



(21) 申请号 201980032893.9

WO 2009063461 A1,2009.05.22

(22) 申请日 2019.05.13

WO 2013045112 A1,2013.04.04

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 112424441 A

Amit Maliar et al..Redirected T cells that target pancreatic adenocarcinoma antigens eliminate tumors and metastases in mice.《Gastroenterology》.2012,第143卷(第05期),第1375~1384页.

(43) 申请公布日 2021.02.26

(30) 优先权数据

62/671,193 2018.05.14 US

Shiran Shapira et al..An Immunoconjugate of anti-CD24 and Pseudomonas exotoxin selectively kills human colorectal tumors in mice.

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2020.11.16

《Gastroenterology》.2011,第140卷(第03期),第935~946页.

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2019/031983 2019.05.13

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2019/222082 EN 2019.11.21

E Weber et al..Antibodies to the protein core of the small cell lung cancer workshop antigen cluster-w4 and to the leucocyte workshop antigen CD24 recognize the same short protein sequence leucine-alanine-proline.《Clin Exp Immunol.》.1993,第93卷(第02期),第279~285页.

(73) 专利权人 昂科医药

地址 美国马里兰州

专利权人 国家儿童医疗中心儿童研究所

(72) 发明人 刘阳 郑盼 R.弗洛里斯 H-Y.周

Z.薛 P.叶 M.德文波特

M C Salamone et al..Antibodies recognizing CD24 LAP epitope on human Tcells enhances CD28 and IL-2 T cell proliferation.《J Leukoc Biol》.2001,第69卷(第02期),第215~223页.

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

专利代理师 邹宗亮 涂滔

审查员 张范范

(51) Int.Cl.

C07K 16/28 (2006.01)

权利要求书2页 说明书22页

序列表58页 附图28页

(56) 对比文件

CN 1894413 A,2007.01.10

CN 103819561 A,2014.05.28

(54) 发明名称

抗CD24组合物及其用途

(57) 摘要

本文提供了抗CD24抗体,其选择性地结合在癌细胞中表达的人CD24,但不结合在非癌细胞中表达的人CD24,以及此类抗体在癌症疗法中的用途。

1. 抗CD24的抗体,其中所述抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中所述重链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO:30或31所示,其中所述轻链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO:35所示。

2. 权利要求1所述的抗CD24的抗体,其中所述抗体是单链抗体。

3. 权利要求1或2所述的抗CD24的抗体,其中所述重链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO:30所示。

4. 权利要求1或2所述的抗CD24的抗体,其中所述重链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO:31所示。

5. 双特异性抗体,其包括包含权利要求1-4中任一项的抗CD24的抗体的第一抗体域,和包含第二抗体或其抗原结合片段的第二抗体域,其中所述第二抗体域将免疫效应T细胞吸引至癌细胞用于癌症免疫疗法。

6. 权利要求5所述的双特异性抗体,其中所述第二抗体域结合选自以下的靶抗原:PD-1、B7-H1、B7-H3、B7-H4、LIGHT、LAG3、TM3、TIM4、CD40、OX40、GITR、BTLA、CD27、ICOS和4-1BB。

7. 权利要求5所述的双特异性抗体,其中所述第二抗体或其抗原结合片段与CD3结合。

8. 权利要求7所述的双特异性抗体,其中抗CD-3抗体或其抗原结合片段的氨基酸序列如SEQ ID NO:18所示。

9. 权利要求5所述的双特异性抗体,其中所述第二抗体或其抗原结合片段结合TCR- α 链、TCR- β 链、TCR- γ 链或TCR- δ 链。

10. 权利要求1-9中任一项所述的抗体或双特异性抗体,其中所述抗体或双特异性抗体具有抗体介导的细胞性细胞毒性作用(ADCC)活性。

11. 权利要求10所述的抗体或双特异性抗体,其中所述抗体或双特异性抗体经工程化改造以具有增强的ADCC活性。

12. 权利要求1-11中任一项所述的抗体或双特异性抗体,其中所述抗体或双特异性抗体具有抗体介导的细胞性吞噬作用(ADCP)活性。

13. 权利要求12所述的抗体或双特异性抗体,其中所述抗体或双特异性抗体经工程化改造以具有增强的ADCP活性。

14. 嵌合抗原受体,其包含单链抗体,所述单链抗体包含权利要求1-4中任一项所述的抗CD24的抗体。

15. 抗体-药物缀合物,其包含权利要求1-4中任一项所述的抗CD24的抗体,结合选自下述的效应子部分:细胞毒性药物,蛋白质毒素,和放射性核素(radionuclide)。

16. 组合物,其包含权利要求1-15中任一项所述的抗体、双特异性抗体、嵌合抗原受体或抗体-药物缀合物,以及第二抗癌治疗剂。

17. 权利要求1-4中任一项所述的抗CD24的抗体在制备用于诊断恶性组织或转移性病变的药物中的用途。

18. 鉴定循环癌细胞的方法,其包括使用权利要求1-4中任一项所述的抗CD24的抗体。

19. 权利要求1-16中任一项所述的抗体、双特异性抗体、嵌合抗原受体、抗体-药物缀合物或组合物在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

20. 权利要求19所述的用途,其中所述癌症是肺癌、卵巢癌、乳腺癌、肝癌、脑癌、宫颈癌、肾癌、睾丸癌、或前列腺癌。

21. 权利要求20所述的用途,其中所述脑癌是神经母细胞瘤。

抗CD24组合物及其用途

发明领域

[0001] 本公开涉及抗CD24抗体,其选择性地结合在癌细胞中表达的人CD24但不结合在非癌细胞中表达的人CD24。本公开还涉及此类抗体在癌症疗法中的用途。

[0002] 发明背景

[0003] CD24是小的、高度糖基化的粘蛋白样糖基磷脂酰肌醇(GPI)连接的细胞表面蛋白。CD24在造血细胞(包括B细胞、T细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、树突状细胞和巨噬细胞)以及非造血细胞(包括神经细胞、神经节细胞、上皮细胞、角化细胞、肌细胞、胰腺细胞和上皮干细胞)上以较高的水平表达。通常,CD24倾向于在祖细胞和代谢活性细胞中以较高的水平表达,而在终末分化的细胞中以较小的程度表达。在大多数细胞类型中,CD24的功能尚不清楚,但是已经报道了CD24的多种免疫功能。

[0004] 尽管CD24在许多正常组织和细胞类型中被发现,但是CD24在近70%的人类癌症中过表达。在上皮性卵巢癌(83%)、乳腺癌(85%)、非小细胞肺癌(45%)、前列腺癌(48%)和胰腺癌(72%)中发现了通过免疫组织化学检测到的高水平CD24表达。CD24是癌细胞中最过表达的蛋白质之一。CD24表达在肿瘤发生期间上调,表明其在肿瘤进展和转移中的作用。CD24在癌症中的过表达也已被确定为指示癌症患者预后较差和疾病侵袭性更强的病程的标志物。在乳腺癌中,浸润性癌中CD24的表达显著高于良性或癌前病变。在非小细胞肺癌中,CD24表达已被确定为患者整体生存的独立标志物。此外,在食管鳞状细胞癌中,CD24过表达暗示肿瘤淋巴结转移、不良的肿瘤等级以及缩短的生存时间。在许多其他癌症中也发现了类似的观察结果,包括结肠癌、肝细胞癌、神经胶质瘤、卵巢癌和前列腺癌。尽管CD24已被广泛用作癌症的预后标志物,但由于其在正常细胞类型上的表达和潜在毒性,它尚未用于癌症疗法潜在靶标的新抗原。

[0005] 成熟的CD24是31个氨基酸的、小的、高度糖基化唾液酸糖蛋白,具有16个潜在的O-糖基化位点和2个预测的N-糖基化位点。糖基化是蛋白质最复杂的翻译后修饰之一。已知在许多癌细胞中发生了从正常糖基化途径的转变,从而导致改变的聚糖表达,并导致许多细胞蛋白质的高糖基化或低糖基化。在癌细胞中发现的改变的糖基化模式是许多贡献因素的结果,包括转录水平的失调,糖基化过程中伴侣蛋白的失调,以及改变的糖苷酶和糖基转移酶活性。肿瘤相关的聚糖变化包括更长或更短的N-聚糖分支,更高或更低的O-聚糖密度,正常对应物(Tn,sTn和T抗原)的截短形式的产生,以及具有唾液酸和岩藻糖的异常形式的末端结构(sLea和sLex表位)的产生。

[0006] 因此,本领域需要鉴定和治疗癌症的改进的方法,特别是能够将癌细胞与非癌细胞区分开的方法和组合物。

发明内容

[0007] 本文提供了单克隆抗CD24抗体,其与CD24的结合通过正常细胞中而不是癌细胞中存在的糖基化封闭。其抗体可以与在癌细胞上暴露但在非癌细胞上未暴露的聚糖遮蔽的表位结合。所述抗体可以与包含SEQ ID NO:48所示的序列的肽结合。

[0008] 在另一方面,所述单克隆抗体可以以对非癌细胞最小或没有反应性的方式结合癌细胞。

[0009] 在另一方面,所述单克隆抗体可以以与非肿瘤细胞最小或没有反应性的方式结合肿瘤细胞。

[0010] 在另一方面,所述单克隆抗体可以以对造血细胞最小或没有反应性的方式结合循环癌细胞。

[0011] 在另一方面,所述单克隆抗体不可以结合缺乏癌症特异性糖基化模式的细胞上的CD24,但是可以结合具有癌症特异性糖基化模式的细胞上的CD24。

[0012] 在另一方面,组合物,可以是药物组合物,其包含单克隆抗体或其一个或多个抗原结合片段。

[0013] 在另一方面,所述组合物用于通过抗体介导的细胞性细胞毒性作用(ADCC)杀伤癌细胞。

[0014] 在另一方面,所述组合物用于通过抗体介导的细胞性吞噬作用(ADCP)杀伤癌细胞。

[0015] 在另一方面,所述组合物用于通过组合的ADCC和ADCP杀伤癌细胞。

[0016] 在另一方面,所述组合物包含嵌合抗原受体T细胞,其可以用于将癌细胞特异性赋予T细胞。

[0017] 在另一方面,所述组合物包含单克隆抗体3B6。

[0018] 在另一方面,所述组合物包括包含SEQ ID NO:1和2所示的序列的单克隆抗体。

[0019] 在另一方面,所述组合物包含通过单克隆抗体3B6的亲和力成熟衍生的单克隆抗体。

[0020] 在另一方面,所述组合物包括包含选自SEQ ID NO:3-10所示的序列中的任一个的重链的单克隆抗体。

[0021] 在另一方面,所述组合物包括包含选自SEQ ID NO:11-16所示的序列中的任一个的轻链的单克隆抗体。

[0022] 在另一方面,所述组合物包含通过单克隆抗体3B6的亲和力成熟衍生的单克隆抗体PP6373。

[0023] 在另一方面,所述组合物包括包含SEQ ID NO:6和16所示的序列的单克隆抗体。

[0024] 在另一方面,所述组合物包含通过人源化单克隆抗体PP6373衍生的单克隆抗体。

[0025] 在另一方面,所述组合物包括包含选自SEQ ID NO:29-32所示的序列中的任一个的重链的单克隆抗体。

[0026] 在另一方面,所述组合物包括包含选自SEQ ID NO:33-36所示的序列中的任一个的轻链的单克隆抗体。

[0027] 在另一方面,所述药物组合物包含通过人源化单克隆抗体PP6373衍生的单克隆抗体H2L3。

[0028] 在另一方面,所述药物组合物包含通过人源化单克隆抗体PP6373衍生的单克隆抗体H3L3。

[0029] 在另一方面,所述组合物包含单克隆抗体,所述单克隆抗体包括包含SEQ ID NO:30所示的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:35所示的序列的轻链可变区。

[0030] 在另一方面,所述组合物包含单克隆抗体,所述单克隆抗体包括包含SEQ ID NO: 31所示的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:33所示的序列的轻链可变区。

[0031] 在另一方面,所述组合物包括包含SEQ ID NO:17所示的序列的单链单克隆抗体。

[0032] 在另一方面,所述组合物包含双特异性抗体,所述双特异性抗体包括包含抗CD24抗体或其抗原结合片段的第一抗体域,以及包含第二抗体或其抗原结合片段的第二抗体域。所述双特异性抗体可用于在需要治疗或预防癌症的患者中桥接(bridge)癌症和免疫效应T细胞。

[0033] 在另一方面,所述第二抗体域具有与第一抗体域不同的结合特异性。

[0034] 在另一方面,所述第二抗体域将免疫效应T细胞吸引至癌细胞。

[0035] 在另一方面,所述第二抗体或其抗原结合片段结合CD3。

[0036] 在另一方面,所述第二抗体或其抗原结合片段结合TCR- α 链、TCR- β 链、TCR- γ 链或TCR- δ 链。

[0037] 在另一方面,所述第一抗体域包括包含SEQ ID NO:17所示的序列的抗体,且第二抗体域包含SEQ ID NO:18所示的序列。

[0038] 在另一方面,所述第一抗体域包括包含SEQ ID NO:23-27和37-41所示的序列中的任一个的抗体。

[0039] 在另一方面,包含双特异性抗体的组合物可以用于通过抗体介导的细胞性细胞毒性作用(ADCC)治疗癌细胞。

[0040] 在另一方面,所述组合物包含具有增强的ADCC活性的双特异性抗体。

[0041] 在另一方面,所述组合物包含双特异性抗体,其用于通过抗体介导的细胞性吞噬作用(ADCP)治疗癌细胞。

[0042] 在另一方面,包含双特异性抗体的组合物具有增强的ADCP活性。

[0043] 在另一方面,所述组合物包含用于免疫疗法的嵌合抗原受体,其中所述受体包括包含SEQ ID NO:1-36所示的序列中的任一个的单链抗体。

[0044] 在另一方面,所述嵌合抗原受体用于免疫疗法,其中所述受体包括包含SEQ ID NO:28所示的序列的单链抗体。

[0045] 在另一方面,所述药物组合物与第二抗癌疗法共同使用。

[0046] 本文提供了一种治疗有此需要的患者中的癌症的方法,其包括向所述患者施用本文所述的抗体、双特异性抗体、嵌合抗原受体或组合物中的任何一种或多种,其中所述癌症是肺癌、肝癌、脑癌、宫颈癌、卵巢癌、肾癌、睾丸癌、前列腺癌或神经母细胞瘤。癌症可以结合本文所述的抗CD24抗体组合物。

[0047] 本文进一步提供了通过使用抗CD24抗体组合物诊断恶性组织或转移性病变的方法。抗CD24抗体组合物可以以高于阈值量的水平结合恶性组织或转移性病变,其可以指示恶性组织或转移性病变。

[0048] 本文还提供了使用抗CD24抗体组合物鉴定循环癌细胞的方法。抗CD24抗体组合物可以以高于阈值量的水平结合循环的癌细胞,其可以指示循环癌细胞。本文进一步提供了本文所述的组合物在制备用于治疗本文所述的疾病或病况的药物中的用途。

附图说明

[0049] 图1.ELISA结果的条形图,表明聚糖的存在阻碍了抗CD24单克隆抗体3B6的结合,而市售的抗CD24单克隆抗体ML5则没有。3B6与去除(stripped of)了N-聚糖和唾液酸修饰的CD24(N-SA-CD24)和去除了N-聚糖、唾液酸和O-聚糖修饰的CD24(N-SA-O-CD24)牢固结合,但与去除了N-聚糖修饰的CD24(N-CD24)或完全修饰的(N-聚糖+唾液酸+O-聚糖修饰)CD24结合非常微弱。CD24GST代表阴性对照CD24-GST融合物。

[0050] 图2A-B.结合测定表明3B6与神经母细胞瘤细胞系和成神经管细胞瘤肿瘤结合。图2A.检测抗CD24单克隆抗体ML5、3B6和SN3与对照抗体针对6种神经母细胞瘤细胞系(IMR32、SK-N-SH、SH-SY5Y、SK-N-BE(2)、SK-N-AS和SK-N-BE(2)C)的标准化亲和力图。尽管3B6对除SK-N-AS以外的所有神经母细胞瘤细胞系都有一定的亲和力,但相对于市售的抗CD24抗体ML5(BD Bioscience Cat#555426)和SN3(Thermo Fisher Cat#MA5-11833),3B6的亲和力要低得多。图2B.3B6处理4种成神经管细胞瘤肿瘤的荧光显影图。3B6结合了4种肿瘤中的3种。

[0051] 图3.竞争性ELISA的图,比较了3B6变体阻断3B6与CD24-GST融合蛋白结合的能力。PP6226具有与3B6相同的可变区。

[0052] 图4.竞争性ELISA的图,比较了3B6变体阻断3B6与CD24-GST融合蛋白结合能力的能力。PP6226具有与3B6相同的可变区。

[0053] 图5.竞争性ELISA的图,比较了3B6变体阻断3B6与CD24-GST融合蛋白结合能力的能力。PP6226具有与3B6相同的可变区。

[0054] 图6.ELISA结果的条形图,表明亲和力成熟的嵌合抗CD24抗体对由CHO细胞表达的CD24的相对亲和力。相对于3B6(PP6226),十二个克隆针对完全糖基化的CD24、N-CD24、SA-CD24和N-SA-CD24表现出增加的亲和力和不同的特异性。

[0055] 图7.针对肺癌细胞系NCI-H727(左图)和神经母细胞瘤细胞系IMR32(右图)测试的各种亲和力成熟的嵌合抗CD24抗体的滴定测定法。测试的最大抗体浓度为5 μ g/ml,滴定因子2X,至最小浓度为0.01 μ g/ml。还显示了未染色(0 μ g/ml)的阴性对照。

[0056] 图8.不同CD24糖型(glycoform)和抗CD24抗体之间结合的定量比较:亲本PP6229对比亲和力成熟的PP6373。将已去除Fc的CD24包被到ELISA板上,然后在添加给定剂量的PP6226(左图)或PP6373(右图)之前,用缓冲液(CD24)、NanA(SA-)或NanA+N-聚糖(SA-N-)处理。测试的最大浓度为7812.50ng/ml,滴定因子5x,至最小浓度为0.02ng/ml。

[0057] 图9.通过肽抑制测定法定位(mapping)3B6结合位点。在测试的五种重叠的CD24肽中,只有一种(肽4)含有抗原性表位。

[0058] 图10.通过肽抑制测定法定位PP6373结合位点。在测试的五种重叠的CD24肽中,只有一种(SNSGLAPNT(SEQ ID NO:46))含有抗原性表位。

[0059] 图11.用来自肽4抗原性表位序列的截短的肽定位PP6373表位。数据表明最佳表位包含在序列SNSGLAPN(SEQ ID NO:48)内。

[0060] 图12.表明在小鼠模型中PP6373降低了体内肿瘤生长的图。具有可触及的肺癌异种移植物的裸鼠在箭头指示的两个时间点接受了对照人IgG或PP6373,随后每周进行肿瘤生长测量。

[0061] 图13.表明针对人癌细胞系H727 PP6373诱导的细胞性细胞毒性作用(ADCC)的图。和效应细胞PBL与PP6373和人IgG FC以5 μ g/ml共温育的H727细胞诱导ADCC。

[0062] 图14.表明没有核心岩藻糖基化的PP6373 (d6873)比PP6373针对人癌细胞系H727诱导更高的ADCC的图。与效应细胞PBL,与d6373,PP6373和人IgG FC以5 μ g/ml共温育的H727细胞诱导ADCC。

[0063] 图15.流式细胞术图,表明PP6373-臼(hole)和OKT3-杵(knob)组合显示出比PP6373-杵和OKT3-臼更高的双特异性。用转染了PP6373、OKT3、PP6373-杵和OKT3-臼或PP6373-臼和OKT3-杵的293T细胞的组织培养上清液对Jurkat细胞染色,然后与生物素化的SA-N-CD24蛋白温育。通过流式细胞术测量PE-链霉抗生物素蛋白信号。进行了三个独立的实验。

[0064] 图16.流式细胞术图,表明PP6373-OKT3比OKT3-PP6373诱导更高的双特异性活性。用空质粒(阴性对照)、PP6373-OKT3或OKT3-PP6373转染的293T细胞的组织培养上清液对Jurkat细胞染色,然后与生物素化的SA-N-CD24蛋白温育。PE-链霉抗生物素蛋白信号通过流式细胞术测量。进行了三个独立的实验。

[0065] 图17.流式细胞术图,表明双特异性抗体PP6373-OKT3具有抗肿瘤活性。将肺癌细胞H727和活化的人T细胞与未处理的293T细胞的组织培养上清液以1:5温育或用空质粒(未转染)、PP6373、OKT3、PP6373-OKT3转染12小时。通过流式细胞术测量组织培养基中的细胞因子(IFN γ 、TNF、IL10、IL6、IL4和IL2)。进行了三个独立的实验。

[0066] 图18.流式细胞术图,表明双特异性抗体PP6373-OKT3通过T细胞诱导肿瘤细胞的细胞毒性。将肺癌细胞H727和活化的人T细胞与未处理的293T细胞的组织培养上清液以1:5温育,或用空质粒(未转染)、PP6373、OKT3、PP6373-OKT3转染12小时。收集肺癌细胞和人T细胞,并用抗人CD45和存活/死亡试剂Aqua染色。将肿瘤细胞数绘制为抗CD45和Aqua的双阴性。进行了三个独立的实验。

[0067] 图19.FIT-Ig诱导的高双特异性活性的流式细胞术分析。Jurkat细胞用阴性对照(未转染的293T上清液)或FIT-Ig染色,然后与生物素化的SA-N-CD24蛋白温育。通过流式细胞术测量PE-链霉抗生物素蛋白信号。进行了三个独立的实验。

[0068] 图20.流式细胞术分析表明FIT-Ig具有比PP6373-OKT3和OKT3-PP6373更高的抗肿瘤活性。将肺癌细胞H727和活化的人T细胞与阴性对照(未转染的293T上清液)、PP6373-OKT3、OKT3-PP6373或FIT-Ig以1:5温育12小时。通过流式细胞术测量组织培养基中的细胞因子(IFN γ 、TNF、IL10、IL6、IL4和IL2)。进行了三个独立的实验。

[0069] 图21.流式细胞术分析表明FIT-Ig诱导T细胞对肿瘤细胞的细胞毒性。将肺癌细胞H727和活化的人T细胞与阴性对照(未转染的293T上清液)、PP6373-OKT3、OKT3-PP6373或FIT-Ig以1:5温育12小时。收集肺癌细胞和人T细胞,并用抗人CD45和存活/死亡试剂Aqua染色。将肿瘤细胞数绘制为抗CD45和Aqua的双阴性。进行了三个独立的实验。

[0070] 图22.流式细胞术分析表明FIT-Ig具有比PP6373-OKT3和OKT3-PP6373更高的热稳定性。将所有双特异性抗体PP6373-OKT3、OKT3-PP6373和FIT-Ig在指定温度下温育20分钟,并将以14000g旋转5分钟后的上清液用于Jurkat细胞染色。然后将生物素化的SA-N-CD24蛋白与Jurkat细胞一起温育,并通过流式细胞术测量PE-链霉抗生物素蛋白信号。

[0071] 图23.包含抗CD24-scFv的CarT构建体的示意图。

[0072] 图24.CD24 CART诱导的对肺癌细胞系A549的细胞毒性的图。

[0073] 图25.由IFN γ 的产生所证实的肿瘤细胞系激活CART的图。

[0074] 图26.CD24 CART对各种肿瘤类型的抗肿瘤活性的条形图。所显示数据的E/T比率为5。

[0075] 图27.嵌合PP6373 (FR:白色,CDR:浅灰色)和huVHv1VLv1 (FR:灰色,CDR:深灰色)的三维结构比对的带状图。

[0076] 图28.用于表达和结合CD24-GST的不同抗体对的相对效力的图。

[0077] 图29.H2L3和H3L3与人癌细胞系NCI-H727 (上)和IMR32 (下)结合的图。显示的数据是使用多种抗体时的平均荧光强度。

[0078] 图30.细胞死亡图表明在低浓度下,HL33比PP6373在ADCC方面更有效。肺癌细胞系A549被用作靶标,而人PBL被用作效应子。所用抗体的剂量为3 μ g/ml (上图)或9 μ g/ml (下图)。

[0079] 图31.细胞死亡图表明H3L3赋予多种肿瘤细胞系 (包括肺癌细胞系A549和NCI-H727和神经母细胞瘤细胞系IMR-32) 有效的ADCC活性。人PBMC用作效应细胞。

[0080] 图32.细胞死亡图表明H3L3赋予多种肿瘤细胞系 (包括肺癌细胞系A549和NCI-H727和神经母细胞瘤细胞系IMR-32) 有效的ADCC活性。从人PBMC纯化的NK细胞用作效应细胞。

[0081] 图33.流式细胞术分析表明识别出被聚糖遮蔽的表位的抗体不识别B细胞、红细胞,并且与中性粒细胞相互作用较弱。

[0082] 发明详述

[0083] 靶向癌症表达的表位是治疗癌症的广泛采用的方法。然而,许多此类表位不能成为好的药物靶标,因为它们也在正常组织中表达,这可能导致毒性问题。理想的肿瘤特异性抗原(TSA)在癌症中具有广泛的表达,但在必需的宿主器官中却很少或没有表达。较不理想但同样可行的TSA的特性是在正常组织与癌组织中表达但差异修饰的那些,即所谓的肿瘤相关抗原(TAA)。表征良好的肿瘤抗原的实例是MAGE-A3、MUC-1和NY-ESO 1。

[0084] 新的TSA和TAA的鉴定是开发新的或更有效的癌症疗法的限制因素,特别是对于那些目前不存在肿瘤抗原的癌症。CD24由于以下原因而成为良好的癌症靶标:在70%以上的所有人类癌症中广泛过表达,并且在癌症中有差异地糖基化,它似乎是致癌的,并且与各种癌症的预后不良和明显缩短患者的生存时间有关,且它是癌症干细胞的标志物,其可以通过引起新的肿瘤而引起复发和转移。发明人发现了抗CD24抗体,其与CD24的结合被正常细胞而非癌细胞中发生的糖基化所阻断。结果,抗体与癌细胞系和癌组织结合,但是与多种正常组织和造血细胞的反应性最小。

[0085] 本文提供了抗体及其抗原结合片段。该抗体可以是单克隆抗体、人抗体、嵌合抗体或人源化抗体。抗体可以是单特异性、双特异性、三特异性或多特异性的。抗体的抗原结合片段可以免疫特异性结合CD24,特别是人CD24,优选以内源或转染浓度在活细胞表面表达。抗原结合片段可以与CD24结合。该抗体可以被可检测地标记,或者可以包含缀合的毒素、药物、受体、酶或受体配体。

[0086] 除了直接靶向肿瘤之外,免疫系统还具有识别和消除实验模型系统和患者中的癌症的能力。结果,癌症免疫疗法正在成为癌症疗法最有前途的领域之一。主动癌症免疫疗法涉及放大自然免疫反应的试剂 (包括针对PD-1,PD-L1或CTLA-4的抗体);双特异性分子,例如桥接癌症和免疫效应T细胞的抗体;或使用离体刺激的肿瘤浸润淋巴细胞(TIL),活化的

自然杀伤(NK)细胞或基因工程改造的T细胞(嵌合抗原受体(CAR)和T细胞受体(TCR)修饰的T细胞)进行过继细胞转移(ACT)。这些技术中的许多都需要肿瘤靶向成分以实现特异性和功效。

[0087] 1、定义

[0088] 本文使用的术语仅用于描述特定实施方案的目的,并不预期是限制性的。如说明书和所附权利要求中使用的,单数形式“一个”、“一种”和“该”包括复数指示物,除非上下文另有明确说明。与数字值相关联的词“大约”表示该值的合理近似值。在某些情况下,“大约”可解释为在与其相关的特定值的10%之内。例如,短语“约100”将涵盖90到110之间的任何值。

[0089] 关于本文的数值范围的叙述,明确考虑了其间具有相同精度的每个中间数。例如,对于6-9的范围,除6和9之外,还考虑了数字7和8,并且对于范围6.0-7.0,明确考虑了数字6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9和7.0。

[0090] 当提及保护动物免于疾病时,“治疗”意指预防、压制、抑制或完全消除疾病。预防疾病涉及在疾病发作之前,将本公开的组合物施用于动物。压制疾病涉及在疾病诱导之后但在其临床表现之前,将本公开的组合物施用于动物。抑制疾病涉及在疾病临床表现之后,将本公开的组合物施用于动物。

[0091] 如本文所用,术语“抗体”旨在表示具有“可变区”抗原识别位点的免疫球蛋白分子。术语“可变区”旨在将免疫球蛋白的此类域与抗体广泛共享的域(如抗体Fc域)区分开。可变区包含“高变区”,其残基负责抗原结合。高变区包含来自“互补决定区”或“CDR”的氨基酸残基(即,通常在轻链可变域中的大约残基24-34(L1)、50-56(L2)和89-97(L3)处和在重链可变域中的大约残基27-35(H1)、50-65(H2)和95-102(H3)残基处)和/或“高变环”中的那些残基(即轻链可变域中的残基26-32(L1)、50-52(L2)和91-96(L3),以及重链可变域中的26-32(H1)、53-55(H2)和96-101(H3))。“框架区”或“FR”残基是除本文定义的高变区残基以外的那些可变域残基。术语抗体包括单克隆抗体、多特异性抗体、人抗体、人源化抗体、合成抗体、嵌合抗体、骆驼科动物抗体、单链抗体、二硫化物连接的Fv(sdFv)、胞内抗体和抗独特型(抗Id)抗体(包括例如本发明抗体的抗Id和抗-抗Id抗体)。特别地,此类抗体包括任何类型(例如IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY)、类别(例如IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁和IgA₂)或亚类的免疫球蛋白分子。

[0092] 如本文所用,术语抗体的“抗原结合片段”是指抗体的一个或多个部分,其含有抗体的CDR和任选地包含抗体的“可变区”抗原识别位点的框架残基,并表现出免疫特异性结合抗原的能力。此类片段包括Fab'、F(ab')₂、Fv、单链(ScFv)及其突变体,天然存在的变体以及包含抗体“可变区”抗原识别位点和异源蛋白的融合蛋白(例如毒素、不同抗原的抗原识别位点、酶、受体或受体配体等)。如本文所用,术语“片段”是指包含至少5个连续氨基酸残基,至少10个连续氨基酸残基,至少15个连续氨基酸残基,至少20个连续氨基酸残基,至少25个连续氨基酸残基,至少40个连续氨基酸残基,至少50个连续氨基酸残基,至少60个连续氨基酸残基,至少70个连续氨基酸残基,至少80个连续氨基酸残基,至少90个连续氨基酸残基,至少100个连续氨基酸残基,至少125个连续氨基酸残基,至少150个连续氨基酸残基,至少175个连续氨基酸残基,至少200个连续氨基酸残基或至少250个连续氨基酸残基的氨基酸序列的肽或多肽。

[0093] 人,嵌合或人源化抗体特别优选用于人体内,但是,鼠抗体或其他物种的抗体可有利地用于多种用途(例如,体外或原位检测测定,急性体内使用等)。

[0094] “嵌合抗体”是这样的分子,其中抗体的不同部分衍生自不同的免疫球蛋白分子,例如具有源自非人抗体的可变区和人免疫球蛋白恒定区的抗体。可以使用本领域已知的多种技术产生包含来自非人类物种的一个或多个CDR和来自人类免疫球蛋白分子的框架区的嵌合抗体,包括例如CDR-移植(EP 239,400;国际公开号W0 91/09967;以及美国专利号5,225,539、5,530,101和5,585,089,其每一篇的内容以其整体并入本文),镶饰(veneering)或重塑(resurfacing)(EP 592,106;EP 519,596,其每一篇的内容通过引用以其整体并入本文)和链改组(shuffling)(美国专利号5,565,332,其内容通过引用以其整体并入本文)。

[0095] 如本文所用,术语“人源化抗体”是指包含人框架区和来自非人(通常是小鼠或大鼠)免疫球蛋白的一个或多个CDR的免疫球蛋白。提供CDR的非人免疫球蛋白称为“供体”,而提供框架的人免疫球蛋白称为“受体”。恒定区不必存在,但如果存在,则它们必须与人免疫球蛋白恒定区基本相同,即至少约85-90%,优选约95%或更高的相同。因此,除可能的CDR外,人源化免疫球蛋白的所有部分与天然人免疫球蛋白序列的相应部分基本相同。人源化抗体是包含人源化轻链和人源化重链免疫球蛋白的抗体。例如,人源化抗体将不涵盖典型的嵌合抗体,因为例如,嵌合抗体的整个可变区是非人的。由于预期所得的人源化抗体与提供CDR的供体抗体结合相同的抗原,因此可以通过“人源化”过程将供体抗体称为“人源化的”。在大多数情况下,人源化抗体是人免疫球蛋白(受体抗体),其中受体的高变区残基被来自非人类物种(例如,具有所需特异性、亲和力和能力的小鼠、大鼠、兔或非人的灵长类动物)的高变区残基(供体抗体)取代。在一些情况下,人免疫球蛋白的框架区(FR)残基被相应的非人残基取代。此外,人源化抗体可以包含在受体抗体或供体抗体中未发现的残基。进行这些修饰以进一步改善抗体性能。通常,人源化抗体将包含至少一个,并且通常是两个可变域的基本上所有,其中所有或基本上所有的高变区都对应于非人免疫球蛋白的那些,并且所有或基本上所有的FR都是人免疫球蛋白序列的那些。人源化抗体还任选包含免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分,通常是与Fc γ RIIB多肽免疫特异性结合的人免疫球蛋白的部分,其已通过引入氨基酸残基取代、缺失或添加(即突变)而改变。

[0096] 2、抗CD24抗体组合物

[0097] 本文描述了可以特异性靶向癌特异性糖型的CD24的抗CD24抗体。该抗CD24抗体可以用于开发癌症疗法,包括但不限于:抗体-药物缀合物、ADCC增强的治疗抗体、双特异性抗体、CAR-T疗法和TCR疗法。具体地,抗CD24抗体或其抗原结合片段可以结合暴露于癌细胞而不暴露于非癌细胞的聚糖遮蔽的表位。且特别地,抗CD24抗体或其抗原结合片段可以结合包含氨基酸序列SNSGLAPN(SEQ ID NO:48)的CD24肽。

[0098] 抗CD24抗体可以是3B6,其可以包括包含SEQ ID NO:1所示的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:2所示的序列的轻链可变区。抗CD24抗体或其抗原结合片段可以是3B6的亲合力成熟形式,并且可以包括包含SEQ ID NO:3-10所示的序列中的任一个的重链可变区,和包含SEQ ID NO:11-16所示的序列中的任一个的轻链可变区。抗CD24抗体或其抗原结合片段可以是PP6373,其可以包括包含SEQ ID NO:6所示的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:16所示序列的轻链可变区。对于在人类中的治疗应用,抗CD24抗体或其抗原结合片段可以是PP6373的人源化形式,并且可以包括包含SEQ ID NO:29-32所示的序列中的任一个的

重链可变区,和包含SEQ ID NO:33-36所示的序列中的任一个的轻链可变区。特别地,人源化的抗CD24抗体或其抗原结合片段可以是H2L3,其可以包括包含SEQ ID NO:30所示的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:35所示的序列的轻链可变区;或可以是H3L3,其可以包括包含SEQ ID NO:31所示的序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:35所示的序列的轻链可变区。

[0099] 3、抗体-药物缀合物组合物

[0100] 肿瘤靶向抗体可以用于通过影响肿瘤的生物学区直接预防或限制肿瘤的生长。例如,人源化的抗VEGF单克隆抗体(贝伐单抗;安维汀(Avastin))可通过阻止VEGF诱导的肿瘤血管形成来阻断肿瘤的生长。其他肿瘤靶向抗体用于通过修饰抗体本身来抑制肿瘤细胞生长或杀伤癌细胞。例如,靶向肿瘤的免疫缀合物由通过共价交联或遗传融合结合在一起的抗体和效应子部分组成。效应子部分可以是细胞毒性药物(抗体-药物缀合物),蛋白质毒素(免疫毒素)或放射性核素(放射性免疫缀合物)。抗体-药物缀合物的一个实例是维布妥昔单抗(brentuximab vedotin)(ADCETRIS®,Seattle Genetics),其由与三至五个单元的抗有丝分裂剂一甲基瑞奥西汀E(MMAE,由药物名称中的“vedotin”反映)连接的嵌合的单克隆抗体brentuximab(cAC10,其靶向细胞膜蛋白CD30)组成。

[0101] 抗CD24抗体或其抗原结合片段可以包括在抗体药物缀合物、免疫毒素或放射免疫缀合物中。此类组合物的抗CD24靶向组分可以允许缀合物特异性递送至癌细胞和组织,同时限制正常细胞和组织的暴露并因此防止脱靶毒性。

[0102] 4、ADCC抗体组合物

[0103] 抗CD24抗体或其抗原结合片段,或包含前述抗体之一的抗体组合物,可以用于通过抗体介导的细胞性细胞毒性作用(ADCC)和抗体介导的细胞吞噬作用(ADCP)中的至少之一来刺激癌细胞死亡。ADCC是一种免疫防御机制,凭借该机制,身体的特定一组免疫细胞(效应细胞)会主动接合并裂解靶细胞(例如病原体)。ADCC被认为是重要的细胞介导的先天免疫应答,可作为人体抵御病原体的第一道防线,并起到限制和控制感染的作用。ADCC过程被设计为通过非吞噬过程杀伤包被抗体的靶细胞,其特征是靶向释放细胞毒性颗粒或表达诱导细胞死亡的分子。当宿主的特异性抗体(主要是IgG类)识别并结合靶细胞的膜表面抗原,并同时与效应细胞表面的Fc受体(FcR)接合时,通常会启动ADCC。尽管单核细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和树突状细胞也能够介导ADCC响应,但最常见的介导ADCC的效应细胞是自然杀伤(NK)细胞。尽管ADCC响应速度相当快,但其功效取决于多种参数,例如靶细胞表面的抗原密度和抗原-抗体相互作用的亲和力以及决定抗体与Fc受体家族不同成员相互作用的Fc片段的特征。

[0104] 抗体与靶细胞上的特定细胞表面受体的结合,称为调理作用的过程,是ADCC过程的关键事件。调理作用过程将吞噬细胞吸引到靶细胞,并启动吞噬作用。抗体Fc区与吞噬细胞上的FcR的结合也促进了C3b(补体成分3的裂解产物)的形成,C3b是引发抗体促进靶细胞调理作用的吞噬的重要蛋白质。抗体介导的吞噬作用通常也称为抗体依赖性细胞介导的吞噬作用(ADCP)。但是,对于ADCC,无需吞噬病原体即可被消灭。如上所述,细胞毒性效应细胞表面上的FcR是引发ADCC的关键。在人类中,能够引发ADCC的最重要的FcR类是Fc γ RI(CD64)、Fc γ RIIa和Fc γ RIIc(CD32)和Fc γ RIIIa(CD16)。但是,Fc γ RIIb受体抑制ADCC响应。因此,来自Fc。因此的激活信号和抑制信号之间的平衡是ADCC响应强度的重要决定因

素。识别靶标后,细胞毒性效应细胞会在钙依赖性极化的胞吐过程中释放出专门的细胞内颗粒(也称为分泌性溶酶体)。穿孔素、溶细胞素和颗粒酶B是从颗粒中释放的关键成分。在靶细胞膜内,穿孔素插入并形成孔。这个过程需要钙。颗粒酶B引起靶细胞DNA的片段化。由ADCC起作用的治疗性抗体的一个实例是曲妥珠单抗(trastuzumab)(Herceptin, Genentech)。曲妥珠单抗靶向HER2,HER2在大量乳腺癌中异常高水平表达,通常被称为HER2阳性乳腺癌,并通过在宿主中诱导ADCC抑制HER2阳性乳腺癌的生长。

[0105] 用于ADCC介导的活性的抗体通常需要某种修饰以增强其ADCC活性。有许多技术可用于此目的,通常涉及对抗体进行改造,以使抗体Fc区中的寡糖不具有任何岩藻糖单元,从而改善了与Fc γ IIIa受体的结合。岩藻糖基化抗体表现出增加的抗体依赖性细胞性细胞毒性作用(ADCC)。例如,Biowa的POTELLIGENT®技术使用FUT8基因敲除CHO细胞系来生产100%岩藻糖基化抗体。FUT8是唯一编码 α 1,6-岩藻糖基转移酶的基因,该基因在复合型寡糖的 α 1,6-键中催化岩藻糖从GDP-岩藻糖转移到GlcNAc。Probiogen已开发出CHO系,其经工程改造可在MAb上产生较低水平的岩藻糖基化聚糖,尽管不是通过FUT敲除。Probiogen的系统引入了一种细菌酶,其可将新岩藻糖的合成途径重定向至无法被细胞代谢的糖核苷酸。作为一种替代方法,西雅图遗传学公司拥有专有的供给系统,该系统在CHO(也许还有其他)细胞系中产生的单克隆抗体上产生较低水平的岩藻糖基化聚糖。Xencor开发了XmAb Fc域技术,旨在改善免疫系统对肿瘤和其他病理细胞的清除。该Fc域具有两个氨基酸变化,导致对Fc γ RIIIa的40倍增加的亲和力。它还增加了对Fc γ RIIa的亲和力,并可能募集其他效应细胞(例如巨噬细胞),这些细胞通过吞噬和消化异物在免疫中发挥作用。

[0106] 可以将抗CD24抗体或其抗原结合片段掺入ADCC介导的癌症杀伤抗体中。这样的组合物的抗CD24靶向组分可以允许特异性递送靶向癌细胞用于ADCC介导的破坏,同时保留正常细胞和组织。抗CD24抗体或其抗原结合片段的ADCC活性可以通过本文所述的一种或多种修饰来增强。

[0107] 5、双特异性抗体组合物

[0108] 本文进一步提供了双特异性抗体,其包括包含桥接至第二抗体或其抗原结合片段的第一抗体或其抗原结合片段的第一抗体域。所述第一抗体域可以包含本文所述的抗CD24抗体或其抗原结合片段,并且第二抗体或其抗原结合片段可以与其他免疫刺激分子结合。在一个具体的实施方案中,第二抗体域包含抗CD3抗体或其抗原结合片段。在这种情况下,双特异性抗体可以特异性靶向表达CD24的癌症特异性糖型的肿瘤细胞,同时与细胞毒性T细胞上的CD3结合,从而将T细胞吸引到肿瘤部位,从而T细胞会浸润肿瘤并导致肿瘤细胞毒性。为了将细胞毒性T细胞或其他效应细胞吸引到肿瘤部位的目的,用于双特异性抗体的伴侣抗体的其他实例是本领域已知的。

[0109] 第二抗体或其抗原结合片段可以靶向互补的抗肿瘤途径或机制。第二抗体域可以包含放大自然免疫应答的癌症免疫疗法抗体或其抗原结合片段。此类癌症免疫治疗抗体的例包括抗PD-1、抗B7-H1、抗B7-H3、抗B7-H4、抗LIGHT、抗LAG3、抗TIM3、抗TIM4抗CD40、抗OX40、抗GITR、抗BTLA、抗CD27、抗ICOS或抗4-1BB。此类抗体可用于治疗癌症。第二抗体或其抗原结合片段可以结合TCR- α 链、TCR- β 链、TCR- γ 链或TCR- δ 链。

[0110] 双特异性抗体可包含SEQ ID NO:17和18所示的序列,或SEQ ID NO:23-27和37-41所示的序列中的任一个。

[0111] 本领域已知许多不同的双特异性抗体技术。其中大多数要求2个组成部分的抗体为单链形式,以便两个部分可以在单个构建体中表达。一种优选的方法是将抗体表达为单链可变片段(scFv)。双特异性抗体技术的非限制性示例包括BiTE(即双特异性T细胞衔接器)、DART(即双亲和力重新靶向)、串联Fab免疫球蛋白(FIT-Ig)和杵臼结构。本文特别考虑了包含抗CD24抗体或其抗原结合片段的此类双特异性抗体。

[0112] 6、CAR-T疗法组合物

[0113] 嵌合抗原受体(CAR)T细胞疗法或CAR-T疗法是一种细胞疗法类型,其中癌症患者的T细胞离体遗传修饰以表达CAR蛋白,因此它们将攻击癌细胞。具体地,T细胞是从患者的血液中提取的,尤其是患者自身的血液(自体的),用表达重组CAR受体的基因构建体转染。然后大量的CAR T细胞在实验室中生长,并输回患者体内,在那里它可以靶向并破坏患者的癌细胞。T细胞也可以是来自匹配供体或来自通用或“现成的”T细胞系的同种异体,其中同种异体T细胞的一个或多个TCR基因和HLA I类位点被破坏,并且产生的T细胞无法识别同种异体抗原。

[0114] CAR蛋白构建物具有通常包含以下核心组分的模块结构:源自抗体的细胞外单链可变片段(scFv),其连接至铰链/间隔肽和跨膜域,其进一步与T细胞受体的细胞内T细胞信号传导域相连。scFv是靶向元件,且在CAR T细胞表面表达以赋予抗原特异性。间隔子将细胞外靶向元件连接至跨膜域并影响CAR功能和scFv柔性。跨膜域横穿细胞膜,将CAR锚定在细胞表面,并将细胞外域连接到细胞内信号传导域,从而影响CAR在细胞表面的表达。共刺激域源自增强细胞因子产生的共刺激蛋白(例如CD28和4-1BB)的细胞内信号传导域。CD3 zeta域源自T细胞受体的细胞内信号传导部分,该部分在T细胞活化过程中介导下游信号传导。CAR-T疗法的实例包括靶向B细胞表面抗原CD19的那些(例如JCAR017和JCAR014[Juno Therapeutics])、CTL019(tisagenlecleucel-T (KymriahTM) [Novartis]) 和KTE-C19 (axicabtagene ciloleucel(**Yescarta®**) [Kite Pharma]), 和CD22 (JCAR014[Juno Therapeutics])。CAR-T疗法的其他实例包括靶向L1-CAM (JCAR023[Juno Therapeutics])、ROR-1 (JCAR024[Juno Therapeutics]) 和MUC16 (JCAR020[Juno Therapeutics]) 的那些。

[0115] CAR的scFv部分是关键组分,并且其确保对癌细胞的特异性,同时防止针对正常细胞的活性,这与脱靶毒性相关。因此,scFv部分通常衍生自识别在癌细胞上特异性表达但在其他细胞和组织上更不频繁或根本不表达的靶蛋白的抗体部分。因此,源自本文所述的任何抗CD24抗体的scFv片段可以用作重组CAR蛋白的癌症靶向组分。特别地,scFv蛋白可以包含SEQ ID NO:28所示的序列。

[0116] CAR T细胞已显示出对血液学肿瘤(如急性淋巴母细胞性白血病(ALL)、B细胞急性淋巴母细胞性白血病、成年髓样白血病(AML)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、非霍奇金淋巴瘤(NHL)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、原发性纵隔B细胞淋巴瘤(PMBCL)、套细胞淋巴瘤(MCL)和多发性骨髓瘤(MM))令人印象深刻的作用。但是,迄今为止,CAR-T疗法仅对实体瘤产生有限的作用。由于CD24在肿瘤和正常组织中的特征性表达模式,使用CD24 CAR-T生成的数据表明,可以靶向的癌症类型包括但不限于脑肿瘤、头颈癌、肉瘤、肺癌、胃肠道癌、乳腺癌、睾丸癌、前列腺癌、胰腺癌、宫颈癌、卵巢癌、肝癌或血液系统恶性肿瘤。

[0117] 7、TCR疗法组合物

[0118] 与CAR-T疗法相似,基因修饰的T细胞受体疗法(TCR)是一种细胞治疗类型,其中癌

症患者的T细胞经离体基因修饰以表达经修饰的TCR以当其输注回患者中时改善T细胞受体识别并攻击特定的抗原性细胞抗原的能力。但是,与识别表面表达的蛋白质的CAR T细胞不同,使用基因修饰的TCR的T细胞免疫疗法已更加针对实体瘤。TCR可以识别细胞内部的肿瘤特异性蛋白质。当肿瘤特异性蛋白破碎成片段时,它们会与另一种称为主要组织相容性复合体(MHC)的蛋白一起出现在细胞表面。TCR被改造为识别肿瘤特异性蛋白片段/MHC组合。TCR修饰的T细胞的靶标的实例包括靶向MAGE-A3的靶标,例如KITE-718(Kite Pharma)、Wilms肿瘤抗原1(WT-1),例如JTCR016(Juno Therapeutics)和NY-ESO 1。

[0119] TCR是由两个亚基TCR α 和TCR β 组成的异二聚体。每个亚基均含有一个位于T细胞膜旁并将受体锚定至细胞膜的恒定区,以及一个在抗原识别中起作用的高变区。因此,源自本文所述的任何抗CD24抗体的scFv片段可以用作重组TCR蛋白的癌症靶向组分。特别地,scFv蛋白可包含SEQ ID NO:28中所示的序列。

[0120] 8、肽组合物

[0121] 本文所述的抗CD24抗体或其抗原结合片段可以结合暴露于癌细胞但不暴露于非癌细胞的聚糖遮蔽的表位。具体地,抗CD24抗体或其抗原结合片段可以与包含氨基酸序列SNSGLAPN(SEQ ID NO:48)的CD24肽结合。因此,包含SEQ ID NO:48所示的序列的肽可以用于中和结合至包含SEQ ID NO:48所示序列的核心序列的表位的抗CD24抗体。这可以用于抗药物抗体测定中以检测中和抗体。包含SEQ ID NO:48所示的序列的肽可以用于抑制与抗体相关的潜在副作用,所述抗体结合到包含SEQ ID NO:48所示的序列的核心的表位上。使用本领域已知的方法,可以修饰该肽以具有更好的体内使用稳定性,包括但不限于使用D-氨基酸,在一个或多个肽键中用S取代O,添加融合序列以改善溶解度或半衰期(例如白蛋白融合)。在又一个实施方案中,包含SEQ ID NO:48所示的序列的分子可用作治疗和预防癌症的疫苗。

[0122] 9、治疗方法

[0123] 本文所述的抗CD24抗体组合物,或包含此类抗体组合物的细胞疗法可用于治疗或预防癌症或另一种异常增生性疾病。本文提供了一种在有需要的患者中使用的方法,其可以包括将抗CD24抗体或其抗原结合片段或包含前述的药物组合物施用于患者。此类分子和药物组合物还可用于制备用于治疗或预防癌症或另一种异常增生性疾病的药物。如本文所用,术语“癌症”是指由异常失控生长的细胞导致的赘生物或肿瘤。如本文所用,癌症明确包括白血病和淋巴瘤。该术语是指涉及可能转移到远端部位的细胞的疾病。患者可以是人类。

[0124] 癌症或其他异常增生性疾病可以是(但不限于)以下一种或多种:癌,包括膀胱癌、乳腺癌、结肠癌、肾癌、肝癌、肺癌、卵巢癌、胰腺癌、胃癌、宫颈癌、甲状腺癌和皮肤癌;包括鳞状细胞癌;淋巴样谱系的造血性肿瘤,包括白血病、急性淋巴细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、B细胞淋巴瘤、T细胞淋巴瘤、伯克氏淋巴瘤;骨髓样谱系的造血性肿瘤,包括急性和慢性骨髓性白血病和早幼粒细胞白血病;间充质干细胞起源的肿瘤,包括纤维肉瘤和横纹肌肉瘤;其他肿瘤,包括黑色素瘤、精原细胞瘤、畸胎瘤(teratocarcinoma)、神经母细胞瘤和神经胶质瘤;中枢和外周神经系统的肿瘤,包括星形细胞瘤、神经母细胞瘤、神经胶质瘤和神经鞘瘤;间充质干细胞起源的肿瘤,包括纤维肉瘤、横纹肌肉瘤和骨肉瘤;和其他肿瘤,包括黑色素瘤、着色性干皮病(xenoderma pigmentosum)、角化棘皮瘤(keratoactanthoma)、精原细胞瘤、甲状腺滤泡癌和畸胎瘤。还考虑到由凋亡异常引起的癌

症也可以通过本发明的方法和组合物治疗。此类癌症可包括但不限于滤泡性淋巴瘤、具有p53突变的癌、乳腺、前列腺和卵巢的激素依赖性肿瘤以及癌前病变,如家族性腺瘤状息肉病和骨髓增生异常综合症。在特定的实施方案中,通过本发明的方法和组合物在卵巢、膀胱、乳腺、结肠、肺、皮肤、胰腺或子宫中治疗或预防恶性肿瘤或增生异常改变(例如化生和发育不良),或增生过多病症。癌症也可能是肉瘤、黑色素瘤或白血病。

[0125] 抗CD24抗体或其抗原结合片段可以与一种或多种其他抗肿瘤疗法组合使用,包括但不限于当前的标准和实验化学疗法、激素疗法、生物学疗法、免疫疗法、放射疗法或手术。在一些实施方案中,抗CD24抗体或其抗原结合片段可以与治疗或预防有效量的一种或多种药剂、治疗性抗体或本领域技术人员已知的用于治疗 and/或预防癌症、自身免疫性疾病、传染性疾病或中毒的其他药剂联合施用。此类试剂包括例如以上讨论的任何生物响应修饰剂、细胞毒素、抗代谢物、烷化剂、抗生素或抗有丝分裂剂,以及免疫治疗剂。

[0126] 抗CD24抗体或其抗原结合片段可以与一种或多种抗肿瘤免疫疗法组合使用。抗肿瘤免疫疗法可涉及破坏或增强其他免疫调节途径的分子(例如TIM3、TIM4、OX40、CD40、GITR、4-1-BB、B7-H1、PD-1、B7-H3、B7-H4、LIGHT、BTLA、ICOS、CD27或LAG3)或调节效应分子例如细胞因子(例如IL-4、IL-7、IL-10、IL-12、IL-15、IL-17、GF-beta、IFN γ 、Flt3、BLys)和趋化因子(例如,CCL21)的活性以增强免疫调节作用。具体的实施方案包括双特异性抗体,其包含抗CD24抗体或其抗体结合片段和抗PD-1((派姆单抗(pembrolizumab)(Keytruda®)或纳武单抗(nivolumab)(Opdivo®))、抗B7-H1(阿特殊单抗(atezolizumab)(Tecentriq®)或度伐单抗(durvalumab))、抗B7-H3、抗B7-H4、抗LIGHT、抗LAG3、抗TIM3、抗TIM4抗CD40、抗OX40、抗GITR、抗BTLA、抗CD27、抗ICOS或抗4-1BB。在又一个实施方案中,抗CD24抗体或其抗原结合片段可以与激活免疫应答的不同阶段或方面的分子组合施用,以实现更广泛的免疫应答。在更优选的实施方案中,抗CD24抗体或其抗原结合片段可以与抗PD-1或抗4-1BB抗体组合,而不加剧自身免疫副作用。

[0127] 10、生产

[0128] 可以使用真核表达系统来制备抗CD24抗体或其抗原结合片段。表达系统可能需要来自哺乳动物细胞(如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞)中载体表达。该系统也可以是病毒载体,例如可用于感染真核细胞的复制缺陷型逆转录病毒载体。抗CD24抗体或其抗原结合片段也可以由稳定的细胞系产生,所述细胞系表达来自整合到细胞基因组中的载体或载体的一部分的抗体。稳定的细胞系可以从整合的复制缺陷型逆转录病毒载体表达抗体。表达系统可以是GPE $\times$ TM。

[0129] 抗CD24抗体或其抗原结合片段可以使用例如层析法(诸如亲和层析、离子交换层析、疏水相互作用层析、DEAE离子交换、凝胶过滤和羟基磷灰石层析)来纯化。在一些实施方案中,融合蛋白可以被工程化改造以包含含有允许多肽被捕获到亲和基质上的氨基酸序列的另外的域。例如,可以使用蛋白A柱从细胞培养上清液或细胞质提取物中分离出本文所述的包含免疫球蛋白域的Fc区的抗体。另外,诸如c-myc、血凝素、多组氨酸或FlagTM(Kodak)的标签可用于辅助多肽纯化。此类标签可以插入多肽内的任何地方,包括在羧基或氨基末端。可能有用的其他融合物包括有助于检测多肽的酶,例如碱性磷酸酶。免疫亲和层析也可以用于纯化多肽。

[0130] 疫苗

[0131] 本文提供了在患者中治疗癌症或提供了本文所述预防癌症的方法。该方法可以为患者接种针对癌症的疫苗。该方法可以包括向需要其的患者施用包含SEQ ID NO:48所示的序列的组合物。该组合物也可以施用于需要治疗与包括使用抗CD24抗体或表达结合CD24的受体的细胞的疗法有关的不良反应的患者。该组合物还可用于制备用于治疗癌症或预防癌症的药物。

[0132] 11、药物组合物

[0133] 本文提供了药物组合物，其包含治疗有效量的任何上述抗CD24抗体，细胞疗法或肽组合物，以及生理上可接受的载体或赋形剂。该药物组合物可以包含预防或治疗有效量的抗CD24抗体或其抗原结合片段，以及药学上可接受的载体。

[0134] 在一个具体的实施方案中，术语“药学上可接受的”是指由联邦或州政府的监管机构批准的或在美国药典或其他公认的药典中列出的用于动物，更特别是用于人的。术语“载体”是指与治疗剂一起施用的稀释剂、佐剂（例如弗氏佐剂（完全和不完全））、赋形剂或媒介物。此类药物载体可以是无菌液体，例如水和油，包括石油、动物、植物或合成起源的那些，如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。当静脉内施用药物组合物时，水是优选的载体。盐水溶液和葡萄糖水溶液和甘油溶液也可以用作液体载体，特别是用于可注射溶液。合适的药物赋形剂包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、稻、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石粉、氯化钠、脱脂奶粉、甘油、丙二醇、水、乙醇等。如果需要的话，所述组合物还可以含有少量的润湿剂或乳化剂或pH缓冲剂。这些组合物可以采用溶液、悬浮液、乳液、片剂、丸剂、胶囊、粉剂、缓释制剂等形式。

[0135] 通常，药物组合物的成分可以单独形式提供或混合成单位剂型，例如，密封容器内的冻干粉剂或无水浓缩物，所述容器例如为标明活性药剂量的安瓿或药囊(sachette)。当药物组合物以输液方式施用，其可以被置于含有无菌药用级水、或盐水的输液瓶中。当药物组合物以注射方式施用，可提供一安瓿注射用水或盐水以便在施用前将所述成分进行混合。

[0136] 药物组合物可以被配制成中性或盐形式。药学上可接受的盐包括但不限于与阴离子形成的盐，例如衍生自盐酸、磷酸、乙酸、草酸、酒石酸等的盐，以及与阳离子形成的盐，例如衍生自钠、钾、铵、钙、氢氧化铁、异丙胺、三乙胺、2-乙胺基乙醇、组氨酸、普鲁卡因等的盐。

[0137] 12、施用方法

[0138] 施用组合物及其药物组合物的方法包括但不限于肠胃外施用（例如，皮内、肌内、腹膜内、静脉内和皮下），硬膜外和粘膜（例如，鼻内和口服途径）。在一个具体的实施方案中，该组合物通过肌内、静脉内或皮下施用。该组合物可以通过任何方便的途径施用，例如通过输注或团注，通过上皮或黏膜皮肤衬里（例如，口腔粘膜、直肠和肠粘膜等）吸收，并且可以与一种或多种其他生物活性剂一起施用。施用可以是系统的或局部的。

实施例

[0139] 本公开具有多个方面，由以下非限制性实施例说明。

[0140] 实施例1

[0141] 抗低糖基化CD24单克隆抗体的产生

[0142] NEU1和CD24在肿瘤中的过表达表明糖苷酶的失调。糖苷酶的失调表明,类似于MUC1的CD24在肿瘤中可能被低糖基化。唾液酸聚糖阻碍了抗体3B6与CD24的结合(图1)。相对于市售的抗CD24抗体ML5(BD bioscience),如通过ELISA所检测,3B6与N-SA-CD24和N-SA-0-CD24牢固结合,但仅与N-CD24或完全糖基化的CD24微弱结合。这表明3B6结合的表位确实是蛋白质主链,并且3B6的结合由于表位的糖基化而受到阻碍。

[0143] 荧光激活细胞分选(FACS)和免疫荧光(IFA)染色结果显示3B6结合多种癌细胞系,包括神经母细胞瘤和成神经管细胞瘤(图2A-B)。3B6与神经母细胞瘤细胞系IMR32、SK-N-SH、SH-SY5Y、SK-N-BE(2)和SK-N-BE(2)C结合,但不与SK-N-AS结合(图2A)。如通过IFA染色所评估,3B6还与从患者获得的4种成神经管细胞瘤肿瘤中的3种结合(图2B)。这些数据表明3B6能够结合癌细胞系和肿瘤。

[0144] 实施例2

[0145] 亲和力成熟

[0146] 与商业抗体ML5(BD Bioscience)和SN3(Thermo Fisher)相比,3B6对CD24的结合亲和力要低得多。为了增加3B6与其抗原结合的亲和力和特异性,进行了3B6的亲和力成熟。我们首先克隆了3B6抗体的重链(IgH)和轻链(IgL),并鉴定了Ig可变区序列,如下:

[0147] 3B6 IgH(SEQ ID NO:1,CDR用下划线和粗体表示)

EVKFEESSGGGLVQPGGSIKLSCAAS**GVTFSEAW**MDWVRQSPEKGLEWV

[0148] **AEIRDKTKNYVT**YYAESVKGRFTISRDDSKSRVYLQMNNLRTEDTGIYY

CTGAMDYWGQGTSTVTVSS

[0149] 3B6 IgL(SEQ ID NO:2,CDR用下划线和粗体表示)

DIVMTQTPLSLSVTIGQPASISCKSS**QSLLYSNGKTY**LNWLQQRPGQSPKR

[0150] LIY**QVSK**LDPGIPDRFSGSGSETDFTLKISRVEAEDLGIYYC**LOGTSYPWT**

FGGGTKLEIK

[0151] 来自亲本3B6抗体的VH和VL片段被转化为scFv形式,并被克隆到噬菌体展示载体中。scFv单价展示在噬菌体上,因此允许选择具有更高亲和力的噬菌体克隆。为了验证scFv的展示水平,将scFv与Flag-6xHis检测标签融合在一起。进行噬菌体ELISA以验证噬菌体展示形式的亲本抗体与抗原的结合。来自噬菌体上清液的结合信号显著,因此该项目继续进行文库构建。

[0152] 进行了三轮选择和筛选。降低浓度的抗原CD24-GST和生物素化的CD24-GST用于筛选以选择更高的结合物克隆。从每个CDR诱变文库中选出48个克隆,进行培养,测定结合并测序。一旦亲和力成熟的scFv克隆的序列得以确认,就将亲和力成熟的克隆的scFv重新编排为全长抗体基因,并在哺乳动物细胞中瞬时表达。所有亲和力成熟的抗体均进行0.01升小规模生产。亲本抗体也按比例放大用于直接比较。使用化学方法确定的培养基,在无血清的情况下,将指示的重链和轻链(表1)的质粒转染到悬浮的HEK293细胞中以制备抗体。转染五天后,收集并澄清条件培养基。使用MabSelectSuRe Protein A培养基(GE Healthcare)纯化条件培养基中的完整抗体。

[0153] 表1通过瞬时转染在HEK293细胞中产生并用IgG1纯化的抗体

[0154]	亲本		亲和力成熟组 1		亲和力成熟组 2	
	PP6226 - H4040+L4040	抗 CD24	PP6228 - H4041+L4040	P3050.H1.A4	PP6368 - H4069+L4069	P3050.ComF1.A11
			PP6230 - H4042+L4040	P3050.H2.A7	PP6369 - H4070+L4069	P3050.ComF1.H4
			PP6231 - H4043+L4040	P3050.H2.B11	PP6370 - H4071+L4069	P3050.ComF1.2F4
			PP6232 - H4040+L4041	P3050.L3.B9	P6371 - H4072+L4070	P3050.ComF1.2F5
			PP6233 - H4040+L4042	P3050.L3.C7	PP6372 - H4073+L4071	P3050.ComF1.C9
[0155]			PP6234 - H4040+L4043	P3050.L3.D8	PP6373 - H4069+L4071	P3050.ComF1.2H1
			PP6235 - H4041+L4042	P3050.H1.A4.L3.C7	PP6387 - H4071+L4071	P3050.ComF2.B1
			PP6236 - H4043+L4042	P3050.H2.B11.L3.C7	PP6388 - H4072+L4069	P3050.ComF2.A5

表: 为获得 IgG 而进行的瞬时转染和纯化的列表。H40xx 表示重链构建体, 且 L40xx 表示轻链构建体。P3050.xx 表示从噬菌体淘选获得的原始克隆。所有 IgG 均表达良好。PP 号是用于区分产生的蛋白质的序列号。

[0156] 通过竞争ELISA评估纯化的亲和力成熟的抗体和亲本抗体对抗原的亲和力。将抗体PP6226 (3B6亲本可变区) 以2 μ g/mL包被在板上。亲和力成熟的抗体首先与CD24-GST一起温育, 然后与平板一起温育, 然后进行第二检测抗体温育。如图3-5中所示, 我们产生了16种具有不同与其亲本克隆竞争的能力的抗体。这些抗体的重链和轻链的氨基酸序列是SEQ ID NO:3-10 (重链) 和SEQ ID NOS:11-16 (轻链)。

[0157] 为了确定亲和力成熟的克隆是否对CD24具有更强的结合以及相互作用是否是聚糖调节的, 我们用N-聚糖酶 (N-CD24)、唾液酸酶NanA (SA-CD24) 或两者 (N-SA-CD24) 处理CD24。使用ELISA测试了图3-5中所述的16个克隆。如图6种所示, 尽管与CD24-GST具有显著的亲和力, 但是无论糖基化程度如何, PP6231和PP6230均不能结合哺乳动物细胞表达的CD24。另一方面, 大多数其他克隆保持了与唾液酸酶和/N-聚糖酶处理的CD24的优先结合。然而, 由于唾液酸酶和N-聚糖酶对抗体结合的相对影响在不同克隆之间差异很大, 因此必须单独测试每个克隆, 以确定它们对聚糖阻碍的易感性。

[0158] 我们选择具有强结合SA-N-CD24但对CD24显示最小结合的6个克隆, 并测试它们与两种癌细胞系 (肺癌细胞系H727和神经母细胞瘤细胞系IMR32) 的结合。如图7中所示, 尽管这6个克隆与SA-N-CD24的结合相似, 但它们与癌细胞的结合却表现出显著不同。重要的是, PP6373对测试的两种癌细胞系均表现出显著的更强的结合。因此, 选择该克隆用于进一步研究。PP6373的重链序列在SEQ ID NO:6中列出, 而轻链序列在SEQ ID No.16中列出。与亲本序列相比, 重链在CDR2中具有三个突变, 而轻链在轻链的CDR3中具有一个突变。如图8中所示, 这些突变不仅使与SA-N-CD24的结合增加了近100倍, 而且使相互作用更严格地受到去唾液酸化作用的调节。还值得注意的是, 即使没有去糖基化, PP6373仍获得与CD24结合的能力 (以与SA-N-CD24结合的1/1000水平)。但是, 由于已知CHO细胞具有不完全的糖基化作用, 因此可能结合反映了检测由CHO细胞制备的重组CD24中较小糖型的抗体的更高敏感性。

[0159] 实施例3

[0160] 由3B6和PP6373识别的抗原性表位

[0161] 为了确定由3B6和亲和力成熟的克隆PP6373识别的抗原性表位, 我们合成了覆盖

成熟CD24氨基酸序列的重叠肽(Seq ID No 42),并用3B6抗体与它们预温育,然后将3B6加入用N⁰CD24蛋白(用N-糖苷酶、NanA和O-糖苷酶顺序预处理的CD24Fc)预包被的板()。如图9种所示,在测试的5种肽(SEQ ID NO:43-47)中,仅肽4(SEQ ID NO:46)显示出对3B6-CD24相互作用的显著阻断,这表明该序列中涵盖CD24结合表位。为了确认PP6373识别相同的表位,我们在大剂量范围内对这5种肽进行滴定。如图10中所示,仅肽4显示PP6373与SA-N-CD24结合的剂量依赖性抑制。

[0162] 为了定义最小的PP6373结合位点,我们每次将肽4截短一个氨基酸,并比较了它们对PP6373结合SA-N-CD24的抑制作用。如图11中所示,尽管从C末端缺失3个氨基酸消除了抑制,但是缺失一个或两个氨基酸显著改善了抑制(左图)。此外,来自肽4的N末端任何氨基酸缺失也消除了抑制作用(右图)。这些数据将SNSGLAPN(SEQ ID NO:48)鉴定为PP6373识别的最佳表位。

[0163] 我们对抗原性表位的鉴定允许产生具有相似性质的其他抗体。在一个实施方案中,可以使用包含序列SNSGLAPN(SEQ ID NO:48)的合成肽来产生新的抗体。该肽可以与另一种免疫原性蛋白质载体偶联,或与佐剂结合使用。在另一个实施方案中,可以使用该肽鉴定识别相同表位的其他抗CD24 mAb,以产生用于癌症的诊断和治疗的癌症特异性抗体。在又一个实施方案中,抗原性肽可以用于中和或抑制与结合包含SEQ ID NO:48的核心序列的表位的抗体相关的潜在副作用。可以使用本领域已知的方法对肽进行修饰以获得更好的体内使用稳定性,包括但不限于使用D-氨基酸,在一个或多个肽键中用S替换O,添加融合序列以改善溶解度或半衰期(例如白蛋白融合)。在又一个实施方案中,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的分子可用于治疗 and 预防癌症疫苗的疫苗。

[0164] 实施例4

[0165] 抗原性表位在正常组织相对恶性组织中的表达

[0166] 为了确定由PP6373识别的表位在癌症组织相对正常组织中是否优先呈递,我们使用生物素化的PP6373通过免疫荧光分析了组织结合。表2总结了正常组织的数据,而表3总结了癌组织的数据。此外,我们评估了抗体与正常良性和恶性脑癌的结合。数据总结于表4。

[0167] 表2.PP6373的免疫荧光染色显示与正常组织的结合最少。

[0168]

器官	+/-	染色模式
正常胃	-	
正常十二指肠	-	
正常小肠	-	
正常结肠	-	
正常腮腺	-	
正常甲状腺	-	
正常胰腺	+	细胞表面弱,细胞内?
正常前列腺	-	
正常主动脉	-	
正常睾丸	-	
正常大网膜	-	
正常乳房	-	

正常淋巴结	-	
正常皮肤	-	
正常延髓		
正常脾脏	-	少数阳性,细胞表面?
正常子宫	-	
正常阴道	-	
正常膀胱	-	
正常神经	-	

[0169] 表3.PP6373对恶性组织的反应性

[0170]	器官	阳性百分比	染色模式
	恶性结肠	0/1	
[0171]	恶性食道	0/1	
	恶性胃	0/2	
	恶性卵巢	16/25	细胞表面
	恶性软组织	0/1	
	恶性肾脏	1/1	表面微弱
	恶性肝脏	14/19	细胞表面
	恶性乳房	12/20	细胞表面
	恶性皮肤	1/1	细胞表面
	恶性睾丸	1/1	细胞内/细胞表面
	恶性肺	11/39	细胞表面

[0172] 表4.PP6373与正常的良性和恶性脑肿瘤的结合

[0173]	病理	细胞表面	细胞内	阴性
	星形细胞瘤	2/24 (8%)	17/24 (71%)	5/24 (21%)
	胶质母细胞瘤	3/8 (38%)	2/8 (25%)	5/8 (37%)
	少突胶质细胞瘤	4/8 (50%)	3/8 (38%)	1/8 (12%)
	室管膜瘤	5/8 (63%)	0/8 (0%)	3/8 (37%)
	成神经管细胞瘤	7/10 (70%)	0/10 (0%)	3/10 (30%)
	良性脑膜瘤	0/22 (0%)	15/22 (68%)	7/22 (32%)
	正常CNS组织	0/16 (0%)	0/16 (0%)	16/16 (100%)

[0174] 如表2中所示,除胰腺和可能的脾脏以外,PP6373不染色正常组织。值得注意的是,胰腺中的大多数染色都出现在细胞内。在脾脏中,少数细胞显示出染色。相反,如表3中所示,测试的大多数癌症都表现出与PP6373的强结合。如表4中所示,尽管正常的CNS组织没有

CD24,但是良性脑膜瘤显示在细胞内染色,尽管没有细胞表面染色。重要的是,包括星形细胞瘤、胶质母细胞瘤和少突胶质细胞瘤在内的恶性脑肿瘤表现出的细胞表面染色率范围为8-70%,此外,一些癌组织表现出细胞内染色。

[0175] 在一个实施方案中,PP6373可以用于区分恶性脑肿瘤与正常或良性脑组织。在另一个实施方案中,PP6367可以用于鉴定实体器官如肝、肺、乳腺和卵巢中的癌组织。

[0176] 实施例5

[0177] PP6373延迟体内肺癌生长

[0178] 为了测试PP6373是否可以在体内延迟肿瘤生长,我们皮下攻击了具有人类肺癌细胞系H727的裸鼠。一旦肿瘤变得可触及,荷瘤小鼠接受两次注射5mg/kg的PP6373(接种H727后14天和21天)。如图12中所示,与IgG对照相比,PP6373处理的肿瘤以明显降低的速率生长。这些数据证明未修饰的PP6373能够在体内表现出抗肿瘤活性。

[0179] 与体内肿瘤延迟一致,我们的体外研究表明PP6367介导了有效的抗体依赖性细胞性细胞毒性作用,如图13中所示。

[0180] 由于ADCC受糖基化特别是岩藻糖基化的影响,因此我们使用抗体工程来产生没有核心FC岩藻糖基化的PP6373(d6373)。如图14中所示,岩藻糖基化增加了PP6373的ADCC活性。

[0181] 我们的数据表明PP6373可用于治疗癌症。在一个实施方案中,PP6373WT IgG1可以用作癌症治疗性抗体,以施用于癌症患者。在另一个实施方案中,抗体可以通过化学方法进行糖工程改造,或在缺乏岩藻糖基转移酶的细胞系中产生。

[0182] 实施例6

[0183] 基于PP6373和OKT3序列的双特异性抗体

[0184] 为了武装(weaponize)抗CD24抗体,我们产生了与CD24和CD3二者都结合的双特异性抗体。在一个实施方案中,将抗CD24和抗CD3(OKT3)抗体分别转化为对CD24和CD3具有反应性的单链抗体,并通过柔性接头序列GGGSGGGSGGGGS(SEQ ID NO:49)连接。PP6373单链抗体的序列在SEQ ID NO:17中列出,而OKT3单链序列在SEQ ID NO:18中列出。

[0185] 在一个实施方案中,通过杵和臼(knob and hole)技术产生双特异性抗体,其中双特异性分子的两个配偶体在Fc区中具有互补突变以产生杵和臼,以促进双特异性异二聚体的形成。PP6373和OKT3的杵和臼变体的序列在SEQ ID NO:19-22中列出。为了评估不同杵和臼构型的双特异性,我们开发了一种由用不同杵-臼产物共转染的产物染色Jurkat细胞组成的测定法。简要地说,首先用转染的293T细胞的组织培养上清液对CD3+Jurkat细胞进行染色。洗去未结合的抗体后,将细胞与生物素化的SA-N-CD24温育。用PE-链霉抗生物素蛋白检测Jurkat细胞上SA-N-CD24的量。如图15中所示,PP6373-臼和OKT3-杵的组合产生的CD24与Jurkat细胞的结合最高,这表明PP6373-臼和OKT3-杵的配对最适合杵-臼策略。

[0186] 在另一个实施方案中,双特异性抗体是通过两个单链结合基序的串联重复产生的。同样,我们分别以相反的顺序(PP6373-OKT3和OKT3-PP6373)比较了具有不同结合基序的两种构型的活性,,分别列于Seq ID-23和24中。如图16中所示,在N末端具有PP6373单链的构建体(PP6373-OKT3;SEQ ID NO:23)显示出更高的双特异性活性。

[0187] 为了确定双特异性抗体是否具有抗肿瘤细胞活性,我们将肺癌细胞系H727与已被抗CD3和抗CD28激活的T细胞共温育2天。我们首先测试了癌细胞是否可以特异性触发细胞

因子的产生。如图17中所示,双特异性抗体诱导显著的细胞因子,但PP6373-Fc的OKT3-Fc不诱导。更重要的是,除非T细胞和肿瘤细胞两者同时存在,否则双特异性抗体不诱导细胞因子的产生。这些数据证明双特异性抗体通过使T细胞和肿瘤细胞两者接合而触发T细胞活化。

[0188] 与细胞因子释放测定法的同时,我们还通过流式细胞术根据基于珠子的活染料标记的肿瘤细胞计数来评估对肿瘤细胞的细胞毒性。如图18中所示,当且仅当存在T细胞时,双特异性抗体才引起肿瘤细胞的损失。

[0189] 作为又一个实施方案,双特异性抗体可以通过FIT-Ig技术产生。简而言之,通过分别共表达编码VL₆₃₇₃-CL-VH_{OKT3}-CH1-Fc (SEQ ID NO:25), VH₆₃₇₃-CH1 (SEQ ID NO:26) 和 VL_{OKT3}-CL (SEQ ID NO:27) 的三个构建体,形成双特异性抗体。如图19中所示,FIT-Ig抗体对OKT3和SA-N-CD24两者均显示出良好的双特异性结合活性。除结合外,我们还发现这种双特异性抗体诱导了显著的细胞因子反应(图20)和对肿瘤细胞的细胞毒性(图21)。另外,与先前的双特异性抗体PP6373-OKT3和OKT3-PP6373相比,该双特异性抗体(FIT-Ig)显示出更高的热稳定性(图22)。

[0190] 实施例7

[0191] PP6373在嵌合抗原受体(CAR)修饰的T细胞(CAR-T)用于癌症疗法中的用途

[0192] 抗CD24抗体与广谱癌细胞反应,并且可以用于产生嵌合抗原受体以赋予T细胞抗癌活性。在一个实施方案中,将PP6373单链Fv序列(SEQ ID NO:28)或其他抗CD24 mAb单链(alphaCD24SC)插入本领域已知的CAR-T载体中,如图23中所示。然后将构建体插入本领域已知的基因载体,包括衍生自逆转录病毒、慢病毒、腺相关病毒或腺病毒载体的那些。

[0193] 为了测试CAR的活性,通过使用人的Pan T细胞分离试剂盒(Miltenyl Biotec),将来自健康供体的PBMC富集T细胞(第0天)。用抗CD3和抗CD28刺激人pan T细胞24小时,并用IL-2培养2天。对活化的T细胞进行模拟处理(对照T)或用携带CD24-CAR的慢病毒感染(第2天)。为了测试CAR-T的抗肿瘤活性,将对照T细胞或CD24 CAR-T细胞与CellTrace Violet (Thermo Fisher)标记的肿瘤细胞共培养过夜。通过用Fixable Viability Dye eFluor™660 (eBioscience)染色来测量肿瘤细胞的裂解,并用下式计算:

[0194] $\text{裂解}\% = (\text{死亡}\% - \text{自溶}\%) / (1 - \text{自溶}\%)$ 。

[0195] 如图24中所示,在宽范围的效应子与靶标比率(E/T)以上,CD24 CAR-T显示出对肺癌细胞系A549有效的细胞毒性。

[0196] 为了测试CAR-T是否被癌细胞激活,我们将 4×10^4 个CAR-T或对照T细胞与A549肿瘤细胞温育过夜,并测量上清液中的IFN γ 。如图25中所示,CAR-T而不是对照T细胞产生IFN γ 响应A549肿瘤细胞刺激。由于CD24在多种癌症类型的谱系中广泛表达。如图26中所示,CD24 CAR-T对许多类型的癌症表现出广泛的细胞毒性,包括肺癌、乳腺癌、前列腺癌、宫颈癌、神经母细胞瘤和神经胶质瘤。

[0197] 综上所述,我们的数据证明基于我们的抗体CD24 CAR-T在癌症治疗中具有巨大潜力。可以靶向的癌症类型包括但不限于脑肿瘤、头颈癌、肉瘤、肺癌、胃肠道癌、乳腺癌、睾丸癌、前列腺癌、胰腺癌、肝癌或血液系统恶性肿瘤。

[0198] 实施例8

[0199] 人源化PP6373用于癌症疗法

[0200] 通过使用pdb 4PB0的结构作为模型结构来建立PP6373 Fv同源性模型。VH和VL二者与4PB0共享>90%的同源性。在查询人类Ig数据库后,人种系V区序列IGHV3-73*01和J区序列IGHJ4*01被鉴定为合适的结构,并用作重链(0nc-1 VH)的CDR区的人类受体框架。将人种系V区IGKV2-29*02和J区序列IGKJ4*01用作轻链(0nc-1 VL)的CDR区的人受体框架。设计了四个VH和四个VL序列(SEQ ID NO:29-36)。新产品将人源化分数从VH中的73%提高到>83%,将VL中从80%提高到>83%。PP6373鼠Fv与人源化形式PP6373(hu-VHv1VLv1;SEQ ID NO:29和33)的Fv的结构比对显示出高度相似性(图27)。

[0201] 为了选择HuVH和HuVL的最佳工作组合用于CD24结合,将不同的组合共转染到293细胞中72小时。然后用表达培养基进行两次ELISA。ELISA1:用纯化的山羊抗人多克隆IgG(GAH)包被96孔板,封闭后,添加表达培养基或纯化的对照IgG,并将山羊抗人IgG-HRP用作检测抗体。ELISA 2:用CD24-GST蛋白包被96孔板,并在封闭后,添加表达培养基或纯化的对照IgG,并将山羊抗人IgG-HRP用作检测抗体。如果在两种ELISA中均认为嵌合PP6373抗体的结合为100%,则将表现出不同结合程度的各种VH和VL组合与嵌合抗体进行比较,并按相对结合进行排序(选自预筛选的先导(lead)纯化后将再次比较)。第一轮预筛选数据总结在图28中且该实验的数据表明,a) L3显示出高的每单位蛋白结合能力,其使L3成为先导;和b) H1L3(SEQ ID NO:29和35)、H2L3(SEQ ID NO:30和35)、H3L3(SEQ ID NO:31和35)和H4L3(SEQ ID NO:32和35)是PP6373的四个人源化先导。

[0202] 为了测试先导抗体H2L3和H3L3是否保留其结合肿瘤细胞的能力,我们将人源化抗体与PP6373一起生物素化。如图29中所示,尽管PP6373与测试的两种人类癌细胞具有更好的结合,但是H2L3和H3L3均显示出与nM范围内的IC₅₀的强结合。

[0203] 我们使用PBL(图30,图31)或来自PBL的纯化的NK细胞(图32)作为效应子,以及A549细胞作为靶细胞,进行了ADCC测定法。出人意料的是,尽管H2L3和H3L3与肿瘤细胞的结合较弱(图29),但当使用低浓度的抗体时,它们在ADCC中是更有效的效应子(图30)。正如预期的那样,去岩藻糖基化的PP6373(d6373)在ADCC中更有效(图31,图32)。

[0204] 综上所述,我们的数据表明,PP6373的人源化克隆显示出与人癌细胞的显著结合以及令人惊讶的有效ADCC活性。在一个实施方案中,抗体可以用于治疗癌症。在另一个实施方案中,人源化抗体可以用作双特异性抗体的关键组分。为了探索这种活性,我们生成了两个包含H3和L3的构建体,以产生基于FIT-Ig技术的双特异性抗体。人源化FIT-Ig抗体的序列列于Seq ID-37和38中,并与SEQ ID NO:27接合使用。此外,我们还进行了一些突变以优化人源化FIT-Ig抗体序列,并列于Seq ID-39-41中。具体而言:所有三个序列在N末端均包含信号序列,用于蛋白质的纯化和合成;在Seq ID-39中:将突变(D至A)引入Fc区以防止ADCC;在Seq ID-27中,VLOKT3和CL之间存在一个额外的R,该R是在构建过程中通过限制性内切酶位点诱导的,而在Seq ID-41中,多余的R是缺失的。

[0205] 在又一个实施方案中,使用本领域已知的方法,人源化抗体可以用作用于癌症疗法的CAR-T的关键组分。

[0206] 实施例9

[0207] 具有糖基遮蔽表位的抗CD24抗体不与具有高表达CD24的正常细胞结合

[0208] 基于抗体的免疫疗法的关键要求是对正常组织的最小反应性。由于CD24在造血细胞(尤其是粒细胞、B细胞、部分红细胞和部分单核细胞)上大量表达,因此我们将PP6373及

其两个人源化克隆 (H2L3和H3L3) 与常规抗CD24 mAb ML5进行了比较。如图33中所示,虽然ML5显示出与通常表达高水平CD24的细胞的强结合,但是H2L3和H3L3不结合B细胞和红细胞,并且与粒细胞的结合很弱。该结果表明与其他细胞类型例如巨噬细胞和一部分非B淋巴细胞的结合最少。

[0001]	序列表															
[0002]	<110> 肿瘤免疫股份有限公司															
[0003]	国家儿童医疗中心儿童研究所															
[0004]	<120> 抗CD24组合物及其用途															
[0005]	<130> 060275.0800.01PC00															
[0006]	<150> 62/671,193															
[0007]	<151> 2018-05-14															
[0008]	<160> 49															
[0009]	<170> PatentIn version 3.5															
[0010]	<210> 1															
[0011]	<211> 468															
[0012]	<212> PRT															
[0013]	<213> 人工序列															
[0014]	<220>															
[0015]	<223> 抗体3B6重链4040															
[0016]	<400> 1															
[0017]	Met	Asp	Pro	Lys	Gly	Ser	Leu	Ser	Trp	Arg	Ile	Leu	Leu	Phe	Leu	Ser
[0018]	1				5					10					15	
[0019]	Leu	Ala	Phe	Glu	Leu	Ser	Tyr	Gly	Glu	Val	Lys	Phe	Glu	Glu	Ser	Gly
[0020]				20					25					30		
[0021]	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Ile	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala
[0022]			35				40						45			
[0023]	Ser	Gly	Val	Thr	Phe	Ser	Glu	Ala	Trp	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ser
[0024]		50					55					60				
[0025]	Pro	Glu	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Glu	Ile	Arg	Asp	Lys	Thr	Lys
[0026]	65				70					75					80	
[0027]	Asn	Tyr	Val	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Glu	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile
[0028]				85					90					95		
[0029]	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Ser	Arg	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu
[0030]			100					105					110			
[0031]	Arg	Thr	Glu	Asp	Thr	Gly	Ile	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Gly	Ala	Met	Asp	Tyr
[0032]			115				120					125				
[0033]	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly
[0034]		130					135					140				
[0035]	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly
[0036]	145					150					155				160	
[0037]	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val
[0038]				165					170					175		

[0039]	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe
[0040]				180				185					190			
[0041]	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val
[0042]				195				200					205			
[0043]	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val
[0044]		210						215					220			
[0045]	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys
[0046]	225					230				235						240
[0047]	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu
[0048]					245					250					255	
[0049]	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr
[0050]				260					265					270		
[0051]	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val
[0052]				275				280					285			
[0053]	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val
[0054]		290						295				300				
[0055]	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser
[0056]	305					310				315						320
[0057]	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu
[0058]					325					330					335	
[0059]	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala
[0060]				340					345					350		
[0061]	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro
[0062]			355					360					365			
[0063]	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln
[0064]		370						375				380				
[0065]	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala
[0066]	385					390				395						400
[0067]	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr
[0068]					405					410					415	
[0069]	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu
[0070]				420					425					430		
[0071]	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser
[0072]				435					440					445		
[0073]	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser
[0074]		450						455					460			
[0075]	Leu	Ser	Pro	Gly												
[0076]	465															
[0077]	<210>	2														

[0078]	<211>	239
[0079]	<212>	PRT
[0080]	<213>	人工序列
[0081]	<220>	
[0082]	<223>	抗体3B6轻链4040
[0083]	<400>	2
[0084]	Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro	
[0085]	1 5 10 15	
[0086]	Gly Ser Thr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser	
[0087]	20 25 30	
[0088]	Val Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser	
[0089]	35 40 45	
[0090]	Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg	
[0091]	50 55 60	
[0092]	Pro Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu Asp	
[0093]	65 70 75 80	
[0094]	Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe	
[0095]	85 90 95	
[0096]	Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr	
[0097]	100 105 110	
[0098]	Cys Leu Gln Gly Thr Ser Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys	
[0099]	115 120 125	
[0100]	Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro	
[0101]	130 135 140	
[0102]	Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu	
[0103]	145 150 155 160	
[0104]	Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp	
[0105]	165 170 175	
[0106]	Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp	
[0107]	180 185 190	
[0108]	Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys	
[0109]	195 200 205	
[0110]	Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln	
[0111]	210 215 220	
[0112]	Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys	
[0113]	225 230 235	
[0114]	<210>	3
[0115]	<211>	468
[0116]	<212>	PRT

[0117]	<213> 人工序列															
[0118]	<220>															
[0119]	<223> 亲和力成熟的重链 4041															
[0120]	<400> 3															
[0121]	Met	Asp	Pro	Lys	Gly	Ser	Leu	Ser	Trp	Arg	Ile	Leu	Leu	Phe	Leu	Ser
[0122]	1				5					10					15	
[0123]	Leu	Ala	Phe	Glu	Leu	Ser	Tyr	Gly	Glu	Val	Lys	Phe	Glu	Glu	Ser	Gly
[0124]					20					25					30	
[0125]	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Ile	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala
[0126]					35					40					45	
[0127]	Ser	Gly	Val	Ala	Phe	Ser	Gly	Ala	Trp	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ser
[0128]					50					55					60	
[0129]	Pro	Glu	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Glu	Ile	Arg	Asp	Lys	Thr	Lys
[0130]	65									70					75	
[0131]	Asn	Tyr	Val	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Glu	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile
[0132]																
[0133]	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Ser	Arg	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu
[0134]																
[0135]	Arg	Thr	Glu	Asp	Thr	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Gly	Ala	Met	Asp	Tyr
[0136]																
[0137]	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly
[0138]																
[0139]	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly
[0140]	145															
[0141]	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val
[0142]																
[0143]	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe
[0144]																
[0145]	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val
[0146]																
[0147]	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val
[0148]																
[0149]	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys
[0150]	225															
[0151]	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu
[0152]																
[0153]	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr
[0154]																
[0155]	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val

[0156]	275	280	285
[0157]	Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val		
[0158]	290	295	300
[0159]	Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser		
[0160]	305	310	315
[0161]	Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu		
[0162]	325	330	335
[0163]	Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala		
[0164]	340	345	350
[0165]	Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro		
[0166]	355	360	365
[0167]	Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln		
[0168]	370	375	380
[0169]	Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala		
[0170]	385	390	395
[0171]	Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr		
[0172]	405	410	415
[0173]	Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu		
[0174]	420	425	430
[0175]	Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser		
[0176]	435	440	445
[0177]	Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser		
[0178]	450	455	460
[0179]	Leu Ser Pro Gly		
[0180]	465		
[0181]	<210> 4		
[0182]	<211> 468		
[0183]	<212> PRT		
[0184]	<213> 人工序列		
[0185]	<220>		
[0186]	<223> 亲和力成熟的重链 4042		
[0187]	<400> 4		
[0188]	Met Asp Pro Lys Gly Ser Leu Ser Trp Arg Ile Leu Leu Phe Leu Ser		
[0189]	1	5	10
[0190]	Leu Ala Phe Glu Leu Ser Tyr Gly Glu Val Lys Phe Glu Glu Ser Gly		
[0191]	20	25	30
[0192]	Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Ile Lys Leu Ser Cys Ala Ala		
[0193]	35	40	45
[0194]	Ser Gly Val Thr Phe Ser Glu Ala Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser		

[0195]	50	55	60
[0196]	Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Glu Ile Arg Asp Lys Ser Thr		
[0197]	65	70	75
[0198]	Asn Tyr Val Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile		
[0199]	85	90	95
[0200]	Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Arg Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu		
[0201]	100	105	110
[0202]	Arg Thr Glu Asp Thr Gly Ile Tyr Tyr Cys Thr Gly Ala Met Asp Tyr		
[0203]	115	120	125
[0204]	Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly		
[0205]	130	135	140
[0206]	Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly		
[0207]	145	150	155
[0208]	Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val		
[0209]	165	170	175
[0210]	Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe		
[0211]	180	185	190
[0212]	Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val		
[0213]	195	200	205
[0214]	Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val		
[0215]	210	215	220
[0216]	Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys		
[0217]	225	230	235
[0218]	Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu		
[0219]	245	250	255
[0220]	Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr		
[0221]	260	265	270
[0222]	Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val		
[0223]	275	280	285
[0224]	Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val		
[0225]	290	295	300
[0226]	Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser		
[0227]	305	310	315
[0228]	Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu		
[0229]	325	330	335
[0230]	Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala		
[0231]	340	345	350
[0232]	Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro		
[0233]	355	360	365

[0234]	Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
[0235]	370 375 380
[0236]	Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
[0237]	385 390 395 400
[0238]	Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
[0239]	405 410 415
[0240]	Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
[0241]	420 425 430
[0242]	Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
[0243]	435 440 445
[0244]	Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
[0245]	450 455 460
[0246]	Leu Ser Pro Gly
[0247]	465
[0248]	<210> 5
[0249]	<211> 468
[0250]	<212> PRT
[0251]	<213> 人工序列
[0252]	<220>
[0253]	<223> 亲和力成熟的重链 4043
[0254]	<400> 5
[0255]	Met Asp Pro Lys Gly Ser Leu Ser Trp Arg Ile Leu Leu Phe Leu Ser
[0256]	1 5 10 15
[0257]	Leu Ala Phe Glu Leu Ser Tyr Gly Glu Val Lys Phe Glu Glu Ser Gly
[0258]	20 25 30
[0259]	Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Ile Lys Leu Ser Cys Ala Ala
[0260]	35 40 45
[0261]	Ser Gly Val Thr Phe Ser Glu Ala Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser
[0262]	50 55 60
[0263]	Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Glu Ile Arg Asp Asn Thr Thr
[0264]	65 70 75 80
[0265]	Asn Tyr Val Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
[0266]	85 90 95
[0267]	Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Arg Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu
[0268]	100 105 110
[0269]	Arg Thr Glu Asp Thr Gly Ile Tyr Tyr Cys Thr Gly Ala Met Asp Tyr
[0270]	115 120 125
[0271]	Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
[0272]	130 135 140

[0273]	Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
[0274]	145 150 155 160
[0275]	Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
[0276]	165 170 175
[0277]	Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
[0278]	180 185 190
[0279]	Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
[0280]	195 200 205
[0281]	Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
[0282]	210 215 220
[0283]	Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
[0284]	225 230 235 240
[0285]	Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
[0286]	245 250 255
[0287]	Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
[0288]	260 265 270
[0289]	Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
[0290]	275 280 285
[0291]	Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
[0292]	290 295 300
[0293]	Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
[0294]	305 310 315 320
[0295]	Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
[0296]	325 330 335
[0297]	Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
[0298]	340 345 350
[0299]	Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
[0300]	355 360 365
[0301]	Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
[0302]	370 375 380
[0303]	Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
[0304]	385 390 395 400
[0305]	Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
[0306]	405 410 415
[0307]	Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
[0308]	420 425 430
[0309]	Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
[0310]	435 440 445
[0311]	Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser

[0312]	450	455	460
[0313]	Leu Ser Pro Gly		
[0314]	465		
[0315]	<210> 6		
[0316]	<211> 468		
[0317]	<212> PRT		
[0318]	<213> 人工序列		
[0319]	<220>		
[0320]	<223> 亲和力成熟的重链 4069 (PP6373)		
[0321]	<400> 6		
[0322]	Met Asp Pro Lys Gly Ser Leu Ser Trp Arg Ile Leu Leu Phe Leu Ser		
[0323]	1 5 10 15		
[0324]	Leu Ala Phe Glu Leu Ser Tyr Gly Glu Val Lys Phe Glu Glu Ser Gly		
[0325]	20 25 30		
[0326]	Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Ile Lys Leu Ser Cys Ala Ala		
[0327]	35 40 45		
[0328]	Ser Gly Val Thr Phe Ser Glu Ala Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser		
[0329]	50 55 60		
[0330]	Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Glu Ile Arg Asp Lys Pro Asn		
[0331]	65 70 75 80		
[0332]	Ser Tyr Val Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile		
[0333]	85 90 95		
[0334]	Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Arg Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu		
[0335]	100 105 110		
[0336]	Arg Thr Glu Asp Thr Gly Ile Tyr Tyr Cys Thr Gly Ala Met Asp Tyr		
[0337]	115 120 125		
[0338]	Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly		
[0339]	130 135 140		
[0340]	Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly		
[0341]	145 150 155 160		
[0342]	Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val		
[0343]	165 170 175		
[0344]	Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe		
[0345]	180 185 190		
[0346]	Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val		
[0347]	195 200 205		
[0348]	Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val		
[0349]	210 215 220		
[0350]	Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys		

[0351]	225	230	235	240
[0352]	Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu			
[0353]		245	250	255
[0354]	Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr			
[0355]		260	265	270
[0356]	Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val			
[0357]		275	280	285
[0358]	Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val			
[0359]		290	295	300
[0360]	Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser			
[0361]	305	310	315	320
[0362]	Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu			
[0363]		325	330	335
[0364]	Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala			
[0365]		340	345	350
[0366]	Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro			
[0367]		355	360	365
[0368]	Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln			
[0369]		370	375	380
[0370]	Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala			
[0371]	385	390	395	400
[0372]	Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr			
[0373]		405	410	415
[0374]	Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu			
[0375]		420	425	430
[0376]	Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser			
[0377]		435	440	445
[0378]	Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser			
[0379]		450	455	460
[0380]	Leu Ser Pro Gly			
[0381]	465			
[0382]	<210> 7			
[0383]	<211> 468			
[0384]	<212> PRT			
[0385]	<213> 人工序列			
[0386]	<220>			
[0387]	<223> 亲和力成熟的重链 H4070			
[0388]	<400> 7			
[0389]	Met Asp Pro Lys Gly Ser Leu Ser Trp Arg Ile Leu Leu Phe Leu Ser			

[0390]	1						5						10						15
[0391]	Leu	Ala	Phe	Glu	Leu	Ser	Tyr	Gly	Glu	Val	Lys	Phe	Glu	Glu	Ser	Gly			
[0392]					20							25			30				
[0393]	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Ile	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala			
[0394]					35							40			45				
[0395]	Ser	Gly	Val	Pro	Phe	Ser	Gly	Ala	Trp	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ser			
[0396]					50							55			60				
[0397]	Pro	Glu	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Glu	Ile	Arg	Asp	Lys	Thr	Lys			
[0398]	65							70							75			80	
[0399]	Asn	Tyr	Val	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Glu	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile			
[0400]					85							90			95				
[0401]	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Ser	Arg	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu			
[0402]					100							105			110				
[0403]	Arg	Thr	Glu	Asp	Thr	Gly	Ile	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Gly	Ala	Met	Asp	Tyr			
[0404]					115							120			125				
[0405]	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly			
[0406]					130							135			140				
[0407]	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly			
[0408]	145							150							155			160	
[0409]	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val			
[0410]					165							170			175				
[0411]	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe			
[0412]					180							185			190				
[0413]	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val			
[0414]					195							200			205				
[0415]	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val			
[0416]					210							215			220				
[0417]	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys			
[0418]	225							230							235			240	
[0419]	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu			
[0420]					245							250			255				
[0421]	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr			
[0422]					260							265			270				
[0423]	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val			
[0424]					275							280			285				
[0425]	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val			
[0426]					290							295			300				
[0427]	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser			
[0428]	305							310							315			320	

[0429]	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu
[0430]					325					330					335	
[0431]	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala
[0432]				340					345					350		
[0433]	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro
[0434]			355					360					365			
[0435]	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln
[0436]		370					375					380				
[0437]	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala
[0438]	385					390				395						400
[0439]	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr
[0440]				405					410					415		
[0441]	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu
[0442]			420					425					430			
[0443]	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser
[0444]		435					440					445				
[0445]	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser
[0446]		450				455				460						
[0447]	Leu	Ser	Pro	Gly												
[0448]	465															
[0449]	<210>	8														
[0450]	<211>	468														
[0451]	<212>	PRT														
[0452]	<213>	人工序列														
[0453]	<220>															
[0454]	<223>	亲和力成熟的重链	4071													
[0455]	<400>	8														
[0456]	Met	Asp	Pro	Lys	Gly	Ser	Leu	Ser	Trp	Arg	Ile	Leu	Leu	Phe	Leu	Ser
[0457]	1			5					10					15		
[0458]	Leu	Ala	Phe	Glu	Leu	Ser	Tyr	Gly	Glu	Val	Lys	Phe	Glu	Glu	Ser	Gly
[0459]			20					25					30			
[0460]	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Ile	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala
[0461]		35					40					45				
[0462]	Ser	Gly	Val	Thr	Phe	Ser	Glu	Ala	Trp	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ser
[0463]		50				55					60					
[0464]	Pro	Glu	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Glu	Ile	Arg	Asp	Lys	Thr	Lys
[0465]	65				70				75					80		
[0466]	Asn	Tyr	Val	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Glu	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile
[0467]			85					90					95			

[0468]	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Gly	Arg	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu
[0469]				100					105					110		
[0470]	Arg	Thr	Glu	Asp	Thr	Gly	Ile	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Gly	Ala	Met	Asp	Tyr
[0471]				115					120					125		
[0472]	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly
[0473]				130					135					140		
[0474]	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly
[0475]	145						150					155				160
[0476]	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val
[0477]						165					170					175
[0478]	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe
[0479]						180										190
[0480]	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val
[0481]						195										205
[0482]	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val
[0483]								210								220
[0484]	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys
[0485]	225							230								240
[0486]	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu
[0487]								245								255
[0488]	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr
[0489]								260								270
[0490]	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val
[0491]								275								285
[0492]	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val
[0493]																300
[0494]	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser
[0495]	305							310								320
[0496]	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu
[0497]								325								335
[0498]	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala
[0499]																350
[0500]	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro
[0501]																365
[0502]	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln
[0503]																380
[0504]	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala
[0505]	385															400
[0506]	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr

[0507]	405																410				415				
[0508]	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu									
[0509]	420																425				430				
[0510]	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser									
[0511]	435																440				445				
[0512]	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser									
[0513]	450																455				460				
[0514]	Leu	Ser	Pro	Gly																					
[0515]	465																								
[0516]	<210>	9																							
[0517]	<211>	468																							
[0518]	<212>	PRT																							
[0519]	<213>	人工序列																							
[0520]	<220>																								
[0521]	<223>	亲和力成熟的重链	4072																						
[0522]	<400>	9																							
[0523]	Met	Asp	Pro	Lys	Gly	Ser	Leu	Ser	Trp	Arg	Ile	Leu	Leu	Phe	Leu	Ser									
[0524]	1	5																10				15			
[0525]	Leu	Ala	Phe	Glu	Leu	Ser	Tyr	Gly	Glu	Val	Lys	Phe	Glu	Glu	Ser	Gly									
[0526]	20																25				30				
[0527]	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Ile	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala									
[0528]	35																40				45				
[0529]	Ser	Gly	Val	Thr	Phe	Ser	Glu	Ala	Trp	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Thr									
[0530]	50																55				60				
[0531]	Pro	Glu	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Glu	Ile	Arg	Asp	Arg	Glu	Thr									
[0532]	65	70																75				80			
[0533]	Lys	Tyr	Val	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Glu	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile									
[0534]	85																90				95				
[0535]	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Ser	Arg	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu									
[0536]	100																105				110				
[0537]	Arg	Thr	Glu	Asp	Thr	Gly	Ile	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Gly	Ala	Met	Asp	Tyr									
[0538]	115																120				125				
[0539]	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly									
[0540]	130																135				140				
[0541]	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly									
[0542]	145	150																155				160			
[0543]	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val									
[0544]	165																170				175				
[0545]	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe									

[0546]	180	185	190
[0547]	Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val		
[0548]	195	200	205
[0549]	Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val		
[0550]	210	215	220
[0551]	Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys		
[0552]	225	230	235
[0553]	Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu		
[0554]	245	250	255
[0555]	Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr		
[0556]	260	265	270
[0557]	Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val		
[0558]	275	280	285
[0559]	Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val		
[0560]	290	295	300
[0561]	Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser		
[0562]	305	310	315
[0563]	Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu		
[0564]	325	330	335
[0565]	Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala		
[0566]	340	345	350
[0567]	Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro		
[0568]	355	360	365
[0569]	Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln		
[0570]	370	375	380
[0571]	Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala		
[0572]	385	390	395
[0573]	Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr		
[0574]	405	410	415
[0575]	Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu		
[0576]	420	425	430
[0577]	Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser		
[0578]	435	440	445
[0579]	Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser		
[0580]	450	455	460
[0581]	Leu Ser Pro Gly		
[0582]	465		
[0583]	<210> 10		
[0584]	<211> 468		

[0585]	<212> PRT															
[0586]	<213> 人工序列															
[0587]	<220>															
[0588]	<223> 亲和力成熟的重链 4073															
[0589]	<400> 10															
[0590]	Met	Asp	Pro	Lys	Gly	Ser	Leu	Ser	Trp	Arg	Ile	Leu	Leu	Phe	Leu	Ser
[0591]	1				5					10					15	
[0592]	Leu	Ala	Phe	Glu	Leu	Ser	Tyr	Gly	Glu	Val	Lys	Phe	Glu	Glu	Ser	Gly
[0593]				20					25					30		
[0594]	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Ile	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala
[0595]				35					40					45		
[0596]	Ser	Gly	Val	Thr	Phe	Ser	Glu	Ala	Trp	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ser
[0597]		50						55				60				
[0598]	Pro	Glu	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Glu	Ile	Arg	Asp	Lys	Gln	Asn
[0599]	65					70				75					80	
[0600]	Glu	Tyr	Val	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Glu	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile
[0601]					85					90					95	
[0602]	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Ser	Arg	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu
[0603]				100					105					110		
[0604]	Arg	Thr	Glu	Asp	Thr	Gly	Ile	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Gly	Ala	Met	Asp	Tyr
[0605]			115					120					125			
[0606]	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly
[0607]		130					135					140				
[0608]	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly
[0609]	145					150					155				160	
[0610]	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val
[0611]					165					170				175		
[0612]	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe
[0613]					180					185				190		
[0614]	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val
[0615]			195					200					205			
[0616]	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val
[0617]		210					215					220				
[0618]	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys
[0619]	225					230					235				240	
[0620]	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu
[0621]					245					250				255		
[0622]	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr
[0623]				260					265					270		

[0624]	Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val		
[0625]	275	280	285
[0626]	Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val		
[0627]	290	295	300
[0628]	Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser		
[0629]	305	310	315 320
[0630]	Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu		
[0631]	325	330	335
[0632]	Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala		
[0633]	340	345	350
[0634]	Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro		
[0635]	355	360	365
[0636]	Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln		
[0637]	370	375	380
[0638]	Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala		
[0639]	385	390	395 400
[0640]	Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr		
[0641]	405	410	415
[0642]	Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu		
[0643]	420	425	430
[0644]	Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser		
[0645]	435	440	445
[0646]	Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser		
[0647]	450	455	460
[0648]	Leu Ser Pro Gly		
[0649]	465		
[0650]	<210> 11		
[0651]	<211> 239		
[0652]	<212> PRT		
[0653]	<213> 人工序列		
[0654]	<220>		
[0655]	<223> 亲和力成熟的轻链 4041		
[0656]	<400> 11		
[0657]	Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro		
[0658]	1	5	10 15
[0659]	Gly Ser Thr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser		
[0660]	20	25	30
[0661]	Val Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser		
[0662]	35	40	45

[0663]	Leu	Leu	Tyr	Ser	Asn	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Gln	Gln	Arg
[0664]	50						55					60				
[0665]	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Lys	Arg	Leu	Ile	Tyr	Gln	Val	Ser	Lys	Leu	Asp
[0666]	65					70					75				80	
[0667]	Pro	Gly	Thr	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Glu	Thr	Asp	Phe
[0668]					85					90					95	
[0669]	Thr	Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Ile	Tyr	Tyr
[0670]				100					105					110		
[0671]	Cys	Met	Gln	Gly	Thr	Ser	Thr	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys
[0672]			115					120					125			
[0673]	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro
[0674]	130						135					140				
[0675]	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu
[0676]	145					150					155				160	
[0677]	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp
[0678]					165					170					175	
[0679]	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp
[0680]			180						185					190		
[0681]	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys
[0682]			195					200					205			
[0683]	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln
[0684]	210						215					220				
[0685]	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys	
[0686]	225					230					235					
[0687]	<210>	12														
[0688]	<211>	239														
[0689]	<212>	PRT														
[0690]	<213>	人工序列														
[0691]	<220>															
[0692]	<223>	亲和力成熟的轻链	4042													
[0693]	<400>	12														
[0694]	Met	Glu	Thr	Asp	Thr	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Pro
[0695]	1				5					10					15	
[0696]	Gly	Ser	Thr	Gly	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser	Leu	Ser
[0697]				20					25				30			
[0698]	Val	Thr	Ile	Gly	Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser
[0699]				35				40					45			
[0700]	Leu	Leu	Tyr	Ser	Asn	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Gln	Gln	Arg
[0701]	50						55					60				

[0702]	Pro Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu Asp
[0703]	65 70 75 80
[0704]	Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe
[0705]	85 90 95
[0706]	Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr
[0707]	100 105 110
[0708]	Cys Met Gln Gly Ala Ser Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
[0709]	115 120 125
[0710]	Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
[0711]	130 135 140
[0712]	Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
[0713]	145 150 155 160
[0714]	Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
[0715]	165 170 175
[0716]	Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
[0717]	180 185 190
[0718]	Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
[0719]	195 200 205
[0720]	Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
[0721]	210 215 220
[0722]	Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[0723]	225 230 235
[0724]	<210> 13
[0725]	<211> 239
[0726]	<212> PRT
[0727]	<213> 人工序列
[0728]	<220>
[0729]	<223> 亲和力成熟的轻链 4043
[0730]	<400> 13
[0731]	Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
[0732]	1 5 10 15
[0733]	Gly Ser Thr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser
[0734]	20 25 30
[0735]	Val Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser
[0736]	35 40 45
[0737]	Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg
[0738]	50 55 60
[0739]	Pro Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu Asp
[0740]	65 70 75 80

[0741]	Pro Gly Thr Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe
[0742]	85 90 95
[0743]	Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr
[0744]	100 105 110
[0745]	Cys Met Gln Gly Ala Ser Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
[0746]	115 120 125
[0747]	Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
[0748]	130 135 140
[0749]	Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
[0750]	145 150 155 160
[0751]	Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
[0752]	165 170 175
[0753]	Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
[0754]	180 185 190
[0755]	Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
[0756]	195 200 205
[0757]	Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
[0758]	210 215 220
[0759]	Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[0760]	225 230 235
[0761]	<210> 14
[0762]	<211> 239
[0763]	<212> PRT
[0764]	<213> 人工序列
[0765]	<220>
[0766]	<223> 亲和力成熟的轻链 4069
[0767]	<400> 14
[0768]	Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
[0769]	1 5 10 15
[0770]	Gly Ser Thr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser
[0771]	20 25 30
[0772]	Val Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser
[0773]	35 40 45
[0774]	Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg
[0775]	50 55 60
[0776]	Pro Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu Asp
[0777]	65 70 75 80
[0778]	Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe
[0779]	85 90 95

[0780]	Thr	Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Ile	Tyr	Tyr
[0781]				100				105					110			
[0782]	Cys	Met	Gln	Gly	Thr	Tyr	Leu	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys
[0783]			115					120					125			
[0784]	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro
[0785]		130						135					140			
[0786]	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu
[0787]	145					150					155					160
[0788]	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp
[0789]					165					170					175	
[0790]	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp
[0791]				180					185					190		
[0792]	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys
[0793]			195					200					205			
[0794]	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln
[0795]		210					215					220				
[0796]	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys	
[0797]	225					230					235					
[0798]	<210> 15															
[0799]	<211> 239															
[0800]	<212> PRT															
[0801]	<213> 人工序列															
[0802]	<220>															
[0803]	<223> 亲和力成熟的轻链 4070															
[0804]	<400> 15															
[0805]	Met	Glu	Thr	Asp	Thr	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Pro
[0806]	1				5				10					15		
[0807]	Gly	Ser	Thr	Gly	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser	Leu	Ser
[0808]				20					25				30			
[0809]	Val	Thr	Ile	Gly	Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser
[0810]			35					40				45				
[0811]	Leu	Leu	Tyr	Ser	Asn	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Gln	Gln	Arg
[0812]		50					55					60				
[0813]	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Lys	Arg	Leu	Ile	Tyr	Gln	Val	Ser	Lys	Leu	Asp
[0814]	65					70					75				80	
[0815]	Pro	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Glu	Thr	Asp	Phe
[0816]					85					90				95		
[0817]	Thr	Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Ile	Tyr	Tyr
[0818]				100					105					110		

[0819]	Cys Met Gln Gly Thr Ser Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
[0820]	115 120 125
[0821]	Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
[0822]	130 135 140
[0823]	Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
[0824]	145 150 155 160
[0825]	Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
[0826]	165 170 175
[0827]	Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
[0828]	180 185 190
[0829]	Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
[0830]	195 200 205
[0831]	Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
[0832]	210 215 220
[0833]	Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[0834]	225 230 235
[0835]	<210> 16
[0836]	<211> 239
[0837]	<212> PRT
[0838]	<213> 人工序列
[0839]	<220>
[0840]	<223> 亲和力成熟的轻链 4071 (PP6373)
[0841]	<400> 16
[0842]	Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
[0843]	1 5 10 15
[0844]	Gly Ser Thr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser
[0845]	20 25 30
[0846]	Val Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser
[0847]	35 40 45
[0848]	Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg
[0849]	50 55 60
[0850]	Pro Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu Asp
[0851]	65 70 75 80
[0852]	Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe
[0853]	85 90 95
[0854]	Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr
[0855]	100 105 110
[0856]	Cys Met Gln Gly Ser Ser Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
[0857]	115 120 125

[0858]	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro
[0859]	130						135					140				
[0860]	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu
[0861]	145					150					155					160
[0862]	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp
[0863]					165					170					175	
[0864]	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp
[0865]				180					185						190	
[0866]	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys
[0867]			195					200					205			
[0868]	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln
[0869]		210					215					220				
[0870]	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys	
[0871]	225					230					235					
[0872]	<210> 17															
[0873]	<211> 479															
[0874]	<212> PRT															
[0875]	<213> 人工序列															
[0876]	<220>															
[0877]	<223> PP6373单链															
[0878]	<400> 17															
[0879]	Glu	Val	Lys	Phe	Glu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
[0880]	1				5					10					15	
[0881]	Ser	Ile	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Val	Thr	Phe	Ser	Glu	Ala
[0882]				20					25				30			
[0883]	Trp	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ser	Pro	Glu	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
[0884]		35					40					45				
[0885]	Ala	Glu	Ile	Arg	Asp	Lys	Pro	Asn	Ser	Tyr	Val	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Glu
[0886]		50					55					60				
[0887]	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Ser	Arg
[0888]	65					70				75					80	
[0889]	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Arg	Thr	Glu	Asp	Thr	Gly	Ile	Tyr
[0890]					85					90					95	
[0891]	Tyr	Cys	Thr	Gly	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr
[0892]				100					105					110		
[0893]	Val	Ser	Ser	Gly	Ser	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
[0894]				115					120					125		
[0895]	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser	Leu
[0896]		130					135						140			

[0897]	Ser Val Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln		
[0898]	145	150	155 160
[0899]	Ser Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln		
[0900]		165	170 175
[0901]	Arg Pro Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu		
[0902]		180	185 190
[0903]	Asp Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Asp		
[0904]		195	200 205
[0905]	Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr		
[0906]		210	215 220
[0907]	Tyr Cys Met Gln Gly Ser Ser Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr		
[0908]		225	230 235 240
[0909]	Lys Leu Glu Ile Lys Ile Ser Ala Met Val Arg Ser Asp Lys Thr His		
[0910]		245	250 255
[0911]	Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val		
[0912]		260	265 270
[0913]	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr		
[0914]		275	280 285
[0915]	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu		
[0916]		290	295 300
[0917]	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys		
[0918]		305	310 315 320
[0919]	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser		
[0920]		325	330 335
[0921]	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys		
[0922]		340	345 350
[0923]	Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile		
[0924]		355	360 365
[0925]	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro		
[0926]		370	375 380
[0927]	Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu		
[0928]		385	390 395 400
[0929]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn		
[0930]		405	410 415
[0931]	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser		
[0932]		420	425 430
[0933]	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg		
[0934]		435	440 445
[0935]	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu		

[0936]	450	455	460
[0937]	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
[0938]	465	470	475
[0939]	<210> 18		
[0940]	<211> 476		
[0941]	<212> PRT		
[0942]	<213> 人工序列		
[0943]	<220>		
[0944]	<223> OKT3 单链		
[0945]	<400> 18		
[0946]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg		
[0947]	1	5	10
[0948]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr		15
[0949]	20	25	30
[0950]	Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile		
[0951]	35	40	45
[0952]	Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Val		
[0953]	50	55	60
[0954]	Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Thr Asp Lys Ser Lys Ser Thr Ala Phe		
[0955]	65	70	75
[0956]	Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		80
[0957]	85	90	95
[0958]	Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly		
[0959]	100	105	110
[0960]	Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly		
[0961]	115	120	125
[0962]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser		
[0963]	130	135	140
[0964]	Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala		
[0965]	145	150	155
[0966]	Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Lys		160
[0967]	165	170	175
[0968]	Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val		
[0969]	180	185	190
[0970]	Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr		
[0971]	195	200	205
[0972]	Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln		
[0973]	210	215	220
[0974]	Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Gln Ile		

[0975]	225	230	235	240
[0976]	Thr Arg Ile Ser Ala Met Val Arg Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro			
[0977]		245	250	255
[0978]	Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe			
[0979]		260	265	270
[0980]	Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val			
[0981]		275	280	285
[0982]	Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe			
[0983]		290	295	300
[0984]	Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro			
[0985]	305	310	315	320
[0986]	Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr			
[0987]		325	330	335
[0988]	Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val			
[0989]		340	345	350
[0990]	Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala			
[0991]		355	360	365
[0992]	Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg			
[0993]		370	375	380
[0994]	Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly			
[0995]	385	390	395	400
[0996]	Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro			
[0997]		405	410	415
[0998]	Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser			
[0999]		420	425	430
[1000]	Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln			
[1001]		435	440	445
[1002]	Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His			
[1003]		450	455	460
[1004]	Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
[1005]	465	470	475	
[1006]	<210> 19			
[1007]	<211> 479			
[1008]	<212> PRT			
[1009]	<213> 人工序列			
[1010]	<220>			
[1011]	<223> PP6373 白			
[1012]	<400> 19			
[1013]	Glu Val Lys Phe Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			

[1014]	1	5	10	15
[1015]	Ser Ile Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val Thr Phe Ser Glu Ala			
[1016]	20	25	30	
[1017]	Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val			
[1018]	35	40	45	
[1019]	Ala Glu Ile Arg Asp Lys Pro Asn Ser Tyr Val Thr Tyr Tyr Ala Glu			
[1020]	50	55	60	
[1021]	Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Arg			
[1022]	65	70	75	80
[1023]	Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Thr Glu Asp Thr Gly Ile Tyr			
[1024]	85	90	95	
[1025]	Tyr Cys Thr Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr			
[1026]	100	105	110	
[1027]	Val Ser Ser Gly Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser			
[1028]	115	120	125	
[1029]	Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu			
[1030]	130	135	140	
[1031]	Ser Val Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln			
[1032]	145	150	155	160
[1033]	Ser Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln			
[1034]	165	170	175	
[1035]	Arg Pro Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu			
[1036]	180	185	190	
[1037]	Asp Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Asp			
[1038]	195	200	205	
[1039]	Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr			
[1040]	210	215	220	
[1041]	Tyr Cys Met Gln Gly Ser Ser Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr			
[1042]	225	230	235	240
[1043]	Lys Leu Glu Ile Lys Ile Ser Ala Met Val Arg Ser Asp Lys Thr His			
[1044]	245	250	255	
[1045]	Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val			
[1046]	260	265	270	
[1047]	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr			
[1048]	275	280	285	
[1049]	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu			
[1050]	290	295	300	
[1051]	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys			
[1052]	305	310	315	320

[1053]	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
[1054]					325					330					335	
[1055]	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
[1056]					340					345					350	
[1057]	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
[1058]					355					360					365	
[1059]	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
[1060]					370					375					380	
[1061]	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu
[1062]					385					390					395	400
[1063]	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
[1064]					405					410					415	
[1065]	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser
[1066]					420					425					430	
[1067]	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Thr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg
[1068]					435					440					445	
[1069]	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu
[1070]					450					455					460	
[1071]	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	
[1072]					465					470					475	
[1073]	<210> 20															
[1074]	<211> 479															
[1075]	<212> PRT															
[1076]	<213> 人工序列															
[1077]	<220>															
[1078]	<223> PP6373 杵															
[1079]	<400> 20															
[1080]	Glu	Val	Lys	Phe	Glu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
[1081]	1				5					10					15	
[1082]	Ser	Ile	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Val	Thr	Phe	Ser	Glu	Ala
[1083]					20					25					30	
[1084]	Trp	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ser	Pro	Glu	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
[1085]					35					40					45	
[1086]	Ala	Glu	Ile	Arg	Asp	Lys	Pro	Asn	Ser	Tyr	Val	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Glu
[1087]					50					55					60	
[1088]	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Ser	Arg
[1089]					65					70					75	80
[1090]	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Arg	Thr	Glu	Asp	Thr	Gly	Ile	Tyr
[1091]					85					90					95	

[1092]	Tyr	Cys	Thr	Gly	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr
[1093]				100					105					110		
[1094]	Val	Ser	Ser	Gly	Ser	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
[1095]				115					120					125		
[1096]	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser	Leu
[1097]				130					135					140		
[1098]	Ser	Val	Thr	Ile	Gly	Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln
[1099]	145						150					155				160
[1100]	Ser	Leu	Leu	Tyr	Ser	Asn	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Gln	Gln
[1101]					165					170					175	
[1102]	Arg	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Lys	Arg	Leu	Ile	Tyr	Gln	Val	Ser	Lys	Leu
[1103]				180						185					190	
[1104]	Asp	Pro	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Glu	Thr	Asp
[1105]				195						200					205	
[1106]	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Ile	Tyr
[1107]				210						215					220	
[1108]	Tyr	Cys	Met	Gln	Gly	Ser	Ser	Leu	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr
[1109]	225						230					235				240
[1110]	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Ile	Ser	Ala	Met	Val	Arg	Ser	Asp	Lys	Thr	His
[1111]					245						250					255
[1112]	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val
[1113]				260						265					270	
[1114]	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
[1115]				275						280					285	
[1116]	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu
[1117]				290					295				300			
[1118]	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
[1119]	305						310					315				320
[1120]	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
[1121]					325					330					335	
[1122]	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
[1123]				340						345					350	
[1124]	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
[1125]				355					360					365		
[1126]	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
[1127]				370					375				380			
[1128]	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Tyr	Cys	Leu
[1129]	385						390					395				400
[1130]	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn

[1131]	405																410				415							
[1132]	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser												
[1133]	420																425				430							
[1134]	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg												
[1135]	435																440				445							
[1136]	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu												
[1137]	450																455				460							
[1138]	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys													
[1139]	465																470				475							
[1140]	<210> 21																											
[1141]	<211> 476																											
[1142]	<212> PRT																											
[1143]	<213> 人工序列																											
[1144]	<220>																											
[1145]	<223> OKT3 白																											
[1146]	<400> 21																											
[1147]	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Arg												
[1148]	1	5																10				15						
[1149]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Arg	Tyr												
[1150]	20																25				30							
[1151]	Thr	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile												
[1152]	35																40				45							
[1153]	Gly	Tyr	Ile	Asn	Pro	Ser	Arg	Gly	Tyr	Thr	Asn	Tyr	Asn	Gln	Lys	Val												
[1154]	50																55				60							
[1155]	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Thr	Asp	Lys	Ser	Lys	Ser	Thr	Ala	Phe												
[1156]	65																70				75				80			
[1157]	Leu	Gln	Met	Asp	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys												
[1158]	85																90				95							
[1159]	Ala	Arg	Tyr	Tyr	Asp	Asp	His	Tyr	Cys	Leu	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly												
[1160]	100																105				110							
[1161]	Thr	Thr	Leu	Thr	Val	Ser	Ser	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly												
[1162]	115																120				125							
[1163]	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser												
[1164]	130																135				140							
[1165]	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Ser	Ala												
[1166]	145																150				155				160			
[1167]	Ser	Ser	Ser	Val	Ser	Tyr	Met	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Thr	Pro	Gly	Lys												
[1168]	165																170				175							
[1169]	Ala	Pro	Lys	Arg	Trp	Ile	Tyr	Asp	Thr	Ser	Lys	Leu	Ala	Ser	Gly	Val												

[1170]		180		185		190											
[1171]	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Tyr	Thr	Phe	Thr	
[1172]			195					200					205				
[1173]	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Ile	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	
[1174]		210					215					220					
[1175]	Trp	Ser	Ser	Asn	Pro	Phe	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Gln	Ile	
[1176]	225					230					235					240	
[1177]	Thr	Arg	Ile	Ser	Ala	Met	Val	Arg	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	
[1178]					245					250					255		
[1179]	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	
[1180]				260					265				270				
[1181]	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	
[1182]			275					280				285					
[1183]	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	
[1184]		290					295					300					
[1185]	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	
[1186]	305					310				315						320	
[1187]	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	
[1188]					325					330					335		
[1189]	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	
[1190]				340					345				350				
[1191]	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	
[1192]			355					360					365				
[1193]	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	
[1194]		370						375				380					
[1195]	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	
[1196]	385					390					395					400	
[1197]	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	
[1198]					405					410					415		
[1199]	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	
[1200]				420					425					430			
[1201]	Phe	Phe	Leu	Thr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	
[1202]			435					440					445				
[1203]	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	
[1204]		450						455				460					
[1205]	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys					
[1206]	465					470					475						
[1207]	<210>	22															
[1208]	<211>	476															

[1209]	<212>	PRT
[1210]	<213>	人工序列
[1211]	<220>	
[1212]	<223>	OKT3 杵
[1213]	<400>	22
[1214]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg	
[1215]	1 5 10 15	
[1216]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr	
[1217]	20 25 30	
[1218]	Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile	
[1219]	35 40 45	
[1220]	Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Val	
[1221]	50 55 60	
[1222]	Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Thr Asp Lys Ser Lys Ser Thr Ala Phe	
[1223]	65 70 75 80	
[1224]	Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[1225]	85 90 95	
[1226]	Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly	
[1227]	100 105 110	
[1228]	Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly	
[1229]	115 120 125	
[1230]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser	
[1231]	130 135 140	
[1232]	Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala	
[1233]	145 150 155 160	
[1234]	Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Lys	
[1235]	165 170 175	
[1236]	Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val	
[1237]	180 185 190	
[1238]	Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr	
[1239]	195 200 205	
[1240]	Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln	
[1241]	210 215 220	
[1242]	Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Gln Ile	
[1243]	225 230 235 240	
[1244]	Thr Arg Ile Ser Ala Met Val Arg Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro	
[1245]	245 250 255	
[1246]	Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe	
[1247]	260 265 270	

[1248]	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val
[1249]			275					280						285		
[1250]	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe
[1251]			290					295						300		
[1252]	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro
[1253]	305						310					315				320
[1254]	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr
[1255]					325					330					335	
[1256]	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val
[1257]				340					345					350		
[1258]	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala
[1259]			355					360						365		
[1260]	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg
[1261]			370					375					380			
[1262]	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Tyr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly
[1263]	385					390					395					400
[1264]	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro
[1265]					405					410					415	
[1266]	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser
[1267]				420					425					430		
[1268]	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln
[1269]			435					440						445		
[1270]	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His
[1271]			450					455					460			
[1272]	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys				
[1273]	465					470					475					
[1274]	<210> 23															
[1275]	<211> 736															
[1276]	<212> PRT															
[1277]	<213> 人工序列															
[1278]	<220>															
[1279]	<223> PP6373-OKT3															
[1280]	<400> 23															
[1281]	Glu	Val	Lys	Phe	Glu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
[1282]	1				5					10					15	
[1283]	Ser	Ile	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Val	Thr	Phe	Ser	Glu	Ala
[1284]				20					25					30		
[1285]	Trp	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ser	Pro	Glu	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
[1286]			35					40					45			

[1287]	Ala	Glu	Ile	Arg	Asp	Lys	Pro	Asn	Ser	Tyr	Val	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Glu
[1288]	50						55					60				
[1289]	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Ser	Arg
[1290]	65					70					75					80
[1291]	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Arg	Thr	Glu	Asp	Thr	Gly	Ile	Tyr
[1292]					85					90					95	
[1293]	Tyr	Cys	Thr	Gly	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr
[1294]				100					105						110	
[1295]	Val	Ser	Ser	Gly	Ser	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
[1296]				115					120					125		
[1297]	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser	Leu
[1298]				130					135					140		
[1299]	Ser	Val	Thr	Ile	Gly	Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln
[1300]	145					150					155					160
[1301]	Ser	Leu	Leu	Tyr	Ser	Asn	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Gln	Gln
[1302]					165					170						175
[1303]	Arg	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Lys	Arg	Leu	Ile	Tyr	Gln	Val	Ser	Lys	Leu
[1304]				180					185						190	
[1305]	Asp	Pro	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Glu	Thr	Asp
[1306]				195					200					205		
[1307]	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Ile	Tyr
[1308]				210					215					220		
[1309]	Tyr	Cys	Met	Gln	Gly	Ser	Ser	Leu	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr
[1310]	225					230					235					240
[1311]	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly
[1312]					245					250					255	
[1313]	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val
[1314]				260					265						270	
[1315]	Gln	Pro	Gly	Arg	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr
[1316]				275					280					285		
[1317]	Phe	Thr	Arg	Tyr	Thr	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly
[1318]				290					295					300		
[1319]	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Tyr	Ile	Asn	Pro	Ser	Arg	Gly	Tyr	Thr	Asn	Tyr
[1320]	305					310					315					320
[1321]	Asn	Gln	Lys	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Thr	Asp	Lys	Ser	Lys
[1322]					325					330					335	
[1323]	Ser	Thr	Ala	Phe	Leu	Gln	Met	Asp	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala
[1324]				340						345					350	
[1325]	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Tyr	Tyr	Asp	Asp	His	Tyr	Cys	Leu	Asp	Tyr

[1326]	355	360	365
[1327]	Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Thr Gly Gly Gly Gly		
[1328]	370	375	380
[1329]	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr		
[1330]	385	390	395
[1331]	Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile		
[1332]	405	410	415
[1333]	Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln		
[1334]	420	425	430
[1335]	Thr Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu		
[1336]	435	440	445
[1337]	Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp		
[1338]	450	455	460
[1339]	Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr		
[1340]	465	470	475
[1341]	Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr		
[1342]	485	490	495
[1343]	Lys Leu Gln Ile Thr Arg Ile Ser Ala Met Val Arg Ser Asp Lys Thr		
[1344]	500	505	510
[1345]	His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser		
[1346]	515	520	525
[1347]	Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg		
[1348]	530	535	540
[1349]	Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro		
[1350]	545	550	555
[1351]	Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala		
[1352]	565	570	575
[1353]	Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val		
[1354]	580	585	590
[1355]	Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr		
[1356]	595	600	605
[1357]	Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr		
[1358]	610	615	620
[1359]	Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu		
[1360]	625	630	635
[1361]	Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys		
[1362]	645	650	655
[1363]	Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser		
[1364]	660	665	670

[1365]	Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
[1366]	675 680 685
[1367]	Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
[1368]	690 695 700
[1369]	Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
[1370]	705 710 715 720
[1371]	Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[1372]	725 730 735
[1373]	<210> 24
[1374]	<211> 736
[1375]	<212> PRT
[1376]	<213> 人工序列
[1377]	<220>
[1378]	<223> OKT3-PP6373
[1379]	<400> 24
[1380]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
[1381]	1 5 10 15
[1382]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
[1383]	20 25 30
[1384]	Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
[1385]	35 40 45
[1386]	Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Val
[1387]	50 55 60
[1388]	Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Thr Asp Lys Ser Lys Ser Thr Ala Phe
[1389]	65 70 75 80
[1390]	Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1391]	85 90 95
[1392]	Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
[1393]	100 105 110
[1394]	Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[1395]	115 120 125
[1396]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
[1397]	130 135 140
[1398]	Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala
[1399]	145 150 155 160
[1400]	Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Lys
[1401]	165 170 175
[1402]	Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val
[1403]	180 185 190

[1404]	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Tyr	Thr	Phe	Thr
[1405]			195					200					205			
[1406]	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Ile	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln
[1407]			210					215					220			
[1408]	Trp	Ser	Ser	Asn	Pro	Phe	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Gln	Ile
[1409]	225						230					235				240
[1410]	Thr	Arg	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly
[1411]					245					250					255	
[1412]	Ser	Glu	Val	Lys	Phe	Glu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly
[1413]				260						265				270		
[1414]	Gly	Ser	Ile	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Val	Thr	Phe	Ser	Glu
[1415]			275					280					285			
[1416]	Ala	Trp	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ser	Pro	Glu	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp
[1417]		290					295					300				
[1418]	Val	Ala	Glu	Ile	Arg	Asp	Lys	Pro	Asn	Ser	Tyr	Val	Thr	Tyr	Tyr	Ala
[1419]	305					310					315					320
[1420]	Glu	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Ser
[1421]				325						330					335	
[1422]	Arg	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Arg	Thr	Glu	Asp	Thr	Gly	Ile
[1423]			340						345					350		
[1424]	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Gly	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val
[1425]			355					360					365			
[1426]	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Ser	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly
[1427]		370					375					380				
[1428]	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser
[1429]	385					390					395					400
[1430]	Leu	Ser	Val	Thr	Ile	Gly	Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser
[1431]				405					410					415		
[1432]	Gln	Ser	Leu	Leu	Tyr	Ser	Asn	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Gln
[1433]			420						425				430			
[1434]	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Lys	Arg	Leu	Ile	Tyr	Gln	Val	Ser	Lys
[1435]			435					440					445			
[1436]	Leu	Asp	Pro	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Glu	Thr
[1437]		450					455					460				
[1438]	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Ile
[1439]	465					470					475					480
[1440]	Tyr	Tyr	Cys	Met	Gln	Gly	Ser	Ser	Leu	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly
[1441]				485					490					495		
[1442]	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Ile	Ser	Ala	Met	Val	Arg	Ser	Asp	Lys	Thr

[1443]	500	505	510
[1444]	His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser		
[1445]	515	520	525
[1446]	Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg		
[1447]	530	535	540
[1448]	Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro		
[1449]	545	550	555
[1450]	Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala		
[1451]	565	570	575
[1452]	Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val		
[1453]	580	585	590
[1454]	Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr		
[1455]	595	600	605
[1456]	Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr		
[1457]	610	615	620
[1458]	Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu		
[1459]	625	630	635
[1460]	Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys		
[1461]	645	650	655
[1462]	Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser		
[1463]	660	665	670
[1464]	Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp		
[1465]	675	680	685
[1466]	Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser		
[1467]	690	695	700
[1468]	Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala		
[1469]	705	710	715
[1470]	Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
[1471]	725	730	735
[1472]	<210> 25		
[1473]	<211> 671		
[1474]	<212> PRT		
[1475]	<213> 人工序列		
[1476]	<220>		
[1477]	<223> VL6373-CL-VH0KT3-CH1-Fc		
[1478]	<400> 25		
[1479]	Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Ile Gly		
[1480]	1	5	10
[1481]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser		

[1482]	20						25						30							
[1483]	Asn	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Gln	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Ser				
[1484]	35						40						45							
[1485]	Pro	Lys	Arg	Leu	Ile	Tyr	Gln	Val	Ser	Lys	Leu	Asp	Pro	Gly	Ile	Pro				
[1486]	50						55						60							
[1487]	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Glu	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile				
[1488]	65						70						75						80	
[1489]	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Ile	Tyr	Tyr	Cys	Met	Gln	Gly				
[1490]	85						90						95							
[1491]	Ser	Ser	Leu	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys				
[1492]	100						105						110							
[1493]	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu				
[1494]	115						120						125							
[1495]	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe				
[1496]	130						135						140							
[1497]	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln				
[1498]	145						150						155						160	
[1499]	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser				
[1500]	165						170						175							
[1501]	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu				
[1502]	180						185						190							
[1503]	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser				
[1504]	195						200						205							
[1505]	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys	Gly	Gly	Gly	Gln	Val				
[1506]	210						215						220							
[1507]	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Arg	Ser	Leu				
[1508]	225						230						235						240	
[1509]	Arg	Leu	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Arg	Tyr	Thr	Met				
[1510]	245						250						255							
[1511]	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Tyr				
[1512]	260						265						270							
[1513]	Ile	Asn	Pro	Ser	Arg	Gly	Tyr	Thr	Asn	Tyr	Asn	Gln	Lys	Val	Lys	Asp				
[1514]	275						280						285							
[1515]	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Thr	Asp	Lys	Ser	Lys	Ser	Thr	Ala	Phe	Leu	Gln				
[1516]	290						295						300							
[1517]	Met	Asp	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg				
[1518]	305						310						315						320	
[1519]	Tyr	Tyr	Asp	Asp	His	Tyr	Cys	Leu	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr				
[1520]	325						330						335							

[1521]	Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
[1522]	340 345 350
[1523]	Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
[1524]	355 360 365
[1525]	Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
[1526]	370 375 380
[1527]	Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
[1528]	385 390 395 400
[1529]	Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
[1530]	405 410 415
[1531]	Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
[1532]	420 425 430
[1533]	Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
[1534]	435 440 445
[1535]	Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
[1536]	450 455 460
[1537]	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
[1538]	465 470 475 480
[1539]	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
[1540]	485 490 495
[1541]	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
[1542]	500 505 510
[1543]	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
[1544]	515 520 525
[1545]	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
[1546]	530 535 540
[1547]	Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
[1548]	545 550 555 560
[1549]	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
[1550]	565 570 575
[1551]	Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
[1552]	580 585 590
[1553]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
[1554]	595 600 605
[1555]	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
[1556]	610 615 620
[1557]	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
[1558]	625 630 635 640
[1559]	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

[1560]					645				650				655			
[1561]	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	
[1562]					660				665				670			
[1563]	<210> 26															
[1564]	<211> 218															
[1565]	<212> PRT															
[1566]	<213> 人工序列															
[1567]	<220>															
[1568]	<223> VH6373-CH1															
[1569]	<400> 26															
[1570]	Glu	Val	Lys	Phe	Glu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
[1571]	1					5					10					15
[1572]	Ser	Ile	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Val	Thr	Phe	Ser	Glu	Ala
[1573]					20				25				30			
[1574]	Trp	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ser	Pro	Glu	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
[1575]					35				40				45			
[1576]	Ala	Glu	Ile	Arg	Asp	Lys	Pro	Asn	Ser	Tyr	Val	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Glu
[1577]					50				55				60			
[1578]	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Ser	Arg
[1579]	65				70				75				80			
[1580]	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Arg	Thr	Glu	Asp	Thr	Gly	Ile	Tyr
[1581]					85				90				95			
[1582]	Tyr	Cys	Thr	Gly	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr
[1583]					100				105				110			
[1584]	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro
[1585]					115				120				125			
[1586]	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val
[1587]					130				135				140			
[1588]	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala
[1589]	145				150				155				160			
[1590]	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly
[1591]					165				170				175			
[1592]	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly
[1593]					180				185				190			
[1594]	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys
[1595]					195				200				205			
[1596]	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys						
[1597]	210				215											
[1598]	<210> 27															

[1599]	<211>	214
[1600]	<212>	PRT
[1601]	<213>	人工序列
[1602]	<220>	
[1603]	<223>	VL0KT3-CL
[1604]	<400>	27
[1605]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[1606]	1 5 10 15	
[1607]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met	
[1608]	20 25 30	
[1609]	Asn Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr	
[1610]	35 40 45	
[1611]	Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser	
[1612]	50 55 60	
[1613]	Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu	
[1614]	65 70 75 80	
[1615]	Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr	
[1616]	85 90 95	
[1617]	Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Gln Ile Thr Arg Arg Thr Val Ala Ala	
[1618]	100 105 110	
[1619]	Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly	
[1620]	115 120 125	
[1621]	Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala	
[1622]	130 135 140	
[1623]	Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln	
[1624]	145 150 155 160	
[1625]	Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser	
[1626]	165 170 175	
[1627]	Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr	
[1628]	180 185 190	
[1629]	Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser	
[1630]	195 200 205	
[1631]	Phe Asn Arg Gly Glu Cys	
[1632]	210	
[1633]	<210>	28
[1634]	<211>	522
[1635]	<212>	PRT
[1636]	<213>	人工序列
[1637]	<220>	

[1638]	<223> 抗CD24IgV-sc															
[1639]	<400> 28															
[1640]	Glu	Val	Lys	Phe	Glu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
[1641]	1				5					10					15	
[1642]	Ser	Ile	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Val	Thr	Phe	Ser	Glu	Ala
[1643]				20					25					30		
[1644]	Trp	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ser	Pro	Glu	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
[1645]			35					40					45			
[1646]	Ala	Glu	Ile	Arg	Asp	Lys	Pro	Asn	Ser	Tyr	Val	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Glu
[1647]		50					55					60				
[1648]	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Ser	Arg
[1649]	65					70				75					80	
[1650]	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Arg	Thr	Glu	Asp	Thr	Gly	Ile	Tyr
[1651]				85					90					95		
[1652]	Tyr	Cys	Thr	Gly	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr
[1653]				100					105					110		
[1654]	Val	Ser	Ser	Gly	Ser	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
[1655]			115					120					125			
[1656]	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser	Leu
[1657]		130					135					140				
[1658]	Ser	Val	Thr	Ile	Gly	Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln
[1659]	145					150				155					160	
[1660]	Ser	Leu	Leu	Tyr	Ser	Asn	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Gln	Gln
[1661]				165					170					175		
[1662]	Arg	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Lys	Arg	Leu	Ile	Tyr	Gln	Val	Ser	Lys	Leu
[1663]			180						185					190		
[1664]	Asp	Pro	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Glu	Thr	Asp
[1665]			195					200					205			
[1666]	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Ile	Tyr
[1667]		210					215					220				
[1668]	Tyr	Cys	Met	Gln	Gly	Ser	Ser	Leu	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr
[1669]	225					230				235				240		
[1670]	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ala	Ala	Ile
[1671]				245					250					255		
[1672]	Glu	Val	Met	Tyr	Pro	Pro	Pro	Tyr	Leu	Asp	Asn	Glu	Lys	Ser	Asn	Gly
[1673]			260					265					270			
[1674]	Thr	Ile	Ile	His	Val	Lys	Gly	Lys	His	Leu	Cys	Pro	Ser	Pro	Leu	Phe
[1675]			275					280					285			
[1676]	Pro	Gly	Pro	Ser	Lys	Pro	Phe	Trp	Val	Leu	Val	Val	Val	Gly	Gly	Val

[1677]	290	295	300
[1678]	Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp		
[1679]	305	310	315 320
[1680]	Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met		
[1681]	325	330	335
[1682]	Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala		
[1683]	340	345	350
[1684]	Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Phe Ser Val Val Lys		
[1685]	355	360	365
[1686]	Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg		
[1687]	370	375	380
[1688]	Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro		
[1689]	385	390	395 400
[1690]	Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser		
[1691]	405	410	415
[1692]	Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu		
[1693]	420	425	430
[1694]	Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg		
[1695]	435	440	445
[1696]	Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Gln Arg Arg Lys Asn Pro		
[1697]	450	455	460
[1698]	Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala		
[1699]	465	470	475 480
[1700]	Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His		
[1701]	485	490	495
[1702]	Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp		
[1703]	500	505	510
[1704]	Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg		
[1705]	515	520	
[1706]	<210> 29		
[1707]	<211> 115		
[1708]	<212> PRT		
[1709]	<213> 人工序列		
[1710]	<220>		
[1711]	<223> Hu Onc-VHv1		
[1712]	<400> 29		
[1713]	Glu Val Gln Phe Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
[1714]	1	5	10 15
[1715]	Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val Thr Phe Ser Glu Ala		

70

[1755]	<213>	人工序列
[1756]	<220>	
[1757]	<223>	Hu Onc-VHv3
[1758]	<400>	31
[1759]	Glu Val Gln Phe Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
[1760]	1 5 10 15	
[1761]	Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val Thr Phe Ser Glu Ala	
[1762]	20 25 30	
[1763]	Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[1764]	35 40 45	
[1765]	Ala Glu Ile Arg Asp Lys Pro Asn Ser Tyr Val Thr Tyr Tyr Ala Glu	
[1766]	50 55 60	
[1767]	Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Thr	
[1768]	65 70 75 80	
[1769]	Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Ile Tyr	
[1770]	85 90 95	
[1771]	Tyr Cys Thr Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr	
[1772]	100 105 110	
[1773]	Val Ser Ser	
[1774]	115	
[1775]	<210>	32
[1776]	<211>	115
[1777]	<212>	PRT
[1778]	<213>	人工序列
[1779]	<220>	
[1780]	<223>	Hu Onc-VHv4
[1781]	<400>	32
[1782]	Glu Val Gln Phe Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
[1783]	1 5 10 15	
[1784]	Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val Thr Phe Ser Glu Ala	
[1785]	20 25 30	
[1786]	Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
[1787]	35 40 45	
[1788]	Ala Glu Ile Arg Asp Lys Pro Asn Ser Tyr Val Thr Tyr Tyr Ala Glu	
[1789]	50 55 60	
[1790]	Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Thr	
[1791]	65 70 75 80	
[1792]	Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Ile Tyr	
[1793]	85 90 95	

[1794]	Tyr Cys Thr Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
[1795]	100 105 110
[1796]	Val Ser Ser
[1797]	115
[1798]	<210> 33
[1799]	<211> 113
[1800]	<212> PRT
[1801]	<213> 人工序列
[1802]	<220>
[1803]	<223> Hu Onc-VL _v 1
[1804]	<400> 33
[1805]	Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
[1806]	1 5 10 15
[1807]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
[1808]	20 25 30
[1809]	Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
[1810]	35 40 45
[1811]	Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu Asp Pro Gly Val Pro
[1812]	50 55 60
[1813]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
[1814]	65 70 75 80
[1815]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly
[1816]	85 90 95
[1817]	Ser Ser Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
[1818]	100 105 110
[1819]	Arg
[1820]	<210> 34
[1821]	<211> 113
[1822]	<212> PRT
[1823]	<213> 人工序列
[1824]	<220>
[1825]	<223> Hu Onc-VL _v 2
[1826]	<400> 34
[1827]	Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Ile Gly
[1828]	1 5 10 15
[1829]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
[1830]	20 25 30
[1831]	Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
[1832]	35 40 45

[1833]	Pro	Gln	Arg	Leu	Ile	Tyr	Gln	Val	Ser	Lys	Leu	Asp	Pro	Gly	Val	Pro
[1834]	50						55					60				
[1835]	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Glu	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile
[1836]	65					70					75				80	
[1837]	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Met	Gln	Gly
[1838]					85					90					95	
[1839]	Ser	Ser	Leu	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
[1840]				100					105					110		
[1841]	Arg															
[1842]	<210>	35														
[1843]	<211>	113														
[1844]	<212>	PRT														
[1845]	<213>	人工序列														
[1846]	<220>															
[1847]	<223>	Hu Onc-VLv3														
[1848]	<400>	35														
[1849]	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser	Leu	Ser	Val	Thr	Ile	Gly
[1850]	1			5					10					15		
[1851]	Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Tyr	Ser
[1852]				20					25					30		
[1853]	Asn	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
[1854]			35					40					45			
[1855]	Pro	Lys	Arg	Leu	Ile	Tyr	Gln	Val	Ser	Lys	Leu	Asp	Pro	Gly	Ile	Pro
[1856]	50						55					60				
[1857]	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Glu	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile
[1858]	65					70					75				80	
[1859]	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Ile	Tyr	Tyr	Cys	Met	Gln	Gly
[1860]				85						90					95	
[1861]	Ser	Ser	Leu	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
[1862]				100					105					110		
[1863]	Arg															
[1864]	<210>	36														
[1865]	<211>	113														
[1866]	<212>	PRT														
[1867]	<213>	人工序列														
[1868]	<220>															
[1869]	<223>	Hu Onc-VLv4														
[1870]	<400>	36														
[1871]	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser	Leu	Ser	Val	Thr	Ile	Gly

[1872]	1	5	10	15
[1873]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser			
[1874]	20	25	30	
[1875]	Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser			
[1876]	35	40	45	
[1877]	Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu Asp Pro Gly Val Pro			
[1878]	50	55	60	
[1879]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile			
[1880]	65	70	75	80
[1881]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly			
[1882]	85	90	95	
[1883]	Ser Ser Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys			
[1884]	100	105	110	
[1885]	Arg			
[1886]	<210> 37			
[1887]	<211> 671			
[1888]	<212> PRT			
[1889]	<213> 人工序列			
[1890]	<220>			
[1891]	<223> VL6373-L3-CL-VHOKT3-CH1-Fc			
[1892]	<400> 37			
[1893]	Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Ile Gly			
[1894]	1	5	10	15
[1895]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser			
[1896]	20	25	30	
[1897]	Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser			
[1898]	35	40	45	
[1899]	Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu Asp Pro Gly Ile Pro			
[1900]	50	55	60	
[1901]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile			
[1902]	65	70	75	80
[1903]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile Tyr Tyr Cys Met Gln Gly			
[1904]	85	90	95	
[1905]	Ser Ser Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys			
[1906]	100	105	110	
[1907]	Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu			
[1908]	115	120	125	
[1909]	Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe			
[1910]	130	135	140	

[1911]	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln
[1912]	145					150					155					160
[1913]	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser
[1914]					165					170					175	
[1915]	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu
[1916]				180					185					190		
[1917]	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser
[1918]			195					200					205			
[1919]	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys	Gly	Ser	Gly	Gln	Val
[1920]		210					215					220				
[1921]	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Arg	Ser	Leu
[1922]	225					230					235					240
[1923]	Arg	Leu	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Arg	Tyr	Thr	Met
[1924]				245						250						255
[1925]	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Tyr
[1926]			260						265					270		
[1927]	Ile	Asn	Pro	Ser	Arg	Gly	Tyr	Thr	Asn	Tyr	Asn	Gln	Lys	Val	Lys	Asp
[1928]			275					280					285			
[1929]	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Thr	Asp	Lys	Ser	Lys	Ser	Thr	Ala	Phe	Leu	Gln
[1930]		290					295					300				
[1931]	Met	Asp	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg
[1932]	305					310					315					320
[1933]	Tyr	Tyr	Asp	Asp	His	Tyr	Cys	Leu	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr
[1934]				325						330					335	
[1935]	Leu	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu
[1936]			340						345					350		
[1937]	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys
[1938]			355					360					365			
[1939]	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser
[1940]		370					375					380				
[1941]	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser
[1942]	385					390					395					400
[1943]	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser
[1944]				405						410					415	
[1945]	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn
[1946]			420						425				430			
[1947]	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His
[1948]			435					440					445			
[1949]	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val

[1950]	450	455	460
[1951]	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr		
[1952]	465	470	475 480
[1953]	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu		
[1954]	485	490	495
[1955]	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys		
[1956]	500	505	510
[1957]	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser		
[1958]	515	520	525
[1959]	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys		
[1960]	530	535	540
[1961]	Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile		
[1962]	545	550	555 560
[1963]	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro		
[1964]	565	570	575
[1965]	Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu		
[1966]	580	585	590
[1967]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn		
[1968]	595	600	605
[1969]	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser		
[1970]	610	615	620
[1971]	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg		
[1972]	625	630	635 640
[1973]	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu		
[1974]	645	650	655
[1975]	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
[1976]	660	665	670
[1977]	<210> 38		
[1978]	<211> 218		
[1979]	<212> PRT		
[1980]	<213> 人工序列		
[1981]	<220>		
[1982]	<223> VH6373-H3-CH1		
[1983]	<400> 38		
[1984]	Glu Val Gln Phe Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
[1985]	1 5 10 15		
[1986]	Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val Thr Phe Ser Glu Ala		
[1987]	20 25 30		
[1988]	Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		

[1989]	35	40	45
[1990]	Ala Glu Ile Arg Asp Lys Pro Asn Ser Tyr Val Thr Tyr Tyr Ala Glu		
[1991]	50	55	60
[1992]	Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Thr		
[1993]	65	70	75
[1994]	Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Ile Tyr		
[1995]	85	90	95
[1996]	Tyr Cys Thr Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr		
[1997]	100	105	110
[1998]	Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro		
[1999]	115	120	125
[2000]	Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val		
[2001]	130	135	140
[2002]	Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala		
[2003]	145	150	155
[2004]	Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly		
[2005]	165	170	175
[2006]	Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly		
[2007]	180	185	190
[2008]	Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys		
[2009]	195	200	205
[2010]	Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys		
[2011]	210	215	
[2012]	<210> 39		
[2013]	<211> 693		
[2014]	<212> PRT		
[2015]	<213> 人工序列		
[2016]	<220>		
[2017]	<223> WBP4002-A1 (在Fc上将D突变为A)		
[2018]	<400> 39		
[2019]	Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp		
[2020]	1	5	10
[2021]	Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser		
[2022]	20	25	30
[2023]	Leu Ser Val Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser		
[2024]	35	40	45
[2025]	Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu		
[2026]	50	55	60
[2027]	Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys		

[2028]	65					70											80
[2029]	Leu	Asp	Pro	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Glu	Thr	
[2030]						85					90						95
[2031]	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Ile	
[2032]						100					105						110
[2033]	Tyr	Tyr	Cys	Met	Gln	Gly	Ser	Ser	Leu	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	
[2034]						115					120						125
[2035]	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	
[2036]						130					135						140
[2037]	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	
[2038]	145						150				155						160
[2039]	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	
[2040]						165					170						175
[2041]	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	
[2042]						180					185						190
[2043]	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	
[2044]						195					200						205
[2045]	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	
[2046]						210					215						220
[2047]	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	
[2048]	225						230				235						240
[2049]	Cys	Gly	Ser	Gly	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	
[2050]						245					250						255
[2051]	Gln	Pro	Gly	Arg	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	
[2052]						260					265						270
[2053]	Phe	Thr	Arg	Tyr	Thr	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	
[2054]						275					280						285
[2055]	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Tyr	Ile	Asn	Pro	Ser	Arg	Gly	Tyr	Thr	Asn	Tyr	
[2056]						290					295						300
[2057]	Asn	Gln	Lys	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Thr	Asp	Lys	Ser	Lys	
[2058]	305						310				315						320
[2059]	Ser	Thr	Ala	Phe	Leu	Gln	Met	Asp	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	
[2060]						325					330						335
[2061]	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Tyr	Tyr	Asp	Asp	His	Tyr	Cys	Leu	Asp	Tyr	
[2062]						340					345						350
[2063]	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Leu	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	
[2064]						355					360						365
[2065]	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	
[2066]						370					375						380

[2067]	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val
[2068]	385					390					395					400
[2069]	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe
[2070]					405					410						415
[2071]	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val
[2072]					420					425					430	
[2073]	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val
[2074]					435					440					445	
[2075]	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys
[2076]			450					455					460			
[2077]	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu
[2078]	465					470					475					480
[2079]	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr
[2080]					485					490						495
[2081]	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Ala	Val
[2082]					500					505					510	
[2083]	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val
[2084]					515					520					525	
[2085]	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser
[2086]					530					535					540	
[2087]	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu
[2088]	545					550					555					560
[2089]	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala
[2090]					565					570						575
[2091]	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro
[2092]					580					585					590	
[2093]	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln
[2094]					595					600					605	
[2095]	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala
[2096]			610					615					620			
[2097]	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr
[2098]	625					630					635					640
[2099]	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu
[2100]					645					650						655
[2101]	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser
[2102]					660					665					670	
[2103]	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser
[2104]					675					680					685	
[2105]	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys											

[2106]	690																
[2107]	<210> 40																
[2108]	<211> 237																
[2109]	<212> PRT																
[2110]	<213> 人工序列																
[2111]	<220>																
[2112]	<223> WBP4002-A2																
[2113]	<400> 40																
[2114]	Met	Glu	Phe	Gly	Leu	Ser	Trp	Leu	Phe	Leu	Val	Ala	Ile	Leu	Lys	Gly	
[2115]	1				5					10					15		
[2116]	Val	Gln	Cys	Glu	Val	Gln	Phe	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	
[2117]				20					25					30			
[2118]	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Val	Thr	Phe	
[2119]			35					40					45				
[2120]	Ser	Glu	Ala	Trp	Met	Asp	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Ser	Gly	Lys	Gly	Leu	
[2121]		50					55					60					
[2122]	Glu	Trp	Val	Ala	Glu	Ile	Arg	Asp	Lys	Pro	Asn	Ser	Tyr	Val	Thr	Tyr	
[2123]	65					70				75						80	
[2124]	Tyr	Ala	Glu	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	
[2125]				85					90					95			
[2126]	Lys	Ser	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	
[2127]			100						105					110			
[2128]	Ala	Ile	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Gly	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	
[2129]			115					120					125				
[2130]	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	
[2131]		130					135					140					
[2132]	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	
[2133]	145					150				155						160	
[2134]	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	
[2135]				165					170					175			
[2136]	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	
[2137]			180						185					190			
[2138]	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	
[2139]			195					200					205				
[2140]	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	
[2141]		210					215					220					
[2142]	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys				
[2143]	225					230				235							
[2144]	<210> 41																

[2145]	<211>	235
[2146]	<212>	PRT
[2147]	<213>	人工序列
[2148]	<220>	
[2149]	<223>	WBP4002-A3 (缺失VLOKT3和CL之间的额外R)
[2150]	<400>	41
[2151]	Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp	
[2152]	1 5 10 15	
[2153]	Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser	
[2154]	20 25 30	
[2155]	Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser	
[2156]	35 40 45	
[2157]	Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Lys Ala	
[2158]	50 55 60	
[2159]	Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro	
[2160]	65 70 75 80	
[2161]	Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile	
[2162]	85 90 95	
[2163]	Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp	
[2164]	100 105 110	
[2165]	Ser Ser Asn Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Gln Ile Thr	
[2166]	115 120 125	
[2167]	Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu	
[2168]	130 135 140	
[2169]	Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe	
[2170]	145 150 155 160	
[2171]	Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln	
[2172]	165 170 175	
[2173]	Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser	
[2174]	180 185 190	
[2175]	Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu	
[2176]	195 200 205	
[2177]	Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser	
[2178]	210 215 220	
[2179]	Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys	
[2180]	225 230 235	
[2181]	<210>	42
[2182]	<211>	30
[2183]	<212>	PRT

[2184]	<213>	人工序列
[2185]	<220>	
[2186]	<223>	CD24定位表位
[2187]	<400>	42
[2188]	Ser Glu Thr Thr Thr Gly Thr Ser Ser Asn Ser Ser Gln Ser Thr Ser	
[2189]	1	5 10 15
[2190]	Asn Ser Gly Leu Ala Pro Asn Pro Thr Asn Ala Thr Thr Lys	
[2191]		20 25 30
[2192]	<210>	43
[2193]	<211>	10
[2194]	<212>	PRT
[2195]	<213>	人工序列
[2196]	<220>	
[2197]	<223>	定位肽1
[2198]	<400>	43
[2199]	Ser Glu Thr Thr Thr Gly Thr Ser Ser Asn	
[2200]	1	5 10
[2201]	<210>	44
[2202]	<211>	10
[2203]	<212>	PRT
[2204]	<213>	人工序列
[2205]	<220>	
[2206]	<223>	定位肽2
[2207]	<400>	44
[2208]	Gly Thr Ser Ser Asn Ser Ser Gln Ser Thr	
[2209]	1	5 10
[2210]	<210>	45
[2211]	<211>	10
[2212]	<212>	PRT
[2213]	<213>	人工序列
[2214]	<220>	
[2215]	<223>	定位肽3
[2216]	<400>	45
[2217]	Ser Ser Gln Ser Thr Ser Asn Ser Gly Leu	
[2218]	1	5 10
[2219]	<210>	46
[2220]	<211>	10
[2221]	<212>	PRT
[2222]	<213>	人工序列

[2223]	<220>
[2224]	<223> 定位肽4
[2225]	<400> 46
[2226]	Ser Asn Ser Gly Leu Ala Pro Asn Pro Thr
[2227]	1 5 10
[2228]	<210> 47
[2229]	<211> 10
[2230]	<212> PRT
[2231]	<213> 人工序列
[2232]	<220>
[2233]	<223> 定位肽5
[2234]	<400> 47
[2235]	Ala Pro Asn Pro Thr Asn Ala Thr Thr Lys
[2236]	1 5 10
[2237]	<210> 48
[2238]	<211> 8
[2239]	<212> PRT
[2240]	<213> 人工序列
[2241]	<220>
[2242]	<223> 最小结合肽
[2243]	<400> 48
[2244]	Ser Asn Ser Gly Leu Ala Pro Asn
[2245]	1 5
[2246]	<210> 49
[2247]	<211> 15
[2248]	<212> PRT
[2249]	<213> 人工序列
[2250]	<220>
[2251]	<223> 柔性接头
[2252]	<400> 49
[2253]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[2254]	1 5 10 15

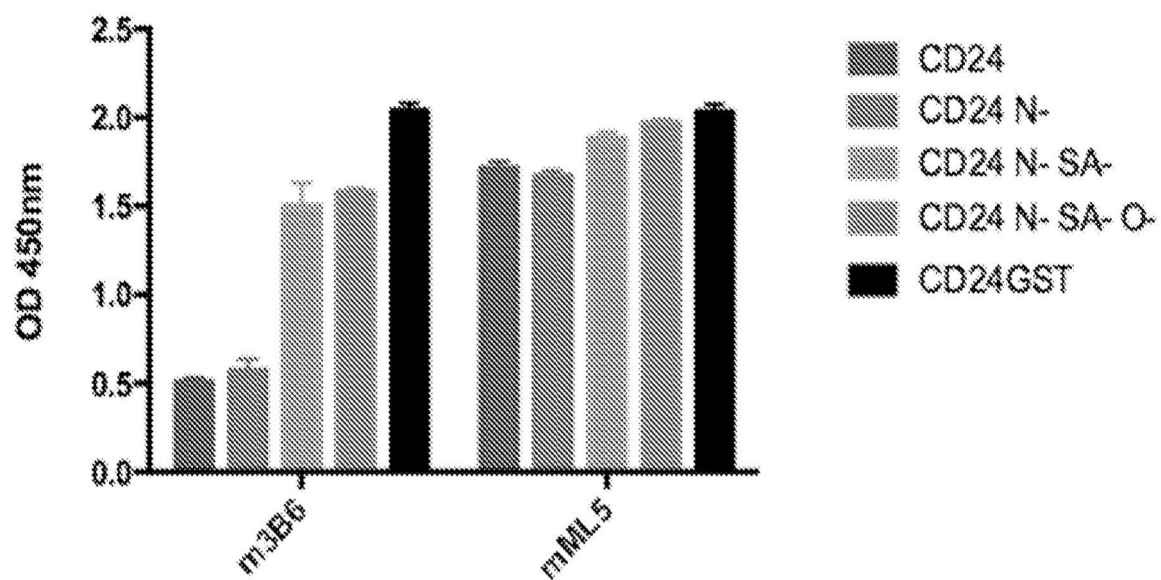


图1

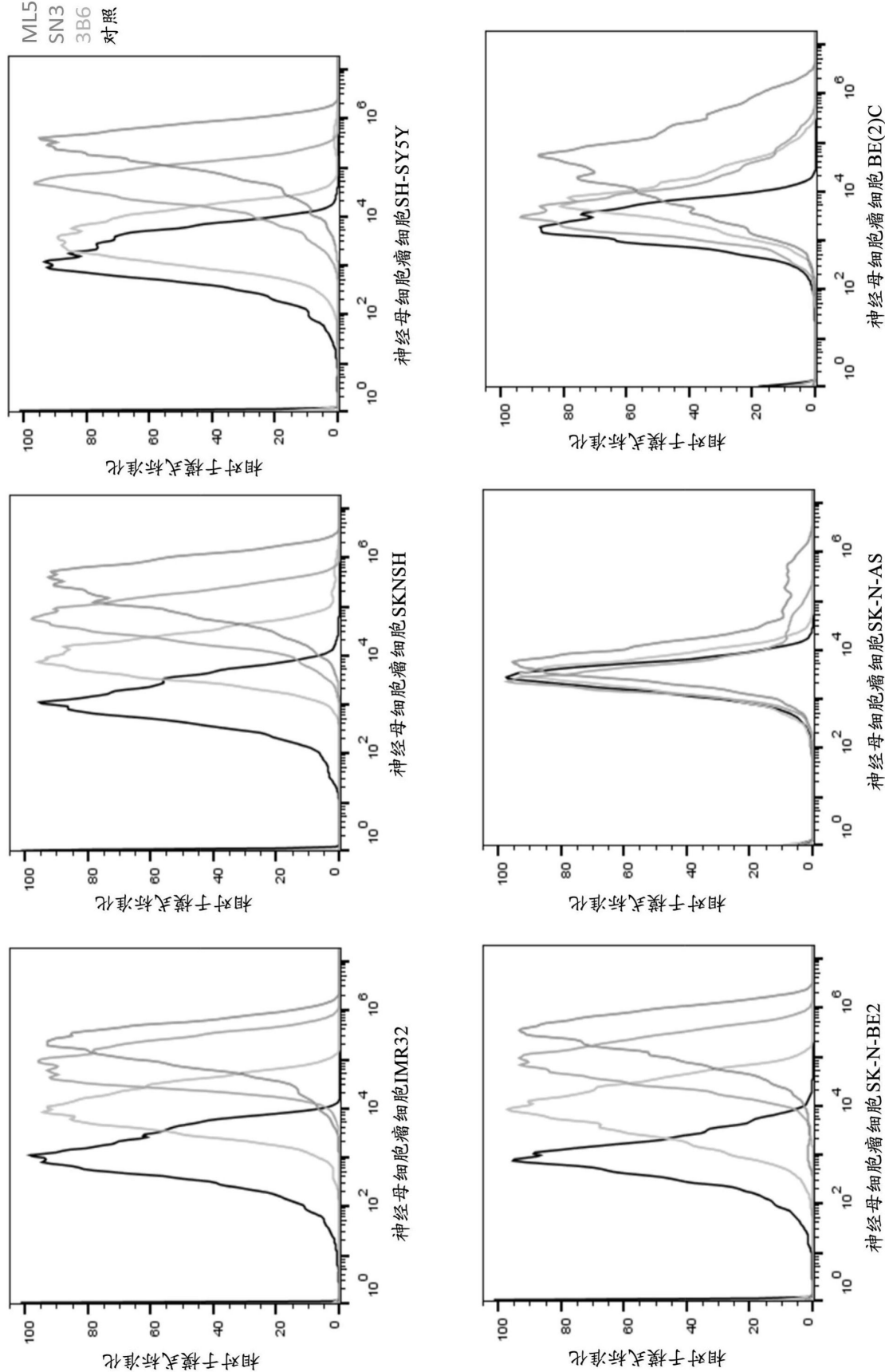


图2A

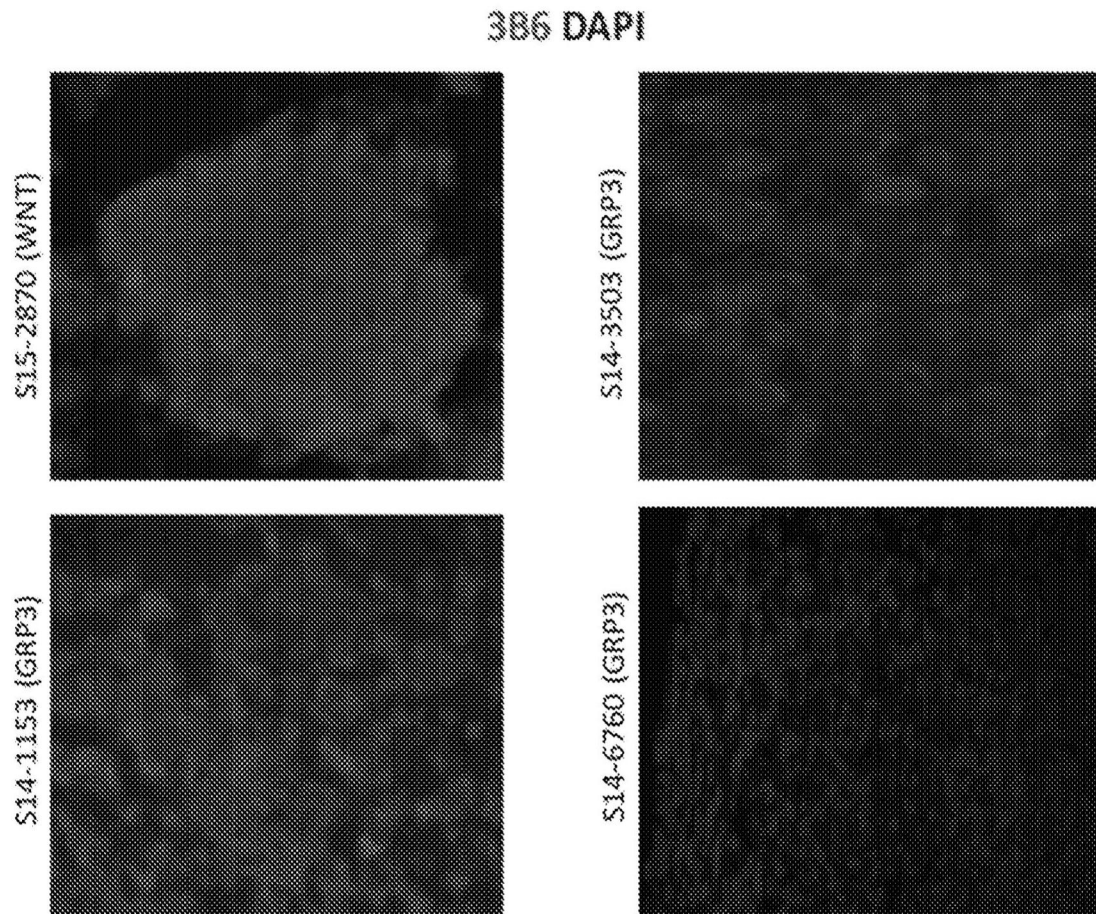
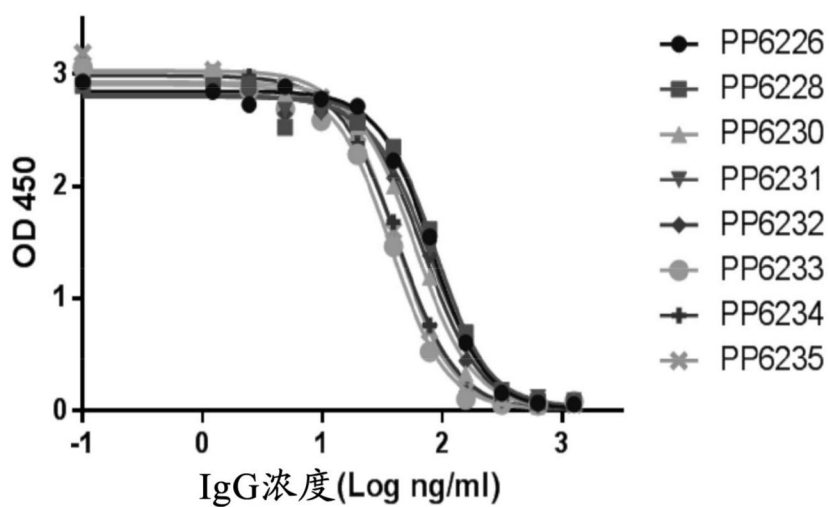


图2B

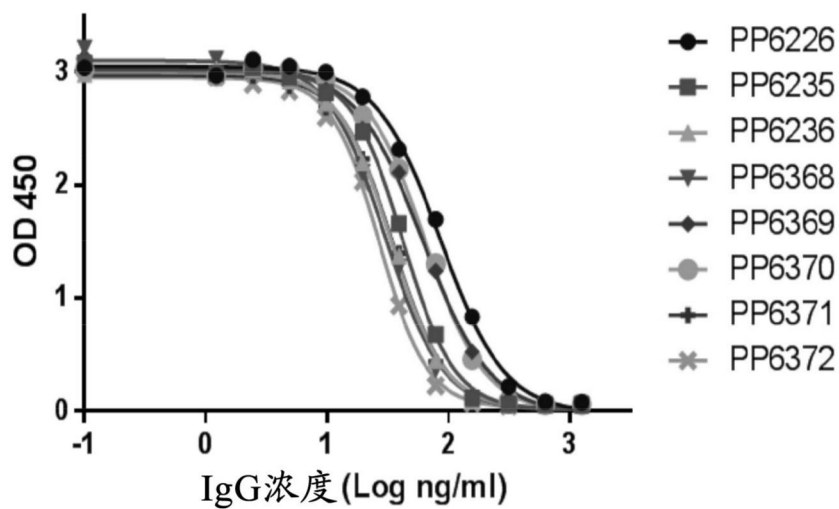
竞争性ELISA生物素-GST-CD24



	PP6226	PP6228	PP6230	PP6231	PP6232	PP6233	PP6234	PP6235
IC50 (ng/ml)	81.38	88.82	58.94	76.77	71.25	37.24	42.61	41.09

图3

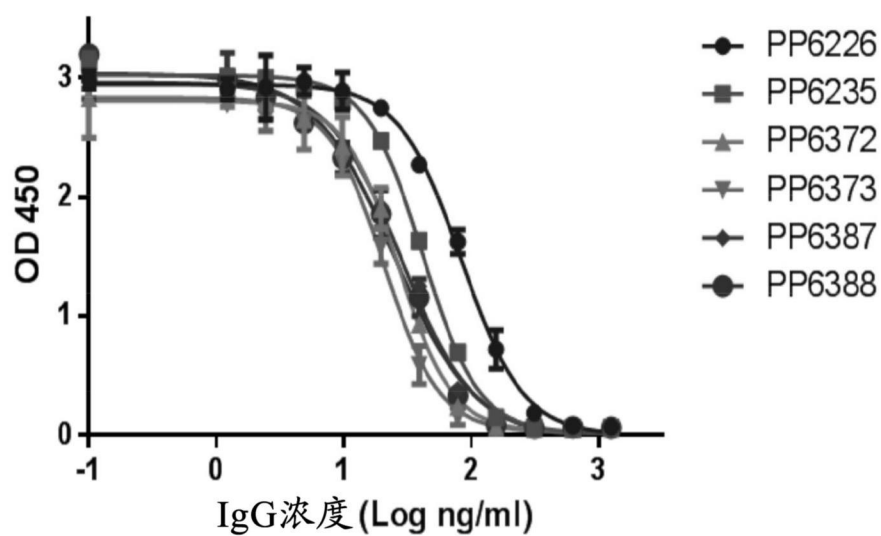
竞争性ELISA生物素-GST-CD24



	PP6226	PP6235	PP6236	PP6368	PP6369	PP6370	PP6371	PP6372
IC50 (ng/ml)	85.64	41.87	33.63	29.85	61.12	64.23	34.52	26.89

图4

竞争性ELISA生物素-GST-CD24



	PP6226	PP6235	PP6372	PP6373	PP6387	PP6388
IC50 (ng/ml)	83.39	41.48	26.83	20.68	28.43	24.86

图5

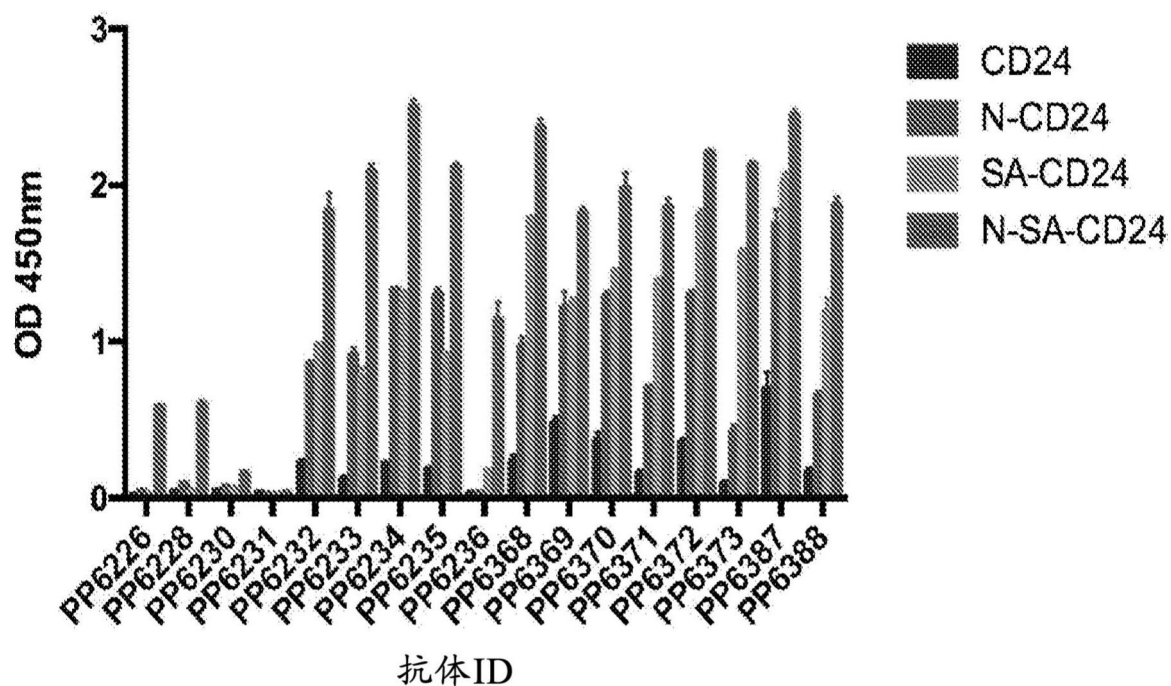


图6

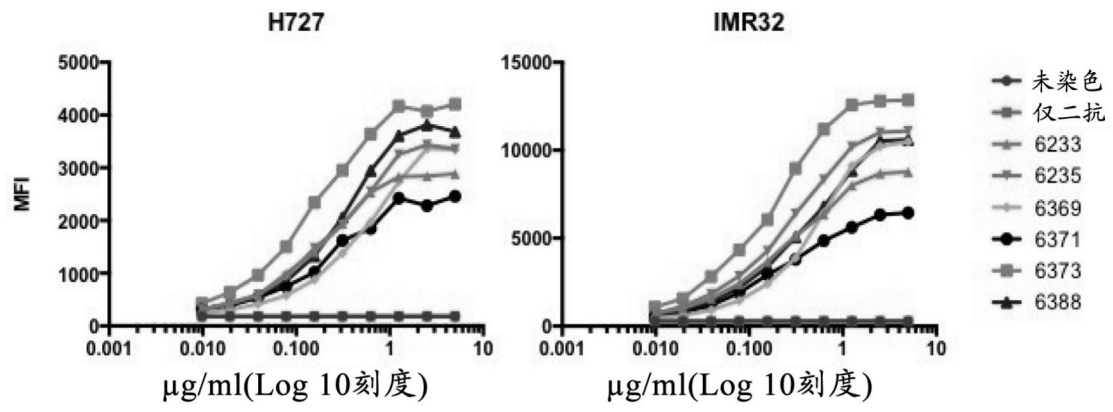


图7

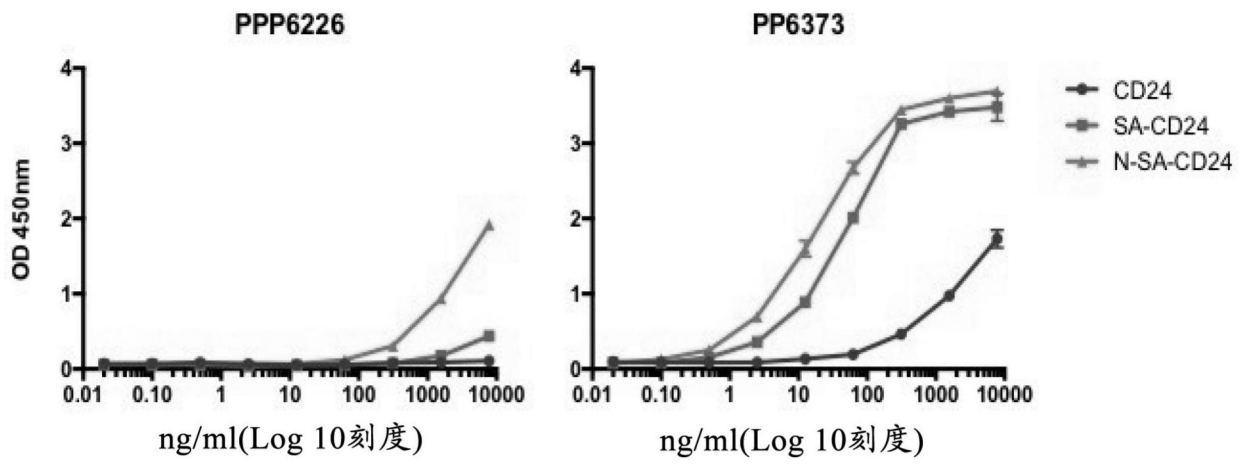


图8

通过肽抑制定位3B6结合位点

hCD24 AA序列: SETT TGTSSNSSQS TSNSGLAPNP TNATTK

肽1: SETT TGTSSN

肽2: GTSSNSSQS T

肽3: SSQS TSNSGL

肽4: SNSGLAPNP T*

肽5: APNP TNATTK

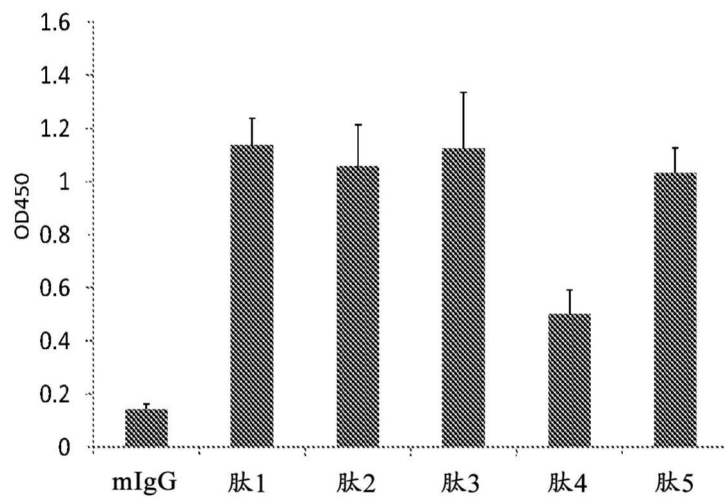


图9

PP6373

肽抑制测定法

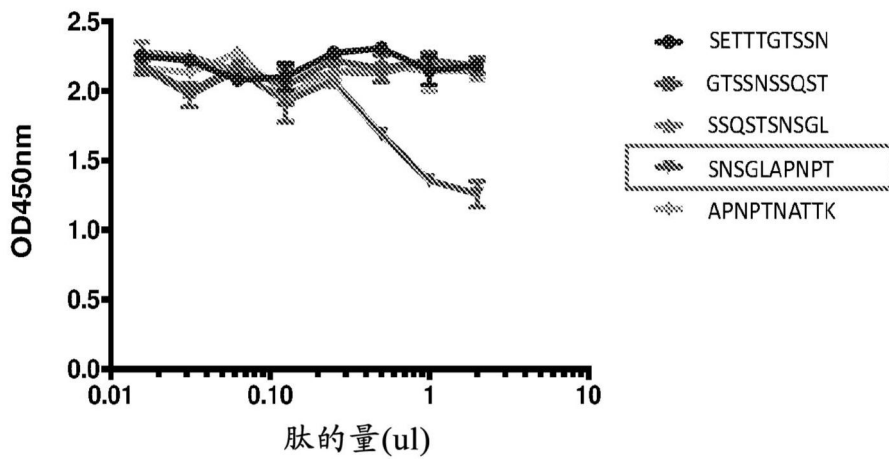


图10

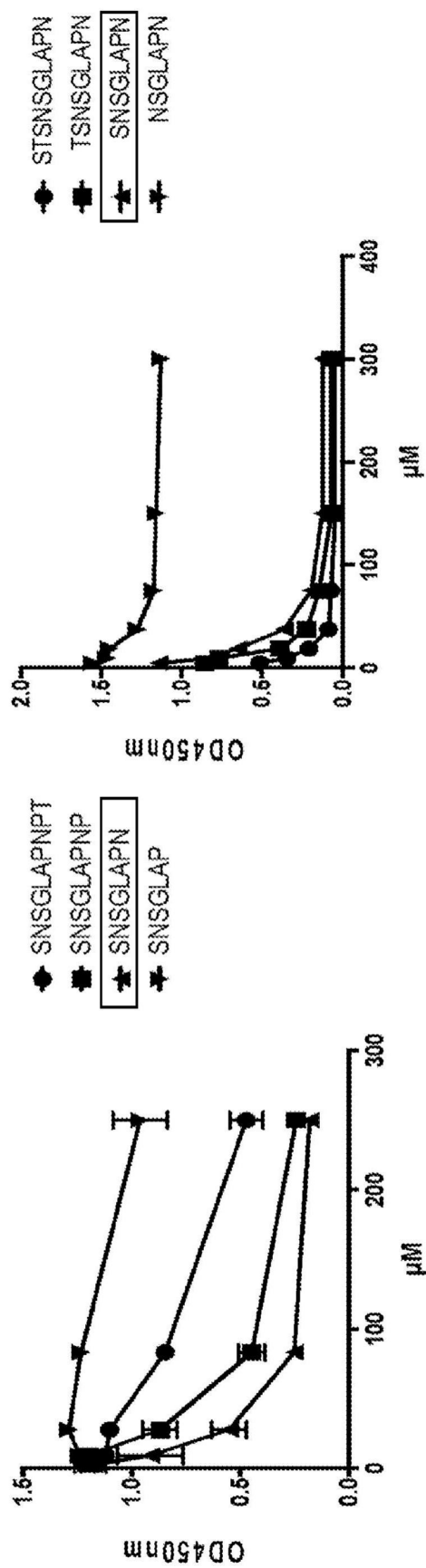


图11

接种NCI-H727的裸鼠

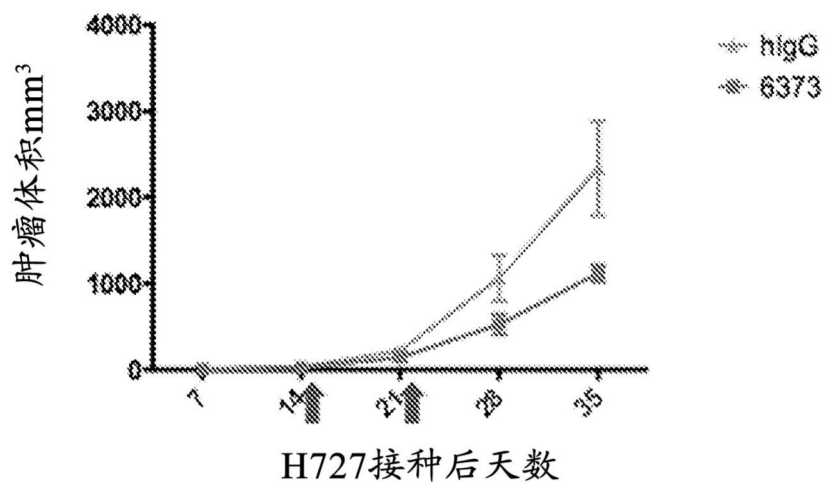


图12

NCI-H727的ADCC

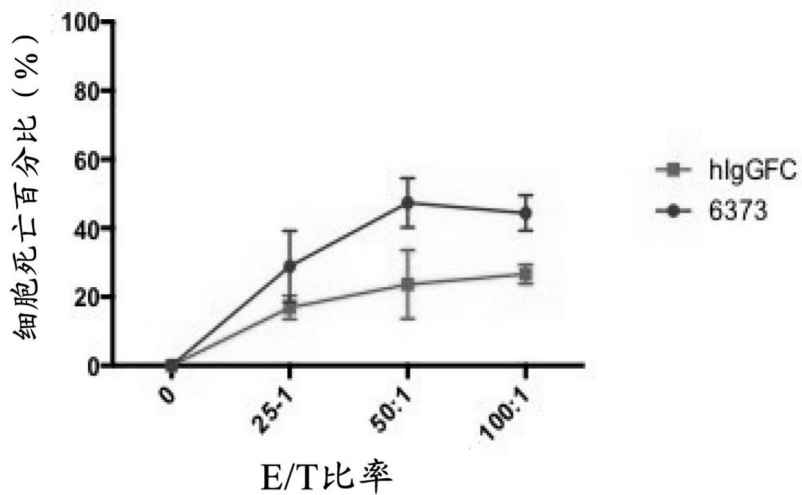


图13

NCI-H727的ADCC

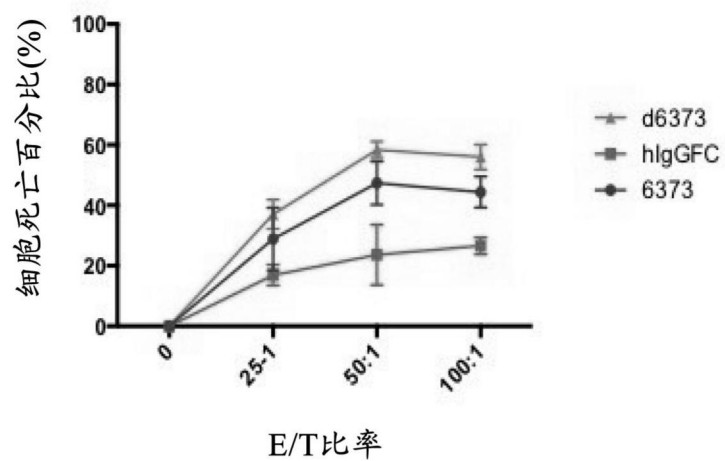


图14

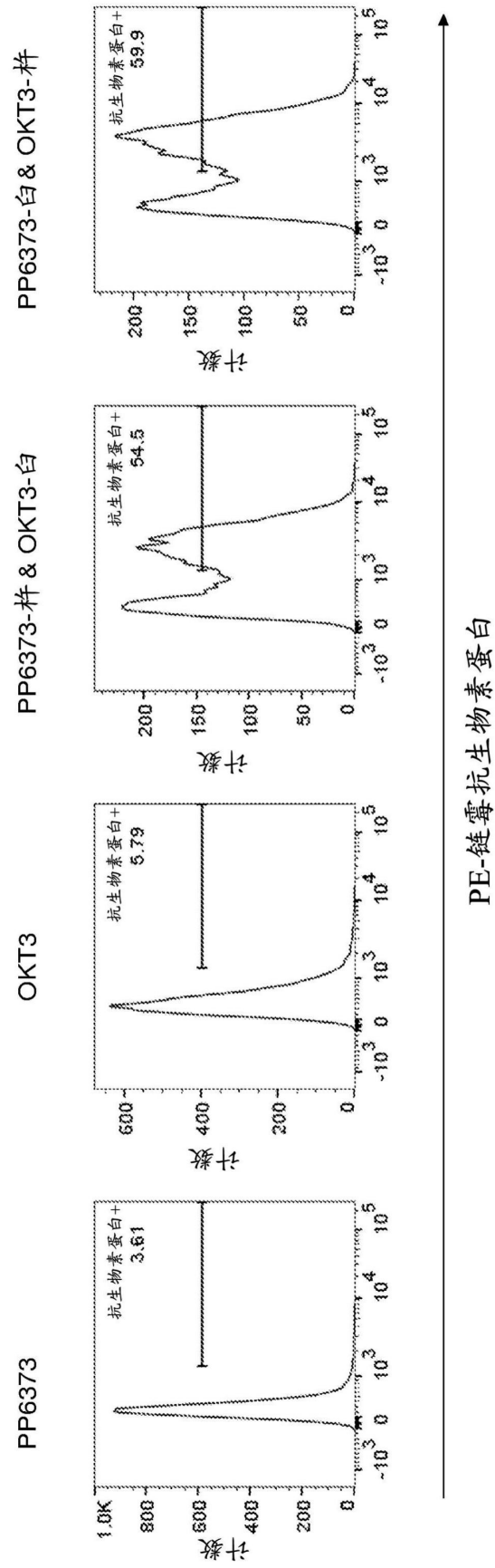


图15

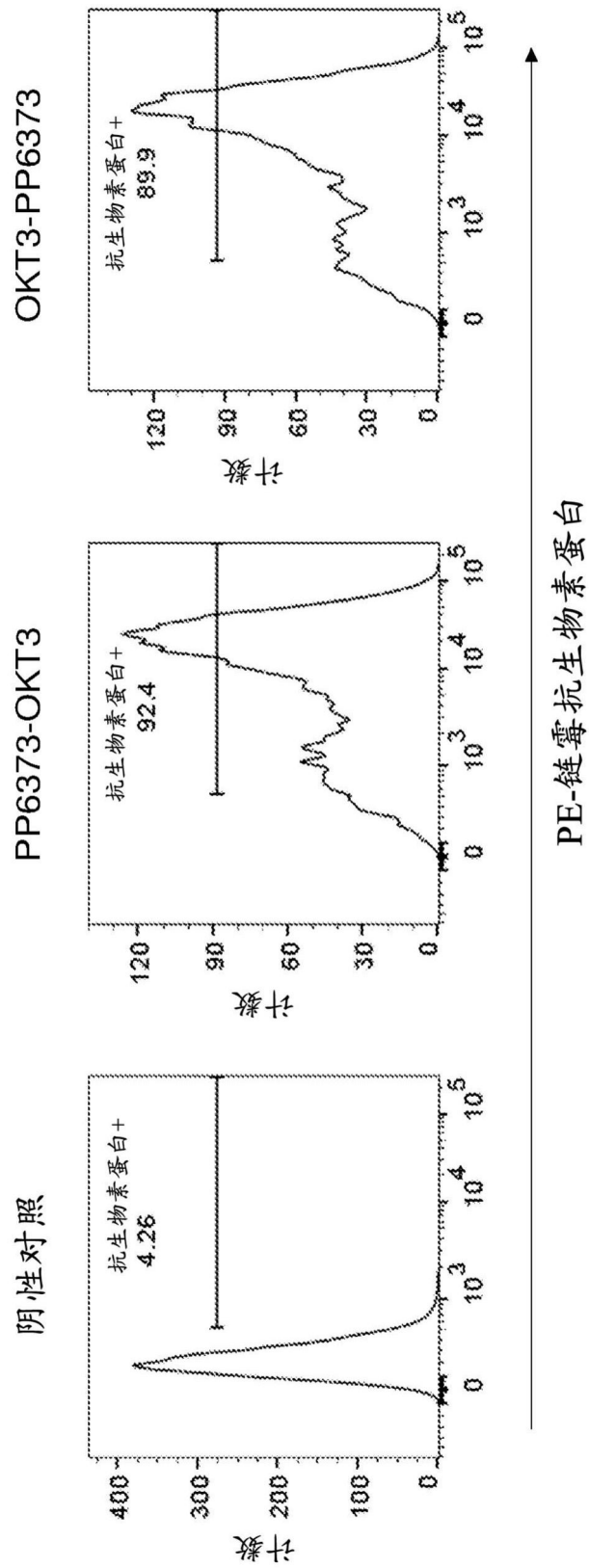


图16

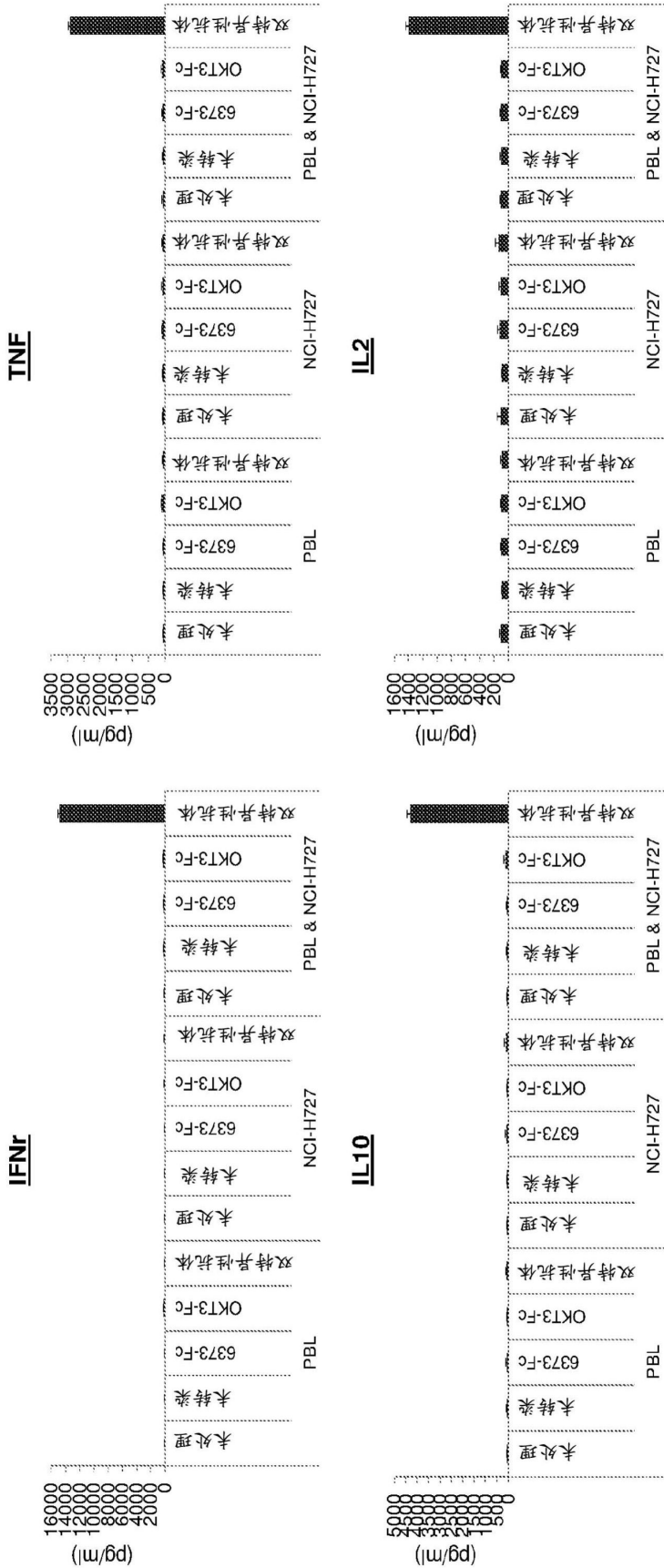


图17

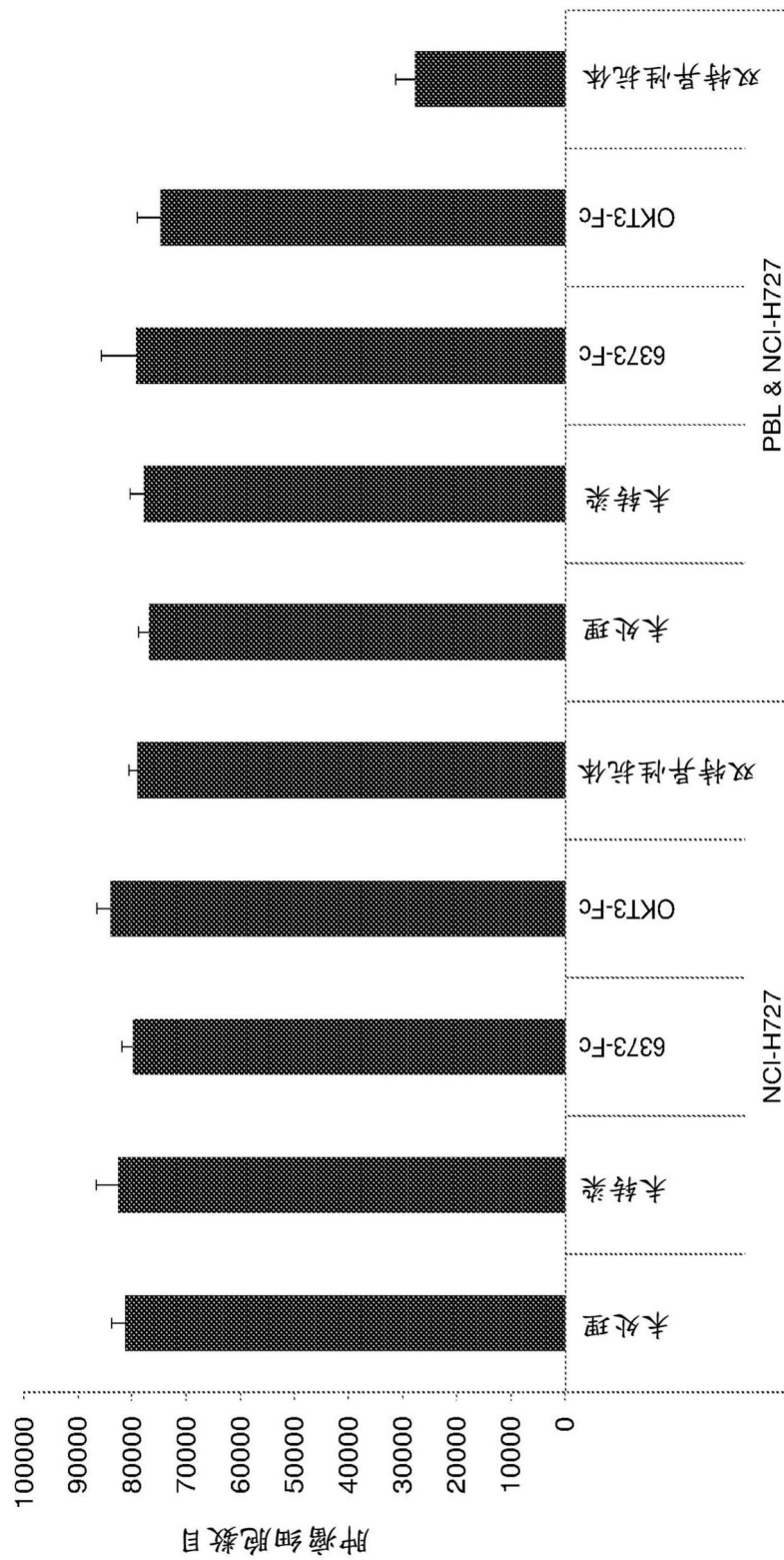


图18

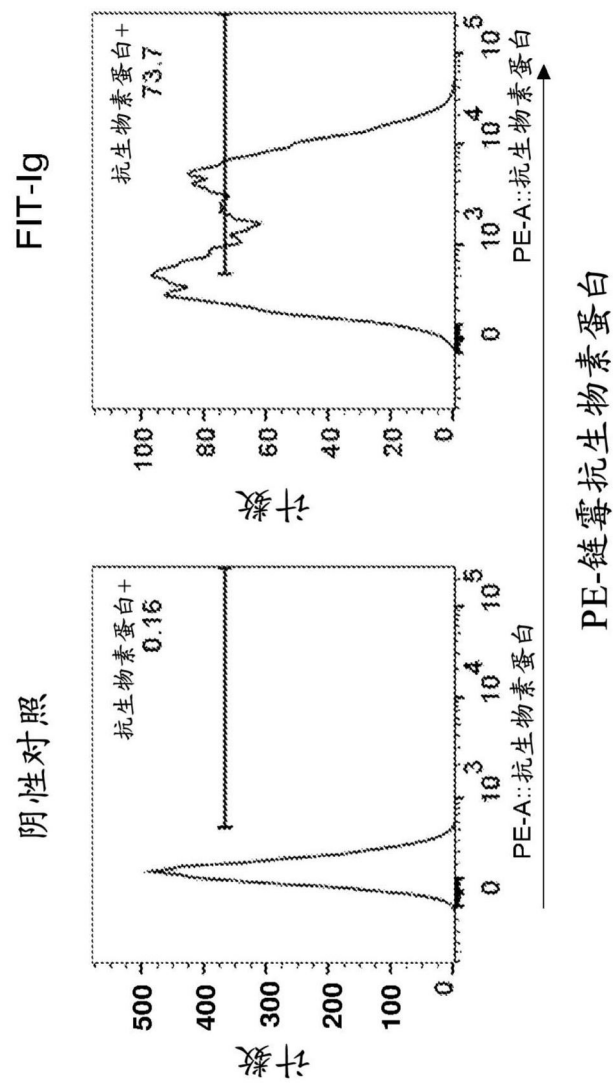


图19

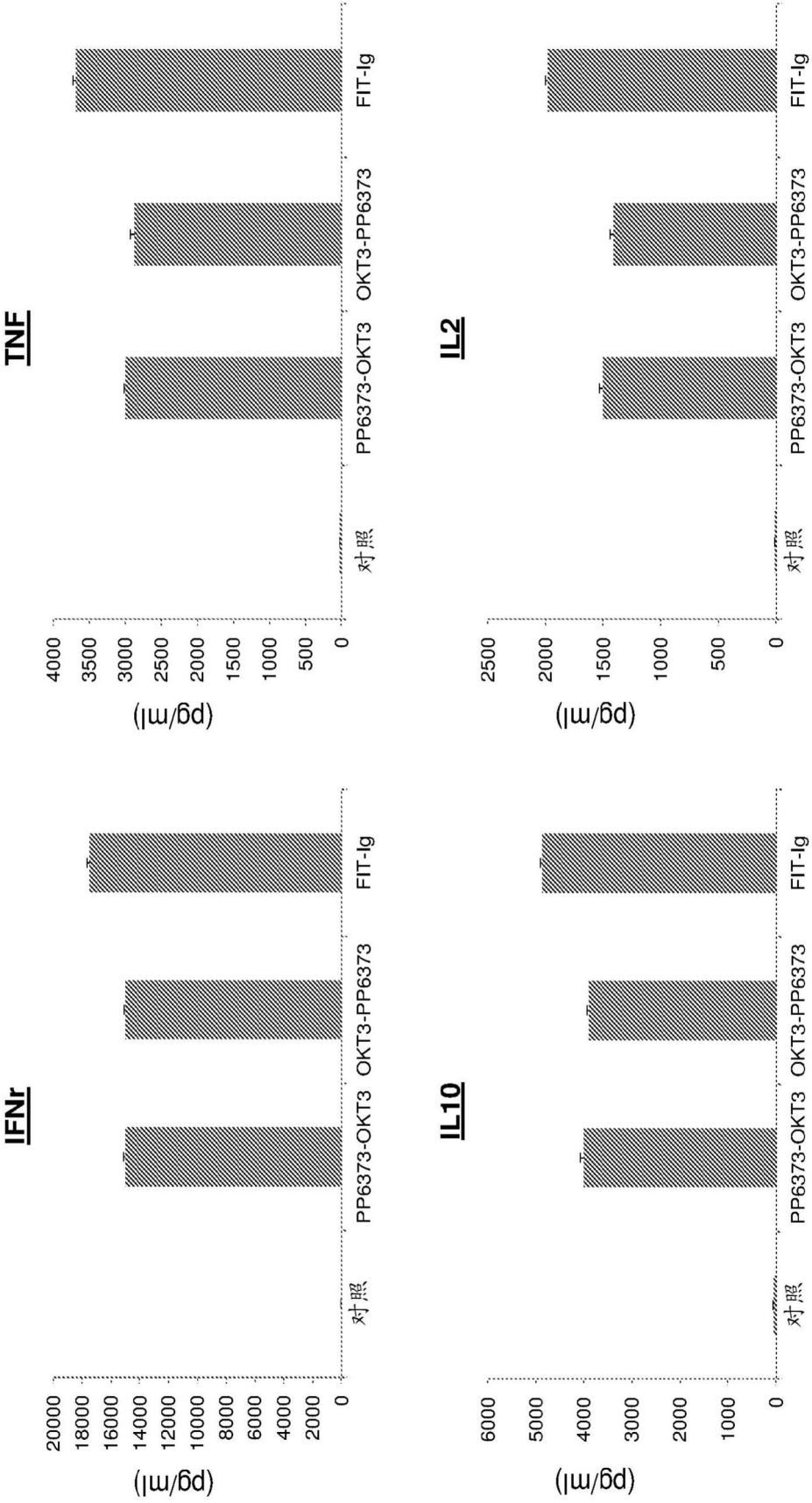


图20

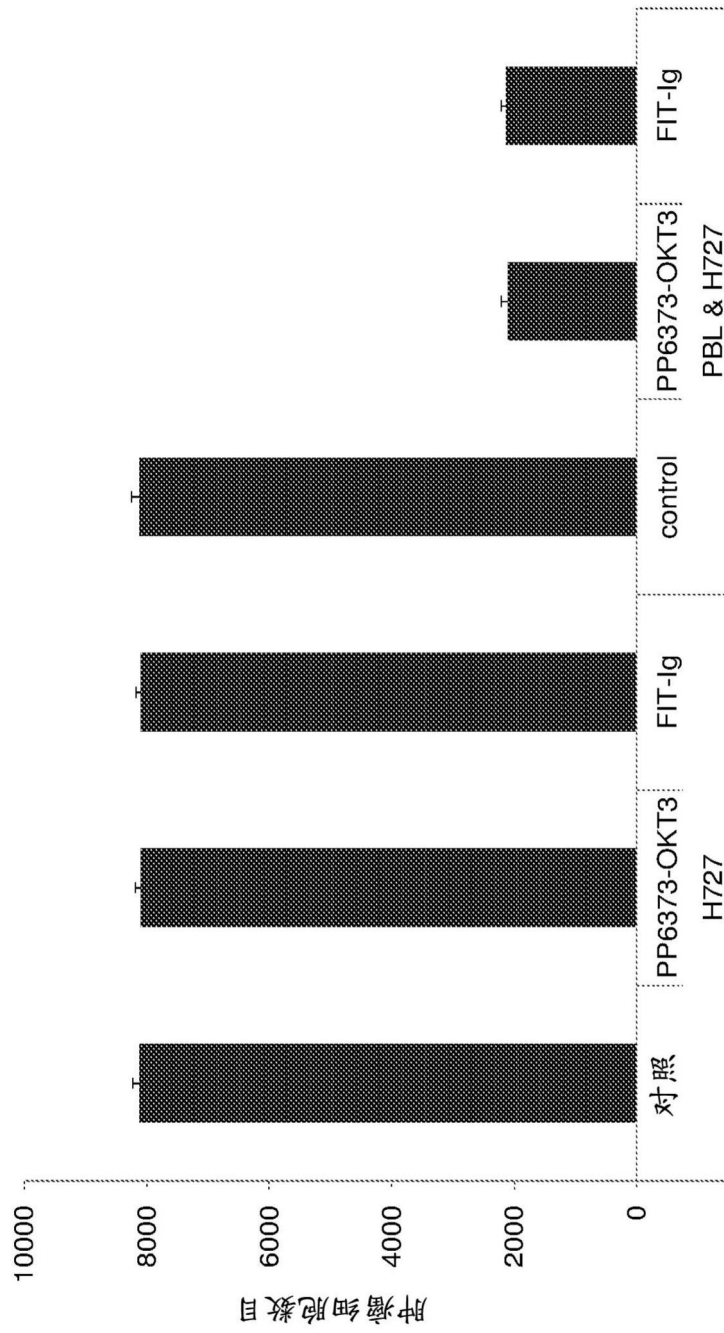


图21

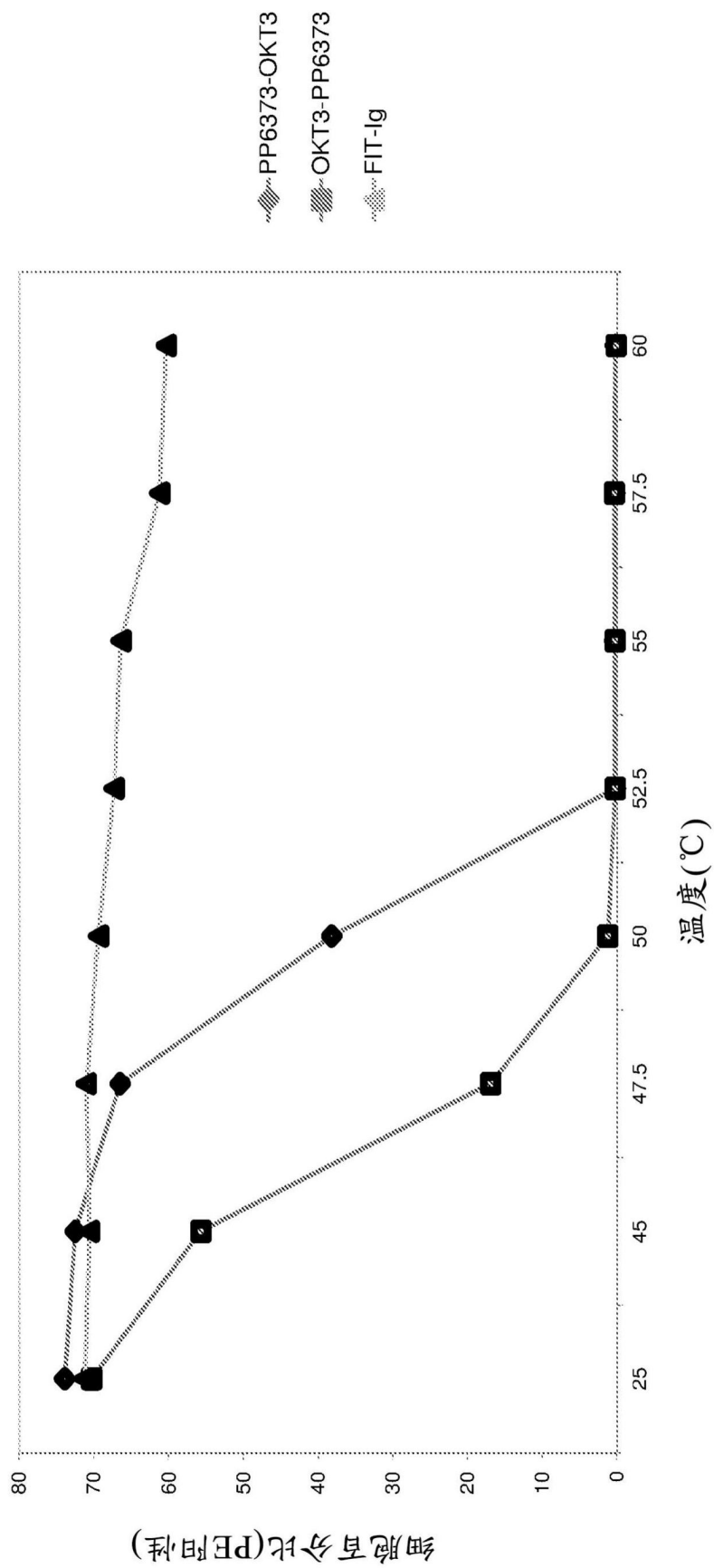


图22

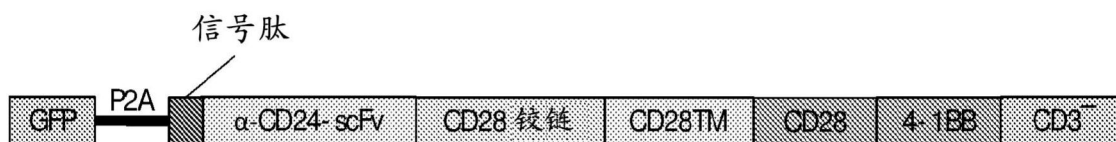


图23

体外杀伤A549细胞

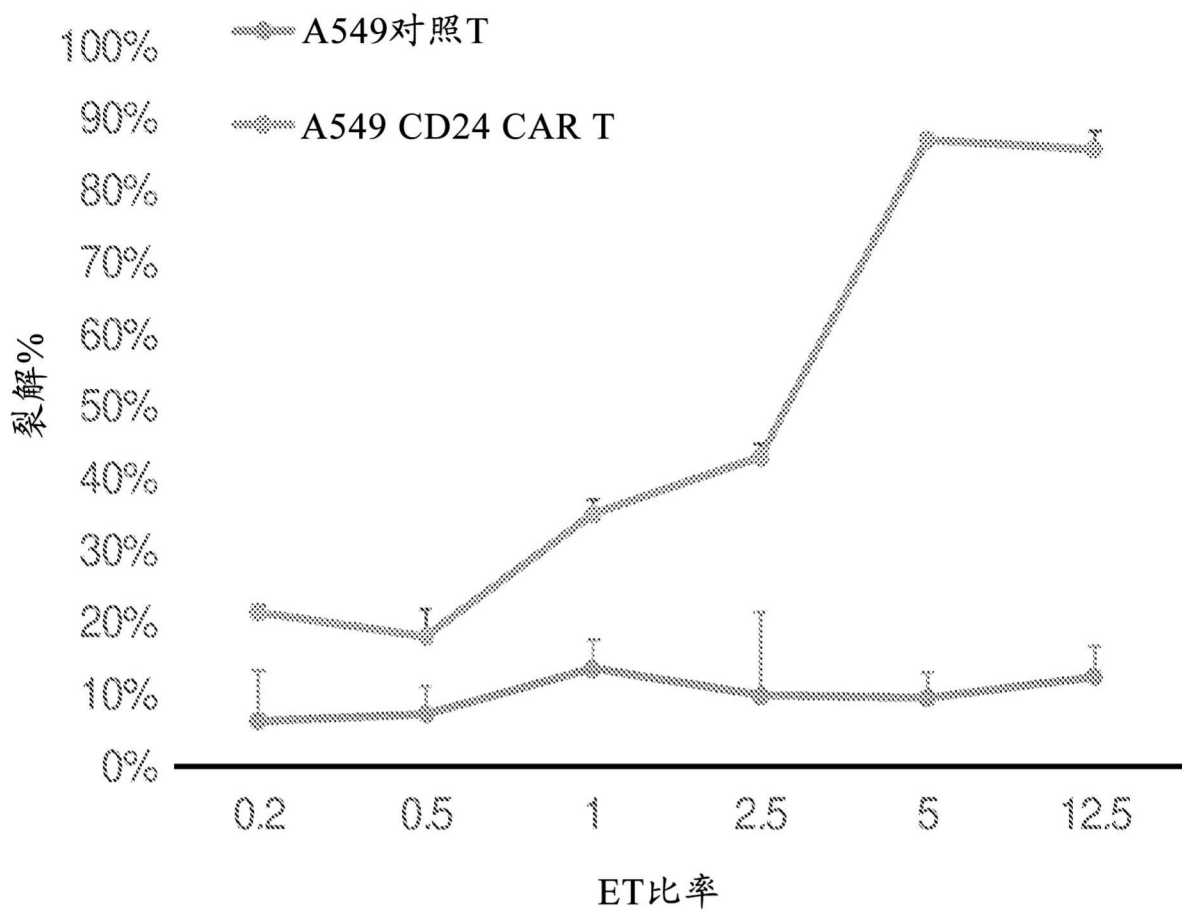


图24

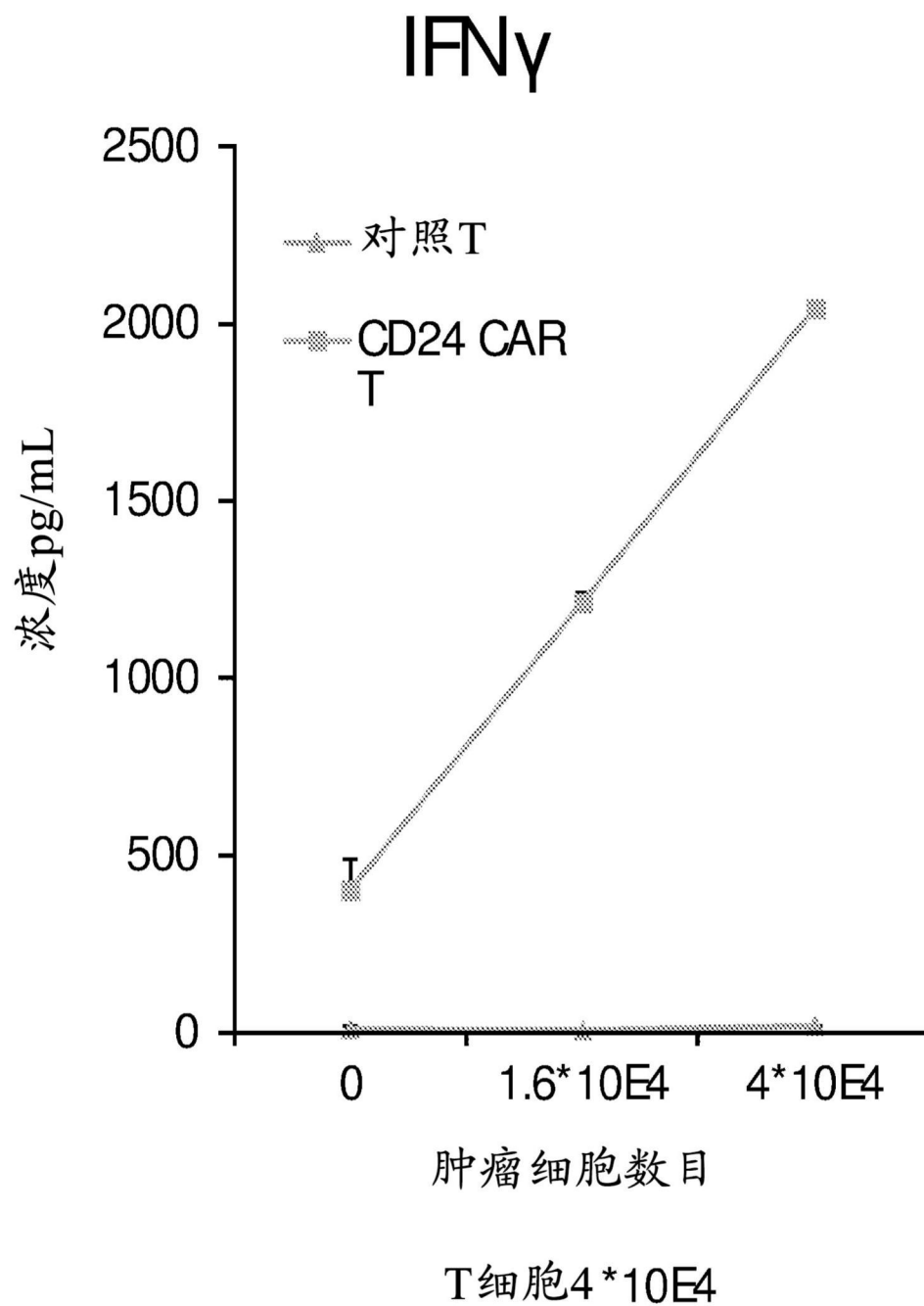


图25

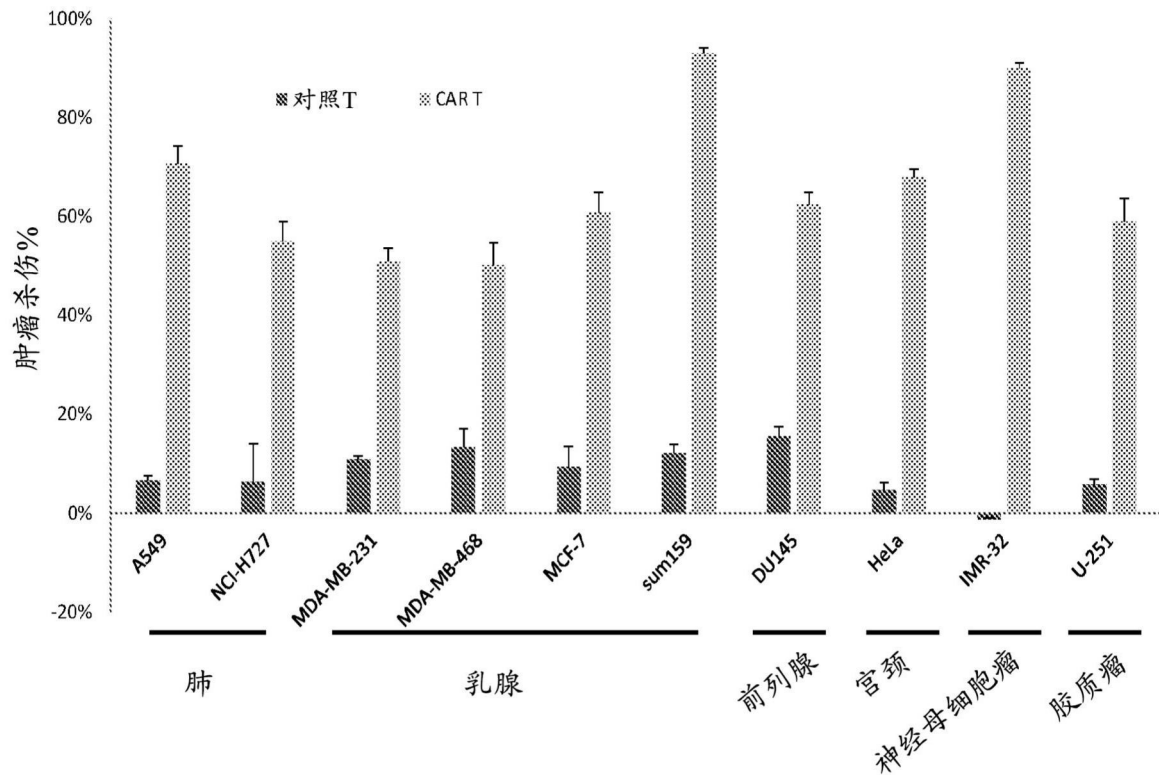


图26



图27

表征转染用于表达和结合

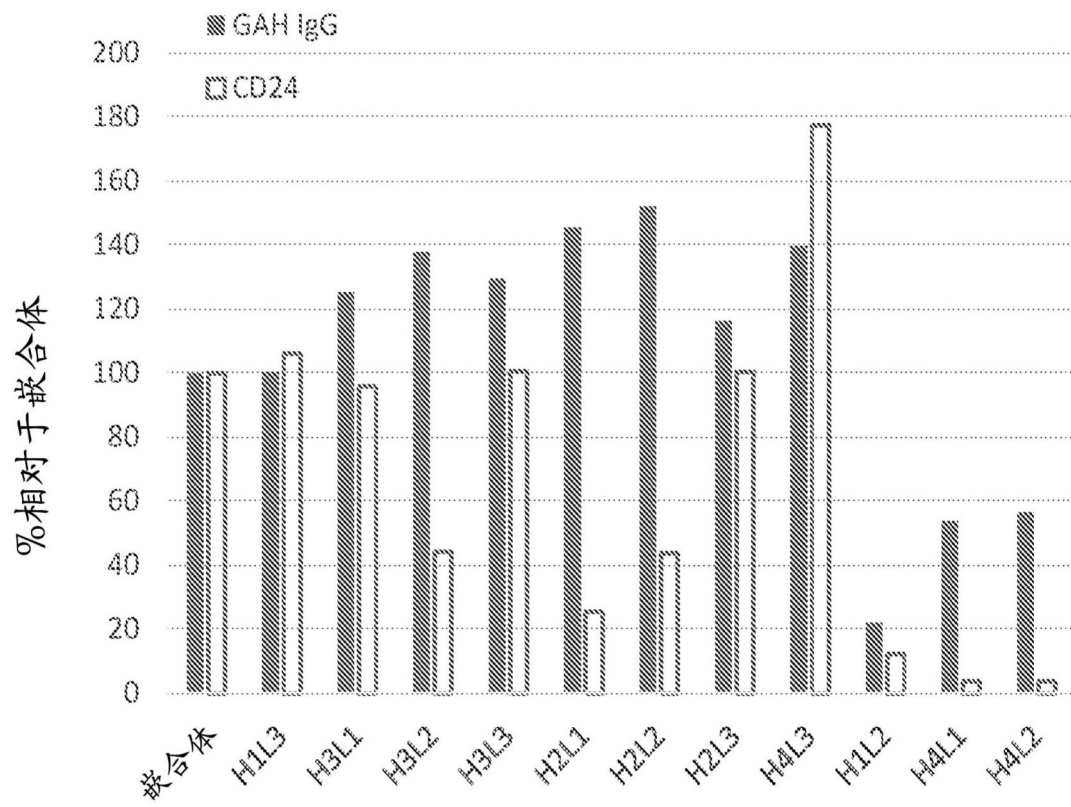


图28

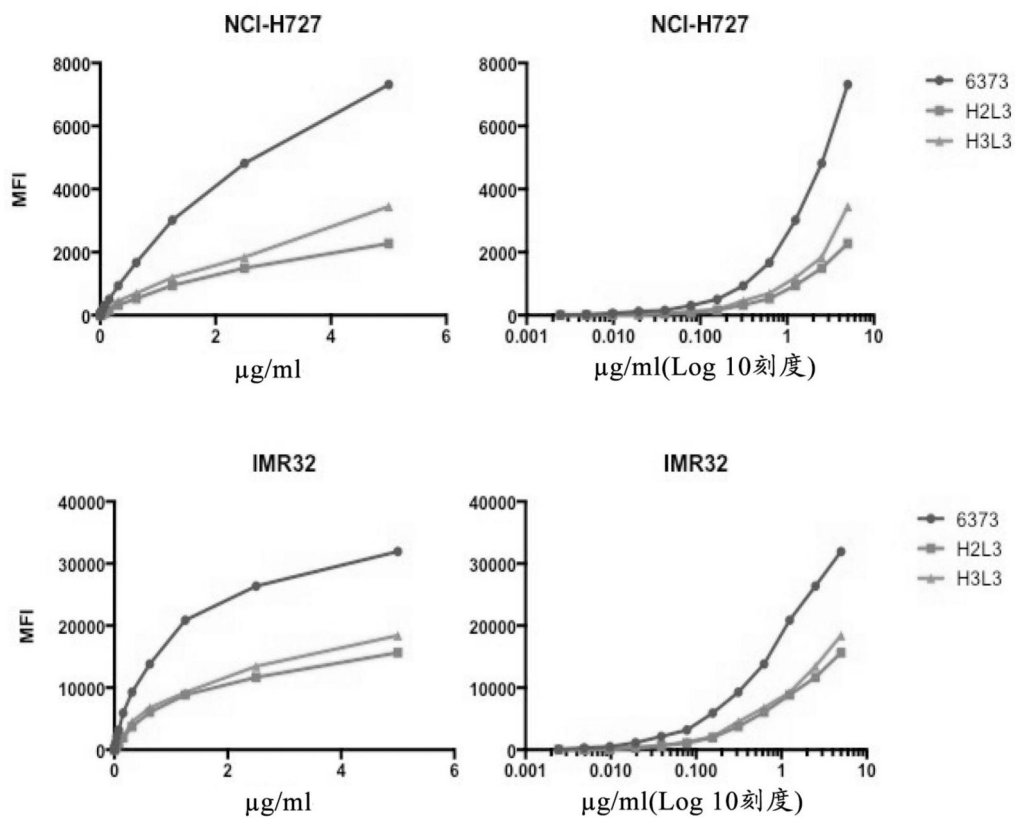


图29

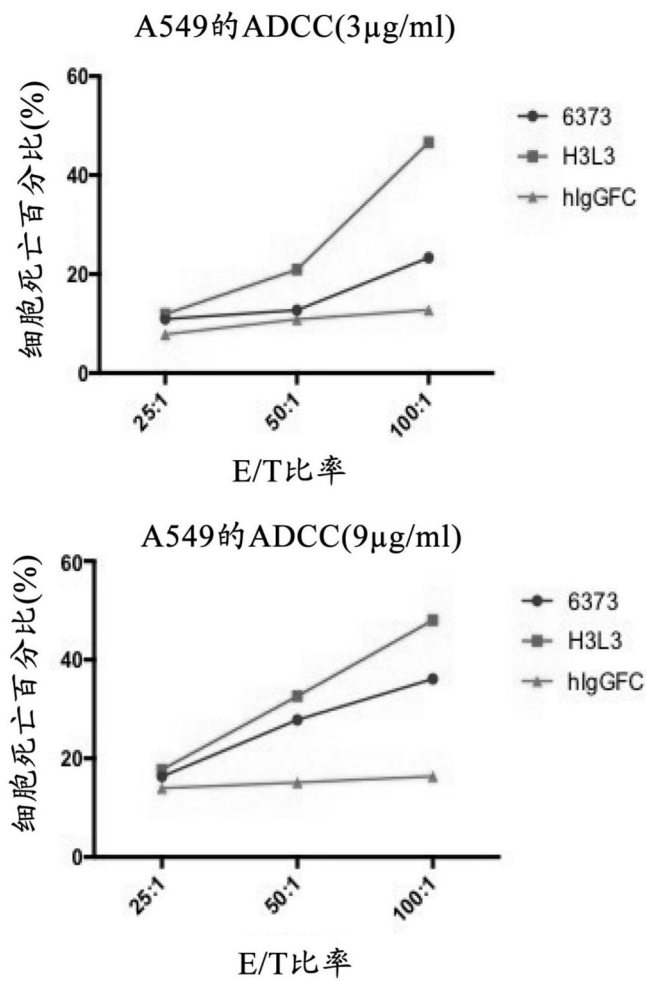


图30

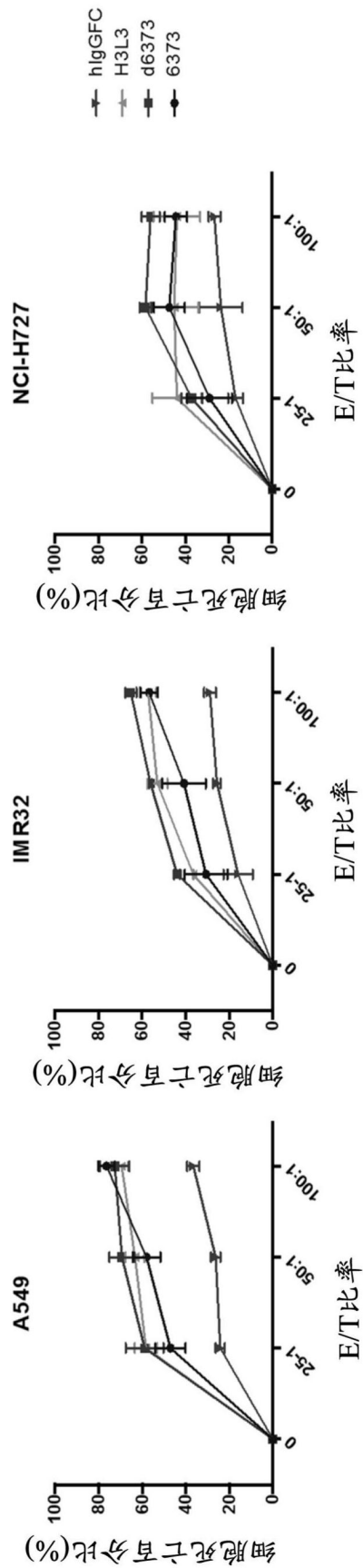


图31

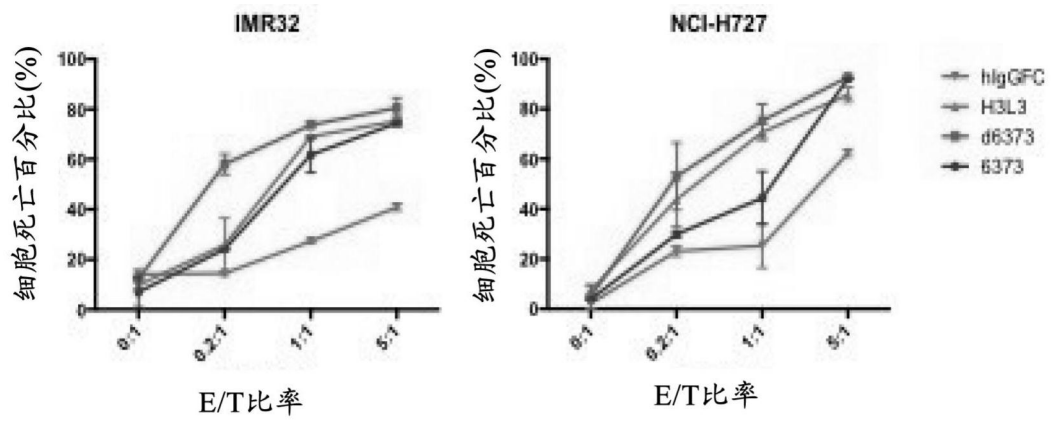


图32

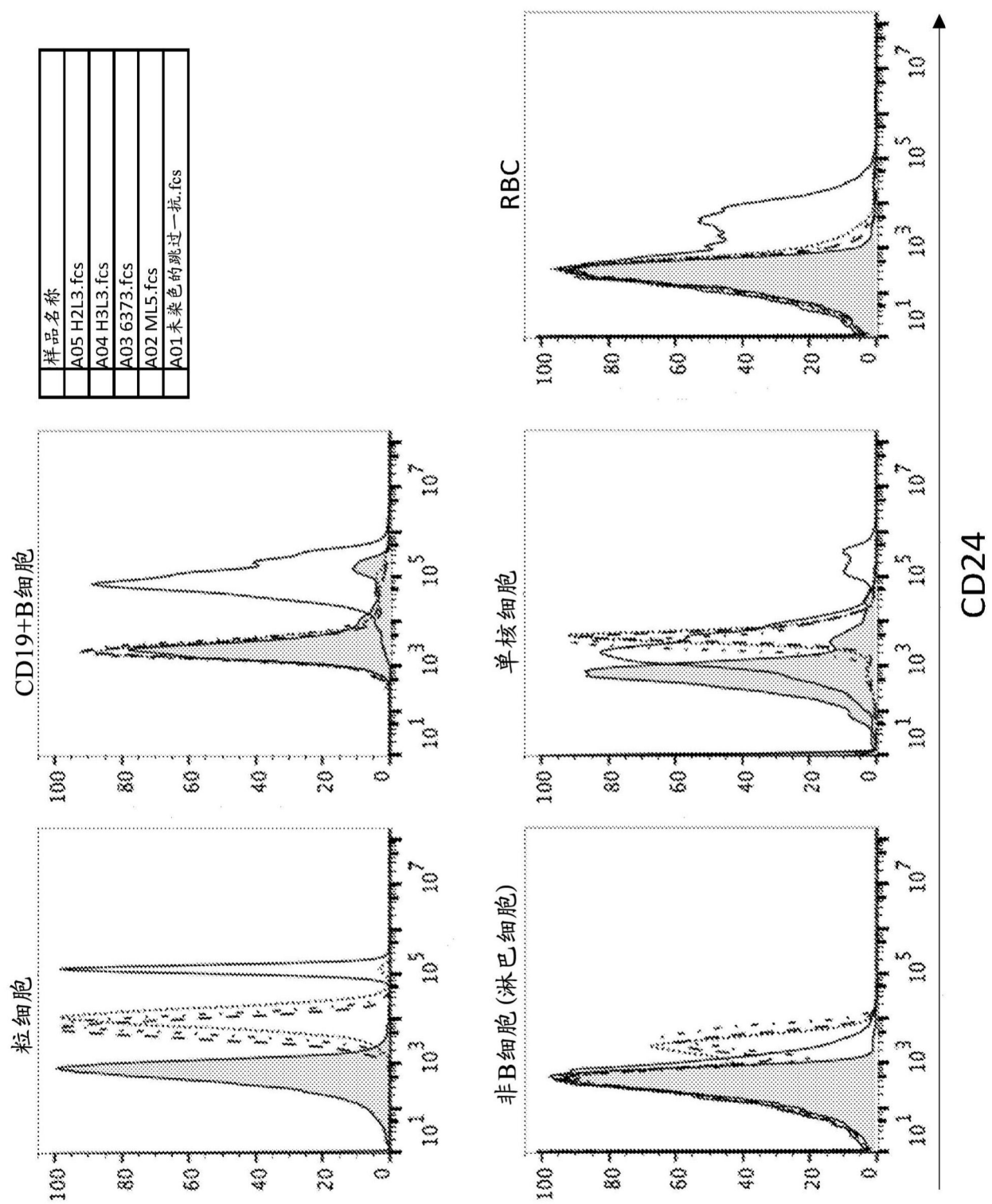


图33