1-苯乙基)胺基]-1H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-基]-苯酚)；(R)-6-(4-羥基苯基)-4-[(1-苯乙基)胺基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶)；CL-387785 (N-[4-[(3-溴苯基)胺基]-6-喹唑啉基]-2-丁炔醯胺)；EKB-569 (N-[4-[(3-氯-4-氟苯基)胺基]-3-氰基-7-乙氧基-6-喹啉基]-4-(二甲基胺基)-2-丁烯醯胺) (Wyeth)；AG1478 (Pfizer)；AG1571 (SU 5271；Pfizer)；雙重 EGFR/HER2 酪胺酸激酶抑制劑，諸如拉帕替尼(TYKERB®、GSK572016 或 N-[3-氯-4-[(3-氟苯基)甲氧基]苯基]-6[5[[[2-甲基磺醯基)乙基]胺基]甲基]-2-呋喃基]-4-喹唑啉胺)。

【0506】 化學治療劑亦包括「酪胺酸激酶抑制劑」，包括前一段落中所指出之 EGFR 靶向藥物；小分子 HER2 酪胺酸激酶抑制劑，諸如可得自 Takeda 之 TAK165；ErbB2 受體酪胺酸激酶之經口選擇性抑制劑 CP-724,714 (Pfizer 及 OSI)；雙重 HER 抑制劑，諸如 EKB-569 (可得自 Wyeth)，其優先結合 EGFR 但抑制過度表現 HER2 及 EGFR 之細胞；經口 HER2 及 EGFR 酪胺酸激酶抑制劑拉帕替尼(GSK572016；可得自 Glaxo-SmithKline)；PKI-166 (可得自 Novartis)；泛-HER 抑制劑，諸如卡奈替尼(canertinib)

(CI-1033；Pharmacia)；Raf-1 抑制劑，諸如可得自 ISIS Pharmaceuticals 之反義藥劑 ISIS-5132，其抑制 Raf-1 信號傳遞；非 HER 靶向 TK 抑制劑，諸如甲磺酸伊馬替尼(GLEEVEC®，可得自 Glaxo SmithKline)；多靶向酪胺酸激酶抑制劑，諸如舒尼替尼(SUTENT®，可得自 Pfizer)；VEGF 受體酪胺酸激酶抑制劑，諸如瓦他拉尼(vatalanib) (PTK787/ZK222584，可得自 Novartis/Schering AG)；MAPK 細胞外調節激酶 I 抑制劑 CI-1040 (可得自 Pharmacia)；喹唑啉，諸如 PD 153035、4-(3-氯苯胺基)喹唑啉；吡啶并嘧啶；嘧啶并嘧啶；吡咯并嘧啶，諸如 CGP 59326、CGP 60261 及 CGP 62706；吡唑并嘧啶、4-(苯基胺基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶；薑黃素(二阿魏醯基甲烷、4,5-雙(4-氟苯胺基)酞醯亞胺)；含硝基噻吩部分之酪胺酸磷酸化抑制劑；PD-0183805 (Warner-Lamber)；反義分子(例如結合 HER 編碼核酸之彼等反義分子)；喹喏啉(美國專利第 5,804,396 號)；酪胺酸磷酸化抑制劑(美國專利第 5,804,396 號)；ZD6474 (Astra Zeneca)；PTK-787 (Novartis/Schering AG)；泛-HER 抑制劑，諸如 CI-1033 (Pfizer)；Affinitac (ISIS 3521；Isis/Lilly)；甲磺酸伊馬替尼(GLEEVEC®)；PKI 166 (Novartis)；GW2016 (Glaxo SmithKline)；CI-1033 (Pfizer)；EKB-569 (Wyeth)；司馬沙尼(Semaxinib) (Pfizer)；ZD6474 (AstraZeneca)；PTK-787 (Novartis/Schering AG)；INC-1C11 (Imclone)、雷帕黴素(西羅莫司，RAPAMUNE®)；或如任何以下專利公開案中之任一者中所描述：美國專利第 5,804,396 號；WO 1999/09016 (American Cyanamid)；WO 1998/43960 (American Cyanamid)；WO 1997/38983 (Warner Lambert)；WO 1999/06378 (Warner Lambert)；WO 1999/06396 (Warner Lambert)；WO 1996/30347 (Pfizer, Inc)；WO 1996/33978 (Zeneca)；WO 1996/3397 (Zeneca)；及 WO 1996/33980 (Zeneca)。

【0507】 化學治療劑亦包括地塞米松(dexamethasone)、干擾素、秋水仙

鹼、氯苯胺啶(metoprine)、環孢黴素、兩性黴素(amphotericin)、甲硝噠唑(metronidazole)、阿侖單抗、阿利維 A 酸(alitretinoin)、別嘌呤醇(allopurinol)、阿米福汀(amifostine)、三氧化二砷、天冬醯胺酶、活 BCG、癌思停(bevacuzimab)、貝沙羅汀(bexarotene)、克拉屈濱、克羅拉濱(clofarabine)、達貝泊汀 α(darbepoetin alfa)、地尼介白素、右雷佐生、依伯汀(epoetin alfa)、埃羅替尼、非格司亭(filgrastim)、醋酸組胺瑞林(histrelin acetate)、替伊莫單抗(ibritumomab)、干擾素 α-2a、干擾素 α-2b、來那度胺、左旋咪唑(levamisole)、美司鈉(mesna)、甲氧沙林(methoxsalen)、南諾龍(nandrolone)、奈拉濱(nelarabine)、諾菲莫單抗(nofetumomab)、奧普瑞介白素(oprelvekin)、帕利夫明(palifermin)、帕米膦酸鹽、培加酶(pegademase)、培門冬酶(pegaspargase)、聚乙二醇化非格司亭(pegfilgrastim)、培美曲塞二鈉(pemetrexed disodium)、普卡黴素(plicamycin)、葡吩姆鈉(porfimer sodium)、奎吖因(quinacrine)、拉布立酶(rasburicase)、沙格司亭(sargramostim)、替莫唑胺(temozolomide)、VM-26、6-TG、托瑞米芬、維甲酸、ATRA、戊柔比星(valrubicin)、唑來膦酸鹽及唑來膦酸以及其醫藥學上可接受之鹽。

【0508】 化學治療劑亦包括氫化可體松(hydrocortisone)、醋酸氫化可體松、醋酸可體松、新戊酸替可體松(tixocortol pivalate)、曲安奈德(triamcinolone acetonide)、氟羥潑尼松龍醇(triamcinolone alcohol)、莫美他松(mometasone)、安西奈德(amcinonide)、布地奈德(budesonide)、地奈德(desonide)、氟欣諾能(fluocinonide)、丙酮化氟新龍(fluocinolone acetonide)、倍他米松(betamethasone)、倍他米松磷酸鈉、地塞米松、地塞米松磷酸鈉、氟考龍(fluocortolone)、氫化可體松-17-丁酸酯、氫化可體松-17-戊酸酯、雙丙酸阿氯米松(aclometasone dipropionate)、戊酸倍他米松、雙丙酸倍他米松、潑尼卡酯(prednicarbate)、氯倍他松-17-丁酸酯、氯倍他松-17-丙酸酯、氟考龍己

酸酯、氟考龍新戊酸酯及氟潑尼定醋酸酯(fluprednidene acetate)；免疫選擇性消炎肽(ImSAID)，諸如苯丙胺酸-麩胺醯胺-甘胺酸(FEG)及其 D 異構形式(feG) (IMULAN BioTherapeutics, LLC)；抗風濕病藥物，諸如咪唑硫嘌呤(azathioprine)、環孢靈(ciclosporin) (環孢黴素 A)、D 青黴胺、金鹽、羥氯奎、來氟米特(leflunomide)、米諾環素(minocycline)、柳氮磺胺吡啶；腫瘤壞死因子 α (TNFα)阻斷劑，諸如依那西普(Enbrel)、英利昔單抗(infliximab) (Remicade)、阿達木單抗(adalimumab) (Humira)、聚乙二醇化賽妥珠單抗(Cimzia)、戈利木單抗(golimumab) (Simponi)；介白素 1 (IL-1)阻斷劑，諸如阿那白滯素(anakinra) (Kineret)；T 細胞共刺激阻斷劑，諸如阿巴西普(abatacept) (Orencia)；介白素 6 (IL-6)阻斷劑，諸如托西珠單抗(ACTEMERA®)；介白素 13 (IL-13)阻斷劑，諸如來金珠單抗(lebrikizumab)；干擾素 α (IFN)阻斷劑，諸如隆塔珠單抗(Rontalizumab)；β7 整合素阻斷劑，諸如 rhuMAb β7；IgE 途徑阻斷劑，諸如抗 M1 初次免疫單抗；分泌同源三聚 LTa3 及膜結合異源三聚體 LTa1/β2 阻斷劑，諸如抗淋巴細胞毒素 α (LTa)；放射性同位素(例如 At211、I131、I125、Y90、Re186、Re188、Sm153、Bi212、P32、Pb212 及 Lu 放射性同位素)；眾多研究藥劑，諸如硫鉑(thioplatin)、PS-341、丁酸苯酯、ET-18-OCH3 或法呢基轉移酶抑制劑(L-739749、L-744832)；多元酚，諸如槲皮素(quercetin)、白藜蘆素(resveratrol)、白皮杉醇(piceatannol)、沒食子酸表兒茶素、茶黃素類(theaflavins)、黃烷醇類(flavanols)、原花青素類(procyanidins)、樺木酸(betulinic acid)及其衍生物；自噬抑制劑，諸如氯喹；δ-9-四氫大麻酚(屈大麻酚(dronabinol)，MARINOL®)；β-拉帕酮；拉帕醇；秋水仙鹼；樺木酸；乙醯基喜樹鹼、東莨菪素及 9-胺基喜樹鹼)；鬼臼毒素；替加氟(tegafur) (UFTORAL®)；貝沙羅汀(TARGRETIN®)；雙膦酸鹽，諸如氯膦酸鹽(clodronate) (例如 BONEFOS®或 OSTAC®)、艾提膦酸鹽

(etidronate) (DIDROCAL®)、NE-58095、唑來膦酸(zoledronic acid)/唑來膦酸鹽(zoledronate) (ZOMETA®)、阿倫膦酸鹽(FOSAMAX®)、帕米膦酸鹽(pamidronate) (AREDIA®)、替魯膦酸鹽(tiludronate) (SKELID®)或利塞膦酸鹽(risedronate) (ACTONEL®)；及表皮生長因子受體(EGF-R)；疫苗，諸如THERATOPE®疫苗；哌立福新(perifosine)、COX-2 抑制劑(例如塞來昔布(celecoxib)或依託考昔(etoricoxib))、蛋白酶體抑制劑(例如PS341)；CCI-779；替吡法尼(tipifarnib) (R11577)；奧拉非尼(orafenib)、ABT510；Bcl-2 抑制劑，諸如奧利默森鈉(oblimersen sodium) (GENASENSE®)；匹杉瓊；法尼基轉移酶抑制劑，諸如洛那法尼(lonafarnib) (SCH 6636，SARASAR™)；以及以上任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸或衍生物；以及以上兩者以上之組合，諸如環磷醯胺、多柔比星、長春新鹼及潑尼松龍組合療法之縮寫 CHOP 及奧沙利鉑(ELOXATIN™)與 5-FU 及甲醯四氫葉酸組合之治療方案的縮寫 FOLFOX。

【0509】 化學治療劑亦包括具有止痛、退熱及消炎效應之非類固醇消炎藥。NSAID 包括酶環加氧酶之非選擇性抑制劑。NSAID 之特定實例包括阿司匹靈(aspirin)；丙酸衍生物，諸如布洛芬(ibuprofen)、非諾洛芬(fenoprofen)、酮洛芬(ketoprofen)、氟比洛芬(flurbiprofen)、奧沙普嗪(oxaprozin)及萘普生(naproxen)；乙酸衍生物，諸如吲哚美辛(indomethacin)、舒林達酸(sulindac)、依託度酸(etodolac)、雙氯芬酸(diclofenac)；烯醇酸衍生物，諸如吡羅昔康、美羅昔康、替諾昔康(tenoxicam)、曲噁昔康(droxicam)、氯諾昔康(lornoxicam)及伊索昔康(isoxicam)；滅酸(fenamic acid)衍生物，諸如甲滅酸、甲氯滅酸、氟滅酸、托滅酸(tolfenamic acid)；及 COX-2 抑制劑，諸如塞來昔布、依託昔布、魯米昔布(lumiracoxib)、帕瑞昔布(parecoxib)、羅非昔布(rofecoxib)、羅非昔布及伐地昔布(valdecoxib)。NSAID 可經指示用於諸如變形性關節炎、

骨關節炎、炎性關節病、強直性脊椎炎、牛皮癬性關節炎、萊特爾氏症候群(Reiter's syndrome)、急性痛風、痛經、轉移性骨痛、頭痛及偏頭痛、手術後疼痛、由於炎症所致之輕度至中度疼痛以及組織損傷、發熱、腸梗阻及腎絞痛之病狀之症狀緩解。

【0510】 在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 PARP 抑制劑(例如奧拉帕尼(Olaparanib)、瑞卡帕布(Rucaparib)、尼拉帕尼(Niraparib)、西地尼布(Cediranib)、BMN673、維利帕尼(Veliparib))、曲貝替定(Trabectedin)、奈米顆粒白蛋白太平洋紫杉醇(nab-paclitaxel) (蛋白結合太平洋紫杉醇，ABRAXANE)、曲班尼布(Trebananib)、帕唑帕尼(Pazopanib)、西地尼布、帕博西尼、依維莫司(everolimus)、氟嘧啶(例如FOLFOX、FOLFIRI)、IFL、瑞格非尼(regorafenib)、溶瘤病毒(Reolysin)、愛甯達(Alimta)、立克癌(Zykadia)、索坦(Sutent)、特癌適(Torisel) (替西羅莫司(temsirolimus))、Inlyta (阿西替尼，Pfizer)、癌伏妥(Afinitor) (依維莫司，Novartis)、蕾莎瓦(Nexavar) (索拉非尼，Onyx/Bayer)、福退癌(Votrient)、帕唑帕尼、阿西替尼(axitinib)、IMA-901、AGS-003、卡博替尼(cabozantinib)、長春氟寧(Vinflunine)、Hsp90 抑制劑(例如阿帕妥新(apatorsin))、Ad-GM-CSF (CT-0070)、替莫唑胺、IL-2、IFNa、長春花鹼、Thalomid、達卡巴嗪、環磷醯胺、來那度胺、氮胞苷、來那度胺、硼替佐米(bortezomid) (VELCADE)、胺柔比星(amrubicine)、卡非佐米、普拉曲沙(pralatrexate)及/或恩紮妥林(enzastaurin)聯合投與。

【0511】 在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 PD-1 軸結合拮抗劑聯合投與。PD-1 軸結合拮抗劑包括但不限於 PD-1 結合拮抗劑、PD-L1 結合拮抗劑及 PD-L2 結合拮抗劑。「PD-1」之替代名稱包括 CD279 及 SLEB2。「PD-L1」之替代名稱包括 B7-H1、B7-4、

CD274 及 B7-H。「PD-L2」之替代名稱包括 B7-DC、Btdc 及 CD273。在一些實施例中，PD-1、PD-L1 及 PD-L2 為人類 PD-1、PD-L1 及 PD-L2。在一些實施例中，該 PD-1 結合拮抗劑為抑制 PD-1 與其配位體結合伴侶之結合的分子。在一特定態樣中，該 PD-1 配位體結合伴侶為 PD-L1 及/或 PD-L2。在另一實施例中，PD-L1 結合拮抗劑為抑制 PD-L1 與其結合伴侶之結合的分子。在一特定態樣中，PD-L1 結合伴侶為 PD-1 及/或 B7-1。在另一實施例中，該 PD-L2 結合拮抗劑為抑制 PD-L2 與其結合伴侶之結合的分子。在一特定態樣中，PD-L2 結合伴侶為 PD-1。該拮抗劑可為抗體、其抗原結合片段、免疫黏附素、融合蛋白質或寡肽。在一些實施例中，該 PD-1 結合拮抗劑為抗 PD-1 抗體(例如人類抗體、人類化抗體或嵌合抗體)。在一些實施例中，該抗 PD-1 抗體係選自由以下各項組成之群：MDX-1106 (尼魯單抗(nivolumab)，OPDIVO)、Merck 3475 (MK-3475、噴羅珠單抗(pembrolizumab)，KEYTRUDA)、CT-011 (皮地珠單抗(Pidilizumab))、MEDI-0680 (AMP-514)、PDR001、REGN2810、BGB-108 及 BGB-A317。在一些實施例中，該 PD-1 結合拮抗劑為免疫黏附素(例如，包含與恆定區(例如免疫球蛋白序列之 Fc 區)融合之 PD-L1 或 PD-L2 之細胞外或 PD-1 結合部分的免疫黏附素)。在一些實施例中，該 PD-1 結合拮抗劑為 AMP-224。在一些實施例中，該 PD-L1 結合拮抗劑為抗 PD-L1 抗體。在一些實施例中，該抗 PD-L1 結合拮抗劑係選自由以下各項組成之群：YW243.55.S70、MPDL3280A (阿替珠單抗(atezolizumab))、MEDI4736 (度伐魯單抗(durvalumab))、MDX-1105 及 MSB0010718C (阿維魯單抗(avelumab))。MDX-1105，亦稱為 BMS-936559，為 WO2007/005874 中所描述之抗 PD-L1 抗體。抗體 YW243.55.S70 (重鏈及輕鏈可變區序列分別示於 SEQ ID No. 20 及 21 中)為 WO 2010/077634 A1 中所描述之抗 PD-L1。MDX-1106，亦稱為 MDX-1106-04、ONO-4538、

BMS-936558 或尼魯單抗，為 WO2006/121168 中所描述之抗 PD-1 抗體。Merck 3475，亦稱為 MK-3475、SCH-900475 或噴羅珠單抗，為 WO2009/114335 中所描述之抗 PD-1 抗體。CT-011，亦稱為 hBAT、hBAT-1 或皮地珠單抗，為 WO2009/101611 中所描述之抗 PD-1 抗體。AMP-224，亦稱為 B7-DCIg，為 WO2010/027827 及 WO2011/066342 中所描述之 PD-L2-Fc 融合可溶性受體。在一些實施例中，該抗 PD-1 抗體為 MDX-1106。「MDX-1106」之替代名稱包括 MDX-1106-04、ONO-4538、BMS-936558 或尼魯單抗。在一些實施例中，該抗 PD-1 抗體為尼魯單抗(CAS 登錄號：946414-94-4)。

【0512】 在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與針對活化共刺激分子之促效劑聯合投與。在一些實施例中，活化共刺激分子可包括 CD40、CD226、CD28、GITR、CD137、CD27、HVEM 或 CD127。在一些實施例中，該針對活化共刺激分子之促效劑為結合 CD40、CD226、CD28、OX40、GITR、CD137、CD27、HVEM 或 CD127 之促效抗體。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與針對抑制性共刺激分子之拮抗劑聯合投與。在一些實施例中，抑制性共刺激分子可包括 CTLA-4 (亦稱為 CD152)、PD-1、TIM-3、BTLA、VISTA、LAG-3、B7-H3、B7-H4、IDO、TIGIT、MICA/B 或精胺酸酶。在一些實施例中，針對抑制性共刺激分子之拮抗劑為結合 CTLA-4、PD-1、TIM-3、BTLA、VISTA、LAG-3 (例如 LAG-3-IgG 融合蛋白質(IMP321))、B7-H3、B7-H4、IDO、TIGIT、MICA/B 或精胺酸酶之拮抗性抗體。

【0513】 在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與針對 CTLA-4 (亦稱為 CD152)之拮抗劑，例如阻斷抗體聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與伊

匹單抗(亦稱為 MDX-010、MDX-101 或 Yervoy®)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與曲美木單抗(tremelimumab) (亦稱為替西木單抗(ticilimumab)或 CP-675,206)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與針對 B7-H3 (亦稱為 CD276)之拮抗劑，例如阻斷抗體聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 MGA271 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與針對 TGFβ 之拮抗劑，例如美替木單抗(metelimumab) (亦稱為 CAT-192)、夫蘇木單抗(fresolimumab) (亦稱為 GC1008)或 LY2157299 聯合投與。

【0514】 在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與包括對表現嵌合抗原受體(CAR)之 T 細胞(例如細胞毒性 T 細胞或 CTL)進行授受性轉移之治療聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 UCART19 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 WT128z 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 KTE-C19 (Kite)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 CTL019 (Novartis)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與包括對包含顯性陰性 TGFβ 受體，例如 II 型顯性陰性 TGFβ 受體之 T 細胞進行授受性轉移之治療聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與包括 HERCREEM 方案(參見例如 ClinicalTrials.gov 識別碼 NCT00889954)之治療聯合投與。

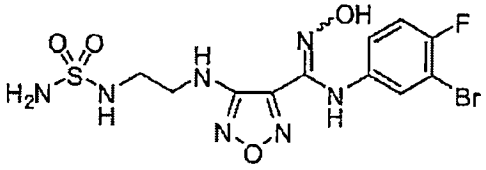
【0515】 在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複

合物可與針對 CD19 之拮抗劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 MOR00208 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與針對 CD38 之拮抗劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與達雷木單抗(daratumumab)聯合投與。

【0516】 在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與針對 CD137 (亦稱為 TNFRSF9、4-1BB 或 ILA)之促效劑，例如活化抗體聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與烏瑞魯單抗(urelumab) (亦稱為 BMS-663513)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與針對 CD40 之促效劑，例如活化抗體聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 CP-870893 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與針對 OX40 (亦稱為 CD134)之促效劑，例如活化抗體聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與不同的抗 OX40 抗體(例如 AgonOX)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與針對 CD27 之促效劑，例如活化抗體聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 CDX-1127 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與針對吲哚胺-2,3-雙加氧酶(IDO)之拮抗劑聯合投與。在一些實施例中，其中該 IDO 拮抗劑為 1-甲基-D-色胺酸(亦稱為 1-D-MT)。

【0517】 在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與針對 CD137 (亦稱為 TNFRSF9、4-1BB 或 ILA)之促效劑，例如活化抗體聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗

體)或複合物可與烏瑞魯單抗(亦稱為 BMS-663513)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與針對 CD40 之促效劑，例如活化抗體聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 CP-870893 或 RO7009789 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與針對 OX40 (亦稱為 CD134)之促效劑，例如活化抗體聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與針對 CD27 之促效劑，例如活化抗體聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 CDX-1127 (亦稱為伐利魯單抗(varlilumab))聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與針對吲哚胺-2,3-雙加氧酶(IDO)之拮抗劑聯合投與。在一些實施例中，其中該 IDO 拮抗劑為 1-甲基-D-色胺酸(亦稱為 1-D-MT)。在一些實施例中，該 IDO 拮抗劑為 WO2010/005958 (其內容以記錄之方式明確併入本文中)中所示之 IDO 拮抗劑。在一些實施例中，該 IDO 拮抗劑為 4-({2-[(胺基磺醯基)胺基]乙基}胺基)-*N*-(3-溴-4-氟苯基)-*N'*-羥基-1,2,5-噁二唑-3-甲脒(例如，如 WO2010/005958 之實例 23 中所描述)。在一些實施例中，該 IDO 拮抗劑為：



。

【0518】 在一些實施例中，該 IDO 拮抗劑為 INCB24360。在一些實施例中，該 IDO 拮抗劑為 Indoximod (1-甲基-色胺酸之 D 異構體)。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與抗體-藥物結合物聯合投與。在一些實施例中，該抗體-藥物結合物包含美坦新或單甲基奧里斯他汀 E (MMAE)。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與抗 NaPi2b 抗體-MMAE 結合物(亦稱為 DNIB0600A、

RG7599 或利法珠單抗維多汀(lifastuzumab vedotin))聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與曲妥珠單抗安坦辛(亦稱為 T-DM1、ado-曲妥珠單抗安坦辛或 KADCYLA®，Genentech)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與抗 MUC16 抗體-MMAE 結合物 DMUC5754A 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與抗 MUC16 抗體-MMAE 結合物 DMUC4064A 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與靶向內皮素 B 受體(EDNBR)之抗體-藥物結合物，例如針對 EDNBR 之抗體與 MMAE 之結合物聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與靶向淋巴細胞抗原 6 複合物基因座 E (Ly6E)之抗體-藥物結合物，例如針對 Ly6E 之抗體與 MMAE 之結合物(亦稱為 DLYE5953A)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與普拉土珠單抗維多汀(polatuzumab vedotin)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與靶向 CD30 之抗體-藥物結合物聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 ADCETRIS (亦稱為貝倫妥單抗維多汀(brentuximab vedotin))聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與普拉土珠單抗維多汀聯合投與。

【0519】 在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與血管生成抑制劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與針對 VEGF，例如 VEGF-A 之抗體聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與貝伐珠單抗(亦稱為 AVASTIN®，Genentech)聯合投與。在一些實施例

中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與針對血管生成素2 (亦稱為 Ang2)之抗體聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 MEDI3617 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與針對 VEGFR2 之抗體聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與雷莫蘆單抗(ramucirumab)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 VEGF 受體融合蛋白質聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與阿柏西普(aflibercept)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 ziv-阿柏西普(亦稱為 VEGF Trap 或 Zaltrap®)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與針對 VEGF 及 Ang2 之雙特異性抗體聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 RG7221 (亦稱為伐努西珠單抗(vanucizumab))聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與血管生成抑制劑聯合及與 PD-1 軸結合拮抗劑(例如 PD-1 結合拮抗劑，諸如抗 PD-1 抗體；PD-L1 結合拮抗劑，諸如抗 PD-L1 抗體；及 PD-L2 結合拮抗劑，諸如抗 PD-L2 抗體)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與貝伐珠單抗及 PD-1 軸結合拮抗劑(例如 PD-1 結合拮抗劑，諸如抗 PD-1 抗體；PD-L1 結合拮抗劑，諸如抗 PD-L1 抗體；及 PD-L2 結合拮抗劑，諸如抗 PD-L2 抗體)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與貝伐珠單抗及 MDX-1106 (尼魯單抗，OPDIVO)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與貝伐珠單抗及 Merck 3475 (MK-3475、噴羅珠單抗、KEYTRUDA)

聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與貝伐珠單抗及 CT-011 (皮地珠單抗)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與貝伐珠單抗及 MEDI-0680 (AMP-514)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與貝伐珠單抗及 PDR001 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與貝伐珠單抗及 REGN2810 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與貝伐珠單抗及 BGB-108 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與貝伐珠單抗及 BGB-A317 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與貝伐珠單抗及 YW243.55.S70 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與貝伐珠單抗及 MPDL3280A 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與貝伐珠單抗及 MEDI4736 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與貝伐珠單抗及 MDX-1105 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與貝伐珠單抗及 MSB0010718C (阿維魯單抗)聯合投與。

【0520】 在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與抗贅生劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與靶向 CSF-1R (亦稱為 M-CSFR 或 CD115)之藥劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與抗 CSF-1R 抗體(亦稱為 IMC-CS4 或 LY3022855)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與抗

CSF-1R 抗體 RG7155 (亦稱為 RO5509554 或伊瑪妥珠單抗(emactuzumab))聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與干擾素(例如干擾素 α 或干擾素 γ)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 Roferon-A (亦稱為重組干擾素 α-2a)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 GM-CSF (亦稱為重組人類粒細胞巨噬細胞群落刺激因子、rhu GM-CSF、沙格司亭或 Leukine®)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 IL-2 (亦稱為阿地介白素或 Proleukin®)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 IL-12 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 IL27 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 IL-15 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 ALT-803 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與靶向 CD20 之抗體聯合投與。在一些實施例中，該靶向 CD20 之抗體為奧妥珠單抗(亦稱為 GA101 或 Gazyva®)或利妥昔單抗。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與靶向 GITR 之抗體聯合投與。在一些實施例中，該靶向 GITR 之抗體為 TRX518。在一些實施例中，該靶向 GITR 之抗體為 MK04166 (Merck)。

【0521】 在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與布魯頓酪胺酸激酶(BTK)抑制劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與依魯替尼聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與異檸檬酸脫氫酶 1 (IDH1)及/或異檸檬酸脫氫酶 2 (IDH2)之抑制劑聯合投與。在一

些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與AG-120 (Agios)聯合投與。

【0522】 在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與奧妥珠單抗及 PD-1 軸結合拮抗劑(例如 PD-1 結合拮抗劑，諸如抗 PD-1 抗體；PD-L1 結合拮抗劑，諸如抗 PD-L1 抗體；及 PD-L2 結合拮抗劑，諸如抗 PD-L2 抗體)聯合投與。

【0523】 在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與癌症疫苗聯合投與。在一些實施例中，該癌症疫苗為肽癌症疫苗，在一些實施例中為個人化肽疫苗。在一些實施例中，該肽癌症疫苗為多價長肽、多肽、肽混合液、混雜肽或肽脈衝樹突狀細胞疫苗(參見例如 Yamada 等人, Cancer Sci, 104:14-21, 2013)。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與佐劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與包含 TLR 促效劑，例如聚 ICLC (亦稱為 Hiltonol®)、LPS、MPL 或 CpG ODN 之治療聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與腫瘤壞死因子(TNF)α 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 IL-1 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 HMGB1 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 IL-10 拮抗劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 IL-4 拮抗劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 IL-13 拮抗劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 IL-17 拮抗劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與

HVEM拮抗劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 ICOS 促效劑聯合投與，例如藉由投與 ICOS-L 或針對 ICOS 之促效抗體。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與靶向 CX3CL1 之治療聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與靶向 CXCL9 之治療聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與靶向 CXCL10 之治療聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與靶向 CCL5 之治療聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 LFA-1 或 ICAM1 促效劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與選擇素促效劑聯合投與。

【0524】 在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 B-Raf 抑制劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與維羅非尼(vemurafenib) (亦稱為 Zelboraf®)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與達拉非尼(dabrafenib) (亦稱為 Tafinlar®)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與恩可非尼(encorafenib) (LGX818)聯合投與。

【0525】 在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 EGFR 抑制劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與埃羅替尼(亦稱為 Tarceva®)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 EGFR-T790M 抑制劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與吉非替尼聯合投與。在一些實施例中，本文

中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與阿法替尼聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與西妥昔單抗(亦稱為 Erbitux®)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與帕尼單抗(亦稱為 Vectibix®)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與羅西替尼(rociletinib)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 AZD9291 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 MEK，諸如 MEK1 (亦稱為 MAP2K1)及/或 MEK2 (亦稱為 MAP2K2)之抑制劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與考比替尼(cobimetinib) (亦稱為 GDC-0973 或 XL-518)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與曲美替尼(trametinib) (亦稱為 Mekinist®)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與比尼替尼(binimetinib)聯合投與。

【0526】 在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 B-Raf 抑制劑(例如維羅非尼或達拉非尼)及 MEK (例如 MEK1 及/或 MEK2)抑制劑(考比替尼或曲美替尼)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 ERK (例如 ERK1/2)抑制劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 GDC-0994 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 B-Raf 抑制劑、MEK 抑制劑及 ERK1/2 抑制劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 EGFR 抑制劑、MEK 抑制劑及 ERK1/2 抑制劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與一

或多種 MAP 激酶途徑抑制劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 CK127 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 K-Ras 抑制劑聯合投與。

【0527】 在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 c-Met 抑制劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與奧那土珠單抗(onartuzumab) (亦稱為 MetMAb)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與未分化淋巴瘤激酶(ALK)抑制劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 AF802 (亦稱為 CH5424802 或艾樂替尼(alectinib))聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與克唑替尼聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與色瑞替尼(ceritinib)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與磷脂醯肌醇 3-激酶(PI3K)抑制劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與布帕西布(buparlisib) (BKM-120)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與皮克西布(pictilisib) (亦稱為 GDC-0941)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與布帕西布(亦稱為 BKM-120)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與哌立福新(亦稱為 KRX-0401)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與磷脂醯肌醇 3-激酶(PI3K)之 δ-選擇性抑制劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與艾代拉利司

(idelalisib) (亦稱為 GS-1101 或 CAL-101)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與他塞利西(taselisib) (亦稱為 GDC-0032)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 BYL-719 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 Akt 抑制劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 MK2206 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 GSK690693 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與伊帕他塞(ipatasertib) (亦稱為 GDC-0068)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 mTOR 抑制劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與斥消靈(sirolimus) (亦稱為雷帕黴素)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與替西羅莫司(亦稱為 CCI-779 或 Torisel®)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與依維莫司(亦稱為 RAD001)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與利達福莫司(ridaforolimus) (亦稱為 AP-23573、MK-8669 或地福莫司(deforolimus))聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 OSI-027 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 AZD8055 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 INK128 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與雙重 PI3K/mTOR 抑制劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 XL765 聯合投與。在一些實施例

中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 GDC-0980 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 BEZ235 (亦稱為 NVP-BEZ235)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 BGT226 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 GSK2126458 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 PF-04691502 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 PF-05212384 (亦稱為 PKI-587)聯合投與。

【0528】 在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與選擇性地降解雌激素受體之藥劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 GDC-0927 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 HER3 抑制劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與度利戈珠單抗(duligotuzumab)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 LSD1 抑制劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 MDM2 抑制劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 BCL2 抑制劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與維奈托克(venetoclax)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 CHK1 抑制劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 GDC-0575 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與活化刺蝟信號傳導

途徑抑制劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 ERIVEDGE 聯合投與。

【0529】 在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與放射療法聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與吉西他濱聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與奈米顆粒白蛋白太平洋紫杉醇(ABRAXANE)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與曲妥珠單抗聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 TVEC 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 IL27 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與環磷醯胺聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與徵募 T 細胞至腫瘤之藥劑聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與利瑞魯單抗(lirilumab) (IPH2102/BMS-986015)聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與艾代拉利司聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與靶向 CD3 及 CD20 之抗體聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 REGN1979 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與靶向 CD3 及 CD19 之抗體聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與布利莫單抗聯合投與。

【0530】 在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與腫瘤溶解病毒聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原

結合多肽(例如抗體)或複合物可與卡鉑及奈米顆粒白蛋白太平洋紫杉醇聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與卡鉑及太平洋紫杉醇聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與順鉑及培美曲塞聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與順鉑及吉西他濱聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 FOLFOX 聯合投與。在一些實施例中，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物可與 FOLFIRI 聯合投與。

【0531】 以上所指出之該等組合療法涵蓋組合投與(其中兩種以上治療劑包括在相同或單獨調配物中)及單獨投與(在此情況下，本文中所描述之抗原結合多肽(例如抗體)或複合物之投與可在投與該(等)額外治療劑及/或佐劑之前、同時及/或之後發生)。本發明之抗體或複合物亦可與放射療法組合使用。

【0532】 本發明之抗體或複合物(及任何額外治療劑)可藉由任何適合之方法投與，包括非經腸、肺內及鼻內及需要進行局部治療時經病變內投與。非經腸輸注包括肌肉內、靜脈內、動脈內、腹膜內或皮下投與。投配可藉由任何適合之途徑，例如藉由注射，諸如靜脈內或皮下注射，部分視投與是短暫的或是長期的而定。本文中涵蓋多種投配時程，包括但不限於單次或在不同的時間點多次投與、團注投與及脈衝式輸注。

【0533】 本發明之抗體或複合物將以符合良好醫學實務之方式經調配、投配及投與。此情形下之考慮因素包括所治療之特定病症、所治療之特定哺乳動物、個別患者之臨床病狀、病症之原因、藥劑之遞送部位、投與方法、投與時程及醫學從業者已知的其他因素。該抗體或複合物不必而是視情況與一或多種當前用於預防或治療所論述病症之藥劑一起調配。此種其

他藥劑之有效量視調配物中所存在之抗體之量、病症或治療類型及以上所論述之其他因素而定。此等一般以與本文中所描述相同之劑量及投與途徑，或本文中所描述之劑量之約 1%至 99%，或以任何劑量且藉由憑經驗/臨床上確定適當之任何途徑來使用。

【0534】 對於預防或治療疾病，本發明之抗體或複合物(當單獨或與一或多種其他額外治療劑組合使用時)之適當劑量將視欲治療疾病之類型、抗體類型、疾病之嚴重程度及病程、投與抗體是出於預防目的或是治療目的、先前療法、患者之臨床病史及對抗體之反應及主治醫師之判斷。將該抗體或複合物一次性或在一系列治療中適當地投與患者。視疾病類型及嚴重程度而定，約 1 μg/kg 至 40 mg/kg 抗體或複合物可為投與患者之初始候選劑量，無論是例如藉由一或多次單獨投與或是藉由連續輸注。視以上所提及之因素而定，一個典型日劑量可介於約 1 μg/kg 至 100 mg/kg 以上範圍內。對於在若干天或更久時間內重複投與，視病狀而定，該治療一般將持續直至出現對疾病症狀之所要抑制。該等劑量可間歇性地投與，例如，每週或每三週(例如，使得該患者接收約二至約二十或例如約六次劑量之抗體)。可投與初始較高負載劑量，繼之以一或多個較低劑量。然而，其他劑量方案可能適用。可藉由習知技術及分析法容易地監測此療法之進展。

使用 Tie2 促效劑

【0535】 在某些實施例中，本發明提供用於治療或預防哺乳動物之疾病或病症之方法，該等方法包括向哺乳動物投與治療有效量之結合 Tie2 之抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)。在某些實施例中，如本文中所描述之 Tie2 促效劑可用於刺激血管生成，且可用於需要促進血管生成之多種臨床情形。該等適應症之非限制性實例包括再生組織血管化、局部缺血性肢體病、大腦局部缺血、血管炎症病狀(包括動脈硬化)、無血管

形成性壞死、刺激毛髮生長及勃起功能障礙。在某些實施例中，如本文中所描述之 Tie2 促效劑可用於降低血管滲透率，例如，在滲漏血管位點。此種方法可用於多種臨床情形，其非限制性實例包括中風、黃斑變性、黃斑水腫、淋巴水腫、血液-視網膜屏障破環、血腦屏障破環(例如在化學治療性治療期間)及腫瘤血管系統正常化以促進藥物遞送及增加放射敏感性。在某些實施例中，如本文中所描述之 Tie2 促效劑可用於抑制內皮細胞之細胞凋亡。此種方法可用於多種臨床情形，其非限制性實例包括腎臟纖維化、中風、黃斑變性及糖尿病併發症(例如腎、眼、皮膚及/或肢體中)。在其他實施例中，如本文中所描述之 Tie2 促效劑可用於刺激創傷癒合。

篩選分析

【0536】 本文中亦提供用於鑑別具有促效活性之多肽的方法。特定言之，抗原結合多肽當表現為個別多肽(例如個別抗體、抗體片段、配位體等)時未必具有促效活性，然而，當相同多肽存在於如本文中所描述之四價複合物之情形下時，該複合物可展現促效活性。因此，藉由篩選個別多肽之促效活性，可能有許多候選物由於假陰性而被丟棄，例如，當包含於複合物中時能夠充當促效劑但當以孤立形式存在時不展現此種活性之多肽。因此，如本文中所描述之抗原結合複合物可用於對候選多肽進行初次篩選以鑑別具有促效活性之彼等多肽。

【0537】 因此，在某些實施例中，本發明提供用於鑑別具有促效活性之抗原結合複合物(例如四價抗原結合複合物)之新穎方法。該等方法包括提供多個如本文中所描述之抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)，針對細胞表面受體篩選該等抗原結合複合物，及選擇對該細胞表面受體具有促效活性之抗原結合複合物。在某些實施例中，可提供該等抗原結合複合物作為胺基酸序列彼此不同之抗原結合複合物的文庫。該等文

庫為鑑別結合該細胞表面受體且對該細胞表面受體具有促效活性之抗原結合複合物提供十分適用之資源。

【0538】 在某些實施例中，適用於此種篩選分析之該等抗原結合複合物可為各抗原結合複合物為四價之文庫。在一些實施例中，該複合物為單特異性或單抗原決定基的，其中指定複合物中之各抗原結合多肽結合相同抗原決定基，且各四價複合物含有結合相同標靶之不同抗體，例如基本上針對指定細胞表面標靶產生之單特異性抗體之複合物庫。在一些實施例中，該複合物為雙抗原決定基的，其中各複合物包含結合(例如相同標靶之)不同抗原決定基的兩個以上抗原結合多肽，且各四價複合物靶向抗原決定基之不同組合，例如，基本上針對指定細胞表面標靶產生之單特異性抗體之複合物庫。該等庫將適用於例如鑑別結合細胞表面受體且促效該受體之抗體(或抗原結合複合物)。

【0539】 可藉由此項技術中已知的各種分析法來表徵本文中所描述之抗原結合複合物或抗原結合多肽的物理/化學性質及生物功能。舉例而言，如本文中所例示，可例如使用尺寸排阻層析法(SEC)監測複合物形成及/或純度來分析複合物形成。

【0540】 在某些實施例中，可藉由一系列分析法來表徵抗原結合複合物或抗原結合多肽，包括但不限於 N 末端定序、胺基酸分析、非變性尺寸排阻高壓液相層析法(HPLC)、質譜、離子交換層析法及木瓜蛋白酶消化。

【0541】 在某些實施例中，可分析抗原結合複合物或抗原結合多肽之生物活性，舉例而言，諸如抗原結合活性。抗原結合分析法為此項技術中已知的，且可用於本文中，包括例如使用諸如西方點墨法、放射免疫分析法、ELISA (酶聯免疫吸附分析法)、「夾層」免疫分析法、免疫沈澱分析法、螢光免疫分析法及蛋白 A 免疫分析法之技術的任何直接或競爭性結合分析

法。

【0542】 在另一態樣中，可使用競爭分析法來鑑別與參考抗體競爭同標靶結合之抗體。在某些實施例中，此種競爭抗體結合與參考抗體所結合之抗原決定基相同的抗原決定基(例如，線性或構形抗原決定基)。用於對抗體所結合之抗原決定基進行圖譜分析之詳細例示性方法提供於 Morris (1996)「Epitope Mapping Protocols」, *Methods in Molecular Biology* 第 66 卷(Humana Press, Totowa, NJ)中。

【0543】 在一例示性競爭分析中，在包含可結合靶多肽(例如 OX40)之第一經標記抗體及正測試其與該第一抗體競爭同該靶多肽結合之能力的第二未經標記抗體的溶液中培育經固定之靶多肽。該第二抗體可存在於雜交瘤上清液中。作為對照，在包含該第一經標記抗體但不含該第二未經標記抗體之溶液中培育經固定之靶多肽。在允許該第一抗體與靶多肽結合之條件下培育之後，移除過量未結合抗體，並且量測與經固定之靶多肽締合之標記的量。若測試樣品中與經固定之靶多肽締合之標記的量相對於對照樣品有所減少，則表明該第二抗體與該第一抗體競爭同靶多肽結合。參見 Harlow 及 Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* 第 14 章(Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)。

【0544】 在其他實施例中，可分析本文中所描述之抗原結合複合物或抗原結合多肽的促效活性。在一些實施例中，在試管內測試該促效活性(例如，在無細胞或基於細胞之分析法中，與在完整哺乳動物中進行之活體內分析相反)。在某些實施例中，可藉由分析依賴配位體生長之細胞當在細胞培養期間添加抗原結合複合物或多肽時與當添加配位體時相比是否將以相同方式生長來測定本文中所描述之抗原結合複合物或抗原結合多肽的促效活性。若細胞以相同或相似方式生長，則確定該抗原結合複合物或多肽具有促效

活性。在某些實施例中，可藉由分析具有固有配位體依賴性活性(不限於生長)之細胞株當在細胞培養期間添加抗原結合複合物或多肽時與當添加配位體時相比是否顯示相同反應來測定本文中所描述之抗原結合複合物或抗原結合多肽的促效活性。若該細胞株顯示與配位體相同或相似之反應，則確定該抗原結合複合物或多肽具有促效活性。

【0545】 在某些實施例中，能夠轉導以上提及之細胞生長信號的細胞表現對細胞表面上之配位體具有反應性之受體。當配位體(或促效抗原結合複合物或多肽)結合該受體時，此等細胞轉導細胞生長信號。在某些實施例中，適用於篩選促效活性之細胞在配位體與細胞上之細胞表面受體結合後增殖或轉導信號。在其他實施例中，當細胞表面受體為不轉導信號至細胞中之細胞表面受體時，則藉由使非轉導受體之細胞外域(例如配位體結合域)與轉導信號至細胞中之受體的細胞內結構域融合來製造嵌合受體。適合於藉由與配位體結合受體融合來構建嵌合受體之受體包括轉導信號之任何受體，包括例如 G-CSF 受體、mpl、neu、GM-CSF 受體、EPO 受體、c-Kit 及 FLT-3 受體。用於表現該等受體之細胞包括例如 BaF3、NFS60、FDCP-1、FDCP-2、CTLL-2、DA-1 及 KT-3。

【0546】 在某些實施例中，促效活性係指由在細胞中誘導特異性反應，舉例而言，諸如藉由傳輸信號至細胞中而誘導某一生理活性變化之配位體(或抗原結合複合物或多肽)結合引起的任何活性。該等生理活性包括例如生長活性、生長誘導活性、存活活性、分化活性、分化誘導活性、轉錄活性、膜轉運活性、結合活性、蛋白水解活性、磷酸化/脫磷酸活性、氧化還原活性、轉移活性、核溶解活性、脫水活性、細胞死亡誘導活性及細胞凋亡誘導活性。

【0547】 本文中所描述之促效活性可藉由熟習此項技術者已知的方法來

測定。舉例而言，可藉由使用細胞生長作為指標之方法來評估促效活性。更特定言之，將欲測定其促效活性之抗原結合複合物或多肽添加至顯示促效劑依賴性生長之細胞，並且培養該等細胞。接下來，添加在特定波長下視活細胞計數而顯示顏色反應之試劑，諸如 WST-8，並且量測吸光度。可使用所量測之吸光度作為指標來測定促效活性。

【0548】 在某些實施例中，使用可監測暴露於配位體(或抗原結合複合物或多肽)後細胞中之定量及/或定性變化的指標來測定促效活性。舉例而言，有可能使用無細胞分析指標、基於細胞之分析指標、基於組織之分析指標及活體內分析指標。可用於無細胞分析之指標包括蛋白質、DNA 或 RNA 中之酶促反應、定量及/或定性變化。該等酶促反應包括例如胺基酸轉移、糖轉移、脫水、脫氫及受質裂解。替代地，蛋白質磷酸化、脫磷酸、二聚、多聚、水解及解離；DNA 或 RNA 擴增、裂解及延伸可用作無細胞分析中之指標。舉例而言，信號轉導途徑下游之蛋白質磷酸化可用作偵測指標。細胞表型變化，例如產物之定量及/或定性變化、生長活性變化、細胞數目變化、形態變化或細胞性質變化，可用作基於細胞之分析中的指標。該等產物包括例如分泌蛋白質、表面抗原、細胞內蛋白質及 mRNA。形態變化包括例如樹枝狀細胞形成及/或樹枝狀細胞數目變化、細胞平坦度變化、細胞伸長/軸比率變化、細胞尺寸變化、細胞內結構變化、細胞群體異質性/均質性及細胞密度變化。可在顯微鏡下觀測該等形態變化。用作指標之細胞性質包括錨定錨定依賴性、細胞因子依賴性反應、激素依賴性、抗藥性、細胞活動性、細胞遷移活性、脈動活性及細胞內物質變化。細胞活動性包括細胞浸潤活性及細胞遷移活性。細胞內物質變化包括例如酶活性、mRNA 水準、細胞內信號傳導分子(諸如 Ca^{2+}及 cAMP)水準及細胞內蛋白質水準之變化。當使用細胞膜受體時，由受體刺激誘導之細胞增殖活性變化可用作

指標。欲用於基於組織之分析的指標包括適合個體組織之功能變化。在活體內分析中，組織重量變化、血液系統變化(例如血球計數、蛋白質含量或酶活性之變化)、電解液水準變化及循環系統變化(例如血壓或心率變化)。

【0549】 任何適合之用於量測該等偵測指標之方法均可與本文中所描述之方法聯合使用。舉例而言，可使用吸光度、發光、顯色、螢光、放射性、螢光偏振、表面電漿子共振信號、時間解析螢光、質量、吸收光譜、光散射及螢光共振能量轉移。此等量測方法為熟習此項技術者已知的，且可視目的而適當地選擇。舉例而言，可藉由使用習知光度計、盤讀數器等來獲得吸收光譜；可利用光度計等來量測發光；且可利用螢光計等來量測螢光。可用質譜儀來測定質量。視輻射類型而定，可利用諸如γ粒子計數器之裝置來測定放射性。可利用 BEACON (TaKaRa)來量測螢光偏振。可利用 BIACORE 來獲得表面電漿子共振信號。時間解析螢光、螢光共振能量轉移等可利用 ARVO 等進行量測。此外，亦可使用流式細胞儀進行量測。有可能使用以上方法之一來量測兩種以上不同類型之偵測指標。亦可藉由使用兩種以上量測方法同時及/或依次研究更多數目之偵測指標。舉例而言，可用螢光計同時量測螢光及螢光共振能量轉移。

OX40 分析

【0550】 如以上所描述，本發明之某些態樣係關於對細胞表面受體之促效活性。如熟習此項技術者將認識到，用於測定對細胞表面受體之促效活性的特定分析可視特定細胞表面受體而定。以下提供與測定 OX40 活性有關之例示性分析。基於此指導及此項技術中之常識，熟習此項技術者可適當地鑑別用於本文中所描述之其他細胞表面受體的分析法。

【0551】 在一個態樣中，提供用於鑑別具有生物活性之結合 OX40 之促效抗原結合複合物的分析法。生物活性可包括例如結合 OX40 (例如結合人

類及/或石蟹獼猴 OX40)；增加 OX40 介導之信號轉導(例如增加 NFkB 介導之轉錄)；消耗表現人類 OX40 之細胞(例如 T 細胞)；藉由 ADCC 及/或吞噬作用來消耗表現人類 OX40 之細胞；增強 T 效應細胞功能(例如 CD4+效應 T 細胞)，例如，藉由增加效應 T 細胞增殖及/或增加效應 T 細胞之細胞因子產生(例如 γ 干擾素)；增強記憶 T 細胞功能(例如 CD4+記憶 T 細胞)，例如，藉由增加記憶 T 細胞增殖及/或增加記憶 T 細胞之細胞因子產生(例如 γ 干擾素)；或抑制調節 T 細胞功能(例如，藉由降低對效應 T 細胞功能(例如 CD4+效應 T 細胞功能)之 Treg 抑制。在某些實施例中，結合 OX40 之促效抗原結合複合物在不存在與人類效應細胞結合之情況下具有所列出之生物活性中的一或多種。在某些實施例中，結合 OX40 之促效抗原結合複合物具有所列出之生物活性中的一或多種且不結合人類效應細胞。亦提供在活體內及/或試管內具有此種生物活性之抗體。

【0552】 在某些實施例中，測試本發明抗體之此種生物活性。

【0553】 可使用此項技術中已知的方法來分析 T 細胞共刺激且例示性方法揭示於本文中。舉例而言，T 細胞(例如記憶或效應 T 細胞)可獲自外周白血球(例如使用 Ficoll 梯度離心自人類全血分離)。可使用此項技術中已知的方法自 PBMC 中分離記憶 T 細胞(例如 CD4+記憶 T 細胞)或效應 T 細胞(例如 CD4+ Teff 細胞)。舉例而言，可使用 Miltenyi CD4+記憶 T 細胞分離套組或 Miltenyi 天然 CD4+ T 細胞分離套組。在存在抗原呈遞細胞(例如表現 CD32 及 CD80 之經照射之 L 細胞)的情況下培養分離之 T 細胞，且藉由在存在或不存在結合 OX40 之促效抗原結合複合物的情況下添加抗 CD3 抗體將其活化。可使用此項技術中眾所周知的方法來量測結合 OX40 抗體之促效抗原結合複合物對 T 細胞增殖之效應。舉例而言，可使用 CellTiter-Glo®套組(Promega)，且在 Multilabel 讀數器(Perkin Elmer)上讀取結果。亦可藉由分

析由 T 細胞產生之細胞因子來測定結合 OX40 之促效抗原結合複合物對 T 細胞功能之效應。在一個實施例中，例如，藉由量測細胞培養物上清液中之干擾素 γ 來測定 CD4+ T 細胞之干擾素 γ 產生。用於量測干擾素 γ 之方法為此項技術中眾所周知的。

【0554】 可使用此項技術中已知的方法來分析 Treg 細胞功能且例示性方法揭示於本文中。在一個實例中，分析 Treg 抑制效應 T 細胞增殖之能力。使用此項技術中已知的方法自人類全血分離 T 細胞(例如分離記憶 T 細胞或天然 T 細胞)。標記(例如用 CFSE)經純化之 CD4+天然 T 細胞，且用不同的試劑標記經純化之 Treg 細胞。將經照射之抗原呈遞細胞(例如表現 CD32 及 CD80 之 L 細胞)與經標記之經純化天然 CD4+ T 細胞及經純化 Treg 一起共培養。在存在或不存在結合 OX40 之促效抗原結合複合物的情況下使用抗 CD3 抗體活化共培養物並且進行測試。在適合之時間(例如共培養 6 天)後，使用 FACS 分析，藉由減少之標記染色(例如減少之 CFSE 標記染色)中的染料稀釋度來追蹤 CD4+天然 T 細胞增殖水準。

【0555】 可使用此項技術中眾所周知的方法來分析 OX40 信號傳導且例示性方法揭示於本文中。在一個實施例中，產生表現人類 OX40 及報告基因(包含與報告基因(例如 β 螢光素酶)融合之 NFkB 啟動子)之轉殖基因細胞。向細胞添加結合 OX40 之促效抗原結合複合物引起 NFkB 轉錄增加，此結果可使用針對報告基因之分析法加以偵測。

【0556】 可例如藉由使用單核細胞衍生之巨噬細胞或 U937 細胞(一種具有成熟巨噬細胞之形態及特徵的人類組織細胞淋巴瘤細胞株)來分析吞噬作用。在存在或不存在結合 OX40 之促效抗原結合複合物的情況下將 OX40 表現細胞添加至單核細胞衍生之巨噬細胞或 U937 細胞。將細胞培養適合之時段後，藉由檢查針對 1)巨噬細胞或 U937 細胞及 2) OX40 表現細胞之標記

物雙重染色之細胞的百分比，並且將此百分比除以顯示 OX40 表現細胞之標記物(例如 GFP)的細胞的總數目來測定吞噬百分比。可藉由流式細胞術進行分析。在另一實施例中，可藉由螢光顯微術分析法來進行分析。

【0557】 用於以上試管內分析中之任一種的細胞包括天然地表現 OX40 或已經工程改造以表現 OX40 之細胞或細胞株。該等細胞包括天然地表現 OX40 之活化 T 細胞、Treg 細胞及活化記憶 T 細胞。該等細胞亦包括表現 OX40 之細胞株及正常情況下不表現 OX40 但已用編碼 OX40 之核酸轉染的細胞株。本文中所提供之用於以上試管內分析中之任一種的例示性細胞株包括表現人類 OX40 之轉殖基因 BT474 細胞(人類乳癌細胞株)。

IV. 醫藥組合物

【0558】 如本文中所描述之本發明抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)或其次單元可用與良好醫學實務相符之方式進行調配、投配及投與。此情形下之考慮因素包括所治療之特定病症、所治療之特定哺乳動物、個別個體之臨床病狀、病症之原因、藥劑之遞送部位、投與方法、投與時程及醫學從業者已知的其他因素。欲投與之複合物或蛋白質之「治療有效量」將視該等考慮而定，並且為預防、改善或治療特定病症(例如癌症、過敏性或炎症性病症或自體免疫病症)之最低必需量。在某些實施例中，本文中所描述之複合物及蛋白質可視情況與一或多種當前用於預防或治療病症之藥劑一起調配。該等其他藥劑之有效量視調配物中所存在之複合物或蛋白質之量、病症或治療之類型及以上所論述之其他因素而定。

【0559】 使用此項技術中已知的標準方法，藉由混合具有所要純度之活性成分與視情況選用之生理學上可接受之載劑、賦形劑或穩定劑來製備治療調配物(Remington's Pharmaceutical Sciences (第20版), A. Gennaro編, 2000,

Lippincott, Williams 及 Wilkins, Philadelphia, PA)。可接受之載劑包括生理鹽水或緩衝液，諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，包括抗壞血酸；低分子量(少於約 10 個殘基)多肽；蛋白質，諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚乙烯吡咯啶酮；胺基酸，諸如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺酸、精胺酸或離胺酸；單糖、二糖及其他糖類，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑，諸如 EDTA；糖醇，諸如甘露醇或山梨醇；成鹽相對離子，諸如鈉；及/或非離子界面活性劑，諸如 TWEEN™、PLURONICS™或 PEG。

【0560】 在某些實施例中，該調配物含有醫藥學上可接受之鹽，較佳為氯化鈉且較佳以約生理學濃度。視情況，本發明之調配物可含有醫藥學上可接受之防腐劑。在一些實施例中，該防腐劑濃度介於 0.1 至 2.0%範圍內，典型地 v/v。適合之防腐劑包括醫藥領域中已知的防腐劑。苯甲醇、苯酚、間甲酚、對羥基苯甲酸甲酯及對羥基苯甲酸丙酯為較佳防腐劑。視情況，本發明之調配物可 0.005%至 0.02%濃度之包括醫藥學上可接受之界面活性劑。

【0561】 本文中之調配物亦可在所治療之特定適應症必需時含有多於一種活性化合物，較佳為具有不會對彼此造成不利影響之互補活性的活性化合物。該等分子以對預定目的有效之量呈組合形式適當地存在。

【0562】 活性成分亦可俘獲在例如藉由團聚技術或藉由界面聚合製備之微膠囊中，例如羥甲基纖維素或明膠微膠囊及聚(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊，分別呈膠體藥物遞送系統形式(例如脂質體、白蛋白微球體、微乳液、奈米顆粒及奈米膠囊)或呈巨乳液形式。該等技術揭示於 Remington's Pharmaceutical Sciences, 同上中。

【0563】 可製備持續釋放製劑。持續釋放製劑之適合實例包括含有抗原

結合複合物或抗原結合多肽之固體疏水性聚合物半透性基質，該等基質呈成形物品形式，例如膜或微膠囊。持續釋放基質之實例包括聚酯、水凝膠(例如聚(2-羥基乙基-甲基丙烯酸酯)或聚(乙烯醇))、聚交酯(美國專利第3,773,919號)、L-麩胺酸與γ乙基-L-麩胺酸之共聚物、不可降解乙烯乙酸乙烯酯、諸如LUPRON DEPOT™(由乳酸-乙醇酸共聚物及醋酸亮丙瑞林構成之可注射微球體)之可降解乳酸-乙醇酸共聚物及聚-D-(-)-3-羥基丁酸。儘管諸如乙烯乙酸乙烯酯及乳酸-乙醇酸之聚合物使得能夠釋放分子超過100天，但某些水凝膠在較短時段內釋放蛋白質。當經囊封之抗原結合複合物或抗原結合多肽長時間保留在體內時，其可能由於在37°C下暴露於水分而變性或聚集，從而導致生物活性損失及可能之免疫原性變化。可設計合理策略以進行穩定，視所涉及之機制而定。舉例而言，若發現聚集機制為經由硫-二硫鍵互換之分子間S-S鍵形成，則可藉由修飾巰基殘基、自酸性溶液中凍乾、控制水分含量、使用適當添加劑及開發特定聚合物基質組合物來達成穩定。

【0564】 本文中所描述之複合物可根據已知方法投與人類個體，諸如呈藥團形式經靜脈內投與或藉由在一定時段內連續輸注、藉由肌肉內、腹膜內、大腦脊髓內、皮下、關節內、滑膜內、鞘內、經口、局部或吸入途徑。若過度副作用或毒性與對蛋白質所識別之靶分子的拮抗作用相關，則可能尤其需要局部投與。離體策略亦可用於治療應用。離體策略涉及用編碼本發明之蛋白質或複合物的聚核苷酸轉染或轉導獲自個體之細胞。接著將經轉染或轉導之細胞歸還至該個體。該等細胞可屬於許多類型中之任一種，包括但不限於造血細胞(例如骨髓細胞、巨噬細胞、單核細胞、樹突狀細胞、T細胞或B細胞)、纖維母細胞、上皮細胞、內皮細胞、角質細胞或肌細胞。

V. 製品

【0565】 本發明之另一實施例為一種製品，其含有一或多種如本文中所描述之抗原結合複合物(例如具有促效活性之四價抗原結合複合物)及適用於治療或診斷病症(例如自體免疫疾病或癌症)之材料。該製品包括容器及處於該容器上或與該容器相關聯之標籤或包裝插頁。適合之容器包括例如瓶、小瓶、注射器等。該等容器可由多種材料形成，諸如玻璃或塑膠。該容器容納可有效治療病狀之組合物，且可具有無菌接取口(舉例而言，該容器可為靜脈內溶液袋或具有可藉由皮下注射針刺穿之塞子的小瓶)。該組合物中之至少一種活性劑為如本文中所描述之抗原結合複合物或多肽。標籤或包裝插頁指示組合物用於治療特定病狀。標籤或包裝插頁將進一步包括關於向個體投與抗原結合複合物或多肽組合物之說明書。亦涵蓋包含本文中所描述之組合療法的製品及套組。

【0566】 包裝插頁係指照例包括在治療產品之商業包裝中之說明書，其含有關於與使用該等治療產品相關之適應症、用法、劑量、投與、禁忌及/或警告的資訊。

【0567】 另外，該製品可進一步包括包含諸如抑菌注射用水(BWFI)、磷酸鹽緩衝生理鹽水、林格氏溶液及右旋糖溶液之醫藥學上可接受之緩衝液的第二容器。其可進一步包括自商業及使用者觀點考慮之其他材料，包括其他緩衝液、稀釋劑、過濾器、針及注射器。

【0568】 例示性複合物、方法、核酸、載體、宿主細胞及組合物陳述於以下各項中：

【第 1 項】一種具有促效活性之四價抗原結合複合物，該複合物包含：第一次單元及第二次單元，其中該第一次單元及該第二次單元中之每一者包含：

(i) 第一半抗體，該第一半抗體包含第一抗體重鏈可變域(VH_1)及第一抗體輕

鏈可變域(VL_1)，其中該第一半抗體特異性結合細胞表面受體之第一抗原決定基；及

(ii) 第二半抗體，該第二半抗體包含第二抗體重鏈可變域(VH_2)及第二抗體輕鏈可變域(VL_2)，其中該第二半抗體特異性結合該細胞表面受體之第二抗原決定基；

其中該第一次單元與該第二次單元偶聯，且其中該複合物對被該複合物結合之該細胞表面受體具有促效活性。

【第 2 項】如第 1 項之複合物，其中該第一次單元及該第二次單元中之每一者包含：

(i) 該第一半抗體，其中該第一半抗體包含：

(a)第一抗體重鏈，該第一抗體重鏈自 N 末端至 C 末端包含該第一抗體重鏈可變域(VH_1)、第一抗體重鏈 CH1 結構域、第一抗體重鏈 CH2 結構域及第一抗體重鏈 CH3 結構域；及

(b) 第一抗體輕鏈，該第一抗體輕鏈自 N 末端至 C 末端包含該第一抗體輕鏈可變域(VL_1)及第一抗體輕鏈恆定域(CL)；以及

(i) 該第二半抗體，其中該第二半抗體包含：

(a) 第二抗體重鏈，該第二抗體重鏈自 N 末端至 C 末端包含該第二抗體重鏈可變域(VH_2)、第二抗體重鏈 CH1 結構域、第二抗體重鏈 CH2 結構域及第二抗體重鏈 CH3 結構域；及

(b) 第二抗體輕鏈，該第二抗體輕鏈自 N 末端至 C 末端包含該第二抗體輕鏈可變域(VL_2)及第二抗體輕鏈恆定域(CL)。

【第 3 項】如第 2 項之複合物，其中該第一次單元與該第二次單元化學偶聯。

【第 4 項】如第 1 項至第 3 項中任一項之複合物，其中該細胞表面受體之

該第一抗原決定基與該第二抗原決定基相同。

【第 5 項】如第 1 項至第 3 項中任一項之複合物，其中該細胞表面受體之該第一抗原決定基與該第二抗原決定基不同。

【第 6 項】如第 5 項之複合物，其中該第一次單元及該第二次單元中之每一者包含雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體包含兩個具有兩個 CH3 結構域之抗體 Fc 區，其中該兩個 CH3 結構域中之每一者包含突起或凹穴，且其中該兩個 CH3 結構域中之第一個中的該突起或凹穴分別可置於該兩個 CH3 結構域中之第二個中的該凹穴或突起中。

【第 7 項】如第 1 項至第 6 項中任一項之複合物，其中該兩個次單元係經由連接子發生化學偶聯。

【第 8 項】如第 7 項之複合物，其中該連接子接合該第一次單元之第一工程改造游離半胱胺酸與該第二次單元之第二工程改造游離半胱胺酸。

【第 9 項】如第 8 項之複合物，其中該兩個次單元中之每一者包含兩個重鏈及兩個輕鏈，且其中各次單元之該等重鏈之一包含選自由以下各項組成之群的重鏈半胱胺酸胺基酸：根據 EU 編號之 T114C、A118C、A140C、L174C、L179C、T187C、T209C、V262C、G371C、Y373C、E382C、S400C、S424C、N434C 及 Q438C。

【第 10 項】　如第 8 項之複合物，其中該兩個次單元中之每一者包含兩個重鏈及兩個輕鏈，且其中各次單元之該等輕鏈之一包含選自由以下各項組成之群的輕鏈半胱胺酸胺基酸：根據 Kabat 編號之 I106C、R108C、R142C、K149C 及 V205C。

【第 11 項】　如第 7 項之複合物，其中該兩個次單元係經由點擊化學反應而化學偶聯。

【第 12 項】　如第 11 項之複合物，其中該兩個次單元係經由四嗪反式環

辛烯(TCO)點擊反應而偶聯。

【第 13 項】　如第 11 項或第 12 項之複合物，其中該連接子之長度介於約 10 Å 與約 100 Å 之間。

【第 14 項】　如第 7 項之複合物，其中該連接子為雙馬來醯亞胺基聚乙二醇(PEG)連接子。

【第 15 項】　如第 13 項之複合物，其中該 PEG 連接子包含介於 1 與 11 個之間的 PEG 次單元。

【第 16 項】　如第 15 項之複合物，其中該 PEG 連接子包含 1、2 或 3 個 PEG 次單元。

【第 17 項】　如第 2 項至第 16 項中任一項之複合物，其中該等次單元中之每一者包含有包含用於減弱效應功能之修飾的 Fc 區。

【第 18 項】　如第 17 項之複合物，其中該等次單元中之每一者包含在選自由以下各項組成之群的一或多個胺基酸殘基(EU 編號)處包含胺基酸取代的 Fc 區：

(a) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 297；

(b) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 234 及 235；

(c) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 234、235 及 329；

(d) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 234 及 237；

(e) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 235、237 及 318；

(f) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 228 及 236；

(g) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 268、309、330 及 331；

(h) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 220、226、229 及 238；

(i) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 226、229、233、234 及 235；

(j) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 234、235 及 331；

(k) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 226 及 230；以及

(l) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 267 及 328。

【第 19 項】　如第 17 項或第 18 項之複合物，其中該等次單元中之每一者包含有包含選自由以下各項組成之群的一或多個胺基酸取代(EU 編號)的 Fc 區：

(a) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 N297A；

(b) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234A 及 L235A；

(c) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234A、L235A 及 P329G；

(d) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 V234A 及 G237A；

(e) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 L235A、G237A 及 E318A；

(f) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 S228P 及 L236E；

(g) 跨越人類 IgG2 之 Fc 區中之胺基酸殘基 118 至 260 的區域中或跨越人類 IgG4 之 Fc 區中之胺基酸 261 至 447 的區域中的一或多個取代；

(h) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 H268Q、V309L、A330S 及 A331S；

(i) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 C220S、C226S、C229S 及 P238S；

(j) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 C226S、C229S、E233P、L234V 及 L235A；

(k) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234F、L235E 及 P331S；

(l) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 C226S 及 P230S；以及

(m) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 S267E 及 L328F。

【第 20 項】　如第 17 項至第 19 項中任一項之複合物，其中該等次單元中之每一者包含有包含用於減弱效應功能之修飾的 Fc 區，該修飾產生無糖基化 Fc 區。

【第 21 項】　如第 17 項至第 19 項中任一項之複合物，其中該等次單元中之每一者包含有包含用於減弱效應功能之修飾的 Fc 區，該修飾不會引起對

該 Fc 區之糖基化模式的修飾。

【第 22 項】　如第 1 項至第 21 項中任一項之複合物，其中該細胞表面受體為選自由以下各項組成之群的受體家族的成員：腫瘤壞死因子受體(TNFR)超家族及 G 蛋白偶聯受體(GPCR)超家族。

【第 23 項】　如第 1 項至第 22 項中任一項之複合物，其中該細胞表面受體係選自由以下各項組成之群：OX40、DR5、GITR、CD27、CD137 及 Tie2。

【第 24 項】　如第 23 項之複合物，其中該 VH_1 包含：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；且其中該 VL_1 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列。

【第 25 項】　如第 23 項或第 24 項之複合物，其中該 VH_2 包含：(a) VH 結構域，其包含(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；且其中該 VL_2 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39 之胺基酸序列；及(iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。

【第 26 項】　一種具有促效活性之四價抗原結合複合物，其中該複合物包含：

(a) 抗體，該抗體包含兩個抗體重鏈，各抗體重鏈包含第一抗體重鏈可變域(VH_1)；及兩個抗體輕鏈，各抗體輕鏈包含第一抗體輕鏈可變域(VL_1)，其中該抗體特異性結合細胞表面受體之第一抗原決定基；及

(b) 與該抗體偶聯之兩個抗體 Fab 片段，其中該兩個抗體 Fab 片段中之每一

者包含第二抗體重鏈可變域(VH_2)及第二抗體輕鏈可變域(VL_2)，其中該兩個抗體 Fab 片段中之每一者特異性結合該細胞表面受體之第二抗原決定基；其中該複合物對被該複合物結合之該細胞表面受體具有促效活性。

【第 27 項】　如第 26 項之複合物，其中各抗體重鏈自 N 末端至 C 末端包含該第一抗體重鏈可變域(VH_1)、第一抗體重鏈 CH1 結構域、第一抗體重鏈 CH2 結構域及第一抗體重鏈 CH3 結構域；其中各抗體輕鏈自 N 末端至 C 末端包含該第一抗體輕鏈可變域(VL_1)及第一抗體輕鏈恆定域(CL)；其中該兩個抗體 Fab 片段中之每一者包含重鏈 Fab 片段，該重鏈 Fab 片段自 N 末端至 C 末端包含該第二抗體重鏈可變域(VH_2)及第二抗體重鏈 CH1 結構域；且其中該兩個抗體 Fab 片段中之每一者包含輕鏈 Fab 片段，該輕鏈 Fab 片段自 N 末端至 C 末端包含該第二抗體輕鏈可變域(VL_2)及第二抗體輕鏈恆定域(CL)。

【第 28 項】　如第 27 項之複合物，其中該兩個抗體 Fab 片段之第一個與該兩個抗體輕鏈之第一個或該兩個抗體重鏈之第一個化學偶聯，且其中該兩個抗體 Fab 片段之第二個與該兩個抗體輕鏈之第二個或該兩個抗體重鏈之第二個化學偶聯。

【第 29 項】　如第 26 項至第 28 項中任一項之複合物，該兩個 Fab 片段中之每一者經由連接子與該抗體化學偶聯。

【第 30 項】　如第 29 項之複合物，其包含：

(i) 第一連接子，其接合該抗體之第一工程改造游離半胱胺酸與該兩個 Fab 片段之第一個之經工程改造游離半胱胺酸；及

(ii) 第二連接子，其接合該抗體之第二工程改造游離半胱胺酸與該兩個 Fab 片段之第二個之經工程改造游離半胱胺酸。

【第 31 項】　如第 30 項之複合物，其中該抗體之該兩個抗體重鏈中之每

一者包含獨立地選自由以下各項組成之群的半胱胺酸胺基酸：根據 EU 編號之 T114C、A118C、A140C、L174C、L179C、T187C、T209C、V262C、G371C、Y373C、E382C、S400C、S424C、N434C 及 Q438C。

【第 32 項】　如第 30 項之複合物，其中該抗體之該兩個抗體輕鏈中之每一者包含獨立地選自由以下各項組成之群的半胱胺酸胺基酸：根據 Kabat 編號之 I106C、R108C、R142C、K149C 及 V205C。

【第 33 項】　如第 30 項至第 32 項中任一項之複合物，其中該兩個抗體 Fab 片段中之每一者包含 C 末端半胱胺酸胺基酸。

【第 34 項】　如第 29 項之複合物，其中該抗體與該兩個抗體 Fab 片段均經由點擊化學反應而偶聯。

【第 35 項】　如第 34 項之複合物，其中該抗體與該兩個抗體 Fab 片段均經由四嗪反式環辛烯(TCO)點擊反應而偶聯。

【第 36 項】　如第 34 項或第 35 項之複合物，其中該連接子之長度介於約 10 Å 與約 100 Å 之間。

【第 37 項】　如第 29 項之複合物，其中該連接子為雙馬來醯亞胺基聚乙二醇(PEG)連接子。

【第 38 項】　如第 37 項之複合物，其中該 PEG 連接子包含介於 1 與 11 個之間的 PEG 次單元。

【第 39 項】　如第 38 項之複合物，其中該 PEG 連接子包含 1、2 或 3 個 PEG 次單元。

【第 40 項】　如第 26 項之複合物，其中該兩個抗體 Fab 片段與該抗體基因偶聯；其中各抗體重鏈自 N 末端至 C 末端包含該第一抗體重鏈可變域(VH_1)、第一抗體重鏈 CH1 結構域、該第二重鏈可變域(VH_2)、第二重鏈 CH1 結構域、抗體重鏈 CH2 結構域及抗體重鏈 CH3 結構域；且其中該複合物包

含：第一抗體輕鏈，該第一抗體輕鏈自 N 末端至 C 末端包含該第一抗體輕鏈可變域(VL_1)及第一抗體輕鏈恆定域(CL)；及第二抗體輕鏈，該第二抗體輕鏈自 N 末端至 C 末端包含該第二抗體輕鏈可變域(VL_2)及第二抗體輕鏈恆定域(CL)。

【第 41 項】　如第 40 項之複合物，其中該第一抗體輕鏈包含用於與該抗體重鏈之該第一抗體重鏈可變域(VH_1)和/或該第一抗體重鏈 CH1 結構域之修飾正交配對的修飾，且其中該第二抗體輕鏈包含用於與該抗體重鏈之該第二重鏈可變域(VH_2)及/或該第二重鏈 CH1 結構域之修飾正交配對的修飾。

【第 42 項】　如第 26 項至第 41 項中任一項之複合物，其中該細胞表面受體之該第一抗原決定基與該第二抗原決定基相同。

【第 43 項】　如第 26 項至第 41 項中任一項之複合物，其中該細胞表面受體之該第一抗原決定基與該第二抗原決定基不同。

【第 44 項】　如第 26 項至第 43 項中任一項之複合物，其中該抗體之該等抗體重鏈中之每一者包含有包含用於減弱效應功能之修飾的 Fc 區。

【第 45 項】　如第 44 項之複合物，其中該抗體之該等抗體重鏈中之每一者在選自由以下各項組成之群的一或多個胺基酸殘基(EU 編號)處包含胺基酸取代：

(a) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 297；

(b) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 234 及 235；

(c) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 234、235 及 329；

(d) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 234 及 237；

(e) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 235、237 及 318；

(f) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 228 及 236；

(g) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 268、309、330 及 331；

(h) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 220、226、229 及 238；

(i) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 226、229、233、234 及 235；

(j) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 234、235 及 331；

(k) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 226 及 230；以及

(l) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 267 及 328。

【第 46 項】　如第 44 項或第 45 項之複合物，其中該抗體之該等抗體重鏈中之每一者在選自由以下各項組成之群的一或多個胺基酸殘基(EU 編號)處包含胺基酸取代：

(a) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 N297A；

(b) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234A 及 L235A；

(c) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234A、L235A 及 P329G；

(d) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 V234A 及 G237A；

(e) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 L235A、G237A 及 E318A；

(f) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 S228P 及 L236E；

(g) 跨越人類 IgG2 之 Fc 區中之胺基酸殘基 118 至 260 的區域中或跨越人類 IgG4 之 Fc 區中之胺基酸 261 至 447 的區域中的一或多個取代；

(h) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 H268Q、V309L、A330S 及 A331S；

(i) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 C220S、C226S、C229S 及 P238S；

(j) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 C226S、C229S、E233P、L234V 及 L235A；

(k) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234F、L235E 及 P331S；

(l) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 C226S 及 P230S；以及

(m) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 S267E 及 L328F。

【第 47 項】　如第 44 項至第 46 項中任一項之複合物，其中該抗體之該等

抗體重鏈中之每一者包含有包含用於減弱效應功能之修飾的 Fc 區，該修飾產生無糖基化 Fc 區。

【第 48 項】　如第 44 項至第 46 項中任一項之複合物，其中該抗體之該等抗體重鏈中之每一者包含用於減弱效應功能之修飾，該修飾不會引起對該 Fc 區之糖基化模式的修飾。

【第 49 項】　如第 26 項至第 48 項中任一項之複合物，其中該細胞表面受體為選自由以下各項組成之群的受體家族的成員：腫瘤壞死因子受體(TNFR)超家族及 G 蛋白偶聯受體(GPCR)超家族。

【第 50 項】　如第 26 項至第 49 項中任一項之複合物，其中該細胞表面受體係選自由以下各項組成之群：OX40、DR5、GITR、CD27、CD137 及 Tie2。

【第 51 項】　如第 50 項之複合物，其中該 VH_1 包含：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；且其中該 VL_1 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列。

【第 52 項】　如第 50 項或第 51 項之複合物，其中該 VH_2 包含：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；且其中該 VL_2 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39 之胺基酸序列；及(iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。

【第 53 項】　如第 50 項之複合物，其中該 VH_2 包含：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基

酸序列；(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；且其中該 VL_2 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列。

【第 54 項】 如第 50 項或第 53 項之複合物，其中該 VH_1 包含：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；且其中該 VL_1 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39 之胺基酸序列；及(iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。

【第 55 項】 一種核酸，其編碼如第 1 項至第 25 項中任一項之複合物。

【第 56 項】 如第 55 項之核酸，其中該核酸包含編碼該第一抗體重鏈之第一聚核苷酸、編碼該第一抗體輕鏈之第二聚核苷酸、編碼該第二抗體重鏈之第三聚核苷酸及編碼該第二抗體輕鏈之第四聚核苷酸。

【第 57 項】 一種核酸，其編碼如第 26 項至第 54 項中任一項之複合物。

【第 58 項】 如第 57 項之核酸，其中該核酸包含編碼該抗體重鏈之第一聚核苷酸、編碼該抗體輕鏈之第二聚核苷酸、編碼該重鏈 Fab 片段之第三聚核苷酸及編碼該輕鏈 Fab 片段之第四聚核苷酸。

【第 59 項】 如第 57 項之核酸，其中該核酸包含第一聚核苷酸，其編碼抗體重鏈，該抗體重鏈自 N 末端至 C 末端包含該第一抗體重鏈可變域(VH_1)、第一抗體重鏈 CH1 結構域、該第二重鏈可變域(VH_2)、第二重鏈 CH1 結構域、抗體重鏈 CH2 結構域及抗體重鏈 CH3 結構域；第二聚核苷酸，其編碼抗體輕鏈，該抗體輕鏈自 N 末端至 C 末端包含該第一抗體輕鏈可變域(VL_1)及第一抗體輕鏈恆定域(CL)；及第三聚核苷酸，其編碼抗體輕鏈，該抗體

輕鏈自N末端至C末端包含該第二抗體輕鏈可變域(VL_2)及第二抗體輕鏈恆定域(CL)。

【第60項】　一種載體，其包含如第55項至第59項中任一項之核酸。

【第61項】　如第60項之載體，其中該載體為表現載體。

【第62項】　一種宿主細胞，其包含如第60項或第61項之載體。

【第63項】　如第62項之宿主細胞，其中該宿主細胞為原核細胞。

【第64項】　如第62項之宿主細胞，其中該宿主細胞為真核細胞。

【第65項】　一種產生四價抗原結合複合物之方法，其包括培養如第62項之宿主細胞，從而產生該複合物。

【第66項】　如第65項之方法，其進一步包括自該宿主細胞回收該複合物。

【第67項】　一種醫藥組合物，其包含如第1項至第54項中任一項之複合物及醫藥學上可接受之載劑。

【第68項】　一種產生四價抗原結合複合物之方法，該四價抗原結合複合物對被該複合物結合之細胞表面受體具有促效活性，該方法包括：

(a) 提供：

(i) 第一半抗體，該第一半抗體包含第一抗體重鏈可變域(VH_1)及第一抗體輕鏈可變域(VL_1)，其中該第一半抗體特異性結合細胞表面受體之第一抗原決定基，且其中該第一半抗體包含第一工程改造游離半胱胺酸；及

(ii) 第二半抗體，該第二半抗體包含第二抗體重鏈可變域(VH_2)及第二抗體輕鏈可變域(VL_2)，其中該第二半抗體特異性結合該細胞表面受體之第二抗原決定基，其中該第一半抗體及該第二半抗體中之每一者包含具有CH3結構域之抗體Fc區，其中該兩個CH3結構域中之每一者包含突起或凹穴，其中該兩個CH3結構域中之第一個中的該突起或凹穴分別可置於該兩個CH3

結構域中之第二個中的凹穴或突起中。

(b) 在試管內組裝該第一半抗體及該第二半抗體以形成第一次單元；

(c) 提供：

(iii) 第三半抗體，該第三半抗體包含該第一抗體重鏈可變域(VH_1)及該第一抗體輕鏈可變域(VL_1)，其中該第三半抗體特異性結合細胞表面受體之第一抗原決定基，且其中該第三半抗體包含第二工程改造游離半胱胺酸；及

(iv) 第四半抗體，該第四半抗體包含該第二抗體重鏈可變域(VH_2)及該第二抗體輕鏈可變域(VL_2)，其中該第四半抗體特異性結合該細胞表面受體之該第二抗原決定基，其中該第三半抗體及該第四半抗體中之每一者包含具有CH3結構域之抗體Fc區，其中該兩個CH3結構域中之每一者包含突起或凹穴，其中該兩個CH3結構域中之第一個中的該突起或凹穴分別可置於該兩個CH3結構域中之第二個中的凹穴或突起中；

(d) 在試管內組裝該第三半抗體及該第四半抗體以形成第二次單元；及

(e) 使用該第一游離工程改造半胱胺酸及該第二游離工程改造半胱胺酸，使該第一次單元與該第二次單元經由連接子偶聯，從而產生該複合物。

【第69項】　如第68項之方法，其中該細胞表面受體之該第一抗原決定基與該第二抗原決定基相同。

【第70項】　如第68項之方法，其中該細胞表面受體之該第一抗原決定基與該第二抗原決定基不同。

【第71項】　如第68項至第71項中任一項之方法，其中該第一工程改造游離半胱胺酸及該第二工程改造游離半胱胺酸中之每一者為獨立地選自由以下各項組成之群的重鏈半胱胺酸胺基酸：根據EU編號之T114C、A118C、A140C、L174C、L179C、T187C、T209C、V262C、G371C、Y373C、E382C、S400C、S424C、N434C及Q438C。

【第 72 項】　如第 68 項至第 71 項中任一項之方法，其中該第一工程改造游離半胱胺酸及該第二工程改造游離半胱胺酸中之每一者為獨立地選自由以下各項組成之群的輕鏈半胱胺酸胺基酸：根據 Kabat 編號之 I106C、R108C、R142C、K149C 及 V205C。

【第 73 項】　如第 68 項至第 72 項中任一項之方法，其中該連接子為雙馬來醯亞胺基聚乙二醇(PEG)連接子。

【第 74 項】　如第 73 項之方法，其中步驟(e)包括：

(1) 使該兩個次單元與該雙馬來醯亞胺基聚乙二醇(PEG)連接子反應；及

(2) 純化該複合物。

【第 75 項】　如第 74 項之方法，其中純化該複合物包括對該複合物進行尺寸排阻層析法及/或陰離子交換層析法。

【第 76 項】　如第 73 項至第 75 項中任一項之方法，其中該 PEG 連接子包含介於 1 與 11 個之間的 PEG 次單元。

【第 77 項】　如第 73 項至第 76 項中任一項之方法，其中該 PEG 連接子包含 1、2 或 3 個 PEG 次單元。

【第 78 項】　如第 68 項至第 77 項中任一項之方法，其中該第一次單元及該第二次單元中之每一者包含有包含用於減弱效應功能之修飾的 Fc 區。

【第 79 項】　如第 78 項之方法，其中該第一次單元及該第二次單元中之每一者包含在選自由以下各項組成之群的一或多個胺基酸殘基(EU 編號)處包含胺基酸取代的 Fc 區：

(a) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 297；

(b) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 234 及 235；

(c) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 234、235 及 329；

(d) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 234 及 237；

(e) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 235、237 及 318；

(f) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 228 及 236；

(g) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 268、309、330 及 331；

(h) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 220、226、229 及 238；

(i) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 226、229、233、234 及 235；

(j) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 234、235 及 331；

(k) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 226 及 230；以及

(l) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 267 及 328。

【第 80 項】　如第 78 項或第 79 項之方法，其中該第一次單元及該第二次單元中之每一者包含有包含選自由以下各項組成之群的一或多個胺基酸取代(EU 編號)的 Fc 區：

(a) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 N297A；

(b) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234A 及 L235A；

(c) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234A、L235A 及 P329G；

(d) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 V234A 及 G237A；

(e) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 L235A、G237A 及 E318A；

(f) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 S228P 及 L236E；

(g) 跨越人類 IgG2 之 Fc 區中之胺基酸殘基 118 至 260 的區域中或跨越人類 IgG4 之 Fc 區中之胺基酸 261 至 447 的區域中的一或多個取代；

(h) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 H268Q、V309L、A330S 及 A331S；

(i) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 C220S、C226S、C229S 及 P238S；

(j) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 C226S、C229S、E233P、L234V 及 L235A；

(k) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234F、L235E 及 P331S；

(l) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 C226S 及 P230S；以及

(m) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 S267E 及 L328F。

【第 81 項】　如第 78 項至第 80 項中任一項之方法，其中該第一次單元及該第二次單元中之每一者包含有包含用於減弱效應功能之修飾的 Fc 區，該修飾產生無糖基化 Fc 區。

【第 82 項】　如第 78 項至第 80 項中任一項之方法，其中該第一次單元及該第二次單元中之每一者包含有包含用於減弱效應功能之修飾的 Fc 區，該修飾不會引起對該 Fc 區之糖基化模式的修飾。

【第 83 項】　一種產生四價抗原結合複合物之方法，該四價抗原結合複合物對被該複合物結合之細胞表面受體具有促效活性，該方法包括：

(a) 提供抗體，該抗體包含兩個半抗體，其中各半抗體包含有包含第一抗體重鏈可變域(VH_1)之抗體重鏈及包含第一抗體輕鏈可變域(VL_1)之抗體輕鏈，其中該抗體特異性結合細胞表面受體之第一抗原決定基，且其中該兩個半抗體中之每一者包含第一工程改造游離半胱胺酸；

(b) 提供兩個抗體 Fab 片段，其中該兩個抗體 Fab 片段中之每一者包含第二抗體重鏈可變域(VH_2)及第二抗體輕鏈可變域(VL_2)，其中該兩個抗體 Fab 片段中之每一者特異性結合該細胞表面受體之第二抗原決定基，且其中該兩個抗體 Fab 片段中之每一者包含第二工程改造游離半胱胺酸；及

(c) 使該等抗體 Fab 片段之一與該兩個半抗體中之每一者經由連接子偶聯，從而產生該複合物。

【第 84 項】　如第 83 項之方法，其中該細胞表面受體之該第一抗原決定基與該第二抗原決定基相同。

【第 85 項】　如第 83 項之方法，其中該細胞表面受體之該第一抗原決定基與該第二抗原決定基不同。

【第 86 項】　如第 83 項至第 85 項中任一項之方法，其中該第一工程改造

游離半胱胺酸為獨立地選自由以下各項組成之群的重鏈半胱胺酸胺基酸：根據 EU 編號之 T114C、A118C、A140C、L174C、L179C、T187C、T209C、V262C、G371C、Y373C、E382C、S400C、S424C、N434C 及 Q438C。

【第 87 項】　如第 83 項至第 85 項中任一項之方法，其中該第一工程改造游離半胱胺酸為獨立地選自由以下各項組成之群的輕鏈半胱胺酸胺基酸：根據 Kabat 編號之 I106C、R108C、R142C、K149C 及 V205C。

【第 88 項】　如第 83 項至第 87 項中任一項之方法，其中該第二工程改造游離半胱胺酸為 C 末端半胱胺酸胺基酸。

【第 89 項】　如第 83 項至第 88 項中任一項之方法，其中該連接子為雙馬來醯亞胺基聚乙二醇(PEG)連接子。

【第 90 項】　如第 89 項之方法，其中步驟(c)包括：

(i) 使該兩個抗體 Fab 片段中之每一者與雙馬來醯亞胺基聚乙二醇(PEG)連接子反應，以形成兩個雙馬來醯亞胺基結合之抗體 Fab 片段；

(ii) 移除過量雙馬來醯亞胺基 PEG 連接子；

(iii) 使該兩個雙馬來醯亞胺基結合之抗體 Fab 片段中之每一者與該抗體反應，以形成該複合物；及

(iv) 純化該複合物。

【第 91 項】　如第 90 項之方法，其中純化該複合物包括對該複合物進行尺寸排阻層析法及/或陰離子交換層析法。

【第 92 項】　如第 89 項至第 91 項中任一項之方法，其中該 PEG 連接子包含介於 1 與 11 個之間的 PEG 次單元。

【第 93 項】　如第 89 項至第 92 項中任一項之方法，其中該 PEG 連接子包含 1、2 或 3 個 PEG 次單元。

【第 94 項】　如第 83 項至第 93 項中任一項之方法，其中該抗體包含有包

含用於減弱效應功能之修飾的 Fc 區。

【第 95 項】　如第 94 項之方法，其中該抗體包含在選自由以下各項組成之群的一或多個胺基酸殘基(EU 編號)處包含胺基酸取代的 Fc 區：

(a) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 297；

(b) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 234 及 235；

(c) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 234、235 及 329；

(d) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 234 及 237；

(e) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 235、237 及 318；

(f) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 228 及 236；

(g) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 268、309、330 及 331；

(h) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 220、226、229 及 238；

(i) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 226、229、233、234 及 235；

(j) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 234、235 及 331；

(k) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 226 及 230；以及

(l)人類 IgG1 之 Fc 區中之 267 及 328。

【第 96 項】　如第 94 項或第 95 項之方法，其中該抗體包含有包含選自由以下各項組成之群的一或多個胺基酸取代(EU 編號)的 Fc 區：

(a) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 N297A；

(b) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234A 及 L235A；

(c) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234A、L235A 及 P329G；

(d) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 V234A 及 G237A；

(e) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 L235A、G237A 及 E318A；

(f) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 S228P 及 L236E；

(g) 跨越人類 IgG2 之 Fc 區中之胺基酸殘基 118 至 260 的區域中或跨越人類

IgG4 之 Fc 區中之胺基酸 261 至 447 的區域中的一或多個取代；

(h) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 H268Q、V309L、A330S 及 A331S；

(i) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 C220S、C226S、C229S 及 P238S；

(j) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 C226S、C229S、E233P、L234V 及 L235A；

(k) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234F、L235E 及 P331S；

(l) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 C226S 及 P230S；以及

(m) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 S267E 及 L328F。

【第 97 項】　如第 94 項至第 96 項中任一項之方法，其中該抗體包含有包含用於減弱效應功能之修飾的 Fc 區，該修飾產生無糖基化 Fc 區。

【第 98 項】　如第 94 項至第 96 項中任一項之方法，其中該抗體包含有包含用於減弱效應功能之修飾的 Fc 區，該修飾不會引起對該 Fc 區之糖基化模式的修飾。

【第 99 項】　一種產生四價抗原結合複合物之方法，該四價抗原結合複合物對被該複合物結合之細胞表面受體具有促效活性，該方法包括：

(a) 在宿主細胞中表現兩個抗體重鏈，其中各抗體重鏈自 N 末端至 C 末端包含第一抗體重鏈可變域(VH_1)、第一抗體重鏈 CH1 結構域($CH1_1$)、第二重鏈可變域(VH_2)、第二重鏈 CH1 結構域($CH1_2$)、抗體重鏈 CH2 結構域及抗體重鏈 CH3 結構域，其中各 VH_1 及/或各 $CH1_1$ 包含用於正交配對之第一修飾，其中各 VH_2 及/或各 $CH1_2$ 包含用於正交配對之第二修飾，且其中該第一修飾與該第二修飾不同；

(b) 在該宿主細胞中表現兩個第一抗體輕鏈，其中該兩個第一抗體輕鏈中之每一者自 N 末端至 C 末端包含第一抗體輕鏈可變域(VL_1)及第一抗體輕鏈恆定域(CL_1)，且其中該 VL_1 及/或該 CL_1 包含用於與該抗體重鏈之該第一修飾進行正交配對的修飾；及

(c) 在該宿主細胞中表現兩個第二抗體輕鏈，其中該兩個第二抗體輕鏈中之每一者自 N 末端至 C 末端包含第二抗體輕鏈可變域(VL_2)及第二抗體輕鏈恆定域(CL_2)，且其中該 VL_2 及/或該 CL_2 包含用於與該抗體重鏈之該第二修飾進行正交配對的修飾；

其中該 VH_1 及該 VL_1 特異性結合該細胞表面受體之第一抗原決定基；

其中該 VH_2 及該 VL_2 特異性結合該細胞表面受體之第二抗原決定基；且

其中在該宿主細胞中表現後，該兩個抗體重鏈締合，該兩個重鏈中之每一者與第一抗體輕鏈經由正交配對而偶聯，且該兩個重鏈中之每一者與第二抗體輕鏈經由正交配對而偶聯，從而產生該複合物。

【第 100 項】　如第 99 項之方法，其中該抗體重鏈之該第一修飾及該第二修飾中之每一者係獨立地選自由以下各項組成之群：VH-Q39K、VH-Q39E、CH1-S183E、CH1-S183K、CH1-A141I、CH1-F170S、CH1-S181M、CH1-S183A 及 CH1-V185A (EU 編號)。

【第 101 項】　如第 99 項或第 100 項之方法，其中該第一抗體輕鏈及該第二抗體輕鏈之該等修飾中之每一者係獨立地選自由以下各項組成之群：VL-Q38E、VL-Q38K、CL-V133K、CL-V133E、CL-F116A、CL-L135V、CL-S174A、CL-S176F 及 CL-T178V (EU 編號)。

【第 102 項】　如第 99 項至第 101 項中任一項之方法，其中該細胞表面受體之該第一抗原決定基與該第二抗原決定基相同。

【第 103 項】　如第 99 項至第 101 項中任一項之方法，其中該細胞表面受體之該第一抗原決定基與該第二抗原決定基不同。

【第 104 項】　如第 99 項至第 103 項中任一項之方法，其中各抗體重鏈包含有包含用於減弱效應功能之修飾的 Fc 區。

【第 105 項】　如第 104 項之方法，其中各抗體重鏈包含在選自由以下各項

組成之群的一或多個胺基酸殘基(EU 編號)處包含胺基酸取代的 Fc 區：

(a) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 297；

(b) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 234 及 235；

(c) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 234、235 及 329；

(d) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 234 及 237；

(e) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 235、237 及 318；

(f) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 228 及 236；

(g) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 268、309、330 及 331；

(h) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 220、226、229 及 238；

(i) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 226、229、233、234 及 235；

(j) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 234、235 及 331；

(k) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 226 及 230；以及

(l) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 267 及 328。

【第 106 項】 如第 104 項或第 105 項之方法，其中各抗體重鏈包含有包含選自由以下各項組成之群的一或多個胺基酸取代(EU 編號)的 Fc 區：

(a) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 N297A；

(b) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234A 及 L235A；

(c) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234A、L235A 及 P329G；

(d) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 V234A 及 G237A；

(e) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 L235A、G237A 及 E318A；

(f) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 S228P 及 L236E；

(g) 跨越人類 IgG2 之 Fc 區中之胺基酸殘基 118 至 260 的區域中或跨越人類 IgG4 之 Fc 區中之胺基酸 261 至 447 的區域中的一或多個取代；

(h) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 H268Q、V309L、A330S 及 A331S；

(i) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 C220S、C226S、C229S 及 P238S；

(j) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 C226S、C229S、E233P、L234V 及 L235A；

(k) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234F、L235E 及 P331S；

(l) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 C226S 及 P230S；以及

(m) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 S267E 及 L328F。

【第 107 項】 如第 104 項至第 106 項中任一項之方法，其中各抗體重鏈包含有包含用於減弱效應功能之修飾的 Fc 區，該修飾產生無糖基化 Fc 區。

【第 108 項】 如第 104 項至第 106 項中任一項之方法，其中各抗體重鏈包含有包含用於減弱效應功能之修飾的 Fc 區，該修飾不會引起對該 Fc 區之糖基化模式的修飾。

【第 109 項】 如第 68 項至第 108 項中任一項之方法，其中該細胞表面受體為選自由以下各項組成之群的受體家族的成員：腫瘤壞死因子受體(TNFR)超家族及 G 蛋白偶聯受體(GPCR)超家族。

【第 110 項】 如第 68 項至第 109 項中任一項之方法，其中該細胞表面受體係選自由以下各項組成之群：OX40、DR5、GITR、CD27、CD137 及 Tie2。

【第 111 項】 如第 110 項之方法，其中該 VH_1 包含：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；且其中該 VL_1 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列。

【第 112 項】 如第 110 項或第 111 項之方法，其中該 VH_2 包含：(a) VH 結構域，其包含(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含

SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；且其中該 VL_2 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39 之胺基酸序列；及(iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。

【第 113 項】 如第 110 項之方法，其中該 VH_2 包含：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:2 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:3 之胺基酸序列；(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列；且其中該 VL_2 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:5 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:6 之胺基酸序列；及(iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列。

【第 114 項】如第 110 項或第 113 項之方法，其中該 VH_1 包含：(i) HVR-H1，其包含 SEQ ID NO:29 之胺基酸序列；(ii) HVR-H2，其包含 SEQ ID NO:30 之胺基酸序列；及(iii) HVR-H3，其包含 SEQ ID NO:33 之胺基酸序列；且其中該 VL_1 包含：(i) HVR-L1，其包含 SEQ ID NO:37 之胺基酸序列；(ii) HVR-L2，其包含 SEQ ID NO:39 之胺基酸序列；及(iii) HVR-L3，其包含選自 SEQ ID NO:42 之胺基酸序列。

【0569】 認為以上書面描述足以使得熟習此項技術者能夠實踐本發明。以下實例僅出於說明目的而提供，且不意欲以任何方式限制本發明之範疇。實際上，根據以上描述，除本文中所顯示及描述之彼等修改以外的對本發明進行之各種修改對於本領域技術人員將顯而易見且屬於所附申請專利範圍之範疇內。

實例

實例 1. 探索雙抗原決定基抗體以增強促效活性

【0570】 對發現介導針對靶受體之促效活性的抗體的興趣不斷增長。促效抗體以產生信號傳導之方式接合受體，從而實現充當替代配位體。對於

一些標靶，抗體介導之促效作用可能利用 IgG 之同源二聚特性，經由受體之二價接合而有可能。然而，一些受體系統需要多價交聯以引發活性，藉此將受體共同牽引至群落中以引發最佳信號傳導。對於此等受體，活體內抗體交聯典型地由抗體Fc與Fc受體接合啟動(Wilson等人, 2011, Cancer Cell 19:101-13；Kim及Ashkenazi, 2013, J Exp Med 210:1647-51；Stewart等人, 2014 Journal for ImmunoTherapy of Cancer 2:1-10)。

【0571】 探索 OX40 之雙抗原決定基接合增強抗體介導之受體促效作用的潛力。OX40 為經歷抗原之效應 T 細胞(Teff)及調節 T 細胞(Treg)，包括小鼠及人類腫瘤中之浸潤細胞上所表現之 TNFRSF 成員共刺激分子。已證明促效抗體活化 OX40 已證明藉由增強 Teff 活化及抑制 Treg 介導之抑制而促進抗腫瘤免疫(Voo 等人, 2013, J. Immunol, 191:3641-50)。已證明抗 OX40 抗體之促效作用提供與天然配位體 OX40L 類似之共刺激活性，但以需要試管內交聯之方式或經由 Fc/FcγR 介導之活體內交聯(Voo 等人, 2013, J. Immunol, 191:3641-50)。

材料及方法

【0572】 藉由構建由兩個單獨可變區構成之雙特異性抗體來產生雙抗原決定基抗 OX40 抗體。一個可變區包含抗 OX40 人類化抗體(VH 及 VL 序列分別如 SEQ ID NO:56 及 57 中所闡述)。儘管包含此等結構域之可變區更完整地描述為 1A7.gr.1，但在本文中，此可變區將縮寫為 1A7。換言之，1A7 在本文中係指如由 SEQ ID NO:56 及 57 所定義之人類化 1A7.gr.1 可變區。一個可變區包含抗 OX40 人類化抗體(VH 及 VL 序列分別如 SEQ ID NO:126 及 129 中所闡述)。儘管包含此等結構域之可變區更完整地描述為 3C8.gr.5.SG，但在本文中，此可變區將縮寫為 3C8。換言之，3C8 在本文中係指如由 SEQ ID NO:126 及 129 所定義之人類化 3C8.gr.5.SG 可變區。

【0573】 使用杵入臼變異體及試管內組裝單獨半抗體來產生雙特異性抗體(Spiess 等人, 2013, Nat Biotechnol 31(8):753-8)。使用標準分子生物學技術在 pRK 哺乳動物表現載體中構建編碼抗體重鏈及輕鏈之 DNA (Eaton 等人, 1986, Biochemistry 25:8343-8347)。藉由基因合成(Genewiz)或藉由使用 QuikChange Lightning 多點突變誘發套組(Agilent，目錄號 210514)及 Q5 定點突變誘發套組(New England BioLab，目錄號 E0554S)進行突變誘發來構建編碼具有突變之抗體重鏈及輕鏈之質體，以進行 expi293 或 CHO 細胞表現。將編碼 1A7 VH 區之 DNA 次選殖至包含「杵」突變 T366W (EU 編號)、C 末端 6His 標籤及有或無 N297G (EU 編號)突變之變異人類 IgG1 (hIgG1)中。將編碼 3C8 VH 區之 DNA 次選殖至包含「臼」突變 T366S/L368A/Y407V (EU 編號)、C 末端 Flag 標籤及有或無 N297G 突變之變異人類 IgG1 (hIgG1)中。

【0574】 已描述用於減弱單株抗體之效應功能性質的各種突變策略(Strohl, 2009, Curr Opin in Biotech 20:685-691)。使用兩種方法對本發明抗體之效應減弱型式進行工程改造。首先，在無糖基化 Fc 區之情形下，藉由將其與可移除 Fc 區 297 位上之保守 N 連接糖基化位點的取代 N297G 組合來構建抗體。第二種方法利用取代 L234A、L235A 及 P329G (EU 編號)(L234A/L235A/P329G 三重變異體稱為 LALAPG)，其先前已顯示減少與 Fc 受體及補體之結合(參見例如美國專利公開案第 2012/0251531 號)。利用人類 Cκ (hCk)恆定鏈來構建編碼兩種抗體之 VL 區的 DNA。

【0575】 編碼 1A7 及 3C8 輕鏈及重鏈(天然抗體及半抗體)之 pRK 載體 DNA 共轉染至 HEK293 細胞中以供表現，並且純化所得蛋白質。表現之後，在重力下使 Expi293 細胞沈降。使用 Freedom EVO 200 液體處理工作站(Tecan，Morrisville，NC)將上清液轉移至含有 0.2 mL (50%漿液) MabSelect Sure 樹脂(GE Healthcare Life Sciences，Pittsburgh，PA)之 50 mL Falcon 管

(Corning，Corning，New York)中。在 Innova 2000 平台振盪器(New Brunswick Scientific，Enfield，CT)上以 270 RPM 將上清液/樹脂混合物培育隔夜。沈降之後，將樹脂轉移至具有 25 μm 膜之 96 孔 2 ml 過濾盤(Thompson Instruments，Oceanside，CA)中，且用 1 mL PBS 緩衝液 pH 7.4 洗滌兩次，以藉由使用 Sorvall HT6 離心機(Thermo Scientific，Waltham，MA)在 2,000 rpm 下離心 5 分鐘來移除任何未結合之蛋白質及培養基組分。將含有樹脂之盤堆疊在 0.2 μm 96 孔過濾盤(Orochem，Naperville，IL，USA)及 96 孔溶離俘獲盤(Orochem，Naperville，IL)之頂部。在 2 個連續溶離步驟(總溶離體積 0.668 mL)中藉由在 2,000 rpm 下離心 5 分鐘用溶離緩衝液(50 mM 磷酸 pH 2.9)自樹脂溶離已結合之半抗體，且藉由添加 1/12 體積之中和緩衝液(1 M 精胺酸、0.685 M 琥珀酸鹽，pH 5.0)使溶離液之 pH 值升高。在使用 NanoDrop 2000 光譜儀(Thermo Scientific，Wilmington，DE)量測 280 nm 吸光度之後，計算半抗體製劑之濃度。

【0576】 將半抗體組裝成雙抗原決定基抗體。將如以上所描述加以純化之半抗體正規化至相同濃度且使用 Hamilton Star 液體處理工作站(Hamilton Robotics，Reno，NV)以 1:1 比率混合。藉由添加 1 M 精胺酸 pH 9.5 溶液使半抗體混合物之 pH 值上升至 8.0。添加含還原 L-麩胱甘肽 0.5 M 儲備液之 1 M 精胺酸 pH 9.5 (Sigma-Aldrich，St. Louis，MO)，使得最終 L-麩胱甘肽濃度相對於溶液中蛋白質之量為 200 倍過量。在 32°C下將此混合物培育 24 小時，以允許半抗體組裝成雙抗原決定基抗體。

【0577】 藉由 2 步法來純化組裝期間產生之所要雙抗原決定基抗體(由杵狀半抗體及臼狀半抗體構成之異源二聚體)除去其他物質(未組裝之半抗體及杵-杵或臼-臼同源二聚體)，包括第一步驟中之 His 標籤純化，繼之以第二步驟中之 Flag 標籤純化。第一步驟涉及使用定製包裝(Glygen Corp，

Columbia，MD)之含 0.1 mL Ni-NTA 瓊脂糖樹脂(Qiagen，Valencia，CA)之 1.2 mL 液體處理端部(Dynamic Devices LLC，Wilmington，DE)。使用 Lynx LM1200 液體處理工作站，藉由吸移 15 個循環將所有 His 標籤化物質(包括未組裝之杵狀半抗體、杵-杵同源二聚體及杵-臼異源二聚體)俘獲至樹脂端部上。用 1 mL PBS pH 7.4 洗滌樹脂端部且在 2 個連續溶離步驟(總溶離體積=0.6 mL)中用溶離緩衝液(50 mM 磷酸鈉、500 mM 氯化鈉、300 mM 咪唑 pH 7.5)自端部溶離 His 標籤化物質。用試劑級水對所溶離之樣品進行 1:1 稀釋來對其進行製備，以供用於下一步驟。

【0578】 使用 Freedom EVO 200 液體處理工作站向第一組裝後步驟純化之後所獲得之溶液中添加 0.4 mL 50%抗 FLAG 抗體樹脂漿液，並且在 Forma Orbital 振盪器(Thermo Electron Corporation，Madison，WI)上在 4°C下以 250 RPM 將所得混合物培育 3 小時。藉由在 2,000 RPM 下離心 5 分鐘來分離樹脂與上清液，並且轉移至過濾盤以便用 1 mL PBS pH 7.4 洗滌，以移除任何未結合之蛋白質。將盤堆疊在 0.2 μm 96 孔過濾盤及 96 孔溶離俘獲盤之頂部上。在 3 次連續溶離中使用總計 1.57 mL 溶離緩衝液(50 mM 磷酸，pH 2.9)藉由在 2,000 rpm 下離心 5 分鐘自樹脂溶離出已結合之雙抗原決定基抗體(異源二聚體)，並且用 0.11 mL 20×PBS pH 11.0 進行中和以便將經純化之雙抗原決定基抗體溶液之 pH 值調節至 6.0。在使用 NanoDrop 2000 光譜儀量測 280 nm 吸光度之後，計算雙抗原決定基抗體之濃度。

【0579】 使用分析型 SEC HPLC 及質譜評定最終經純化雙抗原決定基抗體之品質。藉由將 0.03 mL 注入至與 Dionex UltiMate 3000 HPLC 系統(Thermo Scientific，Waltham，MA)連接之 TSKGel SuperSW3000 管柱(Tosoh Bioscience，King of Prussia，PA)上來進行 SEC。利用等度梯度(200 mM 磷酸鉀、250 mM 氯化鉀，pH 7.2)進行分析。UV 偵測設定在 280 nM 下。使

用 Agilent 6224 TOF LC-MS 系統(Agilent Technologies，Santa Clara，CA，USA)來獲得質譜資料。在 37°C下用 100 mM 二硫蘇糖醇(G-Biosciences，St. Louis，MO)將雙抗原決定基抗體樣品還原 20 分鐘。利用 PLRP-S 逆相管柱(Agilent Technologies，Santa Clara，CA，USA)來分離多肽鏈。藉由最大熵反褶積，使用 MassHunter 軟體(定性分析 B.03.01)來獲得經還原輕鏈及重鏈之完整質量。

結果

【0580】 使用 aSEC 研究雙抗原決定基 1A7/3C8 抗體在存在 OX40 之情況下形成高階複合物的能力。將 1A7 或 1A7/3C8 雙抗原決定基抗體與人類 OX40 (G&P Biosciences FCL2479)以 2:1 比率混合，在室溫下培育 2 小時，在 TSKGel SuperSW3000 管柱上對混合物進行運作。資料示於**圖 1** 中。在 2:1 抗體:OX40 比率下，單抗原決定基 1A7 IgG1 抗體形成三種物質：游離抗體、有一個臂被結合之抗體及有 2 個臂被結合之抗體。相反，1A7/3C8 形成大於 1:2 抗體:OX40 化學計算量之物質。結果指明相對於單抗原決定基抗體，雙抗原決定基抗 OX40 抗體能夠促進在存在靶抗原之情況下的高階複合物。

實例 2. 設計多價單抗原決定基及雙抗原決定基抗體形式

【0581】 探索多價及多抗原決定基靶向之組合，以試圖工程改造具有增強之促效活性的抗體形式。**圖 2** 描繪 IgG 抗體之結構，其說明用於對新穎多價及多抗原決定基抗體形式進行工程改造之元件。IgG 包含重鏈及輕鏈。重鏈包含可變重鏈結構域(VH)、恆定重鏈結構域 1 (CH1)、鉸鏈、恆定重鏈結構域 2 (CH2)及恆定重鏈結構域 3 (CH3)。輕鏈包含可變輕鏈結構域(VL)及恆定輕鏈結構域(CL)。CL 可為恆定 κ (Ck)或恆定 λ (Cl)。對標靶具有特異性之 Fv 區包含可變重鏈(VH)及可變輕鏈(VL)結構域。對標靶具有特異性之

Fab 區包含可變重鏈(VH)及可變輕鏈(VL)結構域以及恆定重鏈結構域 1 (CH1)及恆定輕鏈(CL)。Fab 區不包括之 IgG 區為重鏈鉸鏈-CH2-CH3。**圖 3A 及圖 3B** 顯示經工程改造及表徵之一系列多價及多抗原決定基抗體形式。除了二價天然 IgG 以外，亦對四種四價(原子價=4)形式進行工程改造：偶聯 IgG-IgG (c:IgG-IgG)，其中兩個全長 IgG 化學偶聯；偶聯 Fab-IgG (c:Fab-IgG)，其中兩個 Fab 化學偶聯至全長 IgG；重組 Fab-IgG (r:Fab-IgG)，其中兩個額外 Fab 臂基因偶聯至 IgG；及重組 Fv-IgG (r:Fv-IgG)，其中兩個額外 Fv 區基因偶聯至 IgG。對於此等形式中之每一種，探索如下構建體：其中所有四個可變區結合靶抗原上之相同抗原決定基(在本文中稱為單抗原決定基)，或其中兩個可變區結合一個抗原決定基且其他可變區結合靶抗原上之不同的抗原決定基(在本文中稱為雙抗原決定基)。

【0582】 所有四個可變區均可結合靶抗原上之相同抗原決定基，此種情況在本文中稱為單抗原決定基。舉例而言，所有四個可變區均可為抗 OX40 1A7 可變區，或所有四個可變區均可為抗 OX40 3C8 可變區。替代地，兩個可變區可結合一個抗原決定基且另兩個可變區可結合靶抗原上不同的抗原決定基，此種情況在本文中稱為雙抗原決定基。舉例而言，兩個可變區可為 1A7 可變區，且另兩個可變區可為 3C8 可變區。

【0583】 本文中描述偶聯 IgG-IgG (c:IgG-IgG)形式，其中兩個全長 IgG 化學偶聯。**圖 4** 說明雙抗原決定基 c:IgG-IgG 之一種型式的組分。在此型式中，c:IgG-IgG 包含對抗原決定基 1 具有特異性之 IgG^{Ep1} 與對抗原決定基 2 具有特異性之 IgG^{Ep2} 化學偶聯。IgG^{Ep2} 經由化學連接子 L 與 IgG^{Ep1} 連接。可使用多種連接子來連接 IgG^{Ep1} 與 IgG^{Ep2}。IgG^{Ep1} 與 IgG^{Ep2} 之連接位點可變化。所描述之 c:IgG-IgG 形式包含四個單獨蛋白質鏈：由 VH_1-鉸鏈-CH2-CH3 構成之 IgG^{Ep1} 重鏈(HC)、由 VL_1-CL 構成之 IgG^{Ep1} 輕鏈(LC)、由 VH_2-CH1-鉸

鏈-CH2-CH3 構成之 IgG^{Ep2} HC 及由 VL_2-CL 構成之 IgG^{Ep2} LC。**圖 5** 說明雙抗原決定基 c:IgG-IgG 之另一種型式的組分。在此型式中，c:IgG-IgG 包含對與其自身化學偶聯之抗原決定基 1 及抗原決定基 2 皆具有特異性之雙抗原決定基 $IgG^{Ep1\&2}$。$IgG^{Ep1\&2}$ 經由化學連接子 L 偶聯。可使用多種連接子來偶聯 $IgG^{Ep1\&2}$。$IgG^{Ep1\&2}$ 之連接位點可變化。所描述之 c:IgG-IgG 形式包含四個單獨蛋白質鏈：由 VH_1-鉸鏈-CH2-CH3 構成之 IgG^{Ep1} 重鏈(HC)、由 VL_1-CL 構成之 IgG^{Ep1} 輕鏈(LC)、由 VH_2-CH1-鉸鏈-CH2-CH3 構成之 IgG^{Ep2} HC 及由 VL_2-CL 構成之 IgG^{Ep2} LC。在本文中所描述之實例中，構建並測試包含 1A7 及 3C8 抗體之可變區的 c:IgG-IgG。在一較佳實施例中，$IgG^{Ep1\&2}$ 包含 1A7 可變區及 3C8 可變區，稱為 c:IgG-IgG 1A7/3C8-1A7/3C8。

【0584】 本文中描述偶聯 Fab-IgG (c:Fab-IgG)形式，其中兩個 Fab 與全長 IgG 化學偶聯。**圖 6** 說明 c:Fab-IgG 形式之組分。c:Fab-IgG 包含對抗原決定基 1 具有特異性之 IgG^{Ep1} 與對抗原決定基 2 具有特異性之 Fab^{Ep2} 化學偶聯。Fab^{Ep2} 經由化學連接子 L 與 IgG^{Ep1} 連接。可使用多種連接子來連接 IgG^{Ep1} 與 Fab^{Ep2}。IgG^{Ep1} 與 Fab^{Ep2} 之連接位點可變化。c:Fab-IgG 形式包含四個單獨蛋白質鏈：由 VH_1-鉸鏈-CH2-CH3 構成之 IgG^{Ep1} 重鏈(HC)、由 VL_1-CL 構成之 IgG^{Ep1} 輕鏈(LC)、由 VH_2-CH1 構成之 Fab^{Ep2} HC 及由 VL_2-CL 構成之 Fab^{Ep2} LC。

【0585】 在本文中所描述之實例中，構建並測試包含 1A7 及 3C8 抗體之可變區的 c:Fab-IgG。在一些實施例中，IgG^{Ep1} 包含 1A7 可變區，且 Fab^{Ep2} 包含 3C8 可變區，稱為 c:Fab-IgG 3C8-1A7。在一些實施例中，IgG^{Ep1} 包含 3C8 可變區，且 Fab^{Ep2} 包含 1A7 可變區，稱為 c:Fab-IgG 1A7-3C8。

【0586】 本文中描述重組 Fv-IgG (r:Fv-IgG)，其中兩個附加可變區與 IgG 基因偶聯。**圖 7** 說明 r:Fv-IgG 形式之組分。r:Fv-IgG 包含單一重鏈及單一輕

鏈。r:Fv-IgG 包含對抗原決定基 2 具有特異性之 IgG^{Ep2} 在 N 末端連接至對抗原決定基 1 具有特異性之 Fv^{Ep1}。Fv^{Ep1} 經由重鏈連接子 LH 及輕鏈連接子 LL 連接至 IgG^{Ep2}。可使用多種連接子來連接 Fv^{Ep2} 與 Fv^{Ep1}。重鏈包含區域 VH_1-LH-VH_2-CH1-鉸鏈-CH2-CH3。輕鏈包含區域 VL_1-LL-VL_2-CL。在此形式中，對抗原決定基 2 具有特異性之 Fv^{Ep2} 包含 VH_2 及 VL_2 結構域，且對抗原決定基 1 具有特異性之 Fv^{Ep1} 包含 VH_1 及 VL_1 結構域。

【0587】 在本文中所描述之實例中，構建並測試包含 1A7 及 3C8 抗體之可變區的 r:Fv-IgG。在一些實施例中，Fv^{Ep1} 包含 3C8 可變區，且 Fv^{Ep2} 包含 1A7 可變區，稱為 r:Fv-IgG 3C8-1A7。在一些實施例中，Fv^{Ep1} 包含 1A7 可變區，且 Fv^{Ep2} 包含 3C8 可變區，稱為 r:Fv-IgG 1A7-3C8。在 SEQ ID 240-243 中列出例示性 r:Fv-IgG 之重鏈及輕鏈之序列。在 SEQ ID 270-278 中提供且在以下實例 16 中描述例示性連接子 LH 及 LL。在 SEQ ID 250-257 中列出如以下實例 16 中所描述之具有不同的連接子 LH 及 LL 之替代例示性 r:Fv-IgG。在 SEQ ID 258-267 中列出如以下實例 17 中所描述之包含具有不同的 OX40 親和力之 Fv 的替代例示性 r:Fv-IgG。

【0588】 本文中描述重組 Fab-IgG (r:Fab-IgG)，其中兩個附加 Fab 臂與 IgG 基因連接。**圖 8** 說明包含一個同源二聚 HC 及兩個 LC 之 r:Fab-IgG 形式之一種型式的組分。此 r:Fab-IgG 型式(在本文中稱為 r:Fab-IgG V1)包含對抗原決定基 2 具有特異性之 IgG^{Ep2} 在 N 末端連接至對抗原決定基 1 具有特異性之 Fab^{Ep1}。Fab^{Ep1} 經由重鏈連接子 LH 與 IgG^{Ep2} 連接。可使用多種連接子來連接 Fab^{Ep1} 與 IgG^{Ep2}。r:Fab-IgG V1 中之 HC 包含 VH_1-CH1-LH-VH_2-CH1-鉸鏈-CH2-CH3。一個 LC 包含 VL_1-CL，且另一個 LC 包含 VH_2-CL。在 VH、CH1、VL 及/或 CL 結構域中，可使用經工程改造變異體來控制重鏈與輕鏈之間的正確配對，如本文中之實例中所描述。在此形式中，對抗原決定基 2

具有特異性之 Fv^{Ep2} 包含 VH_2 及 VL_2 結構域，且對抗原決定基 1 具有特異性之 Fv^{Ep1} 包含 VH_1 及 VL_1 結構域。

【0589】 在本文中所描述之實例中，構建並測試包含 1A7 及 3C8 抗體之可變區的 r:Fab-IgG V1 抗體。在一些實施例中，Fv^{Ep1} 包含 3C8 可變區，且 Fv^{Ep2} 包含 1A7 可變區，稱為 r:Fab-IgG 3C8-1A7。在一些實施例中，Fv^{Ep1} 包含 1A7 可變區，且 Fv^{Ep2} 包含 3C8 可變區，稱為 r:Fab-IgG 1A7-3C8。在 SEQ ID 244-249 中列出例示性抗 OX40 r:Fab-IgG 之重鏈及輕鏈之序列。

【0590】 **圖 9** 說明包含異源二聚 HC 及兩個 LC 之 r:Fab-IgG 形式之替代型式的組分。此 r:Fab-IgG 型式(在本文中稱為 r:Fab-IgG V2)包含 Fab^{Ep2} 經由重鏈連接子 LH 與 $IgG^{Ep1\&2}$ 之一個臂連接，且 Fab^{Ep1} 經由重鏈連接子 LH 與 $IgG^{Ep1\&2}$ 之另一個臂連接。可使用多種連接子來連接 Fab^{Ep1} 與 $IgG^{Ep1\&2}$ 及 Fab^{Ep2} 與 $IgG^{Ep1\&2}$。此形式之一個 HC 包含 VH_2-CH1-LH-VH_2-CH1-鉸鏈-CH2-CH3，且此形式之另一個 HC 包含 VH_1-CH1-LH-VH_1-CH1-鉸鏈-CH2-CH3。此形式之一個 LC 包含 VL_2-CL，且另一個 LC 包含 VH_1-CL。對抗原決定基 2 具有特異性之 Fv^{Ep2} 包含 VH_2 及 VL_2 結構域。對抗原決定基 1 具有特異性之 Fv^{Ep1} 包含 VH_1 及 VL_1 結構域。可使用經工程改造之變異體來促進重鏈之異源二聚體形成。

【0591】 可使用多種連接子來連接 Fab^{Ep1} 與 IgG^{Ep2}。連接子可包含實質上包含絲胺酸、甘胺酸或絲胺酸及甘胺酸之序列。此種 Gly-Ser 連接子可包含超過 50%甘胺酸及/或絲胺酸、超過 70%甘胺酸及/或絲胺酸、超過 90%甘胺酸及/或絲胺酸或 100%甘胺酸及/或絲胺酸。絲胺酸及甘胺酸由於其可撓性及良好溶液性質而常用作連接子。連接子可另外或亦包含實質上包含天然抗體序列之序列。在此等連接子中，將構成抗體序列之天然序列用作連接子。尤其適用於 r:Fab-IgG 之天然抗體序列為存在於天然抗體之介於重鏈

恆定區 CH1 與 CH2 之間的鉸鏈區中的重鏈序列。天然抗體序列連接子之效用為其可用於減少四價抗體形式內之一些非天然序列。指定連接子之長度可自 1 個殘基至 20 個以上殘基變化。典型地，長度愈大，所連接之免疫球蛋白結構域之間的可撓性愈大。在 SEQ ID NO:268 及 269 中描述用於本發明之 r:Fab-IgG 中的例示性重組連接子。

【0592】 SEQ ID NO:268. 用於 r:Fab-IgG 之 LH 連接子：DKTHT

【0593】 SEQ ID NO:269. 用於 r:Fab-IgG 之 LH 連接子：DKTHTGGGGSGG

【0594】 儘管本文中描述 Fab 經由單一重鏈連接子(LH)與 IgG 連接之 r:Fab-IgG 形式，但預期 r:Fab-IgG 亦可在輕鏈之間包含連接子。針對 r:Fab-IgG 形式探索實際連接之輕鏈構建體，但在表現及純化後獲得較大聚集物質群體(數據未顯示)且因此未進一步表徵。

【0595】 以下提供抗 OX40 IgG 及本文中所描述之四價形式之重鏈及輕鏈之例示性序列。適當時給連接子加下劃線。

r:Fv-IgG 形式

【0596】 SEQ ID NO:240. r:Fv-IgG 1A7-3C8 重鏈。

【0597】 SEQ ID NO:241. r:Fv-IgG 1A7-3C8 輕鏈。

【0598】 SEQ ID NO:242. r:Fv-IgG 3C8-1A7 重鏈。

【0599】 SEQ ID NO:243. r:Fv-IgG 3C8-1A7 輕鏈

【0600】 SEQ ID NO:250. r:Fv-IgG 3C8-1A7 GS 短連接子重鏈。

【0601】 SEQ ID NO:251. r:Fv-IgG 3C8-1A7 GS 短連接子輕鏈。

【0602】 SEQ ID NO:252. r:Fv-IgG 3C8-1A7 GS 長連接子重鏈。

【0603】 SEQ ID NO:253. r:Fv-IgG 3C8-1A7 GS 長連接子輕鏈。

【0604】 SEQ ID NO:254. r:Fv-IgG 3C8-1A7 ES 短肘彎連接子重鏈。

【0605】 SEQ ID NO:255. r:Fv-IgG 3C8-1A7 ES 短肘彎連接子輕鏈。

【0606】 SEQ ID NO:256. r:Fv-IgG 3C8-1A7 EL 長肘彎連接子重鏈。

【0607】 SEQ ID NO:257. r:Fv-IgG 3C8-1A7 EL 長肘彎連接子輕鏈。

【0608】 SEQ ID NO:258. r:Fv-IgG 3C8-1A7(高)重鏈。

【0609】 SEQ ID NO:259. r:Fv-IgG 3C8-1A7(高)輕鏈。

【0610】 SEQ ID NO:260. r:Fv-IgG 3C8(高)-1A7 重鏈。

【0611】 SEQ ID NO:261. r:Fv-IgG 3C8(高)-1A7 輕鏈

【0612】 SEQ ID NO:262. r:Fv-IgG 3C8(高)-1A7(高)重鏈

【0613】 SEQ ID NO:263. r:Fv-IgG 3C8(高)-1A7(高)輕鏈

【0614】 SEQ ID NO:264. r:Fv-IgG 3C8(高)-1A7(低)重鏈

【0615】 SEQ ID NO:265. r:Fv-IgG 3C8(高)-1A7(低)輕鏈

【0616】 SEQ ID NO:266. r:Fv-IgG 3C8-1A7(低)重鏈

【0617】 SEQ ID NO:267. r:Fv-IgG 3C8-1A7(低)輕鏈

r:Fab-IgG 形式

【0618】 SEQ ID NO:244. r:Fab-IgG 1A7-3C8 重鏈。

【0619】 SEQ ID NO:245. r:Fab-IgG 1A7-3C8 輕鏈 1。

【0620】 SEQ ID NO:246. r:Fab-IgG 1A7-3C8 輕鏈 2。

【0621】 SEQ ID NO:247. r:Fab-IgG 3C8-1A7 重鏈。

【0622】 SEQ ID NO:248. r:Fab-IgG 3C8-1A7 輕鏈 1。

【0623】 SEQ ID NO:249. r:Fab-IgG 3C8-1A7 輕鏈 2。

c:Fab-IgG 形式

【0624】 SEQ ID NO:232. 3C8_IgG1 (全長重鏈)。

【0625】 SEQ ID NO:237. 3C8_Cκ (K149C) (輕鏈)。

【0626】 SEQ ID NO:239. 1A7_CH1-SPPC (Fab 重鏈)。

【0627】 SEQ ID NO:231. 1A7_Cκ (輕鏈)。

【0628】 SEQ ID NO:230. 1A7_IgG1 (全長重鏈)。

【0629】 SEQ ID NO:236. 1A7_Cκ (K149C) (輕鏈)。

【0630】 SEQ ID NO:238. 3C8_CH1-SPPC (Fab 重鏈)。

【0631】 SEQ ID NO:233. 3C8_Cκ (輕鏈)。

序列

【0632】 SEQ ID NO:230. 1A7_IgG1 (全長重鏈)。

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQGLEW
IGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTITRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCV
LAPRWYFSVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK
SLSLSPGK

【0633】 SEQ ID NO:231. 1A7_Cκ (輕鏈)。

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYY
TSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQG
TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV
DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC

【0634】 SEQ ID NO:232. 3C8_IgG1 (全長重鏈)。

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQGLEWI
GVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCA
RDRLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK
DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK

【0635】 SEQ ID NO:233. 3C8_Cκ (輕鏈)。

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQQKPGKSFKGLIYH
GTNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQ
GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK
VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH
QGLSSPVTKSFNRGEC

【0636】 SEQ ID NO:234. 1A7_CH1 (Fab 重鏈)。

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQGLEW
IGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTITRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCV
LAPRWYFSVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC

【0637】 SEQ ID NO:235. 3C8_CH1 (Fab 重鏈)。

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQGLEWI

GVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCA
RDRLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC

【0638】 SEQ ID NO:236. 1A7_Cκ (K149C) (輕鏈)。

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYY
TSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQG
TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWCV
DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC

【0639】 SEQ ID NO:237. 3C8_Cκ (K149C) (輕鏈)。

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQQKPGKSFKGLIYH
GTNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQ
GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWC
VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH
QGLSSPVTKSFNRGEC

【0640】 SEQ ID NO:238. 3C8_CH1-SPPC (Fab 重鏈)。

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQGLEWI
GVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCA
RDRLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTSPPC

【0641】 SEQ ID NO:239. 1A7_CH1-SPPC (Fab 重鏈)。

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQGLEW

IGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTITRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCV
LAPRWYFSVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTSPPC

【0642】 SEQ ID NO:240. r:Fv-IgG 1A7-3C8 重鏈。

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQGLEW
IGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTITRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCV
LAPRWYFSVWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGAS
VKVSCKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQGLEWIGVINPGSGDTYYSEKFK
GRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDRLDYWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE
PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【0643】 SEQ ID NO:241. r:Fv-IgG 1A7-3C8 輕鏈。

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYY
TSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQG
TKVEIKGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIV
WYQQKPGKSFKGLIYHGTNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA
TYYCVHYAQFPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC
LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK

ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【0644】 SEQ ID NO:242. r:Fv-IgG 3C8-1A7 重鏈。

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQGLEWI
GVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCA
RDRLDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKV
SCKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRER
VTITRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGTLVTVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE
PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【0645】 SEQ ID NO:243. r:Fv-IgG 3C8-1A7 輕鏈。

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQQKPGKSFKGLIYH
GTNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQ
GTKVEIKGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYL
NWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF
ATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV
CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLS
KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【0646】 SEQ ID NO:244. r:Fab-IgG 1A7-3C8 重鏈。

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDSYMSWVRKAPGQGLEW

IGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTITRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCV
LAPRWYFSVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLESVVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTGGGGSGGEVQLVQSGAEVK
KPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEWVREAPGQGLEWIGVINPGSGDTYYS
EKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARDRLDYWGQGTL
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG
ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLKSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV
DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

【0647】 SEQ ID NO:245. r:Fab-IgG 1A7-3C8 輕鏈 1。

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQEKPGKAPKLLIYY
TSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQG
TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVKCLLNNFYPREAKVQWKV
DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC

【0648】 SEQ ID NO:246. r:Fab-IgG 1A7-3C8 輕鏈 2。

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQKKPGKSFKGLIYH
GTNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQ
GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVECLLNNFYPREAKVQWK
VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH

QGLSSPVTKSFNRGEC

【0649】 SEQ ID NO:247. r:Fab-IgG 3C8-1A7 重鏈。

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEWVRKAPGQGLEWI
GVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCA
RDRLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLESVVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTGGGGSGGEVQLVQSGAEVKKP
GASVKVSCKASGYTFTDSYMSWVREAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYN
QKFRERVTITRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQG
TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS
GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLKSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK
VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT
CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

【0650】 SEQ ID NO:248. r:Fab-IgG 3C8-1A7 輕鏈 1。

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQEKPGKSFKGLIYH
GTNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQ
GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVKCLLNNFYPREAKVQWK
VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH
QGLSSPVTKSFNRGEC

【0651】 SEQ ID NO:249. r:Fab-IgG 3C8-1A7 輕鏈 2。

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQKKPGKAPKLLIYY

TSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGHTLPPTFGQG
TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVECLLNNFYPREAKVQWKV
DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC

【0652】 SEQ ID NO:250. r:Fv-IgG 3C8-1A7 GS 短連接子重鏈，如實例16 中所描述。

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQGLEWI
GVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCA
RDRLDYWGQGTLVTVSSGGGGSGEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA
SGYTFTDSYMSWVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTITR
DTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGTLVTVSSASTK
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC
DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED
PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK
EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC
LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【0653】 SEQ ID NO:251. r:Fv-IgG 3C8-1A7 GS 短連接子輕鏈，如實例16 中所描述。

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQQKPGKSFKGLIYH
GTNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQ
GTKVEIKGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ
QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC

QQGHTLPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN
FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE
KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【0654】 SEQ ID NO:252. r:Fv-IgG 3C8-1A7 GS 長連接子重鏈，如實例16 中所描述。

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQGLEWI
GVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCA
RDRLDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGEVQLVQSGAEVKKPGA
SVKVSCKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQK
FRERVTITRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGTL
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG
ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV
DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【0655】 SEQ ID NO:253. r:Fv-IgG 3C8-1A7 GS 長連接子輕鏈，如實例16 中所描述。

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQQKPGKSFKGLIYH
GTNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQ
GTKVEIKGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIS
NYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA

SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST

LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【0656】 SEQ ID NO:254. r:Fv-IgG 3C8-1A7 ES 短肘彎連接子重鏈，如實例 16 中所描述。

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQGLEWI

GVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCA

RDRLDYWGQGTLVTVSSASTKGPEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS

GYTFTDSYMSWVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVTITRD

TSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGTLVTVSSASTKG

PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA

VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD

KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP

EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE

YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL

VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW

QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【0657】 SEQ ID NO:255. r:Fv-IgG 3C8-1A7 ES 短肘彎連接子輕鏈，如實例 16 中所描述。

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQQKPGKSFKGLIYH

GTNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQ

GTKVEIKRTVAAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQ

QKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC

QQGHTLPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN

FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE

KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【0658】 SEQ ID NO:256. r:Fv-IgG 3C8-1A7 EL 長肘彎連接子重鏈，如實例 16 中所描述。

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQGLEWI
GVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCA
RDRLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPEVQLVQSGAEVKKPGASV
KVSCKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFR
ERVTITRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGTLVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK
VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV
DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【0659】 SEQ ID NO:257. r:Fv-IgG 3C8-1A7 EL 長肘彎連接子輕鏈，如實例 16 中所描述。

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQQKPGKSFKGLIYH
GTNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQ
GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISN
YLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE
DFATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS
VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL
TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【0660】 SEQ ID 258 及 259 描述實例 17 中所描述之包含 1A7 VH 突變 M34I 及 VL 突變 R53Y 之 r:Fv-IgG 3C8-1A7(高)之重鏈及輕鏈序列。

【0661】 SEQ ID NO:258. r:Fv-IgG 3C8-1A7(高)重鏈。

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQGLEWI
GVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCA
RDRLDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKV
SCKASGYTFTDSYISWVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERV
TITRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE
PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【0662】 SEQ ID NO:259. r:Fv-IgG 3C8-1A7(高)輕鏈。

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQQKPGKSFKGLIYH
GTNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQ
GTKVEIKGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYL
NWYQQKPGKAPKLLIYYTSYLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF
ATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV
CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLS
KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【0663】 SEQ ID 260 及 261 描述如實例 17 中所描述之包含 3C8 VH 突變

M31I 及 K64L 之 r:Fv-IgG 3C8(高)之重鏈及輕鏈序列。

【0664】 SEQ ID NO:260. r:Fv-IgG 3C8(高)-1A7 重鏈。

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTIYLIEWVRQAPGQGLEWI
GVINPGSGDTYYSEKFLGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCAR
DRLDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVS
CKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERV
TITRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE
PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【0665】 SEQ ID NO:261. r:Fv-IgG 3C8(高)-1A7 輕鏈

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQQKPGKSFKGLIYH
GTNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQ
GTKVEIKGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYL
NWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF
ATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV
CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLS
KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【0666】 SEQ ID 262 及 263 描述實例 17 中所描述之包含 3C8 VH 突變 M31I 及 K64L、1A7 VH 突變 M34I 以及 1A7 VL 突變 R53Y 之 r:Fv-IgG

3C8(高)-1A7(高)之重鏈及輕鏈序列。

【0667】 SEQ ID NO:262. r:Fv-IgG 3C8(高)-1A7(高)重鏈

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTIYLIEWVRQAPGQGLEWI
GVINPGSGDTYYSEKFLGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCAR
DRLDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVS
CKASGYTFTDSYISWVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERVT
ITRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQGTLVTVSSA
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP
KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【0668】 SEQ ID NO:263. r:Fv-IgG 3C8(高)-1A7(高)輕鏈

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQQKPGKSFKGLIYH
GTNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQ
GTKVEIKGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYL
NWYQQKPGKAPKLLIYYTSYLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF
ATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV
CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLS
KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【0669】 SEQ ID 264 及 265 描述實例 17 中所描述之包含 3C8 VH 突變 M31I 及 K64L 以及 1A7 VH 突變 P96A 之 r:Fv-IgG 3C8(高)-1A7(低)之重鏈

及輕鏈序列。

【0670】 SEQ ID NO:264. r:Fv-IgG 3C8(高)-1A7(低)重鏈

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTIYLIEWVRQAPGQGLEWI
GVINPGSGDTYYSEKFLGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCAR
DRLDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVS
CKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRERV
TITRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAARWYFSVWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE
PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【0671】 SEQ ID NO:265. r:Fv-IgG 3C8(高)-1A7(低)輕鏈

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQQKPGKSFKGLIYH
GTNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQ
GTKVEIKGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYL
NWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF
ATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV
CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLS
KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【0672】 SEQ ID 266 及 267 描述實例 17 中所描述之包含 1A7 VH 突變 P96A 之 r:Fv-IgG 3C8-1A7(低)之重鏈及輕鏈序列。

【0673】 SEQ ID NO:266. r:Fv-IgG 3C8-1A7(低)重鏈

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLIEWVRQAPGQGLEWI
GVINPGSGDTYYSEKFKGRVTLTADTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCA
RDRLDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKV
SCKASGYTFTDSYMSWVRQAPGQGLEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRER
VTITRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCVLAARWYFSVWGQGTLVTVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE
PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【0674】 SEQ ID NO:267. r:Fv-IgG 3C8-1A7(低)輕鏈

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQDISSYIVWYQQKPGKSFKGLIYH
GTNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVHYAQFPYTFGQ
GTKVEIKGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYL
NWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF
ATYYCQQGHTLPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV
CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLS
KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【0675】 SEQ ID NO:279-288 中提供可用於本發明之例示性重鏈恆定區(CH1-鉸鏈-CH2-CH3)及輕鏈恆定區(CL)。如此項技術中眾所周知，人類恆定鏈存在多晶型、異型及單體型變異體，且此等變異體可用於本發明。

【0676】 SEQ ID NO:279. 人類 IgG1 重鏈恆定區(CH1-鉸鏈-CH2-CH3)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE
PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【0677】 SEQ ID NO:295. 人類 IgG2 重鏈恆定區(CH1-鉸鏈-CH2-CH3)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVE
RKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED
PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGK
EYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC
LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【0678】 SEQ ID NO:296. 人類 IgG3 重鏈恆定區(CH1-鉸鏈-CH2-CH3)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHKPSNTKVDKRV
ELKTPLGDTTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKS
CDTPPPCPRCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE
DPEVQFKWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTFRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT
CLVKGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS

RWQQGNIFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK

【0679】 SEQ ID NO:297. 人類 IgG4 重鏈恆定區(CH1-鉸鏈-CH2-CH3)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVE
SKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQE
DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT
CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKS
RWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

【0680】 SEQ ID NO:298. 人類 Cκ 輕鏈恆定區(CL-κ)。

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS
GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV
TKSFNRGEC

【0681】 SEQ ID NO:299. 人類 Cλ1 輕鏈恆定區(CL-λ1)。

GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPV
KAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVE
KTVAPTECS

【0682】 SEQ ID NO:300. 人類 Cλ2 輕鏈恆定區(CL-λ2)。

GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPV
KAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEK
TVAPTECS

【0683】 SEQ ID NO:301. 人類 Cλ3 輕鏈恆定區(CL-λ3)。

GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPV
KAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEK

TVAPTECS

【0684】 SEQ ID NO:302. 人類 Cλ6 輕鏈恆定區(CL-λ6)。

GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVKVAWKADGSPV
NTGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEK
TVAPAECS

【0685】 SEQ ID NO:303. 人類 Cλ7 輕鏈恆定區(CL-λ7)。

GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLVSDFYPGAVTVAWKADGSPV
KVGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCRVTHEGSTVEK
TVAPAECS。

實例 3. 偶聯 IgG-IgG 抗體之工程改造及表徵

材料及方法

【0686】 使用 1A7 及 3C8 可變區產生單抗原決定基及雙抗原決定基偶聯 IgG-IgG (c:IgG-IgG)抗 OX40 抗體。藉由工程改造不對稱硫代單抗來構建 c:IgG-IgG 抗體，該不對稱硫代單抗為雙特異性抗體，其中僅一個半抗體具有游離半胱胺酸。在本發明實驗中，使用人類 Cκ 恆定區上之取代 K149C，但本發明涵蓋使用任何抗體殘基處之經工程改造半胱胺酸。如以上所描述，使用杵入臼變異體(參考物)及試管內組裝半抗體來產生在 K149C 處包含單一游離半胱胺酸之雙特異性抗體(Spiess 等人, 2013, Nat Biotechnol 31(8):753-8)。在 pRK 載體中構建抗體，且所有抗體重鏈均含有 N297G 突變以移除糖基化且減少與 Fc 受體之結合。1A7 及 3C8 半抗體含有杵/His 或臼/Flag 重鏈及天然或 K149C 輕鏈，視所要構建體而定。將編碼各抗體之重鏈及輕鏈之 pRK 載體 DNA 共轉染至 HEK293 細胞中以供表現，自上清液中純化出所得蛋白質，且組裝雙特異性抗體並且如以上所描述加以純化。

【0687】 藉由使用雙馬來醯亞胺基聚乙二醇連接子(雙馬來醯亞胺基

(PEG)化學偶聯不對稱硫代單抗雙特異性抗體來產生 c:IgG-IgG 抗體。使用如以上所提及之杵入臼技術，利用杵或臼之輕鏈上的 K149C 突變來產生不對稱硫代單抗雙特異性抗體。對於本發明實驗，藉由含有 2 或 3 個 PEG 單元之連接子，經由杵或臼上之 K149C 位點來製造 IgG-IgG 抗體，但預期可利用各種 PEG 長度。

結果

【0688】 測試 c:IgG-IgG 抗體促效 OX40 受體之能力。自血沈棕黃層分選 CD4+記憶 T 細胞(CD4+ CD45RO+)，且使用表現 CD80 (B7-1)及 CD32a (FcγRIIa)或僅 CD32a (FcγRIIa)之經照射 L 細胞作為替代抗原呈遞細胞(APC)。培育 CD4+記憶 T 細胞與 L 細胞，用可溶性抗 CD3 抗體(小鼠抗人類 CD3 純系 SP34)及增加濃度之抗 OX40 抗體或抗 Her2 抗體對照物進行刺激。將細胞培養 7 天，收集，且藉由 CellTiter-Glo® (Promega)分析 T 細胞增殖並且藉由 ELISA 分析細胞因子釋放。

【0689】 T 細胞增殖資料示於**圖 10** 中。該等結果顯示儘管四價單抗原決定基 1A7(N297G)-1A7(N297G)及二價雙抗原決定基 1A7/3C8(N297G)在不存在 FcR 介導之交聯的情況下提供適度促效活性水準，但四價雙抗原決定基 1A7/3C8(N297G)-1A7/3C8(N297G)促進強促效活性水準。

【0690】 重複該分析，其中測試設定中包括四價單抗原決定基 3C8(N297G)-3C8(N297G)。此等資料示於**圖 11** 中。該等結果再次顯示 1A7/3C8 四價形式在不存在交聯(N297G)之情況下的有效促效作用，且說明在四價接合之情形下靶向 1A7 及 3C8 抗原決定基之協同組合。重要的是，資料亦顯示 1A7/3C8 c:IgG-IgG 形式在不存在 CD3 刺激之情況下無活性，從而指明儘管其具有有效活性，但仍需要 TCR 接合。

實例 4. 偶聯 FAb-IgG 抗體之工程改造及表徵

材料及方法

【0691】 產生基於 1A7 及 3C8 可變區之單抗原決定基及雙抗原決定基偶聯 Fab-IgG (c:Fab-IgG)抗 OX40 抗體。藉由使在 K149C 處包含游離半胱胺酸之 1A7 全長人類 IgG1 與經工程改造而具有 C 末端游離半胱胺酸之 3C8 Fab 偶聯來構建 c:Fab-IgG 抗體。在本發明實驗中，使用人類 Cκ 恆定區上之取代 K149C，但本發明涵蓋使用任何抗體殘基處之經工程改造半胱胺酸。

【0692】 藉由使用雙馬來醯亞胺基聚乙二醇連接子(雙馬來醯亞胺基(PEG)化學偶聯 Fab 及 IgG 抗體來產生 c:IgG-IgG 抗體。對於本發明實驗，連接子含有 2 或 3 個 PEG 單元。預期可利用各種 PEG 長度。使 3C8 Fab 與雙馬來醯亞胺基 BMPEG3 反應，接著移除過量 BMPEG3。接著使結合之 3C8 Fab 與 1A7 IgG1 K149C 反應，並且使用習知層析法，使用 S200 SEC 管柱繼之以 Mono-Q 管柱來純化偶聯之 Fab-IgG。使用分析型尺寸排阻層析法聯合多角度光散射(SEC-MALS)以及質譜來評定最終經純化 c:Fab-IgG 抗體之品質。使用 Xbridge BEH 管柱在 PBS 中在 08. ml/min 下運作 SEC-MALS。

結果

【0693】 結果示於**圖 12** 中。數據擬合產生如下最終半徑及分子量：c:Fab-IgG 1A7/3C8 具有 7.3 nm +/-4.6%之 Rh(Q)z (nm)及 248.6 +/-15% KDa 之 MW；c:Fab-IgG 1A7(N297G)/3C8 具有 7.3 nm +/-4.3%之 Rh(Q)z 及 238.2 KDa +/-16.7%之 MW。質譜證實(資料未顯示)經純化之 c:Fab-IgG 具有預測 MW。

【0694】 如以上所描述，利用表現 CD32a 之 L 細胞作為替代抗原呈遞細胞(APC)，使用原代 T 細胞分析法來測試 c:IgG-IgG 抗體促效 OX40 受體之能力。人類 IgG1 及人類 IgG1(N297G)型式之 T 細胞增殖資料分別示於**圖 13** 及**圖 14** 中。結果顯示 1A7/3C8 c:Fab-IgG 形式促進強水準之促效活性，與

由二價 1A7 IgG、二價 3C8 IgG、雙抗原決定基 1A7/3C8 IgG 介導之弱活性相反。該等結果與關於(相同分析中所包括之) c:IgG-IgG 形式的資料一起顯示在四價之情形下靶向兩個抗原決定基(在此實例中，1A7 及 3C8 OX40 抗原決定基)之益處。

實例 5. 重組 Fv-IgG 抗體之工程改造及表徵

材料及方法

【0695】 產生基於 1A7 及 3C8 可變區之單抗原決定基及雙抗原決定基重組 Fv-IgG (r:Fv-IgG)抗 OX40 抗體。藉由基因工程改造天然 VL 區 N 末端之另一 VL 區及天然 VH 區 N 末端之另一 VH 區來構建 r:Fv-IgG 抗體。所構建之 r:Fv-IgG 產生四價單抗原決定基(1A7-1A7 及 3C8-3C8)形式或四價雙抗原決定基(1A7-3C8 及 3C8-1A7)形式。此等實例中所使用之 r:Fv-IgG 1A7-3C8 之重鏈及輕鏈胺基酸序列分別提供於 SEQ ID NO:240-241 中，且此等實例中所使用之 r:Fv-IgG 3C8-1A7 之重鏈及輕鏈胺基酸序列分別提供於 SEQ ID NO:242-243 中。使用習知分子生物學方法在 pRK 載體中構建抗體。所有抗體均包含天然 IgG1 恆定區。將編碼各 r:Fv-IgG 之重鏈及輕鏈之 pRK 載體 DNA 共轉染至 HEK293 細胞中以供表現，且使用 MabSelect Sure 樹脂自上清液中純化出所得蛋白質。

【0696】 如以上所描述，使用具有螢光素酶報告基因之表現 OX40 之 Jurkat 細胞(純系 2A4 Jurkat-OX40-luc)來測試 r:Fv-IgG 抗體促效 OX40 受體之能力。將細胞以 2×10^5 個細胞/孔接種在 Corning 96 孔盤(目錄號 3603)中，於 50 μL AIM-V 培養基(Thermo Fischer Scientific，目錄號 12055-091)中接種在 96 孔組織培養盤(Corning Inc.，目錄號 3603)中。將抗 OX40 抗體以 2X 濃度連續稀釋於 AIM-V 培養基中，且向各孔中添加 50 μL 經稀釋之抗體並且在 37°C下在 5% CO_2 下培育 16 至 18 小時。添加 100 μL Bright Glo (Promega，

目錄號 E2610)並且在室溫下混合 10 分鐘。在 Infinite M1000 Pro 盤讀數器(Tecan)上偵測發光。與以上所描述之原代 T 細胞分析相反，此 Jurkat 報告基因分析不包括與 FcR+ L 細胞一起共培育。此分析中之促效活性因而僅體現由抗體在不存在任何人工交聯之情況下介導的交聯。

結果

【0697】 資料示於**圖 15** 中。在不存在任何交聯之情況下，1A7 IgG1 抗體不介導 OX40 受體促效作用。四價單抗原決定基構建體(r:Fv-IgG 1A7-1A7 及 r:Fv-IgG 3C8-3C8)介導中度水準之交聯無關活性。四價雙抗原決定基構建體(r:Fv-IgG 3C8-1A7 及 r:Fv-IgG 1A7-3C8)介導最強水準之促效活性。

【0698】 如以上所描述，利用表現 CD32a 之 L 細胞，使用原代 T 細胞分析法來測試 r:Fv-IgG 抗體促效 OX40 受體之能力。人類 IgG1 型式之 T 細胞增殖資料示於**圖 16** 中。與 Jurkat 螢光素酶報告基因分析一致，雙抗原決定基型式(1A7-3C8 及 3C8-1A7)促進受體活化，實質上超過單抗原決定基型式(1A7-1A7 及 3C8-3C8)之活性。r:FAb-IgG 結果與關於 c:IgG-IgG 形式及 c:Fab-IgG 形式之資料一起進一步支持在四價之情形下靶向兩個抗原決定基(在此實例中，1A7 及 3C8 OX40 抗原決定基)之益處。

實例 6. 重組 Fab-IgG 抗體之工程改造及表徵

材料及方法

【0699】 產生包含 1A7 及 3C8 可變區之單抗原決定基及雙抗原決定基重組 Fab-IgG (r:Fab-IgG)抗 OX40 抗體。藉由基因工程改造天然重鏈 Fab (VH-CH1)區 N 末端之另一重鏈 Fab 區(VH-CH1)來構建 r:Fab-IgG 抗體。藉由分別構建串聯 1A7 或 3C8 Fab (亦即，1A7-1A7 或 3C8-3C8)且共表現 1A7 或 3C8 輕鏈(VL-Cκ)來工程改造 r:Fab-IgG 之四價單抗原決定基型式。四價單抗原決定基 r:Fab-IgG 為與天然 IgG 相同之「雙鏈系統」，亦即，存在單

一重鏈及單一輕鏈。r:Fab-IgG 之四價雙抗原決定基型式需要額外工程改造以控制重鏈/輕鏈配對。藉由針對 1A7 及 3C8 共表現串聯重鏈(例如 1A7-3C8 或 3C8-1A7)與輕鏈，從而產生「三鏈系統」(用於 1A7-3C8 方向之 SEQ ID NO:244-246 或用於 3C8-1A7 方向之 247-249)來製造雙抗原決定基型式。可變區自身不能確保適當配對，且因此如國際公開案第 WO2016172485 號中所描述將正交變異體併入 VH/VL 及 CH1/CL 區中。VH/VL 區利用變異體配對 VH-Q39K/VL-Q38E 或 VH Q39E/VL Q38K (Kabat 編號)，且 CH1/CL 區利用變異體配對 CH1-S183E/CL-V133K 或 CH1-S183K/CL-V133E (EU 編號)。決定適當重鏈/輕鏈配對之其他預期變異體包括 CH1 A141I、F170S、S181M、S183A、V185A 以及 CL F116A、L135V、S174A、S176F 及 T178V (EU 編號)。使用習知分子生物學方法在 pRK 載體中構建抗體。將編碼各 r:Fab-IgG 之重鏈及輕鏈(對於單抗原決定基，一個輕鏈[1A7 或 3C8]；且對於雙抗原決定基，兩個輕鏈[1A7 及 3C8])之 pRK 載體 DNA 共轉染至 HEK293 細胞中以供表現。使用 MabSelect Sure 樹脂自上清液中純化出所得蛋白質。

【0700】 使用分析型尺寸排阻層析法聯合多角度光散射(SEC-MALS)以及質譜來評定最終經純化 r:Fab-IgG 抗體之品質。如以上所描述，使用 Xbridge BEH 管柱在 PBS 中運作 SEC-MALS。

結果

【0701】 對於雙抗原決定基 r:Fab-IgG 型式 3C8-1A7 及 1A7-3C8，結果分別示於**圖 17** 及**圖 18** 中。數據擬合產生最終半徑及分子量如下：r:Fab-IgG 3C8-1A7 具有 7.6 nm 之 Rh(Q)z (nm)及約 236 KDa 之 MW，且 r:Fab-IgG 1A7-3C8 具有 7.2 nm 之 Rh(Q)z 及約 233.3 KDa 之 MW。

【0702】 如以上所描述，使用具有螢光素酶報告基因之表現 OX40 之 Jurkat 細胞(2A4 Jurkat-OX40-luc)來測試 r:Fab-IgG 抗體促效 OX40 受體之能

力。資料示於**圖 19** 中。四價單抗原決定基構建體(r:Fab-IgG 1A7-1A7 及 r:Fab-IgG 3C8-3C8)不介導交聯無關活性。相反，四價雙抗原決定基構建體(r:Fab-IgG 3C8-1A7 及 r:Fab-IgG 1A7-3C8)介導強促效活性。

【0703】 如以上所描述，利用表現 CD32a 之 L 細胞，使用原代 T 細胞分析法來測試 r:Fab-IgG 抗體促效 OX40 受體之能力。人類 IgG1 型式之 T 細胞增殖資料示於**圖 20** 中。四價單抗原決定基型式顯示無活性(1A7-1A7)或適度活性(3C8-3C8)。相反且與 Jurkat 螢光素酶報告基因分析一致，雙抗原決定基型式(1A7-3C8 及 3C8-1A7)促進強受體活化。r:FAb-IgG 結果與關於 c:IgG-IgG、c:Fab-IgG 及 r:Fv-IgG 形式之資料一起進一步支持在四價之情形下靶向兩個抗原決定基(在此實例中，1A7 及 3C8 OX40 抗原決定基)之益處。

實例 7. 四價形式之大規模產生

【0704】 大規模表現並純化四價形式以進行更深層次之試管內及活體內表徵。藉由如以上所描述之基因合成或突變誘發在 pRK 哺乳動物表現載體中構建以下所描述之所有新變異體的 DNA。將重鏈及輕鏈 DNA 共轉染至 293 或 CHO 細胞中以便如以上所描述進行表現。在大腸桿菌中表現編碼 Fab 之 DNA。

r:Fab-IgG 及 r:Fv-IgG 抗 OX40 抗體之純化

【0705】 將所收集之 CHO 培養基裝載至 5 mL MabSelect SuRe 管柱(GE Healthcare，編號 17-5438-01)上。在裝載樣品之後，用 10 倍管柱體積(CV)之 Tris 緩衝液(25 mM Tris pH 7.0、150 mM NaCl、5 mM EDTA、2 mM 疊氮化鈉(NaN_3))、5 倍 CV 之 Triton X-114 緩衝液(25 mM Tris pH 7.0、150 mM NaCl、5 mM EDTA、0.1% Triton X-114、2 mM NaN3)、10 倍 CV 之 Tris 緩衝液、2 倍 CV 之 KP 洗滌緩衝液(0.4 M 磷酸鉀 pH 7.0、5 mM EDTA、0.02%

聚山梨醇酯 Tween 20)及最終 10 倍 CV 之 Tris 緩衝液洗滌管柱。用 5 倍 CV 之溶離緩衝液(50 mM 檸檬酸鈉 pH 3.0、150 mM NaCl)溶離蛋白質，並且立即用 1 M Tris pH 8.0 緩衝液中和。濃縮已中和之溶離液，並且在 HiLoad 16/600 Superdex 200 尺寸排阻層析(SEC)管柱(GE Healthcare，編號 28-983-36)上以精胺酸緩衝液(200 mM 精胺酸、137 mM 琥珀酸、1 mM NaN_3)作為移動相進行純化。以 1 mL 增量收集所溶離之溶離份，並且藉由 SDS-PAGE 加以分析。濃縮最終溶離液彙集物，並且調配至 20 mM 組胺酸乙酸鹽(HisOAc) pH 5.5、240 mM 蔗糖、0.02%聚山梨醇酯 Tween 20 中。

c:Fab-IgG 之產生

【0706】 在大腸桿菌中表現鉸鏈-半胱胺酸-Fab (Fab-SPPC)，並且如先前所描述進行純化(Scheer, J. M.等人, Reorienting the Fab domains of trastuzumab results in potent HER2 activators. PLoS One 2012, 7, e51817)。在 CHO 細胞中重組表現 THIOMAB 抗體，並且如先前所描述進行純化(Sadowsky, J. D.等人, Development of efficient chemistry to generate site-specific disulfide-linked protein- and peptide-payload conjugates: Application to THIOMAB™ antibody-drug conjugates. Bioconjug. Chem. 2017)。

【0707】 用雙馬來醯亞胺交聯劑對鉸鏈-半胱胺酸-Fab 進行官能化。在 N,N-二甲基乙醯胺(Sigma Aldrich，D5511)中將新鮮雙馬來醯亞胺交聯劑(BMPEG) (ThermoFisher Scientific，22337)復原至 50 mM 之最終濃度。接著使經純化之 Fab-SPPC 與 10 莫耳當量之 BMPEG 在 pH 5.0 下在室溫下反應 2 小時，並且藉由質譜監測反應進展。在培育 2 小時之後，反應完畢且藉由利用 10,000 個 MWCO Amicon Ultra-15 離心過濾器單元(UFC901096，Millipore)簡單緩衝液交換成結合緩衝液(25 mM 乙酸鈉(NaOAc) pH 5.0，2

mM NaN_3)來移除過量交聯劑。在緩衝液交換後，利用質譜來分析最終官能化 Fab (Fab-BMPEG)。

【0708】 結合 c:Fab-IgG 並加以純化。使經純化之 THIOMAB 抗體(5 mg/mL)與五倍莫耳過量之 Fab-BMPEG (5 mg/mL)反應。用結合緩衝液將反應混合物處理至最終 pH 5.0，並且在室溫下培育 21 小時。利用質譜監測反應進展。培育 21 小時之後，反應完畢且利用疏水性相互作用層析法(HIC)純化反應混合物。簡言之，用 1.5 M 硫酸銨處理樣品並且裝載至 ProPac™ HIC-10 管柱(5 μm，7.8 mm×75 mm) (Thermo Scientific，063665)上。在樣品裝載之後，用 5 倍 CV 之 HIC-緩衝液 A (50 mM 磷酸鉀 pH 7.0、1 M 硫酸銨)洗滌管柱並且用 60 倍 CV 之 HIC-緩衝液 B (50 mM 磷酸鉀 pH 7.0、20%異丙醇)之 0%至 80%線性梯度進行溶離。收集所溶離之溶離份，並且在調配之前藉由 LC/MS 加以分析。將最終結合物調配至 20 mM HisOAc pH 5.5、150 mM NaCl 緩衝液中，並且利用 LC/MS、SDS-PAGE 及 SEC 評定最終結合物之品質。

c:IgG-IgG 之產生

【0709】 表現 ThioMab_KiH (杵入臼)抗體並加以純化。如先前所描述對半抗體進行表現、純化及黏合(Atwell, S., Ridgway, J. B., Wells, J.a 及 Carter, P. Stable heterodimers from remodeling the domain interface of a homodimer using a phage display library. J. Mol. Biol. 1997, 270, 26-35)，以形成杵入臼式 THIOMAB 抗體(ThioMab_KiH)。由於黏合過程，ThioMab_KiH 抗體上經工程改造之半胱胺酸被阻斷且因而對馬來醯亞胺交聯劑不具反應性。為了移除加合物，如先前所描述對 ThioMab_KiH 抗體進行還原及再氧化(Sadowsky, J. D. 等人, Development of efficient chemistry to generate site-specific disulfide-linked protein- and peptide-payload conjugates: Application to

THIOMAB™ antibody-drug conjugates. Bioconjug. Chem. 2017)。將最終去保護之 ThioMab_KiH 抗體調配至結合緩衝液中並且儲存在 4°C下。

【0710】 使 ThioMab_KiH 抗體偶聯。接著使去保護之 ThioMab_KiH 抗體與 10 莫耳當量之新製 BMPEG (參見上文)在 pH 5.0 下在室溫下反應 2 小時，並且藉由質譜監測反應進展。在反應完畢之後，藉由離子交換層析法(IEX)移除過量交聯劑。簡言之，用 IEX-緩衝液 A (25 mM NaOAc pH 5.0、2 mM NaN_3)將反應混合物稀釋 10 倍，並且裝載至預平衡 Hi-Trap SPHP (GE Healthcare，17115201)管柱上。在樣品裝載之後，用 5 倍 CV 之 IEX-緩衝液 A 洗滌管柱並且用 1 倍 CV 之 IEX-緩衝液 B (25 mM NaOAc pH 5.0、1000 mM NaCl、2 mM NaN_3)之 0%至 100%階躍梯度進行溶離。收集溶離份並且藉由質譜加以分析。將最終樣品(ThioMab_KiH_BMPEG)濃縮至 5 mg/mL，並且調配至結合緩衝液中。

【0711】 接著將經純化之 ThioMab_KiH_BMPEG 添加至含 1.5 倍莫耳過量之 ThioMab_KiH 的相同緩衝液中，以形成偶聯 IgG。在室溫下將反應混合物培育 48 小時，並且藉由 LC/MS 分析監測反應進展。在 48 小時之後，反應完畢且如早先所描述利用 HIC 純化混合物。將最終經純化之 CIgG 調配至 20 mM HisOAc pH 5.5、150 mM NaCl 中。

實例 8. 四價雙抗原決定基抗體形式之固有促效活性

【0712】 測試 r:Fv-IgG 抗體在不存在交聯之情況下活化 T 細胞之能力。如以上所描述利用 LALAPG 效應因子減弱變異體工程改造並產生 r:Fv-IgG 雙抗原決定基型式 3C8-1A7 及 1A7-3C8 以及單抗原決定基型式 1A7-1A7 及 3C8-3C8。如以上所描述在原代人類 T 細胞分析中使用 FcγRIIa+ L 細胞(L 細胞不表現 B7-1)來測試 r:Fv-IgG。

【0713】 T細胞增殖資料示於**圖 21** 中。雙抗原決定基 r:Fv-IgG 之 3C8-1A7

及 1A7-3C8 顯示最高活性水準且顯示依賴於 Fc 介導之交聯：無論 r:Fv-IgG 是 IgG1 或是 LALAPG，該等曲線看起來實際上相同。單抗原決定基 r:Fv-IgG 型式 1A7-1A7 及 3C8-3C8 顯示活性相對於 IgG1 1A7 有所增強，但活性相對於雙抗原決定基 r:Fv-IgG 形式而言較弱。此外，在不存在 Fc 介導之交聯的情況下(右圖中之 LALAPG 型式)，單抗原決定基 r:Fv-IgG 顯示無活性。由 r:Fab-IgG 抗 OX40 抗體之人類 IgG1 及人類 IgG1 LALAPG 型式獲得類似結果(資料未顯示)。

實例 9. 單抗原決定基及雙抗原決定基四價形式之活性比較

【0714】 如以上所描述在 Jurkat 報告基因分析中測試所有四種四價形式。如所描述，此分析中之促效活性體現抗體在不存在任何非固有交聯之情況下的固有活性。**圖 22** 及**圖 23** 中之資料顯示四價雙抗原決定基形式相對於單抗原決定基形式之明顯優越性。此外，此分析中所測試之二價雙抗原決定基 1A7/3C8 抗體說明單獨的靶向兩個抗原決定基之二價 IgG 就促效活性而言不充分。在四價之情況下靶向兩個抗原決定基提供最佳活性。

【0715】 在 Jurkat 報告基因分析中直接測試所有四價雙抗原決定基形式。**圖 24** 中之資料顯示相對於生物結合型雙抗原決定基 c:Fab-IgG 及 c:IgG-IgG 形式，重組雙抗原決定基形式 r:Fv-IgG 及 r:Fab-IgG 提供更大活性。在此分析中，r:Fv-IgG 3C8-1A7 抗體顯示相對於其他 r:Fv-IgG 及 r:Fab-IgG 形式之輕微優越性。

實例 10. 抗體:OX40 複合物形成之量測

【0716】 使用與多角度光散射串聯連接之尺寸排阻層析法(SEC-MALS)來測試四價單抗原決定基及雙抗原決定基抗體形式在與標靶 OX40 結合後形成高階(免疫)複合物之能力。將經純化之抗體及人類 OX40 (G&P Biosciences FCL2479)以不同的莫耳比混合在 PBS 中。使混合物在 Waters

xBrdige BEH200A SEC 3.5 μm (7.8×300 mm)管柱上跑膠，且藉由與 Wyatt Technology 偵測器 DAWN HELEOS-II 多角度雷射光散射光度計及 Optilab T-rEX 差示折射率偵測器連接之 Agilent 1200 HPLC 加以分析。

【0717】 **圖 25** 顯示 r:Fv-IgG 之 SEC 層析譜。相對於單抗原決定基 r:Fv-IgG 1A7-1A7，針對雙抗原決定基 r:Fv-IgG 1A7-3C8 之間形成的複合物觀察到在溶離時間方面存在大得多的早期位移，此與尺寸成正比。對 r:Fab-IgG 及 c:Fab-IgG 形式獲得類似結果(資料未顯示)，表明與四價單抗原決定基形式相比，四價雙抗原決定基形式能夠與標靶蛋白質形成更大的免疫複合物。

【0718】 **圖 26** 顯示由得自此等實驗之 MALS 資料得到之抗體/OX40 複合物之計算尺寸。該資料進一步支持藉由標靶結合四價雙抗原決定基形式形成之免疫複合物相對於四價單抗原決定基及二價雙抗原決定基形式二者而言皆更大。此等資料與在原子價大於 2 之情況下自靶向兩個抗原決定基觀察到優越促效活性一致。

實例 11. 四價抗 OX40 抗體在小鼠中之藥物動力學(PK)

【0719】 在 C57BL-6 或 C.B-17 SCID (嚴重複合型免疫缺陷)小鼠中測試四價抗體形式之 PK。此節中所描述之小鼠 PK 研究經實驗動物照護及使用委員會(IACUC)批准。所有測試抗體均包含天然人類 IgG1 重鏈恆定及 Cκ 輕鏈恆定鏈。在免疫缺陷 C.B-17 SCID 小鼠中評估 IgG1 1A7、r:Fv-IgG 1A7-1A7、r:Fv-IgG 1A7-3C8、r:Fab-IgG 1A7-1A7、r:Fab-IgG 1A7-3C8、c:Fab-IgG 1A7-1A7、c:Fab-IgG 3C8-1A7 及 cIgG-cIgG 3C8-3C8 抗體之 PK。另外，在免疫勝任 C57BL-6 小鼠中評估 1A7 IgG1、r:Fv-IgG 1A7-3C8、r:Fab-IgG 1A7-3C8、cIgG-IgG 1A7-3C8 及 c:Fab-IgG 1A7-3C8 抗體之 PK。包括抗 gD IgG1 抗體作為同型對照物。利用 10 mg/kg 抗 OX40 抗體之單次

靜脈內(i.v)劑量進行小鼠 PK 研究，且在不同的時間點收集血清樣品(n=3/時間點/組)以進行 PK 分析，直至劑量後第 21 天。

【0720】 使用具有比色偵測系統之夾層 ELISA 對 C57BL-6 或 C.B-17 SCID 小鼠血清中之抗 OX40 huIgG1 抗體(IgG1、r:Fv-IgG、r:Fab-IgG、c:Fab-IgG 或 c:IgG-IgG)及同型對照物抗 gD huIgG1 抗體進行定量。用綿羊抗人類 IgG 塗佈微量滴定盤以俘獲抗 OX40。將經稀釋之樣品、標準物及對照物添加至該盤並且培育。隨後，添加山羊抗人類 IgG-HRP 以用於偵測，並且培育。添加過氧化物酶受質(四甲基聯苯胺)以顯色，並且藉由添加 1 M 磷酸來終止反應。在針對偵測吸光度之 450 nm 及針對參考吸光度之 620 nm 下對該盤進行讀取。藉由將數據輸入四參數對數曲線擬合程式中來確定樣品濃度。該分析之報告範圍為 0.156-20 ng/mL 抗 OX40。對於 C57BL-6 小鼠血清或 C.B-17 SCID 小鼠血清，最低樣品稀釋度為 1/100，從而獲得 15.6 ng/mL 之最低可定量濃度。

【0721】 如**圖 27** 及**圖 28** 中所示，抗 OX40 抗體形式，包括 IgG1、r:Fv-IgG、r:Fab-IgG、c:Fab-IgG1 及 cIgG1，在 C.B-17 SCID 小鼠中顯示類似之 PK 性質，與對照物抗 gD IgG1 抗體相當。所有抗體形式均顯示靜脈內給藥之後存在雙指數衰減與短分佈階段及長終末消除階段。在 C57BL-6 小鼠中，IgG1、r:Fv-IgG、r:Fab-IgG 及 c:Fab-IgG 之 PK 大體上與抗 gD 對照物相當，直至第 10 天(**圖 29**)。r:Fv-IgG、r:Fab-IgG 及 c:Fab-IgG1 在第 14 天及第 21 天之較高 PK 變異性可能或許由於抗藥物抗體出現。c:IgG-IgG 暴露與 IgG1 相比稍低直至第 3 天，但自第 7 天起觀察到暴露快速衰減，此或許由於抗藥物抗體出現。

實例 12. 在人類 OX40 敲入(hOX40ki)小鼠中之藥效學(PD)研究

【0722】 針對抗 OX40 抗體形式響應於利用鑰孔蟲戚血藍素(KLH)抗原

進行免疫而刺激 T 細胞活化之能力來測試其活體內 PD。在第 0 天，將人類 OX40 敲入小鼠(Genentech, Inc.)經皮膚下(尾根部)注射 PBS 或於 CFA H37 Ra (BD Difco；目錄號 231131)中乳化之 50 μg Imject mcKLH Subunits (ThermoFisher Scientific；目錄號 77649)，比率為 1:1，每隻小鼠之總體積為 100 μL。在第+1 天，將動物分組且經靜脈內投與 10 mg/kg 抗人類 OX40 抗體(所有人類 IgG1 重鏈恆定區)或作為對照物之抗 gD 人類 IgG1。為了定量抗 KLH IgG 抗體反應，在第+14 天對來自不同的群組的小鼠進行抽血，並且藉由 ELISA 套組，根據製造商之說明書(Life Diagnostics, Inc；目錄號 KLHG-1)來量測血清抗 KLH IgG 水準。

【0723】 為了評定記憶反應，在第+16 天利用 50 μg 可溶性 KLH 對小鼠進行腹膜內再攻擊，並且在再攻擊後 4 天(第+20 天)剖析引流淋巴結。在一些實驗中，在第+20 天自引流淋巴結純化出 $CD4^+$ T 細胞，並且在得自 WT 小鼠之經純化 $CD11c^+$脾臟 DC 存在下用 10 μg/mL 可溶性 KLH 進行試管內刺激。2 天後，收集上清液並且使用 Luminex 分析 IFN-γ 產生。藉由司圖頓 t 檢驗來分析統計顯著性。除非另外指示，否則數據表示平均值±SEM，其中 $p<0.05$ 被視為統計上顯著。

【0724】 **圖 30**、**圖 31** 及**圖 32** 顯示得自比較 r:Fv-IgG 1A7-3C8 與 1A7 及 3C8 之 IgG1 型式之 KLH 免疫 PD 實驗之結果。四價雙抗原決定基抗體形式優越 CD4 T 細胞擴增及抗 KLH IgG 反應(**圖 30**)，以及在引流淋巴結(dLN)中之 CD8 T 細胞擴增及總細胞擴增(**圖 31**)。在利用 KLH 離體再刺激經純化之 CD4+ T 細胞之後，四價雙抗原決定基形式亦刺激更大程度之干擾素 γ (IFN-γ) (**圖 32**)。

【0725】 重複研究直接比較 r:Fv-IgG、c:Fab-IgG 及 r:Fab-IgG 四價雙抗原決定基形式，以及 1A7 及 3C8 抗體之 IgG1 型式。**圖 33** 顯示得自此實驗之

資料。r:Fv-IgG 及 c:Fab-IgG 顯示在 CD4 及 CD8 T 細胞擴增方面之明顯優越性，其中 r:Fab-IgG 顯示較適中之 T 細胞活化水準。總而言之，此等結果突出顯示四價雙抗原決定基抗體之優越試管內促效活性轉化成更大程度之活體內 T 細胞活化。

實例 13. 四價抗體之抗腫瘤活性

【0726】 在 Genentech 產生之雌性人類 OX40 (TNFRSF4)敲入 C57BL/6N 小鼠(huOX40.tnfrsf4.ki.B6N)之同基因 E.G7-OVA (表現 EL4 之雞卵白蛋白(OVA))淋巴瘤腫瘤模型中測試四價抗體之抗腫瘤活性。將小鼠經皮下接種處於 100 微升 HBSS+基質膠中之 300 萬個 E.G7-OVA 腫瘤細胞至右側單側脅中。允許小鼠生長腫瘤，直至其達到~250 mm^3 之平均腫瘤體積(接種之後 5 天)。此時(第 0 天)，招募小鼠至 3 個群組中，對於所有群組，n=10。抗 gD 結合單純疱疹病毒之醣蛋白 D 且充當陰性對照物。將抗體稀釋在無菌 PBS 中且劑量體積為 100 µl。在第 1 天經靜脈內給與所有群組單次 10 mg/kg 劑量。所有測試抗體均包含人類 IgG1 重鏈恆定區。劑量後 24 小時自 5 隻小鼠/群組/時間點收集血液。劑量後 6 天自另 5 隻小鼠/群組收集血液。藉由在異氟烷誘導之麻醉(吸入以生效)下進行眼窩取血來收集血液(收集體積不超過 100 µl)。自血液收集血清以進行 PK 分析。每週 2 次收集量測及體重。每日對展現>15%之體重損失之動物進行稱重，且在其損失>20%體重時施以安樂死。更頻繁地觀察顯示不良臨床問題之動物，多達每日一次，視嚴重程度而定，且在瀕死時施以安樂死。然而，此研究中無小鼠顯示不良臨床徵象。若腫瘤體積超過 2,000 mm^3，則對小鼠施以安樂死。量測其餘腫瘤並且每週稱重 2 次。

【0727】 **圖 34** 顯示得自該實驗之腫瘤體積資料。相對於天然 IgG1 1A7 之較適中活性，四價雙抗原決定基 r:Fv-IgG 3C8-1A7 提供優越抗腫瘤活性。

此等結果與此抗體形式之優越試管內及活體內 PD 活性一致，且證明 r:Fv-IgG 及其他四價雙抗原決定基形式作為治療劑之效用。

實例 14. 結構確定及抗原決定基圖譜分析

抗 OX40 配位體 Fab 及 OX40 配位體 ECD 之表現及純化

【0728】 用與以下相同的方式表現並純化抗 OX40 配位體之兩個 Fab 片段。在大腸桿菌中表現該等 Fab。分兩個步驟純化蛋白質。首先，將細胞溶解物上清液裝載至 G 瓊脂糖管柱上並且用 0.6%乙酸溶離。其次，彙集含 Fab 之溶離份且使用 SP 瓊脂糖管柱(GE Healthcare)進行純化。裝載緩衝液含有 2-(N-嗎啉基)乙磺酸(MES) pH 5.5，且按 NaCl 梯度溶離蛋白質。

【0729】 在 *SF9* 昆蟲細胞中共表現人類 OX40 配位體細胞外域(ECD，殘基 L29-D170)與醣苷內切酶 H。藉由離心分離含 OX40 配位體之培養基與細胞碎片。藉由首先使用 10 mL Ni-NTA Superflow (Qiagen)管柱來純化蛋白質。用含有 20 mM 叁(羥甲基)胺基甲烷(Tris) pH 8.0、300 mM NaCl 及 300 mM 咪唑之緩衝液溶離 OX40 配位體。彙集含有 OX40 配位體之溶離份，且藉由在已於 20 mM 4-(2-羥基乙基)-1-哌嗪甲磺酸(Hepes) pH 7.2 及 200 mM NaCl 中平衡之 S-75 管柱(Pharmacia)上進行尺寸排阻層析(SEC)加以純化。藉由與凝血酶(Sigma)一起在 4°C下培育隔夜使 N 末端 his 標籤裂解。將已裂解之 OX40 配位體蛋白收集在 1.0 mL Ni-NTA Sepharose (Qiagen)管柱之流過溶離份中，並且藉由在已於以上提及之相同 S-75 緩衝液中平衡之 S-75 管柱(Pharmacia)上進行 SEC 而進一步純化。

抗 OX40 配位體 Fab 及抗原複合物之產生及結晶

【0730】 將當量莫耳量之 OX40 ECD (PUR#124725)、1A7 抗 OX40 配位體 Fab (PUR#115810)及 3C8 抗 OX40 配位體 Fab (PUR#109639)混合在一起並且在 4°C下培育隔夜。接著藉由在已於 25 mM Tris pH 7.5 及 0.15 M NaCl

中平衡之 S200 16/60 管柱(GE Healthcare)上進行 SEC 來純化三元複合物。藉由 SDS PAGE 及液相層析質譜(LC-MS)來分析經純化之複合物，由此揭示最終 SEC 步驟之高分子量(HMW)峰溶離份中之所有三種組分。使用 Vivaspin 濃縮器以 10,000 截止分子量將 HMW 峰溶離份濃縮至 10 mg/mL。

【0731】 使用坐滴蒸氣擴散法，利用市售稀疏矩陣篩選以 96 孔形式進行結晶試驗。主要在高鹽條件下觀察到初步中選晶體。進行附加篩選(Hampton Research)以改良晶體繞射品質。最終結晶條件含有 0.1 M Tris pH 8.5、1.5 M D-L 蘋果酸 pH 7.0 及 0.15 mM 丙磺酸二甲基乙基銨(亦稱為 NDSB-195)。藉由短暫浸在低溫保護劑緩衝液(25%甘油添加至儲存溶液)中，繼而突然浸入液氮中來保存晶體以供進行數據收集。

X 射線繞射資料收集及結構確定

【0732】 使用 Pilatus-6M 偵測器，在高級光源(ALS)光束線 5.0.2 下使用單色 X 射線來收集三元複合物晶體之繞射資料集。將旋轉法應用於單一晶體以獲得完整資料集。使用程式 XDS (Kabsch W., Acta Crystallogr D Biol Crystallogr, 2010, 66: 125-132)進行資料簡化且 2.6 Å 下之最終統計資料示於表 1 中。藉由分子置換(MR)法，使用程式 Phaser (McCoy A. J., Grosse-Kunstleve R. W., Adams P. D., MWinn. D., Storoni L. C., Read R. J., Journal of applied crystallography 2007, 40, 658-674)解出結構。藉由利用介於 +90°至-10°範圍內之不同肘角以 5°間隔對一系列 Fab 結構模型(基於 PDB 進入點 1FVD 而產生)進行旋轉搜尋來測定兩個 Fab 片段肘角。+70°及 0°下之肘角模型得到最高訊雜比(3 倍)。接著使用兩個最佳基於 1FVD 之模型(+70°、0°肘角)及先前確定之已移除 Fab 之恆定域(CH1 及 CL)之 OX40 ECD-3C8 抗 OX40 fab 複合物結構(CRY#21829) (Compaan D.M., Hymowitz S.G., The Crystal Structure of the costimulatory OX40-OX40L complex, Structure, 2006,

14(8):1321-30)來進行完整 MR 搜尋。此 MR 搜尋得到三元複合物之解。對電子密度之觀察表明具有0°肘角之Fab模型提供最佳解且對應於1A7之Fab。需要將肘角進一步調節至 3C8 fab 以擬合 CH1 及 CL 結構域。使用圖形建模程式 COOT (Emsley, P., Lohkamp, B., Scott, W. G. & Cowtan, K. Features and development of Coot. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 66, 486-501 (2010)) 將正確 1A7 Fab 序列嵌入初始基於 1FVD 之 MR 解中。使用程式 Phenix (Adams, P. D.等人, PHENIX: a comprehensive Python-based system for macromolecular structure solution. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 66, 213-221 (2010))及 BUSTER (Dsafa Bricogne G., Blanc E., Brandl M., Flensburg C., Keller P., Paciorek W., Roversi P, Sharff A., Smart O.S., Vonrhein C., Womack T.O. (2016)；BUSTER 第 2.11.5 版. Cambridge, United Kingdom: Global Phasing Ltd)與COOT中之手動建模(Emsley, P., Lohkamp, B., Scott, W. G. & Cowtan, K. Features and development of Coot. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 66, 486-501 (2010))的組合以迭代方式對結構進行進一步精化。電腦精化方案包括最大似然目標函數最小化、各向異性個別 B 因數精化及 TLS 精化法。最終精化統計資料示於表 1 中。

表 1 資料收集及精化統計資料

	抗 OX40 1A7-3C8-OX40 ECD 三元複合物	抗 OX40 3C8-OX40 ECD 二元複合物
資料收集	ALS 5.0.2	ALS 5.0.2
空間群	I222	P4122
晶胞尺寸		
a, *b*, *c* (Å)	109.8, 125.2, 197.5	117.0, 117.0, 118.9
α, β, γ (°)	90.0, 90.0, 90.0	90.0, 90.0, 90.0
解析度(Å)	105.8-2.61 (2.70-2.61)*	42.0-2.1 (2.17-2.1)*
$R_{系統}$或 $R_{合併}$	0.097 (1.13)	0.068 (0.69)

$I/\sigma I$	11.08 (1.55)	20.6 (3.65)
完整度(%)	100 (100)	99.9 (99.4)
豐度	6.4 (6.2)	12.7 (12.4)
精化		
解析度(Å)	105.8 -2.61	42.0 - 2.1
反射數	41721	48695
$R_{工作}/R_{自由}$	20.4/25.7	21.8/24.2
原子數	7690	4341
蛋白質	7470	4053
配位體/離子	14	0
水	206	268
B 因數	62.3	55.9
蛋白質	62.5	55.5
配位體/離子	93.1	
水	52.9	62.0
均方根偏差		
鍵長(Å)	0.019	0.013
鍵角(°)	1.84	1.82

*最高解析度殼層示於括弧中。

【0733】 **圖 35** 顯示兩個 Fab 1A7 及 3C8 與 OX40 結合之三元複合物之結構。1A7 及 3C8 結合在 OX40 受體之徑向相對區域上。該結構中 1A7 與 3C8 Fab 之 C 末端之間的計算距離為約 120 Å。相反，抗體鉸鏈約束兩個 IgG Fab 臂之 C 末端至約 35 Å 之最大距離。此分析表明該結構中之 OX40 結合抗原決定基及因此兩個 Fab 之取向不允許 IgG 內 OX40 結合。此進一步提出單一 OX40 受體由兩個單獨 r:Fv-IgG 分子嚙合之模型，該兩個分子各有三個其他 Fv 結合其他 OX40 受體。理論上，結果將為免疫複合。此模型與實例 10 中所描述之 SEC-MALS 資料及四價雙抗原決定基抗體之固有促效活性一致。

【0734】 藉由直觀檢查三元複合物結構來確定被 1A7 及 3C8 抗體結合之 OX40 抗原決定基。**圖 36** 顯示人類 OX40 之序列，其突出顯示 1A7 之結合抗原決定基(灰色方框)及 3C8 之結合抗原決定基(黑色輪廓方框)。位置編號

根據 UniProt 中所列出之彼等編號(The UniProt Consortium, UniProt: the universal protein knowledgebase, Nucleic Acids Res. 45: D158-D169 (2017))。1A7 抗體結合 OX40 殘基 114-119、124、126-127、129-130、132、140 及 142。3C8 抗體結合 OX40 殘基 68-71、83-90、95 及 98。本發明提供資料及結構/序列分析，表明結合此等或重疊抗原決定基之抗體可能為用於產生四價雙抗原決定基形式從而促效 OX40 受體之良好配對。

實例 *15. 抗 OX40 抗體集及 OX40 抗原決定基空間之擴增*

【0735】 執行抗體發現活動以增加四價雙抗原決定基靶向 OX40 之抗體集及擴增對其他 OX40 抗原決定基之覆蓋率。

材料及方法

【0736】 ClonaCell-HY 培養基 A (目錄號 03801)、培養基 B (目錄號 03802)、培養基 C (目錄號 03803)及培養基 E (目錄號 03805)得自 StemCell Technologies。用於電融合之 Cytofusion 培養基 C (目錄號 LCM-C)得自 Cyto Pulse Sciences。表現表面 IgG 之 SP2ab 融合搭配物得自 Enzo Life Science ((ENZ-70008-0001)，山羊抗大鼠 IgG Fc-HRP 結合之抗體來自於 Bethyl (A110-236P)。TMB 單組分 HRP 微孔受質(目錄號 TMBW-1000-01)及 TMB 終止試劑(目錄號 BSTP-1000-01)得自 BioFx Laboratories。

【0737】 用 50 μg 人類及石蟹獼猴 OX40 抗原對 SD 大鼠進行一次初免，繼而使用 CFA/IFA 佐劑對各大鼠進行 25 μg 注射，以一週間隔進行加打，總計 6 次。在最終融合前加打之後三天，自已免疫大鼠收集淋巴細胞。

【0738】 藉由使用 Cyto Pulse CEEF-50 裝置(Cyto Pulse Sciences)將分離之大鼠淋巴細胞與 SP2ab 骨髓瘤細胞融合。簡言之，在 B 細胞增濃及 IgM+大鼠 B 細胞耗竭之後，將分離之 IgM-大鼠 B 細胞及 SP2ab 細胞以 1:1 比率混合，接著以 1000 萬個細胞/ml 再懸浮於 Cytofusion 培養基 C 中，根據製造

商之指導進行電融合。在 37°C下，在 7% CO_2 培育器中，在 ClonaCell-HY 培養基 C 中在 HAT 選擇下培養已稠合之細胞。在 6 天培養之後，用山羊抗大鼠 IgG-Alexa Fluor® 647 (Jackson 112-606-071)將已融合之細胞染色 30 分鐘，接著用 FACS 緩衝液洗滌兩次，此後，藉由 FACSAria 淘選單一大鼠 IgG+ 雜交瘤細胞至含 200 μL/孔 ClonaCell-HY 培養基 E 之 96 孔細胞培養盤 (#353075，Becton Dickinson)中。在 7 天培養之後，藉由 ELISA 篩檢雜交瘤上清液，並且將針對人類及石蟹獼猴 OX40 兩者之所有 ELISA 陽性雜交瘤純系揀選至新的 96 孔細胞培養盤。

【0739】 如下進行 ELISA 分析。在 4°C下用 100 μL/孔之以 1 μg/ml 處於 0.05 M 碳酸鹽緩衝液(pH 9.6)中之人類/石蟹獼猴 OX40 塗佈 96 孔微量滴定 ELISA 盤(Greiner，Germany)隔夜。在用洗滌緩衝液(0.05% Tween 20/PBS，Sigma)洗滌三次之後，用 200 μL ELISA 分析稀釋劑與 BSA 阻斷諸盤。添加 100 μL 經培養之上清液或經稀釋純化之 mAb 且在室溫下培育 1 小時。將諸盤洗滌三次且與 HRP 結合之山羊抗大鼠 IgG Fc 一起培育 1 小時。在洗滌三次之後，藉由添加 100 μL/孔之 TMB 受質(BioFX Laboratories，MD，USA)後持續 5 分鐘來偵測已結合之酶。藉由添加 100 μL/孔之終止試劑(BioFX Laboratories，MD，USA)來終止反應且在 $A_{630\,nm}$ 下偵測顏色。

【0740】 用含有 1%胎牛血清(FBS)之磷酸鹽緩衝生理鹽水(PBS)將過度表現 huOX40 之 Jurkat 細胞洗滌兩次，接著再懸浮於 FACS 緩衝液(含 1% FBS 之 PBS)中，達至 5×10^6 個細胞/ml 之最終濃度。將 100 μl 細胞添加至 U 形底 96 孔組織培養盤(#353077，Becton Dickinson)之各孔，添加經純化之 mAb，在冰上進行 30 分鐘培育之後，用 FACS 緩衝液將細胞洗滌兩次，隨後用山羊抗大鼠 IgG-Alexa Fluor® 647 (Jackson Lab，112-606-071)以 1:400 稀釋度處理 30 分鐘。用 FACS 緩衝液洗滌兩次之後，使用 FACS Calibur (BD

Biosciences)分析經染色之細胞，使用 FlowJo 軟體(Tree Star, Inc.)分析流式細胞術資料。

【0741】 藉由蛋白 A 親和力層析法純化雜交瘤上清液，接著進行無菌過濾(0.2 μm 孔徑，Nalge Nunc International，NY，USA)且儲存在 4°C PBS 中。藉由 ELISA 證實經純化之 mAb，隨後在功能分析中進行進一步測試。

【0742】 藉由基於 96×96 陣列之 SPR 成像系統(Carterra USA)如下確定抗原決定基區間。將經純化之大鼠抗 OX40 抗體以 10 μg/ml 稀釋於 10 mM 乙酸鈉緩衝液 pH 4.5 (Wasatch Microfluidics，CBNaOAc-pH 4.5-0.1 L)中。使用胺偶聯，使用連續流式微型點樣器(Carterra，USA)將抗體直接固定至 SPR 感測器 prism CMD 200M 晶片(XanTec Bioanalytics，Germany)上，以產生 96 個抗體之陣列。

【0743】 為了進行抗體分區，將印刷晶片裝載至 IBIS MX96 SPRi (Carterra USA)上，並在 25°C下將在 HBS-P 緩衝液中稀釋至 50 nM 之人類 OX40 蛋白注射至晶片上，持續 4 分鐘，繼而第二次注射以 10 μg/ml 稀釋於 HBS-P 緩衝液(GE，BR-1006-71)中之經純化抗體，持續 4 分鐘。使用 Wasatch 分區軟體工具來處理抗原決定基分區資料。

【0744】 對於抗體動力學，如以上所描述來固定抗體，將處於 HBS-P 緩衝液中之自 300 nM、100 nM、33.3 nM、11.1 nM 至 3.7 nM 之連續稀釋人類或石蟹獼猴 OX40 蛋白注射在晶片上，且在 25°C下允許締合 3 分鐘及解離 10 分鐘。使用 Scrubber 軟體(BioLogic Software)處理動力學資料。

結果

【0745】 表徵 318 個由雜交瘤產生之大鼠抗 OX40 抗體之抗原決定基區間、在溶液中對 OX40 之親和力、與細胞表面 OX40 之結合以及單獨及在與抗 Fc 抗體交聯時之功能活性。儘管許多抗體在非固有地交聯時促進 OX40

之促效作用，但 318 個抗體自身無一介導固有促效作用(資料未顯示)。基於分區、親和力及結合以及活性資料，將抗體自雜交瘤選殖至具有人類 IgG1 重鏈及人類 Cκ 輕鏈之嵌合大鼠 VH 及 VL 結構域中。在 HEK293 細胞中表現抗體且如以上所描述加以純化。

【0746】 **表 2** 彙總如以上所描述使用基於陣列之 SPR 成像系統(Carterra USA，Wasatch Microfluidics)量測之該等嵌合 IgG1 抗 OX40 抗體中之 34 個的抗原決定基區間及平衡解離常數(KD)。**表 2** 亦顯示使用 Biacore™ T200 儀器(GE Healthcare)藉由俘獲抗體並測試與分析物 OX40 之結合而量測之對 1A7 及 3C8 IgG1 抗體之親和力。

表 2. 呈 IgG 及 r:Fv-IgG 形式之擴增抗 OX40 抗體集之性質

IgG 形式			r:Fv-IgG 形式		
抗體	區間	KD (nM)	配對	KD (nM)	最大活性 (RLU)
1A7	1A7	0.15			
3C8	3C8	1.2	3C8-1A7	0.23	1850
2A9	8	1.96	2A9-1A7	0.23	1421
2B4	9	129.3	2B4-1A7	0.91	420
2B5	11	16.5	2B5-1A7	0.31	1600
2D8	11	0.912	2D8-1A7	0.35	1555
2G7	10	1.79	2G7-1A7	0.27	1473
3F5	11	14.67	3F5-1A7	0.35	1392
3G5	10	22.58	3G5-1A7	0.59	1735
3G8	11	18.15		0.66	
2C7	6	50			
2A2	2	5.506			
2F10	10	5.828			
2E12	4	0.01			
2D5	10	ND			
2B12	2	7.266			
3C2	2	2.399			
3B1	2	5.95			
2C10	5	0.763			
2B7	ND	ND			
2F6	2	30.31			
2E4	2	0.091			

3E10	2	2.146			
2H5	5	0.493			
2A3	5	5.52			
3A12	ND	ND			
2C9	10	5.15			
2D10	ND	ND			
3H12	ND	ND			
2D3	4	0.241			
3H4	ND	ND			
3D12	ND	5.855			
3D1	2	ND			
2E1	2	6.625			
2H1	4	53			
2A6	7	288.5			

【0747】 自非 1A7 抗原決定基區間選出 27 個主要抗體(亦即，不阻斷 1A7 與 OX40 結合之抗體)且構建為與 1A7 可變區配對之 r:Fv-IgG。如以上所描述來構建 r:Fv-IgG DNA 且表現蛋白質並加以純化。如以上所描述，藉由表面電漿子共振(SPR)技術使用 Biacore™ T200 儀器(GE Healthcare)來量測前 8 個 r:Fv-IgG 之結合親和力。**表 2** 顯示 r:Fv-IgG 之 OX40 結合親和力(KD)。測試此等抗體中前 8 個之 IgG 及 r:Fv-IgG 型式在 OX40+ Jurkat 細胞螢光素酶分析中促效 OX40 受體之能力(**圖 37**)。正如所料，新抗體在不存在非固有交聯之情況下無一介導作為 IgG 之促效活性(左圖)。相反，當在 r:Fv-IgG 形式下與 1A7 可變區配對時，抗體可變區除一個以外全部促進 OX40 促效作用(右圖)。例外情況為 2B4 抗體，其在 r:Fv-IgG 之情況下在與 1A7 配對時不介導活性。r:Fv-IgG 之最大活性提供於**表 2** 中。

實例 16. r:Fv-IgG 之經工程改造連接子變異體

【0748】 本發明之抗體形式之關鍵要素為使用連接子來連接免疫球蛋白結構域。設計一系列具有變異連接子之 r:Fv-IgG。第一組連接子包含實質上包含絲胺酸、甘胺酸或絲胺酸及甘胺酸之序列。絲胺酸及甘胺酸由於其可撓性及良好溶液性質而常用作連接子。第二組連接子包含實質上包含天然

抗體序列之序列。在此等連接子中，將構成抗體序列之天然序列用作連接子。兩種尤其適用之天然抗體序列為存在於 VH1 與 CH1 結構域之間的肘彎處的重鏈序列及存在於 VL 與 CL 結構域之間的肘彎處的輕鏈序列。天然抗體序列連接子之效用為其可用於減少四價抗體形式內之一些非天然序列。指定連接子之長度可自 1 個殘基至 20 個以上殘基變化。典型地，長度愈大，所連接之免疫球蛋白結構域之間的可撓性愈大。**表 3** 描述工程改造至 r:Fv-IgG 3C8-1A7 四價雙抗原決定基形式之連接子。

表 3. 連接子之描述

名稱	重鏈連接子(LH)	LH SEQ ID	輕鏈連接子(LL)	LL SEQ ID
甘胺酸/絲胺酸連接子				
GS(短)	GGGGSG	270	GGSGG	271
GS(中)	GGGGSGGGGS	272	GGGGSGGGGS	272
GS(長)	GGGGSGGGGSGGGG	273	GGSGGGGSGGGGS	274
天然抗體序列連接子				
肘彎(短)	ASTKGP	275	RTVAAP	276
肘彎(長)	ASTKGPSVFPLAP	277	RTVAAPSVFIFPP	278

【0749】 如以上所描述來構建編碼 r:Fv-IgG 3C8/1A7 之變異連接子之 DNA，並且如以上所描述在 HEK293 細胞中表現蛋白質並加以純化。如以上所描述來測試 r:Fv-IgG 在原代人類 T 細胞及 Jurkat 報告因子分析中之 OX40 促效活性。**圖 38** 中之資料顯示儘管相對於天然抗體肘彎連接子，甘胺酸-絲胺酸連接子在 Jurkat 報告基因分析中提供略微增強之 OX40 促效作用，但該資料突出顯示所有經工程改造之連接子均在 r:Fv-IgG 之 Fv 與 IgG 部分之間提供有效連接，從而能夠實現對 OX40 受體之促效作用。

實例 17. 四價形式之親和力工程改造

【0750】 對 1A7 及 3C8 可變區兩者之變異體進行工程改造，以便探索四

價雙抗原決定基形式之促效活性對個別 OX40 結合組分之親和力的依賴性。親和力工程改造方法利用 NNK 走查文庫產生連同噬菌體呈現及下一代定序(NGS) (更充分描述於 Koenig 等人, J Biol Chem 2015, 290(36):21773-21786 中)。

【0751】 設計並構建 1A7 及 3C8 之可變域 NNK 走查文庫。將 1A7 及 3C8 Fab 次選殖至噬菌體質體構建體中。多樣化 1A7 VH 殘基為 28-35、49-65、93-102 且 VL 殘基為 28-34、50-56、91-96。多樣化 3C8 VH 殘基為 28-35、50-65、95-97 且 VL 殘基為 28-34、50-56、89-96。藉由 NNK 走查對噬菌體質體構建體中之多樣化殘基進行隨機分組，各自在一個目標隨機分組位置上有一個 NNK 密碼子。NNK 編碼所有 20 個胺基酸(n=G、A、T 及 C；K=G 及 T，比例相等)。藉由在各反應中之所有目標隨機分組位置上引入終止密碼子(TAA)來產生各突變誘發反應之模板。藉由對自突變誘發反應彙集至大腸桿菌 XL1 細胞中之 DNA 產物進行電穿孔，從而產生約 10^9 個轉化體來單獨產生 VH 及 VL 庫。

【0752】 針對重組 OX40 蛋白淘選編碼 1A7 及 3C8 文庫之噬菌體。使用 96 孔 ELISA 盤選擇 OX40 結合純系。噬菌體呈現庫與 5 μg/ml 盤結合之 OX40 一起培育作為第 1 輪，繼而在 50、10、2、0.5、0.1 nM 及 0.1 nM 生物素化 +100 nM 非生物素化鏈黴親和素塗佈之盤上進行數輪溶液結合 OX40 選擇。對每次跑膠之已結合噬菌體進行洗滌且在 100 mM HCl 中溶離 20 分鐘，接著用 1/10 體積之 1 M Tris pH 11.0 中和，並且用於感染大腸桿菌以便進行擴增及下一輪選擇。在每次跑膠時監測噬菌體效價。在未觀測到增濃之跑膠時終止淘選。自來自於前一次跑膠之細菌糰粒提取 DNA。

【0753】 對淘選後經增濃之 NNK 走查文庫進行深度定序。自得自於未經選擇及經選擇之 1A7 及 3C8 NNK 文庫之大腸桿菌 XLI 細胞分離噬菌體質體

DNA，並且用於使用 Phusion 聚合酶(New England BioLabs)對 VL 及 VH 區進行 PCR 擴增。使用 TruSeq Nano DNA 文庫製備套組(Illumina)純化 PCR 產物以產生文庫。在用於 300 bp 成對末端定序之 Illumina MiSeq 定序系統上對具有獨特條形碼之多路銜接子連結文庫進行定序。用於增濃分析之序列來自於分別在 0.1 nM 及 0.5 nM 生物素化人類 OX40 下對 1A7 及 3C8 進行淘選。

【0754】 為了分析 NGS 結果，若擴增子尺寸大於 300 bp，則將定序讀數分成 R1/R2 讀數。在該情況下，使用 FLASH 程式[Magoč, T.及 Salzberg, S. L. Bioinformatics 2011]進行合併步驟以重構完整擴增子。對於各重構完整擴增子，使用側接突變區域之核苷酸序列(各自 9 bp 長)來定位並提取突變部分序列。針對已知模板長度檢查所提取之序列以篩選不需要之 indel 序列。將其餘序列轉譯至胺基酸，並且可視研究人員之需要進行進一步過濾(亦即，僅保留僅具有 1 個突變之提取序列，或丟棄已知非突變位置上具有突變之提取序列)。在篩選並保留滿足該準則(亦即，以上所列出者)之彼等胺基酸序列之後，基於此等序列之獨特胺基酸序列對其進行計數。接著，僅超過某些截止值(亦即，標準物>2 個計數或 Vivian>20 個計數)之胺基酸序列可用於進一步丟棄不需要之胺基酸序列。此等「淨化」胺基酸序列接著將用於計算突變部分中之胺基酸頻率之 Log2 比率。特定言之，由淘選前及淘選後文庫之「淨化」胺基酸序列確定各位置上之 20 個殘基中之每一者的頻率。鑒於最初文庫之主要取樣不足問題，淘選前文庫有時為第一輪淘選文庫。此後，對淘選後文庫相對於淘選前文庫之頻率比率取 log2。至少 4 至 5 之 Log2 比率(亦即，≥16 倍至 32 倍增濃)被視為真增濃。

【0755】 基於 NNK 走查噬菌體淘選 NGS 結果，選擇取代以增加及降低 1A7 及 3C8 可變區之親和力。如以上所描述來構建編碼重鏈(人類 IgG1 恆定

區)及輕鏈(Cκ 恆定區)變異體之 DNA，且在 HEK293 細胞中表現抗體並且如以上所描述進行純化。如以上所描述使用 Biacore 來測試變異體與 OX40 之結合。**表 4** 及**表 5** 呈現所產生及測試之所有變異體之變異體名稱、取代及 OX40 親和力(KD)。所有取代之位置均根據 Kabat 慣例進行編號。

表 4. 1A7 親和力變異體

變異體	亦稱為	取代	KD (M)
1A7	1A7	WT	1.40E-10
1A7.HC.T28E		T28E	1.36E-10
1A7.LC.N31Q		N31Q	1.00E-10
1A7VH.001		S32H；N54Q；V102Y	3.46E-10
1A7VH.003		T30F；N54L；L94H	5.84E-10
1A7VH.004		M34L；N60Q；S101A	2.26E-10
1A7VH.005		T30I；E65S	2.39E-10
1A7VH.006		S32A；V93S	2.32E-10
1A7VH.007		T30G；D56E	2.76E-10
1A7VH.008		D31R；D53Y；L94F	4.92E-10
1A7VH.009		K62V；V102R	1.33E-10
1A7VH.010		F29L；S58L；S101V	2.21E-10
1A7VH.01		T28S	1.89E-10
1A7VH.02		T30E	2.17E-10
1A7VH.03		T30Q	1.65E-09
1A7VH.04		D31E	2.42E-10
1A7VH.05		S32Q	1.07E-09
1A7VH.06		S32T	3.68E-10
1A7VH.07		Y33L	5.08E-09
1A7VH.08		Y33P	1.98E-10
1A7VH.09		M34I	5.83E-11
1A7VH.10		M34S	5.84E-10
1A7VH.12		N54Q	2.52E-10
1A7VH.13		G55P	3.38E-10
1A7VH.14		G55Q	2.05E-10
1A7VH.15		D56E	1.27E-10
1A7VH.16		D56N	4.95E-10
1A7VH.17		S57A	1.37E-10
1A7VH.18		S57N	3.93E-10

1A7VH.19		S58Q	2.21E-10
1A7VH.20		N60T	1.46E-10
1A7VH.21		F63S	1.84E-10
1A7VH.22		R64N	1.96E-10
1A7VH.23		E65Q	1.02E-10
1A7VH.24		V93I	1.84E-10
1A7VH.25		L94F	1.57E-10
1A7VH.26		L94I	1.62E-10
1A7VH.27		L94Y	4.49E-10
1A7VH.28		A95T	3.38E-10
1A7VH.29		R97S	2.83E-08
1A7VH.30		W98F	8.78E-11
1A7VH.31		W98L	2.91E-09
1A7VH.32		W98N	4.04E-08
1A7VH.33		W98Y	5.19E-10
1A7VH.34		Y199N	3.63E-10
1A7VH.35		F100A	2.87E-09
1A7VH.36		S101N	1.52E-10
1A7VH.37		V102A	1.68E-10
1A7VH.38		V102Q	1.95E-10
	1A7 (低)	P96A	4.89E-09
1A7VH09/VL19	1A7 (高)	M34I/R53Y	9.00E-11
1A7-VL001		S30L；L54I；L94E	6.12E-11
1A7-VL002		N31M；S56A；P96V	3.03E-10
1A7-VL003		Y32F；L54A；L94S	1.60E-10
1A7-VL004		S30G；S52I；H92Q	1.74E-10
1A7-VL005		L33I；S56V	1.48E-10
1A7-VL006		S56M；P96A	3.76E-10
1A7-VL007		N31S；L54S；L94S	1.22E-10
1A7-VL008		D28S；L54N；T93G	3.73E-10
1A7-VL009		S30G；R53A；T93G	1.38E-10
1A7-VL010		N31L；L54S；T93S	1.06E-10
1A7-VL01		D28E	1.07E-10
1A7-VL02		D28Q	1.81E-10
1A7-VL03		I29N	3.31E-10
1A7-VL04		I29Q	6.52E-10
1A7-VL05		S30D	1.39E-10
1A7-VL06		S30G	1.46E-10
1A7-VL07		S30N	9.58E-11
1A7-VL08		N31E	1.19E-10
1A7-VL09		Y32A	3.33E-08

1A7-VL10		L33A	1.66E-10
1A7-VL11		L33I	1.30E-10
1A7-VL12		N34S	1.90E-09
1A7-VL13		Y50A	3.20E-10
1A7-VL14		Y50Q	2.53E-09
1A7-VL15		T51G	1.40E-10
1A7-VL16		S52D	1.20E-10
1A7-VL17		R53F	7.75E-11
1A7-VL18		R53N	9.34E-11
1A7-VL19		R53Y	4.80E-11
1A7-VL20		L54I	1.57E-10
1A7-VL21		G91E	1.86E-09
1A7-VL23		H92N	2.47E-10
1A7-VL24		L94I	1.60E-10
1A7-VL25		L94N	1.38E-10
1A7-VL26		L94Q	1.39E-10
1A7-VL27		P95A	1.30E-10
1A7-VL28		P96S	4.06E-10

表 5. 3C8 親和力變異體

變異體	亦稱為	取代	KD (M)
3C8_hIgG1	3C8	WT	1.23E-09
3C8VH-01		A28K	1.39E-09
3C8VH-02		F29E	8.98E-09
3C8VH-03		T30H	7.99E-10
3C8VH-04		T30K	2.13E-09
3C8VH-05		Y32L	9.81E-08
3C8VH-06		Y32V	4.18E-08
3C8VH-07		L33S	0.0000018
3C8VH-08		E35I	3.59667E-08
3C8VH-09		V50F	7.735E-09
3C8VH-10		V50S	2.01E-09
3C8VH-11		I51P	0.000000137
3C8VH-12		N52L	2.15E-08
3C8VH-13		G53H	2.13E-09
3C8VH-14		G53Q	1.76E-09
3C8VH-15		S54F	2.7565E-09
3C8VH-16		S54I	1.09E-09
3C8VH-17		S54P	1.59E-09
3C8VH-18		G55E	9.285E-10

3C8VH-19		D56E	7.99E-10
3C8VH-20		D56Q	1.56E-09
3C8VH-21		T57F	1.755E-09
3C8VH-22		T57H	1.32E-09
3C8VH-23		T57I	1.57E-09
3C8VH-24		T57N	1.35E-09
3C8VH-25		Y58E	1.43E-09
3C8VH-26		Y58P	0.000000495
3C8VH-27		Y59P	1.19E-09
3C8VH-28		E61K	2.02E-09
3C8VH-29		F63H	1.41E-09
3C8VH-30		K64Q	6.96E-10
3C8VH-31		D95I	1.22E-08
3C8VH-32		D95T	1.5E-09
3C8VH-33		R96F	3.92E-09
3C8VH-34		R96G	1.39E-08
3C8VH-35		R96Y	1.42E-09
3C8VH-36		L97E	0.000000122
3C8VH-37		L97S	4.28E-08
3C8VH-triple01		A28K/E61A	1.31E-09
3C8VH-triple02		I34V/G55E	1.03E-09
3C8VH-triple03		T30V/F63A	9.51E-10
3C8VH-triple04		T30K/F63S	1.03E-09
3C8VH-triple05	3C8 (高)	N31I/K64L	3.735E-10
3C8VH-triple06		A28Q/F63Y	1.17E-09
3C8VH-triple07		F29Y/G65S	1.25E-09
3C8VH-triple08		T30L/Y59F	1.12E-09
3C8VH-triple09		T30E/I51G	9.73E-10
3C8VH-triple10		N31I/F63V	4.8125E-10
3C8VL-01		H24P	4.78E-09
3C8VL-02		H24R	1.03E-09
3C8VL-03		H24S	1.38E-09
3C8VL-04		H24V	8.72E-10
3C8VL-05		A25L	1.03E-09
3C8VL-06		A25P	1.63E-09
3C8VL-07		A25V	1.71E-09
3C8VL-08		S26G	9.51E-10
3C8VL-09		S26P	4.46E-09
3C8VL-10		Q27E	5.80E-10
3C8VL-11		Q27P	1.63E-09

3C8VL-12		Q27S	9.76E-10
3C8VL-13		D28P	1.65E-09
3C8VL-14		I29Q	2.47E-08
3C8VL-15		I29Y	8.35E-09
3C8VL-16		S30E	7.54E-10
3C8VL-17		S30Q	1.09E-09
3C8VL-18		S31E	9.63E-10
3C8VL-19		S31Q	9.12E-10
3C8VL-20		Y32L	2.13E-08
3C8VL-21		Y32P	2.51E-09
3C8VL-22		I33E	2.78E-09
3C8VL-23		I33L	1.02E-09
3C8VL-24		I33Y	1.83E-08
3C8VL-27		H50N	6.76E-10
3C8VL-28		G51P	5.01E-08
3C8VL-29		N53P	3.50E-09
3C8VL-30		L54D	4.06E-08
3C8VL-31		L54F	3.80E-08
3C8VL-32		E55F	2.59E-08
3C8VL-33		E55T	1.49E-08
3C8VL-34		S56D	7.70E-10
3C8VL-35		S56E	5.91E-10
3C8VL-36		S56I	7.10E-10
3C8VL-37		S56V	3.86E-10
3C8VL-38		S56Y	7.88E-10
3C8VL-39		V89G	1.43E-09
3C8VL-40		V89K	6.87E-06
3C8VL-41		H90F	2.68E-08
3C8VL-42		H90Q	1.44E-09
3C8VL-43		Y91E	2.70E-08
3C8VL-44		Y91V	8.31E-09
3C8VL-45		A92P	3.08E-08
3C8VL-46		A92S	7.14E-10
3C8VL-47		Q93P	7.41E-09
3C8VL-48		F94G	1.18E-08
3C8VL-49		F94Q	9.77E-09
3C8VL-50		F94R	6.74E-10
3C8VL-51		P95I	9.89E-09
3C8VL-52	3C8 (低)	P95Y	5.45E-08
3C8VL-53		Y96E	3.66E-09
3C8VL-54		Y96L	8.43E-10
3C8VL-triple01		D28S；T52S；F94L	9.38E-10

3C8VL-triple02		S30Y；N53K；A92S	4.77E-10
3C8VL-triple03		S30N；S56L；Y96L	6.02E-10
3C8VL-triple04		I33V；G51S；Y96F	4.98333E-10
3C8VL-triple05		V34S；S56V；V89G	9.315E-10
3C8VL-triple06		S56E；Q93N	8.07E-10
3C8VL-triple07		V34T；S56L；H90G	1.22E-09
3C8VL-triple08		S30G；T52S；Y96L	1.0345E-09
3C8VL-triple09		S31N；T52S；Q93S	1.01E-09
3C8VL-triple10		I33L；S56E	4.79E-10
3C8VL-YA			2.10567E-08

【0756】 選擇變異體以併入 r:Fv-IgG 3C8-1A7 中。以上**表 4** 及**表 5** 中將所選變異體指定為高或低。具有增加之親和力(較低 KD)的 1A7 及 3C8 變異體分別稱為 1A7(高)及 3C8(高)。具有降低之親和力(較高 KD)的 1A7 及 3C8 變異體分別稱為 1A7(低)及 3C8(低)。

【0757】 如以上所描述來構建編碼 r:Fv-IgG 3C8-1A7 之高及低親和力變異體的 DNA。所有構建體均包含人類 IgG1 重恆定區及人類 Cκ 輕恆定區。在 HEK293 細胞中表現變異體且如以上所描述加以純化。如以上所描述使用 Biacore 來測試變異體與 OX40 之結合。**圖 39** 顯示 IgG1 及 r:Fv-IgG 形式之高及低親和力變異體型式之親和力的圖。IgG1 形式中高達 2 倍對數之親和力差異轉譯成 r:Fv-IgG 形式中之更適中親和力差異。

【0758】 在原代人類 CD4+記憶 T 細胞分析及 OX40+ Jurkat 細胞螢光素酶報告基因分析中測試親和力變異體 r:Fv-IgG 之 OX40 促效活性。資料示於**圖 40** 中。1A7 及 3C8 Fv 之親和力增高及/或降低在 OX40 促效活性方面引起適度差異，且總體而言，獨立結合單元之親和力範圍允許四價雙抗原決定基形式能夠具有固有促效活性。

實例 18. 使用四價雙抗原決定基抗體時死亡受體 5 之促效作用

【0759】 探索多價雙抗原決定基方法以便工程改造促效活性，從而產生靶向 TNFRSF 成員死亡受體 5 (DR5)，亦稱為 TNF 相關細胞凋亡誘導配位體受體 2 (TRAILR2)及 TNFRSF10B 的抗體。DR5 由於其在介導癌細胞之細胞凋亡方面之作用而成為治療相關標靶(Ashkenazi 2015, J Clin Invest 125(2): 487-489)。已確定針對 DR5 之抗體的活性依賴於 FcγR 介導之活體內交聯(Wilson 等人, 2011, Cancer Cell 19:101-13；Kim 及 Ashkenazi, 2013, J Exp Med 210:1647-51)。

【0760】 由經典基於雜交瘤之技術產生一組 16 個小鼠抗 DR5 單株抗體。自雜交瘤選殖編碼重鏈及輕鏈之 DNA 且次選殖至如以上所描述之具有小鼠 IgG2a 重恆定鏈及小鼠 Cκ 恆定鏈之 pRK 載體中。亦產生先前已進行臨床前及臨床表徵之人類化抗 DR5 人類 IgG1 抗體德羅圖單抗(Kang 等人, 2011, Clin Cancer Res 17(10): 3181-3192)作為比較物。使用促細胞凋亡因子 Bax 及 Bak 雙重敲除之 CHO 細胞(Bax^{-}/Bak^{-})來表現抗體(Macaraeg NF 等人, 2013, Biotechnol Prog 29:1050-8)且在蛋白 A 管柱上進行純化。需要時，經由利用尺寸排阻管柱、SP 陽離子交換管柱或疏水性相互作用管柱之層析法進一步純化大部分活性抗體以移除聚集物質。

【0761】 利用基於陣列之表面電漿子共振成像(SPRi)技術(Carterra USA，Wasatch Microfluidics)將抗 DR5 抗體分類至不同的抗原決定基群組中。抗原決定基分區分析，類似於「經典」夾層分析，利用微流體技術將抗 DR5 抗體固定於無標籤生物感測器上，用經純化之重組 flag 標籤化 DR5 細胞外域(ECD)使所有表面結合之抗體飽和，繼而添加各抗體以競爭同 DR5 結合。使用 EDC/NHS 化學反應將抗體固定至金表面生物感測器上之預定位置。利用 DR5 抗原之細胞外域使已固定之抗體飽和，繼而進行抗體/DR5 複合物與

該組中第二抗體之競爭。阻斷溶液抗體對已固定抗體/抗原複合物之結合指示抗體屬於相同抗原決定基群組。重複移除抗原及溶液抗體、用 DR5 抗原使已固定之抗體再飽和及添加不同的抗體，直至已測試所有抗體。一旦已測試所有抗體且置於抗原決定基群組中後，便產生網狀圖以鑑別該 16 個小鼠抗體所識別的不同的抗原決定基。該 16 個小鼠抗體分佈在針對表示為網狀圖之 DR5 抗原鑑別之三個不同的抗原決定基群組之間。在進一步檢查 SPR 感測圖後，3 個小鼠抗體顯示低結合親和力與基線 SPR 反應。移除此等抗體，將其餘 13 個抗體限定至其個別抗原決定基群組中。鼠類抗體及德羅圖單抗之抗原決定基群組提供於**表 6** 中。

表 6. DR5 特異性小鼠單株抗體之抗原決定基區間及親和力的彙總。

抗原決定基群組	抗體	KD (nM)	標準偏差(+/-)
1	12A1	20.43	3.57
1	13E11	52.23	2.35
1	13E3	12.23	1.33
2	11H12	0.72	0.18
2	3F11	1.03	0.17
2	3H3	0.97	0.24
2	5C7	6.43	0.75
2	7G4	52.37	4.48
3	1B10	8.71	0.17
3	14G8	4.46	1.99
3	3C9	ND	
3	3D5	2.63	0.16
3	3H1	ND	
3	4D9	0.33	0.12
3	4H10	0.41	0.1
3	6A5	57.83	1.51
德羅圖單抗	德羅圖單抗	3.35	0.7

【0762】 使用表面電漿子共振(SPR)來量測抗體與可溶性 DR5 抗原之結合親和力。在 25°C下，在 Biacore T200 儀器(GE Healthcare)上使用 SPR 量

測進行結合實驗。將測試蛋白質以 1 μg/mL 固定在經蛋白 A 塗佈之感測器晶片上。將分析物 DR5-flag 之五倍連續稀釋(100 至 0.16 nM)以 30 μL/min 之流速注入操作緩衝液(HBS-P+緩衝液 1×；0.01 M HEPES、0.15 M NaCl、0.05% (v/v)界面活性劑-20 pH 7.4)中，並且記錄締合及解離階段之感測圖。注射分析物持續 180 s 且允許解離持續 600 s。對與 1:1 朗繆爾結合模型擬合之資料進行非線性回歸分析，獲得締合速率常數(k_{on})、解離速率常數(k_{off})及平衡解離常數(KD)。對於具有快速締合及解離速率常數之抗體，亦獲得穩態親和力分析。小鼠抗體及德羅圖單抗之親和力示於**表 6** 中。第 2 組及第 3 組抗原決定基之抗體的 KD 介於 0.1 至 100 nM 之範圍內，而來自第 1 組之抗體呈現 KD>10 nM。

【0763】 對所選抗 DR5 抗體之二價雙抗原決定基以及四價單抗原決定基及雙抗原決定基型式進行工程改造。將編碼所選鼠類抗體 13E3、3H3、4D9 及 11H12 之 VH 及 VL 結構域的 DNA 插入如以上所描述之包含人類 IgG1 重恆定區及人類 Cκ 輕恆定區之 pRK 載體中，以產生小鼠 Fv-人類 IgG1/Cκ 嵌合 IgG。藉由將 VH 區插入具有「杵」或「臼」變異體之適當重鏈構建體中來對 13E3、3H3、4D9、11H12 及德羅圖單抗抗體之所選組合的雙抗原決定基型式進行工程改造(Ridgway JBB 等人, 1996, Protein Eng 9:617-21)。將編碼 VH 區之 DNA 次選殖至包含杵突變 T366W (EU 編號)且具有 C 末端 6His 標籤之變異人類 IgG1 中，或次選殖至包含臼突變 T366S/L368A/Y407V (EU 編號)且具有 C 末端 Flag 標籤之變異人類 IgG1 中。使用如實例 2 中所描述且如**圖 9** 中所說明之 r:Fab-IgG 型式 2 (V2)形式對 13E3、3H3、4D9、11H12 及德羅圖單抗抗體之所選組合的四價雙抗原決定基型式進行工程改造。此形式使用以上所描述之杵/臼變異體來促進異源二聚體形成。將編碼 VH 區之 DNA 次選殖至包含杵突變 T366W (EU 編號)之變異人類 IgG1 中，

或次選殖至包含臼突變 T366S/L368A/Y407V (EU 編號)之變異人類 IgG1 中。

【0764】 在 Bax^-/Bak^- CHO 細胞株中表現 IgG、雙抗原決定基 IgG 及 r:Fab-IgG 並且如以上所描述加以純化。使用基於試管內組裝個別半抗體之方法來產生雙抗原決定基 IgG 及 r:Fab-IgG (Spiess 等人, 2013, Nat Biotechnol 31(8):753-8)。將杵/臼變異半抗體表現為半抗體，在試管內組裝，並且如以上所描述進行純化。

【0765】 測試 IgG、雙抗原決定基 IgG 及 r:Fab-IgG 抗 DR5 抗體促進凋亡蛋白酶 8 活性之能力。HT-29 及 Colo205 細胞株係獲自美國典型菌種保藏中心。在 37°C/5% CO_2 下，將細胞維持在補充有 L-麩醯胺酸(L-glut)及 10%胎牛血清(FBS)之 RPMI 培養基(Invitrogen Inc.，Carlsbad，CA，USA)中。在 50 nM 下測試抗體，或在生長培養基中製備抗體稀釋液。將 100 μL 各抗體樣品添加至 96 孔白壁盤(Thermo Scientific)之各孔。對黏附細胞進行胰蛋白酶處理並且自組織培養燒瓶剝落。將 50 μL 1.0×10^6 個細胞/mL 細胞懸浮液添加至 96 孔白壁盤中之 100 μL Ab。在 37°C、5% CO_2 下將細胞培育 4 小時(對於凋亡蛋白酶 8)及 24 小時(對於細胞活力)。使用 Promega 之 Caspase-Glo 8 及 CellTiter-Glo (細胞活力)螢光分析來評定凋亡蛋白酶活性及細胞活力。以一式三份進行實驗且使用 Envision (PerkinElmer)讀取螢光。藉由相對於單獨細胞進行正規化來計算凋亡蛋白酶 8 活性倍數及細胞活力%。

【0766】 **圖 41** 顯示抗 DR5 抗體之 IgG1、雙抗原決定基 IgG1 及雙抗原決定基 r:Fab-IgG 型式在 50 nM 抗體濃度下對人類結腸直腸腺癌 HT-29 細胞之凋亡蛋白酶 8 活性。二價單抗原決定基 IgG1 或二價雙抗原決定基 IgG1 抗體自身皆不介導凋亡蛋白酶 8 活性，與需要進行非固有交聯來達成活性一致。德羅圖單抗 IgG1 在此實驗中可能已展現一定程度之適中活性水準。相

反，使德羅圖單抗與 4D9 (Droz-4D9)及 11H12 與 4D9 (11H12-4D9)配對之四價雙抗原決定基 r:Fab-IgG 形式介導針對 DR5 之固有促效活性，從而促進凋亡蛋白酶 8 信號傳導。令人感興趣的是，四價單抗原決定基 r:Fab-IgG 德羅圖單抗-德羅圖單抗形式亦介導固有促效活性，其中 r:Fv-IgG 中之所有 4 個 Fv 均為德羅圖單抗 Fv。四價雙抗原決定基 r:Fab-IgG 13E3-3H3 及四價單抗原決定基 r:Fab-IgG 4D9-4D9 介導臨界至無 DR5 促效活性。

【0767】 選擇德羅圖單抗-4D9 組合用於進一步表徵。測試 IgG、雙抗原決定基 IgG 及 r:Fab-IgG 抗體對 HT-29 細胞及人類結腸直腸腺癌 Colo205 細胞株之凋亡蛋白酶 8 活性及抗增殖活性。**圖 42** 至**圖 43** 顯示量測針對 HT-29 細胞之凋亡蛋白酶 8 活性(**圖 42**)及抗增殖活性(**圖 43**)的劑量反應曲線。**圖 44** 至**圖 45** 顯示量測針對 Colo205 細胞之凋亡蛋白酶 8 活性(**圖 44**)及抗增殖活性(**圖 45**)的劑量反應曲線。4D9 之 IgG1 型式、4D9 之四價單抗原決定基 r:Fab-IgG 型式或德羅圖單抗與 4D9 之二價雙抗原決定基組合皆不介導凋亡蛋白酶 8 活性或對任一細胞株之細胞活力具有任何影響。IgG1 德羅圖單抗在較高濃度下介導針對兩個細胞株之適度凋亡蛋白酶 8 活性及針對 Colo205 細胞之抗增殖活性。四價單抗原決定基 r:Fab-IgG 德羅圖單抗-德羅圖單抗促進優於 IgG1 型式之對兩種細胞株之凋亡蛋白酶 8 活性，且介導針對 Colo205 細胞之有效抗增殖活性。相對於其他抗體，就效力及最大活性而言，德羅圖單抗與 4D9 之四價雙抗原決定基組合 r:Fab-IgG 德羅圖單抗-4D9 介導最強促效活性水準。r:Fab-IgG 德羅圖單抗-4D9 促進兩個細胞株中之深遠凋亡蛋白酶 8 活性及針對 Colo205 細胞之抗增殖活性。儘管存在強凋亡蛋白酶 8 活性但此等試劑對 HT-29 細胞活力缺乏影響表明此細胞株對經由非固有死亡受體介導途徑進行信號傳導不敏感或具有弱敏感性。此與 Colo205 細胞株相反，其中由 r:Fab-IgG 德羅圖單抗-4D9、r:Fab-IgG 德羅圖單抗-德羅圖

單抗及達至次要程度IgG1德羅圖單抗引起之DR5促效及凋亡蛋白酶8活化導致對細胞增殖之抑制。儘管如此，總而言之，該資料支持出於治療目的而最佳靶向多價抗體形式中之多個抗原決定基以促效標靶受體。

【符號說明】

無

【序列表】

<110> Genentech, Inc.
LAZAR, Greg
YANG, Yanli
CHRISTENSEN, Erin H.
HANG, Julie
KIM, Jeong
HARRIS, Seth

<120> 具有促效活性之多價及多抗原決定基抗體以及使用方法

<130> 146392037740

<140> 未指定
<141> 與此同時

<150> 62/371,671
<151> 2016-08-05

<160> 303

<170> FastSEQ, Windows 第 4.0 版

<210> 1
<211> 249
<212> PRT
<213> 智人

<400> 1

```
Leu His Cys Val Gly Asp Thr Tyr Pro Ser Asn Asp Arg Cys Cys His
 1               5                  10                  15
Glu Cys Arg Pro Gly Asn Gly Met Val Ser Arg Cys Ser Arg Ser Gln
            20                  25                  30
Asn Thr Val Cys Arg Pro Cys Gly Pro Gly Phe Tyr Asn Asp Val Val
        35                  40                  45
Ser Ser Lys Pro Cys Lys Pro Cys Thr Trp Cys Asn Leu Arg Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Glu Arg Lys Gln Leu Cys Thr Ala Thr Gln Asp Thr Val Cys Arg
65                  70                  75                  80
Cys Arg Ala Gly Thr Gln Pro Leu Asp Ser Tyr Lys Pro Gly Val Asp
                85                  90                  95
```

```
Cys Ala Pro Cys Pro Pro Gly His Phe Ser Pro Gly Asp Asn Gln Ala
            100                 105                 110
Cys Lys Pro Trp Thr Asn Cys Thr Leu Ala Gly Lys His Thr Leu Gln
        115                 120                 125
Pro Ala Ser Asn Ser Ser Asp Ala Ile Cys Glu Asp Arg Asp Pro Pro
    130                 135                 140
Ala Thr Gln Pro Gln Glu Thr Gln Gly Pro Pro Ala Arg Pro Ile Thr
145                 150                 155                 160
Val Gln Pro Thr Glu Ala Trp Pro Arg Thr Ser Gln Gly Pro Ser Thr
                165                 170                 175
Arg Pro Val Glu Val Pro Gly Gly Arg Ala Val Ala Ala Ile Leu Gly
            180                 185                 190
Leu Gly Leu Val Leu Gly Leu Leu Gly Pro Leu Ala Ile Leu Leu Ala
        195                 200                 205
Leu Tyr Leu Leu Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys
    210                 215                 220
Pro Pro Gly Gly Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala
225                 230                 235                 240
Asp Ala His Ser Thr Leu Ala Lys Ile
                245
```

<210> 2
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 2
Asp Ser Tyr Met Ser
 1   5

<210> 3
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 3

Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg
1 5 10 15
Glu

<210> 4
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 4
Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val
1 5

<210> 5
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 5
Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 6
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 6
Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser
1 5

<210> 7
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 7
Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro Thr
1 5

<210> 8
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 8
Asp Ala Tyr Met Ser
1 5

<210> 9
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 9
Glu Ser Tyr Met Ser
1 5

<210> 10
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 10
Asp Met Tyr Pro Asp Asn Ala Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg
 1   5   10   15
Glu

<210> 11
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 11
Asp Met Tyr Pro Asp Asn Ala Asp Ala Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg
 1   5   10   15
Glu

<210> 12
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 12
Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ala Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg
 1   5   10   15
Glu

<210> 13
<211> 17
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 13
Asp Met Tyr Pro Asp Ser Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg
 1   5   10   15
Glu

<210> 14
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 14
Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Ser Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg
 1   5   10   15
Glu

<210> 15
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 15
Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Ala
 1   5

<210> 16
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 16
Ala Pro Arg Trp Tyr Ala Ser Val
1 5

<210> 17
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 17
Ala Pro Arg Trp Ala Phe Ser Val
1 5

<210> 18
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 18
Ala Pro Ala Trp Tyr Phe Ser Val
1 5

<210> 19
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 19

Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ala Val
1 5

<210> 20
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 20
Ala Pro Arg Ala Tyr Phe Ser Val
1 5

<210> 21
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 21
Ala Ala Arg Trp Tyr Phe Ser Val
1 5

<210> 22
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 22
Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Ala Thr
1 5

<210> 23

<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 23
Gln Gln Gly His Thr Ala Pro Pro Thr
1 5

<210> 24
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 24
Gln Gln Gly Ala Thr Leu Pro Pro Thr
1 5

<210> 25
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 25
Gln Gln Gly His Ala Leu Pro Pro Thr
1 5

<210> 26
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構建體

<400> 26
Gln Gln Ala His Thr Leu Pro Pro Thr
1 5

<210> 27
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 27
Gln Gln Gly His Thr Leu Ala Pro Thr
1 5

<210> 28
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 28
Gln Ala Gly His Thr Leu Pro Pro Thr
1 5

<210> 29
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 29
Asn Tyr Leu Ile Glu
1 5

<210> 30
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 30
Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 31
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 31
Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Ala Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 32
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 32
Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Gln Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 33
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 33
Asp Arg Leu Asp Tyr
1 5

<210> 34
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 34
Ala Arg Leu Asp Tyr
1 5

<210> 35
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 35
Asp Ala Leu Asp Tyr
1 5

<210> 36
<211> 5

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 36
Asp Arg Ala Asp Tyr
1 5

<210> 37
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 37
His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr Ile Val
1 5 10

<210> 38
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 38
His Gly Thr Asn Leu Glu Asp
1 5

<210> 39
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 39
His Gly Thr Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 40
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 40
His Gly Thr Asn Leu Glu Glu
1 5

<210> 41
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 41
His Gly Thr Asn Leu Glu Gln
1 5

<210> 42
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 42
Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr Thr
1 5

<210> 43
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 43
Ala His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr Thr
1 5

<210> 44
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 44
Val Ala Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr Thr
1 5

<210> 45
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 45
Val His Ala Ala Gln Phe Pro Tyr Thr
1 5

<210> 46
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 46
Val His Tyr Ala Ala Phe Pro Tyr Thr
1 5

<210> 47
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 47
Val His Tyr Ala Gln Ala Pro Tyr Thr
1 5

<210> 48
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 48
Val His Tyr Ala Gln Phe Ala Tyr Thr
1 5

<210> 49
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 49

Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Ala Thr
1 5

<210> 50
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 50
Asp Tyr Gly Val Leu
1 5

<210> 51
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 51
Met Ile Trp Ser Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Ile Ser
1 5 10 15

<210> 52
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 52
Glu Glu Met Asp Tyr
1 5

<210> 53

<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 53
Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Phe Leu Asn
 1   5   10

<210> 54
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 54
Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser
 1   5

<210> 55
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 55
Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr
 1   5

<210> 56
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構建體

<400> 56

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
            20                  25                  30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110
Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 57
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 57

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 58
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 58
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 59
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 59
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

```
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 60
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 60

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
            20                  25                  30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Arg Glu Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110
Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 61
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 61

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 62
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 62

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 63
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 63

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Thr Val Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 64
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 64

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
            20                  25                  30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
```

65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 65
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 65
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 66
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 66
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

```
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
            20                  25                  30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110
Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 67
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 67

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Thr Val Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 68
<211> 117

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 68
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 69
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 69
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 70
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 70
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ala
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 71
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 71
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 72
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 72
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Ser
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 73
<211> 107
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 73

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 74
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 74

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
            20                  25                  30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Ala Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
```

100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 75
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 75
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 76
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 76
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

```
        35                  40                  45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Ala Asp Ala Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110
Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 77
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 77

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 78
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構建體

<400> 78

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
            20                  25                  30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ala Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110
Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 79
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 79

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 80
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 80
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Ser Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 81
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 81
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 82
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 82
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Ser Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 83
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 83

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 84
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 84

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ala
            20                  25                  30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Ala Asp Ala Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110
Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 85
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 85
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 86
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 86
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 87
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 87
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Ala
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 88
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 88
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

```
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
            20                  25                  30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110
Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 89
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 89

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Ala Pro Pro
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 90
<211> 117

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 90
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1   5   10   15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
            20   25   30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35   40   45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
    50   55   60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65   70   75   80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85   90   95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100   105   110
Val Thr Val Ser Ser
        115

<210> 91
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 91
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1   5   10   15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
            20   25   30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35   40   45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50   55   60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65   70   75   80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ala Thr Leu Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 92
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 92
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 93
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 93
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Ala Leu Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 94
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 94
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 95
<211> 107
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 95
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1   5   10   15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
            20   25   30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35   40   45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50   55   60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65   70   75   80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala His Thr Leu Pro Pro
                85   90   95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100   105

<210> 96
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 96
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1   5   10   15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
            20   25   30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35   40   45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
    50   55   60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65   70   75   80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85   90   95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 97
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 97
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Ala Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 98
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 98
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

```
        35                  40                  45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110
Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 99
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 99

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ala Gly His Thr Leu Pro Pro
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 100
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構建體

<400> 100

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
            20                  25                  30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110
Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 101
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 101

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 102
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 102
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Ala Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 103
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 103
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

```
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 104
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 104

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
            20                  25                  30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Ala Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110
Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 105
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 105

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 106
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 106

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
            20                  25                  30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Val Leu Ala Pro Ala Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110
Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 107
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 107
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 108
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 108
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ala Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 109
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 109
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 110
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 110
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

```
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
            20                  25                  30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Val Leu Ala Pro Arg Ala Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110
Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 111
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 111

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 112
<211> 117

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 112
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Leu Ala Ala Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 113
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 113
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

```
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 114
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 114

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
            20                  25                  30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110
Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 115
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 115

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

```
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 116
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 116

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
            20                  25                  30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Val Ala Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110
Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 117
<211> 107
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 117

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 118
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 118

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
```

100 105 110

Ser Ser

<210> 119
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 119

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 120
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 120

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

```
        35                  40                  45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
            100                 105                 110
Ser Ser
```

<210> 121
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 121

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 122
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構建體

<400> 122

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
            100                 105                 110
Ser Ser
```

<210> 123
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 123

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 124
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 124

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
            100                 105                 110
Ser Ser
```

<210> 125
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 125

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
        35                  40                  45
```

```
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 126
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 126

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
            100                 105                 110
Ser Ser
```

<210> 127
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 127

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 128
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 128

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
            100                 105                 110
Ser Ser
```

<210> 129
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 129
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
35 40 45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 130
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 130
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110
Ser Ser

<210> 131
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 131
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
35 40 45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 132
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 132
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

```
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
            100                 105                 110
Ser Ser
```

<210> 133
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 133

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Gln Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 134
<211> 114

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 134
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110
Ser Ser

<210> 135
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 135
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
35 40 45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Ala Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 136
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 136
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110
Ser Ser

<210> 137
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 137
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

```
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Ala Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 138
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 138

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
            100                 105                 110
Ser Ser
```

<210> 139
<211> 107
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 139
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1   5   10   15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
            20   25   30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
        35   40   45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50   55   60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65   70   75   80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
                85   90   95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100   105

<210> 140
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 140
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1   5   10   15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
            20   25   30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35   40   45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
    50   55   60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65   70   75   80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85   90   95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

100 105 110
Ser Ser

<210> 141
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 141
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 142
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 142
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

```
        35                  40                  45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
            100                 105                 110
Ser Ser
```

<210> 143
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 143

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Phe Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 144
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構建體

<400> 144

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
            100                 105                 110
Ser Ser
```

<210> 145
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 145

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Gly Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 146
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 146
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110
Ser Ser

<210> 147
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 147
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
35 40 45

Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 148
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 148
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110
Ser Ser

<210> 149
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 149

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val Ala Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 150
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 150

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
            100                 105                 110
Ser Ser
```

<210> 151
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 151
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
35 40 45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Ala Ala Gln Phe Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 152
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 152
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110
Ser Ser

<210> 153
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 153
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
35 40 45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Ala Phe Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 154
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 154
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

```
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
            100                 105                 110
Ser Ser
```

<210> 155
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 155

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Ala Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 156
<211> 114

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 156
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1   5   10   15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
            20   25   30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35   40   45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
    50   55   60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65   70   75   80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85   90   95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
            100   105   110
Ser Ser

<210> 157
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 157
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1   5   10   15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
            20   25   30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
        35   40   45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50   55   60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65   70   75   80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Ala Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 158
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 158
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110
Ser Ser

<210> 159
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 159
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
35 40 45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Ala
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 160
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 160
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ala Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110
Ser Ser

<210> 161
<211> 107
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 161
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1   5   10   15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
            20   25   30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
        35   40   45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50   55   60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65   70   75   80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
                85   90   95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100   105

<210> 162
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 162
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1   5   10   15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
            20   25   30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35   40   45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
    50   55   60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65   70   75   80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85   90   95
Ala Arg Asp Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

100 105 110
Ser Ser

<210> 163
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 163
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
35 40 45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 164
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 164
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

```
        35                  40                  45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Asp Arg Ala Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
            100                 105                 110
Ser Ser
```

<210> 165
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 165

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 166
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構建體

<400> 166

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr
20 25 30
Gly Val Leu Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Met Ile Trp Ser Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Ile
50 55 60
Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val
85 90 95
Arg Glu Glu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110
Ser

<210> 167
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 167

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Phe
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 168
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 168

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Glu
1				5				10					15		
Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Thr	Asp	Tyr
			20					25				30			
Gly	Val	Leu	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile
		35					40				45				
Gly	Met	Ile	Trp	Ser	Gly	Gly	Thr	Thr	Asp	Tyr	Asn	Ala	Ala	Phe	Ile
	50					55				60					
Ser	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Lys	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu
65					70				75						80
Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val
				85					90					95	
Arg	Glu	Glu	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser
			100					105				110			
Ser															

<210> 169
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 169

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5				10					15	
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Asp	Ile	Ser	Asn	Phe
			20					25				30		
Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
		35					40				45			

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 170
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 170
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr
20 25 30
Gly Val Leu Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45
Gly Met Ile Trp Ser Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Ile
50 55 60
Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val
85 90 95
Arg Glu Glu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110
Ser

<210> 171
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 171

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Phe
            20                  25                  30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 172
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<220>
<221> 變體
<222> 1
<223> Xaa = Asp 或 Glu

<220>
<221> 變體
<222> 2
<223> Xaa = Ser 或 Ala

<400> 172

```
Xaa Xaa Tyr Met Ser
 1               5
```

<210> 173
<211> 17
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<220>
<221> 變體
<222> 6
<223> Xaa = Asn 或 Ser

<220>
<221> 變體
<222> 7
<223> Xaa = Ala 或 Gly

<220>
<221> 變體
<222> 8
<223> Xaa = Asp 或 Ser

<220>
<221> 變體
<222> 9
<223> Xaa = Ala 或 Ser

<400> 173
Asp Met Tyr Pro Asp Xaa Xaa Xaa Xaa Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg
 1   5   10   15
Glu

<210> 174
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<220>
<221> 變體
<222> 5
<223> Xaa = Tyr 或 Ala

<220>
<221> 變體
<222> 6
<223> Xaa = Ala 或 Phe

<220>
<221> 變體
<222> 7
<223> Xaa = Ser 或 Ala

<220>
<221> 變體
<222> 8
<223> Xaa = Ala 或 Val

<400> 174
Ala Pro Arg Trp Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 175
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<220>
<221> 變體
<222> 2
<223> Xaa = Ala 或 Gln

<220>
<221> 變體
<222> 3
<223> Xaa = Ala 或 Gly

<220>
<221> 變體
<222> 4
<223> Xaa = Ala 或 His

<220>
<221> 變體
<222> 5
<223> Xaa = Ala 或 Thr

<220>
<221> 變體
<222> 6
<223> Xaa = Ala 或 Leu

<220>
<221> 變體
<222> 7
<223> Xaa = Ala 或 Pro

<220>
<221> 變體
<222> 8
<223> Xaa = Ala 或 Pro

<400> 175
Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Thr
1 5

<210> 176
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<220>
<221> 變體
<222> 9
<223> Xaa = Thr、Ala 或 Gln

<400> 176
Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Xaa Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 177
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<220>
<221> 變體
<222> 7
<223> Xaa = Ser、Glu 或 Gln

<400> 177
His Gly Thr Asn Leu Glu Xaa
1 5

<210> 178
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<220>
<221> 變體
<222> 1
<223> Xaa = Val 或 Ala

<220>
<221> 變體
<222> 2
<223> Xaa = His 或 Ala

<220>
<221> 變體
<222> 9
<223> Xaa = Tyr 或 Ala

<400> 178
Xaa Xaa Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr Xaa

1 5

<210> 179
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 179
Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Phe Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Ala Tyr Phe Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 180
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 180
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Thr Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

```
    50                  55                  60
Arg Glu Lys Val Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Met Glu Phe Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr
            100                 105                 110
Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 181
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 181

```
Asp Ile Leu Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Ser Val Ser Leu Gly
 1               5                  10                  15
Asp Thr Val Ser Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Ile Val Trp Leu Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Arg Gly Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Ala Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ser
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 182
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 182
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Leu Ile Glu Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val
100 105 110
Ser Ser

<210> 183
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 183
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Arg Glu Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 184
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 184
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Arg Glu Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 185
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 185
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Asp Arg Tyr Ser Gln Val His Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445
Pro Gly Lys
450

<210> 186
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 186
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Ala Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr
85 90 95
Tyr Asn His Pro Thr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

195 200 205
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 187
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 187
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Ala Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr
85 90 95
Tyr Asn His Pro Thr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 188
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 188

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
 1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ser Ala Ile Gly Thr Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Met
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65                  70                  75                  80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95
Arg Tyr Asp Asn Val Met Gly Leu Tyr Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130                 135                 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    210                 215                 220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
```

```
        275                 280                 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
                325                 330                 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445
Gly Lys
    450
```

<210> 189
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 189

```
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1               5                  10                  15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65                  70                  75                  80
```

```
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
                85                  90                  95
Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 190
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 190

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Glu Ser Gly Trp Tyr Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
```

<210> 191
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 191
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 192
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 192
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val

```
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Lys Asp Gln Ser Thr Ala Asp Tyr Tyr Phe Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110
Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 193
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 193

```
Glu Ile Val Val Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1               5                  10                  15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Thr
                85                  90                  95
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 194
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 194

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Ser Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Thr Glu Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Asn Pro Tyr Tyr Asp Tyr Val Ser Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 195
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 195

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Tyr Leu Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Arg
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 196
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 196

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu Tyr Glu Phe Pro Ser His
            20                  25                  30
Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Leu Val
        35                  40                  45
Ala Ala Ile Asn Ser Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Met
    50                  55                  60
Glu Arg Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg His Tyr Asp Asp Tyr Tyr Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 197
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 197

```
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1               5                  10                  15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
            20                  25                  30
Gly Tyr Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
        35                  40                  45
Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
    50                  55                  60
```

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80
Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
85 90 95
Glu Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 198
<211> 469
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 198
Met Tyr Leu Gly Leu Asn Tyr Val Phe Ile Val Phe Leu Leu Asn Gly
1 5 10 15
Val Gln Ser Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30
Pro Gly Gly Ser Met Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45
Ser Asp Ala Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu
50 55 60
Glu Trp Val Ala Glu Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn His Ala Thr Tyr
65 70 75 80
Tyr Ala Glu Ser Val Asn Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
85 90 95
Lys Ser Ser Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
100 105 110
Gly Ile Tyr Tyr Cys Thr Trp Gly Glu Val Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp
115 120 125
Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
130 135 140
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
145 150 155 160
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
165 170 175
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
180 185 190
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
195 200 205
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Thr Cys Asn Val

210 215 220
Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
225 230 235 240
Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
245 250 255
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
260 265 270
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
275 280 285
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
290 295 300
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
305 310 315 320
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
325 330 335
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
340 345 350
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
355 360 365
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
370 375 380
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
385 390 395 400
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
405 410 415
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
420 425 430
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
435 440 445
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
450 455 460
Leu Ser Pro Gly Lys
465

<210> 199
<211> 233
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 199

Met Arg Pro Ser Ile Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Phe Trp Leu His
1 5 10 15
Gly Ala Gln Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30
Ala Ser Leu Gly Gly Lys Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Asp
35 40 45
Ile Asn Lys Tyr Ile Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Gly Pro
50 55 60
Arg Leu Leu Ile His Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Pro Gly Ile Pro Ser
65 70 75 80
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Arg Asp Tyr Ser Phe Ser Ile Ser
85 90 95
Asn Leu Glu Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp
100 105 110
Asn Leu Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr
115 120 125
Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
130 135 140
Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
145 150 155 160
Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
165 170 175
Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
180 185 190
Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
195 200 205
Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
210 215 220
Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 200
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 200
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

```
            20                  25                  30
Val Met His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Asn Tyr Tyr Gly Ser Ser Leu Ser Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110
Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 201
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 201

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65                  70                  75                  80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
            100                 105
```

<210> 202
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 202
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Lys Asp Tyr
20 25 30
Thr Met His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Gly Ile Tyr Pro Asn Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Asn Gln Asn Phe
50 55 60
Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Phe Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Met Gly Tyr His Gly Pro His Leu Asp Phe Asp Val Trp Gly
100 105 110
Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Pro
115 120

<210> 203
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 203
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Ala Ala
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Leu Thr Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ile Asn Tyr Pro Leu
85 90 95

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

<210> 204
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 204
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ser Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Asn Tyr Tyr Gly Ser Ser Leu Ser Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 205
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 205
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 206
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 206
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 207
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 207

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Ala Thr Ile Thr Ser Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Asn Tyr Tyr Gly Ser Ser Leu Ser Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 208
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 208

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Asn Tyr Tyr Gly Ser Ser Leu Ser Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 209
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 209
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Lys Asp Tyr
20 25 30
Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Tyr Pro Asn Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Asn Gln Asn Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Met Gly Tyr His Gly Pro His Leu Asp Phe Asp Val Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 210
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 210
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Ala Ala
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

```
        35                  40                  45
Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ile Asn Tyr Pro Leu
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
            100                 105
```

<210> 211
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 211

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Ala Ala
            20                  25                  30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ile Asn Tyr Pro Leu
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
            100                 105
```

<210> 212
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 212

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Lys Asp Tyr
            20                  25                  30
Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Gly Ile Tyr Pro Asn Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60
Lys Asp Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Met Gly Tyr His Gly Pro His Leu Asp Phe Asp Val Trp Gly
            100                 105                 110
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 213
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 213

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Lys Asp Tyr
            20                  25                  30
Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Gly Ile Tyr Pro Asn Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Asn Gln Asn Phe
    50                  55                  60
Lys Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Met Gly Tyr His Gly Pro His Leu Asp Phe Asp Val Trp Gly
            100                 105                 110
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 214
<211> 138
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 214

```
Met Tyr Leu Gly Leu Asn Tyr Val Phe Ile Val Phe Leu Leu Asn Gly
 1               5                  10                  15
Val Gln Ser Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
            20                  25                  30
Pro Gly Gly Ser Met Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
        35                  40                  45
Ser Asp Ala Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu
    50                  55                  60
Glu Trp Val Ala Glu Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn His Ala Thr Tyr
65                  70                  75                  80
Tyr Ala Glu Ser Val Asn Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
                85                  90                  95
Lys Ser Ser Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
            100                 105                 110
Gly Ile Tyr Tyr Cys Thr Trp Gly Glu Val Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp
        115                 120                 125
Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
    130                 135
```

<210> 215
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 215

```
Met Arg Pro Ser Ile Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Phe Trp Leu His
 1               5                  10                  15
Gly Ala Gln Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
            20                  25                  30
```

```
Ala Ser Leu Gly Gly Lys Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Asp
        35                  40                  45
Ile Asn Lys Tyr Ile Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Gly Pro
    50                  55                  60
Arg Leu Leu Ile His Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Pro Gly Ile Pro Ser
65                  70                  75                  80
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Arg Asp Tyr Ser Phe Ser Ile Ser
                85                  90                  95
Asn Leu Glu Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp
            100                 105                 110
Asn Leu Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
        115                 120                 125
```

<210> 216
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 216
```
Asp Met Tyr Pro Asp Ala Ala Ala Ala Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg
 1               5                  10                  15
Glu
```

<210> 217
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 217
```
Ala Pro Arg Trp Ala Ala Ala Ala
 1               5
```

<210> 218
<211> 9

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 218
Gln Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Thr
 1   5

<210> 219
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 219
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
 1   5   10   15
Gly Gly Pro

<210> 220
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 220
Gly Gly Gly Ser
 1

<210> 221
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 221
Ser Gly Gly Gly
 1

<210> 222
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 222
Gly Gly Gly Gly Ser
 1   5

<210> 223
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 223
Ser Gly Gly Gly Gly
 1   5

<210> 224
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 224
Gly Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 225
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 225
Ser Gly Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> 226
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 226
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 227
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 227
Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> 228
<211> 5

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<220>
<221> 變體
<222> 1, 2, 3, 4, 5
<223> 可呈至少 1 個且多達 2、3、4、5、6、7、8、9、10、15 或 20 個之重複序列存在

<400> 228
Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 229
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<220>
<221> 變體
<222> 1, 2, 3, 4, 5
<223> 可呈至少 1 個且多達 2、3、4、5、6、7、8、9、10、15 或 20 個之重複序列存在

<400> 229
Ser Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> 230
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 230

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205
Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

```
            340                 345                 350
Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
        355                 360                 365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
    370                 375                 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385                 390                 395                 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
                405                 410                 415
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
            420                 425                 430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
        435                 440                 445
```

<210> 231
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 231

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160
```

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 232
<211> 444
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 232
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110
Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
115 120 125
Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
130 135 140
Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
145 150 155 160
Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
165 170 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
180 185 190
Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val

```
        195                 200                 205
Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
    210                 215                 220
Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
225                 230                 235                 240
Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
                245                 250                 255
Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
            260                 265                 270
Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
        275                 280                 285
Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
    290                 295                 300
Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
305                 310                 315                 320
Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
                325                 330                 335
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
            340                 345                 350
Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
        355                 360                 365
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
    370                 375                 380
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
385                 390                 395                 400
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
                405                 410                 415
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
            420                 425                 430
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
        435                 440
```

<210> 233
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 233

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

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

<210> 234
<211> 220
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 234
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

```
    50                  55                  60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
        115                 120                 125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
    130                 135                 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145                 150                 155                 160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
                165                 170                 175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
            180                 185                 190
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
        195                 200                 205
Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
    210                 215                 220
```

<210> 235
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 235

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
```

```
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
            100                 105                 110
Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
        115                 120                 125
Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
    130                 135                 140
Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
145                 150                 155                 160
Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
                165                 170                 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
            180                 185                 190
Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
        195                 200                 205
Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
    210                 215
```

<210> 236
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 236

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
```

130 135 140
Lys Val Gln Trp Cys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 237
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 237
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
35 40 45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Cys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 238
<211> 226
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 238
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110
Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
115 120 125
Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
130 135 140
Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
145 150 155 160
Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
165 170 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
180 185 190
Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
195 200 205
Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Ser Pro

210 215 220
Pro Cys
225

<210> 239
<211> 229
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 239
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205
Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220
Thr Ser Pro Pro Cys
225

<210> 240.
<211> 571
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 240

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
            20                  25                  30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110
Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
        115                 120                 125
Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser
    130                 135                 140
Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr Leu
145                 150                 155                 160
Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
                165                 170                 175
Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe Lys
            180                 185                 190
Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Leu
        195                 200                 205
Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
    210                 215                 220
Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
225                 230                 235                 240
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
                245                 250                 255
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
```

260 265 270
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
275 280 285
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
290 295 300
Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
305 310 315 320
Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
325 330 335
Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
340 345 350
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
355 360 365
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
370 375 380
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
385 390 395 400
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
405 410 415
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
420 425 430
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
435 440 445
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
450 455 460
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
465 470 475 480
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
485 490 495
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
500 505 510
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
515 520 525
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
530 535 540
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
545 550 555 560
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
565 570

<210> 241
<211> 331
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 241

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
            100                 105                 110
Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu
        115                 120                 125
Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln
    130                 135                 140
Asp Ile Ser Ser Tyr Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser
145                 150                 155                 160
Phe Lys Gly Leu Ile Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro
                165                 170                 175
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
            180                 185                 190
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr
        195                 200                 205
Ala Gln Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
    210                 215                 220
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
225                 230                 235                 240
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
                245                 250                 255
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
            260                 265                 270
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
        275                 280                 285
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
    290                 295                 300
```

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
305 310 315 320
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
325 330

<210> 242
<211> 571
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 242
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110
Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
115 120 125
Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val
130 135 140
Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser Tyr Met Ser Trp
145 150 155 160
Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asp Met Tyr
165 170 175
Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg Glu Arg Val
180 185 190
Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Leu Glu Leu Ser
195 200 205
Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Leu Ala Pro
210 215 220
Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser

225 230 235 240
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
245 250 255
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
260 265 270
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
275 280 285
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
290 295 300
Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
305 310 315 320
Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
325 330 335
Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
340 345 350
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
355 360 365
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
370 375 380
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
385 390 395 400
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
405 410 415
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
420 425 430
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
435 440 445
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
450 455 460
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
465 470 475 480
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
485 490 495
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
500 505 510
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
515 520 525
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
530 535 540
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
545 550 555 560
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
565 570

<210> 243
<211> 331
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 243

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
            100                 105                 110
Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu
        115                 120                 125
Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln
    130                 135                 140
Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
145                 150                 155                 160
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro
                165                 170                 175
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
            180                 185                 190
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly
        195                 200                 205
His Thr Leu Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
    210                 215                 220
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
225                 230                 235                 240
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
                245                 250                 255
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
            260                 265                 270
```

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
275 280 285
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
290 295 300
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
305 310 315 320
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
325 330

<210> 244
<211> 675
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 244
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Lys Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Glu Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn

195 200 205

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

210 215 220

Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly

225 230 235 240

Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala

245 250 255

Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr Leu Ile Glu Trp Val Arg Glu Ala

260 265 270

Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly

275 280 285

Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala

290 295 300

Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser

305 310 315 320

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp

325 330 335

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

340 345 350

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

355 360 365

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

370 375 380

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

385 390 395 400

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Lys Ser Val Val Thr

405 410 415

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

420 425 430

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

435 440 445

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

450 455 460

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

465 470 475 480

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

485 490 495

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

500 505 510

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

515 520 525

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

530 535 540

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

545 550 555 560
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
565 570 575
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
580 585 590
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
595 600 605
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
610 615 620
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
625 630 635 640
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
645 650 655
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
660 665 670
Ser Pro Gly
675

<210> 245
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 245
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Lys Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 246
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 246
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Ile Val Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
35 40 45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Glu Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

```
                165                 170                 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 247
<211> 675
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 247

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

Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Gly Gly
210 215 220
Gly Gly Ser Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
225 230 235 240
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
245 250 255
Thr Phe Thr Asp Ser Tyr Met Ser Trp Val Arg Glu Ala Pro Gly Gln
260 265 270
Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser
275 280 285
Tyr Asn Gln Lys Phe Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser
290 295 300
Thr Ser Thr Ala Tyr Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr
305 310 315 320
Ala Val Tyr Tyr Cys Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp
325 330 335
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
340 345 350
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
355 360 365
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
370 375 380
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
385 390 395 400
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Lys Ser Val Val Thr
405 410 415
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
420 425 430
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
435 440 445
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
450 455 460
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
465 470 475 480
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
485 490 495
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
500 505 510
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
515 520 525
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
530 535 540
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
545 550 555 560

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
565 570 575
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
580 585 590
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
595 600 605
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
610 615 620
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
625 630 635 640
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
645 650 655
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
660 665 670
Ser Pro Gly
675

<210> 248
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 248
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Ile Val Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
35 40 45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Lys Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 249
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 249
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Glu Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 250
<211> 567
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 250
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110
Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly
115 120 125
Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala
130 135 140
Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala
145 150 155 160
Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly
165 170 175
Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg
180 185 190
Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser
195 200 205
Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe

210 215 220
Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
225 230 235 240
Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
245 250 255
Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
260 265 270
Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
275 280 285
Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
290 295 300
Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
305 310 315 320
Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
325 330 335
Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
340 345 350
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
355 360 365
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
370 375 380
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
385 390 395 400
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
405 410 415
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
420 425 430
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
435 440 445
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
450 455 460
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
465 470 475 480
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
485 490 495
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
500 505 510
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
515 520 525
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
530 535 540
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
545 550 555 560
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

<210> 251
<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 251

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Ser Gly Gly
            100                 105                 110
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
        115                 120                 125
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
    130                 135                 140
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
145                 150                 155                 160
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
                165                 170                 175
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
            180                 185                 190
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
        195                 200                 205
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
    210                 215                 220
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
225                 230                 235                 240
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
                245                 250                 255
```

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
260 265 270
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
275 280 285
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
290 295 300
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
305 310 315 320
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
325

<210> 252
<211> 575
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 252
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110
Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
130 135 140
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
145 150 155 160
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
165 170 175
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

180 185 190
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
195 200 205
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
210 215 220
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
225 230 235 240
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
245 250 255
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
260 265 270
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
275 280 285
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
290 295 300
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
305 310 315 320
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
325 330 335
Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
340 345 350
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
355 360 365
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
370 375 380
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
385 390 395 400
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
405 410 415
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
420 425 430
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
435 440 445
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
450 455 460
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
465 470 475 480
Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
485 490 495
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
500 505 510
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
515 520 525
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

530 535 540
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
545 550 555 560
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
565 570 575

<210> 253
<211> 334
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 253
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
35 40 45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Ser Gly Gly
100 105 110
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
115 120 125
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg
130 135 140
Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
145 150 155 160
Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser
165 170 175
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
180 185 190
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
195 200 205
Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val
210 215 220

Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
225 230 235 240
Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
245 250 255
Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
260 265 270
Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
275 280 285
Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
290 295 300
Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
305 310 315 320
Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
325 330

<210> 254
<211> 567
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 254
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110
Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly
115 120 125
Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala
130 135 140
Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala

145 150 155 160
Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly
165 170 175
Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg
180 185 190
Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser
195 200 205
Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe
210 215 220
Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
225 230 235 240
Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
245 250 255
Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
260 265 270
Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
275 280 285
Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
290 295 300
Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
305 310 315 320
Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
325 330 335
Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
340 345 350
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
355 360 365
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
370 375 380
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
385 390 395 400
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
405 410 415
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
420 425 430
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
435 440 445
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
450 455 460
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
465 470 475 480
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
485 490 495
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

```
            500                 505                 510
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
        515                 520                 525
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
    530                 535                 540
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
545                 550                 555                 560
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
                565
```

<210> 255
<211> 327
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 255

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro
195 200 205
Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
210 215 220
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
225 230 235 240
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
245 250 255
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
260 265 270
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
275 280 285
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
290 295 300
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
305 310 315 320
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
325

<210> 256
<211> 574
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 256
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110
Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Glu

115 120 125
Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser
130 135 140
Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser Tyr
145 150 155 160
Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
165 170 175
Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg
180 185 190
Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Leu
195 200 205
Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val
210 215 220
Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
225 230 235 240
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
245 250 255
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
260 265 270
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
275 280 285
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
290 295 300
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
305 310 315 320
Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
325 330 335
Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
340 345 350
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
355 360 365
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
370 375 380
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
385 390 395 400
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
405 410 415
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
420 425 430
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
435 440 445
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
450 455 460
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

```
465                 470                 475                 480
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
                485                 490                 495
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
            500                 505                 510
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
        515                 520                 525
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
    530                 535                 540
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
545                 550                 555                 560
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
                565                 570
```

<210> 257
<211> 334
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 257

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
        115                 120                 125
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg
    130                 135                 140
Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
145                 150                 155                 160
```

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser
165 170 175
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
180 185 190
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
195 200 205
Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val
210 215 220
Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
225 230 235 240
Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
245 250 255
Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
260 265 270
Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
275 280 285
Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
290 295 300
Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
305 310 315 320
Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
325 330

<210> 258
<211> 571
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 258
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110
Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
115 120 125
Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val
130 135 140
Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser Tyr Ile Ser Trp
145 150 155 160
Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asp Met Tyr
165 170 175
Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg Glu Arg Val
180 185 190
Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Leu Glu Leu Ser
195 200 205
Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Leu Ala Pro
210 215 220
Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
225 230 235 240
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
245 250 255
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
260 265 270
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
275 280 285
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
290 295 300
Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
305 310 315 320
Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
325 330 335
Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
340 345 350
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
355 360 365
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
370 375 380
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
385 390 395 400
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
405 410 415
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
420 425 430
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

```
        435                 440                 445
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
    450                 455                 460
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
465                 470                 475                 480
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
                485                 490                 495
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
            500                 505                 510
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
        515                 520                 525
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
    530                 535                 540
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
545                 550                 555                 560
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
                565                 570
```

<210> 259
<211> 331
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 259

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
            100                 105                 110
Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu
        115                 120                 125
```

Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln
130 135 140
Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
145 150 155 160
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Tyr Leu Arg Ser Gly Val Pro
165 170 175
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
180 185 190
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly
195 200 205
His Thr Leu Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
210 215 220
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
225 230 235 240
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
245 250 255
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
260 265 270
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
275 280 285
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
290 295 300
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
305 310 315 320
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
325 330

<210> 260
<211> 571
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 260
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ile Tyr
20 25 30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe

50 55 60
Leu Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110
Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
115 120 125
Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val
130 135 140
Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser Tyr Met Ser Trp
145 150 155 160
Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asp Met Tyr
165 170 175
Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg Glu Arg Val
180 185 190
Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Leu Glu Leu Ser
195 200 205
Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Leu Ala Pro
210 215 220
Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
225 230 235 240
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
245 250 255
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
260 265 270
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
275 280 285
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
290 295 300
Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
305 310 315 320
Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
325 330 335
Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
340 345 350
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
355 360 365
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
370 375 380
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
385 390 395 400
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg

405 410 415
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
420 425 430
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
435 440 445
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
450 455 460
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
465 470 475 480
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
485 490 495
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
500 505 510
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
515 520 525
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
530 535 540
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
545 550 555 560
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
565 570

<210> 261
<211> 331
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 261
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
35 40 45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
100 105 110
Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu
115 120 125
Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln
130 135 140
Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
145 150 155 160
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro
165 170 175
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
180 185 190
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly
195 200 205
His Thr Leu Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
210 215 220
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
225 230 235 240
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
245 250 255
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
260 265 270
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
275 280 285
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
290 295 300
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
305 310 315 320
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
325 330

<210> 262
<211> 571
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 262
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ile Tyr

20 25 30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60
Leu Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110
Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
115 120 125
Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val
130 135 140
Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser Tyr Ile Ser Trp
145 150 155 160
Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asp Met Tyr
165 170 175
Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg Glu Arg Val
180 185 190
Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Leu Glu Leu Ser
195 200 205
Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Leu Ala Pro
210 215 220
Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
225 230 235 240
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
245 250 255
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
260 265 270
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
275 280 285
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
290 295 300
Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
305 310 315 320
Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
325 330 335
Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
340 345 350
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
355 360 365
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr

```
    370                 375                 380
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
385                 390                 395                 400
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
                405                 410                 415
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
            420                 425                 430
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
        435                 440                 445
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
    450                 455                 460
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
465                 470                 475                 480
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
                485                 490                 495
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
            500                 505                 510
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
        515                 520                 525
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
    530                 535                 540
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
545                 550                 555                 560
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
                565                 570
```

<210> 263
<211> 331
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 263

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
```

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
100 105 110
Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu
115 120 125
Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln
130 135 140
Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
145 150 155 160
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Tyr Leu Arg Ser Gly Val Pro
165 170 175
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
180 185 190
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly
195 200 205
His Thr Leu Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
210 215 220
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
225 230 235 240
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
245 250 255
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
260 265 270
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
275 280 285
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
290 295 300
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
305 310 315 320
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
325 330

<210> 264
<211> 571
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 264

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ile Tyr
            20                  25                  30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
    50                  55                  60
Leu Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
            100                 105                 110
Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
        115                 120                 125
Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val
    130                 135                 140
Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser Tyr Met Ser Trp
145                 150                 155                 160
Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asp Met Tyr
                165                 170                 175
Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg Glu Arg Val
            180                 185                 190
Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Leu Glu Leu Ser
        195                 200                 205
Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Leu Ala Ala
    210                 215                 220
Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
225                 230                 235                 240
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
                245                 250                 255
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
            260                 265                 270
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
        275                 280                 285
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
    290                 295                 300
Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
305                 310                 315                 320
Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
                325                 330                 335
Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
```

```
            340                 345                 350
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
        355                 360                 365
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
    370                 375                 380
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
385                 390                 395                 400
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
                405                 410                 415
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
            420                 425                 430
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
        435                 440                 445
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
    450                 455                 460
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
465                 470                 475                 480
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
                485                 490                 495
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
            500                 505                 510
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
        515                 520                 525
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
    530                 535                 540
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
545                 550                 555                 560
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
                565                 570
```

<210> 265
<211> 331
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 265

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
```

Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
35 40 45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
100 105 110
Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu
115 120 125
Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln
130 135 140
Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
145 150 155 160
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro
165 170 175
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
180 185 190
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly
195 200 205
His Thr Leu Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
210 215 220
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
225 230 235 240
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
245 250 255
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
260 265 270
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
275 280 285
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
290 295 300
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
305 310 315 320
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
325 330

<210> 266
<211> 571
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 266

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
            100                 105                 110
Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
        115                 120                 125
Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val
    130                 135                 140
Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser Tyr Met Ser Trp
145                 150                 155                 160
Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asp Met Tyr
                165                 170                 175
Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg Glu Arg Val
            180                 185                 190
Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Leu Glu Leu Ser
        195                 200                 205
Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Leu Ala Ala
    210                 215                 220
Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
225                 230                 235                 240
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
                245                 250                 255
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
            260                 265                 270
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
        275                 280                 285
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
    290                 295                 300
Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
```

305 310 315 320
Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
325 330 335
Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
340 345 350
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
355 360 365
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
370 375 380
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
385 390 395 400
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
405 410 415
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
420 425 430
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
435 440 445
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
450 455 460
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
465 470 475 480
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
485 490 495
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
500 505 510
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
515 520 525
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
530 535 540
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
545 550 555 560
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
565 570

<210> 267
<211> 331
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 267

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Ile Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe Lys Gly Leu Ile
35 40 45
Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val His Tyr Ala Gln Phe Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
100 105 110
Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu
115 120 125
Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln
130 135 140
Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
145 150 155 160
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro
165 170 175
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
180 185 190
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly
195 200 205
His Thr Leu Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
210 215 220
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
225 230 235 240
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
245 250 255
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
260 265 270
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
275 280 285
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
290 295 300
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
305 310 315 320
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
325 330

<210> 268
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 268
Asp Lys Thr His Thr
1 5

<210> 269
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 269
Asp Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
1 5 10

<210> 270
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 270
Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5

<210> 271
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 271
Gly Gly Ser Gly Gly
1 5

<210> 272
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 272
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 273
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 273
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
1 5 10

<210> 274
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 274
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 275
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 275
Ala Ser Thr Lys Gly Pro
1 5

<210> 276
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 276
Arg Thr Val Ala Ala Pro
1 5

<210> 277
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 277
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
1 5 10

<210> 278
<211> 13

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 278
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
1 5 10

<210> 279
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 279
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 280
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 280
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 281
<211> 277
<212> PRT
<213> 智人

<400> 281

```
Met Cys Val Gly Ala Arg Arg Leu Gly Arg Gly Pro Cys Ala Ala Leu
 1               5                  10                  15
Leu Leu Leu Gly Leu Gly Leu Ser Thr Val Thr Gly Leu His Cys Val
            20                  25                  30
Gly Asp Thr Tyr Pro Ser Asn Asp Arg Cys Cys His Glu Cys Arg Pro
        35                  40                  45
Gly Asn Gly Met Val Ser Arg Cys Ser Arg Ser Gln Asn Thr Val Cys
    50                  55                  60
Arg Pro Cys Gly Pro Gly Phe Tyr Asn Asp Val Val Ser Ser Lys Pro
65                  70                  75                  80
Cys Lys Pro Cys Thr Trp Cys Asn Leu Arg Ser Gly Ser Glu Arg Lys
                85                  90                  95
Gln Leu Cys Thr Ala Thr Gln Asp Thr Val Cys Arg Cys Arg Ala Gly
            100                 105                 110
Thr Gln Pro Leu Asp Ser Tyr Lys Pro Gly Val Asp Cys Ala Pro Cys
        115                 120                 125
Pro Pro Gly His Phe Ser Pro Gly Asp Asn Gln Ala Cys Lys Pro Trp
    130                 135                 140
Thr Asn Cys Thr Leu Ala Gly Lys His Thr Leu Gln Pro Ala Ser Asn
145                 150                 155                 160
Ser Ser Asp Ala Ile Cys Glu Asp Arg Asp Pro Pro Ala Thr Gln Pro
                165                 170                 175
Gln Glu Thr Gln Gly Pro Pro Ala Arg Pro Ile Thr Val Gln Pro Thr
            180                 185                 190
Glu Ala Trp Pro Arg Thr Ser Gln Gly Pro Ser Thr Arg Pro Val Glu
        195                 200                 205
Val Pro Gly Gly Arg Ala Val Ala Ala Ile Leu Gly Leu Gly Leu Val
    210                 215                 220
Leu Gly Leu Leu Gly Pro Leu Ala Ile Leu Leu Ala Leu Tyr Leu Leu
225                 230                 235                 240
Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro Pro Gly Gly
                245                 250                 255
Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser
            260                 265                 270
Thr Leu Ala Lys Ile
        275
```

<210> 282
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 282
Asp Ser Tyr Ile Ser
1 5

<210> 283
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 283
Ala Ala Arg Trp Tyr Phe Ser Val
1 5

<210> 284
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 284
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30
Tyr Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 285
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 285
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Leu Ala Ala Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 286
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 286
Tyr Thr Ser Tyr Leu Arg Ser
1 5

<210> 287
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 287
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Tyr Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 288
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 288
Ile Tyr Leu Ile Glu
1 5

<210> 289
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 289
Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe Leu
 1   5   10   15
Gly

<210> 290
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 290
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1   5   10   15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ile Tyr
            20   25   30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35   40   45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
    50   55   60
Leu Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65   70   75   80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85   90   95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
            100   105   110
Ser Ser

<210> 291
<211> 570

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 291

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
            100                 105                 110
Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
        115                 120                 125
Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val
    130                 135                 140
Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser Tyr Met Ser Trp
145                 150                 155                 160
Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asp Met Tyr
                165                 170                 175
Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg Glu Arg Val
            180                 185                 190
Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Leu Glu Leu Ser
        195                 200                 205
Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Leu Ala Pro
    210                 215                 220
Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
225                 230                 235                 240
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
                245                 250                 255
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
            260                 265                 270
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
        275                 280                 285
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
```

290 295 300
Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
305 310 315 320
Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
325 330 335
Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
340 345 350
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
355 360 365
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
370 375 380
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
385 390 395 400
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
405 410 415
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
420 425 430
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
435 440 445
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
450 455 460
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
465 470 475 480
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
485 490 495
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
500 505 510
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
515 520 525
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
530 535 540
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
545 550 555 560
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
565 570

<210> 292
<211> 676
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 292

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Lys Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Glu Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205
Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220
Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly
225 230 235 240
Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala
245 250 255
Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr Leu Ile Glu Trp Val Arg Glu Ala
260 265 270
Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly
275 280 285
Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala
290 295 300
Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser
305 310 315 320
Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp
325 330 335

```
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
            340                 345                 350
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
        355                 360                 365
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
    370                 375                 380
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
385                 390                 395                 400
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Lys Ser Val Val Thr
                405                 410                 415
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
            420                 425                 430
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
        435                 440                 445
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
    450                 455                 460
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
465                 470                 475                 480
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
                485                 490                 495
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
            500                 505                 510
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
        515                 520                 525
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
    530                 535                 540
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
545                 550                 555                 560
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
                565                 570                 575
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
            580                 585                 590
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
        595                 600                 605
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
    610                 615                 620
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
625                 630                 635                 640
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
                645                 650                 655
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
            660                 665                 670
Ser Pro Gly Lys
        675
```

<210> 293
<211> 676
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 293

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Ile Glu Trp Val Arg Lys Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
            100                 105                 110
Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
        115                 120                 125
Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
    130                 135                 140
Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
145                 150                 155                 160
Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
                165                 170                 175
Tyr Ser Leu Glu Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
            180                 185                 190
Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
        195                 200                 205
Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Gly Gly
    210                 215                 220
Gly Gly Ser Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
225                 230                 235                 240
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
                245                 250                 255
Thr Phe Thr Asp Ser Tyr Met Ser Trp Val Arg Glu Ala Pro Gly Gln
```

260 265 270
Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser
275 280 285
Tyr Asn Gln Lys Phe Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser
290 295 300
Thr Ser Thr Ala Tyr Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr
305 310 315 320
Ala Val Tyr Tyr Cys Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp
325 330 335
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
340 345 350
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
355 360 365
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
370 375 380
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
385 390 395 400
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Lys Ser Val Val Thr
405 410 415
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
420 425 430
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
435 440 445
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
450 455 460
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
465 470 475 480
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
485 490 495
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
500 505 510
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
515 520 525
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
530 535 540
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
545 550 555 560
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
565 570 575
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
580 585 590
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
595 600 605
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

610 615 620
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
625 630 635 640
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
645 650 655
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
660 665 670
Ser Pro Gly Lys
675

<210> 294
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 294
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205
Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350
Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 295
<211> 326
<212> PRT
<213> 智人

<400> 295
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 296
<211> 377
<212> PRT
<213> 智人

<400> 296

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1               5                  10                  15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80
Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95
Arg Val Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro
            100                 105                 110
Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg
        115                 120                 125
Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys
    130                 135                 140
Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
145                 150                 155                 160
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
                165                 170                 175
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
            180                 185                 190
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr
        195                 200                 205
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
    210                 215                 220
Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
225                 230                 235                 240
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
                245                 250                 255
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
            260                 265                 270
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
        275                 280                 285
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
    290                 295                 300
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn
305                 310                 315                 320
Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
                325                 330                 335
```

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile
340 345 350
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
355 360 365
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
370 375

<210> 297
<211> 327
<212> PRT
<213> 智人

<400> 297
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205
Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

```
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
                245                 250                 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
            260                 265                 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
        275                 280                 285
Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
    290                 295                 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305                 310                 315                 320
Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
                325
```

<210> 298
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人

<400> 298

```
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 1               5                  10                  15
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
            20                  25                  30
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
        35                  40                  45
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
    50                  55                  60
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65                  70                  75                  80
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
                85                  90                  95
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
            100                 105
```

<210> 299
<211> 106
<212> PRT
<213> 智人

<400> 299

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

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30
Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro
35 40 45
Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60
Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80
Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95
Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 300
<211> 106
<212> PRT
<213> 智人

<400> 300
Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15
Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30
Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
35 40 45
Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60
Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80
Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95
Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 301
<211> 106
<212> PRT
<213> 智人

<400> 301
Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30
Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
35 40 45
Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60
Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80
Ser His Lys Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95
Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 302
<211> 106
<212> PRT
<213> 智人

<400> 302
Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15
Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30
Phe Tyr Pro Gly Ala Val Lys Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro
35 40 45
Val Asn Thr Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60
Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80
Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95
Glu Lys Thr Val Ala Pro Ala Glu Cys Ser
100 105

<210> 303
<211> 106
<212> PRT
<213> 智人

<400> 303
Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

```
Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Val Ser Asp
            20                  25                  30
Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro
        35                  40                  45
Val Lys Val Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
    50                  55                  60
Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65                  70                  75                  80
Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Arg Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
                85                  90                  95
Glu Lys Thr Val Ala Pro Ala Glu Cys Ser
            100                 105
```

201808991

【發明摘要】

【中文發明名稱】具有促效活性之多價及多抗原決定基抗體以及使用方法

【英文發明名稱】MULTIVALENT AND MULTIEPITOPIC ANTIBODIES HAVING AGONISTIC ACTIVITY AND METHODS OF USE

【中文】

本文中提供對細胞表面受體具有促效活性之四價抗原結合複合物。在一些實施例中，該等複合物包含對相同細胞表面受體之多個抗原決定基的結合特異性。本文中進一步提供核酸、載體、宿主細胞、醫藥組合物及與其相關之製造方法。

【英文】

Provided herein are tetravalent antigen binding complexes having agonist activity for a cell surface receptor. In some embodiments, the complexes comprise binding specificities for multiple epitopes of the same cell surface receptor. Further provided herein are nucleic acids, vectors, host cells, pharmaceutical compositions, and methods of production related thereto.

【指定代表圖】圖3B

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明申請專利範圍】

【第 1 項】一種對 OX40 具有促效活性之四價抗原結合複合物，該複合物包含四個結合 OX40 之抗原結合域，其中該四個抗原結合域中之每一者包含抗體重鏈可變(VH)域及抗體輕鏈可變(VL)域，其中該複合物包含一或多個結合 OX40 之第一抗原決定基的抗原結合域及一或多個結合 OX40 之第二抗原決定基的抗原結合域，且其中 OX40 之該第一抗原決定基與該第二抗原決定基不同。

【第 2 項】如申請專利範圍第 1 項之複合物，其中該等結合該第一抗原決定基之抗原結合域不與該等結合該第二抗原決定基之抗原結合域交叉競爭結合 OX40。

【第 3 項】一種對 OX40 具有促效活性之四價抗原結合複合物，該複合物包含四個結合 OX40 之抗原結合域，其中該四個抗原結合域中之每一者包含抗體重鏈可變(VH)域及抗體輕鏈可變(VL)域，其中該複合物包含一或多個結合 OX40 之第一抗原決定基的抗原結合域及一或多個結合 OX40 之第二抗原決定基的抗原結合域，且其中該等結合該第一抗原決定基之抗原結合域不與該等結合該第二抗原決定基之抗原結合域交叉競爭結合 OX40。

【第 4 項】如申請專利範圍第 1 項至第 3 項中任一項之複合物，其中該複合物包含兩個結合該第一抗原決定基之抗原結合域及兩個結合該第二抗原決定基之抗原結合域。

【第 5 項】如申請專利範圍第 1 項至第 4 項中任一項之複合物，其中該第一抗原決定基包含選自由以下各項組成之群的一或多個胺基酸殘基：SEQ ID NO:281 之 114-119、124、126、127、129、130、132、140 及 142。

【第 6 項】如申請專利範圍第 1 項至第 5 項中任一項之複合物，其中該第二抗原決定基包含選自由以下各項組成之群的一或多個胺基酸殘基：SEQ ID NO:281 之 68-71、83-90、95 及 98。

【第 7 項】如申請專利範圍第 1 項至第 6 項中任一項之複合物，其中該結合 OX40 之該第一抗原決定基之抗原結合域包含：(a) VH 結構域，其包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 之 HVR-H3；及(b) VL 結構域，其包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。

【第 8 項】如申請專利範圍第 7 項之複合物，其中該抗原結合域中結合 OX40 之該第一抗原決定基之該 VH 結構域包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，且其中該抗原結合域中結合 OX40 之該第一抗原決定基之該 VL 結構域包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57。

【第 9 項】如申請專利範圍第 1 項至第 8 項中任一項之複合物，其中該結合 OX40 之該第二抗原決定基之抗原結合域包含：(a) VH 結構域，其包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；及 (b) VL 結構域，其包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3。

【第 10 項】 如申請專利範圍第 9 項之複合物，其中該抗原結合域中結合 OX40 之該第二抗原決定基之該 VH 結構域包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，且其中該抗原結合域中結合 OX40 之該第二抗原決定基之該

VL 結構域包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129。

【第 11 項】　如申請專利範圍第 1 項至第 10 項中任一項之複合物，其中該結合 OX40 之該第一抗原決定基之抗原結合域包含：(a) VH 結構域，其包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 之 HVR-H3；及(b) VL 結構域，其包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3；且其中該結合 OX40 之該第二抗原決定基之抗原結合域包含：(c) VH 結構域，其包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；及(d) VL 結構域，其包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3。

【第 12 項】　如申請專利範圍第 11 項之複合物，其中該抗原結合域中結合 OX40 之該第一抗原決定基之該 VH 結構域包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，且其中該抗原結合域中結合 OX40 之該第一抗原決定基之該 VL 結構域包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57；且其中該抗原結合域中結合 OX40 之該第二抗原決定基之該 VH 結構域包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，且其中該抗原結合域中結合 OX40 之該第二抗原決定基之該 VL 結構域包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129。

【第 13 項】　如申請專利範圍第 1 項至第 6 項中任一項之複合物，其中該複合物包含兩個抗體重鏈多肽及兩個抗體輕鏈多肽；

其中該等抗體重鏈多肽中之每一者包含：

VH_1-L_1-VH_2-L_2-CH_1-鉸鏈-CH_2-CH_3 [I]；

其中該等抗體輕鏈多肽中之每一者包含：

VL_1-L_3-VL_2-L_4-CL　　[II]；

其中該等抗體重鏈多肽中之每一者與一個抗體輕鏈多肽締合，以便 VH_1 與 VL_1 形成抗原結合域且 VH_2 與 VL_2 形成抗原結合域；

其中 VH_1 為第一抗體重鏈可變域，VH_2 為第二抗體重鏈可變域，VL_1 為第一抗體輕鏈可變域，VL_2 為第二抗體輕鏈可變域，CL 為抗體輕鏈恆定域，CH_1 為抗體第一重鏈恆定域，鉸鏈為抗體鉸鏈區，CH_2 為抗體第二重鏈恆定域，CH_3 為抗體第三重鏈恆定域，且 L_1、L_2、L_3 及 L_4 為胺基酸連接子。

【第 14 項】　如申請專利範圍第 13 項之複合物，其中 VH_1 與 VL_1 形成結合 OX40 之該第一抗原決定基之抗原結合域，且其中 VH_2 與 VL_2 形成結合 OX40 之該第二抗原決定基之抗原結合域。

【第 15 項】　如申請專利範圍第 13 項之複合物，其中 VH_1 與 VL_1 形成結合 OX40 之該第二抗原決定基之抗原結合域，且其中 VH_2 與 VL_2 形成結合 OX40 之該第一抗原決定基之抗原結合域。

【第 16 項】　如申請專利範圍第 13 項至第 15 項中任一項之複合物，其中 L_2 及 L_4 之長度為 0 個胺基酸。

【第 17 項】　如申請專利範圍第 13 項至第 16 項中任一項之複合物，其中 L_1 之長度介於 0 與 20 個胺基酸之間。

【第 18 項】　如申請專利範圍第 17 項之複合物，其中 L_1 之該等胺基酸中有至少 90%為甘胺酸及/或絲胺酸胺基酸。

【第 19 項】　如申請專利範圍第 18 項之複合物，其中 L_1 包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：GGGGSG (SEQ ID NO:270)、GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:272)及 GGGGSGGGGSGGGG (SEQ ID

NO:273)。

【第 20 項】　如申請專利範圍第 13 項至第 19 項中任一項之複合物，其中 L_3 包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：GGSGG (SEQ ID NO:271)、GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:272)及 GGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:274)。

【第 21 項】　如申請專利範圍第 13 項至第 20 項中任一項之複合物，其中 L_1 包含胺基酸序列 GGGGSG (SEQ ID NO:270)，且其中 L_3 包含胺基酸序列 GGSGG (SEQ ID NO:271)。

【第 22 項】　如申請專利範圍第 13 項至第 20 項中任一項之複合物，其中 L_1 及 L_3 皆包含胺基酸序列 GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:272)。

【第 23 項】　如申請專利範圍第 13 項至第 20 項中任一項之複合物，其中 L_1 包含胺基酸序列 GGGGSGGGGSGGGG (SEQ ID NO:273)，且其中 L_3 包含胺基酸序列 GGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:274)。

【第 24 項】　如申請專利範圍第 13 項至第 16 項中任一項之複合物，其中 L_1 包含在人類抗體恆定域序列內發現之胺基酸序列。

【第 25 項】　如申請專利範圍第 24 項之複合物，其中 L_1 包含胺基酸序列 ASTKGP (SEQ ID NO:275)或 ASTKGPSVFPLAP (SEQ ID NO:277)。

【第 26 項】　如申請專利範圍第 13 項至第 16 項及第 24 項中任一項之複合物，其中 L_3 包含胺基酸序列 RTVAAP (SEQ ID NO:276)或 RTVAAPSVFIFPP (SEQ ID NO:278)。

【第 27 項】　如申請專利範圍第 13 項至第 16 項、第 24 項及第 26 項中任一項之複合物，其中 L_1 包含胺基酸序列 ASTKGP (SEQ ID NO:275)，且其中 L_3 包含胺基酸序列 RTVAAP (SEQ ID NO:276)。

【第 28 項】　如申請專利範圍第 13 項至第 16 項、第 24 項及第 26 項中任

一項之複合物，其中 L_1 包含胺基酸序列 ASTKGPSVFPLAP (SEQ ID NO:277)，且其中 L_3 包含胺基酸序列 RTVAAPSVFIFPP (SEQ ID NO:278)。

【第 29 項】 如申請專利範圍第 13 項至第 28 項中任一項之複合物，其中 VH_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；其中 VL_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；其中 VH_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 之 HVR-H3；且其中 VL_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。

【第 30 項】 如申請專利範圍第 13 項至第 28 項中任一項之複合物，其中 VH_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；其中 VL_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；其中 VH_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 之 HVR-H3；且其中 VL_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。

【第 31 項】 如申請專利範圍第 13 項至第 28 項中任一項之複合物，其中

VH_1包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，其中 VL_1包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，其中 VH_2包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，且其中 VL_2包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57。

【第 32 項】　如申請專利範圍第 13 項至第 28 項中任一項之複合物，其中 VH_2包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，其中 VL_2包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，其中 VH_1包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，且其中 VL_1包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57。

【第 33 項】　如申請專利範圍第 13 項之複合物，其中：

(a) 該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:240，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:241；

(b) 該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:242，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:243；

(c) 該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:250，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:251；

(d) 該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:252，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:253；

(e) 該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:254，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:255；

(f) 該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:256，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:257；

(g) 該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:258，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:259；

(h) 該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:260，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:261；

(i) 該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:262，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:263；

(j) 該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:264，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:265；或

(k) 該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:266，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:267。

【第 34 項】 如申請專利範圍第 33 項之複合物，其中：

(a) 該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:240，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:241；或

(b) 該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:242，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:243。

【第 35 項】 如申請專利範圍第 34 項之複合物，其中該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:242，且該兩個抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:243。

【第 36 項】 如申請專利範圍第 1 項至第 6 項中任一項之複合物，其中該複合物包含兩個抗體重鏈多肽及四個抗體輕鏈多肽；

其中該等抗體重鏈多肽中之每一者包含：

$$VH_1\text{-}L_1\text{-}(CH_1)_x\text{-}L_2\text{-}VH_2\text{-}L_3\text{-}(CH_1)_y\text{-鉸鏈-}CH_2\text{-}CH_3 \quad [III]；$$

其中該四個抗體輕鏈多肽中有兩個包含：

$$VL_1\text{-}(CL)_x \quad [IV]；且$$

其中該四個抗體輕鏈多肽中有兩個包含：

$$VL_2\text{-}(CL)_y \quad [V]；$$

其中該等抗體重鏈多肽中之每一者與一個包含式[IV]之輕鏈多肽締合，以便 VH_1 與 VL_1 形成抗原結合域且與一個包含式[V]之輕鏈多肽締

合，以便 VH_2 與 VL_2 形成抗原結合域；且

其中 VH_1 為第一抗體重鏈可變域，VH_2 為第二抗體重鏈可變域，VL_1 為第一抗體輕鏈可變域，VL_2 為第二抗體輕鏈可變域，$(CL)_x$ 及 $(CL)_y$ 為抗體輕鏈恆定域，$(CH_1)_x$ 及 $(CH_1)_y$ 為抗體第一重鏈恆定域，鉸鏈為抗體鉸鏈區，CH_2 為抗體第二重鏈恆定域，CH_3 為抗體第三重鏈恆定域，且 L_1、L_2 及 L_3 為胺基酸連接子。

【第 37 項】　如申請專利範圍第 36 項之複合物，其中該複合物在 VH_1、VL_1、$(CH_1)_x$ 或 $(CL)_x$ 中包含一或多個促進 VH_1 與 VL_1 形成抗原結合域之胺基酸取代；及/或在 VH_2、VL_2、$(CH_1)_y$ 或 $(CL)_y$ 中包含一或多個促進 VH_2 與 VL_2 形成抗原結合域之胺基酸取代。

【第 38 項】　如申請專利範圍第 37 項之複合物，其中該複合物包含以下各組胺基酸取代中之一或多個：

(a) VH_1 中之 Q39K 取代及 VL_1 中之 Q38E 取代，以及 VH_2 中之 Q39E 取代及 VL_2 中之 Q38K 取代，根據 Kabat 進行編號；

(b) VH_2 中之 Q39K 取代及 VL_2 中之 Q38E 取代，以及 VH_1 中之 Q39E 取代及 VL_1 中之 Q38K 取代，根據 Kabat 進行編號；

(c) $(CH_1)_x$ 中之 S183E 取代及 $(CL)_x$ 中之 V133K 取代以及 $(CH_1)_y$ 中之 S183K 取代及 $(CL)_y$ 中之 V133E 取代，根據 EU 指數進行編號；或

(d) $(CH_1)_y$ 中之 S183E 取代及 $(CL)_y$ 中之 V133K 取代以及 $(CH_1)_x$ 中之 S183K 取代及 $(CL)_x$ 中之 V133E 取代，根據 EU 指數進行編號。

【第 39 項】　如申請專利範圍第 38 項之複合物，其中該複合物包含：

(a) VH_1 中之 Q39K 取代及 VL_1 中之 Q38E 取代，以及 VH_2 中之 Q39E 取代及 VL_2 中之 Q38K 取代，根據 Kabat 進行編號；以及 $(CH_1)_x$ 中之 S183E 取代及 $(CL)_x$ 中之 V133K 取代以及 $(CH_1)_y$ 中之 S183K 取代及 $(CL)_y$ 中之

V133E 取代，根據 EU 指數進行編號；或

(b) VH_2 中之 Q39K 取代及 VL_2 中之 Q38E 取代，以及 VH_1 中之 Q39E 取代及 VL_1 中之 Q38K 取代，根據 Kabat 進行編號；及或$(CH_1)_y$ 中之 S183E 取代及$(CL)_y$ 中之 V133K 取代以及$(CH_1)_x$ 中之 S183K 取代及$(CL)_x$ 中之 V133E 取代，根據 EU 指數進行編號。

【第 40 項】 如申請專利範圍第 36 項至第 39 項中任一項之複合物，其中 VH_1 與 VL_1 形成結合 OX40 之該第一抗原決定基之抗原結合域，且其中 VH_2 與 VL_2 形成結合 OX40 之該第二抗原決定基之抗原結合域。

【第 41 項】 如申請專利範圍第 36 項至第 39 項中任一項之複合物，其中 VH_1 與 VL_1 形成結合 OX40 之該第二抗原決定基之抗原結合域，且其中 VH_2 與 VL_2 形成結合 OX40 之該第一抗原決定基之抗原結合域。

【第 42 項】 如申請專利範圍第 36 項至第 41 項中任一項之複合物，其中 L_2 包含在人類抗體恆定域序列內發現之胺基酸序列。

【第 43 項】 如申請專利範圍第 42 項之複合物，其中 L_2 包含胺基酸序列 DKTHT (SEQ ID NO:268)或 DKTHTGGGGSGG (SEQ ID NO:269)。

【第 44 項】 如申請專利範圍第 36 項至第 43 項中任一項之複合物，其中 L_1 及 L_3 之長度為 0 個胺基酸。

【第 45 項】 如申請專利範圍第 36 項至第 44 項中任一項之複合物，其中 VH_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；其中 VL_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；其中 VH_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列

SEQ ID NO:4 之 HVR-H3；且其中 VL_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。

【第 46 項】　如申請專利範圍第 36 項至第 44 項中任一項之複合物，其中 VH_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；其中 VL_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；其中 VH_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 之 HVR-H3；且其中 VL_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。

【第 47 項】　如申請專利範圍第 36 項至第 44 項中任一項之複合物，其中 VH_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，其中 VL_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，其中 VH_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，且其中 VL_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57。

【第 48 項】　如申請專利範圍第 36 項至第 44 項中任一項之複合物，其中 VH_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，其中 VL_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，其中 VH_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，且其中 VL_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57。

【第 49 項】　如申請專利範圍第 36 項之複合物，其中：

(a) 該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:244，該兩個包含式[IV]之抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:245，且該兩

個包含式[V]之抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:246；或

(b) 該兩個抗體重鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:247，該兩個包含式[IV]之抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:248，且該兩個包含式[V]之抗體輕鏈多肽皆包含胺基酸序列 SEQ ID NO:249。

【第 50 項】　如申請專利範圍第 1 項至第 6 項中任一項之複合物，其中該複合物包含：

第一抗體重鏈多肽，其包含：

VH_1-L_1-CH_1-L_2-VH_1-L_3-CH_1-鉸鏈-CH_2-$(CH_3)_x$　[VI]；

兩個第一抗體輕鏈多肽，其各自包含：

VL_1-CL　[VII]；

第二抗體重鏈多肽，其包含：

VH_2-L_7-CH_1-L_8-VH_2-L_9-CH_1-鉸鏈-CH_2-$(CH_3)_y$　[VIII]；及

兩個第二抗體輕鏈多肽，其各自包含：

VL_2-CL　[IX]；

其中該第一抗體重鏈多肽與兩個包含式[VII]之第一抗體輕鏈多肽締合，以便各 VH_1 與 VL_1 形成抗原結合域；其中該第二抗體重鏈多肽與兩個包含式[IX]之第二抗體輕鏈多肽締合，以便各 VH_2 與 VL_2 形成抗原結合域；且

其中 VH_1 為第一抗體重鏈可變域，VH_2 為第二抗體重鏈可變域，VL_1 為第一抗體輕鏈可變域，VL_2 為第二抗體輕鏈可變域，CL 為抗體輕鏈恆定域，CH_1 為抗體第一重鏈恆定域，鉸鏈為抗體鉸鏈區，CH_2 為抗體第二重鏈恆定域，$(CH_3)_x$ 及 $(CH_3)_y$ 為抗體第三重鏈恆定域，且 L_1、L_2、L_3、L_7、L_8 及 L_9 為胺基酸連接子。

【第 51 項】　如申請專利範圍第 50 項之複合物，其中 $(CH_3)_x$ 包含突起或

凹穴，其中$(CH_3)_y$包含突起或凹穴，且其中$(CH_3)_x$之突起或凹穴可位於$(CH_3)_y$之突起或凹穴中。

【第 52 項】　如申請專利範圍第 51 項之複合物，其中：

(a) $(CH_3)_x$包含 T366Y 取代且$(CH_3)_y$包含 Y407T 取代，根據 EU 指數進行編號；

(b) $(CH_3)_x$包含 T366W 取代且$(CH_3)_y$包含 Y407A 取代，根據 EU 指數進行編號；

(c) $(CH_3)_x$包含 F405A 取代且$(CH_3)_y$包含 T394W 取代，根據 EU 指數進行編號；

(d) $(CH_3)_x$包含 Y407T 取代且$(CH_3)_y$包含 T366Y 取代，根據 EU 指數進行編號；

(e) $(CH_3)_x$包含 T366Y 及 F405A 取代且$(CH_3)_y$包含 T394W 及 Y407T 取代，根據 EU 指數進行編號；

(f) $(CH_3)_x$包含 T366W 及 F405W 取代且$(CH_3)_y$包含 T394S 及 Y407A 取代，根據 EU 指數進行編號；

(g) $(CH_3)_x$包含 F405W 及 Y407A 取代且$(CH_3)_y$包含 T366W 及 T394S 取代，根據 EU 指數進行編號；或

(h) $(CH_3)_x$包含 F405W 取代且$(CH_3)_y$包含 T394S 取代，根據 EU 指數進行編號。

【第 53 項】　如申請專利範圍第 50 項至第 52 項中任一項之複合物，其中 VH_1與 VL_1形成結合 OX40 之該第一抗原決定基之抗原結合域，且其中 VH_2與 VL_2形成結合 OX40 之該第二抗原決定基之抗原結合域。

【第 54 項】　如申請專利範圍第 50 項至第 52 項中任一項之複合物，其中 VH_1與 VL_1形成結合 OX40 之該第二抗原決定基之抗原結合域，且其中

VH_2與VL_2形成結合 OX40 之該第一抗原決定基之抗原結合域。

【第 55 項】　如申請專利範圍第 50 項至第 54 項中任一項之複合物，其中L_2及L_8皆包含在人類抗體恆定域序列內發現之胺基酸序列。

【第 56 項】　如申請專利範圍第 55 項之複合物，其中L_2及L_8皆包含選自由以下各項組成之群的相同胺基酸序列：DKTHT (SEQ ID NO:268)及 DKTHTGGGGSGG (SEQ ID NO:269)。

【第 57 項】　如申請專利範圍第 50 項至第 56 項中任一項之複合物，其中L_1、L_3、L_7及L_9之長度為 0 個胺基酸。

【第 58 項】　如申請專利範圍第 50 項至第 57 項中任一項之複合物，其中VH_1包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；其中VL_1包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；其中VH_2包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 之 HVR-H3；且其中VL_2包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。

【第 59 項】　如申請專利範圍第 50 項至第 57 項中任一項之複合物，其中VH_2包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；其中VL_2包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；其中VH_1包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 之

HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 之 HVR-H3；且其中 VL_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。

【第 60 項】 如申請專利範圍第 50 項至第 57 項中任一項之複合物，其中 VH_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，其中 VL_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，其中 VH_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，且其中 VL_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57。

【第 61 項】 如申請專利範圍第 50 項至第 57 項中任一項之複合物，其中 VH_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，其中 VL_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，其中 VH_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，且其中 VL_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57。

【第 62 項】 如申請專利範圍第 1 項至第 6 項中任一項之複合物，其中該複合物包含：包含與兩個抗體輕鏈締合之兩個抗體重鏈之抗體，及兩個抗體 Fab 片段；

其中該抗體之該等抗體重鏈中之每一者包含：

$$VH_1\text{-}CH_1\text{-鉸鏈-}CH_2\text{-}CH_3 \quad [X]；$$

其中該抗體之該等抗體輕鏈中之每一者包含：

$$VL_1\text{-}CL \quad [VII]；$$

其中該等抗體 Fab 片段中之每一者包含：

重鏈片段，其包含：

$$VH_2\text{-}CH_1 \quad [XI]；及$$

輕鏈，其包含：

$$VL_2\text{-}CL \quad [IX]；$$

其中該等抗體重鏈中之每一者與該等抗體輕鏈之一締合，以便 VH_1 與 VL_1 形成抗原結合域；其中該等抗體 Fab 片段中之每一者包含與一個包含式[IX]之輕鏈片段締合之一個包含式[XI]之重鏈片段，以便 VH_2 與 VL_2 形成抗原結合域；其中該等抗體 Fab 片段中之每一者經由連接子 L_1 與該抗體之該等抗體重鏈之一或該等抗體輕鏈之一偶聯；且

其中 VH_1 為第一抗體重鏈可變域，VH_2 為第二抗體重鏈可變域，VL_1 為第一抗體輕鏈可變域，VL_2 為第二抗體輕鏈可變域，CL 為抗體輕鏈恆定域，CH_1 為抗體第一重鏈恆定域，鉸鏈為抗體鉸鏈區，CH_2 為抗體第二重鏈恆定域，且 CH_3 為抗體第三重鏈恆定域。

【第 63 項】　如申請專利範圍第 62 項之複合物，其中該等 L_1 連接子中之每一者為雙馬來醯亞胺基聚乙二醇(PEG)連接子。

【第 64 項】　如申請專利範圍第 63 項之複合物，其中該 PEG 連接子包含介於一個與十一個之間的 PEG 次單元。

【第 65 項】　如申請專利範圍第 64 項之複合物，其中該 PEG 連接子包含一個、兩個或三個 PEG 次單元。

【第 66 項】　如申請專利範圍第 62 項至第 65 項中任一項之複合物，其中該等 L_1 連接子中之每一者使該等抗體重鏈之一或該等抗體輕鏈之一的第一經工程改造游離半胱胺酸與該等抗體 Fab 片段之一的第二經工程改造游離半胱胺酸偶聯。

【第 67 項】　如申請專利範圍第 66 項之複合物，其中該第一經工程改造游離半胱胺酸為該抗體重鏈中獨立地選自由以下各項組成之群的半胱胺酸胺基酸：根據 EU 編號之 T114C、A118C、A140C、L174C、L179C、T187C、T209C、V262C、G371C、Y373C、E382C、S400C、S424C、N434C 及 Q438C。

【第 68 項】　如申請專利範圍第 66 項之複合物，其中該第一經工程改造游離半胱胺酸為該抗體輕鏈中獨立地選自由以下各項組成之群的半胱胺酸胺基酸：根據 Kabat 編號之 I106C、R108C、R142C、K149C 及 V205C。

【第 69 項】　如申請專利範圍第 66 項至第 68 項中任一項之複合物，其中該第二經工程改造游離半胱胺酸為 C 末端半胱胺酸殘基。

【第 70 項】　如申請專利範圍第 62 項至第 69 項中任一項之複合物，其中 VH_1 與 VL_1 形成結合 OX40 之該第一抗原決定基之抗原結合域，且其中 VH_2 與 VL_2 形成結合 OX40 之該第二抗原決定基之抗原結合域。

【第 71 項】　如申請專利範圍第 62 項至第 69 項中任一項之複合物，其中 VH_1 與 VL_1 形成結合 OX40 之該第二抗原決定基之抗原結合域，且其中 VH_2 與 VL_2 形成結合 OX40 之該第一抗原決定基之抗原結合域。

【第 72 項】　如申請專利範圍第 62 項至第 69 項中任一項之複合物，其中 VH_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；其中 VL_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；其中 VH_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 之 HVR-H3；且其中 VL_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。

【第 73 項】　如申請專利範圍第 62 項至第 69 項中任一項之複合物，其中 VH_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 之 HVR-H1、包含胺基酸序

列 SEQ ID NO:30 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；其中 VL_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；其中 VH_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 之 HVR-H3；且其中 VL_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。

【第 74 項】 如申請專利範圍第 62 項至第 69 項中任一項之複合物，其中 VH_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，其中 VL_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，其中 VH_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，且其中 VL_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57。

【第 75 項】 如申請專利範圍第 62 項至第 69 項中任一項之複合物，其中 VH_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，其中 VL_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，其中 VH_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，且其中 VL_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57。

【第 76 項】 如申請專利範圍第 62 項之複合物，其中：該抗體之該等抗體重鏈中之每一者包含胺基酸序列 SEQ ID NO:232，該抗體之該等抗體輕鏈中之每一者包含胺基酸序列 SEQ ID NO:237，該等抗體 Fab 片段中之每一者包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:239 之重鏈片段，且該等抗體 Fab 片段中之每一者包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:231 之輕鏈片段。

【第 77 項】 如申請專利範圍第 62 項之複合物，其中該抗體之該等抗體重鏈中之每一者包含胺基酸序列 SEQ ID NO:230，該抗體之該等抗體輕

鏈中之每一者包含胺基酸序列 SEQ ID NO:236，該等抗體 Fab 片段中之每一者包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:238 之重鏈片段，且該等抗體 Fab 片段中之每一者包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:233 之輕鏈片段。

【第 78 項】 如申請專利範圍第 1 項至第 6 項中任一項之複合物，其中該複合物包含兩個抗體，其中該等抗體中之每一者包含：

第一抗體重鏈，其包含：

$$VH_1\text{-}CH_1\text{-鉸鏈-}CH_2\text{-}(CH_3)_x \qquad [X]；$$

第一抗體輕鏈，其包含：

$$VL_1\text{-}CL \qquad [VII]；$$

第二抗體重鏈，其包含：

$$VH_2\text{-}CH_1\text{-鉸鏈-}CH_2\text{-}(CH_3)_y \qquad [XII]；及$$

第二抗體輕鏈，其包含：

$$VL_2\text{-}CL \qquad [IX]；$$

其中該第一抗體重鏈與該第一抗體輕鏈締合，以便 VH_1 與 VL_1 形成抗原結合域；其中該第二抗體重鏈與該第二抗體輕鏈締合，以便 VH_2 與 VL_2 形成抗原結合域；其中該兩個抗體係經由連接子 L_1 偶聯；且

其中 VH_1 為第一抗體重鏈可變域，VH_2 為第二抗體重鏈可變域，VL_1 為第一抗體輕鏈可變域，VL_2 為第二抗體輕鏈可變域，CL 為抗體輕鏈恆定域，CH_1 為抗體第一重鏈恆定域，鉸鏈為抗體鉸鏈區，CH_2 為抗體第二重鏈恆定域，且$(CH_3)_x$及$(CH_3)_y$為抗體第三重鏈恆定域。

【第 79 項】 如申請專利範圍第 78 項之複合物，其中$(CH_3)_x$包含突起或凹穴，其中$(CH_3)_y$包含突起或凹穴，且其中$(CH_3)_x$之突起或凹穴可位於$(CH_3)_y$之突起或凹穴中。

【第 80 項】　如申請專利範圍第 79 項之複合物，其中：

(a) $(CH_3)_x$包含 T366Y 取代且$(CH_3)_y$包含 Y407T 取代，根據 EU 指數進行編號；

(b) $(CH_3)_x$包含 T366W 取代且$(CH_3)_y$包含 Y407A 取代，根據 EU 指數進行編號；

(c) $(CH_3)_x$包含 F405A 取代且$(CH_3)_y$包含 T394W 取代，根據 EU 指數進行編號；

(d) $(CH_3)_x$包含 Y407T 取代且$(CH_3)_y$包含 T366Y 取代，根據 EU 指數進行編號；

(e) $(CH_3)_x$包含 T366Y 及 F405A 取代且$(CH_3)_y$包含 T394W 及 Y407T 取代，根據 EU 指數進行編號；

(f) $(CH_3)_x$包含 T366W 及 F405W 取代且$(CH_3)_y$包含 T394S 及 Y407A 取代，根據 EU 指數進行編號；

(g) $(CH_3)_x$包含 F405W 及 Y407A 取代且 t$(CH_3)_y$包含 T366W 及 T394S 取代，根據 EU 指數進行編號；或

(h) $(CH_3)_x$包含 F405W 取代且$(CH_3)_y$包含 T394S 取代，根據 EU 指數進行編號。

【第 81 項】　如申請專利範圍第 1 項至第 6 項中任一項之複合物，其中該複合物包含：

第一抗體，其包含兩個抗體重鏈及兩個抗體輕鏈，其中該第一抗體之該兩個抗體重鏈中之每一者包含：

$$VH_1\text{-}CH_1\text{-鉸鏈-}CH_2\text{-}CH_3 \qquad [X]；$$

且其中該第一抗體之該兩個抗體輕鏈中之每一者包含：

$$VL_1\text{-}CL \qquad [VII]；及$$

第二抗體，其包含兩個抗體重鏈及兩個抗體輕鏈，其中該第二抗體之該兩個抗體重鏈中之每一者包含：

VH_2-CH_1-鉸鏈-CH_2-CH_3 [XII]；

且其中該第二抗體之該兩個抗體輕鏈中之每一者包含：

VL_2-CL [IX]；

其中該第一抗體之該等抗體重鏈中之每一者與該第一抗體之該等抗體輕鏈之一締合，以便 VH_1 與 VL_1 形成抗原結合域；其中該第二抗體之該等抗體重鏈中之每一者與該第二抗體之該等抗體輕鏈之一締合，以便 VH_2 與 VL_2 形成抗原結合域；其中該第一抗體及該第二抗體係經由連接子 L_1 偶聯；且

其中 VH_1 為第一抗體重鏈可變域，VH_2 為第二抗體重鏈可變域，VL_1 為第一抗體輕鏈可變域，VL_2 為第二抗體輕鏈可變域，CL 為抗體輕鏈恆定域，CH_1 為抗體第一重鏈恆定域，鉸鏈為抗體鉸鏈區，CH_2 為抗體第二重鏈恆定域，且 CH_3 為抗體第三重鏈恆定域。

【第 82 項】 如申請專利範圍第 78 項至第 81 項中任一項之複合物，其中該 L_1 連接子為雙馬來醯亞胺基聚乙二醇(PEG)連接子。

【第 83 項】 如申請專利範圍第 82 項之複合物，其中該 PEG 連接子包含介於一個與十一個之間的 PEG 次單元。

【第 84 項】 如申請專利範圍第 83 項之複合物，其中該 PEG 連接子包含一個、兩個或三個 PEG 次單元。

【第 85 項】 如申請專利範圍第 78 項至第 84 項中任一項之複合物，其中該 L_1 連接子使該兩個抗體中第一個之第一經工程改造游離半胱胺酸與該兩個抗體中第二個之第二經工程改造游離半胱胺酸偶聯。

【第 86 項】 如申請專利範圍第 85 項之複合物，其中該第一經工程改造

游離半胱胺酸或該第二經工程改造游離半胱胺酸中之至少一者為獨立地選自由以下各項組成之群的重鏈半胱胺酸殘基：根據 EU 編號之 T114C、A118C、A140C、L174C、L179C、T187C、T209C、V262C、G371C、Y373C、E382C、S400C、S424C、N434C 及 Q438C。

【第 87 項】　如申請專利範圍第 85 項或第 86 項之複合物，其中該第一經工程改造游離半胱胺酸或該第二經工程改造游離半胱胺酸中之至少一者為獨立地選自由以下各項組成之群的輕鏈半胱胺酸殘基：根據 Kabat 編號之 I106C、R108C、R142C、K149C 及 V205C。

【第 88 項】　如申請專利範圍第 78 項至第 87 項中任一項之複合物，其中 VH_1 與 VL_1 形成結合 OX40 之該第一抗原決定基之抗原結合域，且其中 VH_2 與 VL_2 形成結合 OX40 之該第二抗原決定基之抗原結合域。

【第 89 項】　如申請專利範圍第 78 項至第 87 項中任一項之複合物，其中 VH_1 與 VL_1 形成結合 OX40 之該第二抗原決定基之抗原結合域，且其中 VH_2 與 VL_2 形成結合 OX40 之該第一抗原決定基之抗原結合域。

【第 90 項】　如申請專利範圍第 78 項至第 87 項中任一項之複合物，其中 VH_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；其中 VL_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；其中 VH_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 之 HVR-H3；且其中 VL_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。

【第 91 項】　如申請專利範圍第 78 項至第 87 項中任一項之複合物，其中 VH_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:29 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:30 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:33 之 HVR-H3；其中 VL_2 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:37 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:39 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:42 之 HVR-L3；其中 VH_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:2 之 HVR-H1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:3 之 HVR-H2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:4 之 HVR-H3；且其中 VL_1 包含有包含胺基酸序列 SEQ ID NO:5 之 HVR-L1、包含胺基酸序列 SEQ ID NO:6 之 HVR-L2 及包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-L3。

【第 92 項】　如申請專利範圍第 78 項至第 87 項中任一項之複合物，其中 VH_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，其中 VL_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，其中 VH_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，且其中 VL_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57。

【第 93 項】　如申請專利範圍第 78 項至第 87 項中任一項之複合物，其中 VH_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:128，其中 VL_2 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:129，其中 VH_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:56，且其中 VL_1 包含胺基酸序列 SEQ ID NO:57。

【第 94 項】　如申請專利範圍第 1 項至第 93 項中任一項之複合物，其中該複合物包含有包含用於減弱效應功能之修飾的抗體 Fc 區。

【第 95 項】　如申請專利範圍第 94 項之複合物，其中該複合物包含在選自由以下各項組成之群的一或多個胺基酸位置(EU 編號)上包含胺基酸取代的抗體 Fc 區：

(a) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 297；

(b) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 234 及 235；

(c) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 234、235 及 329；

(d) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 234 及 237；

(e) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 235、237 及 318；

(f) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 228 及 236；

(g) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 268、309、330 及 331；

(h) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 220、226、229 及 238；

(i) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 226、229、233、234 及 235；

(j) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 234、235 及 331；

(k) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 226 及 230；以及

(l) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 267 及 328。

【第 96 項】　如申請專利範圍第 94 項或第 95 項之複合物，其中該複合物包含有包含選自由以下各項組成之群的一或多個胺基酸取代(EU 編號)的抗體 Fc 區：

(a) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 N297A；

(b) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234A 及 L235A；

(c) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234A、L235A 及 P329G；

(d) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 V234A 及 G237A；

(e) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 L235A、G237A 及 E318A；

(f) 人類 IgG4 之 Fc 區中之 S228P 及 L236E；

(g) 跨越人類 IgG2 之 Fc 區中之胺基酸殘基 118 至 260 的區域中或跨越人類 IgG4 之 Fc 區中之胺基酸 261 至 447 的區域中的一或多個取代；

(h) 人類 IgG2 之 Fc 區中之 H268Q、V309L、A330S 及 A331S；

(i) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 C220S、C226S、C229S 及 P238S；

(j) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 C226S、C229S、E233P、L234V 及 L235A；

(k) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 L234F、L235E 及 P331S；

(l) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 C226S 及 P230S；以及

(m) 人類 IgG1 之 Fc 區中之 S267E 及 L328F。

【第 97 項】 如申請專利範圍第 94 項至第 96 項中任一項之複合物，其中該複合物包含有包含用於減弱效應功能之修飾的抗體 Fc 區，該修飾產生無糖基化 Fc 區。

【第 98 項】 如申請專利範圍第 94 項至第 96 項中任一項之複合物，其中該複合物包含有包含用於減弱效應功能之修飾的抗體 Fc 區，該修飾不會消除該 Fc 區之糖基化。

【第 99 項】 一或多種聚核苷酸，其編碼如申請專利範圍第 1 項至第 98 項中任一項之複合物的一或多種多肽。

【第 100 項】 一或多種載體，其包含如申請專利範圍第 99 項之一或多種聚核苷酸。

【第 101 項】 一或多種宿主細胞，其包含如申請專利範圍第 99 項之一或多種聚核苷酸或如申請專利範圍第 100 項之一或多種載體。

【第 102 項】 一種醫藥調配物，其包含如申請專利範圍第 1 項至第 98 項中任一項之複合物及醫藥學上可接受之載劑。

【第 103 項】 一種治療患有癌症之個體的方法，其包括對該個體投與有效量之如申請專利範圍第 1 項至第 98 項中任一項之複合物。

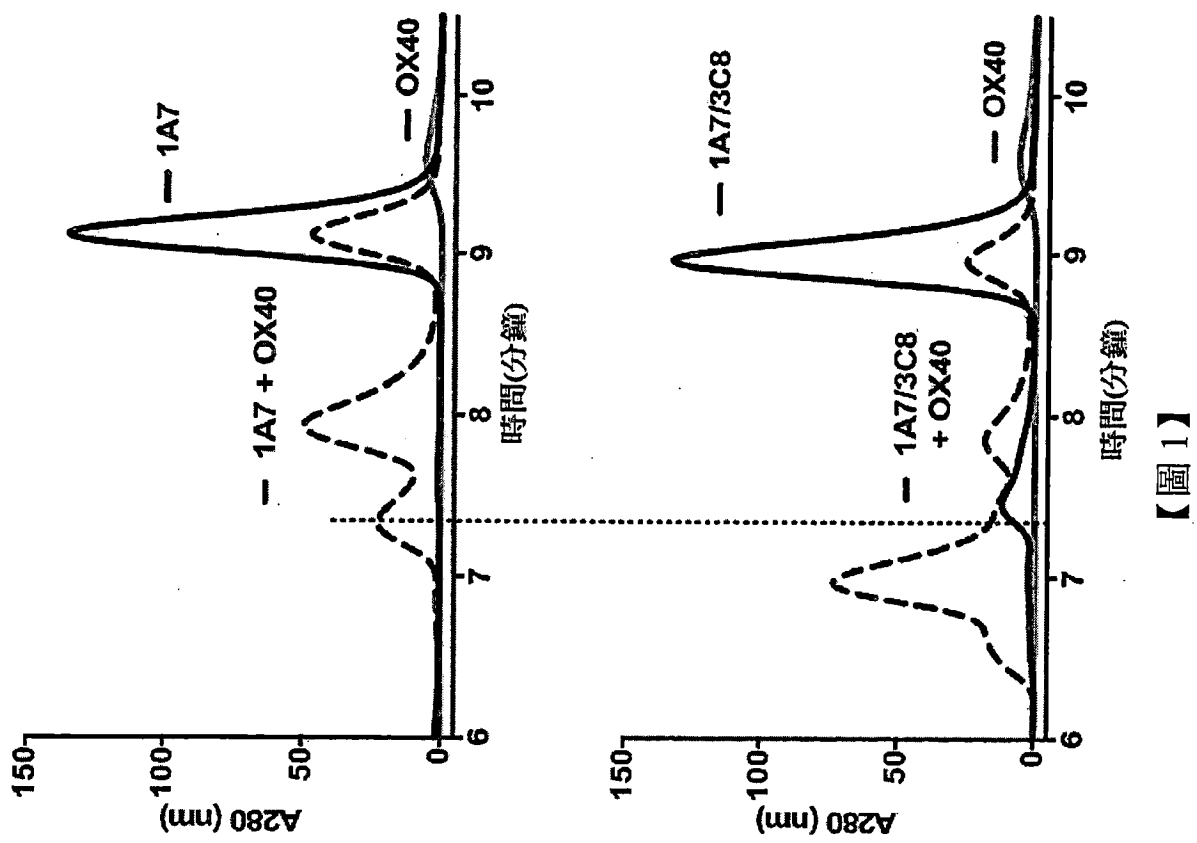
【第 104 項】 如申請專利範圍第 103 項之方法，其進一步包括對該個體投與額外治療劑。

【第 105 項】 如申請專利範圍第 104 項之方法，其中該額外治療劑包含化學治療劑。

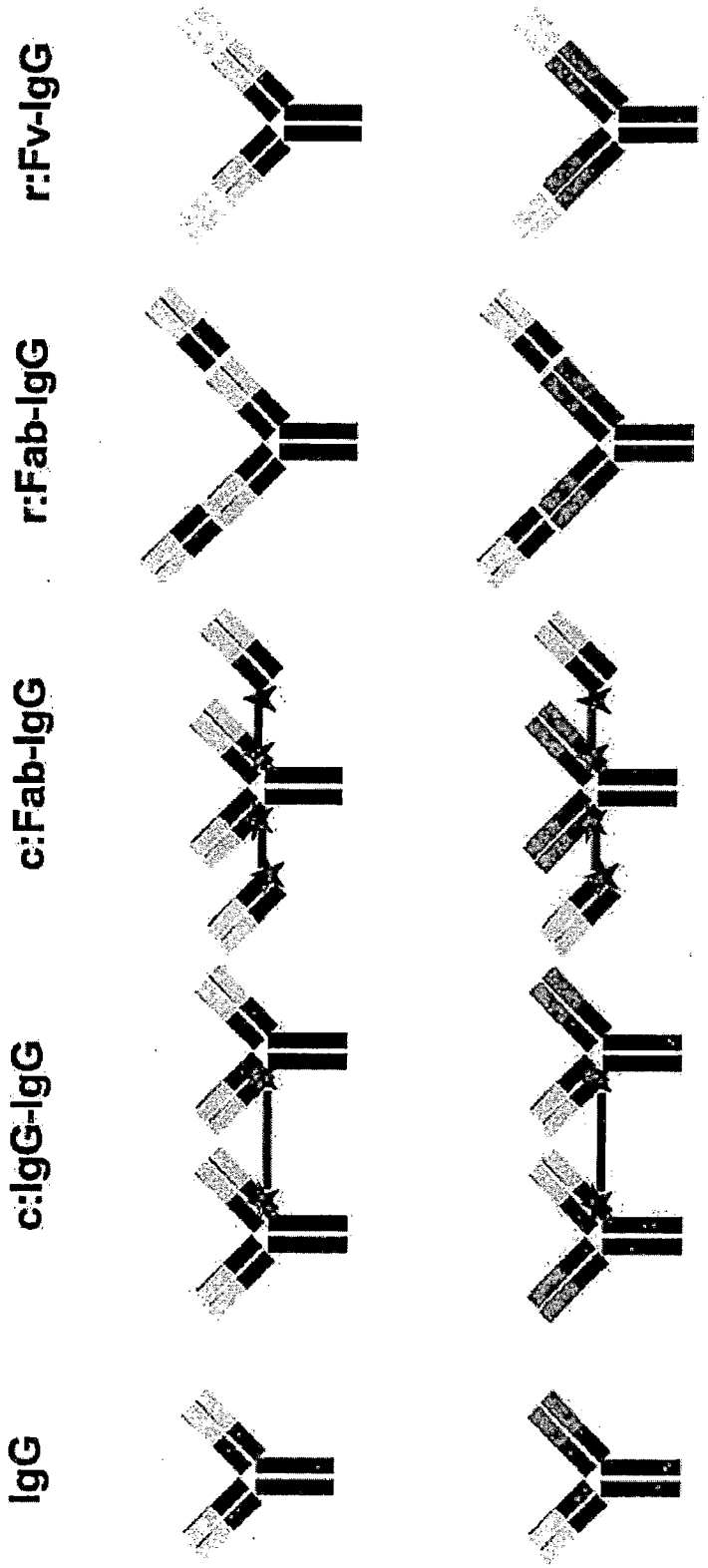
【第 106 項】 如申請專利範圍第 104 項之方法，其中該額外治療劑包含 PD-1 軸結合拮抗劑。

【第 107 項】 如申請專利範圍第 103 項至第 106 項中任一項之方法，其中該癌症為尿路上皮癌(uBC)、黑色素瘤、非小細胞肺癌(NSCLC)、三陰性乳癌(TNBC)、腎癌或膀胱癌。

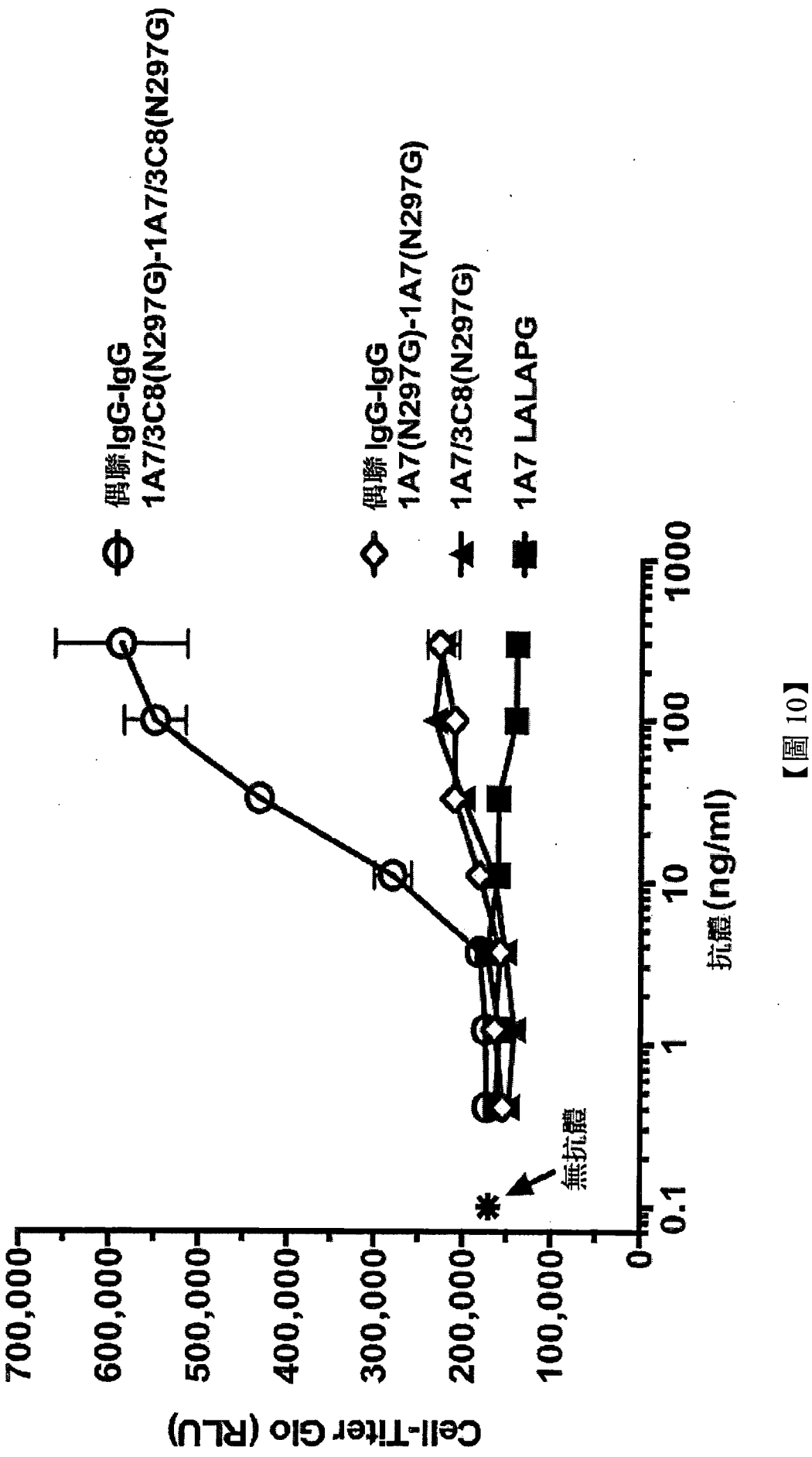
【發明圖式】


A280 (nm)
150
100
50
0
6
7
8
9
10
時間(分鐘)
1A7
OX40
1A7 + OX40
1A7/3C8
1A7/3C8 + OX40

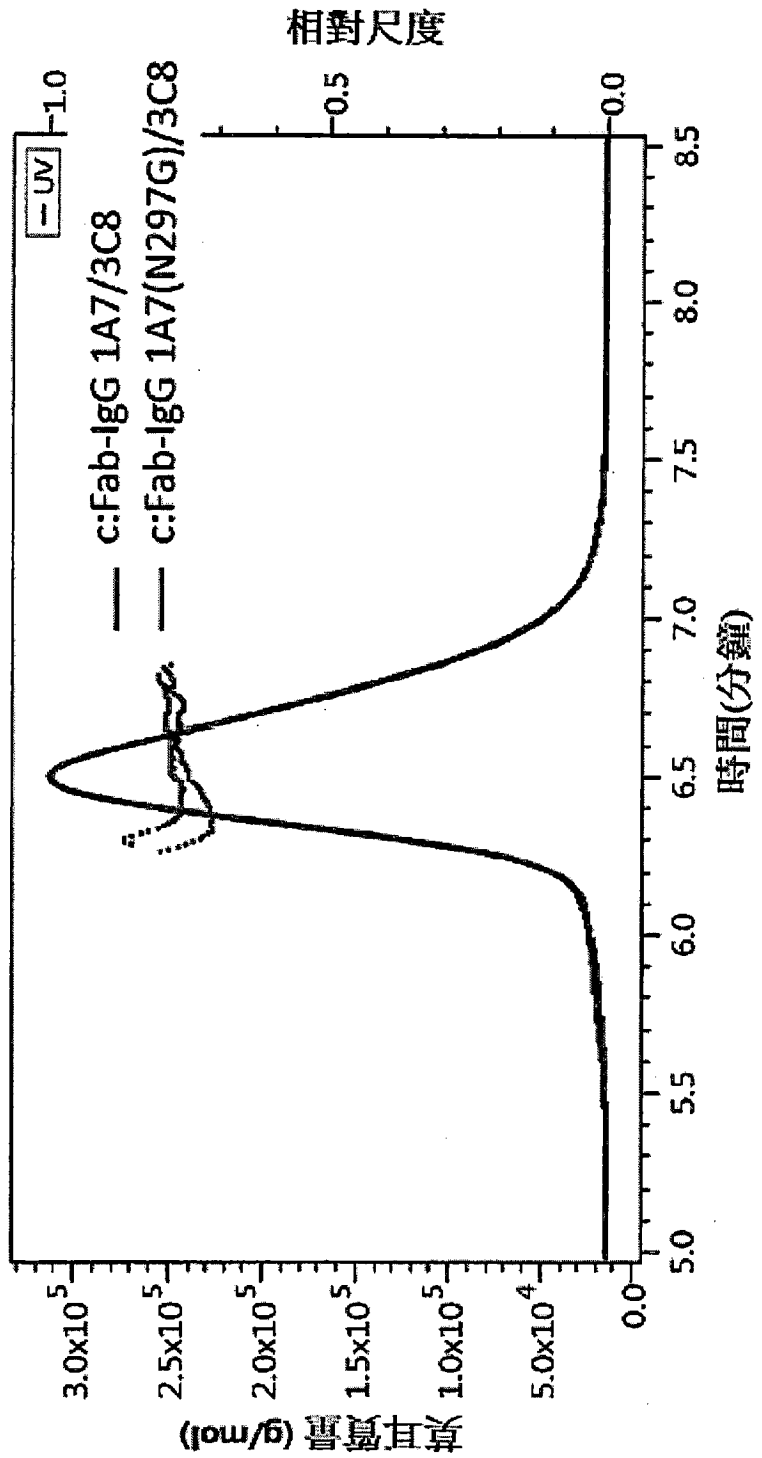
【圖 1】



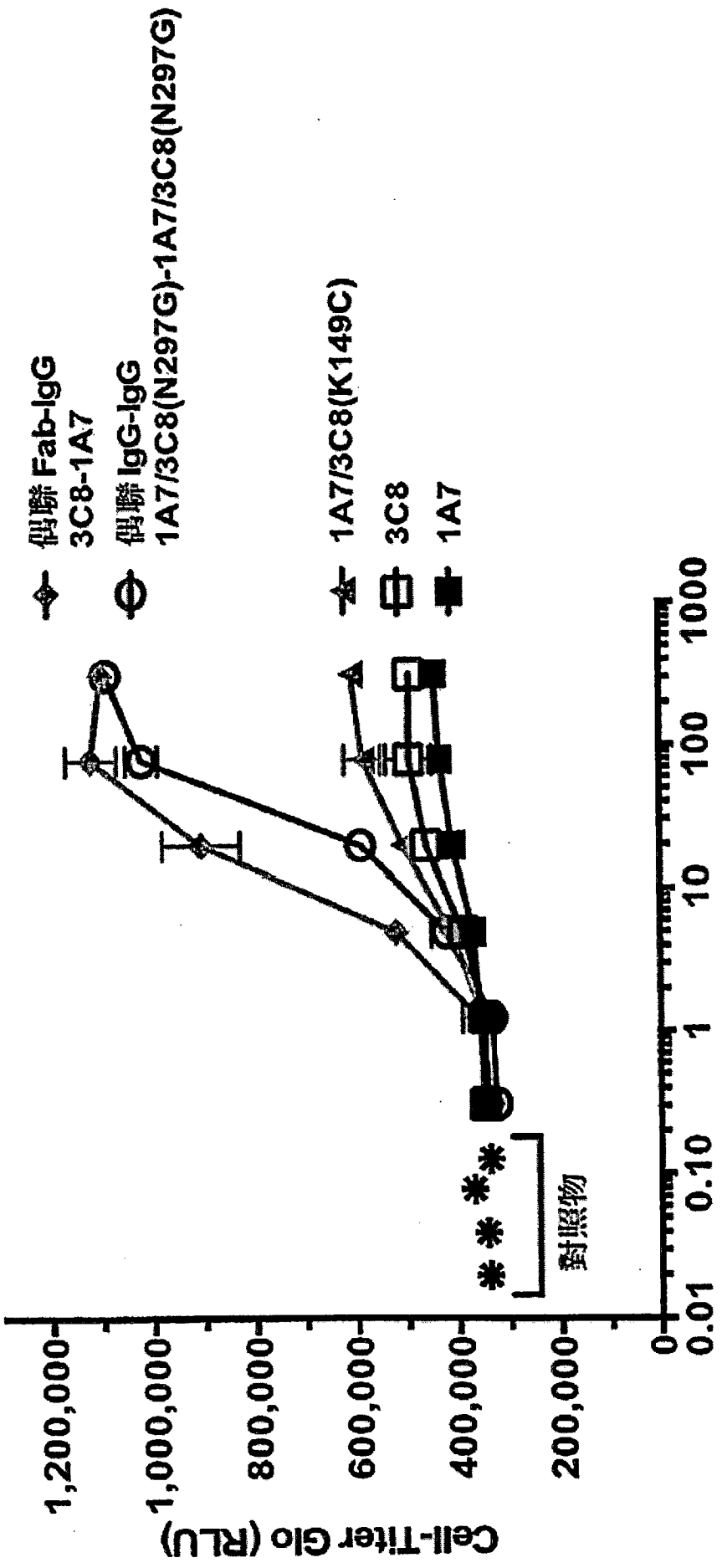
【圖 3A】


Cell-Titer Glo (RLU)
700,000
600,000
500,000
400,000
300,000
200,000
100,000
0
0.1
1
10
100
1000
抗體 (ng/ml)
無抗體
偶聯 IgG-IgG
1A7/3C8(N297G)-1A7/3C8(N297G)
偶聯 IgG-IgG
1A7(N297G)-1A7(N297G)
1A7/3C8(N297G)
1A7 LALAPG

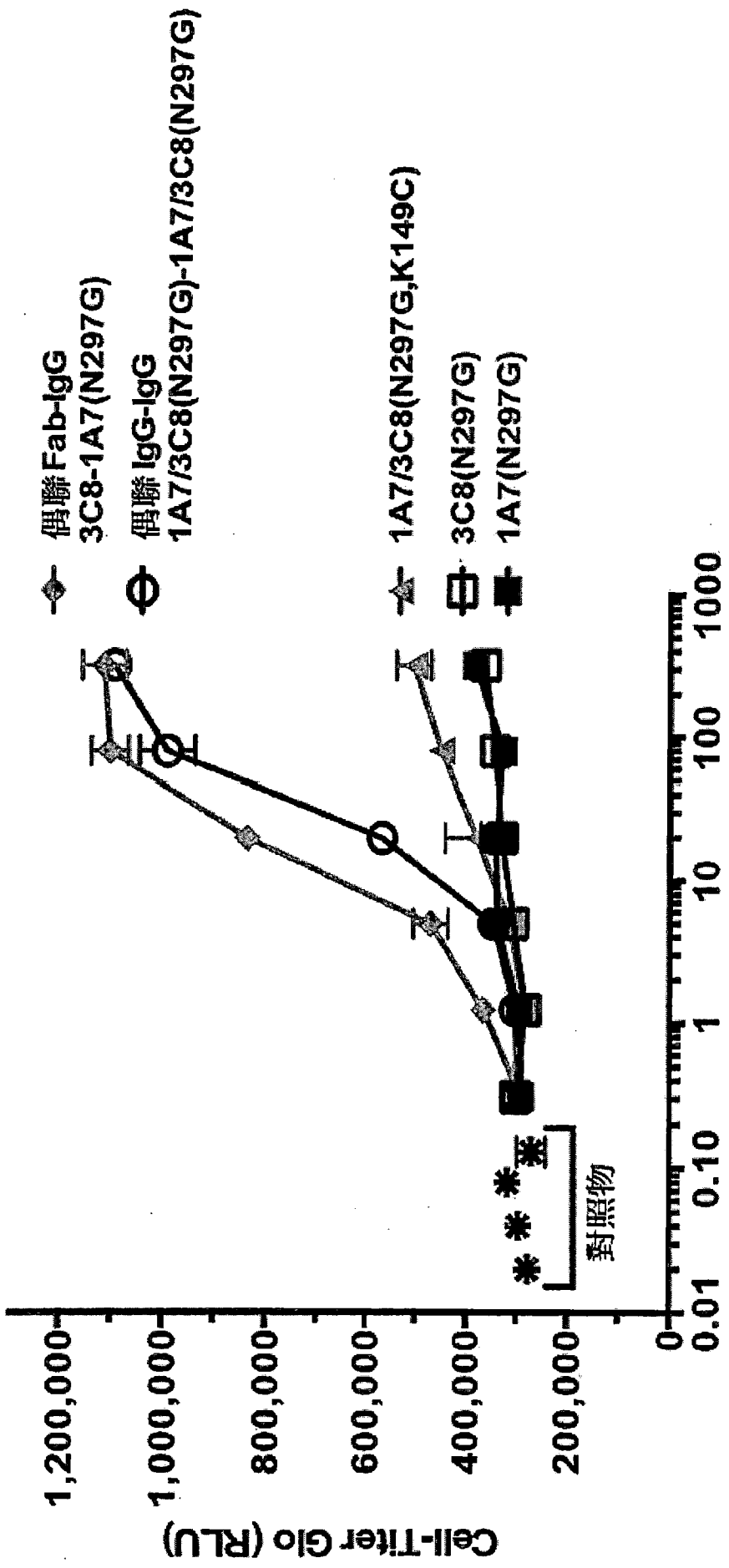
【圖 10】


相對尺度
1.0
0.5
0.0
UV
c:Fab-IgG 1A7/3C8
c:Fab-IgG 1A7(N297G)/3C8
3.0x10^5
2.5x10^5
2.0x10^5
1.5x10^5
1.0x10^5
5.0x10^4
0.0
莫耳質量 (g/mol)
5.0
5.5
6.0
6.5
7.0
7.5
8.0
8.5
時間(分鐘)

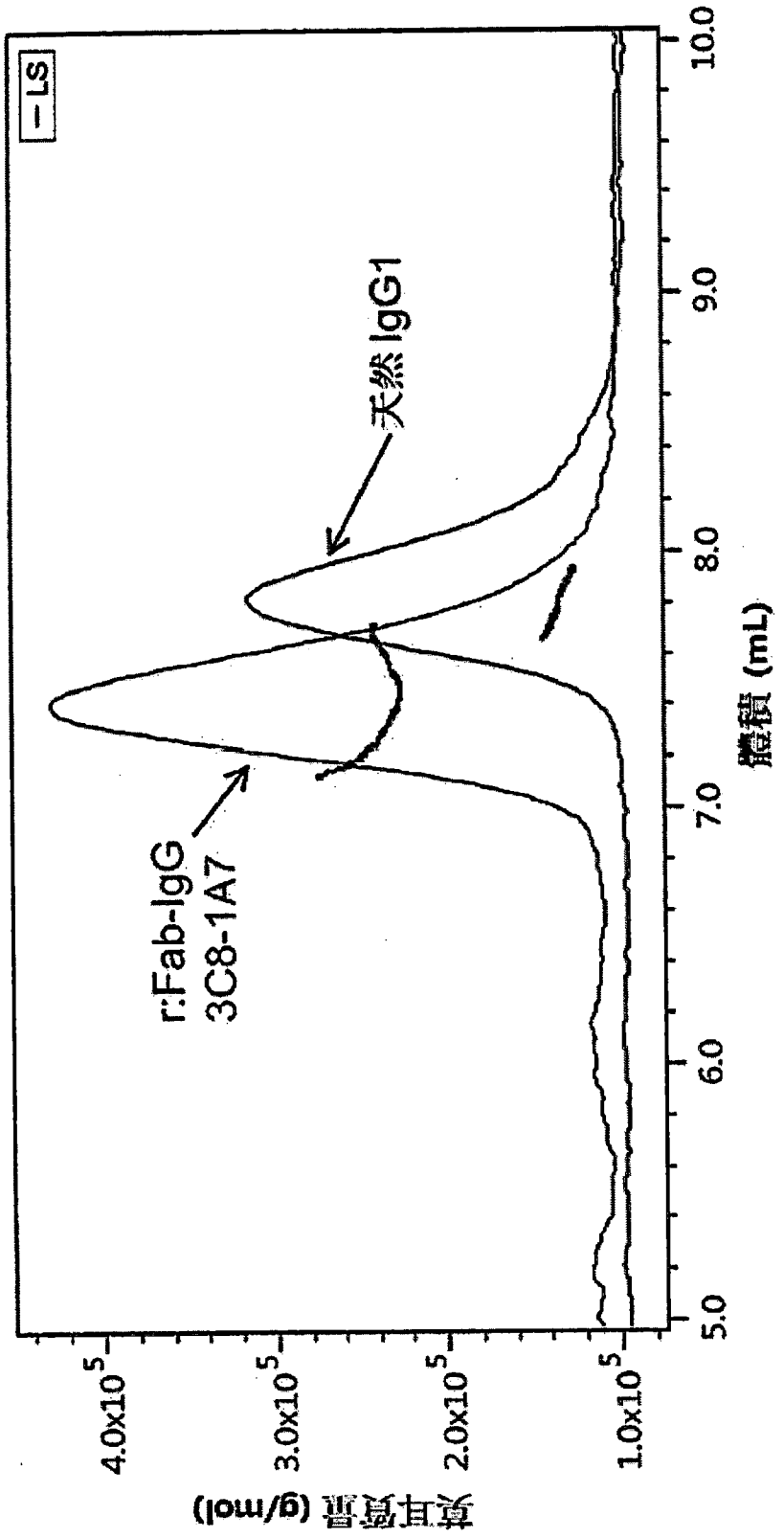
【圖 12】


偶聯 Fab-IgG
3C8-1A7
偶聯 IgG-IgG
1A7/3C8(N297G)-1A7/3C8(N297G)
1A7/3C8(K149C)
3C8
1A7
Cell-Titer Glo (RLU)
1,200,000
1,000,000
800,000
600,000
400,000
200,000
0
0.01
0.10
1
10
100
1000
[抗體] (ng/mL)
對照物

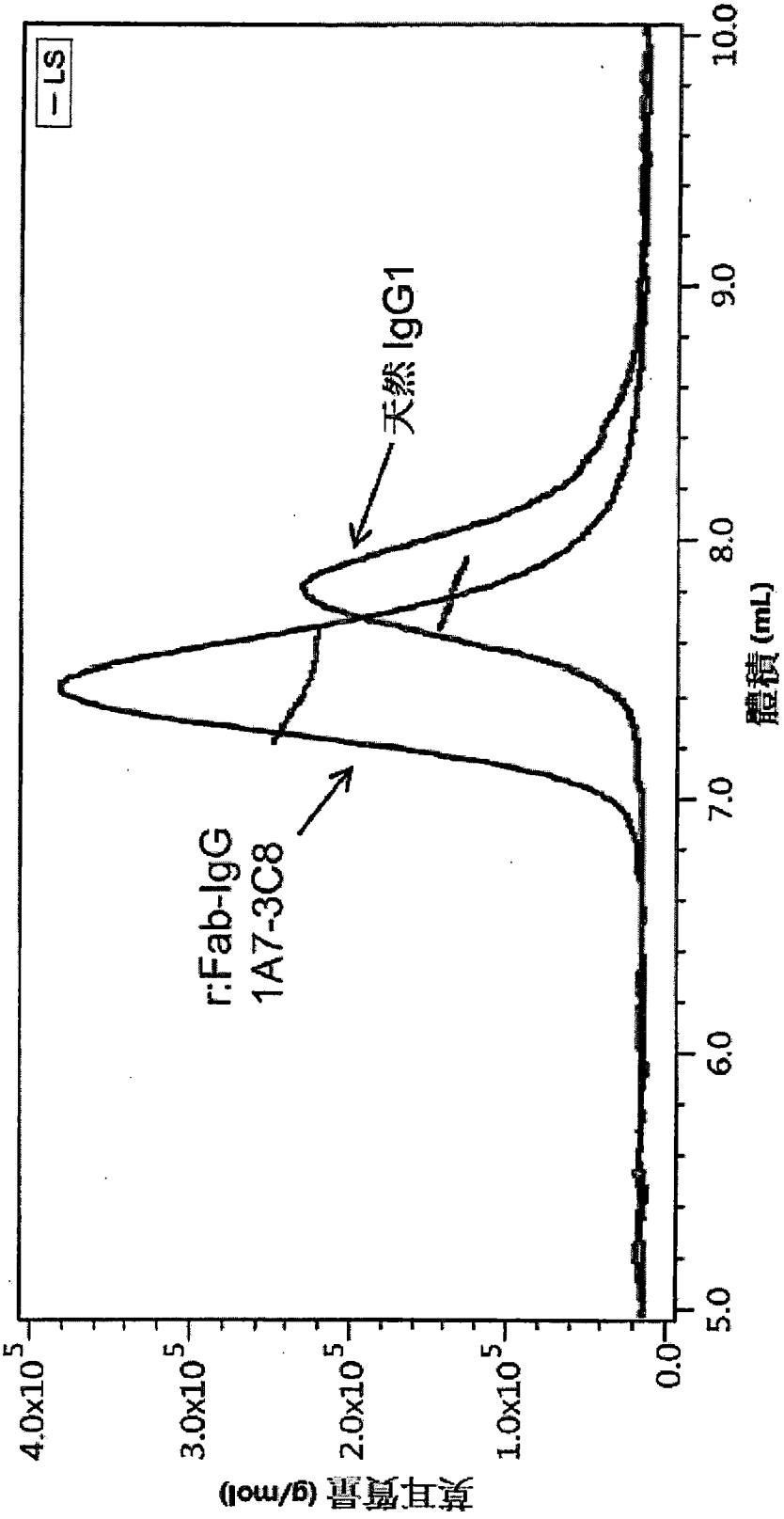
【圖 13】


偶聯 Fab-IgG
3C8-1A7(N297G)
偶聯 IgG-IgG
1A7/3C8(N297G)-1A7/3C8(N297G)
1A7/3C8(N297G,K149C)
3C8(N297G)
1A7(N297G)
Cell-Titer Glo (RLU)
1,200,000
1,000,000
800,000
600,000
400,000
200,000
對照物
0
0.01
0.10
1
10
100
1000
[抗體] (ng/mL)

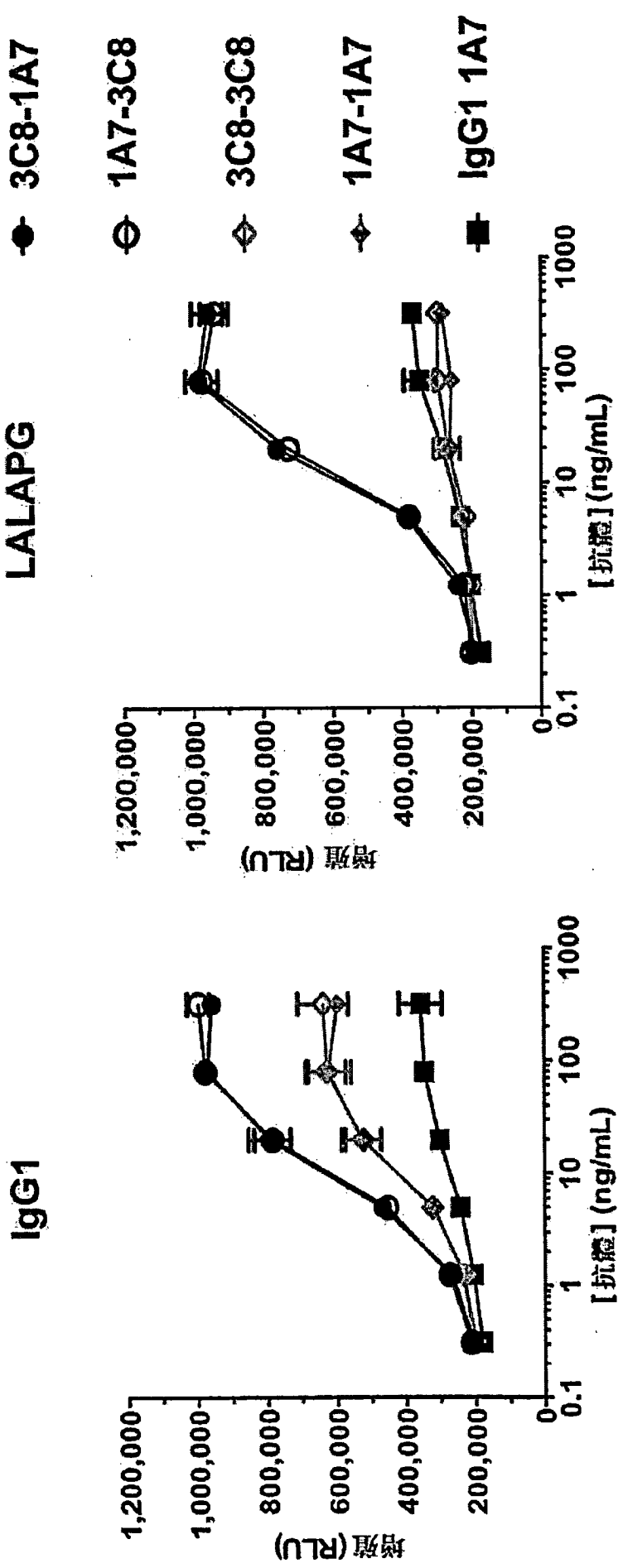
【圖 14】


LS
天然 IgG1
r:Fab-IgG
3C8-1A7
4.0x10^5
3.0x10^5
2.0x10^5
1.0x10^5
莫耳質量 (g/mol)
5.0
6.0
7.0
8.0
9.0
10.0
體積 (mL)

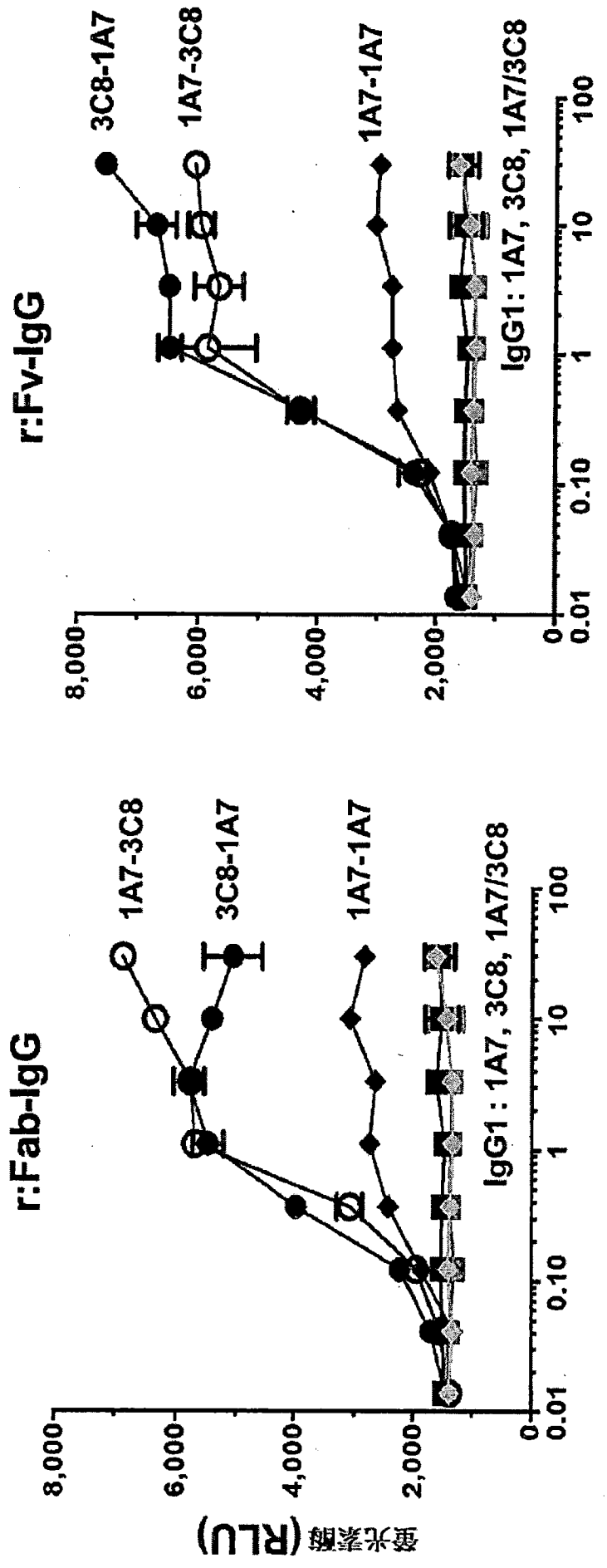
【圖 17】


LS
天然 IgG1
r:Fab-IgG
1A7-3C8
莫耳質量 (g/mol)
4.0x10^5
3.0x10^5
2.0x10^5
1.0x10^5
0.0
5.0
6.0
7.0
8.0
9.0
10.0
體積 (mL)

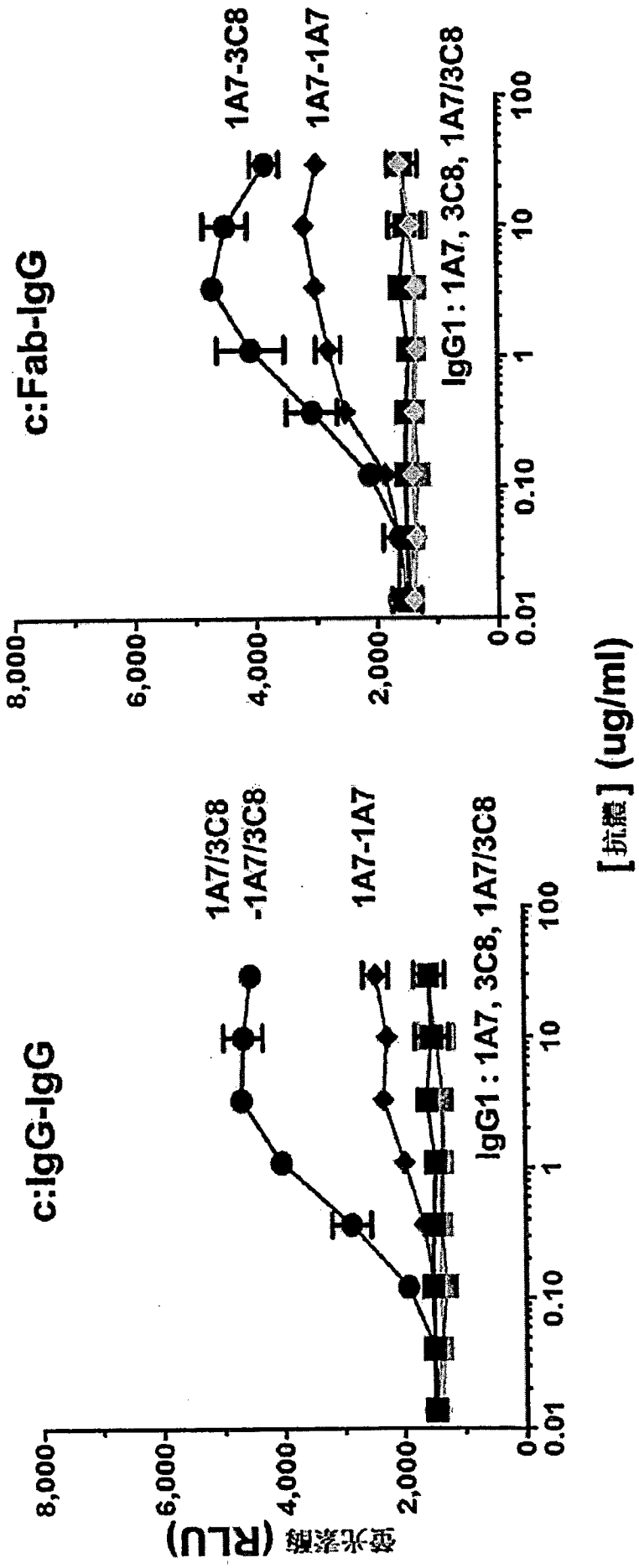
【圖 18】


IgG1
LALAPG
3C8-1A7
1A7-3C8
3C8-3C8
1A7-1A7
IgG1 1A7
增殖 (RLU)
[抗體] (ng/mL)
1,200,000
1,000,000
800,000
600,000
400,000
200,000
0
0.1
1
10
100
1000

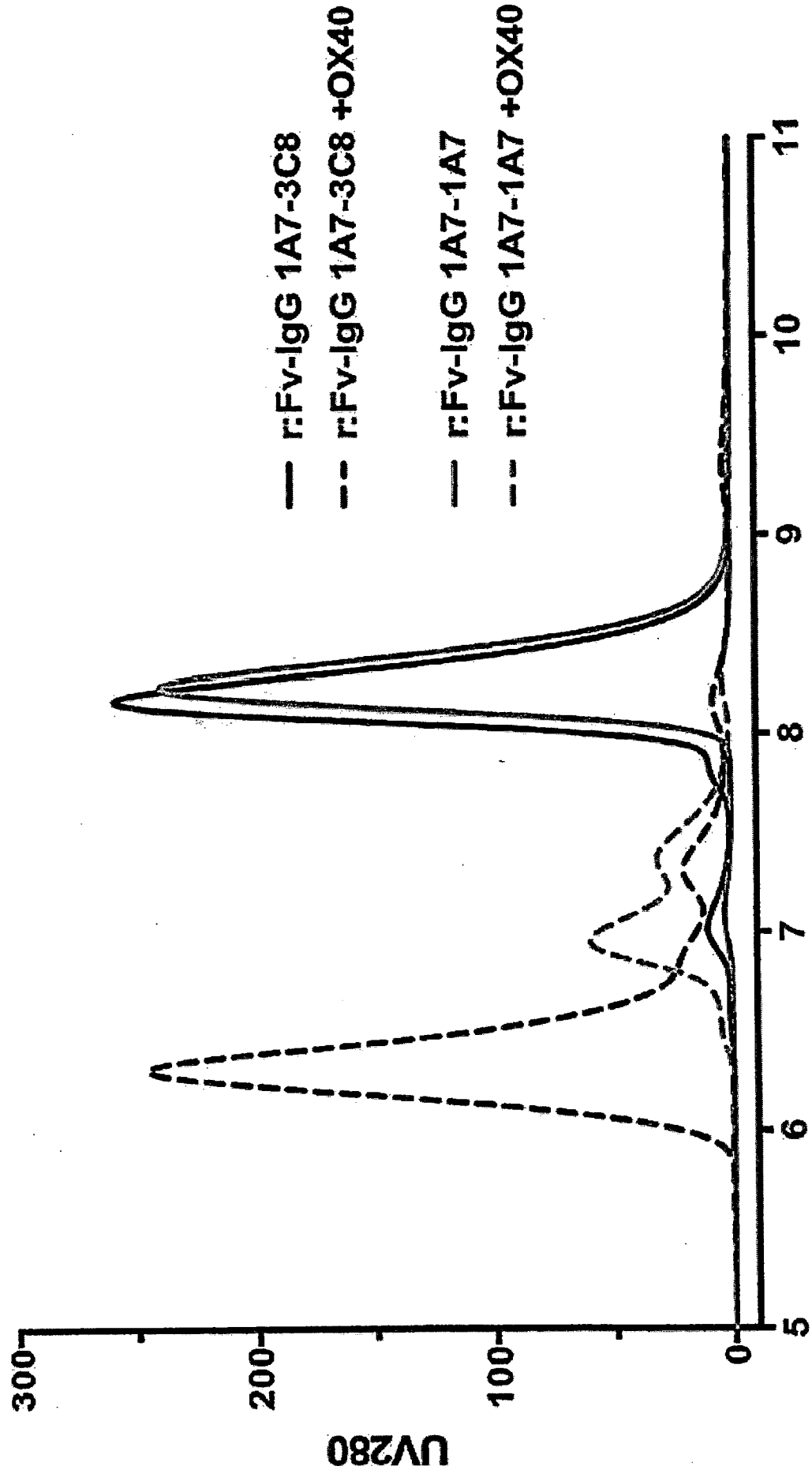
【圖 21】


r:Fab-IgG
r:Fv-IgG
1A7-3C8
3C8-1A7
1A7-1A7
IgG1 : 1A7, 3C8, 1A7/3C8
螢光素酶 (RLU)
8,000
6,000
4,000
2,000
0
0.01
0.10
1
10
100
[抗體] (ug/ml)

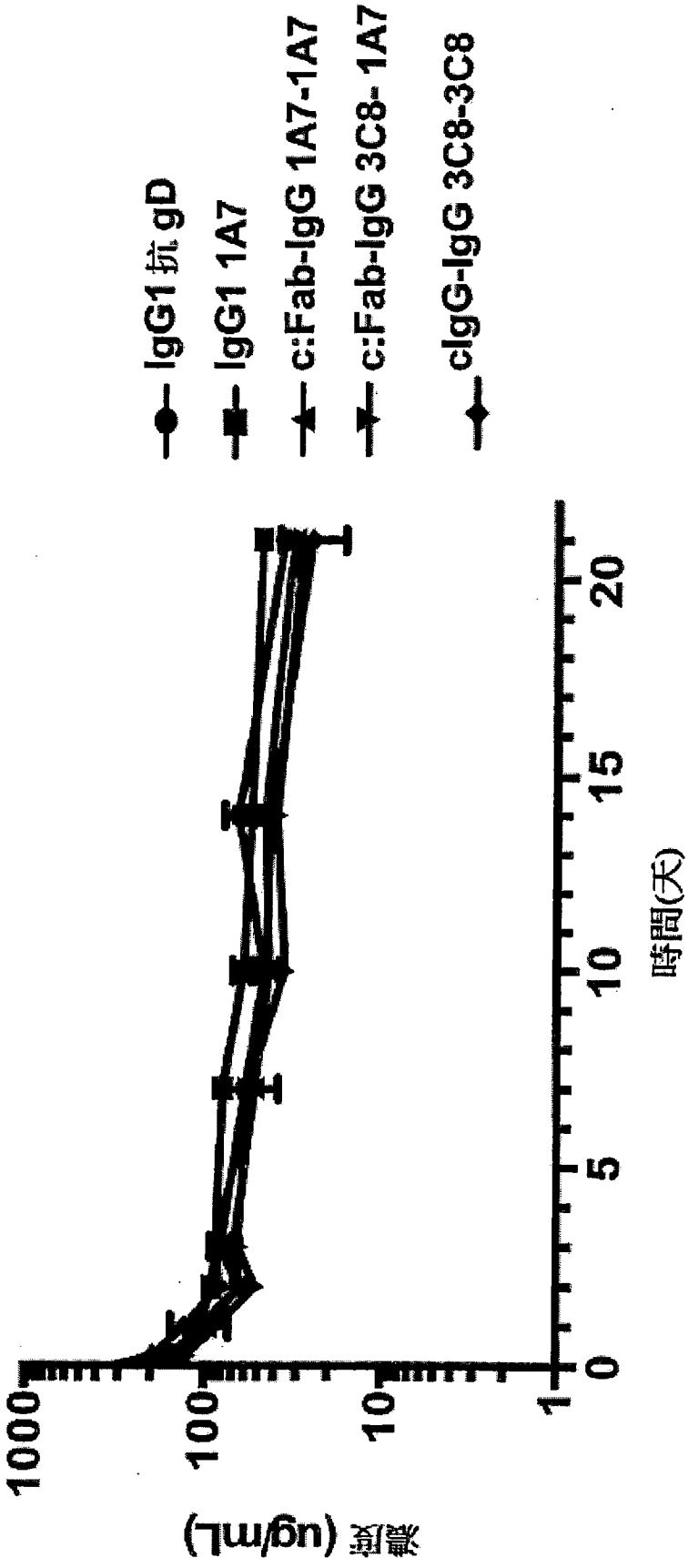
【圖 22】


c:Fab-IgG
1A7-3C8
1A7-1A7
IgG1 : 1A7, 3C8, 1A7/3C8
c:IgG-IgG
1A7/3C8
-1A7/3C8
1A7-1A7
IgG1 : 1A7, 3C8, 1A7/3C8
螢光素酶 (RLU)
[抗體] (ug/ml)

【圖 23】


r:Fv-IgG 1A7-3C8
r:Fv-IgG 1A7-3C8 +OX40
r:Fv-IgG 1A7-1A7
r:Fv-IgG 1A7-1A7 +OX40
UV280
300
200
100
0
5
6
7
8
9
10
11
SEC溶離時間(分鐘)

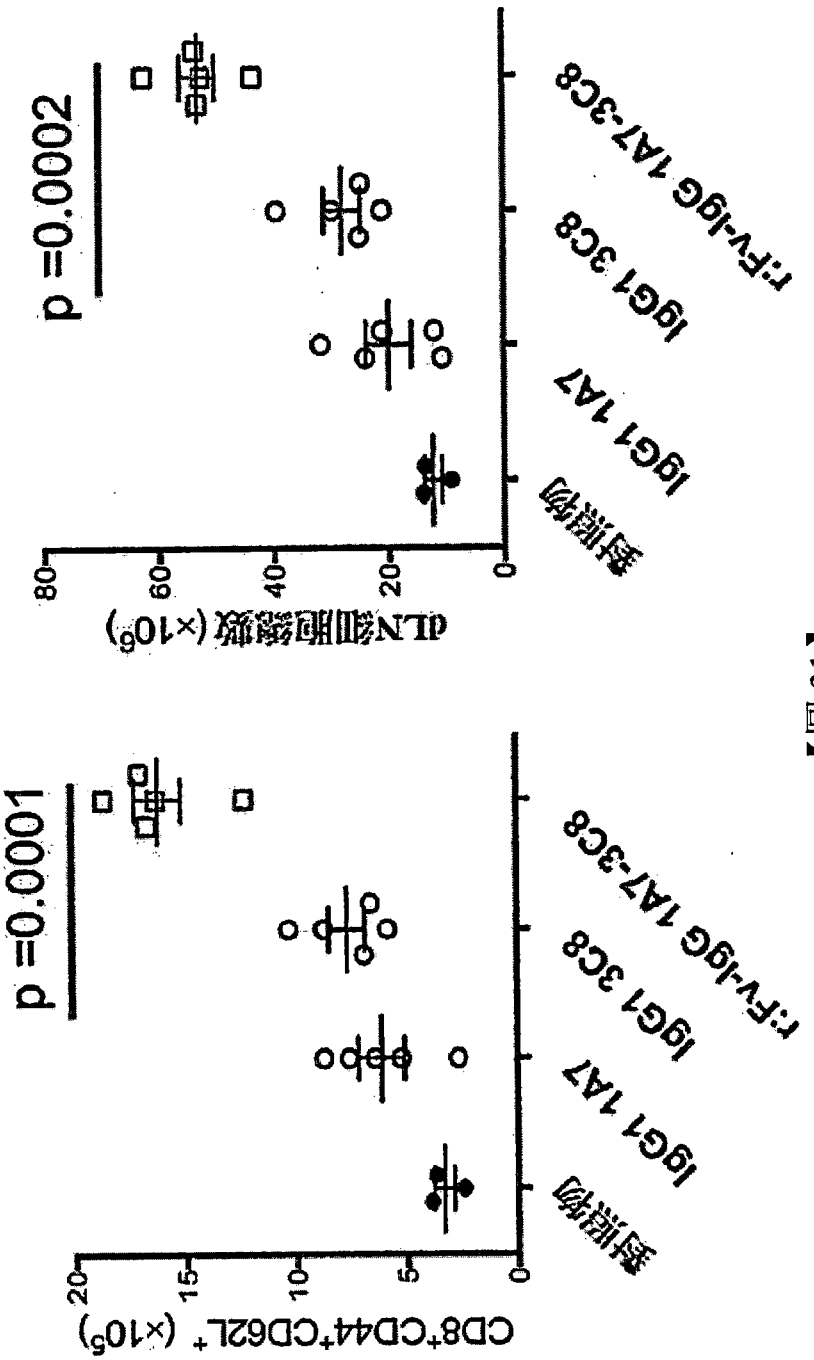
【圖 25】


IgG1 抗 gD
IgG1 1A7
c:Fab-IgG 1A7-1A7
c:Fab-IgG 3C8- 1A7
cIgG-IgG 3C8-3C8
濃度 (ug/mL)
1000
100
10
1
0
5
10
15
20
時間(天)

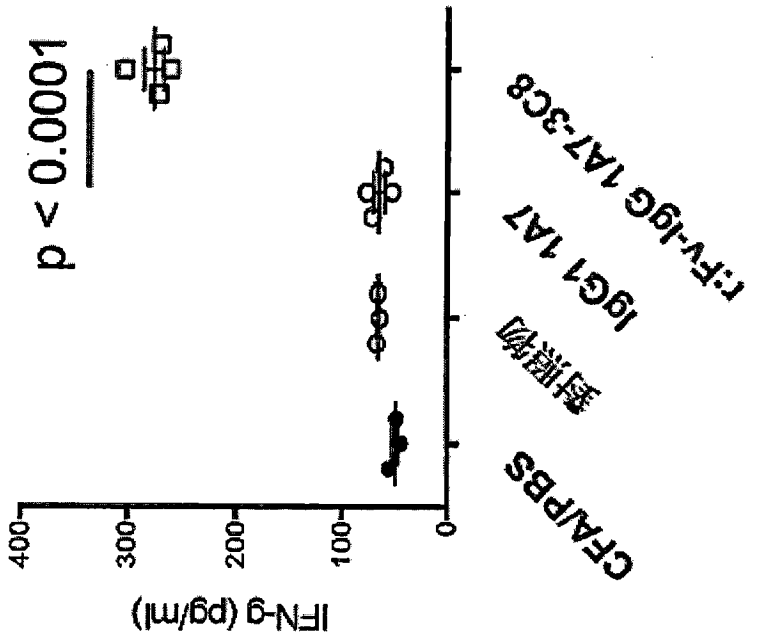
【圖 28】

抗KLH IgG (單位/ml)
2.5×10^6
2.0×10^6
1.5×10^6
1.0×10^6
5.0×10^5
0.0
p =0.01
對照物
IgG1 1A7
IgG1 3C8
r:FV-IgG 1A7-3C8
CD44+CD62L-/CD4 (%)
15
10
5
0
p =0.002
對照物
IgG1 1A7
IgG1 3C8
r:FV-IgG 1A7-3C8

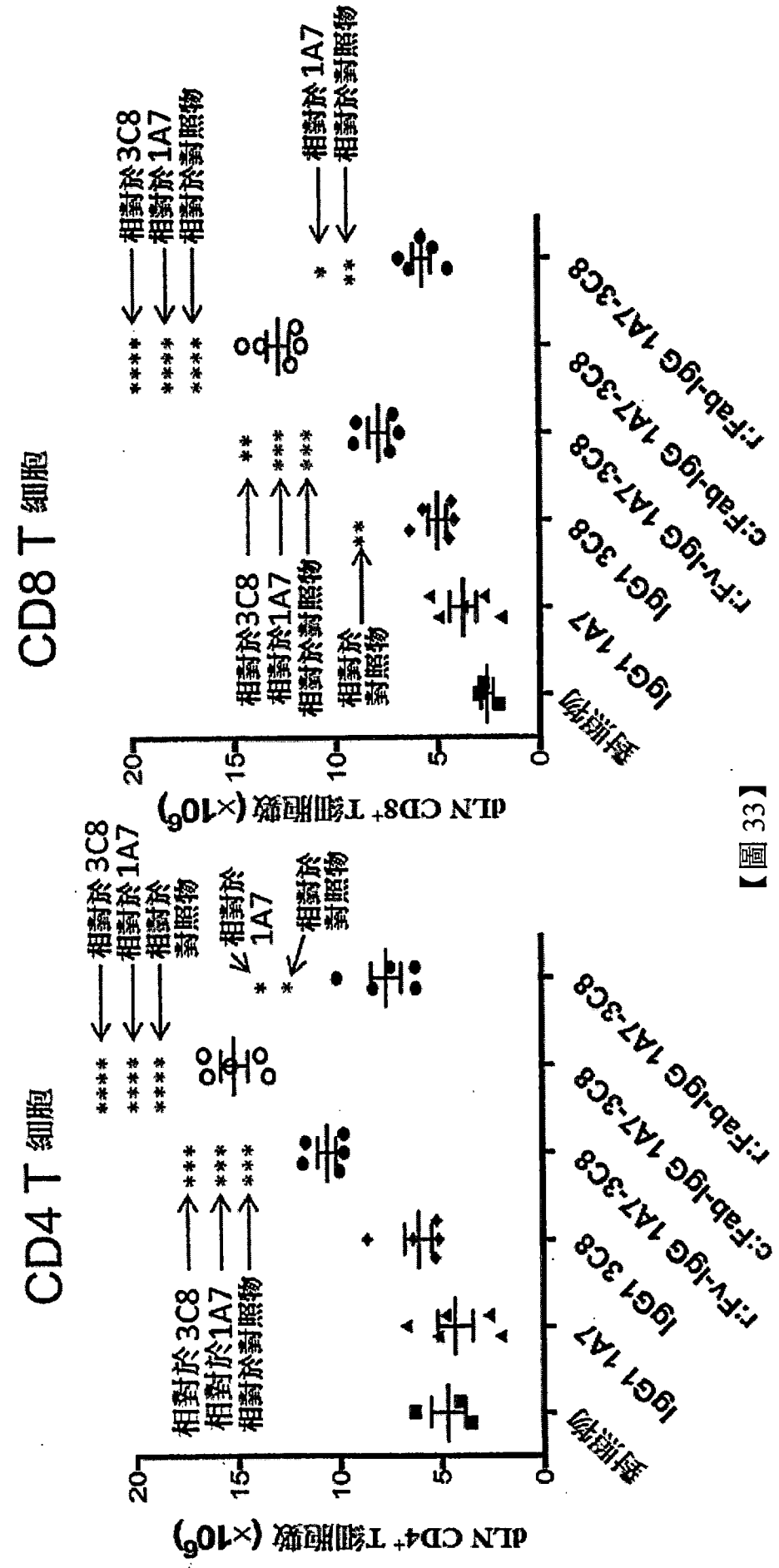
【圖 30】


p =0.0002
dLN細胞數 (×10⁶)
0
20
40
60
80
緩衝劑
IgG1 1A7
IgG1 3C8
F:Fv-IgG 1A7-3C8
p =0.0001
CD8⁺CD44⁺CD62L⁺ (×10⁶)
0
5
10
15
20
緩衝劑
IgG1 1A7
IgG1 3C8
F:Fv-IgG 1A7-3C8

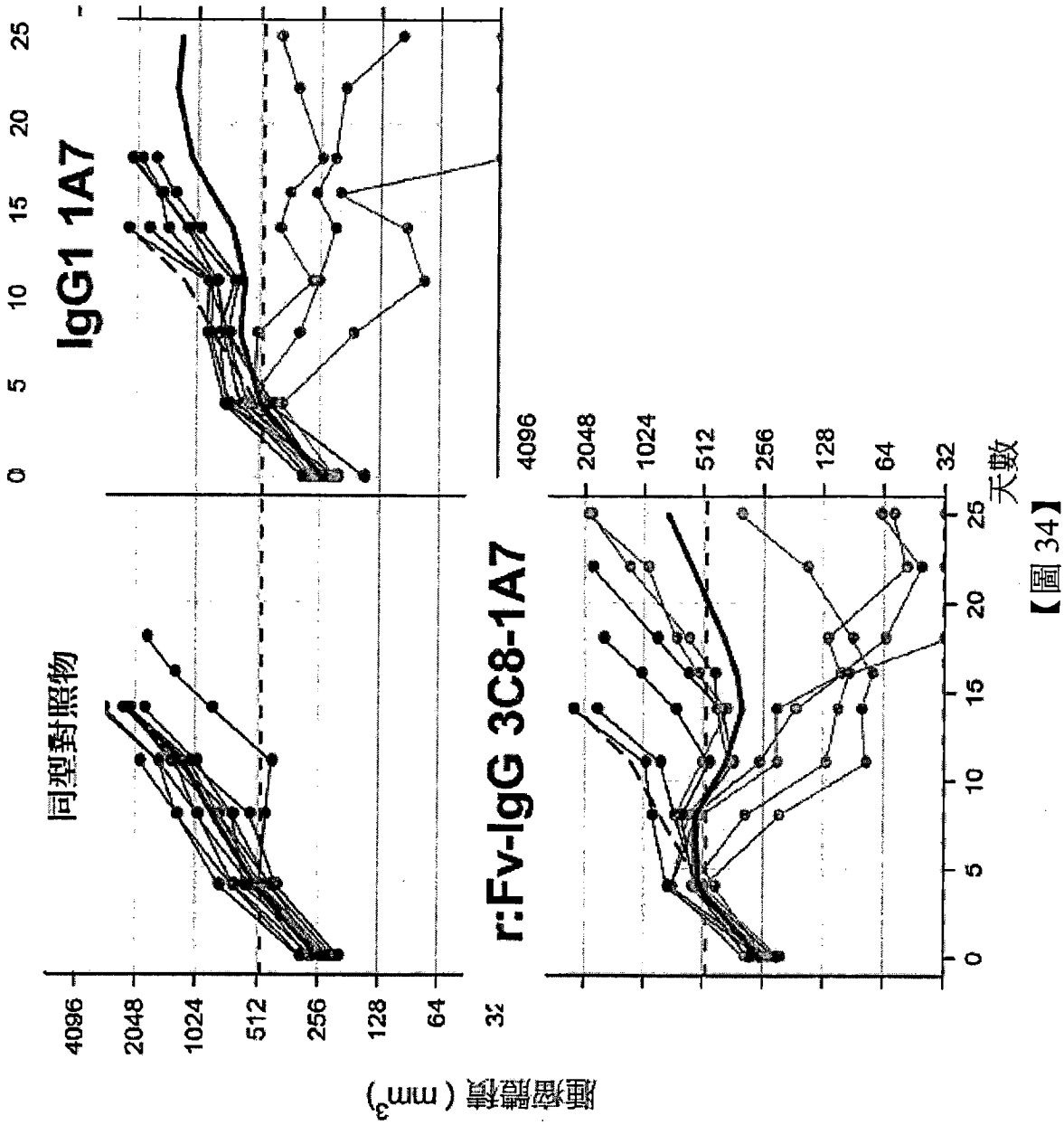
【圖 31】


IFN-g (pg/ml)
400
300
200
100
0
CFAPBS
對照物
IgG1 1A7
f:FV-IgG 1A7-3C8
p < 0.0001

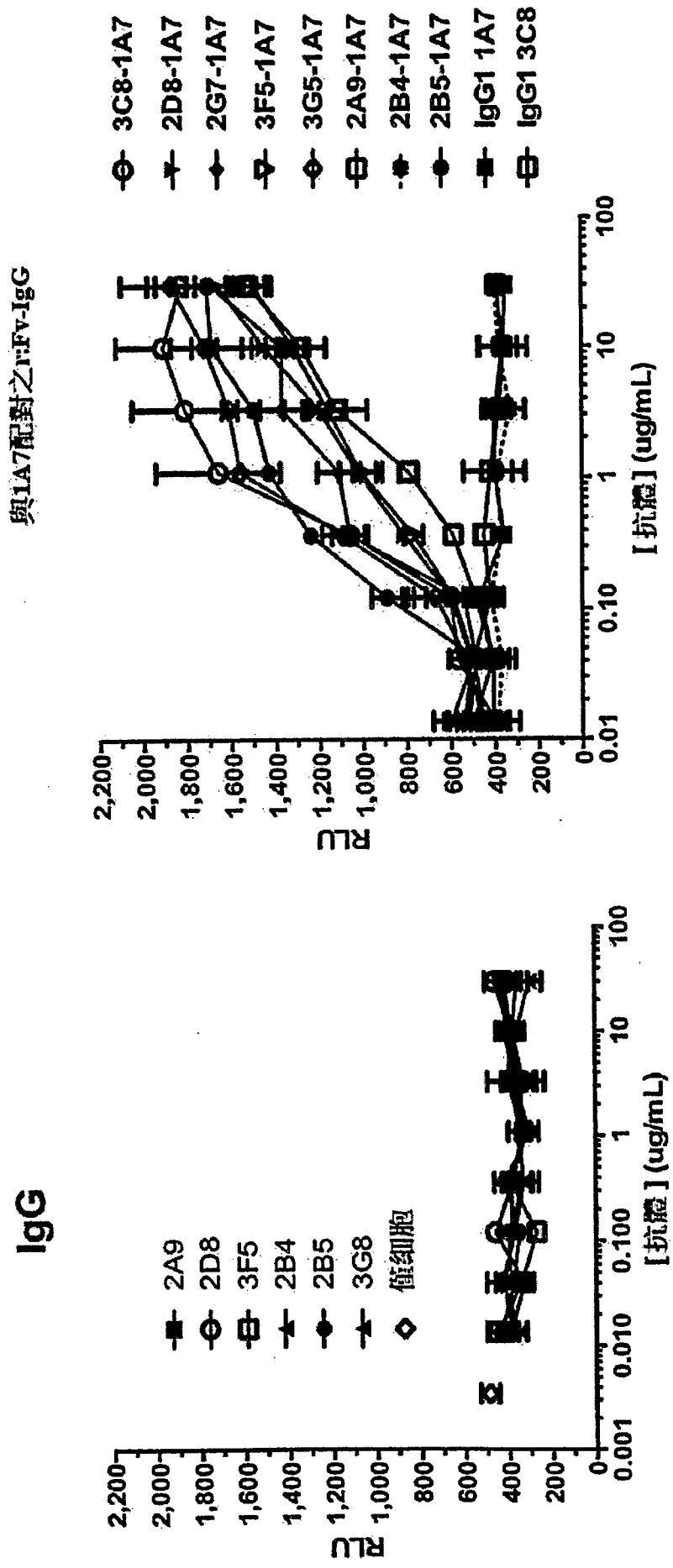
【圖 32】


CD4 T 細胞
CD8 T 細胞
dLN CD4+ T細胞數 (X10^6)
dLN CD8+ T細胞數 (X10^6)
0
5
10
15
20
對照物
IgG1 1A7
IgG1 3C8
F:Fv-IgG 1A7-3C8
C:Fab-IgG 1A7-3C8
F:Fab-IgG 1A7-3C8
相對於3C8
相對於1A7
相對於對照物
****
***
**
*

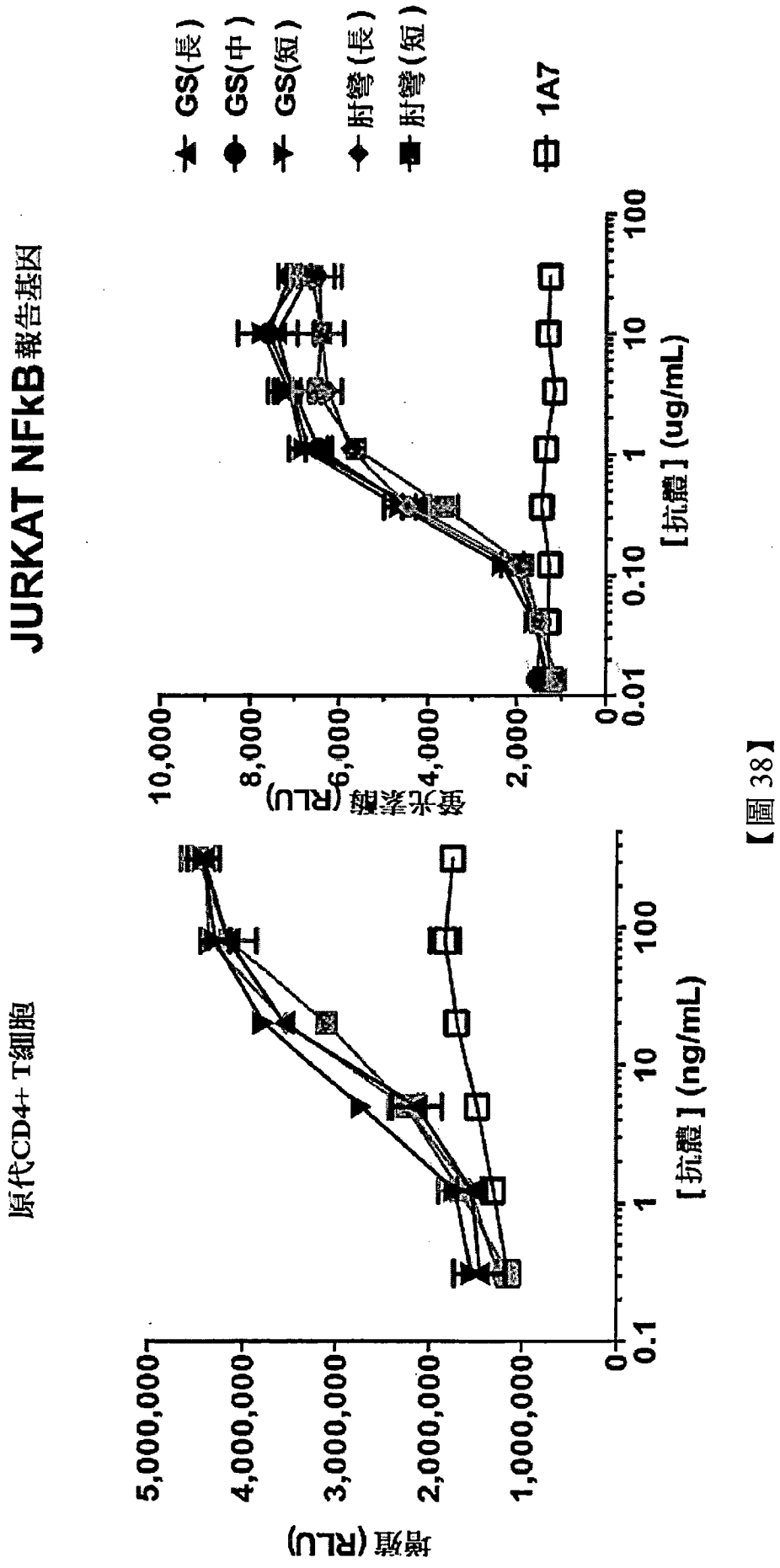
【圖 33】


同型對照物
IgG1 1A7
r:Fv-IgG 3C8-1A7
腫瘤體積 (mm³)
天數
4096
2048
1024
512
256
128
64
32
0
5
10
15
20
25

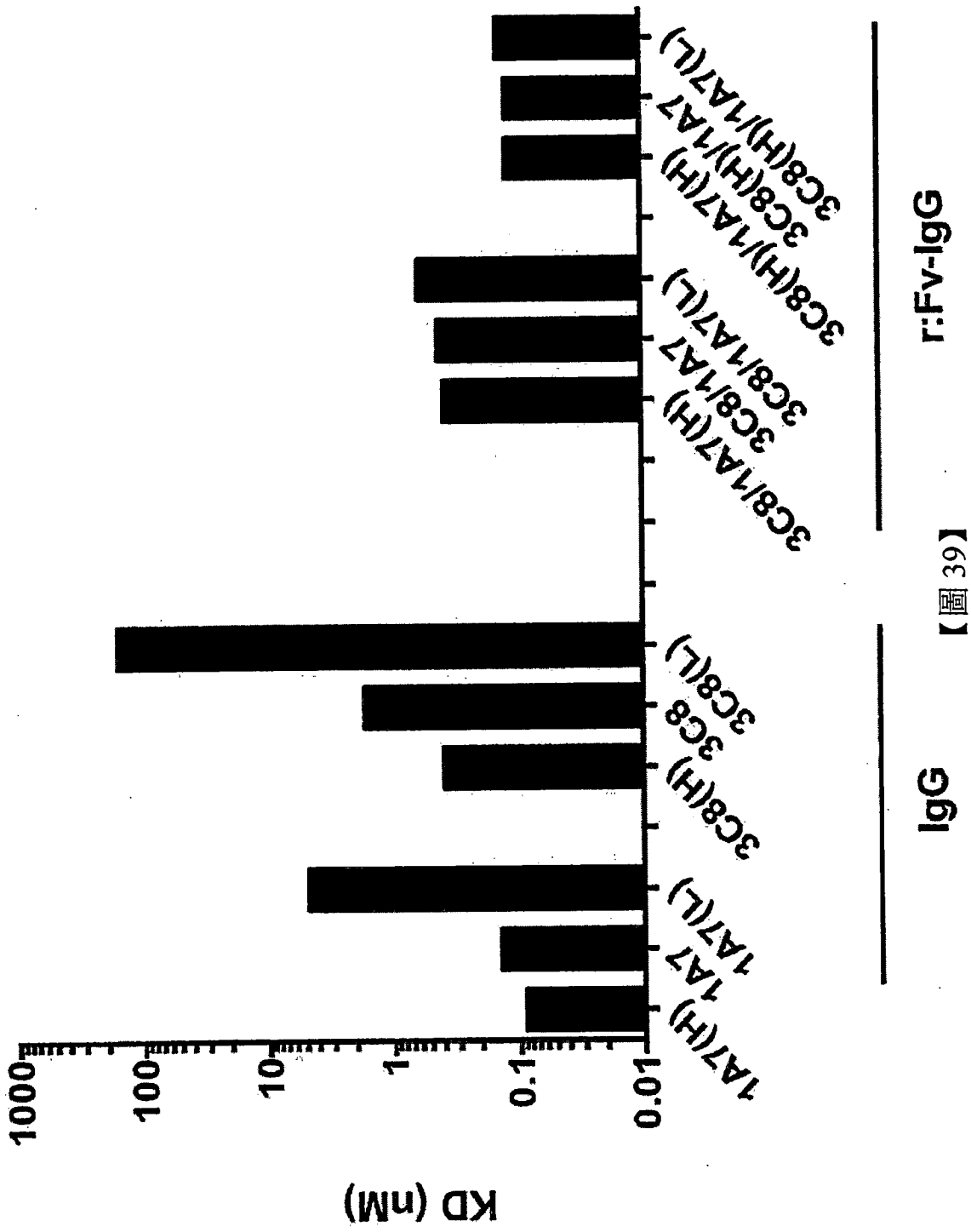
【圖 34】


與1A7配對之r:Fv-IgG
3C8-1A7
2D8-1A7
2G7-1A7
3F5-1A7
3G5-1A7
2A9-1A7
2B4-1A7
2B5-1A7
IgG1 1A7
IgG1 3C8
RLU
[抗體] (ug/mL)
IgG
2A9
2D8
3F5
2B4
2B5
3G8
僅細胞
RLU
[抗體] (ug/mL)

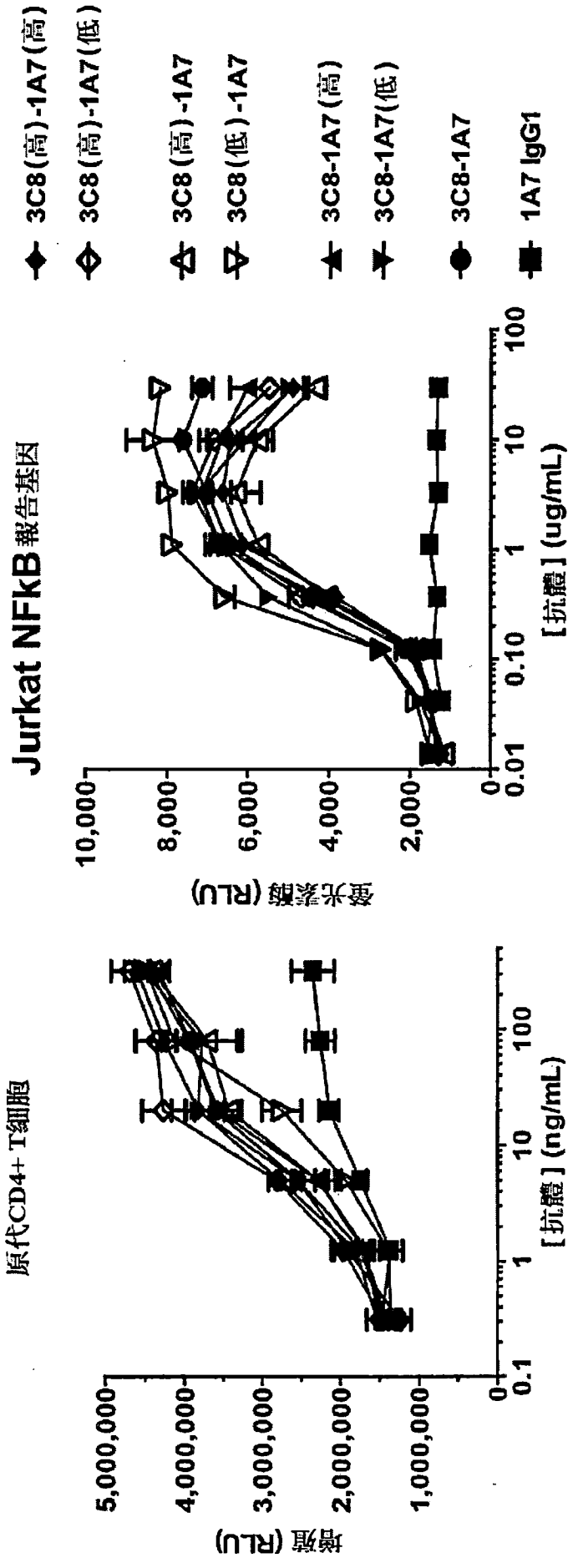
【圖 37】


JURKAT NFkB報告基因
GS(長)
GS(中)
GS(短)
肘彎(長)
肘彎(短)
1A7
螢光素酶(RLU)
10,000
8,000
6,000
4,000
2,000
0
0.01
0.10
1
10
100
[抗體] (ug/mL)
原代CD4+ T細胞
增殖(RLU)
5,000,000
4,000,000
3,000,000
2,000,000
1,000,000
0
0.1
1
10
100
[抗體] (ng/mL)

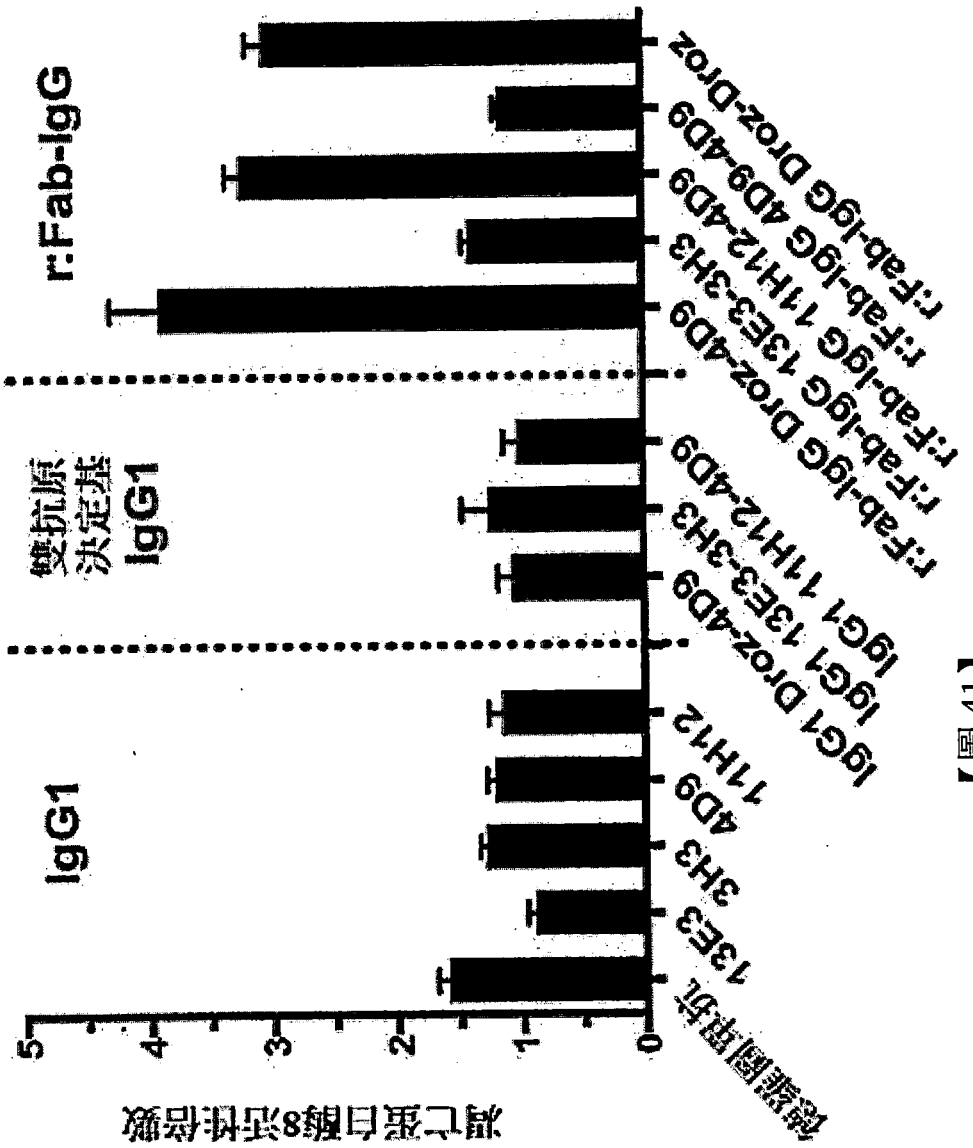
【圖 38】


KD (nM)
1000
100
10
1
0.1
0.01
1A7(H)
1A7
1A7(L)
3C8(H)
3C8
3C8(L)
3C8/1A7(H)
3C8/1A7
3C8/1A7(L)
3C8(H)/1A7(H)
3C8(H)/1A7
3C8(H)/1A7(L)
IgG
r:Fv-IgG

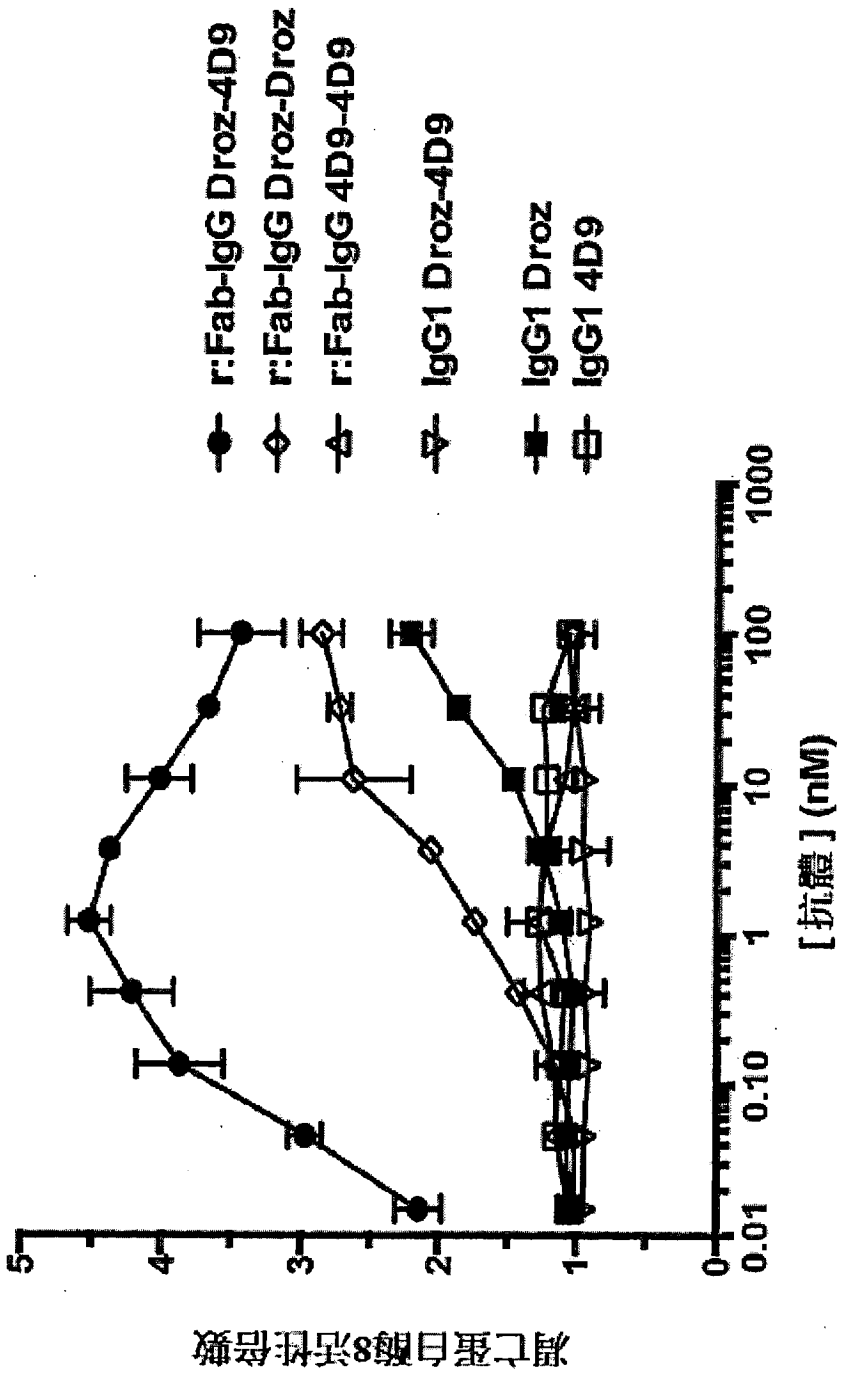
【圖 39】


3C8(高)-1A7(高)
3C8(高)-1A7(低)
3C8(高)-1A7
3C8(低)-1A7
3C8-1A7(高)
3C8-1A7(低)
3C8-1A7
1A7 IgG1
Jurkat NFkB報告基因
螢光素酶 (RLU)
10,000
8,000
6,000
4,000
2,000
0
0.01
0.10
1
10
100
[抗體] (ug/mL)
原代CD4+ T細胞
增殖 (RLU)
5,000,000
4,000,000
3,000,000
2,000,000
1,000,000
0
0.1
1
10
100
[抗體] (ng/mL)

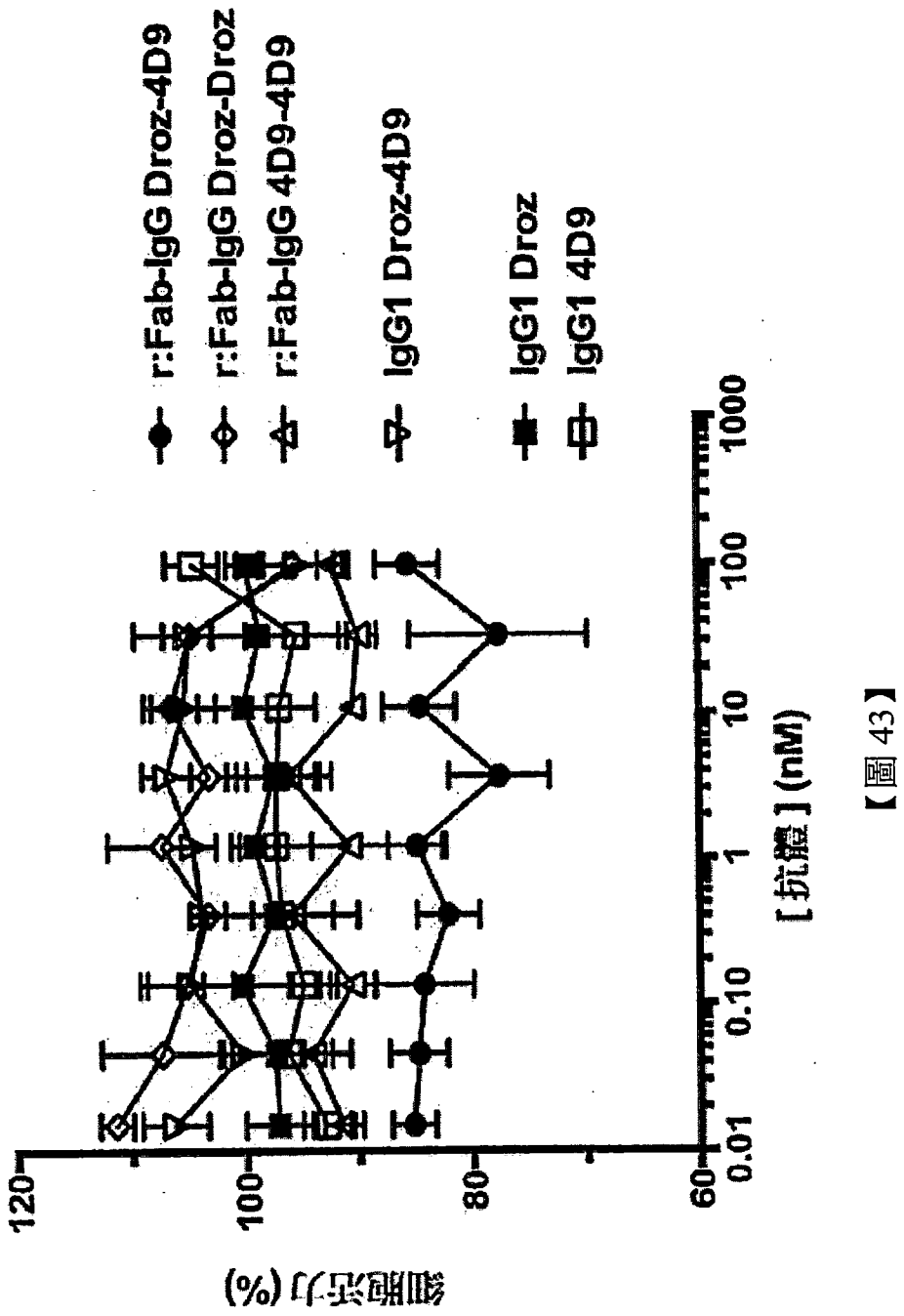
【圖 40】


r:Fab-IgG
雙抗原決定基IgG1
IgG1
r:Fab-IgG Droz-4D9
r:Fab-IgG 13E3-3H3
r:Fab-IgG 11H12-4D9
r:Fab-IgG 4D9-4D9
r:Fab-IgG Droz-Droz
IgG1 Droz-4D9
IgG1 13E3-3H3
IgG1 11H12-4D9
11H12
4D9
3H3
13E3
陰離圖用抗
5
4
3
2
1
0
凋亡蛋白酶8活性倍數

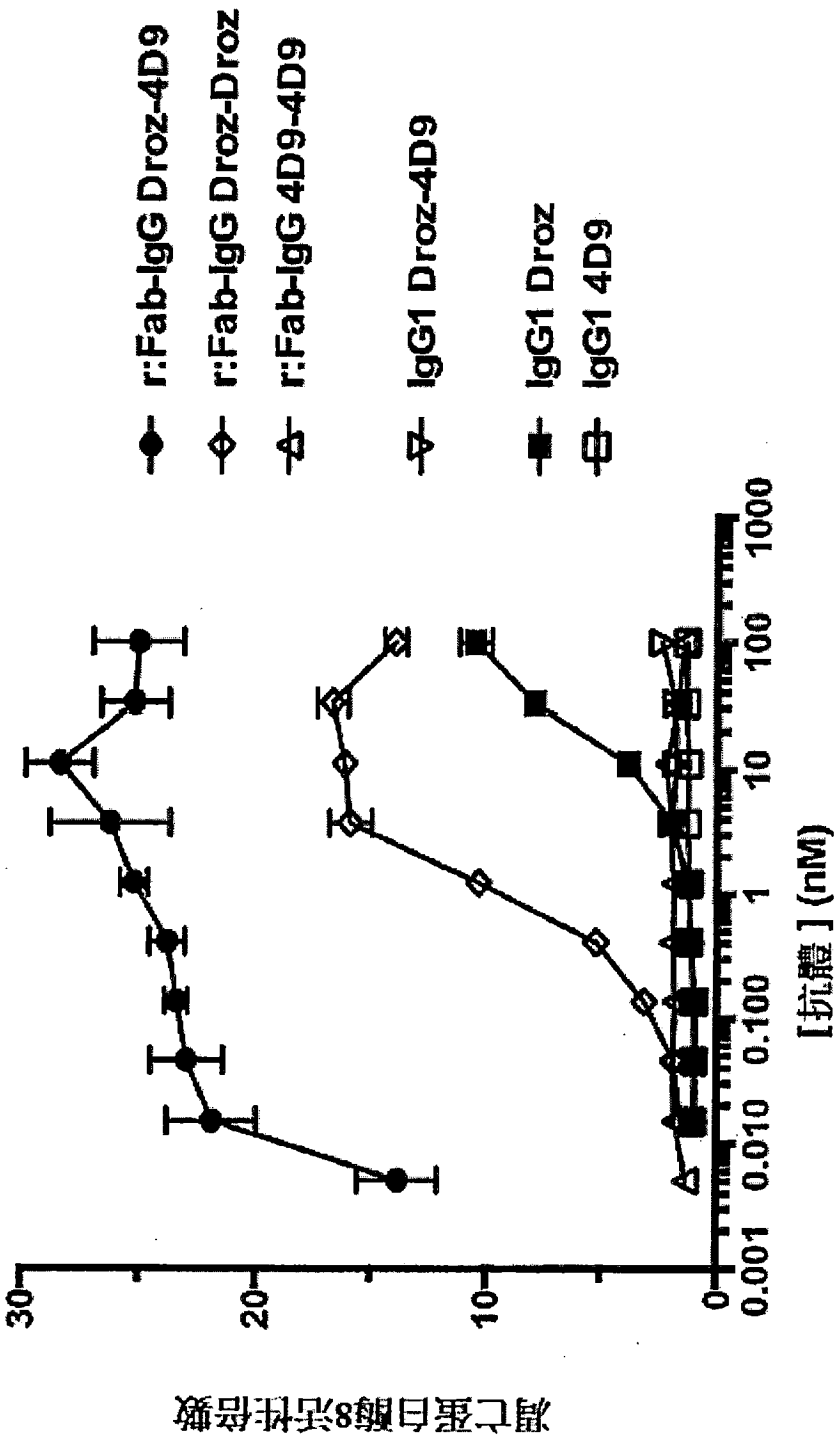
【圖 41】


r:Fab-IgG Droz-4D9
r:Fab-IgG Droz-Droz
r:Fab-IgG 4D9-4D9
IgG1 Droz-4D9
IgG1 Droz
IgG1 4D9
0
1
2
3
4
5
0.01
0.10
1
10
100
1000
[抗體] (nM)
凋亡蛋白酶8活性倍數

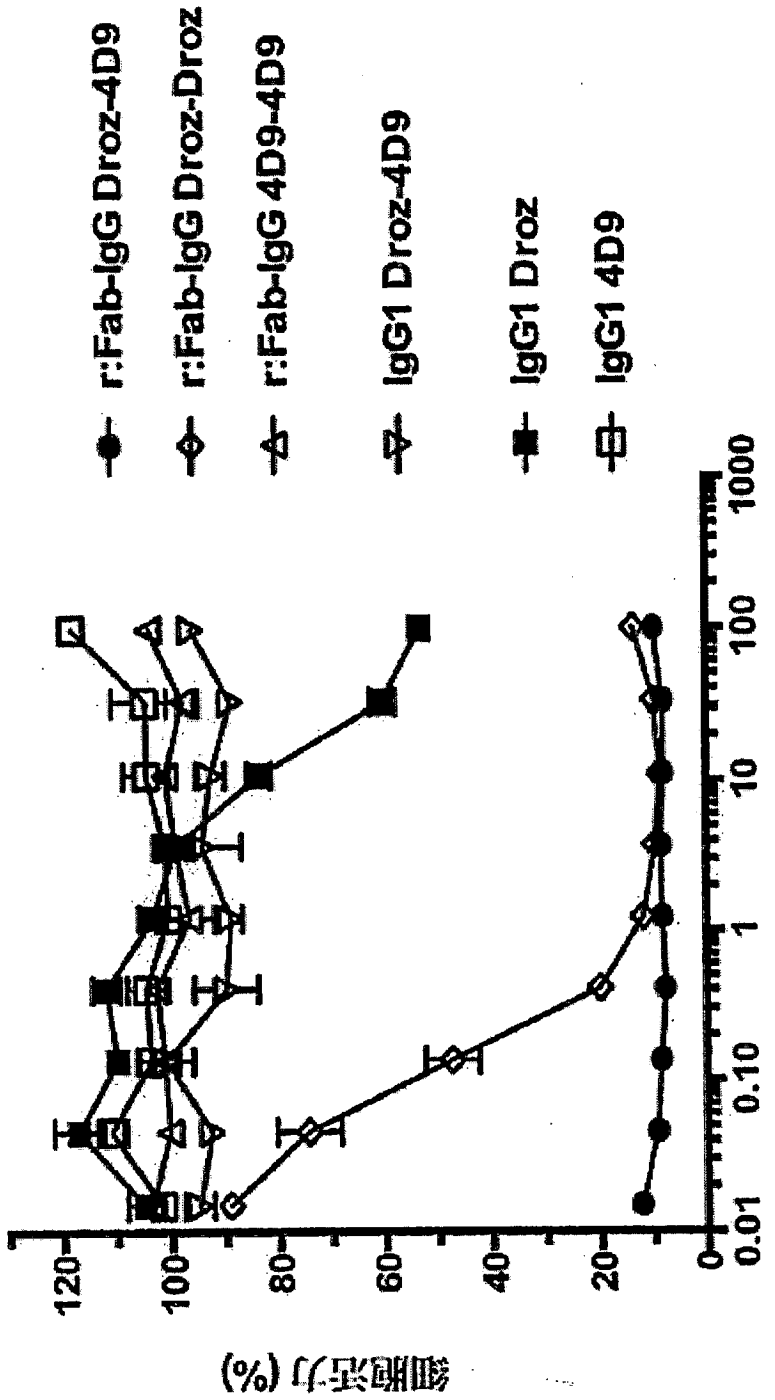
【圖 42】


r:Fab-IgG Droz-4D9
r:Fab-IgG Droz-Droz
r:Fab-IgG 4D9-4D9
IgG1 Droz-4D9
IgG1 Droz
IgG1 4D9
細胞活力 (%)
120
100
80
60
0.01
0.10
1
10
100
1000
[抗體] (nM)

【圖 43】


r:Fab-IgG Droz-4D9
r:Fab-IgG Droz-Droz
r:Fab-IgG 4D9-4D9
IgG1 Droz-4D9
IgG1 Droz
IgG1 4D9
30
20
10
0
0.001
0.010
0.100
1
10
100
1000
[抗體] (nM)
凋亡蛋白酶8活性倍數

【圖 44】


r:Fab-IgG Droz-4D9
r:Fab-IgG Droz-Droz
r:Fab-IgG 4D9-4D9
IgG1 Droz-4D9
IgG1 Droz
IgG1 4D9
細胞活力 (%)
120
100
80
60
40
20
0
0.01
0.10
1
10
100
1000
[抗體] (nM)

【圖 45】