(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119365490 A
(43)申请公布日 2025.01.24

(21)申请号 202380046738.9

(22)申请日 2023.04.13

(30)优先权数据
63/330,769 2022.04.13 US
63/379,100 2022.10.11 US
63/382,592 2022.11.07 US
63/478,881 2023.01.06 US
63/480,478 2023.01.18 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.12.12

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2023/065741 2023.04.13

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/201309 EN 2023.10.19

(71)申请人 XENCOR股份有限公司
地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 G·摩尔 J·R·德斯贾莱 M·海德瓦特 V·古士奇曾 J·迪亚兹

(74)专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限公司 11314
专利代理师 程伟

(51)Int.Cl.
C07K 16/28(2006.01)
C07K 16/30(2006.01)
C07K 16/46(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)

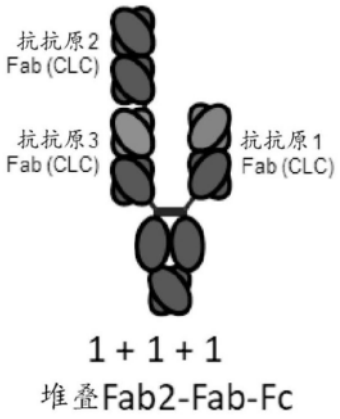
权利要求书15页 说明书146页
序列表（电子公布） 附图204页

(54)发明名称

结合PD-L1、PD-L2和/或CD28的抗体

(57)摘要

本文提供了新型aPD-L1、aPD-L2和aCD28抗体。在一些实施方案中,抗体是aPD-L1x aPD-L2x aCD28抗体。此类抗体通过提供针对肿瘤细胞的T细胞活化的共刺激信号同时还有利地阻断抑制性PD-L1:PD1和/或PD-L2:PD1途径相互作用来增强抗肿瘤活性。



CN 119365490 A

1.一种多特异性抗体,所述多特异性抗体包含:

a)PD-L1抗原结合结构域;

b)PD-L2抗原结合结构域;和

c)CD28抗原结合结构域。

2.一种多特异性抗体,所述多特异性抗体包含:

a)第一单体,所述第一单体从N末端至C末端包含VH1-CH1-铰链-CH2-CH3,其中VH1是第一可变重结构域,并且CH2-CH3是第一Fc结构域;

b)第二单体,所述第二单体从N末端至C末端包含VH2-CH1-接头-VH3-CH1-铰链-CH2-CH3,其中VH2是第二可变重结构域,VH3是第三可变重结构域,并且CH2-CH3是第二Fc结构域,

c)第一共同轻链、第二共同轻链和第三共同轻链,所述第一共同轻链、所述第二共同轻链和所述第三共同轻链各自从N末端至C末端包含VL-CL,其中VL是共同可变轻结构域,并且CL是恒定轻结构域;

其中所述第一可变重结构域与所述第一共同轻链的共同可变轻结构域形成第一抗原结合结构域,所述第二可变重结构域与所述第二共同轻链的共同可变轻结构域形成第二抗原结合结构域,并且所述第三可变重结构域与所述第三共同轻链的共同可变轻结构域形成第三抗原结合结构域,

其中所述第一抗原结合结构域、所述第二抗原结合结构域和所述第三抗原结合结构域中的一者是PD-L1抗原结合结构域,

其中所述第一抗原结合结构域、所述第二抗原结合结构域和所述第三抗原结合结构域中的一者是PD-L2抗原结合结构域,并且

其中所述第一抗原结合结构域、所述第二抗原结合结构域和所述第三抗原结合结构域中的一者是CD28结合结构域。

3.根据权利要求2所述的多特异性抗体,其中所述第一抗原结合结构域、所述第二抗原结合结构域和所述第三抗原结合结构域选自以下:

i)所述第一抗原结合结构域是所述PD-L1结合结构域,所述第二抗原结合结构域是所述PD-L2结合结构域,并且所述第三抗原结合结构域是所述CD28结合结构域,

ii)所述第一抗原结合结构域是所述PD-L1结合结构域,所述第二抗原结合结构域是所述CD28结合结构域,并且所述第三抗原结合结构域是所述PD-L2结合结构域,

iii)所述第一抗原结合结构域是所述PD-L2结合结构域,所述第二抗原结合结构域是所述PD-L1结合结构域,并且所述第三抗原结合结构域是所述CD28结合结构域,

iv)所述第一抗原结合结构域是所述PD-L2结合结构域,所述第二抗原结合结构域是所述CD28结合结构域,并且所述第三抗原结合结构域是所述PD-L1结合结构域,

v)所述第一抗原结合结构域是所述CD28结合结构域,所述第二抗原结合结构域是所述PD-L1结合结构域,并且所述第三抗原结合结构域是所述PD-L2结合结构域,

vi)所述第一抗原结合结构域是所述CD28结合结构域,所述第二抗原结合结构域是所述PD-L2结合结构域,并且所述第三抗原结合结构域是所述PD-L1结合结构域。

4.如权利要求2或3所述的多特异性抗体,其中所述CD28结合结构域包含具有选自SEQ ID NO:3354-3389的氨基酸的可变重结构域或其变体,和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序

列的可变轻结构域或其变体。

5.如权利要求2至4中任一项所述的多特异性抗体,其中所述PD-L1抗原结合结构域包含具有选自SEQ ID NO:3235和3243-3260的氨基酸的可变重结构域或其变体,和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域或其变体。

6.如权利要求2至5中任一项所述的多特异性抗体,其中所述PD-L2抗原结合结构域包含具有选自SEQ ID NO:3267和3275-3347的氨基酸的可变重结构域或其变体,和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域或其变体。

7.根据权利要求2至6中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域是变体Fc结构域。

8.根据权利要求7所述的多特异性抗体,其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域包含选自由以下组成的组的一组异二聚化偏斜变体:S364K/E357Q:L368D/K370S;S364K:L368D/K370S;S364K:L368E/K370S;D401K:T411E/K360E/Q362E;和T366W:T366S/L368A/Y407V,其中编号是根据EU编号。

9.根据权利要求8所述的多特异性抗体,其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q:L368D/K370S。

10.根据权利要求7至9中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域各自包含一个或多个消融变体。

11.根据权利要求10所述的多特异性抗体,其中所述一个或多个消融变体是E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,其中编号是根据EU编号。

12.根据权利要求7至11中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一单体或所述第二单体中的一者包含一个或多个pI变体。

13.根据权利要求12所述的多特异性抗体,其中所述第一单体的CH1-铰链-CH2-CH3包含pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D,其中编号是根据EU编号。

14.根据权利要求13所述的多特异性抗体,其中所述第一Fc结构域包含氨基酸变体L368D/K370S/N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,

其中所述第二单体的CH1-铰链-CH2-CH3包含氨基酸变体S364K/E357Q/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,并且其中编号是根据EU编号。

15.根据权利要求14所述的多特异性抗体,其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域各自还包含氨基酸变体428/434S。

16.根据权利要求2所述的多特异性抗体,其中:

a)所述PD-L1结合结构域包含具有SEQ ID NO:3251的氨基酸序列的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域;

b)所述PD-L2结合结构域包含具有SEQ ID NO:3319的氨基酸序列的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域;并且

c)所述CD28结合结构域包含具有SEQ ID NO:3380的氨基酸序列的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域。

17.根据权利要求2所述的多特异性抗体,其中:

a)所述第一单体具有SEQ ID NO:3201的氨基酸序列;

b)所述第二单体具有SEQ ID NO:3202的氨基酸序列;并且

c)所述第一共同轻链、所述第二共同轻链和所述第三共同轻链各自具有SEQ ID NO:3203的氨基酸序列。

18.一种核酸组合物,所述核酸组合物包含:

a)编码权利要求2至17中任一项所述的第一单体的第一多核苷酸;

b)编码权利要求2至17中任一项所述的第二单体的第二多核苷酸;和

c)编码权利要求1至17中任一项所述的第一共同轻链、第二共同轻链和第三共同轻链的第三多核苷酸。

19.一种表达载体组合物,所述表达载体组合物包含:

a)包含权利要求17所述的第一多核苷酸的第一表达载体,

b)包含权利要求17所述的第二多核苷酸的第二表达载体,和

c)包含权利要求17所述的第三多核苷酸的第三表达载体。

20.一种宿主细胞,所述宿主细胞包含权利要求18所述的核酸组合物或权利要求19所述的表达载体组合物。

21.一种药物组合物,所述药物组合物包含权利要求1至17中任一项所述的抗体和药学上可接受的载剂。

22.一种治疗癌症的方法,所述方法包括向有需要的患者施用根据权利要求1至17中任一项所述的抗体或权利要求21所述的药物组合物。

23.根据权利要求22所述的方法,所述方法还包括向所述患者施用抗CD3 x肿瘤靶抗原(TTA)双特异性抗体。

24.一种多特异性抗体,所述多特异性抗体包含:

a)第一单体,所述第一单体从N末端至C末端包含scFv-接头-CH2-CH3,其中CH2-CH3是第一Fc结构域;

b)第二单体,所述第二单体从N末端至C末端包含VH1-CH1-接头-VH2-CH1-铰链-CH2-CH3,其中VH1是第一可变重结构域,VH2是第二可变重结构域,并且CH2-CH3是第二Fc结构域,

c)第一共同轻链和第二共同轻链,所述第一共同轻链和所述第二共同轻链各自从N末端至C末端包含VL1-CL,其中VL1是第一可变轻结构域,并且CL是恒定轻结构域;

其中所述scFv包含第三VH结构域(VH3)、scFv接头和第二可变轻结构域(VL2)

其中所述第一可变重结构域与所述第一共同轻链的第一可变轻结构域形成第一抗原结合结构域,所述第二可变重结构域与所述第二共同轻链的第一可变轻结构域形成第二抗原结合结构域,并且所述第三可变重结构域与第二可变轻结构域形成第三抗原结合结构域,

其中所述第一抗原结合结构域、所述第二抗原结合结构域和所述第三抗原结合结构域中的一者是PD-L1抗原结合结构域,

其中所述第一抗原结合结构域、所述第二抗原结合结构域和所述第三抗原结合结构域中的一者是PD-L2抗原结合结构域,并且

其中所述第一抗原结合结构域、所述第二抗原结合结构域和所述第三抗原结合结构域中的一者是CD28结合结构域。

25.根据权利要求24所述的多特异性抗体,其中所述第一抗原结合结构域、所述第二抗

原结合结构域和所述第三抗原结合结构域选自以下：

i)所述第一抗原结合结构域是所述PD-L1结合结构域,所述第二抗原结合结构域是所述PD-L2结合结构域,并且所述第三抗原结合结构域是所述CD28结合结构域,

ii)所述第一抗原结合结构域是所述PD-L1结合结构域,所述第二抗原结合结构域是所述CD28结合结构域,并且所述第三抗原结合结构域是所述PD-L2结合结构域,

iii)所述第一抗原结合结构域是所述PD-L2结合结构域,所述第二抗原结合结构域是所述PD-L1结合结构域,并且所述第三抗原结合结构域是所述CD28结合结构域,

iv)所述第一抗原结合结构域是所述PD-L2结合结构域,所述第二抗原结合结构域是所述CD28结合结构域,并且所述第三抗原结合结构域是所述PD-L1结合结构域,

v)所述第一抗原结合结构域是所述CD28结合结构域,所述第二抗原结合结构域是所述PD-L1结合结构域,并且所述第三抗原结合结构域是所述PD-L2结合结构域,

vi)所述第一抗原结合结构域是所述CD28结合结构域,所述第二抗原结合结构域是所述PD-L2结合结构域,并且所述第三抗原结合结构域是所述PD-L1结合结构域。

26.如权利要求24或25所述的多特异性抗体,其中所述CD28结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域：

i)选自图35、图36、图38中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图35、图37和图38中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,

ii)图38中的CD28结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,

iii)选自图41至图74中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图41至图74中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,

iv)图41至图74中的CD28结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,

v)选自图41至图74中的可变轻结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),

vi)图81中的CD28结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,以及

vii)选自图163中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图35和图37中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,或具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域。

27.如权利要求24-26中任一项所述的多特异性抗体,其中所述PD-L1抗原结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域：

i)选自图17和图19中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图17和图20中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,

ii)图17和图21中的PD-L1结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,

iii)选自图25和图26中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图25和图26中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,

iv)图25和图26中的PD-L1结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,

v)选自图25和图26中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),

vi)图28中的PD-L1结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域;以及

vii)选自图161中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:3239

的氨基酸序列的可变轻结构域。

28.如权利要求24-27中任一项所述的多特异性抗体,其中所述PD-L2抗原结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

i)选自图29至图32中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图29至图32中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,

ii)图29至图32中的PD-L2结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,

iii)选自图29至图32中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),

iv)图34中的PD-L2结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,以及

v)选自图162中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域。

29.根据权利要求24-28中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域是变体Fc结构域。

30.根据权利要求29所述的多特异性抗体,其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域包含选自由以下组成的组的一组异二聚化偏斜变体:S364K/E357Q:L368D/K370S;S364K:L368D/K370S;S364K:L368E/K370S;D401K:T411E/K360E/Q362E;和T366W:T366S/L368A/Y407V,其中编号是根据EU编号。

31.根据权利要求30所述的多特异性抗体,其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q:L368D/K370S。

32.根据权利要求29至31中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域各自包含一个或多个消融变体。

33.根据权利要求32所述的多特异性抗体,其中所述一个或多个消融变体是E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,其中编号是根据EU编号。

34.根据权利要求29至33中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一单体或所述第二单体中的一者包含一个或多个pI变体。

35.根据权利要求34所述的多特异性抗体,其中所述第二单体的CH1-铰链-CH2-CH3包含pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D,其中编号是根据EU编号。

36.根据权利要求29所述的多特异性抗体,其中所述第一Fc结构域包含氨基酸变体S364K/E357Q/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,

其中所述第二单体的CH1-铰链-CH2-CH3包含氨基酸变体L368D/K370S/N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,并且其中编号是根据EU编号。

37.根据权利要求36所述的多特异性抗体,其中所述scFv接头是具有氨基酸序列$(GKPGS)_4$的带电荷的scFv接头。

38.根据权利要求36所述的多特异性抗体,其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域各自还包含氨基酸变体428/434S。

39.一种核酸组合物,所述核酸组合物包含:

a)编码权利要求24至38中任一项所述的第一单体的第一多核苷酸;

b)编码24至38中任一项所述的第二单体的第二多核苷酸;和

c)编码权利要求24至38中任一项所述的第一共同轻链和第二共同轻链的第三多核苷

酸。

40.一种表达载体组合物,所述表达载体组合物包含:

a)包含权利要求39所述的第一多核苷酸的第一表达载体,

b)包含权利要求39所述的第二多核苷酸的第二表达载体,和

c)包含权利要求39所述的第三多核苷酸的第三表达载体。

41.一种宿主细胞,所述宿主细胞包含权利要求39所述的核酸组合物或权利要求40所述的表达载体组合物。

42.一种药物组合物,所述药物组合物包含权利要求24至38中任一项所述的抗体和药学上可接受的载剂。

43.一种治疗癌症的方法,所述方法包括向有需要的患者施用根据权利要求24至38中任一项所述的抗体或权利要求G20所述的药物组合物。

44.根据权利要求43所述的方法,所述方法还包括向所述患者施用抗CD3 x肿瘤靶抗原(TTA)双特异性抗体。

45.一种多特异性抗体,所述多特异性抗体包含:

a)第一单体,所述第一单体从N末端至C末端包含VH1-CH1-接头-scFv-接头-CH2-CH3,其中VH1是第一可变重结构域,并且CH2-CH3是第一Fc结构域;

b)第二单体,所述第二单体从N末端至C末端包含VH2-CH1-铰链-CH2-CH3,其中VH2是第二可变重结构域,并且CH2-CH3是第二Fc结构域,

c)第一共同轻链和第二共同轻链,所述第一共同轻链和所述第二共同轻链各自从N末端至C末端包含VL1-CL,其中VL1是第一可变轻结构域,并且CL是恒定轻结构域;

其中所述scFv包含第三VH结构域(VH3)、scFv接头和第二可变轻结构域(VL2)

其中所述第一可变重结构域与所述第一共同轻链的第一可变轻结构域形成第一抗原结合结构域,所述第二可变重结构域与所述第二共同轻链的第一可变轻结构域形成第二抗原结合结构域,并且所述第三可变重结构域与第二可变轻结构域形成第三抗原结合结构域,

其中所述第一抗原结合结构域、所述第二抗原结合结构域和所述第三抗原结合结构域中的一者是PD-L1抗原结合结构域,

其中所述第一抗原结合结构域、所述第二抗原结合结构域和所述第三抗原结合结构域中的一者是PD-L2抗原结合结构域,并且

其中所述第一抗原结合结构域、所述第二抗原结合结构域和所述第三抗原结合结构域中的一者是CD28结合结构域。

46.根据权利要求45所述的多特异性抗体,其中所述第一抗原结合结构域、所述第二抗原结合结构域和所述第三抗原结合结构域选自以下:

i)所述第一抗原结合结构域是所述PD-L1结合结构域,所述第二抗原结合结构域是所述PD-L2结合结构域,并且所述第三抗原结合结构域是所述CD28结合结构域,

ii)所述第一抗原结合结构域是所述PD-L1结合结构域,所述第二抗原结合结构域是所述CD28结合结构域,并且所述第三抗原结合结构域是所述PD-L2结合结构域,

iii)所述第一抗原结合结构域是所述PD-L2结合结构域,所述第二抗原结合结构域是所述PD-L1结合结构域,并且所述第三抗原结合结构域是所述CD28结合结构域,

iv)所述第一抗原结合结构域是所述PD-L2结合结构域,所述第二抗原结合结构域是所述CD28结合结构域,并且所述第三抗原结合结构域是所述PD-L1结合结构域,

v)所述第一抗原结合结构域是所述CD28结合结构域,所述第二抗原结合结构域是所述PD-L1结合结构域,并且所述第三抗原结合结构域是所述PD-L2结合结构域,

vi)所述第一抗原结合结构域是所述CD28结合结构域,所述第二抗原结合结构域是所述PD-L2结合结构域,并且所述第三抗原结合结构域是所述PD-L1结合结构域。

47.如权利要求45或46所述的多特异性抗体,其中所述CD28结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

i)选自图35、图36、图38中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图35、图37和图38中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,

ii)图38中的CD28结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,

iii)选自图41至图74中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图41至图74中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,

iv)图41至图74中的CD28结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,

v)选自图41至图74中的可变轻结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),

vi)图81中的CD28结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,以及

vii)选自图163中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图35和图37中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,或具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域。

48.如权利要求45至47中任一项所述的多特异性抗体,其中所述PD-L1抗原结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

i)选自图17和图19中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图17和图20中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,

ii)图17和图21中的PD-L1结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,

iii)选自图25和图26中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图25和图26中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,

iv)图25和图26中的PD-L1结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,

v)选自图25和图26中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),

vi)图28中的PD-L1结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域;以及

vii)选自图161中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域。

49.如权利要求45至48中任一项所述的多特异性抗体,其中所述PD-L2抗原结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

i)选自图29至图32中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图29至图32中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,

ii)图29至图32中的PD-L2结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,

iii)选自图29至图32中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:

20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),

iv)图34中的PD-L2结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,以及

v)选自图162中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域。

50.根据权利要求45至49中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域是变体Fc结构域。

51.根据权利要求50所述的多特异性抗体,其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域包含选自由以下组成的组的一组异二聚化偏斜变体:S364K/E357Q:L368D/K370S;S364K:L368D/K370S;S364K:L368E/K370S;D401K:T411E/K360E/Q362E;和T366W:T366S/L368A/Y407V,其中编号是根据EU编号。

52.根据权利要求51所述的多特异性抗体,其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q:L368D/K370S。

53.根据权利要求50至52中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域各自包含一个或多个消融变体。

54.根据权利要求53所述的多特异性抗体,其中所述一个或多个消融变体是E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,其中编号是根据EU编号。

55.根据权利要求50至54中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一单体或所述第二单体中的一者包含一个或多个pI变体。

56.根据权利要求55所述的多特异性抗体,其中所述第二单体的CH1-铰链-CH2-CH3包含pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D,其中编号是根据EU编号。

57.根据权利要求56所述的多特异性抗体,其中所述第一Fc结构域包含氨基酸变体S364K/E357Q/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,

其中所述第二单体的CH1-铰链-CH2-CH3包含氨基酸变体L368D/K370S/N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,并且其中编号是根据EU编号。

58.根据权利要求57所述的多特异性抗体,其中所述scFv接头是具有氨基酸序列$(GKPGS)_4$的带电荷的scFv接头。

59.根据权利要求57所述的多特异性抗体,其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域各自还包含氨基酸变体428/434S。

60.一种核酸组合物,所述核酸组合物包含:

a)编码权利要求45至59中任一项所述的第一单体的第一多核苷酸;

b)编码权利要求45至59中任一项所述的第二单体的第二多核苷酸;和

c)分别编码权利要求45至59中任一项所述的第一共同轻链和第二共同轻链的第三多核苷酸。

61.一种表达载体组合物,所述表达载体组合物包含:

a)包含权利要求60所述的第一多核苷酸的第一表达载体,

b)包含权利要求60所述的第二多核苷酸的第二表达载体,和

c)包含权利要求60所述的第三多核苷酸的第三表达载体。

62.一种宿主细胞,所述宿主细胞包含权利要求60所述的核酸组合物或权利要求61所述的表达载体组合物。

63.一种药物组合物,所述药物组合物包含权利要求45至59中任一项所述的抗体和药学上可接受的载剂。

64.一种治疗癌症的方法,所述方法包括向有需要的患者施用根据权利要求45至59中任一项所述的抗体或权利要求H20所述的药物组合物。

65.根据权利要求64所述的方法,所述方法还包括向所述患者施用抗CD3 x肿瘤靶抗原(TTA)双特异性抗体。

66.一种多特异性抗体,所述多特异性抗体包含:

a)第一单体,所述第一单体从N末端至C末端包含VH1-CH1-铰链-CH2-CH3-结构域接头-scFv,

其中VH1是第一可变重结构域,并且CH2-CH3是第一Fc结构域;

b)第二单体,所述第二单体从N末端至C末端包含VH2-CH1-铰链-CH2-CH3,其中VH2是第二可变重结构域,并且CH2-CH3是第二Fc结构域;以及

c)第一共同轻链和第二共同轻链,所述第一共同轻链和所述第二共同轻链各自从N末端至C末端包含VL1-CL,其中VL1是第一可变轻结构域,并且CL是恒定轻结构域;

其中所述scFv包含第三VH结构域(VH3)、scFv接头和第二可变轻结构域(VL2)

其中所述第一可变重结构域与所述第一共同轻链的第一可变轻结构域形成第一抗原结合结构域,所述第二可变重结构域与所述第二共同轻链的第一可变轻结构域形成第二抗原结合结构域,并且所述第三可变重结构域与第二可变轻结构域形成第三抗原结合结构域,

其中所述第一抗原结合结构域、所述第二抗原结合结构域和所述第三抗原结合结构域中的一者是PD-L1抗原结合结构域,

其中所述第一抗原结合结构域、所述第二抗原结合结构域和所述第三抗原结合结构域中的一者是PD-L2抗原结合结构域,并且

其中所述第一抗原结合结构域、所述第二抗原结合结构域和所述第三抗原结合结构域中的一者是CD28结合结构域。

67.根据权利要求66所述的多特异性抗体,其中所述第一抗原结合结构域、所述第二抗原结合结构域和所述第三抗原结合结构域选自以下:

i)所述第一抗原结合结构域是所述PD-L1结合结构域,所述第二抗原结合结构域是所述PD-L2结合结构域,并且所述第三抗原结合结构域是所述CD28结合结构域,

ii)所述第一抗原结合结构域是所述PD-L1结合结构域,所述第二抗原结合结构域是所述CD28结合结构域,并且所述第三抗原结合结构域是所述PD-L2结合结构域,

iii)所述第一抗原结合结构域是所述PD-L2结合结构域,所述第二抗原结合结构域是所述PD-L1结合结构域,并且所述第三抗原结合结构域是所述CD28结合结构域,

iv)所述第一抗原结合结构域是所述PD-L2结合结构域,所述第二抗原结合结构域是所述CD28结合结构域,并且所述第三抗原结合结构域是所述PD-L1结合结构域,

v)所述第一抗原结合结构域是所述CD28结合结构域,所述第二抗原结合结构域是所述PD-L1结合结构域,并且所述第三抗原结合结构域是所述PD-L2结合结构域,

vi)所述第一抗原结合结构域是所述CD28结合结构域,所述第二抗原结合结构域是所述PD-L2结合结构域,并且所述第三抗原结合结构域是所述PD-L1结合结构域。

68.如权利要求66或67所述的多特异性抗体,其中所述CD28结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

i)选自图35、图36、图38中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图35、图37和图38中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,

ii)图38中的CD28结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,

iii)选自图41至图74中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图41至图74中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,

iv)图41至图74中的CD28结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,

v)选自图41至图74中的可变轻结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),

vi)图81中的CD28结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,以及

vii)选自图163中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图35和图37中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,或具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域。

69.如权利要求66至68中任一项所述的多特异性抗体,其中所述PD-L1抗原结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

i)选自图17和图19中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图17和图20中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,

ii)图17和图21中的PD-L1结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,

iii)选自图25和图26中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图25和图26中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,

iv)图25和图26中的PD-L1结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,

v)选自图25和图26中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),

vi)图28中的PD-L1结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域;以及

vii)选自图161中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域。

70.如权利要求66至69中任一项所述的多特异性抗体,其中所述PD-L2抗原结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

i)选自图29至图32中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图29至图32中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,

ii)图29至图32中的PD-L2结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,

iii)选自图29至图32中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),

iv)图34中的PD-L2结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,以及

v)选自图162中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域。

71.根据权利要求66至70中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域是变体Fc结构域。

72.根据权利要求71所述的多特异性抗体,其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域包含选自由以下组成的组的一组异二聚化偏斜变体:S364K/E357Q:L368D/K370S;S364K:L368D/K370S;S364K:L368E/K370S;D401K:T411E/K360E/Q362E;和T366W:T366S/L368A/Y407V,其中编号是根据EU编号。

73.根据权利要求73所述的多特异性抗体,其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q:L368D/K370S。

74.根据权利要求71至73中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域各自包含一个或多个消融变体。

75.根据权利要求74所述的多特异性抗体,其中所述一个或多个消融变体是E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,其中编号是根据EU编号。

76.根据权利要求71至75中任一项所述的多特异性抗体,其中所述第一单体或所述第二单体中的一者包含一个或多个pI变体。

77.根据权利要求76所述的多特异性抗体,其中所述第二单体的CH1-铰链-CH2-CH3包含pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D,其中编号是根据EU编号。

78.根据权利要求77所述的多特异性抗体,其中所述第一Fc结构域包含氨基酸变体S364K/E357Q/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,

其中所述第二单体的CH1-铰链-CH2-CH3包含氨基酸变体L368D/K370S/N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,并且其中编号是根据EU编号。

79.根据权利要求78所述的多特异性抗体,其中所述scFv接头是具有氨基酸序列(GKPGS)4的带电荷的scFv接头。

80.根据权利要求78所述的多特异性抗体,其中所述第一Fc结构域和所述第二Fc结构域各自还包含氨基酸变体428/434S。

81.一种核酸组合物,所述核酸组合物包含:

a)编码权利要求66至80中任一项所述的第一单体的第一多核苷酸;

b)编码权利要求66至80中任一项所述的第二单体的第二多核苷酸;和

c)编码权利要求66至80中任一项所述的第一共同轻链和第二共同轻链的第三多核苷酸。

82.一种表达载体组合物,所述表达载体组合物包含:

a)包含权利要求60所述的第一多核苷酸的第一表达载体,

b)包含权利要求60所述的第二多核苷酸的第二表达载体,和

c)包含权利要求60所述的第三多核苷酸的第三表达载体。

83.一种宿主细胞,所述宿主细胞包含权利要求60所述的核酸组合物或权利要求61所述的表达载体组合物。

84.一种药物组合物,所述药物组合物包含权利要求66至80中任一项所述的抗体和药学上可接受的载剂。

85.一种治疗癌症的方法,所述方法包括向有需要的患者施用根据权利要求66至80中任一项所述的抗体或权利要求H20所述的药物组合物。

86.根据权利要求85所述的方法,所述方法还包括向所述患者施用抗CD3 x肿瘤靶抗原(TTA)双特异性抗体。

87.一种包含CD28抗原结合结构域的组合物,其中所述CD28结合结构域包含:

a)具有图163中的可变重结构域的vhCDR1-3的可变重结构域;和

b)拥有图35和图37中的可变轻结构域或具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域的vlCDR1-3的可变轻结构域。

88.一种包含CD28抗原结合结构域的组合物,其中所述CD28结合结构域包含:

a)与图163中的可变重结构域具有至少85%序列同一性的可变重结构域;和

b)与图35和图37中的可变轻结构域或具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域具有至少85%序列同一性的可变轻结构域。

89.如权利要求88所述的组合物,其中所述可变重结构域与图163中的可变重结构域具有至少90%序列同一性;并且所述可变轻结构域与图35和图37中的可变轻结构域或具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域具有至少90%序列同一性。

90.如权利要求88所述的组合物,其中所述可变重结构域与图163中的可变重结构域具有至少95%序列同一性;并且所述可变轻结构域与图35和图37中的可变轻结构域或具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域具有至少95%序列同一性。

91.如权利要求88所述的组合物,其中所述可变重结构域与图163中的可变重结构域具有至少99%序列同一性;并且所述可变轻结构域与图35和图37中的可变轻结构域或具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域具有至少99%序列同一性。

92.如权利要求88所述的组合物,其中所述可变重结构域具有图163中的可变重结构域的氨基酸序列;并且所述可变轻结构域拥有图35和图37中的可变轻结构域或具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域的氨基酸序列。

93.一种包含PD-L1抗原结合结构域的组合物,其中所述PD-L1结合结构域包含:

a)具有图161中的可变重结构域的vhCDR1-3的可变重结构域;和

b)拥有具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域的vlCDR1-3的可变轻结构域。

94.一种包含PD-L1抗原结合结构域的组合物,其中所述PD-L1结合结构域包含:

a)与图161中的可变重结构域具有至少85%序列同一性的可变重结构域;和

b)与具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域具有至少85%序列同一性的可变轻结构域。

95.如权利要求94所述的组合物,其中所述可变重结构域与图161中的可变重结构域具有至少90%序列同一性;并且所述可变轻结构域与具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域具有至少90%序列同一性。

96.如权利要求94所述的组合物,其中所述可变重结构域与图161中的可变重结构域具有至少95%序列同一性;并且所述可变轻结构域与具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域具有至少95%序列同一性。

97.如权利要求94所述的组合物,其中所述可变重结构域与图161中的可变重结构域具有至少99%序列同一性;并且所述可变轻结构域与具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域具有至少99%序列同一性。

98.如权利要求94所述的组合物,其中所述可变重结构域具有图161中的可变重结构域的氨基酸序列;并且所述可变轻结构域拥有具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结

构域的氨基酸序列。

99.一种包含PD-L2抗原结合结构域的组合物,其中所述PD-L1结合结构域包含:

a)具有图162中的可变重结构域的vhCDR1-3的可变重结构域;和

b)拥有具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域的vlCDR1-3的可变轻结构域。

100.一种包含PD-L2抗原结合结构域的组合物,其中所述PD-L1结合结构域包含:

a)与图162中的可变重结构域具有至少85%序列同一性的可变重结构域;和

b)与具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域具有至少85%序列同一性的可变轻结构域。

101.如权利要求100所述的组合物,其中所述可变重结构域与图162中的可变重结构域具有至少90%序列同一性;并且所述可变轻结构域与具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域具有至少90%序列同一性。

102.如权利要求94所述的组合物,其中所述可变重结构域与图162中的可变重结构域具有至少95%序列同一性;并且所述可变轻结构域与具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域具有至少95%序列同一性。

103.如权利要求94所述的组合物,其中所述可变重结构域与图162中的可变重结构域具有至少99%序列同一性;并且所述可变轻结构域与具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域具有至少99%序列同一性。

104.如权利要求100所述的组合物,其中所述可变重结构域具有图162中的可变重结构域的氨基酸序列;并且所述可变轻结构域拥有具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域的氨基酸序列。

105.一种抗体,所述抗体包含:

a)第一单体,所述第一单体从N末端至C末端包含VH1-CH1-铰链-CH2-CH3,其中VH1是第一可变重结构域,并且CH2-CH3是第一Fc结构域;

b)第二单体,所述第二单体从N末端至C末端包含VH2-CH1-接头-VH3-CH1-铰链-CH2-CH3,其中VH2是第二可变重结构域,VH3是第三可变重结构域,并且CH2-CH3是第二Fc结构域,

c)第一共同轻链、第二共同轻链和第三共同轻链,所述第一共同轻链、所述第二共同轻链和所述第三共同轻链各自从N末端至C末端包含VL-CL,其中VL是共同可变轻结构域,并且CL是恒定轻结构域;

其中所述第一可变重结构域与所述第一共同轻链的共同可变轻结构域形成第一抗原结合结构域,所述第二可变重结构域与所述第二共同轻链的共同可变轻结构域形成第二抗原结合结构域,并且所述第三可变重结构域与所述第三共同轻链的共同可变轻结构域形成第三抗原结合结构域,

其中所述第一抗原结合结构域、所述第二抗原结合结构域和所述第三抗原结合结构域中的一者是PD-L1抗原结合结构域,

其中所述第一抗原结合结构域、所述第二抗原结合结构域和所述第三抗原结合结构域中的一者是PD-L2抗原结合结构域,并且

其中所述第一抗原结合结构域、所述第二抗原结合结构域和所述第三抗原结合结构域

中的一者是CD28结合结构域。

106.一种抗体,所述抗体包含:

a)第一单体,所述第一单体从N末端至C末端包含scFv-接头-CH2-CH3,其中CH2-CH3是第一Fc结构域;

b)第二单体,所述第二单体从N末端至C末端包含VH1-CH1-接头-VH2-CH1-铰链-CH2-CH3,其中VH1是第一可变重结构域,VH2是第二可变重结构域,并且CH2-CH3是第二Fc结构域,

c)第一共同轻链和第二共同轻链,所述第一共同轻链和所述第二共同轻链各自从N末端至C末端包含VL1-CL,其中VL1是第一可变轻结构域,并且CL是恒定轻结构域;

其中所述scFv包含第三VH结构域(VH3)、scFv接头和第二可变轻结构域(VL2)

其中所述第一可变重结构域与所述第一共同轻链的第一可变轻结构域形成第一抗原结合结构域,所述第二可变重结构域与所述第二共同轻链的第一可变轻结构域形成第二抗原结合结构域,并且所述第三可变重结构域与第二可变轻结构域形成第三抗原结合结构域。

107.一种抗体,所述抗体包含:

a)第一单体,所述第一单体从N末端至C末端包含VH1-CH1-接头-scFv-接头-CH2-CH3,其中VH1是第一可变重结构域,并且CH2-CH3是第一Fc结构域;

b)第二单体,所述第二单体从N末端至C末端包含VH2-CH1-铰链-CH2-CH3,其中VH2是第二可变重结构域,并且CH2-CH3是第二Fc结构域,

c)第一共同轻链和第二共同轻链,所述第一共同轻链和所述第二共同轻链各自从N末端至C末端包含VL1-CL,其中VL1是第一可变轻结构域,并且CL是恒定轻结构域;

其中所述scFv包含第三VH结构域(VH3)、scFv接头和第二可变轻结构域(VL2)

其中所述第一可变重结构域与所述第一共同轻链的第一可变轻结构域形成第一抗原结合结构域,所述第二可变重结构域与所述第二共同轻链的第一可变轻结构域形成第二抗原结合结构域,并且所述第三可变重结构域与第二可变轻结构域形成第三抗原结合结构域。

108.一种抗体,所述抗体包含:

a)第一单体,所述第一单体从N末端至C末端包含VH1-CH1-铰链-CH2-CH3-结构域接头-scFv,

其中VH1是第一可变重结构域,并且CH2-CH3是第一Fc结构域;

b)第二单体,所述第二单体从N末端至C末端包含VH2-CH1-铰链-CH2-CH3,其中VH2是第二可变重结构域,并且CH2-CH3是第二Fc结构域;以及

c)第一共同轻链和第二共同轻链,所述第一共同轻链和所述第二共同轻链各自从N末端至C末端包含VL1-CL,其中VL1是第一可变轻结构域,并且CL是恒定轻结构域;

其中所述scFv包含第三VH结构域(VH3)、scFv接头和第二可变轻结构域(VL2)

其中所述第一可变重结构域与所述第一共同轻链的第一可变轻结构域形成第一抗原结合结构域,所述第二可变重结构域与所述第二共同轻链的第一可变轻结构域形成第二抗原结合结构域,并且所述第三可变重结构域与第二可变轻结构域形成第三抗原结合结构域。

109.如权利要求105至108中任一项所述的抗体,其中所述第一抗原结合结构域、所述第二抗原结合结构域或所述第三抗原结合结构域中的一者结合CD28。

110.如权利要求至108中任一项所述的抗体,其中所述第一抗原结合结构域、所述第二抗原结合结构域和所述第三抗原结合结构域中的一者是PD-L1抗原结合结构域,

其中所述第一抗原结合结构域、所述第二抗原结合结构域和所述第三抗原结合结构域中的一者是PD-L2抗原结合结构域,并且

其中所述第一抗原结合结构域、所述第二抗原结合结构域和所述第三抗原结合结构域中的一者是CD28结合结构域。

结合PD-L1、PD-L2和/或CD28的抗体

[0001] 优先权声明

[0002] 本申请要求2022年4月13日提交的美国临时申请第63/330,769号、2022年10月11日提交的美国临时申请第63/379,100号、2022年11月7日提交的美国临时申请第63/382,592号、2023年1月6日提交的美国临时申请第63/478,881号和2023年1月18日提交的美国临时申请第63/480,478号的优先权和权益,所述临时申请的内容特此以引用的方式整体并入。

[0003] 序列表

[0004] 本申请含有序列表,所述序列表以XML文件格式以电子方式提交并且特此以引用的方式整体并入。所述XML副本创建于2023年4月11日,名称为067461-5301-WO_SL.xml,并且大小为3,420,050字节。

背景技术

[0005] 针对肿瘤的天然免疫应答派遣免疫效应细胞(诸如自然杀伤(NK)细胞和T细胞)来攻击和破坏肿瘤细胞。肿瘤浸润性淋巴细胞(TIL)通常表达多种免疫检查点受体(例如,PD-1、CTLA-4)和共刺激受体(例如,ICOS、4-1BB、OX40、GITR和CD28)。随着时间的推移,由于抑制性免疫检查点的上调,TIL失去其细胞毒性能力。虽然检查点阻断已经证明相对于其他治疗方案增加了临床应答率,但是许多患者仍然不能实现对检查点阻断的应答。TIL上的共刺激受体的接合可以提供能够克服免疫检查点的负向信号的正向信号。激动性共刺激受体抗体的临床前和临床研究确实证明,共刺激受体的激动作用可产生令人印象深刻的抗肿瘤应答,从而活化T细胞以攻击肿瘤细胞。

[0006] 通过特异性地破坏肿瘤细胞同时最小化外周毒性来增强抗肿瘤活性对于癌症治疗也是重要的。在这种情形中,至关重要的是,只在存在靶肿瘤细胞的情况下,才为T细胞提供共刺激信号。然而,对于TIL、外周T细胞和导致自身免疫毒性的自身抗原反应性T细胞,单特异性全长抗体对共刺激受体的激动作用可能无区分性。例如,乌瑞鲁单抗(urelumab)(一种单特异性无区分性泛4-1BB激动剂抗体)在早期临床试验中表现出显著的肝毒性(Segal等人,2016)。因此,仍然需要用于治疗癌症的新型免疫应答增强组合物。

发明内容

[0007] 本文提供了新型αPD-L1、αPD-L2和αCD28抗体。在一些实施方案中,抗体是αPD-L1xαPD-L2 xαCD28三特异性抗体。此类抗体通过提供针对肿瘤细胞的T细胞活化的共刺激信号同时还有利地阻断抑制性PD-L1:PD1和/或PD-L2:PD1途径相互作用来增强抗肿瘤活性(参见图94)。在一些实施方案中,此类三特异性抗体可用于与αCD3xα肿瘤靶抗原(TTA)双特异性抗体联合治疗癌症。

[0008] 在一方面,本文提供了包含PD-L1抗原结合结构域、PD-L2抗原结合结构域和CD28结合结构域的多特异性抗体,其中所述结合结构域中的每一者包含可变重结构域和可变轻结构域。

[0009] 在一方面,本文提供了新型1+1+1堆叠Fab_2-Fab-Fc格式抗体(图83D)。所述抗体包含a)第一单体,b)第二单体,以及c)第一共同轻链、第二共同轻链和第三共同轻链。第一单体从N末端至C末端包含VH1-CH1-铰链-CH2-CH3,其中VH1是第一可变重结构域,并且CH2-CH3是第一Fc结构域。第二单体从N末端至C末端包含VH2-CH1-接头-VH3-CH1-铰链-CH2-CH3,其中VH2是第二可变重结构域,VH3是第三可变重结构域,并且CH2-CH3是第二Fc结构域。共同轻链各自从N末端至C末端包含VL-CL,其中VL是共同可变轻结构域,并且CL是恒定轻结构域。在此格式中,第一可变重结构域与第一共同轻链的共同可变轻结构域形成第一抗原结合结构域,第二可变重结构域与第二共同轻链的共同可变轻结构域形成第二抗原结合结构域,并且第三可变重结构域与第三共同轻链的共同可变轻结构域形成第三抗原结合结构域。

[0010] 在一些实施方案中,所述抗体是结合PD-L1、PD-L2和CD28的三特异性抗体,并且第一抗原结合结构域、第二抗原结合结构域和第三抗原结合结构域中的每一者选自由以下组成的组:PD-L1抗原结合结构域、PD-L2抗原结合结构域和CD28结合结构域。

[0011] 在一些实施方案中,第一抗原结合结构域、第二抗原结合结构域和第三抗原结合结构域选自以下:i)第一抗原结合结构域是PD-L1结合结构域,第二抗原结合结构域是PD-L2结合结构域,并且第三抗原结合结构域是CD28结合结构域,ii)第一抗原结合结构域是PD-L1结合结构域,第二抗原结合结构域是CD28结合结构域,并且第三抗原结合结构域是PD-L2结合结构域,iii)第一抗原结合结构域是PD-L2结合结构域,第二抗原结合结构域是PD-L1结合结构域,并且第三抗原结合结构域是CD28结合结构域,iv)第一抗原结合结构域是PD-L2结合结构域,第二抗原结合结构域是CD28结合结构域,并且第三抗原结合结构域是PD-L1结合结构域,v)第一抗原结合结构域是CD28结合结构域,第二抗原结合结构域是PD-L1结合结构域,并且第三抗原结合结构域是PD-L2结合结构域,或vi)第一抗原结合结构域是CD28结合结构域,第二抗原结合结构域是PD-L2结合结构域,并且第三抗原结合结构域是PD-L1结合结构域。

[0012] 在一些实施方案中,CD28结合结构域包含具有选自SEQ ID NO:3354-3389的氨基酸的可变重结构域或其变体,和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域或其变体。

[0013] 在一些实施方案中,PD-L1抗原结合结构域包含具有选自SEQ ID NO:3235和3243-3260的氨基酸的可变重结构域或其变体,和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域或其变体。

[0014] 在一些实施方案中,PD-L2抗原结合结构域包含具有选自SEQ ID NO:3267和3275-3347的氨基酸的可变重结构域或其变体,和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域或其变体。

[0015] 在一些实施方案中,第一Fc结构域和第二Fc结构域是变体Fc结构域。在某些实施方案中,第一Fc结构域和第二Fc结构域包含选自由以下组成的组的一组异二聚化(heterodimerization)偏斜变体:S364K/E357Q:L368D/K370S;S364K:L368D/K370S;S364K:L368E/K370S;D401K:T411E/K360E/Q362E;和T366W:T366S/L368A/Y407V,其中编号是根据EU编号。在一些实施方案中,第一Fc结构域和第二Fc结构域包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q:L368D/K370S。

[0016] 在一些实施方案中,第一Fc结构域和第二Fc结构域各自包含一个或多个消融变体。在一些实施方案中,所述一个或多个消融变体是E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,其中编号是根据EU编号。

[0017] 在某些实施方案中,第一单体或第二单体中的一者包含一个或多个pI变体。在一些实施方案中,第一单体的CH1-铰链-CH2-CH3包含pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D,其中编号是根据EU编号。

[0018] 在一些实施方案中,第一Fc结构域包含氨基酸变体L368D/K370S/N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D/E233P/L234V/L235A/G236de l/S267K,并且第二单体的CH1-铰链-CH2-CH3包含氨基酸变体S364K/E357Q/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,并且其中编号是根据EU编号。

[0019] 在一些实施方案中,第一Fc结构域和第二Fc结构域各自还包含氨基酸变体428/434S。

[0020] 在一些实施方案中,a)PD-L1结合结构域包含具有SEQ ID NO:3251的氨基酸序列的可变重结构域和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域;b)PD-L2结合结构域包含具有SEQ ID NO:3319的氨基酸序列的可变重结构域和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域;并且c)CD28结合结构域包含具有SEQ ID NO:3380的氨基酸序列的可变重结构域和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域。

[0021] 在一些实施方案中,a)第一单体具有SEQ ID NO:3201的氨基酸序列;b)第二单体具有SEQ ID NO:3202的氨基酸序列;并且c)第一共同轻链、第二共同轻链和第三共同轻链各自具有SEQ ID NO:3203的氨基酸序列。

[0022] 在一方面,本文提供了新型1+1+1堆叠Fab_2-scFv-Fc格式抗体(图83A)。1+1+1堆叠Fab_2-scFv-Fc格式包含a)第一单体,b)第二单体,以及c)第一共同轻链和第二共同轻链。第一单体从N末端至C末端包含scFv-接头-CH2-CH3,其中CH2-CH3是第一Fc结构域。第二单体从N末端至C末端包含VH1-CH1-接头-VH2-CH1-铰链-CH2-CH3,其中VH1是第一可变重结构域,VH2是第二可变重结构域,并且CH2-CH3是第二Fc结构域。第一共同轻链和第二共同轻链各自从N末端至C末端包含VL1-CL,其中VL1是第一可变轻结构域,并且CL是恒定轻结构域。另外,scFv包含第三VH结构域(VH3)、scFv接头和第二可变轻结构域(VL2)。在此格式中,第一可变重结构域与第一共同轻链的第一可变轻结构域形成第一抗原结合结构域,第二可变重结构域与第二共同轻链的第一可变轻结构域形成第二抗原结合结构域,并且第三可变重结构域与第二可变轻结构域形成第三抗原结合结构域。

[0023] 在一些实施方案中,所述抗体是结合PD-L1、PD-L2和CD28的三特异性抗体,并且第一抗原结合结构域、第二抗原结合结构域和第三抗原结合结构域中的每一者选自由以下组成的组:PD-L1抗原结合结构域、PD-L2抗原结合结构域和CD28结合结构域。

[0024] 在一些实施方案中,第一抗原结合结构域、第二抗原结合结构域和第三抗原结合结构域选自以下:

[0025] i)第一抗原结合结构域是PD-L1结合结构域,第二抗原结合结构域是PD-L2结合结构域,并且第三抗原结合结构域是CD28结合结构域,ii)第一抗原结合结构域是PD-L1结合结构域,第二抗原结合结构域是CD28结合结构域,并且第三抗原结合结构域是PD-L2结合结构域,iii)第一抗原结合结构域是PD-L2结合结构域,第二抗原结合结构域是PD-L1结合结

构域,并且第三抗原结合结构域是CD28结合结构域,iv)第一抗原结合结构域是PD-L2结合结构域,第二抗原结合结构域是CD28结合结构域,并且第三抗原结合结构域是PD-L1结合结构域,v)第一抗原结合结构域是CD28结合结构域,第二抗原结合结构域是PD-L1结合结构域,并且第三抗原结合结构域是PD-L2结合结构域,或vi)第一抗原结合结构域是CD28结合结构域,第二抗原结合结构域是PD-L2结合结构域,并且第三抗原结合结构域是PD-L1结合结构域。

[0026] 在一些实施方案中,CD28结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:i)选自图35、图36、图38中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图35、图37和图38中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,ii)图38中的CD28结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,iii)选自图41至图74中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图41至图74中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,iv)图41至图74中的CD28结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,v)选自图41至图74中的可变轻结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),vi)图81中的CD28结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,以及vii)选自图163中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图35和图37中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,或具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域。

[0027] 在一些实施方案中,PD-L1抗原结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:i)选自图17和图19中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图17和图20中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,ii)图17和图21中的PD-L1结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,iii)选自图25和图26中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图25和图26中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,iv)图25和图26中的PD-L1结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,v)选自图25和图26中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),vi)图28中的PD-L1结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域;以及vii)选自图161中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域。

[0028] 在一些实施方案中,PD-L2抗原结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:i)选自图29至图32中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图29至图32中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,ii)图29至图32中的PD-L2结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,iii)选自图29至图32中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),iv)图34中的PD-L2结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,以及v)选自图162中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域。

[0029] 在一些实施方案中,第一Fc结构域和第二Fc结构域是变体Fc结构域。在某些实施方案中,第一Fc结构域和第二Fc结构域包含选自由以下组成的组的一组异二聚化偏斜变体:S364K/E357Q:L368D/K370S;S364K:L368D/K370S;S364K:L368E/K370S;D401K:T411E/K360E/Q362E;和T366W:T366S/L368A/Y407V,其中编号是根据EU编号。在一些实施方案中,第一Fc结构域和第二Fc结构域包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q:L368D/K370S。

[0030] 在一些实施方案中,第一Fc结构域和第二Fc结构域各自包含一个或多个消融变

体。在一些实施方案中,所述一个或多个消融变体是E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,其中编号是根据EU编号。

[0031] 在一些实施方案中,第一单体或第二单体中的一者包含一个或多个pI变体。在一些实施方案中,第二单体的CH1-铰链-CH2-CH3包含pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D,其中编号是根据EU编号。

[0032] 在一些实施方案中,第一Fc结构域包含氨基酸变体S364K/E357Q/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,第二单体的CH1-铰链-CH2-CH3包含氨基酸变体L368D/K370S/N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,并且编号是根据EU编号。

[0033] 在一些实施方案中,scFv接头是具有氨基酸序列$(GKPGS)_4$的带电荷的scFv接头。在一些实施方案中,第一Fc结构域和第二Fc结构域各自还包含氨基酸变体428/434S。

[0034] 在一方面,本文提供了新型1+1+1Fab-(Fab-scFv)-Fc格式抗体(图83B)。1+1+1Fab-(Fab-scFv)-Fc格式包含a)第一单体,b)第二单体,以及c)第一共同轻链和第二共同轻链。第一单体从N末端至C末端包含VH1-CH1-接头-scFv-接头-CH2-CH3,其中VH1是第一可变重结构域,并且CH2-CH3是第一Fc结构域。第二单体从N末端至C末端包含VH2-CH1-铰链-CH2-CH3,其中VH2是第二可变重结构域,并且CH2-CH3是第二Fc结构域。第一共同轻链和第二共同轻链各自从N末端至C末端包含VL1-CL,其中VL1是第一可变轻结构域,并且CL是恒定轻结构域。另外,scFv包含第三VH结构域(VH3)、scFv接头和第二可变轻结构域(VL2)。在此格式中,第一可变重结构域与第一共同轻链的第一可变轻结构域形成第一抗原结合结构域,第二可变重结构域与第二共同轻链的第一可变轻结构域形成第二抗原结合结构域,并且第三可变重结构域与第二可变轻结构域形成第三抗原结合结构域。

[0035] 在一些实施方案中,所述抗体是结合PD-L1、PD-L2和CD28的三特异性抗体,并且第一抗原结合结构域、第二抗原结合结构域和第三抗原结合结构域中的每一者选自由以下组成的组:PD-L1抗原结合结构域、PD-L2抗原结合结构域和CD28结合结构域。

[0036] 在一些实施方案中,第一抗原结合结构域、第二抗原结合结构域和第三抗原结合结构域选自以下:

[0037] i)第一抗原结合结构域是PD-L1结合结构域,第二抗原结合结构域是PD-L2结合结构域,并且第三抗原结合结构域是CD28结合结构域,ii)第一抗原结合结构域是PD-L1结合结构域,第二抗原结合结构域是CD28结合结构域,并且第三抗原结合结构域是PD-L2结合结构域,iii)第一抗原结合结构域是PD-L2结合结构域,第二抗原结合结构域是PD-L1结合结构域,并且第三抗原结合结构域是CD28结合结构域,iv)第一抗原结合结构域是PD-L2结合结构域,第二抗原结合结构域是CD28结合结构域,并且第三抗原结合结构域是PD-L1结合结构域,v)第一抗原结合结构域是CD28结合结构域,第二抗原结合结构域是PD-L1结合结构域,并且第三抗原结合结构域是PD-L2结合结构域,或vi)第一抗原结合结构域是CD28结合结构域,第二抗原结合结构域是PD-L2结合结构域,并且第三抗原结合结构域是PD-L1结合结构域。

[0038] 在一些实施方案中,CD28结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:i)选自图35、图36、图38中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图35、图37和图38中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,ii)图38中的CD28结合结构域的可变

重结构域和可变轻结构域,iii)选自图41至图74中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图41至图74中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,iv)图41至图74中的CD28结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,v)选自图41至图74中的可变轻结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),vi)图81中的CD28结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,以及vii)选自图163中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图35和图37中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,或具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域。

[0039] 在一些实施方案中,PD-L1抗原结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:i)选自图17和图19中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图17和图20中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,ii)图17和图21中的PD-L1结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,iii)选自图25和图26中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图25和图26中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,iv)图25和图26中的PD-L1结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,v)选自图25和图26中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),vi)图28中的PD-L1结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域;以及vii)选自图161中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域。

[0040] 在一些实施方案中,PD-L2抗原结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:i)选自图29至图32中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图29至图32中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,ii)图29至图32中的PD-L2结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,iii)选自图29至图32中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),iv)图34中的PD-L2结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,以及v)选自图162中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域。

[0041] 在一些实施方案中,第一Fc结构域和第二Fc结构域是变体Fc结构域。在某些实施方案中,第一Fc结构域和第二Fc结构域包含选自由以下组成的组的一组异二聚化偏斜变体:S364K/E357Q:L368D/K370S;S364K:L368D/K370S;S364K:L368E/K370S;D401K:T411E/K360E/Q362E;和T366W:T366S/L368A/Y407V,其中编号是根据EU编号。在一些实施方案中,第一Fc结构域和第二Fc结构域包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q:L368D/K370S。

[0042] 在一些实施方案中,第一Fc结构域和第二Fc结构域各自包含一个或多个消融变体。在一些实施方案中,所述一个或多个消融变体是E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,其中编号是根据EU编号。

[0043] 在一些实施方案中,第一单体或第二单体中的一者包含一个或多个pI变体。在一些实施方案中,第二单体的CH1-铰链-CH2-CH3包含pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D,其中编号是根据EU编号。

[0044] 在一些实施方案中,第一Fc结构域包含氨基酸变体S364K/E357Q/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,第二单体的CH1-铰链-CH2-CH3包含氨基酸变体L368D/K370S/N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,并且编号是根据EU编号。

[0045] 在一些实施方案中,scFv接头是具有氨基酸序列(GKPGS)$_4$的带电荷的scFv接头。在一些实施方案中,第一Fc结构域和第二Fc结构域各自还包含氨基酸变体428/434S。

[0046] 在一方面,本文提供了新型1+1+1mAb-scFv格式抗体(图83C)。1+1+1mAb-scFv格式抗体通常包含a)第一单体,b)第二单体,以及c)第一共同轻链和第二共同轻链。第一单体从N末端至C末端包含VH1-CH1-铰链-CH2-CH3-结构域接头-scFv,其中VH1是第一可变重结构域,并且CH2-CH3是第一Fc结构域。第二单体从N末端至C末端包含VH2-CH1-铰链-CH2-CH3,其中VH2是第二可变重结构域,并且CH2-CH3是第二Fc结构域。第一共同轻链和第二共同轻链各自从N末端至C末端包含VL1-CL,其中VL1是第一可变轻结构域,并且CL是恒定轻结构域。另外,scFv包含第三VH结构域(VH3)、scFv接头和第二可变轻结构域(VL2)。在此格式中,第一可变重结构域与第一共同轻链的第一可变轻结构域形成第一抗原结合结构域,第二可变重结构域与第二共同轻链的第一可变轻结构域形成第二抗原结合结构域,并且第三可变重结构域与第二可变轻结构域形成第三抗原结合结构域。

[0047] 在一些实施方案中,所述抗体是结合PD-L1、PD-L2和CD28的三特异性抗体,并且第一抗原结合结构域、第二抗原结合结构域和第三抗原结合结构域中的每一者选自由以下组成的组:PD-L1抗原结合结构域、PD-L2抗原结合结构域和CD28结合结构域。

[0048] 在一些实施方案中,第一抗原结合结构域、第二抗原结合结构域和第三抗原结合结构域选自以下:

[0049] i)第一抗原结合结构域是PD-L1结合结构域,第二抗原结合结构域是PD-L2结合结构域,并且第三抗原结合结构域是CD28结合结构域,ii)第一抗原结合结构域是PD-L1结合结构域,第二抗原结合结构域是CD28结合结构域,并且第三抗原结合结构域是PD-L2结合结构域,iii)第一抗原结合结构域是PD-L2结合结构域,第二抗原结合结构域是PD-L1结合结构域,并且第三抗原结合结构域是CD28结合结构域,iv)第一抗原结合结构域是PD-L2结合结构域,第二抗原结合结构域是CD28结合结构域,并且第三抗原结合结构域是PD-L1结合结构域,v)第一抗原结合结构域是CD28结合结构域,第二抗原结合结构域是PD-L1结合结构域,并且第三抗原结合结构域是PD-L2结合结构域,或vi)第一抗原结合结构域是CD28结合结构域,第二抗原结合结构域是PD-L2结合结构域,并且第三抗原结合结构域是PD-L1结合结构域。

[0050] 在一些实施方案中,CD28结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:i)选自图35、图36、图38中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图35、图37和图38中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,ii)图38中的CD28结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,iii)选自图41至图74中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图41至图74中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,iv)图41至图74中的CD28结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,v)选自图41至图74中的可变轻结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),vi)图81中的CD28结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,以及vii)选自图163中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图35和图37中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,或具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域。

[0051] 在一些实施方案中,PD-L1抗原结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:i)选自图17和图19中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图17和

图20中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,ii)图17和图21中的PD-L1结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,iii)选自图25和图26中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图25和图26中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,iv)图25和图26中的PD-L1结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,v)选自图25和图26中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),vi)图28中的PD-L1结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域;以及vii)选自图161中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域。

[0052] 在一些实施方案中,PD-L2抗原结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:i)选自图29至图32中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图29至图32中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,ii)图29至图32中的PD-L2结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,iii)选自图29至图32中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),iv)图34中的PD-L2结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域,以及v)选自图162中的可变重结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域。

[0053] 在一些实施方案中,第一Fc结构域和第二Fc结构域是变体Fc结构域。在某些实施方案中,第一Fc结构域和第二Fc结构域包含选自由以下组成的组的一组异二聚化偏斜变体:S364K/E357Q:L368D/K370S;S364K:L368D/K370S;S364K:L368E/K370S;D401K:T411E/K360E/Q362E;和T366W:T366S/L368A/Y407V,其中编号是根据EU编号。在一些实施方案中,第一Fc结构域和第二Fc结构域包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q:L368D/K370S。

[0054] 在一些实施方案中,第一Fc结构域和第二Fc结构域各自包含一个或多个消融变体。在一些实施方案中,所述一个或多个消融变体是E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,其中编号是根据EU编号。

[0055] 在一些实施方案中,第一单体或第二单体中的一者包含一个或多个pI变体。在一些实施方案中,第二单体的CH1-铰链-CH2-CH3包含pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D,其中编号是根据EU编号。

[0056] 在一些实施方案中,第一Fc结构域包含氨基酸变体S364K/E357Q/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,第二单体的CH1-铰链-CH2-CH3包含氨基酸变体L368D/K370S/N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,并且编号是根据EU编号。

[0057] 在一些实施方案中,scFv接头是具有氨基酸序列$(GKPGS)_4$的带电荷的scFv接头。在一些实施方案中,第一Fc结构域和第二Fc结构域各自还包含氨基酸变体428/434S。

[0058] 在另一方面,本文提供了一种治疗癌症的方法,所述方法包括向有需要的患者施用本文公开的主题抗体或包含所述主题抗体和药学上可接受的载剂的药物组合物。在一些实施方案中,所述方法还包括向所述患者施用抗CD3 x肿瘤靶抗原(TTA)双特异性抗体。

[0059] 本文还提供了编码本文提供的组合物和抗体的核酸组合物、包含所述核酸的表达载体,以及包含所述核酸和表达载体的宿主细胞。

[0060] 在另一方面,本文提供了一种治疗癌症的方法,所述方法包括向有需要的患者施用本文提供的主题抗体之一。在一些实施方案中,所述方法还包括向所述患者施用抗CD3 x

肿瘤靶抗原双特异性抗体。

[0061] 在另一方面,本文提供了一种包含CD28抗原结合结构域的组合物,其中所述CD28结合结构域包含:a)具有图163中的可变重结构域的vhCDR1-3的可变重结构域;和b)拥有图35和图37中的可变轻结构域或具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域的vlCDR1-3的可变轻结构域。

[0062] 在另一方面,本文提供了一种CD28抗原结合结构域,其中所述CD28结合结构域包含:a)与图163中的可变重结构域具有至少85%、90%、95%或99%序列同一性的可变重结构域;和b)与图35和图37中的可变轻结构域或具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域具有至少85%、90%、95%或99%序列同一性的可变轻结构域。在一些实施方案中,可变重结构域具有图163中的可变重结构域的氨基酸序列;并且可变轻结构域拥有图35和图37中的可变轻结构域或具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域的氨基酸序列。

[0063] 在另一方面,本文提供了一种包含PD-L1抗原结合结构域的组合物,其中所述PD-L1结合结构域包含:a)具有图161中的可变重结构域的vhCDR1-3的可变重结构域;和b)拥有具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域的vlCDR1-3的可变轻结构域。

[0064] 在另一方面,本文提供了一种包含PD-L1抗原结合结构域的组合物,其中所述PD-L1结合结构域包含:a)与图161中的可变重结构域具有至少85%、90%、95%或99%序列同一性的可变重结构域;和b)与具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域具有至少85%、90%、95%或99%序列同一性的可变轻结构域。在一些实施方案中,可变重结构域具有图161中的可变重结构域的氨基酸序列;并且可变轻结构域拥有具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域的氨基酸序列。

[0065] 在另一方面,本文提供了一种包含PD-L2抗原结合结构域的组合物,其中所述PD-L1结合结构域包含:a)具有图162中的可变重结构域的vhCDR1-3的可变重结构域;和b)拥有具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域的vlCDR1-3的可变轻结构域。

[0066] 在另一方面,本文提供了一种包含PD-L2抗原结合结构域的组合物,其中所述PD-L1结合结构域包含:a)与图162中的可变重结构域具有至少85%序列同一性的可变重结构域;和b)与具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域具有至少85%序列同一性的可变轻结构域。在一些实施方案中,可变重结构域具有图162中的可变重结构域的氨基酸序列;并且可变轻结构域拥有具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域的氨基酸序列。

附图说明

[0067] 图1描绘了人、小鼠和食蟹猴PDL1的序列。这种PDL1可用于开发交叉反应性PDL1抗原结合结构域,以易于临床开发。

[0068] 图2描绘了人、小鼠和食蟹猴PDL2的序列。这种PDL2可用于开发交叉反应性PDL2抗原结合结构域,以易于临床开发。

[0069] 图3A至图3B描绘了人、小鼠和食蟹猴CD28的序列。这种CD 28可用于开发交叉反应性CD28抗原结合结构域,以易于临床开发。

[0070] 图4A至图4F描绘了有用的异二聚化变体组的对(包括偏斜变体和pI变体)。在图4F

中,存在并无对应“单体2”变体的变体。此类变体是pI变体,其可单独用于双特异性抗体(例如,αPD-L1 xαCD28bsAb)或三特异性抗体(例如,PDL1 x PDL2 x CD28 triAb)的任一单体上,或例如包含在利用具有适当带电荷的scFv接头的scFv作为第二单体上的组分的格式的非scFv侧上(合适的带电荷的接头示于图7中)。先前描述了优选的Fc异二聚化变体的异二聚体收率(%)和CH3T_m(℃)(参见例如美国专利申请第2019/0248898号的图8)。

[0071] 图5描绘了同配变体抗体恒定区和其相应取代的列表。pI_(-)指示较低pI变体,而pI_(+)指示较高pI变体。这些变体可任选地且独立地与本文概述的其他变体(包括异二聚化变体)组合。

[0072] 图6描绘了消融Fcγ R结合的有用的消融变体(也称为“敲除”或“KO”变体)。在一些实施方案中,此类消融变体包含在本文所述的主题抗体的两个单体的Fc结构域中。在其他实施方案中,消融变体仅包含在仅一个变体Fc结构域上。

[0073] 图7描绘了多个可用于增加或减小如本文所述的利用一个或多个scFv作为组分的主题多聚双特异性和三特异性抗体(例如,PDL1x CD28 bsAb)的pI的带电荷的scFv接头。(+H)正电性接头可特别用于本文中,特别是与本文示出的抗CD28 VL和VH序列一起使用。根据Whitlow等人,Protein Engineering 6(8):989-995(1993),具有单个电荷的单个现有技术scFv接头被称为“Whitlow”。应当注意,这种接头用于减少scFv中的聚集以及增强scFv中的蛋白水解稳定性。此类带电荷的scFv接头可用于本文公开的包含scFv的任一主题抗体格式(例如,1+1Fab-scFv-Fc、2+1Fab2-scFv-Fc格式等)中。

[0074] 图8A至图8B描绘了多个示例性结构域接头。在一些实施方案中,这些接头可用于将单链Fv连接至Fc链。在一些实施方案中,这些接头可以任何取向组合。例如,GGGGS接头可以在N末端或C末端处与“下半铰链”接头组合。

[0075] 图9示出了本发明的PDL1 x CD28和PDL2 x CD28 bsAb以及PDL1 x PDL2 x CD28 triAb的异二聚(heterodimeric)Fc结构域(即此实施方案中的CH2-CH3)的特别有用的实施方案。

[0076] 图10示出了几种有用的基于人IgG1的多聚PDL1 x CD28和PDL2 x CD28双特异性抗体(bsAb)或PDL1 x PDL2 x CD28三特异性抗体(triAb)主链的序列,没有细胞因子序列。异二聚Fc主链1基于人IgG1(356E/358M同种异型),并且包含处于第一异二聚Fc链上的L368D/K370S偏斜变体和Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体、处于第二异二聚Fc链上的S364K/E357Q偏斜变体,以及处于两条链上的E233P/L234V/L235A/G236del/S267K消融变体。异二聚Fc主链2基于人IgG1(356E/358M同种异型),并且包含处于第一异二聚Fc链上的L368D/K370S偏斜变体和Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体、处于第二异二聚Fc链上的S364K偏斜变体,以及处于两条链上的E233P/L234V/L235A/G236del/S267K消融变体。异二聚Fc主链3基于人IgG1(356E/358M同种异型),并且包含处于第一异二聚Fc链上的L368E/K370S偏斜变体和Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体、处于第二异二聚Fc链上的S364K偏斜变体,以及处于两条链上的E233P/L234V/L235A/G236del/S267K消融变体。异二聚Fc主链4基于人IgG1(356E/358M同种异型),并且包含处于第一异二聚Fc链上的K360E/Q362E/T411E偏斜变体和Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体、处于第二异二聚Fc链上的D401K偏斜变体,以及处于两条链上的E233P/L234V/L235A/G236del/S267K消融变体。异二聚Fc主链5基于人IgG1(356D/358L同种异型),并且包含处于第一异二聚Fc链上的L368D/K370S偏斜变体和

Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体、处于第二异二聚Fc链上的S364K/E357Q偏斜变体,以及处于两条链上的E233P/L234V/L235A/G236del/S267K消融变体。异二聚Fc主链6基于人IgG1(356E/358M同种异型),并且包含处于第一异二聚Fc链上的L368D/K370S偏斜变体和Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体、处于第二异二聚Fc链上的S364K/E357Q偏斜变体,以及处于两条链上的E233P/L234V/L235A/G236del/S267K消融变体和去除糖基化的N297A变体。异二聚Fc主链7基于人IgG1(356E/358M同种异型),并且包含处于第一异二聚Fc链上的L368D/K370S偏斜变体和Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体、处于第二异二聚Fc链上的S364K/E357Q偏斜变体,以及处于两条链上的E233P/L234V/L235A/G236del/S267K消融变体和去除糖基化的N297S变体。异二聚Fc主链8基于人IgG4,并且包含处于第一异二聚Fc链上的L368D/K370S偏斜变体和Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体、处于第二异二聚Fc链上的S364K/E357Q偏斜变体,以及处于两条链上的消融Fab臂交换(如本领域所已知)的S228P(根据EU编号,在Kabat中为S241P)变体。异二聚Fc主链9基于人IgG2,并且包含处于第一异二聚Fc链上的L368D/K370S偏斜变体和Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体、处于第二异二聚Fc链上的S364K/E357Q偏斜变体。异二聚Fc主链10基于人IgG2,并且包含处于第一异二聚Fc链上的L368D/K370S偏斜变体和Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体、处于第二异二聚Fc链上的S364K/E357Q偏斜变体,以及处于两条链上的S267K消融变体。异二聚Fc主链11基于人IgG1(356E/358M同种异型),并且包含处于第一异二聚Fc链上的L368D/K370S偏斜变体和Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体、处于第二异二聚Fc链上的S364K/E357Q偏斜变体,以及处于两条链上的E233P/L234V/L235A/G236del/S267K消融变体和M428L/N434S Xtend变体。异二聚Fc主链12基于人IgG1(356E/358M同种异型),并且包含处于第一异二聚Fc链上的L368D/K370S偏斜变体、处于第二异二聚Fc链上的S364K/E357Q偏斜变体和P217R/P229R/N276K pI变体,以及处于两条链上的E233P/L234V/L235A/G236del/S267K消融变体。异二聚Fc主链13基于人IgG1(356D/358L同种异型),并且包含处于第一异二聚Fc链上的L368D/K370S偏斜变体和Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体、处于第二异二聚Fc链上的S364K/E357Q偏斜变体,以及处于两条链上的E233P/L234V/L235A/G236del/S267K消融变体和M428L/N434S Xtend变体。异二聚Fc主链14基于人IgG1(356E/358M同种异型),并且包含处于第一异二聚Fc链上的L368D/K370S偏斜变体和Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体、处于第二异二聚Fc链上的S364K/E357Q偏斜变体,以及处于两条链上的E233P/L234V/L235A/G236del/S267K消融变体和M428L/N434AXtend变体。异二聚Fc主链15基于人IgG1(356D/358L同种异型),并且包含处于第一异二聚Fc链上的L368D/K370S偏斜变体和Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体、处于第二异二聚Fc链上的S364K/E357Q偏斜变体,以及处于两条链上的E233P/L234V/L235A/G236del/S267K消融变体和M428L/N434AXtend变体。

[0077] 在这些主链的每一条主链内包含与所列举的序列90%、95%、98%和99%同一(如本文所定义)并且/或者含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个另外的氨基酸取代的序列(与附图的“亲本”相比,如本领域技术人员将理解的,与亲本人IgG1(或IgG2或IgG4,这取决于主链)相比,已经含有多个氨基酸修饰)。也就是说,除了此图的主链中所含的偏斜变体、pI变体和消融变体以外或作为其替代方案,所列举的主链可含有另外的氨基酸修饰(通常是氨基酸取代)。另外,本文描绘的主链可以包含C末端甘氨酸(K446_)和/或赖氨酸(K447_)的缺失。可以对C末端甘氨酸和/或赖氨酸缺失进行有意地工程化以减少异质

性或在某些双特异性格式(诸如mAb-scFv格式)的情形中进行。另外,C末端甘氨酸和/或赖氨酸缺失可以天然发生,例如在生产和储存期间发生。另外,这些序列可以在单体1或单体2任一者中包含H435R/Y436F变体,以便于纯化。

[0078] 图11描绘了以2+1mAb-scFv和1+1+1mAb-scFv格式使用的主链的例示性序列。此处描绘的格式基于如图X所描绘的异二聚Fc主链1,但还包含单体1(-)上的G446_和单体2(+)上的G446_/K447_。应当注意,图X所描绘的任何另外的主链可以适用于2+1mAb-scFv格式,在一条或两条链上包含或不包含K447_。应当注意,这些序列还可以包含M428L/N434S变体。另外,这些序列可以在单体1或单体2任一者中包含H435R/Y436F变体,以便于纯化。

[0079] 图12描绘了可用于本发明的bsAb和triAb的实施方案中的“CH1”的序列。

[0080] 图13描绘了可用于本发明的bsAb和triAb的实施方案中的“铰链”的序列。

[0081] 图14描绘了可用于利用Fab结合结构域的主题PDL1 x CD28或PDL2 x CD28 bsAb和PDL1 x PDL2 x CD28 triAb中的同源轻链的恒定结构域。

[0082] 图15A至图15F描绘了适用于可以与本发明的CD28双特异性或三特异性抗体组合的CD3双特异性抗体的示例性抗CD3结合结构域的序列。CDR加下划线,scFv接头加双下划线(在序列中,scFv接头是带正电荷的scFv(GKPGS)4接头(SEQ ID NO:892),但是如本领域技术人员将理解的,这个接头可被其他接头替代,包括不带电荷的接头或带负电荷的接头,其中一些描绘在图6中),并且斜线指示可变结构域的一个或多个边界。另外,命名约定说明了scFv从N末端至C末端的取向。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0083] 图16描绘了呈2+1Fab2-scFv-Fc格式并且分别包含H1.30_L1.47抗CD3 scFv(又称为CD3高[VHVL])或L1.47_H1.32抗CD3 scFv(又称为CD3高-中等(High-Int)#1[VLVH])的例示性αPSMAxαCD3 bsAb的序列。CDR加下划线,并且斜线指示可变区与其他链组分(例如恒定区和结构域接头)之间的一个或多个边界。应当注意,αPSMA xαCD3 bsAb可利用90%、95%、98%和99%同一(如本文所定义)并且/或者含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸取代的可变区、Fc区和恒定结构域序列。另外,本文概述的每个序列可在一个或优选两个Fc结构域中包含或不包含M428L/N434S变体,这产生了较长的血清半衰期。

[0084] 图17描绘了2G4(一种示例性的人源化杂交瘤来源的PDL1结合结构域)的可变重链序列和可变轻链序列,以及XENP25859(一种基于2G4和具有E233P/L234V/L235A/G236del/S267K消融变体的IgG1主链的抗PDL1 mAb)和XENP36627(一种基于2G4的单价抗PDL1mAb)的序列。CDR加下划线,并且斜线指示可变区与恒定结构域之间的一个或多个边界。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0085] 图18描绘了抗PDL1克隆2G4(XENP25859)、部分阻断性抗PDL1(XENP25853)、非阻断性抗PDL1(XENP25858)和XENP24118(一种基于阿维鲁单抗(avelumab)的基准抗PDL1 mAb)的PD1:PDL1阻断(PDL1-mFc融合物与PD1转染的HEK293T细胞的结合)。

[0086] 图19描绘了来自抗PDL1克隆2G4的亲和力优化的可变重结构域的序列。应当注意，可变重结构域可与本文描绘的任何其他2G4可变轻结构域配对，包括SEQ ID NO:1467-1528(例如，如XENP40706中利用的2G4_H1.12_L1.14)。

[0087] 图20描绘了来自抗PDL1克隆2G4的亲和力优化的可变轻结构域的序列。应当注意，可变重结构域可与本文描绘的任何其他2G4可变重结构域配对，包括SEQ ID NO:1529-1599(例如，如XENP40706中所利用的2G4_H1.12_L1.14)。

[0088] 图21描绘了例示性的亲和力优化的2G4 VH/VL对的序列。应当注意，这些对可成格式为Fab或scFv。

[0089] 图22描绘了抗PDL1克隆2G4可变重结构域变体和可变轻结构域变体的共有框架区(FR)和互补决定区(CDR)(如在Kabat中)。

[0090] 图23描绘了在scFv情形中(在1+1Fab-scFv-Fc bsAb格式的情形中)例示性的亲和力工程化的2G4 VH/VL对及其结合亲和力。

[0091] 图24描绘了A)为PDL1、PDL2和CD28共同轻链研究活动(campaign)的基础的人源化小鼠中使用的共同可变轻结构域(称为6B1_L1)的序列。此可变轻结构域序列可与如图25、图26、图29、图30、图31、图32、图41、图42、图43、图44、图45、图46、图47、图48、图49、图50、图51、图52、图53、图54、图55、图56、图57、图58、图59、图60、图61、图62、图63、图64、图65、图66、图67、图68、图69、图70、图71、图72、图73和图74所描绘的可变重结构域配对。

[0092] 图25描绘了新型PDL1结合结构域克隆13G1。CDR加下划线，并且斜线指示可变区与恒定结构域之间的一个或多个边界。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此，如表2所示，取决于所使用的编号，CDR位置的精确标识可能略微不同，并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外，对于图中的所有序列，这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0093] 图26A至图26B描绘了新型PDL1结合结构域克隆13G7、替代VH 13G7_H2、替代VL 13G7_L2和例示性的亲和力工程化的VH变体(另外，应当注意，亲和力工程化VH中的CDR可以移植到如实施例1B所述的替代亲本框架上)。应当注意，13G7_H1和13G7_H2以及亲和力工程化13G7 VH变体可以另外与如图24所描绘的6B1_L1配对。另外，描绘了13G7 VH的共有框架区(FR)和互补决定区(CDR)。CDR加下划线，并且斜线指示可变区与恒定结构域之间的一个或多个边界。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此，如表2所示，取决于所使用的编号，CDR位置的精确标识可能略微不同，并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外，对于图中的所有序列，这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0094] 图27描绘了在经基因工程化而具有完整人重链可变结构域结合人共同轻链取代的小鼠中通过单细胞技术产生的PDL1抗体的解离常数(KD)、缔合速率(ka)和解离速率(kd)。

[0095] 图28A至图28T描绘了可用于本发明的PDL1 x CD28 bsAb和PDL1 x PDL2 x CD28 triAb中的另外的PDL1结合结构域的可变重链序列和可变轻链序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此，如表2所示，取决于所使用的编号，CDR位置的精确标识可能略微不同，并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外，对于图中的所有序列，这些VH和VL序列可以

scFv格式或Fab格式使用。

[0096] 图29描绘了新型PDL2结合结构域克隆5C11,以及替代VH 5C11_H2。应当注意,5C11_H1和5C11_H2都可以另外与如图24所描绘的6B1_L1配对。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0097] 图30描绘了新型PDL2结合结构域克隆8G2,以及替代VH 8G2_H2。应当注意,8G2_H1和8G2_H2都可以另外与如图24所描绘的6B1_L1配对。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0098] 图31描绘了新型PDL2结合结构域克隆8G5,以及替代VH 8G5_H3。应当注意,8G5_H1和8G5_H3都可以另外与如图24所描绘的6B1_L1配对。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0099] 图32A至图32D描绘了新型PDL2结合结构域克隆16G11,以及替代VH 16G11_H2和16G11_H3和例示性的亲和力工程化的VH变体(另外,应当注意,亲和力工程化VH中的CDR可以移植到如实施例1B所述的替代亲本框架上)。应当注意,16G11_H1、16G11_H2和16G11_H3以及亲和力工程化16G11 VH变体可以另外与如图24所描绘的6B1_L1配对。另外,描绘了16G11 VH的共有框架区(FR)和互补决定区(CDR)。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0100] 图33描绘了在经基因工程化而具有完整人重链可变结构域结合人共同轻链取代的小鼠中通过单细胞技术产生的PDL2抗体的解离常数(KD)、缔合速率(ka)和解离速率(kd)。

[0101] 图34描绘了可用于本发明的PDL2 x CD28 bsAb和PDL1 x PDL2x CD28 triAb中的另外的PDL2结合结构域的可变重链序列和可变轻链序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0102] 图35描绘了1A7(一种非超激动性的示例性的噬菌体来源的CD28结合结构域)的可变重链序列和可变轻链序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如

此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0103] 图36描绘了来自抗CD28克隆1A7的亲和力优化的可变重结构域的序列。应当注意,可变重结构域可与图35和图37所描绘的任何其他可变轻结构域配对,包括SEQ ID NO:2456-2524。

[0104] 图37描绘了来自抗CD28克隆1A7的亲和力优化的可变轻结构域的序列。应当注意,可变轻结构域可与图35和图36所描绘的任何其他可变轻结构域配对,包括SEQ ID NO:2525-2630。

[0105] 图38A至图38C描绘了例示性的亲和力优化的1A7 VH/VL对的序列。应当注意,这些对可成格式为Fab或scFv。另外,在scFv格式中,这些对可成格式为VHVL取向或VLVH取向。

[0106] 图39A至图39B描绘了抗CD28克隆1A7可变重结构域变体和可变轻结构域变体的共有构架区(FR)和互补决定区(CDR)(如在Kabat中)。

[0107] 图40描绘了在scFv情形中(在1+1Fab-scFv-Fc bsAb格式的情形中)例示性的亲和力工程化的1A7 VH/VL对及其结合亲和力。

[0108] 图41描绘了新型CD28结合结构域克隆1B1-5.88488,以及XENP41791(一种基于1B1-5.88488的抗CD28 mAb)和XENP42418(一种利用1B1-5.88488VH和6B1共同VL的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0109] 图42描绘了新型CD28结合结构域克隆1B1-4.88488,以及XENP41792(一种基于1B1-4.88488的抗CD28 mAb)和XENP42419(一种利用1B1-4.88488VH和6B1共同VL的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0110] 图43描绘了新型CD28结合结构域克隆1D8.88474,以及XENP41834(一种基于1D8.88474的抗CD28 mAb)和XENP42420(一种利用1D8.88474 VH和6B1共同VL的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0111] 图44描绘了新型CD28结合结构域克隆1G2-2.88474,以及XENP41846(一种基于1G2-2.88474的抗CD28 mAb)和XENP42421(一种利用1G2-2.88474VH和6B1共同VL的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0112] 图45描绘了新型CD28结合结构域克隆2G5.88497,以及XENP41864(一种基于2G5.88497的抗CD28 mAb)和XENP42423(一种利用2G5.88497 VH和6B1共同VL的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0113] 图46描绘了新型CD28结合结构域克隆2A3.88497,以及XENP41882(一种基于2A3.88497的抗CD28 mAb)和XENP42425(一种利用2A3.88497VH和6B1共同VL的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0114] 图47描绘了新型CD28结合结构域克隆1D9-3.83967,以及XENP41907(一种基于1D9-3.83967的抗CD28 mAb)和XENP42426(一种利用1D9-3.83967VH和6B1共同VL的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0115] 图48描绘了新型CD28结合结构域克隆1C9-1.83967,以及XENP41927(一种基于1C9-1.83967的抗CD28 mAb)和XENP42429(一种利用1C9-1.83967VH和6B1共同VL的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0116] 图49描绘了新型CD28结合结构域克隆1D10-4.83967,以及XENP41936(一种基于1D10-4.83967的抗CD28 mAb)和XENP42430(一种利用1D10-4.83967VH和6B1共同VL的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0117] 图50描绘了新型CD28结合结构域克隆1A12.83967,以及XENP41957(一种基于1A12.83967的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0118] 图51描绘了新型CD28结合结构域克隆1B11.83967,以及XENP41949(一种基于1B11.83967的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的

CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0119] 图52描绘了新型CD28结合结构域克隆1D10-2.83967,以及XENP41935(一种基于1D10-2.83967的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0120] 图53描绘了新型CD28结合结构域克隆1D7.83967,以及XENP41904(一种基于1D7.83967的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0121] 图54描绘了新型CD28结合结构域克隆1D3.83967,以及XENP41901(一种基于1D3.83967的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0122] 图55描绘了新型CD28结合结构域克隆2B10.88497,以及XENP41891(一种基于2B10.88497的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0123] 图56描绘了新型CD28结合结构域克隆2B9.88497,以及XENP41890(一种基于2B9.88497的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0124] 图57描绘了新型CD28结合结构域克隆2B8.88497,以及XENP41889(一种基于2B8.88497的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0125] 图58描绘了新型CD28结合结构域克隆1G6-1.83967,以及XENP41877(一种基于1G6-1.83967的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0126] 图59描绘了新型CD28结合结构域克隆1C7.88474,以及XENP41874(一种基于1C7.88474的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本

文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0127] 图60描绘了新型CD28结合结构域克隆1A5-2.88474,以及XENP41869(一种基于1A5-2.88474的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0128] 图61描绘了新型CD28结合结构域克隆1A2.88474,以及XENP41868(一种基于1A2.88474的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0129] 图62描绘了新型CD28结合结构域克隆2F5.88497,以及XENP41860(一种基于2F5.88497的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0130] 图63描绘了新型CD28结合结构域克隆2E9.88497,以及XENP41858(一种基于2E9.88497的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0131] 图64A至图64C描绘了新型CD28结合结构域克隆1A3.88474,以及XENP41849(一种基于1A3.88474的抗CD28 mAb)和例示性的亲和力工程化的VH变体的序列。另外,描绘了1A3.88474 VH的共有框架区(FR)和互补决定区(CDR)。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0132] 图65描绘了新型CD28结合结构域克隆1H11.88474,以及XENP41816(一种基于1H11.88474的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0133] 图66描绘了新型CD28结合结构域克隆1G1-1.88474,以及XENP41807(一种基于1G1-1.88474的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0134] 图67描绘了新型CD28结合结构域克隆1E6-1.88474,以及XENP41802(一种基于1E6-1.88474的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0135] 图68描绘了新型CD28结合结构域克隆1A1-5.88488,以及XENP41797(一种基于1A1-5.88488的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0136] 图69描绘了新型CD28结合结构域克隆1E2-5.88488,以及XENP41781(一种基于1E2-5.88488的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0137] 图70描绘了新型CD28结合结构域克隆2F6.88497,以及XENP41861(一种基于2F6.88497的抗CD28 mAb)和XENP42422(一种利用2F6.88497 VH和6B1共同VL的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0138] 图71描绘了新型CD28结合结构域克隆1H2.83967,以及XENP41880(一种基于1H2.83967的抗CD28 mAb)和XENP42424(一种利用1H2.83967 VH和6B1共同VL的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0139] 图72描绘了新型CD28结合结构域克隆1E4-3.83967,以及XENP41909(一种基于1E4-3.83967的抗CD28 mAb)和XENP42427(一种利用1E4-3.83967VH和6B1共同VL的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0140] 图73描绘了新型CD28结合结构域克隆1C2-2.83967,以及XENP41918(一种基于1C2-2.83967的抗CD28 mAb)和XENP42428(一种利用1C2-2.83967VH和6B1共同VL的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0141] 图74描绘了新型CD28结合结构域克隆1A11.83967,以及XENP41956(一种基于1A11.83967的抗CD28 mAb)和XENP42431(一种利用1A11.83967 VH和6B1共同VL的抗CD28 mAb)的序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0142] 图75描绘了基于单细胞技术来源的结合结构域(WT序列,相较于与6B1_L1配对的VH)的CD28 mAb与CD28抗原的结合的最大BLI响应。数据显示,大多数结合结构域在与6B1_L1 VL配对时保留CD28结合;然而,来自几个克隆(例如1B1-4.88488、2G5.88497和1D10-4.83967)的VH在与6B1_L1配对时表现出减弱的CD28结合。

[0143] 图76描绘了基于另外的单细胞技术来源的结合结构域的CD28mAb与CD28抗原的结合的最大BLI响应。

[0144] 图77描绘了基于单细胞技术来源的结合结构域的CD28 mAb与Jurkat细胞的结合。

[0145] 图78描绘了基于单细胞技术来源的结合结构域(WT序列,相较于与6B1_L1共同轻链配对的VH)的CD28 mAb与Jurkat细胞的结合。

[0146] 图79描绘了基于单细胞技术来源的结合结构域的CD28 mAb对经CD3刺激(100ng/mL OKT3)的纯化T细胞的IL2分泌的诱导。

[0147] 图80描绘了基于单细胞技术来源的结合结构域(WT序列,相较于与6B1_L1共同轻链配对的VH)的CD28 mAb对经CD3刺激(100ng/mL OKT3)的纯化T细胞的IL2分泌的诱导。

[0148] 图81描绘了可用于本发明的PDL1 x CD28和PDL2 x CD28 bsAb和PDL1 x PDL2 x CD28 triAb中的另外的CD28结合结构域的可变重链序列和可变轻链序列。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0149] 图82A至图82M描绘了本发明的双特异性格式。图82A描绘了具有结合第一抗原的第一Fab臂和结合第二抗原的第二scFv臂的“1+1Fab-scFv-Fc”格式。1+1Fab-scFv-Fc格式包含:第一单体,所述第一单体包含(任选地通过接头)共价连接至第一异二聚Fc主链的N末端的第一重链可变区(VH1);第二单体,所述第二单体包含(任选地通过接头)共价连接至第二对应异二聚Fc主链的N末端的单链Fv;和第三单体,所述第三单体包含共价连接至轻链恒定结构域的轻链可变区,其中轻链可变区与VH1互补。图82B描绘了具有第一Fab臂和第二Fab-scFv臂的“2+1Fab2-scFv-Fc”格式,其中Fab结合第一抗原,并且scFv结合第二抗原。2+1Fab2-scFv-Fc格式包含:第一单体,所述第一单体包含(任选地通过接头)共价连接至第一异二聚Fc主链的N末端的第一重链可变区(VH1);第二单体,所述第二单体包含(任选地通过接头)共价连接至(任选地通过接头)共价连接至第二对应异二聚Fc主链的N末端的单链Fv的VH1;和第三单体,所述第三单体包含共价连接至轻链恒定结构域的轻链可变区,其中轻链可变区与VH1互补。图82C描绘了具有包含结合第一抗原的第一Fab臂的第一Fc和包含结合第二抗原的第二Fab臂的第二Fc的“1+1共同轻链”或“1+1CLC”格式。1+1CLC格式包括包含VH1-CH1-铰链-CH2-CH3的第一单体、包含VH2-CH1-铰链-CH2-CH3的第二单体和包含VL-CL

的第三单体。VL与VH1配对以形成具有第一抗原结合特异性的结合结构域;并且VL与VH2配对以形成具有第二抗原结合特异性的结合结构域。图82D描绘了具有包含2个各自结合第一抗原的Fab臂的第一Fc和包含1个结合第二抗原的Fab臂的第二Fc的“2+1共同轻链”或“2+1CLC”格式。2+1CLC格式包括包含VH1-CH1-铰链-VH1-CH1-铰链-CH2-CH3的第一单体、包含VH2-CH1-铰链-CH2-CH3的第二单体和包含VL-CL的第三单体。VL与第一VH1和第二VH1配对以形成具有第一抗原结合特异性的结合结构域;并且VL与VH2配对以形成具有第二抗原结合特异性的结合结构域。图82E描绘了具有包含结合第一抗原的N末端Fab臂的第一Fc和包含结合第一抗原的N末端Fab臂和结合第二抗原的C末端scFv的第二Fc的“2+1mAb-scFv”格式。2+1mAb-scFv格式包括包含VH1-CH1-铰链-CH2-CH3的第一单体、包含VH1-CH1-铰链-CH2-CH3-scFv的第二单体和包含VL-CL的第三单体。VL与第一VH1和第二VH1配对以形成对第一抗原具有结合特异性的结合结构域。另外的双特异性格式包括F)双重scFv,G)单臂scFv-mAb,H)scFv-mAb,I)双特异性mAb,J)单臂中心scFv,K)mAb-Fv,L)中心Fv,和M)三叉(trident)。

[0150] 图83A至图83D描绘了本发明的三特异性格式。图83A描绘了“1+1+1堆叠Fab2-scFv-Fc”格式,其包含:第一单体,所述第一单体从N末端至C末端包含VH1-CH1-接头-VH2-CH1-铰链-CH2-CH3,其中CH2-CH3是第一异二聚Fc结构域;第二单体,所述第二单体从N末端至C末端包含scFv-接头-CH2-CH3,其中CH2-CH3是与第一异二聚Fc结构域互补的第二异二聚Fc结构域,并且其中scFv具有第一抗原特异性;和第三单体,所述第三单体为共同轻链,从N末端至C末端包含VL-CL,其中VL与VH1配对以形成具有第二抗原特异性的抗原结合结构域,并且与VH2配对以形成具有第三抗原特异性的抗原结合结构域。图83D描绘了“1+1+1Fab-(Fab-scFv)-Fc格式),其包含:第一单体,所述第一单体为重链,从N末端至C末端包含VH1-CH1-铰链-CH2-CH3,其中CH2-CH3是第一异二聚Fc结构域;第二单体,所述第二单体从N末端至C末端包含VH2-CH1-接头-scFv-接头-CH2-CH3,其中CH2-CH3是与第一异二聚Fc结构域互补的第二异二聚Fc结构域,并且其中scFv具有第一抗原特异性;和第三单体,所述第三单体为共同轻链,从N末端至C末端包含VL-CL,其中VL与VH1配对以形成具有第二抗原特异性的抗原结合结构域,并且与VH2配对以形成具有第三抗原特异性的抗原结合结构域。图83C描绘了“1+1+1mAb-scFv”格式,其包含:第一单体,所述第一单体为重链,从N末端至C末端包含VH1-CH1-铰链-CH2-CH3,其中CH2-CH3是第一异二聚Fc结构域;第二单体,所述第二单体从N末端至C末端包含VH2-CH1-铰链-CH2-CH3-接头-scFv,其中CH2-CH3是与第一异二聚Fc结构域互补的第二异二聚Fc结构域,并且其中scFv具有第一抗原特异性;和第三单体,所述第三单体为共同轻链,从N末端至C末端包含VL-CL,其中VL与VH1配对以形成具有第二抗原特异性的抗原结合结构域,并且与VH2配对以形成具有第三抗原特异性的抗原结合结构域。图83D描绘了“1+1+1堆叠Fab2-Fab-Fc”格式,其包含:第一单体,所述第一单体为重链,从N末端至C末端包含VH1-CH1-铰链-CH2-CH3,其中CH2-CH3是第一异二聚Fc结构域;第二单体,所述第二单体从N末端至C末端包含VH2-CH1-接头-VH3-CH1-铰链-CH2-CH3,其中CH2-CH3是与第一异二聚Fc结构域互补的第二异二聚Fc结构域;和第三单体,所述第三单体为共同轻链,从N末端至C末端包含VL-CL,其中VL与VH1配对以形成具有第一抗原特异性的抗原结合结构域,与VH2配对以形成具有第二抗原特异性的抗原结合结构域,并且与VH3配对以形成具有第三抗原特异性的抗原结合结构域。

[0151] 图84A至图84T描绘了呈1+1Fab-scFv-Fc格式的例示性PDL1x CD28 bsAb的序列。CDR加下划线,并且斜线指示可变区、Fc区和恒定结构域之间的一个或多个边界。应当注意,αPD-L1 xαCD28bsAb可利用90%、95%、98%和99%同一(如本文所定义)并且/或者含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸取代的可变区、Fc区和恒定结构域序列。另外,本文概述的每个序列可在一个或优选两个Fc结构域中包含或不包含M428L/N434S变体,包含M428L/N434S产生了较长的血清半衰期。

[0152] 图85描绘了呈2+1Fab2-scFv-Fc格式的例示性αPD-L1 xαCD28bsAb的序列。CDR加下划线,并且斜线指示可变区、Fc区和恒定结构域之间的一个或多个边界。scFv结构域具有VH-scFv接头-VL取向(从N末端至C末端),但是这可以逆转。应当注意,scFv结构域序列包括作为可变重区与可变轻区之间的scFv接头的序列GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS(SEQ ID NO:XX);然而,此接头可用图6中的任何scFv接头来替代。还应当注意,链2序列包括作为scFv的C末端与CH2结构域的N末端之间的结构域接头的序列GGGGSGGGGSKTHTCPPCP(SEQ ID NO:XX),其是"柔性半铰链"结构域接头;然而,此接头可用图7的任何"有用的结构域接头"来替代。应当注意,αPD-L1 xαCD28 bsAb可利用90%、95%、98%和99%同一(如本文所定义)并且/或者含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸取代的可变区、Fc区和恒定结构域序列。另外,本文概述的每个序列可在一个或优选两个Fc结构域中包含或不包含M428L/N434S变体,这产生了较长的血清半衰期。

[0153] 图86描绘了呈2+1mAb-scFv格式的例示性PDL1 x CD28 bsAb的序列。CDR加下划线,并且斜线指示可变区、接头、Fc区和恒定结构域之间的一个或多个边界。scFv结构域具有V_H-scFv接头-V_L取向(从N末端至C末端),但是这可以逆转。应当注意,链2序列包括作为结构域接头的序列GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS(SEQ ID NO:XX);然而,此接头可用任何结构域接头(包括图6的任何"有用的结构域接头")来替代。应当注意,αPDL1 xαCD28 bsAb可利用90%、95%、98%和99%同一(如本文所定义)并且/或者含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸取代的可变区、Fc区和恒定结构域序列。另外,本文概述的每个序列可在一个或优选两个Fc结构域中包含或不包含M428L/N434S变体,这产生了较长的血清半衰期。

[0154] 图87A至图87B描绘了呈1+1Fab-scFv-Fc格式的例示性PDL2x CD28 bsAb的序列。CDR加下划线,并且斜线指示可变区、Fc区和恒定结构域之间的一个或多个边界。应当注意,PDL2 x CD28 bsAb可利用90%、95%、98%和99%同一(如本文所定义)并且/或者含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸取代的可变区、Fc区和恒定结构域序列。另外,本文概述的每个序列可在一个或优选两个Fc结构域中包含或不包含M428L/N434S变体,包含M428L/N434S产生了较长的血清半衰期。

[0155] 图88A至图88M描绘了呈1+1+1堆叠Fab2-scFv-Fc格式的例示性PDL1 x PDL2 x CD28 triAb的序列。CDR加下划线,并且斜线指示可变区与其他结构域(例如恒定结构域)之间的一个或多个边界。应当注意,PDL1 x PDL2 x CD28 triAb可利用90%、95%、98%和99%同一(如本文所定义)并且/或者含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸取代的可变区、Fc区和恒定结构域序列。另外,本文概述的每个序列可在一个或优选两个Fc结构域中包含或不包含M428L/N434S变体,包含M428L/N434S产生了较长的血清半衰期。

[0156] 图89A至图89B描绘了呈1+1+1Fab-(Fab-scFv)-Fc格式的例示性PDL1 x PDL2 x CD28 triAb的序列。CDR加下划线,并且斜线指示可变区与其他结构域(例如恒定结构域)之间的一个或多个边界。应当注意,PDL1 x PDL2 x CD28 triAb可利用90%、95%、98%和99%同一(如本文所定义)并且/或者含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸取代的可变区、Fc区和恒定结构域序列。另外,本文概述的每个序列可在一个或优选两个Fc结构域中包含或不包含M428L/N434S变体,包含M428L/N434S产生了较长的血清半衰期。

[0157] 图90描绘了呈1+1+1mAb-scFv格式的例示性PDL1 x PDL2 xCD28 triAb的序列。CDR加下划线,并且斜线指示可变区与其他结构域(例如恒定结构域)之间的一个或多个边界。应当注意,PDL1 xPDL2 x CD28 triAb可利用90%、95%、98%和99%同一(如本文所定义)并且/或者含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸取代的可变区、Fc区和恒定结构域序列。另外,本文概述的每个序列可在一个或优选两个Fc结构域中包含或不包含M428L/N434S变体,包含M428L/N434S产生了较长的血清半衰期。

[0158] 图91A至图91P描绘了呈1+1+1堆叠Fab2-Fab-Fc格式的例示性PDL1 x PDL2 x CD28 triAb的序列。CDR加下划线,并且斜线指示可变区与其他结构域(例如恒定结构域)之间的一个或多个边界。应当注意,PDL1 x PDL2 x CD28 triAb可利用90%、95%、98%和99%同一(如本文所定义)并且/或者含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸取代的可变区、Fc区和恒定结构域序列。另外,本文概述的每个序列可在一个或优选两个Fc结构域中包含或不包含M428L/N434S变体,包含M428L/N434S产生了较长的血清半衰期。

[0159] 图92描绘了A)经典T细胞/APC相互作用,和B)通过将CD3双特异性抗体与CD28双特异性抗体组合来复制经典T细胞/APC相互作用。在经典T细胞/APC相互作用中,存在由TCR与肽-MHC的反应性提供的第一信号(信号1)和由在APC上表达的CD80/CD86的CD28交联提供的第二信号(信号2),这些信号一起完全活化T细胞。相比之下,在使用CD3双特异性抗体的治疗中,仅提供了第一信号。CD28信号可以由CD28双特异性提供,其想法是通过CD28共刺激来促进活化和增殖。

[0160] 图93描绘了通过CD28双特异性抗体引入CD28信号传导,以及通过检查点阻断(例如PD-1阻断)减轻任何检查点介导的对所添加的CD28信号的阻遏。

[0161] 图94描绘了PDL1 x CD28双特异性抗体提供信号2,同时有利地进一步使得能够阻断PDL1:PD1相互作用。尽管没有描绘,PDL2 xCD28双特异性抗体可以类似地提供信号2,同时有利地进一步使得能够阻断PDL2:PD1相互作用。

[0162] 图95描绘了XENP24118(一种基于阿维鲁单抗和具有E233P/L234V/L235A/G236del/S267K消融变体的IgG1主链的PDL1mAb)的序列。CDR加下划线,并且斜线指示可变区与恒定结构域之间的一个或多个边界。

[0163] 图96描绘了将负载NLV的MDA-MB-231癌细胞与从CMV+供体纯化的CD3+T细胞以及αPD-L1抗体XENP24118或αPD-L1 xαCD28 bsAb XENP34963一起孵育后CMV+T细胞的扩增。与单独的PD-L1阻断相比,αPD-L1 xαCD28 bsAb XENP34963显著增强了T细胞扩增。

[0164] 图97描绘了1μg/mlαB7H3 xαCD3 bsAb与αPD-L1 mAb XENP24118的组合或与αPD-L1 xαCD28 bsAb XENP34963的组合对A)IL-2分泌、B)IFNγ分泌和C)CD3+T细胞扩增的诱

导。αPD-L1xαCD28 bsAb增强CD3 bsAb T细胞接合器的活性。

[0165] 图98描绘了在将LNCaP癌细胞(PSMA+)与CD3+T细胞以1:1效应物:靶标比率和单独的例示性CD3双特异性抗体(αPSMA xαCD3XENP32220)或其与XENP36233的组合一起孵育后,细胞杀伤随时间的变化。数据显示,与单独孵育癌细胞和T细胞相比,XENP32220增强了细胞杀伤;然而,添加αPD-L1 xαCD28克服了癌细胞对CD3双特异性抗体的抗性,并且进一步增强了细胞杀伤。

[0166] 图99描绘了在给予5mg/kgαPD-L1 mAb XENP24118、8.3mg/kgαPD-L1 xαCD28 bsAb XENP34963、6mg/kgαPD-L1 xαCD28XENP34961或PBS对照的MC38(经工程化以稳定表达人PD-L1)和huPBMC移植的人CD28敲入小鼠中,肿瘤体积(如通过卡尺测量所测定;经基线校正)A)随时间(第一次给药后天数)的组中值变化,和B)第20天(第一次给药后)的肿瘤体积。

[0167] 图100描绘了抗PDL1克隆2G4(XENP25859)、部分阻断性抗PDL1(XENP25853)、非阻断性抗PDL1(XENP25858)和XENP24118(一种基于阿维鲁单抗的基准抗PDL1 mAb)对A)IL-2释放和B)IFNγ释放的诱导。数据显示,与抗PDL1克隆2G4相比,部分阻断性和非阻断性抗PDL1克隆诱导较少的细胞因子释放。

[0168] 图101描绘了具有抗PDL1克隆2G4的αPDL1 xαCD28 bsAb(XENP36233)、部分阻断性抗PDL1(XENP36232)、非阻断性抗PDL1(XENP26783)和XENP34963(基于阿维鲁单抗的具有抗PDL1臂的基准bsAb)在T细胞:癌细胞相互作用期间对PD1:PDL1相互作用的阻断(如通过与CHO-PDL1-CD80-αCD3和CHO-PDL1-αCD3细胞一起孵育的Jurkat-PD1细胞所建模)。数据显示,与包含抗PDL1克隆2G4的bsAb相比,包含部分阻断性和非阻断性抗PDL1克隆的bsAb诱导较低的活性。

[0169] 图102描绘了αPDL1 xαCD28(XENP36233)与亲本PDL1^{缺失}MC38或经转染以表达具有低或中高抗原密度的PDL1的MC38细胞的结合。

[0170] 图103描绘了在存在亲本PDL1^{缺失}HEK293T细胞或经转染以表达中或高抗原密度的PDL1的HEK293T下,αPDL1 xαCD28(XENP36233)对IL-2释放的诱导。

[0171] 图104描绘了在存在A)10:1E:T比率和B)1:1E:T比率的CD3+T细胞和PDL1^{缺失}22Rv1细胞系的情况下,单独的αPSMA xαCD3或其与αPDL1 xαCD28 XENP36233的组合对细胞杀伤的诱导。数据显示,αPDL1 xαCD28 bsAb在PDL1阴性细胞系(诸如22Rv1)上不与CD3 bsAb产生协同作用。

[0172] 图105描绘了食蟹猴中XENP36764的血清浓度随时间的变化。αPDL1 xαCD28 bsAb表现出良好的药代动力学。

[0173] 图106描绘了基于机制的PK/PD计算机模型中使用的假设图。

[0174] 图107描绘了基于机制的建模的预测,表明A)符合典型检查点抑制剂方案的剂量水平下的线性PK,B)指示共刺激的肿瘤中三聚体的形成,以及C)持续的PDL1阻断。

[0175] 图108描绘了在存在αB7H3 xαCD3 bsAb、CD3+T细胞和A)MDA-MB-231或B)DU145-NLR细胞的情况下,具有亲和力工程化的CD28结合结构域的αPDL1 xαCD28 bsAb对IL-2释放的诱导。数据显示,增加CD28亲和力导致αPDL1 xαCD28 bsAb更有效力且更有效的IL-2分泌。

[0176] 图109描绘了在存在αB7H3 xαCD3 bsAb、CD3+T细胞和PDL1^{低}LnCAP癌细胞的情况下,具有亲和力工程化的CD28结合结构域的αPDL1 xαCD28 bsAb对细胞杀伤的诱导。数据显

示,在低1:1E:T下,增加CD28亲和力增加了对PDL1^{低}癌细胞的靶向。

[0177] 图110描绘了在存在αB7H3 xαCD3 bsAb、CD3+T细胞和PDL1^{中}DU145细胞的情况下,具有亲和力工程化的CD28结合结构域的αPDL1 xαCD28 bsAb对细胞杀伤的诱导。数据显示,在甚至更低0.1:1E:T下,增加CD28亲和力增加了对PDL1^{中}癌细胞的靶向。

[0178] 图111描绘了在给予A)PBS对照、B)单价αPDL1 mAb XENP36627和C)具有增强的CD28结合亲和力的XENP37261的hPDL1-MC38移植的hCD28敲入小鼠中,单个小鼠的肿瘤体积(如通过卡尺测量所测定;经基线校正)随时间的变化,以及D)第28天的肿瘤体积。

[0179] 图112描绘了在存在αB7H3 xαCD3 bsAb、CD3+T细胞和DU145-NLR细胞的情况下,具有亲和力工程化的PDL1结合结构域的αPDL1 xαCD28 bsAb对IL-2释放的诱导。数据显示,增加PDL1亲和力促进IL-2分泌。

[0180] 图113描绘了在DC:T细胞MLR中,αPDL1 mAb XENP24118和具有增强的PDL1结合的αPDL1 xαCD28 bsAb XENP38514对A)IL2释放和B)IFNγ释放的诱导。数据显示,αPDL1 xαCD28增强了T细胞/APC相互作用。

[0181] 图114描绘了具有亲和力工程化的PDL1结合结构域的αPDL1 xαCD28 bsAb对PD1:PDL1的阻断(PDL1-mFc融合物与PD1转染的HEK293T细胞的结合)。数据显示,αPDL1 xαCD28 bsAb可阻断PD1与PDL1之间的相互作用。

[0182] 图115描绘了在存在SEB刺激的PBMC的情况下,具有亲和力工程化的CD28结合结构域和亲和力工程化的PDL1结合结构域的αPDL1 xαCD28 bsAb对IL-2释放的诱导。数据显示,增加PDL1亲和力促进IL-2分泌。

[0183] 图116描绘了在存在CD3+富集的T细胞、经转染以表达αCD3scFv(以充当信号1)的MDA-MB0231和1μg/mL例示性B7H3 x CD3bsAb的情况下,具有亲和力工程化的CD28结合结构域和亲和力工程化的PDL1结合结构域的αPDL1 xαCD28 bsAb对IL-2释放的诱导。数据显示,具有2G4_H1.12_L1.14的XENP40409(XENP40706的非Xtend类似物)最有效力地诱导IL2产生。

[0184] 图117描绘了在给予A)XENP36803(1X剂量、4X剂量和10X剂量)或B)XENP36764(4X剂量、10X剂量和20X剂量)之后,食蟹猴T细胞上的CD28受体占用(如二级CD28 mAb的结合减少所指示)。数据显示,T细胞上的CD28受体占用直至第14天。

[0185] 图118描绘了在给予A)XENP36803(1X剂量、4X剂量和10X剂量)或B)XENP36764(4X剂量、10X剂量和20X剂量)之后,食蟹猴T细胞上的PDL1受体占用(游离受体减少,如基于2G4的单臂PDL1 mAb的结合减少所指示)。

[0186] 图119A至图119B描绘了在给予A)XENP36803(1X剂量、4X剂量和10X剂量)或B)XENP36764(4X剂量、10X剂量和20X剂量)之后,食蟹猴T细胞的增殖(如Ki67表达增加所指示)。值得注意的是,PDL1 x CD28 bsAb选择性地诱导效应CD4+和CD8+T细胞(即CD45RA-)的增殖。

[0187] 图120描绘了在存在MDA-MB-231PDL1^{+}PDL2^{+}癌细胞(1:1E:T)的情况下,1μg/ml例示性B7H3 x CD3 bsAb与XENP37261、XENP40409和利用从共同轻链研究运动中获得的另外PDL1结合结构域的另外PDL1 x CD28 bsAb的组合对T细胞的A)IL-2分泌和B)IFNγ分泌的诱导。分别利用13G1和13G7 PDL1 CLC结合结构域的XENP42047和XENP42048表现出与XENP37261相似的效力和功效,而利用其他PDL1 CLC结合结构域的另外的bsAb的效力和/或

功效较低。

[0188] 图121描绘了在存在MDA-MB-231PDL1$^+$PDL2$^+$癌细胞(1:1E:T)的情况下,1μg/ml例示性B7H3 x CD3 bsAb与XENP37261、XENP40409和利用从共同轻链研究运动中获得的PDL2结合结构域的PDL2 x CD28 bsAb的组合对T细胞的A)IL-2分泌和B)IFNγ分泌的诱导。大多数PDL2 x CD28 bsAb(分别利用5C11、8G2、8G5和16G11 PDL2 CLC结合结构域的XENP42051、XENP42052、XENP42053和XENP42054),但并非全部(即,使用另一种高亲和力PDL2 CLC结合结构域的XENP42050)在诱导细胞因子释放方面的效力和/或功效与PDL1 x CD28 bsAb同等或更强。

[0189] 图122描绘了肿瘤细胞具有不同PDL1和PDL2表达水平以及PDL1 x CD28 bsAb、PDL1 x CD28和PDL2 x CD28 bsAb的组合以及PDL1 x PDL2 x CD28 triAb(呈1+1+1Fab-Fab-scFv格式,具有PDL1和PDL2 CLC结合结构域和CD28结合结构域)的相对结合能力的场景,并证明triAb靶向PDL1$^-$PDL2$^+$肿瘤(假设在可能的情况下达到饱和,即100%亲和力(没有切换到高浓度下可能发生的单价相互作用))。

[0190] 图123描绘了在存在CHO-PDL1细胞(1:1E:T)的情况下,1μg/ml例示性鼠B7H3 x CD3 bsAb与XENP40409、利用CLC PDL1结合结构域的PDL1 x CD28 bsAb(XENP42047和XENP42049)、利用CLC PDL2结合结构域的PDL2 x CD28 bsAb(XENP42051、XENP42052、XENP42053和XENP42054)、PDL1 x PDL2 x CD28 triAb(呈1+1+1堆叠Fab2-scFv-Fc格式,在底部具有PDL2)(XENP42324、XENP42325、XENP42326、XENP42327、XENP42328、XENP42329、XENP42330和XENP42331)、PDL1 x PDL2 x CD28 triAb(呈1+1+1堆叠Fab2-scFv-Fc格式,在底部具有PDL1)(XENP42332、XENP42333、XENP42334、XENP42335、XENP42336、XENP42337、XENP42338和XENP42339)以及PDL1 x PDL2 x CD28 triAb(呈1+1+1mAb-scFv格式)(XENP42340、XENP42341、XENP42342、XENP42343、XENP42344、XENP42345、XENP42346和XENP42347)的组合对T细胞IL-2分泌的诱导。

[0191] 图124描绘了在存在CHO-PDL2细胞(1:1E:T)的情况下,1μg/ml例示性鼠B7H3 x CD3 bsAb与XENP40409、利用CLC PDL1结合结构域的PDL1 x CD28 bsAb(XENP42047和XENP42049)、利用CLC PDL2结合结构域的PDL2 x CD28 bsAb(XENP42051、XENP42052、XENP42053和XENP42054)、PDL1 x PDL2 x CD28 triAb(呈1+1+1堆叠Fab2-scFv-Fc格式,在底部具有PDL2)(XENP42324、XENP42325、XENP42326、XENP42327、XENP42328、XENP42329、XENP42330和XENP42331)、PDL1 x PDL2 x CD28 triAb(呈1+1+1堆叠Fab2-scFv-Fc格式,在底部具有PDL1)(XENP42332、XENP42333、XENP42334、XENP42335、XENP42336、XENP42337、XENP42338和XENP42339)以及PDL1 x PDL2 x CD28 triAb(呈1+1+1mAb-scFv格式)(XENP42340、XENP42341、XENP42342、XENP42343、XENP42344、XENP42345、XENP42346和XENP42347)的组合对T细胞IL-2分泌的诱导。

[0192] 图125描绘了LCLC-103H、SNU-423和NCI-H460癌细胞上的相对PDL1、PDL2和B7H3表达水平。

[0193] 图126描绘了在存在A)LCLC-103H、B)SNU-423和C)NCI-H460癌细胞(1:1E:T)的情况下,1μg/ml例示性B7H3 x CD3 bsAb与XENP40409、利用从共同轻链研究运动中获得的PDL1结合结构域的PDL1 x CD28 bsAb(XENP42047和XENP42049)和利用从共同轻链以及运动中获得的PDL2结合结构域的PDL2 x CD28 bsAb(XENP42051、XENP42052、XENP42053和

XENP42054)的组合对T细胞IL-2分泌的诱导。每种bsAb对LCLC-103H和SNU-423均具活性,其中XPL1-13G1是最有效力的PDL1结合结构域(如在XENP42047中),并且8G2是最有效力的PDL2结合结构域(如在XENP42052中)。

[0194] 图127A至图127C描绘了在存在A)LCLC-103H、B)SNU-423和C)NCI-H460癌细胞(1:1E:T)的情况下,1μg/ml例示性B7H3 x CD3bsAb与PDL1 x PDL2 x CD28 triAb(呈1+1+1堆叠Fab2-scFv-Fc格式,在底部具有PDL2)(XENP42324、XENP42325、XENP42326、XENP42327、XENP42328、XENP42329、XENP42330和XENP42331)和PDL1 x PDL2 x CD28 triAb(呈1+1+1堆叠Fab2-scFv-Fc格式,在底部具有PDL1)(XENP42332、XENP42333、XENP42334、XENP42335、XENP42336、XENP42337、XENP42338和XENP42339)的组合对T细胞IL-2分泌的诱导。D)描绘了图例。

[0195] 图128描绘了CHO-PDL1细胞上基于各种PDL1和PDL2结合结构域的PDL1 x CD28和PDL2 x CD28 bsAb对PD-1的阻断。

[0196] 图129描绘了CHO-PDL2细胞上基于各种PDL1和PDL2结合结构域的PDL1 x CD28和PDL2 x CD28 bsAb对PD-1的阻断。

[0197] 图130A至图130C描绘了在存在LCLC103H-NLR细胞系以及PDL1阻断或PDL2阻断的情况下,例示性鼠B7H3 x CD3 bsAb与A)XENP42049 PDL1 x CD28、B)XENP42054 PDL2 x CD28和C)XENP43461 PDL1 x PDL2 x CD28的组合对T细胞IL-2分泌的诱导。

[0198] 图131描绘了利用RSV结合结构域的对照抗体。

[0199] 图132描绘了在用单独的例示性B7H3 x CD3 bsAb或其与IFNγ中和mAb的组合处理之后,与T细胞共培养的PC3细胞上的PDL1表达。CD3 bsAb通过促进IFNγ释放诱导PDL1和PDL2表达。

[0200] 图133A至图133C描绘了与PC3细胞共培养然后用指示抗体(单独的例示性B7H3 x CD3 bsAb或其与XENP40409的组合)处理A)1天、B)2天和c)5天的T细胞的IFNγ分泌。随着PDL1表达增加,CD3 bsAb随着时间的推移与PDL1 x CD28产生协同作用。

[0201] 图134描绘了在与PBS、XENP43456(PDL1 x PDL2 X RSV)或抗PD1 mAb一起孵育后,混合淋巴细胞反应(n=14)中IFNγ释放的诱导(处理后5天)。PDL1和PDL2阻断在功能上等同于PD1阻断。

[0202] 图135描绘了用指示风干αCD28二价抗体(TGN1412或1A7来源的)处理的PBMC的IFNγ释放(处理后1天)。1A7来源的抗CD28表位缺乏超激动特性。

[0203] 图136A至图136B描绘了与A)PDL1^{高}MDA-MB-231癌细胞(1:1效应物:靶标比率;约130,000PDL1抗原)和B)PDL1^{低}LNCaP(10:1效应物:靶标比率;约13,000PDL1抗原)共培养并用指示浓度的指示PDL1 x PDL2 x CD28 triAb与例示性B7H3 x CD3 bsAb的组合处理的T细胞对IL2释放的诱导。PDL1 x PDL2 x CD28 triAb增强了高PDL1和低PDL1癌细胞上的IL-2释放。

[0204] 图137A至图137B描绘了与A)PDL1^{高}MDA-MB-231癌细胞(1:50效应物:靶标比率;约130,000PDL1抗原)和B)PDL1^{低}LNCaP(10:1效应物:靶标比率;约13,000PDL1抗原)共培养并用指示浓度的单独的例示性B7H3 x CD3 bsAb或其与1μg/ml指示PDL1 x PDL2 xCD28 triAb的组合处理的T细胞对重定向T细胞细胞毒性(RTCC;如通过处理后5天的发光所确定)的诱导。PDL1 x PDL2 x CD28 triAb在低效应物与靶标比率下以及低PDL1癌细胞上增强了

重定向T细胞细胞毒性。

[0205] 图138A至图138B描绘了来自A)第一和B)第二CMV+PBMC供体的与A431-β2M缺失细胞或稳定表达HLA-A2、β2M和NLV肽的融合物的A431-β2M缺失细胞共培养并用PDL1 x PDL2 x CD28、PDL1 x PDL2 x RSV或RSV x CD28处理的T细胞对IL2释放的诱导(处理后24小时)。

[0206] 图139A和图139B描绘了XENP43734和XENP43735(分别是小鼠替代物PDL1 x PDL2 x CD28和PDL1 x PDL2 x RSV triAb)的序列。应当注意,XENP43735可被视为XENP43461(不含Xtend)的小鼠替代物。

[0207] 图140A至图140D描绘了在给予A)PBS对照、B)抗小鼠PD1mAb和C)XENP43735(小鼠替代物PDL1 x PDL2 x RSV triAb对照)和D)XENP43734(小鼠替代物PDL1 x PDL2 x CD28 triAb,类似于XENP43461(不含Xtend))的hPDL1(高)-MC38移植的hCD28敲入小鼠中,单个小鼠的肿瘤体积(如通过卡尺测量所测定)随时间的变化。箭头表示给药天数。

[0208] 图141描绘了二价PD-1mAb或XENP43456 PDL1 x PDL2 x RSV triAb对与A431-αCD3一起孵育的Jurkat-PD1细胞上PD1:PDL1和PD1:PDL2的阻断。

[0209] 图142A至图142E描绘了在给予A)PBS对照、B)例示性B7H3x CD3 bsAb(0.5mg/kg)、C)PDL1 x PDL2 x CD28 XENP44676与B7H3x CD3 bsAb的组合(分别为5mg/kg和0.5mg/kg)、D)对照PDL1 xPDL2 x RSV XENP44796与B7H3 x CD3 bsAb的组合(分别为5mg/kg和0.5mg/kg)或E)对照RSV x RSV x CD28 XENP44797与B7H3 xCD3 bsAb的组合(分别为5mg/kg和0.5mg/kg)的MDA-MB-231和huPBMC移植的NSG-DKO小鼠中,单个小鼠的肿瘤体积(如通过卡尺测量所测定)随时间的变化。

[0210] 图143描绘了在给予A)PBS对照、B)例示性B7H3 x CD3 bsAb(0.5mg/kg)、C)PDL1 x PDL2 x CD28 XENP44676与B7H3 x CD3 bsAb的组合(分别为5mg/kg和0.5mg/kg)、D)对照PDL1 x PDL2 x RSV XENP44796与B7H3 x CD3 bsAb的组合(分别为5mg/kg和0.5mg/kg)或E)对照RSV x RSV x CD28 XENP44797与B7H3 x CD3 bsAb的组合(分别为5mg/kg和0.5mg/kg)之后,单个MDA-MB-231和huPBMC移植的NSG-DKO小鼠在第39天的肿瘤体积(如通过卡尺测量所测定)。

[0211] 图144描绘了在第一次给药后第7天在给予A)PBS对照、B)例示性B7H3 x CD3 bsAb(0.5mg/kg)、C)PDL1 x PDL2 x CD28XENP44676与B7H3 x CD3 bsAb的组合(分别为5mg/kg和0.5mg/kg)、D)对照PDL1 x PDL2 x RSV XENP44796与B7H3 x CD3 bsAb的组合(分别为5mg/kg和0.5mg/kg)或E)对照RSV x RSV x CD28XENP44797与B7H3 x CD3 bsAb的组合(分别为5mg/kg和0.5mg/kg)的MDA-MB-231和huPBMC移植的NSG-DKO小鼠的血液中的CD3+细胞计数。

[0212] 图145描绘了亲和力工程化的抗PDL1克隆13G7对人PDL1的K_D结合常数、缔合常数(k_a)和解离常数(k_d)。

[0213] 图146描绘了亲和力工程化的抗PDL1克隆13G7对食蟹猴PDL1的K_D结合常数、缔合常数(k_a)和解离常数(k_d)。

[0214] 图147描绘了亲和力工程化的抗PDL2克隆16G11对人PDL2的K_D结合常数、缔合常数(k_a)和解离常数(k_d)。

[0215] 图148描绘了亲和力工程化的抗PDL2克隆16G11对食蟹猴PDL2的K_D结合常数、缔合常数(k_a)和解离常数(k_d)。

[0216] 图149描绘了亲和力工程化的抗PDL1克隆1A3A4.248对人PDL1的K_D结合常数、缔合常数(k_a)和解离常数(k_d)。

[0217] 图150描绘了亲和力工程化的抗PDL1克隆1A3A4.248对食蟹猴PDL1的K_D结合常数、缔合常数(k_a)和解离常数(k_d)。

[0218] 图151描绘了亲和力工程化的抗PDL2克隆1F12A4.249(第1轮)对人PDL2的K_D结合常数、缔合常数(k_a)和解离常数(k_d)。

[0219] 图152描绘了亲和力工程化的抗PDL2克隆1F12A4.249(第1轮)对食蟹猴PDL2的K_D结合常数、缔合常数(k_a)和解离常数(k_d)。

[0220] 图153A至图153B描绘了亲和力工程化的抗PDL2克隆1F12A4.249(第2轮)对人PDL2的K_D结合常数、缔合常数(k_a)和解离常数(k_d)。

[0221] 图154A至图154B描绘了亲和力工程化的抗PDL2克隆1F12A4.249(第2轮)对食蟹猴PDL2的K_D结合常数、缔合常数(k_a)和解离常数(k_d)。

[0222] 图155描绘了在存在A)LnCAP(PDL1^{低}PDL2^{缺失})、B)DU145(PDL1^{中}PDL2^{缺失})或C)LCLC103H(PDL1^{高}PDL2^{中})肿瘤细胞的情况下,1μg/mL例示性B7H3 x CD3 bsAb与呈1+1+1Fab-(Fab-scFv)-Fc(其中CD28 scFv呈VHVL或VLVH取向)、1+1+1堆叠Fab_2-scFv-Fc和1+1+1mAb-scFv格式的PDL1 x PDL2 x CD28的组合对IL-2分泌的诱导。

[0223] 图156描绘了在存在DU145(PDL1^{中}PDL2^{缺失})肿瘤细胞(1:1效应物:靶标比率)的情况下,1μg/mL例示性B7H3 x CD3 bsAb与呈1+1+1堆叠Fab_2-scFv-Fc与WT scFv(XENP43461)或与钉合scFv(XENP43462)的PDL1 x PDL2 x CD28的组合对IL-2分泌的诱导。

[0224] 图157描绘了在存在DU145肿瘤细胞的情况下,1μg/mL例示性B7H3 x CD3 bsAb与呈各种格式和取向的利用1A7或1A3 CD28结合结构域的PDL1 x PDL2 x CD28的组合对IL-2分泌的诱导。数据显示,具有1A7结合结构域的XENP43461的表现优于所有格式的具有1A3结合结构域的triAb(PDL1和PDL2结合结构域相匹配)。

[0225] 图158描绘了在存在DU145肿瘤细胞的情况下,1μg/mL例示性B7H3 x CD3 bsAb与利用具有种系VL和亲和力优化的VH的1A7的PDL1 x PDL2 x CD28的组合对IL-2分泌的诱导。数据显示,几种全CLC triAb实现与XENP43465的效力相当的效力。

[0226] 图159描绘了在存在DU145肿瘤细胞的情况下,1μg/mL例示性B7H3 x CD3 bsAb与利用具有种系VL和亲和力优化的VH的1A7的PDL1 x PDL2 x CD28的组合对IL-2分泌的诱导的EC50,以及亲和力工程化的1A7结合结构域对CD28结合的单价K_D。数据显示,几种全CLC triAb实现与XENP43465的效力相当的效力。

[0227] 图160描绘了在存在Caki-1肿瘤细胞(1:1效应物:靶标)的情况下,1μg/mL例示性B7H3 x CD3 bsAb与利用1A7或1A3来源的CD28结合结构域的PDL1 x PDL2 x CD28的组合对IL-2分泌的诱导。数据显示,基于1A7的全CLC triAb比基于1A3的全CLC triAb更有效力且更有效。

[0228] 图161A至图161C描绘了新型PDL1结合结构域克隆2A3A4.248,以及可与L1(应当注意,L1是IGKV1-39种系序列)配对的例示性的亲和力工程化的VH 2A3A4.248_H1.9(另外的变体描绘为SEQ ID NO:3235-3266)。另外,描绘了1F12A4.249 VH的共有框架区(FR)和互补决定区(CDR)。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划

线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0229] 图162A至图162G描绘了新型PDL2结合结构域克隆1F12A4.249,以及可与L1(应当注意,L1是IGKV1-39种系序列)配对的例示性的亲和力工程化的VH 1F12A4.249_H1.45(另外的变体描绘为SEQ ID NO:3267-3353)。另外,描绘了1F12A4.249 VH的共有框架区(FR)和互补决定区(CDR)。如本文所指出并且对本文中含有CDR的每一序列而言确实如此,如表2所示,取决于所使用的编号,CDR位置的精确标识可能略微不同,并且因此本文中不仅包括加下划线的CDR并且还包括使用其他编号系统的VH和VL结构域内所包括的CDR。此外,对于图中的所有序列,这些VH和VL序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0230] 图163A至图163B描绘了经亲和力工程化以与IGKV1-39种系序列配对的新型1A7 VH,以及共有框架区(FR)和互补决定区(CDR)。

[0231] 图164A至图164D描绘了具有工程化半胱氨酸以实现二硫键稳定化的例示性的基于1A7的scFv。

[0232] 图165描绘了在不同CD28多特异性抗体情形下从不同实验中获得的有或无二硫键稳定化(如由[S-S]表示)的另外的1A7 scFv变体的CD28亲和力。

[0233] 图166描绘了二硫键稳定化的1A7 scFv的热稳定性的增加。

具体实施方式

[0234] I.概述

[0235] 本文提供了新型抗PD-L1、抗PD-L2和抗CD28抗体,包括新型抗CD28 x抗PD-L1和抗CD28 x抗PD-L2双特异性抗体,以及新型抗CD28 x抗PD-L1 x抗PD-L2三特异性抗体。本文还提供了制备此类抗体以及使用此类抗体治疗癌症的方法。主题双特异性和三特异性抗体能够激动性地结合至T细胞上的CD28共刺激分子并靶向肿瘤细胞上的PD-L1和/或PD-L2。因此,此类抗体选择性地增强肿瘤部位处的抗肿瘤活性,同时最小化外周毒性。本文提供的主题抗体在与其他抗癌疗法组合使用时对于增强抗肿瘤活性特别有用。

[0236] 因此,在一方面,本文提供了结合至两种或三种不同抗原的异二聚抗体。在一些实施方案中,抗体是“双特异性的”,并且结合两种不同的靶抗原,通常是如下所述的CD28和PD-L1或CD28和PD-L2。在一些实施方案中,抗体是“三特异性的”,并且结合三种不同的靶抗原,通常是如下所述的CD28、PD-L1和PD-L2。这些异二聚抗体可单价地(例如,存在单个抗原结合结构域,诸如可变重结构域和可变轻结构域对)或二价地(存在各自独立地结合抗原的两个抗原结合结构域)结合靶抗原中的每一者。在一些实施方案中,本文提供的异二聚抗体包含1)一个CD28结合结构域,和2)一个PD-L1或一个PD-L2结合结构域(例如,本文所述的呈“1+1Fab-scFv-Fc”格式的异二聚抗体)。在其他实施方案中,本文提供的异二聚抗体包含1)一个CD28结合结构域,和2)两个PD-L1或PD-L2结合结构域(例如,本文所述的呈“2+1Fab_2-scFv-Fc”格式的异二聚抗体)。在一些实施方案中,本文提供的异二聚抗体是三特异性抗体,其包含三个不同的抗原结合结构域,每个抗原结合结构域结合不同的靶抗原,通常是PD-L1、PD-L2和CD28(例如,呈“1+1+1堆叠Fab_2-scFv-Fc”、“1+1+1Fab-(Fab-scFv)-Fc”、“1+1+1mAb-scFv”和“1+1+1堆叠Fab_2-Fab-Fc”格式的异二聚抗体,图83)。本文提供的异二聚抗体是基于使用不同的含有氨基酸取代的单体(即,“偏斜变体”),使得偏向于形成异二聚体

(heterodimer)而非同二聚体(homodimer),如下文更全面地概述的。在一些实施方案中,异二聚体抗体还与“pI变体”偶联,从而允许简单地从同二聚体中纯化异二聚体,如下文类似地概述的。所提供的异二聚双特异性抗体通常依赖于使用可在生产细胞中自组装以产生异二聚蛋白的工程化或变体Fc结构域,以及产生和纯化此类异二聚蛋白的方法。

[0237] II.命名法

[0238] 本文提供的抗体以若干种不同的格式列出。在一些情况下,特定抗体中的每个单体被给予唯一的“XENP”编号,但是如本领域将理解的,较长的序列可能含有较短的XENP编号。例如,1+1Fab-scFv-Fc格式抗体的“scFv-Fc”单体可能具有第一XENP编号,而scFv结构域本身将具有不同的XENP编号。一些分子具有三个多肽,因此使用XENP编号和组分作为名称。因此,呈2+1Fab_2-scFv-Fc格式的分子XENP34961包含三个序列(参见图85A):“Fab-Fc重链”单体(“链1”);2)“Fab-scFv-Fc重链”单体(“链2”);和3)“轻链”单体或等同物,但是本领域技术人员将能够通过序列比对容易地鉴定这些序列。这些XENP编号处于序列表以及标识符中,并且在附图中使用。另外,一个包含三种组分的分子产生多个序列标识符。例如,Fab的列表包括全重链序列、可变重结构域序列和可变重结构域序列的三个CDR、全轻链序列、可变轻结构域序列和可变轻结构域序列的三个CDR。Fab-scFv-Fc单体包括全长序列、可变重结构域序列、3个重链CDR序列和scFv序列(包括scFv可变重结构域序列、scFv可变轻结构域序列和scFv接头)。应当注意,本文中具有scFv结构域的一些分子使用单个带电荷的scFv接头(+H),但也可使用其他接头。另外,特定抗原结合结构域(例如,PD-L1、PD-L2和CD28结合结构域)的术语命名法使用“Hx.xx_Ly.yy”或“Hx.xxLy.yy”类格式,其中编号作为特定可变链序列的唯一标识符。因此,PD-L1结合结构域2G4[PDL1]的Fab侧的可变结构域(例如,图17)是“H1L1”,这指示可变重结构域H1与轻结构域L1组合。在这些序列用作scFv的情况下,名称“H1_L1”或“H1L1”指示可变重结构域H1与轻结构域L1组合,并且从N末端至C末端呈VH-接头-VL取向。具有相同的重可变结构域序列和轻可变结构域序列但顺序逆转(从N末端至C末端是VL-接头-VH取向)的这种分子将被标示为“L1_H1”。类似地,不同构建体可能“混合和匹配”重链和轻链,如从序列表和附图中将显而易见的。

[0239] III.定义

[0240] 为了更完全地理解本申请,下面阐述了几个定义。此类定义意在涵盖语法等同物。

[0241] 本文中的“CD28”、“分化簇28”和“Tp44”(例如,Genebank登录号NP_001230006(人)、NP_001230007(人)、NP_006130(人)和NP_031668(小鼠))意指在T细胞上表达的B7受体,其提供T细胞活化和存活所需的共刺激信号。除了T细胞受体(TCR)以外,通过CD28进行的T细胞刺激还为各种白细胞介素的产生提供了有力的信号。CD28是CD80(B7.1)和CD86(B7.2)蛋白的受体。CD28包含具有YMNM基序的细胞间结构域,所述基序对于募集含SH2结构域的蛋白质(特别是PI3K)至关重要。CD28还包含两个富含脯氨酸的结构域,所述基序能够结合含SH3的蛋白质。示例性CD28序列描绘于图1中。

[0242] 本文中的“消融”是指活性的降低或消除。因此,例如,“消融Fc γR结合”意指与不含有特定变体的Fc区相比,Fc区氨基酸变体具有小于50%的起始结合,活性损失超过70%-80%-90%-95%-98%是优选的,并且一般来说,活性低于Biacore、SPR或BLI测定中可检测的结合水平。在消融Fc γR结合方面特别有用的是图5所示的那些,通常将它们添加到两个单体中。

[0243] 如本文所用,“ADCC”或“抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”意指表达Fc γ R的非特异性细胞毒性细胞识别靶细胞上的结合抗体并且随后引起靶细胞溶解的细胞介导反应。ADCC与Fc γ RIIIa的结合相关;与Fc γ RIIIa的结合增加会导致ADCC活性的增加。

[0244] 如本文所用,“ADCP”或抗体依赖性细胞介导的吞噬意指其中表达Fc γ R的非特异性吞噬细胞识别靶细胞上的结合抗体并且随后引起靶细胞吞噬的细胞介导反应。

[0245] 如本文所用,术语“抗体”以通用方式使用。本文提供的抗体可采取如本文所述的多种格式,包括本文所述的传统抗体以及抗体衍生物、片段和模拟物。

[0246] 传统的免疫球蛋白(Ig)抗体是“Y”形四聚体。每个四聚体通常由两对相同的多肽链构成,每对具有一个“轻链”单体(通常分子量为约25kDa)和一个“重链”单体(通常分子量为约50-70kDa)。

[0247] 有用的双特异性抗体格式包括但不限于本文提供的“1+1Fab-scFv-Fc”、“2+1Fab_2-scFv-Fc”、“1+1共同轻链”和“2+1共同轻链”格式(参见,例如,图82)。有用的三特异性抗体格式包括但不限于1+1+1堆叠Fab_2-scFv-Fc”、“1+1+1Fab-(Fab-scFv)-Fc”、“1+1+1mAb-scFv”和“1+1+1堆叠Fab_2-Fab-Fc”格式(参见,例如,图83)。另外的有用的抗体格式包括但不限于如US20180127501A1所公开的“mAb-Fv”、“mAb-scFv”、“中心Fv”、“单臂scFv-mAb”、“scFv-mAb”、“双重scFv”和“三叉”格式抗体,所述专利以引用的方式并入本文,特别是与抗体格式有关的相关部分(参见,例如,图2)。

[0248] 抗体重链通常包含可变重(VH)结构域(包括vhCDR1-3)和Fc结构域(包括CH2-CH3单体)。在一些实施方案中,抗体重链包含铰链和CH1结构域。传统的抗体重链是从N末端至C末端如下组织的单体:VH-CH1-铰链-CH2-CH3。CH1-铰链-CH2-CH3统称为抗体的重链“恒定结构域”或“恒定区”,其中有五种不同的类别或“同种型”:IgA、IgD、IgG、IgE和IgM。

[0249] 在一些实施方案中,本文提供的抗体包含IgG同种型恒定结构域,所述IgG同种型恒定结构域具有若干亚类,包括但不限于IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。在免疫球蛋白IgG亚类中,重链中存在若干免疫球蛋白结构域。本文中的“免疫球蛋白(Ig)结构域”意指具有不同三级结构的免疫球蛋白的区域。本发明关注的是重链结构域,包括恒定重(CH)结构域和铰链结构域。在IgG抗体的情形中,IgG同种型各自具有三个CH区。因此,在IgG的情形中,“CH”结构域如下:“CH1”是指根据如Kabat中的EU索引的位置118-215。“铰链”是指根据如Kabat中的EU索引的位置216-230。“CH2”是指根据如Kabat中的EU索引的位置231-340,并且“CH3”是指根据如Kabat中的EU索引的位置341-447。如表1所示,重链结构域的确切编号和位置在不同的编号系统中可有所不同。如本文所示和下文所述,pI变体可处于CH区的一个或多个CH区以及铰链区中,如下文所讨论。

[0250] 应当注意,IgG1具有不同的同种异型,在356(D或E)和358(L或M)处具有多态性。本文所描绘的序列使用356E/358M同种异型,然而本文中包括其他同种异型。也就是说,本文所包括的包括IgG1Fc结构域的任何序列可能具有356D/358L,替代356E/358M同种异型。应当理解,治疗性抗体还可包含同种型和/或亚类的杂合体。例如,如以引用的方式并入的美国公布2009/0163699所示,在一些实施方案中,本发明的抗体包括人IgG1/G2杂合体。

[0251] 如本文所用,“Fc”或“Fc区”或“Fc结构域”意指这样的多肽:包含抗体的恒定区,在一些情况下,不包含第一恒定区免疫球蛋白结构域(例如,CH1)的全部或其一部分,并且在一些情况下,任选地包含铰链的全部或一部分。对于IgG,Fc结构域包含免疫球蛋白结构域

CH2和CH3(Cγ2和Cγ3),以及任选的CH1(Cγ1)和CH2(Cγ2)之间的铰链区的全部或一部分。因此,在一些情况下,Fc结构域从N末端至C末端包含CH2-CH3和铰链-CH2-CH3。在一些实施方案中,Fc结构域是来自IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的Fc结构域,其中IgG1铰链-CH2-CH3和IgG4铰链-CH2-CH3在许多实施方案中有特别用途。另外,在人IgG1 Fc结构域的情况下,铰链可以包含C220S氨基酸取代。另外,在人IgG4 Fc结构域的情况下,铰链可以包含S228P氨基酸取代。尽管Fc区的边界可以变化,但人IgG重链Fc区通常被定义成在其羧基末端包含残基E216、C226或A231,其中编号是根据如Kabat中的EU索引。在一些实施方案中,如下文更全面地描述,对Fc区进行氨基酸修饰,例如以改变与一种或多种FcγR或FcRn的结合。

[0252] 本文中的“重链恒定区”意指抗体(或其片段)的CH1-铰链-CH2-CH3部分,不包括可变重结构域;在人IgG1的EU编号中,此为氨基酸118-447。本文中的“重链恒定区片段”意指含有较少来自N末端或C末端中任一端或两端的氨基酸但仍保留与另一重链恒定区形成二聚体的能力的重链恒定区。

[0253] 重链的另一种类型的结构域是铰链区。本文中的“铰链”或“铰链区”或“抗体铰链区”或“铰链结构域”意指包含抗体的第一恒定结构域与第二恒定结构域之间的氨基酸的柔性多肽。在结构上,IgG CH1结构域在EU位置215处终止,并且IgG CH2结构域在残基EU位置231处开始。因此,对于IgG,抗体铰链在本文中被定义成包括位置216(IgG1中的E216)至230(IgG1中的P230),其中编号是根据如Kabat中的EU索引。在一些情况下,使用“铰链片段”,其在铰链结构域的N末端和C末端中一端或两端处含有较少的氨基酸。如本文所指出,还可在铰链区中制备pI变体。本文许多抗体在根据EU编号(铰链区)的位置220处至少有一个半胱氨酸被丝氨酸替代。一般来说,这种修饰在本文所描绘的大多数序列的“scFv单体”侧上,但是其也可以在“Fab单体”侧上或在两者上以减少二硫键形成。本文序列中特别包括这些半胱氨酸中的一个或两个被替代(C220S)。

[0254] 如本领域技术人员将理解的,重链恒定区结构域(即,CH1、铰链、CH2和CH3结构域)的确切编号和位置在不同的编号系统中可有所不同。对根据EU和Kabat的重恒定区编号的有用比较如下,参见Edelman等人,1969,Proc Natl Acad Sci USA63:78-85以及Kabat等人,1991,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,United States Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,所述文献以引用的方式整体并入。

[0255] 表1

[0256]

	EU编号	Kabat编号
CH1	118-215	114-223
铰链	216-230	226-243
CH2	231-340	244-360
CH3	341-447	361-478

[0257] 抗体轻链通常包含两个结构域:可变轻结构域(VL),所述VL包含轻链CDR vlCDR1-3;和恒定轻链区(通常称为CL或Cκ)。抗体轻链通常从N末端至C末端如下组织:VL-CL。

[0258] 本文中的“抗原结合结构域”或“ABD”意指一组六个互补决定区(CDR)在作为多肽序列的一部分存在时特异性地结合如本文所讨论的靶抗原(例如,PD-L1或CD28)。如本领域所已知,这些CDR通常作为第一组可变重CDR(vhCDR或VHCDR)和第二组可变轻CDR(vlCDR或

VLCDR)存在,各组CDR包含三个CDR:vhCDR1、vhCDR2、vhCDR3可变重CDR,以及vlCDR1、vlCDR2和vlCDR3 vhCDR3可变轻CDR。CDR存在于可变重结构域(vhCDR1-3)和可变轻结构域(vlCDR1-3)中。可变重结构域和可变轻结构域来自Fv区。

[0259] 本发明提供了大量的不同CDR组。在这种情况下,"全CDR组"包含三个可变轻CDR和三个可变重CDR,例如vlCDR1、vlCDR2、vlCDR3、vhCDR1、vhCDR2和vhCDR3。这些可分别是较大的可变轻结构域或可变重结构域的一部分。另外,如本文更全面地概述的,当使用重链和轻链时(例如当使用Fab时),可变重结构域和可变轻结构域可处于单独的多肽链上,或在scFv序列的情况下处于单个多肽链上。

[0260] 如本领域技术人员将理解的,CDR的确切编号和位置在不同的编号系统中可有所不同。然而,应当理解,对可变重序列和/或可变轻序列的公开包括对相关联的(固有的)CDR的公开。因此,对每个可变重区的公开是对vhCDR(例如,vhCDR1、vhCDR2和vhCDR3)的公开,并且对每个可变轻区的公开是对vlCDR(例如,vlCDR1、vlCDR2和vlCDR3)的公开。CDR编号的有用比较如下,参见Lafranc等人,Dev.Comp.Immunol.27(1):55-77(2003):

[0261] 表2

[0262]

	Kabat+ Chothia	IMGT	Kabat	AbM	Chothia	Contact	Xencor
vhCDR1	26-35	27-38	31-35	26-35	26-32	30-35	27-35
vhCDR2	50-65	56-65	50-65	50-58	52-56	47-58	54-61
vhCDR3	95-102	105-117	95-102	95-102	95-102	93-101	103-116
vlCDR1	24-34	27-38	24-34	24-34	24-34	30-36	27-38
vlCDR2	50-56	56-65	50-56	50-56	50-56	46-55	56-62
vlCDR3	89-97	105-117	89-97	89-97	89-97	89-96	97-105

[0263] 在本说明书通篇中,当提及可变结构域中的残基(大致是轻链可变区的残基1-107和重链可变区的残基1-113)以及用于Fc区的EU编号系统时,通常使用Kabat编号系统(例如Kabat等人,见上文(1991))。

[0264] CDR有助于形成抗原结合结构域和抗体的抗原结合位点,或更具体地说,表位结合位点。"表位"是指与称为互补位的抗体分子可变区中的特定抗原结合位点相互作用的决定簇。表位是诸如氨基酸或糖侧链的分子的组,并且通常具有特定的结构特征以及特定的电荷特征。单个抗原可以具有超过一个表位。

[0265] 表位可以包含直接参与结合的氨基酸残基(也称为表位的免疫显性组分)和不直接参与结合的其他氨基酸残基,诸如被特异性抗原结合肽有效阻断的氨基酸残基;换句话说,氨基酸残基在特异性抗原结合肽的覆盖面积内。

[0266] 表位可以是构象的或线性的。构象表位是由来自线性多肽链不同区段的空间并置的氨基酸产生的。线性表位是由多肽链中的相邻氨基酸残基产生的表位。构象和非构象表位的区别可在于在变性溶剂存在下,与前者的结合丧失,与后者的结合不丧失。

[0267] 在独特的空间构象中,表位典型地包含至少3个并且更通常地至少5个或8-10个氨基酸。识别同一表位的抗体可用简单的免疫测定来验证,所述免疫测定显示一个抗体阻断另一抗体与靶抗原结合的能力,例如"分箱(binning)"。如下文所概述,本发明不仅包括本文所枚举的抗原结合结构域和抗体,还包括竞争与所枚举的抗原结合结构域所结合的表位

的结合的抗原结合结构域和抗体。

[0268] 在一些实施方案中,抗原结合结构域的六个CDR源自可变重结构域和可变轻结构域。在“Fab”格式中,一组6个CDR源自两个不同的多肽序列、可变重结构域(vh或VH;含有vhCDR1、vhCDR2和vhCDR3)和可变轻结构域(vl或VL;含有vlCDR1、vlCDR2和vlCDR3),vh结构域的C末端连接至重链的CH1结构域的N末端并且vl结构域的C末端连接至恒定轻结构域的N末端(并且因此形成轻链)。在scFv格式中,vh和vl结构域通常通过使用如本文所概述的接头(“scFv接头”)共价连接成单个多肽序列,该多肽序列可以是(从N末端开始)vh-接头-vl或vl-接头-vh,前者通常是优选的(包括每侧上的任选的结构域接头,这取决于所使用的格式)(例如,来自图26)。一般来说,scFv结构域的C末端连接至第二单体中铰链的N末端。

[0269] 如本文所用,“可变区”或“可变结构域”意指免疫球蛋白中包含基本上由分别构成κ、λ和重链免疫球蛋白基因座的任何Vκ、Vλ和/或VH基因编码的一个或多个Ig结构域并且含有赋予抗原特异性的CDR的区域。因此,“可变重结构域”与“可变轻结构域”配对以形成抗原结合结构域(“ABD”)。另外,每个可变结构域包含从氨基末端至羧基末端按以下顺序布置的三个高变区(“互补决定区”,“CDR”)(可变重结构域的vhCDR1、vhCDR2和vhCDR3,以及可变轻结构域的vlCDR1、vlCDR2和vlCDR3)和四个框架(FR)区:FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。

[0270] 如本文所用,“Fab”或“Fab区”意指包含VH、CH1、VL以及CL免疫球蛋白结构域的抗体区,所述结构域通常在两条不同的多肽链上(例如,VH-CH1在一条链上而VL-CL在另一条链上)。Fab可以指分离情况下的这个区或本发明的双特异性抗体的情形中的这个区。在Fab的情形中,除了CH1和CL结构域以外,Fab还包含Fv区。

[0271] 如本文所用,“Fv”或“Fv片段”或“Fv区域”意指包含VL结构域和VH结构域的抗体区。Fv区可成格式为两个Fab(如上文所讨论,通常是也包含如上文所概述的恒定区的两个不同多肽)和单链Fvs(scFv),其中vl和vh结构域包含在单个肽中,通常用如本文所讨论的接头连接。

[0272] 本文中的“单链Fv”或“scFv”意指通常使用如本文所讨论的scFv接头来共价连接至可变轻结构域以形成scFv或scFv结构域的可变重结构域。scFv结构域从N末端至C末端可呈任一取向(vh-接头-vl或vl-接头-vh)。在序列表和附图所描绘的序列中,vh和vl结构域的顺序以名称指示,例如,H.X_L.Y意指N末端至C末端为vh-接头-vl,并且L.Y_H.X意指N末端至C末端为vl-接头-vh。

[0273] 本文提供的主题抗体的一些实施方案包含至少一个scFv结构域,所述至少一个scFv结构域虽然不是天然存在的但是通常包含通过scFv接头连接在一起的可变重结构域和可变轻结构域。如本文所概述,虽然scFv结构域通常从N末端至C末端取向为VH-scFv接头-VL,但是对于任何scFv结构域(或使用Fab的vh和vl序列构建的scFv结构域),这可逆转为VL-scFv接头-VH,取决于格式在一端或两端具有任选的接头。

[0274] 本文中“修饰”或“变体”意指多肽序列中的氨基酸取代、插入和/或缺失,或对化学连接至蛋白质的部分的改变。例如,修饰可以是改变连接至蛋白质的碳水化合物或PEG结构。本文中的“氨基酸修饰”意指多肽序列中的氨基酸取代、插入和/或缺失。为清楚起见,除非另外指出,否则氨基酸修饰总是针对由DNA编码的氨基酸,例如具有DNA和RNA中的密码子的20种氨基酸。

[0275] 本文中的“氨基酸取代”或“取代”意指用不同的氨基酸替代亲本多肽序列中特定位置的氨基酸。特别地,在一些实施方案中,取代是针对并非天然存在于特定位置、并非天然存在于生物体内或在任何生物体内的氨基酸。例如,取代E272Y是指变体多肽,在这一情况下是指Fc变体,其中位置272处的谷氨酸被酪氨酸替代。为清楚起见,已经被工程化以改变核酸编码序列但不改变起始氨基酸(例如,将CGG(编码精氨酸)换成CGA(仍然编码精氨酸)以增加宿主生物体表达水平)的蛋白质不是“氨基酸取代”;也就是说,尽管产生编码相同蛋白质的新基因,但是如果蛋白质在其开始的特定位置处具有相同氨基酸,则所述蛋白质不是氨基酸取代。

[0276] 如本文所用,“氨基酸插入”或“插入”意指在亲本多肽序列中的特定位置处添加氨基酸序列。例如,-233E或233E表示在位置233之后和位置234之前插入谷氨酸。另外,-233ADE或A233ADE表示在位置233之后和位置234之前插入AlaAspGlu。

[0277] 如本文所用,“氨基酸缺失”或“缺失”是指去除亲本多肽序列中特定位置处的氨基酸序列。例如,E233-或E233#、E233()或E233del表示位置233处的谷氨酸的缺失。另外,EDA233-或EDA233#表示从位置233开始的序列GluAspAla的缺失。

[0278] 如本文所用,“变体蛋白质”或“蛋白质变体”或“变体”意指由于至少一个氨基酸修饰而与亲本蛋白质不同的蛋白质。与亲本蛋白质相比,蛋白质变体具有至少一个氨基酸修饰,但并没有太多,以致于使得用如下所述的比对程序,变体蛋白质将不与亲本蛋白质对齐。一般来说,使用下文描述的比对程序(诸如BLAST),变体蛋白质(诸如本文概述的变体Fc结构域等)通常与亲本蛋白质至少75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一。

[0279] 如本文所用,“变体”还指赋予特定功能的特定氨基酸修饰(例如,“异二聚化变体”、“pI变体”、“消融变体”等)。

[0280] 如下所述,在一些实施方案中,亲本多肽,例如Fc亲本多肽是人野生型序列,诸如来自IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的重恒定结构域或Fc区,但是具有变体的人序列也可用作“亲本多肽”,例如可包括美国公布2006/0134105的IgG1/2杂合体。本文中的蛋白质变体序列将与亲本蛋白质序列优选地拥有至少约80%同一性,并且最优选地至少约90%同一性,更优选地至少约95%-98%-99%同一性。因此,如本文所用,“抗体变体”或“变体抗体”意指由于至少一个氨基酸修饰而与亲本抗体不同的抗体,如本文所用,“IgG变体”或“变体IgG”意指由于至少一个氨基酸修饰而与亲本IgG(再次,在许多情况下,来自人IgG序列)不同的抗体,并且如本文所用,“免疫球蛋白变体”或“变体免疫球蛋白”意指由于至少一个氨基酸修饰而与亲本免疫球蛋白序列不同的免疫球蛋白序列。如本文所用,“Fc变体”或“变体Fc”意指如与人IgG1、IgG2或IgG4的Fc结构域相比,在Fc结构域中包含氨基酸修饰的蛋白质。

[0281] 如本文所用,“Fc变体”或“变体Fc”意指在Fc结构域中包含氨基酸修饰的蛋白质。修饰可以是添加、缺失或取代。Fc变体是根据构成其的氨基酸修饰来定义的。因此,例如,N434S或434S是相对于亲本Fc多肽在位置434处具有丝氨酸取代的Fc变体,其中编号是根据EU索引。同样,M428L/N434S定义了相对于亲本Fc多肽具有取代M428L和N434S的Fc变体。WT氨基酸的身份标识可能未指明,在这种情况下前述变体被称为428L/434S。应当注意,提供取代的顺序是任意的,也就是说,例如,428L/434S是与434S/428L相同的Fc变体等。对于本文所讨论的涉及抗体或其衍生物和片段(例如,Fc结构域)的所有位置,除非另外指出,否则

氨基酸位置编号是根据EU索引。“EU索引”或“如Kabat中的EU索引”或“EU编号”方案是指EU抗体的编号(Edelman等人,1969,Proc Natl Acad Sci USA 63:78-85,特此以引用的方式整体并入)。修饰可以是添加、缺失或取代。

[0282] 一般来说,变体Fc结构域与对应的亲本人IgG Fc结构域具有至少约80％、85％、90％、95％、97％、98％或99％同一性(使用下文讨论的同一性算法,其中一个实施方案利用如本领域所已知的BLAST算法,使用默认参数)。或者,与亲本Fc结构域相比,变体Fc结构域可具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个或20个氨基酸修饰。或者,与亲本Fc结构域相比,变体Fc结构域可具有多至1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个或20个氨基酸修饰。另外,如本文所讨论,本文所述的变体Fc结构域仍然保留与另一Fc结构域形成二聚体的能力,如使用如本文所述的已知技术(诸如非变性凝胶电泳)所测量的。

[0283] 如本文所用,“蛋白质”意指至少两个共价连接的氨基酸,其包括蛋白质、多肽、寡肽和肽。另外,构成本发明的抗体的多肽可以包括一个或多个侧链或末端的合成衍生化,糖基化,PEG化,环状排列,环化,与其他分子的接头,与蛋白质或蛋白质结构域的融合,以及肽标签或标记的添加。

[0284] 如本文所用,“残基”意指蛋白质中的位置及其相关联的氨基酸同一性。例如,天冬酰胺297(也称为Asn297或N297)是人抗体IgG1中位置297处的残基。

[0285] 如本文所用,“IgG亚类修饰”或“同种型修饰”意指将一种IgG同种型的一个氨基酸转化为不同的对齐的IgG同种型中的对应氨基酸的氨基酸修饰。例如,由于在EU位置296处IgG1包含酪氨酸而IgG2包含苯丙氨酸,因此IgG2中的F296Y取代被认为是IgG亚类修饰。

[0286] 如本文所用,“非天然存在的修饰”意指非同种型的氨基酸修饰。例如,由于人IgG在位置434处均不包含丝氨酸,因此IgG1、IgG2、IgG3或IgG4(或其杂交体)的取代434S被认为是非天然存在的修饰。

[0287] 如本文所用,“氨基酸”和“氨基酸同一性”意指由DNA和RNA编码的20种天然存在的氨基酸中的一种。

[0288] 如本文所用,“效应功能”意指由抗体Fc区与Fc受体或配体的相互作用产生的生物化学事件。效应功能包括但不限于ADCC、ADCP和CDC。

[0289] 如本文所用,“IgG Fc配体”意指来自任何生物体的结合至IgG抗体的Fc区以形成Fc/Fc配体复合物的分子,优选地是多肽。Fc配体包括但不限于FcγRI、FcγRII、FcγRIII、FcRn、C1q、C3、甘露聚糖结合凝集素、甘露糖受体、葡萄球菌蛋白A、链球菌蛋白G和病毒FcγR。Fc配体还包括Fc受体同源物(FcRH),其是与FcγR同源的Fc受体家族(Davis等人,2002,Immunological Reviews 190:123-136,其以引用的方式整体并入)。Fc配体可以包括未发现的结合Fc的分子。特定的IgG Fc配体是FcRn和Fcγ受体。如本文所用,“Fc配体”意指来自任何生物体的结合至抗体的Fc区以形成Fc/Fc配体复合物的分子,优选地是多肽。

[0290] 如本文所用,“Fcγ受体”、“FcγR”或“FcgammaR”意指结合IgG抗体Fc区并由FcγR基因编码的蛋白质家族的任何成员。在人体中,这一家族包括但不限于FcγRI(CD64),包括同工型FcγRIa、FcγRIb和FcγRIc;FcγRII(CD32),包括同工型FcγRIIa(包括同种异型H131和R131)、FcγRIIb(包括FcγRIIb-1和FcγRIIb-2)和FcγRIIc;以及FcγRIII

(CD16),包括同工型FcγRIIIa(包括同种异型V158和F158)和FcγRIIIb(包括同种异型FcγRIIb-NA1和FcγRIIb-NA2)(Jefferis等人,2002,Immunol Lett 82:57-65,以引用的方式整体并入),以及任何未发现的人FcγR或FcγR同工型或同种异型。FcγR可以来自任何生物体,包括但不限于人、小鼠、大鼠、兔和猴。小鼠FcγR包括但不限于FcγRI(CD64)、FcγRII(CD32)、FcγRIII(CD16)和FcγRIII-2(CD16-2),以及任何未发现的小鼠FcγR或FcγR同工型或同种异型。

[0291] 如本文所用,“FcRn”或“新生儿Fc受体”意指结合IgG抗体Fc区并且至少部分地由FcRn基因编码的蛋白质。FcRn可以来自任何生物体,包括但不限于人、小鼠、大鼠、兔和猴。如本领域所已知,功能性FcRn蛋白包含两种多肽,通常被称为重链和轻链。轻链是β-2微球蛋白并且重链由FcRn基因编码。除非本文另外指出,否则FcRn或FcRn蛋白是指FcRn重链与β-2-微球蛋白的复合物。多种FcRn变体用于增加与FcRn受体的结合,并且在一些情况下,用于增加血清半衰期。“FcRn变体”是有助于增加与FcRn受体的结合的氨基酸修饰,下文中示出了合适的FcRn变体。

[0292] 如本文所用,“亲本多肽”意指随后经修饰以产生变体的起始多肽。亲本多肽可以是天然存在的多肽,或天然存在的多肽的变体或工程化型式。因此,如本文所用,“亲本免疫球蛋白”意指经修饰以产生变体的未修饰的免疫球蛋白多肽,并且如本文所用,“亲本抗体”意指经修饰以产生变体抗体的未修饰的抗体。应当注意,“亲本抗体”包括如下文概述的已知商业的重组产生的抗体。在此情形中,“亲本Fc结构域”将是相对于所列举地变体;因此,将“变体人IgG1 Fc结构域”与人IgG1的亲本Fc结构域相比较,将“变体人IgG4 Fc结构域”与亲本Fc结构域人IgG4相比较等。

[0293] 如本文所用,“位置”意指蛋白质序列中的位置。位置可以按顺序地或根据已建立的格式进行编号,例如用EU索引对抗体结构域编号(例如,CH1、CH2、CH3或铰链结构域)。

[0294] 如本文所用,“靶抗原”意指由包含给定抗体的可变区的抗原结合结构域特异性地结合的分子。

[0295] 在本文中,在本发明的异二聚抗体的单体的情形中,“链状特性(strandedness)”意指,类似于DNA的“相匹配”的两条链,异二聚化变体并入每个单体中以便保持“相匹配”以形成异二聚体的能力。例如,如果一些pI变体被工程化成单体A(例如,使pI更高),则同样可利用的“电荷对”的空间变体不干扰pI变体,例如,使pI更高的电荷变体被放在同一个“链”或“单体”上以保持两种功能。类似地,对于如下文更全面地概述的以成对的组出现的“偏斜”变体,技术人员将考虑pI来决定所述对中的一组将会进入哪条链或哪个单体中,从而使得还使用偏斜变体的pI来使pI分离最大化。

[0296] 如本文所用,“靶细胞”意指表达靶抗原的细胞。

[0297] 在本文中,在产生根据本发明的双特异性抗体的情形中,“宿主细胞”意指含有编码双特异性抗体的组分的外源核酸并且能够在合适条件下表达双特异性抗体的细胞。下文中讨论了合适的宿主细胞。

[0298] 本文中的“野生型”或“WT”意指在自然界中发现的氨基酸序列或核苷酸序列,包括等位变异。WT蛋白质具有未经有意修饰的氨基酸序列或核苷酸序列。

[0299] 本文提供了多个与人抗体结构域具有序列同一性的抗体结构域(例如,Fc结构域)。两个相似序列(例如,抗体可变结构域)之间的序列同一性可通过诸如以下算法的算法

来测量:Smith,T.F.和Waterman,M.S.(1981)"Comparison Of Biosequences," Adv.Appl.Math.2:482[local homology algorithm];Needleman,S.B.和Wunsch,CD.(1970)"AGeneral Method Applicable To The Search For Similarities In The Amino Acid Sequence Of Two Proteins,"J.Mol.Biol.48:443[homology alignment algorithm];Pearson,W.R.和Lipman,D.J.(1988)"Improved Tools For Biological Sequence Comparison,"Proc.Natl.Acad.Sci.(U.S.A.)85:2444[search for similarity method];或Altschul,S.F.等人,(1990)"Basic Local Alignment Search Tool," J.Mol.Biol.215:403-10,the"BLAST"algorithm,see https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi。当使用前述算法中的任一种算法时,使用默认参数(关于窗口长度、空位罚分等)。在一个实施方案中,使用BLAST算法利用默认参数来完成序列同一性。

[0300] 本发明的抗体通常是分离的或重组的。在用于描述本文公开的各种多肽时,"分离的"意指已经从表达多肽的细胞或细胞培养物中鉴定并且分离和/或回收的多肽。通常,分离的多肽将通过至少一个纯化步骤来制备。"分离的抗体"是指基本上不含具有不同抗原特异性的其他抗体的抗体。"重组"意指在外源性宿主细胞中使用重组核酸技术产生抗体,并且也可分离抗体。

[0301] "特异性结合"或"特异性地结合至"或"特异于"特定抗原或表位意指可测量地不同于非特异性相互作用的结合。特异性结合可如下测量:例如相较于对照分子的结合来确定一种分子的结合,所述对照分子通常是不具有结合活性的类似结构分子。例如,特异性结合可通过与类似靶标的对照分子竞争来确定。

[0302] 对特定抗原或表位的特异性结合可表现为,例如,抗体对抗原或表位的KD为至少约10^{-4}M、至少约10^{-5}M、至少约10^{-6}M、至少约10^{-7}M、至少约10^{-8}M、至少约10^{-9}M,或者至少约约10^{-10}M、至少约10^{-11}M、至少约10^{-12}M或更大,其中KD是指特定抗体-抗原相互作用的解离速率。通常,特异性地结合抗原的抗体对对照分子的KD相对于所述抗原或表位大20倍、50倍、100倍、500倍、1000倍、5,000倍、10,000倍或更多倍。

[0303] 同样,对特定抗原或表位的特异性结合可表现为,例如,抗体对抗原或表位的KA或Ka为对表位相对于对照大至少20倍、50倍、100倍、500倍、1000倍、5,000倍、10,000倍或更多倍,其中KA或Ka是指特定抗体-抗原相互作用的缔合速率。结合亲和力通常使用Biacore、SPR或BLI测定来测量。

[0304] IV.PD-L1、PD-L2和CD28抗原结合结构域

[0305] 本文提供了结合PD-L1、PD-L2或CD28的抗原结合结构域(ABD)和ABD组合物。在一些实施方案中,所述ABD中的一者或多者包含于本文所述的抗体格式(包括图82和图83中的双特异性和三特异性格式中的任一者)中。

[0306] A.PD-L1抗原结合结构域

[0307] 在一方面,本文提供了PD-L1抗原结合结构域(ABD)和包含此类PD-L1抗原结合结构域(ABD)的组合物,包括抗PD-L1抗体(例如,抗PD-L1 x抗CD28双特异性抗体,和抗PD-L1 x抗PD-L2 x抗CD28三特异性抗体)。此类PD-L1结合结构域和相关抗体(例如,本文公开的双特异性抗体和三特异性抗体)可用于例如治疗PD-L1相关癌症。在一些实施方案中,PD-L1 ABD能够结合至人和食蟹猴PD-L1(参见图1和实施例1)。

[0308] 如本领域技术人员将理解的,合适的PD-L1结合结构域可包含一组6个如图25和图

26以及序列表所描绘的CDR。合适的PD-L1ABD还可包含如这些序列和图25和图26以及序列表所描绘的完整VH和VL序列,用作scFv或Fab结构域。

[0309] 在一个实施方案中,PD-L1抗原结合结构域包含本文(包括图25和图26以及序列表)所述的PD-L1 ABD的6个CDR(即,vhCDR1-3和vlCDR1-3),要么是加下划线的CDR,要么是在如本文所述以及如表2所示使用不同编号方案的情况下,使用图25和图26以及序列表所描绘的那些的可变重(VH)结构域和可变轻结构域(VL)序列内的其他比对而鉴定的CDR(参见表2)。合适的PD-L1 ABD还可包含如这些序列和附图所描绘的完整VH和VL序列,用作scFv或Fab结构域。

[0310] 在一个实施方案中,PD-L1抗原结合结构域包含本文(包括图25和图26以及序列表)所述的PD-L1 ABD的6个CDR(即,vhCDR1-3和vlCDR1-3)。在示例性实施方案中,PD-L1抗原结合结构域包括包含可变重结构域(VH)和可变轻结构域(VL)的PD-L1的6个CDR,其中VH和VL选自以下:

[0311] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;以及

[0312] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0313] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0314] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0315] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列(图24至图26)。

[0316] 除了在附图和序列表中公开的形成PD-L1的ABD的亲本CDR组以外,本文还提供了具有包含本文公开的PD-L1 ABD CDR的至少一个修饰的CDR的变体PD-L1 ABD。在一个实施方案中,PD-L1 ABD包含一组6个CDR,所述CDR与本文(包括附图和序列表)所述的PD-L1 ABD的6个CDR相比具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个氨基酸修饰。在示例性实施方案中,PD-L1ABD包含一组6个CDR,所述CDR与包含选自以下的可变重结构域(VH)和可变轻结构域(VL)的PD-L1 ABD的6个CDR相比具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10

个氨基酸修饰：

[0317] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;以及

[0318] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0319] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0320] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0321] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列(图24至图26)。

[0322] 在某些实施方案中,变体PD-L1 ABD能够结合PD-L1抗原,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,PD-L1 ABD能够结合至人和食蟹猴PD-L1。

[0323] 在一个实施方案中,抗PD-L1 ABD包含与本文(包括图24至图26以及序列表)所述的抗PD-L1 ABD的6个CDR至少90％、95％、97％、98％或99％同一的6个CDR。在示例性实施方案中,抗PD-L1ABD包含与包含选自以下的可变重结构域(VH)和可变轻结构域(VL)的PD-L1 ABD的6个CDR至少90％、95％、97％、98％或99％同一的6个CDR：

[0324] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;以及

[0325] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0326] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别

拥有具有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0327] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0328] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列(图24至图26)。

[0329] 在某些实施方案中,抗PD-L1 ABD能够结合至PD-L1抗原,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,PD-L1 ABD能够结合至人和食蟹猴PD-L1。

[0330] 在另一个示例性实施方案中,抗PD-L1 ABD包含本文(包括图24至图26以及序列表)所述的PD-L1 ABD中任一者的可变重(VH)结构域和/或可变轻(VL)结构域。在示例性实施方案中,VH和VL选自以下:

[0331] (i)具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL;以及

[0332] (i)具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VL;

[0333] (i)具有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VL;

[0334] (i)具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;以及

[0335] (i)具有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL(图24至图26)。

[0336] 除了本文公开的亲本抗PD-L1结合结构域可变重结构域和可变轻结构域以外,本文还提供了包含作为本文公开的抗PD-L1 ABD VH和VL结构域的变体的可变重结构域和/或可变轻结构域的抗PD-L1ABD。在一个实施方案中,与本文(包括图28至图31以及序列表)所述的抗PD-L1 ABD的VH和/或VL结构域相比,变体VH结构域和/或VL结构域具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸变化。在示例性实施方案中,与选自以下的VH和/或VL相比,变体VH结构域和/或VL结构域具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸变化:

[0337] (i)具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL;以及

[0338] (i)具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:33的氨基酸序

列的VL;

[0339] (i)具有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VL;

[0340] (i)具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;以及

[0341] (i)具有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL(图24至图26)。

[0342] 在某些实施方案中,抗PD-L1 ABD能够结合至PD-L1,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,PD-L1 ABD能够结合至人和食蟹猴PD-L1。

[0343] 在一些实施方案中,PD-L1 ABD包含可变重结构域,所述可变重结构域相对于以下PD-L1 ABD可变重结构域中的一者具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸变化:SEQ ID NO:21、29和37。在一些实施方案中,PD-L1 ABD包含本文提供的可变轻结构域中的任一者或其变体。

[0344] 在一些实施方案中,PD-L1 ABD包含可变轻结构域,所述可变轻结构域相对于以下PD-L1 ABD可变轻结构域中的一者具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸变化:SEQ ID NO:20、25和33。在一些实施方案中,PD-L1 ABD包含本文提供的可变重结构域中的任一者或其变体。

[0345] 在一个实施方案中,变体VH和/或VL结构域与如本文(包括图25和图26以及序列表)所述的抗PD-L1 ABD的VH和/或VL至少90%、95%、97%、98%或99%同一。在示例性实施方案中,变体VH和/或VL结构域与包含选自以下的VH和VL的抗PD-L1 ABD中的一者的VH和/或VL至少90%、95%、97%、98%或99%同一:

[0346] (i)具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的VL;以及

[0347] (i)具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ IDNO:33的氨基酸序列的VL;

[0348] (i)具有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VL;

[0349] (i)具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;以及

[0350] (i)具有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL(图24至图26)。

[0351] 在某些实施方案中,抗PD-L1 ABD能够结合至PD-L1,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,PD-L1 ABD能够结合至人和食蟹猴PD-L1。

[0352] 在一些实施方案中,PD-L1 ABD包含可变重结构域,所述可变重结构域与以下PD-L1 ABD可变重结构域中的一者至少90%、95%、97%、98%或99%同一:SEQ ID NO:21、29和37。在一些实施方案中,PD-L1 ABD包含本文提供的可变轻结构域中的任一者或其变体。

[0353] 在一些实施方案中,PD-L1 ABD包含可变轻结构域,所述可变轻结构域与以下PD-

L1 ABD可变轻结构域中的一者至少90％、95％、97％、98％或99％同一:SEQ ID NO:20、25和33。在一些实施方案中,PD-L1 ABD包含本文提供的可变重结构域中的任一者或其变体。

[0354] 在一些实施方案中,PD-L1 ABD具有与如本文所述的PD-L1ABD的VH和/或VL结构域90％、95％、97％、98％或99％同一的可变重结构域和可变轻结构域,但是CDR是同一的。在一些实施方案中,VH选自由以下组成的组:SEQ ID NO:21、29和37。在一些实施方案中,VL选自由以下组成的组:SEQ ID NO:20、25和33。

[0355] 在一些实施方案中,PD-L1 ABD具有与如本文所述的PD-L1ABD的VH和/或VL结构域90％、95％、97％、98％或99％同一的可变重结构域和可变轻结构域,并且CDR中可存在0至6个氨基酸修饰。在一些实施方案中,VH选自由以下组成的组:SEQ ID NO:21、29和37。在一些实施方案中,VL选自由以下组成的组:SEQ ID NO:20、25和33。

[0356] 在一些实施方案中,PD-L1 ABD具有与如本文所述的PD-L1ABD的VH和/或VL结构域90％、95％、97％、98％或99％同一的可变重结构域和可变轻结构域,并且CDR中可存在0至6个氨基酸修饰,无CDR具有超过1个氨基酸修饰。在一些实施方案中,VH选自由以下组成的组:SEQ ID NO:21、29和37。在一些实施方案中,VL选自由以下组成的组:SEQ ID NO:20、25和33。

[0357] 在某些实施方案中,PD-L1 ABD能够结合至PD-L1,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,CD28 ABD能够在测定检测限内结合人PD-L1(参见图2)。

[0358] 此类PD-L1结合结构域可包含于本文提供的任何抗体(例如包括图82和图83中提供的双特异性和三特异性抗体格式)中。

[0359] 1.另外的PD-L1结合结构域

[0360] 在另一方面,本文提供了可用于抗PD-L1抗体(包括本文所述的抗PD-L1抗体中的任一者)中的另外的PD-L1结合结构域。在一些实施方案中,抗PD-L1结合结构域包含选自图161中的那些(SEQ ID NO:3335和3243-3260)中的任一者或其变体的可变重结构域和具有称为“IGKV1-39_L1”(也称为“2A3A4.248[PDL1]_L1”(SEQ ID NO:3239,参见图161A)和“1F12A4.249[PDL2]_L1”(SEQ ID NO:3271,参见图162A))的可变轻结构域或其变体的共同轻链,其中共同轻链还可用作CD28和/或PD-L2结合结构域的轻链。在一些实施方案中,本文提供的抗PD-L1抗体(例如,抗CD28 x抗PD-L1和抗CD28 x抗PD-L1 x抗PDL2抗体)包含PD-L1结合结构域,所述PD-L1结合结构域包含具有IGKV1-39_L1可变轻结构域的共同轻链。在一些实施方案中,抗PD-L1抗体是具有CD28结合结构域和PD-L1结合结构域的抗CD28 x抗PD-L1抗体,所述结合结构域各自包含具有IGKV1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)的共同轻链。在一些实施方案中,抗PD-L1抗体是具有CD28结合结构域、PD-L1结合结构域和PD-L2结合结构域的抗CD28 x抗PD-L1 x抗PD-L2抗体,所述结合结构域各自包含具有IGKV1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)的共同轻链。此类利用具有IGKV1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)的共同轻链的PD-L1结合结构域可用于例如本文提供的利用共同轻链的抗体格式中的任一者(参见,例如,本文公开的1+1CLC、2+1CLC、1+1+1堆叠Fab2-scFv-Fc、1+1+1Fab-(Fab-scFv)-Fc、1+1+1mAb-scFv和1+1+1堆叠Fab2-Fab-Fc格式,图82和图83)。

[0361] 在一个实施方案中,PD-L1抗原结合结构域包含图161所描绘的PD-L1可变重结构

域(SEQ ID NO:3335和3243-3260)中的任一者的vhCDR1-3,和IGK1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)的vlCDR1-3。

[0362] 在一个实施方案中,本文所述的主题抗PD-L1抗体的PD-L1 ABD包含:a)与图161所描绘的PD-L1可变重结构域(SEQ ID NO:3335和3243-3260)中的一者的vhCDR1、vhCDR2和/或vhCDR3相比分别具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸修饰的vhCDR1、vhCDR2和/或vhCDR3;和/或b)与IGK1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)的vlCDR1、vlCDR2和/或vlCDR3相比具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸修饰的vlCDR1、vlCDR2和/或vlCDR3。在某些实施方案中,主题抗PD-L1抗体的PD-L1 ABD能够结合PD-L1抗原,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)、流式细胞术和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,PD-L1 ABD能够结合人PD-L1抗原(参见图1)。

[0363] 在一个实施方案中,主题抗PD-L1抗体的PD-L1 ABD包含:与图161所描绘的PD-L1可变重结构域(SEQ ID NO:3335和3243-3260)中的一者的vhCDR1、vhCDR2和/或vhCDR3分别至少90%、95%、97%、98%或99%同一的vhCDR1、vhCDR2和/或vhCDR3;和/或与IGK1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)的vlCDR1、vlCDR2和/或vlCDR3分别至少90%、95%、97%、98%或99%同一的vlCDR1、vlCDR2和/或vlCDR3。在某些实施方案中,PD-L1 ABD能够结合至PD-L1,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)、流式细胞术和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,PD-L1 ABD能够结合人PD-L1抗原(参见图1)。

[0364] 在另一示例性实施方案中,主题抗PD-L1抗体的PD-L1 ABD包含图161所描绘的PD-L1可变重结构域(SEQ ID NO:3335和3243-3260)中的一者的可变重(VH)结构域,和IGK1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)。

[0365] 在一些实施方案中,抗PD-L1抗体包含PD-L1 ABD,所述PD-L1 ABD包含可变重结构域和/或可变轻结构域,所述可变重结构域是图161所描绘的PD-L1可变重结构域(SEQ ID NO:3335和3243-3260)中一者的变体,所述可变轻结构域是IGK1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)的变体。在一些实施方案中,变体VH结构域与图161所描绘的PD-L1可变重结构域(SEQ ID NO:3335和3243-3260)中的一者相比具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸变化,并且/或者可变轻结构域与IGK1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)相比具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸变化。在一些实施方案中,所述一个或多个氨基酸变化是在在VH和/或VL框架区(FR1、FR2、FR3和/或FR4)中。在一些实施方案中,所述一个或多个氨基酸变化是在一个或多个CDR中。在某些实施方案中,PD-L1 ABD能够结合至PD-L1,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)、流式细胞术和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,PD-L1 ABD能够结合人PD-L1抗原(参见图1)。

[0366] 在一个实施方案中,变体VH结构域与图161所描绘的PD-L1可变重结构域(SEQ ID NO:3335和3243-3260)中的一者至少90%、95%、97%、98%或99%同一,并且/或者可变轻结构域与IGK1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)至少90%、95%、97%、98%或99%同一。在某些实施方案中,PD-L1 ABD能够结合至PD-L1,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)、流式细胞术和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,

后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,PD-L1 ABD能够结合人PD-L1抗原(参见图1)。

[0367] 在一些实施方案中,PD-L1结合结构域包括包含图161C所描绘的VHCDR1-3和/或HFR1-4序列中任一者的VH以及IGK1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)或其变体。

[0368] 在另一方面,本文提供了与本文公开的PD-L1结合结构域中的任一者竞争与人PD-L1的结合的PD-L1结合结构域。

[0369] B.PD-L2抗原结合结构域

[0370] 在一方面,本文提供了PD-L2抗原结合结构域(ABD)和包含此类PD-L2抗原结合结构域(ABD)的组合物,包括抗PD-L2抗体(例如,抗PD-L1 x抗CD28双特异性抗体,和抗PD-L1 x抗PD-L2 x抗CD28三特异性抗体)。此类PD-L2结合结构域和相关抗体(例如,本文公开的双特异性抗体和三特异性抗体)可用于例如治疗PD-L2相关癌症。在一些实施方案中,PD-L2 ABD能够结合至人和食蟹猴PD-L2(参见图2和实施例1)。

[0371] 如本领域技术人员将理解的,合适的PD-L2结合结构域可包含一组6个如图29至图32以及序列表所描绘的CDR。合适的PD-L2ABD还可包含如这些序列和图29至图32以及序列表所描绘的完整VH和VL序列,用作scFv或Fab结构域。

[0372] 在一个实施方案中,PD-L2抗原结合结构域包含本文(包括图29至图32以及序列表)所述的PD-L2 ABD的6个CDR(即,vhCDR1-3和vlCDR1-3),要么是加下划线的CDR,要么是在如本文所述以及如表2所示使用不同编号方案的情况下,使用图29至图32以及序列表所描绘的那些的可变重(VH)结构域和可变轻结构域(VL)序列内的其他比对而鉴定的CDR(参见表2)。合适的PD-L2 ABD还可包含如这些序列和附图所描绘的完整VH和VL序列,用作scFv或Fab结构域。

[0373] 在一个实施方案中,PD-L2抗原结合结构域包含本文(包括图29至图32以及序列表)所述的PD-L2 ABD的6个CDR(即,vhCDR1-3和vlCDR1-3)。在示例性实施方案中,PD-L2抗原结合结构域包括包含可变重结构域(VH)和可变轻结构域(VL)的PD-L2的6个CDR,其中VH和VL选自以下:

[0374] ((i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0375] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0376] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0377] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和

(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0378] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0379] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0380] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0381] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0382] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:65的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:69的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0383] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:73的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:69的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0384] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:65的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0385] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:73的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0386] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0387] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别

拥有具有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0388] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;以及

[0389] (i)具有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VH;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列(图29至图32)。(图24以及图29至图32)。

[0390] 除了在附图和序列表中公开的形成PD-L2的ABD的亲本CDR组以外,本文还提供了具有包含本文公开的PD-L2 ABD CDR的至少一个修饰的CDR的变体PD-L2 ABD。在一个实施方案中,PD-L2 ABD包含一组6个CDR,所述CDR与本文(包括附图和序列表)所述的PD-L2 ABD的6个CDR相比具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个氨基酸修饰。在示例性实施方案中,PD-L2ABD包含一组6个CDR,所述CDR与包含选自以下的可变重结构域(VH)和可变轻结构域(VL)的PD-L2 ABD的6个CDR相比具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个氨基酸修饰:

[0391] ((i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0392] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0393] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0394] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0395] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0396] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和

(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0397] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0398] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0399] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:65的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:69的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0400] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:73的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:69的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0401] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:65的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0402] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:73的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0403] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0404] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0405] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;以及

[0406] (i)具有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VH;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL

CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列(图29至图32)。(图24以及图29至图32)。

[0407] 在某些实施方案中,变体PD-L2 ABD能够结合PD-L2抗原,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,PD-L2 ABD能够结合至人和食蟹猴PD-L2。

[0408] 在一个实施方案中,抗PD-L2 ABD包含与本文(包括图24和图29至图32以及序列表)所述的抗PD-L2 ABD的6个CDR至少90%、95%、97%、98%或99%同一的6个CDR。在示例性实施方案中,抗PD-L2 ABD包含与包含选自以下的可变重结构域(VH)和可变轻结构域(VL)的PD-L2 ABD的6个CDR至少90%、95%、97%、98%或99%同一的6个CDR:

[0409] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0410] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0411] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0412] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0413] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0414] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0415] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0416] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别

拥有具有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0417] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:65的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:69的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0418] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:73的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:69的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0419] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:65的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0420] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:73的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0421] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0422] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;

[0423] (i)包含VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的VH,所述VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VH的VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3的氨基酸序列;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列;以及

[0424] (i)具有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VH;和(ii)包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的VL,所述VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别拥有具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL的VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的氨基酸序列(图29至图32)。(图24以及图29至图32)。

[0425] 在某些实施方案中,抗PD-L2 ABD能够结合至PD-L2抗原,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,PD-L2 ABD能够结合至人和食蟹猴PD-L2。

[0426] 在另一个示例性实施方案中,抗PD-L2 ABD包含本文(包括图24和图29至图32以及

序列表)所述的PD-L2 ABD中任一者的可变重(VH)结构域和/或可变轻(VL)结构域。在示例性实施方案中,VH和VL选自以下:

[0427] ((i)具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL;

[0428] (i)具有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL;

[0429] (i)具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;以及

[0430] (i)具有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0431] (i)具有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL;

[0432] (i)具有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL;

[0433] (i)具有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0434] (i)具有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ IDNO:20的氨基酸序列的VL;

[0435] (i)具有SEQ ID NO:65的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:69的氨基酸序列的VL;

[0436] (i)具有SEQ ID NO:73的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:69的氨基酸序列的VL;

[0437] (i)具有SEQ ID NO:65的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0438] (i)具有SEQ ID NO:73的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0439] (i)具有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VL;

[0440] (i)具有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VL;

[0441] (i)具有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;以及

[0442] (i)具有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL(图24和图29至图32)。

[0443] 除了本文公开的亲本抗PD-L2结合结构域可变重结构域和可变轻结构域以外,本文还提供了包含作为本文公开的抗PD-L2 ABD VH和VL结构域的变体的可变重结构域和/或可变轻结构域的抗PD-L2ABD。在一个实施方案中,与本文(包括图28至图31以及序列表)所述的抗PD-L2 ABD的VH和/或VL结构域相比,变体VH结构域和/或VL结构域具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸变化。在示例性实施方案中,与选自以下的VH

和/或VL相比,变体VH结构域和/或VL结构域具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸变化:

[0444] (i)具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL;

[0445] (i)具有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL;

[0446] (i)具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;以及

[0447] (i)具有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0448] (i)具有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL;

[0449] (i)具有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL;

[0450] (i)具有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0451] (i)具有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0452] (i)具有SEQ ID NO:65的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:69的氨基酸序列的VL;

[0453] (i)具有SEQ ID NO:73的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:69的氨基酸序列的VL;

[0454] (i)具有SEQ ID NO:65的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ IDNO:20的氨基酸序列的VL;

[0455] (i)具有SEQ ID NO:73的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0456] (i)具有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VL;

[0457] (i)具有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VL;

[0458] (i)具有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;以及

[0459] (i)具有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL(图24和图29至图32)。

[0460] 在某些实施方案中,抗PD-L2 ABD能够结合至PD-L2,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,PD-L2 ABD能够结合至人和食蟹猴PD-L2。

[0461] 在一些实施方案中,PD-L2 ABD包含可变重结构域,所述可变重结构域相对于以下PD-L2 ABD可变重结构域中的一者具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨

基酸变化:SEQ ID NO:41、49、53、61、65、73、77和85。在一些实施方案中,PD-L2 ABD包含本文提供的可变轻结构域中的任一者或其变体。

[0462] 在一些实施方案中,PD-L2 ABD包含可变轻结构域,所述可变轻结构域相对于以下PD-L2 ABD可变轻结构域中的一者具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸变化:SEQ ID NO:20、45、57、69和81。在一些实施方案中,PD-L2 ABD包含本文提供的可变重结构域中的任一者或其变体。

[0463] 在一个实施方案中,变体VH和/或VL结构域与如本文(包括图29至图32以及序列表)所述的抗PD-L2 ABD的VH和/或VL至少90%、95%、97%、98%或99%同一。在示例性实施方案中,变体VH和/或VL结构域与包含选自以下的VH和VL的抗PD-L2 ABD中的一者的VH和/或VL至少90%、95%、97%、98%或99%同一:

[0464] ((i)具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL;

[0465] (i)具有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的VL;

[0466] (i)具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;以及

[0467] (i)具有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0468] (i)具有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL;

[0469] (i)具有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的VL;

[0470] (i)具有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0471] (i)具有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0472] (i)具有SEQ ID NO:65的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:69的氨基酸序列的VL;

[0473] (i)具有SEQ ID NO:73的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ IDNO:69的氨基酸序列的VL;

[0474] (i)具有SEQ ID NO:65的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0475] (i)具有SEQ ID NO:73的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0476] (i)具有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VL;

[0477] (i)具有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的VL;

[0478] (i)具有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序

列的VL;以及

[0479] (i)具有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL(图24和图29至图32)。

[0480] 在某些实施方案中,抗PD-L2 ABD能够结合至PD-L2,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,PD-L2 ABD能够结合至人和食蟹猴PD-L2。

[0481] 在一些实施方案中,PD-L2 ABD包含可变重结构域,所述可变重结构域与以下PD-L2 ABD可变重结构域中的一者至少90%、95%、97%、98%或99%同一:SEQ ID NO:41、49、53、61、65、73、77和85。在一些实施方案中,PD-L2 ABD包含本文提供的可变轻结构域中的任一者或其变体。

[0482] 在一些实施方案中,PD-L2 ABD包含可变轻结构域,所述可变轻结构域与以下PD-L2 ABD可变轻结构域中的一者至少90%、95%、97%、98%或99%同一:SEQ ID NO:20、45、57、69和81。在一些实施方案中,PD-L2 ABD包含本文提供的可变重结构域中的任一者或其变体。

[0483] 在一些实施方案中,PD-L2 ABD具有与如本文所述的PD-L2ABD的VH和/或VL结构域90%、95%、97%、98%或99%同一的可变重结构域和可变轻结构域,但是CDR是同一的。在一些实施方案中,VH选自由以下组成的组:SEQ ID NO:41、49、53、61、65、73、77和85。在一些实施方案中,VL选自由以下组成的组:SEQ ID NO:20、45、57、69和81。

[0484] 在一些实施方案中,PD-L2 ABD具有与如本文所述的PD-L2ABD的VH和/或VL结构域90%、95%、97%、98%或99%同一的可变重结构域和可变轻结构域,并且CDR中可存在0至6个氨基酸修饰。在一些实施方案中,VH选自由以下组成的组:SEQ ID NO:41、49、53、61、65、73、77和85。在一些实施方案中,VL选自由以下组成的组:SEQ ID NO:20、45、57、69和81。

[0485] 在一些实施方案中,PD-L2 ABD具有与如本文所述的PD-L2ABD的VH和/或VL结构域90%、95%、97%、98%或99%同一的可变重结构域和可变轻结构域,并且CDR中可存在0至6个氨基酸修饰,无CDR具有超过1个氨基酸修饰。在一些实施方案中,VH选自由以下组成的组:SEQ ID NO:41、49、53、61、65、73、77和85。在一些实施方案中,VL选自由以下组成的组:SEQ ID NO:20、45、57、69和81。

[0486] 在某些实施方案中,PD-L2 ABD能够结合至PD-L2,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,CD28 ABD能够在测定检测限内结合人PD-L2(参见图2)。

[0487] 此类PD-L2结合结构域可包含于本文提供的任何抗体(例如包括图82和图83中提供的双特异性和三特异性抗体格式)中。

[0488] 1.另外的PD-L2结合结构域

[0489] 在另一方面,本文提供了可用于抗PD-L2抗体(包括本文所述的抗PD-L2抗体中的任一者)中的另外的PD-L1结合结构域。在一些实施方案中,抗PD-L1结合结构域包含选自图162中的那些(SEQ ID NO:3267和3275-3347)中的任一者或其变体的可变重结构域和具有称为“IGKV1-39_L1”(也称为“2A3A4.248[PDL1]_L1”(SEQ ID NO:3239,参见图161A)和“1F12A4.249[PDL2]_L1”(SEQ ID NO:3271,参见图162A))的可变轻结构域或其变体的共同

轻链,其中共同轻链还可用作CD28和/或PD-L1结合结构域的轻链。在一些实施方案中,本文提供的抗PD-L2抗体(例如,抗CD28 x抗PD-L1和抗CD28 x抗PD-L1 x抗PDL2抗体)包含PD-L2结合结构域,所述PD-L2结合结构域包含具有IGKV1-39_L1可变轻结构域的共同轻链。在一些实施方案中,抗PD-L2抗体是具有CD28结合结构域和PD-L2结合结构域的抗CD28 x抗PD-L2抗体,所述结合结构域各自包含具有IGKV1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)的共同轻链。在一些实施方案中,抗PD-L2抗体是具有CD28结合结构域、PD-L1结合结构域和PD-L2结合结构域的抗CD28 x抗PD-L1 x抗PD-L2抗体,所述结合结构域各自包含具有IGKV1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)的共同轻链。此类利用具有IGKV1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)的共同轻链的PD-L2结合结构域可用于例如本文提供的利用共同轻链的抗体格式中的任一者(参见,例如,本文公开的1+1CLC、2+1CLC、1+1+1堆叠Fab2-scFv-Fc、1+1+1Fab-(Fab-scFv)-Fc、1+1+1mAb-scFv和1+1+1堆叠Fab2-Fab-Fc格式,图82和图83)。

[0490] 在一个实施方案中,PD-L2抗原结合结构域包含图161所描绘的PD-L2可变重结构域(SEQ ID NO:3335和3243-3260)中的任一者的vhCDR1-3,和IGK1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)的vlCDR1-3。

[0491] 在一个实施方案中,本文所述的主题抗PD-L2抗体的PD-L2 ABD包含:a)与图162所描绘的PD-L2可变重结构域(SEQ ID NO:3267和3275-3347)中的一者的vhCDR1、vhCDR2和/或vhCDR3相比分别具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸修饰的vhCDR1、vhCDR2和/或vhCDR3;和/或b)与IGK1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)的vlCDR1、vlCDR2和/或vlCDR3相比具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸修饰的vlCDR1、vlCDR2和/或vlCDR3。在某些实施方案中,主题抗PD-L2抗体的PD-L2 ABD能够结合PD-L2抗原,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)、流式细胞术和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,PD-L2 ABD能够结合人PD-L2抗原(参见图1)。

[0492] 在一个实施方案中,主题抗PD-L2抗体的PD-L2 ABD包含:与图162所描绘的PD-L2可变重结构域(SEQ ID NO:3267和3275-3347)中的一者的vhCDR1、vhCDR2和/或vhCDR3分别至少90%、95%、97%、98%或99%同一的vhCDR1、vhCDR2和/或vhCDR3;和/或与IGK1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)的vlCDR1、vlCDR2和/或vlCDR3分别至少90%、95%、97%、98%或99%同一的vlCDR1、vlCDR2和/或vlCDR3。在某些实施方案中,PD-L2 ABD能够结合至PD-L2,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)、流式细胞术和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,PD-L2 ABD能够结合人PD-L2抗原(参见图1)。

[0493] 在另一示例性实施方案中,主题抗PD-L2抗体的PD-L2 ABD包含图162所描绘的PD-L2可变重结构域(SEQ ID NO:3267和3275-3347)中的一者的可变重(VH)结构域,和IGK1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)。

[0494] 在一些实施方案中,抗PD-L2抗体包含PD-L2 ABD,所述PD-L2 ABD包含可变重结构域和/或可变轻结构域,所述可变重结构域是图162所描绘的PD-L2可变重结构域(SEQ ID NO:3267和3275-3347)中一者的变体,所述可变轻结构域是IGK1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)的变体。在一些实施方案中,变体VH结构域与图162所描绘的PD-L2可变重结构域(SEQ ID NO:3267和3275-3347)中的一者相比具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、

9个或10个氨基酸变化,并且/或者可变轻结构域与IGK1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)相比具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸变化。在一些实施方案中,所述一个或多个氨基酸变化是在在VH和/或VL框架区(FR1、FR2、FR3和/或FR4)中。在一些实施方案中,所述一个或多个氨基酸变化是在一个或多个CDR中。在某些实施方案中,PD-L2 ABD能够结合至PD-L2,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)、流式细胞术和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,PD-L2 ABD能够结合人PD-L2抗原(参见图1)。

[0495] 在一个实施方案中,变体VH结构域与图162所描绘的PD-L2可变重结构域(SEQ ID NO:3267和3275-3347)中的一者至少90%、95%、97%、98%或99%同一,并且/或者可变轻结构域与IGK1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)至少90%、95%、97%、98%或99%同一。在某些实施方案中,PD-L2 ABD能够结合至PD-L2,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)、流式细胞术和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,PD-L2 ABD能够结合人PD-L2抗原(参见图1)。

[0496] 在一些实施方案中,PD-L2结合结构域包括包含图162G所描绘的VHCDR1-3和/或HFR1-4序列中任一者的VH以及IGK1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)或其变体。

[0497] 在另一方面,本文提供了与本文公开的PD-L1结合结构域中的任一者竞争与人PD-L2的结合的PD-L2结合结构域。

[0498] C.CD28抗原结合结构域

[0499] 在一方面,本文提供了CD28抗原结合结构域(ABD)和包含此类CD28抗原结合结构域(ABD)的组合物,包括抗CD28抗体(例如,抗PD-L1 x抗CD28双特异性抗体,和抗PD-L1 x抗PD-L2 x抗CD28三特异性抗体)。此类CD28结合结构域和相关抗体(例如,本文公开的双特异性抗体和三特异性抗体)可用于例如治疗CD28相关癌症。在一些实施方案中,CD28 ABD能够结合至人和食蟹猴CD28(参见图2和实施例2)。

[0500] 如本领域技术人员将理解的,合适的CD28结合结构域可包含一组6个如图41至图74以及序列表所描绘的CDR。合适的CD28 ABD还可包含如这些序列和图41至图74以及序列表所描绘的完整VH和VL序列,用作scFv或Fab结构域。

[0501] 在一个实施方案中,CD28抗原结合结构域包含本文(包括图41至图74以及序列表)所述的CD28 ABD的6个CDR(即,vhCDR1-3和vlCDR1-3),要么是加下划线的CDR,要么是在如本文所述以及如表2所示使用不同编号方案的情况下,使用图41至图74以及序列表所描绘的那些的可变重(VH)结构域和可变轻结构域(VL)序列内的其他比对而鉴定的CDR(参见表2)。合适的CD28 ABD还可包含如这些序列和附图所描绘的完整VH和VL序列,用作scFv或Fab结构域。

[0502] 在一个实施方案中,CD28抗原结合结构域包含本文(包括图41至图74以及序列表)所述的CD28 ABD的6个CDR(即,vhCDR1-3和vlCDR1-3)。在示例性实施方案中,CD28抗原结合结构域包括包含可变重结构域(VH)和可变轻结构域(VL)的CD28的6个CDR,其中VH和VL选自以下:

[0503] (i)具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的VL;

[0504] (i)具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的VL;

[0505] (i)具有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:109的氨基酸序列的VL;

[0506] (i)具有SEQ ID NO:113的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:117的氨基酸序列的VL;

[0507] (i)具有SEQ ID NO:121的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:125的氨基酸序列的VL;

[0508] (i)具有SEQ ID NO:129的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:133的氨基酸序列的VL;

[0509] (i)具有SEQ ID NO:137的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:141的氨基酸序列的VL;

[0510] (i)具有SEQ ID NO:145的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:149的氨基酸序列的VL;

[0511] (i)具有SEQ ID NO:153的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:157的氨基酸序列的VL;

[0512] (i)具有SEQ ID NO:161的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:165的氨基酸序列的VL;

[0513] (i)具有SEQ ID NO:169的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:173的氨基酸序列的VL;

[0514] (i)具有SEQ ID NO:177的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:181的氨基酸序列的VL;

[0515] (i)具有SEQ ID NO:185的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:189的氨基酸序列的VL;

[0516] (i)具有SEQ ID NO:193的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:197的氨基酸序列的VL;

[0517] (i)具有SEQ ID NO:201的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:205的氨基酸序列的VL;

[0518] (i)具有SEQ ID NO:209的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:213的氨基酸序列的VL;

[0519] (i)具有SEQ ID NO:217的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:221的氨基酸序列的VL;

[0520] (i)具有SEQ ID NO:225的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:229的氨基酸序列的VL;

[0521] (i)具有SEQ ID NO:233的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:237的氨基酸序列的VL;以及

[0522] (i)具有SEQ ID NO:241的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:245的氨基酸序列的VL;

[0523] (i)具有SEQ ID NO:249的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:253的氨基酸

序列的VL;

[0524] (i)具有SEQ ID NO:257的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ IDNO:261的氨基酸序列的VL;

[0525] (i)具有SEQ ID NO:265的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:269的氨基酸序列的VL;

[0526] (i)具有SEQ ID NO:273的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:277的氨基酸序列的VL;

[0527] (i)具有SEQ ID NO:281的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:285的氨基酸序列的VL;

[0528] (i)具有SEQ ID NO:289的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:293的氨基酸序列的VL;

[0529] (i)具有SEQ ID NO:297的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:301的氨基酸序列的VL;

[0530] (i)具有SEQ ID NO:305的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:309的氨基酸序列的VL;

[0531] (i)具有SEQ ID NO:313的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:317的氨基酸序列的VL;

[0532] (i)具有SEQ ID NO:321的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:325的氨基酸序列的VL;

[0533] (i)具有SEQ ID NO:329的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:333的氨基酸序列的VL;

[0534] (i)具有SEQ ID NO:337的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:341的氨基酸序列的VL;

[0535] (i)具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0536] (i)具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0537] (i)具有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0538] (i)具有SEQ ID NO:113的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0539] (i)具有SEQ ID NO:121的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0540] (i)具有SEQ ID NO:129的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0541] (i)具有SEQ ID NO:137的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0542] (i)具有SEQ ID NO:145的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0543] (i)具有SEQ ID NO:153的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0544] (i)具有SEQ ID NO:161的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0545] (i)具有SEQ ID NO:169的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0546] (i)具有SEQ ID NO:177的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0547] (i)具有SEQ ID NO:185的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ IDNO:20的氨基酸序列的VL;

[0548] (i)具有SEQ ID NO:193的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0549] (i)具有SEQ ID NO:201的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0550] (i)具有SEQ ID NO:209的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0551] (i)具有SEQ ID NO:217的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0552] (i)具有SEQ ID NO:225的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0553] (i)具有SEQ ID NO:233的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;以及

[0554] (i)具有SEQ ID NO:241的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0555] (i)具有SEQ ID NO:249的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0556] (i)具有SEQ ID NO:257的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0557] (i)具有SEQ ID NO:265的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0558] (i)具有SEQ ID NO:273的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0559] (i)具有SEQ ID NO:281的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0560] (i)具有SEQ ID NO:289的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0561] (i)具有SEQ ID NO:297的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0562] (i)具有SEQ ID NO:305的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序

列的VL;

[0563] (i)具有SEQ ID NO:313的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0564] (i)具有SEQ ID NO:321的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0565] (i)具有SEQ ID NO:329的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;以及

[0566] (i)具有SEQ ID NO:337的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL。(图24和图41至图74)。

[0567] 除了在附图和序列表中公开的形成CD28的ABD的亲本CDR组以外,本文还提供了具有包含本文公开的CD28 ABD CDR的至少一个修饰的CDR的变体CD28 ABD。在一个实施方案中,CD28 ABD包含一组6个CDR,所述CDR与本文(包括附图和序列表)所述的CD28 ABD的6个CDR相比具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个氨基酸修饰。在示例性实施方案中,CD28ABD包含一组6个CDR,所述CDR与包含选自以下的可变重结构域(VH)和可变轻结构域(VL)的CD28 ABD的6个CDR相比具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个氨基酸修饰:

[0568] (i)具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的VL;

[0569] (i)具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的VL;

[0570] (i)具有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:109的氨基酸序列的VL;

[0571] (i)具有SEQ ID NO:113的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:117的氨基酸序列的VL;

[0572] (i)具有SEQ ID NO:121的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:125的氨基酸序列的VL;

[0573] (i)具有SEQ ID NO:129的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:133的氨基酸序列的VL;

[0574] (i)具有SEQ ID NO:137的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:141的氨基酸序列的VL;

[0575] (i)具有SEQ ID NO:145的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:149的氨基酸序列的VL;

[0576] (i)具有SEQ ID NO:153的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:157的氨基酸序列的VL;

[0577] (i)具有SEQ ID NO:161的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:165的氨基酸序列的VL;

[0578] (i)具有SEQ ID NO:169的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:173的氨基酸序列的VL;

[0579] (i)具有SEQ ID NO:177的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:181的氨基酸

序列的VL;

[0580] (i)具有SEQ ID NO:185的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:189的氨基酸序列的VL;

[0581] (i)具有SEQ ID NO:193的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:197的氨基酸序列的VL;

[0582] (i)具有SEQ ID NO:201的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:205的氨基酸序列的VL;

[0583] (i)具有SEQ ID NO:209的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:213的氨基酸序列的VL;

[0584] (i)具有SEQ ID NO:217的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:221的氨基酸序列的VL;

[0585] (i)具有SEQ ID NO:225的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:229的氨基酸序列的VL;

[0586] (i)具有SEQ ID NO:233的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:237的氨基酸序列的VL;以及

[0587] (i)具有SEQ ID NO:241的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:245的氨基酸序列的VL;

[0588] (i)具有SEQ ID NO:249的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:253的氨基酸序列的VL;

[0589] (i)具有SEQ ID NO:257的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:261的氨基酸序列的VL;

[0590] (i)具有SEQ ID NO:265的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ IDNO:269的氨基酸序列的VL;

[0591] (i)具有SEQ ID NO:273的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:277的氨基酸序列的VL;

[0592] (i)具有SEQ ID NO:281的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:285的氨基酸序列的VL;

[0593] (i)具有SEQ ID NO:289的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:293的氨基酸序列的VL;

[0594] (i)具有SEQ ID NO:297的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:301的氨基酸序列的VL;

[0595] (i)具有SEQ ID NO:305的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:309的氨基酸序列的VL;

[0596] (i)具有SEQ ID NO:313的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:317的氨基酸序列的VL;

[0597] (i)具有SEQ ID NO:321的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:325的氨基酸序列的VL;

[0598] (i)具有SEQ ID NO:329的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:333的氨基酸序列的VL;

[0599] (i)具有SEQ ID NO:337的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:341的氨基酸序列的VL;

[0600] (i)具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0601] (i)具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0602] (i)具有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0603] (i)具有SEQ ID NO:113的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0604] (i)具有SEQ ID NO:121的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0605] (i)具有SEQ ID NO:129的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0606] (i)具有SEQ ID NO:137的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0607] (i)具有SEQ ID NO:145的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0608] (i)具有SEQ ID NO:153的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0609] (i)具有SEQ ID NO:161的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0610] (i)具有SEQ ID NO:169的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0611] (i)具有SEQ ID NO:177的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0612] (i)具有SEQ ID NO:185的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0613] (i)具有SEQ ID NO:193的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ IDNO:20的氨基酸序列的VL;

[0614] (i)具有SEQ ID NO:201的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0615] (i)具有SEQ ID NO:209的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0616] (i)具有SEQ ID NO:217的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0617] (i)具有SEQ ID NO:225的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0618] (i)具有SEQ ID NO:233的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序

列的VL;以及

[0619] (i)具有SEQ ID NO:241的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0620] (i)具有SEQ ID NO:249的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0621] (i)具有SEQ ID NO:257的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0622] (i)具有SEQ ID NO:265的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0623] (i)具有SEQ ID NO:273的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0624] (i)具有SEQ ID NO:281的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0625] (i)具有SEQ ID NO:289的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0626] (i)具有SEQ ID NO:297的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0627] (i)具有SEQ ID NO:305的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0628] (i)具有SEQ ID NO:313的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0629] (i)具有SEQ ID NO:321的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0630] (i)具有SEQ ID NO:329的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;以及

[0631] (i)具有SEQ ID NO:337的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL。(图24以及图29至图32)。

[0632] 在某些实施方案中,变体CD28 ABD能够结合CD28抗原,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,CD28 ABD能够结合至人和食蟹猴CD28。

[0633] 在一个实施方案中,抗CD28 ABD包含与本文(包括图24和图41至图74以及序列表)所述的抗CD28 ABD的6个CDR至少90%、95%、97%、98%或99%同一的6个CDR。在示例性实施方案中,抗CD28 ABD包含与包含选自以下的可变重结构域(VH)和可变轻结构域(VL)的CD28 ABD的6个CDR至少90%、95%、97%、98%或99%同一的6个CDR:

[0634] (i)具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的VL;

[0635] (i)具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的VL;

[0636] (i)具有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:109的氨基酸

序列的VL;

[0637] (i)具有SEQ ID NO:113的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:117的氨基酸序列的VL;

[0638] (i)具有SEQ ID NO:121的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:125的氨基酸序列的VL;

[0639] (i)具有SEQ ID NO:129的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:133的氨基酸序列的VL;

[0640] (i)具有SEQ ID NO:137的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:141的氨基酸序列的VL;

[0641] (i)具有SEQ ID NO:145的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:149的氨基酸序列的VL;

[0642] (i)具有SEQ ID NO:153的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:157的氨基酸序列的VL;

[0643] (i)具有SEQ ID NO:161的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:165的氨基酸序列的VL;

[0644] (i)具有SEQ ID NO:169的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:173的氨基酸序列的VL;

[0645] (i)具有SEQ ID NO:177的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ IDNO:181的氨基酸序列的VL;

[0646] (i)具有SEQ ID NO:185的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:189的氨基酸序列的VL;

[0647] (i)具有SEQ ID NO:193的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:197的氨基酸序列的VL;

[0648] (i)具有SEQ ID NO:201的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:205的氨基酸序列的VL;

[0649] (i)具有SEQ ID NO:209的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:213的氨基酸序列的VL;

[0650] (i)具有SEQ ID NO:217的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:221的氨基酸序列的VL;

[0651] (i)具有SEQ ID NO:225的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:229的氨基酸序列的VL;

[0652] (i)具有SEQ ID NO:233的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:237的氨基酸序列的VL;以及

[0653] (i)具有SEQ ID NO:241的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:245的氨基酸序列的VL;

[0654] (i)具有SEQ ID NO:249的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:253的氨基酸序列的VL;

[0655] (i)具有SEQ ID NO:257的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:261的氨基酸序列的VL;

[0656] (i)具有SEQ ID NO:265的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:269的氨基酸序列的VL;

[0657] (i)具有SEQ ID NO:273的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:277的氨基酸序列的VL;

[0658] (i)具有SEQ ID NO:281的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:285的氨基酸序列的VL;

[0659] (i)具有SEQ ID NO:289的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:293的氨基酸序列的VL;

[0660] (i)具有SEQ ID NO:297的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:301的氨基酸序列的VL;

[0661] (i)具有SEQ ID NO:305的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:309的氨基酸序列的VL;

[0662] (i)具有SEQ ID NO:313的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:317的氨基酸序列的VL;

[0663] (i)具有SEQ ID NO:321的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:325的氨基酸序列的VL;

[0664] (i)具有SEQ ID NO:329的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:333的氨基酸序列的VL;

[0665] (i)具有SEQ ID NO:337的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:341的氨基酸序列的VL;

[0666] (i)具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0667] (i)具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0668] (i)具有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ IDNO:20的氨基酸序列的VL;

[0669] (i)具有SEQ ID NO:113的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0670] (i)具有SEQ ID NO:121的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0671] (i)具有SEQ ID NO:129的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0672] (i)具有SEQ ID NO:137的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0673] (i)具有SEQ ID NO:145的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0674] (i)具有SEQ ID NO:153的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0675] (i)具有SEQ ID NO:161的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序

列的VL;

[0676] (i)具有SEQ ID NO:169的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0677] (i)具有SEQ ID NO:177的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0678] (i)具有SEQ ID NO:185的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0679] (i)具有SEQ ID NO:193的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0680] (i)具有SEQ ID NO:201的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0681] (i)具有SEQ ID NO:209的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0682] (i)具有SEQ ID NO:217的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0683] (i)具有SEQ ID NO:225的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0684] (i)具有SEQ ID NO:233的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;以及

[0685] (i)具有SEQ ID NO:241的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0686] (i)具有SEQ ID NO:249的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0687] (i)具有SEQ ID NO:257的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0688] (i)具有SEQ ID NO:265的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0689] (i)具有SEQ ID NO:273的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0690] (i)具有SEQ ID NO:281的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0691] (i)具有SEQ ID NO:289的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ IDNO:20的氨基酸序列的VL;

[0692] (i)具有SEQ ID NO:297的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0693] (i)具有SEQ ID NO:305的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0694] (i)具有SEQ ID NO:313的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0695] (i)具有SEQ ID NO:321的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0696] (i)具有SEQ ID NO:329的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;以及

[0697] (i)具有SEQ ID NO:337的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL。(图24和图41至图74)。

[0698] 在某些实施方案中,抗CD28 ABD能够结合至CD28抗原,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,CD28 ABD能够结合至人和食蟹猴CD28。

[0699] 在另一个示例性实施方案中,抗CD28 ABD包含本文(包括图24和图41至图74以及序列表)所述的CD28 ABD中任一者的可变重(VH)结构域和/或可变轻(VL)结构域。在示例性实施方案中,VH和VL选自以下:

[0700] (i)具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的VL;

[0701] (i)具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ IDNO:101的氨基酸序列的VL;

[0702] (i)具有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:109的氨基酸序列的VL;

[0703] (i)具有SEQ ID NO:113的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:117的氨基酸序列的VL;

[0704] (i)具有SEQ ID NO:121的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:125的氨基酸序列的VL;

[0705] (i)具有SEQ ID NO:129的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:133的氨基酸序列的VL;

[0706] (i)具有SEQ ID NO:137的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:141的氨基酸序列的VL;

[0707] (i)具有SEQ ID NO:145的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:149的氨基酸序列的VL;

[0708] (i)具有SEQ ID NO:153的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:157的氨基酸序列的VL;

[0709] (i)具有SEQ ID NO:161的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:165的氨基酸序列的VL;

[0710] (i)具有SEQ ID NO:169的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:173的氨基酸序列的VL;

[0711] (i)具有SEQ ID NO:177的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:181的氨基酸序列的VL;

[0712] (i)具有SEQ ID NO:185的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:189的氨基酸序列的VL;

[0713] (i)具有SEQ ID NO:193的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:197的氨基酸

序列的VL;

[0714] (i)具有SEQ ID NO:201的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:205的氨基酸序列的VL;

[0715] (i)具有SEQ ID NO:209的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:213的氨基酸序列的VL;

[0716] (i)具有SEQ ID NO:217的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:221的氨基酸序列的VL;

[0717] (i)具有SEQ ID NO:225的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:229的氨基酸序列的VL;

[0718] (i)具有SEQ ID NO:233的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:237的氨基酸序列的VL;以及

[0719] (i)具有SEQ ID NO:241的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:245的氨基酸序列的VL;

[0720] (i)具有SEQ ID NO:249的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:253的氨基酸序列的VL;

[0721] (i)具有SEQ ID NO:257的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:261的氨基酸序列的VL;

[0722] (i)具有SEQ ID NO:265的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:269的氨基酸序列的VL;

[0723] (i)具有SEQ ID NO:273的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:277的氨基酸序列的VL;

[0724] (i)具有SEQ ID NO:281的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ IDNO:285的氨基酸序列的VL;

[0725] (i)具有SEQ ID NO:289的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:293的氨基酸序列的VL;

[0726] (i)具有SEQ ID NO:297的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:301的氨基酸序列的VL;

[0727] (i)具有SEQ ID NO:305的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:309的氨基酸序列的VL;

[0728] (i)具有SEQ ID NO:313的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:317的氨基酸序列的VL;

[0729] (i)具有SEQ ID NO:321的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:325的氨基酸序列的VL;

[0730] (i)具有SEQ ID NO:329的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:333的氨基酸序列的VL;

[0731] (i)具有SEQ ID NO:337的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:341的氨基酸序列的VL;

[0732] (i)具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0733] (i)具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0734] (i)具有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0735] (i)具有SEQ ID NO:113的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0736] (i)具有SEQ ID NO:121的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0737] (i)具有SEQ ID NO:129的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0738] (i)具有SEQ ID NO:137的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0739] (i)具有SEQ ID NO:145的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0740] (i)具有SEQ ID NO:153的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0741] (i)具有SEQ ID NO:161的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0742] (i)具有SEQ ID NO:169的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0743] (i)具有SEQ ID NO:177的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0744] (i)具有SEQ ID NO:185的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0745] (i)具有SEQ ID NO:193的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0746] (i)具有SEQ ID NO:201的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0747] (i)具有SEQ ID NO:209的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ IDNO:20的氨基酸序列的VL;

[0748] (i)具有SEQ ID NO:217的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0749] (i)具有SEQ ID NO:225的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0750] (i)具有SEQ ID NO:233的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;以及

[0751] (i)具有SEQ ID NO:241的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0752] (i)具有SEQ ID NO:249的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序

列的VL;

[0753] (i)具有SEQ ID NO:257的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0754] (i)具有SEQ ID NO:265的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0755] (i)具有SEQ ID NO:273的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0756] (i)具有SEQ ID NO:281的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0757] (i)具有SEQ ID NO:289的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0758] (i)具有SEQ ID NO:297的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0759] (i)具有SEQ ID NO:305的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0760] (i)具有SEQ ID NO:313的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0761] (i)具有SEQ ID NO:321的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0762] (i)具有SEQ ID NO:329的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;以及

[0763] (i)具有SEQ ID NO:337的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL。(图24和图41至图74)。

[0764] 除了本文公开的亲本抗CD28结合结构域可变重结构域和可变轻结构域以外,本文还提供了包含作为本文公开的抗CD28 ABD VH和VL结构域的变体的可变重结构域和/或可变轻结构域的抗CD28 ABD。在一个实施方案中,与本文(包括图28至图31以及序列表)所述的抗CD28 ABD的VH和/或VL结构域相比,变体VH结构域和/或VL结构域具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸变化。在示例性实施方案中,与选自以下的VH和/或VL相比,变体VH结构域和/或VL结构域具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸变化:

[0765] (i)具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的VL;

[0766] (i)具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的VL;

[0767] (i)具有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:109的氨基酸序列的VL;

[0768] (i)具有SEQ ID NO:113的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:117的氨基酸序列的VL;

[0769] (i)具有SEQ ID NO:121的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:125的氨基酸

序列的VL;

[0770] (i)具有SEQ ID NO:129的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:133的氨基酸序列的VL;

[0771] (i)具有SEQ ID NO:137的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:141的氨基酸序列的VL;

[0772] (i)具有SEQ ID NO:145的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:149的氨基酸序列的VL;

[0773] (i)具有SEQ ID NO:153的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:157的氨基酸序列的VL;

[0774] (i)具有SEQ ID NO:161的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:165的氨基酸序列的VL;

[0775] (i)具有SEQ ID NO:169的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:173的氨基酸序列的VL;

[0776] (i)具有SEQ ID NO:177的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:181的氨基酸序列的VL;

[0777] (i)具有SEQ ID NO:185的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:189的氨基酸序列的VL;

[0778] (i)具有SEQ ID NO:193的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:197的氨基酸序列的VL;

[0779] (i)具有SEQ ID NO:201的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ IDNO:205的氨基酸序列的VL;

[0780] (i)具有SEQ ID NO:209的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:213的氨基酸序列的VL;

[0781] (i)具有SEQ ID NO:217的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:221的氨基酸序列的VL;

[0782] (i)具有SEQ ID NO:225的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:229的氨基酸序列的VL;

[0783] (i)具有SEQ ID NO:233的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:237的氨基酸序列的VL;以及

[0784] (i)具有SEQ ID NO:241的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:245的氨基酸序列的VL;

[0785] (i)具有SEQ ID NO:249的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:253的氨基酸序列的VL;

[0786] (i)具有SEQ ID NO:257的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:261的氨基酸序列的VL;

[0787] (i)具有SEQ ID NO:265的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:269的氨基酸序列的VL;

[0788] (i)具有SEQ ID NO:273的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:277的氨基酸序列的VL;

[0789] (i)具有SEQ ID NO:281的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:285的氨基酸序列的VL;

[0790] (i)具有SEQ ID NO:289的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:293的氨基酸序列的VL;

[0791] (i)具有SEQ ID NO:297的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:301的氨基酸序列的VL;

[0792] (i)具有SEQ ID NO:305的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:309的氨基酸序列的VL;

[0793] (i)具有SEQ ID NO:313的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:317的氨基酸序列的VL;

[0794] (i)具有SEQ ID NO:321的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:325的氨基酸序列的VL;

[0795] (i)具有SEQ ID NO:329的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:333的氨基酸序列的VL;

[0796] (i)具有SEQ ID NO:337的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:341的氨基酸序列的VL;

[0797] (i)具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0798] (i)具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0799] (i)具有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0800] (i)具有SEQ ID NO:113的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0801] (i)具有SEQ ID NO:121的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0802] (i)具有SEQ ID NO:129的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ IDNO:20的氨基酸序列的VL;

[0803] (i)具有SEQ ID NO:137的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0804] (i)具有SEQ ID NO:145的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0805] (i)具有SEQ ID NO:153的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0806] (i)具有SEQ ID NO:161的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0807] (i)具有SEQ ID NO:169的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0808] (i)具有SEQ ID NO:177的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序

列的VL;

[0809] (i)具有SEQ ID NO:185的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0810] (i)具有SEQ ID NO:193的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0811] (i)具有SEQ ID NO:201的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0812] (i)具有SEQ ID NO:209的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0813] (i)具有SEQ ID NO:217的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0814] (i)具有SEQ ID NO:225的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0815] (i)具有SEQ ID NO:233的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;以及

[0816] (i)具有SEQ ID NO:241的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0817] (i)具有SEQ ID NO:249的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0818] (i)具有SEQ ID NO:257的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0819] (i)具有SEQ ID NO:265的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0820] (i)具有SEQ ID NO:273的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0821] (i)具有SEQ ID NO:281的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0822] (i)具有SEQ ID NO:289的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0823] (i)具有SEQ ID NO:297的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0824] (i)具有SEQ ID NO:305的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0825] (i)具有SEQ ID NO:313的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ IDNO:20的氨基酸序列的VL;

[0826] (i)具有SEQ ID NO:321的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0827] (i)具有SEQ ID NO:329的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;以及

[0828] (i)具有SEQ ID NO:337的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL。(图24和图41至图74)。

[0829] 在某些实施方案中,抗CD28 ABD能够结合至CD28,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,CD28 ABD能够结合至人和食蟹猴CD28。

[0830] 在一些实施方案中,CD28 ABD包含可变重结构域,所述可变重结构域相对于以下CD28 ABD可变重结构域中的一者具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸变化:SEQ ID NO:89、97、105、113、121、129、137、145、153、161、169、177、185、193、201、209、217、225、233、241、249、257、265、273、281、289、297、305、313、321、329和337。在一些实施方案中,CD28 ABD包含本文提供的可变轻结构域中的任一者或其变体。

[0831] 在一些实施方案中,CD28 ABD包含可变轻结构域,所述可变轻结构域相对于以下CD28 ABD可变轻结构域中的一者具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸变化:SEQ ID NO:20、93、101、109、117、125、133、141、149、157、165、173、181、189、197、205、213、221、229、237、245、253、261、269、277、285、293、301、309、317、325、333和341。在一些实施方案中,CD28 ABD包含本文提供的可变重结构域中的任一者或其变体。

[0832] 在一个实施方案中,变体VH和/或VL结构域与如本文(包括图41至图74以及序列表)所述的抗CD28 ABD的VH和/或VL至少90%、95%、97%、98%或99%同一。在示例性实施方案中,变体VH和/或VL结构域与包含选自以下的VH和VL的抗CD28 ABD中的一者的VH和/或VL至少90%、95%、97%、98%或99%同一:

[0833] (i)具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的VL;

[0834] (i)具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的VL;

[0835] (i)具有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:109的氨基酸序列的VL;

[0836] (i)具有SEQ ID NO:113的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:117的氨基酸序列的VL;

[0837] (i)具有SEQ ID NO:121的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:125的氨基酸序列的VL;

[0838] (i)具有SEQ ID NO:129的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:133的氨基酸序列的VL;

[0839] (i)具有SEQ ID NO:137的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:141的氨基酸序列的VL;

[0840] (i)具有SEQ ID NO:145的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:149的氨基酸序列的VL;

[0841] (i)具有SEQ ID NO:153的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:157的氨基酸序列的VL;

[0842] (i)具有SEQ ID NO:161的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:165的氨基酸序列的VL;

[0843] (i)具有SEQ ID NO:169的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:173的氨基酸序列的VL;

[0844] (i)具有SEQ ID NO:177的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:181的氨基酸序列的VL;

[0845] (i)具有SEQ ID NO:185的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:189的氨基酸序列的VL;

[0846] (i)具有SEQ ID NO:193的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:197的氨基酸序列的VL;

[0847] (i)具有SEQ ID NO:201的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:205的氨基酸序列的VL;

[0848] (i)具有SEQ ID NO:209的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:213的氨基酸序列的VL;

[0849] (i)具有SEQ ID NO:217的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:221的氨基酸序列的VL;

[0850] (i)具有SEQ ID NO:225的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:229的氨基酸序列的VL;

[0851] (i)具有SEQ ID NO:233的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:237的氨基酸序列的VL;以及

[0852] (i)具有SEQ ID NO:241的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:245的氨基酸序列的VL;

[0853] (i)具有SEQ ID NO:249的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:253的氨基酸序列的VL;

[0854] (i)具有SEQ ID NO:257的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ IDNO:261的氨基酸序列的VL;

[0855] (i)具有SEQ ID NO:265的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:269的氨基酸序列的VL;

[0856] (i)具有SEQ ID NO:273的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:277的氨基酸序列的VL;

[0857] (i)具有SEQ ID NO:281的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:285的氨基酸序列的VL;

[0858] (i)具有SEQ ID NO:289的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:293的氨基酸序列的VL;

[0859] (i)具有SEQ ID NO:297的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:301的氨基酸序列的VL;

[0860] (i)具有SEQ ID NO:305的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:309的氨基酸序列的VL;

[0861] (i)具有SEQ ID NO:313的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:317的氨基酸序列的VL;

[0862] (i)具有SEQ ID NO:321的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:325的氨基酸

序列的VL;

[0863] (i)具有SEQ ID NO:329的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:333的氨基酸序列的VL;

[0864] (i)具有SEQ ID NO:337的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:341的氨基酸序列的VL;

[0865] (i)具有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0866] (i)具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0867] (i)具有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0868] (i)具有SEQ ID NO:113的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0869] (i)具有SEQ ID NO:121的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0870] (i)具有SEQ ID NO:129的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0871] (i)具有SEQ ID NO:137的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0872] (i)具有SEQ ID NO:145的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0873] (i)具有SEQ ID NO:153的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0874] (i)具有SEQ ID NO:161的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0875] (i)具有SEQ ID NO:169的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0876] (i)具有SEQ ID NO:177的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0877] (i)具有SEQ ID NO:185的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ IDNO:20的氨基酸序列的VL;

[0878] (i)具有SEQ ID NO:193的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0879] (i)具有SEQ ID NO:201的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0880] (i)具有SEQ ID NO:209的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0881] (i)具有SEQ ID NO:217的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0882] (i)具有SEQ ID NO:225的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0883] (i)具有SEQ ID NO:233的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;以及

[0884] (i)具有SEQ ID NO:241的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0885] (i)具有SEQ ID NO:249的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0886] (i)具有SEQ ID NO:257的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0887] (i)具有SEQ ID NO:265的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0888] (i)具有SEQ ID NO:273的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0889] (i)具有SEQ ID NO:281的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0890] (i)具有SEQ ID NO:289的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0891] (i)具有SEQ ID NO:297的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0892] (i)具有SEQ ID NO:305的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0893] (i)具有SEQ ID NO:313的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0894] (i)具有SEQ ID NO:321的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;

[0895] (i)具有SEQ ID NO:329的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL;以及

[0896] (i)具有SEQ ID NO:337的氨基酸序列的VH;和(ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL。(图24和图41至图74)。

[0897] 在某些实施方案中,抗CD28 ABD能够结合至CD28,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,CD28 ABD能够结合至人和食蟹猴CD28。

[0898] 在一些实施方案中,CD28 ABD包含可变重结构域,所述可变重结构域与以下CD28 ABD可变重结构域中的一者至少90%、95%、97%、98%或99%同一:SEQ ID NO:89、97、105、113、121、129、137、145、153、161、169、177、185、193、201、209、217、225、233、241、249、257、265、273、281、289、297、305、313、321、329和337。在一些实施方案中,CD28 ABD包含本文提供的可变轻结构域中的任一者或其变体。

[0899] 在一些实施方案中,CD28 ABD包含可变轻结构域,所述可变轻结构域与以下CD28

ABD可变轻结构域中的一者至少90％、95％、97％、98％或99％同一:SEQ ID NO:20、93、101、109、117、125、133、141、149、157、165、173、181、189、197、205、213、221、229、237、245、253、261、269、277、285、293、301、309、317、325、333和341。在一些实施方案中,CD28 ABD包含本文提供的可变重结构域中的任一者或其变体。

[0900] 在一些实施方案中,CD28 ABD具有与如本文所述的CD28 ABD的VH和/或VL结构域90％、95％、97％、98％或99％同一的可变重结构域和可变轻结构域,但是CDR是同一的。在一些实施方案中,VH选自由以下组成的组:SEQ ID NO:89、97、105、113、121、129、137、145、153、161、169、177、185、193、201、209、217、225、233、241、249、257、265、273、281、289、297、305、313、321、329和337。在一些实施方案中,VL选自由以下组成的组:SEQ ID NO:20、93、101、109、117、125、133、141、149、157、165、173、181、189、197、205、213、221、229、237、245、253、261、269、277、285、293、301、309、317、325、333和341。

[0901] 在一些实施方案中,CD28 ABD具有与如本文所述的CD28 ABD的VH和/或VL结构域90％、95％、97％、98％或99％同一的可变重结构域和可变轻结构域,并且CDR中可存在0至6个氨基酸修饰。在一些实施方案中,VH选自由以下组成的组:SEQ ID NO:89、97、105、113、121、129、137、145、153、161、169、177、185、193、201、209、217、225、233、241、249、257、265、273、281、289、297、305、313、321、329和337。在一些实施方案中,VL选自由以下组成的组:SEQ ID NO:20、93、101、109、117、125、133、141、149、157、165、173、181、189、197、205、213、221、229、237、245、253、261、269、277、285、293、301、309、317、325、333和341。

[0902] 在一些实施方案中,CD28 ABD具有与如本文所述的CD28 ABD的VH和/或VL结构域90％、95％、97％、98％或99％同一的可变重结构域和可变轻结构域,并且CDR中可存在0至6个氨基酸修饰,无CDR具有超过1个氨基酸修饰。在一些实施方案中,VH选自由以下组成的组:SEQ ID NO:89、97、105、113、121、129、137、145、153、161、169、177、185、193、201、209、217、225、233、241、249、257、265、273、281、289、297、305、313、321、329和337。在一些实施方案中,VL选自由以下组成的组:SEQ ID NO:20、93、101、109、117、125、133、141、149、157、165、173、181、189、197、205、213、221、229、237、245、253、261、269、277、285、293、301、309、317、325、333和341。

[0903] 在某些实施方案中,CD28 ABD能够结合至CD28,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,CD28 ABD能够在测定检测限内结合人CD28(参见图2)。

[0904] 此类CD28结合结构域可包含于本文提供的任何抗体(例如包括图82和图83中提供的双特异性和三特异性抗体格式)中。

[0905] 1.另外的CD28结合结构域

[0906] 在另一方面,本文提供了可用于抗CD28抗体(包括本文所述的抗CD28抗体中的任一者)中的另外的CD28结合结构域。在一些实施方案中,抗CD28结合结构域包含选自图163中的那些(SEQ ID NO:3354-3389)中的任一者或其变体的可变重结构域和具有称为“IGKV1-39_L1”(也称为“2A3A4.248[PDL1]_L1”(SEQ ID NO:3239,参见图161A)和“1F12A4.249[PDL2]_L1”(SEQ ID NO:3271,参见图162A))的可变轻结构域或其变体的共同轻链,其中共同轻链还可用作PD-L1和/或PD-L2结合结构域的轻链。在一些实施方案中,本

文提供的抗CD28抗体(例如,抗CD28 x抗PD-L1和抗CD28 x抗PD-L2抗体,和抗CD28 x抗PD-L1 x抗PDL2三特异性抗体)包含CD28结合结构域,所述CD28结合结构域包含具有IGKV1-39_L1可变轻结构域的共同轻链。在一些实施方案中,抗CD28抗体是具有CD28结合结构域和PD-L1结合结构域的抗CD28 x抗PD-L1抗体,所述结合结构域各自包含具有IGKV1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)的共同轻链。在一些实施方案中,抗CD28抗体是具有CD28结合结构域和PD-L2结合结构域的抗CD28 x抗PD-L2抗体,所述结合结构域各自包含具有IGKV1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)的共同轻链。在一些实施方案中,抗CD28抗体是具有CD28结合结构域、PD-L1结合结构域和PD-L2结合结构域的抗CD28 x抗PD-L1 x抗PD-L2抗体,所述结合结构域各自包含具有IGKV1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)的共同轻链。此类利用具有IGKV1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)的共同轻链的CD28结合结构域可用于例如本文提供的利用共同轻链的抗体格式中的任一者(参见,例如,本文公开的1+1CLC、2+1CLC、1+1+1堆叠Fab2-scFv-Fc、1+1+1Fab-(Fab-scFv)-Fc、1+1+1mAb-scFv和1+1+1堆叠Fab2-Fab-Fc格式,图82和图83)。

[0907] 在一个实施方案中,CD28抗原结合结构域包含图163所描绘的CD28可变重结构域(SEQ ID NO:3354-3389)中的任一者的vhCDR1-3,和IGK1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)的vlCDR1-3。

[0908] 在一个实施方案中,本文所述的主题抗CD28抗体的CD28 ABD包含:a)与图163所描绘的CD28可变重结构域(SEQ ID NO:3354-3389)中的一者的vhCDR1、vhCDR2和/或vhCDR3相比分别具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸修饰的vhCDR1、vhCDR2和/或vhCDR3;和/或b)与IGK1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)的vlCDR1、vlCDR2和/或vlCDR3相比具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸修饰的vlCDR1、vlCDR2和/或vlCDR3。在某些实施方案中,主题抗CD28抗体的CD28 ABD能够结合CD28抗原,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)、流式细胞术和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,CD28 ABD能够结合人CD28抗原(参见图3)。

[0909] 在一个实施方案中,主题抗CD28抗体的CD28 ABD包含:与图163所描绘的CD28可变重结构域(SEQ ID NO:3354-3389)中的一者的vhCDR1、vhCDR2和/或vhCDR3分别至少90%、95%、97%、98%或99%同一的vhCDR1、vhCDR2和/或vhCDR3;和/或与IGK1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)的vlCDR1、vlCDR2和/或vlCDR3分别至少90%、95%、97%、98%或99%同一的vlCDR1、vlCDR2和/或vlCDR3。在某些实施方案中,CD28 ABD能够结合至CD28,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)、流式细胞术和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,CD28 ABD能够结合人CD28抗原(参见图3)。

[0910] 在另一示例性实施方案中,主题抗CD28抗体的CD28 ABD包含图163所描绘的CD28可变重结构域(SEQ ID NO:3354-3389)中的一者的可变重(VH)结构域,和IGK1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)。

[0911] 在一些实施方案中,抗CD28抗体包含CD28 ABD,所述CD28ABD包含可变重结构域和/或可变轻结构域,所述可变重结构域是图163所描绘的CD28可变重结构域(SEQ ID NO:3354-3389)中一者的变体,所述可变轻结构域是IGK1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:

3239)的变体。在一些实施方案中,变体VH结构域与图163所描绘的CD28可变重结构域(SEQ ID NO:3354-3389)中的一者相比具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸变化,并且/或者可变轻结构域与IGK1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)相比具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸变化。在一些实施方案中,所述一个或多个氨基酸变化是在在VH和/或VL框架区(FR1、FR2、FR3和/或FR4)中。在一些实施方案中,所述一个或多个氨基酸变化是在一个或多个CDR中。在某些实施方案中,CD28 ABD能够结合至CD28,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)、流式细胞术和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,CD28 ABD能够结合人CD28抗原(参见图3)。

[0912] 在一个实施方案中,变体VH结构域与图163所描绘的CD28可变重结构域(SEQ ID NO:3354-3389)中的一者至少90%、95%、97%、98%或99%同一,并且/或者可变轻结构域与IGK1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)至少90%、95%、97%、98%或99%同一。在某些实施方案中,CD28 ABD能够结合至CD28,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)、流式细胞术和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,CD28 ABD能够结合人CD28抗原(参见图3)。

[0913] 在一些实施方案中,CD28结合结构域包括包含图163C所描绘的VHCDR1-3和/或HFR1-4序列(SEQ ID NO:3390-3393和25674-2676)中任一者的VH以及IGK1-39_L1可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)或其变体。

[0914] 在另一个实施方案中,CD28结合结构域包含选自图163中的那些(SEQ ID NO:3354-3389)中任一者的可变重结构域或其变体,以及选自图35或37中的那些的可变轻结构域或其变体。

[0915] 在一个实施方案中,本文所述的主题抗CD28抗体的CD28 ABD包含:a)与图163所描绘的CD28可变重结构域(SEQ ID NO:3354-3389)中的一者的vhCDR1、vhCDR2和/或vhCDR3相比分别具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸修饰的vhCDR1、vhCDR2和/或vhCDR3;和/或b)与选自图35或图37中的那些的可变轻结构域的vlCDR1、vlCDR2和/或vlCDR3相比具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸修饰的vlCDR1、vlCDR2和/或vlCDR3。在某些实施方案中,主题抗CD28抗体的CD28 ABD能够结合CD28抗原,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)、流式细胞术和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,CD28 ABD能够结合人CD28抗原(参见图3)。

[0916] 在一个实施方案中,主题抗CD28抗体的CD28 ABD包含:与图163所描绘的CD28可变重结构域(SEQ ID NO:3354-3389)中的一者的vhCDR1、vhCDR2和/或vhCDR3分别至少90%、95%、97%、98%或99%同一的vhCDR1、vhCDR2和/或vhCDR3;和/或与选自图35或图37中的那些的可变轻结构域的vlCDR1、vlCDR2和/或vlCDR3分别至少90%、95%、97%、98%或99%同一的vlCDR1、vlCDR2和/或vlCDR3。在某些实施方案中,CD28 ABD能够结合至CD28,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)、流式细胞术和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,CD28 ABD能够结合人CD28抗原(参见图3)。

[0917] 在另一示例性实施方案中,主题抗CD28抗体的CD28 ABD包含图163所描绘的CD28

可变重结构域(SEQ ID NO:3354-3389)中的一者的可变重(VH)结构域,和选自图35或图37中的那些的可变轻结构域。

[0918] 在一些实施方案中,抗CD28抗体包含CD28 ABD,所述CD28ABD包含可变重结构域和/或可变轻结构域,所述可变重结构域是图163所描绘的CD28可变重结构域(SEQ ID NO:3354-3389)中一者的变体,所述可变轻结构域是选自图35或图37中的那些的可变轻结构域的变体。在一些实施方案中,变体VH结构域与图163所描绘的CD28可变重结构域(SEQ ID NO:3354-3389)中的一者相比具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸变化,并且/或者可变轻结构域与选自图35或图37中的那些的可变轻结构域相比具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸变化。在一些实施方案中,所述一个或多个氨基酸变化是在在VH和/或VL框架区(FR1、FR2、FR3和/或FR4)中。在一些实施方案中,所述一个或多个氨基酸变化是在一个或多个CDR中。在某些实施方案中,CD28 ABD能够结合至CD28,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)、流式细胞术和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,CD28 ABD能够结合人CD28抗原(参见图3)。

[0919] 在一个实施方案中,变体VH结构域与图163所描绘的CD28可变重结构域(SEQ ID NO:3354-3389)中的一者至少90%、95%、97%、98%或99%同一,并且/或者可变轻结构域与选自图35或图37中的那些的可变轻结构域至少90%、95%、97%、98%或99%同一。在某些实施方案中,CD28 ABD能够结合至CD28,如通过Biacore、表面等离子体共振(SPR)、流式细胞术和/或BLI(生物层干涉法,例如Octet测定)测定中的至少一者所测量的,后者在许多实施方案中特别有用。在特定实施方案中,CD28 ABD能够结合人CD28抗原(参见图1)。

[0920] 在另一方面,本文提供了与本文公开的PD-L1结合结构域中的任一者竞争与人CD28的结合的CD28结合结构域。

[0921] V.抗体

[0922] 在一方面,本文提供了抗CD28抗体和抗PD-L1抗体。本文提供的抗体可包含本文提供的PD-L1、PD-L2和/或CD28结合结构域中的任一者(例如,V.F.部分以及图82和图83中描述的抗体格式)。

[0923] 本文提供的抗体包含不同的抗体结构域。如本文所述以及本领域所已知,本文所述的抗体包含重链和轻链内的不同结构域,所述结构域也可以是重叠的。这些结构域包括但不限于Fc结构域、CH1结构域、CH2结构域、CH3结构域、铰链结构域、重恒定结构域(CH1-铰链-Fc结构域或CH1-铰链-CH2-CH3)、可变重结构域、可变轻结构域、轻恒定结构域、Fab结构域和scFv结构域。

[0924] 如本文所示,存在可用于共价连接所列举结构域(例如,scFv、Fab、Fc结构域等)的多个合适的接头(用于用作结构域接头或scFv接头),包括通过重组技术产生的传统肽键。使主题抗体的结构域彼此连接的示例性接头描绘于图7中。在一些实施方案中,接头肽可以主要包含以下氨基酸残基:Gly、Ser、Ala或Thr。接头肽的长度应足以连接两个分子,使得这两个分子相对于彼此呈现正确的构象,从而使它们保留所需活性。在一个实施方案中,接头的长度为约1至50个氨基酸,优选地长度为约1至30个氨基酸。在一个实施方案中,可使用长度为1个至20个氨基酸的接头,在一些实施方案中,使用约5个至约10个氨基酸的接头。有用的接头包括甘氨酸-丝氨酸聚合物(包括例如(GS)n、(GSGGS)n、(GGGGS)n和(GGGS)n,其中n

是至少为一(并且通常为3至4)的整数)、甘氨酸-丙氨酸聚合物、丙氨酸-丝氨酸聚合物和其他柔性接头。或者,多种非蛋白质聚合物,包括但不限于聚乙二醇(PEG)、聚丙二醇、聚环氧烷或聚乙二醇和聚丙二醇的共聚物可以用作接头。

[0925] 其他接头序列可以包含CL/CH1结构域的任何长度的任何序列,但不包含CL/CH1结构域的所有残基;例如,CL/CH1结构域的前5-12个氨基酸残基。接头可源自免疫球蛋白轻链,例如Cκ或Cλ。接头可源自任何同种型的免疫球蛋白重链,包括例如Cγ1、Cγ2、Cγ3、Cγ4、Cα1、Cα2、Cδ、Cε和Cμ。接头序列还可以源自其他蛋白质,诸如Ig样蛋白(例如,TCR、FcR、KIR)、铰链区来源的序列,以及来自其他蛋白质的其他天然序列。

[0926] 在一些实施方案中,接头是"结构域接头",用于将如本文所概述的任何两个结构域连接在一起。例如,在2+1Fab_2-scFv-Fc格式中,可以存在将Fab的CH1结构域的C末端连接至scFv的N末端的结构域接头,其中另一个任选的结构域接头将scFv的C末端连接至CH2结构域(但是在许多实施方案中,铰链用作此结构域接头)。虽然可使用任何合适的接头,许多实施方案利用甘氨酸-丝氨酸聚合物(包括例如(GS)n、(GSGGS)n、(GGGGS)n以及(GGGS)n,其中n是至少为一(并且通常为3至4至5)的整数)作为结构域接头,以及允许两个结构域重组连接并且具有足够长度和柔性以使得每个结构域保留其生物功能的任何肽序列。在一些情况下并且关注"链状特性"时,如下文所概述,可使用如在scFv接头的一些实施方案中使用的带电荷的结构域接头。示例性的有用的结构域接头描绘于图8中。

[0927] 在一些实施方案中,接头是用于共价连接如本文所讨论的VH和VL结构域的scFv接头。在许多情况下,scFv接头是带电荷的scFv接头,多个所述带电荷的scFv接头示于图7中。因此,本文提供了带电荷的scFv接头,以促进第一单体与第二单体之间的pI分离。也就是说,通过并入带正电荷或负电荷(或在使用不同单体上的scFv的支架的情况下两者皆有)的带电荷的scFv接头,这允许包括带电荷的接头的单体更改pI而不对Fc结构域做出进一步改变。这些带电荷的接头可被取代到含有标准接头的任何scFv中。再次,如本领域技术人员将理解的,根据所需的pI变化,带电荷的scFv接头用在正确的"链"或单体上。例如,如本文所讨论,为了制备1+1Fab-scFv-Fc格式的异二聚抗体,计算每个所需抗原结合结构域的Fv区的原始pI,并选择一个来制备scFv,并且根据pI选择带正电荷或负电荷的接头。

[0928] 带电荷的结构域接头还可用于增加本发明的单体的pI分离,并且因此图6中所包括的那些可用于本文中利用接头的任何实施方案中。

[0929] 所提供的PD-L1结合结构域、PD-L2结合结构域和CD28结合结构域可包含在任何有用的抗体格式中,包括例如典型免疫球蛋白,以及本文提供的格式(参见,例如,V.F.部分以及图82和图83)。

[0930] 在一些实施方案中,主题抗体包含本文提供的PD-L1和/或PD-L2 ABD中的一者或多者。在一些实施方案中,抗体包含一个PD-L1ABD。在其他实施方案中,抗体包含两个PD-L1 ABD。在一些实施方案中,抗体包含一个PD-L2 ABD。在其他实施方案中,抗体包含两个PD-L2 ABD。在示例性实施方案中,抗体包含一个PD-L1 ABD和一个PD-L2 ABD。

[0931] 在示例性实施方案中,抗体是双特异性或三特异性抗体,所述抗体包含一个或两个PD-L1 ABD,包括本文提供的PD-L1 ABD中的任一者。在示例性实施方案中,抗体是双特异性或三特异性抗体,所述抗体包含一个或两个PD-L2 ABD,包括本文提供的PD-L2 ABD中的任一者。包含此类PD-L1和PD-L2 ABD的双特异性和三特异性抗体包括例如"1+1Fab-scFv-

Fc”、“2+1Fab_2-scFv-Fc”、“2+1mAb-scFv”、“1+1共同轻链”、“2+1共同轻链”、“1+1+1堆叠Fab_2-scFv-Fc”、“1+1+1Fab-(Fab-scFv)-Fc”、“1+1+1mAb-scFv”和“1+1+1堆叠Fab_2-Fab-Fc”格式抗体(参见图82和图83)。

[0932] 在示例性实施方案中,PD-L1 ABD包含选自图17、图19、图20、图21、图24至图26和图28中的那些的VH和VL或其变体。在一些实施方案中,此类双特异性和三特异性抗体是包含本文所述的异二聚化偏斜变体、pI变体和/或消融变体中的任一者的异二聚双特异性抗体。参见图9。在一些实施方案中,PD-L1 ABD包含选自以下的VH和VL:

[0933] i)图17和图19中的PD-L1可变重结构域中任一者的可变重结构域,以及图17和图20中的PD-L1可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,

[0934] ii)图17和图21中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域,

[0935] iii)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变轻结构域,

[0936] iv)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域,

[0937] v)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),以及

[0938] vi)图28中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域。

[0939] 在示例性实施方案中,PD-L2 ABD包含选自图24、图29至图32和图34中的那些的VH和VL或其变体。在一些实施方案中,此类双特异性和三特异性抗体是包含本文所述的异二聚化偏斜变体、pI变体和/或消融变体中的任一者的异二聚双特异性抗体。参见图9。在一些实施方案中,PD-L2 ABD包含选自以下的VH和VL:

[0940] i)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变轻结构域,

[0941] ii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域,

[0942] iii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),以及

[0943] iv)图34中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域。

[0944] 在一些实施方案中,主题抗体包含本文提供的CD28 ABD中的一者或多者。在一些实施方案中,抗体包含一个CD28 ABD。在其他实施方案中,抗体包含两个CD28 ABD。在示例性实施方案中,抗体包含CD28 ABD,所述CD28 ABD具有选自图35、图37、图38、图41至图74和图81所描绘的那些的VH和VL或其变体。在示例性实施方案中,CD28 ABD包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[0945] i)图35、图36和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图35、图37和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域,

[0946] ii)图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域,

[0947] iii)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域,

[0948] iv)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域,

[0949] v)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),以及

[0950] vi)图81中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域。

[0951] A.嵌合抗体和人源化抗体

[0952] 在某些实施方案中,本文提供的主题抗体包含来自特定种系重链免疫球蛋白基因的重链可变区和/或来自特定种系轻链免疫球蛋白基因的轻链可变区。例如,此类抗体可以包括人抗体或由其组成,所述人抗体包含作为特定种系序列的“产物”或“源自”特定种系序列的重链可变区或轻链可变区。可通过将人抗体的氨基酸序列与人种系免疫球蛋白的氨基酸序列进行比较并且选择与人抗体序列在序列上最接近(即,最大同一性%)的人种系免疫球蛋白序列(使用本文概述的方法)来鉴定作为人种系免疫球蛋白序列的“产物”或“源自”人种系免疫球蛋白序列的人抗体。由于例如天然存在的体细胞突变或有意引入定点突变,作为特定人种系免疫球蛋白序列的“产物”或“源自”特定人种系免疫球蛋白序列的人抗体与种系序列相比可含有氨基酸差异。然而,人源化抗体的氨基酸序列通常与人种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列至少90%同一,并且在与其他物种的种系免疫球蛋白氨基酸序列(例如,鼠种系序列)进行比较时,所含的氨基酸残基将抗体鉴定为源自人序列。在某些情况下,人源化抗体的氨基酸序列与种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列可以至少95%、96%、97%、98%或99%,或甚至至少96%、97%、98%或99%同一。通常,相对于人种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列,源自特定人种系序列的人源化抗体将展现出不超过10-20个氨基酸差异(在引入本文的任何偏斜变体、pI变体和消融变体之前;也就是说,在引入本发明的变体之前,变体数目通常较低)。在某些情况下,相对于由种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列,人源化抗体可展现出不超过5个或甚至不超过4个、3个、2个或1个氨基酸差异(同样,在引入本文的任何偏斜变体、pI变体和消融变体之前;也就是说,在引入本发明的变体之前,变体数目通常较低)。

[0953] 在一个实施方案中,已对亲本抗体进行亲和力成熟,如本领域所已知。可以采用基于结构的方法进行人源化和亲和力成熟,例如,如USSN 11/004,590中所述。可以采用基于选择的方法对抗体可变区进行人源化和/或亲和力成熟,所述方法包括但不限于Wu等人,1999,J.Mol.Biol.294:151-162;Baca等人,1997,J.Biol.Chem.272(16):10678-10684;Rosok等人,1996,J.Biol.Chem.271(37):22611-22618;Rader等人,1998,Proc.Natl.Acad.Sci.USA95:8910-8915;Krauss等人,2003,Protein Engineering 16(10):753-759中描述的方法,所有文献均以引用的方式整体并入。其他人源化方法可能涉及仅移植部分CDR,所述方法包括但不限于USSN 09/810,510;Tan等人,2002,J.Immunol.169:1119-1125;De Pascalis等人,2002,J.Immunol.169:3076-3084中描述的方法,所有文献均以引用的方式整体并入。

[0954] B.抗CD28、抗PD-L1和抗PD-L2双特异性抗体和三特异性抗体

[0955] 在另一方面,本文提供了抗CD28 x抗PD-L1和抗CD28 x抗PD-L2抗体,以及抗CD28 x抗PD-L1 x抗PDL2三特异性抗体。在一些实施方案中,本文提供的双特异性抗体和三特异性抗体包含激动性CD28结合结构域,所述激动性CD28结合结构域通过与T细胞上的CD28结合来提供共刺激功能。因此,本文提供的双特异性抗体和三特异性抗体选择性地增强表达PD-L1和/或PD-L2的肿瘤部位的免疫应答。在一些实施方案中,抗CD28 x抗PD-L1和CD28 x抗PD-L2抗体是双特异性抗体。在一些实施方案中,抗CD28 x抗PD-L1 x抗PD-L2抗体是三特异性抗体。在一些实施方案中,抗CD28 x抗PD-L1和CD28 x抗PD-L2抗体是二价抗体。在一些

实施方案中,抗CD28x抗PD-L1和CD28 x抗PD-L2抗体是三价抗体。在一些实施方案中,抗CD28 x抗PD-L1和CD28 x抗PD-L2抗体是双特异性二价抗体。在示例性实施方案中,抗CD28 x抗PD-L1和CD28 x抗PD-L2抗体是双特异性三价抗体。在一些实施方案中,抗CD28 x抗PD-L1x抗PD-L2抗体是三特异性三价抗体。

[0956] 如本文更全面地概述的,抗CD28 x抗PD-L1抗体可呈多种格式,如下文所概述。示例性格式包括“1+1Fab-scFv-Fc”、“2+1Fab_2-scFv-Fc”、“2+1mAb-scFv”、“1+1共同轻链”、“2+1共同轻链”、“1+1+1堆叠Fab_2-scFv-Fc”、“1+1+1Fab-(Fab-scFv)-Fc”、“1+1+1mAb-scFv”和“1+1+1堆叠Fab_2-Fab-Fc”格式抗体(参见图82和图83)。其他有用的抗体格式包括但不限于如US20180127501A1所公开的“mAb-Fv”、“mAb-scFv”、“中心Fv”、“单臂scFv-mAb”、“scFv-mAb”、“双重scFv”和“三叉”格式抗体,所述专利以引用的方式并入本文,特别是与抗体格式有关的相关部分(参见,例如,图2)。

[0957] 可包含任何合适的CD28 ABD,包括本文所述的那些。在一些实施方案中,CD28 ABD是激动性ABD,其在与CD28结合时提供共刺激功能。在一些实施方案中,主题抗体包含CD28结合结构域,所述CD28结合结构域包含以下可变重结构域和可变轻结构域中的一者或其变体:

[0958] i)图17和图19中的PD-L1可变重结构域中任一者的可变重结构域,以及图17和图20中的PD-L1可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,

[0959] ii)图17和图21中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域,

[0960] iii)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变轻结构域,

[0961] iv)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域,

[0962] v)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),

[0963] vi)图28中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域,

[0964] vii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变轻结构域,

[0965] viii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域,

[0966] ix)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),以及

[0967] x)图34中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域。

[0968] 本文提供的抗CD28 x抗PD-L1抗体可包含一个或多个PD-L1结合结构域和/或一个或多个PD-L2结合结构域。在一些实施方案中,主题抗体包含一个PD-L1结合结构域。在某些实施方案中,主题抗体包含两个PD-L1结合结构域。在一些实施方案中,主题抗体包含一个PD-L2结合结构域。在某些实施方案中,主题抗体包含两个PD-L2结合结构域。

[0969] 应当注意,除非本文另外指明,否则以名称列出的抗原的顺序不赋予结构;也就是说,抗PD-L1 x抗CD28 1+1Fab-scFv-Fc抗体可具有与PD-L1或CD28结合的scFv,但是在一些情况下,所述顺序指明了如所指示的结构。

[0970] 另外,在主题抗体包含scFv的实施方案中,scFv从N末端至C末端可呈VH-scFv接

头-VL或VL-scFv接头-VH取向。在一些格式中,一个或多个ABD通常是Fab,其在一条蛋白质链上包含VH结构域(通常作为重链的组分)并且在另一条蛋白质链上包含VL(通常作为轻链的组分)。

[0971] 如本领域技术人员将理解的,任何一组6个CDR或VH和VL结构域可呈scFv格式或Fab格式,所述格式然后被添加到重恒定结构域和轻恒定结构域中,其中重恒定结构域包含变体(包含在CH1结构域以及Fc结构域内)。序列表中所含的scFv序列利用特定的带电荷的接头,而如本文所概述,可使用不带电荷的接头或其他带电荷的接头,包括图6所描绘的那些。

[0972] 另外,如上文所讨论,序列表中使用的用于鉴定CDR的编号是Kabat,然而,可使用不同的编号,所述不同的编号将改变如表2所示的CDR的氨基酸序列。

[0973] 对于本文列出的所有可变重结构域和可变轻结构域,可制备另外的变体。如本文所概述,在一些实施方案中,一组6个CDR可具有0个、1个、2个、3个、4个或5个氨基酸修饰(其中氨基酸取代有特别用途)以及可变重结构域和可变轻结构域的框架区的变化,只要框架(除CDR外)保持与选自美国专利第7,657,380号的图1所列出的那些的人种系序列至少约80%、85%或90%的同一性,所述美国专利的附图和图例以引用的方式整体并入本文。因此,例如,如本文所述的同一CDR可与来自人种系序列的不同框架序列组合,只要框架区保持与选自美国专利第7,657,380号的图1中列出的那些的人种系序列的至少80%、85%或90%同一性。或者,CDR可具有氨基酸修饰(例如,一组CDR中的1个、2个、3个、4个或5个氨基酸修饰(也就是说,CDR可被修饰,只要一组6个CDR的总变化数目小于6个氨基酸修饰,其中CDR的任何组合被改变;例如,v1CDR1中可以有一个变化,vhCDR2中可以有两个变化,vhCDR3中没有变化等)),并且具有框架区变化,只要框架区保持与选自美国专利第7,657,380号的图1中列出的那些的人种系序列的至少80%、85%或90%同一性。

[0974] C.异二聚抗体

[0975] 在示例性实施方案中,本文提供的双特异性抗体和三特异性抗体是包含两个变体Fc结构域序列的异二聚抗体。此类变体Fc结构域包含氨基酸修饰以促进异二聚抗体的自组装和/或纯化。

[0976] 抗体技术中持续存在的一个问题是期望多特异性抗体同时与两种或更多种不同抗原结合,由此允许不同抗原接近,从而产生新功能和新疗法。一般来说,这些抗体是通过将每条重链和轻链的基因纳入宿主细胞中来产生的。这通常使得形成所需异二聚体(A-B)以及两个同二聚体(A-A和B-B(不包括轻链异二聚问题))。然而,形成双特异性抗体的主要障碍是难以使得偏向于形成所需异二聚抗体而非形成同二聚体和/或难以从同二聚体中纯化异二聚抗体。

[0977] 有多种机制可用于产生主题异二聚抗体。另外,如本领域技术人员将理解的,可将这些不同的机制组合起来以确保高度异二聚化。促进异二聚体的产生和纯化的氨基酸修饰通常统称为“异二聚化变体”。如下文所讨论,异二聚化变体包括“偏斜”变体(例如,下文所述的“杵和臼(knobs and holes)”和“电荷对”变体)以及“pI变体”,这允许从同二聚体中纯化异二聚体。如美国专利第US 9,605,084号(整体内容以及如下文对异二聚化变体的讨论内容特此以引用的方式并入)总体上所述,有用的异二聚化机制包括如美国专利第US 9,605,084号所述的“杵和臼”(“KIH”)、如美国专利第US 9,605,084号所述的“静电转向

(electrostatic steering)”或“电荷对”、如美国专利第US 9,605,084号所述的pI变体以及如美国专利第US 9,605,084号及下文所概述的另外的通用Fc变体。

[0978] 可用于形成和纯化主题异二聚抗体(例如,双特异性抗体)的异二聚化变体在下文进一步详细讨论。

[0979] 1.偏斜变体

[0980] 在一些实施方案中,αPD-L1异二聚抗体(例如,αPD-L1 xαCD28异二聚抗体)包含偏斜变体,所述偏斜变体是在第一Fc结构域(A)和/或第二Fc结构域(B)中的一个或多个氨基酸修饰,所述一个或多个氨基酸修饰有利于形成Fc异二聚体(包含第一Fc结构域和第二Fc结构域的Fc二聚体)(A-B),而非Fc同二聚体(包含第一Fc结构域中的两者或第二Fc结构域中的两者的Fc二聚体;A-A或B-B)。合适的偏斜变体包含于美国公布申请第2016/0355608号(整体内容以及其具体地关于偏斜变体的公开内容特此以引用的方式并入)的图29中,以及图3、图8和图9中。

[0981] 一种特定类型的偏斜变体在本领域中通常被称为“杵和臼”,是指产生空间影响以有利于异二聚体形成(heterodimeric formation)而不利于同二聚体形成的氨基酸工程化,如USSN 61/596,846;Ridgway等人,Protein Engineering 9(7):617(1996);Atwell等人,J.Mol.Biol.1997270:26;美国专利第8,216,805号所述的,所有所述文献的整体内容以及具体地关于“杵和臼”突变的公开内容特此以引用的方式并入。这在本文中有时被称为“空间变体”。图中标识出了多个基于“杵和臼”的“单体A-单体B”对。另外,如Merchant等人,Nature Biotech.16:677(1998)中所述,这些“杵和臼”突变可与二硫键组合以进一步有利于形成Fc异二聚体。

[0982] 另一种可用于产生异二聚体的方法有时被称为“静电转向”,如Gunasekaran等人,J.Biol.Chem.285(25):19637(2010)中所述,所述文献特此以引用的方式整体并入。这在本文中有时被称为“电荷对”。在此实施方案中,静电用于使形成朝着异二聚化偏斜。如本领域技术人员将理解的,它们还可能影响pI并因此影响纯化,并且因此在一些情况下还可以被视为pI变体。然而,由于它们被产生是为了迫使进行异二聚化而不用作纯化工具,因此其被分类为“偏斜变体”。这些包括但不限于与D221R/P228R/K409R配对的D221E/P228E/L368E(例如,这些是“单体对应组”)和与C220R/E224R/P228R/K409R配对的C220E/P228E/368E。

[0983] 在一些实施方案中,偏斜变体有利地且同时地有利于基于“杵和臼”机制以及“静电转向”机制的异二聚化。在一些实施方案中,异二聚抗体包含一组或多组此类异二聚化偏斜变体。这些变体以成“对”的“组”出现。也就是说,将一组对并入第一单体中且将另一组对并入第二单体中。应当注意,这些组不一定表现为“杵和臼”变体,其中在一个单体上的残基与另一个单体上的残基之间存在一一对应。也就是说,这些成对的组相反可以形成两个单体之间的界面,所述界面促使异二聚体形成而不促使同二聚体形成,从而允许在生物学条件下自发形成的异二聚体的百分比超过90%,而非预期的50%(25%同二聚体A/A:50%异二聚体A/B:25%同二聚体B/B)。示例性的异二聚化“偏斜”变体描绘于图3、图8和图9中。在示例性实施方案中,异二聚抗体包含S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;或T366S/L368A/Y407V:T366W(任选地包括桥接二硫键,T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C)“偏斜”变体氨基酸取代组。在示例性实施方案中,异二聚抗体包含

“S364K/E357Q:L368D/K370S”氨基酸取代组。就命名法而言,对“S364K/E357Q:L368D/K370S”意指一个单体包含具有氨基酸取代S364K和E357Q的Fc结构域,并且另一单体包含具有氨基酸取代L368D和K370S的Fc结构域;如上所述,这些配对的“链状特性”取决于起始pI。

[0984] 在一些实施方案中,本文提供的偏斜变体可任选地且独立地与任何其他修饰(包括但不限于其他偏斜变体(参见,例如,美国公布申请第2012/0149876号的图37,所述申请特此以引用的方式并入,特别是其关于偏斜变体的公开内容)、pI变体、同种型变体、FcRn变体、消融变体等)一起并入异二聚抗体的第一Fc结构域和第二Fc结构域中的一者或两者中。此外,单个修饰也可独立地且任选地包含在主题异二聚抗体中或从主题异二聚抗体中排除。

[0985] 在一些实施方案中,本文概述的偏斜变体可任选地且独立地与任何pI变体(或其他变体,诸如Fc变体、FcRn变体等)一起并入一个或两个重链单体中,并且可独立地且任选地包含在主题异二聚抗体中或从主题异二聚抗体中排除。

[0986] 2.异二聚体的pI(等电点)变体

[0987] 在一些实施方案中,αPD-L1异二聚抗体(例如,αPD-L1 xαCD28异二聚抗体)包含有利地允许将异二聚抗体与同二聚蛋白质分离的纯化变体。

[0988] 有几种基本机制使得可轻松纯化异二聚抗体。例如,对抗体重链单体A和B中的一者或两者的修饰,使得每个单体具有不同的pI,允许从单体A-A和B-B蛋白质中等电纯化异二聚A-B抗体。或者,一些支架格式,诸如“1+1Fab-scFv-Fc”格式、“2+1Fab_2-scFv-Fc”格式和“2+1CLC”格式允许基于大小进行分离。如上文所述,还可能使用偏斜变体,使得偏向于形成异二聚体而非同二聚体。因此,异二聚化偏斜变体和pI变体的组合特别可用于本文提供的异二聚抗体中。

[0989] 另外,如下文更全面地概述的,根据异二聚抗体的格式,可使用包含在单体的恒定区和/或Fc结构域内的pI变体,和/或结构域接头。在一些实施方案中,异二聚抗体包含也可能产生pI变化的对替代功能的另外的修饰,诸如Fc、FcRn和KO变体。

[0990] 在一些实施方案中,本文提供的主题异二聚抗体包含至少一个单体,所述至少一个单体具有改变单体的pI的一个或多个修饰(即,“pI变体”)。一般来说,如本领域技术人员将理解的,pI变体存在两种通用类别:提高蛋白质pI的变体(碱性变化)和降低蛋白质pI的变体(酸性变化)。如本文所述,可进行这些变体的所有组合:一个单体可以是野生型,或者是不展现出与野生型显著不同的pI的变体,并且另一单体可更具碱性或更具酸性。或者,对每个单体进行改变,一个单体更具碱性,一个单体更具酸性。

[0991] 根据异二聚体抗体的格式,pI变体可包含在单体的恒定区和/或Fc结构域内,或者可使用带电荷的接头(结构域接头或scFv接头)。也就是说,利用一个或多个scFv的抗体格式诸如“1+1Fab-scFv-Fc”格式可包含出于纯化目的给出另外的pI助推的带电荷的scFv接头(带正电荷或负电荷)。如本领域技术人员将理解的,一些1+1Fab-scFv-Fc和2+1Fab_2-scFv-Fc格式仅在与带电荷的scFv接头一起时有用而无另外的pI调整,但是本发明还提供了在单体中的一者或两者上的pI变体和/或带电荷的结构域接头。另外,对替代功能的另外的氨基酸工程化也可能带来pI变化,诸如Fc、FcRn和KO变体。

[0992] 在将pI用作分离机制以允许纯化异二聚蛋白质的主题异二聚抗体中,将氨基酸变体引入单体多肽中的一者或两者中。也就是说,可对其中一个单体(本文为简便起见称为

“单体A”)的pI进行工程化以使其与单体B分离,或者将单体A和B都改变,使单体A的pI增加,而单体B的pI降低。如下文更全面地概述的,任一个或两个单体的pI变化可通过以下来完成:去除或添加带电荷的残基(例如,用带正电荷或带负电荷的氨基酸残基替代中性氨基酸,例如甘氨酸变为谷氨酸)、将带电荷的残基从带正电荷或带负电荷改变为相反电荷(例如,天冬氨酸变为赖氨酸)或将带电荷的残基改变为中性残基(例如,失去电荷;赖氨酸变为丝氨酸)。多个此类变体示于图3和图4中。

[0993] 因此,在一些实施方案中,主题异二聚抗体在恒定区中包含氨基酸修饰,所述氨基酸修饰通过将氨基酸取代(“pI变体”或“pI取代”)并入一个或两个单体中来改变二聚蛋白的单体中的至少一者(如果不是两者)的等电点(pI)以形成“pI抗体”。如本文所示,如果两个单体的pI差别小至0.1pH单位,则可实现异二聚体与两种同二聚体的分离,其中0.2、0.3、0.4和0.5或更高都可用于本发明。

[0994] 如本领域技术人员将理解的,为获得良好的分离,每个单体或两个单体上所包含的pI变体的数量将部分地取决于组分的起始pI,例如在1+1Fab-scFv-Fc、2+1Fab_2-scFv-Fc、1+1CLC和2+1CLC格式中,目标scFv(1+1Fab-scFv-Fc、2+1Fab_2-scFv-Fc)和Fab的起始pI。也就是说,为了确定对哪个单体进行工程化或朝哪个“方向”(例如,更具正电性或更具负电性),计算这两种靶抗原的Fv序列并据此作出决定。如本领域所已知,不同的Fv将具有不同的起始pI,在本发明中对这些起始pI进行探究。一般来说,如本文所概述,pI经工程化而使得每个单体的总pI差异达到至少约0.1log,优选是0.2至0.5,如本文所概述。

[0995] 在使用pI变体实现异二聚化的情况下,通过使用一个或多个重链的一个或多个恒定区,提供了用于设计和纯化双特异性蛋白质(包括抗体)的更模块化的方法。因此,在一些实施方案中,异二聚化变体(包括偏斜和pI异二聚化变体)不包含在可变区中,使得必须对每个单独的抗体进行工程化。另外,在一些实施方案中,通过导入来自不同IgG同种型的pI变体以便在不引入显著免疫原性的情况下改变pI来显著降低pI变体导致免疫原性的可能性。因此,待解决的另一个问题是阐明具有高人序列含量的低pI恒定结构域,例如最小化或避免任何特定位置处的非人残基。另选地或除了同种型取代以外,通过利用同配取代(例如,Asn变为Asp;以及Gln变为Glu)显著降低了pI变体导致免疫原性的可能性。

[0996] 如下文所讨论,这种pI工程化可能带来的附带益处还包括血清半衰期延长以及FcRn结合增加。也就是说,如美国公布申请第US 2012/0028304号(以引用的方式整体并入)中所述,降低抗体恒定结构域(包括在抗体和Fc融合物中发现的那些)的pI可使得体内血清保留时间更长。这些pI变体增加血清半衰期,也有利于pI变化以实现纯化。

[0997] 另外,应当注意,pI变体为双特异性抗体的分析和质量控制过程提供了另外的益处,因为在同二聚体存在时消除、最小化和区分的能力是重要的。类似地,可靠地测试异二聚抗体产生的再现性的能力也是重要的。

[0998] 一般来说,特别用途的实施方案依赖于变体组,变体组包括促使异二聚化形成而非同二聚化形成的偏斜变体与增加两个单体之间的pI差异以促进从同二聚体中纯化异二聚体的pI变体的组合。

[0999] pI变体的示例性组合示于图4和图5以及美国公布申请第2016/0355608号的图30中,所述申请的整体内容以及具体地关于pI变体的公开内容以引用的方式整体并入本文。pI变体的优选组合示于图4和图5中。如本文所概述并且如附图所示,这些变化是相对于

IgG1示出的,但所有同种型以及同种型杂合体均可按这种方式改变。在重链恒定结构域来自IgG2-4的情况下,还可使用R133E和R133Q。

[1000] 在一个实施方案中,pI变体的优选组合具有包含208D/295E/384D/418E/421D变体(在相对于人IgG1时是N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D)的一个单体(负电性Fab侧)和包含带正电荷的scFv接头(包括$(GKPGS)_4$(SEQ ID NO:892))的第二单体(正电性scFv侧)。然而,如本领域技术人员将理解的,第一单体包含CH1结构域,包括位置208。因此,在不包含CH1结构域的构建体中(例如对于在其中一个结构域上不利用CH1结构域的抗体),优选的负电性pI变体Fc组包括295E/384D/418E/421D变体(在相对于人IgG1时是Q295E/N384D/Q418E/N421D)。

[1001] 因此,在一些实施方案中,一个单体具有一组来自图4的取代,而另一个单体具有带电荷的接头(呈带电荷的scFv接头的形式,因为该单体包含scFv,或呈如该格式所指示的带电荷的结构域接头的形式,所述带电荷的结构域接头可选自图6所描绘的那些)。

[1002] 在一些实施方案中,在Fc结构域的铰链中进行修饰,包括基于EU编号的位置216、217、218、219、220、221、222、223、224、225、226、227、228、229和230。因此,可在位置216-230中的一个或多个位置中进行pI突变并且特别地是取代,其中1个、2个、3个、4个或5个突变是有用的。同样,考虑了单独的或与其他结构域中的其他pI变体一起的所有可能的组合。

[1003] 可用于降低铰链结构域的pI的具体取代包括但不限于位置221处的缺失、位置222处的非天然缬氨酸或苏氨酸、位置223处的缺失、位置224处的非天然谷氨酸、位置225处的缺失、位置235处的缺失,以及位置236处的缺失或非天然丙氨酸。在一些情况下,仅在铰链结构域中进行pI取代,而在其他情况下,这些取代以任何组合添加至其他结构域中的其他pI变体。

[1004] 在一些实施方案中,可在CH2区中进行突变,包括基于EU编号的位置233、234、235、236、274、296、300、309、320、322、326、327、334和339。应当注意,可对233-236进行改变以增加IgG2主链中的效应功能(连同327A)。同样,可进行这14个位置的所有可能的组合;例如,本文提供的抗CD28或抗PD-L1抗体可以包含具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个CH2 pI取代的变体Fc结构域。

[1005] 可用于降低CH2结构域的pI的具体取代包括但不限于位置274处的非天然谷氨酰胺或谷氨酸、位置296处的非天然苯丙氨酸、位置300处的非天然苯丙氨酸、位置309处的非天然缬氨酸、位置320处的非天然谷氨酸、位置322处的非天然谷氨酸、位置326处的非天然谷氨酸、位置327处的非天然甘氨酸、位置334处的非天然谷氨酸、位置339处的非天然苏氨酸,以及CH2内和与其他结构域的所有可能的组合。

[1006] 在此实施方案中,修饰可独立地且任选地选自CH3区的位置355、359、362、384、389、392、397、418、419、444和447(EU编号)。可用于降低CH3结构域的pI的具体取代包括但不限于位置355处的非天然谷氨酰胺或谷氨酸、位置384处的非天然丝氨酸、位置392处的非天然天冬酰胺或谷氨酸、位置397处的非天然甲硫氨酸、位置419处的非天然谷氨酸、位置359处的非天然谷氨酸、位置362处的非天然谷氨酸、位置389处的非天然谷氨酸、位置418处的非天然谷氨酸、位置444处的非天然谷氨酸,以及位置447处的缺失或非天然天冬氨酸。

[1007] 3.同种型变体

[1008] 另外,主题异二聚抗体的许多实施方案依赖于将来自一种IgG同种型的特定位置

处的pI氨基酸“导入”另一种IgG同种型,从而降低或消除将不想要的免疫原性引入变体中的可能性。美国公布2014/0370013的图21中示出了多个这些变体,所述美国公布特此以引用的方式并入。也就是说,出于多种原因,IgG1是治疗性抗体的常用同种型,包括高效应功能。然而,IgG1的重恒定区具有比IgG2的重恒定区更高的pI(8.10相对于7.31)。通过将特定位置处的IgG2残基引入IgG1主链中,使得所得单体的pI降低(或提高)并且另外表现出较长的血清半衰期。例如,在位置137处IgG1具有甘氨酸(pI 5.97),而IgG2具有谷氨酸(pI 3.22);导入谷氨酸将影响所得蛋白质的pI。如下文所述,通常需要多个氨基酸取代来显著影响变体抗体的pI。然而,应当注意,如下文所讨论,即便是IgG2分子发生变化也允许血清半衰期增加。

[1009] 在其他实施方案中,进行非同种型氨基酸变化,以降低所得蛋白质的总电荷状态(例如,通过将较高pI的氨基酸变为较低pI的氨基酸),或允许在结构上进行调节以实现稳定性等,如下文更进一步描述的。

[1010] 另外,通过对重链和轻链恒定结构域进行pI工程化,可看到异二聚体的每个单体的显著变化。如本文所讨论,使两个单体的pI相差至少0.5可允许通过离子交换色谱法或等电聚焦或其他对等电点敏感的方法进行分离。

[1011] 4.计算pI

[1012] 本文提供的抗体的每个单体的pI可取决于变体重链恒定结构域的pI和总单体的pI,所述总单体包括变体重链恒定结构域和融合配偶体。因此,在一些实施方案中,使用美国公布2014/0370013的图19中的图表,基于变体重链恒定结构域计算pI变化。如本文所讨论,要工程化哪个单体通常由Fv和支架区的固有pI来决定。或者,可比较每个单体的pI。

[1013] 5.还赋予更好的FcRn体内结合的pI变体

[1014] 在pI变体降低单体pI的情况下,pI变体可具有改善体内血清保留时间的附加益处。

[1015] 尽管仍在研究中,Fc区被认为在体内具有较长的半衰期,因为在内体中在pH为6时与FcRn结合隔离了Fc(Ghetie和Ward,1997Immunol Today.18(12):592-598,以引用的方式整体并入)。内体区室随后将Fc回收至细胞表面。一旦区室向细胞外空间开放,较高的pH(约7.4)诱导将Fc释放回血液中。Dall'Acqua等人在小鼠中证明,在pH为6和pH为7.4时具有增加的FcRn结合的Fc突变体实际上具有降低的血清浓度以及与野生型Fc相同的半衰期(Dall'Acqua等人2002,J.Immunol.169:5171-5180,以引用的方式整体并入)。据认为,在pH 7.4时Fc对FcRn增加的亲和力阻止将Fc释放回血液中。因此,将会增加Fc体内半衰期的Fc突变理想地将增加较低pH下的FcRn结合,同时仍允许在较高pH下释放Fc。在6.0至7.4的pH范围内,氨基酸组胺酸改变了其电荷状态。因此,在Fc/FcRn复合物中的重要位置处发现His残基不足为奇。

[1016] 最近,已经提出,包含具有较低等电点的可变区的抗体还可以具有较长的血清半衰期(Igawa等人,2010PEDS.23(5):385-392,以引用的方式整体并入)。然而,对其机制仍知之甚少。此外,可变区因抗体而有所不同。如本文所述,具有降低的pI和延长的半衰期的恒定区变体将提供更模块化的方法来提高抗体的药代动力学特性。

[1017] D.用于另外功能的另外Fc变体

[1018] 除了上文讨论的异二聚化变体以外,还有多种有用的Fc氨基酸修饰,这些修饰可

出于各种原因而进行,包括但不限于改变与一种或多种Fcγ R受体的结合、改变与FcRn受体的结合等,如下文所讨论。

[1019] 因此,本文提供的抗体(异二聚抗体以及同二聚抗体)可包含此类氨基酸修饰,具有或不具有本文概述的异二聚化变体(例如,pI变体和空间变体)。每组变体可独立地且任选地包含在任何特定异二聚蛋白质中或从任何特定异二聚蛋白质中排除。

[1020] 1.Fcγ R变体

[1021] 因此,可进行多种有用的Fc取代,以改变与一种或多种Fcγ R受体的结合。在某些实施方案中,主题抗体包含改变与一种或多种Fcγ R受体的结合的修饰(即,"Fcγ R变体")。导致增加的结合以及减少的结合的取代可以是有用的。例如,已知增加与Fcγ RIIIa的结合通常导致增加的ADCC(抗体依赖性细胞介导的细胞毒性;细胞介导的反应,其中表达Fcγ R的非特异性毒性细胞识别靶细胞上的结合抗体并且随后引起靶细胞溶解)。类似地,在一些情况下,与Fcγ RIIb的结合减弱(抑制性受体)也可能是有益的。可用于主题抗体中的氨基酸取代包括美国专利第8,188,321号(特别地是图41)和第8,084,582号以及美国公布申请第20060235208和20070148170号中列举的氨基酸取代,所有这些申请的整体内容以及具体地关于其中公开的影响Fcγ 受体结合的变体均以引用的方式明确并入本文。可用的特定变体包括但不限于236A、239D、239E、332E、332D、239D/332E、267D、267E、328F、267E/328F、236A/332E、239D/332E/330Y、239D、332E/330L、243A、243L、264A、264V和299T。此类修饰可以包含在主题抗体的一个或两个Fc结构域中。

[1022] 在一些实施方案中,主题抗体包含增加血清半衰期的一个或多个Fc修饰。如特此以引用的方式整体并入的USSN 12/341,769中具体公开的可用于增加与FcRn受体的结合并增加血清半衰期的Fc取代包括但不限于434S、434A、428L、308F、259I、428L/434S、259I/308F、436I/428L、436I或V/434S、436V/428L和259I/308F/428L。此类修饰可以包含在主题抗体的一个或两个Fc结构域中。

[1023] 2.消融变体

[1024] 在一些实施方案中,异二聚抗体(例如,抗PD-L1 x抗CD28双特异性抗体)包含一个或多个修饰,所述一个或多个修饰降低或去除Fc结构域与一种或多种或所有Fcγ 受体(例如,Fcγ R1、Fcγ RIIa、Fcγ RIIb、Fcγ RIIIa等)的正常结合以避免另外的作用机制。此类修饰被称为"Fcγ R消融变体"或"Fc敲除(FcKO或KO)"变体。在这些实施方案中,对于一些治疗应用,期望降低或去除Fc结构域与一种或多种或所有Fcγ 受体(例如Fcγ R1、Fcγ RIIa、Fcγ RIIb、Fcγ RIIIa等)的正常结合以避免另外的作用机制。也就是说,例如,在许多实施方案中,特别是在使用单价地结合CD28的双特异性抗体时,通常期望的是消融Fcγ RIIIa结合以消除或显著降低ADCC活性。在一些实施方案中,在本文所述的主题抗体中,至少一个Fc结构域包含一个或多个Fcγ 受体消融变体。在一些实施方案中,本文所述的主题抗体的Fc结构域两者均包含一种或多种Fcγ 受体消融变体。这些消融变体描绘于图5中,并且每个消融变体可独立地且任选地被包含在内或从中排除,优选方面利用了选自由以下组成的组的消融变体:G236R/L328R、E233P/L234V/L235A/G236del/S239K、E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、E233P/L234V/L235A/G236del/S239K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236del/S267K/A327G和E233P/L234V/L235A/G236del。应当注意,本文提及的消融变体消融Fcγ R结合,但通常不消融FcRn结合。

[1025] 如本领域所已知,人IgG1的Fc结构域具有与Fcγ受体的最高结合,并且因此,在异二聚抗体的主链中的恒定结构域(或Fc结构域)为IgG1时,可使用消融变体。例如,另选地或除了IgG1背景下的消融变体以外,糖基化位置297处的突变(通常突变成A或S)可显著消融与FcγRIIIa的结合。人IgG2和IgG4具有天然降低的与Fcγ受体的结合,并且因此那些主链可在有或没有消融变体的情况下使用。

[1026] E.异二聚变体和Fc变体的组合

[1027] 如本领域技术人员将理解的,所有所述异二聚化变体(包括偏斜和/或pI变体)均可任选地且独立地以任何方式组合,只要其保留其"链状特性"或"单体分区(monomer partition)"。另外,所有这些变体可组合成任何异二聚化格式。

[1028] 就pI变体而言,虽然附图中示出了有特别用途的实施方案,但是可遵循改变两个单体之间的pI差异以促进纯化的基本规则,产生其他组合。

[1029] 另外,任何异二聚化变体(偏斜变体和pI变体)也独立地且任选地与Fc消融变体、Fc变体、FcRn变体组合,如本文总体上所概述。

[1030] 图9包括主题异二聚抗体的一些实施方案中所包括的变体的示例性组合。在一些实施方案中,异二聚抗体包含如图9所描绘的变体的组合。在某些实施方案中,抗体是异二聚"1+1Fab-scFv-Fc"、"2+1Fab_2-scFv-Fc"、"2+1mAb-scFv"、"1+1共同轻链"、"2+1共同轻链"、"1+1+1堆叠Fab_2-scFv-Fc"、"1+1+1Fab-(Fab-scFv)-Fc"、"1+1+1mAb-scFv"和"1+1+1堆叠Fab_2-Fab-Fc"格式抗体(参见图82和图83)。

[1031] F.有用的抗体格式

[1032] 如本领域技术人员将理解以及下文更全面地讨论的,本文提供的异二聚抗体可呈现几种不同的构型,如图82和图83总体上所描绘。

[1033] 如本领域技术人员将理解的,本发明的异二聚格式可具有不同的化合价并且可以是双特异性的。也就是说,本发明的异二聚抗体可以是二价和双特异性的,或三价和双特异性的,其中第一抗原由两个结合结构域结合,而第二抗原由第二结合结构域结合。

[1034] 在一些实施方案中,本发明利用PD-L1抗原结合结构域。可使用任何抗PD-L1抗原结合结构域,无论是如本文(包括任一图(例如,图17、图19、图20、图21、图24至图26和图28或其变体)和序列表)所描绘的CDR、可变轻结构域和可变重结构域、Fab和scFv,都可任选地且独立地以任何组合组合使用。在一些实施方案中,抗体包含具有选自以下的可变重结构域和可变轻结构域的PD-L1结合结构域:

[1035] i)图17和图19中的PD-L1可变重结构域中任一者的可变重结构域,以及图17和图20中的PD-L1可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,

[1036] ii)图17和图21中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域,

[1037] iii)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变轻结构域,

[1038] iv)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域,

[1039] v)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),以及

[1040] vi)图28中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域。

[1041] 在一些实施方案中,本发明利用PD-L2抗原结合结构域。可使用任何抗PD-L2抗原

结合结构域,无论是如本文(包括任一图(例如,图24、图29至图32和图34或其变体)和序列表)所描绘的CDR、可变轻结构域和可变重结构域、Fab和scFv,都可任选地且独立地以任何组合组合使用。在一些实施方案中,抗体包含具有选自以下的可变重结构域和可变轻结构域的PD-L2结合结构域:

[1042] i)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变轻结构域,

[1043] ii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域,

[1044] iii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),以及

[1045] iv)图34中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域。

[1046] 在一些实施方案中,本发明利用CD28抗原结合结构域与PD-L1和/或PD-L2结合结构域的组合。如本文所概述,当CD28为靶抗原之一时,优选CD28仅单价地结合。如本领域技术人员将理解的,可使用如本文(包括任一附图(特别地,参见图35、图37、图38、图41至图74和图81)和序列表)所描绘的抗CD28 CDR、抗CD28可变轻结构域和可变重结构域、Fab和scFv的任何集合。在一些实施方案中,抗体包含具有选自以下的可变重结构域和可变轻结构域的CD28结合结构域:

[1047] i)图35、图36和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图35、图37和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域,

[1048] ii)图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域,

[1049] iii)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域,

[1050] iv)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域,

[1051] v)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),以及

[1052] vi)图81中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域。

[1053] 1.1+1Fab-scFv-Fc格式(“开瓶器(Bottle Opener)”)

[1054] 可特别用于本文提供的主题双特异性抗体(例如,抗PD-L1 x抗CD28和抗PD-L1 x抗CD28抗体)中的一种异二聚抗体格式是“1+1Fab-scFv-Fc”或“开瓶器”格式,如图82A所示。1+1Fab-scFv-Fc格式抗体包含第一单体,其为“常规”重链(VH1-CH1-铰链-CH2-CH3),其中VH1是第一可变重结构域,并且CH2-CH3是第一Fc结构域。1+1Fab-scFv-Fc还包含轻链,所述轻链包含第一可变轻结构域VL1和恒定轻结构域CL。轻链与第一单体的VH1-CH1相互作用以形成第一抗原结合结构域,即Fab。抗体的第二单体包含第二结合结构域和第二Fc结构域,所述第二结合结构域是单链Fv(“scFv”,如下文所定义)。scFv包含第二可变重结构域(VH2)和第二可变轻结构域(VL2),其中VH2使用可能带电荷的scFv接头连接至VL2(参见,例如,图7)。scFv使用结构域接头连接至重链(参见,例如,图8)。通过在恒定区(例如,Fc结构域、CH1结构域和/或铰链区)中使用促进异二聚抗体形成的氨基酸变体(例如,上文所讨论的异二聚化变体)使两个单体结合在一起,如下文更全面地描述的。由于与开瓶器具有大致视觉相似度,此结构在本文中有时被称为“开瓶器”格式。在一些实施方案中,1+1Fab-scFv-Fc格式抗体是二价抗体。

[1055] 本发明的“1+1Fab-scFv-Fc”格式具有若干明显优势。如本领域所已知,依赖于两个scFv构建体的抗体类似物常常具有稳定性和聚集问题,在本发明中可通过添加“常规”重链和轻链配对来缓解这些问题。另外,与依赖两条重链和两条轻链的格式相反,不存在重链和轻链错误配对(例如,重链1与轻链2配对等)的问题。

[1056] 在1+1Fab-scFv-Fc格式抗体的一些实施方案中,第一抗原结合结构域或第二抗原结合结构域中的一者是PD-L1结合结构域。在一些实施方案中,第一结合结构域(即,Fab)是PD-L1结合结构域。在某些实施方案中,第二结合结构域(即,scFv)是PD-L1结合结构域。主题抗体中可包含任何合适的PD-L1结合结构域,包括本文提供的那些或其变体(参见,例如,图17、图19、图20、图21、图24至图26和图28,以及序列表)。在一些实施方案中,PD-L1结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1057] i)图17和图19中的PD-L1可变重结构域中任一者的可变重结构域,以及图17和图20中的PD-L1可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,

[1058] ii)图17和图21中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域,

[1059] iii)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变轻结构域,

[1060] iv)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域。

[1061] v)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),以及

[1062] vi)图28中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域。

[1063] 在1+1Fab-scFv-Fc格式抗体的一些实施方案中,第一抗原结合结构域或第二抗原结合结构域中的一者是PD-L2结合结构域。在一些实施方案中,第一结合结构域(即,Fab)是PD-L2结合结构域。在某些实施方案中,第二结合结构域(即,scFv)是PD-L2结合结构域。主题抗体中可包含任何合适的PD-L2结合结构域,包括本文提供的那些或其变体(参见,例如,图24、图29至图32和图34,以及序列表)。在一些实施方案中,PD-L2结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1064] i)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变轻结构域,

[1065] ii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域,

[1066] iii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),以及

[1067] iv)图34中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域。

[1068] 在1+1Fab-scFv-Fc格式抗体的一些实施方案中,第一抗原结合结构域或第二抗原结合结构域中的一个结合结构域是CD28结合结构域,而另一个结合结构域是PD-L1或PD-L2结合结构域。在一些实施方案中,当1+1Fab-scFv-Fc包含CD28结合结构域和PD-L1或PD-L2结合结构域时,其是结合至CD28的scFv和结合PD-L1或PD-L2的Fab。呈1+1Fab-scFv-Fc格式的示例性抗PD-L1 x抗CD28双特异性抗体描绘于图84中。在一些实施方案中,抗PD-L1 x抗CD28双特异性抗体是图84所描绘的抗体。呈1+1Fab-scFv-Fc格式的示例性抗PD-L2 x抗CD28双特异性抗体描绘于图87中。在一些实施方案中,抗PD-L2 x抗CD28双特异性抗体是图87所描绘的抗体。

[1069] 在一些实施方案中,1+1Fab-scFv-Fc格式抗体的第一Fc结构域和第二Fc结构域是包含异二聚化偏斜变体(例如,如图4和图9所示的一组氨基酸取代)的变体Fc结构域。特别有用的异二聚化偏斜变体包括S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;T366S/L368A/Y407V:T366W和T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C(EU编号))。在示例性实施方案中,第一变体Fc结构域或第二变体Fc结构域中的一者包含异二聚化偏斜变体L368D/K370S,并且第一变体Fc结构域或第二变体Fc结构域中的另一者包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q,其中编号是根据EU编号。在示例性实施方案中,第一变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体L368D/K370S,并且第二变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q,其中编号是根据EU编号。

[1070] 在一些实施方案中,变体Fc结构域包含消融变体(包括图6所示的那些)。在一些实施方案中,第一变体Fc结构域和第二变体Fc结构域各自包含消融变体E233P/L234V/L235A/G236_/S267K,其中编号是根据EU编号。

[1071] 在一些实施方案中,第一单体的恒定结构域(CH1-铰链-CH2-CH 3)包含pI变体(包括图5所示的那些)。在示例性实施方案中,第一单体的恒定结构域(CH1-铰链-CH2-CH3)包含pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D,其中编号是根据EU编号。

[1072] 在示例性实施方案中,第一单体的CH1-铰链-CH2-CH3包含氨基酸变体L368D/K370S/N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,并且第二Fc结构域包含氨基酸变体S364K/E357Q/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,其中编号根据EU编号。

[1073] 在一些实施方案中,本文提供的1+1Fab-scFv-Fc格式抗体的scFv包含带电荷的scFv接头(包括图7所示的那些)。在一些实施方案中,本文提供的1+1Fab-scFv-Fc格式抗体包含FcRn变体M428L/N434S,其中编号是根据EU编号。

[1074] 在示例性实施方案中,第一变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体L368D/K370S,并且第二变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q;第一变体Fc结构域和第二变体Fc结构域各自包含消融变体E233P/L234V/L235A/G236_/S267K;并且第一单体的恒定结构域(CH1-铰链-CH2-CH3)包含pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D,其中编号是根据EU编号。在一些实施方案中,本文提供的1+1Fab-scFv-Fc格式抗体的scFv包含带电荷的scFv接头(GKPG S)$_4$。在一些实施方案中,本文提供的1+1Fab-scFv-Fc格式抗体包含FcRn变体M428L/N434S,其中编号是根据EU编号。

[1075] 在一些实施方案中,第一结合结构域或第二结合结构域中的一个结合结构域结合CD28,而另一个结合结构域结合PD-L1或PD-L2。在1+1Fab-scFv-Fc格式抗体的一些实施方案中,第一抗原结合结构域(即,Fab结合结构域)结合PD-L1或PD-L2,并且第二抗原结合结构域(即,scFv)结合CD28。在1+1Fab-scFv-Fc格式抗体的一些实施方案中,第一抗原结合结构域结合CD28(即,Fab结合结构域),并且第二抗原结合结构域(即,scFv)结合PD-L1或PD-L2。

[1076] 主题1+1Fab-scFv-Fc格式抗体中可包含任何合适的CD28结合结构域,包括本文提供的CD28结合结构域中的任一者(参见图35、图37、图38、图41至图74和图81)。在一些实施方案中,CD28结合结构域包含选自图35、图37、图38、图41至图74和81所描绘的那些的VH和

VL。在一些实施方案中,CD28结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1077] i)图35、图36和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图35、图37和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域,

[1078] ii)图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域,

[1079] iii)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域,

[1080] iv)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域,

[1081] v)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),以及

[1082] vi)图81中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域。

[1083] 图10示出了可用于1+1Fab-scFv-Fc格式抗体中的一些示例性Fc结构域序列。图10所描绘的“单体1”序列通常是指“Fab-Fc重链”的Fc结构域,并且“单体2”序列是指“scFv-Fc重链”的Fc结构域。另外,图12和图13提供了可包含在1+1Fab-scFv-Fc格式的第一单体或第二单体中的示例性CH1-铰链结构域、CH1结构域和铰链结构域。此外,图14提供了可用于此格式的有用的CL序列。

[1084] 2.2+1Fab$_2$-scFv-Fc格式(中心scFv格式)

[1085] 可特别用于本文提供的主题抗体(例如,抗PD-L1 x抗CD28和抗PD-L1 x抗CD28抗体)中的一种异二聚抗体格式是图82B所示的2+1Fab$_2$-scFv-Fc格式(也称为“中心scFv格式”)。这种抗体格式包含三个抗原结合结构域:两个Fab部分和一个插入其中一个单体的VH-CH1与CH2-CH3区域之间的scFv。在此格式的一些实施方案中,两个Fab部分各自结合PD-L1。在一些实施方案中,“额外的”scFv结构域结合CD28。在一些实施方案中,2+1Fab$_2$-scFv-Fc格式抗体是三价抗体。

[1086] 在2+1Fab$_2$-scFv-Fc格式的一些实施方案中,第一单体包含标准重链(即VH1-CH1-铰链-CH2-CH3),其中VH1是第一可变重结构域,并且CH2-CH3是第一Fc结构域。第二单体包含另一个第一可变重结构域(VH1)、CH1结构域(和任选的铰链)、第二Fc结构域以及scFv,所述scFv包含scFv可变轻结构域(VL2)、scFv接头和scFv可变重结构域(VH2)。scFv使用任选的结构域接头共价连接在第二单体的CH1结构域的C末端与第二Fc结构域的N末端之间(VH1-CH1-[任选的接头]-VH2-scFv接头-VH2-[任选的接头]-CH2-CH3,或对于scFv为相反取向:VH1-CH1-[任选的接头]-VL2-scFv接头-VH2-[任选的接头]-CH2-CH3)。任选的接头可以是任何合适的肽接头,包括例如图8中包含的结构域接头。此实施方案还利用了包含可变轻结构域(VL1)和恒定轻结构域(CL)的共同轻链。共同轻链与第一单体和第二单体的VH1-CH1缔合以形成两个相同的Fab。在一些实施方案中,相同的Fab各自结合PD-L1。对于本文的许多实施方案,这些构建体可包含如所需的和如本文所述的偏斜变体、pI变体、消融变体、另外的Fc变体等。

[1087] 在一些实施方案中,2+1Fab$_2$-scFv-Fc格式抗体的第一Fc结构域和第二Fc结构域是包含异二聚化偏斜变体(例如,如图4和图9所示的一组氨基酸取代)的变体Fc结构域。特别有用的异二聚化偏斜变体包括S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;T366S/L368A/Y407V:T366W和T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C(EU编号))。

在示例性实施方案中,第一变体Fc结构域或第二变体Fc结构域中的一者包含异二聚化偏斜变体L368D/K370S,并且第一变体Fc结构域或第二变体Fc结构域中的另一者包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q,其中编号是根据EU编号。在示例性实施方案中,第一变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体L368D/K370S,并且第二变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q,其中编号是根据EU编号。

[1088] 在一些实施方案中,变体Fc结构域包含消融变体(包括图5所示的那些)。在一些实施方案中,第一变体Fc结构域和第二变体Fc结构域各自包含消融变体E233P/L234V/L235A/G236_/S267K,其中编号是根据EU编号。

[1089] 在一些实施方案中,第一单体的恒定结构域(CH1-铰链-CH2-CH 3)包含pI变体(包括图4所示的那些)。在示例性实施方案中,第一单体的恒定结构域(CH1-铰链-CH2-CH3)包含pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D,其中编号是根据EU编号。

[1090] 在一些实施方案中,本文提供的2+1Fab_2-scFv-Fc格式抗体的scFv包含带电荷的scFv接头(包括图7所示的那些)。在一些实施方案中,本文提供的2+1Fab_2-scFv-Fc格式抗体包含FcRn变体M428L/N434S,其中编号是根据EU编号。

[1091] 在示例性实施方案中,第一变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体L368D/K370S,并且第二变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q;第一变体Fc结构域和第二变体Fc结构域各自包含消融变体E233P/L234V/L235A/G236_/S267K;并且第一单体的恒定结构域(CH1-铰链-CH2-CH3)包含pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D,其中编号是根据EU编号。在一些实施方案中,本文提供的2+1Fab_2-scFv-Fc格式抗体的scFv包含带电荷的scFv接头$(GKPG\ S)_4$。在一些实施方案中,本文提供的2+1Fab_2-scFv-Fc格式抗体包含FcRn变体M428L/N434S,其中编号是根据EU编号。

[1092] 在2+1Fab_2-scFv-Fc格式抗体的一些实施方案中,两个Fab结构域是PD-L1或PD-L2结合结构域。在一些实施方案中,scFv是PD-L1或PD-L2结合结构域。

[1093] 主题2+1Fab_2-scFv-Fc格式抗体中可包含任何合适的PD-L1结合结构域,包括本文提供的那些(图17、图19、图20、图21、图24至图26和图28,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L1结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1094] i)图17和图19中的PD-L1可变重结构域中任一者的可变重结构域,以及图17和图20中的PD-L1可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,

[1095] ii)图17和图21中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域,

[1096] iii)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变轻结构域,

[1097] iv)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域,

[1098] v)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),以及

[1099] vi)图28中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域。

[1100] 主题2+1Fab2-scFv-Fc格式抗体中可包含任何合适的PD-L2结合结构域,包括本文提供的那些(图29至图32和34,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L2结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1101] i)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和图29至图32中

的PD-L2结合结构域中任一者的可变轻结构域,

[1102] ii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域,

[1103] iii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),以及

[1104] iv)图34中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域。

[1105] 主题2+1Fab2-scFv-Fc格式抗体中可包含任何合适的CD28结合结构域,包括本文提供的CD28结合结构域中的任一者(参见,例如,图35、图37、图38、图41至图74和图81,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,CD28结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1106] i)图35、图36和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图35、图37和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域,

[1107] ii)图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域,

[1108] iii)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域,

[1109] iv)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域,

[1110] v)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24),以及

[1111] vi)图81中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域。

[1112] 图11示出了可用于2+1Fab2-scFv-Fc格式的一些示例性Fc结构域序列。图11所描绘的“单体1”序列通常是指“Fab-Fc重链”的Fc结构域,并且“单体2”序列是指“Fab-scFv-Fc重链”的Fc结构域。另外,图12和图13提供了可包含在2+1Fab2-scFv-Fc格式的第一单体或第二单体中的示例性CH1-铰链结构域、CH1结构域和铰链结构域。此外,图14提供了可用于此格式的有用的CL序列。

[1113] 呈2+1Fab_2-scFv-Fc格式的示例性抗PD-L1 x抗CD28 x抗体描绘于图85中。在一些实施方案中,抗PD-L1 x抗CD28 x抗体是图85所描绘的抗体。

[1114] 3.1+1CLC格式

[1115] 可特别用于本文提供的主题双特异性抗体(例如,抗PD-L1 x抗CD28和抗PD-L1 x抗CD28抗体)中的一种异二聚抗体格式是“1+1共同轻链”或“1+1CLC”格式,其描绘于图82C中。1+1CLC格式抗体包含第一单体,所述第一单体包含VH1-CH1-铰链-CH2-CH3,其中VH1是第一可变重结构域,并且CH2-CH3是第一Fc结构域;第二单体,所述第二单体包含VH2-CH1-铰链-CH2-CH3,其中VH2是第二可变重结构域,并且CH2-C3是第二Fc结构域;和第三单体“共同轻链”,所述第三单体包含VL-CL,其中VL是共同可变轻结构域,并且CL是恒定轻结构域。在此类实施方案中,VL与VH1配对以形成具有第一抗原结合特异性的第一结合结构域;并且VL与VH2配对以形成具有第二抗原结合特异性的第二结合结构域。在一些实施方案中,1+1CLC格式抗体是二价抗体。

[1116] 在一些实施方案中,1+1CLC格式的第一Fc结构域和第二Fc结构域是包含异二聚化偏斜变体(例如,如图4和图9所示的一组氨基酸取代)的变体Fc结构域。特别有用的异二聚化偏斜变体包括S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;T366S/

L368A/Y407V:T366W和T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C(EU编号)。在示例性实施方案中,第一变体Fc结构域或第二变体Fc结构域中的一者包含异二聚化偏斜变体L368D/K370S,并且第一变体Fc结构域或第二变体Fc结构域中的另一者包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q,其中编号是根据EU编号。在示例性实施方案中,第一变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体L368D/K370S,并且第二变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q,其中编号是根据EU编号。

[1117] 在一些实施方案中,变体Fc结构域包含消融变体(包括图6所示的那些)。在一些实施方案中,第一变体Fc结构域和第二变体Fc结构域各自包含消融变体E233P/L234V/L235A/G236_/S267K,其中编号是根据EU编号。

[1118] 在一些实施方案中,第一单体或第二单体的恒定结构域(CH1-铰链-CH2-CH3)包含pI变体(包括图5所示的那些)。在示例性实施方案中,第一单体或第二单体的恒定结构域(CH1-铰链-CH2-CH3)包含pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D,其中编号是根据EU编号。

[1119] 在一些实施方案中,本文提供的1+1CLC格式抗体包含FcRn变体M428L/N434S,其中编号是根据EU编号。

[1120] 在示例性实施方案中,第一变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体L368D/K370S,并且第二变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q;第一变体Fc结构域和第二变体Fc结构域各自包含消融变体E233P/L234V/L235A/G236_/S267K;并且第一单体的恒定结构域(CH1-铰链-CH2-CH3)包含pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D,其中编号是根据EU编号。在一些实施方案中,本文提供的1+1CLC格式抗体还包含FcRn变体M428L/N434S,其中编号是根据EU编号。

[1121] 在1+1CLC格式抗体的一些实施方案中,第一抗原结合结构域或第二抗原结合结构域中的一者是PD-L1结合结构域。主题1+1CLC格式抗体格式抗体中可包含任何合适的PD-L1结合结构域,包括本文提供的那些(图17、图19、图20、图21、图24至图26和图28,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L1结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1122] i)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变轻结构域,

[1123] ii)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域,以及

[1124] iii)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)。

[1125] 在1+1CLC格式抗体的一些实施方案中,第一抗原结合结构域或第二抗原结合结构域中的一者是PD-L2结合结构域。主题1+1CLC格式抗体格式抗体中可包含任何合适的PD-L2结合结构域,包括本文提供的那些(图29至图32,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L2结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1126] i)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变轻结构域,

[1127] ii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域,

以及

[1128] iii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)。

[1129] 在1+1CLC格式抗体的一些实施方案中,第一抗原结合结构域或第二抗原结合结构域中的一者是CD28结合结构域。主题1+1CLC格式抗体格式抗体中可包含任何合适的CD28结合结构域,包括本文提供的那些(图241至图47,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,CD28结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1130] i)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域,

[1131] ii)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域,以及

[1132] iii)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)。

[1133] 4.2+1CLC格式

[1134] 可特别用于本文提供的主题双特异性抗体(例如,抗PD-L1 x抗CD28和抗PD-L1 x抗CD28抗体)中的另一种异二聚抗体格式是“2+1共同轻链”或“2+1CLC”格式,其描绘于图82D中。2+1CLC格式包含第一单体,所述第一单体包含VH1-CH1-接头-VH1-CH1-铰链-CH2-CH3,其中VH1各自是第一可变重结构域,并且CH2-CH3是第一Fc结构域;第二单体,所述第二单体包含VH2-CH1-铰链-CH2-CH3,其中VH2是第二可变重结构域,并且CH2-CH3是第二Fc结构域;和第三单体,所述第三单体包含“共同轻链”VL-CL,其中VL是共同可变轻结构域,并且CL是恒定轻结构域。VL与第一单体的每个VH1配对以形成两个第一结合结构域,每个结构域具有第一抗原结合特异性;并且VL与VH2配对以形成具有第二抗原结合特异性的第二结合结构域。第一单体的接头可以是任何合适的接头,包括图8所描述的结构域接头中的任一者或其组合。在一些实施方案中,接头是EPKSCGKPGSGKPGS(SEQ ID NO:936)。在一些实施方案中,2+1CLC格式抗体是三价抗体。

[1135] 在一些实施方案中,2+1CLC格式的第一Fc结构域和第二Fc结构域是包含异二聚化偏斜变体(例如,如图4和图9所示的一组氨基酸取代)的变体Fc结构域。特别有用的异二聚化偏斜变体包括S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;T366S/L368A/Y407V:T366W和T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C(EU编号))。在示例性实施方案中,第一变体Fc结构域或第二变体Fc结构域中的一者包含异二聚化偏斜变体L368D/K370S,并且第一变体Fc结构域或第二变体Fc结构域中的另一者包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q,其中编号是根据EU编号。在示例性实施方案中,第一变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体L368D/K370S,并且第二变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q,其中编号是根据EU编号。

[1136] 在一些实施方案中,变体Fc结构域包含消融变体(包括图6所示的那些)。在一些实施方案中,第一变体Fc结构域和第二变体Fc结构域各自包含消融变体E233P/L234V/L235A/G236_/S267K,其中编号是根据EU编号。

[1137] 在一些实施方案中,第一单体或第二单体的恒定结构域(CH1-铰链-CH2-CH3)包含

pI变体(包括图5所示的那些)。在示例性实施方案中,第一单体或第二单体的恒定结构域(CH1-铰链-CH2-CH3)包含pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D,其中编号是根据EU编号。

[1138] 在一些实施方案中,本文提供的2+1CLC格式抗体还包含FcRn变体M428L/N434S,其中编号是根据EU编号。

[1139] 在示例性实施方案中,第一变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体L368D/K370S,并且第二变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q;第一变体Fc结构域和第二变体Fc结构域各自包含消融变体E233P/L234V/L235A/G236_/S267K;并且第一单体的恒定结构域(CH1-铰链-CH2-CH3)包含pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D,其中编号是根据EU编号。在一些实施方案中,本文提供的2+1CLC格式抗体还包含FcRn变体M428L/N434S,其中编号是根据EU编号。

[1140] 在2+1CLC格式抗体的一些实施方案中,两个第一结合结构域中的每一者是PD-L1结合结构域。在一些实施方案中,第二结合结构域是PD-L1结合结构域。主题2+1CLC格式抗体格式抗体中可包含任何合适的PD-L1结合结构域,包括本文提供的那些(图17、图19、图20、图21、图24至图26和图28,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L1结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1141] i)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1142] ii)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,以及

[1143] iii)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体。

[1144] 在2+1CLC格式抗体的一些实施方案中,两个第一结合结构域中的每一者是PD-L2结合结构域。在一些实施方案中,第二结合结构域是PD-L1结合结构域。主题1+1CLC格式抗体格式抗体中可包含任何合适的PD-L2结合结构域,包括本文提供的那些(图29至图32,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L2结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1145] i)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1146] ii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,以及

[1147] iii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体。

[1148] 在2+1CLC格式抗体的一些实施方案中,抗原结合结构域中的一者是CD28结合结构域。主题2+1CLC格式抗体格式抗体中可包含任何合适的CD28结合结构域,包括本文提供的那些(图241至图47,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,CD28结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1149] i)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1150] ii)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,以及

[1151] iii)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体。

[1152] 5.2+1mAb-scFv格式

[1153] 可特别用于本文提供的主题双特异性抗体(例如,抗PD-L1 x抗CD28和抗PD-L1 x抗CD28抗体)中的一种异二聚抗体格式是图82E所示的2+1mAb-scFv格式。这种抗体格式包含三个抗原结合结构域:两个Fab部分和一个连接至其中一条重链的C末端的scFv。在此格式的一些实施方案中,Fab部分各自结合PD-L1。在一些实施方案中,“额外的”scFv结构域结合CD28。也就是说,这种mAb-scFv格式是三价抗体。

[1154] 在这些实施方案中,第一链或单体从N末端至C末端包含VH1-CH1-铰链-CH2-CH3,第二单体从N末端至C末端包含VH1-CH1-铰链-CH2-CH3-结构域接头-scFv结构域,其中scFv结构域包含第二VH(VH2)、第二VL(VL2)和scFv接头。对于本文的所有scFv结构域,scFv结构域从N末端至C末端可呈任一取向,VH2-scFv接头-VL2或VL2-scFv接头-VH2。因此,第二单体从N末端至C末端可包含VH1-CH1-铰链-CH2-CH3-结构域接头-VH2-scFv接头-VL2或VH1-CH1-铰链-CH2-CH3-结构域接头-VL2-scFv接头-VH2。组合物还包含轻链VL1-CL。在这些实施方案中,VH1-VL1各自形成第一ABD,并且VH2-VL2形成第二ABD。在一些实施方案中,第一ABD结合至肿瘤靶抗原,包括人B7H3,并且第二ABD结合人CD28。

[1155] 在一些实施方案中,2+1mAb-scFv格式抗体的第一Fc结构域和第二Fc结构域是包含异二聚化偏斜变体(例如,如图4和图9所示的一组氨基酸取代)的变体Fc结构域。特别有用的异二聚化偏斜变体包括S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;T366S/L368A/Y407V:T366W和T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C(EU编号))。在示例性实施方案中,第一变体Fc结构域或第二变体Fc结构域中的一者包含异二聚化偏斜变体L368D/K370S,并且第一变体Fc结构域或第二变体Fc结构域中的另一者包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q,其中编号是根据EU编号。在示例性实施方案中,第一变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体L368D/K370S,并且第二变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q,其中编号是根据EU编号。

[1156] 在一些实施方案中,变体Fc结构域包含消融变体(包括图5所示的那些)。在一些实施方案中,第一变体Fc结构域和第二变体Fc结构域各自包含消融变体E233P/L234V/L235A/G236_/S267K,其中编号是根据EU编号。

[1157] 在一些实施方案中,第一单体的恒定结构域(CH1-铰链-CH2-CH 3)包含pI变体(包括图4所示的那些)。在示例性实施方案中,第一单体的恒定结构域(CH1-铰链-CH2-CH3)包含pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D,其中编号是根据EU编号。

[1158] 在一些实施方案中,本文提供的2+1mAb-scFv格式抗体的scFv包含带电荷的scFv接头(包括图7所示的那些)。在一些实施方案中,本文提供的2+1mAb-scFv格式抗体包含FcRn变体M428L/N434S,其中编号是根据EU编号。

[1159] 在示例性实施方案中,第一变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体L368D/K370S,并且第二变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q;第一变体Fc结构域和第二变体

Fc结构域各自包含消融变体E233P/L234V/L235A/G236_/S267K;并且第一单体的恒定结构域(CH1-铰链-CH2-CH3)包含pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D,其中编号是根据EU编号。在一些实施方案中,本文提供的2+1mAb-scFv格式抗体的scFv包含带电荷的scFv接头$(GKPGS)_4$。在一些实施方案中,本文提供的2+1mAb-scFv格式抗体包含FcRn变体M428L/N434S,其中编号是根据EU编号。

[1160] 主题2+1mAb-scFv格式抗体中可包含任何合适的PD-L1结合结构域,包括本文提供的那些(图17、图19、图20、图21、图24至图26和图28,以及序列表)或其变体。在2+1mAb-scFv的一些实施方案中,第一单体和第二单体的VH1与共同轻链的VL1各自形成PD-L1结合结构域。在一些实施方案中,第二单体的scFv是PD-L1结合结构域。

[1161] 在一些实施方案中,PD-L1结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1162] i)图17和图19中的PD-L1可变重结构域中任一者的可变重结构域,以及图17和图20中的PD-L1可变轻结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1163] ii)图17和图21中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1164] iii)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1165] iv)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1166] v)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,以及

[1167] vi)图28中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体。

[1168] 主题2+1mAb-scFv格式抗体中可包含任何合适的PD-L2结合结构域,包括本文提供的那些(图29至图34,以及序列表)或其变体。在2+1mAb-scFv的一些实施方案中,第一单体和第二单体的VH1与共同轻链的VL1各自形成PD-L2结合结构域。在一些实施方案中,第二单体的scFv是PD-L2结合结构域。

[1169] 在一些实施方案中,PD-L2结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1170] i)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1171] ii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1172] iii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,以及

[1173] iv)图34中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体。

[1174] 在一些实施方案中,2+1mAb-scFv格式抗体是结合CD28和PD-L1或PD-L2的双特异性抗体。在一些实施方案中,第二单体的scFv是CD28结合结构域,并且第一单体和第二单体

的VH1与共同轻链的VL1各自形成PD-L1结合结构域或PD-L2结合结构域。在一些实施方案中,第二单体的scFv是PD-L1或PD-L1结合结构域,并且第一单体和第二单体的VH1与共同轻链的VL1各自形成CD28结合结构域。

[1175] 主题2+1mAb-scFv格式抗体中可包含任何合适的CD28结合结构域,包括本文提供的CD28结合结构域中的任一者(参见,例如,图35、图37、图38、图41至图74和图81,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,CD28结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1176] i)图35、图36和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图35、图37和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1177] ii)图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1178] iii)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1179] iv)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1180] v)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,以及

[1181] vi)图81中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体。

[1182] 图10和图11示出了可用于2+1mAb-scFv格式的一些示例性Fc结构域序列。图10所描绘的“单体1”序列通常是指“Fab-Fc重链”的Fc结构域,并且“单体2”序列是指“Fab-Fc-scFv”重链的Fc结构域。另外,图12提供了可用于“Fab-Fc重链”单体或“Fab-Fc-scFv”重链中的示例性CH1(任选地包括铰链或半铰链结构域)。图13提供了可用于“Fab-Fc重链”单体或“Fab-Fc-scFv”重链中的示例性铰链结构域。此外,图14提供了可用于此格式的有用的CL序列。

[1183] 呈2+1mAb-scFv格式的示例性抗PD-L1 x抗CD28 x抗体描绘于图37中。

[1184] 6.双重scFv格式

[1185] 可特别用于主题双特异性抗体(例如,抗PD-L1 x抗CD28和抗PD-L1 x抗CD28抗体)中的一种异二聚抗体格式是双重scFv格式,如本领域所已知并且如图82F所示的。在此实施方案中,异二聚双特异性抗体由两个scFv-Fc单体(均呈(vh-scFv接头-vl-[任选的结构域接头]-CH2-CH3)格式或(vl-scFv接头-vh-[任选的结构域接头]-CH2-CH3)格式,或者一个单体呈一个取向,而另一个单体呈另一取向)构成。

[1186] 在这种情况下,所有ABD均呈scFv格式。呈双重scFv格式的主题双特异性抗体中可包含任何合适的PD-L1结合结构域、PD-L2结合结构域和CD28结合结构域,包括本文提供的PD-L1结合结构域、PD-L2结合结构域和CD28结合结构域中的任一者。

[1187] 另外,双重scFv格式的Fc结构域包含偏斜变体(例如,如图4和图9所示的一组氨基酸取代,其中特别有用的偏斜变体选自由以下组成的组:S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L、K370S:S364K/E357Q、T366S/L368A/Y407V:T366W和T366S/L368A/Y407V/

Y349C:T366W/S354C)、任选的消融变体(包括图6所示的那些)、任选的带电荷的scFv接头(包括图7所示的那些),并且重链包含pI变体(包括图5所示的那些)。

[1188] 在一些实施方案中,双重scFv格式包含偏斜变体、pI变体和消融变体。因此,一些实施方案包括包含以下的格式:a)第一单体,所述第一单体包含偏斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,和结合第一抗原的scFv(VH1-scFv接头-VL1-[任选的结构域接头]-CH2-CH3或VL1-scFv接头-VH1-[任选的结构域接头]-CH2-CH3);以及b)第一单体,所述第一单体包含偏斜变体L368D/K370S、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,和结合第二抗原的scFv(VH1-scFv接头-VL1-[任选的结构域接头]-CH2-CH3或VL1-scFv接头-VH1-[任选的结构域接头]-CH2-CH3)。pI变体可如本文所概述,但最常见的是针对每单体带相反电荷的scFv接头。可任选地包含FcRn变体,特别是428L/434S。

[1189] 主题双重scFv格式抗体中可包含任何合适的PD-L1结合结构域,包括本文提供的那些(图17、图19、图20、图21、图24至图26和图28,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L1结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1190] i)图17和图19中的PD-L1可变重结构域中任一者的可变重结构域,以及图17和图20中的PD-L1可变轻结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1191] ii)图17和图21中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1192] iii)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1193] iv)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1194] v)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,以及

[1195] vi)图28中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体。

[1196] 主题双重scFv格式抗体中可包含任何合适的PD-L2结合结构域,包括本文提供的那些(图29至图34,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L2结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1197] i)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1198] ii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1199] iii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,以及

[1200] iv)图34中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体。

[1201] 主题双重scFv格式抗体中可包含任何合适的CD28结合结构域,包括本文提供的CD28结合结构域中的任一者(参见,例如,图35、图37、图38、图41至图74和图81,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,CD28结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻

结构域:

[1202] i)图35、图36和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图35、图37和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1203] ii)图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1204] iii)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1205] iv)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1206] v)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,以及

[1207] vi)图81中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体。

[1208] 7.单臂scFv-mAb格式

[1209] 可特别用于本文提供的主题抗体(例如,抗PD-L1 x抗CD28和抗PD-L1 x抗CD28抗体)中的一种异二聚抗体格式是图82G所示的单臂mAb-scFv格式。此格式包含:1)第一单体,所述第一单体包含"空"Fc结构域;2)第二单体,所述第二单体包含第一可变重结构域(VH)、scFv结构域(第二抗原结合结构域)和Fc结构域,其中scFv结构域连接至第一可变重结构域的N末端;和3)轻链,所述轻链包含第一可变轻结构域和恒定轻结构域。第一可变重结构域和第一可变轻结构域形成第一抗原结合结构域,并且scFv是第二抗原结合结构域。在此格式中,第一抗原结合结构域和第二结合结构域中的一个结合结构域结合CD28,而另一个抗原结合结构域结合PD-L1或PD-L2。对于本文的许多实施方案,这些构建体包含如所需的和如本文所述的偏斜变体、pI变体、消融变体、另外的Fc变体等。

[1210] 主题单臂mAb-scFv格式抗体中可包含任何合适的PD-L1结合结构域,包括本文提供的那些(图17、图19、图20、图21、图24至图26和图28,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L1结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1211] i)图17和图19中的PD-L1可变重结构域中任一者的可变重结构域,以及图17和图20中的PD-L1可变轻结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1212] ii)图17和图21中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1213] iii)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1214] iv)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1215] v)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,以及

[1216] vi)图28中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体。

[1217] 主题单臂mAb-scFv格式抗体中可包含任何合适的PD-L2结合结构域,包括本文提

供的那些(图29至图34,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L2结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1218] i)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1219] ii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1220] iii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,以及

[1221] iv)图34中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体。

[1222] 主题单臂mAb-scFv格式抗体中可包含任何合适的CD28结合结构域,包括本文提供的CD28结合结构域中的任一者(参见,例如,图35、图37、图38、图41至图74和图81,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,CD28结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1223] i)图35、图36和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图35、图37和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1224] ii)图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1225] iii)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1226] iv)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1227] v)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,以及

[1228] vi)图81中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体。

[1229] 8.scFv-mAb格式

[1230] 可特别用于本文提供的主题抗体(例如,抗PD-L1 x抗CD28和抗PD-L1 x抗CD28抗体)中的一种异二聚抗体格式是图82H所示的scFv-mAb格式。在此实施方案中,该格式依赖于将scFv连接至其中一个单体的N末端,从而形成第三抗原结合结构域,其中两个单体的Fab部分各自结合一个靶标,而“额外的”scFv结构域结合不同的靶标。

[1231] 在此实施方案中,第一单体包含第一重链(包含可变重结构域和恒定结构域),其中N末端共价连接的scFv包含scFv可变轻结构域、scFv接头和scFv可变重结构域,呈任一取向((vh1-scFv接头-vl1-[任选的结构域接头]-vh2-CH1-铰链-CH2-CH3)或(scFv呈相反取向)((vl1-scFv接头-vh1-[任选的结构域接头]-vh2-CH1-铰链-CH2-CH3))。第二单体包含重链VH2-CH1-铰链-CH2-CH3。此实施方案还利用包含可变轻结构域和恒定轻结构域的共同轻链,所述共同轻链与重链缔合以形成两个相同的Fab。对于本文的许多实施方案,这些构建体包含如所需的和如本文所述的偏斜变体、pI变体、消融变体、另外的Fc变体等。

[1232] 主题scFv-mAb格式抗体中可包含任何合适的PD-L1结合结构域,包括本文提供的

那些(图17、图19、图20、图21、图24至图26和图28,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L1结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1233] i)图17和图19中的PD-L1可变重结构域中任一者的可变重结构域,以及图17和图20中的PD-L1可变轻结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1234] ii)图17和图21中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1235] iii)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1236] iv)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1237] v)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,以及

[1238] vi)图28中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体。

[1239] 主题scFv-mAb格式抗体中可包含任何合适的PD-L2结合结构域,包括本文提供的那些(图29至图34,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L2结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1240] i)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1241] ii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1242] iii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,以及

[1243] iv)图34中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体。

[1244] 主题scFv-mAb格式抗体中可包含任何合适的CD28结合结构域,包括本文提供的CD28结合结构域中的任一者(参见,例如,图35、图37、图38、图41至图74和图81,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,CD28结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1245] i)图35、图36和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图35、图37和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1246] ii)图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1247] iii)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1248] iv)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1249] v)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,以及

[1250] vi)图81中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体。

[1251] 9.非异二聚双特异性抗体

[1252] 如本领域技术人员将理解的,本文提供的主题抗体(例如,抗PD-L1 x抗CD28和抗PD-L1 x抗CD28抗体)还可包含在非异二聚双特异性格式(参见图82I)中。在此格式中,抗CD28 x抗T抗PD-L1 x抗CD28和抗PD-L1 x抗CD28抗体包含:1)包含VH1-CH1-铰链-CH2-CH3的第一单体;2)包含VH2-CH1-铰链-CH2-CH3的第二单体;3)包含VL1-CL的第一轻链;和4)包含VL2-CL的第二轻链。在此类实施方案中,VH1与VL1形成第一抗原结合结构域,并且VH2与VL2形成第二抗原结合结构域。第一抗原结合结构域或第二抗原结合结构域中的一个抗原结合结构域结合CD28,而另一个抗原结合结构域结合PD-L1或PD-L2。

[1253] 主题非异二聚双特异性格式抗体中可包含任何合适的PD-L1结合结构域,包括本文提供的那些(图17、图19、图20、图21、图24至图26和图28,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L1结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1254] i)图17和图19中的PD-L1可变重结构域中任一者的可变重结构域,以及图17和图20中的PD-L1可变轻结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1255] ii)图17和图21中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1256] iii)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1257] iv)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1258] v)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,以及

[1259] vi)图28中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体。

[1260] 主题非异二聚双特异性抗体中可包含任何合适的PD-L2结合结构域,包括本文提供的那些(图29至图34,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L2结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1261] i)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1262] ii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1263] iii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,以及

[1264] iv)图34中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体。

[1265] 主题非异二聚双特异性格式抗体中可包含任何合适的CD28结合结构域,包括本文提供的CD28结合结构域中的任一者(参见,例如,图35、图37、图38、图41至图74和图81,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,CD28结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可

变轻结构域:

[1266] i)图35、图36和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图35、图37和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1267] ii)图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1268] iii)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1269] iv)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1270] v)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,以及

[1271] vi)图81中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体。

[1272] 10.单臂中心scFv

[1273] 可特别用于本文提供的主题抗体(例如,抗PD-L1 x抗CD28和抗PD-L1 x抗CD28抗体)中的一种异二聚抗体格式是图82J所示的单臂中心scFv格式。在此实施方案中,一个单体仅包含Fc结构域,而另一个单体包含Fab结构域(第一抗原结合结构域)、scFv结构域(第二抗原结合结构域)和Fc结构域,其中scFv结构域插入Fc结构域与Fc结构域之间。

[1274] 在此实施方案中,一个单体包含第一重链,所述第一重链包含第一可变重结构域、CH1结构域和Fc结构域,其中scFv包含scFv可变轻结构域、scFv接头和scFv可变重结构域。scFv使用结构域接头共价连接至重恒定结构域的CH1结构域的C末端与第一Fc结构域的N末端之间,呈任一取向:VH1-CH1-[任选的结构域接头]-VH2-scFv接头-VL2-[任选的结构域接头]-CH2-CH3或VH1-CH1-[任选的结构域接头]-VL2-scFv接头-VH2-[任选的结构域接头]-CH2-CH3。第二单体包含Fc结构域(CH2-CH3)。此实施方案还利用包含可变轻结构域和恒定轻结构域的轻链,所述轻链与重链缔合以形成Fab。对于本文的许多实施方案,这些构建体包含如所需的和如本文所述的偏斜变体、pI变体、消融变体、另外的Fc变体等。

[1275] 主题单臂中心scFv格式抗体中可包含任何合适的PD-L1结合结构域,包括本文提供的那些(图17、图19、图20、图21、图24至图26和图28,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L1结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1276] i)图17和图19中的PD-L1可变重结构域中任一者的可变重结构域,以及图17和图20中的PD-L1可变轻结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1277] ii)图17和图21中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1278] iii)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1279] iv)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1280] v)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,以及

[1281] vi)图28中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体。

[1282] 主题单臂中心scFv格式抗体中可包含任何合适的PD-L2结合结构域,包括本文提供的那些(图29至图34,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L2结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1283] i)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1284] ii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1285] iii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,以及

[1286] iv)图34中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体。

[1287] 主题单臂中心scFv格式抗体中可包含任何合适的CD28结合结构域,包括本文提供的CD28结合结构域中的任一者(参见,例如,图35、图37、图38、图41至图74和图81,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,CD28结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1288] i)图35、图36和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图35、图37和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1289] ii)图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1290] iii)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1291] iv)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1292] v)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,以及

[1293] vi)图81中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体。

[1294] 11.mAb-Fv格式

[1295] 可特别用于本文提供的主题抗体(例如,抗PD-L1 x抗CD28和抗PD-L1 x抗CD28抗体)中的一种异二聚抗体格式是mAb-Fv格式(图82K)。在此实施方案中,该格式依赖于将“额外的”可变重结构域连接至一个单体的C末端,以及将“额外的”可变轻结构域连接至另一单体的C末端,从而形成第三抗原结合结构域(即,“额外的”Fv结构域),其中两个单体的Fab部分结合PD-L1或PD-L2,而“额外的”Fv结构域结合CD28。

[1296] 在此实施方案中,第一单体包含第一重链,所述第一重链包含第一可变重结构域和第一恒定重结构域,所述第一恒定重结构域包含第一Fc结构域,其中第一可变轻结构域使用结构域接头共价连接至第一Fc结构域的C末端(vh1-CH1-铰链-CH2-CH3-[任选的接头]-vl2)。第二单体包含第二可变重结构域、包含第二Fc结构域的第二恒定重结构域,和使

用结构域接头共价连接至第二Fc结构域的C末端的第三可变重结构域(vh1-CH1-铰链-CH2-CH3-[任选的接头]-vh2)。此实施方案还利用包含可变轻结构域和恒定轻结构域的共同轻链,所述共同轻链与重链缔合以形成包含两个相同Fv的两个相同Fab。两个C末端连接的可变结构域构成“额外的”第三Fv。对于本文的许多实施方案,这些构建体包含如所需的和如本文所述的偏斜变体、pI变体、消融变体、另外的Fc变体等。

[1297] 主题mAb-Fv格式抗体中可包含任何合适的PD-L1结合结构域,包括本文提供的那些(图17、图19、图20、图21、图24至图26和图28,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L1结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1298] i)图17和图19中的PD-L1可变重结构域中任一者的可变重结构域,以及图17和图20中的PD-L1可变轻结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1299] ii)图17和图21中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1300] iii)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1301] iv)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1302] v)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,以及

[1303] vi)图28中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体。

[1304] 主题mAb-Fv格式抗体中可包含任何合适的PD-L2结合结构域,包括本文提供的那些(图29至图34,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L2结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1305] i)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1306] ii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1307] iii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,以及

[1308] iv)图34中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体。

[1309] 主题mAb-Fv格式抗体中可包含任何合适的CD28结合结构域,包括本文提供的CD28结合结构域中的任一者(参见,例如,图35、图37、图38、图41至图74和图81,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,CD28结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1310] i)图35、图36和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图35、图37和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1311] ii)图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1312] iii)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1313] iv)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1314] v)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,以及

[1315] vi)图81中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体。

[1316] 12.中心Fv格式

[1317] 可特别用于本文提供的主题抗体(例如,抗PD-L1 x抗CD28和抗PD-L1 x抗CD28抗体)中的一种异二聚抗体格式是图82L所示的中心Fv格式。在此实施方案中,该格式依赖于使用插入的Fv结构域,从而形成"额外的"第三抗原结合结构域,其中两个单体的Fab部分结合PD-L1或PD-L2,而"额外的"中心Fv结构域结合CD28。Fv结构域插入单体的Fc结构域与CH1-Fv区域之间,从而提供第三抗原结合结构域,其中每个单体含有Fv的组分(例如,一个单体包含可变重结构域,而另一单体包含"额外的"中心Fv结构域的可变轻结构域)。

[1318] 在此实施方案中,一个单体包含第一重链,所述第一重链包含第一可变重结构域、CH1结构域和Fc结构域,以及另外的可变轻结构域。另外的可变轻结构域使用结构域接头共价连接在重恒定结构域的CH1结构域的C末端与第一Fc结构域的N末端之间(vh1-CH1-[任选的接头]-vl2-铰链-CH2-CH3)。另一单体包含第一重链,所述第一重链包含第一可变重结构域、CH1结构域和Fc结构域,以及另外的可变重结构域(vh1-CH1-[任选的接头]-vh2-铰链-CH2-CH3)。另外的可变重结构域使用结构域接头共价连接在重恒定结构域的CH1结构域的C末端与第一Fc结构域的N末端之间。此实施方案利用包含可变轻结构域和恒定轻结构域的共同轻链,所述共同轻链与重链缔合以形成各自结合TROP2的两个相同Fab。另外的可变重结构域与另外的可变轻结构域形成结合CD28的"额外的"中心Fv。对于本文的许多实施方案,这些构建体包含如所需的和如本文所述的偏斜变体、pI变体、消融变体、另外的Fc变体等。

[1319] 主题中心Fv格式抗体中可包含任何合适的PD-L1结合结构域,包括本文提供的那些(图17、图19、图20、图21、图24至图26和图28,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L1结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1320] i)图17和图19中的PD-L1可变重结构域中任一者的可变重结构域,以及图17和图20中的PD-L1可变轻结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1321] ii)图17和图21中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1322] iii)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1323] iv)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1324] v)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,以及

[1325] vi)图28中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体。

[1326] 主题中心Fv格式抗体中可包含任何合适的PD-L2结合结构域,包括本文提供的那些(图29至图34,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L2结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1327] i)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1328] ii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1329] iii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,以及

[1330] iv)图34中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体。

[1331] 主题中心Fv格式抗体中可包含任何合适的CD28结合结构域,包括本文提供的CD28结合结构域中的任一者(参见,例如,图35、图37、图38、图41至图74和图81,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,CD28结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1332] i)图35、图36和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图35、图37和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1333] ii)图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1334] iii)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1335] iv)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1336] v)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,以及

[1337] vi)图81中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体。

[1338] 13.三叉格式

[1339] 在一些实施方案中,本文提供的主题抗体(例如,抗PD-L1 x抗CD28和抗PD-L1 x抗CD28抗体)呈如WO2015/184203总体上所述的“三叉”格式,所述文献的整体内容以及特别地关于“异二聚体促进结构域(Heterodimer-Promoting Domains)”或“HPD”(包括“K螺旋”和“E螺旋”序列)的附图、图例、定义和序列的内容特此以引用的方式明确并入。三叉依赖于使用两个不同的HPD,它们缔合以形成异二聚结构作为结构的组分,参见图82M。在此实施方案中,三叉格式包含“传统”重链和轻链(例如VH1-CH1-铰链-CH2-CH3和VL1-CL)、包含第一“双抗体型结合结构域”或“DART®”的第三链(VH2-(接头)-VL3-HPD1)以及包含第二DART®的第四链(VH3-(接头)-(接头)-VL2-HPD2)。VH1与VL1形成第一ABD,VH2与VL2形成第二ABD,并且VH3与VL3形成第三ABD。在一些情况下,如图82M所示,第二ABD和第三ABD结合

相同的抗原。

[1340] 主题三叉格式抗体中可包含任何合适的PD-L1结合结构域,包括本文提供的那些(图17、图19、图20、图21、图24至图26和图28,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L1结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1341] i)图17和图19中的PD-L1可变重结构域中任一者的可变重结构域,以及图17和图20中的PD-L1可变轻结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1342] ii)图17和图21中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1343] iii)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1344] iv)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1345] v)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,以及

[1346] vi)图28中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体。

[1347] 主题三叉格式抗体中可包含任何合适的PD-L2结合结构域,包括本文提供的那些(图29至图34,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L2结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1348] i)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1349] ii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1350] iii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,以及

[1351] iv)图34中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体。

[1352] 主题三叉格式抗体中可包含任何合适的CD28结合结构域,包括本文提供的CD28结合结构域中的任一者(参见,例如,图35、图37、图38、图41至图74和图81,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,CD28结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1353] i)图35、图36和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,以及图35、图37和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1354] ii)图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1355] iii)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1356] iv)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1357] v)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:

20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,以及

[1358] vi)图81中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体。

[1359] 14.1+1+1堆叠Fab_2-scFv-Fc

[1360] 在一方面,本文提供了新型1+1+1堆叠Fab_2-scFv-Fc格式抗体(图83A)。此抗体格式包含三个抗原结合结构域:两个Fab部分和一个scFv结合结构域。Fab部分各自包含共同可变轻链。这种异二聚抗体格式特别可用于本文提供的主题三特异性抗体(例如,抗PD-L1 x抗PD-L2 x抗CD28抗体)中。

[1361] 1+1+1堆叠Fab_2-scFv-Fc格式包含第一单体、第二单体和第三单体(共同轻链)。第一单体从N末端至C末端包含scFv-接头-CH2-CH3,其中CH2-CH3是第一Fc结构域。第二单体从N末端至C末端包含VH1-CH1-接头-VH2-CH1-铰链-CH2-CH3,其中VH1是第一可变重结构域,VH2是第二可变重结构域,并且CH2-CH3是第二Fc结构域。第三单体从N末端至C末端包含VL1-CL,其中VL1是第一可变轻结构域,并且CL是恒定轻结构域。另外,scFv包含第三VH结构域(VH3)、scFv接头和第二可变轻结构域(VL2)。在此格式中,第一可变重结构域与第一可变轻结构域形成第一抗原结合结构域,第二可变重结构域与第一可变轻结构域形成第二抗原结合结构域,并且第三可变重结构域与第二可变轻结构域形成第三抗原结合结构域。

[1362] 在一些实施方案中,此异二聚抗体是结合PD-L1、PD-L2和CD28的三特异性抗体,其中第一抗原结合结构域、第二抗原结合结构域和第三抗原结合结构域中的每一者选自由以下组成的组:PD-L1抗原结合结构域、PD-L2抗原结合结构域和CD28结合结构域。

[1363] 在示例性实施方案中,第一Fc结构域和第二Fc结构域是变体Fc结构域。在一些实施方案中,1+1+1堆叠Fab_2-scFv-Fc格式抗体的第一Fc结构域和第二Fc结构域是包含异二聚化偏斜变体(例如,如图4和图9所示的一组氨基酸取代)的变体Fc结构域。特别有用的异二聚化偏斜变体包括S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;T366S/L368A/Y407V:T366W和T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C(EU编号))。在示例性实施方案中,第一变体Fc结构域或第二变体Fc结构域中的一者包含异二聚化偏斜变体L368D/K370S,并且第一变体Fc结构域或第二变体Fc结构域中的另一者包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q,其中编号是根据EU编号。在示例性实施方案中,第一变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体L368D/K370S,并且第二变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q,其中编号是根据EU编号。在示例性实施方案中,第一变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q,并且第二变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体L368D/K370S,其中编号是根据EU编号。

[1364] 在一些实施方案中,变体Fc结构域包含消融变体(包括图6所示的那些)。在一些实施方案中,第一变体Fc结构域和第二变体Fc结构域各自包含消融变体E233P/L234V/L235A/G236_/S267K,其中编号是根据EU编号。

[1365] 在一些实施方案中,第一单体的恒定结构域(CH1-铰链-CH2-CH 3)包含pI变体(包括图5所示的那些)。在示例性实施方案中,第二单体的恒定结构域(CH1-铰链-CH2-CH3)包含pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D,其中编号是根据EU编号。

[1366] 在示例性实施方案中,第一单体的CH1-铰链-CH2-CH3包含氨基酸变体S364K/

E357Q/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,第二Fc结构域包含氨基酸变体L368D/K370S/N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,其中编号是根据EU编号。

[1367] 在一些实施方案中,本文提供的1+1+1堆叠Fab_2-scFv-Fc格式抗体的scFv包含带电荷的scFv接头(包括图7所示的那些)。在一些实施方案中,本文提供的1+1Fab-scFv-Fc格式抗体包含FcRn变体M428L/N434S,其中编号是根据EU编号。

[1368] 主题1+1+1堆叠Fab_2-scFv-Fc格式抗体中可包含任何合适的PD-L1结合结构域,包括本文提供的那些(图17、图19、图20、图21、图24至图26和图28,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L1结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1369] i)选自图17和图19中的PD-L1可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图17和图20中的PD-L1可变轻结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1370] ii)图17和图21中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1371] iii)选自图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,和选自图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1372] iv)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1373] v)选自图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,

[1374] vi)图28中的PD-L1结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域或其变体;以及

[1375] vii)选自图161中的可变重结构域中任一者的可变重结构域或其变体,和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域或其变体。

[1376] 主题1+1+1堆叠Fab_2-scFv-Fc格式抗体中可包含任何合适的PD-L2结合结构域,包括本文提供的那些(图29至图34,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L2结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1377] i)选自图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和选自图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1378] ii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1379] iii)选自图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,

[1380] iv)图34中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1381] v)选自图162中的可变重结构域中任一者的可变重结构域或其变体,和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域或其变体。

[1382] 主题1+1+1堆叠Fab_2-scFv-Fc格式抗体中可包含任何合适的CD28结合结构域,包括本文提供的CD28结合结构域中的任一者(参见,例如,图35、图37、图38、图41至图74和图81,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,CD28结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1383] i)选自图35、图36和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,以及选自图35、图37和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1384] ii)选自图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1385] iii)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和选自图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1386] iv)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1387] v)选自图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,

[1388] vi)图81中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体;以及

[1389] vii)选自图163中的可变重结构域中任一者的可变重结构域或其变体,和选自图35和图37中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,或具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域或其变体。

[1390] 图88提供了呈1+1+1堆叠Fab_2-scFv-Fc格式的示例性抗PD-L1x抗PD-L2 x抗CD28三特异性抗体。

[1391] 15.1+1+1Fab-(Fab-scFv)-Fc

[1392] 在一方面,本文提供了新型1+1+1Fab-(Fab-scFv)-Fc格式抗体(图83B)。此抗体格式包含三个抗原结合结构域:两个Fab部分和一个scFv结合结构域。Fab部分各自包含共同可变轻链。这种异二聚抗体格式特别可用于本文提供的主题三特异性抗体(例如,抗PD-L1x抗PD-L2 x抗CD28抗体)中。

[1393] 1+1+1Fab-(Fab-scFv)-Fc格式包含第一单体、第二单体和第三单体(共同轻链)。第一单体从N末端至C末端包含VH1-CH1-接头-scFv-接头-CH2-CH3,其中VH1是第一可变重结构域,并且CH2-CH3是第一Fc结构域。第二单体从N末端至C末端包含VH2-CH1-铰链-CH2-CH3,其中VH2是第二可变重结构域,并且CH2-CH3是第二Fc结构域。共同轻链从N末端至C末端包含VL1-CL,其中VL是第一可变轻结构域,并且CL是恒定轻结构域。在此格式中,scFv包含第三VH结构域(VH3)、scFv接头和第二可变轻结构域(VL2)。此外,第一可变重结构域与第一可变轻结构域形成第一抗原结合结构域,第二可变重结构域与第一可变轻结构域形成第二抗原结合结构域,并且第三可变重结构域与第二可变轻结构域形成第三抗原结合结构域。

[1394] 在一些实施方案中,此异二聚抗体是结合PD-L1、PD-L2和CD28的三特异性抗体,其中第一抗原结合结构域、第二抗原结合结构域和第三抗原结合结构域中的每一者选自由以下组成的组:PD-L1抗原结合结构域、PD-L2抗原结合结构域和CD28结合结构域。

[1395] 在示例性实施方案中,第一Fc结构域和第二Fc结构域是变体Fc结构域。在一些实施方案中,1+1+1Fab-(Fab-scFv)-Fc格式抗体的第一Fc结构域和第二Fc结构域是包含异二聚化偏斜变体(例如,如图4和图9所示的一组氨基酸取代)的变体Fc结构域。特别有用的异二聚化偏斜变体包括S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;

T366S/L368A/Y407V:T366W和T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C(EU编号))。在示例性实施方案中,第一变体Fc结构域或第二变体Fc结构域中的一者包含异二聚化偏斜变体L368D/K370S,并且第一变体Fc结构域或第二变体Fc结构域中的另一者包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q,其中编号是根据EU编号。在示例性实施方案中,第一变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体L368D/K370S,并且第二变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q,其中编号是根据EU编号。在示例性实施方案中,第一变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q,并且第二变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体L368D/K370S,其中编号是根据EU编号。

[1396] 在一些实施方案中,变体Fc结构域包含消融变体(包括图6所示的那些)。在一些实施方案中,第一变体Fc结构域和第二变体Fc结构域各自包含消融变体E233P/L234V/L235A/G236_/S267K,其中编号是根据EU编号。

[1397] 在一些实施方案中,第一单体的恒定结构域(CH1-铰链-CH2-CH 3)包含pI变体(包括图5所示的那些)。在示例性实施方案中,第二单体的恒定结构域(CH1-铰链-CH2-CH3)包含pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D,其中编号是根据EU编号。

[1398] 在示例性实施方案中,第一单体的CH1-铰链-CH2-CH3包含氨基酸变体S364K/E357Q/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,第二Fc结构域包含氨基酸变体L368D/K370S/N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,其中编号是根据EU编号。

[1399] 在一些实施方案中,本文提供的1+1+1Fab-(Fab-scFv)-Fc格式抗体的scFv包含带电荷的scFv接头(包括图7所示的那些)。在一些实施方案中,本文提供的1+1Fab-scFv-Fc格式抗体包含FcRn变体M428L/N434S,其中编号是根据EU编号。

[1400] 主题1+1+1Fab-(Fab-scFv)-Fc格式抗体中可包含任何合适的PD-L1结合结构域,包括本文提供的那些(图17、图19、图20、图21、图24至图26和图28,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L1结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1401] i)选自图17和图19中的PD-L1可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图17和图20中的PD-L1可变轻结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1402] ii)图17和图21中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1403] iii)选自图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,和选自图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1404] iv)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1405] v)选自图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,

[1406] vi)图28中的PD-L1结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域或其变体;以及

[1407] vii)选自图161中的可变重结构域中任一者的可变重结构域或其变体,和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域或其变体。

[1408] 主题1+1+1Fab-(Fab-scFv)-Fc格式抗体中可包含任何合适的PD-L2结合结构域,包括本文提供的那些(图29至图34,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L2结合

结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域：

[1409] i)选自图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和选自图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1410] ii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1411] iii)选自图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,

[1412] iv)图34中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1413] v)选自图162中的可变重结构域中任一者的可变重结构域或其变体,和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域或其变体。

[1414] 主题1+1+1Fab-(Fab-scFv)-Fc格式抗体中可包含任何合适的CD28结合结构域,包括本文提供的CD28结合结构域中的任一者(参见,例如,图35、图37、图38、图41至图74和图81,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,CD28结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域：

[1415] i)选自图35、图36和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,以及选自图35、图37和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1416] ii)选自图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1417] iii)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和选自图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1418] iv)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1419] v)选自图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,

[1420] vi)图81中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体;以及

[1421] vii)选自图163中的可变重结构域中任一者的可变重结构域或其变体,和选自图35和图37中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域,或具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域或其变体。

[1422] 图89提供了呈1+1+1Fab-(Fab-scFv)-Fc格式的示例性抗PD-L1x抗PD-L2 x抗CD28三特异性抗体。

[1423] 16.1+1+1mAb-scFv

[1424] 在一方面,本文提供了新型1+1+1mAb-scFv格式抗体(图83C)。这种抗体格式包含三个抗原结合结构域:两个Fab部分和一个连接至其中一条重链的C末端的scFv。这种异二聚抗体格式特别可用于本文提供的主题三特异性抗体(例如,抗PD-L1 x抗PD-L2 x抗CD28抗体)中。在此格式的一些实施方案中,Fab部分各自结合PD-L1和PD-L2。在一些实施方案中,“额外的”scFv结构域结合CD28。也就是说,这种mAb-scFv格式是三价抗体。

[1425] 1+1+1mAb-scFv格式抗体通常包含第一单体、第二单体和第三单体(共同轻链)。第

一单体从N末端至C末端包含VH1-CH1-铰链-CH2-CH3-结构域接头-scFv,其中VH1是第一可变重结构域,并且CH2-CH3是第一Fc结构域。第二单体从N末端至C末端包含VH2-CH1-铰链-CH2-CH3,其中VH2是第二可变重结构域,并且CH2-CH3是第二Fc结构域。共同轻链从N末端至C末端包含VL1-CL,其中VL1是第一可变轻结构域,并且CL是恒定轻结构域。在此格式中,scFv包含第二VH3结构域(VH3)、scFv接头和第二可变轻结构域(VL2)。此外,VH1与VL1形成第一抗原结合结构域(ABD),VH2与VL1形成第二ABD,并且VH3与VL2形成第三抗原结合结构域。

[1426] 在一些实施方案中,此异二聚抗体是结合PD-L1、PD-L2和CD28的三特异性抗体,其中第一抗原结合结构域、第二抗原结合结构域和第三抗原结合结构域中的每一者选自由以下组成的组:PD-L1抗原结合结构域、PD-L2抗原结合结构域和CD28结合结构域。

[1427] 在示例性实施方案中,第一Fc结构域和第二Fc结构域是变体Fc结构域。在一些实施方案中,1+1+1mAb-scFv格式抗体的第一Fc结构域和第二Fc结构域是包含异二聚化偏斜变体(例如,如图4和图9所示的一组氨基酸取代)的变体Fc结构域。特别有用的异二聚化偏斜变体包括S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;T366S/L368A/Y407V:T366W和T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C(EU编号))。在示例性实施方案中,第一变体Fc结构域或第二变体Fc结构域中的一者包含异二聚化偏斜变体L368D/K370S,并且第一变体Fc结构域或第二变体Fc结构域中的另一者包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q,其中编号是根据EU编号。在示例性实施方案中,第一变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体L368D/K370S,并且第二变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q,其中编号是根据EU编号。在示例性实施方案中,第一变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q,并且第二变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体L368D/K370S,其中编号是根据EU编号。

[1428] 在一些实施方案中,变体Fc结构域包含消融变体(包括图6所示的那些)。在一些实施方案中,第一变体Fc结构域和第二变体Fc结构域各自包含消融变体E233P/L234V/L235A/G236_/S267K,其中编号是根据EU编号。

[1429] 在一些实施方案中,第二单体的恒定结构域(CH1-铰链-CH2-CH 3)包含pI变体(包括图5所示的那些)。在示例性实施方案中,第二单体的恒定结构域(CH1-铰链-CH2-CH3)包含pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D,其中编号是根据EU编号。

[1430] 在示例性实施方案中,第一单体的CH1-铰链-CH2-CH3包含氨基酸变体S364K/E357Q/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,第二Fc结构域包含氨基酸变体L368D/K370S/N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,其中编号是根据EU编号。

[1431] 在一些实施方案中,本文提供的1+1+1mAb-scFv格式抗体的scFv包含带电荷的scFv接头(包括图7所示的那些)。在一些实施方案中,本文提供的1+1Fab-scFv-Fc格式抗体包含FcRn变体M428L/N434S,其中编号是根据EU编号。

[1432] 主题1+1+1mAb-scFv格式抗体中可包含任何合适的PD-L1结合结构域,包括本文提供的那些(图17、图19、图20、图21、图24至图26和图28,以及序列表)或其变体。在2+1mAb-scFv的一些实施方案中,第一单体和第二单体的VH1与共同轻链的VL1各自形成PD-L1结合

结构域。在一些实施方案中,第二单体的scFv是PD-L1结合结构域。

[1433] 在一些实施方案中,PD-L1结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1434] i)选自图17和图19中的PD-L1可变重结构域中任一者的可变重结构域,和选自图17和图20中的PD-L1可变轻结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1435] ii)图17和图21中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1436] iii)选自图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,和选自图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1437] iv)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1438] v)选自图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,

[1439] vi)图28中的PD-L1结合结构域的可变重结构域和可变轻结构域或其变体;以及

[1440] vii)选自图161中的可变重结构域中任一者的可变重结构域或其变体,和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域或其变体。

[1441] 主题1+1+1mAb-scFv格式抗体中可包含任何合适的PD-L2结合结构域,包括本文提供的那些(图29至图34,以及序列表)或其变体。在2+1mAb-scFv的一些实施方案中,第一单体和第二单体的VH1与共同轻链的VL1各自形成PD-L2结合结构域。在一些实施方案中,第二单体的scFv是PD-L2结合结构域。

[1442] 在一些实施方案中,PD-L2结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1443] i)选自图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和选自图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1444] ii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1445] iii)选自图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体,

[1446] iv)图34中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,

[1447] v)选自图162中的可变重结构域中任一者的可变重结构域或其变体,和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域或其变体。

[1448] 主题1+1+1mAb-scFv格式抗体中可包含任何合适的CD28结合结构域,包括本文提供的CD28结合结构域中的任一者(参见,例如,图35、图37、图38、图41至图74和图81,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,CD28结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1449] i)选自图35、图36和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,以及选自图35、图37和图38中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1450] ii)选自图38中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其

变体，

[1451] iii)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域，和选自图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体，

[1452] iv)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体，

[1453] v)选自图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域，和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体，

[1454] vi)图81中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体;以及

[1455] vii)选自图163中的可变重结构域中任一者的可变重结构域或其变体，和选自图35和图37中的可变轻结构域中任一者的可变轻结构域，或具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域或其变体。

[1456] 图10和图11示出了可用于1+1+1mAb-scFv格式抗体的一些示例性Fc结构域序列抗体。图10所描绘的“单体1”序列通常是指“Fab-Fc重链”的Fc结构域，并且“单体2”序列是指“Fab-Fc-scFv”重链的Fc结构域。另外，图12提供了可用于“Fab-Fc重链”单体或“Fab-Fc-scFv”重链中的示例性CH1(任选地包括铰链或半铰链结构域)。图13提供了可用于“Fab-Fc重链”单体或“Fab-Fc-scFv”重链中的示例性铰链结构域。此外，图14提供了可用于此格式的有用的CL序列。

[1457] 呈1+1+1mAb-scFv格式的示例性抗PD-L1 x抗CD28 x抗体描绘于图90中。

[1458] 17.1+1+1堆叠Fab_2-Fab-Fc

[1459] 在一方面，本文提供了新型1+1+1堆叠Fab_2-Fab-Fc格式抗体(图83D)。这种抗体格式包含三个抗原结合结构域:三个Fab部分，每个部分共享共同轻链(CLC)。这种异二聚抗体格式特别可用于本文提供的主题三特异性抗体(例如，抗PD-L1 x抗PD-L2 x抗CD28抗体)中。

[1460] 此抗体包含第一单体、第二单体和三条具有相同序列的共同轻链(即第一共同轻链、第二共同轻链和第三共同轻链)。第一单体从N末端至C末端包含VH1-CH1-铰链-CH2-CH3，其中VH1是第一可变重结构域，并且CH2-CH3是第一Fc结构域。第二单体从N末端至C末端包含VH2-CH1-接头-VH3-CH1-铰链-CH2-CH3，其中VH2是第二可变重结构域，VH3是第三可变重结构域，并且CH2-CH3是第二Fc结构域。共同轻链各自从N末端至C末端包含VL-CL，其中VL是共同可变轻结构域，并且CL是恒定轻结构域。在此格式中，第一可变重结构域与第一共同轻链的共同可变轻结构域形成第一抗原结合结构域，第二可变重结构域与第二共同轻链的共同可变轻结构域形成第二抗原结合结构域，并且第三可变重结构域与第三共同轻链的共同可变轻结构域形成第三抗原结合结构域。

[1461] 在一些实施方案中，此异二聚抗体是结合PD-L1、PD-L2和CD28的三特异性抗体，其中第一抗原结合结构域、第二抗原结合结构域和第三抗原结合结构域中的每一者选自由以下组成的组:PD-L1抗原结合结构域、PD-L2抗原结合结构域和CD28结合结构域。

[1462] 在示例性实施方案中，第一Fc结构域和第二Fc结构域是变体Fc结构域。在一些实施方案中，1+1+1堆叠Fab_2-Fab-Fc格式抗体的第一Fc结构域和第二Fc结构域是包含异二聚化偏斜变体(例如，如图4和图9所示的一组氨基酸取代)的变体Fc结构域。特别有用的异二

聚化偏斜变体包括S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;T366S/L368A/Y407V:T366W和T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C(EU编号))。在示例性实施方案中,第一变体Fc结构域或第二变体Fc结构域中的一者包含异二聚化偏斜变体L368D/K370S,并且第一变体Fc结构域或第二变体Fc结构域中的另一者包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q,其中编号是根据EU编号。在示例性实施方案中,第一变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体L368D/K370S,并且第二变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q,其中编号是根据EU编号。在示例性实施方案中,第一变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体S364K/E357Q,并且第二变体Fc结构域包含异二聚化偏斜变体L368D/K370S,其中编号是根据EU编号。

[1463] 在一些实施方案中,变体Fc结构域包含消融变体(包括图6所示的那些)。在一些实施方案中,第一变体Fc结构域和第二变体Fc结构域各自包含消融变体E233P/L234V/L235A/G236_/S267K,其中编号是根据EU编号。

[1464] 在一些实施方案中,第二单体的恒定结构域(CH1-铰链-CH2-CH 3)包含pI变体(包括图5所示的那些)。在示例性实施方案中,第一单体的恒定结构域(CH1-铰链-CH2-CH3)包含pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D,其中编号是根据EU编号。

[1465] 在示例性实施方案中,第一单体的CH1-铰链-CH2-CH3包含氨基酸变体L368D/K370S/N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,并且第二Fc结构域包含氨基酸变体S364K/E357Q/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K,其中编号根据EU编号。

[1466] 在一些实施方案中,本文提供的1+1Fab-scFv-Fc格式抗体包含FcRn变体M428L/N434S,其中编号是根据EU编号。

[1467] 主题1+1+1堆叠Fab_2-Fab-Fc格式抗体格式抗体中可包含任何合适的PD-L1结合结构域,包括本文提供的那些(图17、图19、图20、图21、图24至图26和图28,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L1结合结构域包含选自图17、图19、图20、图21、图24至图26和图161所描绘的可变重结构域和可变轻结构域或其变体中任一者的可变重结构域和可变轻结构域。

[1468] 在一些实施方案中,PD-L1结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1469] i)选自图161中的可变重结构域中任一者的可变重结构域或其变体,和"IGKV1-39_L1"可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)或其变体,

[1470] ii)选自图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域或其变体,和选自图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1471] iii)图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,以及

[1472] iv)选自图25和图26中的PD-L1结合结构域中任一者的可变重结构域或其变体,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体。

[1473] 在一些实施方案中,主题1+1+1堆叠Fab_2-Fab-Fc格式抗体包含具有可变重结构域和可变轻结构域的PD-L1结合结构域,所述可变重结构域具有SEQ ID NO:3251的氨基酸序

列,所述可变轻结构域具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列。

[1474] 主题1+1+1堆叠Fab_2-Fab-Fc格式抗体格式抗体中可包含任何合适的PD-L2结合结构域,包括本文提供的那些(图29至图32和图162,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,PD-L2结合结构域包含选自图29至图32和图162所描绘的可变重结构域和可变轻结构域或其变体中的任一者的可变重结构域和可变轻结构域。

[1475] 在一些实施方案中,PD-L2结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1476] i)选自图162中的可变重结构域中任一者的可变重结构域或其变体,和"IGKV1-39_L1"可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)或其变体,

[1477] ii)选自图29至图32中的PD-L2结合结构域的可变重结构域,和图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变轻结构域或其变体,

[1478] iii)图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,以及

[1479] iv)选自图29至图32中的PD-L2结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体。

[1480] 在一些实施方案中,主题1+1+1堆叠Fab_2-Fab-Fc格式抗体包含具有可变重结构域和可变轻结构域的PD-L2结合结构域,所述可变重结构域具有SEQ ID NO:3319的氨基酸序列,所述可变轻结构域具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列。

[1481] 在1+1+1堆叠Fab_2-Fab-Fc格式抗体的一些实施方案中,抗原结合结构域中的一者是CD28结合结构域。主题2+1CLC格式抗体格式抗体中可包含任何合适的CD28结合结构域,包括本文提供的那些(图241至图47,以及序列表)或其变体。在一些实施方案中,CD28结合结构域包含选自以下的可变重结构域和可变轻结构域:

[1482] i)选自图163中的可变重结构域的可变重结构域或其变体,和选自图35或图37中的可变轻结构域的可变轻结构域,或"IGKV1-39_L1"可变轻结构域(SEQ ID NO:3239)或其变体,

[1483] ii)图41至图74中的CD28结合结构域的可变重结构域,和图41至图74中的CD28结合结构域的可变轻结构域或其变体,

[1484] iii)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域和可变轻结构域或其变体,以及

[1485] iv)图41至图74中的CD28结合结构域中任一者的可变重结构域,和具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的可变轻结构域(图24)或其变体。

[1486] 在一些实施方案中,主题1+1+1堆叠Fab_2-Fab-Fc格式抗体包含具有可变重结构域和可变轻结构域的CD28结合结构域,所述可变重结构域具有SEQ ID NO:3380的氨基酸序列,所述可变轻结构域具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列。

[1487] 在一方面,本文提供了呈1+1+1堆叠Fab_2-Fab-Fc格式的抗PD-L1 x抗PD-L2 x抗CD28三特异性抗体,所述抗体包含以下:

[1488] a)PD-L1结合结构域,其包含具有SEQ ID NO:3251的氨基酸序列的可变重结构域和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域;

[1489] b)PD-L2结合结构域,其包含具有SEQ ID NO:3319的氨基酸序列的可变重结构域

和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域;以及

[1490] c)CD28结合结构域,其包含具有SEQ ID NO:3380的氨基酸序列的可变重结构域和具有SEQ ID NO:3239的氨基酸序列的可变轻结构域。

[1491] 在一些实施方案中,抗PD-L1 x抗PD-L2 x抗CD28三特异性抗体包含具有SEQ ID NO:3201的氨基酸序列的第一单体;具有SEQ ID NO:3202的氨基酸序列的第二单体;和具有SEQ ID NO:3203的氨基酸序列的轻链。

[1492] 呈1+1+1堆叠Fab_2-Fab-Fc格式的示例性抗PD-L1 x抗PD-L2 x抗CD28三特异性抗体描绘于图91中。

[1493] 18.单特异性单克隆抗体

[1494] 如本领域技术人员将理解的,本文概述的新型CD28、PD-L1和PD-L2序列(参见IV.A-C部分)还可用于单特异性抗体(例如,“传统单克隆抗体”)或非异二聚双特异性格式两者。因此,本发明提供了包含附图中的6个CDR和/或vh和vl序列的单克隆(单特异性)抗体,其通常具有IgG1、IgG2、IgG3或IgG4恒定区,其中IgG1、IgG2和IgG4(包括包含S228P氨基酸取代的IgG4恒定区)可特别用于一些实施方案中。也就是说,本文中任何带有“H_L”标示的序列可连接至人IgG1抗体的恒定区。

[1495] VI.核酸

[1496] 在另一方面,本文提供了编码本文提供的抗原结合结构域和抗体(例如,双特异性抗体和三特异性抗体)的核酸组合物。

[1497] 如本领域技术人员将理解的,核酸组合物将依赖于异二聚体蛋白的格式和支架。因此,例如,当格式需要三个氨基酸序列时,诸如对于1+1Fab-scFv-Fc、2+1Fab_2-scFv-Fc和2+1mAb-scFv格式,可将三个多核苷酸并入一个或多个表达载体中以进行表达。在示例性实施方案中,每个多核苷酸并入不同的表达载体中。

[1498] 如本领域所已知,编码本文公开的结合结构域和抗体的组分的核酸可并入表达载体中,这如本领结构域所已知,并且取决于用于产生本发明的异二聚抗体的宿主细胞。通常,核酸可操作地连接至多种调控元件(启动子、复制起点、选择性标志物、核糖体结合位点、诱导物等)。表达载体可以是染色体外载体或整合载体。

[1499] 本发明的多核苷酸和/或表达载体然后转化成如本领域所众所周知的多种不同类型的宿主细胞(包括哺乳动物细胞、细菌细胞、酵母细胞、昆虫细胞和/或真菌细胞)中,其中哺乳动物细胞(例如,CHO细胞)可用于许多实施方案中。

[1500] 在一些实施方案中,编码每个单体的多核苷酸各自包含在单个表达载体中,通常在不同或相同的启动子控制下。在本发明的特别用途的实施方案中,这些多核苷酸中的每一者都包含在不同的表达载体上。如本文和US 62/025,931(特此以引用的方式并入)所示,可使用不同的载体比率来驱动异二聚体形成。也就是说,令人惊讶的是,虽然蛋白质包含1:1:2比率的第一单体:第二单体:轻链(就本文中包括异二聚抗体的具有三个多肽的许多实施方案而言),但是这些并非得到最佳结果的比率。

[1501] 通过培养包含如本领域所众所周知的表达载体的宿主细胞来制备本文提供的抗体和ABD。一旦产生,就进行传统的抗体纯化步骤,包括离子交换色谱法步骤。如本文所讨论,使两个单体的pI相差至少0.5可允许通过离子交换色谱法或等电聚焦或其他对等电点敏感的方法进行分离。也就是说,包含改变每个单体的等电点(pI)的pI取代使得每个单体

具有不同的pI并且异二聚体也具有不同的pI,从而促进“1+1Fab-scFv-Fc”异二聚体的等电纯化(例如,阴离子交换柱、阳离子交换柱)。这些取代还有助于纯化后的任何污染的双重scFv-Fc和mAb同二聚体的测定和监测(例如,IEF凝胶、cIEF和分析IEX柱)。

[1502] VII.双特异性和三特异性抗体的生物和生化功能

[1503] 通常,将本文所述的双特异性抗体和三特异性抗体施用于患有癌症(例如,PD-L1或PD-L2相关癌症或已显示受益于抗PD-1、抗PD-L1或抗PD-L2治疗的癌症)的患者,并且以本文所述的多种方式评估功效。因此,在可进行标准功效测定(诸如癌症负荷、肿瘤大小、对转移存在或程度评估等)时,也可基于免疫状态评价来评估免疫肿瘤学治疗。这可通过多种方式进行,包括体外和体内测定。

[1504] A.用于体内施用的抗体组合物

[1505] 通过将具有所需纯度程度的抗体与任选的药学上可接受的载剂、赋形剂或稳定剂(Remington's Pharmaceutical Sciences第16版,Osol,A.编辑[1980])进行混合来制备根据本发明使用的抗体的配制物,以供以冻干配制物或水溶液的形式进行储存。

[1506] VIII.治疗

[1507] 本发明的组合物一旦制成,便可通过治疗癌症,通常是通过增强免疫应答(例如,T细胞活化和增殖),特别是与抗癌疗法(诸如抗PD1和抗肿瘤双特异性抗体)一起使用时,用于多种肿瘤学应用。在一些实施方案中,本文提供的抗体通过在表达PD-L1和/或PD-L2的肿瘤微环境中提供T细胞的激动性共刺激来增强免疫应答(例如,T细胞活化和增殖)。

[1508] A.抗CD28 x抗TAA/抗TAA双特异性抗体

[1509] 在一些实施方案中,本文提供的主题双特异性抗体和三特异性抗体与抗肿瘤双特异性抗体一起施用。在经典T细胞/APC相互作用中,存在由TCR与肽-MHC的反应性提供的第一信号(信号1)和由在APC上表达的CD80/CD86的CD28交联提供的第二信号(信号2),这些信号一起完全活化T细胞(参见图92A)。相比之下,在用靶向TAA的CD3双特异性抗体(即,抗CD3 x抗TAA双特异性抗体)治疗时,仅提供第一信号(参见图92B)。

[1510] 不受任何特定操作理论的束缚,据信本文提供的主题抗体可通过提供CD28共刺激以及对抑制性PD-L1:PD-1或PD-L2:PD-1途径相互作用的阻断来增强抗CD3 x抗TAA双特异性抗体的抗肿瘤应答(参见图93和图94以及实施例)。因此,在一方面,本文提供了通过向患者施用抗CD3 x抗TAA双特异性抗体和本文提供的主题双特异性或三特异性抗体来治疗患者的癌症的方法。在一些实施方案中,抗CD3 x抗TAA双特异性抗体和主题双特异性或三特异性抗体的施用增强了患者对肿瘤的免疫应答。图15中包含了可包含在抗CD3 x抗TAA双特异性抗体中的CD3结合结构域。

[1511] B.施用方式

[1512] 本文提供的抗体根据已知的方法,诸如以推注形式静脉内施用或通过在一段时间内连续输注施用于受试者。

[1513] C.治疗方式

[1514] 在本发明的方法中,疗法用于针对疾病或疾患提供积极的治疗应答。

[1515] “积极的治疗应答”旨在改善疾病或疾患和/或改善与疾病或疾患相关联的症状。例如,积极的治疗应答将指以下一项或多项疾病改善:(1)赘生性细胞数目减少;(2)赘生性细胞死亡增加;(3)赘生性细胞存活抑制;(5)肿瘤生长的抑制(即,减慢到某种程度,并且优

选地是停止);(6)患者存活率增加;以及(7)与疾病或疾患相关联的一个或多个症状的一些缓解。

[1516] 任何给定疾病或疾患的积极治疗应答可通过特异于该疾病或疾患的标准化应答标准来确定。可使用筛选技术诸如磁共振成像(MRI)扫描、x射线成像、计算机断层(CT)扫描、骨扫描成像、内窥镜检查和肿瘤活检取样(包括骨髓抽吸(BMA)和对循环中的肿瘤细胞计数)针对肿瘤形态(即,总体肿瘤负担、肿瘤大小等)改变评估肿瘤应答。

[1517] 除了这些积极治疗应答以外,正经受疗法的受试者可能经历与疾病相关联的症状的改善的有益效果。

[1518] 根据本发明的治疗包括所使用的"治疗有效量的"药物。"治疗有效量"是指在所需要的剂量和时间段内实现所需治疗结果的有效量。

[1519] 治疗有效量可根据诸如个体的疾病状态、年龄、性别和体重等因素以及药物在个体中引发所需应答的能力而变化。治疗有效量也是其中抗体或抗体部分的任何毒性或有害作用超过治疗有益效果的量。

[1520] 用于肿瘤治疗的"治疗有效量"还可以通过其稳定疾病进展的能力来测量。可在预示人肿瘤功效的动物模型系统中评价化合物抑制癌症的能力。

[1521] 或者,组合物的这种特性可以利用熟练的从业者已知的体外测定通过检验化合物抑制肿瘤生长或诱导凋亡的能力来评价。治疗有效量的治疗性化合物可以减小肿瘤大小或以其他方式减轻受试者的症状。本领域普通技术人员能够基于诸如受试者的体型、受试者症状的严重程度以及所选的特定组合物或施用途径等因素来确定此类量。

[1522] 调整剂量方案以提供最佳所需应答(例如,治疗应答)。例如,可以施用单次推注,几个分开的剂量可以随时间施用或剂量可以按比例减少或增加,如治疗情况的紧急程度所指示。为了方便施用和剂量均一性,肠胃外组合物可以按剂量单位形式配制。如本文所用,剂量单位形式是指适合作为用于待治疗的受试者的单一剂量的物理上离散的单位;每个单位含有与所需要的药物载剂缔合的经计算可产生所需治疗效果的预定量的活性化合物。

[1523] 本发明的剂量单位形式的规格受制于并且直接取决于:(a)活性化合物的独特特征和待实现的特定治疗效果,以及(b)混配这种用于治疗个体敏感性的活性化合物的领域所固有的限制。

[1524] 用于本发明的双特异性抗体的有效剂量和剂量方案取决于待治疗的疾病或疾患并且可以由本领域技术人员确定。

[1525] 所有引用的参考文献明确地以引用的方式整体并入本文。

[1526] 尽管出于说明的目的已经在上文描述了本发明的特定实施方案,但是本领域技术人员将理解的是,在不脱离如所附权利要求所述的本发明的情况下可以做出许多细节变化。

[1527] 实施例

[1528] 以下提供实施例以说明本发明。这些实施例并不意味着将本发明限制于任何特定应用或操作理论。对于本发明中讨论的所有恒定区位置,编号是根据Kabat(Kabat等人,1991,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,United States Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,以引用的方式整体并入)中的EU索引。抗体领域中的技术人员将理解,这个规约由免疫球蛋白序列的特定区域

中的非顺序编号组成,使得能够对免疫球蛋白家族中的保守位置进行规范化的引用。因此,如通过EU索引定义的任何给定免疫球蛋白的位置不一定对应于其顺序序列。

[1529] 美国公布2015/0307629、2014/0288275和WO2014/145806中概述了一般和具体的科学技术,所有这些公布的整体内容特别是其中概述的技术以引用的方式明确并入。

[1530] 背景

[1531] 虽然检查点阻断免疫疗法已被证明是有效的,但许多患者仍然无法实现应答。TIL上的T细胞共刺激受体(例如,CD80/CD86)与激动性抗体(例如,抗CD28抗体)的接合可以提供另外的能够克服免疫检查点的负向信号的正向信号,并且可能成为与检查点阻断叠加的有用的治疗方式。

[1532] 本文提供的主题双特异性和三特异性抗体提供针对肿瘤细胞的T细胞活化的共刺激信号同时还有利地阻断抑制性PD-L1:PD1和/或PD-L2:PD1途径相互作用。

[1533] 实施例1:PDL1和PDL2结合结构域

[1534] 人、小鼠和食蟹猴PD-L1和PD-L2的序列描绘于图1至图2中,这些序列可用于开发交叉反应性PD-L1和PD-L2抗原结合结构域,从而便于临床开发。

[1535] 1A:新型PDL1结合结构域2G4

[1536] 在初始研究活动中,通过IMMUNOPRECISE利用杂交瘤技术产生了许多新型PDL1结合结构域。示例性人源化杂交瘤来源的克隆2G4的氨基酸序列描绘于图17中。将抗PDL1 mAb与指示浓度的huPDL1-mFc融合物一起孵育。然后将该混合物与表达PD-1的HEK293T细胞合并。用抗小鼠Fc对细胞进行染色并通过流式细胞术评估结合情况,其数据描绘于图18中。数据显示,抗PDL1克隆2G4阻断PD1:PDL1相互作用。

[1537] 在第二项实验中,在存在10,000个树突状细胞的情况下,用恒定剂量的指示测试物品处理来自11例独特供体的$CD3^+$T细胞。使用MSD测定(Meso Scale Discovery,Rockville,Md.)测量细胞因子分泌。图100所描绘的数据显示,与部分阻断性和非阻断性抗PDL1克隆相比,抗PDL1 2G4诱导更大程度的IL-2和IFNγ释放。

[1538] 为了优化PDL1 x CD28 bsAb,如实施例5B(a)所述,通过对VH变体(如图19所描绘的例示性序列和如SEQ ID NO:1467-1528所描绘的另外的序列)、VL变体(如图20所描绘的例示性序列和如SEQ ID NO:1529-1599所描绘的另外的序列)以及它们的组合(如图21所描绘的例示性序列)进行工程化,开发了许多2G4亲和力变体。变体的共有序列描绘于图22中。在具有如图84所描绘序列的PDL1 x CD28bsAb的情形下,使用Biacore测定例示性变体的亲和力。Biacore的实验步骤通常包括以下:固定化(将配体捕获到传感器芯片上);缔合(使各种浓度的分析物流过传感器芯片);以及解离(使缓冲液流过传感器芯片),以测定测试物品的亲和力。所述方法还包括仅含缓冲液的参考流,用于在数据处理过程中进行背景校正。通过使用1:1结合模型分析处理后的数据,获得结合亲和力和动力学速率常数。如此测定的对人和食蟹猴PDL1的结合亲和力描绘于图23中。

[1539] 1B:新型共同轻链PDL1和PDL2结合结构域

[1540] 为了对PDL1 x PDL2 x CD28 triAb进行工程化,探索了共同轻链格式(即,利用具有相同轻链的PDL1和PDL2结合结构域的格式;并且在某些格式中,PDL1、PDL2和CD28结合结构域具有相同的轻链),因为仅利用Fab结构域的多特异性抗体格式可能比利用scFv结构域的多特异性抗体格式免疫原性更低且更稳定。

[1541] 1B(a):基因工程化小鼠中的单细胞技术

[1542] 在第一项研究活动中,在经基因工程化具有完整人重链可变结构域结合人共同轻链原位取代(共同可变轻结构域的序列描绘于图24中)的小鼠中通过单细胞技术产生了许多新型PDL1和PDL2结合结构域。通过基于表面等离子体共振(SPR)的技术Biacore,鉴定出39种PDL1 mAb和33种PDL2 mAb的组,并研究了它们的结合亲和力。Biacore的实验步骤通常包括以下:固定化(将配体捕获到传感器芯片上);缔合(使各种浓度的分析物流过传感器芯片);以及解离(使缓冲液流过传感器芯片),以测定测试物品的亲和力。图27和图33所描绘的数据显示,存在一定范围的结合亲和力。例示性PDL1克隆13G1和13G7的序列描绘于图25至图26中;并且例示性PDL2克隆5C11、8G2、8G5和16G11的序列描绘于图29至图32中。尽管这些小鼠是经基因工程化而具有共同轻链,但这些小鼠仍然能够发生轻链的体细胞超突变,从而允许在许多这些克隆的轻链中引入突变。因此,将重链与工程化种系轻链(在此称为"6B1_L1",其序列描绘于图24中)配对。另外,当预期对抗原结合无影响时,在框架区进行进一步取代以将非种系氨基酸恢复为种系。这些序列也与其亲本序列一起描绘。为了确认这些新型结合结构域能够阻断PDL1或PDL2,将基于这些结合结构域的PDL1 x CD28 bsAb、PDL2 x CD28 bsAb或PDL1 x PDL2x CD28 triAb与CHO-PDL1或CHO-PDL2细胞一起孵育。在与bsAb一起孵育后,将细胞与AF647标记的PD1一起孵育。如图128至图129所描绘的数据显示,基于这些新型结合结构域的bsAb剂量依赖性地阻断PD1结合细胞表面PDL1和PDL2。

[1543] 为了调整对PDL1和PDL2的结合亲和力(以及双特异性或三特异性分子的效力),工程化了一种亲和力阶梯,目的是实现K_D值为约100pM(0.1nM)的结合结构域(该亲和力范围如通过将在实施例5D中描述的建模所确定是最佳的;对于亲和力工程化的13G7,其例示性序列描绘于图26A至图26D及SEQ ID NO:29-40和1764-1793中,且对于亲和力工程化的16G11,其例示性序列描绘于图32A至图32D及SEQ ID NO:77-88和2266-2295中;每个克隆及其亲和力工程化的变体的FR和CDR的共有序列描绘于图26和图32中)。虽然在H1框架情形下对13G7和16G11进行了工程化,但可以将亲和力工程化的CDR移植到其他亲本框架上。例如,将13G7 H1.18的CDR移植到13G7 H2上以产生13G7 2.18。类似地,例如,将16G11 H1.7的CDR移植到16G11 H3上以产生16G11 H3.7。

[1544] 通过另一种基于SPR的技术Carterra LSA平台测定亲和力工程化的13G7变体(成格式为具有PVA_/S267K变体的二价IgG1)的K_D。使用与山羊抗人Fc抗体偶联的HC30M芯片胺来捕获抗体,并使多种浓度的带his标签的流过抗体。图145至图146所描绘的数据显示,4种变体实现了范围为50pM至180pM内的K_D值。

[1545] 通过如上文所述的Carterra LSA平台测定亲和力工程化的16G11变体(成格式为具有PVA_/S267K变体的二价IgG1)的K_D,其数据描绘于图147至图148中。5种变体实现了范围为110pM至180pM的K_D值。

[1546] 1B(b):噬菌体

[1547] 如将在实施例X中进一步所述,需要可与αCD28克隆1A7一起利用的另外的共同轻链PDL1和PDL2结合结构域。因此,在第二项研究活动中,使用了利用恒定人种系VL(利用与实施例2A中相同的人种系VL,但不具有任何多样性)和VH多样性的噬菌体文库。示例性噬菌体来源的αPDL1克隆2A3A4.248和αPDL2克隆1F12A4.249的氨基酸序列描绘于图161和图162中。

[1548] 如上文所述,为了调整对PDL1和PDL2的结合亲和力(以及双特异性或三特异性分子的效力),以实现$_{KD}$值为约100pM(0.1nM)的结合结构域,工程化了一种亲和力阶梯(对于亲和力工程化的2A3A4.248,其例示性序列描绘于图161A至图161C和SEQ ID NO:3235-3266中,且对于亲和力工程化的1F12A4.249,其例示性序列描绘于图162A至图162G和SEQ ID NO:3267-3353中;每个克隆及其亲和力工程化的变体的FR和CDR的共有序列描绘于图161和图162中)。

[1549] 通过如上文所述的Carterra LSA平台测定亲和力工程化的2A3A4.248变体(成格式为具有PVA_/S267K变体的二价IgG1)的K_D,其数据描绘于图149至图150中。4种变体实现了范围为83pM至180pM的K_D值。

[1550] 通过如上文所述的Carterra LSA平台测定亲和力工程化的1F12A4.249变体(成格式为具有PVA_/S267K变体的二价IgG1)的K_D,其数据描绘于图151至图152(第1轮)和图153至图154(第2轮)中。在第一轮中,没有变体显示出所需范围内的K_D,最佳克隆的K_D为480pM。在第二轮中,3种变体实现了小于100pM的K_D值。应当注意,这些PDL1和PDL2结合结构域可以在CLC格式PDL1 x PDL2x CD28 triAb的情形下使用,也可以在PDL1 x CD28和PDL2 x CD28bsAb的情形下使用。

[1551] 1C:另外的PDL1和PDL2结合结构域

[1552] 可用于本发明的PDL1 x CD28和PDL1 x CD28 bsAb以及PDL2/L2 x CD28 triAb中的另外的PDL1和PDL2结合结构域的序列如图28和图34中SEQ ID NO:1794-2265和2296-2447所描绘。

[1553] 实施例2:CD28结合结构域

[1554] 人、小鼠和食蟹猴CD28的序列描绘于图3中,这些序列可用于开发交叉反应性CD28抗原结合结构域,从而便于临床开发。

[1555] 2A:CD28结合结构域1A7

[1556] 一种避免与TGN1412相关联的超激动作用的方法是产生新型CD28结合结构域,该结合结构域对CD28具有较低的亲和力结合和/或与不同于TGN1412的CD28表位结合。在一项产生此类新型CD28结合结构域的研究活动中,针对CD28对内部从头产生的噬菌体文库进行了筛选,最终得到了噬菌体来源的克隆1A7,该克隆被确定为非超激动性的(序列描绘于图32中)。为了能够调整CD28 bsAb(例如,以优化效力和治疗指数),通过VH变体(如图35所描绘的例示性序列和如SEQ ID NO:2448-2455所描绘的另外的序列)、VL变体(如图36所描绘的例示性序列和如SEQ ID NO:2456-2524所描绘的另外的序列)以及它们的组合(其例示性序列描绘于图37中)进行工程化,开发了许多1A7亲和力变体。变体的共有序列描绘于图39中。在具有如图38所描绘序列的PDL1 x CD28 bsAb的情形下,使用如下文所述的Octet测定例示性变体的亲和力,结合亲和力如图40所描绘。按照Stebbings方案(Stebbings R.等人2007)通过风干来评估克隆1A&的潜在超激动作用。通过在SpeedVac^{TM}中于室温下干燥2小时,实现测试物品的风干。将人PBMC用10pg风干的亲本αCD28 mAb 1A7)处理24小时,然后与超激动剂TGN1412或PBS对照进行活性比较。风干的TGN1412促进未受刺激的人PBMC的IFNγ分泌。相较之下,用风干的αCD28 mAb 1A7处理的PBMC中的IFNγ水平与PBS阴性对照保持相似(数据示于图135中)。

[1557] 2B:新型共同轻链CD28结合结构域

[1558] 如上文所述,用于探索开发PDL1 x PDL2 x CD28 triAb的某些常见轻链格式利用具有相同轻链的PDL1、PDL2和CD28结合结构域。

[1559] 2B(a):基因工程化小鼠中的单细胞技术

[1560] 为此,在经基因工程化具有完整人重链可变结构域结合人共同轻链原位取代的上述小鼠中使用单细胞技术产生了另外的新型CD28结合结构域,其序列描绘于图41至图74中。从收获自免疫小鼠的淋巴结中分离并富集分泌抗体的浆细胞。将大量浆细胞导入微流控芯片,并且将单个细胞隔离到单独的孔中进行筛选。单独筛选每个浆细胞的抗原特异性IgG分泌,使用基于抗原包被的珠粒的荧光测定检测抗原特异性IgG分泌。将单个目标细胞溶解,捕获其mRNA并用于产生编码抗体VH和VL序列的cDNA。如上文所述,尽管这些小鼠是经基因工程化而具有共同轻链,但这些小鼠仍然能够发生轻链的体细胞超突变,从而允许在这些克隆的轻链中引入突变。因此,将重链与预期的共同轻链(即6B1_L1)配对。使用基于生物层干涉法(BLI)的方法Octet研究了从单个浆细胞测序的WT亲本结合结构域以及VH与6B1_L1 VL配对的结合结构域(在二价mAb的情形下)与人CD28抗原的结合。Octet的实验步骤通常包括以下:固定化(将配体捕获到生物传感器上);缔合(将配体包被的生物传感器浸入含有分析物连续稀释液的孔中);以及解离(将生物传感器返回到含有缓冲液的孔中),以测定测试物品的亲和力。所得最大结合反应描绘于图75至图76中,并且显示大多数浆细胞来源的结合结构域的VH在与6B1_L1 VL配对时保持CD28结合;然而,来自若干克隆(例如1B1-4.88488、2G5.88497和1D10-4.83967)的VH表现出减弱的CD28结合反应。

[1561] 进一步研究了新型CD28结合结构域与$CD28^{+}$Jurkat细胞的结合。将CD28 mAb以30μg/mL最高浓度在Jurkat细胞上滴定,并且使用AF647标记的抗Fc mAb测定其结合,其数据描绘于图77至图78中。接下来,研究了新型CD28结合结构域的不可知特性。在存在板结合的CD28 mAb(基于单细胞技术来源的结合结构域)和CD3抗体OKT3(100ng/mL)的情况下添加纯化的T细胞。在T细胞接种后一天,使用MSD测定测量IL-2释放,其数据示于图79至图80中。值得注意的是,结合不一定与活性相关。XENP41858、XENP42419、XENP42422、XENP41869、XENP42421和XENP41901是弱结合剂,但却是不错的激动剂。XENP41909、XENP41877、XENP41880和XENP41936是不错的结合剂,但没有显示出激动作用。

[1562] 2B(b):使1A7能够利用共同轻链

[1563] 如实施例7G所述,与1A3.88474结合结构域相比,1A7结合结构域实现更强的效力。因此,期望在共同轻链格式中利用1A7结合结构域。如实施例1B(b)所述,用于发现CD28克隆1A7、PDL1克隆2A3A4.24和PDL2克隆1F12A4.249结合结构域的噬菌体文库利用相同的人种系VL,尽管CD28文库在LCDR3中包含多样性。令人惊讶的是,发现克隆1A7的可变轻结构域与亲本种系VL在LCDR3中只有一个氨基酸的差异;然而,尽管只有一个氨基酸的差异,1A7的VH却不能与亲本种系VL很好地配对,导致结合减弱。因此,产生了亲和力优化文库,重点在于仅在1A7的可变重结构域中进行取代(以确保种系VL作为来自实施例1B(b)的PDL1和PDL2结合结构域的共同轻链的能力不受干扰)。示例性的亲和力优化的1A7可变结构域的氨基酸序列描绘于图163A至图163C及SEQ ID NO:3354-3393和2674-2676中。

[1564] 如上文总体上所述,通过Octet测定亲和力工程化的1A7 Fab变体(在呈1+1+1堆叠Fab_2-Fab-Fc格式的PDL1 x PDL2 x CD28 triAb的情形下)的单价K_D。特别地,将带his标签的CD28抗原捕获到HIS1k传感器上并浸入triAb中以测定亲和力,其数据描绘于图159中。

[1565] 在工程化这些另外的1A7 VH变体后,将最有利的变体与原始1A7_L1和L1.71 VL配对以产生更多的亲和力变体(在scFvs的情形下)。这些另外变体的KD描绘于图165中。最后,为了稳定包含scFv的格式,可以使用二硫键稳定化的scFv。可以通过在VH和VL中包含半胱氨酸取代以便在两个半胱氨酸之间形成二硫键来实现二硫键稳定化的scFv(参见图166,其展示了通过并入二硫键稳定化提高的热稳定性)。例示性的此类二硫键稳定化的scFv描绘于图164中,并且KD描绘于图165中。

[1566] 2C:另外的CD28结合结构域

[1567] 可用于本发明的PDL1 x CD28 bsAb中的另外的CD28结合结构域的序列描绘于图81中并如SEQ ID NO:2799-2824和3468-3473所描绘。

[1568] 实施例3:工程化PDL1 x CD28和PDL2 x CD28 bsAb

[1569] 如实施例4所述,在经典T细胞/APC相互作用中,存在由TCR与肽-MHC的反应性提供的第一信号(信号1)和由在APC上表达的CD80/CD86的CD28交联提供的第二信号(信号2),这些信号一起完全活化T细胞(参见图92)。此外,将CD28信号与检查点阻断叠加可能是有用的,以减轻任何检查点介导的对添加的CD28信号的阻遏(图93)。PDL1 x CD28可以提供信号2,同时有利地进一步实现对PDL1:PD1相互作用的阻断(图94)。类似地,PDL2 x CD28可以提供信号2,同时有利地进一步实现对PDL2:PD1相互作用的阻断。

[1570] 因此,工程化并产生了PDL1 x CD28和PDL2 x CD28 bsAb。设想了多种格式,其例示性格式概述于下文和图82中。

[1571] 3A:1+1Fab-scFv-Fc格式

[1572] 一种例示性二价双特异性格式是1+1Fab-scFv-Fc格式(示意性地描绘于图82A中),其包含:第一单体,所述第一单体为重链,从N末端至C末端包含VH1-CH1-铰链-CH2-CH3,其中CH2-CH3是第一异二聚Fc结构域;第二单体,所述第二单体从N末端至C末端包含scFv-接头-CH2-CH3,其中CH2-CH3是与第一异二聚Fc结构域互补的第二异二聚Fc结构域,并且其中scFv具有第一抗原结合特异性;和第三单体,所述第三单体为轻链,从N末端至C末端包含VL-CL,其中VL与VH1配对以形成具有第二抗原特异性的抗原结合结构域。呈1+1Fab-scFv-Fc格式的例示性PDL1 x CD28和PDL2 xCD28 bsAb(基于如实施例1和实施例2所述的结合结构域)的序列分别描绘于图84和图87中。

[1573] 3B:2+1Fab2-scFv-Fc格式

[1574] 一种例示性三价双特异性格式是2+1Fab2-scFv-Fc格式(示意性地描绘于图82B中),其包含:第一单体,所述第一单体为重链,从N末端至C末端包含VH1-CH1-铰链-CH2-CH3,其中CH2-CH3是第一异二聚Fc结构域;第二单体,所述第二单体从N末端至C末端包含VH1-CH1-接头-scFv-接头-CH2-CH3,其中CH2-CH3是与第一异二聚Fc结构域互补的第二异二聚Fc结构域,并且其中scFv具有第一抗原结合特异性;和第三单体,所述第三单体为轻链,从N末端至C末端包含VL-CL,其中VL与VH1(在第一单体和第二单体中)配对以形成具有第二抗原结合特异性的抗原结合结构域。呈2+1Fab2-scFv-Fc格式的例示性PDL1 x CD28 bsAb(基于如实施例1和实施例2所述的结合结构域)的序列描绘于图85中。

[1575] 3C:2+1mAb-scFv格式

[1576] 另一种例示性三价双特异性格式是2+1mAb-scFv格式(示意性地描绘于图82E中),其包含:第一单体,所述第一单体为重链,从N末端至C末端包含VH1-CH1-铰链-CH2-CH3,其

中CH2-CH3是第一异二聚Fc结构域;第二单体,所述第二单体从N末端至C末端包含VH1-CH1-铰链-CH2-CH3-接头-scFv,其中CH2-CH3是与第一异二聚Fc结构域互补的第二异二聚Fc结构域,并且其中scFv具有第一抗原特异性;和第三单体,所述第三单体为共同轻链,从N末端至C末端包含VL-CL,其中VL与VH1配对以形成具有第二抗原特异性的抗原结合结构域。呈2+1mAb-scFv格式的例示性PDL1 x CD28bsAb(基于如此处所述的结合结构域)的序列描绘于图86中。

[1577] 如本领域所已知的多种异二聚化方法均可用于这些(和其他)双特异性格式中,结合多种从污染同二聚体中纯化异二聚体的方法(包括图4至图5所描绘的方法)。例如,本文所述的一些序列在一个单体上包含H435R/Y436F以促进纯化;然而,抗体可以代替地利用替代变体来促进纯化。无论bsAb格式如何,CD28双特异性抗体对CD28都是单价的,并且并入了经工程化以消融Fc γR结合的Fc变体,以避免潜在的超激动作用。此类Fc变体包括图6所描绘的变体。如本领域所已知的多种接头均可用于连接双特异性抗体的各个结构域,包括例如scFv的VH和VL结构域。最后,最大化bsAb的血清半衰期可能是有用的,并且如本领域所已知的多种延长半衰期的变体均可用于这些bsAb中。

[1578] 实施例4:工程化PDL1 x PDL2 x CD28 triAb

[1579] 尽管将如实施例5所述,PDL1 x CD28 bsAb和PDL2 x CD28bsAb具有活性,但它们对PDL1或PDL2表达水平低的肿瘤可能效果较差。因此,假设是,通过工程化与PDL1和PDL2的结合,可以实现与更广泛的肿瘤细胞结合(例如$PDL1^{高}PDL2^{低}$或$PDL1^{低}PDL2^{高}$)。预期PDL1和PDL2共表达不是实现活性所必需的,并且当仅表达一种抗原时应实现CD28激动作用。

[1580] 因此,设想、工程化并产生了PDL1 x PDL2 x CD28 triAb。设想了多种格式,其例示性格式概述于下文和图83中。

[1581] 4A:1+1+1堆叠Fab_2-scFv-Fc格式

[1582] 一种例示性三价三特异性格式是1+1+1堆叠Fab2-scFv格式(示意性地描绘于图83A中),其包含:第一单体,所述第一单体从N末端至C末端包含VH1-CH1-接头-VH2-CH1-铰链-CH2-CH3,其中CH2-CH3是第一异二聚Fc结构域;第二单体,所述第二单体从N末端至C末端包含scFv-接头-CH2-CH3,其中CH2-CH3是与第一异二聚Fc结构域互补的第二异二聚Fc结构域,并且其中所述scFv具有第一抗原特异性;和第三单体,所述第三单体为共同轻链,从N末端至C末端包含VL-CL,其中VL与VH1配对以形成具有第二抗原特异性的抗原结合结构域,并且与VH2配对以形成具有第三抗原特异性的抗原结合结构域。呈1+1+1堆叠Fab2-scFv-Fc格式的例示性PDL1 x PDL2 x CD28triAb(基于如实施例1和实施例2所述的结合结构域)的序列描绘于图88中。

[1583] 4B:1+1+1Fab-(Fab-scFv)-Fc格式

[1584] 另一种三价三特异性格式是1+1+1Fab-(Fab-scFv)-Fc格式(示意性地描绘于图83B中),其包含:第一单体,所述第一单体为重链,从N末端至C末端包含VH1-CH1-铰链-CH2-CH3,其中CH2-CH3是第一异二聚Fc结构域;第二单体,所述第二单体从N末端至C末端包含VH2-CH1-接头-scFv-接头-CH2-CH3,其中CH2-CH3是与第一异二聚Fc结构域互补的第二异二聚Fc结构域,并且其中所述scFv具有第一抗原特异性;和第三单体,所述第三单体为共同轻链,从N末端至C末端包含VL-CL,其中VL与VH1配对以形成具有第二抗原特异性的抗原结合结构域,并且与VH2配对以形成具有第三抗原特异性的抗原结合结构域。呈1+1+1Fab-

(Fab-scFv)-Fc格式的例示性PDL1 x PDL2 x CD28 triAb(基于如实施例1和实施例2所述的结合结构域)的序列描绘于图89中。

[1585] 4C:1+1+1mAb-scFv

[1586] 另一种三价三特异性格式是1+1+1mAb-scFv格式(示意性地描绘于图83C中),其包含:第一单体,所述第一单体为重链,从N末端至C末端包含VH1-CH1-铰链-CH2-CH3,其中CH2-CH3是第一异二聚Fc结构域;第二单体,所述第二单体从N末端至C末端包含VH2-CH1-铰链-CH2-CH3-接头-scFv,其中CH2-CH3是与第一异二聚Fc结构域互补的第二异二聚Fc结构域,并且其中所述scFv具有第一抗原特异性;和第三单体,所述第三单体为共同轻链,从N末端至C末端包含VL-CL,其中VL与VH1配对以形成具有第二抗原特异性的抗原结合结构域,并且与VH2配对以形成具有第三抗原特异性的抗原结合结构域。呈1+1+1mAb-scFv格式的例示性PDL1 x PDL2x CD28 triAb(基于如实施例1和实施例2所述的结合结构域)的序列描绘于图90中。

[1587] 4D:1+1+1堆叠Fab2-Fab-Fc格式

[1588] 另一种三价三特异性格式是1+1+1堆叠Fab2-Fab-Fc格式(示意性地描绘于图83D中),其包含:第一单体,所述第一单体为重链,从N末端至C末端包含VH1-CH1-铰链-CH2-CH3,其中CH2-CH3是第一异二聚Fc结构域;第二单体,所述第二单体从N末端至C末端包含VH2-CH1-接头-VH3-CH1-铰链-CH2-CH3,其中CH2-CH3是与第一异二聚Fc结构域互补的第二异二聚Fc结构域;和第三单体,所述第三单体为共同轻链,从N末端至C末端包含VL-CL,其中VL与VH1配对以形成具有第一抗原特异性的抗原结合结构域,与VH2配对以形成具有第二抗原特异性的抗原结合结构域,并且与VH3配对以形成具有第三抗原特异性的抗原结合结构域。呈1+1+1Fab2-Fab-Fc格式的例示性PDL1 x PDL2 x CD28 triAb(基于如实施例1和实施例2所述的结合结构域)的序列描绘于图91中。

[1589] 如本领域所已知的多种异二聚化方法均可用于这些(和其他)三特异性格式中,结合多种从污染同二聚体中纯化异二聚体的方法(包括图4至图5所描绘的方法)。例如,本文所述的一些序列在一个单体上包含H435R/Y436F以促进纯化;然而,抗体可以代替地利用替代变体来促进纯化。与bsAb一样,无论triAb格式如何,CD28三特异性抗体对CD28都是单价的,并且并入了经工程化以消融Fcγ R结合的Fc变体,以避免潜在的超激动作用。此类Fc变体包括图6所描绘的变体。如本领域所已知的多种接头均可用于连接三特异性抗体的各个结构域,包括例如scFv的VH和VL结构域。最后,最大化triAb的血清半衰期可能是有用的,并且如本领域所已知的多种延长半衰期的变体均可用于这些triAb中。

[1590] 实施例5:PDL1 x CD28 bsAb

[1591] 5A:PDL1 x CD28 bsAb的初步表征

[1592] 5A(a):PDL1 x CD28 bsAb诱导T细胞扩增

[1593] 将MDA-MB-231(PDL1+)癌细胞异位负载pp65来源的NLV肽持续24小时。在第二天,添加来自CMV+供体的T细胞以及单价PDL1抗体XENP24118(基于阿维鲁单抗;序列描绘于图95中)或PDL1 x CD28 XENP34963。用NLV特异性四聚体测量CMV+T细胞的扩增。如图96所描绘的数据显示,与单独的PDL1阻断相比,PDL1x CD28 bsAb XENP36233显著增强了T细胞扩增。

[1594] 5A(b):PDL1 x CD28 bsAb在T细胞:癌细胞相互作用期间阻断PD-1:PD-L1相互作

用

[1595] 在存在CHO-PDL1-CD80-αCD3和CHO-PDL1-αCD3细胞的情况下,用剂量滴定的指示测试物品(即含有PDL1克隆2G4、部分阻断性PDL1臂或非阻断性PDL1臂的PDL1 x CD28 bsAb)处理Jurkat-PD1细胞。在Jurkat-PD1接种后6小时,测量荧光素酶活性,作为PD-1阻断的指标。如图101所描绘的数据显示,与具有部分阻断性或非阻断性PDL1臂的PDL1 x CD28 bsAb相比,具有阻断性PDL1克隆2G4的XENP36233诱导了强的荧光素酶活性。

[1596] 5A(c):PDL1 x CD28 bsAb对具有较高PDL1抗原密度的细胞更具活性

[1597] 转染PDL1^{缺失}MC38细胞以表达低或中水平的PDL1抗原(分别为40K和59K抗原密度)。用剂量滴定的XENP36233处理亲本、PDL1^{低}和PDL1^{中}MC38克隆。使用A647偶联的二级抗人Fc抗体通过流式细胞术检测bsAb,其数据描绘于图102中。

[1598] 接下来,转染PDL1^{缺失}HEK293T细胞以表达中或高水平的PDL1抗原。在存在10,000PDL1-HEK293T密度系列的情况下,用剂量滴定的XENP36233和1μg/mL B7H3 x CD3处理10,000个CD3+T细胞。在T细胞接种后1天,使用MSD测定测量IL-2分泌,数据如图103所描绘。总的来说,数据显示,PDL1 x CD28 bsAb对具有较高PDL1抗原密度的细胞更具活性。

[1599] 5A(d):PDL1 x CD28 bsAb增强CD3双特异性抗体的活性,但仅针对PDL1^{+}细胞系

[1600] 在第一项实验中,使用Incucyte®活细胞分析系统(Essen BioScie nce,Ann Arbor,MI)评估PDL1 x CD28 bsAb与CD3双特异性抗体的组合对细胞因子(IL-2和IFNγ)释放和CD3^{+}T细胞扩增的诱导。将MDA-MB-231癌细胞和T细胞与1μg/ml例示性B7H3 x CD3双特异性抗体和指示浓度的PDL1 mAb XENP24118或PDL1 x CD28 bsAb XENP34963混合。用Incucyte测定癌细胞随时间的生长,使用MSD测定(Meso Scale Discovery,Rockville,Md.)测量细胞因子分泌,并且使用流式细胞术测量T细胞扩增。如图97所描绘的数据显示,PDL1 x CD28 bsAb与CD3双特异性抗体协同诱导T细胞活化。

[1601] 在另一项实验中,使用xCELLigence实时细胞分析仪(ACEA Biosciences,San Diego,CA)评估1:1效应物:靶标比率下的细胞杀伤。首先接种1,250个LNCaP癌细胞。在48小时后,添加1:1效应物:靶标下的新鲜富集的CD3+T细胞以及恒定剂量的抗体(单独的PSMA xCD3 XENP32220,或XENP32220与XENP36233的组合;XENP32220的序列描绘于图16中)。在T细胞接种后10天中记录细胞杀伤。在此项实验中,如图98所描绘的数据显示,与单独孵育癌细胞和T细胞相比,单独使用XENP32220能够增强细胞杀伤;然而,添加PDL1x CD28克服了癌细胞对CD3双特异性抗体的抗性并进一步增强了细胞杀伤。

[1602] 然而,CD3 bsAb活性仅在PDL1^{+}细胞上增强。将CD3+T细胞与22Rv1(PDL1^{缺失})以10:1和1:1的E:T比率同单独的例示性B7H3 xCD3或B7H3 x CD3与XENP36233的组合一起孵育。在T细胞接种后7天中使用xCELLigence记录细胞杀伤。如图104所描绘的数据显示,αPDL1 xα CD28 bsAb XENP36233不能与αB7H3 xαCD3协同增强对PDL1阴性22Rv1细胞系的杀伤。

[1603] 5A(e):随着PDL1表达增加,PDL1 x CD28随着时间的推移与CD3 bsAb产生协同作用

[1604] 将PC3细胞与T细胞共培养,然后用单独的例示性B7H3 x CD3bsAb或其与αIFNγ中和mAb一起处理。通过流式细胞术评估PC3细胞上的PDL1表达,如图132所描绘。数据表明,CD3 bsAb通过促进IFNγ释放诱导PDL1和PDL2表达。

[1605] 接下来,将PC3细胞与T细胞共培养,然后用指示抗体处理1天、2天或5天。在抗体处

理后指示时间测量培养上清液中的IFNγ,其数据描绘于图133中,该图显示随着PDL1表达增加,CD3 bsAb随时间的推移与PDL1 x CD28产生协同作用。

[1606] 5A(f):PDL1 x CD28增强体内抗肿瘤活性

[1607] 将稳定表达人PDL1抗原的MC38癌细胞皮下接种到人CD28敲入小鼠体内。当肿瘤可触及时(第0天),每周用5mg/kg基于阿维鲁单抗的二价PDL1抗体(XENP24118)、6mg/kg PDL1 x CD28XENP34961(2+1mAb-scFv格式)或8.3mg/kg PDL1 x CD28XENP34963(1+1Fab-scFv-Fc格式)对小鼠进行腹膜内治疗。在第3天、第7天、第10天、第14天和第17天向小鼠另外给药。通过卡尺测量监测肿瘤体积,其数据(第1次给药后天数)示于图99中。数据显示,尽管PDL1阻断抑制肿瘤生长,但PDL1 x CD28 bsAb作为单一剂显著增强抗肿瘤活性。

[1608] 5A(g):PDL1 x CD28在食蟹猴中耐受性良好,并且表现出良好的药代动力学

[1609] 向食蟹猴给予XENP36764(其序列描绘于图84中;用M428L/N434S对XENP36233进一步工程化以延长半衰期)。如图105所描绘的数据显示,PDL1 x CD28表现出良好的药代动力学。另外,bsAb耐受性良好(数据未显示)。

[1610] 5B:优化PDL1 x CD28 bsAb

[1611] 5B(a):基于机制的PK/PD建模提供了调整CD28和PDL1结合亲和力的途径

[1612] PD-L1在肿瘤上的低表面表达可能限制了突触接合,并带来如何获得CD28与双特异性抗体的最佳交联的问题。在此背景下,通过寻找CD28和PDL1亲和力的最佳平衡来实现低抗原密度靶向,利用计算机建模来辅助优化的PDL1 x CD28 bsAb的工程化。使用实验数据(来自科学文献和内部生成的)和以下假设(示意性地描绘于图106中)开发了基于机制的模型:三个充分混合的区室(中心、外周和肿瘤);所有区室均含有T细胞和表达PDL1的细胞;所有区室之间自由运输药物;在所有区室中药物的非特异性清除以相同的顺序速率发生;可溶性靶标对CD28和PDL1的亲和力较低,因此不包括在内;药物结合的受体具有与游离受体相同的内化速率;假设交联CD28:药物_PD-L1三聚体与任一靶标内化;并且假设交联CD28:药物_PD-L1三聚体以更快的受体速率内化。如图107所描绘,该模型预测了肿瘤内T细胞共刺激活性和持续的PDL1阻断;符合典型检查点抑制剂方案的剂量水平下的线性PK;指示共刺激的肿瘤中三聚体的形成;以及持续的PDL1阻断。

[1613] 值得注意的是,鉴于PDL1在肿瘤上的低表面表达,模拟表明必须增强CD28亲和力(从560nM到58nM),并且必须增强PDL1亲和力(从2.4nM到0.1nM)。

[1614] 5B(b):调整CD28结合亲和力

[1615] 基于上述建议,如实施例1A(c)所述工程化CD28克隆1A7亲和力变体,并与WT PDL1克隆2G4配对。

[1616] 5B(b)i:增加CD28亲和力导致更有效力且更有效的IL-2分泌

[1617] 在研究增强的CD28结合亲和力的影响的第一项实验中,将MDA-MB-231或DU145癌细胞与CD3+T细胞在10:1E:T比率、1μg/mL B7H3 x CD3和滴定剂量的指示PDL1 x CD28测试物品下一起孵育,所述测试物品具有以下CD28结合亲和力范围:37nM(XENP37561中的1A7_L1.71_H1.14);36nM(XENP37261中的1A7_H1.14_L1.71);96nM(XENP37560中的1A7_H1.1_L1.71);180nM(XENP37559中的1A7_H1_L1.71);286nM(XENP37412中的1A7_L1_H1.14);和240nM(XENP36233中的1A7_H1.14_L1)。在24小时后评估IL-2分泌,其数据描绘于图108中。数据显示,增加CD28亲和力导致更有效力且更有效的IL-2分泌。值得注意的是,在此组中,

对CD28的结合亲和力180nM是最大活性的最小值(XENP37412和XENP36233对CD28的结合亲和力分别为286nM和240nM,表明不仅效力较低,而且有效活性也较低)。

[1618] 5B(b)ii:在1:1E:T下增加CD28亲和力增加了PDL1^{低}癌细胞的细胞毒性

[1619] 在研究增强的CD28结合亲和力的影响的第二项实验中,将LnCAP细胞(PDL1^{低})与CD3+T细胞在低1:1E:T比率下与单独的1μg/mlαB7H3 xαCD3 bsAb或其与1μg/ml具有不同CD28结合亲和力的PDL1 x CD28 bsAb(与实施例5B(a)中相同的一组)的组合一起孵育。在T细胞接种后6天中使用xCELLigence记录细胞毒性,其数据描绘于图109中。数据显示,在低1:1E:T比率下,增加CD28亲和力增加了低PDL1表达的癌细胞的细胞毒性。

[1620] 5B(b)ii:在0.1:1E:T下增加CD28亲和力增加了PDL1^{中}癌细胞的细胞毒性

[1621] 在研究增强的CD28结合亲和力的影响的第二项实验中,将DU145细胞(PDL1^{中})与CD3+T细胞在低0.1:1E:T比率下与单独的1μg/mlαB7H3 xαCD3 bsAb或其与1μg/ml具有不同CD28结合亲和力的PDL1 x CD28 bsAb(与实施例5B(a)中相同的一组)的组合一起孵育。在T细胞接种后6天中使用xCELLigence记录细胞毒性,其数据描绘于图110中。数据显示,在极低0.1:1E:T比率下,增加CD28亲和力增加了中等表达PDL1的癌细胞的细胞毒性。

[1622] 5B(b)iii:经调整具有增强的CD28结合亲和力的PDL1xCD28bsAb在体内具有活性

[1623] 在与实施例4F类似的体内抗肿瘤模型中研究了具有亲和力增强的CD28臂的PDL1 x CD28 bsAb XENP37261。将稳定表达人PDL1抗原的MC38癌细胞皮下接种到人CD28敲入小鼠体内。当肿瘤可触及时(第0天),每周用6.6mg/kg基于阿维鲁单抗的单价PDL1抗体(XENP36627)或8.3mg/kg PDL1 x CD28 XENP37261对小鼠进行腹膜内治疗。通过卡尺测量监测肿瘤体积,其数据(第1次给药后天数)示于图111中。数据显示,尽管PDL1阻断抑制肿瘤生长,但PDL1 xCD28 bsAb XENP37261单一剂显著增强抗肿瘤活性。

[1624] 5B(c):调整PDL1结合亲和力

[1625] 接下来,如实施例1A所述工程化PDL1克隆2G4亲和力变体,并与CD28克隆1A7_H1_L1.71(180nM CD28臂;较低的CD28活性允许评估PDL1阻断)配对。

[1626] 5B(c)i:增加PDL1亲和力促进细胞因子分泌

[1627] 在第一项实验中,将DU145-NLR细胞与CD3+T细胞在1:1E:T比率下孵育,并通过1μg/mL B7H3 x CD3和具有不同PDL1结合亲和力的指示PDL1 x CD28 bsAb剂量反应进行处理。在T细胞接种后1天,使用MSD测定评估IL-2分泌,其数据描绘于图112中。数据显示,PDL1亲和力增加促进IL-2分泌。

[1628] 在第二项实验(其数据描绘于图113中)中,具有0.17nM PDL1臂的XENP38514增强了DC:T细胞混合淋巴细胞反应中的T细胞/APC相互作用,如IL-2和IFNγ释放所指示。

[1629] 5B(c)ii:增加PDL1亲和力促进PD1:PDL1阻断

[1630] 在另一项实验中,将指示浓度的PDL1 x CD28 bsAb在存在huPD-L1-mFc融合物的情况下在室温下孵育30分钟。然后将该混合物与表达PD-1的HEK293T细胞合并,并在4℃下孵育1小时。用抗小鼠Fc对细胞进行染色并通过流式细胞术评估结合情况,其数据描绘于图114中。数据显示,PDL1 x CD28 bsAb可阻断PD1与PDL1之间的相互作用。

[1631] 5B(d):调整CD28和PDL1结合亲和力

[1632] 如基于机制的建模表明,亲和力增强的CD28结合结构域应与亲和力增强的PDL1结合结构域配对,因此将具有亲和力增强的CD28克隆1A7变体的bsAb与亲和力增强的PDL1克

隆2G4配对。

[1633] 在第一项实验中,将具有0.6nM、1nM和2.6nM结合亲和力的PDL1结合结构域与具有37nM、96nM、180nM和230nM结合亲和力的CD28结合结构域配对,并在SEB刺激的PBMC测定中进行研究。将PBMC用110ng/mL SEB刺激2天。然后在存在10ng/mL SEB和指示剂量的PDL1 x CD28 bsAb的情况下接种200,000个PBMC。在24小时后测定IL-2分泌,其数据描绘于图115中。数据表明,高亲和力PD-L1臂(诸如0.6nM臂)与37nM CD28臂最佳配对;尽管如此,高亲和力PD-L1结合克服了增加CD28亲和力的要求,因为它也能与低亲和力CD28(如XENP39365和XENP39368中的)组合实现良好的活性。

[1634] 5C:PDL1 x CD28 bsAb的进一步优化

[1635] 从可发展性的角度来看,对诸如稳定性和表达等其他特征的另外优化也很重要。尽管将高亲和力PDL1结合结构域2G4_H1.12_L1.24与高亲和力CD28结合结构域1A7_H1.14_L1.71(如XENP38512中的)配对可实现具有最佳生物活性的分子,但事实证明XENP38512的稳定性和抗体表达水平不太理想(数据未显示)。因此,基于2G4_H1.12_L1.24,通过复原或回复突变怀疑会降低稳定性和/或收率并且/或者实现最小必要取代组(相对于H1L1)的取代,产生了另外的亲和力变体。鉴定出几个结合结构域,包括2G4_H1.12_L1.14、2G4_H1.12_L1.66和2G4_H1.12_L1.68,与2G4_H1.12_L1.24相比,这些结合结构域的T_m提高了4.5℃,收率也提高了,同时保持了高亲和力PDL1结合。另外,还研究了密码子优化。

[1636] 在进一步的实验中,将PDL1结合结构域2G4_H1.12_L1.24(0.17nM)、2G4_H1.12_L1.66(0.86nM)、2G4_H1.12_L1.68(0.80nM)或2G4_H1.12_L1.14(0.42nM)结合亲和力与具有37nM结合亲和力的CD28结合结构域(1A7_H1.14_L1.71)配对,并在逆向CAR-T实验(其中将测试物品与CD3+富集的T细胞、经转染以表达CD3 scFv(充当信号1)的MDA-MB-231一起孵育)和1μg/mL例示性B7H3 x CD3bsAb中进行研究。应当注意,XENP38512和XENP40036具有相同的氨基酸,但由不同的密码子表达。如图116所描绘的数据显示,与2G4_H1.12_L1.24相比,稳定性/产率优化的变体实现类似的IL2诱导,尽管XENP40409(XENP40706的非Xtend类似物,含有2G4_H1.12_L1.14)最有效力地诱导IL2产生。

[1637] 5D:PDL1 x CD28 bsAb选择性地诱导食蟹猴效应T细胞增殖

[1638] 向食蟹猴给予XENP36803(1X剂量、4X剂量和10X剂量)或XENP36764(4X剂量、10X剂量和20X剂量)以研究本发明的PDL1x CD28bsAb的药效动力学。研究数据显示,在T细胞上直至第14天检测到CD28受体占用(图117),并且在活化的单核细胞中检测到PDL1受体占用(图118)。最后,如图119所描绘,发现PDL1 x CD28bsab在选择性地诱导效应CD4+和CD8+T细胞,特别是CD45RA-亚群的增殖方面表现出细胞因子样活性。值得注意的是,与PDL1具有单价结合的1+1Fab-scFv-Fc格式的XENP36764比与PDL1具有双价结合的2+1mAb-scFv格式的XENP36803更有效地诱导增殖。

[1639] 5E:利用另外的PDL1结合结构域的PDL1 x CD28 bsAb的表征

[1640] 首先在PDL1 x CD28 bsAb的情形下研究实施例2B所描述的共同轻链单细胞研究活动中的新型PDL1结合结构域的活性,以确认它们具有生物活性。如下评估对细胞因子(IL-2和IFNγ)释放的诱导:将MDA-MB-231($PDL1^+PDL2^+$)癌细胞和T细胞(1:1效应物:靶标比率)与1μg/ml的例示性B7H3 x CD3双特异性抗体和指示浓度的PDL1 xCD28 bsAb混合。如图120所示的数据显示,分别利用13G1和13G7PDL1 CLC结合结构域的XENP42047和XENP42048

表现出与XENP37261相似的效力和功效,而利用其他PDL1 CLC结合结构域的另外的bsAb的效力和/或功效较低。

[1641] 实施例6:PDL2 x CD28 bsAb

[1642] 首先在PDL2 x CD28 bsAb的情形下研究实施例2B所描述的共同轻链单细胞研究活动中的新型PDL2结合结构域的活性。这是为了确认PDL2结构域适用于本发明的PDL1 x PDL2 x CD28 triAb,而且证明了PDL2 x CD28 bsAb也可以是有用的。如下评估对细胞因子(IL-2和IFNγ)释放的诱导:将MDA-MB-231($PDL1^+PDL2^+$)癌细胞和T细胞(1:1效应物:靶标比率)与1μg/ml的例示性B7H3 x CD3双特异性抗体和指示浓度的PDL2 x CD28 bsAb混合。如图121所描绘的数据显示,大多数PDL2 x CD28 bsAb(分别利用5C11、8G2、8G5和16G11PDL2 CLC结合结构域的XENP42051、XENP42052、XENP42053和XENP42054),但并非全部(即,使用另一种高亲和力PDL2 CLC结合结构域的XENP42050)在诱导细胞因子释放方面的效力和/或功效与PDL1 x CD28 bsAb同等或更强。

[1643] 实施例7:PDL1 x PDL2 x CD28 triAb

[1644] 如实施例5A(c)所述,PDL1 x CD28 bsAb对$PDL1^{高}$细胞更具活性。在某些情形下(例如在某些肿瘤环境中),肿瘤细胞上的PDL1可能不足,这可能会减弱PDL1 x CD28 bsAb的功效。假设是,通过引入PDL2结合结构域来制造PDL1 x PDL2 x CD28 triAb(其中PDL1和PDL2臂彼此互相排斥地起作用),可以恢复或增强抗体结合能力。图122描绘了肿瘤细胞具有不同PDL1和PDL2表达水平以及PDL1x CD28 bsAb、PDL1 x CD28的组合和PDL1 x PDL2 x CD28 triAb(呈1+1+1Fab-Fab-scFv格式,具有PDL1和PDL2 CLC结合结构域和CD28 scFv结合结构域)的相对结合能力的场景的简化描绘,并证明triAb靶向$PDL1^-PDL2^+$、$PDL1^+PDL2^-$和$PDL1^+PDL2^+$肿瘤。

[1645] 7A:1+1+1PDL1 x PDL2 x CD28 triAb是功能性的,并且活性是格式依赖性的

[1646] 产生了呈1+1+1堆叠Fab-scFv-Fc和1+1+1mAb-scFv格式的利用13G1和13G7 CLC PDL1结合结构域、5C11、8G2、8G5和16G11 CLC PDL2结合结构域以及1A7来源的CD28结合结构域的PDL1 x PDL2 x CD28 triAb。如下评估triAb对细胞因子(IL-2和IFNγ)释放的诱导:将PDL1转染的CHO细胞或PDL2转染的CHO细胞和T细胞(1:1效应物:靶标比率)与1μg/ml的例示性B7H3 x CD3双特异性抗体(具有鼠B7H3特异性)和指示浓度的bsAb和triAb混合。这些实验的数据描绘于图123至图124中。PDL1 x CD28 bsAb在存在CHO-PDL2的情况下不诱导任何细胞因子分泌,而PDL2 x CD28 bsAb在存在CHO-PDL1的情况下也不诱导任何细胞因子分泌。然而,PDL1x PDL2 x CD28 triAb在存在CHO-PDL1和CHO-PDL2细胞的情况下诱导细胞因子分泌(如假设的那样,彼此互相排斥,因此只需要一个靶抗原)。1+1+1mAb-scFv格式的bsAb对CHO-PDL1和CHO-PDL2细胞均具功能性并且表现相似。值得注意的是,在存在CHO-PDL1细胞的情况下,在底部具有PDL1结合结构域的堆叠Fab-scFv-Fc格式的triAb比在底部具有PDL2结合结构域的那些triAb更有效力(尽管在顶部具有PDL1结合结构域至少与mAb-scFv格式相当);而在存在CHO-PDL2细胞的情况下,在底部具有PDL2结合结构域的堆叠Fab-scFv-Fc格式的triAb比在底部具有PDL1结合结构域的那些triAb更有效力(尽管在顶部具有PDL2结合结构域至少与mAb-scFv格式相当)。

[1647] 在另一项实验中,比较了呈1+1+1Fab-(Fab-scFv)-Fc(CD28scFv处于VHVL或VLVH取向)、1+1+1堆叠Fab_2-scFv-Fc和1+1+1mAb-scFv格式的PDL1 x PDL2 x CD28 triab。将效

应细胞和LnCAP(PDL1^{低}PDL2^{缺失})、DU145(PDL1^{中}PDL2^{缺失})或LCLC103H(PDL1^{高}PDL2^{中})肿瘤细胞以1:1效应物:靶标与1μg/mL例示性B7H3x CD3 bsAb和剂量滴定的各种PDL1 x PDL2 x CD28 triAb一起孵育,并且所得IL-2分泌描绘于图155中。数据显示,呈堆叠Fab_2-scFv-Fc格式的triAb的表现优于呈Fab-(Fab-scFv)-Fc和mAb-scFv格式的那些(表现相似)。值得注意的是,如在XENP42973中那样逆转CD28scFv的取向会降低活性。

[1648] 在另一项实验中,PDL1 x PDL2 x CD28 triAb呈1+1+1堆叠Fab_2-scFv-Fc格式,具有WT scFv或钉合scFv。将效应细胞和DU145肿瘤细胞以1:1效应物:靶标与1μg/mL例示性B7H3 x CD3 bsAb和剂量滴定的PDL1 x PDL2 x CD28 triAb一起孵育,并且所得IL-2分泌描绘于图156中。数据显示,活性不受scFv二硫键稳定化的影响。

[1649] 7B:1+1+1PDL1 x PDL2 x CD28 triAb对具有不同PDL1和PDL2表达密度的细胞具功能性

[1650] 接下来,在内源性表达PDL1、PDL2和B7H3的癌细胞系的情形下研究PDL1 x PDL2 x CD28 triAb(以及PDL1 x CD28和PDL2 xCD28 bsAb)的活性。图125描绘了LCLC-103H、SNU-423和NCI-H460细胞系上的PDL1、PDL2和B7H3抗原密度(如根据QuickCal方案(Bangs Laboratories,Inc.,Fishers,IN)的建议通过使用荧光标记的珠粒的FACS测定的)。数据显示,三种细胞系具有不同的PDL1:PDL2比率。

[1651] 在一组初始实验中,将10,000个LCLC-103H、SNU-423或NCI-H460细胞接种过夜,然后用剂量滴定的PDL1 x CD28或PDL2 x CD28bsAb、恒定剂量的1μg/mL例示性鼠B7H3 x CD3 bsAb和纯化的T细胞(1:1效应物:靶标比率)进行处理。在T细胞接种后1天使用MSD测定测量IL2,其数据描绘于图126中。数据显示,每种bsAb对LCLC-103H和SNU-423均具活性,其中XPL1-13G1是最有效力的PDL1结合结构域,并且8G2是最有效力的PDL2结合结构域。与实施例6中的数据一致,PDL2 x CD28 bsAb对PDL2^{低}NCI-H460细胞的活性较低。值得注意的是,虽然大多数PDL2 x CD28 bsAb对LCLC-103H和SNU-423细胞系的活性较弱,但具有XPL2-8G2的PDL2 x CD28 bsAb XENP45052保留了与PDL1 x CD28 bsAb相当的活性。

[1652] 接下来,对triAb进行测试。如上文所述,将10,000个LCLC-103H、SNU-423或NCI-H460细胞接种过夜,然后用剂量滴定的PDL1x CD28或PDL2 x CD28 bsAb、恒定剂量的1μg/mL例示性鼠B7H3x CD3 bsAb和纯化的T细胞(1:1效应物:靶标比率)进行处理。在T细胞接种后1天使用MSD测定测量IL2,其数据描绘于图127中。

[1653] 在另一项实验中,在PDL1高MDA-MB-231(约130,000PDL1抗原)和PDL1低LNCaP(约13,000PDL1抗原)上测试triAb。将T细胞与(A和C)MDA-MB-231(130,000PDL1抗原)或(B和D)LNCaP(13,000PDL1抗原)共培养,并用指示浓度的指示抗体(单独的例示性B7H3 x CD3 bsAb或其与PDL1 x PDL2 x CD28 bsAb XENP43461、XENP44283或XENP44288的组合,其序列描绘于图88和图91中)进行处理。在治疗后1天测定IL-2活性。在治疗后5天通过发光测量重定向T细胞细胞毒性(RTCC)活性。如图136所描绘的数据显示,高和低PDL1密度靶细胞上的IL-2释放均增强。如图137A所描绘的数据显示,在低效应物与靶标比率(1:50)下,T细胞定向细胞毒性增强。

[1654] 7C:1+1+1PDL1 x PDL2 x CD28 triAb在存在PDL1或PDL2的情况下具功能性

[1655] 将10,000个LCLC-103H(100,000PDL1表面抗原,40,000PDL2表面抗原)接种过夜,然后用5μg/mL阻断性二价PDL1 mAb、5μg/mL阻断性二价PDL2 mAb或PBS对照进行预处理。然

后用剂量滴定的XENP42049 PDL1 x CD28、XENP42054 PDL2 x CD28或XENP43461PDL1 x PDL2 x CD28 triAb、恒定剂量的1μg/mL例示性鼠B7H3 xCD28 bsAb、纯化的T细胞(1:1效应物:靶标比率)处理细胞。在T细胞接种后1天使用MSD测定测量IL2,其数据描绘于图130中。数据显示,PDL1 x CD28 bsAb需要PDL1(如在存在PDL1阻断的情况下XENP42049的效力降低所指示的),而PDL2 x CD28 bsAb需要PDL2(如在存在PDL2阻断的情况下XENP42054的效力降低所指示的),而PDL1 x PDL2 x CD28 triAb在存在PDL1或PDL2的情况下均有活性(如在存在PDL1或PDL2阻断的情况下效力相似所指示的)。

[1656] 7D:PDL1 x PDL2 triAb对PDL1和PDL2的阻断在功能上等同于PD1阻断

[1657] 为了研究PDL1 x PDL2 x CD28 triAb对PDL1和PDL2阻断的效果(在不影响CD28结合结构域的情况下),我们工程化并生产了PDL1x PDL2 x RSV triAb XENP43456(序列如图131所描绘)。将混合淋巴细胞反应(n-14)用指示浓度的PBS、XENP43456 PDL1 x PDL2 x RSV triAb或抗PD1 mAb处理,并在5天后测定IFNγ分泌。图134所描绘的数据显示,PDL1 x PDL2 triAb对PDL1和PDL2的阻断在功能上等同于PD1阻断。

[1658] 在另一项实验中,在存在A431细胞(经转染以表达αCD3 scFv)的情况下,用剂量滴定的PD-1mAb或XENP43456 PDL1 x PDL2 xRSV triAb(序列描绘于图131中)处理Jurkat-PD1细胞。在Jurkat-PD1接种后6小时,测量荧光素酶活性,作为PD-1阻断的指标。如图141所描绘的数据显示,单独的PDL1和PDL2阻断(不存在CD28激动作用)在功能上等同于PD1阻断。

[1659] 7E:PDL1 x PDL2 x CD28 triAb以CD28和HLA依赖性方式增强T细胞回忆应答

[1660] CMV回忆测定利用A431-β2M缺失细胞(40,000PDL1抗原)获得,所述细胞稳定表达HLA-A2、β2M和NLV肽(通过CMV感染呈递的肽)的融合物(Carreno等人,J Imm.188:5839-5849,2012)。将来自两例独特CMV+PBMC供体的CD3+富集的T细胞与指示细胞系和抗体(XENP43461 PDL2 x PDL1 x CD28 triAb、XENP43456 RSV xPDL2 x PDL1 triAb对照和XENP39273 RSV x CD28 bsAb对照;序列描绘于图88和图131中)混合。在治疗后24小时测量培养上清液中的IL-2。如图138所描绘的数据显示,PDL1 x PDL2 x CD28 triAb以CD28和HLA依赖性方式增强T细胞回忆应答。

[1661] 7F:PDL1 x PDL2 x CD28 triAb降低同基因小鼠MC38肿瘤模型中的肿瘤生长

[1662] 将1x 10^6个稳定表达高水平人PDL1抗原的MC38癌细胞皮下接种到人PDL1/人CD28双敲入C57BL/6小鼠体内。当肿瘤大约为300mm^3时(第0天),每周两次用PBS对照、二价抗鼠PD1抗体(3mg/kg)、XENP43735(小鼠替代物PDL1 x PDL2 x RSV triAb对照,序列如图139B所描绘;10mg/kg)或XENP43734(小鼠替代物PDL1 xPDL2 x CD28 triAb,类似于XENP43461(不含Xtend),序列如图139A所描绘;10mg/kg)对小鼠进行腹膜内治疗。每周两次通过卡尺测量监测肿瘤体积,其数据(第1次给药后天数)示于图140中。数据显示,尽管PDL1/PDL2阻断抑制了肿瘤生长,但添加CD28模式(如在PDL1x PDL2 x CD28 triAb中)增强了抗肿瘤活性。

[1663] 数据表明,PDL1 x PDL2 x CD28三特异性抗体通过多种机制增强CD3双特异性抗体的活性。值得注意的是,对照抗体PDL1 x PDL2x RSV本身表现出一定程度的抗肿瘤活性改善,这与阻断PD1途径可增强T细胞接合器活性的概念一致。另外,当在PDL1 x PDL2 xCD28三特异性抗体中添加CD28结合臂时,观察到另外的抗肿瘤活性和T细胞扩增(数据未显示),证实靶向的CD28共刺激也有助于该分子的增强作用。

[1664] 7G:利用所有三个结合结构域的共同轻链的PDL1 x PDL2 xCD28 triAb的开发

[1665] 尽管上述triAb利用PDL1和PDL2结合结构域的共同轻链,但期望开发出利用所有三个结合结构域的共同轻链的triAb(全CLC triAb),因为仅利用Fab结构域的多特异性抗体可能比利用scFv结构域的多特异性抗体免疫原性更低且更稳定。

[1666] 开发此类三特异性分子的初步努力通过筛选具有相同共同轻链的新型CD28结合结构域建立在已利用PDL1和PDL2结合结构域的共同轻链的上述triAb的基础上。如实施例2B(a)所述以及图77至图80所描绘,鉴定出多种合适的且具功能性的CD28结合结构域,其中克隆1A3.88474表现出良好的特性。因此,使用此结合结构域工程化了全共同轻链triAb,包括XENP 43400、43402、43404、43405、43452和43453(每个都利用相同的亲和力优化的PDL1和PDL2结合结构域以及CD28结合结构域,尽管结合结构域处于不同位置)。将这些triAb与XENP43461(匹配PDL1和PDL2结合结构域与1A7 scFv以1+1+1堆叠Fab_2-scFv-Fc格式组合)进行了比较。将triAb与1μg/ml例示性B7H3 x CD3 bsAb和DU145肿瘤细胞(1:1效应物:靶标)一起孵育,并在24小时后测量IL-2分泌,其数据描绘于图157中。数据显示,虽然所有triAb均具功能性,但具有1A7结合结构域的XENP43461的表现优于所有具有1A3结合结构域的triAb。

[1667] 接下来,开发工作的重点是工程化利用所有三个结合结构域的共同轻链并且包含1A7 VH的triAb。如实施例2B(b)所述,1A7克隆包含一个可变轻结构域,该可变轻结构域与内部共同轻链噬菌体文库中的可变轻结构域在LCDR3中只有一个氨基酸的差异。因此,鉴定出新型共同轻链PDL1和PDL2结合结构域,并如实施例1B(b)所述进行亲和力成熟,以与1A7组合。另外,如实施例2B(b)所述,1A7的VH与噬菌体文库中使用的亲本种系VL不能很好地配对,因此对1A7的VH进行亲和力成熟,目的是工程化一种表现与包含1A7 37nM scFv的triAb一样好的triAb。包含具有种系VL和亲和力成熟的VH的1A7的示例性的此类全CLC triAb包括XENP 44281-44289。

[1668] 在第一项实验中,通过与1μg/ml例示性B7H3 x CD3 bsAb和DU145癌细胞以1:10效应物:靶标比率一起孵育来研究这些全CLC triAb(以及XENP43465,它是1+1+1堆叠Fab-scFv-Fc triAb,包含相同的亲和力优化的PDL1和PDL2结合结构域以及1A7 37nM scFv)的活性,并且24小时后的IL-2分泌描绘于图158至图159中。数据显示,几种全CLC triAb实现与XENP43465的效力相当的效力。

[1669] 在第二项实验中,比较了XENP4288(一种包含1A7来源的CD28结合结构域的示例性全CLC triAb)和XENP43453(一种包含1A3CD28结合结构域的示例性全CLC triAb)的活性。将剂量滴定的例示性B7H3 x CD3 bsAb与1μg/ml PDL1 x PDL2 x CD28 triAb在存在T细胞和Caki-1癌细胞(1:1效应物:靶标比率)的情况下一起孵育,并且24小时后的IL-2分泌描绘于图160中。数据显示,基于1A7的全CLC triAb比基于1A3的全CLC triAb更有效力且更有效。另外,图137B中的数据显示,XENP44283(另一种基于1A7的全CLC triAb)对低抗原密度靶细胞的T细胞定向细胞毒性增强。

[1670] 7H:PDL1 x PDL2 x CD28 triAb与CD3 T细胞接合器有效结合,减少实体瘤异种移植模型中的肿瘤生长

[1671] 在第-21天将3x 10^6个pp65-MDA-MB231gfp癌细胞皮内接种到为MHC I/II-DKO的NSG小鼠(NSG-DKO;耐GVHD)体内。在第0天,向小鼠移植5x 10^6个人PBMC。在第0天、第7天、第

14天、第19天和第28天,用以下测试物品对小鼠进行腹膜内治疗:PBS对照、例示性B7H3 x CD3 bsAb(0.5mg/kg)、PDL1 x PDL2 x CD28XENP44676(序列如图91所描绘)与B7H3 x CD3 bsAb(分别为5mg/kg和0.5mg/kg)的组合、对照PDL1 x PDL2 x RSV XENP44796(序列如图131所描绘)与B7H3 x CD3 bsAb(分别为5mg/kg和0.5mg/kg)的组合,或对照RSV x RSV x CD28 XENP44797(序列如图131所描绘)与B7H3 x CD3 bsAb(分别为5mg/kg和0.5mg/kg)的组合。通过卡尺测量(每周1-3次)监测肿瘤体积,其数据(第1次给药后天数)示于图142中(并且第39天的数据示于图143中)。每周抽血进行细胞计数,并且描绘第7天的CD3+细胞的数据示于图144中。

人PDL1序列SEQ ID NO: 1

>sp|Q9NZQ7
MRIFAVFIFMTYWHLLNAFTVTVPKDLYVVEYGSNMTIECKFPVEKQLDLAALIVYWEMEDKNIIQFVHGEEDLKVQ
HSSYRQRARLLKDQLSLGNAALQITDVKLQDAGVYRCMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRILVVDPVTSEHELT
CQAEGYPKAEVIWTSSDHQVLSGKTTTTNSKREEKLFNVTSTLRINTTTNEIFYCTFRRLDPEENHTAELVIPELPL
AHPPNERTHLVILGAILLCLGVALTFIFRLRKGRMMDVKKCGIQDTNSKKQSDTHLEET

人PDL1,细胞外结构域SEQ ID NO: 2

>sp|Q9NZQ7|19-238
FTVTVPKDLYVVEYGSNMTIECKFPVEKQLDLAALIVYWEMEDKNIIQFVHGEEDLKVQHSSYRQRARLLKDQLSLG
NAALQITDVKLQDAGVYRCMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRILVVDPVTSEHELTCQAEGYPKAEVIWTSSDH
QVLSGKTTTTNSKREEKLFNVTSTLRINTTTNEIFYCTFRRLDPEENHTAELVIPELPLAHPPNER

小鼠PDL1序列SEQ ID NO: 3

>sp|Q9EP73
MRIFAGIIFTACCHLLRAFTITAPKDLYVVEYGSNVTMECRFPVERELDLLALVVYWEKEDEQVIQFVAGEEDLKPQ
HSNFRGRASLPKDQLLKGNAALQITDVKLQDAGVYCCIISYGGADYKRITLKVNAPYRKINQRISVDPATSEHELIC
QAEGYPEAEVIWTNSDHQPVSGKRSVTTSRTEGMLLNVTSSLRVNATANDVFYCTFWRSQPGQNHTAELIIPELPAT
HPPQNRTHWVLLGSILLFLIVVSTVLLFLRKQVRMLDVEKCGVEDTSSKNRNDTQFEET

小鼠PDL1,细胞外结构域SEQ ID NO: 4

>sp|Q9EP73|19-239
FTITAPKDLYVVEYGSNVTMECRFPVERELDLLALVVYWEKEDEQVIQFVAGEEDLKPQHSNFRGRASLPKDQLLKG
NAALQITDVKLQDAGVYCCIISYGGADYKRITLKVNAPYRKINQRISVDPATSEHELICQAEGYPEAEVIWTNSDHQ
PVSGKRSVTTSRTEGMLLNVTSSLRVNATANDVFYCTFWRSQPGQNHTAELIIPELPATHPPQNRTH

食蟹猴PDL1序列SEQ ID NO: 5

>tr|G7PSE7
MRIFAVFIFTIYWHLLNAFTVTVPKDLYVVEYGSNMTIECKFPVEKQLDLTSLIVYWEMEDKNIIQFVHGEEDLKVQ
HSNYRQRAQLLKDQLSLGNAALRITDVKLQDAGVYRCMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRILVVDPVTSEHELT
CQAEGYPKAEVIWTSSDHQVLSGKTTTTNSKREEKLLNVTSTLRINTTANEIFYCIFRRLDPEENHTAELVIPELPL
ALPPNERTHLVILGAIFLLLGVALTFIFYLRKGRMMDMKKCGIRVTNSKKQRDTQLEET

食蟹猴PDL1,细胞外结构域SEQ ID NO: 6

>tr|G7PSE7|19-238
FTVTVPKDLYVVEYGSNMTIECKFPVEKQLDLTSLIVYWEMEDKNIIQFVHGEEDLKVQHSNYRQRAQLLKDQLSLG
NAALRITDVKLQDAGVYRCMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRILVVDPVTSEHELTCQAEGYPKAEVIWTSSDH
QVLSGKTTTTNSKREEKLLNVTSTLRINTTANEIFYCIFRRLDPEENHTAELVIPELPLALPPNER

图1

人PDL2序列SEQ ID NO: 7

>sp|Q9BQ51|PD1L2_ 人程序性细胞死亡1配体2 OS=智人 OX=9606
GN=PDCD1LG2 PE=1 SV=2
MIFLLLMLSLELQLHQIAALFTVTVPKELYIIEHGSNVTLECNFDTGSHVNLGAITASLQKVENDTSPHRERATLLE
EQLPLGKASFHIPQVQVRDEGQYQCIIIYGVAWDYKYLTLKVKASYRKINTHILKVPETDEVELTCQATGYPLAEVS
WPNVSVPANTSHSRTPEGLYQVTSVLRLKPPPGRNFSCVFWNTHVRELTLASIDLQSQMEPRTHPTWLLHIFIPFCI
IAFIFIATVIALRKQLCQKLYSSKDTTKRPVTTTKREVNSAI

人PDL2,细胞外结构域SEQ ID NO: 8

>sp|Q9BQ51|20-220
LFTVTVPKELYIIEHGSNVTLECNFDTGSHVNLGAITASLQKVENDTSPHRERATLLEEQLPLGKASFHIPQVQVRD
EGQYQCIIIYGVAWDYKYLTLKVKASYRKINTHILKVPETDEVELTCQATGYPLAEVSWPNVSVPANTSHSRTPEGL
YQVTSVLRLKPPPGRNFSCVFWNTHVRELTLASIDLQSQMEPRTHPT

小鼠PDL2序列SEQ ID NO: 9

>sp|Q9WUL5|PD1L2_小鼠程序性细胞死亡1配体2 OS=小家鼠
OX=10090 GN=Pdcd1lg2 PE=1 SV=1
MLLLLPILNLSLQLHPVAALFTVTAPKEVYTVDVGSSVSLECDFDRRECTELEGIRASLQKVENDTSLQSERATLLE
EQLPLGKALFHIPSVQVRDSGQYRCLVICGAAWDYKYLTVKVKASYMRIDTRILEVPGTGEVQLTCQARGYPLAEVS
WQNVSVPANTSHIRTPEGLYQVTSVLRLKPQPSRNFSCMFWNAHMKELTSAIIDPLSRMEPKVPRTWPLHVFIPACT
IALIFLAIVIIQRKRI

小鼠PDL2,细胞外结构域SEQ ID NO: 10

>sp|Q9WUL5|20-221
LFTVTAPKEVYTVDVGSSVSLECDFDRRECTELEGIRASLQKVENDTSLQSERATLLEEQLPLGKALFHIPSVQVRD
SGQYRCLVICGAAWDYKYLTVKVKASYMRIDTRILEVPGTGEVQLTCQARGYPLAEVSWQNVSVPANTSHIRTPEGL
YQVTSVLRLKPQPSRNFSCMFWNAHMKELTSAIIDPLSRMEPKVPRTW

食蟹猴PDL2序列SEQ ID NO: 11

>EHH57412.1 程序性细胞死亡1配体2,部分[食蟹猕猴]
MIFLLLMLSLELQLHQTAALFTVTVPKELYIIEHGSNATLECNFDTGSHVNLGAITASLQKVENDTSPHRERATLLE
EQLSLGKALFHIPQVQVRDEGQYQCIIIYGVAWDYKYLTLKVKASYRKINTHILKVPETDEVELTCQATGYPLAEVS
WPNISVPANTSHSRTPEGLYQVTSVLRLKPHPGRNFSCVFWNAQVRELTLASIDLQSQIEPRTHPTWLLHIFIPSCI
IAFIFIATVIALRKQLCQKLYSSKDTTKRSVTTKKREVNSAV

食蟹猴PDL2,细胞外结构域SEQ ID NO: 12

>EHH57412.1|20-220
LFTVTVPKELYIIEHGSNATLECNFDTGSHVNLGAITASLQKVENDTSPHRERATLLEEQLSLGKALFHIPQVQVRD
EGQYQCIIIYGVAWDYKYLTLKVKASYRKINTHILKVPETDEVELTCQATGYPLAEVSWPNISVPANTSHSRTPEGL
YQVTSVLRLKPHPGRNFSCVFWNAQVRELTLASIDLQSQIEPRTHPT

图2

人CD28序列SEQ ID NO: 13

>sp|P10747|CD28_ 人T细胞特异性表面糖蛋白CD28 OS=智人 OX=9606 GN=CD28 PE=1 SV=1

MLRLLLALNLFPSIQVTGNKILVKQSPMLVAYDNAVNLSCKYSYNLFSREFRASLHKGLDSAVEVCVVYGNYSQQLQ
VYSKTGFNCDGKLGNESVTFYLQNLYVNQTDIYFCKIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLFPGPSKPFW
VLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS

人CD28,细胞外结构域SEQ ID NO: 14

>sp|P10747|19-152

NKILVKQSPMLVAYDNAVNLSCKYSYNLFSREFRASLHKGLDSAVEVCVVYGNYSQQLQVYSKTGFNCDGKLGNESV
TFYLQNLYVNQTDIYFCKIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLFPGPSKP

小鼠CD28序列SEQ ID NO: 15

>sp|P31041|CD28_ 小鼠T细胞特异性表面糖蛋白CD28 OS=小家鼠 OX=10090 GN=Cd28 PE=1 SV=2

MTLRLLFLALNFFSVQVTENKILVKQSPLLVVDSNEVSLSCRYSYNLLAKEFRASLYKGVNSDVEVCVGNGNFTYQP
QFRSNAEFNCDGDFDNETVTFRLWNLHVNHTDIYFCKIEFMYPPPYLDNERSNGTIIHIKEKHLCHTQSSPKLFWAL
VVVAGVLFCYGLLVTVALCVIWTNSRRNRLLQSDYMNMTPRRPGLTRKPYQPYAPARDFAAYRP

小鼠CD28,细胞外结构域SEQ ID NO: 16

>sp|P31041|20-150

NKILVKQSPLLVVDSNEVSLSCRYSYNLLAKEFRASLYKGVNSDVEVCVGNGNFTYQPQFRSNAEFNCDGDFDNETV
TFRLWNLHVNHTDIYFCKIEFMYPPPYLDNERSNGTIIHIKEKHLCHTQSSPKL

图3A

食蟹猴CD28序列SEQ ID NO: 17

>tr|Q0PDN3|Q0PDN3_MACFA CD28 OS=食蟹猕猴 OX=9541 GN=CD28 PE=2 SV=1

MLRLLLALNLLPSIQVTGNKILVKQSPMLVAYDNAVNLSCKYSYNLFSREFRASLHKGLDSAVEVCVVYGNYSQQLQ
VYSKTGFNCDGKLGNESVTFYLQNLYVNQTDIYFCKIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLFPGPSKPFW
ALVVVGGVLACYSLLVTVAFCIFWMRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS

食蟹猴CD28,细胞外结构域SEQ ID NO: 1258

>tr|Q0PDN3|19-152

NKILVKQSPMLVAYDNAVNLSCKYSYNLFSREFRASLHKGLDSAVEVCVVYGNYSQQLQVYSKTGFNCDGKLGNESV
TFYLQNLYVNQTDIYFCKIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLFPGPSKP

食蟹猴CD28序列(预测) SEQ ID NO: 18

>XP_015308533.1 PREDICTED: CD276抗原同工型X1 [食蟹猕猴]

MKLSSDHVFPLFRKLQWLPAAFRIQFTPVSPSAGAAFHHGEPSCQLPHSKMLHRRGSPGMGVHVGAALGALWFCLTG
ALEVQVPEDPVVALVGTDATLRCSFSPEPGFSLAQLNLIWQLTDTKQLVHSFTEGRDQGSAYANRTALFLDLLAQGN
ASLRLQRVRVADEGSFTCFVSIRDFGSAAVSLQVAAPYSKPSMTLEPNKDLRPGDTVTITCSSYRGYPEAEVFWQDG
QGAPLTGNVTTSQMANEQGLFDVHSVLRVVLGANGTYSCLVRNPVLQQDAHGSITITPQRSPTGAVEVQVPEDPVVA
LVGTDATLRCSFSPEPGFSLAQLNLIWQLTDTKQLVHSFTEGRDQGSAYANRTALFLDLLAQGNASLRLQRVRVADE
GSFTCFVSIRDFGSAAVSLQVAAPYSKPSMTLEPNKDLRPGDTVTITCSSYRGYPEAEVFWQDGQGAPLTGNVTTSQ
MANEQGLFDVHSVLRVVLGANGTYSCLVRNPVLQQDAHGSVTITGQPMTFPPEALWVTVGLSVCLVALLVALAFVCW
RKIKQSCEEENAGAEDQDGEGEGSKTALQPLKHSDSKEDDGQELA

食蟹猴CD28,细胞外结构域SEQ ID NO: 19

>XP_015308533.1|79-516

LEVQVPEDPVVALVGTDATLRCSFSPEPGFSLAQLNLIWQLTDTKQLVHSFTEGRDQGSAYANRTALFLDLLAQGNA
SLRLQRVRVADEGSFTCFVSIRDFGSAAVSLQVAAPYSKPSMTLEPNKDLRPGDTVTITCSSYRGYPEAEVFWQDGQ
GAPLTGNVTTSQMANEQGLFDVHSVLRVVLGANGTYSCLVRNPVLQQDAHGSITITPQRSPTGAVEVQVPEDPVVAL
VGTDATLRCSFSPEPGFSLAQLNLIWQLTDTKQLVHSFTEGRDQGSAYANRTALFLDLLAQGNASLRLQRVRVADEG
SFTCFVSIRDFGSAAVSLQVAAPYSKPSMTLEPNKDLRPGDTVTITCSSYRGYPEAEVFWQDGQGAPLTGNVTTSQM
ANEQGLFDVHSVLRVVLGANGTYSCLVRNPVLQQDAHGSVTITGQPMTFPPEA

图3B

单体1	单体2
F405A	T394F
S364D	Y349K
S364E	L368K
S364E	Y349K
S364F	K370G
S364H	Y349K
S364H	Y349T
S364Y	K370G
T411K	K370E
V397S/F405A	T394F
K370R/T411K	K370E/T411E
L351E/S364D	Y349K/L351K
L351E/S364E	Y349K/L351K
L351E/T366D	L351K/T366K
P395T/V397S/F405A	T394F
S364D/K370G	S364Y/K370R
S364D/T394F	Y349K/F405A
S364E/F405A	Y349K/T394F
S364E/F405S	Y349K/T394Y
S364E/T411E	Y349K/D401K
S364H/D401K	Y349T/T411E
S364H/F405A	Y349T/T394F
S364H/T394F	Y349T/F405A
Y349C/S364E	Y349K/S354C
L351E/S364D/F405A	Y349K/L351K/T394F
L351K/S364H/D401K	Y349T/L351E/T411E
S364E/T411E/F405A	Y349K/T394F/D401K
S364H/D401K/F405A	Y349T/T394F/T411E
S364H/F405A/T411E	Y349T/T394F/D401K

图4A

单体1	单体2
K370E/T411D	T411K
L368E/K409E	L368K
Y349T/T394F/S354C	S364H/F405A/Y349C
T411E	D401K
T411E	D401R/T411R
Q347E/K360E	Q347R
L368E	S364K
L368E/K370S	S364K
L368E/K370T	S364K
L368E/D401R	S364K
L368E/D401N	S364K
L368E	E357S/S364K
L368E	S364K/K409E
L368E	S364K/K409V
L368D	S364K
L368D/K370S	S364K
L368D/K370S	S364K/E357L
L368D/K370S	S364K/E357Q
T411E/K360E/Q362E	D401K
K370S	S364K
L368E/K370S	S364K/E357Q
K370S	S364K/E357Q
T411E/K360D	D401K
T411E/K360E	D401K
T411E/Q362E	D401K
T411E/N390D	D401K
T411E	D401K/Q347K
T411E	D401K/Q347R
T411E/K360D/Q362E	D401K

图4B

单体1	单体2
T411E/K360E/N390D	D401K
T411E/Q362E/N390D	D401K
T411E/Q347R	D401K/K360D
T411E/Q347R	D401K/K360E
T411E/K360	D401K/Q347K
T411E/K360D	D401K/Q347R
T411E/K360E	D401K/Q347K
T411E/K360E	D401K/Q347R
T411E/S364K	D401K/K370S
T411E/K370S	D401K/S364K
Q347E	E357Q
Q347E	E357Q/Q362K
K360D/Q362E	Q347R
K360D/Q362E	D401K
K360D/Q362E	Q347R/D401K
K360E/Q362E	Q347R
K360E/Q362E	D401K
K360E/Q362E	Q347R/D401K
Q362E/N390D	D401K
Q347E/K360D	D401N
K360D	Q347R/N390K
K360D	N390K/D401N
K360E	Y349H
K370S/Q347E	S364K
K370S/E357L	S364K
K370S/E357Q	S364K
K370S/Q347E/E357L	S364K
K370S/Q347E/E357Q	S364K

图4C

单体1	单体2
L368D/K370S/Q347E	S364K
L368D/K370S/E357L	S364K
L368D/K370S/E357Q	S364K
L368D/K370S/Q347E/E357L	S364K
L368D/K370S/Q347E/E357Q	S364K
L368E/K370S/Q347E	S364K
L368E/K370S/E357L	S364K
L368E/K370S/E357Q	S364K
L368E/K370S/Q347E/E357L	S364K
L368E/K370S/Q347E/E357Q	S364K
L368D/K370T/Q347E	S364K
L368D/K370T/E357L	S364K
L368D/K370T/E357Q	S364K
L368D/K370T/Q347E/E357L	S364K
L368D/K370T/Q347E/E357Q	S364K
L368E/K370T/Q347E	S364K
L368E/K370T/E357L	S364K
L368E/K370T/E357Q	S364K
L368E/K370T/Q347E/E357L	S364K
L368E/K370T/Q347E/E357Q	S364K
T411E/Q362E	D401K/T411K
T411E/N390D	D401K/T411K
T411E/Q362E	D401R/T411R
T411E/N390D	D401R/T411R
Y407T	T366Y
F405A	T394W
T366Y/F405A	T394W/Y407T
Y407A	T366W
T366S/L368A/Y407V	T366W
T366S/L368A/Y407V/Y349C	T366W/S354C

图4D

单体1	单体2
T366S/L368A/Y407V/S354C	T366W/Y349C
K392D/K409D	E356K/D399K
K370D/K392D/K409D	E356K/E357K/D399K
K274Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_	P217R/P228R/N276K
K274Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_	N276K
N384S/K392N/V397M/Q419E	N276K
D221E/P228E/L368E	D221R/P228R/K409R
C220E/P228E/L368E	C220R/E224R/P228R/K409R
F405L	K409R
T366I/K392M/T394W	F405A/Y407V
T366V/K409F	L351Y/Y407A
T366A/K392E/K409F/T411E	D399R/S400R/Y407A
L351K	L351E
K274Q/R355Q/Q419E/K447_	P217R/P228R/N276K
K274Q/R355Q/Q419E/K447_	N276K
I199T/N203D/K274Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K274Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_	Q196K/I199T/N276K
I199T/N203D/K274Q/R355Q/Q419E/K447_	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K274Q/R355Q/Q419E/K447_	Q196K/I199T/N276K

图4E

单体1	单体2
I199T/N203D/K274Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_	
N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D	
N208D/Q295E/Q418E/N421D	
Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K	
Q196K/I199T/N276K	
K274Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_	
Q295E/N384D/Q418E/N421D	
Q295E/Q418E/N421D	
P217R/P228R/N276K	
N276K	
E269Q/E272Q/E283Q/E357Q	
E269Q/E272Q/E283Q	
E269Q/E272Q	
E269Q/E283Q	
E272Q/E283Q	
E269Q	

图4F

变体恒定区	取代
pI-ISO(-)	I199T/N203D/K274Q/R355Q/N384S/K392N/N397M/Q418E/K447_
pI_ISO(-)-仅Fc	K274Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q418E/K447_
pI_(-)_同配A	N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D
pI_(-)_同配A-仅Fc	Q295E/N384D/Q418E/N421D
pI_(-)_同配B	N208D/Q295E/Q418E/N421D
pI_(-)_同配B-仅Fc	Q295E/Q418E/N421D
pI_ISO(+RR)	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
pI_ISO(+RR)-仅Fc	P217R/P228R/N276K
pI_ISO(+)	Q196K/I199T/N276K
pI_ISO(+)-仅Fc	N276K
pI_(+)_同配A	E269Q/E272Q/E283Q/E357Q
pI_(+)_同配B	E269Q/E272Q/E283Q
pI_(+)_同配_E269Q/E272Q	E269Q/E272Q
pI_(+)_同配_E269Q/E283Q	E269Q/E283Q
pI_(+)_同配_E272Q/E283Q	E272Q/E283Q
pI_(+)_同配_E269Q	E269Q

图5

消融变体			
G236R	299R	P329H	G236R/L328R
S239G	299K	P329K	E233P/L234V/L235A/G236_/S239K
S239K	K322A	A330L	E233P/L234V/L235A/G236_/S267K
S239Q	A327G	A330S/P331S	E233P/L234V/L235A/G236_/S239K/A327G
S239R	A327L	I332K	E233P/L234V/L235A/G236_/S267K/A327G
V266D	A327N	I332R	E233P/L234V/L235A/G236_
S267K	A327Q	V266D/A327Q	S239K/S267K
S267R	L328E	V266D/P329K	267K/P329K
H268K	L328R	S267R/A327Q	
E269R	P329A	S267R/P329K	

图6

带正电荷的scFv接头

名称	序列	长度	电荷	SEQ ID NO:
Gly-Ser 15	GGGGSGGGGSGGGGS	15	0	SEQ ID NO: 1259
Whitlow 接头	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	18	+1	SEQ ID NO: 1260
6paxA_1 (+A)	IRPRAIGGSKPRVA	14	+4	SEQ ID NO: 1261
+B	GKGGSGKGGSGKGGS	15	+3	SEQ ID NO: 1262
+C	GGKGSGGKGSGGKGS	15	+3	SEQ ID NO: 1263
+D	GGGKSGGGKSGGGKS	15	+3	SEQ ID NO: 1264
+E	GKGKSGKGKSGKGKS	15	+6	SEQ ID NO: 1265
+F	GGGKSGGKGSGKGGS	15	+3	SEQ ID NO: 1266
+G	GKPGSGKPGSGKPGS	15	+3	SEQ ID NO: 1267
+H	/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/	20	+4	SEQ ID NO: 892
+I	GKGKSGKGKSGKGKSGKGKS	20	+8	SEQ ID NO: 1268

带负电荷的scFv接头

名称	序列	长度	电荷	SEQ ID NO:
Gly-Ser 20	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	20	0	SEQ ID NO: 1269
3hsc_2 (-A)	STAGDTHLGGEDFD	14	-4	SEQ ID NO: 1270
-B	GEGGSGEGGSGEGGS	15	-3	SEQ ID NO: 1271
-C	GGEGSGGEGSGGEGS	15	-3	SEQ ID NO: 1272
-D	GGGESGGGESGGGES	15	-3	SEQ ID NO: 1273
-E	GEGESGEGESGEGES	15	-6	SEQ ID NO: 1274
-F	GGGESGGEGSGEGGS	15	-3	SEQ ID NO: 1275
-G	GEGESGEGESGEGESGEGES	20	-8	SEQ ID NO: 1276

另外的scFv接头

GGGGSGGGGSGGGGS	SEQ ID NO: 1259
GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	SEQ ID NO: 1269
GSTSGSGKPGSGEGSTKG	SEQ ID NO: 1260
PRGASKSGSASQTGSAPGS	SEQ ID NO: 1277
GTAAAGAGAAGGAAAGAAG	SEQ ID NO: 1278
GTSGSSGSGSGGSGSGGGG	SEQ ID NO: 1279
GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	SEQ ID NO: 892

图7

有用的结构域接头

名称	序列	SEQ ID NO:
$(GGGGS)_1$ 或 GGGGS	GGGGS	SEQ ID NO: 1280
$(GGGGS)_2$	GGGGSGGGGS	SEQ ID NO: 1281
$(GGGGS)_3$	GGGGSGGGGSGGGGS	SEQ ID NO: 1259
$(GGGGS)_4$	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	SEQ ID NO: 1269
$(GGGGS)_5$	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	SEQ ID NO: 1282
$(GGGGS)_6$	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	SEQ ID NO: 1283
$(GGGGS)_7$	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	SEQ ID NO: 1284
$(GGGGA)_1$ 或 GGGGA	GGGGA	SEQ ID NO: 1285
$(GGGGA)_2$	GGGGAGGGGA	SEQ ID NO: 1286
$(GGGGA)_3$	GGGGAGGGGAGGGGA	SEQ ID NO: 1287
$(GGGGA)_4$	GGGGAGGGGAGGGGAGGGGA	SEQ ID NO: 1288
$(GGGGA)_5$	GGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGA	SEQ ID NO: 1289
$(GGGGA)_6$	GGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGA	SEQ ID NO: 1290
$(GGGGA)_7$	GGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGA	SEQ ID NO: 1291
30AA 接头	DPALVHQRPAPPGGGGSGGGGSGGGGSGGG	SEQ ID NO: 1292
$(GKPGS)_1$ 或 GKPGS	GKPGS	SEQ ID NO: 1293
$(GKPGS)_5$	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	SEQ ID NO: 1294
$(GKPGS)_6$	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	SEQ ID NO: 1295
$(GGGES)_1$ 或 GGGES	GGGES	SEQ ID NO: 1296
“下半铰链”	KTHTCPPCP	SEQ ID NO: 1297
“全铰链C220S变体”	EPKSSDKTHTCPPCP	SEQ ID NO: 1298

图8A

“柔性下半铰链”	GGGGSGGGGSKTHTCPPCP	SEQ ID NO: 1254
“带电荷的下半铰链1”	GKPGSGKPGSKTHTCPPCP	SEQ ID NO: 1299
“带电荷的下半铰链2”	GKPGSKTHTCPPCP	SEQ ID NO: 1300
“上半铰链”	EPKSC	SEQ ID NO: 1301
“柔性上半铰链”	EPKSCGGGGSGGGGS	SEQ ID NO: 1302
“带电荷的上半铰链1”	EPKSCGKPGSGKPGS	SEQ ID NO: 936
“带电荷的上半铰链2”	EPKSCGKPGS	SEQ ID NO: 1303

图8B

单体1 (-)	单体2 (+)
异二聚体偏斜变体L368D/K370S	异二聚体偏斜变体S364K/E357Q
同配pI变体Q295E/N384D/Q418E/N421D ±N208D	
FcKO E233P/L234V/L235A/G236_/S267K	FcKO E233P/L234V/L235A/G236_/S267K
针对FcRn的±M428L/N434S	针对FcRn的±M428L/N434S

图9

异二聚Fc主链1

>异二聚Fc主链1单体1(-) (SEQ ID NO:1304)
APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDG
QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

>异二聚Fc主链1单体2(+) (SEQ ID NO:1305)
APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

异二聚Fc主链2

>异二聚Fc主链2单体1(-) (SEQ ID NO:1306)
APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDG
QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

>异二聚Fc主链单体2(+) (SEQ ID NO:1307)
APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

异二聚Fc主链3

>异二聚Fc主链3单体1(-) (SEQ ID NO:1308)
APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCEVSGFYPSDIAVEWESDG
QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

>异二聚Fc主链3单体2(+) (SEQ ID NO:1309)
APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

异二聚Fc主链4

>异二聚Fc主链4单体1(-) (SEQ ID NO:1310)
APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTENEVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESDG
QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLEVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

>异二聚Fc主链4单体2(+) (SEQ ID NO:1311)
APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTPPVLDSKGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图10

2+1 mAb-scFv异二聚Fc主链

>2+1 mAb-scFv异二聚Fc主链单体1(-) (SEQ ID NO:1334)
APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDG
QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

>2+1 mAb-scFv异二聚Fc主链单体2(+) (SEQ ID NO:1335)
APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

图11

IgG1 CH1(+) (SEQ ID NO:1336)
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG
TQTYICNVNHKPSNTKVDKKV

IgG1 CH1(-) (SEQ ID NO:1337)
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG
TQTYICNVNHKPSDTKVDKKV

IgG2 CH1(+) (SEQ ID NO:1338)
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFG
TQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV

IgG2 CH1(-) (SEQ ID NO:1339)
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFG
TQTYTCNVDHKPSDTKVDKTV

IgG4 CH1(+) (SEQ ID NO:1340)
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG
TKTYTCNVDHKPSNTKVDKRV

IgG4 CH1(-) (SEQ ID NO:1341)
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG
TKTYTCNVDHKPSDTKVDKRV

图12

IgG1铰链(SEQ ID NO:1342)
EPKSCDKTHTCPPCP

IgG2铰链(SEQ ID NO:1343)
ERKCCVECPPCP

IgG4铰链(SEQ ID NO:1344)
ESKYGPPCPSCP

图13

轻链恒定结构域—κ(SEQ ID NO:1345)
RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA
DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

轻链恒定结构域—λ(SEQ ID NO:1346)
GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPE
QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

图14

CD3高－[抗_CD3]_H1.30_L1.47_scFv		
	序列	SEQ ID NO:
scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSK YNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSY VSWFAYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/QAVVTQEPSLTVSPG GTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLL GGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL	1347
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSK YNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSY VSWFAYWGQGTLVTVSS	1348
vhCDR1	TYAMN	1349
vhCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKG	1350
vhCDR3	HGNFGDSYVSWFAY	1351
可变轻(vl)结构域	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTN KRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTV L	1352
vlCDR1	GSSTGAVTTSNYAN	1353
vlCDR2	GTNKRAP	1354
vlCDR3	ALWYSNHWV	1355
接头	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	1356

CD3高-中等#1－[抗_CD3]_H1.32_L1.47_scFv		
	序列	SEQ ID NO:
scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSK ANNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSY VSWFAYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/QAVVTQEPSLTVSPG GTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLL GGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL	1357
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSK ANNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSY VSWFAYWGQGTLVTVSS	1358
vhCDR1	TYAMN	1359
vhCDR2	RIRSKANNYATYYADSVKG	1360
vhCDR3	HGNFGDSYVSWFAY	1361
可变轻(vl)结构域	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTN KRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTV L	1362
vlCDR1	GSSTGAVTTSNYAN	1363
vlCDR2	GTNKRAP	1364
vlCDR3	ALWYSNHWV	1365
接头	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	1366

图15A

CD3高-中等#2－[抗CD3]_H1.89_L1.47_scFv

	序列	SEQ ID NO:
scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDEYVSWFAYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL	1367
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDEYVSWFAYWGQGTLVTVSS	1368
vhCDR1	TYAMN	1369
vhCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKG	1370
vhCDR3	HGNFGDEYVSWFAY	1371
可变轻(vl)结构域	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL	1372
vlCDR1	GSSTGAVTTSNYAN	1373
vlCDR2	GTNKRAP	1374
vlCDR3	ALWYSNHWV	1375
接头	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	1376

CD3高-中等－[抗CD3]_H1.90_L1.47_scFv

	序列	SEQ ID NO:
scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDPYVSWFAYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL	1377
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDPYVSWFAYWGQGTLVTVSS	1378
vhCDR1	TYAMN	1379
vhCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKG	1380
vhCDR3	HGNFGDPYVSWFAY	1381
可变轻(vl)结构域	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL	1382
vlCDR1	GSSTGAVTTSNYAN	1383
vlCDR2	GTNKRAP	1384
vlCDR3	ALWYSNHWV	1385
接头	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	1386

图15B

抗CD3-中等－[抗CD3] H1.33 L1.47 scFv

	序列	SEQ ID NO:
scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSK YNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSY VSWFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/QAVVTQEPSLTVSPG GTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLL GGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL	1387
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSK YNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSY VSWFDYWGQGTLVTVSS	1388
vhCDR1	TYAMN	1389
vhCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKG	1390
vhCDR3	HGNFGDSYVSWFDY	1391
可变轻(vl)结构域	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTN KRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTV L	1392
vlCDR1	GSSTGAVTTSNYAN	1393
vlCDR2	GTNKRAP	1394
vlCDR3	ALWYSNHWV	1395
接头	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	1396

CD3高-中等－[抗CD3] H1.31 L1.47 scFv

	序列	SEQ ID NO:
scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWVRQAPGKGLEWVGRIRSK YNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSY VSWFAYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/QAVVTQEPSLTVSPG GTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLL GGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL	1397
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWVRQAPGKGLEWVGRIRSK YNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSY VSWFAYWGQGTLVTVSS	1398
vhCDR1	TYAMS	1399
vhCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKG	1400
vhCDR3	HGNFGDSYVSWFAY	1401
可变轻(vl)结构域	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTN KRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTV L	1402
vlCDR1	GSSTGAVTTSNYAN	1403
vlCDR2	GTNKRAP	1404
vlCDR3	ALWYSNHWV	1405
接头	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	1406

图15C

CD3高[VL-VH]－[抗CD3]_L1.47_H1.30_scFv

	序列	SEQ ID NO:
scFv	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	1407
可变轻(vl)结构域	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL	1408
vlCDR1	GSSTGAVTTSNYAN	1409
vlCDR2	GTNKRAP	1410
vlCDR3	ALWYSNHWV	1411
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	1412
vhCDR1	TYAMN	1413
vhCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKG	1414
vhCDR3	HGNFGDSYVSWFAY	1415
接头	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	1416

CD3高-中等#1[VL-VH]－[抗CD3]_L1.47_H1.32_scFv

	序列	SEQ ID NO:
scFv	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	1417
可变轻(vl)结构域	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL	1418
vlCDR1	GSSTGAVTTSNYAN	1419
vlCDR2	GTNKRAP	1420
vlCDR3	ALWYSNHWV	1421
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	1422
vhCDR1	TYAMN	1423
vhCDR2	RIRSKANNYATYYADSVKG	1424
vhCDR3	HGNFGDSYVSWFAY	1425
接头	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	1426

图15D

CD3高-中等#2[VL-VH]－[抗CD3]_L1.47_H1.89_scFv

	序列	SEQ ID NO:
scFv	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDEYVSWFAYWGQGTLVTVSS	1427
可变轻(vl)结构域	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL	1428
vlCDR1	GSSTGAVTTSNYAN	1429
vlCDR2	GTNKRAP	1430
vlCDR3	ALWYSNHWV	1431
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDEYVSWFAYWGQGTLVTVSS	1432
vhCDR1	TYAMN	1433
vhCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKG	1434
vhCDR3	HGNFGDEYVSWFAY	1435
接头	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	1436

CD3高-中等[VL-VH]－[抗CD3]_L1.47_H1.90_scFv

	序列	SEQ ID NO:
scFv	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDPYVSWFAYWGQGTLVTVSS	1437
可变轻(vl)结构域	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL	1438
vlCDR1	GSSTGAVTTSNYAN	1439
vlCDR2	GTNKRAP	1440
vlCDR3	ALWYSNIWV	1441
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDPYVSWFAYWGQGTLVTVSS	1442
vhCDR1	TYAMN	1443
vhCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKG	1444
vhCDR3	HGNFGDPYVSWFAY	1445
接头	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	1446

图15E

抗CD3-中等[VL-VH]–[抗CD3]_L1.47_H1.33_scFv

	序列	SEQ ID NO:
scFv	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGTLVTVSS	1447
可变轻(vl)结构域	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL	1448
vlCDR1	GSSTGAVTTSNYAN	1449
vlCDR2	GTNKRAP	1450
vlCDR3	ALWYSNHWV	1451
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGTLVTVSS	1452
vhCDR1	TYAMN	1453
vhCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKG	1454
vhCDR3	HGNFGDSYVSWFDY	1455
接头	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	1456

CD3高-中等[VL-VH]–[抗CD3]_L1.47_H1.31_scFv

	序列	SEQ ID NO:
scFv	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	1457
可变轻(vl)结构域	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL	1458
vlCDR1	GSSTGAVTTSNYAN	1459
vlCDR2	GTNKRAP	1460
vlCDR3	ALWYSNHWV	1461
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	1462
vhCDR1	TYAMS	1463
vhCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKG	1464
vhCDR3	HGNFGDSYVSWFAY	1465
接头	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	1466

图15F

>XENP32220 PSMA-H_H1_L1.24_Fab-PSMA-H_H1_L1.24_Fab_(G4S)_[CD3]_L1.47_H1.32_scFv(GKPGS)4_(G4S)2-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(222)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链1 - PSMA-H_H1_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1251)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYTFTEYTIHWVRQAPGQSLEWMGNINPNNGGTTYNQKFQGRVTITVDKSTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT
VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
PVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGQP
ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - PSMA-H_H1_(G4S)_[CD3]_L1.47_H1.32_scFv(GKPGS)4_Fc(222)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1252)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYTFTEYTIHWVRQAPGQSLEWMGNINPNNGGTTYNQKFQGRVTITVDKSTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT
VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC/GGGGSGGGGS/
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTI
SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA
ASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVR
HGNFGDSYVSWFAYWGQGTLVTVSS/GGGGSGGGGS/KTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链3 - PSMA-H_L1.24轻链 (SEQ ID NO:1253)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATLSCRASQDVGTAVDWYQQKPDQSPKLLIYYASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISS
LQAEDVAVYFCQQYNSYPLTFGAGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图16

2G4[PDL1]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCVRRSGDWYFDVWGAGTTVTVSS	1008
vhCDR1	SYDMS	1009
vhCDR2	TISSGGSFTHYPDSVKG	1010
vhCDR3	RSGDWYFDV	1011
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSSSISSSNLHWYQQKPGQSPRP LIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSS YPLYTFGGGTKVEIK	1012
vlCDR1	RVSSSISSSNLH	1013
vlCDR2	GTSNLAS	1014
vlCDR3	QQWSSYPLYT	1015

图17

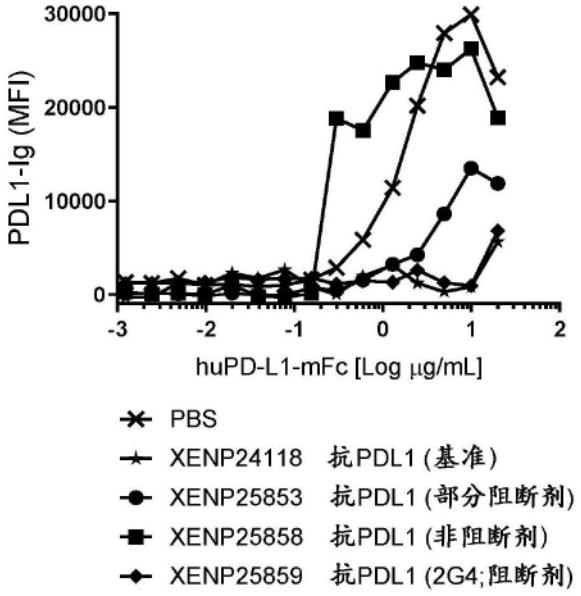


图18

>2G4[PD-L1]_H1.12 SEQ ID NO: 1478
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSVYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRSLDWYFDVWGAGTTVTVSS

图19

>2G4[PD-L1]_L1.14 SEQ ID NO: 1542
EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSSSIQSSNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK

图20

2G4[CD28]_H1.12_L1.14		
	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSVYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRSLDWYFDVWGAGTTVTVSS	1624
vhCDR1	VYDMS	1625
vhCDR2	TISSGGSFTHYPDSVKG	1626
vhCDR3	RSLDWYFDV	1627
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSSSIQSSNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK	1628
vlCDR1	RVSSSIQSSNLH	1629
vlCDR2	GTSNLAS	1630
vlCDR3	QQWSSYPLYT	1631

图21

2G4 VH	**SEQ**	**SEQ ID NO:**	
HFR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFX$_1$	1752	X$_1$ 选自P、S、R、H
HCDR1	X$_1$X$_2$DMS		X$_1$ 选自S、Q、F、W、V; X$_2$ 选自Y、R、K、S、A
HFR2	WVRQAPGKX$_1$LEWVS	1753	X$_1$ 选自R、G
HCDR2	TISSGGX$_1$FTHYPDSVKG	1754	X$_1$ 选自S、R
HFR3	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCX$_1$R	1755	X$_1$ 选自V、A
HCDR3	RSX$_1$DWYFDV	1756	X$_1$ 选自G、L、S
HFR4	WGAGTTVTVSS	1757	
2G4 VL			
LFR1	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC	1758	
LCDR1	RX$_1$SX$_2$X$_3$X$_4$X$_5$X$_6$X$_7$NLH	1759	X$_1$ 选自V、A; X$_2$ 选自S、W、L、Y; X$_3$ 选自S、F、R; X$_4$ 选自I、G、M; X$_5$ 选自S、V、N、I、T、Q; X$_6$ 选自S、F、R、P、L、D、Q; X$_7$ 选自S、T
LFR2	WYQQKPGQSPRX$_1$LIY	1760	X$_1$ 选自P、L
LCDR2	GTX$_1$X$_2$X$_3$X$_4$X$_5$		X$_1$ 选自S、N、I; X$_2$ 选自N、L、Q、V、S、T; X$_3$ 选自L、R; X$_4$ 选自A、R、L; X$_5$ 选自S、G、T
LFR3	GVPVRFSGSGSGTDYTLTISRLEPEDFAVYYC	1761	
LCDR3	QQWX$_1$SYPLX$_2$T	1762	X$_1$ 选自S、W、F、H; X$_2$ 选自Y、W
LFR4	FGGGTKVEIK	1763	

图22

实验1		人PDL1					食蟹猴PDL1				
XENP	2G4变体	K_D (nM)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	相对于H1L1的KD倍数改善	$\tau_{1/2}$ (小时)	K_D (nM)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	相对于H1L1的KD倍数改善	$\tau_{1/2}$ (小时)
37559	H1L1	2.6	9.20E+04	2.40E-04	1	0.8	2.2	1.20E+05	2.60E-04	1	0.74
38514	H1.12_L1.24	0.17	7.50E+04	1.30E-05	15.29	14.81	0.38	9.50E+04	3.60E-05	5.79	5.35
38490	H1.9_L1	1.7	4.50E+04	7.60E-05	1.53	2.53	1.3	5.50E+04	7.30E-05	1.69	2.64
38584	H1.4_L1.23	0.6	6.60E+04	4.00E-05	4.33	4.81	0.65	8.90E+04	5.80E-05	3.38	3.32
38585	H1.4_L1.24	0.95	5.40E+04	5.20E-05	2.74	3.7	1.1	7.20E+04	7.50E-05	2	2.57

实验2		人PDL1					食蟹猴PDL1				
XENP	2G4变体	K_D (nM)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)			K_D (nM)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)		
40403	H1.12_L1.66	0.8600	9.10E+04	7.80E-05			1.7000	9.20E+04	1.60E-04		
40405	H1.12_L1.68	0.8000	9.50E+04	7.60E-05			1.5000	9.90E+04	1.50E-04		
40409	H1.12_L1.14	0.4200	1.10E+05	4.50E-05			0.8000	1.10E+05	9.00E-05		

图23

>XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO: 20)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK

图24

13G1[PDL1]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEW VSYISSSSSYTNYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVY YCASHFVILPGAIRPEYFQHWGQGTLVTVSS	21
vhCDR1	DYYMS	22
vhCDR2	YISSSSSYTNYADSVKG	23
vhCDR3	HFVILPGAIRPEYFQH	24
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLL IYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNW PPTFGQGTKVEIK	25
vlCDR1	RASQSVSSYLA	26
vlCDR2	DASNRAT	27
vlCDR3	QQRSNWPPT	28

图25

13G7[PDL1]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLPPFDYWGQGTLVTVSS	29
vhCDR1	SYFWS	30
vhCDR2	YIYYSGSTNYNPSLKS	31
vhCDR3	GPLIQLWLPPFDY	32
可变轻(vl)结构域	DIQLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRGNWPPTFGQGTKVEIK	33
vlCDR1	RASQSVSSYLA	34
vlCDR2	DASNRAT	35
vlCDR3	QQRGNWPPT	36

13G7[PDL1]_H2L2

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLPPFDYWGQGTLVTVSS	37
vhCDR1	SYFWS	38
vhCDR2	YIYYSGSTNYNPSLKS	39
vhCDR3	GPLIQLWLPPFDY	40
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRGNWPPTFGQGTKVEIK	1764
vlCDR1	RASQSVSSYLA	1765
vlCDR2	DASNRAT	1766
vlCDR3	QQRGNWPPT	1767

图26A

>XPL1-13G7[PD-L1]_H1.1 (SEQ ID NO:1768)
QVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWRPPFDYWGQGTLVTVSS

>XPL1-13G7[PD-L1]_H1.2 (SEQ ID NO:1769)
QVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISGYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLPPFDYWGQGTLVTVSS

>XPL1-13G7[PD-L1]_H1.3 (SEQ ID NO:1770)
QVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISGYFWSWIRQPPGKGLEWIGFIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLQPFDYWGQGTLVTVSS

>XPL1-13G7[PD-L1]_H1.4 (SEQ ID NO:1771)
QVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGMSISNYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYRGGTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLPSFDYWGQGTLVTVSS

>XPL1-13G7[PD-L1]_H1.5 (SEQ ID NO:1772)
QVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVGSYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYGSGATNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLKPFDYWGQGTLVTVSS

>XPL1-13G7[PD-L1]_H1.6 (SEQ ID NO:1773)
QVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSILSYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYLGSTRYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLPSFDYWGQGTLVTVSS

>XPL1-13G7[PD-L1]_H1.7 (SEQ ID NO:1774)
QVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYLGQTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLPGFDYWGQGTLVTVSS

>XPL1-13G7[PD-L1]_H1.8 (SEQ ID NO:1775)
QVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISGNFWSWIRQPPGKGLEWIGFIYYSGATNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLPPFDYWGQGTLVTVSS

>XPL1-13G7[PD-L1]_H1.9 (SEQ ID NO:1776)
QVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGTISGYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTAYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLPSFDYWGQGTLVTVSS

>XPL1-13G7[PD-L1]_H1.10 (SEQ ID NO:1777)
QVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGNISGYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYGGSTSYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLNPFDYWGQGTLVTVSS

>XPL1-13G7[PD-L1]_H1.11 (SEQ ID NO:1778)
QVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGQISGYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYGGSTSYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLNPFDYWGQGTLVTVSS

>XPL1-13G7[PD-L1]_H1.12 (SEQ ID NO:1779)
QVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGSSISSYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYGSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLMPFDYWGQGTLVTVSS

>XPL1-13G7[PD-L1]_H1.13 (SEQ ID NO:1780)
QVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISGRFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYRGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLPPFDYWGQGTLVTVSS

图26B

>XPL1-13G7[PD-L1]_H1.14 (SEQ ID NO:1781)
QVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSQFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYSTGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLQPFDYWGQGTLVTVSS

>XPL1-13G7[PD-L1]_H1.15 (SEQ ID NO:1782)
QVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSMSGYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLNPFDYWGQGTLVTVSS

>XPL1-13G7[PD-L1]_H1.16 (SEQ ID NO:1783)
QVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLEPFDYWGQGTLVTVSS

>XPL1-13G7[PD-L1]_H1.17 (SEQ ID NO:1784)
QVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLAPFDYWGQGTLVTVSS

>XPL1-13G7[PD-L1]_H1.18 (SEQ ID NO:1785)
QVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISGYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGPTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLAPFDYWGQGTLVTVSS

>XPL1-13G7[PD-L1]_H1.19 (SEQ ID NO:1786)
QVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISGYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLAPFDYWGQGTLVTVSS

>XPL1-13G7[PD-L1]_H2.18 (SEQ ID NO:1787)
QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISGYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGPTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLAPFDYWGQGTLVTVSS

图26C

13G7 VH	SEQ	SEQ ID NO:	
HFR1	QVQLX$_1$ESGPGLVKPSETLSLTCTVSGX$_2$X$_3$X$_4$X$_5$	1788	X$_1$选自V、Q; X$_2$选自G、M、S; X$_3$选自dS、T、N、Q; X$_4$选自S、G、L、M; 且 X$_5$选自S、G、L
HCDR1	X$_1$X$_2$FWS		X$_1$选自S、G、N; X$_2$选自Y、N、R、Q
HFR2	WIRQPPGKGLEWIG	1789	
HCDR2	X$_1$IYX$_2$X$_3$GX$_4$TX$_5$YNPSLKS	1790	X$_1$选自Y、F; X$_2$选自Y、F、S; X$_3$选自S、R、L、G、T; X$_4$选自S、G、A、Q, P; 且 X$_5$选自N、R、A、S
HFR3	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	1791	
HCDR3	GPLIQLWX$_1$X$_2$X$_3$FDY	1792	X$_1$选自R、L; X$_2$选自P、Q、K、N、M、E、A; X$_3$选自P、S、G
HFR4	WGQGTLVTVSS	1793	

图26D

克隆	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	结果
XPL1-BC-16H12-hIgG1	1.08E+05	1.49E-02	1.38E-07	阳性
XPL1-BC-16E2-hIgG1	-	-	-	阴性
XPL1-BC-16D2-hIgG1	-	-	-	阴性
XPL1-BC-16C9-hIgG1	1.78E+05	2.35E-03	1.32E-08	阳性
XPL1-BC-15G10-hIgG1	-	-	-	阴性
XPL1-BC-13G7-hIgG1	1.79E+06	9.10E-04	5.08E-10	阳性
XPL1-BC-13G1-hIgG1	1.85E+05	2.72E-04	1.47E-09	阳性
XPL1-BC-13E3-hIgG1	-	-	-	阴性
XPL1-BC-13C2-hIgG1	1.93E+04	2.49E-03	1.29E-07	阳性
XPL1-BC-12E8-hIgG1	-	-	-	阴性
XPL1-BC-11A4-hIgG1	8.59E+05	4.76E-04	5.54E-10	阳性
XPL1-BC-9G2-hIgG1	3.78E+05	1.68E-04	4.46E-10	阳性
XPL1-BC-9F7-hIgG1	5.03E+05	2.48E-02	4.94E-08	阳性
XPL1-BC-9A6-hIgG1	4.18E+05	4.19E-03	1.00E-08	阳性
XPL1-BC-9A3-hIgG1	-	-	-	阴性
XPL1-BC-8G10-hIgG1	4.29E+05	9.10E-03	2.12E-08	阳性
XPL1-BC-8G7-hIgG1	-	-	-	阴性
XPL1-BC-8E5-hIgG1	-	-	-	阴性
XPL1-BC-8A2-hIgG1	-	-	-	阴性
XPL1-BC-7F8-hIgG1-0602	1.44E+05	2.25E-03	1.57E-08	阳性
XPL1-BC-7F8-hIgG1-0526	2.27E+05	1.33E-03	5.85E-09	阳性
XPL1-BC-7B7-hIgG1	2.94E+05	6.38E-04	2.17E-09	阳性
XPL1-BC-7B5-hIgG1	1.31E+05	2.93E-03	2.23E-08	阳性
XPL1-BC-6H12-hIgG1	1.06E+05	7.37E-04	6.95E-09	阳性
XPL1-BC-6D8-hIgG1	1.70E+06	2.56E-03	1.50E-09	阳性
XPL1-BC-6C10-hIgG1	4.06E+05	9.48E-03	2.33E-08	阳性
XPL1-BC-6B12-hIgG1	-	-	-	阴性
XPL1-BC-6B7-hIgG1	2.39E+05	1.07E-02	4.46E-08	阳性
XPL1-BC-6B5-hIgG1	2.16E+05	7.32E-03	3.38E-08	阳性
XPL1-BC-6B4-hIgG1	-	-	-	阴性
XPL1-BC-6B1-hIgG1	8.82E+05	3.70E-03	4.20E-09	阳性
XPL1-BC-5H2-hIgG1	-	-	-	阴性
XPL1-BC-5G7-hIgG1	1.11E+05	1.49E-03	1.34E-08	阳性
XPL1-BC-5G5-hIgG1	1.71E+05	1.51E-02	8.83E-08	阳性
XPL1-BC-5F2-hIgG1	4.55E+05	3.88E-04	8.52E-10	阳性
XPL1-BC-5C8-hIgG1	-	-	-	阴性
XPL1-BC-4G10-hIgG1	6.88E+04	1.33E-03	1.94E-08	阳性
XPL1-BC-4A10-hIgG1	-	-	-	阴性
XPL1-BC-2H2-hIgG1	1.60E+05	3.70E-03	2.31E-08	阳性

图27

2.14H9 OPT

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGWFGELAFDYWGQGTLVTVSS	1794
vhCDR1	RYWMS	1795
vhCDR2	NIKQDGSEKYYVDSVKG	1796
vhCDR3	EGGWFGELAFDY	1797
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQRVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSLPWTFGQGTKVEIK	1798
vlCDR1	RASQRVSSSYLA	1799
vlCDR2	DASSRAT	1800
vlCDR3	QQYGSLPWT	1801

阿特珠单抗

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIIWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVTVSA	1802
vhCDR1	DSWIH	1803
vhCDR2	WISPYGGSTYYADSVKG	1804
vhCDR3	RHWPGGFDY	1805
可变轻(vl)结构域	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIK	1806
vlCDR1	RASQDVSTAVA	1807
vlCDR2	SASFLYS	1808
vlCDR3	QQYLYHPAT	1809

阿维鲁单抗

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGITFYADTVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIKLGTVTTVDYWGQGTLVTVSS	1810
vhCDR1	SYIMM	1811
vhCDR2	SIYPSGGITFYADTVKG	1812
vhCDR3	IKLGTVTTVDY	1813
可变轻(vl)结构域	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTRVFGTGTKVTVL	1814
vlCDR1	TGTSSDVGGYNYVS	1815
vlCDR2	DVSNRPS	1816
vlCDR3	SSYTSSSTRV	1817

图28

5C11[PDL2]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFRNYAITWVRQAPGQGLEWMGRIIPILAIANYAQKFQGRVTITADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCATDLGIAAAGRAEYFQHWGQGTLVTVSS	41
vhCDR1	NYAIT	42
vhCDR2	RIIPILAIANYAQKFQG	43
vhCDR3	DLGIAAAGRAEYFQH	44
可变轻(vl)结构域	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK	45
vlCDR1	RASQSVSSYLA	46
vlCDR2	DASNRAT	47
vlCDR3	QQRSNWPPT	48

5C11[PDL2]_H2

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFRNYAITWVRQAPGQGLEWMGRIIPILAIANYAQKFQGRVTITADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCATDLGIAAAGRAEYFQHWGQGTLVTVSS	49
vhCDR1	NYAIT	50
vhCDR2	RIIPILAIANYAQKFQG	51
vhCDR3	DLGIAAAGRAEYFQH	52

图29

8G2[PDL2]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGVNFRNYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIPVVGKAHYEQRFQGRVTMTADKSPTPAYMELSSLSSEDPAVYYCARDGPGIGVAGRGYYFDYWGQGTLVTVSS	53
vhCDR1	NYAIS	54
vhCDR2	RIIPVVGKAHYEQRFQG	55
vhCDR3	DGPGIGVAGRGYYFDY	56
可变轻(vl)结构域	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK	57
vlCDR1	RASQSVSSYLA	58
vlCDR2	DASNRAT	59
vlCDR3	QQRSNWPPT	60

8G2[PDL2]_H2

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGVNFRNYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIPVVGKAHYEQKFQGRVTITADKSTTTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDGPGIGVAGRGYYFDYWGQGTLVTVSS	61
vhCDR1	NYAIS	62
vhCDR2	RIIPVVGKAHYEQKFQG	63
vhCDR3	DGPGIGVAGRGYYFDY	64

图30

8G5[PDL2]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGSLRNYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIYILGIANYAQNFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSGSQQLIEGADAFDIWGQGTMVTVSS	65
vhCDR1	NYAIS	66
vhCDR2	RIIYILGIANYAQNFQG	67
vhCDR3	SGSQQLIEGADAFDI	68
可变轻(vl)结构域	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK	69
vlCDR1	RASQSVSSYLA	70
vlCDR2	DASNRAT	71
vlCDR3	QQRSNWPPT	72

8G5[PDL2]_H3

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGSLRNYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIYILGIANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSGSQQLIEGADAFDIWGQGTMVTVSS	73
vhCDR1	NYAIS	74
vhCDR2	RIIYILGIANYAQKFQG	75
vhCDR3	SGSQQLIEGADAFDI	76

图31

16G11[PDL2]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	QVQLVESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGSTNYNPSLKSRVTISVDKSKNQFSLNLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS	77
vhCDR1	SSNWWS	78
vhCDR2	EIFHIGSTNYNPSLKS	79
vhCDR3	VSFGDSYYFDY	80
可变轻(vl)结构域	DIQLTQSPATLSLSPGERATLSCRARQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK	81
vlCDR1	RARQSVSSYLA	82
vlCDR2	DASNRAT	83
vlCDR3	QQRSNWPPT	84

16G11[PDL2]_H2

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	QVQLQESGSGLVKPPGTLSLTCAVSGGSISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGSTNYNPSLKSRVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS	85
vhCDR1	SSNWWS	86
vhCDR2	EIFHIGSTNYNPSLKS	87
vhCDR3	VSFGDSYYFDY	88

16G11[PDL2]_H3

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	QVQLQESGSGLVKPPGTLSLTCAVSGGSISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGSTNYNPSLKSRVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS	2266
vhCDR1	SSNWWS	2267
vhCDR2	EIFHIGSTNYNPSLKS	2268
vhCDR3	VSFGDSYYFDY	2269

图32A

>XPL2-16G11[PD-L2]_H1.1 (SEQ ID NO:2270)
QVQLVESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSLSSANWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGVMNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLNLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS

>XPL2-16G11[PD-L2]_H1.2 (SEQ ID NO:2271)
QVQLVESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSISSSFWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGLVNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLNLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS

>XPL2-16G11[PD-L2]_H1.3 (SEQ ID NO:2272)
QVQLVESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGDSISSLNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFAIGSTNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLNLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS

>XPL2-16G11[PD-L2]_H1.4 (SEQ ID NO:2273)
QVQLVESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGASISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGLTNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLNLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS

>XPL2-16G11[PD-L2]_H1.5 (SEQ ID NO:2274)
QVQLVESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGASISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGITNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLNLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS

>XPL2-16G11[PD-L2]_H1.6 (SEQ ID NO:2275)
QVQLVESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGASISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGVTNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLNLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS

>XPL2-16G11[PD-L2]_H1.7 (SEQ ID NO:2276)
QVQLVESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSISSSNWWGWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGLTNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLNLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS

>XPL2-16G11[PD-L2]_H1.8 (SEQ ID NO:2277)
QVQLVESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGISISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGSTNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLNLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS

>XPL2-16G11[PD-L2]_H1.9 (SEQ ID NO:2278)
QVQLVESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGTSILSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGSTNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLNLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS

>XPL2-16G11[PD-L2]_H1.10 (SEQ ID NO:2279)
QVQLVESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFPIGSTNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLNLSSVTAADTAVYYCARVSFGVSYYFDYWGQGTLVTVSS

>XPL2-16G11[PD-L2]_H1.11 (SEQ ID NO:2280)
QVQLVESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGAISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFGIGSTNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLNLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYLDYWGQGTLVTVSS

>XPL2-16G11[PD-L2]_H1.12 (SEQ ID NO:2281)
QVQLVESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSISSNNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGSTNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLNLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYTDYWGQGTLVTVSS

>XPL2-16G11[PD-L2]_H1.13 (SEQ ID NO:2282)
QVQLVESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSISSANWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGLTNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLNLSSVTAADTAVYYCARVSFGLSYYFDYWGQGTLVTVSS

图32B

>XPL2-16G11[PD-L2]_H1.14 (SEQ ID NO:2283)
QVQLVESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSISSPNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGLKNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLNLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS

>XPL2-16G11[PD-L2]_H1.15 (SEQ ID NO:2284)
QVQLVESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSISSSYWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGLWNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLNLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYVDYWGQGTLVTVSS

>XPL2-16G11[PD-L2]_H1.16 (SEQ ID NO:2285)
QVQLVESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGNIGSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGLFNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLNLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDSWGQGTLVTVSS

>XPL2-16G11[PD-L2]_H1.17 (SEQ ID NO:2286)
QVQLVESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFPIGFTNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLNLSSVTAADTAVYYCARVSFGRSYYFDYWGQGTLVTVSS

>XPL2-16G11[PD-L2]_H1.18 (SEQ ID NO:2287)
QVQLVESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGVSNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLNLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS

>XPL2-16G11[PD-L2]_H1.19 (SEQ ID NO:2288)
QVQLVESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSISASYWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGLVNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLNLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDSWGQGTLVTVSS

>XPL2-16G11[PD-L2]_H3.7 (SEQ ID NO:2289)
QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSISSSNWWGWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGLTNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS

图32C

16G11 VH	**SEQ**	**SEQ ID NO:**	
HFR1	QVQLX$_1$ESGX$_2$GLVKPX$_3$GTLSLTCAVSGX$_4$X$_5$X$_6$X$_7$	2290	X1选自V、Q; X2选自P、S; X3选自S、P; X4选自G、D、A、I、T;并且X5选自S、A、N;并且X6选自L、I;并且X7选自S、L、G
HCDR1	X$_1$X$_2$X$_3$WWX$_4$		X1选自S、A; X2选自A、S、L、N、P; X3选自N、F、Y; X4选自S、G
HFR2	WVRQPPGKGLEWIG	2291	
HCDR2	EIFX$_1$IGX$_2$X$_3$NYNPSLKS	2292	X1选自H、A、P、G; X2选自V、L、S、I、F; X3选自M、V、T、K、W、F、S
HFR3	RVTISVDKSKNQFSLXLSSVTAADTAVYYCAR	2293	X选自N、K
HCDR3	VSFGX$_1$SYYX$_2$DX$_3$	2294	X1选自D、V、L、R; X2选自F、L、T、V; X3选自Y、S
HFR4	WGQGTLVTVSS	2295	

图32D

PL1-阿特珠单抗	1.78E+05	5.41E-04	3.03E-09	阳性
克隆	**ka (1/Ms)**	**kd (1/s)**	**KD (M)**	**结果**
XPL2-BC-16G11-hIgG1	2.32E+06	1.14E-03	4.91E-10	阳性
XPL2-BC-15D12-hIgG1	-	-	-	阴性
XPL2-BC-13G1-hIgG1	6.23E+05	3.18E-03	5.10E-09	阳性
XPL2-BC-12B12-hIgG1	1.25E+06	9.21E-02	7.37E-08	阳性
XPL2-BC-12B11-hIgG1	-	-	-	阴性
XPL2-BC-12B9-hIgG1	6.73E+05	3.96E-03	5.88E-09	阳性
XPL2-BC-12B7-hIgG1	8.68E+05	7.32E-03	8.44E-09	阳性
XPL2-BC-12B2-hIgG1	1.60E+05	2.43E-03	1.51E-08	阳性
XPL2-BC-12A11-hIgG1	2.11E+05	4.60E-03	2.18E-08	阳性
XPL2-BC-12A6-hIgG1	2.57E+06	7.80E-01	3.03E-07	阳性
XPL2-BC-12A5-hIgG1	-	-	-	阴性
XPL2-BC-11H12-hIgG1	-	-	-	阴性
XPL2-BC-10H5-hIgG1	2.98E+05	1.93E-02	6.49E-08	阳性
XPL2-BC-9H4-hIgG1	1.83E+06	1.34E-01	7.32E-08	阳性
XPL2-BC-8H11-hIgG1	8.08E+05	4.24E-04	5.25E-10	阳性
XPL2-BC-8H8-hIgG1	2.73E+05	1.02E-03	3.75E-09	阳性
XPL2-BC-8G5-hIgG1	3.04E+06	3.32E-03	1.09E-09	阳性
XPL2-BC-8G2-hIgG1	9.32E+05	3.63E-04	3.90E-10	阳性
XPL2-BC-8F4-hIgG1	4.94E+05	3.52E-03	7.13E-09	阳性
XPL2-BC-7E9-hIgG1	1.82E+06	4.56E-04	2.50E-10	阳性
XPL2-BC-7D3-hIgG1	6.53E+05	9.76E-04	1.49E-09	阳性
XPL2-BC-7D1-hIgG1	1.52E+05	8.61E-04	5.66E-09	阳性
XPL2-BC-7B10-hIgG1	6.81E+05	1.20E-03	1.77E-09	阳性
XPL2-BC-6H10-hIgG1	2.03E+07	1.22E-01	6.02E-09	阳性
XPL2-BC-5F4-hIgG1	-	-	-	阴性
XPL2-BC-5F2-hIgG1	2.04E+05	2.36E-03	1.16E-08	阳性
XPL2-BC-5F1-hIgG1	7.57E+05	9.49E-03	1.25E-08	阳性
XPL2-BC-5C11-hIgG1	1.35E+06	2.39E-03	1.77E-09	阳性
XPL2-BC-5B6-hIgG1	6.18E+05	4.72E-04	7.65E-10	阳性
XPL2-BC-3A9-hIgG1	1.35E+05	2.59E-02	1.92E-07	阳性
XPL2-BC-1H7-hIgG1	-	-	-	阴性
XPL2-BC-1G10-hIgG1	1.58E+05	9.25E-04	5.87E-09	阳性
XPL2-BC-1E12-hIgG1	4.46E+04	3.60E-03	8.07E-08	阳性
PDL2-抗体-IgG1	1.51E+06	1.70E-04	1.13E-10	阳性

图33

1A1-C2

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSIGSSYWWTWIRQSPGKGLEWIGEIFHSGPTNYTPSLKSRVTISVDKSKNQFSLQLRSVTAADTAVYYCARTTGTTGFYYGMDVWGQGTTVTVSS	2296
vhCDR1	SSYWWT	2297
vhCDR2	EIFHSGPTNYTPSLKS	2298
vhCDR3	TTGTTGFYYGMDV	2299
可变轻(vl)结构域	EVVLTQSPATLYVTPGERVTLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQFNNWPRTFGLGTKVEIT	2300
vlCDR1	RASQSVSSNLA	2301
vlCDR2	GASTRAT	2302
vlCDR3	QQFNNWPRT	2303

2C4-E4

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYVMHWVRQAPGQRLEWMGWINADNGITKYSQKFQGRVTITRDTSASTAYMELTNLRSEDTAVYYCARATRGFGEFYFDYWGQGNLVTVSS	2304
vhCDR1	GYVMH	2305
vhCDR2	WINADNGITKYSQKFQG	2306
vhCDR3	ATRGFGEFYFDY	2307
可变轻(vl)结构域	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQTISSWLAWYQQKPGKAPNLLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQYYSYWTFGQGTKVEIK	2308
vlCDR1	RASQTISSWLA	2309
vlCDR2	KASSLES	2310
vlCDR3	QQYYSYWT	2311

8B5-B1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSSYAMFWVRQAPGEGLAWVSAITGSGDHTYYADSVKDHFTISRDNSKNTLYLQMNSLKAEDTAVYYCAKDASGNSYGFPYWYFDLWGRGTLVTVSS	2312
vhCDR1	SYAMF	2313
vhCDR2	AITGSGDHTYYADSVKD	2314
vhCDR3	DASGNSYGFPYWYFDL	2315
可变轻(vl)结构域	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVAGYNFVSWYQHHPGKTPKLMIYDVTNRPSGVSTRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSFTSATTLVFGGGTKLTVLG	2316
vlCDR1	TGTSSDVAGYNFVS	2317
vlCDR2	DVTNRPS	2318
vlCDR3	SSFTSATTLV	2319

图34

1A7[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS	2448
vhCDR1	SYAMS	2449
vhCDR2	TISGSGDSTYYADSVKG	2450
vhCDR3	SGPGLRQVGFDY	2451
可变轻(vl)结构域	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPFTFGQGTKLEIK	2452
vlCDR1	RASQSISSYLN	2453
vlCDR2	AASSLQS	2454
vlCDR3	QQSYSTPFT	2455

图35

>**1A7[CD28]_H1.1** SEQ ID NO: 2456
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS

>**1A7[CD28]_H1.14** SEQ ID NO: 2469
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS

图36

>**1A7[CD28]_L1.71** SEQ ID NO: 2595
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDFATYYCQQVYSTPFTFGQGTKLEIK

图37

1A7[CD28]_H1.1_L1		
	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS	2631
vhCDR1	SYYMS	2632
vhCDR2	TISGSGDSTYYADSVKG	2633
vhCDR3	SGPGLRQVGFDY	2634
可变轻(vl)结构域	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPFTFGQGTKLEIK	2635
vlCDR1	RASQSISSYLN	2636
vlCDR2	AASSLQS	2637
vlCDR3	QQSYSTPFT	2638

1A7[CD28]_H1_L1.71		
	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS	2639
vhCDR1	SYAMS	2640
vhCDR2	TISGSGDSTYYADSVKG	2641
vhCDR3	SGPGLRQVGFDY	2642
可变轻(vl)结构域	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQVYSTPFTFGQGTKLEIK	2643
vlCDR1	RASQSISSYLN	2644
vlCDR2	AASSLQS	2645
vlCDR3	QQVYSTPFT	2646

图38A

1A7[CD28]_H1.1_L1.71		
	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISGS GDSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGF DYWGQGTLVTVSS	2647
vhCDR1	SYYMS	2648
vhCDR2	TISGSGDSTYYADSVKG	2649
vhCDR3	SGPGLRQVGFDY	2650
可变轻(vl)结构域	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSL QSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQVYSTPFTFGQGTKLEIK	2651
vlCDR1	RASQSISSYLN	2652
vlCDR2	AASSLQS	2653
vlCDR3	QQVYSTPFT	2654

1A7[CD28]_H1.14_L1		
	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISES GDSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGF DYWGQGTLVTVSS	2655
vhCDR1	SYYMS	2656
vhCDR2	TISESGDSTYYADSVKG	2657
vhCDR3	SGPGLRQVGFDY	2658
可变轻(vl)结构域	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSL QSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPFTFGQGTKLEIK	2659
vlCDR1	RASQSISSYLN	2660
vlCDR2	AASSLQS	2661
vlCDR3	QQSYSTPFT	2662

图38B

1A7[CD28]_H1.14_L1.71		
	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTIS ESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLR QVGFDYWGQGTLVTVSS	2663
vhCDR1	SYYMS	2664
vhCDR2	TISESGDSTYYADSVKG	2665
vhCDR3	SGPGLRQVGFDY	2666
可变轻(vl)结构域	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAAS SLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQVYSTPFTFGQGTKL EIK	2667
vlCDR1	RASQSISSYLN	2668
vlCDR2	AASSLQS	2669
vlCDR3	QQVYSTPFT	2670

图38C

1A7 VH	SEQ	SEQ ID NO:	
HFR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFX$_1$X$_2$X$_3$	2671	X$_1$选自T、S,N; X$_2$选自F、L;并且X$_3$选自S, E, R, K、G、T、A、N
HCDR1	X$_1$X$_2$X$_3$X$_4$X$_5$		X$_1$选自S、G、E、T、D、A、R、K; X$_2$选自Y、N; X$_3$选自A、Y、S; X$_4$选自M、I; 并且X$_5$选自S、T、N
HFR2	WVRQAPGKGLEWVX$_1$	2672	X$_1$选自S、A
HCDR2	X$_1$IX$_2$X$_3$X$_4$X$_5$X$_6$X$_7$TYYADSVKG	2673	X$_1$选自T、S; X$_2$选自S、D、E、Y、T; X$_3$选自G、D、E、A、Y、S、N、T; X$_4$选自S、D、N、G; X$_5$选自D、T、Y、S、A; X$_6$选自D、T、Y、S、A; 并且X$_7$选自S、Y、A、T、D、N
HFR3	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK	2674	
HCDR3	SGPGLRQVGFDY	2675	
HFR4	WGQGTLVTVSS	2676	

图39A

1A7 VL		SEQ ID NO:	
LFR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	2677	
LCDR1	RASQSISX$_1$X$_2$LX$_3$	2678	X$_1$选自S、A、D、G、H、K、N、Q、T、V、Y; X$_2$选自Y、A、D、F、H、K、L、N、Q、S、W; 并且X$_3$选自N、A、D、G、H、Q、S、T、Y
LFR2	WYQQKPGKAPKLLIY	2679	
LCDR2	X$_1$ASX$_2$LX$_3$X$_4$		X$_1$选自A、D、G、K、L、Q、S、T、W、Y; X$_2$选自S、A、D、K、N、Q、T、Y; X$_3$选自Q、A、E、F、H、I、K、N、S、V、Y;并且X$_4$选自Q、A、E、F、H、I、K、N、S、V、Y
LFR3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC	2680	
LCDR3	QQX$_1$X$_2$X$_3$X$_4$PX$_5$T	2681	X$_1$选自S、A、D、F、H、K、L、T、V、Y; X$_2$选自Y、A、D、F、H、K、L、Q、V、W; X$_3$选自S、A、D、G、H、K、N、Q、T、V、Y; X$_4$选自T、A、D、F、I、K、L、Q、S、V、Y;并且X$_5$选自F、I、L、W
LFR4	FGQGTKLEIK	2682	

图39B

1A7 VH/VL对	VH SEQ ID NO:	VL SQ ID NO:	scFv取向	对人CD28的K_D (nM)
H1L1			VHVL	1000
H1.1_L1			VHVL	600
H1.14_L1			VHVL	230
H1_L1.71			VHVL	180
H1.1_L1.71			VHVL	96
H1.14_L1.71			VHVL	37
L1.71_H1.14			VLVH	37
L1_H1.14			VLVH	230

图40

1B1-5.88488[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLMWVSRINSDGSTASHADSVRGRFTISRDNAKNTLYLQLNGLRAEDTAVYYCARADSTTWYEFDFWGQGALVTVSS	89
vhCDR1	SYWMH	90
vhCDR2	RINSDGSTASHADSVRG	91
vhCDR3	ADSTTWYEFDF	92
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASKRATGIPARFSGTGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYSCQQRHNWPPTFGQGTKVEIK	93
vlCDR1	RASQSVSSYLA	94
vlCDR2	DASKRAT	95
vlCDR3	QQRHNWPPT	96

>XENP41791 1B1-5.88488[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1B1-5.88488[CD28]_H1_IgG1_PVA_/S267K (SEQ ID NO:2683)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLMWVSRINSDGSTASHADSVRGRFTISRDNAKN
TLYLQLNGLRAEDTAVYYCARADSTTWYEFDFWGQGALVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1B1-5.88488[CD28]_L1 (SEQ ID NO:2684)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASKRATGIPARFSGTGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYSCQQRHNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP42418 1B1-5.88488[CD28]_H1_XPL1-6B1[PD-L1]_L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1B1-5.88488[CD28]_H1_IgG1_PVA_/S267K (SEQ ID NO:2685)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLMWVSRINSDGSTASHADSVRGRFTISRDNAKN
TLYLQLNGLRAEDTAVYYCARADSTTWYEFDFWGQGALVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO:2686)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图41

1B1-4.88488[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLTLSCAASGFTVSSNFMSWFRQAPGKGLEW VSVIYSGGYTHYADSVKGRFTISRHKSKNTLFLQMNSLRSEDSAVYY CARHGISGTAGDYYYYGMDVWGQGTTVTVSS	97
vhCDR1	SNFMS	98
vhCDR2	VIYSGGYTHYADSVKG	99
vhCDR3	HGISGTAGDYYYYGMDV	100
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLL IYDASKRATGIPARFSGTGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYSCQQRHNW PPTFGQGTKVEIK	101
vlCDR1	RASQSVSSYLA	102
vlCDR2	DASKRAT	103
vlCDR3	QQRHNWPPT	104

>XENP41792 1B1-4.88488[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1B1-4.88488[CD28]_H1_IgG1_PVA_/S267K (SEQ ID NO:2687)

EVQLVESGGGLVQPGGSLTLSCAASGFTVSSNFMSWFRQAPGKGLEWVSVIYSGGYTHYADSVKGRFTISRHKSKNT
LFLQMNSLRSEDSAVYYCARHGISGTAGDYYYYGMDVWGQGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK
THTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1B1-4.88488[CD28]_L1 (SEQ ID NO:2688)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASKRATGIPARFSGTGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYSCQQRHNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP42419 1B1-4.88488[CD28]_H1_XPL1-6B1[PD-L1]_L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1B1-4.88488[CD28]_H1_IgG1_PVA_/S267K (SEQ ID NO:2689)

EVQLVESGGGLVQPGGSLTLSCAASGFTVSSNFMSWFRQAPGKGLEWVSVIYSGGYTHYADSVKGRFTISRHKSKNT
LFLQMNSLRSEDSAVYYCARHGISGTAGDYYYYGMDVWGQGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK
THTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO:2690)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图42

1D8.88474[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLSGYWIHWVRQAPGKGLVW VSRINNDGSSTSHADSVRGRFTISRDSAKNTLYLHMNNLRAEDTAVY YCVRAYSSSWYRFDYWGQGTLVTVSS	105
vhCDR1	GYWIH	106
vhCDR2	RINNDGSSTSHADSVRG	107
vhCDR3	AYSSSWYRFDY	108
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLL IYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRNNW PPTFGQGTKVEIK	109
vlCDR1	RASQSVSSYLA	110
vlCDR2	DASNRAT	111
vlCDR3	QQRNNWPPT	112

>XENP41834 1D8.88474[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1D8.88474[CD28]_H1_IgG1_PVA_/S267K (SEQ ID NO:2691)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLSGYWIHWVRQAPGKGLVWVSRINNDGSSTSHADSVRGRFTISRDSAKN
TLYLHMNNLRAEDTAVYYCVRAYSSSWYRFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1D8.88474[CD28]_L1 (SEQ ID NO:2692)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRNNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP42420 1D8.88474[CD28]_H1_XPL1-6B1[PD-L1]_L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1D8.88474[CD28]_H1_IgG1_PVA_/S267K (SEQ ID NO:2693)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLSGYWIHWVRQAPGKGLVWVSRINNDGSSTSHADSVRGRFTISRDSAKN
TLYLHMNNLRAEDTAVYYCVRAYSSSWYRFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO:2694)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图43

1G2-2.88474[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVRSNFMSWFRQVPGKGLEWVSVIYSGGSTHYADSVKGRFTISRHNSENTLFLQMNSLRTEDTAVYYCARHGISGTTSYYYYGMDVWGQGTTVTVSS	113
vhCDR1	SNFMS	114
vhCDR2	VIYSGGSTHYADSVKG	115
vhCDR3	HGISGTTSYYYYGMDV	116
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSTYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK	117
vlCDR1	RASQSVSTYLA	118
vlCDR2	DASNRAT	119
vlCDR3	QQRSNWPPT	120

>XENP41846 1G2-2.88474[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1G2-2.88474[CD28]_H1_IgG1_PVA_/S267K (SEQ ID NO:2695)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVRSNFMSWFRQVPGKGLEWVSVIYSGGSTHYADSVKGRFTISRHNSENT
LFLQMNSLRTEDTAVYYCARHGISGTTSYYYYGMDVWGQGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT
HTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1G2-2.88474[CD28]_L1 (SEQ ID NO:2696)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSTYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP42421 1G2-2.88474[CD28]_H1_XPL1-6B1[PD-L1]_L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1G2-2.88474[CD28]_H1_IgG1_PVA_/S267K (SEQ ID NO:2697)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVRSNFMSWFRQVPGKGLEWVSVIYSGGSTHYADSVKGRFTISRHNSENT
LFLQMNSLRTEDTAVYYCARHGISGTTSYYYYGMDVWGQGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT
HTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO:2698)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图44

2G5.88497[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFAFSSYWMHWVRQVPGKGLVWVSRINNDGSSASHADSVRGRFTISRDNARNTLHLQMNSLTAEDTAVYYCARGQQWFLLDYWGQGTLVTVSS	121
vhCDR1	SYWMH	122
vhCDR2	RINNDGSSASHADSVRG	123
vhCDR3	GQQWFLLDY	124
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSINSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPPTFGQGTKVEIK	125
vlCDR1	RASQSINSYLA	126
vlCDR2	DASNRAT	127
vlCDR3	QQSSNWPPT	128

>XENP41864 2G5.88497[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 2G5.88497[CD28]_H1_IgG1_PVA_/S267K (SEQ ID NO:2699)

EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFAFSSYWMHWVRQVPGKGLVWVSRINNDGSSASHADSVRGRFTISRDNARN
TLHLQMNSLTAEDTAVYYCARGQQWFLLDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 2G5.88497[CD28]_L1 (SEQ ID NO:2700)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSINSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQSSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP42423 2G5.88497[CD28]_H1_XPL1-6B1[PD-L1]_L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 2G5.88497[CD28]_H1_IgG1_PVA_/S267K (SEQ ID NO:2701)

EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFAFSSYWMHWVRQVPGKGLVWVSRINNDGSSASHADSVRGRFTISRDNARN
TLHLQMNSLTAEDTAVYYCARGQQWFLLDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO:2702)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图45

2A3.88497[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSTYTMNWVRQAPGKGLEW VSSISTSSSHIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRADDTAVY YCAREGNIVLTFDPWGQGTLVTVSS	129
vhCDR1	TYTMN	130
vhCDR2	SISTSSSHIYYADSVKG	131
vhCDR3	EGNIVLTFDP	132
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLL IYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRGYW PPTFGQGTKVEIK	133
vlCDR1	RASQSVSSYLA	134
vlCDR2	DASNRAT	135
vlCDR3	QQRGYWPPT	136

>XENP41882 2A3.88497[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 2A3.88497[CD28]_H1_IgG1_PVA_/S267K (SEQ ID NO:2703)

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSTYTMNWVRQAPGKGLEWVSSISTSSSHIYYADSVKGRFTISRDNAKN
SLYLQMNSLRADDTAVYYCAREGNIVLTFDPWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP
CPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL
TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 2A3.88497[CD28]_L1 (SEQ ID NO:2704)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRGYWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP42425 2A3.88497[CD28]_H1_XPL1-6B1[PD-L1]_L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 2A3.88497[CD28]_H1_IgG1_PVA_/S267K (SEQ ID NO:2705)

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSTYTMNWVRQAPGKGLEWVSSISTSSSHIYYADSVKGRFTISRDNAKN
SLYLQMNSLRADDTAVYYCAREGNIVLTFDPWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP
CPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL
TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO:2706)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图46

1D9-3.83967[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSASHADSVRGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAPSSSWYDFDYWGQGTLITVSS	137
vhCDR1	SYWMH	138
vhCDR2	RINSDGSSASHADSVRG	139
vhCDR3	APSSSWYDFDY	140
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFALYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK	141
vlCDR1	RASQSVSRYLA	142
vlCDR2	DASNRAT	143
vlCDR3	QQRSNWPPT	144

>XENP41907 1D9-3.83967[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1D9-3.83967[CD28]_H1_IgG1_PVA_/S267K (SEQ ID NO:2707)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSASHADSVRGRFTISRDNAKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAPSSSWYDFDYWGQGTLITVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1D9-3.83967[CD28]_L1 (SEQ ID NO:2708)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFALYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP42426 1D9-3.83967[CD28]_H1_XPL1-6B1[PD-L1]_L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1D9-3.83967[CD28]_H1_IgG1_PVA_/S267K (SEQ ID NO:2709)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSASHADSVRGRFTISRDNAKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAPSSSWYDFDYWGQGTLITVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO:2710)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图47

1C9-1.83967[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMHWVRQAPGKGLKYVSAISSDGNSIYYTNSVKGRFAISRDNSKNTLYLQMGSLRAEDMGVYYCAGGVAAGHYFYSGMDVWGQGTTVTVSS	145
vhCDR1	SYSMH	146
vhCDR2	AISSDGNSIYYTNSVKG	147
vhCDR3	GVAAGHYFYSGMDV	148
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCGASQSVSSSLAWYQQKPGQAPRLLIYDSSNRATGIPARFSGRGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRGNWPPTFGQGTKVEIK	149
vlCDR1	GASQSVSSSLA	150
vlCDR2	DSSNRAT	151
vlCDR3	QQRGNWPPT	152

>XENP41927 1C9-1.83967[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1C9-1.83967[CD28]_H1_IgG1_PVA_/S267K (SEQ ID NO:2711)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMHWVRQAPGKGLKYVSAISSDGNSIYYTNSVKGRFAISRDNSKN
TLYLQMGSLRAEDMGVYYCAGGVAAGHYFYSGMDVWGQGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK
DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1C9-1.83967[CD28]_L1 (SEQ ID NO:2712)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCGASQSVSSSLAWYQQKPGQAPRLLIYDSSNRATGIPARFSGRGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRGNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP42429 1C9-1.83967[CD28]_H1_XPL1-6B1[PD-L1]_L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1C9-1.83967[CD28]_H1_IgG1_PVA_/S267K (SEQ ID NO:2713)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMHWVRQAPGKGLKYVSAISSDGNSIYYTNSVKGRFAISRDNSKN
TLYLQMGSLRAEDMGVYYCAGGVAAGHYFYSGMDVWGQGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK
DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO:2714)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图48

1D10-4.83967[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMHWVRQPPGKGLMWVSRINSDGSTASHADSVRDRFSISRDNAKNTLYLQLNGLRAEDTAVYYCARADNTTWYEFDFWGQGALVTVSS	153
vhCDR1	DYWMH	154
vhCDR2	RINSDGSTASHADSVRD	155
vhCDR3	ADNTTWYEFDF	156
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISIYLAWYQQKPGQAPRLLIFDASKRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYSCQQRHNWPPTFGQGTKVEIK	157
vlCDR1	RASQSISIYLA	158
vlCDR2	DASKRAT	159
vlCDR3	QQRHNWPPT	160

>XENP41936 1D10-4.83967[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1D10-4.83967[CD28]_H1_IgG1_PVA_/S267K (SEQ ID NO:2715)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMHWVRQPPGKGLMWVSRINSDGSTASHADSVRDRFSISRDNAKN
TLYLQLNGLRAEDTAVYYCARADNTTWYEFDFWGQGALVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1D10-4.83967[CD28]_L1 (SEQ ID NO:2716)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISIYLAWYQQKPGQAPRLLIFDASKRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYSCQQRHNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP42430 1D10-4.83967[CD28]_H1_XPL1-6B1[PD-L1]_L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1D10-4.83967[CD28]_H1_IgG1_PVA_/S267K (SEQ ID NO:2717)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMHWVRQPPGKGLMWVSRINSDGSTASHADSVRDRFSISRDNAKN
TLYLQLNGLRAEDTAVYYCARADNTTWYEFDFWGQGALVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO:2718)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图49

1A12.83967[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQGPGKGLEWVSLINGDGDNTYYADSVKGRFTISRDNSKNSLYLQMNSLRTEDTALYFCAKDPLKAVSYYYYGMDVWGQGTTVTVSS	161
vhCDR1	DYAMH	162
vhCDR2	LINGDGDNTYYADSVKG	163
vhCDR3	DPLKAVSYYYYGMDV	164
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSFSPGERATLSCRASQTITNYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGRGSGTDFTLTISGLEPEDFAVYYCQQRSSWPPTFGQGTKVEIK	165
vlCDR1	RASQTITNYLA	166
vlCDR2	DASNRAT	167
vlCDR3	QQRSSWPPT	168

XENP41957 1A12.83967[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1A12.83967[CD28]_H1 (SEQ ID NO:2719)

EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQGPGKGLEWVSLINGDGDNTYYADSVKGRFTISRDNSKN
SLYLQMNSLRTEDTALYFCAKDPLKAVSYYYYGMDVWGQGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT
HTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A12.83967[CD28]_L1 (SEQ ID NO:2720)

EIVLTQSPATLSFSPGERATLSCRASQTITNYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGRGSGTDFTLTISG
LEPEDFAVYYCQQRSSWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图50

1B11.83967[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNFMSWFRQAPGKGLEWVSVIYSGGSTYYADSVKGRFTISRHNSKNTLYLQMNSLRSEDTAVYYCARHGITGTTGDYYYYGMDVWGQGTTVTVSS	169
vhCDR1	SNFMS	170
vhCDR2	VIYSGGSTYYADSVKG	171
vhCDR3	HGITGTTGDYYYYGMDV	172
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVRSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK	173
vlCDR1	RASQSVRSYLA	174
vlCDR2	DASNRAT	175
vlCDR3	QQRSNWPPT	176

XENP41949 1B11.83967[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1B11.83967[CD28]_H1 (SEQ ID NO:2721)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNFMSWFRQAPGKGLEWVSVIYSGGSTYYADSVKGRFTISRHNSKNT
LYLQMNSLRSEDTAVYYCARHGITGTTGDYYYYGMDVWGQGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK
THTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1B11.83967[CD28]_L1 (SEQ ID NO:2722)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVRSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图51

1D10-2.83967[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMHWVRQPPGKGLMWVSRINSDGSTASHADSVRDRFSISRDNAKNTLYLQLNGLRAEDTAVYYCARADSTTWYEFDFWGQGALVTVSS	177
vhCDR1	DYWMH	178
vhCDR2	RINSDGSTASHADSVRD	179
vhCDR3	ADSTTWYEFDF	180
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISIYLAWYQQKPGQAPRLLIFDASKRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYSCQQRHNWPPTFGQGTKVEIK	181
vlCDR1	RASQSISIYLA	182
vlCDR2	DASKRAT	183
vlCDR3	QQRHNWPPT	184

XENP41935 1D10-2.83967[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1D10-2.83967[CD28]_H1 (SEQ ID NO:2723)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMHWVRQPPGKGLMWVSRINSDGSTASHADSVRDRFSISRDNAKN
TLYLQLNGLRAEDTAVYYCARADSTTWYEFDFWGQGALVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1D10-2.83967[CD28]_L1 (SEQ ID NO:2724)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISIYLAWYQQKPGQAPRLLIFDASKRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYSCQQRHNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图52

1D7.83967[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLMWVSRINSDGSSASHAESVRGRFTISRDNAKNTLYLQLNGLRAEDTAVYYCARADSSTWYEFDFWGQGALVTVSS	185
vhCDR1	SYWMH	186
vhCDR2	RINSDGSSASHAESVRG	187
vhCDR3	ADSSTWYEFDF	188
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASKRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRNNWPPTFGQGTKVEIK	189
vlCDR1	RASQSVSSYLA	190
vlCDR2	DASKRAT	191
vlCDR3	QQRNNWPPT	192

XENP41904 1D7.83967[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1D7.83967[CD28]_H1 (SEQ ID NO:2725)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLMWVSRINSDGSSASHAESVRGRFTISRDNAKN
TLYLQLNGLRAEDTAVYYCARADSSTWYEFDFWGQGALVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1D7.83967[CD28]_L1 (SEQ ID NO:2726)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASKRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRNNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图53

1D3.83967[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGFIYYSWSTSYNPSLKSRLTMSLDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREANVNDAAFDIWGPGTMVTVSS	193
vhCDR1	SGGYYWS	194
vhCDR2	FIYYSWSTSYNPSLKS	195
vhCDR3	EANVNDAAFDI	196
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK	197
vlCDR1	RASQSVSSYLA	198
vlCDR2	DASNRAT	199
vlCDR3	QQRSNWPPT	200

XENP41901 1D3.83967[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1D3.83967[CD28]_H1 (SEQ ID NO:2727)

QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGFIYYSWSTSYNPSLKSRLTMSLDTSK
NQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREANVNDAAFDIWGPGTMVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1D3.83967[CD28]_L1 (SEQ ID NO:2728)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图54

2B10.88497[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSHKYYSDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAEYYCAREGDIVLIFDPWGQGTLVTVSS	201
vhCDR1	SYTMN	202
vhCDR2	SISSSSSHKYYSDSVKG	203
vhCDR3	EGDIVLIFDP	204
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQNPGQVPRLLIYDASNRATGIPVRFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRGNWPPTFGQGTKVEIK	205
vlCDR1	RASQSVSSYLA	206
vlCDR2	DASNRAT	207
vlCDR3	QQRGNWPPT	208

XENP41891 2B10.88497[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 2B10.88497[CD28]_H1 (SEQ ID NO:2729)

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSHKYYSDSVKGRFTISRDNAKN
SLYLQMNSLRAEDTAEYYCAREGDIVLIFDPWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP
CPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL
TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 2B10.88497[CD28]_L1 (SEQ ID NO:2730)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQNPGQVPRLLIYDASNRATGIPVRFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRGNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图55

2B9.88497[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSNTYIYYIDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAEYYCVREGDIVLTFDPWGQGTLVTVSS	209
vhCDR1	SYTMN	210
vhCDR2	SISSSNTYIYYIDSVKG	211
vhCDR3	EGDIVLTFDP	212
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWFQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRGSWPPTFGQGTKVEIK	213
vlCDR1	RASQSVSSYLA	214
vlCDR2	DASNRAT	215
vlCDR3	QQRGSWPPT	216

XENP41890 2B9.88497[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 2B9.88497[CD28]_H1 (SEQ ID NO:2731)

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSNTYIYYIDSVKGRFTISRDNAKN
SLYLQMNSLRAEDTAEYYCVREGDIVLTFDPWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP
CPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL
TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 2B9.88497[CD28]_L1 (SEQ ID NO:2732)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWFQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRGSWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图56

2B8.88497[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVETGGGLVQPGESLRLSCAASGFSFSSNWMHWVRQAPGKGLVWISRINSDGSSASSADSVRGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSDSSSWYEFEYWGQGTLVTVSS	217
vhCDR1	SNWMH	218
vhCDR2	RINSDGSSASSADSVRG	219
vhCDR3	SDSSSWYEFEY	220
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSNYLAWYQQKPGQAPRLLIYDTSNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRGNWPPTFGQGTKVEIK	221
vlCDR1	RASQSVSNYLA	222
vlCDR2	DTSNRAT	223
vlCDR3	QQRGNWPPT	224

XENP41889 2B8.88497[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 2B8.88497[CD28]_H1 (SEQ ID NO:2733)

EVQLVETGGGLVQPGESLRLSCAASGFSFSSNWMHWVRQAPGKGLVWISRINSDGSSASSADSVRGRFTISRDNAKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSDSSSWYEFEYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 2B8.88497[CD28]_L1 (SEQ ID NO:2734)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSNYLAWYQQKPGQAPRLLIYDTSNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRGNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图57

1G6-1.83967[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSASHADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQVNGLRAEDTAVYYCARADSSSWYEFDFWGQGTLVTVSS	225
vhCDR1	SYWMH	226
vhCDR2	RINSDGSSASHADSVKG	227
vhCDR3	ADSSSWYEFDF	228
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRNNWPPTFGQGTKVEIK	229
vlCDR1	RASQSVSSYLA	230
vlCDR2	DASNRAT	231
vlCDR3	QQRNNWPPT	232

XENP41877 1G6-1.83967[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1G6-1.83967[CD28]_H1 (SEQ ID NO:2735)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSASHADSVKGRFTISRDNAKN
TLYLQVNGLRAEDTAVYYCARADSSSWYEFDFWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1G6-1.83967[CD28]_L1 (SEQ ID NO:2736)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRNNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图58

1C7.88474[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYWMHWVRQTPGKGLVWVSRINSDGSSASFADSVRGRFTISRDNAKNTLYLYMNSLRAEDTAIYYCARADSSTWSHFDYWGQGTLVTVSS	233
vhCDR1	TYWMH	234
vhCDR2	RINSDGSSASFADSVRG	235
vhCDR3	ADSSTWSHFDY	236
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGEGATLSCRASQSVSSYLAWFQQKRGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK	237
vlCDR1	RASQSVSSYLA	238
vlCDR2	DASNRAT	239
vlCDR3	QQRSNWPPT	240

XENP41874 1C7.88474[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1C7.88474[CD28]_H1 (SEQ ID NO:2737)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYWMHWVRQTPGKGLVWVSRINSDGSSASFADSVRGRFTISRDNAKN
TLYLYMNSLRAEDTAIYYCARADSSTWSHFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1C7.88474[CD28]_L1 (SEQ ID NO:2738)

EIVLTQSPATLSLSPGEGATLSCRASQSVSSYLAWFQQKRGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图59

1A5-2.88474[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVHLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNFMSWFRQAPGKGLEW VSVIYSGGSTNYADSVKGRFTISRHNSKNTLYLQMNSLRVEDTAVYY CARHGIAGTTPYFYYGMDVWGQGTTVTVSS	241
vhCDR1	SNFMS	242
vhCDR2	VIYSGGSTNYADSVKG	243
vhCDR3	HGIAGTTPYFYYGMDV	244
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGEGATLSCRASQSVSNYLAWYQQKPGQAPRLL IYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFVVYYCQQRSNW PPTFGQGTKVEIK	245
vlCDR1	RASQSVSNYLA	246
vlCDR2	DASNRAT	247
vlCDR3	QQRSNWPPT	248

XENP41869 1A5-2.88474[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1A5-2.88474[CD28]_H1 (SEQ ID NO:2739)

EVHLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNFMSWFRQAPGKGLEWVSVIYSGGSTNYADSVKGRFTISRHNSKNT
LYLQMNSLRVEDTAVYYCARHGIAGTTPYFYYGMDVWGQGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT
HTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A5-2.88474[CD28]_L1 (SEQ ID NO:2740)

EIVLTQSPATLSLSPGEGATLSCRASQSVSNYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFVVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图60

1A2.88474[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFWMHWVRQAPGKGLVW VSRINSDGSSASFADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARDRYSGSFYNWFDPWGQGTLVTVSS	249
vhCDR1	NFWMH	250
vhCDR2	RINSDGSSASFADSVKG	251
vhCDR3	DRYSGSFYNWFDP	252
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLL IYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNW PPTFGQGTKVEIK	253
vlCDR1	RASQSVSSYLA	254
vlCDR2	DASNRAT	255
vlCDR3	QQRSNWPPT	256

XENP41868 1A2.88474[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1A2.88474[CD28]_H1 (SEQ ID NO:2741)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSASFADSVKGRFTISRDNAKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRYSGSFYNWFDPWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD
YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
CPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A2.88474[CD28]_L1 (SEQ ID NO:2742)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图61

2F5.88497[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWIHWVRQTPGKGLVWVSRINSDGSSASHADSVRGRFTISRHNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRSDSSTWYKFDYWGQGTLVTVSS	257
vhCDR1	SYWIH	258
vhCDR2	RINSDGSSASHADSVRG	259
vhCDR3	SDSSTWYKFDY	260
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK	261
vlCDR1	RASQSVSSYLA	262
vlCDR2	DASNRAT	263
vlCDR3	QQRSNWPPT	264

XENP41860 2F5.88497[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 2F5.88497[CD28]_H1 (SEQ ID NO:2743)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWIHWVRQTPGKGLVWVSRINSDGSSASHADSVRGRFTISRHNAKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRSDSSTWYKFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 2F5.88497[CD28]_L1 (SEQ ID NO:2744)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图62

2E9.88497[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVEYGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSYMSWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGYTYYADSVKGRFIISRDNSKNTLYLQMNSLSAEDTAVYHCSRHGITGTAGYYHYYGMDVWGQGTTVTVSS	265
vhCDR1	SSYMS	266
vhCDR2	VIYSGGYTYYADSVKG	267
vhCDR3	HGITGTAGYYHYYGMDV	268
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQRPGQAPRLLIYEGSNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK	269
vlCDR1	RASQSVSSYLA	270
vlCDR2	EGSNRAT	271
vlCDR3	QQRSNWPPT	272

XENP41858 2E9.88497[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 2E9.88497[CD28]_H1 (SEQ ID NO:2745)

EVQLVEYGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSYMSWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGYTYYADSVKGRFIISRDNSKNT
LYLQMNSLSAEDTAVYHCSRHGITGTAGYYHYYGMDVWGQGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK
THTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 2E9.88497[CD28]_L1 (SEQ ID NO:2746)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQRPGQAPRLLIYEGSNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图63

1A3.88474[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAFGFTFSNYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSASFADSVRGRFTISRDNAKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARADSSSWYLFDNWGQGTLVTVSS	273
vhCDR1	NYWMH	274
vhCDR2	RINSDGSSASFADSVRG	275
vhCDR3	ADSSSWYLFDN	276
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK	277
vlCDR1	RASQSVSSYLA	278
vlCDR2	DASNRAT	279
vlCDR3	QQRSNWPPT	280

图64A

XENP41849 1A3.88474[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链 1 - 1A3.88474[CD28]_H1 (SEQ ID NO:2747)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAFGFTFSNYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSASFADSVRGRFTISRDNAKN
TLYLQLNSLRAEDTAVYYCARADSSSWYLFDNWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2 - 1A3.88474[CD28]_L1 (SEQ ID NO:2748)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>1A3.88474[CD28]_H1.1 (SEQ ID NO:2749)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMHWVRQAPGKGLVWVSRIRSDGSSASFADSVRGRFTISRDNAKN
TLYLQLNSLRAEDTAVYYCARADSSSWYLFDNWGQGTLVTVSS

>1A3.88474[CD28]_H1.2 (SEQ ID NO:2750)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTQSNYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSTASFADSVRGRFTISRDNAKN
TLYLQLNSLRAEDTAVYYCARSDSSSWYLFDSWGQGTLVTVSS

>1A3.88474[CD28]_H1.3 (SEQ ID NO:2751)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTSNYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINKDGSSASFADSVRGRFTISRDNAKN
TLYLQLNSLRAEDTAVYYCARSDSSSWYLFDNWGQGTLVTVSS

>1A3.88474[CD28]_H1.4 (SEQ ID NO:2752)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMHWVRQAPGKGLVWVSRISSDGSSASFADSVRGRFTISRDNAKN
TLYLQLNSLRAEDTAVYYCARADSSSWYRFDNWGQGTLVTVSS

>1A3.88474[CD28]_H1.5 (SEQ ID NO:2753)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTQSNYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINNDGSSASFADSVRGRFTISRDNAKN
TLYLQLNSLRAEDTAVYYCARADSSSWYLFDNWGQGTLVTVSS

>1A3.88474[CD28]_H1.6 (SEQ ID NO:2754)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNEWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSASFADSVRGRFTISRDNAKN
TLYLQLNSLRAEDTAVYYCARADSSSWYLFDNWGQGTLVTVSS

>1A3.88474[CD28]_H1.7 (SEQ ID NO:2755)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTGSNYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINGDGSSASFADSVRGRFTISRDNAKN
TLYLQLNSLRAEDTAVYYCARADSSSWYLFDNWGQGTLVTVSS

>1A3.88474[CD28]_H1.8 (SEQ ID NO:2756)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSGNYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSASFADSVRGRFTISRDNAKN
TLYLQLNSLRAEDTAVYYCARADSSSWYLFDNWGQGTLVTVSS

>1A3.88474[CD28]_H1.9 (SEQ ID NO:2757)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSNYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSASFADSVRGRFTISRDNAKN
TLYLQLNSLRAEDTAVYYCARADSSSWYLFDNWGQGTLVTVSS

图64B

>1A3.88474[CD28]_H1.10 (SEQ ID NO:2758)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTMSNTWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSASFADSVRGRFTISRDNAKN
TLYLQLNSLRAEDTAVYYCARADSSSWYLFDNWGQGTLVTVSS

>1A3.88474[CD28]_H1.11 (SEQ ID NO:2759)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTGRNYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSASFADSVRGRFTISRDNAKN
TLYLQLNSLRAEDTAVYYCARADSSSWYLFDNWGQGTLVTVSS

>1A3.88474[CD28]_H1.12 (SEQ ID NO:2760)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGNTWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSASFADSVRGRFTISRDNAKN
TLYLQLNSLRAEDTAVYYCARADSSSWYLFDNWGQGTLVTVSS

>1A3.88474[CD28]_H1.13 (SEQ ID NO:2761)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTASNYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSASFADSVRGRFTISRDNAKN
TLYLQLNSLRAEDTAVYYCARADSSSWYLFDNWGQGTLVTVSS

1A3.88474 VH	SEQ	SEQ ID NO:	
HFR1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAX_1GFTX_2X_3	2762	X1选自S、F; X2选自F、Q、T、G、S、M、A; X3选自S、G、R
HCDR1	NXWMH	2763	X选自Y、E、Y
HFR2	WVRQAPGKGLVWVS	2764	
HCDR2	RIX_1X_2DGSX_3ASFADSVRG	2765	X1选自R、N、S; X2选自S、K、N、G; X3选自S、T
HFR3	RFTISRDNAKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCAR	2766	
HCDR3	X_1DSSSWYX_2FDX_3	2767	X1选自A、S; X2选自L、R; X3选自N、S
HFR4	WGQGTLVTVSS	2768	

图64C

1H11.88474[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINNDGSSASFADSVRGRFTISRDNAKNTLSLQMNSLRAEDTAVYYCARADSSSWYHFDYWGQGTLVTVSS	281
vhCDR1	SYWMH	282
vhCDR2	RINNDGSSASFADSVRG	283
vhCDR3	ADSSSWYHFDY	284
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIFDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK	285
vlCDR1	RASQSVSSYLA	286
vlCDR2	DASNRAT	287
vlCDR3	QQRSNWPPT	288

XENP41816 1H11.88474[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1H11.88474[CD28]_H1 (SEQ ID NO: 2769)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINNDGSSASFADSVRGRFTISRDNAKN
TLSLQMNSLRAEDTAVYYCARADSSSWYHFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1H11.88474[CD28]_L1 (SEQ ID NO: 2770)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIFDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图65

1G1-1.88474[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLVWVSRVNSDGSSASFADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARADNSSWYHFDYWGQGTLVTVSS	289
vhCDR1	SYWMH	290
vhCDR2	RVNSDGSSASFADSVKG	291
vhCDR3	ADNSSWYHFDY	292
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATAIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRRNWPPTFGQGTKVEIK	293
vlCDR1	RASQSVSSYLA	294
vlCDR2	DASNRAT	295
vlCDR3	QQRRNWPPT	296

XENP41807 1G1-1.88474[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1G1-1.88474[CD28]_H1 (SEQ ID NO: 2771)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLVWVSRVNSDGSSASFADSVKGRFTISRDNAKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARADNSSWYHFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1G1-1.88474[CD28]_L1 (SEQ ID NO: 2772)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATAIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRRNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图66

1E6-1.88474[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGDSISSGNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIYHSGSSNYNPSLKSRVTISVDKSKNQFSLKLNTVTAADTAVYYCAREGLGSYYYYGMDVWGQGTTVTVSS	297
vhCDR1	SGNWWS	298
vhCDR2	EIYHSGSSNYNPSLKS	299
vhCDR3	EGLGSYYYYGMDV	300
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK	301
vlCDR1	RASQSVSSYLA	302
vlCDR2	DASNRAT	303
vlCDR3	QQRSNWPPT	304

XENP41802 1E6-1.88474[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1E6-1.88474[CD28]_H1 (SEQ ID NO: 2773)

QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGDSISSGNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIYHSGSSNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLKLNTVTAADTAVYYCAREGLGSYYYYGMDVWGQGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD
YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
CPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1E6-1.88474[CD28]_L1 (SEQ ID NO: 2774)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图67

1A1-5.88488[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVHPGGSLRLSCAASGFSFITYEMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSGSAIYYADSVKGRFTISRDNVKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGAVVDYWGQGIWVTVSS	305
vhCDR1	TYEMN	306
vhCDR2	YISSSGSAIYYADSVKG	307
vhCDR3	GAVVDY	308
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK	309
vlCDR1	RASQSVSSYLA	310
vlCDR2	DASNRAT	311
vlCDR3	QQRSNWPPT	312

XENP41797 1A1-5.88488[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1A1-5.88488[CD28]_H1 (SEQ ID NO: 2775)

EVQLVESGGGLVHPGGSLRLSCAASGFSFITYEMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSGSAIYYADSVKGRFTISRDNVKN
SLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGAVVDYWGQGIWVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT
VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
PVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A1-5.88488[CD28]_L1 (SEQ ID NO: 2776)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图68

1E2-5.88488[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLEESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNFMSWFRQAPGKGLEWVSVIYSGGSINHADSVKGRFTTSKHNSKNTVYLQMNSLRSEDTAVYYCARHGITGTTGDYHYYGMDVWGQGTTVTVSS	313
vhCDR1	SNFMS	314
vhCDR2	VIYSGGSINHADSVKG	315
vhCDR3	HGITGTTGDYHYYGMDV	316
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAIYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK	317
vlCDR1	RASQSVSSYLA	318
vlCDR2	DASNRAT	319
vlCDR3	QQRSNWPPT	320

XENP41781 1E2-5.88488[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1E2-5.88488[CD28]_H1 (SEQ ID NO: 2777)

EVQLEESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNFMSWFRQAPGKGLEWVSVIYSGGSINHADSVKGRFTTSKHNSKNT
VYLQMNSLRSEDTAVYYCARHGITGTTGDYHYYGMDVWGQGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK
THTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1E2-5.88488[CD28]_L1 (SEQ ID NO: 2778)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAIYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图69

2F6.88497[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMSWFRQAPGKGVEWVSVIYSGGSTYYADSVKGRFIISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHGITGSAGYYYYYGMDVWGQGTTVTVSS	321
vhCDR1	SNYMS	322
vhCDR2	VIYSGGSTYYADSVKG	323
vhCDR3	HGITGSAGYYYYYGMDV	324
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK	325
vlCDR1	RASQSVSRYLA	326
vlCDR2	DASNRAT	327
vlCDR3	QQRSNWPPT	328

XENP41861 2F6.88497[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 2F6.88497[CD28]_H1 (SEQ ID NO: 2779)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMSWFRQAPGKGVEWVSVIYSGGSTYYADSVKGRFIISRDNSKNT
LYLQMNSLRAEDTAVYYCARHGITGSAGYYYYYGMDVWGQGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK
THTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 2F6.88497[CD28]_L1 (SEQ ID NO: 2780)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

XENP42422 2F6.88497[CD28]_H1_XPL1-6B1[PD-L1]_L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 2F6.88497[CD28]_H1 (SEQ ID NO: 2781)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMSWFRQAPGKGVEWVSVIYSGGSTYYADSVKGRFIISRDNSKNT
LYLQMNSLRAEDTAVYYCARHGITGSAGYYYYYGMDVWGQGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK
THTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 6B1[PD-L1]_L1 (SEQ ID NO: 2782)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图70

1H2.83967[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLVW VSRINSDGSSASHADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQVNGLRAEDTAVY YCARADSSSWYKFDYWGQGTLVTVSS	329
vhCDR1	SYWMH	330
vhCDR2	RINSDGSSASHADSVKG	331
vhCDR3	ADSSSWYKFDY	332
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVRSYLAWYQQKPGQAPRLL IYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNW PPTFGQGTKVEIK	333
vlCDR1	RASQSVRSYLA	334
vlCDR2	DASNRAT	335
vlCDR3	QQRSNWPPT	336

XENP41880 1H2.83967[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1H2.83967[CD28]_H1 (SEQ ID NO: 2783)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSASHADSVKGRFTISRDNAKN
TLYLQVNGLRAEDTAVYYCARADSSSWYKFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1H2.83967[CD28]_L1 (SEQ ID NO: 2784)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVRSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

XENP42424 1H2.83967[CD28]_H1_XPL1-6B1[PD-L1]_L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1H2.83967[CD28]_H1 (SEQ ID NO: 2785)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSASHADSVKGRFTISRDNAKN
TLYLQVNGLRAEDTAVYYCARADSSSWYKFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 6B1[PD-L1]_L1 (SEQ ID NO: 2786)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图71

1E4-3.83967[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSASFADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTSVYYCAREGYSSSWYKYFHHWGQGTLVTVSS	337
vhCDR1	SYWMH	338
vhCDR2	RINSDGSSASFADSVKG	339
vhCDR3	EGYSSSWYKYFHH	340
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARVSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK	341
vlCDR1	RASQSVSSYLA	342
vlCDR2	DASNRAT	343
vlCDR3	QQRSNWPPT	344

XENP41909 1E4-3.83967[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1E4-3.83967[CD28]_H1 (SEQ ID NO: 2787)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSASFADSVKGRFTISRDNAKN
TLYLQMNSLRAEDTSVYYCAREGYSSSWYKYFHHWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD
YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
CPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1E4-3.83967[CD28]_L1 (SEQ ID NO: 2788)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARVSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

XENP42427 1E4-3.83967[CD28]_H1_XPL1-6B1[PD-L1]_L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1E4-3.83967[CD28]_H1 (SEQ ID NO: 2789)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSASFADSVKGRFTISRDNAKN
TLYLQMNSLRAEDTSVYYCAREGYSSSWYKYFHHWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD
YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
CPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 6B1[PD-L1]_L1 (SEQ ID NO: 2790)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图72

1C2-2.83967[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSNYAMHWVRQAPGKGLKY ISAISTSGSSIYYTNSVKDRFTISRDNSKNTLYLQMGSLTVEDMAVY YCAGGAASGHYFYYGMDVWGQGTTVTVSS	345
vhCDR1	NYAMH	346
vhCDR2	AISTSGSSIYYTNSVKD	347
vhCDR3	GAASGHYFYYGMDV	348
可变轻(vl)结构域	EVVLTQSPATLSLSPGERVTLSCRASQSVTSYLAWYQQKPGQAPRLL IYDTSNRATGIPAKFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRYIW PPTFGQGAKVEIK	349
vlCDR1	RASQSVTSYLA	350
vlCDR2	DTSNRAT	351
vlCDR3	QQRYIWPPT	352

XENP41918 1C2-2.83967[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1C2-2.83967[CD28]_H1 (SEQ ID NO: 2791)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSNYAMHWVRQAPGKGLKYISAISTSGSSIYYTNSVKDRFTISRDNSKN
TLYLQMGSLTVEDMAVYYCAGGAASGHYFYYGMDVWGQGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK
DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1C2-2.83967[CD28]_L1 (SEQ ID NO: 2792)

EVVLTQSPATLSLSPGERVTLSCRASQSVTSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDTSNRATGIPAKFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRYIWPPTFGQGAKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

XENP42428 1C2-2.83967[CD28]_H1_XPL1-6B1[PD-L1]_L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1C2-2.83967[CD28]_H1 (SEQ ID NO: 2793)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSNYAMHWVRQAPGKGLKYISAISTSGSSIYYTNSVKDRFTISRDNSKN
TLYLQMGSLTVEDMAVYYCAGGAASGHYFYYGMDVWGQGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK
DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 6B1[PD-L1]_L1 (SEQ ID NO: 2794)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图73

1A11.83967[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSLISGDGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKDPLPASKYYYYGMDVWGQGTTVTVSS	353
vhCDR1	DYAMH	354
vhCDR2	LISGDGGSTYYADSVKG	355
vhCDR3	DPLPASKYYYYGMDV	356
可变轻(vl)结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSLSAYLAWYQQKPGQAPRLLIYDALNRATDIPARFRGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSSWPPTFGQGTKVELK	357
vlCDR1	RASQSLSAYLA	358
vlCDR2	DALNRAT	359
vlCDR3	QQRSSWPPT	360

XENP41956 1A11.83967[CD28]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1A11.83967[CD28]_H1 (SEQ ID NO: 2795)

EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSLISGDGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKDPLPASKYYYYGMDVWGQGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT
HTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A11.83967[CD28]_L1 (SEQ ID NO: 2796)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSLSAYLAWYQQKPGQAPRLLIYDALNRATDIPARFRGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSSWPPTFGQGTKVELK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

XENP42431 1A11.83967[CD28]_H1_XPL1-6B1[PD-L1]_L1_IgG1_PVA_/S267K

链1 - 1A11.83967[CD28]_H1 (SEQ ID NO: 2797)

EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSLISGDGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKDPLPASKYYYYGMDVWGQGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT
HTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 6B1[PD-L1]_L1 (SEQ ID NO: 2798)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图74

	描述(来自单细胞的WT)	人CD28结合反应		描述(与6B1 CLC配对)	人CD28结合反应
XENP41791	1B1-5.88488[CD28]_H1L1	0.541	XENP42418	1B1-5.88488[CD28]_H1_XPL1-6B1[PD-L1]_L1	0.584
XENP41792	1B1-4.88488[CD28]_H1L1	0.378	XENP42419	1B1-4.88488[CD28]_H1_XPL1-6B1[PD-L1]_L1	0.252
XENP41834	1D8.88474[CD28]_H1L1	0.519	XENP42420	1D8.88474[CD28]_H1_XPL1-6B1[PD-L1]_L1	0.557
XENP41846	1G2-2.88474[CD28]_H1L1	0.225	XENP42421	1G2-2.88474[CD28]_H1_XPL1-6B1[PD-L1]_L1	0.303
XENP41864	2G5.88497[CD28]_H1L1	0.39	XENP42423	2G5.88497[CD28]_H1_XPL1-6B1[PD-L1]_L1	0.007
XENP41882	2A3.88497[CD28]_H1L1	0.494	XENP42425	2A3.88497[CD28]_H1_XPL1-6B1[PD-L1]_L1	0.481
XENP41907	1D9-3.83967[CD28]_H1L1	0.618	XENP42426	1D9-3.83967[CD28]_H1_XPL1-6B1[PD-L1]_L1	0.492
XENP41927	1C9-1.83967[CD28]_H1L1	0.291	XENP42429	1C9-1.83967[CD28]_H1_XPL1-6B1[PD-L1]_L1	0.273
XENP41936	1D10-4.83967[CD28]_H1L1	0.687	XENP42430	1D10-4.83967[CD28]_H1_XPL1-6B1[PD-L1]_L1	0.371
			XENP42427	1E4-3.83967[CD28]_H1_XPL1-6B1[PD-L1]_L1	0.404
			XENP42428	1C2-2.83967[CD28]_H1_XPL1-6B1[PD-L1]_L1	0.318

图75

	描述	人CD28结合反应
XENP41781	1E2-5.88488[CD28]_H1L1	0.228
XENP41797	1A1-5.88488[CD28]_H1L1	0.068
XENP41802	1E6-1.88474[CD28]_H1L1	0.021
XENP41807	1G1-1.88474[CD28]_H1L1	0.303
XENP41816	1H11.88474[CD28]_H1L1	0.52
XENP41849	1A3.88474[CD28]_H1L1	0.532
XENP41858	2E9.88497[CD28]_H1L1	0.226
XENP41860	2F5.88497[CD28]_H1L1	0.632
XENP41861	2F6.88497[CD28]_H1L1	0.314
XENP41868	1A2.88474[CD28]_H1L1	0.449
XENP41869	1A5-2.88474[CD28]_H1L1	0.3
XENP41874	1C7.88474[CD28]_H1L1	0.541
XENP41877	1G6-1.83967[CD28]_H1L1	0.442
XENP41880	1H2.83967[CD28]_H1L1	0.725
XENP41889	2B8.88497[CD28]_H1L1	0.549
XENP41890	2B9.88497[CD28]_H1L1	0.365
XENP41891	2B10.88497[CD28]_H1L1	0.516
XENP41901	1D3.83967[CD28]_H1L1	0.131
XENP41904	1D7.83967[CD28]_H1L1	0.577

图76

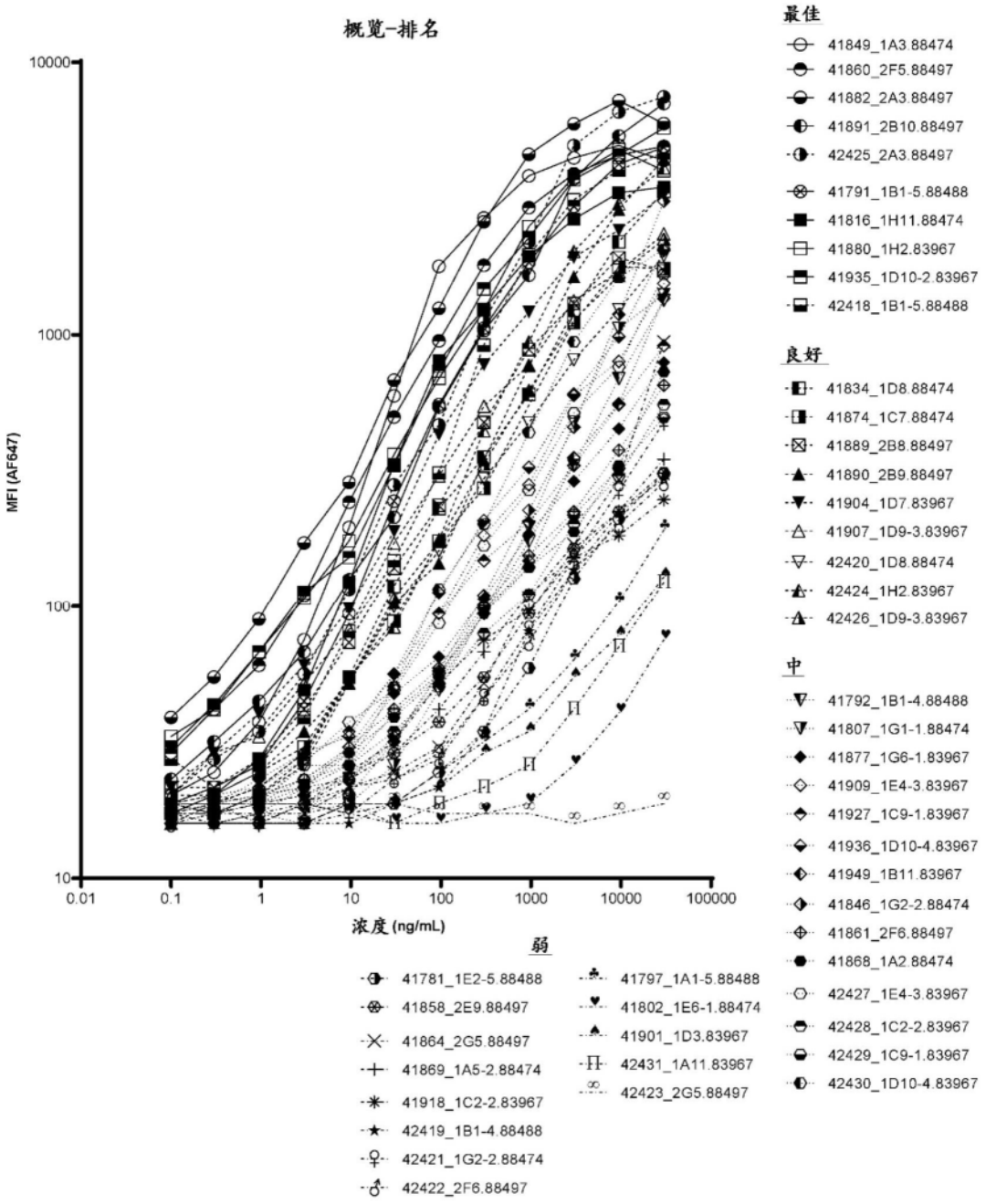

概览-排名
MFI (AF647)
浓度 (ng/mL)
最佳
41849_1A3.88474
41860_2F5.88497
41882_2A3.88497
41891_2B10.88497
42425_2A3.88497
41791_1B1-5.88488
41816_1H11.88474
41880_1H2.83967
41935_1D10-2.83967
42418_1B1-5.88488
良好
41834_1D8.88474
41874_1C7.88474
41889_2B8.88497
41890_2B9.88497
41904_1D7.83967
41907_1D9-3.83967
42420_1D8.88474
42424_1H2.83967
42426_1D9-3.83967
中
41792_1B1-4.88488
41807_1G1-1.88474
41877_1G6-1.83967
41909_1E4-3.83967
41927_1C9-1.83967
41936_1D10-4.83967
41949_1B11.83967
41846_1G2-2.88474
41861_2F6.88497
41868_1A2.88474
42427_1E4-3.83967
42428_1C2-2.83967
42429_1C9-1.83967
42430_1D10-4.83967
弱
41781_1E2-5.88488
41858_2E9.88497
41864_2G5.88497
41869_1A5-2.88474
41918_1C2-2.83967
42419_1B1-4.88488
42421_1G2-2.88474
42422_2F6.88497
41797_1A1-5.88488
41802_1E6-1.88474
41901_1D3.83967
42431_1A11.83967
42423_2G5.88497

图77

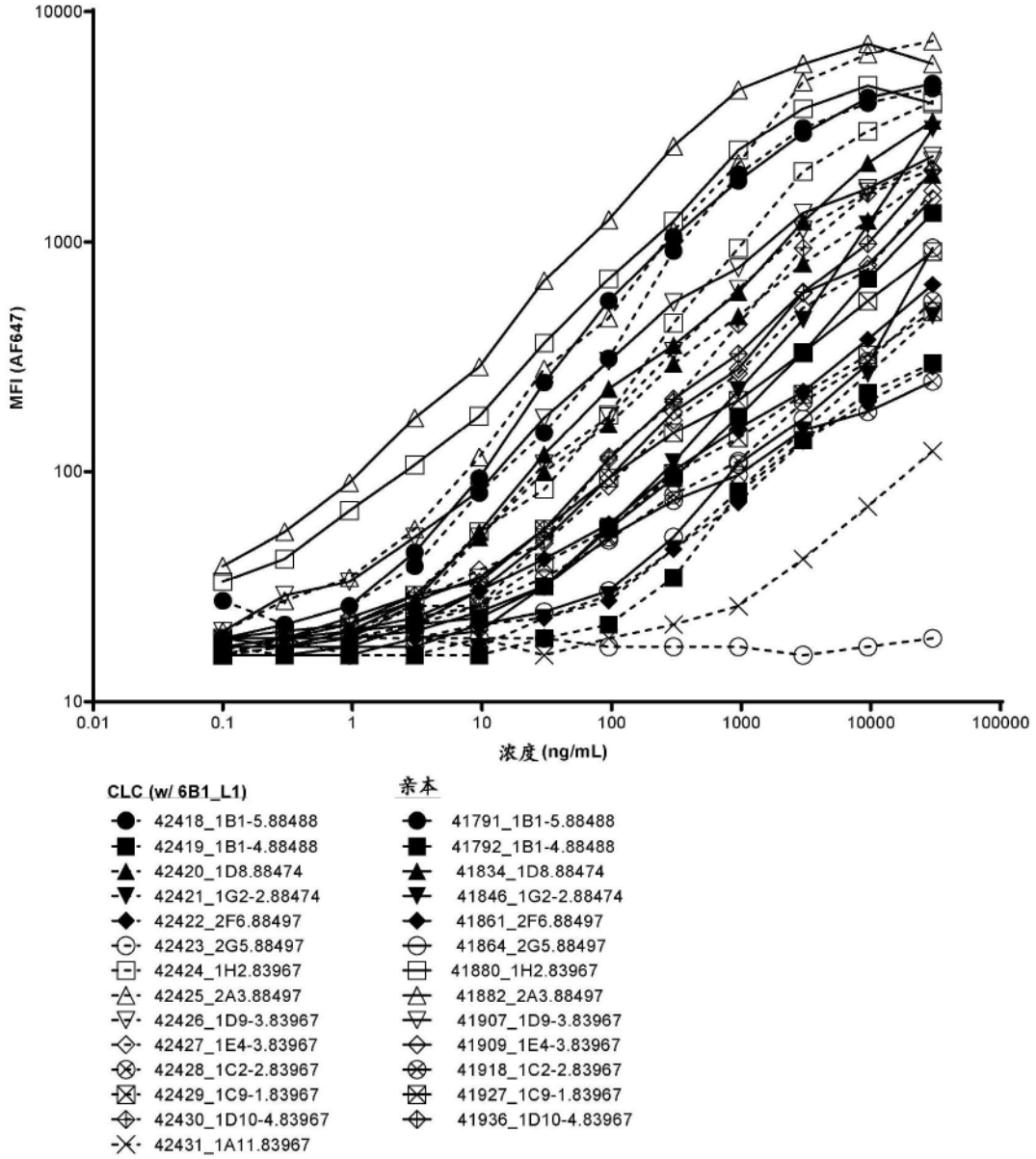

10000
1000
100
10
MFI (AF647)
0.01
0.1
1
10
100
1000
10000
100000
浓度 (ng/mL)
CLC (w/ 6B1_L1)
42418_1B1-5.88488
42419_1B1-4.88488
42420_1D8.88474
42421_1G2-2.88474
42422_2F6.88497
42423_2G5.88497
42424_1H2.83967
42425_2A3.88497
42426_1D9-3.83967
42427_1E4-3.83967
42428_1C2-2.83967
42429_1C9-1.83967
42430_1D10-4.83967
42431_1A11.83967
亲本
41791_1B1-5.88488
41792_1B1-4.88488
41834_1D8.88474
41846_1G2-2.88474
41861_2F6.88497
41864_2G5.88497
41880_1H2.83967
41882_2A3.88497
41907_1D9-3.83967
41909_1E4-3.83967
41918_1C2-2.83967
41927_1C9-1.83967
41936_1D10-4.83967

图78

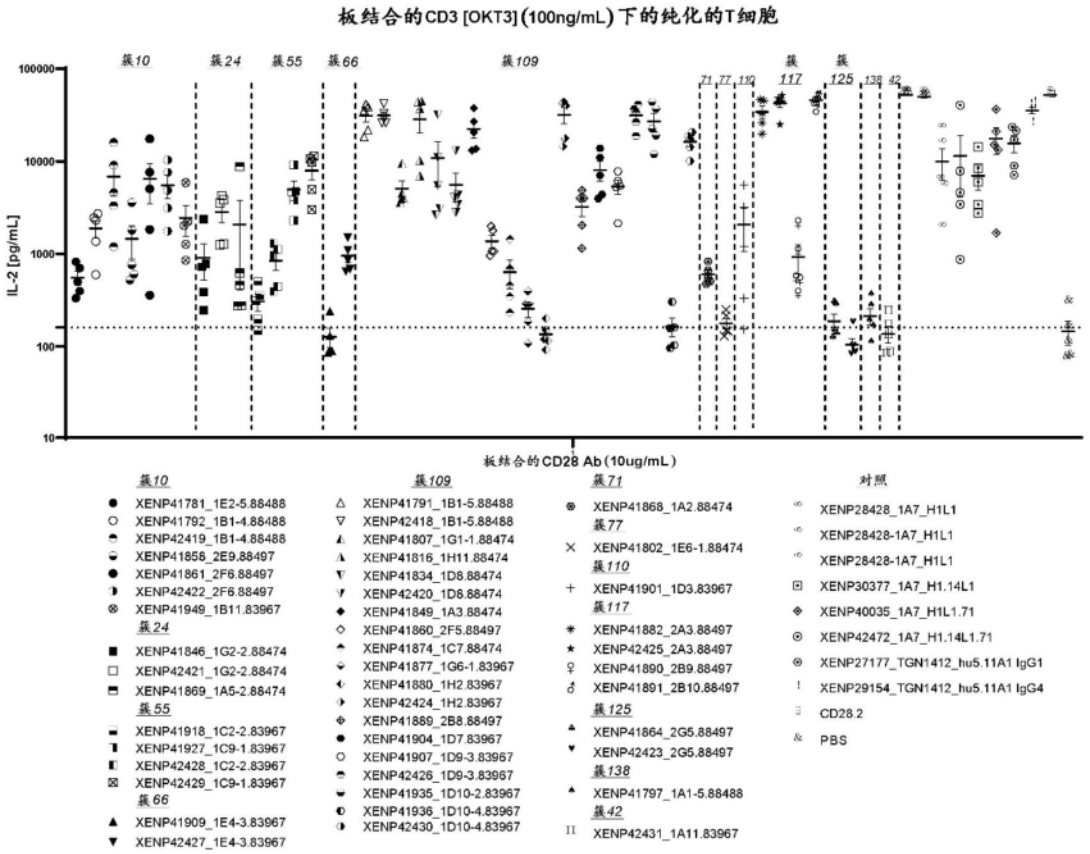

板结合的CD3 [OKT3] (100ng/mL) 下的纯化的T细胞
簇10
簇24
簇55
簇66
簇109
簇117
簇125
IL-2 [pg/mL]
100000
10000
1000
100
10
板结合的CD28 Ab (10ug/mL)
簇10
XENP41781_1E2-5.88488
XENP41792_1B1-4.88488
XENP42419_1B1-4.88488
XENP41858_2E9.88497
XENP41861_2F6.88497
XENP42422_2F6.88497
XENP41949_1B11.83967
簇24
XENP41846_1G2-2.88474
XENP42421_1G2-2.88474
XENP41869_1A5-2.88474
簇55
XENP41918_1C2-2.83967
XENP41927_1C9-1.83967
XENP42428_1C2-2.83967
XENP42429_1C9-1.83967
簇66
XENP41909_1E4-3.83967
XENP42427_1E4-3.83967
簇109
XENP41791_1B1-5.88488
XENP42418_1B1-5.88488
XENP41807_1G1-1.88474
XENP41816_1H11.88474
XENP41834_1D8.88474
XENP42420_1D8.88474
XENP41849_1A3.88474
XENP41860_2F5.88497
XENP41874_1C7.88474
XENP41877_1G6-1.83967
XENP41880_1H2.83967
XENP42424_1H2.83967
XENP41889_2B8.88497
XENP41904_1D7.83967
XENP41907_1D9-3.83967
XENP42426_1D9-3.83967
XENP41935_1D10-2.83967
XENP41936_1D10-4.83967
XENP42430_1D10-4.83967
簇71
XENP41868_1A2.88474
簇77
XENP41802_1E6-1.88474
簇110
XENP41901_1D3.83967
簇117
XENP41882_2A3.88497
XENP42425_2A3.88497
XENP41890_2B9.88497
XENP41891_2B10.88497
簇125
XENP41864_2G5.88497
XENP42423_2G5.88497
簇138
XENP41797_1A1-5.88488
簇42
XENP42431_1A11.83967
对照
XENP28428_1A7_H1L1
XENP28428-1A7_H1L1
XENP28428-1A7_H1L1
XENP30377_1A7_H1.14L1
XENP40035_1A7_H1L1.71
XENP42472_1A7_H1.14L1.71
XENP27177_TGN1412_hu5.11A1 IgG1
XENP29154_TGN1412_hu5.11A1 IgG4
CD28.2
PBS

图79

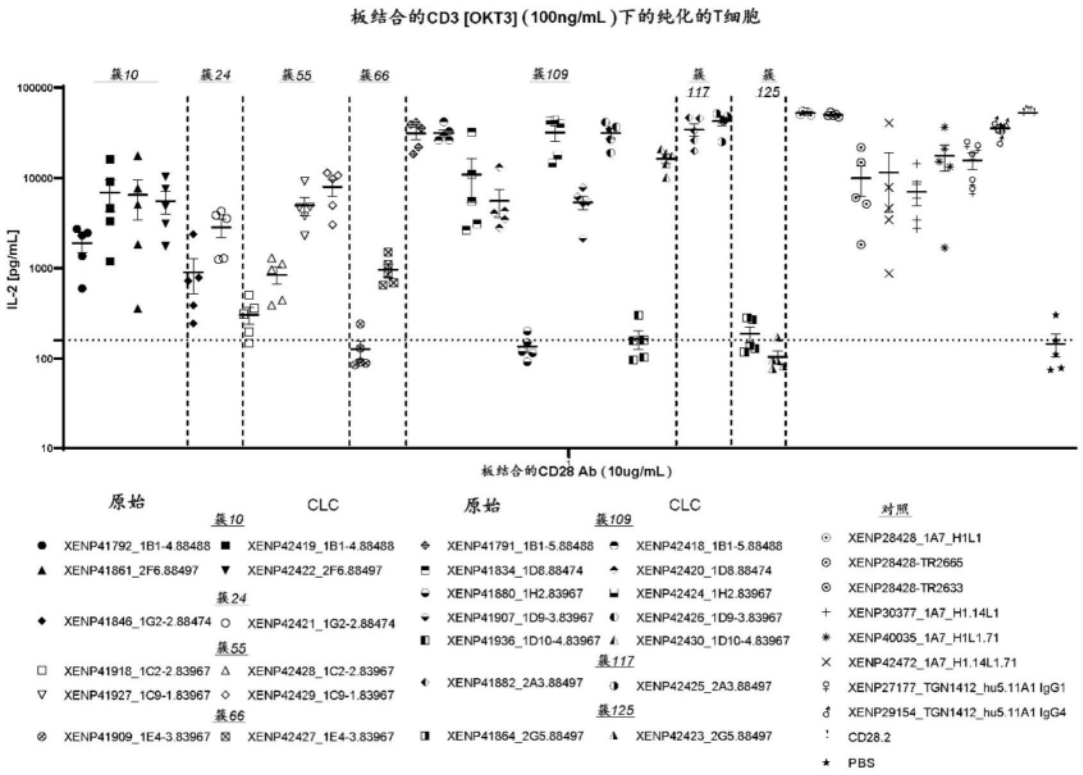

板结合的CD3 [OKT3] (100ng/mL)下的纯化的T细胞
簇10
簇24
簇55
簇66
簇109
簇117
簇125
IL-2 [pg/mL]
100000
10000
1000
100
10
板结合的CD28 Ab (10ug/mL)
原始
CLC
簇10
XENP41792_1B1-4.88488
XENP42419_1B1-4.88488
XENP41861_2F6.88497
XENP42422_2F6.88497
簇24
XENP41846_1G2-2.88474
XENP42421_1G2-2.88474
簇55
XENP41918_1C2-2.83967
XENP42428_1C2-2.83967
XENP41927_1C9-1.83967
XENP42429_1C9-1.83967
簇66
XENP41909_1E4-3.83967
XENP42427_1E4-3.83967
原始
CLC
簇109
XENP41791_1B1-5.88488
XENP42418_1B1-5.88488
XENP41834_1D8.88474
XENP42420_1D8.88474
XENP41880_1H2.83967
XENP42424_1H2.83967
XENP41907_1D9-3.83967
XENP42426_1D9-3.83967
XENP41936_1D10-4.83967
XENP42430_1D10-4.83967
簇117
XENP41882_2A3.88497
XENP42425_2A3.88497
簇125
XENP41864_2G5.88497
XENP42423_2G5.88497
对照
XENP28428_1A7_H1L1
XENP28428-TR2665
XENP28428-TR2633
XENP30377_1A7_H1.14L1
XENP40035_1A7_H1L1.71
XENP42472_1A7_H1.14L1.71
XENP27177_TGN1412_hu5.11A1 IgG1
XENP29154_TGN1412_hu5.11A1 IgG4
CD28.2
PBS

图80

CD28.3[CD28]_H0L0

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVKLQQSGAELVKPGASVRLSCKASGYTFTEYIIHWIKLRSGQGLEW IGWFYPGSNDIQYNAKFKGKATLTADKSSSTVYMELTGLTSEDSAVY FCARRDDFSGYDALPYWGQGTMVTVSS	2799
vhCDR1	EYIIH	2800
vhCDR2	WFYPGSNDIQYNAKFKG	2801
vhCDR3	RDDFSGYDALPY	2802
可变轻(vl)结构域	DIQMTQSPASLSVSVGETVTITCRTNENIYSNLAWYQQKQGKSPQLL IYAATHLVEGVPSRFSGSGSGTQYSLKITSLQSEDFGNYYCQHFWGT PCTFGGGTKLEIK	2803
vlCDR1	RTNENIYSNLA	2804
vlCDR2	AATHLVE	2805
vlCDR3	QHFWGTPCT	2806

hCD28.3[CD28]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	QVQLQQSGAELKKPGASVKVSCKASGYTFTEYIIHWIKLRSGQGLEW IGWFYPGSNDIQYNAQFKGKATLTADKSSSTVYMELTGLTPEDSAVY FCARRDDFSGYDALPYWGQGTLVTVSA	2807
vhCDR1	EYIIH	2808
vhCDR2	WFYPGSNDIQYNAQFKG	2809
vhCDR3	RDDFSGYDALPY	2810
可变轻(vl)结构域	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKTNENIYSNLAWYQQKDGKSPQLL IYAATHLVEGVPSRFSGSGSGTQYSLTISSLQPEDFGNYYCQHFWGT PCTFGGGTKLEIK	2811
vlCDR1	KTNENIYSNLA	2812
vlCDR2	AATHLVE	2813
vlCDR3	QHFWGTPCT	2814

图81

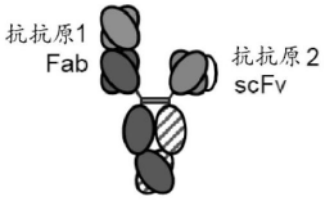


图82A

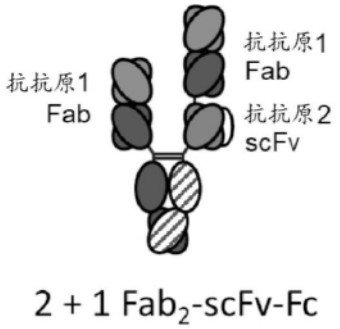


图82B

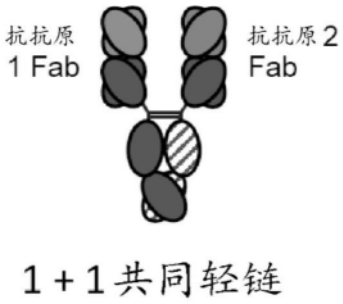


图82C

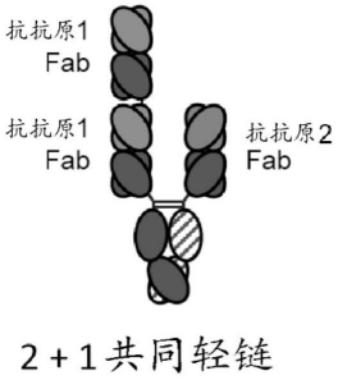


图82D

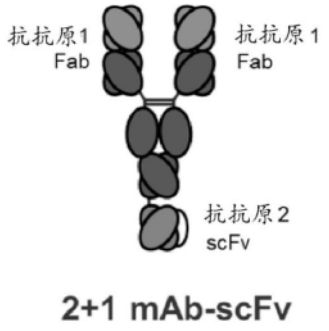


图82E

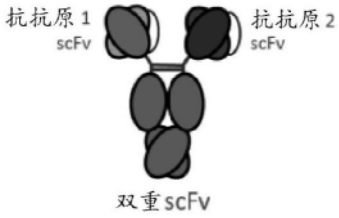


图82F

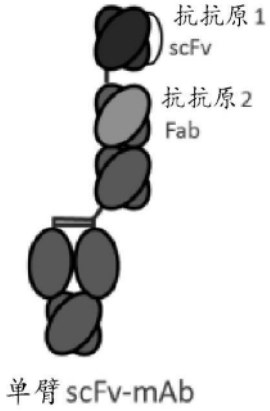


图82G

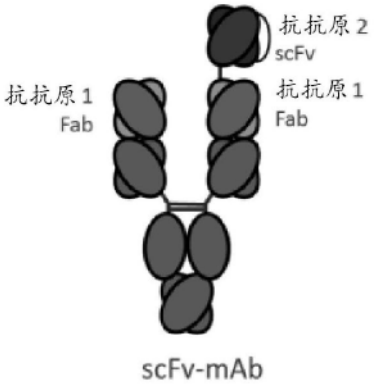


图82H

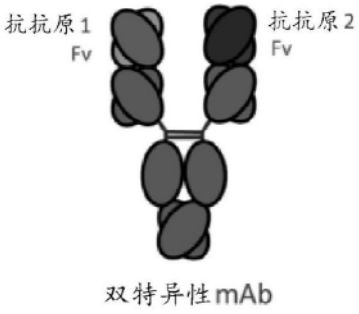


图82I

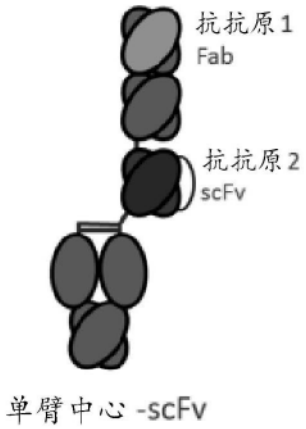


图82J

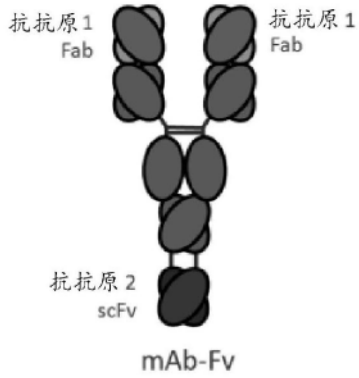


图82K

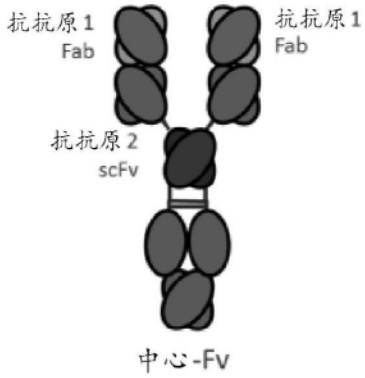


图82L

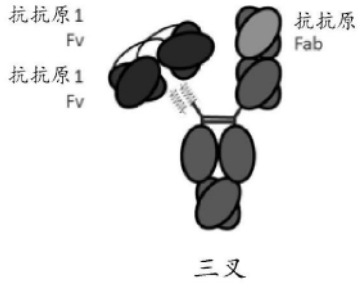


图82M

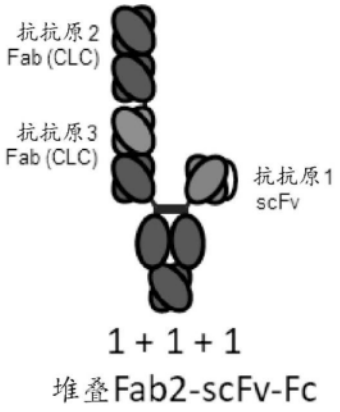


图83A

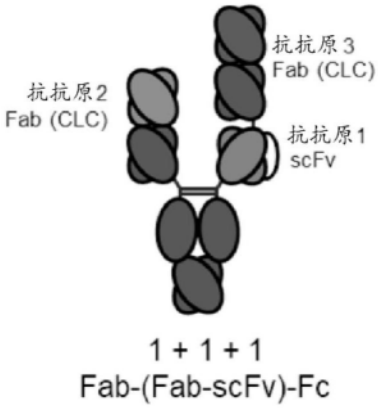


图83B

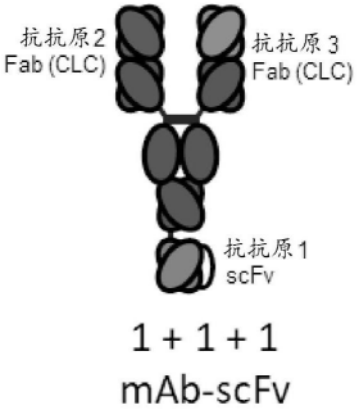


图83C

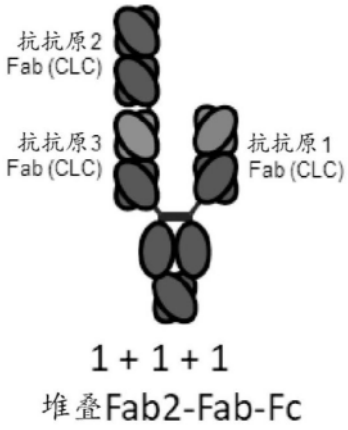


图83D

>XENP34963阿维鲁单抗 [PD-L1]_H1L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配 _A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链 1 - 阿维鲁单抗[PD-L1]_H1_IgG1_pI(-)_同配 _A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1125)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGITFYADTVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIKLGTVTTVDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWE
SDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2 - 1A7[CD28]_H1.14_L1_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1126)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQSYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 3 - 阿维鲁单抗[PD-L1]_L1 轻链 (SEQ ID NO:1127)

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTI
SGLQAEDEADYYCSSYTSSSTRVFGTGTKVTVL/GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWK
ADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

>XENP36233 2G4[PD-L1]_H1L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配 _A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链 1 - 2G4[PD-L1]_H1_IgG1_pI(-)_同配 _A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1128)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRSGDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2 - 1A7[CD28]_H1.14_L1_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1129)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQSYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 3 - 2G4[PD-L1]_L1 轻链 (SEQ ID NO:1130)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSSSISSSNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图84A

XENP36764 2G4[PD-L1]_H1L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链1 - 2G4[PD-L1]_H1_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S (SEQ ID NO:1131)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRSGDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A7[CD28]_H1.14_L1_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S (SEQ ID NO:1132)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQSYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
LHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链3 - 2G4[PD-L1]_L1轻链 (SEQ ID NO:1133)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSSSISSSNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP37261 2G4[PD-L1]_H1L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链1 - 2G4[PD-L1]_H1_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1134)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRSGDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1135)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链3 - 2G4[PD-L1]_L1 (SEQ ID NO:1136)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSSSISSSNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图84B

>XENP37412 2G4[PD-L1]_H1L1_Fab-1A7[CD28]_L1_H1.14_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链 1 - 2G4[PD-L1]_H1_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1140)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRSGDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2 - 1A7[CD28]_L1_H1.14_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO: 3466)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDFATYYCQQSYSTPFTFGQGTKLEIK/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
GFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPG
LRQVGFDYWGQGTLVTVSS/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 3 - 2G4[PD-L1]_L1 (SEQ ID NO:1141)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSSSISSSNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP37559 2G4[PD-L1]_H1L1_Fab-1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链 1 - 2G4[PD-L1]_H1_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1142)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRSGDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2 - 1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1143)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 3 - 2G4[PD-L1]_L1 (SEQ ID NO:1144)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSSSISSSNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图84C

>XENP37561 2G4[PD-L1]_H1L1_Fab-1A7[CD28]_L1.71_H1.14_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链1 - 2G4[PD-L1]_H1_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1148)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRSGDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A7[CD28]_L1.71_H1.14_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1149)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDFATYYCQQVYSTPFTFGQGTKLEIK/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
GFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPG
LRQVGFDYWGQGTLVTVSS/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链3 - 2G4[PD-L1]_L1 (SEQ ID NO:1150)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSSSISSSNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP38482 2G4[PD-L1]_H1.1_L1.1_Fab-1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链1 - 2G4[PD-L1]_H1.1_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1151)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFPSRDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRSGDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1152)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链3 - 2G4[PD-L1]_L1.1轻链 (SEQ ID NO:1153)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSSSISSSNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWWSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图84D

>XENP38490 2G4[PD-L1]_H1.9_L1_Fab-1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链1 - 2G4[PD-L1]_H1.9_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1154)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFRDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRSGDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1155)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链3 - 2G4[PD-L1]_L1 (SEQ ID NO:1156)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSSSISSSNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP38494 2G4[PD-L1]_H1.10_L1.23_Fab-1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链1 - 2G4[PD-L1]_H1.10_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1157)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRSGDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1158)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链3 - 2G4[PD-L1]_L1.23轻链 (SEQ ID NO:1159)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSLSIQSSNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTNLLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图84E

>XENP38502 2G4[PD-L1]_H1_L1.25_Fab-1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链1 - 2G4[PD-L1]_H1_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1160)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRSGDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1161)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链3 - 2G4[PD-L1]_L1.25 轻链 (SEQ ID NO:1162)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSSSIQPSNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP38506 2G4[PD-L1]_H1.8_L1.26_Fab-1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链1 - 2G4[PD-L1]_H1.8_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1163)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSSDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRSGDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1164)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链3 - 2G4[PD-L1]_L1.26 轻链 (SEQ ID NO:1165)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASSSIQDSNLHWYQQKPGQSPRLLIYGTSNLRSGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图84F

>XENP38510 2G4[PD-L1]_H1_L1.27_Fab-1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链1 - 2G4[PD-L1]_H1_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1166)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRSGDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1167)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链3 - 2G4[PD-L1]_L1.27 轻链 (SEQ ID NO:1168)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSSSIQGSNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP38512 2G4[PD-L1]_H1.12_L1.24_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链1 - 2G4[PD-L1]_H1.12_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1169)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSVYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRSLDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1170)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链3 - 2G4[PD-L1]_L1.24 轻链 (SEQ ID NO:1171)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSSSIQSTNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTSVLATGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图84G

>XENP38514 2G4[PD-L1]_H1.12_L1.24_Fab-1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链1 - 2G4[PD-L1]_H1.12_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1172)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSVYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRSLDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1173)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链3 - 2G4[PD-L1]_L1.24 (SEQ ID NO:1174)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSSSIQSTNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTSVLATGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP38518 2G4[PD-L1]_H1.14_L1.26_Fab-1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链1 - 2G4[PD-L1]_H1.14_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1175)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSSDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRSLDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1176)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链3 - 2G4[PD-L1]_L1.26轻链 (SEQ ID NO:1177)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASSSIQDSNLHWYQQKPGQSPRLLIYGTSNLRSGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图84H

>XENP38522 2G4[PD-L1]_H1.59_L1.60_Fab-1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链 1 - 2G4[PD-L1]_H1.59_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1178)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFHSRDMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGGRFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRSGDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2 - 1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1179)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 3 - 2G4[PD-L1]_L1.60 轻链 (SEQ ID NO:1180)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASSSISSSNLHWYQQKPGQSPRLLIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLWTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP38526 2G4[PD-L1]_H1.60_L1.60_Fab-1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链 1 - 2G4[PD-L1]_H1.60_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1181)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSSDMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRSLDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2 - 1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1182)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 3 - 2G4[PD-L1]_L1.60 轻链 (SEQ ID NO:1183)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASSSISSSNLHWYQQKPGQSPRLLIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLWTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图84I

>XENP38580 2G4[PD-L1]_H1_L1.29_Fab-1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链 1 - 2G4[PD-L1]_H1_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1184)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRSGDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2 - 1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1185)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 3 - 2G4[PD-L1]_L1.29 轻链 (SEQ ID NO:1186)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSSRIVLSNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTSVLATGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLWTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP38584 2G4[PD-L1]_H1.4_L1.23_Fab-1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链 1 - 2G4[PD-L1]_H1.4_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1187)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRSLDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2 - 1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1188)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 3 - 2G4[PD-L1]_L1.23 (SEQ ID NO:1189)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSLSIQSSNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTNLLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图84J

>XENP38585 2G4[PD-L1]_H1.4_L1.24_Fab-1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链 1 - 2G4[PD-L1]_H1.4_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1190)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRSLDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2 - 1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1191)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 3 - 2G4[PD-L1]_L1.24 (SEQ ID NO:1192)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSSSIQSTNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTSVLATGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP38586 2G4[PD-L1]_H1.61_L1.61_Fab-1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链 1 - 2G4[PD-L1]_H1.61_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1193)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRSLDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2 - 1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1194)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 3 - 2G4[PD-L1]_L1.61 轻链 (SEQ ID NO:1195)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASLSIQSSNLHWYQQKPGQSPRLLIYGTNLLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图84K

XENP38587 2G4[PD-L1]_H1.61_L1.62_Fab-1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链1 - 2G4[PD-L1]_H1.61_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1196)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRSLDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1197)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链3 - 2G4[PD-L1]_L1.62轻链(SEQ ID NO:1198)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASSSIQSTNLHWYQQKPGQSPRLLIYGTSVLATGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP39153 2G4[PD-L1]_H1.62_L1.63_Fab-1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链1 - 2G4[PD-L1]_H1.62_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1199)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRSGDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A7[CD28]_H1_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1200)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链3 - 2G4[PD-L1]_L1.63轻链(SEQ ID NO:1201)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASSSISSSNLHWYQQKPGQSPRLLIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图84L

>XENP39363 2G4[PD-L1]_H1.4_L1.23_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链 1 - 2G4[PD-L1]_H1.4_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1202)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRSLDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2 - 1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1203)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 3 - 2G4[PD-L1]_L1.23 (SEQ ID NO:1204)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSLSIQSSNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTNLLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP39364 2G4[PD-L1]_H1.4_L1.23_Fab-1A7[CD28]_H1.1_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链 1 - 2G4[PD-L1]_H1.4_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1205)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRSLDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2 - 1A7[CD28]_H1.1_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1206)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 3 - 2G4[PD-L1]_L1.23 (SEQ ID NO:1207)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSLSIQSSNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTNLLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图84M

>XENP39365 2G4[PD-L1]_H1.4_L1.23_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链1 - 2G4[PD-L1]_H1.4_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1208)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRSLDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A7[CD28]_H1.14_L1_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1209)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQSYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链3 - 2G4[PD-L1]_L1.23 (SEQ ID NO:1210)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSLSIQSSNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTNLLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP39366 2G4[PD-L1]_H1.4_L1.24_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链1 - 2G4[PD-L1]_H1.4_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1211)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRSLDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1212)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链3 - 2G4[PD-L1]_L1.24 (SEQ ID NO:1213)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSSSIQSTNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTSVLATGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图84N

>XENP39367 2G4[PD-L1]_H1.4_L1.24_Fab-1A7[CD28]_H1.1_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链 1 - 2G4[PD-L1]_H1.4_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1214)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRSLDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2 - 1A7[CD28]_H1.1_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1215)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 3 - 2G4[PD-L1]_L1.24 (SEQ ID NO:1216)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSSSIQSTNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTSVLATGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP39368 2G4[PD-L1]_H1.4_L1.24_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链 1 - 2G4[PD-L1]_H1.4_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1217)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRSLDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2 - 1A7[CD28]_H1.14_L1_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1218)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQSYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 3 - 2G4[PD-L1]_L1.24 (SEQ ID NO:1219)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSSSIQSTNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTSVLATGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图840

>XENP40036 2G4[PD-L1]_H1.12_L1.24_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链1 - 2G4[PD-L1]_H1.12_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1222)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSVYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRSLDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1223)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链3 - 2G4[PD-L1]_L1.24 轻链 (SEQ ID NO:1224)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSSSIQSTNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTSVLATGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图84P

>XENP40403 2G4[PD-L1]_H1.12_L1.66_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链1 - 2G4[PD-L1]_H1.12_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1225)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSVYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRSLDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1226)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链3 - 2G4[PD-L1]_L1.66 轻链 (SEQ ID NO:1227)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSSSIQSTNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTSNLATGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图84R

>XENP40405 2G4[PD-L1]_H1.12_L1.68_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链 1 - 2G4[PD-L1]_H1.12_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1228)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSVYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRSLDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2 - 1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1229)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 3 - 2G4[PD-L1]_L1.68 轻链 (SEQ ID NO:1230)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSSSIQSTNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图84Q

>XENP40409 2G4[PD-L1]_H1.12_L1.14_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链 1 - 2G4[PD-L1]_H1.12_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO:1231)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSVYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRSLDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2 - 1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1232)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 3 - 2G4[PD-L1]_L1.14 轻链 (SEQ ID NO:1233)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSSSIQSSNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图84R

>XENP42047 XPL1-13G1[PD-L1]_H1L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链1 - XPL1-13G1[PD-L1]_H1_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO: 2913)

QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSSSYTNYADSVKGRFTISRDNAKN
SLYLQMNSLRAEDTAVYYCASHFVILPGAIRPEYFQHWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDK
THTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDI
AVEWESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO: 2914)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链3 - XPL1-13G1[PD-L1]_L1 (SEQ ID NO: 2915)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP42048 XPL1-13G7[PD-L1]_H1_6B1_L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链1 - XPL1-13G7[PD-L1]_H1_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO: 2916)

QVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLPPFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEW
ESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO: 2917)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链3 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO: 2918)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图84S

>XENP42049 XPL1-13G7[PD-L1]_H2_6B1_L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链1 - XPL1-13G7[PD-L1]_H2_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO: 2919)

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLPPFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEW
ESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO: 2920)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链3 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO: 2921)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图84T

>XENP34961阿维鲁单抗[PD-L1]_H1L1_Fab-阿维鲁单抗[PD-L1]_H1L1_Fab_(G4S)2_1A7[CD28]_H1.14_L1_scFv(GKPGS)4_(G4S)2-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(222)_IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q

链1 - 阿维鲁单抗[PD-L1]_H1_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(222)_IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1237)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGITFYADTVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIKLGTVTTVDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWE
SDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 阿维鲁单抗[PD-L1]_H1_(G4S)2_1A7[CD28]_H1.14_L1_scFv(GKPGS)4_(G4S)2_Fc(222)_IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO:1238)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGITFYADTVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIKLGTVTTVDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV/EPKSCGGGGSG
GGGS/EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISR
DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQ
SPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF
ATYYCQQSYSTPFTFGQGTKLEIK/GGGGSGGGGSKTHTCPPCP/APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链3 - 阿维鲁单抗[PD-L1]_L1 轻链 (SEQ ID NO:1239)

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTI
SGLQAEDEADYYCSSYTSSSTRVFGTGTKVTVL/GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWK
ADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

图85

>XENP36803 2G4[PD-L1]_H1L1_Fab-2G4[PD-L1]_H1L1_Fab-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S/K447del_(G4S)3_1A7[CD28]_H1.14_L1_scFv(GKPGS)4

链1 - 2G4[PD-L1]_H1_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S (SEQ ID NO:1243)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRSGDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链2 - 2G4[PD-L1]_H1_IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S/K447del_(G4S)3_1A7[CD28]_H1.14_L1_scFv(GKPGS)4 (SEQ ID NO:1244)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGGSFTHYPDSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRSGDWYFDVWGAGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSP/GGGGGSGGGGSGGGG
S/EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPS
SLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY
YCQQSYSTPFTFGQGTKLEIK

链3 - 2G4[PD-L1]_L1 轻链 (SEQ ID NO:1245)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRVSSSISSSNLHWYQQKPGQSPRPLIYGTSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTLTIS
RLEPEDFAVYYCQQWSSYPLYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图86

>XENP42051 XPL2-5C11[PD-L2]_H2L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链 1 - XPL2-5C11[PD-L2]_H2_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO: 2922)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFRNYAITWVRQAPGQGLEWMGRIIPILAIANYAQKFQGRVTITADKSTS
TVYMELSSLRSEDTAVYYCATDLGIAAAGRAEYFQHWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKT
HTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIA
VEWESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2 - 1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO: 2923)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 3 - XPL2-5C11[PD-L2]_L1 (SEQ ID NO: 2924)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP42052 XPL2-8G2[PD-L2]_H2L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链 1 - XPL2-8G2[PD-L2]_H2_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO: 2925)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGVNFRNYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIPVVGKAHYEQKFQGRVTITADKSTT
TAYMELSSLRSEDTAVYYCARDGPGIGVAGRGYYFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDK
THTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDI
AVEWESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2 - 1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO: 2926)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 3 - XPL2-8G2[PD-L2]_L1 (SEQ ID NO: 2927)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图87A

>XENP42053 XPL2-8G5[PD-L2]_H3L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链1 - XPL2-8G5[PD-L2]_H3_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO: 2928)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGSLRNYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIYILGIANYAQKFQGRVTITADKSTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCARSGSQQLIEGADAFDIWGQGTMVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKT
HTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIA
VEWESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO: 2929)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链3 - XPL2-8G5[PD-L2]_L1 (SEQ ID NO: 2930)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP42054 XPL2-16G11[PD-L2]_H2_6B1_L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q

链1 - XPL2-16G11[PD-L2]_H2_IgG1_pI(-)_同配_A_/PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO: 2931)

QVQLQESGSGLVKPPGTLSLTCAVSGGSISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGSTNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWE
SDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO: 2932)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链3 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO: 2933)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图87B

>XENP42324 XPL1-13G1[PD-L1]_H1L1_Fab_(G4S)2_XPL2-5C11[PD-L2]_H2L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F

链1 - XPL1-13G1[PD-L1]_H1_(G4S)2_XPL2-5C11[PD-L2]_H2_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO: 2940)

QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSSSYTNYADSVKGRFTISRDNAKN
SLYLQMNSLRAEDTAVYYCASHFVILPGAIRPEYFQHWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSC/G
GGGSGGGGS/QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFRNYAITWVRQAPGQGLEWMGRIIPILAIANYAQKFQGR
VTITADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCATDLGIAAAGRAEYFQHWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTS
GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDK
KVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCD
VSGFYPSDIAVEWESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK

链2 - 1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F (SEQ ID NO: 2941)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNRFTQKSLSLSPGK

链3 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO: 2942)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP42325 XPL1-13G1[PD-L1]_H1L1_Fab_(G4S)2_XPL2-8G2[PD-L2]_H2L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F

链1 - XPL1-13G1[PD-L1]_H1_(G4S)2_XPL2-8G2[PD-L2]_H2_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO: 2943)

QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSSSYTNYADSVKGRFTISRDNAKN
SLYLQMNSLRAEDTAVYYCASHFVILPGAIRPEYFQHWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSC/G
GGGSGGGGS/QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGVNFRNYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIPVVGKAHYEQKFQGR
VTITADKSTTTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDGPGIGVAGRGYYFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVD
KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC
DVSGFYPSDIAVEWESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS
PGK

图88A

链2 -
1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F (SEQ ID NO: 2944)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNRFTQKSLSLSPGK
链3 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO: 2945)
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP42326 XPL1-13G1[PD-L1]_H1L1_Fab_(G4S)2_XPL2-8G5[PD-L2]_H3L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F
链1 - XPL1-13G1[PD-L1]_H1_(G4S)2_XPL2-8G5[PD-L2]_H3_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO: 2946)
QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSSSYTNYADSVKGRFTISRDNAKN
SLYLQMNSLRAEDTAVYYCASHFVILPGAIRPEYFQHWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSC/G
GGGSGGGGS/QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGSLRNYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIYILGIANYAQKFQGR
VTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSGSQQLIEGADAFDIWGQGTMVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTS
GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDK
KVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCD
VSGFYPSDIAVEWESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK
链2 -
1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F (SEQ ID NO: 2947)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNRFTQKSLSLSPGK
链3 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO: 2948)
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图88B

>XENP42327 XPL1-13G1[PD-L1]_H1L1_Fab_(G4S)2_XPL2-16G11[PD-L2]_H2_6B1_L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F

链1 - XPL1-13G1[PD-L1]_H1_(G4S)2_XPL2-16G11[PD-L2]_H2_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO: 2949)

QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSSSYTNYADSVKGRFTISRDNAKN
SLYLQMNSLRAEDTAVYYCASHFVILPGAIRPEYFQHWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSC/G
GGGSGGGGS/QVQLQESGSGLVKPPGTLSLTCAVSGGSISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGSTNYNPSLKSR
VTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA
ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEP
KSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEE
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGF
YPSDIAVEWESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F (SEQ ID NO: 2950)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNRFTQKSLSLSPGK

链3 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO: 2951)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP42328 XPL1-13G7[PD-L1]_H2_6B1_L1_Fab_(G4S)2_XPL2-5C11[PD-L2]_H2L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F

链1 - XPL1-13G7[PD-L1]_H2_(G4S)2_XPL2-5C11[PD-L2]_H2_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO: 2952)

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLPPFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSC/GGGGS
GGGGS/QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFRNYAITWVRQAPGQGLEWMGRIIPILAIANYAQKFQGRVTIT
ADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCATDLGIAAAGRAEYFQHWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA
ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEP
KSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEE
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGF
YPSDIAVEWESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图88C

链 2 -
1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F (SEQ ID NO: 2953)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNRFTQKSLSLSPGK

链 3 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO: 2954)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP42329 XPL1-13G7[PD-L1]_H2_6B1_L1_Fab_(G4S)2_XPL2-8G2[PD-L2]_H2L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F

链 1 - XPL1-13G7[PD-L1]_H2_(G4S)2_XPL2-8G2[PD-L2]_H2_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO: 2955)

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLPPFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSC/GGGGS
GGGGS/QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGVNFRNYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIPVVGKAHYEQKFQGRVTIT
ADKSTTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDGPGIGVAGRGYYFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT
AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVE
PKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
EYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSG
FYPSDIAVEWESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2 -
1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F (SEQ ID NO: 2956)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNRFTQKSLSLSPGK

链 3 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO: 2957)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图88D

>XENP42330 XPL1-13G7[PD-L1]_H2_6B1_L1_Fab_(G4S)2_XPL2-8G5[PD-L2]_H3L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F

链1 - XPL1-13G7[PD-L1]_H2_(G4S)2_XPL2-8G5[PD-L2]_H3_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO: 2958)

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLPPFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSC/GGGGS
GGGGS/QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGSLRNYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIYILGIANYAQKFQGRVTIT
ADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSGSQQLIEGADAFDIWGQGTMVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA
ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEP
KSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEE
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGF
YPSDIAVEWESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F (SEQ ID NO: 2959)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNRFTQKSLSLSPGK

链3 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO: 2960)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP42331 XPL1-13G7[PD-L1]_H2_6B1_L1_Fab_(G4S)2_XPL2-16G11[PD-L2]_H2_6B1_L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F

链1 - XPL1-13G7[PD-L1]_H2_(G4S)2_XPL2-16G11[PD-L2]_H2_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO: 2961)

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLPPFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSC/GGGGS
GGGGS/QVQLQESGSGLVKPPGTLSLTCAVSGGSISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGSTNYNPSLKSRVTIS
VDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCD
KTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSD
IAVEWESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图88E

链2 -
1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F (SEQ ID NO: 2962)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNRFTQKSLSLSPGK

链3 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO: 2963)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP42332 XPL2-5C11[PD-L2]_H2L1_Fab_(G4S)2_XPL1-13G1[PD-L1]_H1L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F

链1 - XPL2-5C11[PD-L2]_H2_(G4S)2_XPL1-13G1[PD-L1]_H1_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO: 2964)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFRNYAITWVRQAPGQGLEWMGRIIPILAIANYAQKFQGRVTITADKSTS
TVYMELSSLRSEDTAVYYCATDLGIAAAGRAEYFQHWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSC/GG
GGSGGGGS/QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSSSYTNYADSVKGRF
TISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASHFVILPGAIRPEYFQHWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTS
GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDK
KVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCD
VSGFYPSDIAVEWESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK

链2 -
1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F (SEQ ID NO: 2965)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNRFTQKSLSLSPGK

链3 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO: 2966)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图88F

>XENP42333 XPL2-5C11[PD-L2]_H2L1_Fab_(G4S)2_XPL1-13G7[PD-L1]_H2_6B1_L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F

链1 - XPL2-5C11[PD-L2]_H2_(G4S)2_XPL1-13G7[PD-L1]_H2_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO: 2967)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFRNYAITWVRQAPGQGLEWMGRIIPILAIANYAQKFQGRVTITADKSTS
TVYMELSSLRSEDTAVYYCATDLGIAAAGRAEYFQHWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSC/GG
GGSGGGGS/QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVT
ISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLPPFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA
ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEP
KSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEE
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGF
YPSDIAVEWESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F (SEQ ID NO: 2968)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNRFTQKSLSLSPGK

链3 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO: 2969)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP42334 XPL2-8G2[PD-L2]_H2L1_Fab_(G4S)2_XPL1-13G1[PD-L1]_H1L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F

链1 - XPL2-8G2[PD-L2]_H2_(G4S)2_XPL1-13G1[PD-L1]_H1_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO: 2970)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGVNFRNYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIPVVGKAHYEQKFQGRVTITADKSTT
TAYMELSSLRSEDTAVYYCARDGPGIGVAGRGYYFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSC/G
GGGSGGGGS/QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSSSYTNYADSVKGR
FTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASHFVILPGAIRPEYFQHWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVD
KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC
DVSGFYPSDIAVEWESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS
PGK

图88G

链2 -
1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F (SEQ ID NO: 2971)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNRFTQKSLSLSPGK
链3 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO: 2972)
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP42335 XPL2-8G2[PD-L2]_H2L1_Fab_(G4S)2_XPL1-13G7[PD-L1]_H2_6B1_L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F
链1 - XPL2-8G2[PD-L2]_H2_(G4S)2_XPL1-13G7[PD-L1]_H2_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO: 2973)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGVNFRNYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIPVVGKAHYEQKFQGRVTITADKSTT
TAYMELSSLRSEDTAVYYCARDGPGIGVAGRGYYFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSC/G
GGGSGGGGS/QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRV
TISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLPPFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT
AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVE
PKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
EYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSG
FYPSDIAVEWESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
链2 -
1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F (SEQ ID NO: 2974)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNRFTQKSLSLSPGK
链3 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO: 2975)
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图88H

>XENP42336 XPL2-8G5[PD-L2]_H3L1_Fab_(G4S)2_XPL1-13G1[PD-L1]_H1L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F

链1 - XPL2-8G5[PD-L2]_H3_(G4S)2_XPL1-13G1[PD-L1]_H1_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO: 2976)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGSLRNYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIYILGIANYAQKFQGRVTITADKSTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCARSGSQQLIEGADAFDIWGQGTMVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSC/GG
GGSGGGGS/QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSSSYTNYADSVKGRF
TISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASHFVILPGAIRPEYFQHWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTS
GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDK
KVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCD
VSGFYPSDIAVEWESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK

链2 - 1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F (SEQ ID NO: 2977)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNRFTQKSLSLSPGK

链3 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO: 2978)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP42337 XPL2-8G5[PD-L2]_H3L1_Fab_(G4S)2_XPL1-13G7[PD-L1]_H2_6B1_L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F

链1 - XPL2-8G5[PD-L2]_H3_(G4S)2_XPL1-13G7[PD-L1]_H2_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO: 2979)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGSLRNYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIYILGIANYAQKFQGRVTITADKSTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCARSGSQQLIEGADAFDIWGQGTMVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSC/GG
GGSGGGGS/QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVT
ISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLPPFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA
ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEP
KSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEE
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGF
YPSDIAVEWESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图88I

链2 -
1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F (SEQ ID NO: 2980)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNRFTQKSLSLSPGK
链3 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO: 2981)
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP42338 XPL2-16G11[PD-L2]_H2_6B1_L1_Fab_(G4S)2_XPL1-13G1[PD-L1]_H1L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F
链1 - XPL2-16G11[PD-L2]_H2_(G4S)2_XPL1-13G1[PD-L1]_H1_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO: 2982)
QVQLQESGSGLVKPPGTLSLTCAVSGGSISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGSTNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSC/GGGGSG
GGGS/QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSSSYTNYADSVKGRFTISR
DNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASHFVILPGAIRPEYFQHWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA
ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEP
KSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEE
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGF
YPSDIAVEWESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
链2 -
1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F (SEQ ID NO: 2983)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNRFTQKSLSLSPGK
链3 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO: 2984)
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图88J

>XENP42339 XPL2-16G11[PD-L2]_H2_6B1_L1_Fab_(G4S)2_XPL1-13G7[PD-L1]_H2_6B1_L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F

链 1 - XPL2-16G11[PD-L2]_H2_(G4S)2_XPL1-13G7[PD-L1]_H2_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO: 2985)

QVQLQESGSGLVKPPGTLSLTCAVSGGSISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGSTNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSC/GGGGSG
GGGS/QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVD
TSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLPPFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCD
KTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSD
IAVEWESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2 - 1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F (SEQ ID NO: 2986)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNRFTQKSLSLSPGK

链 3 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO: 2987)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP43461 XPL2-16G11[PD-L2]_H3.7_6B1_L1_Fab_(G4A)2_XPL1-13G7[PD-L1]_H2.18_6B1_L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链 1 - XPL2-16G11[PD-L2]_H3.7_(G4A)2_XPL1-13G7[PD-L1]_H2.18_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S (SEQ ID NO: 2988)

QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSISSSNWWGWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGLTNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCGGGGAGG
GGA/QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISGYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGPTNYNPSLKSRVTISVDT
SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLAPFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDK
THTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDI
AVEWESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

图88K

链2 -
1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S (SEQ ID NO: 2989)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
LHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链3 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO: 2990)
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP43462 XPL2-16G11[PD-L2]_H3.7_6B1_L1_Fab_(G4A)2_XPL1-13G7[PD-L1]_H2.18_6B1_L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_SS_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S
链1 - XPL2-16G11[PD-L2]_H3.7_Fab_(G4A)2_XPL1-13G7[PD-L1]_H2.18_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S (SEQ ID NO: 2991)
QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSISSSNWWGWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGLTNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCGGGGAGG
GGA/QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISGYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGPTNYNPSLKSRVTISVDT
SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLAPFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDK
THTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDI
AVEWESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK
链2 -
1A7[CD28]_H1.14_L1.71_SS_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S (SEQ ID NO: 2992)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKCLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGCGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
LHEALHSHYTQKSLSLSPGK
链3 - 6B1_L1 (SEQ ID NO: 2993)
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图88L

>XENP43465 1F12A4.249[PD-L2]_H1.1_L1_Fab_(G4A)2_2A3A4.248[PD-L1]_H1.9_L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链1 - 1F12A4.249[PD-L2]_H1.1_(G4A)2_2A3A4.248[PD-L1]_H1.9_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S (SEQ ID NO: 2994)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCGGGGAGG
GGA/QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPAFGYPAYAQKFQGRVTITAD
ESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCD
KTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSD
IAVEWESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S (SEQ ID NO: 2995)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
LHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链3 - IGKV1-39_L1 (SEQ ID NO: 2996)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图88M

XENP42971 XPL1-13G7[PD-L1]_H2_6B1_L1_Fab-XPL2-16G11[PD-L2]_H2_6G1_L1_Fab_(G4S)2_1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_(G4S)2-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(222)_IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q

链1 - XPL1-13G7[PD-L1]_H2_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO: 3057)

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLPPFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEW
ESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链2 - XPL2-16G11[PD-L2]_H2_(G4S)2_1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_(G4S)2_Fc(222)_IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO: 3058)

QVQLQESGSGLVKPPGTLSLTCAVSGGSISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGSTNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGGGGSGG
GGS/EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRD
NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQS
PSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA
TYYCQQVYSTPFTFGQGTKLEIK/GGGGSGGGGSKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
VKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链3 - 6B1_L1 (SEQ ID NO: 3059)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图89A

XENP42973 XPL1-13G7[PD-L1]_H2_6B1_L1_Fab-XPL2-16G11[PD-L2]_H2_6G1_L1_Fab_(G4S)2_1A7[CD28]_L1.71_H1.14_scFv(GKPGS)4_(G4S)2-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S-Fc(222)_IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q

链 1 - XPL1-13G7[PD-L1]_H2_IgG1_pI(-)_同配 _A_PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO: 3063)

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLPPFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEW
ESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2 - XPL2-16G11[PD-L2]_H2_(G4S)2_1A7[CD28]_L1.71_H1.14_scFv(GKPGS)4_(G4S)2_Fc(222)_IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q (SEQ ID NO: 3064)

QVQLQESGSGLVKPPGTLSLTCAVSGGSISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGSTNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGGGGSGG
GGS/DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL
TISSLQPEDFATYYCQQVYSTPFTFGQGTKLEIK/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EVQLLESGGGLVQPGGSLRLS
CAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK
SGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GGGGSGGGGSKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
VKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 3 - 6B1_L1 (SEQ ID NO: 3065)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图89B

>XENP42347 XPL1-13G7[PD-L1]_H2_6B1_L1_Fab-XPL2-16G11[PD-L2]_H2_6B1_L1_Fab-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S-IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F/K447del_(G4S)3_1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4

链 1 - XPL1-13G7[PD-L1]_H2_IgG1_pI(-)_同配 _A_PVA_/S267K/L368D/K370S (SEQ ID NO: 3117)

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLPPFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEW
ESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

链 2 - XPL2-16G11[PD-L2]_H2_IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/H435R/Y436F/K447del_(G4S)3_1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4 (SEQ ID NO: 3118)

QVQLQESGSGLVKPPGTLSLTCAVSGGSISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGSTNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPG/GGGGSGGGGSGG
GGS/EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRD
NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQS
PSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA
TYYCQQVYSTPFTFGQGTKLEIK

链 3 - XPL1-6B1_L1 (SEQ ID NO: 3119)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图90

>XENP43400 XPL1-13G7[PD-L1]_H2.18_6B1_L1_Fab-XPL2-16G11[PD-L2]_H3.7_6B1_L1_Fab_(GKPGS)2_1A3.88474[CD28]_H1L1_Fab-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链 1 - XPL1-13G7[PD-L1]_H2.18_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3120)

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISGYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGPTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLAPFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEW
ESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链 2 - XPL2-16G11[PD-L2]_H3.7_(GKPGS)2_1A3.88474[CD28]_H1_IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3121)

QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSISSSNWWGWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGLTNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGKPGSGK
PGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAFGFTFSNYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSASFADSVRGRFTISRD
NAKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARADSSSWYLFDNWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT
HTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIA
VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链 3 - 6B1_L1 (SEQ ID NO: 3122)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图91A

>XENP43402 XPL1-13G7[PD-L1]_H2.18_6B1_L1_Fab-1A3.88474[CD28]_H1L1_Fab_(GKPGS)2_XPL2-16G11[PD-L2]_H3.7_6B1_L1_Fab-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链 1 - XPL1-13G7[PD-L1]_H2.18_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3126)

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISGYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGPTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLAPFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEW
ESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链 2 - 1A3.88474[CD28]_H1_(GKPGS)2_XPL2-16G11[PD-L2]_H3.7_IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3127)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAFGFTFSNYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSASFADSVRGRFTISRDNAKN
TLYLQLNSLRAEDTAVYYCARADSSSWYLFDNWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGKPGSGK
PGS/QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSISSSNWWGWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGLTNYNPSLKSRVTISVD
KSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT
HTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIA
VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链 3 - 6B1_L1 (SEQ ID NO: 3128)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图91B

>XENP43404 XPL2-16G11[PD-L2]_H3.7_6B1_L1_Fab-XPL1-13G7[PD-L1]_H2.18_6B1_L1_Fab_(GKPGS)2_1A3.88474[CD28]_H1L1_Fab-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链1 - XPL2-16G11[PD-L2]_H3.7_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3132)

QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSISSSNWWGWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGLTNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWE
SDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链2 - XPL1-13G7[PD-L1]_H2.18_Fab_(GKPGS)2_1A3.88474[CD28]_H1_IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3133)

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISGYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGPTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLAPFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGKPGSG
KPGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAFGFTFSNYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSASFADSVRGRFTISR
DNAKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARADSSSWYLFDNWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK
THTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链3 - 6B1_L1 (SEQ ID NO: 3134)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图91C

>XENP43405 XPL2-16G11[PD-L2]_H3.7_6B1_L1_Fab-XPL2-1A3.88474[CD28]_H1L1_Fab_(GKPGS)2_XPL1-13G7[PD-L1]_H2.18_6B1_L1_Fab-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链1 - XPL2-16G11[PD-L2]_H3.7_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3135)

QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSISSSNWWGWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGLTNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWE
SDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链2 - XPL2-1A3.88474[CD28]_H1_(GKPGS)2_XPL1-13G7[PD-L1]_H2.18_IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3136)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAFGFTFSNYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSASFADSVRGRFTISRDNAKN
TLYLQLNSLRAEDTAVYYCARADSSSWYLFDNWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGKPGSGK
PGS/QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISGYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGPTNYNPSLKSRVTISVDT
SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLAPFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK
THTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链3 - 6B1_L1 (SEQ ID NO: 3137)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图91D

>XENP43452 1A3.88474[CD28]_H1L1_Fab-XPL1-13G7[PD-L1]_H2.18_6B1_L1_Fab_(GKPGS)2_16G11[PD-L2]_H3.7_6B1_L1_Fab-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链1 - 1A3.88474[CD28]_H1_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3138)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAFGFTFSNYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSASFADSVRGRFTISRDNAKN
TLYLQLNSLRAEDTAVYYCARADSSSWYLFDNWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWE
SDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链2 - XPL1-13G7[PD-L1]_H2.18_(GKPGS)2_16G11[PD-L2]_H3.7_IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3139)

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISGYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGPTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ
FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLAPFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGKPGSG
KPGS/QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSISSSNWWGWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGLTNYNPSLKSRVTISV
DKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK
THTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链3 - 6B1_L1 (SEQ ID NO: 3140)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图91E

>XENP43453 1A3.88474[CD28]_H1L1_Fab-XPL2-16G11[PD-L2]_H3.7_6B1_L1_Fab_(GKPGS)2_XPL1-13G7[PD-L1]_H2.18_6B1_L1_Fab-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链1 - 1A3.88474[CD28]_H1_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3141)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAFGFTFSNYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSASFADSVRGRFTISRDNAKN
TLYLQLNSLRAEDTAVYYCARADSSSWYLFDNWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWE
SDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链2 - XPL2-16G11[PD-L2]_H3.7_Fab_(GKPGS)2_XPL1-13G7[PD-L1]_H2.18_Fab_IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3142)

QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSISSSNWWGWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGLTNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGKPGSGK
PGS/QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISGYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGPTNYNPSLKSRVTISVDT
SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLAPFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK
THTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链3 - 6B1_L1 (SEQ ID NO: 3143)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图91F

>XENP44281 1A7[CD28]_H1.106_IGKV1-39_L1_Fab-1F12A4.249[PD-L2]_H1.1_L1_Fab_(GKPGS)2_2A3A4.248[PD-L1]_H1.9_L1_Fab-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链1 - 1A7[CD28]_H1.106_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3147)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISERGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEW
ESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1F12A4.249[PD-L2]_H1.1_(GKPGS)2_2A3A4.248[PD-L1]_H1.9_IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3148)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGKPGSGK
PGS/QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPAFGYPAYAQKFQGRVTITAD
ESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
KTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链3 - IGKV1-39_L1 (SEQ ID NO: 3149)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图91G

>XENP44282 1A7[CD28]_H1.107_IGKV1-39_L1_Fab-1F12A4.249[PD-L2]_H1.1_L1_Fab_(GKPGS)2_2A3A4.248[PD-L1]_H1.9_L1_Fab-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链1 - 1A7[CD28]_H1.107_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3150)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESSDVTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEW
ESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1F12A4.249[PD-L2]_H1.1_(GKPGS)2_2A3A4.248[PD-L1]_H1.9_IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3151)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGKPGSGK
PGS/QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPAFGYPAYAQKFQGRVTITAD
ESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
KTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链3 - IGKV1-39_L1 (SEQ ID NO: 3152)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图91H

>XENP44283_1A7[CD28]_H1.111_IGKV1-39_L1_Fab-1F12A4.249[PD-L2]_H1.1_L1_Fab_(GKPGS)2_2A3A4.248[PD-L1]_H1.9_L1_Fab-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链1 - 1A7[CD28]_H1.111_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3171)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISERSDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEW
ESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1F12A4.249[PD-L2]_H1.1_(GKPGS)2_2A3A4.248[PD-L1]_H1.9_IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3172)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGKPGSGK
PGS/QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPAFGYPAYAQKFQGRVTITAD
ESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
KTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链3 - IGKV1-39_L1轻链 (SEQ ID NO: 3173)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图91I

>XENP44284 1A7[CD28]_H1.113_IGKV1-39_L1_Fab-1F12A4.249[PD-L2]_H1.1_L1_Fab_(GKPGS)2_2A3A4.248[PD-L1]_H1.9_L1_Fab-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链1 - 1A7[CD28]_H1.113_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3174)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISERTDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEW
ESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1F12A4.249[PD-L2]_H1.1_(GKPGS)2_2A3A4.248[PD-L1]_H1.9_IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3175)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGKPGSGK
PGS/QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPAFGYPAYAQKFQGRVTITAD
ESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
KTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链3 - IGKV1-39_L1 (SEQ ID NO: 3176)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图91J

>XENP44285 1A7[CD28]_H1.114_IGKV1-39_L1_Fab-1F12A4.249[PD-L2]_H1.1_L1_Fab_(GKPGS)2_2A3A4.248[PD-L1]_H1.9_L1_Fab-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链1 - 1A7[CD28]_H1.114_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3177)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTIAERGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEW
ESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1F12A4.249[PD-L2]_H1.1_(GKPGS)2_2A3A4.248[PD-L1]_H1.9_IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3178)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGKPGSGK
PGS/QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPAFGYPAYAQKFQGRVTITAD
ESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
KTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链3 - IGKV1-39_L1 (SEQ ID NO: 3179)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图91K

>XENP44286 1A7[CD28]_H1.118_IGKV1-39_L1_Fab-1F12A4.249[PD-L2]_H1.1_L1_Fab_(GKPGS)2_2A3A4.248[PD-L1]_H1.9_L1_Fab-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链1 - 1A7[CD28]_H1.118_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3180)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTIAESGDPTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEW
ESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1F12A4.249[PD-L2]_H1.1_(GKPGS)2_2A3A4.248[PD-L1]_H1.9_IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3181)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGKPGSGK
PGS/QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPAFGYPAYAQKFQGRVTITAD
ESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
KTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链3 - IGKV1-39_L1 (SEQ ID NO: 3182)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图91L

>XENP44287 1A7[CD28]_H1.125_IGKV1-39_L1_Fab-1F12A4.249[PD-L2]_H1.1_L1_Fab_(GKPGS)2_2A3A4.248[PD-L1]_H1.9_L1_Fab-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链1 - 1A7[CD28]_H1.125_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3183)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISEHGLSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEW
ESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1F12A4.249[PD-L2]_H1.1_(GKPGS)2_2A3A4.248[PD-L1]_H1.9_IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3184)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGKPGSGK
PGS/QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPAFGYPAYAQKFQGRVTITAD
ESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
KTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链3 - IGKV1-39_L1 (SEQ ID NO: 3185)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图91M

>XENP44288_1A7[CD28]_H1.129_IGKV1-39_L1_Fab-1F12A4.249[PD-L2]_H1.1_L1_Fab_(GKPGS)2_2A3A4.248[PD-L1]_H1.9_L1_Fab-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链1 - 1A7[CD28]_H1.129_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3186)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISERADSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEW
ESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1F12A4.249[PD-L2]_H1.1_(GKPGS)2_2A3A4.248[PD-L1]_H1.9_IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3187)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGKPGSGK
PGS/QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPAFGYPAYAQKFQGRVTITAD
ESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
KTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链3 - IGKV1-39_L1轻链(SEQ ID NO: 3188)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图91N

>XENP44289 1A7[CD28]_H1.130_IGKV1-39_L1_Fab-1F12A4.249[PD-L2]_H1.1_L1_Fab_(GKPGS)2_2A3A4.248[PD-L1]_H1.9_L1_Fab-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链1 - 1A7[CD28]_H1.130_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3189)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISERGDVTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEW
ESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1F12A4.249[PD-L2]_H1.1_(GKPGS)2_2A3A4.248[PD-L1]_H1.9_IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3190)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGKPGSGK
PGS/QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPAFGYPAYAQKFQGRVTITAD
ESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
KTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链3 - IGKV1-39_L1 (SEQ ID NO: 3191)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图910

>XENP44676 1A7[CD28]_H1.129_IGKV1-39_L1_Fab-1F12A4.249[PD-L2]_H1.45_L1_Fab_(GKPGS)2_2A3A4.248[PD-L1]_H1.9_L1_Fab-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链1 - 1A7[CD28]_H1.129_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3201)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISERADSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEW
ESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链2 - 1F12A4.249[PD-L2]_H1.45_(GKPGS)2_2A3A4.248[PD-L1]_H1.9_IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3202)

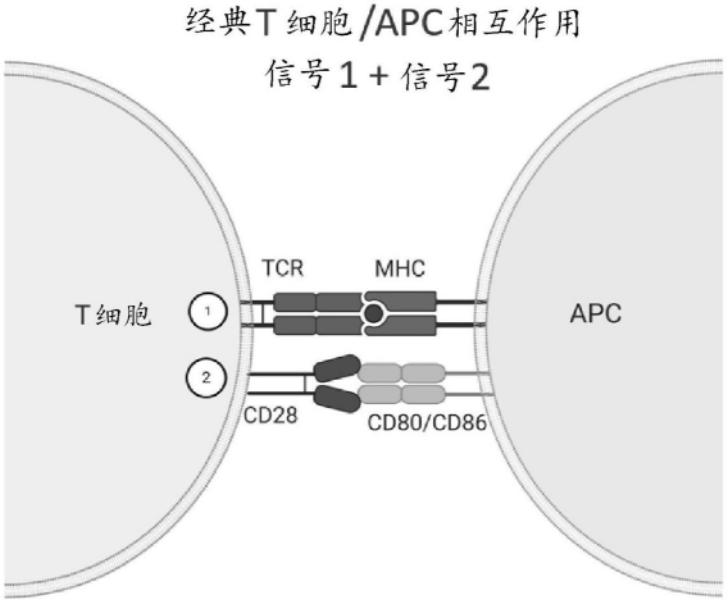
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGWTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGKPGSGK
PGS/QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPAFGYPAYAQKFQGRVTITAD
ESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
KTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链3 - IGKV1-39_L1 (SEQ ID NO: 3203)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图91P

A)


经典T细胞/APC相互作用
信号1+信号2
TCR
MHC
T细胞
APC
1
2
CD28
CD80/CD86

B)

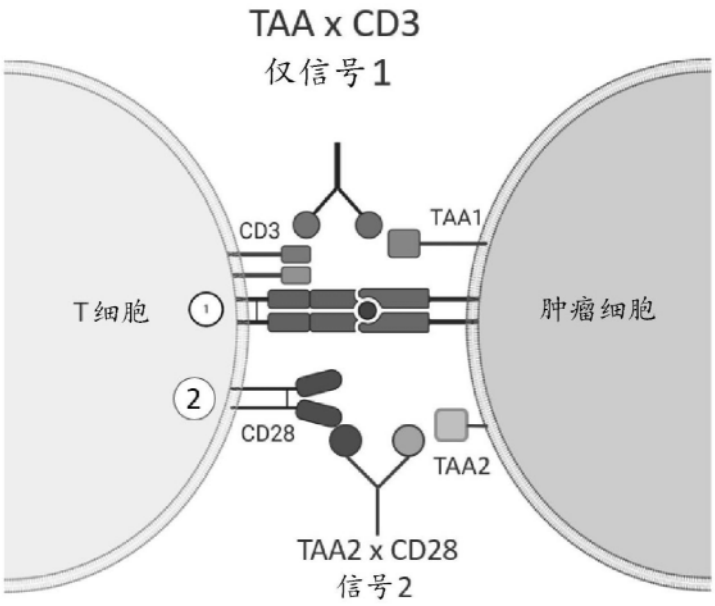

TAA x CD3
仅信号1
CD3
TAA1
T细胞
肿瘤细胞
1
2
CD28
TAA2
TAA2 x CD28
信号2

图92

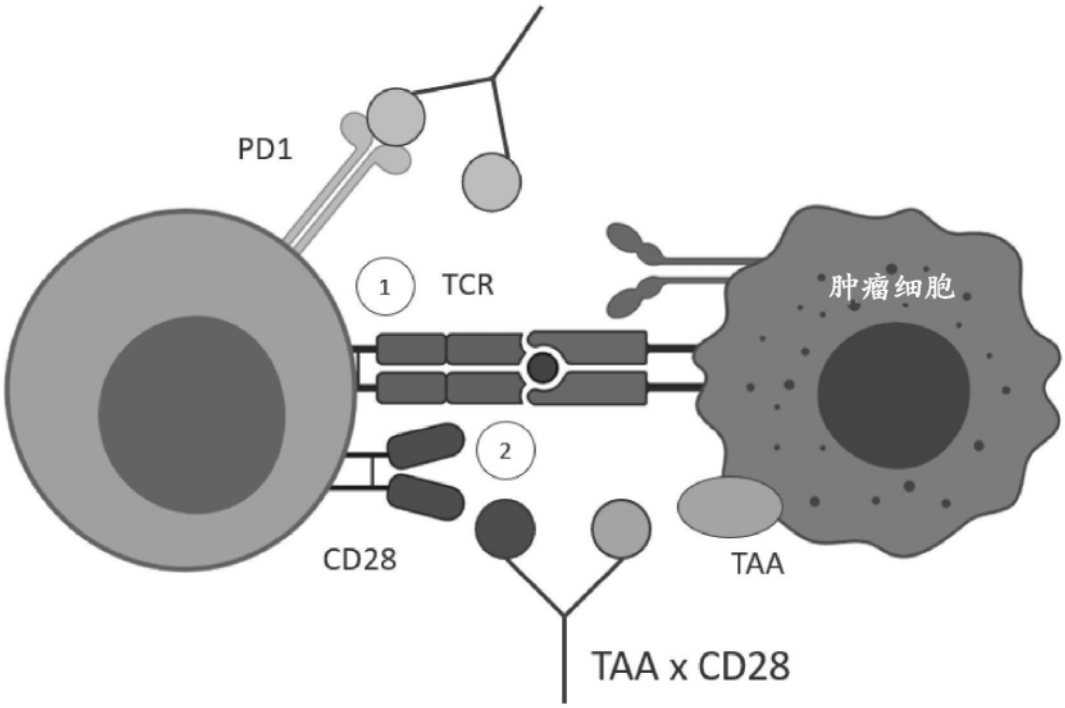

PD1
1
TCR
肿瘤细胞
2
CD28
TAA
TAA x CD28

图93

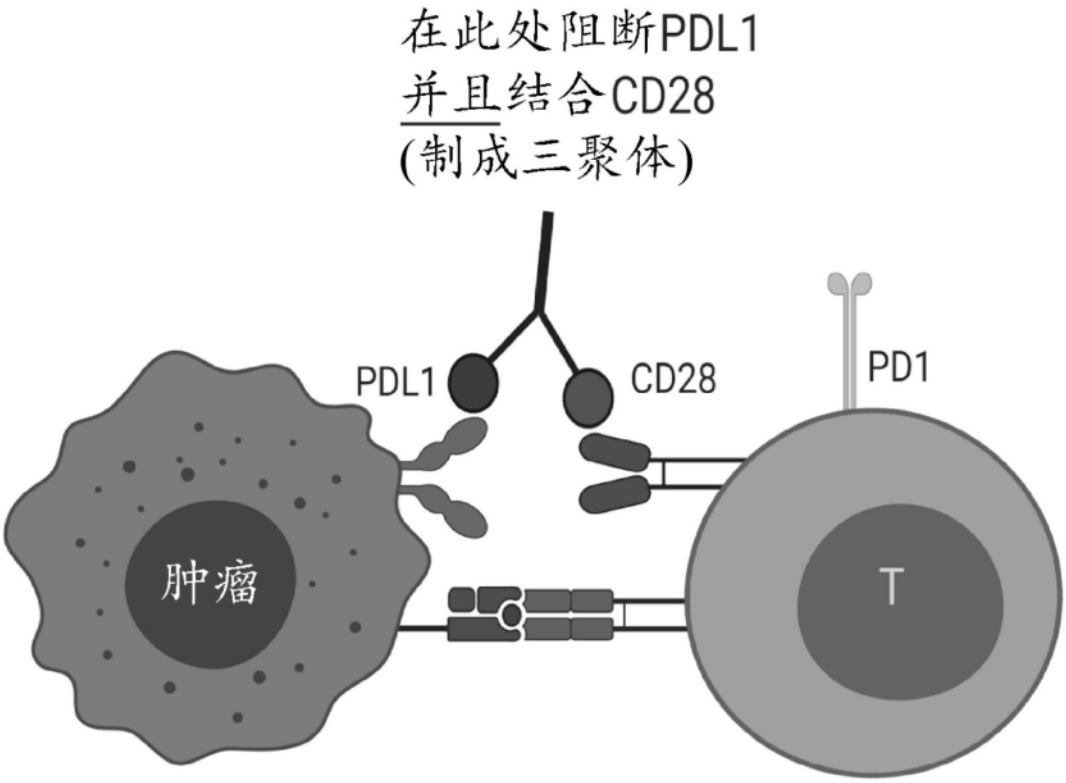

在此处阻断PDL1
并且结合CD28
(制成三聚体)
PDL1
CD28
PD1
肿瘤
T

图94

>XENP24118阿维鲁单抗[PD-L1]_H1L1_IgG1_PVA_/S267K

重链 - 阿维鲁单抗[PD-L1]_H1 (SEQ ID NO:1246)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGITFYADTVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIKLGTVTTVDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

轻链 - 阿维鲁单抗[PD-L1]_L1 (SEQ ID NO:1247)

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTI
SGLQAEDEADYYCSSYTSSSTRVFGTGTKVTVL/GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWK
ADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

图95

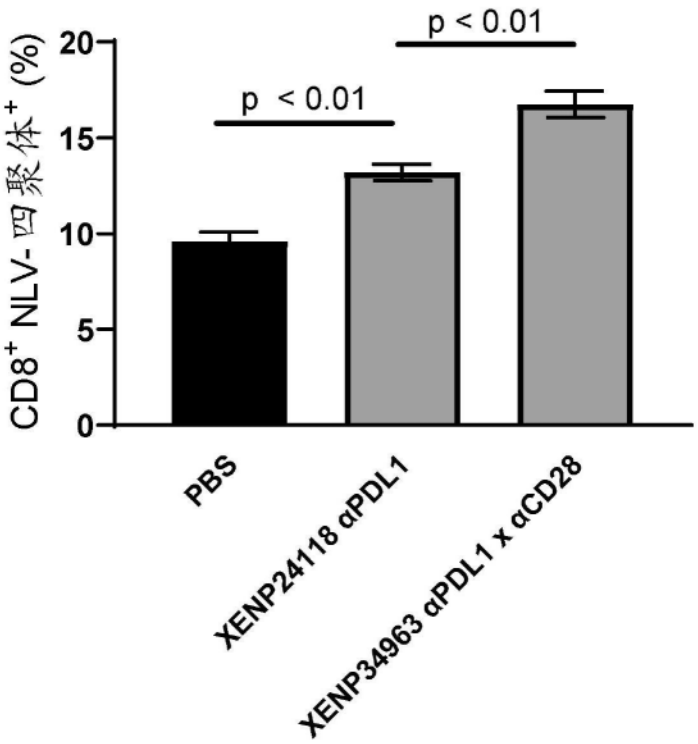


图96

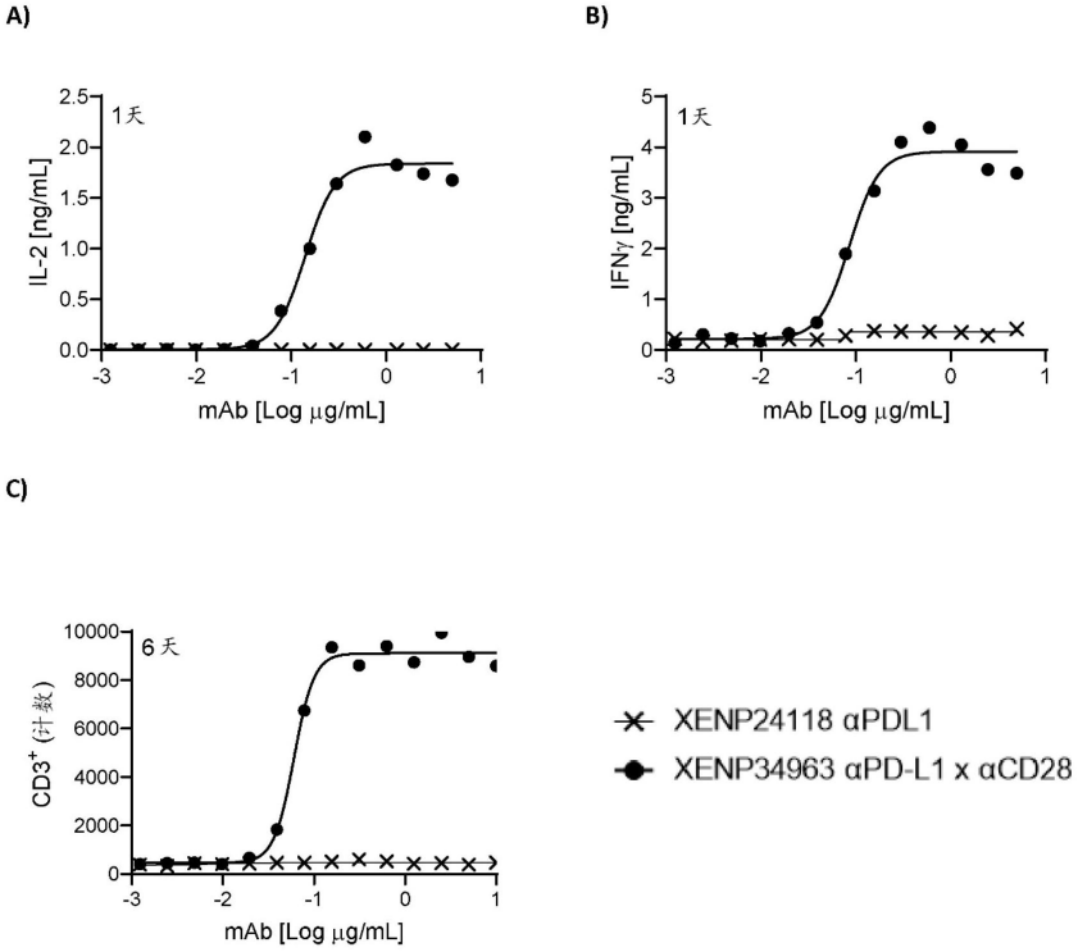

A)
B)
1天
IL-2 [ng/mL]
IFNγ [ng/mL]
mAb [Log μg/mL]
C)
6天
CD3+ (计数)
XENP24118 αPDL1
XENP34963 αPD-L1 x αCD28

图97

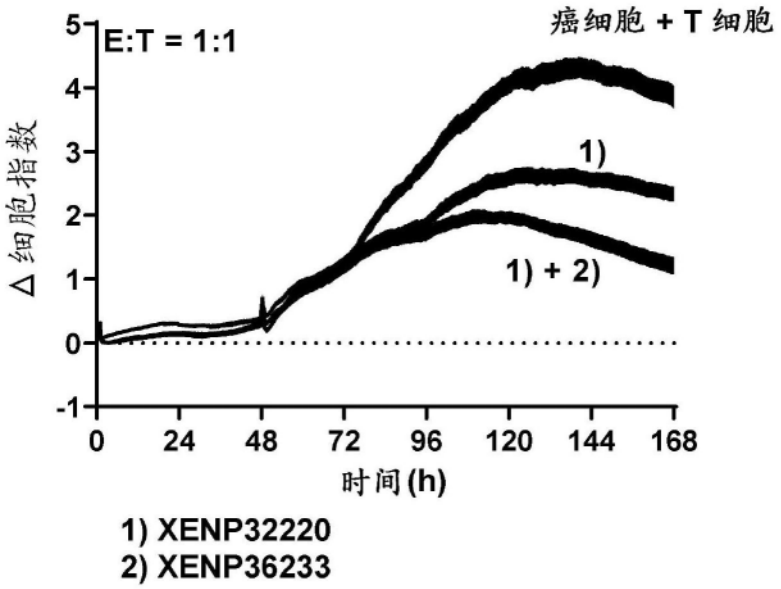

癌细胞 + T 细胞
E:T = 1:1
Δ 细胞指数
时间 (h)
1)
1) + 2)
1) XENP32220
2) XENP36233

图98

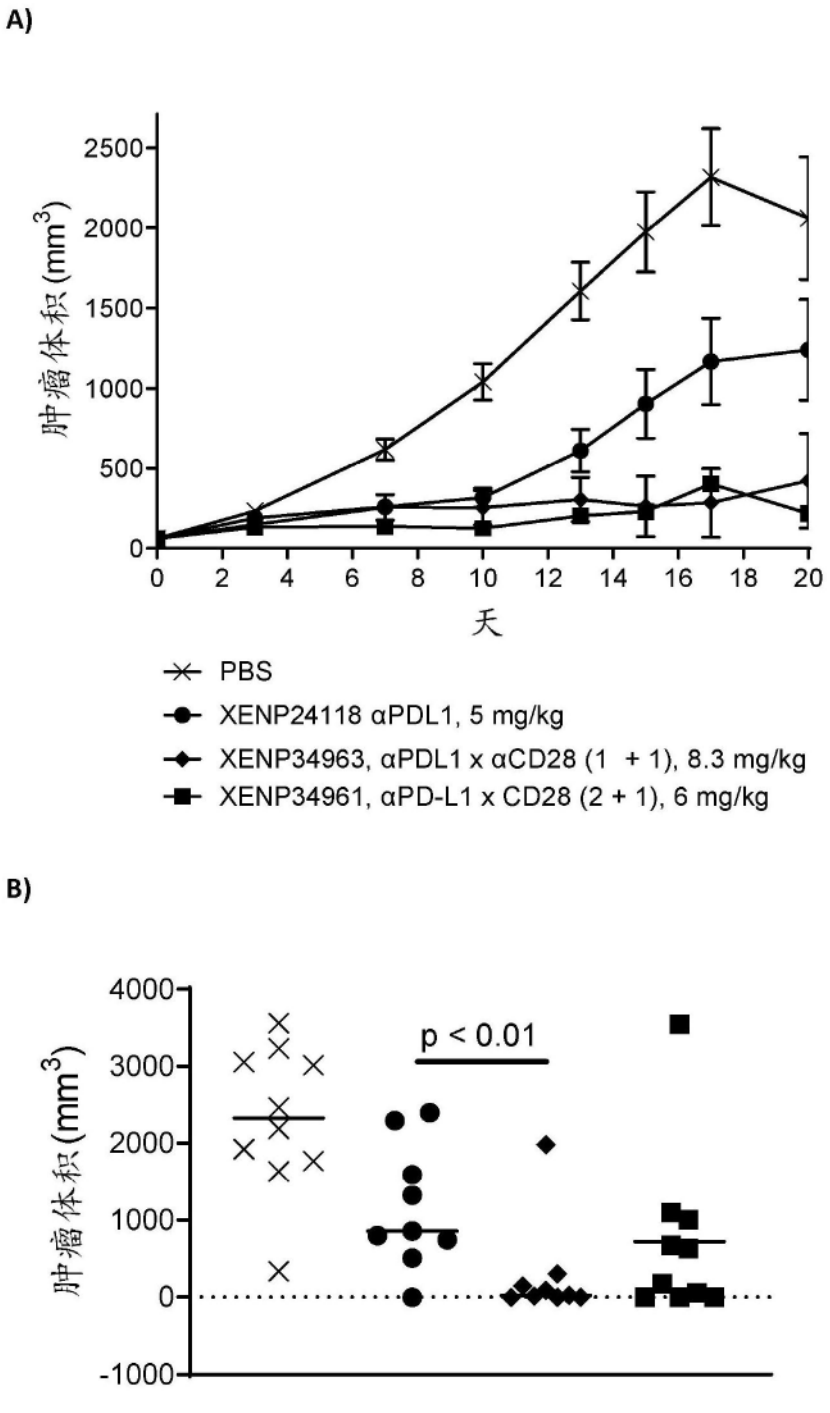

A)
肿瘤体积 (mm3)
2500
2000
1500
1000
500
0
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20
天
PBS
XENP24118 αPDL1, 5 mg/kg
XENP34963, αPDL1 x αCD28 (1 + 1), 8.3 mg/kg
XENP34961, αPD-L1 x CD28 (2 + 1), 6 mg/kg
B)
肿瘤体积 (mm3)
4000
3000
2000
1000
0
-1000
p < 0.01

图99

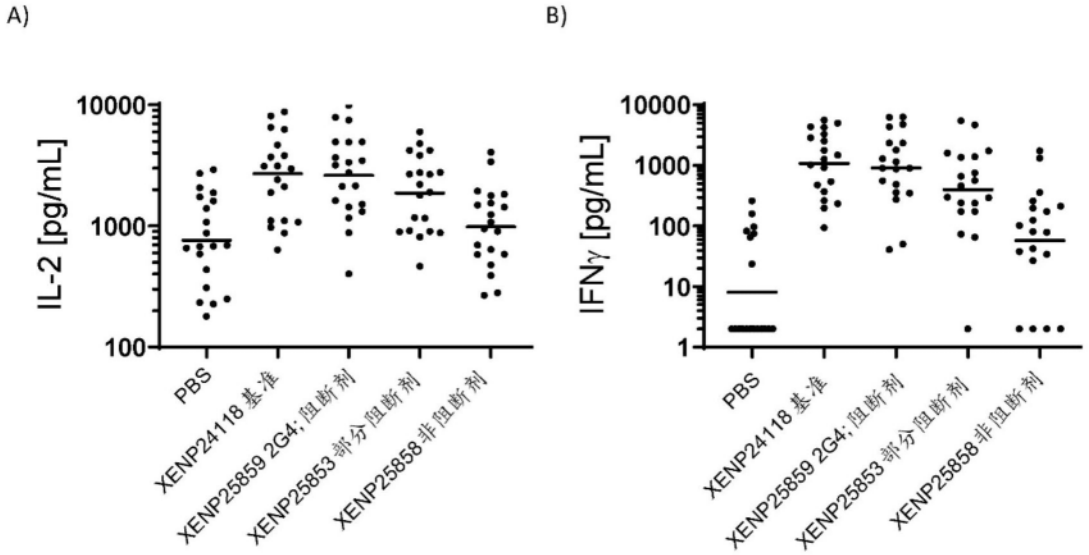

A)
B)
IL-2 [pg/mL]
IFNγ [pg/mL]
10000
1000
100
10
1
PBS
XENP24118 基准
XENP25859 2G4;阻断剂
XENP25853 部分阻断剂
XENP25858 非阻断剂

图100

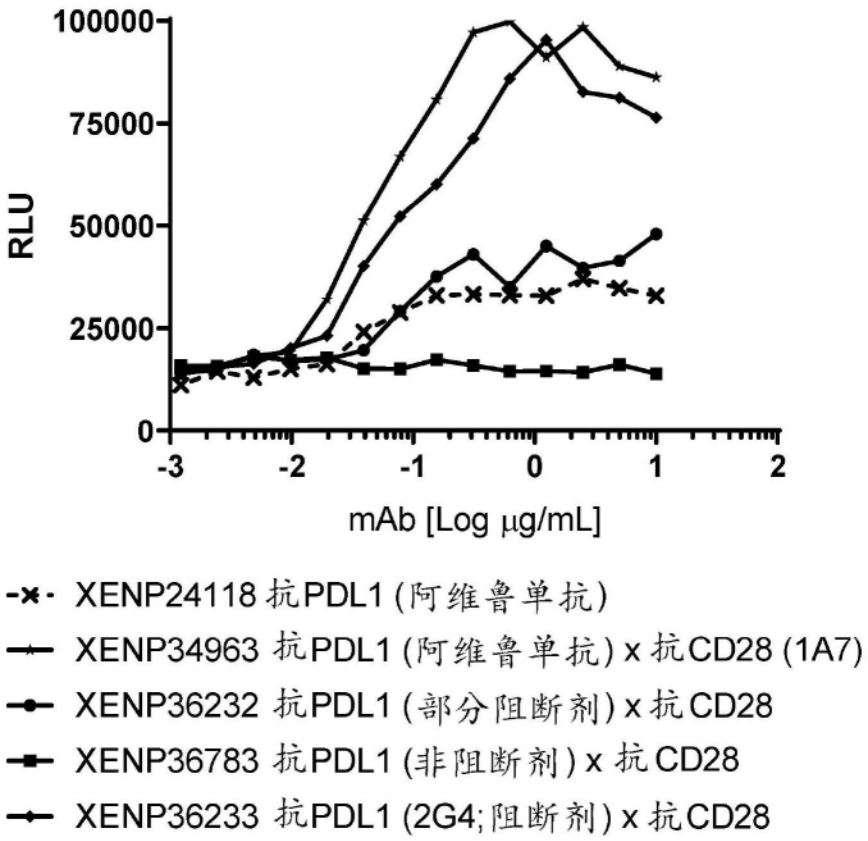

RLU
100000
75000
50000
25000
0
-3
-2
-1
0
1
2
mAb [Log μg/mL]
XENP24118 抗PDL1 (阿维鲁单抗)
XENP34963 抗PDL1 (阿维鲁单抗) x 抗CD28 (1A7)
XENP36232 抗PDL1 (部分阻断剂) x 抗CD28
XENP36783 抗PDL1 (非阻断剂) x 抗CD28
XENP36233 抗PDL1 (2G4;阻断剂) x 抗CD28

图101

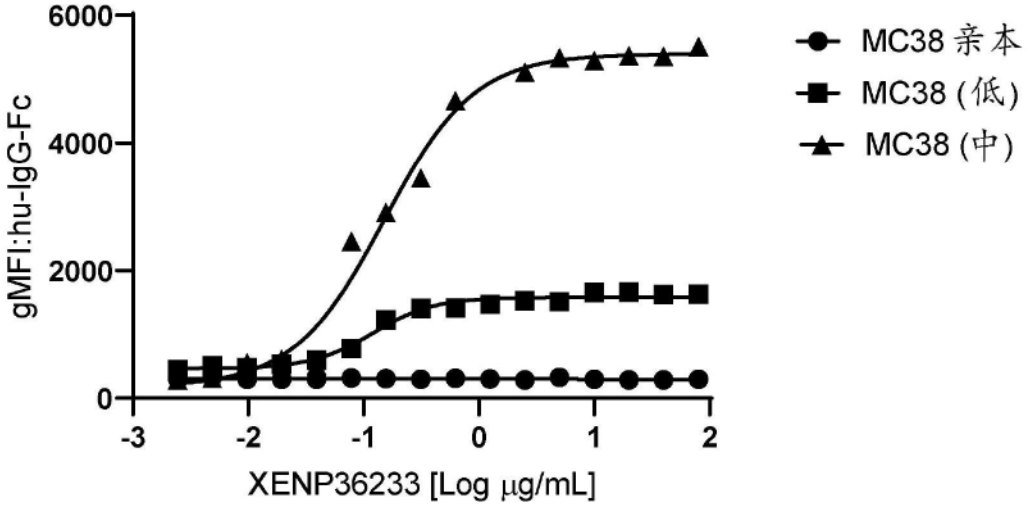

6000
4000
2000
0
gMFI:hu-IgG-Fc
-3
-2
-1
0
1
2
XENP36233 [Log μg/mL]
MC38 亲本
MC38 (低)
MC38 (中)

图102

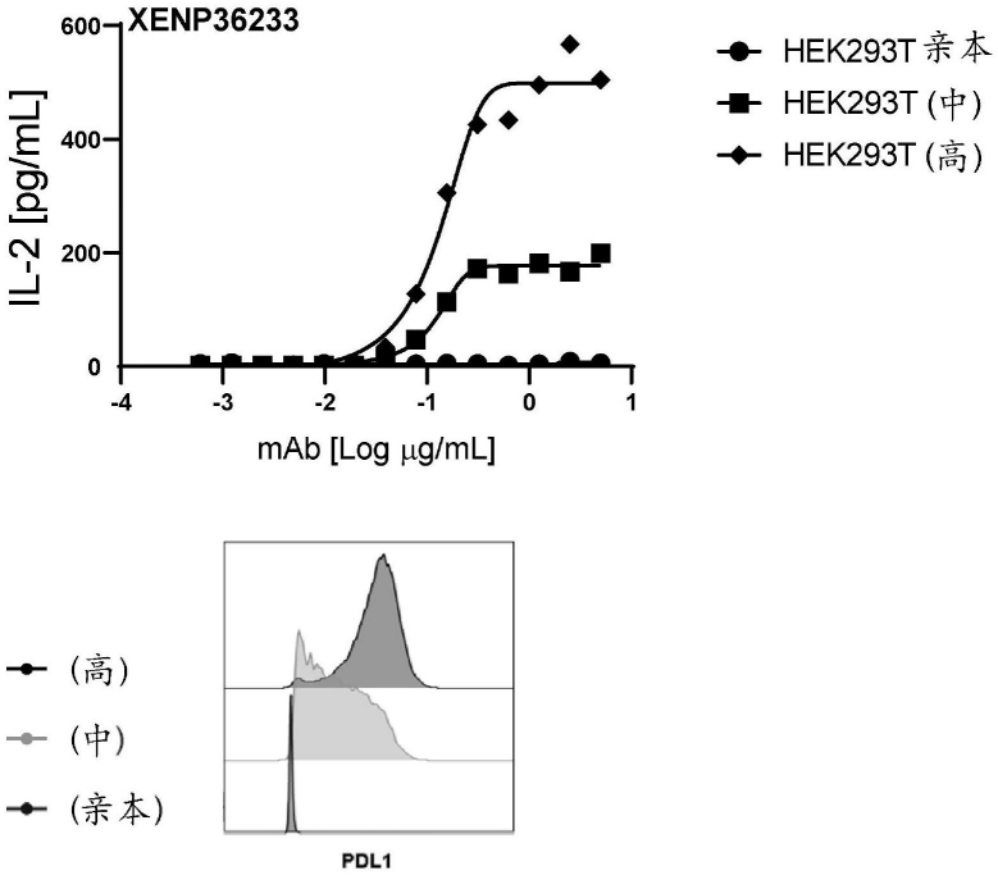
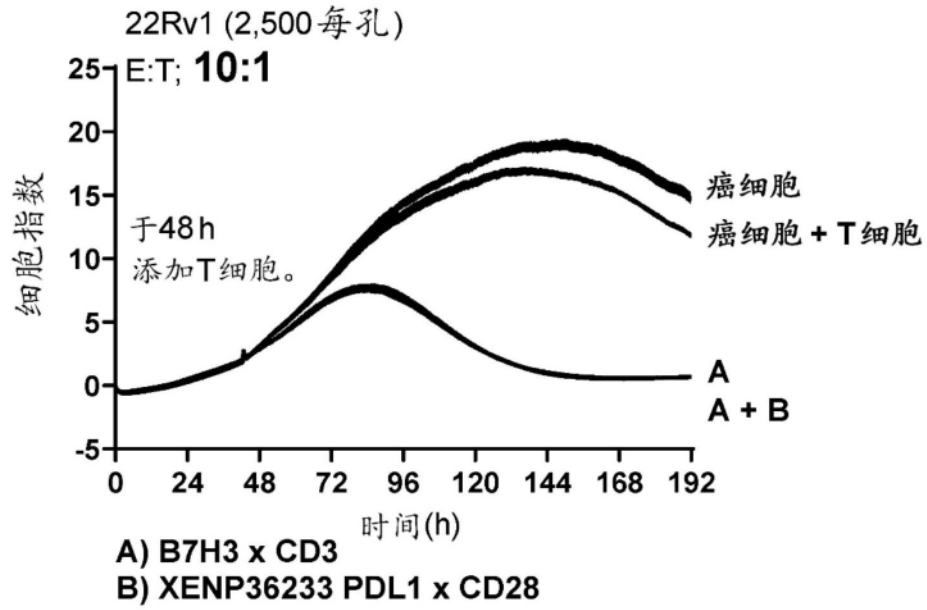

XENP36233
600
400
200
0
IL-2 [pg/mL]
-4
-3
-2
-1
0
1
mAb [Log μg/mL]
HEK293T 亲本
HEK293T (中)
HEK293T (高)
(高)
(中)
(亲本)
PDL1

图103

A)


22Rv1 (2,500每孔)
E:T; 10:1
细胞指数
于48h
添加T细胞。
癌细胞
癌细胞 + T细胞
A
A + B
时间(h)
A) B7H3 x CD3
B) XENP36233 PDL1 x CD28

B)

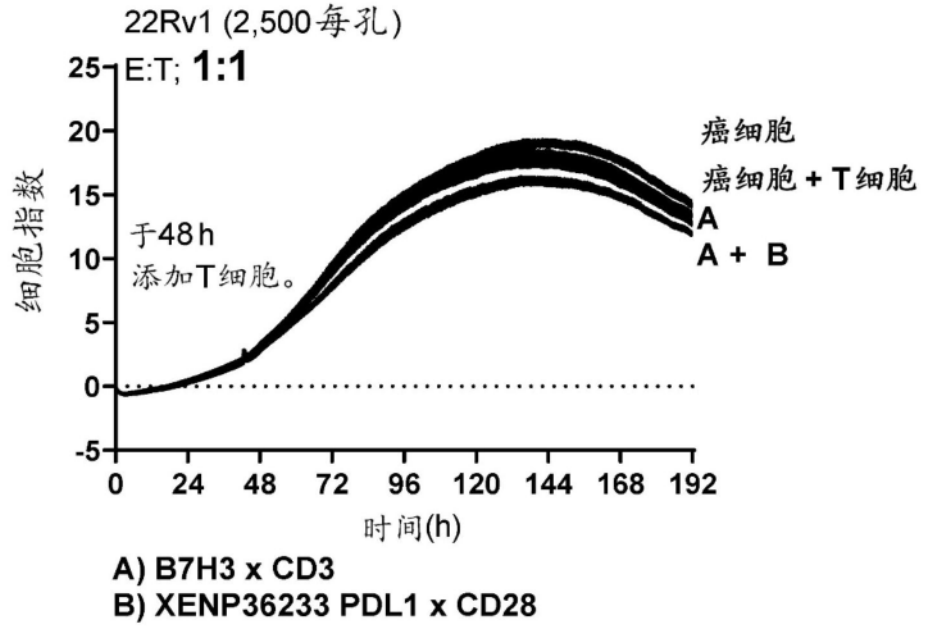

22Rv1 (2,500每孔)
E:T; 1:1
细胞指数
于48h
添加T细胞。
癌细胞
癌细胞 + T细胞
A
A + B
时间(h)
A) B7H3 x CD3
B) XENP36233 PDL1 x CD28

图104

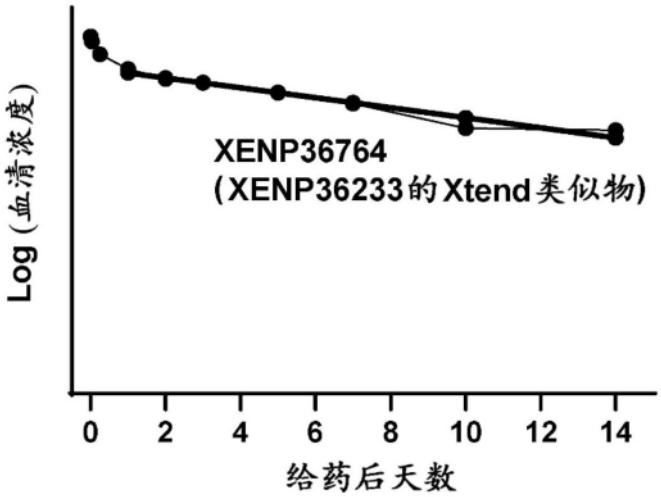

Log (血清浓度)
XENP36764
(XENP36233的Xtend类似物)
0
2
4
6
8
10
12
14
给药后天数

图105

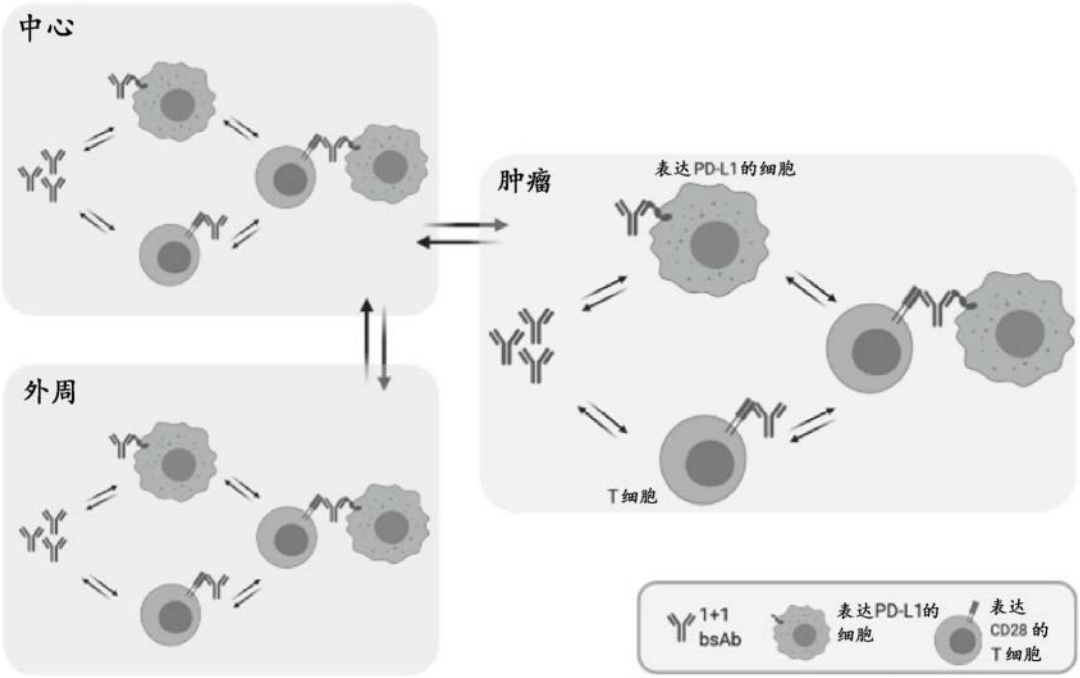

中心
外周
肿瘤
表达PD-L1的细胞
T细胞
1+1
bsAb
表达PD-L1的
细胞
表达
CD28 的
T细胞

图106

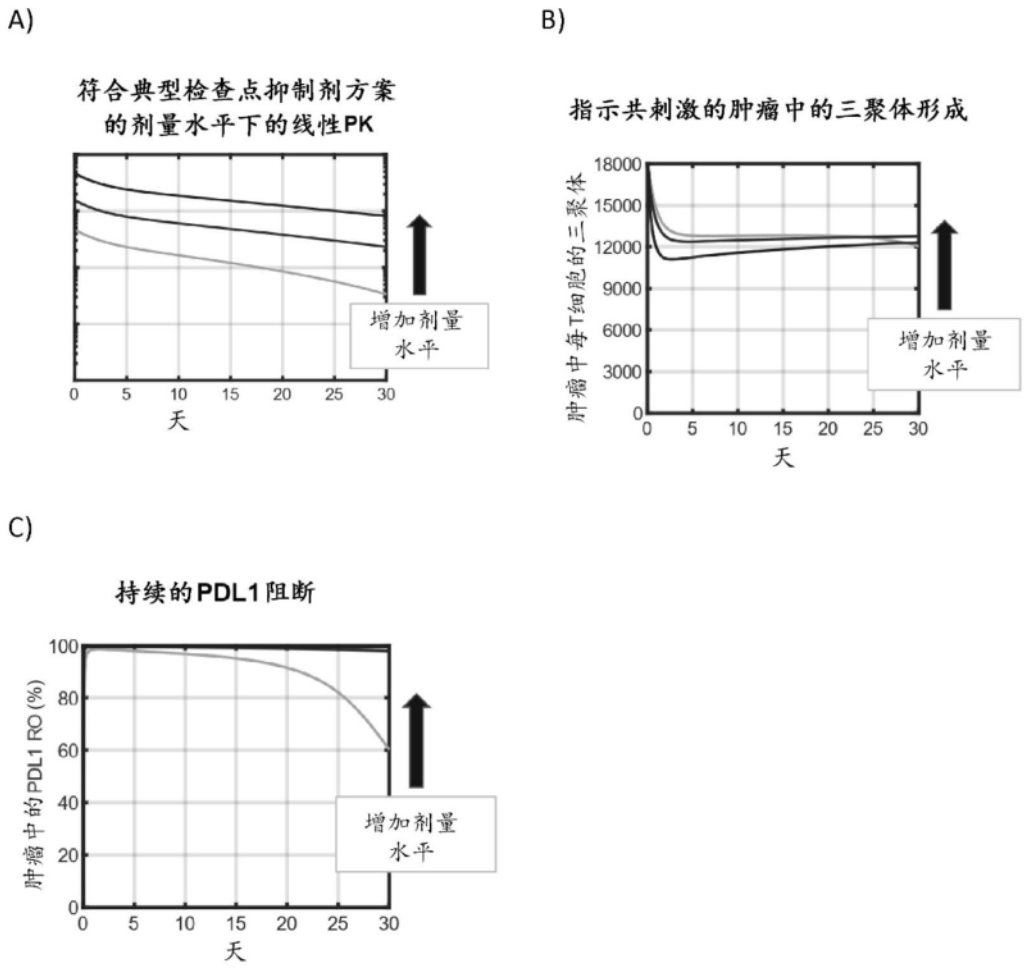
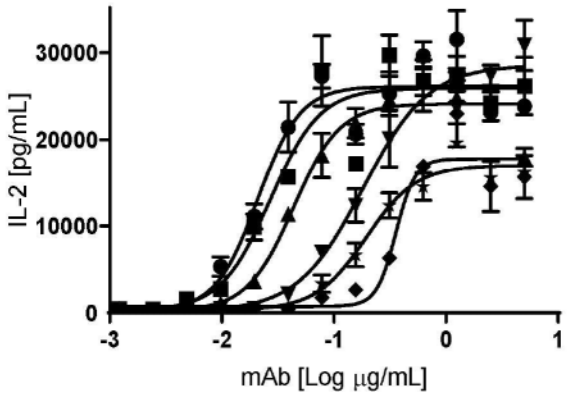
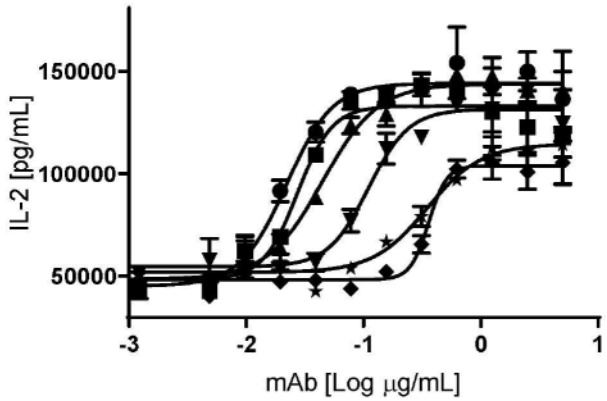

A)
符合典型检查点抑制剂方案
的剂量水平下的线性PK
增加剂量
水平
0 5 10 15 20 25 30
天
B)
指示共刺激的肿瘤中的三聚体形成
肿瘤中每T细胞的三聚体
18000
15000
12000
9000
6000
3000
0
增加剂量
水平
0 5 10 15 20 25 30
天
C)
持续的PDL1阻断
肿瘤中的PDL1 RO (%)
100
80
60
40
20
0
增加剂量
水平
0 5 10 15 20 25 30
天

图107

A)



B)



XENP37561 PDL1 (2G4) x CD28 (1A7_L1.71_H1.14_37nM)
XENP37261 PDL1 (2G4) x CD28 (1A7_H1.14_L1.71_36nM)
XENP37560 PDL1 (2G4) x CD28 (1A7_H1.1_L1.71_96nM)
XENP37559 PDL1 (2G4) x CD28 (1A7_H1_L1.71_180nM)
XENP37412 PDL1 (2G4) x CD28 (1A7_L1_H1.14_286nM)
XENP36233 PDL1 (2G4) x CD28 (1A7_H1.14_L1_240nM)

图108

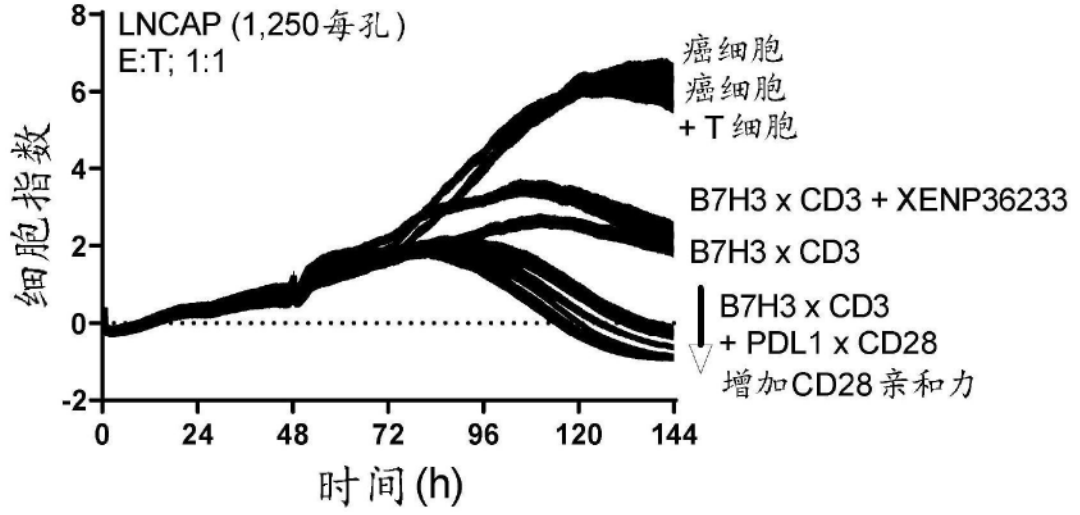

LNCAP (1,250每孔)
E:T; 1:1
细胞指数
时间 (h)
癌细胞
癌细胞
+ T细胞
B7H3 x CD3 + XENP36233
B7H3 x CD3
B7H3 x CD3
+ PDL1 x CD28
增加CD28亲和力

图109

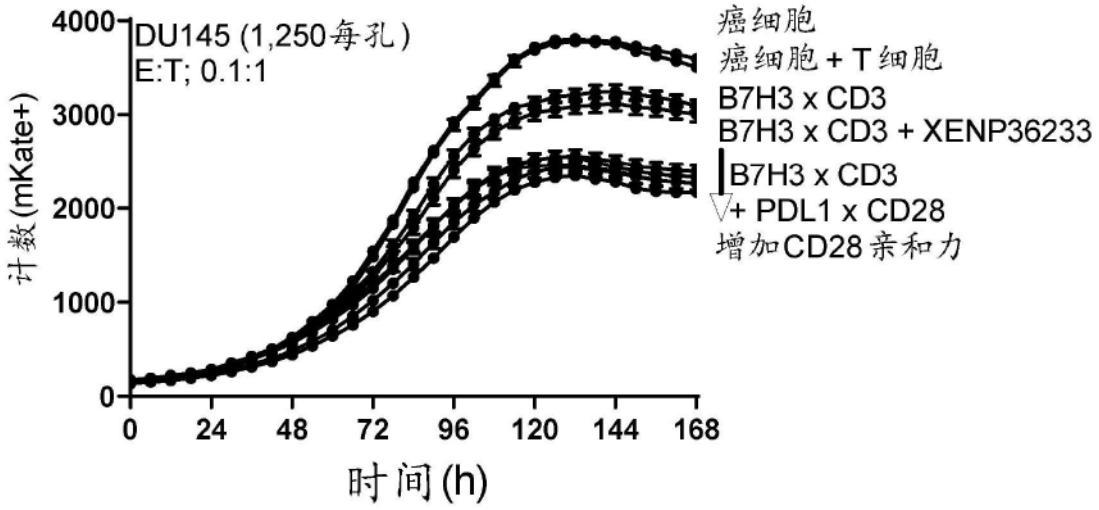

DU145 (1,250每孔)
E:T; 0.1:1
计数(mKate+)
时间 (h)
癌细胞
癌细胞 + T细胞
B7H3 x CD3
B7H3 x CD3 + XENP36233
B7H3 x CD3
+ PDL1 x CD28
增加CD28亲和力

图110

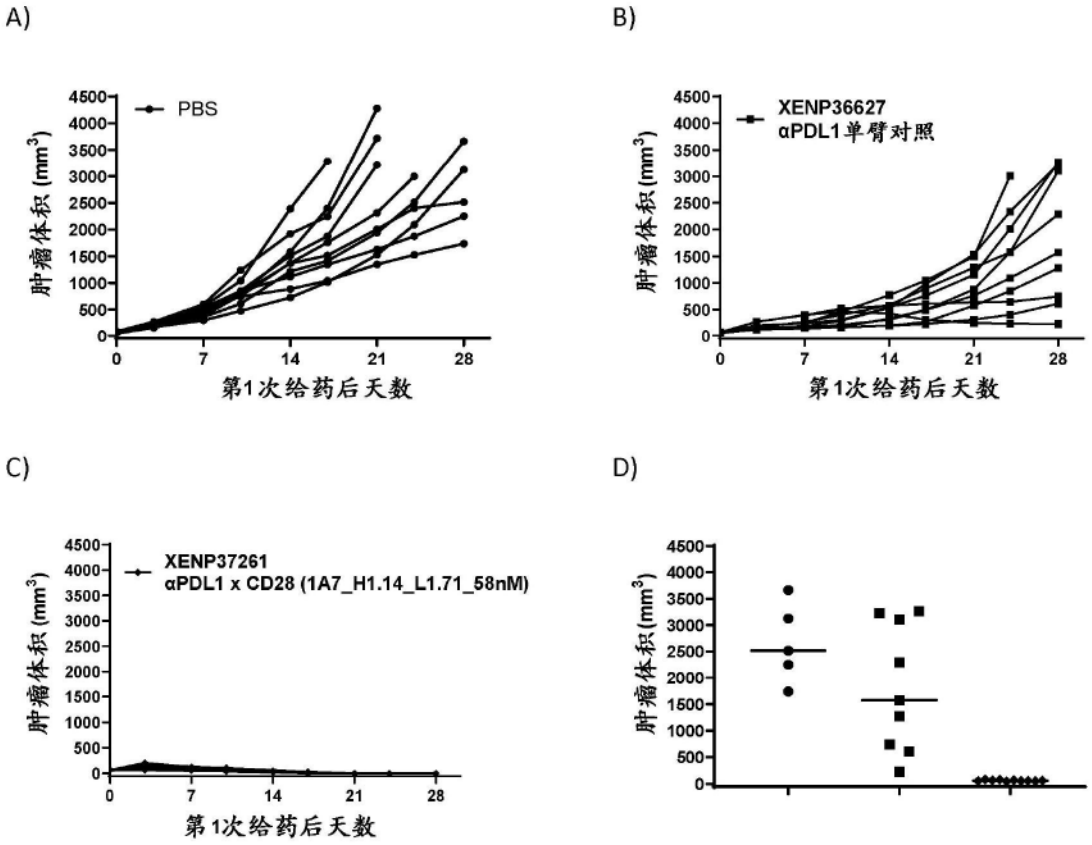

A)
PBS
肿瘤体积 (mm3)
第1次给药后天数
B)
XENP36627
αPDL1单臂对照
肿瘤体积 (mm3)
第1次给药后天数
C)
XENP37261
αPDL1 x CD28 (1A7_H1.14_L1.71_58nM)
肿瘤体积 (mm3)
第1次给药后天数
D)
肿瘤体积 (mm3)

图111

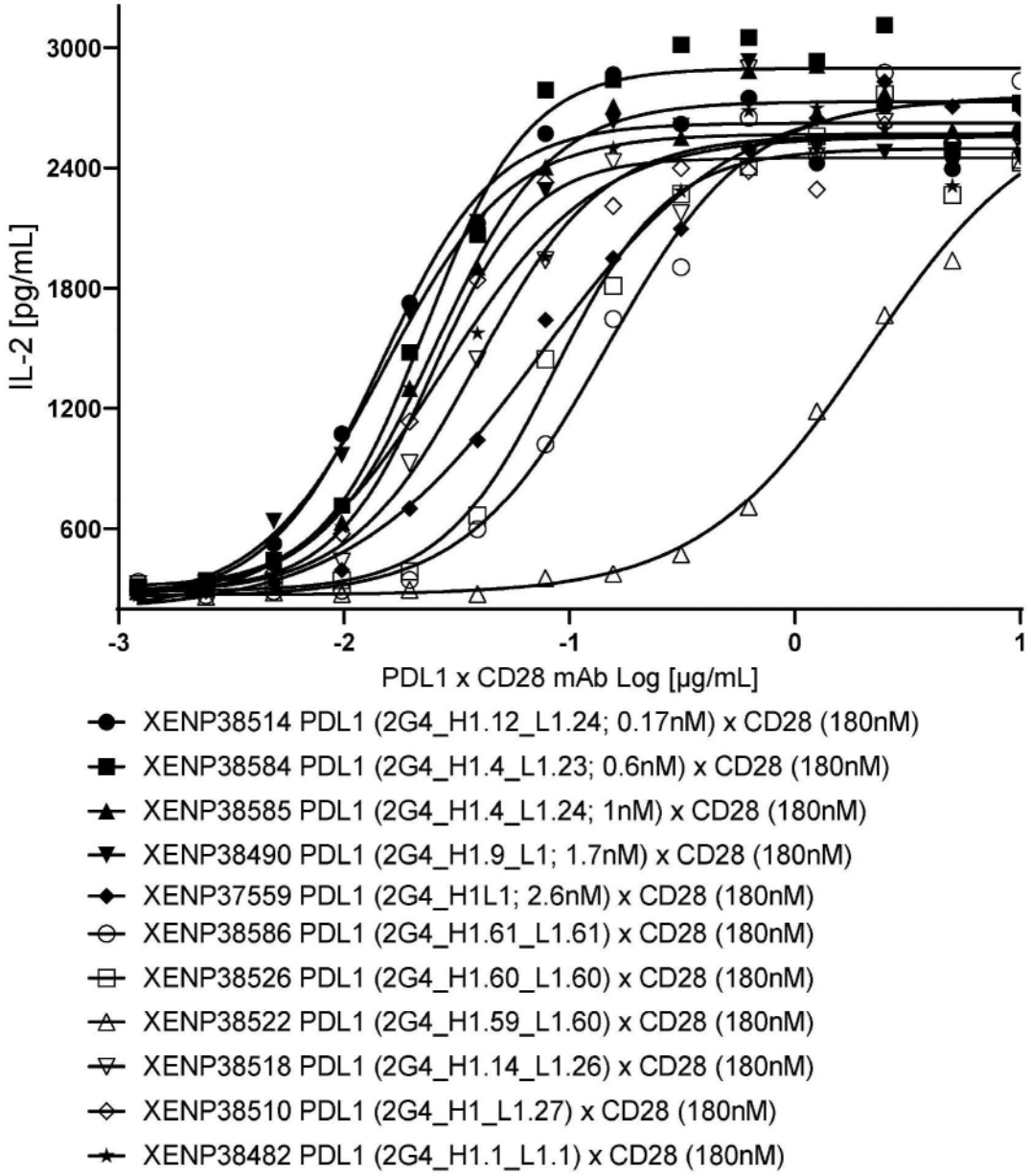

3000
2400
1800
1200
600
IL-2 [pg/mL]
-3
-2
-1
0
1
PDL1 x CD28 mAb Log [µg/mL]
XENP38514 PDL1 (2G4_H1.12_L1.24; 0.17nM) x CD28 (180nM)
XENP38584 PDL1 (2G4_H1.4_L1.23; 0.6nM) x CD28 (180nM)
XENP38585 PDL1 (2G4_H1.4_L1.24; 1nM) x CD28 (180nM)
XENP38490 PDL1 (2G4_H1.9_L1; 1.7nM) x CD28 (180nM)
XENP37559 PDL1 (2G4_H1L1; 2.6nM) x CD28 (180nM)
XENP38586 PDL1 (2G4_H1.61_L1.61) x CD28 (180nM)
XENP38526 PDL1 (2G4_H1.60_L1.60) x CD28 (180nM)
XENP38522 PDL1 (2G4_H1.59_L1.60) x CD28 (180nM)
XENP38518 PDL1 (2G4_H1.14_L1.26) x CD28 (180nM)
XENP38510 PDL1 (2G4_H1_L1.27) x CD28 (180nM)
XENP38482 PDL1 (2G4_H1.1_L1.1) x CD28 (180nM)

图112

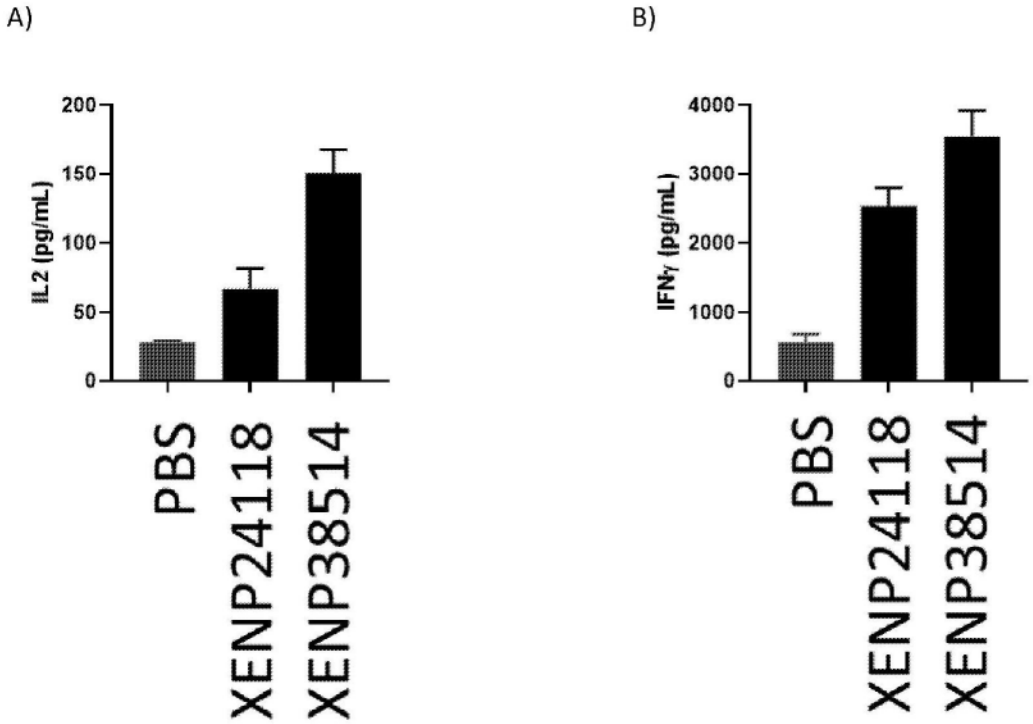

A)
B)
IL2 (pg/mL)
200
150
100
50
0
PBS
XENP24118
XENP38514
IFNγ (pg/mL)
4000
3000
2000
1000
0
PBS
XENP24118
XENP38514

图113

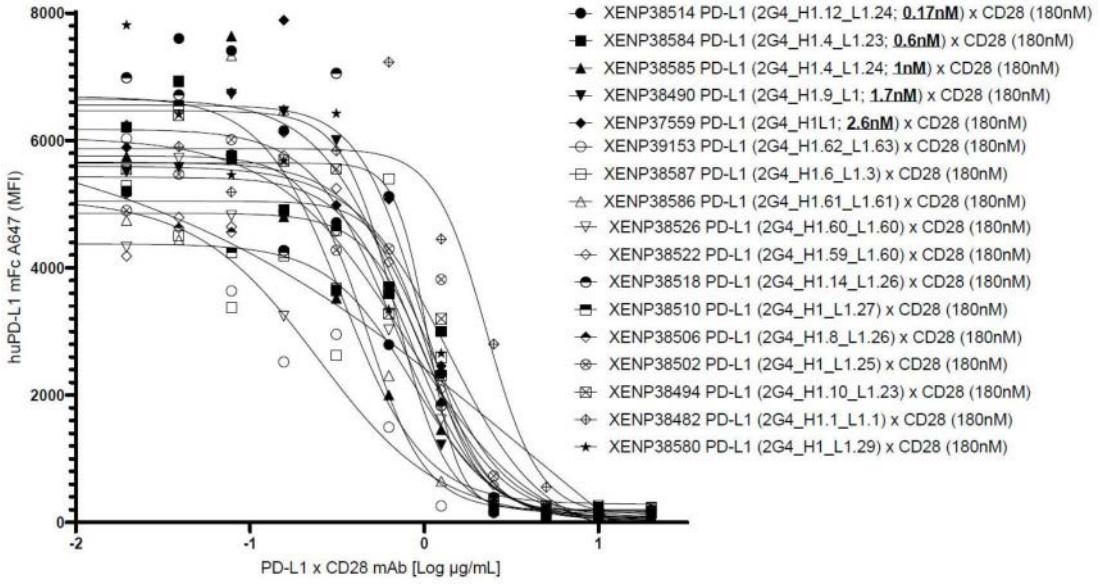

huPD-L1 mFc A647 (MFI)
8000
6000
4000
2000
0
-2
-1
0
1
PD-L1 x CD28 mAb [Log µg/mL]
XENP38514 PD-L1 (2G4_H1.12_L1.24; 0.17nM) x CD28 (180nM)
XENP38584 PD-L1 (2G4_H1.4_L1.23; 0.6nM) x CD28 (180nM)
XENP38585 PD-L1 (2G4_H1.4_L1.24; 1nM) x CD28 (180nM)
XENP38490 PD-L1 (2G4_H1.9_L1; 1.7nM) x CD28 (180nM)
XENP37559 PD-L1 (2G4_H1L1; 2.6nM) x CD28 (180nM)
XENP39153 PD-L1 (2G4_H1.62_L1.63) x CD28 (180nM)
XENP38587 PD-L1 (2G4_H1.6_L1.3) x CD28 (180nM)
XENP38586 PD-L1 (2G4_H1.61_L1.61) x CD28 (180nM)
XENP38526 PD-L1 (2G4_H1.60_L1.60) x CD28 (180nM)
XENP38522 PD-L1 (2G4_H1.59_L1.60) x CD28 (180nM)
XENP38518 PD-L1 (2G4_H1.14_L1.26) x CD28 (180nM)
XENP38510 PD-L1 (2G4_H1_L1.27) x CD28 (180nM)
XENP38506 PD-L1 (2G4_H1.8_L1.26) x CD28 (180nM)
XENP38502 PD-L1 (2G4_H1_L1.25) x CD28 (180nM)
XENP38494 PD-L1 (2G4_H1.10_L1.23) x CD28 (180nM)
XENP38482 PD-L1 (2G4_H1.1_L1.1) x CD28 (180nM)
XENP38580 PD-L1 (2G4_H1_L1.29) x CD28 (180nM)

图114

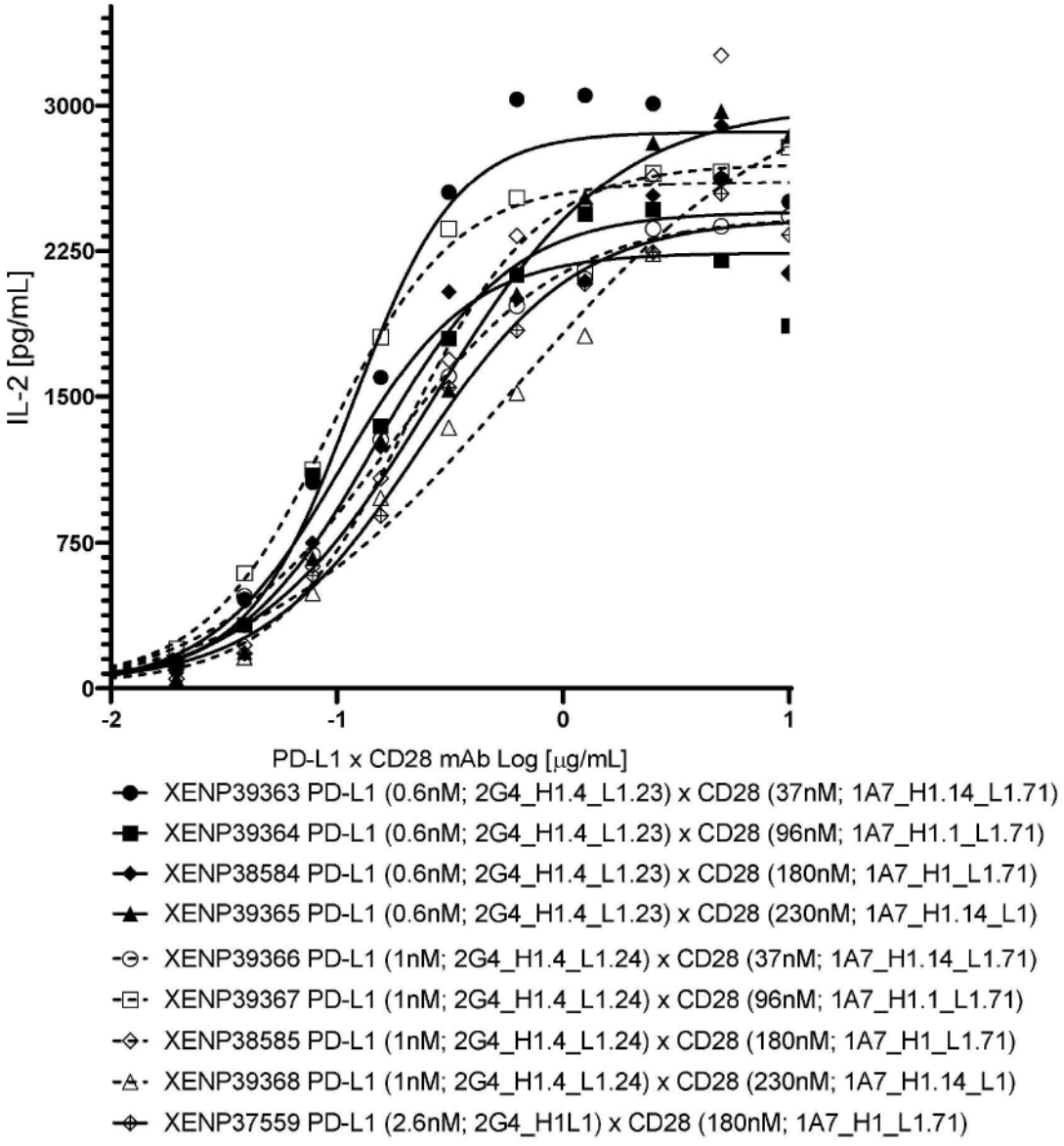

IL-2 [pg/mL]
3000
2250
1500
750
0
-2
-1
0
1
PD-L1 x CD28 mAb Log [μg/mL]
XENP39363 PD-L1 (0.6nM; 2G4_H1.4_L1.23) x CD28 (37nM; 1A7_H1.14_L1.71)
XENP39364 PD-L1 (0.6nM; 2G4_H1.4_L1.23) x CD28 (96nM; 1A7_H1.1_L1.71)
XENP38584 PD-L1 (0.6nM; 2G4_H1.4_L1.23) x CD28 (180nM; 1A7_H1_L1.71)
XENP39365 PD-L1 (0.6nM; 2G4_H1.4_L1.23) x CD28 (230nM; 1A7_H1.14_L1)
XENP39366 PD-L1 (1nM; 2G4_H1.4_L1.24) x CD28 (37nM; 1A7_H1.14_L1.71)
XENP39367 PD-L1 (1nM; 2G4_H1.4_L1.24) x CD28 (96nM; 1A7_H1.1_L1.71)
XENP38585 PD-L1 (1nM; 2G4_H1.4_L1.24) x CD28 (180nM; 1A7_H1_L1.71)
XENP39368 PD-L1 (1nM; 2G4_H1.4_L1.24) x CD28 (230nM; 1A7_H1.14_L1)
XENP37559 PD-L1 (2.6nM; 2G4_H1L1) x CD28 (180nM; 1A7_H1_L1.71)

图115

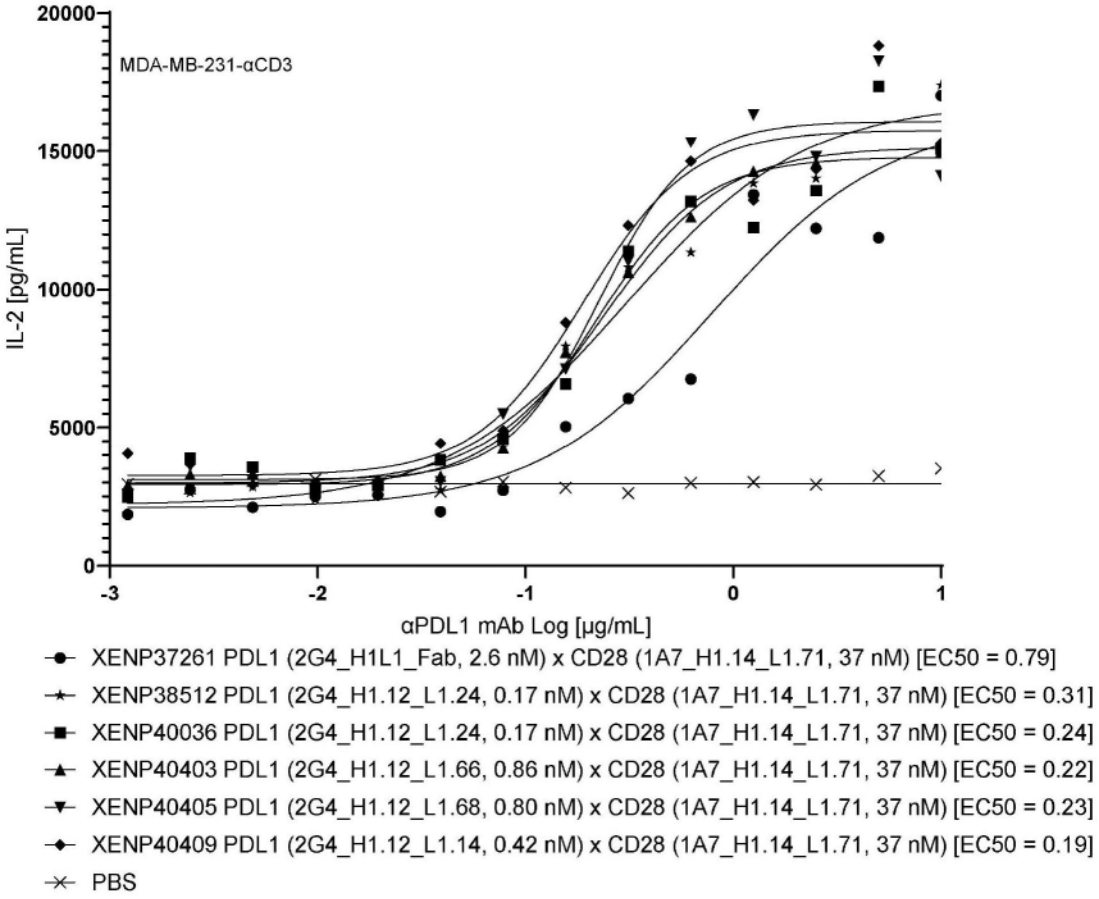

MDA-MB-231-αCD3
IL-2 [pg/mL]
20000
15000
10000
5000
0
-3
-2
-1
0
1
αPDL1 mAb Log [μg/mL]
XENP37261 PDL1 (2G4_H1L1_Fab, 2.6 nM) x CD28 (1A7_H1.14_L1.71, 37 nM) [EC50 = 0.79]
XENP38512 PDL1 (2G4_H1.12_L1.24, 0.17 nM) x CD28 (1A7_H1.14_L1.71, 37 nM) [EC50 = 0.31]
XENP40036 PDL1 (2G4_H1.12_L1.24, 0.17 nM) x CD28 (1A7_H1.14_L1.71, 37 nM) [EC50 = 0.24]
XENP40403 PDL1 (2G4_H1.12_L1.66, 0.86 nM) x CD28 (1A7_H1.14_L1.71, 37 nM) [EC50 = 0.22]
XENP40405 PDL1 (2G4_H1.12_L1.68, 0.80 nM) x CD28 (1A7_H1.14_L1.71, 37 nM) [EC50 = 0.23]
XENP40409 PDL1 (2G4_H1.12_L1.14, 0.42 nM) x CD28 (1A7_H1.14_L1.71, 37 nM) [EC50 = 0.19]
PBS

图116

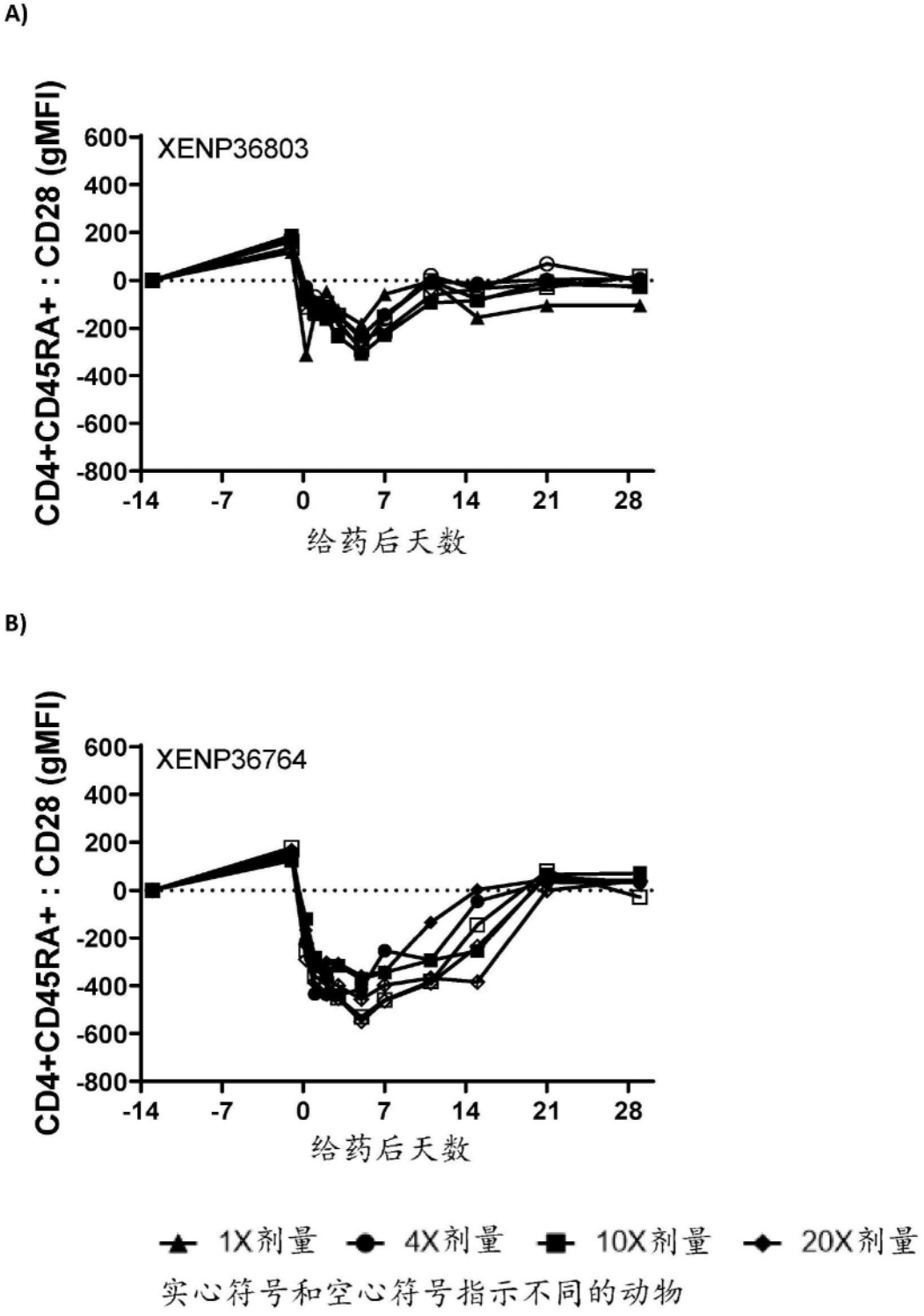
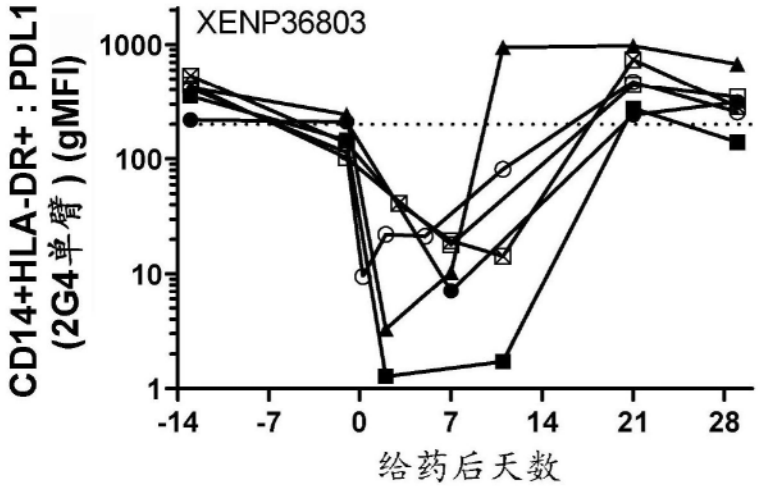
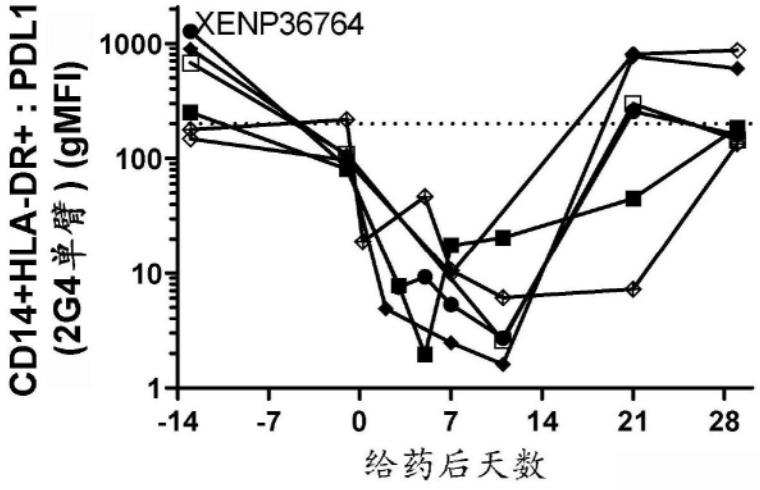

A)
CD4+CD45RA+：CD28 (gMFI)
XENP36803
600
400
200
0
-200
-400
-600
-800
-14
-7
0
7
14
21
28
给药后天数
B)
CD4+CD45RA+：CD28 (gMFI)
XENP36764
600
400
200
0
-200
-400
-600
-800
-14
-7
0
7
14
21
28
给药后天数
1X剂量
4X剂量
10X剂量
20X剂量
实心符号和空心符号指示不同的动物

图117

A)



B)



1X剂量 4X剂量 10X剂量 20X剂量

实心符号和空心符号指示不同的动物

图118

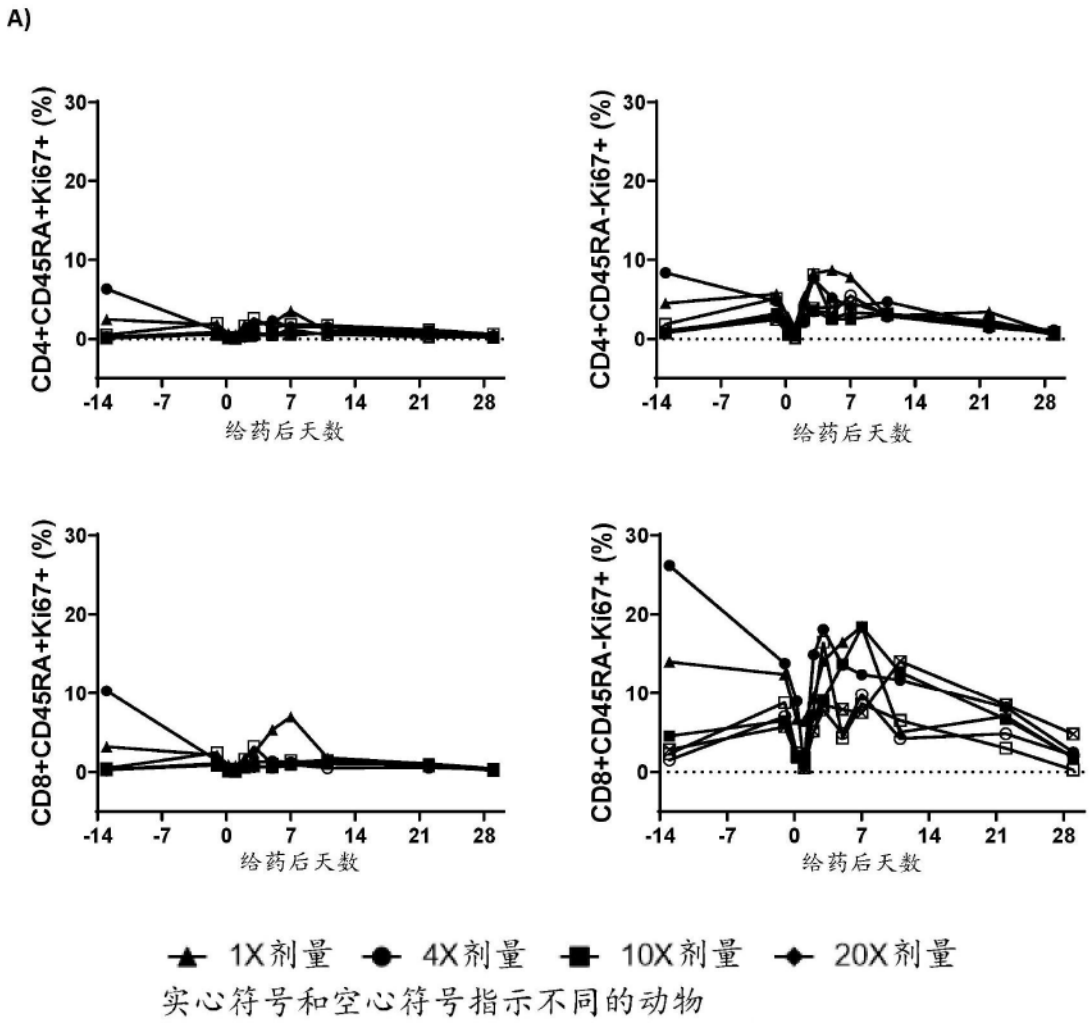

A)
CD4+CD45RA+Ki67+ (%)
CD4+CD45RA-Ki67+ (%)
CD8+CD45RA+Ki67+ (%)
CD8+CD45RA-Ki67+ (%)
30
20
10
0
-14
-7
0
7
14
21
28
给药后天数
1X剂量
4X剂量
10X剂量
20X剂量
实心符号和空心符号指示不同的动物

图119A

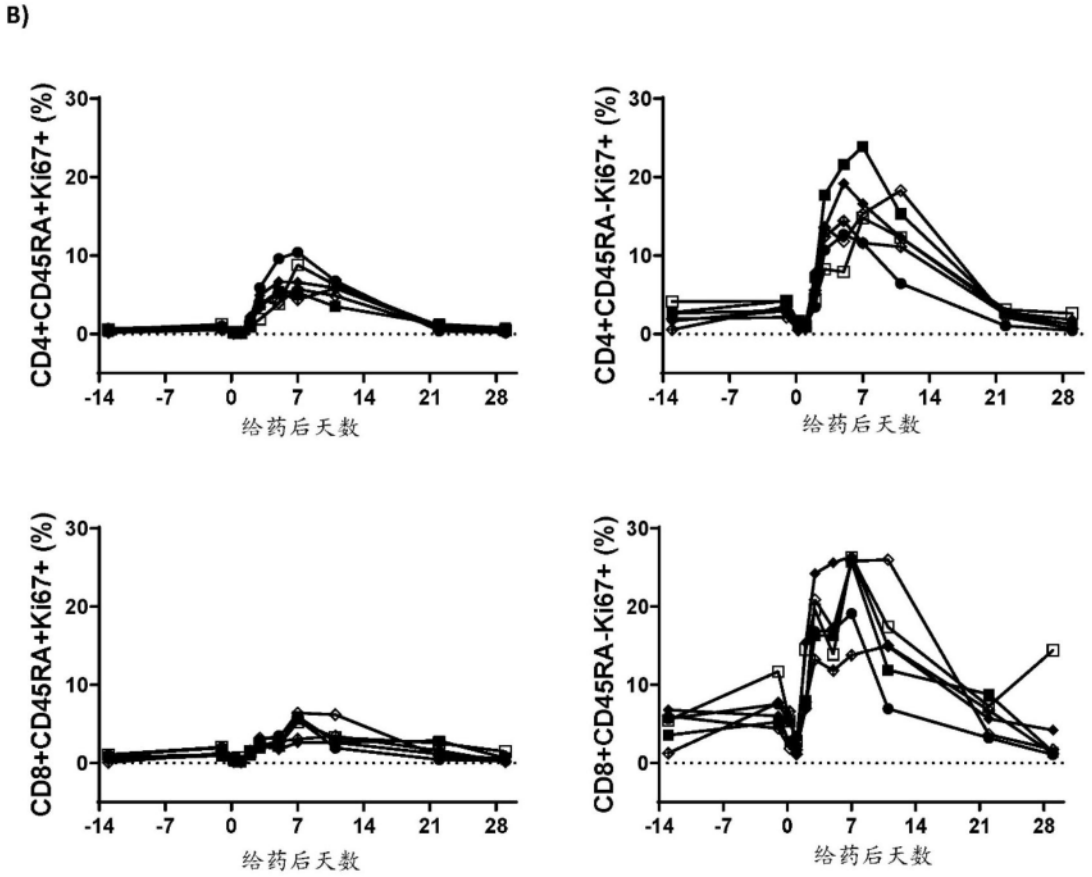

B)
CD4+CD45RA+Ki67+ (%)
CD4+CD45RA-Ki67+ (%)
CD8+CD45RA+Ki67+ (%)
CD8+CD45RA-Ki67+ (%)
30
20
10
0
-14
-7
0
7
14
21
28
给药后天数

图119B

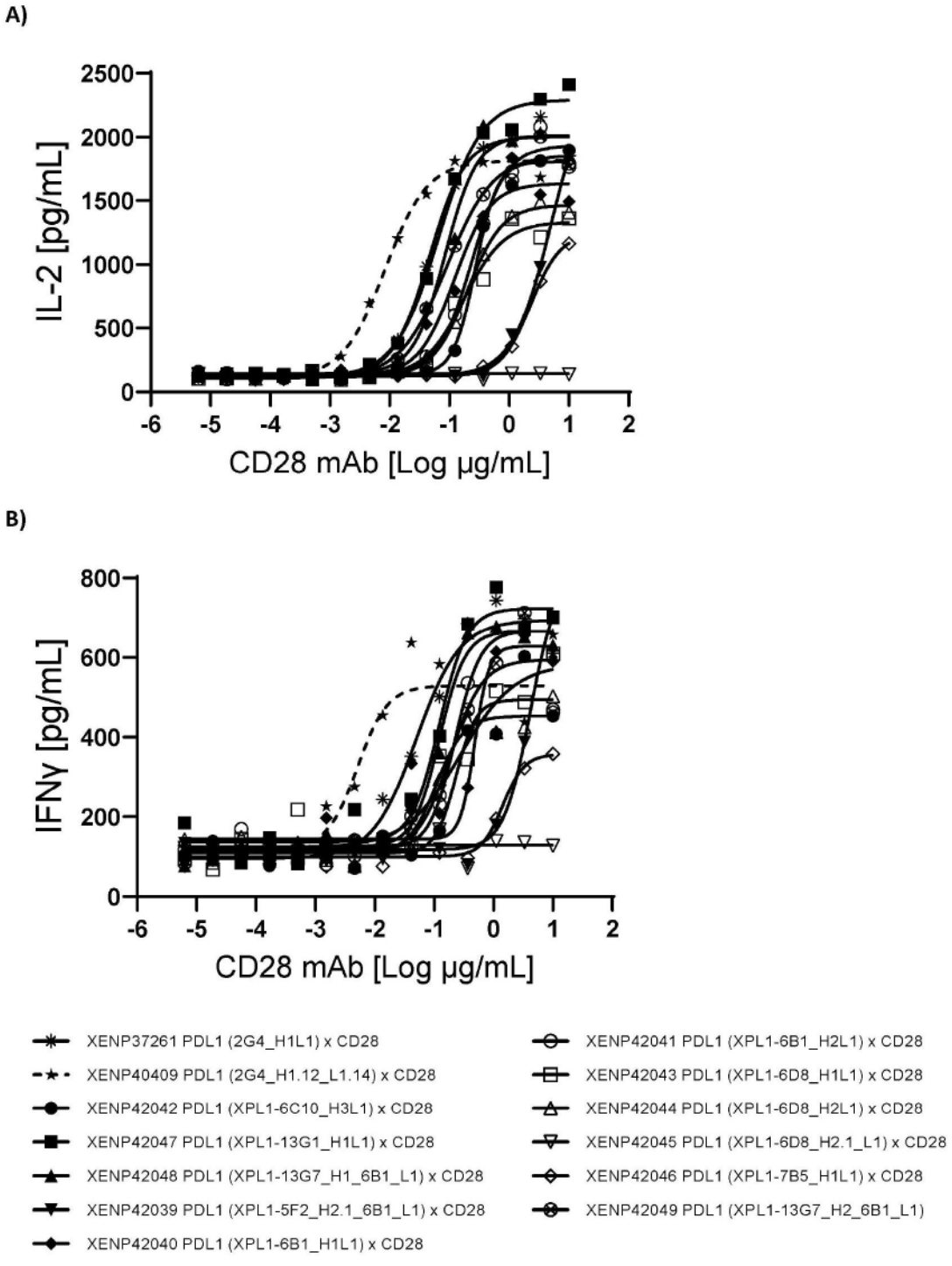

A)
IL-2 [pg/mL]
2500
2000
1500
1000
500
0
-6 -5 -4 -3 -2 -1 0 1 2
CD28 mAb [Log µg/mL]
B)
IFNγ [pg/mL]
800
600
400
200
0
-6 -5 -4 -3 -2 -1 0 1 2
CD28 mAb [Log µg/mL]
XENP37261 PDL1 (2G4_H1L1) x CD28
XENP40409 PDL1 (2G4_H1.12_L1.14) x CD28
XENP42042 PDL1 (XPL1-6C10_H3L1) x CD28
XENP42047 PDL1 (XPL1-13G1_H1L1) x CD28
XENP42048 PDL1 (XPL1-13G7_H1_6B1_L1) x CD28
XENP42039 PDL1 (XPL1-5F2_H2.1_6B1_L1) x CD28
XENP42040 PDL1 (XPL1-6B1_H1L1) x CD28
XENP42041 PDL1 (XPL1-6B1_H2L1) x CD28
XENP42043 PDL1 (XPL1-6D8_H1L1) x CD28
XENP42044 PDL1 (XPL1-6D8_H2L1) x CD28
XENP42045 PDL1 (XPL1-6D8_H2.1_L1) x CD28
XENP42046 PDL1 (XPL1-7B5_H1L1) x CD28
XENP42049 PDL1 (XPL1-13G7_H2_6B1_L1)

图120

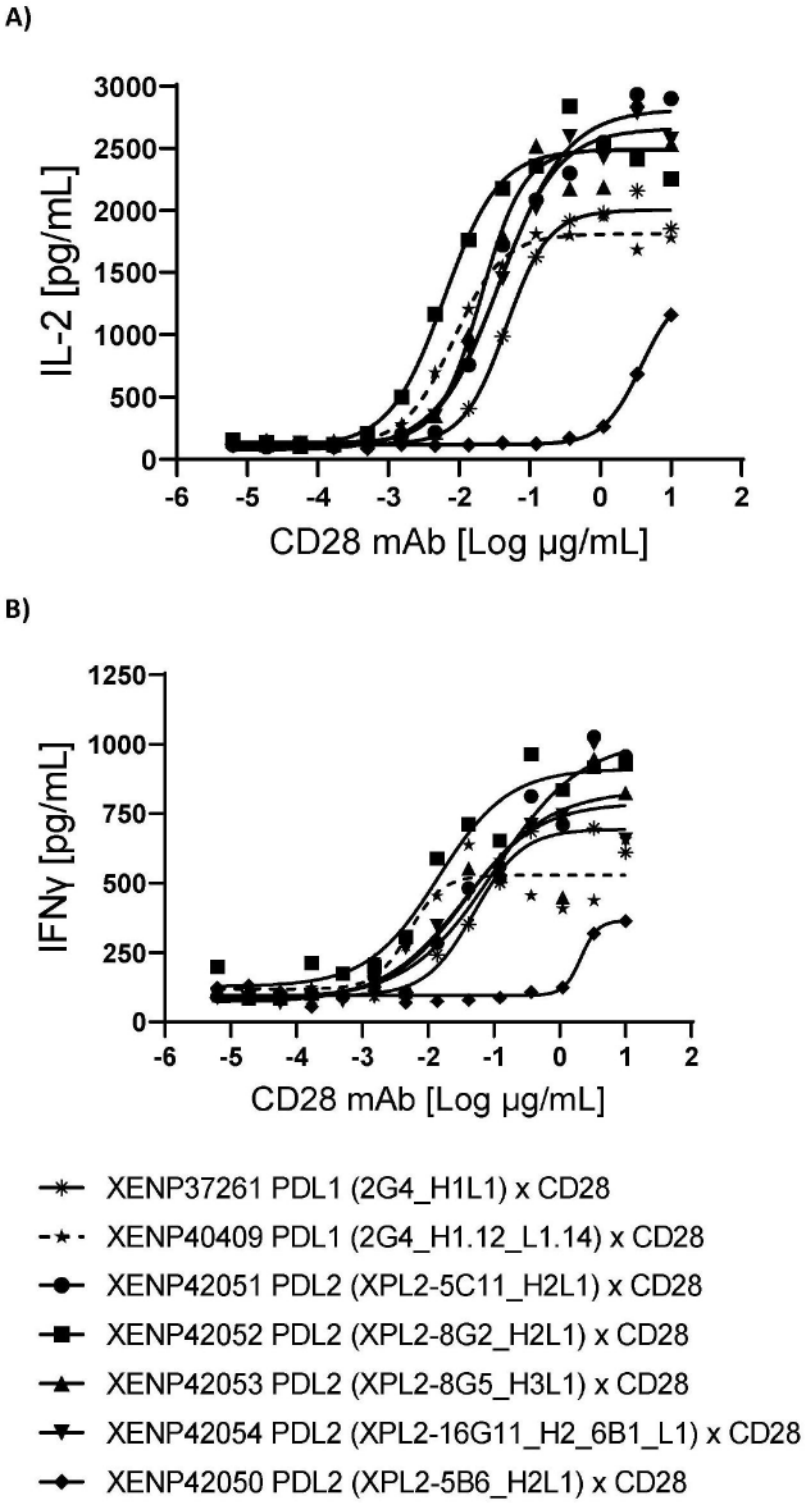
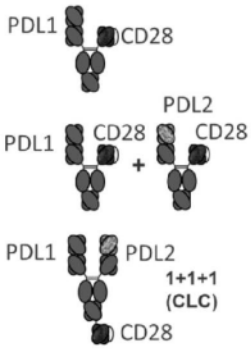

A)
IL-2 [pg/mL]
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
-6 -5 -4 -3 -2 -1 0 1 2
CD28 mAb [Log µg/mL]
B)
IFNγ [pg/mL]
1250
1000
750
500
250
0
-6 -5 -4 -3 -2 -1 0 1 2
CD28 mAb [Log µg/mL]
XENP37261 PDL1 (2G4_H1L1) x CD28
XENP40409 PDL1 (2G4_H1.12_L1.14) x CD28
XENP42051 PDL2 (XPL2-5C11_H2L1) x CD28
XENP42052 PDL2 (XPL2-8G2_H2L1) x CD28
XENP42053 PDL2 (XPL2-8G5_H3L1) x CD28
XENP42054 PDL2 (XPL2-16G11_H2_6B1_L1) x CD28
XENP42050 PDL2 (XPL2-5B6_H2L1) x CD28

图121



PDL1位点	100	100	100	100	0	60
PDL2位点	0	40	100	200	100	60
亲合结合	0	0	0	0	0	0
PDL1单价	100	100	100	100	0	60
PDL2单价	0	0	0	0	0	0
总计	100	100	100	100	0	60
亲合结合	0	0	0	0	0	0
PDL1单价	100	100	100	100	0	60
PDL2单价	0	40	100	200	100	60
总计	100	140	200	300	100	120
亲合结合	0	40	100	100	0	60
PDL1单价	100	60	0	0	0	0
PDL2单价	0	0	0	100	100	0
总计	100	100	100	200	100	60

图122

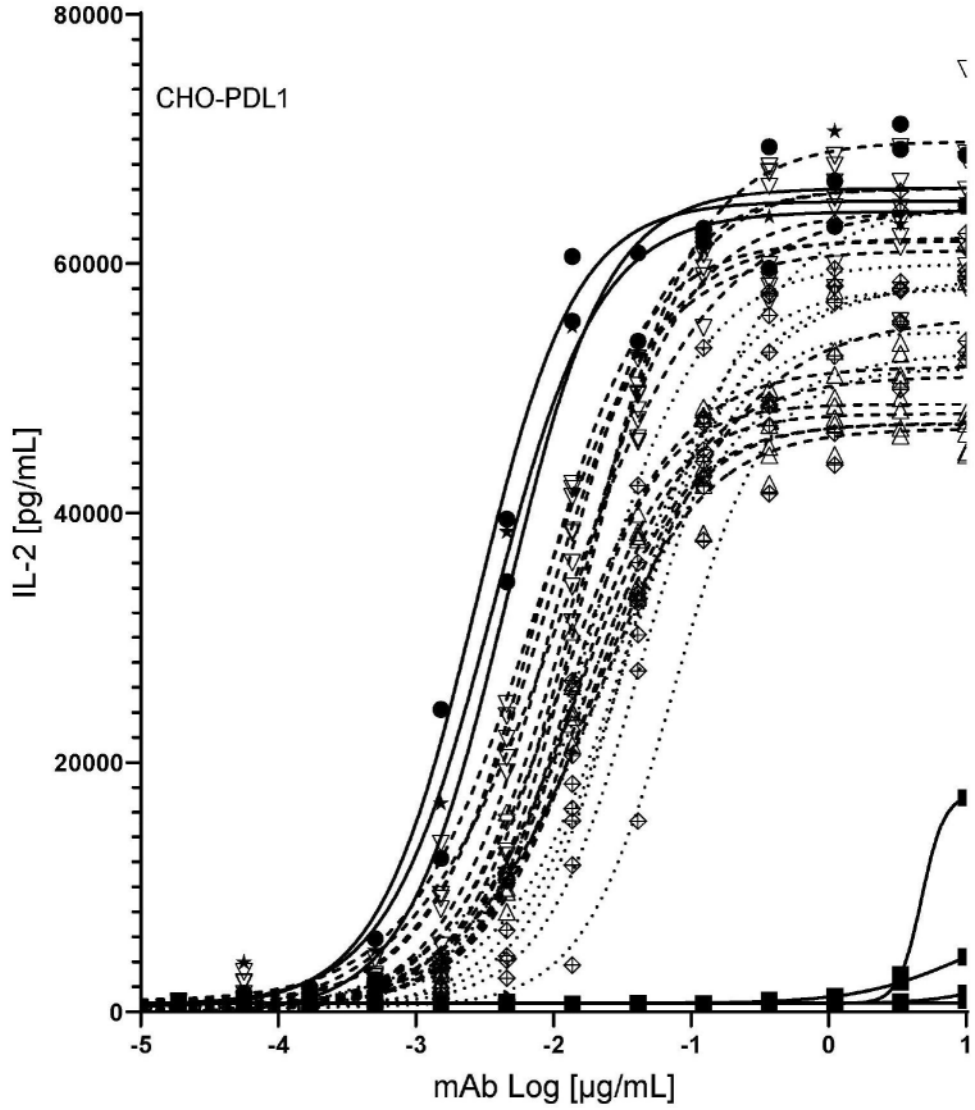

CHO-PDL1
IL-2 [pg/mL]
80000
60000
40000
20000
0
-5
-4
-3
-2
-1
0
1
mAb Log [μg/mL]
XENP40409 PDL1 (2G4_H1.12_L1.14) x CD28
PD-L1 x CD28 1 + 1
PD-L2 x CD28 1 + 1
PDL1 x PDL2 x CD28 1 + 1 + 1 堆叠Fab2-scFv-Fc (底部有PDL2)
PDL1 x PDL2 x CD28 1 + 1 + 1 堆叠Fab2-scFv-Fc (底部有PDL1)
PDL1 x PDL2 x CD28 1 + 1 + 1 mAb-scFv

图123

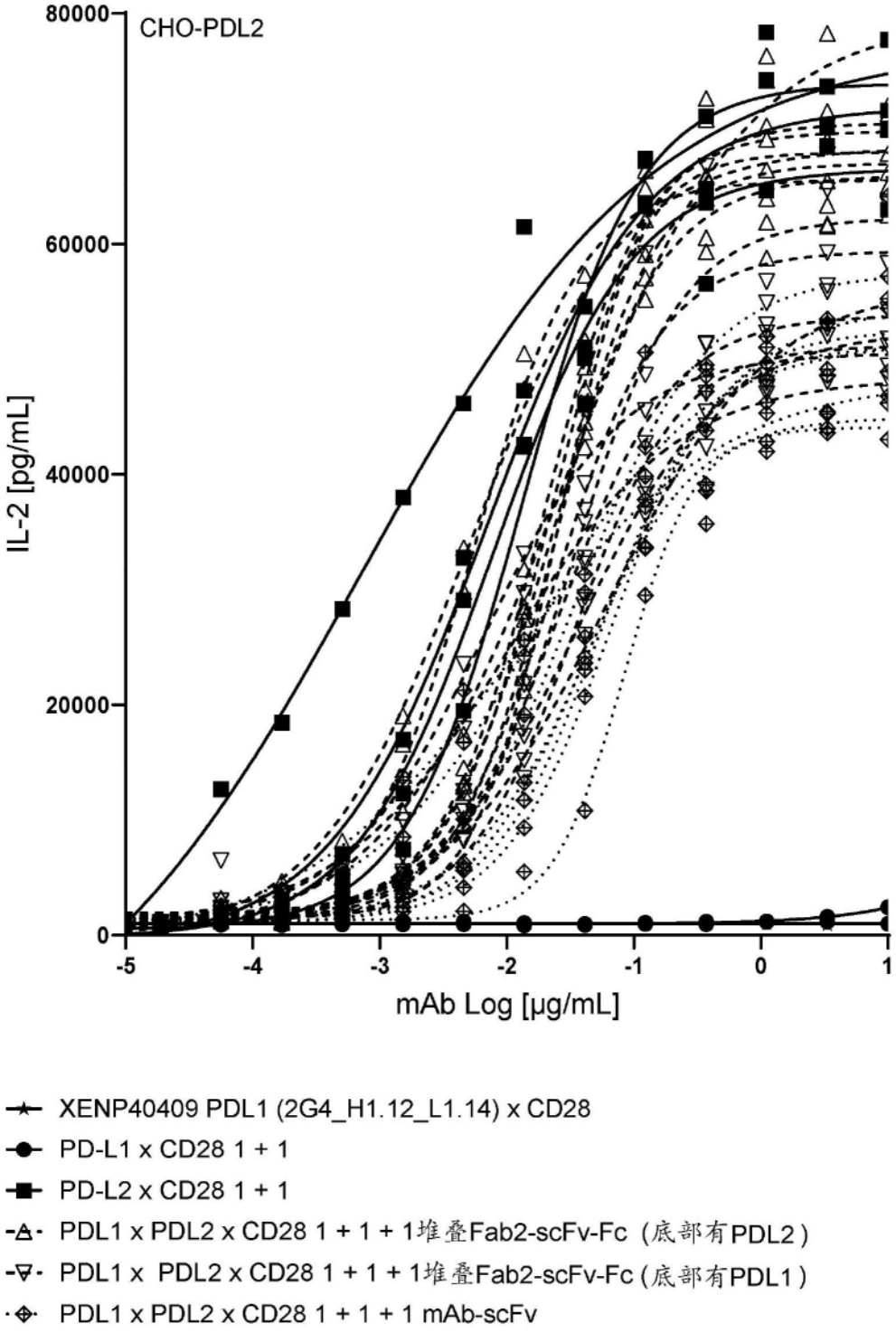

CHO-PDL2
IL-2 [pg/mL]
80000
60000
40000
20000
0
-5
-4
-3
-2
-1
0
1
mAb Log [µg/mL]
XENP40409 PDL1 (2G4_H1.12_L1.14) x CD28
PD-L1 x CD28 1 + 1
PD-L2 x CD28 1 + 1
PDL1 x PDL2 x CD28 1 + 1 + 1堆叠Fab2-scFv-Fc（底部有PDL2）
PDL1 x PDL2 x CD28 1 + 1 + 1堆叠Fab2-scFv-Fc（底部有PDL1）
PDL1 x PDL2 x CD28 1 + 1 + 1 mAb-scFv

图124

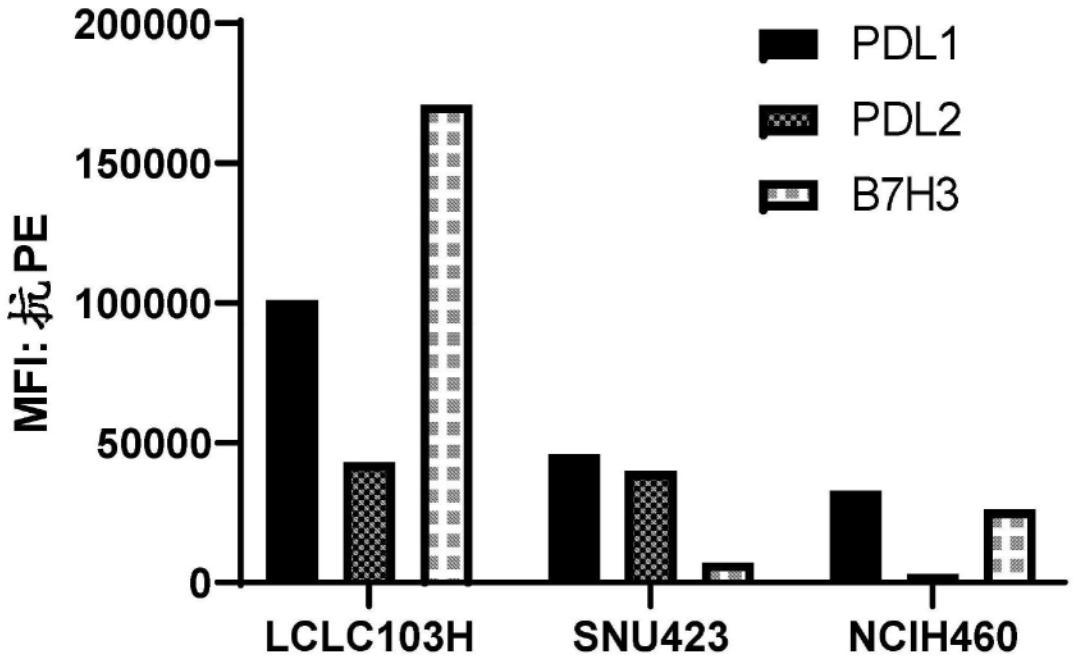

200000
150000
100000
50000
0
MFI: 抗PE
PDL1
PDL2
B7H3
LCLC103H
SNU423
NCIH460

图125

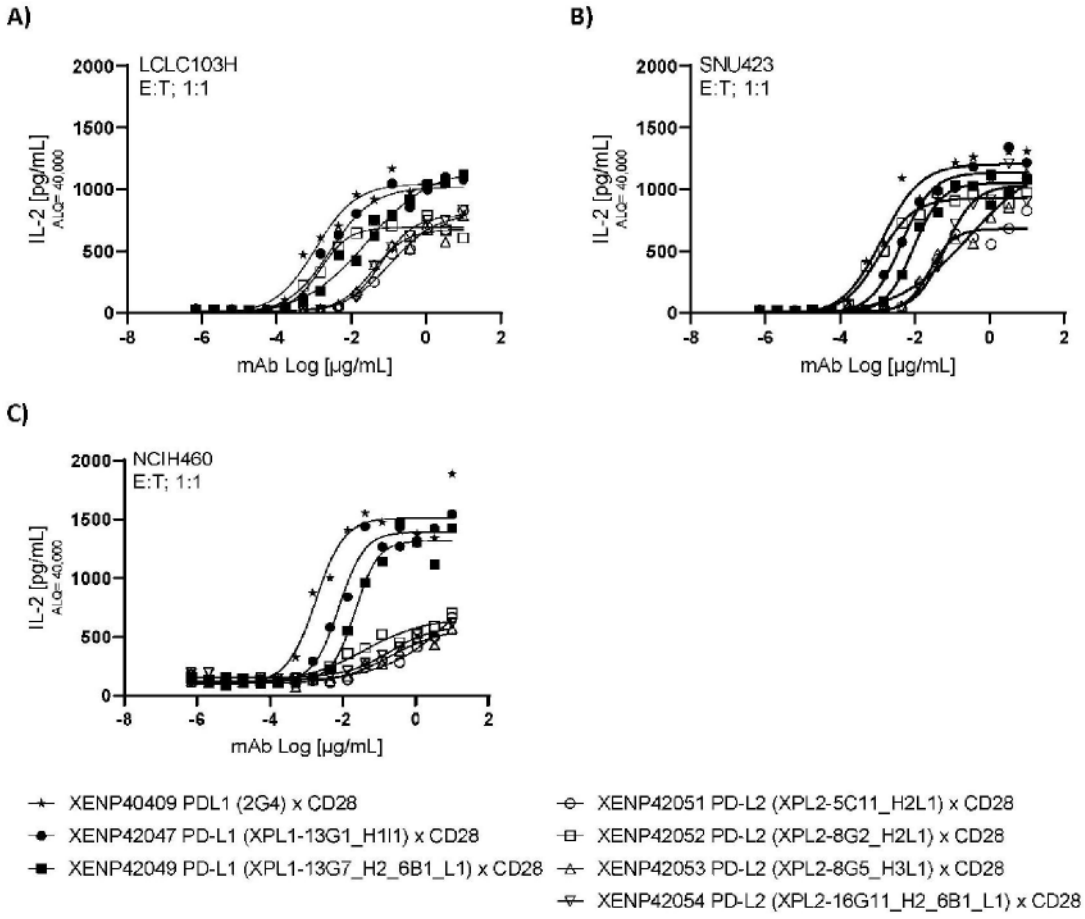

A)
LCLC103H
E:T; 1:1
IL-2 [pg/mL]
ALQ= 40,000
mAb Log [µg/mL]
B)
SNU423
E:T; 1:1
C)
NCIH460
E:T; 1:1
XENP40409 PDL1 (2G4) x CD28
XENP42047 PD-L1 (XPL1-13G1_H1l1) x CD28
XENP42049 PD-L1 (XPL1-13G7_H2_6B1_L1) x CD28
XENP42051 PD-L2 (XPL2-5C11_H2L1) x CD28
XENP42052 PD-L2 (XPL2-8G2_H2L1) x CD28
XENP42053 PD-L2 (XPL2-8G5_H3L1) x CD28
XENP42054 PD-L2 (XPL2-16G11_H2_6B1_L1) x CD28

图126

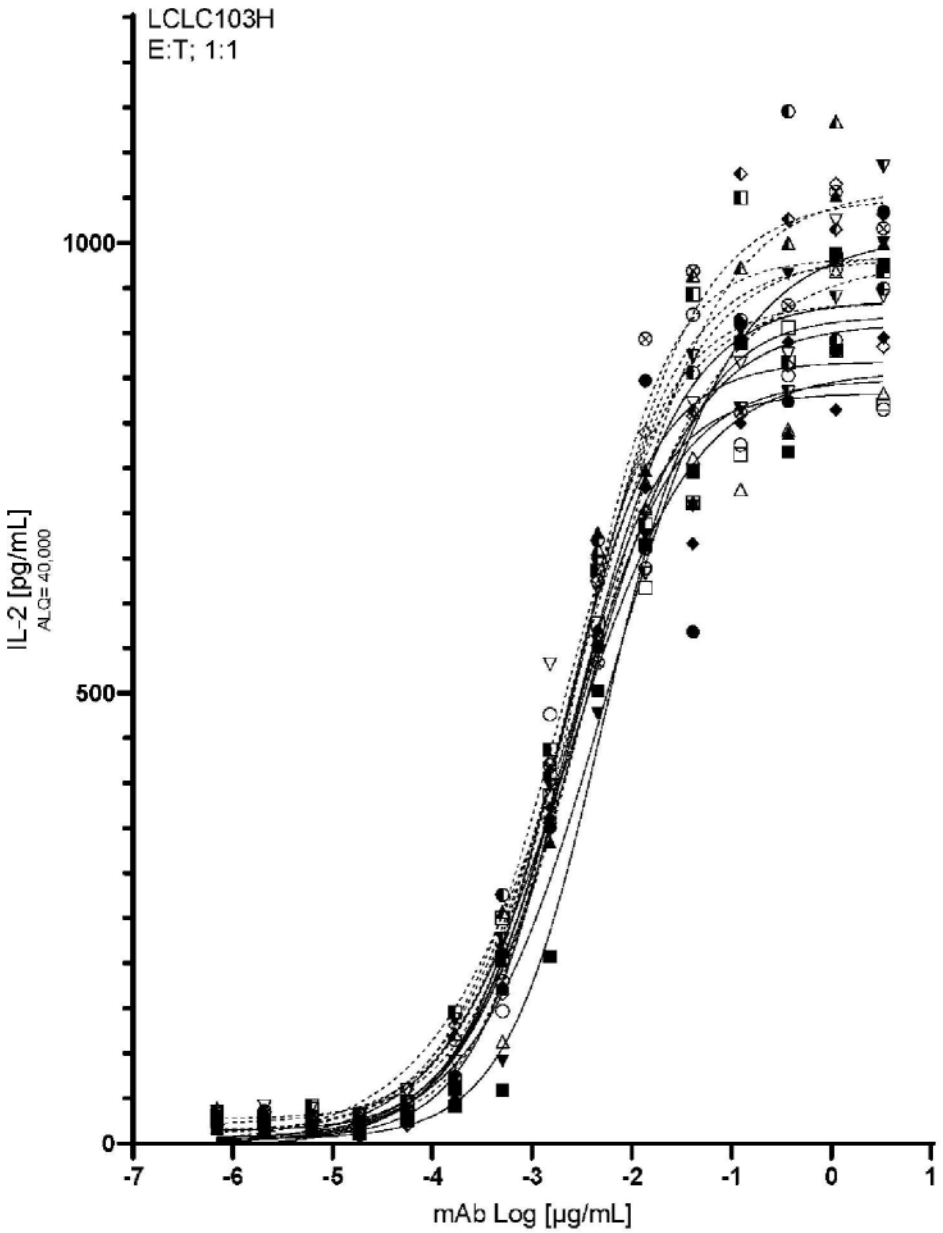

LCLC103H
E:T; 1:1
IL-2 [pg/mL]
ALQ= 40,000
1000
500
0
-7
-6
-5
-4
-3
-2
-1
0
1
mAb Log [µg/mL]

图127A

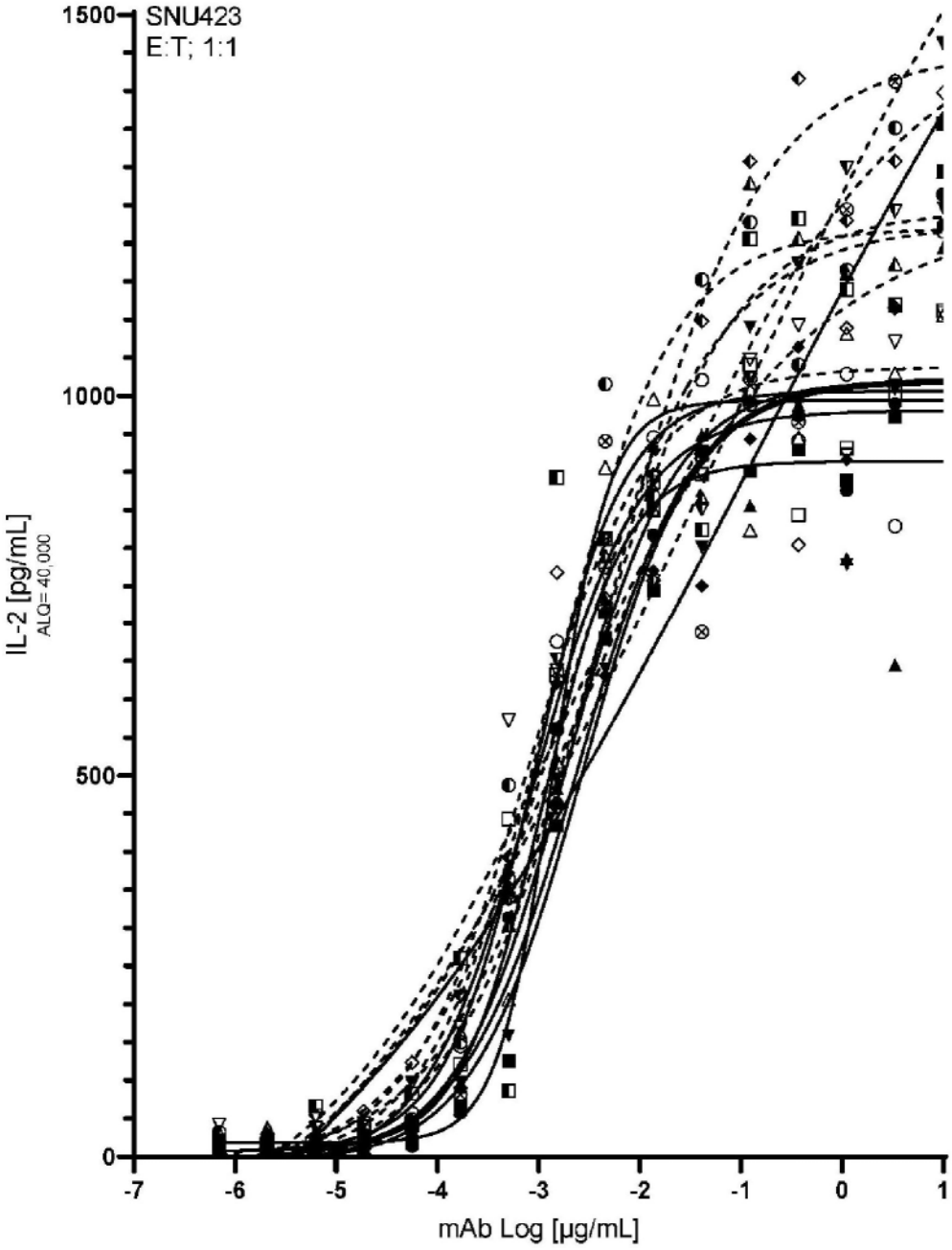

SNU423
E:T; 1:1
IL-2 [pg/mL]
ALQ=40,000
1500
1000
500
0
-7
-6
-5
-4
-3
-2
-1
0
1
mAb Log [µg/mL]

图127B

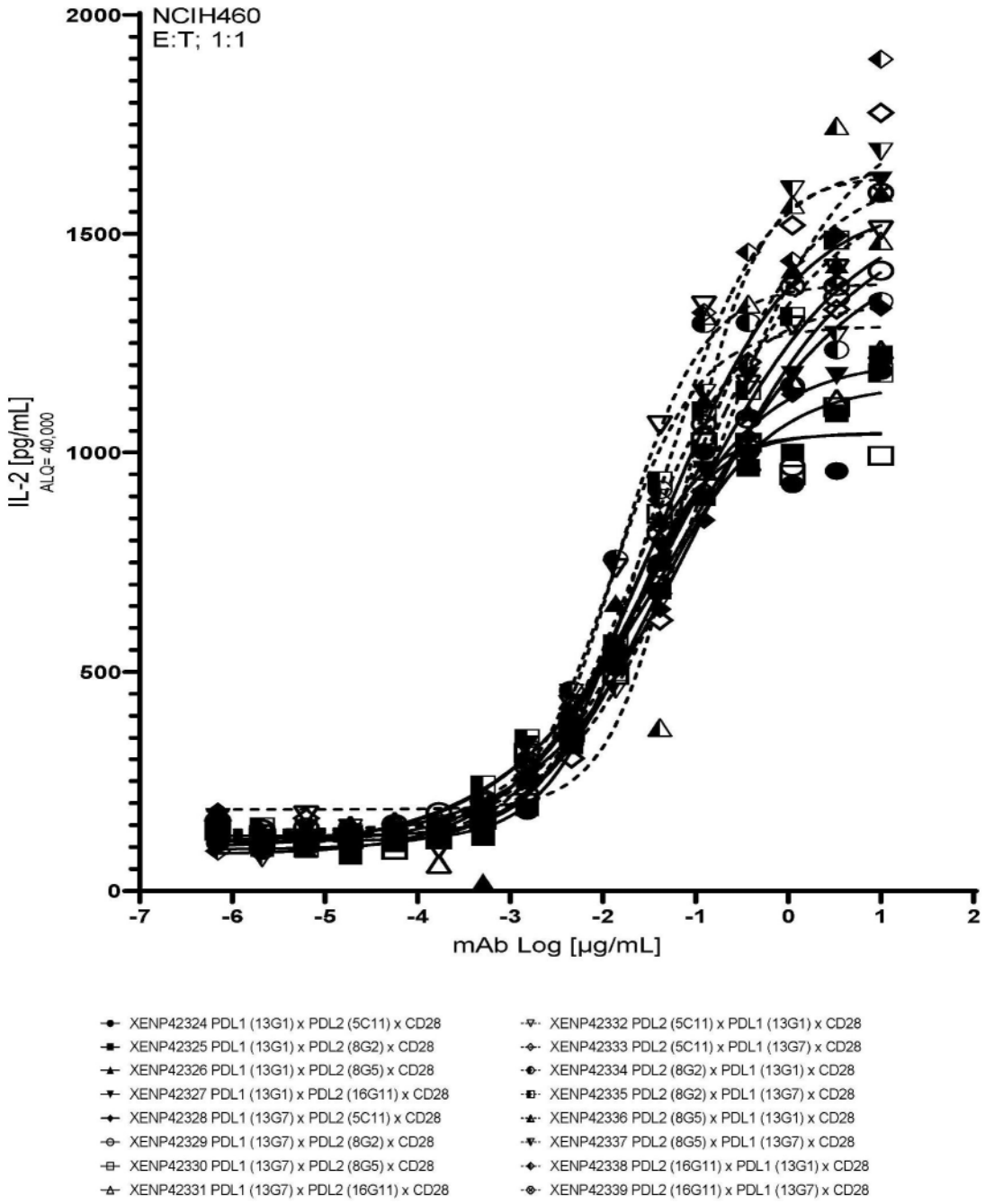

NCIH460
E:T; 1:1
IL-2 [pg/mL]
ALQ= 40,000
2000
1500
1000
500
0
-7
-6
-5
-4
-3
-2
-1
0
1
2
mAb Log [µg/mL]
XENP42324 PDL1 (13G1) x PDL2 (5C11) x CD28
XENP42325 PDL1 (13G1) x PDL2 (8G2) x CD28
XENP42326 PDL1 (13G1) x PDL2 (8G5) x CD28
XENP42327 PDL1 (13G1) x PDL2 (16G11) x CD28
XENP42328 PDL1 (13G7) x PDL2 (5C11) x CD28
XENP42329 PDL1 (13G7) x PDL2 (8G2) x CD28
XENP42330 PDL1 (13G7) x PDL2 (8G5) x CD28
XENP42331 PDL1 (13G7) x PDL2 (16G11) x CD28
XENP42332 PDL2 (5C11) x PDL1 (13G1) x CD28
XENP42333 PDL2 (5C11) x PDL1 (13G7) x CD28
XENP42334 PDL2 (8G2) x PDL1 (13G1) x CD28
XENP42335 PDL2 (8G2) x PDL1 (13G7) x CD28
XENP42336 PDL2 (8G5) x PDL1 (13G1) x CD28
XENP42337 PDL2 (8G5) x PDL1 (13G7) x CD28
XENP42338 PDL2 (16G11) x PDL1 (13G1) x CD28
XENP42339 PDL2 (16G11) x PDL1 (13G7) x CD28

图127C

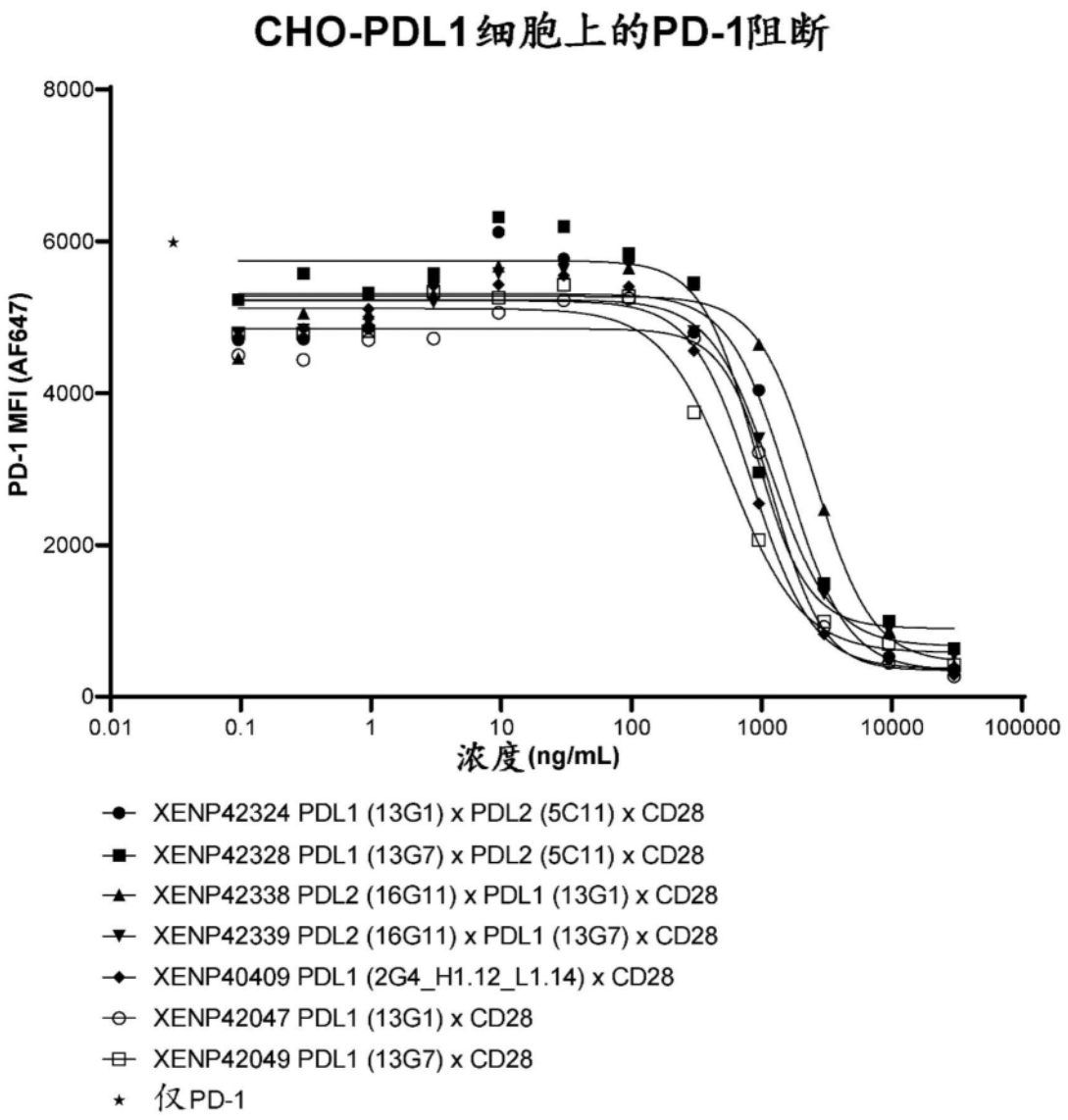

CHO-PDL1细胞上的PD-1阻断
PD-1 MFI (AF647)
8000
6000
4000
2000
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
10000
100000
浓度(ng/mL)
XENP42324 PDL1 (13G1) x PDL2 (5C11) x CD28
XENP42328 PDL1 (13G7) x PDL2 (5C11) x CD28
XENP42338 PDL2 (16G11) x PDL1 (13G1) x CD28
XENP42339 PDL2 (16G11) x PDL1 (13G7) x CD28
XENP40409 PDL1 (2G4_H1.12_L1.14) x CD28
XENP42047 PDL1 (13G1) x CD28
XENP42049 PDL1 (13G7) x CD28
仅PD-1

图128

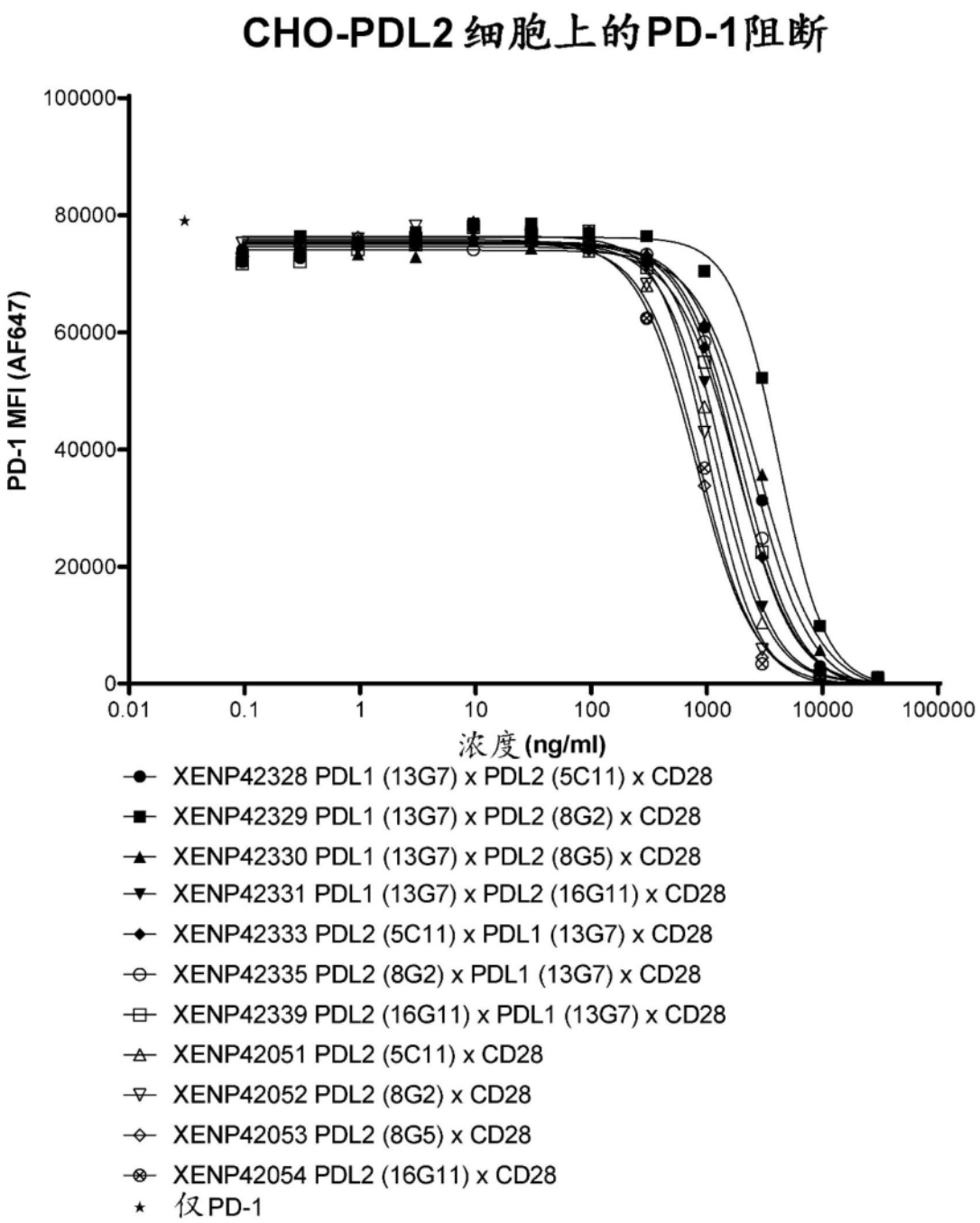

CHO-PDL2细胞上的PD-1阻断
PD-1 MFI (AF647)
100000
80000
60000
40000
20000
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
10000
100000
浓度 (ng/ml)
XENP42328 PDL1 (13G7) x PDL2 (5C11) x CD28
XENP42329 PDL1 (13G7) x PDL2 (8G2) x CD28
XENP42330 PDL1 (13G7) x PDL2 (8G5) x CD28
XENP42331 PDL1 (13G7) x PDL2 (16G11) x CD28
XENP42333 PDL2 (5C11) x PDL1 (13G7) x CD28
XENP42335 PDL2 (8G2) x PDL1 (13G7) x CD28
XENP42339 PDL2 (16G11) x PDL1 (13G7) x CD28
XENP42051 PDL2 (5C11) x CD28
XENP42052 PDL2 (8G2) x CD28
XENP42053 PDL2 (8G5) x CD28
XENP42054 PDL2 (16G11) x CD28
仅PD-1

图129

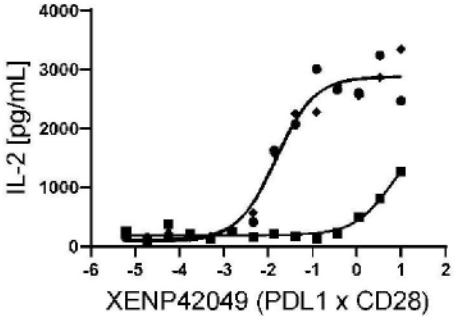


图 130A

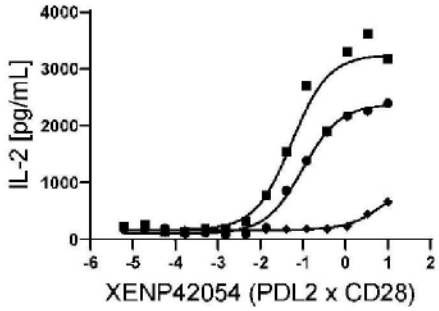


图 130B

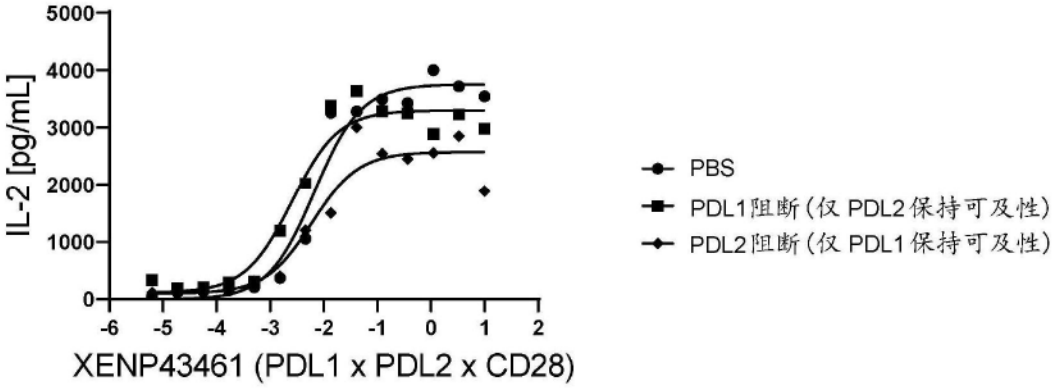


图 130C

>XENP44796 Numax_H1_IGKV1-39_L1_Fab-1F12A4.249[PD-L2]_H1.45_L1_Fab_(GKPGS)2_2A3A4.248[PD-L1]_H1.9_L1_Fab-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链 1 - Numax_H1_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3222)

QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTAGMSVGWIRQPPGKALEWLADIWWDDKKHYNPSLKDRLTISKDTSK
NQVVLKVTNMDPADTATYYCARDMIFNFYFDVWGQGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWE
SDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链 2 - 1F12A4.249[PD-L2]_H1.45_(GKPGS)2_2A3A4.248[PD-L1]_H1.9_IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3223)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGWTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGKPGSGK
PGS/QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPAFGYPAYAQKFQGRVTITAD
ESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
KTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链 3 - IGKV1-39_L1 (SEQ ID NO: 3224)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>XENP44797 1A7[CD28]_H1.129_IGKV1-39_L1_Fab-Numax_H1_IGKV1-39_L1_Fab_(GKPGS)2_Numax_H1_IGKV1-39_L1_Fab-IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S-IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S

链 1 - 1A7[CD28]_H1.129_IgG1_pI(-)_同配_A_PVA_/S267K/L368D/K370S/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3225)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISERADSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEW
ESDGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链 2 - Numax_H1_(GKPGS)2_Numax_H1_IgG1_PVA_/S267K/S364K/E357Q/M428L/N434S (SEQ ID NO: 3226)

QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTAGMSVGWIRQPPGKALEWLADIWWDDKKHYNPSLKDRLTISKDTSK
NQVVLKVTNMDPADTATYYCARDMIFNFYFDVWGQGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGKPGSGK
PGS/N434S **(SEQ ID NO: 3227)**

QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTAGMSVGWIRQPPGKALEWLADIWWDDKKHYNPSLKDRLTISKDTSK
NQVVLKVTNMDPADTATYYCARDMIFNFYFDVWGQGTTVTVSS/ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

链 3 - IGKV1-39_L1 (SEQ ID NO: 3228)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图131

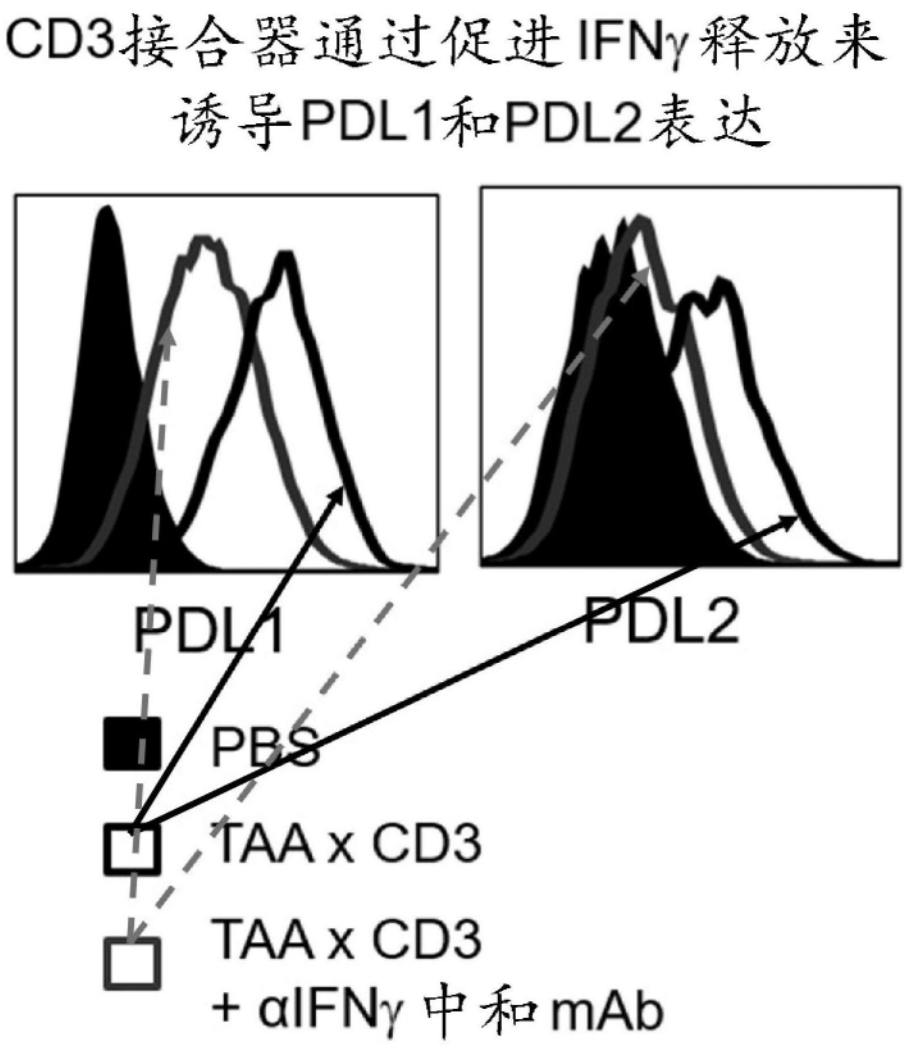

CD3接合器通过促进IFNγ释放来
诱导PDL1和PDL2表达
PDL1
PDL2
PBS
TAA x CD3
TAA x CD3
+ αIFNγ 中和 mAb

图132

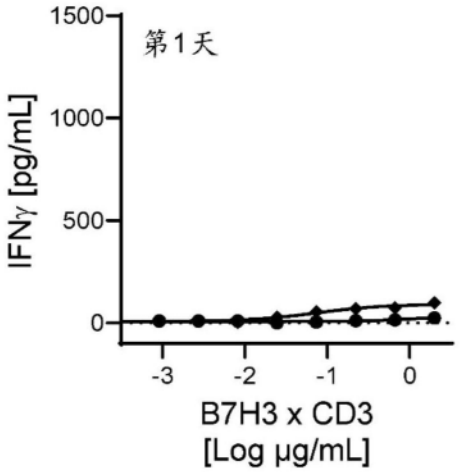


图 133A

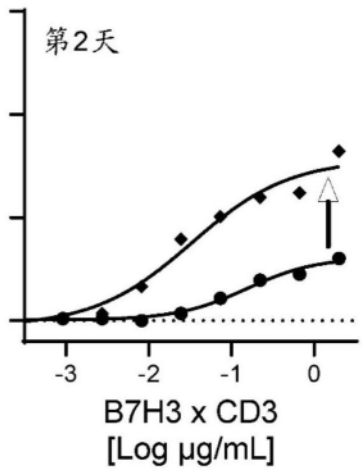


图 133B

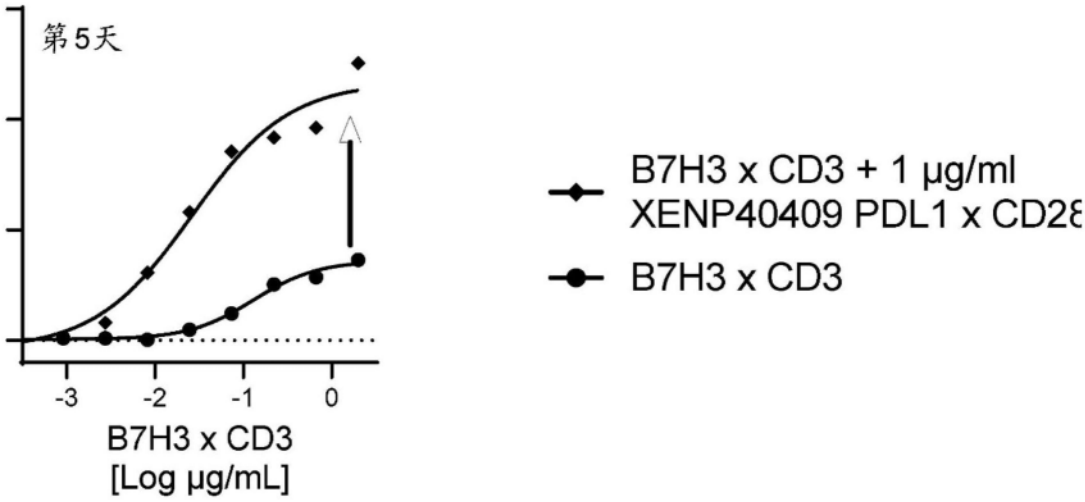


图 133C

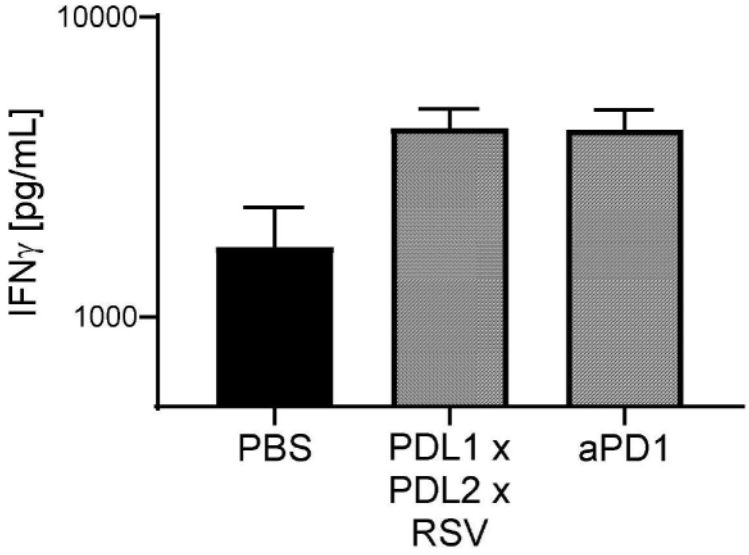

10000
1000
IFNγ [pg/mL]
PBS
PDL1 x
PDL2 x
RSV
aPD1

图134

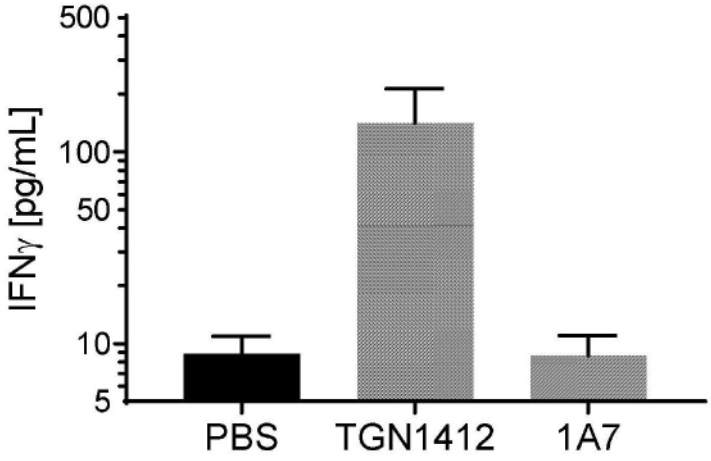

500
100
50
10
5
IFNγ [pg/mL]
PBS
TGN1412
1A7

图135

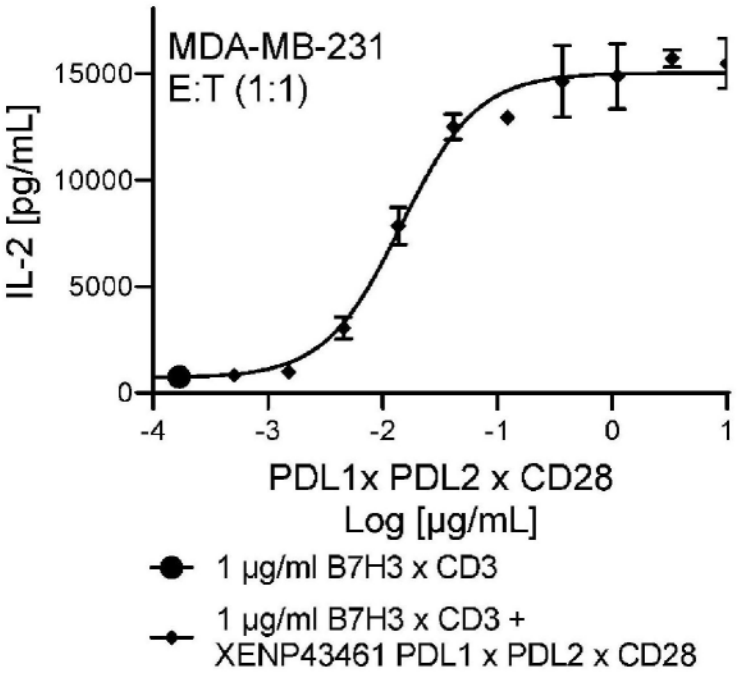

MDA-MB-231
E:T (1:1)
IL-2 [pg/mL]
15000
10000
5000
0
-4
-3
-2
-1
0
1
PDL1x PDL2 x CD28
Log [µg/mL]
1 µg/ml B7H3 x CD3
1 µg/ml B7H3 x CD3 +
XENP43461 PDL1 x PDL2 x CD28

图136A

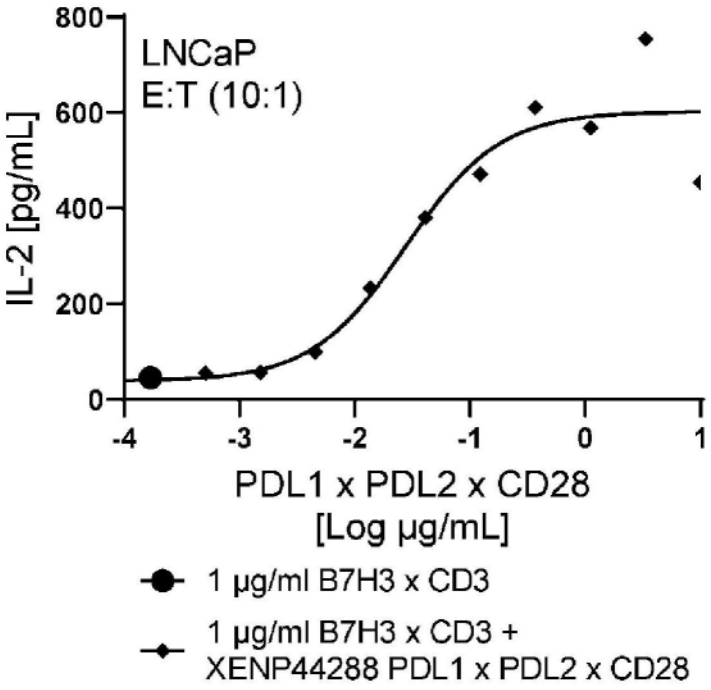

LNCaP
E:T (10:1)
IL-2 [pg/mL]
800
600
400
200
0
-4
-3
-2
-1
0
1
PDL1 x PDL2 x CD28
[Log µg/mL]
1 µg/ml B7H3 x CD3
1 µg/ml B7H3 x CD3 +
XENP44288 PDL1 x PDL2 x CD28

图136B

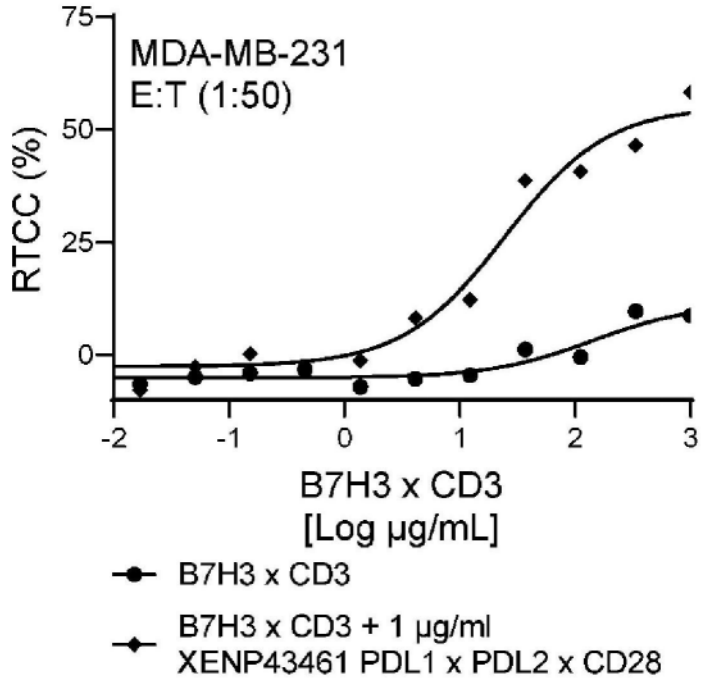

MDA-MB-231
E:T (1:50)
RTCC (%)
75
50
25
0
-2
-1
0
1
2
3
B7H3 x CD3
[Log µg/mL]
B7H3 x CD3
B7H3 x CD3 + 1 µg/ml
XENP43461 PDL1 x PDL2 x CD28

图137A

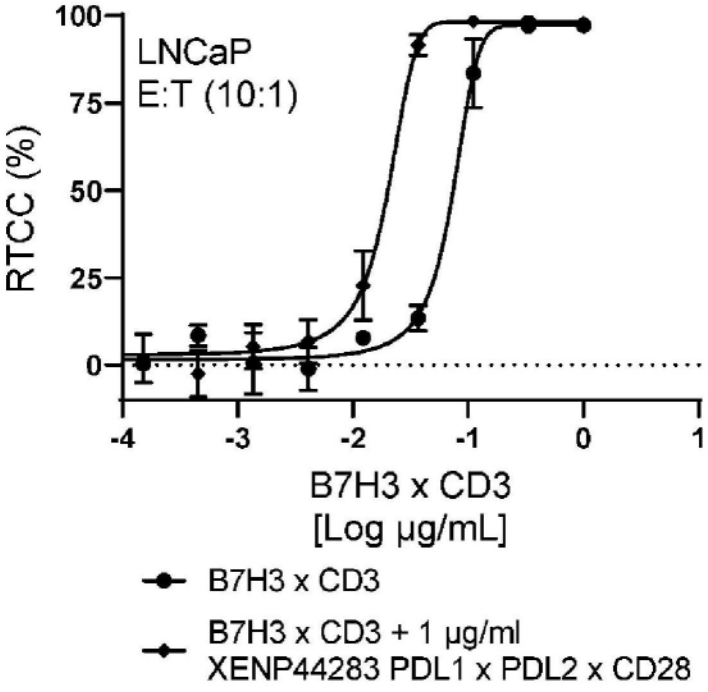

LNCaP
E:T (10:1)
RTCC (%)
100
75
50
25
0
-4
-3
-2
-1
0
1
B7H3 x CD3
[Log µg/mL]
B7H3 x CD3
B7H3 x CD3 + 1 µg/ml
XENP44283 PDL1 x PDL2 x CD28

图137B

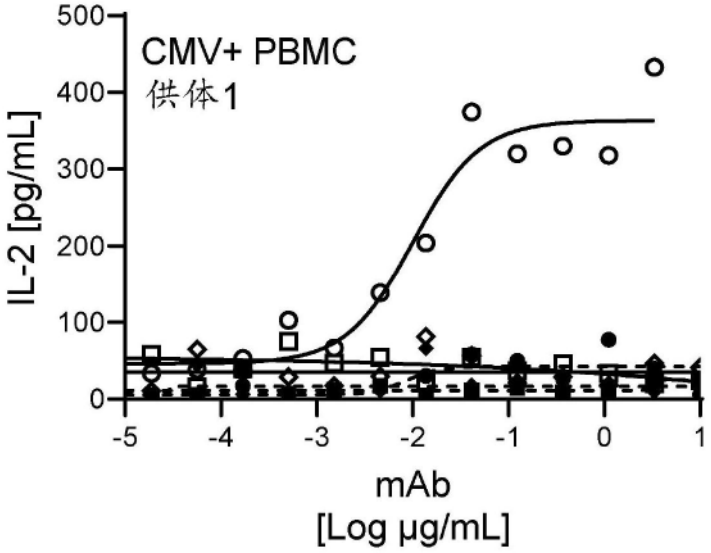

CMV+ PBMC
供体1
IL-2 [pg/mL]
500
400
300
200
100
0
-5
-4
-3
-2
-1
0
1
mAb
[Log μg/mL]

图138A

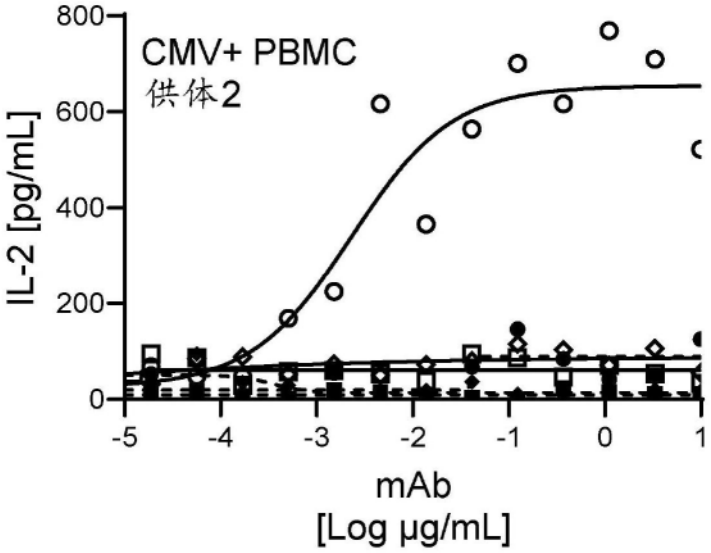

CMV+ PBMC
供体2
IL-2 [pg/mL]
800
600
400
200
0
-5
-4
-3
-2
-1
0
1
mAb
[Log μg/mL]

图138B

XENP43734_XPL2-16G11[PD-L2]_H3.7_6B1_L1_Fab_(G4A)2_XPL1-13G7[PD-L1]_H2.18_6B1_L1_Fab-1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4-mIgG2aa_L234A/L235A/P329G/F405L/R411T-Fc_mIgG2aa_L234A/L235A/P329G/T370K/K409R

链1 – XPL2-16G11[PD-L2]_H3.7_(G4A)2_XPL1-13G7[PD-L1]_H2.18_mIgG2aa_L234A/L235A/P329G/F405L/R411T (SEQ ID NO: 3229)

QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSISSSNWWGWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGLTNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS/AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYF
PEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPGGGGAGGG
GA/QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISGYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGPTNYNPSLKSRVTISVDTS
KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLAPFDYWGQGTLVTVSS/AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLV
KGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKP
CPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPMVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVLTAQTQTHREDYNSTL
RVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKALGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDI
YVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYLMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK

链2 – 1A7[CD28]_H1.14_L1.71_scFv(GKPGS)4_Fc_mIgG2aa_L234A/L235A/P329G/T370K/K409R (SEQ ID NO: 3230)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/DIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQVYSTPFTFGQGTKLEIK/EPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPMVTCVVVDVSEDDP
DVQISWFVNNVEVLTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKALGAPIERTISKPKGSVRAPQV
YVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSRLRVEKKNWVERNSYSC
SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK

链3 – 6B1_L1 轻链 (SEQ ID NO: 3231)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGS
ERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC

图139A

XENP43735_XPL2-16G11[PD-L2]_H3.7_6B1_L1_Fab_(G4A)2_XPL1-13G7[PD-L1]_H2.18_6B1_L1_Fab-Numax_VHVL_scFv(GKPGS)4-mIgG2aa_L234A/L235A/P329G/F405L/R411T-Fc_mIgG2aa_L234A/L235A/P329G/T370K/K409R

链1 – XPL2-16G11[PD-L2]_H3.7_(G4A)2_XPL1-13G7[PD-L1]_H2.18_mIgG2aa_L234A/L235A/P329G/F405L/R411T (SEQ ID NO: 3232)

QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSISSSNWWGWVRQPPGKGLEWIGEIFHIGLTNYNPSLKSRVTISVDKSKN
QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVSFGDSYYFDYWGQGTLVTVSS/AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYF
PEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPGGGGAGGG
GA/QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISGYFWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGPTNYNPSLKSRVTISVDTS
KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGPLIQLWLAPFDYWGQGTLVTVSS/AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLV
KGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKP
CPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPMVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVLTAQTQTHREDYNSTL
RVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKALGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDI
YVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYLMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK

链2 – Numax_VHVL_scFv(GKPGS)4_Fc_mIgG2aa_L234A/L235A/P329G/T370K/K409R (SEQ ID NO: 3233)

QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTAGMSVGWIRQPPGKALEWLADIWWDDKKHYNPSLKDRLTISKDTSK
NQVVLKVTNMDPADTATYYCARDMIFNFYFDVWGQGTTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSDIQMTQSPSTLSAS
VGDRVTITCSASSRVGYMHWYQQKPGKAPKLLIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCFQGS
GYPFTFGGGTKVEIKEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPMVTCVVVDVSEDDPDVQIS
WFVNNVEVLTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKALGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPP
PEEEMTKKQVTLTCMVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSRLRVEKKNWVERNSYSCSVVHE
GLHNHHTTKSFSRTPGK

链3 – 6B1_L1 轻链 (SEQ ID NO: 3234)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK/RADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGS
ERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC

图139B

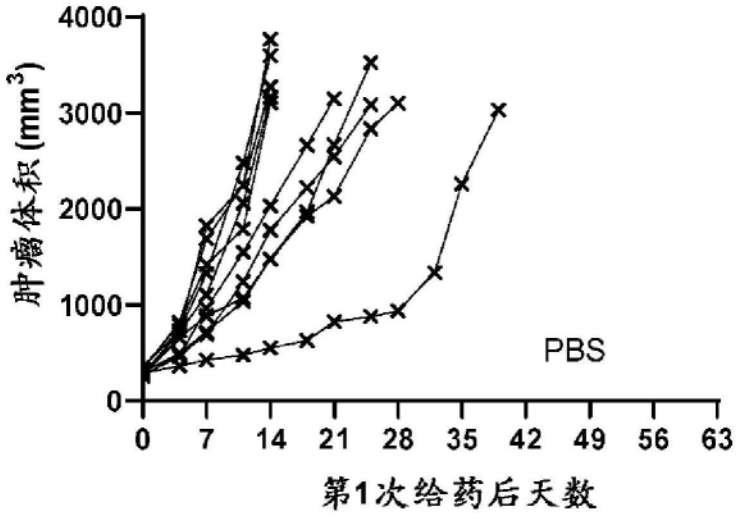

4000
3000
2000
1000
0
肿瘤体积 (mm3)
PBS
0 7 14 21 28 35 42 49 56 63
第1次给药后天数

图140A

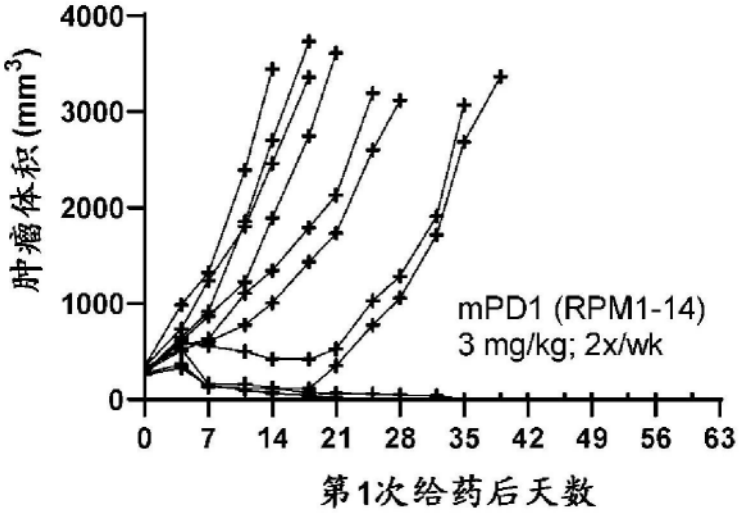

4000
3000
2000
1000
0
肿瘤体积 (mm3)
mPD1 (RPM1-14)
3 mg/kg; 2x/wk
0 7 14 21 28 35 42 49 56 63
第1次给药后天数

图140B

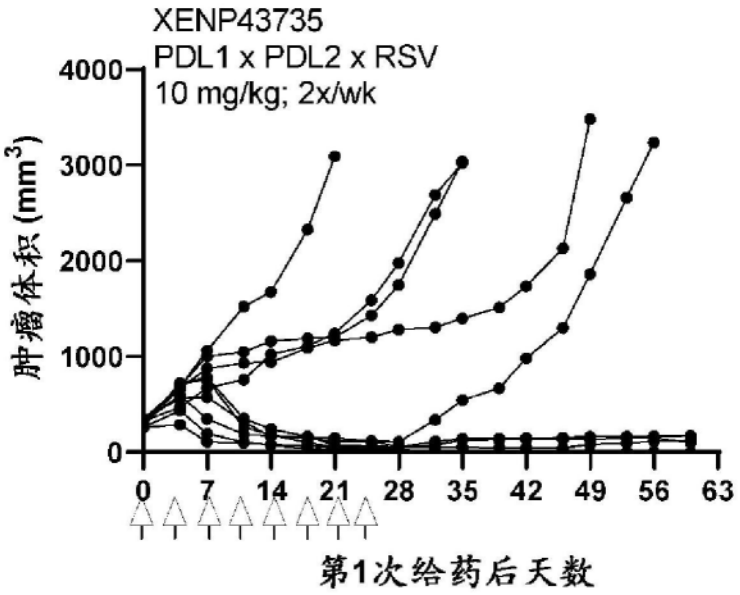
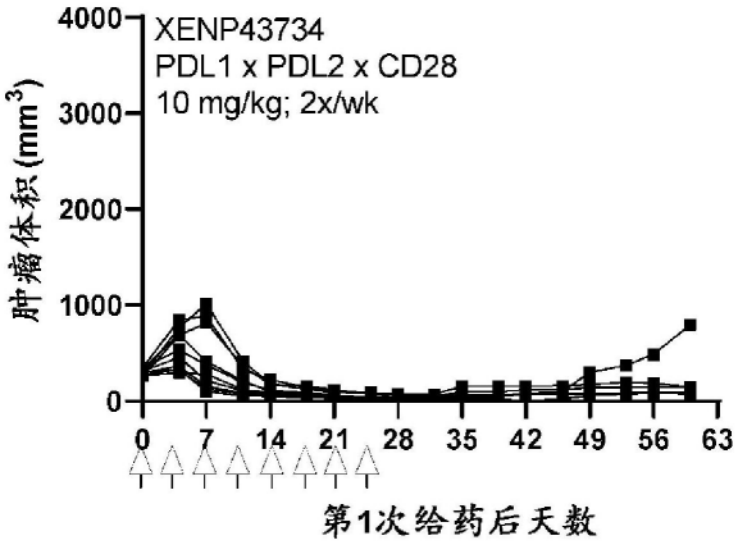


图140C



× PBS 2x/wk
\+ 抗mPD-1 3mg/kg 2x/wk
• XENP43735 PDL1 x PDL2 x RSV 10 mg/kg 2x/wk
■ XENP43734 PDL1 x PDL2 x CD28 10 mg/kg 2x/wk

图140D

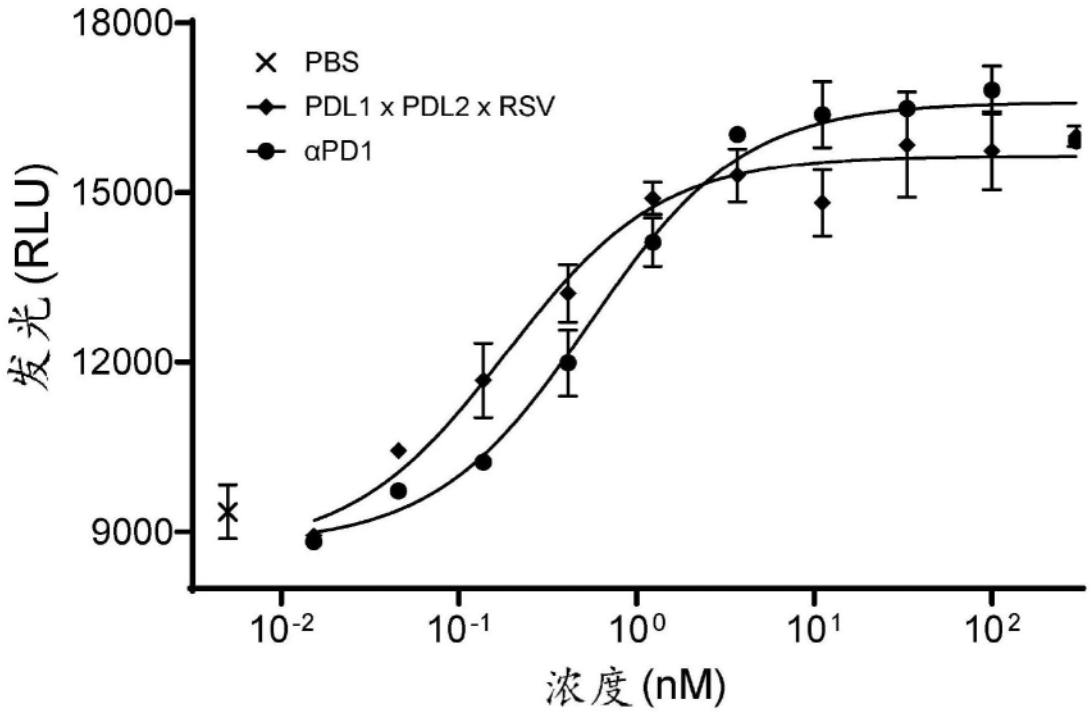

18000
15000
12000
9000
发光(RLU)
PBS
PDL1 x PDL2 x RSV
αPD1
10-2
10-1
100
101
102
浓度(nM)

图141

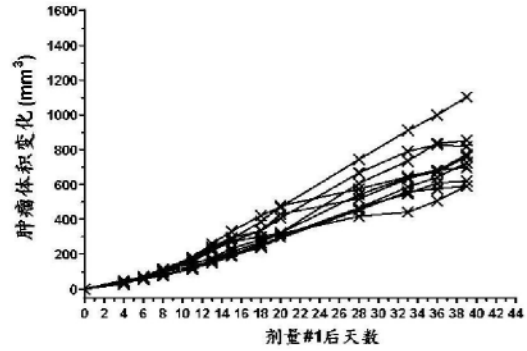


图 142A

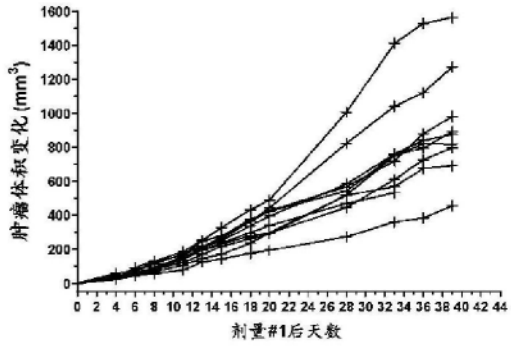


图 142B

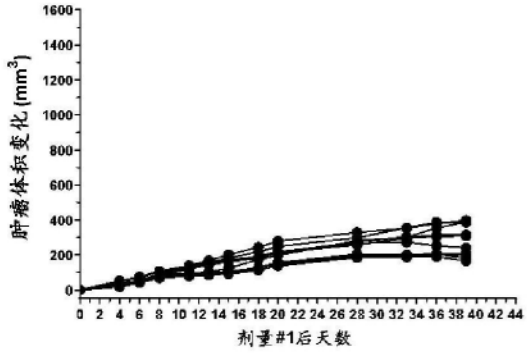


图 142C

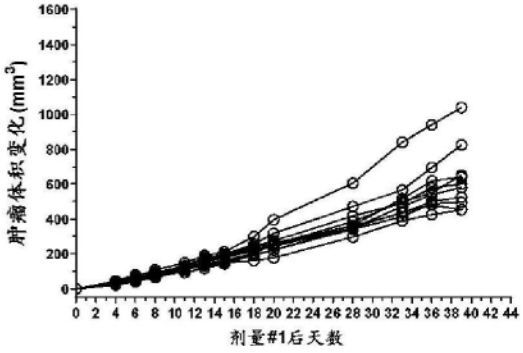
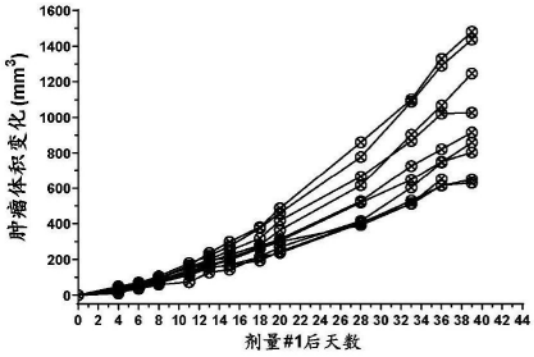


图 142D



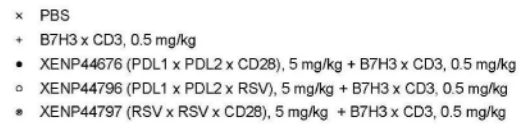


图 142E

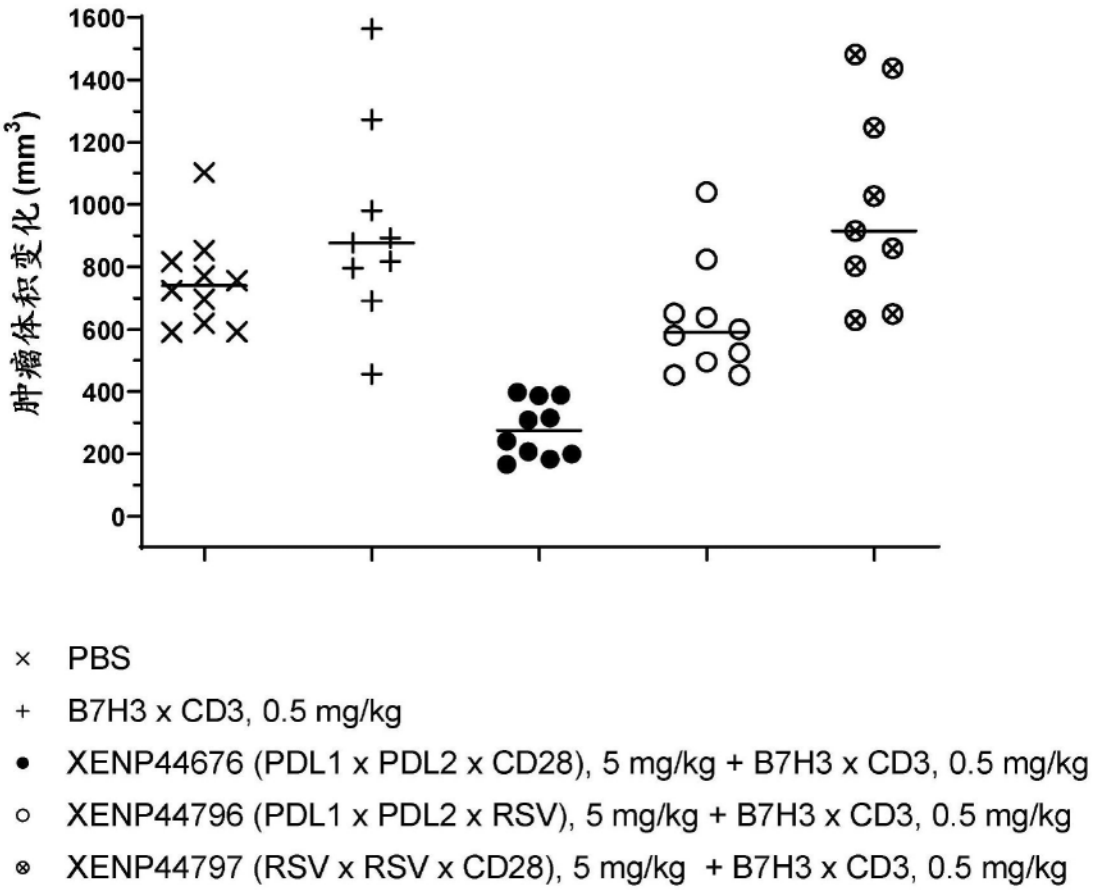
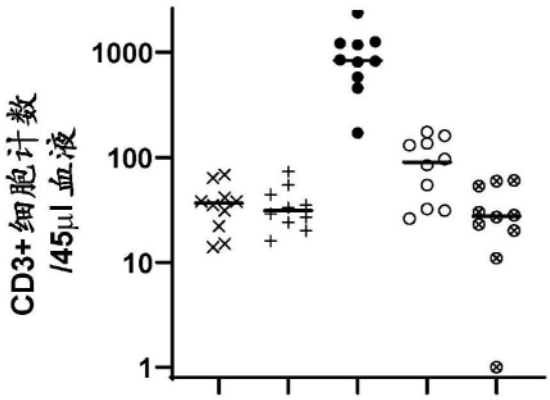

肿瘤体积变化 (mm^3)
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
× PBS
+ B7H3 x CD3, 0.5 mg/kg
• XENP44676 (PDL1 x PDL2 x CD28), 5 mg/kg + B7H3 x CD3, 0.5 mg/kg
○ XENP44796 (PDL1 x PDL2 x RSV), 5 mg/kg + B7H3 x CD3, 0.5 mg/kg
⊗ XENP44797 (RSV x RSV x CD28), 5 mg/kg + B7H3 x CD3, 0.5 mg/kg

图143



× PBS

\+ B7H3 x CD3, 0.5 mg/kg

• XENP44676 (PDL1 x PDL2 x CD28), 5 mg/kg + B7H3 x CD3, 0.5 mg/kg

○ XENP44796 (PDL1 x PDL2 x RSV), 5 mg/kg + B7H3 x CD3, 0.5 mg/kg

⊗ XENP44797 (RSV x RSV x CD28), 5 mg/kg + B7H3 x CD3, 0.5 mg/kg

图144

		人 PDL1		
XENP	XENP 描述	K_D	k_a	k_d
41107	XPL1-13G1[PD-L1]_H1L1	9.70E-10	1.70E+05	1.70E-04
42853	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.1_XPL1-6B1_L1	8.00E-10	4.70E+05	3.70E-04
42854	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.2_XPL1-6B1_L1	4.10E-10	5.10E+05	2.00E-04
42855	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.3_XPL1-6B1_L1	2.50E-10	5.00E+05	1.20E-04
42856	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.4_XPL1-6B1_L1	5.10E-10	3.40E+05	1.70E-04
42857	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.5_XPL1-6B1_L1	8.60E-10	3.60E+05	3.10E-04
42858	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.6_XPL1-6B1_L1	1.80E-10	4.30E+05	7.90E-05
42859	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.7_XPL1-6B1_L1			
42860	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.8_XPL1-6B1_L1	6.00E-10	4.10E+05	2.40E-04
42861	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.9_XPL1-6B1_L1	3.10E-10	6.00E+05	1.80E-04
42862	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.10_XPL1-6B1_L1	5.40E-10	1.90E+05	1.00E-04
42863	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.11_XPL1-6B1_L1	7.50E-10	1.70E+05	1.30E-04
42864	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.12_XPL1-6B1_L1	3.40E-10	4.40E+05	1.50E-04
42865	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.13_XPL1-6B1_L1	2.70E-10	3.80E+05	1.00E-04
42866	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.14_XPL1-6B1_L1	1.60E-10	5.20E+05	8.00E-05
42867	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.15_XPL1-6B1_L1	5.10E-10	2.90E+05	1.50E-04
42868	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.16_XPL1-6B1_L1	3.00E-10	5.00E+05	1.40E-04
42869	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.17_XPL1-6B1_L1	2.80E-10	4.60E+05	1.30E-04
42870	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.18_XPL1-6B1_L1	5.00E-11	4.50E+05	2.10E-05
42871	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.19_XPL1-6B1_L1	1.50E-10	4.70E+05	7.10E-05

图145

		食蟹猴PDL1		
XENP	XENP描述	K_D	k_a	k_d
41107	XPL1-13G1[PD-L1]_H1L1	1.10E-09	2.10E+05	2.30E-04
42853	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.1_XPL1-6B1_L1	6.80E-10	5.20E+05	3.50E-04
42854	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.2_XPL1-6B1_L1	3.70E-10	5.30E+05	1.90E-04
42855	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.3_XPL1-6B1_L1	1.50E-10	5.20E+05	7.90E-05
42856	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.4_XPL1-6B1_L1	4.40E-10	3.30E+05	1.40E-04
42857	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.5_XPL1-6B1_L1	5.20E-10	4.10E+05	2.10E-04
42858	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.6_XPL1-6B1_L1	1.20E-10	4.70E+05	5.60E-05
42859	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.7_XPL1-6B1_L1			
42860	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.8_XPL1-6B1_L1	3.40E-10	4.40E+05	1.50E-04
42861	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.9_XPL1-6B1_L1	2.50E-10	6.00E+05	1.50E-04
42862	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.10_XPL1-6B1_L1	3.90E-10	2.00E+05	7.50E-05
42863	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.11_XPL1-6B1_L1	5.10E-10	1.80E+05	9.20E-05
42864	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.12_XPL1-6B1_L1	2.00E-10	5.20E+05	1.00E-04
42865	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.13_XPL1-6B1_L1	2.80E-10	3.30E+05	9.10E-05
42866	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.14_XPL1-6B1_L1	1.10E-10	6.30E+05	6.80E-05
42867	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.15_XPL1-6B1_L1	4.50E-10	3.40E+05	1.50E-04
42868	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.16_XPL1-6B1_L1	2.30E-10	5.80E+05	1.30E-04
42869	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.17_XPL1-6B1_L1	2.00E-10	5.20E+05	1.00E-04
42870	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.18_XPL1-6B1_L1	3.10E-11	4.70E+05	1.50E-05
42871	XPL1-13G7[PD-L1]_H1.19_XPL1-6B1_L1	1.20E-10	5.30E+05	6.10E-05

图146

		人 PDL2		
XENP	XENP 描述	K_D	k_a	k_d
41156	XPL2-16G11[PD-L2]_H1_XPL1-6B1_L1	5.40E-10	8.30E+05	4.40E-04
42992	XPL2-16G11[PD-L2]_H2_6B1_L1	4.70E-10	9.50E+05	4.50E-04
42872	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.1_XPL1-6B1_L1	1.80E-10	8.60E+05	1.60E-04
42873	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.2_XPL1-6B1_L1	2.00E-10	6.70E+05	1.30E-04
42874	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.3_XPL1-6B1_L1	3.70E-09	4.70E+05	1.70E-03
42875	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.4_XPL1-6B1_L1	3.10E-10	6.90E+05	2.10E-04
42876	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.5_XPL1-6B1_L1	4.80E-10	7.10E+05	3.40E-04
42878	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.7_XPL1-6B1_L1	1.40E-10	6.80E+05	9.60E-05
42879	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.8_XPL1-6B1_L1	1.10E-09	6.00E+05	6.50E-04
42880	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.9_XPL1-6B1_L1	9.50E-10	6.30E+05	6.00E-04
42881	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.10_XPL1-6B1_L1	1.10E-09	5.20E+05	5.70E-04
42882	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.11_XPL1-6B1_L1	6.10E-09	3.80E+05	2.30E-03
42883	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.12_XPL1-6B1_L1	6.30E-10	6.90E+05	4.30E-04
42884	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.13_XPL1-6B1_L1	1.30E-10	5.40E+05	6.70E-05
42885	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.14_XPL1-6B1_L1	1.80E-10	6.40E+05	1.20E-04
42886	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.15_XPL1-6B1_L1	5.00E-10	5.50E+05	2.70E-04
42887	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.16_XPL1-6B1_L1	2.80E-10	5.90E+05	1.60E-04
42888	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.17_XPL1-6B1_L1	4.90E-10	6.10E+05	2.90E-04
42889	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.18_XPL1-6B1_L1	2.00E-10	8.60E+05	1.70E-04
42890	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.19_XPL1-6B1_L1	1.10E-10	9.60E+05	1.10E-04

图147

		食蟹猴PDL2		
XENP	XENP 描述	K_D	k_a	k_d
41156	XPL2-16G11[PD-L2]_H1_XPL1-6B1_L1	2.50E-10	1.30E+06	3.20E-04
42992	XPL2-16G11[PD-L2]_H2_6B1_L1	2.50E-10	1.40E+06	3.40E-04
42872	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.1_XPL1-6B1_L1	1.00E-10	1.60E+06	1.50E-04
42873	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.2_XPL1-6B1_L1	1.30E-10	1.80E+06	2.50E-04
42874	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.3_XPL1-6B1_L1	1.90E-09	7.60E+05	1.40E-03
42875	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.4_XPL1-6B1_L1	2.20E-10	2.00E+06	4.40E-04
42876	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.5_XPL1-6B1_L1	2.80E-10	8.00E+05	2.20E-04
42878	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.7_XPL1-6B1_L1	8.00E-11	6.80E+05	5.30E-05
42879	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.8_XPL1-6B1_L1	6.60E-10	5.10E+05	3.40E-04
42880	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.9_XPL1-6B1_L1	6.20E-10	6.40E+05	4.00E-04
42881	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.10_XPL1-6B1_L1	6.00E-10	6.50E+05	3.90E-04
42882	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.11_XPL1-6B1_L1	3.70E-09	4.40E+05	1.60E-03
42883	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.12_XPL1-6B1_L1	3.70E-10	1.00E+06	3.60E-04
42884	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.13_XPL1-6B1_L1	7.50E-11	7.60E+05	5.60E-05
42885	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.14_XPL1-6B1_L1	6.90E-11	1.60E+06	1.00E-04
42886	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.15_XPL1-6B1_L1	2.00E-10	1.00E+06	2.10E-04
42887	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.16_XPL1-6B1_L1	1.30E-10	1.20E+06	1.50E-04
42888	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.17_XPL1-6B1_L1	1.70E-10	1.80E+06	2.50E-04
42889	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.18_XPL1-6B1_L1	1.10E-10	1.40E+06	1.60E-04
42890	XPL2-16G11[PD-L2]_H1.19_XPL1-6B1_L1	6.80E-11	1.40E+06	9.20E-05

图148

		人PDL1		
XENP	XENP 描述	K_D	k_a	k_d
37445	2A3A4.248[PDL1]_H1_L1	1.90E-09	2.60E+05	4.70E-04
42891	2A3A4.248[PDL1]_H1.1_L1	2.00E-09	2.10E+05	4.00E-04
42892	2A3A4.248[PDL1]_H1.2_L1	7.10E-10	2.10E+05	1.50E-04
42893	2A3A4.248[PDL1]_H1.3_L1	4.80E-10	4.50E+05	2.10E-04
42894	2A3A4.248[PDL1]_H1.4_L1	6.80E-10	3.20E+05	2.20E-04
42895	2A3A4.248[PDL1]_H1.5_L1	2.50E-10	2.60E+05	6.20E-05
42896	2A3A4.248[PDL1]_H1.6_L1	1.30E-10	2.70E+05	3.50E-05
42897	2A3A4.248[PDL1]_H1.7_L1	1.40E-10	3.90E+05	5.20E-05
42898	2A3A4.248[PDL1]_H1.8_L1	1.40E-09	2.30E+05	3.10E-04
42899	2A3A4.248[PDL1]_H1.9_L1	8.30E-11	3.10E+05	2.40E-05
42900	2A3A4.248[PDL1]_H1.10_L1	7.70E-10	1.50E+05	1.10E-04
42901	2A3A4.248[PDL1]_H1.11_L1	1.80E-10	2.40E+05	4.10E-05
42902	2A3A4.248[PDL1]_H1.12_L1	3.60E-10	2.00E+05	7.30E-05
42903	2A3A4.248[PDL1]_H1.13_L1	7.40E-10	2.70E+05	2.00E-04

图149

		食蟹猴PDL1		
XENP	XENP描述	K_D	k_a	k_d
37445	2A3A4.248[PDL1]_H1_L1	1.60E-09	2.90E+05	4.50E-04
42891	2A3A4.248[PDL1]_H1.1_L1	1.60E-09	2.30E+05	3.70E-04
42892	2A3A4.248[PDL1]_H1.2_L1	5.60E-10	2.60E+05	1.40E-04
42893	2A3A4.248[PDL1]_H1.3_L1	4.30E-10	2.90E+05	1.30E-04
42894	2A3A4.248[PDL1]_H1.4_L1	5.50E-10	3.60E+05	1.90E-04
42895	2A3A4.248[PDL1]_H1.5_L1	1.90E-10	3.20E+05	6.00E-05
42896	2A3A4.248[PDL1]_H1.6_L1	1.20E-10	3.20E+05	3.60E-05
42897	2A3A4.248[PDL1]_H1.7_L1	1.40E-10	3.70E+05	5.00E-05
42898	2A3A4.248[PDL1]_H1.8_L1	1.10E-09	2.60E+05	2.70E-04
42899	2A3A4.248[PDL1]_H1.9_L1	8.50E-11	3.50E+05	2.90E-05
42900	2A3A4.248[PDL1]_H1.10_L1	6.70E-10	1.60E+05	1.10E-04
42901	2A3A4.248[PDL1]_H1.11_L1	1.60E-10	2.50E+05	4.00E-05
42902	2A3A4.248[PDL1]_H1.12_L1	3.20E-10	2.30E+05	7.40E-05
42903	2A3A4.248[PDL1]_H1.13_L1	5.90E-10	3.30E+05	1.90E-04

图150

		人PDL2		
XENP	XENP描述	K_D	k_a	k_d
37831	1F12A4.249[PDL2]_H1_L1	7.90E-10	1.70E+05	1.30E-04
42911	1F12A4.249[PD-L2]_H1.1_L1	4.80E-10	1.70E+05	8.10E-05
42912	1F12A4.249[PD-L2]_H1.2_L1	7.80E-10	1.30E+05	1.00E-04
42913	1F12A4.249[PD-L2]_H1.3_L1	1.20E-09	1.40E+05	1.70E-04
42914	1F12A4.249[PD-L2]_H1.4_L1	2.00E-09	1.10E+05	2.30E-04
42915	1F12A4.249[PD-L2]_H1.5_L1	2.00E-09	1.10E+05	2.10E-04
42916	1F12A4.249[PD-L2]_H1.6_L1	5.00E-09	4.10E+04	2.00E-04
42917	1F12A4.249[PD-L2]_H1.7_L1	1.20E-07	7.30E+04	8.60E-03
42918	1F12A4.249[PD-L2]_H1.8_L1	1.40E-08	8.00E+04	6.70E-04
42919	1F12A4.249[PD-L2]_H1.9_L1	2.70E-09	5.00E+04	1.40E-04
42920	1F12A4.249[PD-L2]_H1.10_L1	2.40E-08	1.70E+05	4.00E-03
42921	1F12A4.249[PD-L2]_H1.11_L1	2.70E-08	1.50E+05	4.00E-03
42923	1F12A4.249[PD-L2]_H1.13_L1			
42924	1F12A4.249[PD-L2]_H1.14_L1	2.10E-07	3.80E+04	9.20E-03

图151

		食蟹猴PDL2		
XENP	XENP描述	K_D	k_a	k_d
37831	1F12A4.249[PDL2]_H1_L1	7.90E-10	1.60E+05	1.20E-04
42911	1F12A4.249[PD-L2]_H1.1_L1	5.90E-10	1.30E+05	7.70E-05
42912	1F12A4.249[PD-L2]_H1.2_L1	1.10E-09	1.20E+05	1.30E-04
42913	1F12A4.249[PD-L2]_H1.3_L1	2.80E-09	8.20E+04	2.30E-04
42914	1F12A4.249[PD-L2]_H1.4_L1	3.80E-09	9.60E+04	3.40E-04
42915	1F12A4.249[PD-L2]_H1.5_L1	1.80E-09	1.10E+05	2.00E-04
42916	1F12A4.249[PD-L2]_H1.6_L1	2.90E-09	3.20E+04	1.10E-04
42917	1F12A4.249[PD-L2]_H1.7_L1	8.20E-08	1.10E+05	8.20E-03
42918	1F12A4.249[PD-L2]_H1.8_L1	2.30E-07	1.60E+04	1.00E-03
42919	1F12A4.249[PD-L2]_H1.9_L1	4.30E-09	4.50E+04	1.90E-04
42920	1F12A4.249[PD-L2]_H1.10_L1	2.40E-08	1.60E+05	3.80E-03
42921	1F12A4.249[PD-L2]_H1.11_L1	2.10E-08	1.60E+05	3.30E-03
42923	1F12A4.249[PD-L2]_H1.13_L1			
42924	1F12A4.249[PD-L2]_H1.14_L1	2.70E-09	5.60E+03	1.00E-05

图152

		人 PDL2		
XENP	XENP描述	K_D	k_a	k_d
42911	1F12A4.249[PD-L2]_H1.1_L1	1.20E+05	8.60E-05	7.50E-10
44216	1F12A4.249[PD-L2]_H1.15_L1	1.30E+05	9.00E-05	7.00E-10
44217	1F12A4.249[PD-L2]_H1.16_L1	1.10E+05	1.90E-04	1.70E-09
44218	1F12A4.249[PD-L2]_H1.17_L1	2.60E+05	2.40E-05	9.00E-11
44219	1F12A4.249[PD-L2]_H1.18_L1	1.40E+05	1.10E-04	8.20E-10
44220	1F12A4.249[PD-L2]_H1.19_L1	1.40E+05	1.20E-04	9.30E-10
44221	1F12A4.249[PD-L2]_H1.20_L1	1.10E+05	6.10E-05	5.70E-10
44222	1F12A4.249[PD-L2]_H1.21_L1	1.70E+05	3.30E-05	2.00E-10
44223	1F12A4.249[PD-L2]_H1.22_L1	1.10E+05	8.90E-05	8.10E-10
44224	1F12A4.249[PD-L2]_H1.23_L1	1.60E+05	9.10E-05	5.60E-10
44225	1F12A4.249[PD-L2]_H1.24_L1	3.40E+05	8.40E-05	2.60E-10
44226	1F12A4.249[PD-L2]_H1.25_L1	1.60E+05	1.20E-04	8.10E-10
44227	1F12A4.249[PD-L2]_H1.26_L1	1.10E+05	9.40E-05	9.20E-10
44228	1F12A4.249[PD-L2]_H1.27_L1	1.40E+05	8.40E-05	6.20E-10
44229	1F12A4.249[PD-L2]_H1.28_L1			
44230	1F12A4.249[PD-L2]_H1.29_L1	1.40E+05	1.90E-04	1.40E-09
44231	1F12A4.249[PD-L2]_H1.30_L1	2.40E+05	9.90E-05	4.40E-10
44232	1F12A4.249[PD-L2]_H1.31_L1	2.90E+05	8.80E-05	3.30E-10
44233	1F12A4.249[PD-L2]_H1.32_L1	6.50E+04	8.70E-05	1.40E-09
44234	1F12A4.249[PD-L2]_H1.33_L1	1.10E+05	3.90E-05	3.60E-10
44235	1F12A4.249[PD-L2]_H1.34_L1	1.40E+05	7.30E-05	5.30E-10
44237	1F12A4.249[PD-L2]_H1.36_L1	1.20E+05	9.30E-05	8.20E-10
44238	1F12A4.249[PD-L2]_H1.37_L1			

图153A

44239	1F12A4.249[PD-L2]_H1.38_L1	1.80E+05	8.60E-05	5.20E-10
44240	1F12A4.249[PD-L2]_H1.39_L1	1.60E+05	1.10E-04	6.80E-10
44241	1F12A4.249[PD-L2]_H1.40_L1	1.50E+05	7.30E-05	5.10E-10
44242	1F12A4.249[PD-L2]_H1.41_L1	1.10E+05	8.90E-05	8.90E-10
44243	1F12A4.249[PD-L2]_H1.42_L1	1.20E+05	1.20E-04	1.10E-09
44244	1F12A4.249[PD-L2]_H1.43_L1	2.60E+05	2.80E-05	1.10E-10
44245	1F12A4.249[PD-L2]_H1.44_L1	1.20E+05	8.10E-05	7.10E-10
44246	1F12A4.249[PD-L2]_H1.45_L1	2.50E+05	2.00E-05	8.60E-11
44247	1F12A4.249[PD-L2]_H1.46_L1	1.40E+05	1.20E-04	9.40E-10
44248	1F12A4.249[PD-L2]_H1.47_L1	1.70E+05	1.80E-04	1.00E-09
44249	1F12A4.249[PD-L2]_H1.48_L1	7.50E+04	1.60E-04	2.10E-09
44251	1F12A4.249[PD-L2]_H1.50_L1	1.30E+05	9.20E-05	7.10E-10
44252	1F12A4.249[PD-L2]_H1.51_L1	1.20E+05	1.00E-04	9.30E-10
44255	1F12A4.249[PD-L2]_H1.54_L1	8.10E+04	7.50E-05	9.60E-10
44256	1F12A4.249[PD-L2]_H1.55_L1	1.10E+05	1.00E-04	9.90E-10
44257	1F12A4.249[PD-L2]_H1.56_L1	1.00E+05	1.40E-04	1.50E-09
44258	1F12A4.249[PD-L2]_H1.57_L1	3.50E+04	1.20E-04	3.30E-09

		人 PDL2		
XENP	XENP 描述	K_D	k_a	k_d
44259	1F12A4.249[PD-L2]_H1.58_L1	1.20E+05	8.50E-05	7.50E-10
44260	1F12A4.249[PD-L2]_H1.59_L1	1.00E+05	1.60E-04	1.60E-09
44261	1F12A4.249[PD-L2]_H1.60_L1	2.40E+05	1.00E-04	4.50E-10
44262	1F12A4.249[PD-L2]_H1.61_L1	1.90E+05	9.00E-05	5.00E-10
44263	1F12A4.249[PD-L2]_H1.62_L1	1.10E+05	1.70E-04	1.70E-09
44264	1F12A4.249[PD-L2]_H1.63_L1	2.40E+05	1.10E-04	4.50E-10
44265	1F12A4.249[PD-L2]_H1.64_L1	5.70E+04	3.00E-04	5.50E-09
44266	1F12A4.249[PD-L2]_H1.65_L1	1.40E+05	9.30E-05	6.80E-10
44267	1F12A4.249[PD-L2]_H1.66_L1	1.60E+05	1.90E-04	1.20E-09
44268	1F12A4.249[PD-L2]_H1.67_L1	3.00E+04	1.30E-04	4.40E-09
44269	1F12A4.249[PD-L2]_H1.68_L1	5.80E+04	2.10E-04	3.60E-09
44270	1F12A4.249[PD-L2]_H1.69_L1	1.40E+05	8.20E-05	5.80E-10
44271	1F12A4.249[PD-L2]_H1.70_L1	2.30E+05	1.30E-04	4.60E-10
44273	1F12A4.249[PD-L2]_H1.72_L1	1.70E+05	1.40E-05	9.20E-11
44274	1F12A4.249[PD-L2]_H1.73_L1	1.30E+05	1.10E-04	8.90E-10

图153B

		食蟹猴PDL2		
		K_D	k_a	k_d
42911	1F12A4.249[PD-L2]_H1.1_L1	1.40E+05	6.30E-05	4.70E-10
44216	1F12A4.249[PD-L2]_H1.15_L1	1.50E+05	6.50E-05	4.40E-10
44217	1F12A4.249[PD-L2]_H1.16_L1	1.40E+05	1.30E-04	9.90E-10
44218	1F12A4.249[PD-L2]_H1.17_L1	1.50E+05	1.30E-05	8.50E-11
44219	1F12A4.249[PD-L2]_H1.18_L1	1.50E+05	5.10E-05	3.50E-10
44220	1F12A4.249[PD-L2]_H1.19_L1	1.40E+05	5.90E-05	4.30E-10
44221	1F12A4.249[PD-L2]_H1.20_L1	1.20E+05	4.10E-05	3.50E-10
44222	1F12A4.249[PD-L2]_H1.21_L1	1.40E+05	2.10E-05	1.50E-10
44223	1F12A4.249[PD-L2]_H1.22_L1	1.40E+05	7.00E-05	5.10E-10
44224	1F12A4.249[PD-L2]_H1.23_L1	1.70E+05	6.80E-05	4.10E-10
44225	1F12A4.249[PD-L2]_H1.24_L1	2.40E+05	7.70E-05	3.20E-10
44226	1F12A4.249[PD-L2]_H1.25_L1	1.70E+05	9.40E-05	6.00E-10
44227	1F12A4.249[PD-L2]_H1.26_L1	1.00E+05	1.00E-04	1.00E-09
44228	1F12A4.249[PD-L2]_H1.27_L1	1.20E+05	5.30E-05	4.60E-10
44229	1F12A4.249[PD-L2]_H1.28_L1			
44230	1F12A4.249[PD-L2]_H1.29_L1	1.40E+05	8.90E-05	7.00E-10
44231	1F12A4.249[PD-L2]_H1.30_L1	1.80E+05	7.00E-05	4.60E-10
44232	1F12A4.249[PD-L2]_H1.31_L1	2.20E+05	4.70E-05	2.20E-10
44233	1F12A4.249[PD-L2]_H1.32_L1	7.10E+04	4.80E-05	6.70E-10
44234	1F12A4.249[PD-L2]_H1.33_L1	1.20E+05	4.30E-05	3.60E-10
44235	1F12A4.249[PD-L2]_H1.34_L1	1.60E+05	5.20E-05	3.50E-10
44237	1F12A4.249[PD-L2]_H1.36_L1	1.20E+05	6.50E-05	5.50E-10
44238	1F12A4.249[PD-L2]_H1.37_L1			
44239	1F12A4.249[PD-L2]_H1.38_L1	1.70E+05	6.20E-05	3.90E-10
44240	1F12A4.249[PD-L2]_H1.39_L1	1.50E+05	8.90E-05	5.90E-10
44241	1F12A4.249[PD-L2]_H1.40_L1	1.30E+05	5.90E-05	4.50E-10
44242	1F12A4.249[PD-L2]_H1.41_L1	1.10E+05	8.40E-05	7.90E-10
44243	1F12A4.249[PD-L2]_H1.42_L1	1.30E+05	8.90E-05	7.30E-10
44244	1F12A4.249[PD-L2]_H1.43_L1	1.60E+05	4.60E-05	3.10E-10
44245	1F12A4.249[PD-L2]_H1.44_L1	1.30E+05	9.00E-05	7.50E-10
44246	1F12A4.249[PD-L2]_H1.45_L1	1.80E+05	2.80E-05	1.70E-10
44247	1F12A4.249[PD-L2]_H1.46_L1	1.40E+05	9.90E-05	7.60E-10
44248	1F12A4.249[PD-L2]_H1.47_L1	1.70E+05	1.50E-04	9.40E-10
44249	1F12A4.249[PD-L2]_H1.48_L1	8.70E+04	1.50E-04	1.80E-09
44251	1F12A4.249[PD-L2]_H1.50_L1	1.30E+05	9.30E-05	7.10E-10
44252	1F12A4.249[PD-L2]_H1.51_L1	1.30E+05	9.00E-05	7.30E-10
44255	1F12A4.249[PD-L2]_H1.54_L1	8.30E+04	5.10E-05	6.40E-10
44256	1F12A4.249[PD-L2]_H1.55_L1	1.10E+05	6.60E-05	6.30E-10
44257	1F12A4.249[PD-L2]_H1.56_L1	8.50E+04	1.10E-04	1.30E-09
44258	1F12A4.249[PD-L2]_H1.57_L1	3.90E+04	9.30E-05	2.40E-09

图154A

		食蟹猴PDL2		
XENP	XENP描述	K_D	k_a	k_d
44259	1F12A4.249[PD-L2]_H1.58_L1	1.30E+05	7.00E-05	5.30E-10
44260	1F12A4.249[PD-L2]_H1.59_L1	1.20E+05	1.40E-04	1.20E-09
44261	1F12A4.249[PD-L2]_H1.60_L1	1.80E+05	1.10E-04	6.30E-10
44262	1F12A4.249[PD-L2]_H1.61_L1	1.80E+05	8.60E-05	4.80E-10
44263	1F12A4.249[PD-L2]_H1.62_L1	1.10E+05	1.50E-04	1.30E-09
44264	1F12A4.249[PD-L2]_H1.63_L1	1.90E+05	9.40E-05	4.80E-10
44265	1F12A4.249[PD-L2]_H1.64_L1	4.80E+04	2.00E-04	4.10E-09
44266	1F12A4.249[PD-L2]_H1.65_L1	1.40E+05	8.40E-05	5.80E-10
44267	1F12A4.249[PD-L2]_H1.66_L1	1.60E+05	1.30E-04	8.10E-10
44268	1F12A4.249[PD-L2]_H1.67_L1	2.90E+04	1.40E-04	5.10E-09
44269	1F12A4.249[PD-L2]_H1.68_L1	6.80E+04	1.60E-04	2.40E-09
44270	1F12A4.249[PD-L2]_H1.69_L1	1.40E+05	7.40E-05	5.40E-10
44271	1F12A4.249[PD-L2]_H1.70_L1	1.90E+05	1.70E-04	7.70E-10
44273	1F12A4.249[PD-L2]_H1.72_L1	1.40E+05	2.10E-05	1.60E-10
44274	1F12A4.249[PD-L2]_H1.73_L1	1.50E+05	8.20E-05	5.70E-10

图154B

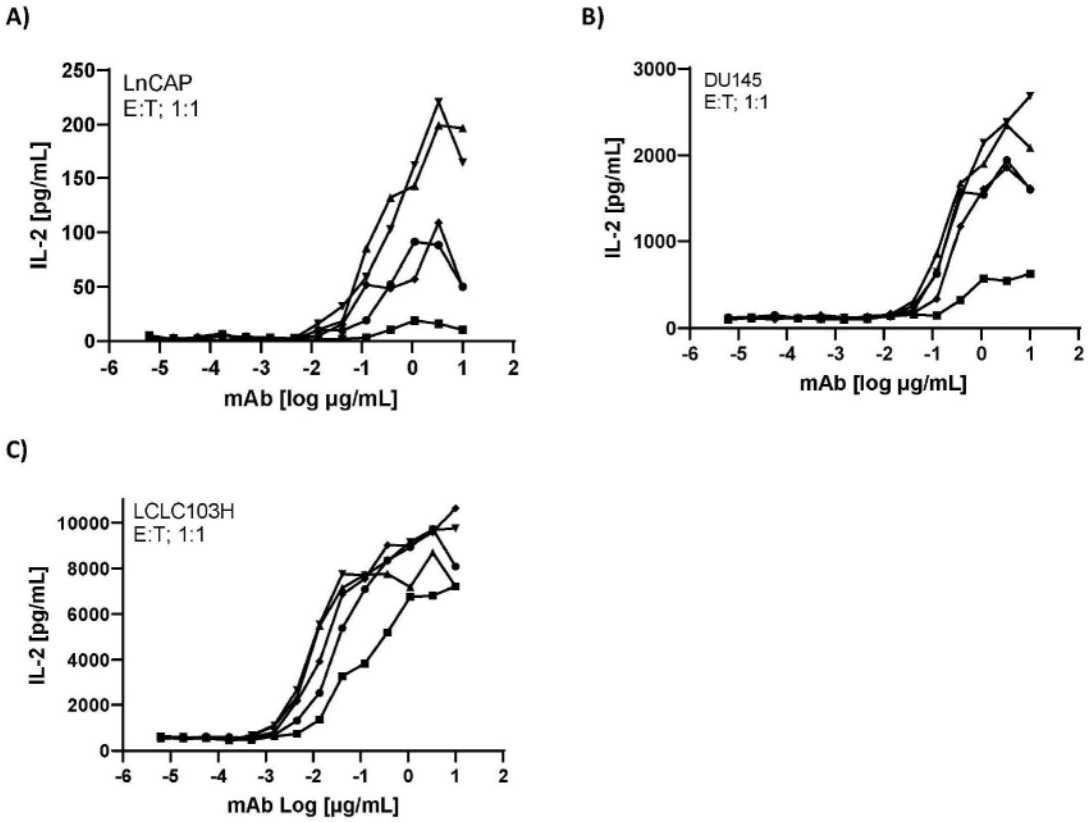

A)
LnCAP
E:T; 1:1
IL-2 [pg/mL]
mAb [log µg/mL]
B)
DU145
E:T; 1:1
IL-2 [pg/mL]
mAb [log µg/mL]
C)
LCLC103H
E:T; 1:1
IL-2 [pg/mL]
mAb Log [µg/mL]
1 + 1 + 1 Fab-(Fab-scFv)-Fc
XENP42971 PDL1 (13G7) x PDL2 (16G11) x CD28 (1A7)
XENP42973 PDL1 (13G7) x PDL2 (16G11) x CD28 (1A7[VLVH])
1 + 1 + 1堆叠Fab2-scFv-Fc
XENP42331 PDL1 (13G7) x PDL2 (16G11) x CD28 (1A7)
XENP42339 PDL2 (16G11) x PDL1 (13G7) x CD28 (1A7)
1 + 1 + 1 mAb-scFv
XENP42347 PDL1 (13G7) x PDL2 (16G11) x CD28 (1A7)

图155

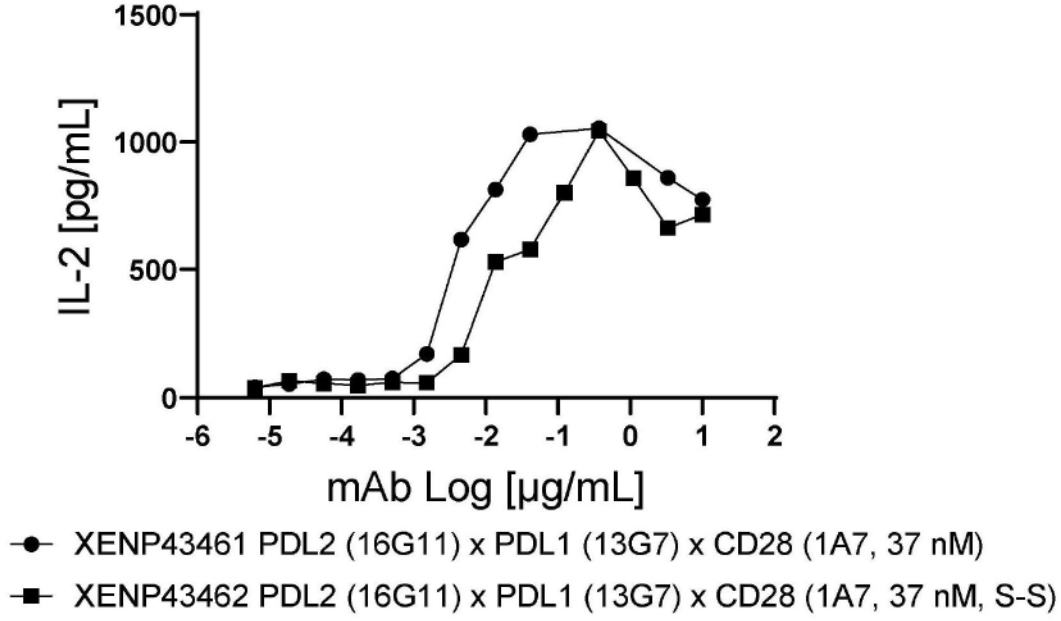

1500
1000
500
0
IL-2 [pg/mL]
-6
-5
-4
-3
-2
-1
0
1
2
mAb Log [μg/mL]
XENP43461 PDL2 (16G11) x PDL1 (13G7) x CD28 (1A7, 37 nM)
XENP43462 PDL2 (16G11) x PDL1 (13G7) x CD28 (1A7, 37 nM, S-S)

图156

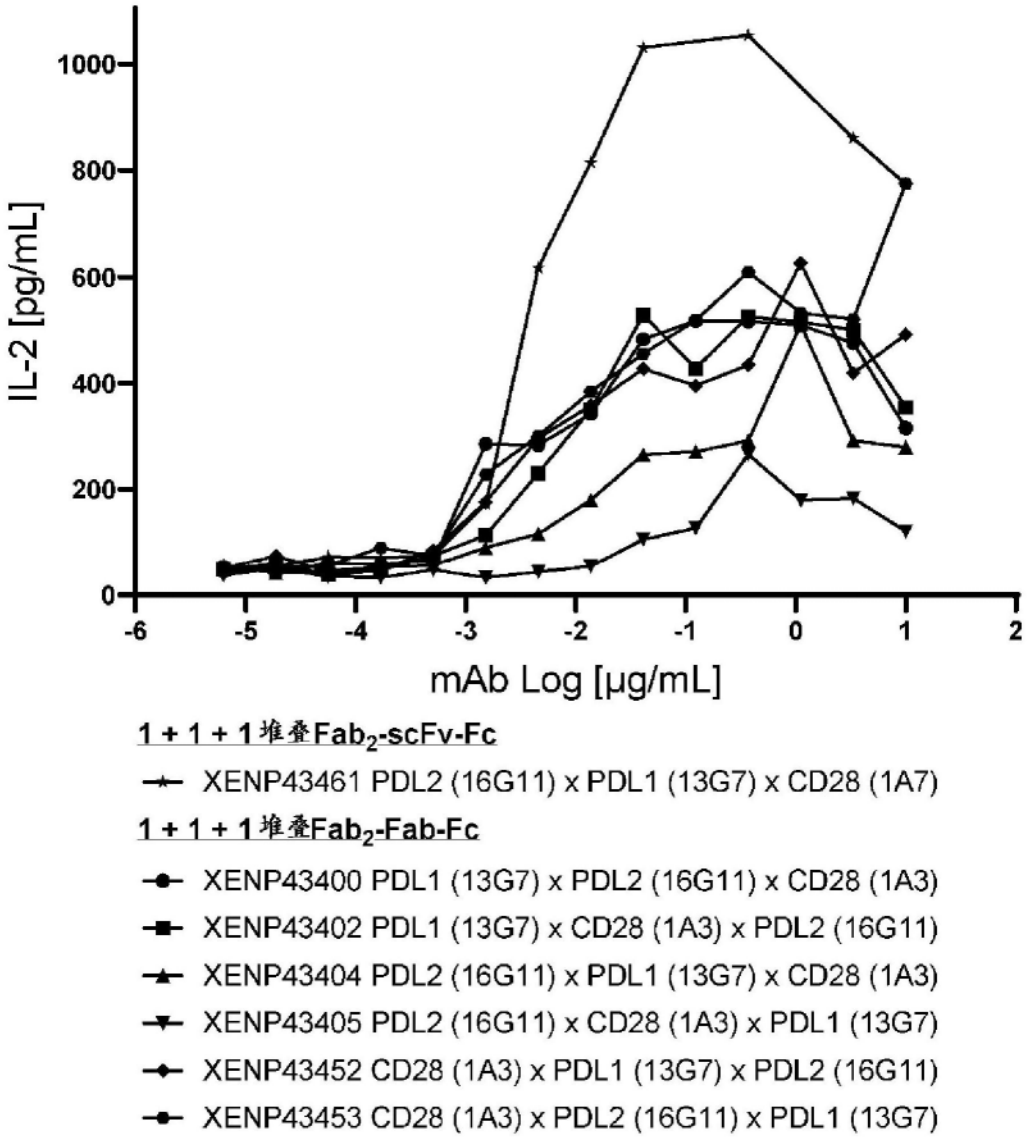
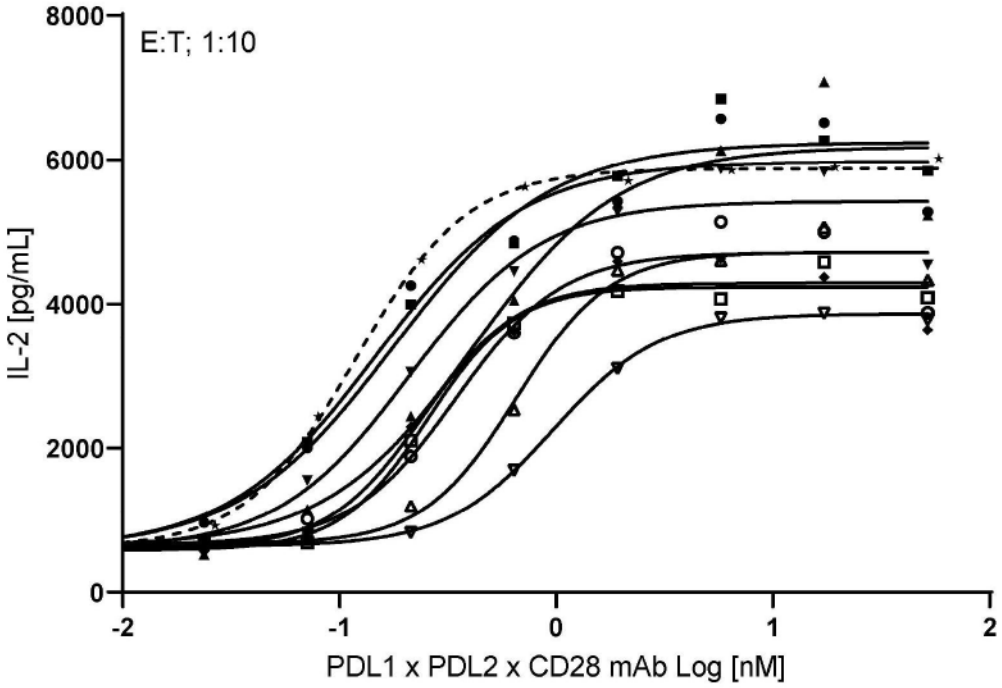

1000
800
600
400
200
0
IL-2 [pg/mL]
-6
-5
-4
-3
-2
-1
0
1
2
mAb Log [µg/mL]
1 + 1 + 1堆叠Fab2-scFv-Fc
XENP43461 PDL2 (16G11) x PDL1 (13G7) x CD28 (1A7)
1 + 1 + 1堆叠Fab2-Fab-Fc
XENP43400 PDL1 (13G7) x PDL2 (16G11) x CD28 (1A3)
XENP43402 PDL1 (13G7) x CD28 (1A3) x PDL2 (16G11)
XENP43404 PDL2 (16G11) x PDL1 (13G7) x CD28 (1A3)
XENP43405 PDL2 (16G11) x CD28 (1A3) x PDL1 (13G7)
XENP43452 CD28 (1A3) x PDL1 (13G7) x PDL2 (16G11)
XENP43453 CD28 (1A3) x PDL2 (16G11) x PDL1 (13G7)

图157



1 + 1 + 1堆叠Fab_2-scFv-Fc

XENP43465 PDL2 (1F12A4.249) x PDL1 (2A3A4.248) x CD28 (1A7; 37 nM)

1 + 1 + 1堆叠Fab_2-Fab-Fc

XENP44283 CD28 (1A7_29 nM) x PDL2 (1F12A4.249) x PDL1 (2A3A4.248)

XENP44288 CD28 (1A7_46 nM) x PDL2 (1F12A4.249) x PDL1 (2A3A4.248)

XENP44287 CD28 (1A7_21 nM) x PDL2 (1F12A4.249) x PDL1 (2A3A4.248)

XENP44284 CD28 (1A7_44 nM) x PDL2 (1F12A4.249) x PDL1 (2A3A4.248)

XENP44281 CD28 (1A7_57 nM) x PDL2 (1F12A4.249) x PDL1 (2A3A4.248)

XENP44285 CD28 (1A7_63 nM) x PDL2 (1F12A4.249) x PDL1 (2A3A4.248)

XENP44289 CD28 (1A7_38 nM) x PDL2 (1F12A4.249) x PDL1 (2A3A4.248)

XENP44282 CD28 (1A7_20 nM) x PDL2 (1F12A4.249) x PDL1 (2A3A4.248)

XENP44286 CD28 (1A7_28 nM) x PDL2 (1F12A4.249) x PDL1 (2A3A4.248)

图158

IL-2 释放 E:T; 1:10 XENP	EC 50 [ng/mL]	huCD28 KD (nM)	CD28 突变
44283	28	20	1A7_H1.111_IGKV1-39_L1
44288	34	21	1A7_H1.129_IGKV1-39_L1
44287	80	28	1A7_H1.125_IGKV1-39_L1
44284	41	29	1A7_H1.113_IGKV1-39_L1
43465	20	38	1A7_H1.14_L1.71, 37 nM
44281	47	43	1A7_H1.106_IGKV1-39_L1
44285	66	44	1A7_H1.114_IGKV1-39_L1
44289	49	46	1A7_H1.130_IGKV1-39_L1
44282	127	57	1A7_H1.107_IGKV1-39_L1
44286	187	63	1A7_H1.118_IGKV1-39_L1

图159

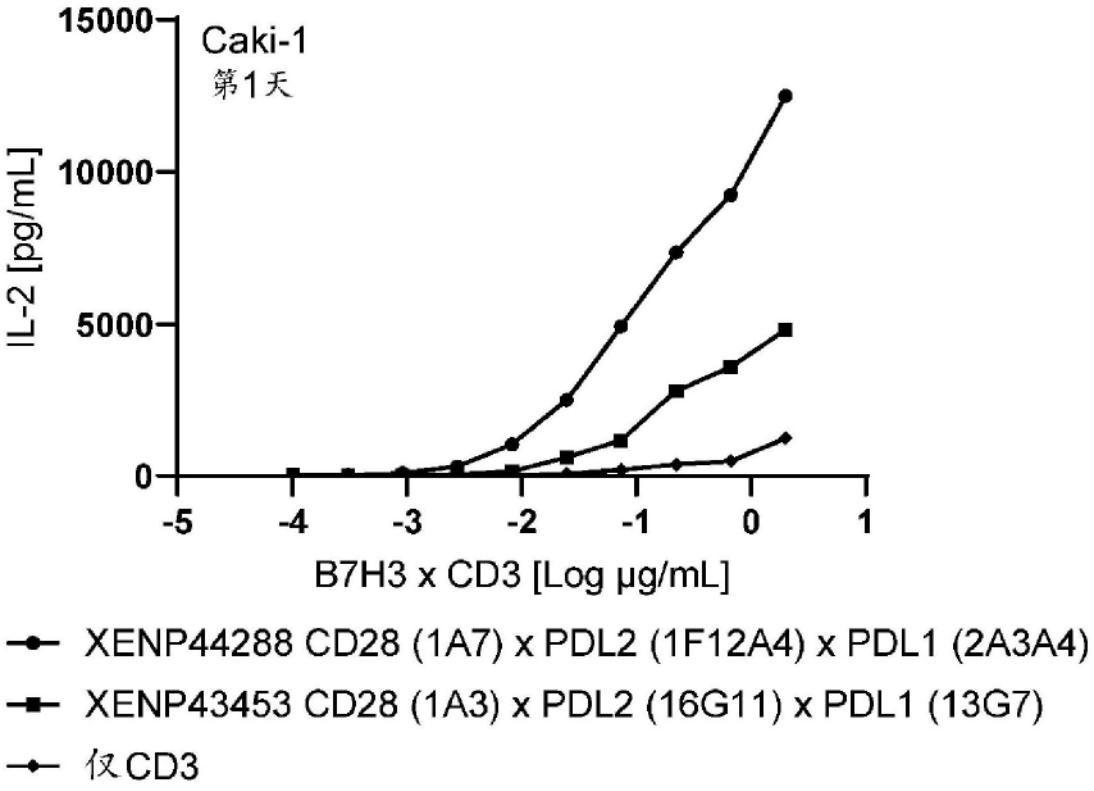


图160

(PDL1结合结构域CLC)

2A3A4.248[PDL1]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPIFGKPNYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS	3235
vhCDR1	GGTFSRYAIS	3236
vhCDR2	GIVPIFGKPNYAQKFQG	3237
vhCDR3	DDWAGPYEWTFDY	3238
可变轻(vl)结构域	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKLEIK	3239
vlCDR1	RASQSISSYLN	3240
vlCDR2	AASSLQS	3241
vlCDR3	QQSYSTPYT	3242

>2A3A4.248[PDL1]_H1.1 (SEQ ID NO: 3243)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYAMSWVRQAPGQGLEWMGGIVPIFGYPNYAQKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS

>2A3A4.248[PDL1]_H1.2 (SEQ ID NO: 3244)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPAFGKPNYAQKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS

>2A3A4.248[PDL1]_H1.3 (SEQ ID NO: 3245)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFFRYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPIFGYPAYAQKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS

>2A3A4.248[PDL1]_H1.4 (SEQ ID NO: 3246)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPIFGYPNYAQKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS

>2A3A4.248[PDL1]_H1.5 (SEQ ID NO: 3247)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPAFGYPNYAQKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS

>2A3A4.248[PDL1]_H1.6 (SEQ ID NO: 3248)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPAFGKPAYAQKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS

>2A3A4.248[PDL1]_H1.7 (SEQ ID NO: 3249)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPIFGYPAYAQKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS

>2A3A4.248[PDL1]_H1.8 (SEQ ID NO: 3250)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFFRYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPAFGYPNYAQKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS

图161A

>2A3A4.248[PDL1]_H1.9 (SEQ ID NO: 3251)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPAFGYPAYAQKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS

>2A3A4.248[PDL1]_H1.10 (SEQ ID NO: 3252)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFFRYAMSWVRQAPGQGLEWMGGIVPIFGYPAYAQKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS

>2A3A4.248[PDL1]_H1.11 (SEQ ID NO: 3253)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFFRYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPAFGYPAYAQKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS

>2A3A4.248[PDL1]_H1.12 (SEQ ID NO: 3254)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFFRYAMSWVRQAPGQGLEWMGGIVPAFGYPAYAQKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS

>2A3A4.248[PDL1]_H1.13 (SEQ ID NO: 3255)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGVFSRYAMSWVRQAPGQGLEWMGGIVPRFGMPNYAQKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS

>2A3A4.248[PDL1]_H1.13v2 (SEQ ID NO: 3256)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPIFGKPNYAQKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS

>2A3A4.248[PDL1]_H1.14 (SEQ ID NO: 3257)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPIFGKPNYAQKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDFAGPYEWTFDYWGQGTLVTVSS

>2A3A4.248[PDL1]_H1.15 (SEQ ID NO: 3258)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPIFGKPNYAQKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPFEWTFDYWGQGTLVTVSS

>2A3A4.248[PDL1]_H1.16 (SEQ ID NO: 3259)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPIFGKPNYAQKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEFTFDYWGQGTLVTVSS

>2A3A4.248[PDL1]_H1.17 (SEQ ID NO: 3260)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPIFGKPNYAQKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCARDDWAGPYEWYFDYWGQGTLVTVSS

图161B

2A3A4.248 VH	SEQ	SEQ ID NO:	
HFR1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGX_1FX_2	3261	X1选自T、V; X2选自S、F
HCDR1	X_1YAX_2S		X1选自R、S; X2选自M、I
HFR2	WVRQAPGQGLEWMG	3262	
HCDR2	GIVPX_1FGX_2PX_3YAQKFQG	3263	X1选自I、A、R; X2选自Y、K、M; X3选自N、A
HFR3	RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR	3264	
HCDR3	DDX_1AGPX_2EX_3X_4FDY	3265	X1选自W、F; X2选自 Y、F; X3选自 W、F; X4选自 T、Y
HFR4	WGQGTLVTVSS	3266	

图161C

(PDL2结合结构域CLC)

1F12A4.249[PDL2]_H1L1

	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNYVISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGAVNYAPKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS	3267
vhCDR1	GGTFSNYVIS	3268
vhCDR2	GIIPIFGAVNYAPKFQG	3269
vhCDR3	EVSRPGTEFDY	3270
可变轻(vl)结构域	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKLEIK	3271
vlCDR1	RASQSISSYLN	3272
vlCDR2	AASSLQS	3273
vlCDR3	QQSYSTPYT	3274

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.1 (SEQ ID NO: 3275)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.2 (SEQ ID NO: 3276)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFVAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.3 (SEQ ID NO: 3277)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSWIVISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFMAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.4 (SEQ ID NO: 3278)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSWIVISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFVAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.5 (SEQ ID NO: 3279)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNIVISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFVAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.6 (SEQ ID NO: 3280)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFVAVNYAQKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.7 (SEQ ID NO: 3281)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYVMQWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAQKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.8 (SEQ ID NO: 3282)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLASNYAQKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

图162A

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.9 (SEQ ID NO: 3283)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSRYVISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAQKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.10 (SEQ ID NO: 3284)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSTYVMQWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.11 (SEQ ID NO: 3285)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSTYVMQWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.12 (SEQ ID NO: 3286)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSTYVMQWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFMAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.13 (SEQ ID NO: 3287)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFYNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGASNYTQKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.14 (SEQ ID NO: 3288)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFYNSVISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGASNYTQKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.15 (SEQ ID NO: 3289)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDSWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.16 (SEQ ID NO: 3290)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCARENSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.17 (SEQ ID NO: 3291)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGWDFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.18 (SEQ ID NO: 3292)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGATFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.19 (SEQ ID NO: 3293)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSASVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.20 (SEQ ID NO: 3294)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDAWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.21 (SEQ ID NO: 3295)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGSWFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

图162B

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.22 (SEQ ID NO: 3296)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDNWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.23 (SEQ ID NO: 3297)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFANSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.24 (SEQ ID NO: 3298)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSKSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPLFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.25 (SEQ ID NO: 3299)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGLFSNSIMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.26 (SEQ ID NO: 3300)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSFSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVVRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.27 (SEQ ID NO: 3301)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSISVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.28 (SEQ ID NO: 3302)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGSFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVFRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.29 (SEQ ID NO: 3303)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVIRPGTEFDWWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.30 (SEQ ID NO: 3304)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSLSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.31 (SEQ ID NO: 3305)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSKSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.32 (SEQ ID NO: 3306)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFLNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREPSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.33 (SEQ ID NO: 3307)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGGFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREISRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.34 (SEQ ID NO: 3308)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

图162C

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.35 (SEQ ID NO: 3309)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGQTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.36 (SEQ ID NO: 3310)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFVNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.37 (SEQ ID NO: 3311)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGSFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPFFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.38 (SEQ ID NO: 3312)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNSIMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.39 (SEQ ID NO: 3313)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGSTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.40 (SEQ ID NO: 3314)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPFFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.41 (SEQ ID NO: 3315)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSASVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCARELSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.42 (SEQ ID NO: 3316)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFVNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREISRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.43 (SEQ ID NO: 3317)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGWTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAINYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.44 (SEQ ID NO: 3318)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFLNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.45 (SEQ ID NO: 3319)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGWTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.46 (SEQ ID NO: 3320)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGFFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVTRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.47 (SEQ ID NO: 3321)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGKFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVLRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

图162D

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.48 (SEQ ID NO: 3322)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFFNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.49 (SEQ ID NO: 3323)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSGSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPQFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.50 (SEQ ID NO: 3324)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGVTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDKWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.51 (SEQ ID NO: 3325)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVVRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.52 (SEQ ID NO: 3326)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGSFSVSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.53 (SEQ ID NO: 3327)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGETFPNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.54 (SEQ ID NO: 3328)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGKFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVYRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.55 (SEQ ID NO: 3329)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGETFLNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.56 (SEQ ID NO: 3330)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGGFVNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.57 (SEQ ID NO: 3331)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPFFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDGWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.58 (SEQ ID NO: 3332)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGQSFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.59 (SEQ ID NO: 3333)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDGWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.60 (SEQ ID NO: 3334)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGEFSLSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

图162E

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.61 (SEQ ID NO: 3335)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNSIMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPLFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.62 (SEQ ID NO: 3336)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGLFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDGWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.63 (SEQ ID NO: 3337)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPLFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.64 (SEQ ID NO: 3338)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPWFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVLRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.65 (SEQ ID NO: 3339)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGPTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPLFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.66 (SEQ ID NO: 3340)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVLRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.67 (SEQ ID NO: 3341)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFLNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIWLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.68 (SEQ ID NO: 3342)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFVNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVWRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.69 (SEQ ID NO: 3343)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGKFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREISRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.70 (SEQ ID NO: 3344)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFGNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLANNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.71 (SEQ ID NO: 3345)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREQSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.72 (SEQ ID NO: 3346)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGWTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVVRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

>1F12A4.249[PD-L2]_H1.73 (SEQ ID NO: 3347)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGDTFSNSVMSWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFLAVNYAPKFQGRVTITADESTS
TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREVSRPGTEFDYWGQGTLVTVSS

图162F

1F12A4.249 VH	SEQ	SEQ ID	
HFR1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS	3348	
HCDR1	$GX_1X_2FX_3X_4X_5X_6X_7X_8$		X1选自G、W、A、S、Q、V、E、P、D; X2选自T、D、W、L、S、G、F、K、E; X3选自S、Y、A、L、V、F、P、G; X4选自N、W、R、T、A、K、F、I、L、S、G、V; X5选自S、I、Y; X6选自V、I; X7选自M、I; X8选自S、Q
HFR2	WVRQAPGQGLEWMG	3349	
HCDR2	$GIIPX_1X_2X_3AX_4NYX_5X_6KFQG$	3350	X1选自I、L、F、Q、W; X2选自F、W; X3选自L, V、M、G; X4选自V、S、I、N; X5选自A、T; X6选自P、Q
HFR3	RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR	3351	
HCDR3	$EX_1X_2RPGTEFDX_3$	3352	X1选自 V、N、P、I、L、Q; X2选自S、V、F、I、T、L、Y、W; X3选自Y、S、A、N、W、K、G
HFR4	WGQGTLVTVSS	3353	

图162G

(CD28 CLC)

>1A7[CD28]_H1.103 (SEQ ID NO: 3354)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISERMDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.104 (SEQ ID NO: 3355)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISERGDPTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.105 (SEQ ID NO: 3356)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISERLDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.106 (SEQ ID NO: 3357)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISERGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.107 (SEQ ID NO: 3358)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESSDVTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.108 (SEQ ID NO: 3359)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISERNDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.109 (SEQ ID NO: 3360)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISERRDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.110 (SEQ ID NO: 3361)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVWTISERGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.111 (SEQ ID NO: 3362)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISERSDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.112 (SEQ ID NO: 3363)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISERQDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.113 (SEQ ID NO: 3364)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISERTDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.114 (SEQ ID NO: 3365)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTIAERGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.115 (SEQ ID NO: 3366)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVMTISESGDYTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.116 (SEQ ID NO: 3367)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISERKDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.117 (SEQ ID NO: 3368)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISERHDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS

图163A

>1A7[CD28]_H1.118 (SEQ ID NO: 3369)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTIAESGDPTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.119 (SEQ ID NO: 3370)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTIVERGDVTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.120 (SEQ ID NO: 3371)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISERYDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.121 (SEQ ID NO: 3372)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESGDYTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.122 (SEQ ID NO: 3373)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVTTISESGDPTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.123 (SEQ ID NO: 3374)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISENLDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.124 (SEQ ID NO: 3375)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESADVTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.125 (SEQ ID NO: 3376)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISEHGLSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.126 (SEQ ID NO: 3377)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISERDDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.127 (SEQ ID NO: 3378)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISENRDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.128 (SEQ ID NO: 3379)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISERFDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.129 (SEQ ID NO: 3380)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISERADSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.130 (SEQ ID NO: 3381)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISERGDVTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.131 (SEQ ID NO: 3382)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISEREDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.132 (SEQ ID NO: 3383)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESSMSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS

图163B

>1A7[CD28]_H1.133 (SEQ ID NO: 3384)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESVDPTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.134 (SEQ ID NO: 3385)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVMTISERGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.135 (SEQ ID NO: 3386)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISESWDHTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.136 (SEQ ID NO: 3387)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSTISERIDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.137 (SEQ ID NO: 3388)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVVTISERGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS
>1A7[CD28]_H1.138 (SEQ ID NO: 3389)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVTTISERGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS

1A7 VH	SEQ	SEQ ID	
HFR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	3390	
HCDR1	SYYMS	3391	
HFR2	WVRQAPGKGLEWVX	3392	X选自S、W、M、T、V
HCDR2	TIX_1E$X_2$$X_3$$X_4$$X_5$TYYADSVKG	3393	X_1选自A、V、S; X_2选自S、N、H、R; X_3选自G、L、S、N、R、Q、T、K、H、Y、A、D、F、E、V、W、I、M; X_4选自L、M、D;并且X_5选自S、P、V、Y、H
HFR3	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK	2674	
HCDR3	SGPGLRQVGFDY	2675	
HFR4	WGQGTLVTVSS	2676	

图163C

1A7[CD28]_H1.1_L1 [S-S]		
	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKCLEWVSTISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS	3394
vhCDR1	SYYMS	3395
vhCDR2	TISGSGDSTYYADSVKG	3396
vhCDR3	SGPGLRQVGFDY	3397
可变轻(vl)结构域	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPFTFGCGTKLEIK	3398
vlCDR1	RASQSISSYLN	3399
vlCDR2	AASSLQS	3400
vlCDR3	QQSYSTPFT	3401

1A7[CD28]_H1_L1.71 [S-S]		
	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKCLEWVSTISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS	3402
vhCDR1	SYAMS	3403
vhCDR2	TISGSGDSTYYADSVKG	3404
vhCDR3	SGPGLRQVGFDY	3405
可变轻(vl)结构域	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQVYSTPFTFGCGTKLEIK	3406
vlCDR1	RASQSISSYLN	3407
vlCDR2	AASSLQS	3408
vlCDR3	QQVYSTPFT	3409

图164A

1A7[CD28]_H1.1_L1.71 [S-S]		
	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKCLEWVSTISGS GDSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGF DYWGQGTLVTVSS	3410
vhCDR1	SYYMS	3411
vhCDR2	TISGSGDSTYYADSVKG	3412
vhCDR3	SGPGLRQVGFDY	3413
可变轻(vl)结构域	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSL QSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQVYSTPFTFGCGTKLEIK	3414
vlCDR1	RASQSISSYLN	3415
vlCDR2	AASSLQS	3416
vlCDR3	QQVYSTPFT	3417

1A7[CD28]_H1.14_L1 [S-S]		
	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKCLEWVSTISES GDSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGF DYWGQGTLVTVSS	3418
vhCDR1	SYYMS	3419
vhCDR2	TISESGDSTYYADSVKG	3420
vhCDR3	SGPGLRQVGFDY	3421
可变轻(vl)结构域	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSL QSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPFTFGCGTKLEIK	3422
vlCDR1	RASQSISSYLN	3423
vlCDR2	AASSLQS	3424
vlCDR3	QQSYSTPFT	3425

图164B

1A7[CD28]_H1.14_L1.71 [S-S]		
	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKCLEWVSTISESGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS	3426
vhCDR1	SYYMS	3427
vhCDR2	TISESGDSTYYADSVKG	3428
vhCDR3	SGPGLRQVGFDY	3429
可变轻(vl)结构域	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQVYSTPFTFGCGTKLEIK	3430
vlCDR1	RASQSISSYLN	3431
vlCDR2	AASSLQS	3432
vlCDR3	QQVYSTPFT	3433

1A7[CD28]_H1.129_L1.71 [S-S]		
	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKCLEWVSTISERADSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS	3434
vhCDR1	SYYMS	3435
vhCDR2	TISERADSTYYADSVKG	3436
vhCDR3	SGPGLRQVGFDY	3437
可变轻(vl)结构域	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQVYSTPFTFGCGTKLEIK	3438
vlCDR1	RASQSISSYLN	3439
vlCDR2	AASSLQS	3440
vlCDR3	QQVYSTPFT	3441

图164C

1A7[CD28]_H1.106_L1.71 [S-S]		
	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKCLEWVSTISERGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS	3442
vhCDR1	SYYMS	3443
vhCDR2	TISERGDSTYYADSVKG	3444
vhCDR3	SGPGLRQVGFDY	3445
可变轻(vl)结构域	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQVYSTPFTFGCGTKLEIK	3446
vlCDR1	RASQSISSYLN	3447
vlCDR2	AASSLQS	3448
vlCDR3	QQVYSTPFT	3449

1A7[CD28]_H1.129_L1 [S-S]		
	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKCLEWVSTISERADSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS	3450
vhCDR1	SYYMS	3451
vhCDR2	TISERADSTYYADSVKG	3452
vhCDR3	SGPGLRQVGFDY	3453
可变轻(vl)结构域	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPFTFGCGTKLEIK	3454
vlCDR1	RASQSISSYLN	3455
vlCDR2	AASSLQS	3456
vlCDR3	QQSYSTPFT	3457

1A7[CD28]_H1.106_L1 [S-S]		
	序列	SEQ ID NO:
可变重(vh)结构域	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKCLEWVSTISERGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSGPGLRQVGFDYWGQGTLVTVSS	3458
vhCDR1	SYYMS	3459
vhCDR2	TISERGDSTYYADSVKG	3460
vhCDR3	SGPGLRQVGFDY	3461
可变轻(vl)结构域	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPFTFGCGTKLEIK	3462
vlCDR1	RASQSISSYLN	3463
vlCDR2	AASSLQS	3464
vlCDR3	QQSYSTPFT	3465

图164D

	KD (M)	kon(1/Ms)	kdis(1/s)	KD (nM)
1A7_L1.71_H1.129	1.67E-09	2.33E+05	3.90E-04	1.67
1A7_H1.129_L1.71	1.73E-09	2.22E+05	3.85E-04	1.73
1A7_L1.71_H1.129 [S-S]	4.22E-09	1.82E+05	7.66E-04	4.22
1A7_H1.129_L1.71 [S-S]	5.32E-09	1.56E+05	8.31E-04	5.32
1A7_L1.71_H1.106	4.56E-09	2.53E+05	1.16E-03	4.56
1A7_H1.106_L1.71	5.59E-09	2.10E+05	1.18E-03	5.59
1A7_L1_H1.129	1.11E-08	3.41E+05	3.79E-03	11.1
1A7_H1.129_L1	1.17E-08	3.11E+05	3.63E-03	11.7
1A7_L1.71_H1.106 [S-S]	1.16E-08	1.97E+05	2.28E-03	11.6
1A7_H1.106_L1.71 [S-S]	1.48E-08	1.62E+05	2.38E-03	14.8
1A7_L1_H1.106	2.61E-08	3.73E+05	9.71E-03	26.1
1A7_H1.106_L1	3.15E-08	3.23E+05	1.02E-02	31.5
1A7_H1.14_L1.71 [S-S]	7.40E-08	1.61E+05	1.19E-02	74
1A7_H1.14_L1.71 [S-S]	7.60E-08	1.55E+05	1.18E-02	76
1A7_H1.14_L1.71 [S-S]	8.24E-08	1.43E+05	1.18E-02	82.4
1A7_H1.1_L1.71 [S-S]	1.61E-07	1.59E+05	2.56E-02	161
1A7_H1_L1.71	1.23E-07	2.74E+05	3.36E-02	123
1A7_H1.14_L1	1.67E-07	4.26E+05	7.10E-02	167
1A7_H1.14_L1.71	2.31E-08	2.26E+05	5.22E-03	23.1
1A7_H1.14_L1.71 [S-S]	1.3E-07			130
1A7_H1.106_L1 [S-S]	2.6E-08			26
1A7_H1.129_L1 [S-S]	8.9E-08			89

图165

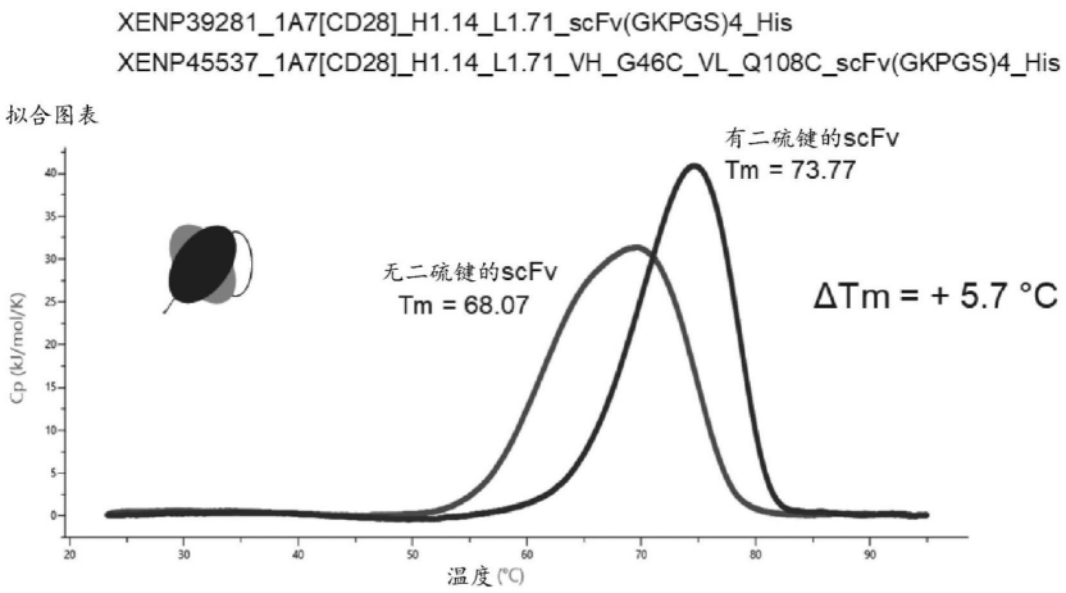


图166