(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 113874400 B
(45)授权公告日 2025.02.07

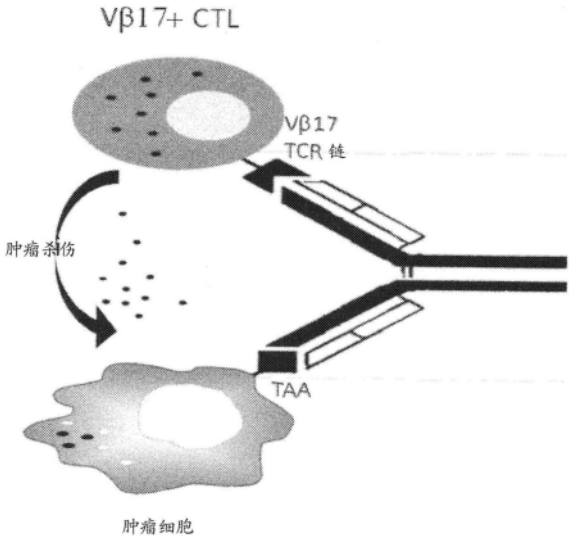
(21)申请号 202080034083.X
(22)申请日 2020.03.11
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 113874400 A
(43)申请公布日 2021.12.31
(30)优先权数据
62/816,464 2019.03.11 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.11.05
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/IB2020/000342 2020.03.11
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2020/183245 EN 2020.09.17
(73)专利权人 詹森生物科技公司
地址 美国宾夕法尼亚州
(72)发明人 R·贾尼桑 I·S·格雷瓦尔 M·A·塞普尔维达
(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
专利代理师 李志强 彭昶
(51)Int.Cl.
C07K 16/46(2006.01)
C07K 16/28(2006.01)
C12N 15/13(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
A61P 35/02(2006.01)
(56)对比文件
CN 107074956 A,2017.08.18
WO 2013131001 A1,2013.09.06
审查员 陈昂
权利要求书2页 说明书47页
序列表66页 附图11页

(54)发明名称

抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体

(57)摘要

本发明描述了抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段。本发明还描述了编码所述抗体的核酸、包含所述抗体的组合物、产生所述抗体的方法,以及使用所述抗体的方法。



CN 113874400 B

1.一种分离的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段,其包含:

a.第一重链(HC1);

b.第二重链(HC2);

c.第一轻链(LC1);以及

d.第二轻链(LC2),

其中HC1与LC1缔合并且HC2与LC2缔合,并且其中HC1包含重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2和HCDR3,所述重链互补决定区分别由SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3的氨基酸序列表示,并且LC1包含轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3,所述轻链互补决定区分别由SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的氨基酸序列表示,以形成特异性结合Vβ17的第一抗原的结合位点,并且其中HC2包含重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2和HCDR3,所述重链互补决定区分别由SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36的氨基酸序列表示,并且LC2包含轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3,所述轻链互补决定区分别由SEQID NO:37、SEQ ID NO:38和SEQ ID NO:39的氨基酸序列表示,以形成特异性结合CD123的第二抗原的结合位点。

2.根据权利要求1所述的分离的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段,其中HC1包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列并且LC1包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列,并且其中HC2包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列并且LC2包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

3.根据权利要求1或2所述的分离的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段,其中所述Vβ17位于CD8+T细胞或CD4+T细胞的表面上。

4.根据权利要求1或2所述的分离的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段,其中所述CD123位于癌细胞或CD34+干细胞的表面上。

5.根据权利要求1或2所述的分离的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段,其中双特异性抗体或其抗原结合片段在体外以小于0.2pM的EC_{50}诱导癌细胞的CD8+或CD4+T细胞依赖性细胞毒性。

6.一种分离的核酸,所述分离的核酸编码根据权利要求1至5中任一项所述的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段的所述HC1和所述LC1。

7.一种分离的核酸,所述分离的核酸编码根据权利要求1至5中任一项所述的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段的所述HC2和所述LC2。

8.一种载体,所述载体包含根据权利要求6或7所述的分离的核酸。

9.一种宿主细胞,所述宿主细胞包含根据权利要求8所述的载体。

10.一种缓冲组合物,所述缓冲组合物包含根据权利要求1至5中任一项所述的分离的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段。

11.根据权利要求1所述的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段在制备用于将表达Vβ17的CD8+T细胞或CD4+T细胞引导至癌细胞的药物中的用途,其中CD123在所述癌细胞的表面上表达。

12.根据权利要求1所述的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段在制备用于抑制癌细胞的生长或增殖的药物中的用途,其中CD123在所述癌细胞的表面上表达。

13.一种试剂盒,所述试剂盒包括根据权利要求1至5中任一项所述的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段及其包装。

14.一种产生抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段的方法,所述方法包括培养根据权利要求9所述的宿主细胞以产生所述抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段,以及从所述细胞或培养物回收所述抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段。

15.一种分离的人源化Vβ17单克隆抗体或其抗原结合片段,所述人源化Vβ17单克隆抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列。

16.一种分离的核酸,所述分离的核酸编码根据权利要求15所述的分离的人源化Vβ17单克隆抗体或其抗原结合片段。

17.一种载体,所述载体包含根据权利要求16所述的分离的核酸。

18.一种宿主细胞,所述宿主细胞包含根据权利要求17所述的载体。

抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2019年3月11日提交的美国临时申请62/816,464的优先权,该临时申请的公开内容全文以引用方式并入本文。

技术领域

[0003] 本发明涉及单克隆抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体、编码所述抗体的核酸和表达载体、含有所述载体的重组细胞,以及包含所述抗体的组合物。还提供了制备所述抗体的方法,以及使用所述抗体杀死癌细胞的方法。

[0004] 以电子方式提交的参考序列表

[0005] 本申请包含序列表,该序列表作为ASCII格式的序列表经由EFS-Web以电子方式递交,文件名为"PRD4012WOPCT Sequence Listing",并且创建日期为2020年3月11日,并且大小为85kb。经由EFS-Web提交的该序列表是本说明书的一部分并且全文以引用方式并入本文。

背景技术

[0006] 细胞毒性T细胞(例如,CD8+ T细胞)可以用于直接杀死癌细胞。找到将细胞毒性T细胞引导至癌细胞的方法可以导致杀死此类细胞和抑制癌细胞增殖。已经证明,可以活化对抗表达癌相关抗原的癌细胞的细胞毒性T细胞,方式为使用结合细胞毒性T细胞和癌细胞两者的双特异性抗体,使所述细胞毒性T细胞与癌细胞在延长的时间段内紧密靠近。杀死癌细胞的这种方法存在多种潜在的繁杂之事,诸如选择介导T细胞活化的T细胞抗原和癌细胞抗原、选择在双特异性抗体的情况下将具有充分的亲和力以介导结合的亲本抗体,以及选择将活化T细胞以特异性地起到对抗癌细胞的作用而不是引发非特异性T细胞活化的癌细胞抗原。这些繁杂之事仅在试图活化T细胞以破坏动物受试者中的癌细胞的情况下才会组合到一起。

发明内容

[0007] 本文提供了能够结合Vβ17(与T细胞相关联的抗原)和CD123(与癌细胞相关联的抗原)的双特异性抗体。细胞毒性T细胞表达由α链和β链组成的T细胞受体,诸如Vβ17。假设双特异性抗体与Vβ17和癌相关抗原(诸如CD123)结合可以将细胞毒性T细胞引导至表达抗原的癌细胞。利用这种双特异性抗体来将细胞毒性T细胞募集或重定向至表达抗原的癌细胞,并且可以允许T细胞杀死癌细胞。

[0008] 在一个一般方面,本公开涉及与Vβ17和CD123结合的分离的双特异性抗体或其抗原结合片段。

[0009] 本文提供了分离的Vβ17双特异性抗体或其抗原结合片段。该分离的Vβ17双特异性抗体或其抗原结合片段包含:

[0010] a.第一重链(HC1);

[0011] b.第二重链(HC2);

[0012] c.第一轻链(LC1);以及

[0013] d.第二轻链(LC2),

[0014] 其中HC1与LC1缔合并且HC2与LC2缔合,并且其中HC1包含重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2和HCDR3,所述重链互补决定区分别包含SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3的氨基酸序列,并且LC1包含轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3,所述轻链互补决定区分别包含SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的氨基酸序列,以形成第一抗原的结合位点,并且其中HC2和LC2形成第二抗原的结合位点。在某些实施方案中,第一抗原的结合位点与CD8+ T细胞或CD4+ T细胞的表面上的Vβ17结合。在某些实施方案中,第二抗原的结合位点与存在于癌细胞的表面上的肿瘤抗原结合。

[0015] 在某些实施方案中,双特异性抗体与存在于CD8+ T细胞或CD4+ T细胞的表面上的Vβ17的结合以及与存在于癌细胞的表面上的肿瘤抗原的结合导致杀死癌细胞。

[0016] 在某些实施方案中,HC2和LC2与CD123结合。

[0017] 在某些实施方案中,双特异性抗体或其抗原结合片段为IgG同种型,诸如IgG4。

[0018] 在某些实施方案中,双特异性抗体或其抗原结合片段在体外以小于约0.2pM的EC_{50}诱导癌细胞的CD8+或CD4+ T细胞依赖性细胞毒性。

[0019] 还提供了分离的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段。

[0020] 该抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段包含:

[0021] a.第一重链(HC1);

[0022] b.第二重链(HC2)

[0023] c.第一轻链(LC1);以及

[0024] d.第二轻链(LC2),其中HC1与LC1缔合并且HC2与LC2缔合,并且其中HC1包含重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2和HCDR3,所述重链互补决定区分别包含SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3的氨基酸序列,并且LC1包含轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3,所述轻链互补决定区分别包含SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的氨基酸序列,以形成特异性结合Vβ17的第一抗原的结合位点,并且其中HC2包含重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2和HCDR3,所述重链互补决定区分别包含SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36的氨基酸序列,并且LC2包含轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3,所述轻链互补决定区分别包含SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38和SEQ ID NO:39的氨基酸序列,以形成特异性结合CD123的第二抗原的结合位点。在某些实施方案中,HC1包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列并且LC1包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列,并且HC2包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列并且LC2包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列。在某些实施方案中,Vβ17位于CD8+ T细胞或CD4+ T细胞的表面上。在某些实施方案中,CD123位于癌细胞的表面上。在某些实施方案中,双特异性抗体或其抗原结合片段在体外以小于约0.2pM的EC50诱导癌细胞的CD8+或CD4+ T细胞依赖性细胞毒性。

[0025] 在某些实施方案中,抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段是嵌合的、部分人源化的或完全人源化的。

[0026] 还提供了分离的人源化Vβ17单克隆抗体或其抗原结合片段。该分离的人源化Vβ17单克隆抗体或其抗原结合片段可以包含与SEQ ID NO:28的氨基酸序列具有至少95%同一

性的氨基酸序列。在某些实施方案中,分离的人源化Vβ17单克隆抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列。

[0027] 还提供了编码本文所公开的单克隆抗体或其抗原结合片段和本文所公开的双特异性抗体或其抗原结合片段的分离的核酸。

[0028] 还提供了包含编码本文所公开的单克隆抗体或其抗原结合片段和本文所公开的双特异性抗体或其抗原结合片段的分离的核酸的载体。

[0029] 还提供了包含载体的宿主细胞,该载体包含本文所公开的分离的核酸。

[0030] 还提供了将表达Vβ17的CD8+或CD4+ T细胞引导至癌细胞的方法。所述方法包括使表达Vβ17的CD8+或CD4+ T细胞与本文所公开的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段接触。使表达Vβ17的CD8+ T细胞或CD4+ T细胞与抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段接触可以将表达Vβ17的CD8+ T细胞或CD4+ T细胞引导至癌细胞。

[0031] 还提供了用于抑制癌细胞生长或增殖的方法。所述方法包括使癌细胞与本文所公开的双特异性抗体接触。使癌细胞与所述抗体接触可以例如抑制癌细胞的生长或增殖,或者促进T细胞介导的癌细胞杀伤。

[0032] 还提供了产生本文所公开的双特异性抗体或其抗原结合片段的方法。所述方法包括在产生重链和轻链或其抗原结合片段的条件下培养包含编码双特异性抗体的一个重链和轻链对的核酸的细胞,以及从细胞或培养物回收双特异性抗体或其抗原结合片段的重链和轻链。在收集双特异性抗体的两条臂的重链和轻链后,在适于允许自组装的条件下将重链和轻链对混合,之后收集自组装的双特异性抗体。

[0033] 还提供了产生包含本文所公开的双特异性抗体或抗原结合片段的组合物(诸如缓冲组合物或经纯化的组合物等)的方法。例如,所述方法可以包括将双特异性抗体或其抗原结合片段与对于双特异性抗体的储存和使用可接受的缓冲液组合。

[0034] 还提供了包括本文所公开的双特异性抗体或其抗原结合片段及其包装的试剂盒。

附图说明

[0035] 结合附图进行阅读时,能够更好地理解前述发明内容和以下对本专利申请的优选实施方案的详细说明。但是,应当理解,本专利申请不限于附图中示出的精确实施方案。

[0036] 图1示出了展示结合抗Vβ17/抗肿瘤抗原双特异性抗体以将T细胞募集到癌细胞并且诱导癌细胞死亡的示意图。

[0037] 图2A至图2B示出了Vβ17+CD8+ T细胞存在于健康受试者中,并且在与M1肽一起培养后,这些细胞可以在体外扩增。图2A示出了来自健康受试者的门控外周血单核细胞(PBMC)关于在细胞表面上表达Vβ17的CD8+ T细胞(Vβ17+)的FACS直方图。图2B示出了各种供体的HLA亚型,以及鉴定的Vβ17+CD8+ T细胞在第0天和在用M1肽体外扩增14天(第14天)之后的存在百分比。

[0038] 图3示出Vβ17+CD8+ T细胞具有杀伤细胞毒性细胞的标志。柱形图指示了在第0天(无M1)和用M1肽刺激后第14天(+M1),门控PBMC上关于在细胞表面上表达Vβ17的CD8+ T细胞(Vβ17+)的CD107a、CD69、颗粒酶B(Gzb)和干扰素-γ(IFNγ)的表达。

[0039] 图4示出了VB11[抗Vβ17/抗CD123]双特异性抗体以及VB13[Vβ17null对照双特异性]抗体与CD8+ T细胞的结合。从来自3个不同供体(D203517、HPU09381和HPU08694)的PBMC

分离的CD8+ T细胞呈现的数据。下表中各图均以nM表示结合的EC_{50}值。

[0040] 图5示出了Vβ17和CD123双特异性(VB11)抗体以及Vβ17null对照双特异性(VB13)抗体与AML癌细胞系的结合。呈现的数据示出了双特异性抗体与Kasumi3 AML细胞系的结合。图下面的表以nM表示结合的EC_{50}值。

[0041] 图6示出了诱导AML癌细胞的有效杀伤的双特异性抗体对Vβ17+ T细胞的重定向。左图中的数据示出了在效应物与靶标(E:T)比为0.5:1时对Kasumi3癌细胞的杀伤以及双特异性抗体的剂量滴定。中间图中的数据示出了在E:T比为1:1时对Kasumi3癌细胞的杀伤以及双特异性抗体的剂量滴定。右图中的数据示出了在E:T比为5:1时对Kasumi3癌细胞的杀伤以及双特异性抗体的剂量滴定。图下面的表显示了从上面的图计算的EC_{50}值(以pM给出)。

[0042] 图7A至图7B示出了抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体(VB11)和Vβ17null双特异性抗体(VB13)与分离自PBMC的CD8+ T细胞的特异性结合。图7A示出了来自健康受试者(左图,Vβ17未耗尽)和来自使用负选择的耗尽了Vβ17+ T细胞的PBMC(右图,Vβ17耗尽)的门控PBMC关于在细胞表面上表达Vβ17的CD8+ T细胞(Vβ17+)的FACS直方图。图7B示出了抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体(VB11)和Vβ17null双特异性抗体(VB13)与来自图7A的CD8+ T细胞的特异性结合。双特异性抗体的剂量响应在图中示出。图下面的表显示了从上面的图计算的结合EC_{50}值(以nM给出)。

[0043] 图8示出了Vβ17双特异性抗体特异性募集Vβ17T细胞以杀死Kasumi3癌细胞。左图示出了当从包含在细胞表面(未接触的CD8 T细胞)上表达Vβ17的CD8+ T细胞(Vβ17+)的PBMC中分离效应细胞时,对Kasumi3 AML细胞系的杀伤。插图示出在效应细胞群中存在10.1%的Vβ17+CD8 T细胞。右图示出了当从PBMC中分离效应CD8+ T细胞,但通过负选择耗尽了Vβ17+ T细胞时,对Kasumi3 AML细胞系的杀伤。插图示出在效应细胞群中存在微量(0.086%)的Vβ17+CD8+ T细胞群。

[0044] 图9A至图9B示出了当使用Vβ17双特异性抗体时,没有T细胞的泛活化。图9A示出了Vβ17+门控CD8+ T细胞和Vβ17-门控CD8+ T细胞的FACS图。当用Vβ17双特异性抗体活化T细胞时,Vβ17+CD8+ T细胞上的CD69(62.5%)相比于Vβ17-CD8+ T细胞(1.80%)存在高水平上调。图9B示出了当使用Vβ17双特异性抗体活化时,Vβ17+门控CD8+ T细胞和Vβ17-门控CD8+ T细胞上的CD69上调的柱形图。

[0045] 图10示出了来自HLA A2阴性供体的Vβ17+ T细胞也是效应杀伤细胞,并且不需要预先刺激Vβ17+细胞。Kasumi3癌细胞的Vβ17双特异性抗体介导的有效细胞毒性由含有来自HLA A2阴性供体(HPU 09381)的Vβ17+ T细胞的PBMC示出。

具体实施方式

[0046] 本说明书中包括的对文件、行为、材料、装置、文章等的讨论旨在为本发明提供上下文。此类讨论并不是承认这些事项中的任一事项或全部事项均相对于所公开或受权利要求书保护的任何发明形成现有技术的一部分。

[0047] 除非另有定义,否则本文使用的所有技术和科学术语的含义与本发明所属领域的普通技术人员通常所理解的含义相同。否则,本文所用的某些术语具有本说明书中所述的含义。

[0048] 除非另有说明,否则任何数值,例如本文所述的浓度或浓度范围,应理解为在所有

情况下均由术语“约”修饰。因此,数值通常包括所述值±10%。例如,1mg/mL的浓度包括0.9mg/mL至1.1mg/mL。同样,1%至10%(w/v)的浓度范围包括0.9%(w/v)至11%(w/v)。除非上下文另有明确指示,否则如本文所用,使用的数值范围明确地包括所有可能的子范围、该范围之内的所有单个数值,包括此类范围之内的整数和该范围之内的分数。

[0049] 除非另有说明,否则在一系列元素之前的术语“至少”应理解为指代系列中的每个元素。本领域的技术人员将会认识到、或仅使用常规实验就能够确定本文所述发明的具体实施方案的多种等同物。此类等同物旨在由本发明所涵盖。

[0050] 应该注意的是,除非上下文清楚地指明,否则如本文和所附权利要求中所用的单数形式“一个/一种”和“所述/该”包括复数引用物。

[0051] 如本文所用,术语“包含”、“包括”、“具有”或“含有”或其任何其他变型应被理解为是指包括指明的整数或整数组,但不排除任何其他整数或整数组,并且旨在是非排他性的或开放式的。例如,包含元素列表的组合物、混合物、过程、方法、制品或设备不一定仅限于那些元素,而是可以包括这些组合物、混合物、过程、方法、制品或设备未明确列出或固有的其他元素。此外,除非明确地指明相反,否则“或”是指包括性的或而不是指排他性的或。例如,条件A或B由以下任一项满足:A为真(或存在)而B为假(或不存在),A为假(或不存在)而B为真(或存在),以及A和B均为真(或存在)。

[0052] 如本文所用,多个列举的要素之间的连接术语“和/或”被理解为包含单个选项和组合选项两者。例如,在两个要素由“和/或”连接的情况下,第一种选项是指在没有第二个要素的情况下适用第一个要素。第二种选项是指在没有第一个要素的情况下适用第二个要素。第三种选项是指适合一起使用第一要素和第二要素。这些选项中的任一种均被理解为落在含义内,并且因此满足如本文所用的术语“和/或”的要求。多于一种选项的并行适用性也被理解为落在含义内,并且因此满足术语“和/或”的要求。

[0053] 还应当理解,当提及优选发明的部件的尺寸或特性时,本文使用的“约”、“大约”、“大致”、“基本上”和类似的术语表示所描述的尺寸/特性不是严格的边界或参数,并且不排除在功能上相同或相似的微小变化,如本领域普通技术人员所理解的。至少,包括数值参数的这种参考将包括使用本领域已接受的数学和工业原理(例如,舍入、测量或其他系统误差、制造公差等)的变化,不会改变最低有效数字。

[0054] 在两条或更多条核酸或多肽序列(例如,抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体和编码这些抗体的多核苷酸、Vβ17多肽和编码这些多肽的Vβ17多核苷酸、CD123多肽和编码这些多肽的CD123多核苷酸)的上下文中,术语“相同”或百分比“同一性”是指当进行比较和比对以获得最大对应时,相同的或者具有相同的氨基酸残基或核苷酸的指定百分比的两条或更多条序列或子序列,如使用以下序列比较算法之一或通过目视检查所测量的。

[0055] 对于序列比对,通常将一个序列作为参考序列,将测试序列与其进行对比。当使用序列比对算法时,将测试序列和参考序列输入计算机中,指定子序列坐标(如果必要的话),并指定序列算法的程序参数。然后,序列比较算法基于指定的程序参数来计算对于测试序列相对于参考序列的序列同一性百分比。

[0056] 用于比较的最佳序列比对可以例如通过以下方式进行:Smith和Waterman的局部同源性算法(Adv.Appl.Math.2:482(1981))、Needleman和Wunsch的同源性比对算法(J.Mol.Biol.48:443(1970))、Pearson和Lipman的相似性搜索方法(Proc.Nat'

l.Acad.Sci.USA 85:2444(1988))、这些算法的计算机化实施(Wisconsin Genetics Software Package中的GAP、BESTFIT、FASTA和TFASTA,Genetics Computer Group,575Science Dr.,Madison,WI),或目视检查(大致参见Current Protocols inMolecular Biology,F.M.Ausubel等人编辑,Current Protocols,Greene Publishing Associates,Inc.和John Wiley&Sons,Inc.的合资企业(1995年增补版)(Ausubel))。

[0057] 适用于确定序列同一性百分比和序列相似性的算法的示例是BLAST和BLAST 2.0算法,其分别描述于Altschul等人1990年的J.Mol.Biol.215:403-410和Altschul等人1997年的Nucleic Acids Res.25:3389-3402。用于执行BLAST分析的软件可通过美国国家生物技术信息中心公开获得。该算法涉及首先通过识别查询序列中长度为W的短字词来识别高评分序列对(HSP),当与数据库序列中相同长度的字词比对时,该短字词匹配或满足一些正值阈值分数T。T被称为邻近字词分数阈值(Altschul等人,出处同上)。这些初始邻近字词命中充当用于发起搜索以找到包含它们的较长HSP的种子。然后将字词命中沿每个序列在两个方向上延伸,只要可增加累积的比对分数。

[0058] 对于核苷酸序列,使用参数M(一对匹配残基的奖励分数;始终>0)和N(错配残基的处罚分数;始终<0)来计算累积分数。对于氨基酸序列,评分矩阵用于计算累积分数。字词命中在每个方向上的延伸在以下情况下停止:累积比对分数从其最大实现值下降数量X;累积分数由于一个或多个负分数残基比对的累积而变为零或更低;或到达任一序列的末端。BLAST算法参数W、T和X确定比对的灵敏度和速度。BLASTN程序(用于核苷酸序列)默认使用字长(W)11、期望值(E)10、M=5、N=-4以及两条链的比较。对于氨基酸序列,BLASTP程序默认使用字长(W)3、期望值(E)10以及BLOSUM62评分矩阵(参见Henikoff和Henikoff的Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89:10915(1989))。

[0059] 除了计算序列同一性百分比之外,BLAST算法还对两条序列之间的相似性进行统计分析(参见例如Karlin和Altschul的Proc.Nat'l.Acad.Sci.USA90:5873-5787(1993))。BLAST算法提供的一种相似性量度是最小总和概率(P(N)),其提供了两条核苷酸或氨基酸序列之间偶然发生匹配的概率的指示。例如,如果在测试核酸与参考核酸的比较中最小总和概率小于约0.1,更优选地小于约0.01,并且最优选地小于约0.001,则认为核酸类似于参考序列。

[0060] 两个核酸序列或多肽基本上相同的另一个指示是通过第一核酸编码的多肽与通过第二核酸编码的多肽免疫地交叉反应,如下所述。因此,多肽通常与第二多肽基本上相同,例如,其中两个肽仅通过保守置换而不同。两个核酸序列基本上相同的另一个指示是,两个分子在严格条件下彼此杂交。

[0061] 抗体

[0062] 本文描述了分离的抗Vβ17双特异性抗体或其抗原结合片段、编码所述抗体的核酸和表达载体、含有所述载体的重组细胞,以及包含所述抗体的组合物。本发明此外涉及分离的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段、编码所述抗体的核酸和表达载体、含有所述载体的重组细胞,以及包含所述双特异性抗体的组合物。还提供了制备所述抗体的方法,以及使用所述抗体治疗疾病(包括癌症)的方法。本文所公开的抗体具有一种或多种期望的功能特性,包括但不限于与Vβ17和/或CD123的高亲和力结合、对Vβ17和/或CD123的高特异性,以及当单独施用或与其他抗癌疗法联合施用时治疗或预防癌症的能力。

[0063] 如本文所用,术语“抗体”广义地使用,并且包括免疫球蛋白或抗体分子,包括人抗体、人源化抗体、复合抗体和嵌合抗体以及单克隆或多克隆抗体片段。一般来讲,抗体是蛋白质或肽链,其对于特定抗原表现出结合特异性。抗体结构是众所周知的。根据重链恒定结构域氨基酸序列,可将免疫球蛋白指定为五大类(即IgA、IgD、IgE、IgG和IgM)。IgA和IgG进一步亚分类为同种型IgA1、IgA2、IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。基于其恒定结构域的氨基酸序列,可将脊椎物种的抗体轻链指定为两种完全不同的类型即κ和λ中的一种。因此,本发明的抗体可含有κ或λ轻链恒定域。根据具体实施方案,本文所公开的抗体包括来自小鼠抗体或人抗体的重链恒定区和/或轻链恒定区。除重链和轻链恒定域之外,抗体还包含由轻链可变区和重链可变区组成的抗原结合区,每个可变区包含三个域(即,互补决定区1-3;CDR1、CDR2和CDR3)。轻链可变区结构域替代性地被称为LCDR1、LCDR2和LCDR3,并且重链可变区结构域替代性地被称为HCDR1、HCDR2和HCDR3。

[0064] 如本文所用,术语“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(例如,与Vβ17特异性结合的分离的抗体基本上不含不与Vβ17结合的抗体;与CD123特异性结合的分离的抗体基本上不含不与CD123结合的抗体)。另外,分离的抗体可基本上不含其他细胞物质和/或化学物质。

[0065] 如本文所用,术语“单克隆抗体”是指从一组基本上均质的抗体获得的抗体,即,除了可能以少量存在的可能天然存在的突变之外,构成该组的各个抗体是相同的。本文所公开的单克隆抗体可以通过杂交瘤方法、噬菌体展示技术、单淋巴细胞基因克隆技术或通过重组DNA方法制备。例如,单克隆抗体可以由包括获自转基因非人动物诸如转基因小鼠或大鼠的B细胞的杂交瘤产生,转基因非人动物具有包含人重链转基因和轻链转基因的基因组。

[0066] 如本文所用,术语“抗原结合片段”是指抗体片段,诸如像,双抗体、Fab、Fab’、F(ab’)2、Fv片段、二硫键稳定Fv片段(dsFv)、$(dsFv)_2$、双特异性dsFv(dsFv-dsFv’)、二硫键稳定双抗体(ds双抗体)、单链抗体分子(scFv)、单结构域抗体(sdab)、scFv二聚体(二价双抗体)、由包含一个或多个CDR的抗体的一部分形成的多特异性抗体、骆驼化单结构域抗体、纳米抗体、结构域抗体、二价结构域抗体或结合抗原但不包含完整抗体结构的任何其他抗体片段。抗原结合片段能够结合至与亲本抗体或亲本抗体片段结合的抗原相同的抗原。根据具体实施方案,抗原结合片段包含轻链可变区、轻链恒定区和重链的Fd区段。根据其他具体实施方案,抗原结合片段包含Fab和F(ab’)。

[0067] 如本文所用,术语“人源化抗体”是指被修饰成提高与人抗体的序列同源性的非人抗体,使得抗体的抗原结合特性得以保留,但其在人体内的抗原性下降。

[0068] 如本文所用,术语“多特异性抗体”是指包含多个免疫球蛋白可变结构域序列的抗体,其中该多个免疫球蛋白可变结构域序列中的第一免疫球蛋白可变结构域序列对第一表位具有结合特异性,并且该多个免疫球蛋白可变结构域序列中的第二免疫球蛋白可变结构域序列对第二表位具有结合特异性。在一个实施方案中,第一表位和第二表位不重叠或基本上不重叠。在一个实施方案中,第一表位和第二表位在不同的抗原,例如不同的蛋白质(或多聚蛋白质的不同亚基)上。在一个实施方案中,多特异性抗体包含第三、第四或第五免疫球蛋白可变域。在一个实施方案中,多特异性抗体是双特异性抗体分子、三特异性抗体分子或四特异性抗体分子。

[0069] 如本文所用,术语“双特异性抗体”是指结合不超过两个表位或两个抗原的多特异

性抗体。双特异性抗体的特征在于对第一表位(例如,Vβ17抗原上的表位)具有结合特异性的第一免疫球蛋白重链和轻链对,以及对第二表位(例如,CD123抗原上的表位)具有结合特异性的第二免疫球蛋白重链和轻链对。在一个实施方案中,第一表位和第二表位在不同的抗原,例如不同的蛋白质(或多聚蛋白质的不同亚基)上。在一个实施方案中,双特异性抗体包含对第一表位具有结合特异性的重链可变结构域序列和轻链可变结构域序列以及对第二表位具有结合特异性的重链可变结构域序列和轻链可变结构域序列。在一个实施方案中,双特异性抗体包含对第一表位具有结合特异性的半抗体或其片段以及对第二表位具有结合特异性的半抗体或其片段。在一个实施方案中,双特异性抗体包含对第一表位具有结合特异性的scFv或其片段以及对第二表位具有结合特异性的scFv或其片段。在一个实施方案中,第一表位位于Vβ17上,并且第二表位位于CD123上。在一个实施方案中,第一表位位于Vβ17上,并且第二表位位于PD-1、PD-L1、CTLA-4、EGFR、HER-2、CD19、CD20、CD3和/或其他肿瘤相关的免疫抑制因子或表面抗原上。

[0070] 如本文所用,术语“半抗体”是指与一条免疫球蛋白轻链缔合的一条免疫球蛋白重链。示例性半抗体以SEQ ID NO:28示出。本领域的技术人员将容易理解,半抗体可以涵盖其片段并且还可以具有由单个可变结构域组成的抗原结合结构域,例如来源于骆驼科。

[0071] 如本文所用,术语“Vβ17”是指响应于细胞毒性T细胞上的免疫应答而表达的T细胞受体。表达Vβ17的CD8+ T细胞通常响应于受试者暴露于甲型流感病毒而产生。表达Vβ17的CD8+ T细胞响应于受试者暴露于流感而提供很大的回忆。术语“Vβ17”包括由细胞(包括T细胞)天然表达或者能够在用编码所述多肽的基因或cDNA转染的细胞上表达的任何Vβ17变体、同种型和物种同源物。除非另外指明,否则优选地,Vβ17为人Vβ17。人Vβ17氨基酸序列由GenBank登录号AAB49730.1提供。

[0072] 术语“CD123”是指存在于细胞上的有助于传递白介素-3(一种在免疫系统中很重要的可溶性细胞因子)的信号的分子。CD123也可以称为“白介素-3受体”。该受体属于I型细胞因子受体家族,并且是具有与共同的β亚基(βc或CD131)配对的独特α链的异源二聚体。CD123受体可以存在于多能祖细胞上,并且可以在细胞内诱导酪氨酸磷酸化并促进造血细胞系内的增殖和分化。CD123也可以在急性髓系白血病(AML)亚型中表达。除非另外指明,否则术语“CD123”包括由细胞(包括T细胞)天然表达或者能够在用编码那些多肽的基因或cDNA转染的细胞上表达的任何CD123变体、同种型和物种同源物,优选地“CD123”是人CD123。人CD123氨基酸序列由GenBank登录号AY789109.1提供。

[0073] 如本文所用,“与Vβ17特异性结合”的抗体是指以1×10^{-7}M或更小,优选地1×10^{-8}M或更小,更优选地5×10^{-9}M或更小、1×10^{-9}M或更小、5×10^{-10}M或更小或者1×10^{-10}M或更小的KD与Vβ17结合、优选地与人Vβ17结合的抗体。术语“KD”是指从Kd对Ka的比(即Kd/Ka)获得并且表示为摩尔浓度(M)的解离常数。根据本公开,抗体的KD值可以使用本领域中的方法确定。例如,抗体的KD可通过使用表面等离振子共振,诸如通过使用生物传感器系统(例如Biacore®系统),或者通过使用生物层干涉测量技术(诸如Octet RED96系统)来确定。

[0074] 如本文所用,“与CD123特异性结合”的抗体是指以1×10^{-7}M或更小,优选地1×10^{-8}M或更小,更优选地5×10^{-9}M或更小、1×10^{-9}M或更小、5×10^{-10}M或更小或者1×10^{-10}M或更小的KD与CD123结合、优选地与人CD123结合的抗体。术语“KD”是指从Kd对Ka的比(即Kd/Ka)获得并且表示为摩尔浓度(M)的解离常数。根据本公开,抗体的KD值可以使用本领域中的方法

确定。例如,抗体的KD可通过使用表面等离振子共振,诸如通过使用生物传感器系统(例如Biacore®系统),或者通过使用生物层干涉测量技术(诸如Octet RED96系统)来确定。

[0075] 抗体KD的值越小,抗体与靶抗原结合的亲和力越高。

[0076] 根据一个具体方面,本发明涉及分离的Vβ17双特异性抗体或其抗原结合片段,其包含:(a)第一重链(HC1);(b)第二重链(HC2);(c)第一轻链(LC1);以及(d)第二轻链(LC2)。HC1可以与LC1缔合,并且HC2可以与LC2缔合。HC1可以包含重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2和HCDR3,所述重链互补决定区分别包含SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3的氨基酸序列,并且LC1可以包含轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3,所述轻链互补决定区分别包含SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的氨基酸序列。

[0077] HC1和LC1形成第一抗原的结合位点,并且HC2和LC2形成第二抗原的结合位点。以举例的方式,第一抗原的结合位点可以与CD8+ T细胞或CD4+ T细胞上的Vβ17结合,并且第二抗原的结合位点可以例如与存在于癌细胞的表面上的肿瘤抗原结合。Vβ17双特异性抗体与存在于CD8+ T细胞或CD4+ T细胞的表面上的Vβ17结合以及与存在于癌细胞的表面上的肿瘤抗原结合可以例如导致杀死癌细胞。

[0078] 本文还提供了抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段,其包含抗Vβ17抗体或其抗原结合片段以及抗CD123抗体或其抗原结合片段。在某些实施方案中,该抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段包含:(a)第一重链(HC1);(b)第二重链(HC2);(c)第一轻链(LC1);以及第二轻链(LC2)。HC1与LC1缔合,并且HC2与LC2缔合。在某些实施方案中,HC1包含重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2和HCDR3,所述重链互补决定区分别包含SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3的氨基酸序列,并且LC1包含轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3,所述轻链互补决定区分别包含SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的氨基酸序列。在某些实施方案中,HC2包含重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2和HCDR3,所述重链互补决定区分别包含SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36的氨基酸序列,并且LC2包含轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3,所述轻链互补决定区分别包含SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38和SEQ ID NO:39的氨基酸序列。

[0079] 在某些实施方案中,HC1可以例如包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列并且LC1可以例如包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列,以形成特异性结合Vβ17的第一抗原的结合位点。HC2可以例如包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列并且LC2可以例如包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列,以形成特异性结合CD123的第二抗原的结合位点。

[0080] 在某些实施方案中,Vβ17位于CD8+ T细胞或CD4+ T细胞的表面上。在某些实施方案中,CD123位于癌细胞(例如白血病细胞)的表面上。

[0081] 在一些实施方案中,本文所公开的双特异性抗体可以采取经由如本文所述的受控Fab臂交换获得的双体抗体、交叉抗体或双特异性抗体的形式。

[0082] 在一些实施方案中,所述双特异性抗体包括具有促进异源二聚化的互补CH3结构域的IgG样分子;重组IgG样双靶向分子,其中该分子的两侧各自含有至少两种不同抗体的Fab片段的一部分或Fab片段;IgG融合分子,其中全长IgG抗体与额外的Fab片段或Fab片段的部分融合;Fc融合分子,其中单链Fv分子或稳定的双体抗体与重链恒定结构域、Fc区或其部分融合;Fab融合分子,其中不同的Fab片段融合在一起;基于ScFv和双体抗体的重链抗体(例如结构域抗体、纳米抗体),其中不同的单链Fv分子或不同的双体抗体或不同的重链抗

体(例如结构域抗体、纳米抗体)彼此融合或与另一蛋白或载体分子融合。

[0083] 在一些实施方案中,具有互补CH3结构域分子的IgG样分子包括Triomab/Quadroma(Trion Pharma/Fresenius Biotech)、杵臼结构(Knobs-into-Holes)抗体(Genentech)、CrossMAbs(Roche)和静电配对体(electrostatically-matched)(Amgen)、LUZ-Y(Genentech)、链交换工程化结构域体(Strand Exchange Engineered Domain body)(SEEDbody)(EMD Serono)、Biclonic(Merus)和DuoBody(Genmab A/S)。

[0084] 在一些实施方案中,重组IgG样双靶向分子包括双重靶向(DT)-Ig(GSK/Domantis)、二合一抗体(Genentech)、交联Mabs(Karmanos Cancer Center)、mAb2(F-Star)和CovX体(CovX/Pfizer)。

[0085] 在一些实施方案中,IgG融合分子包括双重可变结构域(DVD)-Ig(Abbott)、IgG样双特异性抗体(InnClone/Eli Lilly)、Ts2Ab(MedImmune/AZ)和BsAb(Zymogenetics)、HERCULES(Biogen Idec)以及TvAb(Roche)。

[0086] 在一些实施方案中,Fc融合分子可以包括ScFv/Fc融合体(Academic Institution)、SCORPION(Emergent BioSolutions/Trubion,Zymogenetics/BMS)、双重亲和力再靶向技术(Fc-DART)(MacroGenics)以及Dual(ScFv)$_2$-Fab(中国国家抗体医药研究中心(National Research Center for AntibodyMedicine--China))。

[0087] 在一些实施方案中,Fab融合双特异性抗体包括F(ab)$_2$(Medarex/AMGEN)、Dual-Action或Bis-Fab(Genentech)、Dock-and-Lock(DNL)(ImmunoMedics)、二价双特异性抗体(Biotecnol)和Fab-Fv(UCB-Celltech)。基于ScFv的、基于双价抗体的结构域抗体包括但不限于双特异性T细胞衔接器(BiTE)(Micromet)、串联双价抗体(Tandab)(Affimed)、双亲和重靶向技术(DART)(MacroGenics)、单链双价抗体(Academic)、TCR样抗体(AIT,ReceptorLogics)、人血清白蛋白ScFv融合体(Merrimack)和COMBODY(Epigen Biotech)、双重靶向纳米抗体(Ablynx)、双重靶向仅重链结构域抗体。

[0088] 本文所公开的全长双特异性抗体可以例如使用两个单特异性二价抗体之间的Fab臂交换(或半分子交换)通过下列方式产生:在每个半分子中的重链CH3交界处引入置换以促成两个在体外无细胞环境中或使用共表达而具有不同特异性的抗体半分子的异源二聚体形成。Fab臂交换反应是二硫键异构化反应和CH3结构域解离-缔合的结果。亲本单特异性抗体的铰链区中的重链二硫键减少。亲本单特异性抗体之一的所得游离半胱氨酸与第二亲本单特异性抗体分子的半胱氨酸残基形成重链间二硫键,同时亲本抗体的CH3结构域通过解离-缔合而释放和重新形成。可以对Fab臂的CH3结构域进行工程改造,以促成异源二聚化而非同源二聚化。所得产物是具有两条Fab臂或半分子的双特异性抗体,这两条Fab臂或半分子各自结合不同的表位,即Vβ17上的表位和肿瘤抗原上的表位。

[0089] 如本文所用,“同源二聚化”是指具有相同CH3氨基酸序列的两条重链的相互作用。如本文所用,“同源二聚体”是指具有含有相同CH3氨基酸序列的两条重链的抗体。

[0090] 如本文所用,“异源二聚化”是指具有不同CH3氨基酸序列的两条重链的相互作用。如本文所用,“异源二聚体”是指具有含有不同CH3氨基酸序列的两条重链的抗体。

[0091] “杵臼结构”策略(参见例如,PCT国际公布WO 2006/028936)可用于产生全长双特异性抗体。简而言之,在人IgG中形成CH3结构域的交界的选定氨基酸可在影响CH3结构域相互作用的位置处突变,从而促进异源二聚体形成。将具有小侧链(臼)的氨基酸引入特异性

地结合第一抗原的抗体的重链中,并将具有大侧链(杵)的氨基酸引入特异性地结合第二抗原的抗体的重链中。在两种抗体共表达后,由于具有"臼"的重链与具有"杵"的重链的优先相互作用而形成异源二聚体。形成杵臼结构的示例性CH3置换对(表示为第一重链的第一CH3结构域中的修饰位置/第二重链的第二CH3结构域中的修饰位置)是:T366Y/F405A、T366W/F405W、F405W/Y407A、T394W/Y407T、T394S/Y407A、T366W/T394S、F405W/T394S和T366W/T366S_L368A_Y407V。

[0092] 还可以使用其他策略,诸如通过在一个CH3表面置换带正电荷的残基并且在第二CH3表面置换带负电荷的残基使用静电相互作用促进重链异源二聚化,如美国专利公布号US2010/0015133、美国专利公布号US2009/0182127、美国专利公布号US2010/028637或美国专利公布号US2011/0123532中所述。在其他策略中,可以通过下面的置换(表示为第一重链的第一CH3结构域中的经修饰位置/第二重链的第二CH3结构域中的经修饰位置)促进异源二聚化:L351Y_F405AY407V/T394W、T366I_K392M_T394W/F405A_Y407V、T366L_K392M_T394W/F405A_Y407V、L351Y_Y407A/T366A_K409F、L351Y_Y407A/T366V K409F Y407A/T366A_K409F或T350V_L351Y_F405A Y407V/T350V_T366L_K392L_T394W,如美国专利公布号US2012/0149876或美国专利公布号US2013/0195849中所述。

[0093] 除了上述方法之外,本文所公开的双特异性抗体可以在体外的无细胞环境中产生,方式为:在两个单特异性同源二聚抗体的CH3区域中引入非对称突变并且由两个亲本单特异性同源二聚抗体在还原条件下形成双特异性异源二聚抗体,以允许根据国际专利公布号WO2011/131746所述的方法实现二硫键异构化。在所述方法中,将第一单特异性二价抗体(例如,抗CD33抗体)和第二单特异性二价抗体(例如,抗CD3抗体)工程改造为在CH3结构域处具有促进异源二聚体稳定性的某些置换;将这些抗体在足以使铰链区中的半胱氨酸发生二硫键异构化的还原条件下一起温育;从而通过Fab臂交换产生双特异性抗体。温育条件可以任选地恢复到非还原条件。可使用的示例性还原剂为2-巯基乙胺(2-MEA)、二硫苏糖醇(DTT)、二硫赤藓糖醇(DTE)、谷胱甘肽、三(2-羧乙基)膦(TCEP)、L-半胱氨酸和β-巯基乙醇,优选为选自2-巯基乙胺、二硫苏糖醇和三(2-羧乙基)膦的还原剂。例如,可使用如下条件:在至少25mM 2-MEA的存在下或至少0.5mM二硫苏糖醇的存在下,在5-8的pH例如pH7.0或pH7.4,至少20℃的温度下,温育至少90分钟。

[0094] 在某些实施方案中,抗Vβ17抗体或其抗原结合片段包含具有以下多肽序列的重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3以及轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3:

[0095] a.分别为SEQ ID NO:1、2、3、4、5和6;

[0096] 并且抗CD123抗体或其抗原结合片段包含具有以下多肽序列的重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3以及轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3:

[0097] 1.分别为SEQ ID NO:34、35、36、37、38和39。

[0098] 根据另一个具体方面,本发明涉及诱导抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)的分离的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段。该双特异性抗体或其抗原结合片段能够例如在体外诱导ADCC。该双特异性抗体或其抗原结合片段能够以小于约1pM的EC_{50}诱导ADCC。在某些实施方案中,EC_{50}小于约1pM、小于约0.9pM、小于约0.8pM、小于约0.7pM、小于约0.6pM、小于约0.5pM、小于约0.4pM、小于约0.300pM、小于约0.2pM、小于约0.19pM、小于约0.18pM、小于约0.17pM、小于约0.16pM、小于约0.15pM、小于约0.14pM、小于约0.13pM、小于

约0.12pM、小于约0.11pM、小于约0.1pM、小于约0.09pM、小于约0.08pM、小于约0.07pM、小于约0.06pM、小于约0.05pM、小于约0.04pM、小于约0.03pM、小于约0.02pM,或小于约0.01pM。在某些实施方案中,该抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段包含IgG1、IgG2、IgG3或IgG4主链。在一个这样的实施方案中,抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段具有IgG4同种型的抗体主链。

[0099] 在本文所述的一些实施方案中,抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体的免疫效应特性可以通过本领域技术人员已知的技术经由Fc修饰得到增强或沉默。例如,Fc效应子功能诸如Clq结合、补体依赖性细胞毒性(CDC)、抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)、抗体依赖性细胞介导的吞噬作用(ADCP)、细胞表面受体(例如B细胞受体;BCR)的下调等,可通过修饰促成这些活性的Fc中的残基来提供和/或控制。

[0100] “抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”或“ADCC”是指细胞介导的反应,在该反应中,表达Fc受体(FcR)的非特异性细胞毒性细胞(例如自然杀伤(NK)细胞、嗜中性粒细胞和巨噬细胞)识别靶细胞上的结合抗体并随后致使靶细胞裂解。

[0101] 抗体诱导ADCC的能力可以通过工程改造其寡糖成分来增强。人IgG1或IgG3在Asn297处被熟知的双分枝G0、G0F、G1、G1F、G2或G2F形式的大多数聚糖N-糖基化。未工程化的CHO细胞所产生的抗体通常具有约至少85%的聚糖岩藻糖含量。从连接到Fc区的双分枝复合物型低聚糖去除核心岩藻糖,经由改善的Fcγ RIIIa结合来增强抗体的ADCC,而不会改变抗原结合或CDC活性。此类抗体可以使用所报告的用于引起具有双分枝复合物型Fc低聚糖的相对较高去岩藻糖基化抗体的成功表达的不同方法实现,这些方法诸如控制培养物渗透压(Konno等人,Cytotechnology 64:249-65,2012)、应用变体CHO细胞系Lec13作为宿主细胞系(Shields等人,JBiol Chem 277:26733-26740,2002)、应用变体CHO细胞系EB66作为宿主细胞系(Olivier等人,MAbs;2(4),2010;Epub ahead of print;PMID:20562582)、应用大鼠杂交瘤细胞系YB2/0作为宿主细胞系(Shinkawa等人,J Biol Chem 278:3466-3473,2003)、引入特异性地针对α-1,6-岩藻糖基转移酶(FUT8)基因的小干扰RNA(Mori等人,Biotechnol Bioeng 88:901-908,2004),或者共表达β-1,4-N-乙酰葡糖胺基转移酶III和高尔基体α-甘露糖苷酶II或强效α-甘露糖苷酶I抑制剂、几夫碱(Ferrara等人,J Biol Chem 281:5032-5036,2006;Ferrara等人,Biotechnol Bioeng93:851-861,2006;Xhou等人,Biotechnol Bioeng,99:652-65,2008)。

[0102] 在本文所述的一些实施方案中,还可以通过抗体Fc中的某些置换来增强由抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体引发的ADCC。示例性置换包括例如在氨基酸位置256、290、298、312、356、330、333、334、360、378或430(根据EU索引对残基进行编号)处的置换,如美国专利号6,737,056中所述。

[0103] 根据另一个具体方面,本发明涉及分离的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段,其能够在表达Vβ17的细胞和/或表达CD123的细胞中诱导T细胞依赖性细胞毒性。该双特异性抗体或其抗原结合片段可以例如在体外在表达Vβ17的细胞和/或表达CD123的细胞中以小于约2nM的EC_{50}值诱导T细胞依赖性细胞毒性。在某些实施方案中,EC_{50}小于约2.0nM、小于约1.9nM、小于约1.8nM、小于约1.7nM、小于约1.6nM、小于约1.5nM、小于约1.4nM、小于约1.3nM、小于约1.2nM,小于约1.1nM、小于约1.0nM、小于约0.9nM、小于约0.8nM、小于约0.7nM、小于约0.6nM、小于约0.5nM、小于约0.4nM、小于约0.3nM、小于约0.2nM

以及小于约0.1nM。

[0104] 根据另一个具体方面,本发明涉及分离的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段,其中该抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段是嵌合的。

[0105] 根据另一个具体方面,本发明涉及分离的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段,其中该抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段是人的或人源化的。

[0106] 在另一个一般方面,本发明涉及分离的人源化Vβ17单克隆抗体或其抗原结合片段。该分离的人源化Vβ17单克隆抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:28的氨基酸序列具有至少85%、优选地90%、更优选地95%或更高(诸如95%、96%、97%、98%或99%)的同一性的氨基酸序列。在某些实施方案中,该人源化Vβ17单克隆抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列。

[0107] 在另一个一般方面,本发明涉及编码本文所公开的单克隆抗体或其抗原结合片段的分离的核酸。在另一个一般方面,本发明涉及编码本文所公开的双特异性抗体或其抗原结合片段的分离的核酸。本领域的技术人员将理解,可以改变(例如置换、缺失、插入等)蛋白质的编码序列而不改变蛋白质的氨基酸序列。因此,本领域的技术人员将理解,可以变更编码本文所公开的单克隆抗体和/或双特异性抗体的核酸序列,而不改变蛋白质的氨基酸序列。

[0108] 在另一个一般方面,本发明涉及包含本文所公开的分离的核酸的载体。根据本公开,可使用本领域的技术人员已知的任何载体,诸如质粒、粘端质粒、噬菌体载体或病毒载体。在一些实施方案中,载体是重组表达载体,诸如质粒。载体可包括建立表达载体的常规功能的任何元件,例如启动子、核糖体结合元件、终止子、增强子、选择标记和复制起点。启动子可为组成型、诱导型或阻抑型启动子。能够向细胞递送核酸的多种表达载体在本领域中是已知的,并且在本文可用于在细胞中产生抗体或其抗原结合片段。常规克隆技术或人工基因合成可以用于根据本文所公开的实施方案生成重组表达载体。根据本公开,此类技术是本领域技术人员所熟知的。

[0109] 在另一个一般方面,本发明涉及包含编码本文所公开的单克隆抗体和/或双特异性抗体或者其抗原结合片段的分离的核酸的宿主细胞。鉴于本公开,本领域的技术人员已知的任何宿主细胞都可以用于重组表达本文所公开的抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,宿主细胞是大肠杆菌TG1或BL21细胞(用于表达例如scFv或Fab抗体)、CHO-DG44或CHO-K1细胞或HEK293细胞(用于表达例如全长IgG抗体)。根据具体实施方案,通过常规方法诸如化学转染、热休克或电穿孔将重组表达载体转化到宿主细胞中,其中将该重组表达载体稳定整合到宿主细胞基因组中,使得重组核酸有效表达。

[0110] 在另一个一般方面,本发明涉及产生本文所公开的双特异性抗体或其抗原结合片段的方法。所述方法包括在产生本文所公开的双特异性抗体或其抗原结合片段的条件下培养包含编码双特异性抗体或其抗原结合片段的核酸的细胞,以及从该细胞或细胞培养物(例如,从上清液)回收抗体或其抗原结合片段。可从细胞收获表达的抗体或其抗原结合片段并且根据本领域已知以及如本文所述的常规技术进行纯化。

[0111] 使用方法

[0112] 在另一个一般方面,本发明涉及靶向癌细胞的表面上的CD123的方法,该方法包括使癌细胞暴露于抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段。

[0113] 与Vβ17和/或CD123结合的双特异性抗体及其抗原结合片段的功能活性可以通过本领域已知的和如本文所述的方法来表征。用于表征与Vβ17和/或CD123结合的抗体及其抗原结合片段的方法包括但不限于亲和力和特异性测定,包括Biacore、ELISA和OctetRed分析;通过FACS检测抗体与癌细胞上的CD123的结合的结合测定;检测抗体与CD8+ T细胞或CD4+ T细胞上的Vβ17的结合的结合测定。根据具体的实施方案,用于表征与Vβ17和/或CD123结合的抗体及其抗原结合片段的方法包括以下所述的那些。

[0114] 在另一个一般方面,本发明涉及将表达Vβ17的CD8+ T细胞或CD4+ T细胞引导至癌细胞的方法。所述方法包括使表达Vβ17的CD8+ T细胞或CD4+ T细胞与抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段接触,其中抗体或抗体片段将表达Vβ17的CD8+ T细胞或CD4+ T细胞引导至在其表面上具有CD123的癌细胞。

[0115] 在另一个一般方面,本发明涉及用于抑制癌细胞生长或增殖的方法。所述方法包括使表达Vβ17的CD8+ T细胞与抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段接触,其中使癌细胞与抗体或抗体片段接触抑制癌细胞的生长或增殖。

[0116] 根据本发明的实施方案,所述抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段可以在缓冲组合物中提供以便储存或使用。用于储存所述抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段的合适缓冲液将通过使储存时的变质最小化、不促进抗体或抗体片段的聚集或者使对储存容器的粘附最小化,来起到维持抗体或抗体片段的稳定性的作用。

[0117] 实施方案

[0118] 本发明提供了以下非限制性实施方案。

[0119] 实施方案1为一种分离的Vβ17双特异性抗体或其抗原结合片段,所述分离的Vβ17双特异性抗体或其抗原结合片段包含:

[0120] a.第一重链(HC1);

[0121] b.第二重链(HC2);

[0122] c.第一轻链(LC1);以及

[0123] d.第二轻链(LC2),其中HC1与LC1缔合并且HC2与LC2缔合,并且其中HC1包含重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2和HCDR3,所述重链互补决定区分别包含SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3的氨基酸序列,并且LC1包含轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3,所述轻链互补决定区分别包含SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的氨基酸序列,以形成第一抗原的结合位点,并且其中HC2和LC2形成第二抗原的结合位点。

[0124] 实施方案2为根据实施方案1所述的Vβ17双特异性抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗原的所述结合位点与CD8+ T细胞或CD4+ T细胞上的Vβ17结合。

[0125] 实施方案3为根据实施方案1或2所述的Vβ17双特异性抗体或其抗原结合片段,其中所述第二抗原的所述结合位点与存在于癌细胞的表面上的肿瘤抗原结合。

[0126] 实施方案4为根据实施方案1至3中任一项所述的Vβ17双特异性抗体或抗原结合片段,其中HC1和LC1是人源化的。

[0127] 实施方案5为根据实施方案1至4中任一项所述的Vβ17双特异性抗体或其抗原结合片段,其中HC2和LC2与CD123结合。

[0128] 实施方案6为根据实施方案1至5中任一项所述的Vβ17双特异性抗体或其抗原结合片段,其中所述双特异性抗体或其抗原结合片段为IgG同种型。

[0129] 实施方案7为根据实施方案1至6中任一项所述的Vβ17双特异性抗体或其抗原结合片段,其中所述双特异性抗体或其抗原结合片段为IgG4同种型。

[0130] 实施方案8为根据实施方案1至7中任一项所述的Vβ17双特异性抗体或其抗原结合片段,其中所述双特异性抗体或其抗原结合片段在体外以小于约0.2pM的EC_{50}诱导癌细胞的CD8+或CD4+ T细胞依赖性细胞毒性。

[0131] 实施方案9为一种分离的核酸,所述分离的核酸编码根据实施方案1至8中任一项所述的Vβ17双特异性抗体或其抗原结合片段的HC1和LC1。

[0132] 实施方案10为一种分离的核酸,所述分离的核酸编码根据实施方案1至8中任一项所述的Vβ17双特异性抗体或其抗原结合片段的HC2和LC2。

[0133] 实施方案11为一种载体,所述载体包含根据实施方案9或实施方案10所述的分离的核酸。

[0134] 实施方案12为一种宿主细胞,所述宿主细胞包含根据实施方案11所述的载体。

[0135] 实施方案13为一种缓冲组合物,所述缓冲组合物包含根据实施方案1至8中任一项所述的分离的Vβ17双特异性抗体或其抗原结合片段,以及缓冲溶液。

[0136] 实施方案14为一种分离的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段,其包含:

[0137] a.第一重链(HC1);

[0138] b.第二重链(HC2)

[0139] c.第一轻链(LC1);以及

[0140] d.第二轻链(LC2),其中HC1与LC1缔合并且HC2与LC2缔合,并且其中HC1包含重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2和HCDR3,所述重链互补决定区分别包含SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3的氨基酸序列,并且LC1包含轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3,所述轻链互补决定区分别包含SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的氨基酸序列,以形成特异性结合Vβ17的第一抗原的结合位点,并且其中HC2包含重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2和HCDR3,所述重链互补决定区分别包含SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36的氨基酸序列,并且LC2包含轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3,所述轻链互补决定区分别包含SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38和SEQ ID NO:39的氨基酸序列,以形成特异性结合CD123的第二抗原的结合位点。

[0141] 实施方案15为根据实施方案14所述的分离的抗Vb17/抗CD123双特异性抗体或抗原结合片段,其中HC1包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列并且LC1包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列,并且其中HC2包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列并且LC2包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

[0142] 实施方案16为根据实施方案14或实施方案15所述的分离的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段,其中所述Vβ17位于CD8+ T细胞或CD4+ T细胞的表面上。

[0143] 实施方案17为根据实施方案14至16中任一项所述的分离的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段,其中所述CD123位于癌细胞的表面上。

[0144] 实施方案18为根据实施方案14至17中任一项所述的分离的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段,其中双特异性抗体或其抗原结合片段在体外以小于约0.2pM的EC_{50}诱导癌细胞的CD8+或CD4+ T细胞依赖性细胞毒性。

[0145] 实施方案19为一种分离的核酸,所述分离的核酸编码根据实施方案14至18中任一项所述的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段的所述HC1和所述LC1。

[0146] 实施方案20为一种分离的核酸,所述分离的核酸编码根据实施方案14至18中任一项所述的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段的所述HC2和所述LC2。

[0147] 实施方案21为一种载体,所述载体包含根据实施方案19或实施方案20所述的分离的核酸。

[0148] 实施方案22为一种宿主细胞,所述宿主细胞包含根据实施方案21所述的载体。

[0149] 实施方案23为一种缓冲组合物,所述缓冲组合物包含根据实施方案14至18中任一项所述的分离的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段,以及缓冲溶液。

[0150] 实施方案24为一种将表达Vβ17的CD8+ T细胞或CD4+ T细胞引导至癌细胞的方法,所述方法包括使表达Vβ17的CD8+ T细胞或CD4+ T细胞与根据实施方案1至8或14至18中任一项所述的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段接触,其中使所述表达Vβ17的CD8+ T细胞或CD4+ T细胞与所述抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段接触将所述表达Vβ17的CD8+ T细胞或CD4+ T细胞引导至在其表面上具有CD123的癌细胞。

[0151] 实施方案24(a)为根据实施方案24所述的方法,其中使所述表达Vβ17的CD8+ T细胞或CD4+ T细胞与根据实施方案1至8或14至18中任一项所述的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体接触。

[0152] 实施方案24(b)为根据实施方案24所述的方法,其中使所述表达Vβ17的CD8+ T细胞或CD4+ T细胞与根据实施方案1至8或14至18中任一项所述的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体片段接触。

[0153] 实施方案25为一种用于抑制在其表面上表达CD123的癌细胞的生长或增殖的方法,所述方法包括使所述癌细胞与根据实施方案1至8或14至18中任一项所述的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其片段接触,其中使所述癌细胞与所述抗体或抗体片段接触抑制所述癌细胞的生长或增殖。

[0154] 实施方案25(a)为根据实施方案25所述的方法,其中所述表达CD123的癌细胞在表达Vβ17的CD8+ T细胞的存在下,同时与抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其片段接触。

[0155] 实施方案25(b)为根据实施方案25或25(a)所述的方法,其中使所述表达CD123的癌细胞与根据实施方案1至8或14至18中任一项所述的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体接触。

[0156] 实施方案25(c)为根据实施方案25或25(a)所述的方法,其中使所述表达CD123的癌细胞与根据实施方案1至8或14至18中任一项所述的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体片段接触。

[0157] 实施方案26为一种试剂盒,所述试剂盒包括根据实施方案1至8中任一项所述的Vβ17双特异性抗体或其抗原结合片段及其包装。

[0158] 实施方案27为一种试剂盒,所述试剂盒包括根据实施方案14至18中任一项所述的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段及其包装。

[0159] 实施方案28为一种产生Vβ17双特异性抗体或其抗原结合片段的方法,所述方法包括在产生所述Vβ17双特异性抗体或其抗原结合片段的条件下培养根据实施方案12所述的宿主细胞,以及从所述细胞或培养物回收所述Vβ17双特异性抗体或其抗原结合片段。

[0160] 实施方案29为一种产生根据实施方案14至18中任一项所述的抗Vβ17/抗CD123双

特异性抗体或其抗原结合片段的方法,所述方法包括在产生所述抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段的条件下培养根据实施方案22所述的宿主细胞,以及从所述细胞或培养物回收所述抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体或其抗原结合片段。

[0161] 实施方案30为一种分离的人源化Vβ17单克隆抗体或其抗原结合片段,所述Vβ17单克隆抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:28的氨基酸序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。

[0162] 实施方案31为根据实施方案30所述的分离的人源化Vβ17单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述Vβ17单克隆抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列。

[0163] 实施方案32为一种分离的核酸,所述分离的核酸编码根据实施方案30或实施方案31所述的人源化Vβ17单克隆抗体或其抗原结合片段。

[0164] 实施方案33为一种载体,所述载体包含根据实施方案32所述的分离的核酸。

[0165] 实施方案34为一种宿主细胞,所述宿主细胞包含根据实施方案33所述的载体。

[0166] 实施方案35为一种缓冲组合物,所述缓冲组合物包含根据实施方案30或实施方案31所述的分离的人源化Vβ17单克隆抗体或其抗原结合片段。

[0167] 实施例

[0168] 以下实施例基于这样的前提:源自流感病毒的肽M1能够扩增一组选择的T细胞。这些细胞表达TCR-单倍型-Vβ17,并且这些细胞中的大多数表现出肿瘤靶细胞的有效细胞毒性。然后使用双特异性抗体来利用这种能力,所述双特异性抗体被构建成使得一条臂与Vβ17结构结合,而另一条臂与由癌细胞表达的抗原结合。因此,所述双特异性抗体将效应细胞和靶细胞桥接在一起,从而导致癌细胞杀伤。这种作用机制在图1中概述的示意图中描述。

[0169] 随后的实施例可以被分成以下类别:(1)产生能够与CTL上的T细胞受体(TCR)的Vβ17臂结合的双特异性抗体(实施例1和实施例2);以及(2)由体外扩增的CTL进行的双特异性抗体启动的靶细胞杀伤的证据(实施例3)。

[0170] 实施例1:抗Vβ17 mAb E17.5F的人框架适应

[0171] 小鼠IgG1抗人T细胞受体Vβ17克隆E17.5F获自BeckmanCoulter,Inc.(Brea,CA)。样品制备和LC/MSMS分析在Protea Bioscience Inc.(Morgantown,WV)进行。将样品还原并烷基化,分成七份等分试样,用胰蛋白酶/LysC、胰凝乳蛋白酶、LysC、胃蛋白酶和AspN、弹性蛋白酶和蛋白酶K酶进行蛋白水解消化。使用ZipTip C18移液管末端将所得的肽脱盐,并且使用反相层析在线分离。在Thermo Q-Exactive质谱仪上使用HCD碎片化进行质谱分析。使用PEAKS软件,通过将从头序列标签与基于IMGT的抗体序列数据库进行匹配,来分析MS数据集。使用从头鉴定的肽的重叠群序列组装来指定序列中的空位。通过检查MS/MS谱确认所有的CDR和超突变。

[0172] 所获得的序列在表1和表2中示出。

[0173] 表1:TCR Vβ17克隆E17.5F的CDR序列

[0174]

抗体	HCDR1	SEQ ID NO:	HCDR2	SEQ ID NO:	HCDR3	SEQ ID NO:
E17.5F	GYSITSGYFWN	1	YISYDGSNN	2	PSPGTGYAVDY	3
抗体	LCDR1	SEQ ID NO:	LCDR2	SEQ ID NO:	LCDR3	SEQ ID NO:
E17.5F	RSSQSLVHSNGNTYLH	4	KVSNRFS	5	SQSTHVPFT	6

[0175] 表2:TCR Vb17克隆E17.5F的重链序列和轻链序列

[0176]

mAb ID	重链氨基酸序列	SEQ ID NO:
B17B01	NVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVAGYSITSGYFWNWIRQFPGN KLEWMGYISYDGSNNYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLNSVTTE DTATYYCASPSPGTGYAVDYWGQGTSVTVSSAKTTPPSVYPLAP GSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVL QSDLYTLSSSVTVPSSTWPSQTVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDC GCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISKDDPE VQFSWFVDDVEVHTAQTKPREEQINSTFRSVSELPIMHQDWLNG KEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTYGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKD KVSLTCMITNFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYF VYSKLNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK	7
	轻链氨基酸序列	SEQ ID NO:
B17B01	NVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQK PGQSPKFLIYKVSNRFSGVPDRFSGGGSGTEFTLKISRVEAEDLGV YFCSQSTHVPFTFGSGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGAS VVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYS MSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	8

[0177] 对序列进行改变以制备双特异性抗体(表3)。所述改变包括以下各项:(1)重链的框架突变Asn1不保守,因此该序列已被修饰成具有DVQLW序列;(2)在Fc中鉴定的另一个突变K337Y被认为是非特征性的,因此合成了没有该突变的构建体;以及(3)在重链上观察到一个潜在的二次糖基化位点,因此合成了具有和不具有N连接位点(N82a,基于Chothia编号)的两种型式的这种mAb。

[0178] 表3:Vβ17克隆E17.5F抗体变体的重链序列和轻链序列

[0179]

mAb ID	重链氨基酸序列	SEQ ID NO:
B17B1	NVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVAGYSITSGYFWNWIRQFPGN KLEWMGYISYDGSNNYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLNSVTTE DTATYYCASPSPGTGYAVDYWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESK YGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSLGK	9
B17B2	DVQLKESGPGLVKPSQSLSVTCSVTGYSITSGYYWNWYRQFPGN KLEWMGYISYDGSNNYNPSLKNRISITRDTSKNQILLKLTYVTTE DTATYYCTRPSPGTGYAVDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESK YGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSLGK	11
	轻链氨基酸序列	SEQ ID NO:
B17B1	NVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQK PGQSPKFLIYKVSNRFSGVPDRFSGGGSGTEFTLKISRVEAEDLGV YFCSQSTHVPFTFGSGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGAS VVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYS MSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	10
B17B2	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSLVHSNGNTYLHWYQQK PGQPPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAV YYCSQSTHVPFTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGAS VVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYS MSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	12

[0180] 这两种抗体(B17B1和B17B2)在HEK293Expi细胞中表达。测试上清液的Vβ17结合(B17B1和B17B2),只有B17B1显示结合。因此,B17B1被表达为具有带Fc置换的IgG4恒定区。

[0181] 使用人构架适应(HFA)方法将抗人TCR Vβ17小鼠mAb B17B1人源化(Fransson J等人,J.Mol.Biol.2010;398:214-231)。为了寻找人源化重链和轻链的最佳组合,选择了几种人V区序列进行测试(表4)。人种系的选择仅基于框架(FR)区中与小鼠抗体的总体序列相似性。在该选择中既不考虑CDR序列,也不考虑它们的长度或规范结构。

[0182] HFA中使用的CDR定义在(Fransson J等人,J.Mol.Biol.2010;398:214-231)中有所描述并且对应于Martin的定义(Abhinandan KR和Martin AC.,Mol.Immunol.2008;45:3832-3839)。CDR(表1)如下所述定义(使用Chothia编号方案[Chothia C和Lesk A.J.Mol.Biol.1987;196:901-917]):

[0183] HCDR1(SEQ ID NO:1) 26-35

[0184] HCDR2(SEQ ID NO:2) 50-58

[0185] HCDR3(SEQ ID NO:3) 95-102

[0186] LCDR1(SEQ ID NO:4) 24-34

[0187] LCDR2(SEQ ID NO:5) 50-56

[0188] LCDR3(SEQ ID NO:6) 89-97

[0189] 所选择的人种系在表4中提供(以IMGT符号)。

[0190] 表4:VH变体和VL变体

[0191]

Ab VH	序列	SEQ ID NO:
B17H1	NVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVAGYSITSGYFWNWIRQFPGNKLEWMG YISYDGSNNYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDTATYYCASPSPG TGYAVDYWGQGTSVTVSS	25
B17H3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITSGYFWNWVRQAPGKGLEWVS YISYDGSNNYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKPSP GTGYAVDYWGQGTLVTVSS	19
B17H4	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITSGYFWNWVRQAPGKGLEWVS YISYDGSNNYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPSPG TGYAVDYWGQGTLVTVSS	20
B17H5	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGYSITSGYFWNWIRQPPGKGLEWIGYIS YDGSNNYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASPSPGTGY AVDYWGQGTLVTVSS	21
Ab VL	序列	SEQ ID NO:
B17L1	NVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKFLI Y KVSNRFSGVPDRFSGGGSGTEFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHVPFTFGSGT KL EIK	26
B17L3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSQSLVHSNGNTYLHWYQQKPGKAPKLLI Y KVSNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCSQSTHVPFTFGQGTK L EIK	22
B17L4	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSQSLVHSNGNTYLHWYQQKPGKAPKFLI Y KVSNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCSQSTHVPFTFGQGTK L EIK	23
B17L5	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWFQQRPGQSPRFLI Y KVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPFTFGQGT KL EIK	24

[0192]

[0193] CDR 1至3标有下划线

[0194] 在已知对于VL/VH配对和CDR构象很重要的FR位置处引入几种变体中的“回复突变”。所选择的人种系在表5中提供(以IMGT符号),其中注明了回复突变。

[0195] 表5:所选的J区

[0196]

J区	序列	SEQ ID NO:
IGHJ1*01 HC	WGQGTLVTVSS	42
IGKJ2*01 LC	FGQGTKLEIK	43

[0197] 将三条重链和三条轻链的所有九个成对组合的氨基酸序列反向翻译成DNA,并且使用基因合成技术(美国专利号6,670,127、美国专利号6,521,427)制备cDNA。使用标准分子生物学技术,使用具有CMV启动子的内部表达载体将重链(HC)可变区亚克隆到人IgG4恒定区上。使用标准分子生物学技术,使用具有CMV启动子的内部表达载体将轻链(LC)可变区亚克隆到人λ恒定区上。将所得的质粒转染到HEK EXPI细胞(LifeTechnologies;Carlsbad,CA)中,并且表达mAb。通过使用蛋白A柱(hiTrapMAbSelect SuRe柱)的标准方法进行纯化。洗脱后,将收集物透析至D-PBS(pH 7.2)。

[0198] 表6:九种人源化Vβ17抗体的重链和轻链

[0199]

mAb	Hc	SEQ ID NO:	Lc	SEQ ID NO:	浓度(μg/mL)
B17B14	B17H3	19	B17L3	22	686.3
B17B15	B17H3	19	B17L4	23	13.8
B17B16	B17H3	19	B17L5	24	14.6
B17B17	B17H4	20	B17L3	22	335.1
B17B18	B17H4	20	B17L4	23	45.2
B17B19	B17H4	20	B17L5	24	27.5
B17B20	B17H5	21	B17L3	22	602.1
B17B21	B17H5	21	B17L4	23	570.9
B17B22	B17H5	21	B17L5	24	320.5

[0200] 通过ELISA筛选人源化抗体与TCRVβ17(SEQID NO:27)/Va10.2-Fc(SEQ ID NO:44)融合蛋白的结合。将生物素化的TCRVβ17/Va10.2-Fc融合蛋白添加到链霉抗生物素蛋白包被的ELISA板中。洗去未结合的蛋白质,并且以一系列浓度(0.01μg/mL至10μg/mL)添加mAb。洗涤板,并且添加抗κ:HRP检测抗体。洗涤板,添加化学发光检测试剂,并且在Perkin Elmer EnVision读板机上读取板的发光。B17B20和B17B21示出与TCR-Vβ17蛋白质的阳性结合。B17B22示出与该蛋白质的弱结合。然后如上所述纯化这些抗体以供进一步研究。B17B21证明与重组TCR-Vβ17蛋白质和M1刺激的T细胞的结合最好,因此被选择为供进一步的功能研究(尤其是作为双特异性抗体进行对癌细胞的T细胞重定向杀伤)的分子。

[0201] 因此,B17B21(抗Vβ17)和I3RB217(抗CD123抗体)的可变区序列用于产生双特异性抗体,该双特异性抗体将针对急性髓系白血病(AML)细胞的T细胞重定向杀伤进行测试。

[0202] 实施例2.抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体的制备

[0203] VB11(抗Vβ17/抗CD123)和VB13(Vβ17×Null)双特异性抗体以杵臼结构的形式作为全长抗体产生,得到人IgG4,如前所述(Atwell等人,J.Mol.Biol.270:26-35,1997)。使用基于克隆技术的标准PCR限制性酶将编码可变区的核酸序列亚克隆到含有IgG4表达盒恒定区的定制哺乳动物表达载体中。通过在中国仓鼠卵巢细胞系中瞬时转染来表达所述双特异性抗体。所述抗体最初通过Mab Select SuRe蛋白质A柱(GE healthcare,Piscataway,New Jersey)来纯化(Brown、Bottomley等人,1998)。用pH 7.2的磷酸盐缓冲盐水(PBS)来平衡柱,并且以2mL/min的流速将发酵上清液上样。上样后,将柱用PBS(4CV)洗涤,然后在pH 3.5

的30mM乙酸钠中洗脱。将含有蛋白质峰的级分合并在一起,并且通过添加1％的3M乙酸钠(pH 9.0)中和至pH 5.0,所述蛋白质峰通过Akta Explorer(GE healthcare)中280nm处的吸光度进行监测。作为精制步骤,在制备型尺寸排阻色谱(SEC)上使用Superdex 200柱(GE healthcare)将所述抗体纯化。通过内毒素测量和SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳在还原条件和非还原条件下评估样品的完整性。抗Vβ17/抗CD123的最终蛋白质浓度为0.48mg/ml,并且Vβ17×Null的最终蛋白质浓度为0.24mg/mL。基于这些蛋白质浓度,抗Vβ17/抗CD123和Vβ17×Null的最终EU水平分别为2.053EU/mg和4.219EU/mg。

[0204] 表7:在CHO细胞中表达的半抗体的序列

[0205]

mAb ID	“杵”臂和“臼”臂的氨基酸序列	SEQ ID NO:
B17B21（Vβ17半抗体）	MAWVWTLLFLMAAAQSIQADIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RSSQSLVHSNGNTYLHWYQQKPGKAPKFLIYKVSNRFSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCSQSTHVPFTFGQGTKLEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGSEGKSSGSGSESKSTEGKSS GSGSESKSTGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGYSITSG YFWNWIRQPPGKGLEWIGYISYDGSNNYNPSLKSRVTISRDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASPSPGTGYAVDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSS IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSLGK	28
I3RB217（CD123半抗体）	MAWVWTLLFLMAAAQSIQAEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCR ASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQDYGFPWTFGQGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGECGGSEGKSSGSGSESKSTEGKSSGSGS ESKSTGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIS WVRQMPGKGLEWMGIIDPSDSDTRYSPSFQGQVTISADKSIST	30

[0206]

	AYLQWSSLKASDTAMYYCARGDGSTDLDYWGQGTLVTVSSA STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKP SNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	
B23B49（Null半抗体）	MAWVWTLLFLMAAAQSIQAEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCR ASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQDYGFPWTFGQGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGECGGSEGKSSGSGSESKSTEGKSSGSGS ESKSTGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIS WVRQMPGKGLEWMGIIDPSDSDTRYSPSFQGQVTISADKSIST AYLQWSSLKASDTAMYYCARGDGSTDLDYWGQGTLVTVSSA STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKP SNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	
	半抗体DNA序列	
B17B21（Vβ17半抗体）	ATGGCCTGGGTGTGGACCCTGCTGTTCCTGATGGCCGCCGC CCAGAGCATCCAGGCCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCA AGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACCGCGTGACCATCAC CTGCCGCAGCAGCCAGAGCCTGGTGCACAGCAACGGCAAC ACCTACCTGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCAAGGCCCC AAAGTTCCTGATCTACAAGGTGAGCAACCGCTTCAGCGGCG TGCCAAGCCGCTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTC ACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCAGAGGACTTCGCCAC CTACTACTGCAGCCAGAGCACCCACGTGCCATTCACCTTCG GCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGCGCACCGTGGCCGC CCCAAGCGTGTTCATCTTCCCACCAAGCGACGAGCAGCTGA AGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTC TACCCACGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACG CCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCA GGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTG ACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACG CCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCAGTGACC AAGAGCTTCAACCGCGGCGAGTGCGGCGGCAGCGAGGGCA AGAGCAGCGGCAGCGGCAGCGAGAGCAAGAGCACCGAGGG CAAGAGCAGCGGCAGCGGCAGCGAGAGCAAGAGCACCGGC GGCAGCCAGGTGCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCAGGCCTGG TGAAGCCAAGCGAGACCCTGAGCCTGACCTGCACCGTGAGC	29

[0207]

	GGCTACAGCATCACCAGCGGCTACTTCTGGAACTGGATCCG CCAGCCACCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGATCGGCTACATCA GCTACGACGGCAGCAACAACTACAACCCAAGCCTGAAGAG CCGCGTGACCATCAGCCGCGACACCAGCAAGAACCAGTTCA GCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACCGCCGCCGACACCGCCGTG TACTACTGCGCCAGCCCAAGCCCAGGCACCGGCTACGCCGT GGACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGAGCAGC GCCAGCACCAAGGGCCCAAGCGTGTTCCCACTGGCCCCATG CAGCCGCAGCACCAGCGAGAGCACCGCCGCCCTGGGCTGCC TGGTGAAGGACTACTTCCCAGAGCCAGTGACCGTGAGCTGG AACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCAGC CGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGG TGACCGTGCCAAGCAGCAGCCTGGGCACCAAGACCTACACC TGCAACGTGGACCACAAGCCAAGCAACACCAAGGTGGACA AGCGCGTGGAGAGCAAGTACGGCCCACCATGCCCACCATGC CCAGCCCCAGAGGCCGCCGGCGGCCCAAGCGTGTTCCTGTT CCCACCAAAGCCAAAGGACACCCTGATGATCAGCCGCACCC CAGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAGGA CCCAGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGG TGCACAACGCCAAGACCAAGCCACGCGAGGAGCAGTTCAA CAGCACCTACCGCGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCACC AGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGAG CAACAAGGGCCTGCCAAGCAGCATCGAGAAGACCATCAGC AAGGCCAAGGGCCAGCCACGCGAGCCACAGGTGTACACCC TGCCACCAAGCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAG CCTGAGCTGCGCCGTGAAGGGCTTCTACCCAAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCAGAGAACAACTA CAAGACCACCCCACCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCT TCCTGGTGAGCCGCCTGACCGTGGACAAGAGCCGCTGGCAG GAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCT GCACAACCGCTTCACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGAGCCTGG GCAAGATGGCCTGGGTGTGGACCCTGCTGTTCCTGATGGCC GCCGCCCAGAGCATCCAGGCCGACATCCAGATGACCCAGA GCCCAAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACCGCGTGAC CATCACCTGCCGCAGCAGCCAGAGCCTGGTGCACAGCAACG GCAACACCTACCTGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCAA GGCCCCAAAGTTCCTGATCTACAAGGTGAGCAACCGCTTCA GCGGCGTGCCAAGCCGCTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCAC CGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCAGAGGACT TCGCCACCTACTACTGCAGCCAGAGCACCCACGTGCCATTC ACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGCGCACCGT GGCCGCCCCAAGCGTGTTCATCTTCCCACCAAGCGACGAGC AGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAAC AACTTCTACCCACGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGG ACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGAC CGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGC ACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGG TGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCA GTGACCAAGAGCTTCAACCGCGGCGAGTGCGGCGGCAGCG	

[0208]

	AGGGCAAGAGCAGCGGCAGCGGCAGCGAGAGCAAGAGCAC CGAGGGCAAGAGCAGCGGCAGCGGCAGCGAGAGCAAGAGC ACCGGCGGCAGCCAGGTGCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCAG GCCTGGTGAAGCCAAGCGAGACCCTGAGCCTGACCTGCACC GTGAGCGGCTACAGCATCACCAGCGGCTACTTCTGGAACTG GATCCGCCAGCCACCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGATCGGCT ACATCAGCTACGACGGCAGCAACAACTACAACCCAAGCCTG AAGAGCCGCGTGACCATCAGCCGCGACACCAGCAAGAACC AGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACCGCCGCCGACACC GCCGTGTACTACTGCGCCAGCCCAAGCCCAGGCACCGGCTA CGCCGTGGACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGA GCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCAAGCGTGTTCCCACTGGCC CCATGCAGCCGCAGCACCAGCGAGAGCACCGCCGCCCTGG GCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCAGAGCCAGTGACCGTG AGCTGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTT CCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCA GCGTGGTGACCGTGCCAAGCAGCAGCCTGGGCACCAAGAC CTACACCTGCAACGTGGACCACAAGCCAAGCAACACCAAG GTGGACAAGCGCGTGGAGAGCAAGTACGGCCCACCATGCC CACCATGCCCAGCCCCAGAGGCCGCCGGCGGCCCAAGCGTG TTCCTGTTCCCACCAAAGCCAAAGGACACCCTGATGATCAG CCGCACCCCAGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC AGGAGGACCCAGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGACGG CGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCACGCGAGGAG CAGTTCAACAGCACCTACCGCGTGGTGAGCGTGCTGACCGT GCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGC AAGGTGAGCAACAAGGGCCTGCCAAGCAGCATCGAGAAGA CCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGCGAGCCACAGGT GTACACCCTGCCACCAAGCCAGGAGGAGATGACCAAGAAC CAGGTGAGCCTGAGCTGCGCCGTGAAGGGCTTCTACCCAAG CGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCAGAG AACAACTACAAGACCACCCCACCAGTGCTGGACAGCGACG GCAGCTTCTTCCTGGTGAGCCGCCTGACCGTGGACAAGAGC CGCTGGCAGGAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCA CGAGGCCCTGCACAACCGCTTCACCCAGAAGAGCCTGAGCC TGAGCCTGGGCAAGTGATAG	
I3RB217（CD123半抗体）	ATGGCCTGGGTGTGGACCCTGCTGTTCCTGATGGCCGCCGC CCAGAGCATCCAGGCCGAGATCGTGCTGACCCAGAGCCCAG GCACCCTGAGCCTGAGCCCAGGCGAGCGCGCCACCCTGAGC TGCCGCGCCAGCCAGAGCGTGAGCAGCAGCTACCTGGCCTG GTACCAGCAGAAGCCAGGCCAGGCCCCACGCCTGCTGATCT ACGGCGCCAGCAGCCGCGCCACCGGCATCCCAGACCGCTTC AGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAG CCGCCTGGAGCCAGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGC AGGACTACGGCTTCCCATGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAG GTGGAGATCAAGCGCACCGTGGCCGCCCCAAGCGTGTTCAT CTTCCCACCAAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCC AGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCACGCGAGGC CAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGC	31

[0209]

	AACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACA GCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCC GACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCC ACCAGGGCCTGAGCAGCCCAGTGACCAAGAGCTTCAACCGC GGCGAGTGCggcggcagcgagggcaagagcagcggcagcggcagcgagagcaaga gcaccgagggcaagagcagcggcagcggcagcgagagcaagagcaccggcggcagcGA GGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCA GGCGAGAGCCTGAAGATCAGCTGCAAGGGCAGCGGCTACA GCTTCACCAGCTACTGGATCAGCTGGGTGCGCCAGATGCCA GGCAAGGGCCTGGAGTGGATGGGCATCATCGACCCAAGCG ACAGCGACACCCGCTACAGCCCAAGCTTCCAGGGCCAGGTG ACCATCAGCGCCGACAAGAGCATCAGCACCGCCTACCTGCA GTGGAGCAGCCTGAAGGCCAGCGACACCGCCATGTACTACT GCGCCCGCGGCGACGGCAGCACCGACCTGGACTACTGGGG CCAGGGCACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCACCAAG GGCCCAAGCGTGTTCCCACTGGCCCCATGCAGCCGCAGCAC CAGCGAGAGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACT ACTTCCCAGAGCCAGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCC CTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCAGCCGTGCTGCAGAG CAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCAA GCAGCAGCCTGGGCACCAAGACCTACACCTGCAACGTGGAC CACAAGCCAAGCAACACCAAGGTGGACAAGCGCGTGGAGA GCAAGTACGGCCCACCATGCCCACCATGCCCAGCCCCAGAG GCCGCCGGCGGCCCAAGCGTGTTCCTGTTCCCACCAAAGCC AAAGGACACCCTGATGATCAGCCGCACCCCAGAGGTGACCT GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAGGACCCAGAGGTGCA GTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCA AGACCAAGCCACGCGAGGAGCAGTTCAACAGCACCTACCG CGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGA ACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGGCCT GCCAAGCAGCATCGAGAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGC CAGCCACGCGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCACCAAGCCA GGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGTGGTGCCTG GTGAAGGGCTTCTACCCAAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGA GAGCAACGGCCAGCCAGAGAACAACTACAAGACCACCCCA CCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCCG CCTGACCGTGGACAAGAGCCGCTGGCAGGAGGGCAACGTG TTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTA CACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGAGCCTGGGCAAG	
B23B4 9（Null 半抗体）	ATGGCCTGGGTGTGGACCCTGCTGTTCCTGATGGCCGCCGC CCAGAGCATCCAGGCCGACATCGTGATGACCCAGAGCCCAG ACAGCCTGGCCGTGAGCCTGGGCGAGCGCGCCACCATCAAC TGCCGCGCCAGCCAGAGCGTGGACTACAACGGCATCAGCTA CATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCCAGCCACCAAAG CTGCTGATCTACGCCGCCAGCAACCCAGAGAGCGGCGTGCC AGACCGCTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCC TGACCATCAGCAGCCTGCAGGCCGAGGACGTGGCCGTGTAC TACTGCCAGCAGATCATCGAGGACCCATGGACCTTCGGCCA GGGCACCAAGGTGGAGATCAAGCGCACCGTGGCCGCCCCA	

[0210]

	AGCGTGTTCATCTTCCCACCAAGCGACGAGCAGCTGAAGAG CGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACC CACGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCT GCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGAC AGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCT GAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGC GAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCCAGTGACCAAGA GCTTCAACCGCGGCGAGTGCGGCGGCAGCGAGGGCAAGAG CAGCGGCAGCGGCAGCGAGAGCAAGAGCACCGAGGGCAAG AGCAGCGGCAGCGGCAGCGAGAGCAAGAGCACCGGCGGCA GCCAGATCACCCTGAAGGAGAGCGGCCCAACCCTGGTGAA GCCAACCCAGACCCTGACCCTGACCTGCACCTTCAGCGGCT TCAGCCTGAGCACCAGCGGCATGGGCGTGAGCTGGATCCGC CAGCCACCAGGCAAGGCCCTGGAGTGGCTGGCCCACATCTA CTGGGACGACGACAAGCGCTACAACCCAAGCCTGAAGAGC CGCCTGACCATCACCAAGGACACCAGCAAGAACCAGGTGG TGCTGACCATGACCAACATGGACCCAGTGGACACCGCCACC TACTACTGCGCCCGCCTGTACGGCTTCACCTACGGCTTCGCC TACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGCCAG CACCAAGGGCCCAAGCGTGTTCCCACTGGCCCCATGCAGCC GCAGCACCAGCGAGAGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTG AAGGACTACTTCCCAGAGCCAGTGACCGTGAGCTGGAACAG CGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCAGCCGTGC TGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACC GTGCCAAGCAGCAGCCTGGGCACCAAGACCTACACCTGCAA CGTGGACCACAAGCCAAGCAACACCAAGGTGGACAAGCGC GTGGAGAGCAAGTACGGCCCACCATGCCCACCATGCCCAGC CCCAGAGGCCGCCGGCGGCCCAAGCGTGTTCCTGTTCCCAC CAAAGCCAAAGGACACCCTGATGATCAGCCGCACCCCAGA GGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAGGACCCA GAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCA CAACGCCAAGACCAAGCCACGCGAGGAGCAGTTCAACAGC ACCTACCGCGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGA CTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGAGCAAC AAGGGCCTGCCAAGCAGCATCGAGAAGACCATCAGCAAGG CCAAGGGCCAGCCACGCGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCA CCAAGCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGT GGTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCAAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCAGAGAACAACTACAAGA CCACCCCACCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTG TACAGCCGCCTGACCGTGGACAAGAGCCGCTGGCAGGAGG GCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCAC AACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGAGCCTGGGCA AG	

[0211] 表8:Vβ17双特异性抗体的重链序列和轻链序列

[0212]

双特异性抗体		氨基酸序列
抗 Vβ17/抗 CD123	重链 1 B17B21（SEQ ID NO: 13）	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGYSITSGYFW NWIRQPPGKGLEWIGYISYDGSNNYNPSLKSRVTI SRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASPSPGTG YAVDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDH KPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSRLTV DKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSLG K	
	轻链 1 B17B21（SEQ ID NO: 14）	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSQSLVHSNGN TYLHWYQQKPGKAPKFLIYKVSNRFSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCSQSTHVPFTFGQ GTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
	重链 2 I3RB217（SEQ ID NO: 15）	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIS WVRQMPGKGLEWMGIIDPSDSDTRYSPSFQGQVT ISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARGDGST DLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSE STAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKP SNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG K	
	轻链 2 I3RB217（SEQ ID NO: 16）	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYCQQDYGFPWTFGQGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST YSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
Vβ17 x Null	重链 1 B17B21（SEQ ID NO: 13）	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGYSITSGYFW NWIRQPPGKGLEWIGYISYDGSNNYNPSLKSRVTI SRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASPSPGTG YAVDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT

[0213]

		FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDH KPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSRLTV DKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSLG K
	轻链 1 B17B21（SEQ ID NO: 14）	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSQSLVHSNGN TYLHWYQQKPGKAPKFLIYKVSNRFSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCSQSTHVPFTFGQ GTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
	重链 2 Null（SEQ ID NO: 17）	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGMGV SWIRQPPGKALEWLAHIYWDDDKRYNPSLKSRLT ITKDTSKNQVVLTMTNMDPVDTATYYCARLYGF TYGFAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVD HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS LGK
	轻链 2 Null（SEQ ID NO: 18）	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVDYNGIS YMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNPESGVPDRFSGS GSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQIIEDPWTFGQ GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC

[0214] 实施例3.使用Kasumi-3细胞和人$CD8^+$ T细胞评价抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体的结合特性和细胞毒性特性

[0215] 刺激和扩增来自总PBMC的$V\beta17^+CD8^+$ T细胞

[0216] 为了扩增$V\beta17^+CD8^+$ T细胞,用1μg/mL流感MP 58肽(DMSO中)刺激来自HLA-A2供体(HPU-08694)的完整PBMC。在培养期的第8天和第14天,测定总体$CD8^+$ T细胞中$V\beta17^+$细胞的频率。为了对总体$CD8^+$ T细胞中$V\beta17^+$细胞的频率进行计数,首先对总体活PBMC进行门控,排除双峰,对总体$CD8^+$ T细胞进行门控,然后对$V\beta17^+$细胞进行门控(图3A)。与第0天总体$CD8^+$ T细胞中$V\beta17^+$细胞的频率相比,在培养期的第8天观察到这些细胞的显著扩增(图3B)。在第8天,$CD8^+$ T细胞中的较大部分是该供体中的$V\beta17^+$细胞(图3B)。

[0217] 抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体结合测定

[0218] 有关Kasumi-3细胞

[0219] 为了理解抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体的结合动力学,将Kasumi-3细胞与各种浓度(浓度范围从5μg/mL至0μg/mL)的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体和Vβ17XNULL臂对照一起温育。用小鼠抗人IgG4 Fc-PE二抗检测细胞结合的双特异性抗体。表9示出了当用不同浓度的双特异性抗体处理时,对PE(二抗)阳性的Kasumi-3细胞的频率。抗Vβ17/抗CD123和NULLXCD123的EC_{50}分别被确定为6nM和42.7nM(表9)。

[0220] 表9:双特异性抗体对Kasumi-3细胞的结合亲和力

[0221]

浓度（ug/mL）	抗 Vβ17/抗 CD123	Vβ17XNULL	NULLXCD123
5	87.37	-0.02	47.47
1.667	74.37	0.09	16.37
0.556	24.07	0.15	1.2
0.185	1.65	0.35	0.31
0.062	0.32	0.12	0.04
0.021	0.16	0.14	0.05
0.007	0.23	0.19	-0.06
0.002	0.04	-0.09	-0.04
0.001	0.09	0	-0.18
EC_{50}（μg/mL）	0.9	ND	6.4
EC_{50}（nM）	6	ND	42.7

[0222] 通过流式细胞术测定双特异性抗体对Kasumi-3细胞的结合亲和力。半最大有效浓度(EC_{50})值被计算为产生50％最大结合(PE阳性细胞)的双特异性浓度。ND:未测定。

[0223] 关于富集的$CD8^+$ T细胞

[0224] 将富集的用流感MP 58肽刺激的$CD8^+$ T细胞(来自第14天的培养物)与各种浓度的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体和Vβ17XNULL臂对照抗体一起温育。使用小鼠抗人IgG4 Fc-PE二抗来检测所述双特异性抗体。表10示出了当用不同浓度的双特异性抗体处理时,对PE(二抗)阳性的$CD8^+$ T细胞的频率。抗Vβ17/抗CD123和Vβ17XNULL的EC_{50}分别被确定为9.0nM和18.7nM(表10)。

[0225] 表10:双特异性抗体对$CD8^+$ T细胞的结合活性

[0226]

浓度（μg/mL）	抗 Vβ17/抗 CD123	Vβ17XNULL	NULLXCD123
20	74.7	76.2	0.1
10	72.4	75.4	0.4
5	70.8	64.6	0.3
2.5	64.8	42.5	0.5
1.25	38.0	32.4	0.4
0.625	41.4	21.7	-0.1
0.3125	26.5	11.8	0.8
0.15625	19.9	3.4	0.6
0.078125	10.8	1.8	0.7
EC_{50}（μg/mL）	1.35	2.80	ND
EC_{50}（nM）	9	18.7	ND

[0227] 通过流式细胞术测定双特异性抗体对$CD8^+$ T细胞的结合亲和力。半最大有效浓度(EC_{50})值被计算为产生50％最大结合(PE阳性细胞)的抗体浓度。ND:未测定

[0228] 双特异性介导的细胞毒性测定

[0229] 为了分析抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体介导的细胞毒性的效能,从培养的第14天起,将CFSE标记的靶(Kasumi-3)细胞与刺激过的$CD8^+$ T细胞(效应物)以0.5:1、1:1、5:1的效应物与靶标(E:T)比与各种浓度的抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体和Vβ17XNULL臂对照抗体一起共培养14小时和24小时。通过使用可商购获得的抗CD123抗体来检查靶Kasumi-3细胞上的CD123表达。用CFSE标记靶细胞(Kasumi-3),以便在流式细胞术分析期间将它们鉴定为$CFSE^+$。共培养期后,添加7-AAD以分析$7\text{-}AAD^+CFSE^+$细胞的百分比,作为细胞毒性的量度。减去在不存在双特异性抗体的情况下观察到的基础细胞毒性,以获得响应于双特异性抗体的特异性细胞毒性。用单个供体(HPU-08694)进行一次测定。抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体在采用0.5:1、1:1和5:1的ET比的情况下,在14小时的时间点的EC_{50}分别为3.7pM、0.1pM和0.133pM(表11)。

[0230] 表11:将流感MP 58肽刺激过的$CD8^+$ T细胞与Kasumi-3细胞以0.5:1、1:1和5:1的ET比共培养14小时后,各种双特异性抗体的EC_{50}值的汇总。

[0231]

双特异性抗体	EC_{50} (ng/mL)		
	E:T 比 (0.5:1)	E:T 比 (1:1)	E:T 比 (5:1)
NULLXCD123	UD	UD	UD
Vβ17XNULL	UD	UD	UD
抗 Vβ17/抗 CD123	0.55	0.015	0.02

[0232]

双特异性抗体	EC_{50} (pM)		
	E:T 比 (0.5:1)	E:T 比 (1:1)	E:T 比 (5:1)
NULLXCD123	UD	UD	UD
Vβ17XNULL	UD	UD	UD
抗 Vβ17/抗 CD123	3.7	0.1	0.133

[0233] UD:不可检测,因为活性对于正确的曲线拟合来说太低。

[0234] 抗Vβ17/抗CD123双特异性抗体在采用0.5:1、1:1和5:1的ET比的情况下,在24小时的时间点的EC_{50}分别为0.4pM、0.2pM和1.0pM(表12)。

[0235] 表12:将流感MP 58肽刺激过的$CD8^+$ T细胞与Kasumi-3细胞以0.5:1、1:1和5:1的ET比共培养24小时后,各种双特异性抗体的EC_{50}值的汇总。

[0236]

双特异性抗体	EC_{50} (ng/mL)		
	E:T 比 (0.5:1)	E:T 比 (1:1)	E:T 比 (5:1)
NULLXCD123	UD	UD	UD
Vβ17XNULL	UD	UD	UD
抗 Vβ17/抗 CD123	0.06	0.03	0.15

[0237]

双特异性抗体	EC_{50} (pM)

[0238]

	E:T 比（0.5:1）	E:T 比（1:1）	E:T 比（5:1）
NULLXCD123	UD	UD	UD
Vβ17XNULL	UD	UD	UD
抗 Vβ17/抗 CD123	0.4	0.2	1.0

[0239] UD:不可检测

[0240] 类似地,以ET比0.5:1、1:1、5:1培养14小时(表13)和24小时(表14),测试了抗Vβ17/抗CD123双特异性介导的未刺激过的$CD8^+$ T细胞的细胞毒性。在5ng/ml的抗Vβ17/抗CD123双特异性浓度下和14小时的时间点处,采用0.5:1和1:1的ET比的未刺激过的$CD8^+$ T细胞分别示出2.8%和9.8%的靶细胞细胞毒性(表13),相比之下,刺激过的$CD8^+$ T细胞示出77%和73%的细胞毒性。采用5:1的ET比时,未刺激过的$CD8^+$T细胞表现出31.65%的靶细胞毒性,相比之下,刺激过的$CD8^+$ T细胞表现出70.9%的靶细胞毒性。从24小时的时间点获得类似的结果(表12、表15、表16和表17)。在所测试的最高浓度(5ng/ml)的抗Vβ17/抗CD123双特异性下,未刺激过的$CD8^+$ T细胞在采用较高的ET比时对靶细胞表现出较高的细胞毒性。

[0241] 表13:采用各种ET比将未刺激过的$CD8^+$ T细胞培养14小时的细胞毒性测定。当用不同浓度的双特异性抗体处理时,CFSE阳性细胞和7-AAD阳性细胞的频率。

[0242]

双特异性抗体	浓度（ng/mL）	E:T 比（0.5:1）	E:T 比（1:1）	E:T 比（5:1）
NULLXCD123	5	1.3	-0.6	-0.45
	0.005	1.3	-0.5	0.45
Vβ17XNULL	5	-0.6	-0.8	3.25
	0.005	-0.3	1	-1.35
抗 Vβ17/抗 CD123	5	2.8	9.8	31.65
	0.005	0.1	3.2	12.25

[0243] 表14:采用各种ET比将未刺激过的$CD8^+$ T细胞培养24小时的细胞毒性测定。当用不同浓度的双特异性抗体处理时,CFSE阳性细胞和7-AAD阳性细胞的频率。

[0244]

未刺激过的 CD8+ T 细胞				
	浓度（ng/mL）	E:T 比（0.5:1）	E:T 比（1:1）	E:T 比（5:1）
NULLXCD123	5	-1.3	-0.55	-4.85
	0.005	-2	-0.85	-2.95
Vβ17XNULL	5	-0.8	-1.35	10.85
	0.005	-1	-1.05	-1.95
抗 Vβ17/抗 CD123	5	4.8	11.55	30.65
	0.005	1.5	1.75	10.95

[0245] 表15:在采用0.5:1ET比(刺激过的$CD8^+$T细胞:Kasumi-3细胞)的情况下,温育14小时后的细胞毒性测定。当用不同浓度的双特异性抗体以0.5:1ET比处理14小时时,CFSE阳性细胞和7-AAD阳性细胞的频率。

[0246]

浓度（ng/mL）	NULLXCD123	Vβ17XNULL	抗 Vβ17/抗 CD123
50	3.47	2.57	77.07
5	2.67	2.17	77.47
0.5	-0.73	1.87	46.77
0.05	0.77	1.67	3.77
0.005	-0.03	1.47	1.97
0.0005	0.67	1.07	2.17
0.00005	1.67	0.17	0.17
0.000005	-0.43	3.27	0.87
EC_{50}（ng/mL）	ND	ND	0.55
EC_{50}（pM）	ND	ND	3.7

[0247] 半最大有效浓度(EC_{50})值被计算为产生50％最大细胞毒性($CFSE^+7AAD^+$)细胞的抗体浓度。ND:未测定。

[0248] 表16:在采用1:1ET比(刺激过的$CD8^+$ T细胞:Kasumi-3细胞)的情况下,温育14小时后的细胞毒性测定。当用不同浓度的双特异性抗体以1:1ET比处理14小时时,CFSE阳性细胞和7-AAD阳性细胞的频率。

[0249]

浓度（ng/mL）	NULLXCD123	Vβ17XNULL	抗 Vβ17/抗 CD123
50	0.6	-0.5	76.0
5	0.1	0.9	73.0
0.5	1.0	0.9	77.9
0.05	0.4	1.8	59.4
0.005	1.8	0.9	36.8

[0250]

0.0005	0.9	1.1	18.0
0.00005	0.7	0.9	6.1
0.000005	1.6	0.8	1.9
EC_{50}（ng/mL）	ND	ND	0.015
EC_{50}（pM）	ND	ND	0.1

[0251] 半最大有效浓度(EC_{50})值被计算为产生50％最大细胞毒性($CFSE^+7AAD^+$)细胞的抗体浓度。ND:未测定

[0252] 表17:在采用5:1E:T比(刺激过的$CD8^+$T细胞:Kasumi-3细胞)的情况下,温育14小时后的细胞毒性测定。当用不同浓度的双特异性抗体以5:1ET比处理14小时时,CFSE阳性细胞和7-AAD阳性细胞的频率。

[0253]

浓度（ng/mL）	NULLXCD123	Vβ17XNULL	抗 Vβ17/抗 CD123
50	2.3	0.0	70.2
5	3.1	2.7	70.9
0.5	1.8	4.4	74.5
0.05	3.0	1.5	73.2
0.005	2.1	1.6	2.5
0.0005	2.9	3.5	1.4
0.00005	3.2	5.5	2.5
0.000005	4.1	4.4	4.8
EC_{50}（ng/mL）	UD	UD	0.02
EC_{50}（pM）	UD	UD	0.13

[0254] 半最大有效浓度(EC_{50})值被计算为产生50％最大细胞毒性($CFSE^{+}7AAD^{+}$)细胞的抗体浓度。UD:不可检测。

[0255] 本领域的技术人员应当理解,在不脱离本发明的广义的发明构思的情况下,可对上述实施方案作出修改。因此,应当理解,本发明不局限于所公开的特定实施方案,但本发明旨在涵盖在本发明实质和范围内的修改,如本说明书所定义。

[0256]

SEQ ID NO:	类型	物种	说明	序列
1	PRT	小鼠	B17B01-HCDR1	GYSITSGYFWN
2	PRT	小鼠	B12B01-HCDR2	YISYDGSNN

[0257]

3	PRT	小鼠	B12B01-HCDR2	PSPGTGYAVDY
4	PRT	小鼠	B17B01-LCDR1	RSSQSLVHSNGNTYLH
5	PRT	小鼠	B12B01-LCDR2	KVSNRFS
6	PRT	小鼠	B12B01-LCDR2	SQSTHVPFT
7	PRT	小鼠	B17B01-HC	NVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVAGYSITS GYFWNWIRQFPGNKLEWMGYISYDGSNNY NPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDTA TYYCASPSPGTGYAVDYWGQGTSVTVSSA KTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKG YFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLY TLSSSVTVPSSTWPSQTVTCNVAHPASSTKV DKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPK DVLTITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFV DDVEVHTAQTKPREEQINSTFRSVSELPIMH QDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTYG RPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITNF FPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDG SYFVYSKLNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGL HNHHTEKSLSHSPGK
8	PRT	小鼠	B17B01-LC	NVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVH SNGNTYLHWYLQKPGQSPKFLIYKVSNRFS GVPDRFSGGGSGTEFTLKISRVEAEDLGVYF CSQSTHVPFTFGSGTKLEIKRADAAPTVSIFP PSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKI DGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLT LTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNR NEC
9	PRT	小鼠	B17B1-HC	NVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVAGYSITS GYFWNWIRQFPGNKLEWMGYISYDGSNNY NPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDTA TYYCASPSPGTGYAVDYWGQGTSVTVSSAS TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKV DKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
10	PRT	小鼠	B17B1-LC	NVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVH SNGNTYLHWYLQKPGQSPKFLIYKVSNRFS GVPDRFSGGGSGTEFTLKISRVEAEDLGVYF

[0258]

				CSQSTHVPFTFGSGTKLEIKRADAAPTVSIFP PSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKI DGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLT LTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNR NEC
11	PRT	小鼠	B17B2-HC	DVQLKESGPGLVKPSQSLSVTCSVTGYSITS GYYWNWYRQFPGNKLEWMGYISYDGSNN YNPSLKNRISITRDTSKNQILLKLTYVTTEDT ATYYCTRPSPGTGYAVDYWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTK VDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
12	PRT	小鼠	B17B2-LC	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSLVH SNGNTYLHWYQQKPGQPPKLLIYKVSNRFS GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYY CSQSTHVPFTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFP PSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKI DGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLT LTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNR NEC
13	PRT	人工合成	B17B21-HC	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGYSITS GYFWNWIRQPPGKGLEWIGYISYDGSNNYN PSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCASPSPGTGYAVDYWGQGTLVTVSSA STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKV DKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLVSRLTVDKSRWQEGNVFSC SVMHEALHNRFTQKSLSLSLGK
14	PRT	人工合成	B17B21-LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSQSLVHS NGNTYLHWYQQKPGKAPKFLIYKVSNRFSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCS QSTHVPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL

[0259]

				SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
15	PRT	人	I3RB217-HC	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTS YWISWVRQMPGKGLEWMGIIDPSDSDTRYS PSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTA MYYCARGDGSTDLDYWGQGTLVTVSSAST KGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKV DKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
16	PRT	人	I3RB217-LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSS YLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDR FSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQDY GFPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C
17	PRT	人	Null-HC	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTS GMGVSWIRQPPGKALEWLAHIYWDDDKRY NPSLKSRLTITKDTSKNQVVLTMTNMDPVD TATYYCARLYGFTYGFAYWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTK VDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
18	PRT	人	Null-LC	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVDY NGISYMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNPESG VPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC QQIIEDPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC
19	PRT	人工合	B17H3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITS

[0260]

		成		GYFWNWVRQAPGKGLEWVSYISYDGSNNY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKPSPGTGYAVDYWGQGTLVTVS
20	PRT	人工合成	B17H4	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITS GYFWNWVRQAPGKGLEWVSYISYDGSNNY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCASPSPGTGYAVDYWGQGTLVTVS S
21	PRT	人工合成	B17H5	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGYSITS GYFWNWIRQPPGKGLEWIGYISYDGSNNYN PSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCASPSPGTGYAVDYWGQGTLVTVSS
22	PRT	人工合成	B17L3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSQSLVHS NGNTYLHWYQQKPGKAPKLLIYKVSNRFSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCS QSTHVPFTFGQGTKLEIK
23	PRT	人工合成	B17L4	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSQSLVHS NGNTYLHWYQQKPGKAPKFLIYKVSNRFSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCS QSTHVPFTFGQGTKLEIK
24	PRT	人工合成	B17L5	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVH SNGNTYLHWFQQRPGQSPRFLIYKVSNRFS GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY CSQSTHVPFTFGQGTKLEIK
25	PRT	人工合成	B17H1	NVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVAGYSITS GYFWNWIRQFPGNKLEWMGYISYDGSNNY NPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDTA TYYCASPSPGTGYAVDYWGQGTSVTVSS
26	PRT	人工合成	B17L1	NVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVH SNGNTYLHWYLQKPGQSPKFLIYKVSNRFS GVPDRFSGGGSGTEFTLKISRVEAEDLGVYF CSQSTHVPFTFGSGTKLEIK
27	PRT	人	TCR-Vβ17	MAWVWTLLFLMAAAQSIQAVDGGITQSPK YLFRKEGQNVTLSCEQNLNHDAMYWYRQD PGQGLRLIYYSQIVNDFQKGDIAEGYSVSRE KKESFPLTVTSAQKNPTAFYLCASSSRSSYE QYFGPGTRLTVTEDLKNVFPPEVAVFEPSEA EISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSWWVNG KEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYSLSSRL RVSATFWQNPRNHFRCQVQFYGLSENDEW TQDRAKPVTQIVSAEAWGRADepkscdkthtcpp cpapeLLggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvDvshedpe vkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlng keykckvsnkalpapiektiskakgqprepqvyVlppsreemtk nqvslLclvkgfypsdiavewesngqpennyLtWppvldsdg

[0261]

				sfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspg
28	PRT	人工合成	B17B21半抗体	MAWVWTLLFLMAAAQSIQADIQMTQSPSSL SASVGDRVTITCRSSQSLVHSNGNTYLHWY QQKPGKAPKFLIYKVSNRFSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCSQSTHVPFTFG QGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGSEGKS SGSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGSQVQL QESGPGLVKPSETLSLTCTVSGYSITSGYFW NWIRQPPGKGLEWIGYISYDGSNNYNPSLKS RVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA SPSPGTGYAVDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLSCAV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLVSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNRFTQKSLSLSLGK
29	DNA	人工合成	B17B21半抗体	ATGGCCTGGGTGTGGACCCTGCTGTTCCT GATGGCCGCCGCCCAGAGCATCCAGGCCG ACATCCAGATGACCCAGAGCCCAAGCAGC CTGAGCGCCAGCGTGGGCGACCGCGTGAC CATCACCTGCCGCAGCAGCCAGAGCCTGG TGCACAGCAACGGCAACACCTACCTGCAC TGGTACCAGCAGAAGCCAGGCAAGGCCCC AAAGTTCCTGATCTACAAGGTGAGCAACC GCTTCAGCGGCGTGCCAAGCCGCTTCAGC GGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCT GACCATCAGCAGCCTGCAGCCAGAGGACT TCGCCACCTACTACTGCAGCCAGAGCACC CACGTGCCATTCACCTTCGGCCAGGGCAC CAAGCTGGAGATCAAGCGCACCGTGGCCG CCCCAAGCGTGTTCATCTTCCCACCAAGC GACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCA GCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTAC CCACGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGG TGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGC CAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCA AGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACC CTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAA GCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCC ACCAGGGCCTGAGCAGCCCAGTGACCAAG

[0262]

				AGCTTCAACCGCGGCGAGTGCGGCGGCAG CGAGGGCAAGAGCAGCGGCAGCGGCAGC GAGAGCAAGAGCACCGAGGGCAAGAGCA GCGGCAGCGGCAGCGAGAGCAAGAGCAC CGGCGGCAGCCAGGTGCAGCTGCAGGAG AGCGGCCCAGGCCTGGTGAAGCCAAGCG AGACCCTGAGCCTGACCTGCACCGTGAGC GGCTACAGCATCACCAGCGGCTACTTCTG GAACTGGATCCGCCAGCCACCAGGCAAGG GCCTGGAGTGGATCGGCTACATCAGCTAC GACGGCAGCAACAACTACAACCCAAGCCT GAAGAGCCGCGTGACCATCAGCCGCGACA CCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTG AGCAGCGTGACCGCCGCCGACACCGCCGT GTACTACTGCGCCAGCCCAAGCCCAGGCA CCGGCTACGCCGTGGACTACTGGGGCCAG GGCACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGCCAG CACCAAGGGCCCAAGCGTGTTCCCACTGG CCCCATGCAGCCGCAGCACCAGCGAGAGC ACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGA CTACTTCCCAGAGCCAGTGACCGTGAGCT GGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTG CACACCTTCCCAGCCGTGCTGCAGAGCAG CGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGA CCGTGCCAAGCAGCAGCCTGGGCACCAAG ACCTACACCTGCAACGTGGACCACAAGCC AAGCAACACCAAGGTGGACAAGCGCGTG GAGAGCAAGTACGGCCCACCATGCCCACC ATGCCCAGCCCCAGAGGCCGCCGGCGGCC CAAGCGTGTTCCTGTTCCCACCAAAGCCA AAGGACACCCTGATGATCAGCCGCACCCC AGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGA GCCAGGAGGACCCAGAGGTGCAGTTCAAC TGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAA CGCCAAGACCAAGCCACGCGAGGAGCAG TTCAACAGCACCTACCGCGTGGTGAGCGT GCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGA ACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGAG CAACAAGGGCCTGCCAAGCAGCATCGAG AAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGC CACGCGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCA CCAAGCCAGGAGGAGATGACCAAGAACC AGGTGAGCCTGAGCTGCGCCGTGAAGGGC TTCTACCCAAGCGACATCGCCGTGGAGTG GGAGAGCAACGGCCAGCCAGAGAACAAC TACAAGACCACCCCACCAGTGCTGGACAG CGACGGCAGCTTCTTCCTGGTGAGCCGCC TGACCGTGGACAAGAGCCGCTGGCAGGA GGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGC

[0263]

				ACGAGGCCCTGCACAACCGCTTCACCCAG AAGAGCCTGAGCCTGAGCCTGGGCAAGAT GGCCTGGGTGTGGACCCTGCTGTTCCTGA TGGCCGCCGCCCAGAGCATCCAGGCCGAC ATCCAGATGACCCAGAGCCCAAGCAGCCT GAGCGCCAGCGTGGGCGACCGCGTGACCA TCACCTGCCGCAGCAGCCAGAGCCTGGTG CACAGCAACGGCAACACCTACCTGCACTG GTACCAGCAGAAGCCAGGCAAGGCCCCA AAGTTCCTGATCTACAAGGTGAGCAACCG CTTCAGCGGCGTGCCAAGCCGCTTCAGCG GCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTG ACCATCAGCAGCCTGCAGCCAGAGGACTT CGCCACCTACTACTGCAGCCAGAGCACCC ACGTGCCATTCACCTTCGGCCAGGGCACC AAGCTGGAGATCAAGCGCACCGTGGCCGC CCCAAGCGTGTTCATCTTCCCACCAAGCG ACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAG CGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACC CACGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGT GGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGC CAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCA AGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACC CTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAA GCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCC ACCAGGGCCTGAGCAGCCCAGTGACCAAG AGCTTCAACCGCGGCGAGTGCGGCGGCAG CGAGGGCAAGAGCAGCGGCAGCGGCAGC GAGAGCAAGAGCACCGAGGGCAAGAGCA GCGGCAGCGGCAGCGAGAGCAAGAGCAC CGGCGGCAGCCAGGTGCAGCTGCAGGAG AGCGGCCCAGGCCTGGTGAAGCCAAGCG AGACCCTGAGCCTGACCTGCACCGTGAGC GGCTACAGCATCACCAGCGGCTACTTCTG GAACTGGATCCGCCAGCCACCAGGCAAGG GCCTGGAGTGGATCGGCTACATCAGCTAC GACGGCAGCAACAACTACAACCCAAGCCT GAAGAGCCGCGTGACCATCAGCCGCGACA CCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTG AGCAGCGTGACCGCCGCCGACACCGCCGT GTACTACTGCGCCAGCCCAAGCCCAGGCA CCGGCTACGCCGTGGACTACTGGGGCCAG GGCACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGCCAG CACCAAGGGCCCAAGCGTGTTCCCACTGG CCCCATGCAGCCGCAGCACCAGCGAGAGC ACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGA CTACTTCCCAGAGCCAGTGACCGTGAGCT GGAACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTG CACACCTTCCCAGCCGTGCTGCAGAGCAG

[0264]

				CGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGA CCGTGCCAAGCAGCAGCCTGGGCACCAAG ACCTACACCTGCAACGTGGACCACAAGCC AAGCAACACCAAGGTGGACAAGCGCGTG GAGAGCAAGTACGGCCCACCATGCCCACC ATGCCCAGCCCCAGAGGCCGCCGGCGGCC CAAGCGTGTTCCTGTTCCCACCAAAGCCA AAGGACACCCTGATGATCAGCCGCACCCC AGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGA GCCAGGAGGACCCAGAGGTGCAGTTCAAC TGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAA CGCCAAGACCAAGCCACGCGAGGAGCAG TTCAACAGCACCTACCGCGTGGTGAGCGT GCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGA ACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGAG CAACAAGGGCCTGCCAAGCAGCATCGAG AAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGC CACGCGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCA CCAAGCCAGGAGGAGATGACCAAGAACC AGGTGAGCCTGAGCTGCGCCGTGAAGGGC TTCTACCCAAGCGACATCGCCGTGGAGTG GGAGAGCAACGGCCAGCCAGAGAACAAC TACAAGACCACCCCACCAGTGCTGGACAG CGACGGCAGCTTCTTCCTGGTGAGCCGCC TGACCGTGGACAAGAGCCGCTGGCAGGA GGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGC ACGAGGCCCTGCACAACCGCTTCACCCAG AAGAGCCTGAGCCTGAGCCTGGGCAAGTG ATAG
30	PRT	人工合成	I3RB217半抗体	MAWVWTLLFLMAAAQSIQAEIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKP GQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFT LTISRLEPEDFAVYYCQQDYGFPWTFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGSEGKSSGS GSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGSEVQLVQS GAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWISWVR QMPGKGLEWMGIIDPSDSDTRYSPSFQGQV TISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAR GDGSTDLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ

[0265]

				PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLWCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSLGK
31	DNA	人工合成	I3RB217半抗体	ATGGCCTGGGTGTGGACCCTGCTGTTCCT GATGGCCGCCGCCCAGAGCATCCAGGCCG AGATCGTGCTGACCCAGAGCCCAGGCACC CTGAGCCTGAGCCCAGGCGAGCGCGCCAC CCTGAGCTGCCGCGCCAGCCAGAGCGTGA GCAGCAGCTACCTGGCCTGGTACCAGCAG AAGCCAGGCCAGGCCCCACGCCTGCTGAT CTACGGCGCCAGCAGCCGCGCCACCGGCA TCCCAGACCGCTTCAGCGGCAGCGGCAGC GGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCCG CCTGGAGCCAGAGGACTTCGCCGTGTACT ACTGCCAGCAGGACTACGGCTTCCCATGG ACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGAT CAAGCGCACCGTGGCCGCCCCAAGCGTGT TCATCTTCCCACCAAGCGACGAGCAGCTG AAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCT GCTGAACAACTTCTACCCACGCGAGGCCA AGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTG CAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGA CCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTA CAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCA AGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTA CGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGA GCAGCCCAGTGACCAAGAGCTTCAACCGC GGCGAGTGCggcggcagcgagggcaagagcagcggcag cggcagcgagagcaagagcaccgagggcaagagcagcggcagc ggcagcgagagcaagagcaccggcggcagcGAGGTGCA GCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAGGTGAAG AAGCCAGGCGAGAGCCTGAAGATCAGCT GCAAGGGCAGCGGCTACAGCTTCACCAGC TACTGGATCAGCTGGGTGCGCCAGATGCC AGGCAAGGGCCTGGAGTGGATGGGCATC ATCGACCCAAGCGACAGCGACACCCGCTA CAGCCCAAGCTTCCAGGGCCAGGTGACCA TCAGCGCCGACAAGAGCATCAGCACCGCC TACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCAG CGACACCGCCATGTACTACTGCGCCCGCG GCGACGGCAGCACCGACCTGGACTACTGG GGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGAGCAG CGCCAGCACCAAGGGCCCAAGCGTGTTCC CACTGGCCCCATGCAGCCGCAGCACCAGC GAGAGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGT GAAGGACTACTTCCCAGAGCCAGTGACCG TGAGCTGGAACAGCGGCGCCCTGACCAGC GGCGTGCACACCTTCCCAGCCGTGCTGCA

[0266]

				GAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCG TGGTGACCGTGCCAAGCAGCAGCCTGGGC ACCAAGACCTACACCTGCAACGTGGACCA CAAGCCAAGCAACACCAAGGTGGACAAG CGCGTGGAGAGCAAGTACGGCCCACCATG CCCACCATGCCCAGCCCCAGAGGCCGCCG GCGGCCCAAGCGTGTTCCTGTTCCCACCA AAGCCAAAGGACACCCTGATGATCAGCCG CACCCCAGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGG ACGTGAGCCAGGAGGACCCAGAGGTGCA GTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGG TGCACAACGCCAAGACCAAGCCACGCGA GGAGCAGTTCAACAGCACCTACCGCGTGG TGAGCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGAC TGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCA AGGTGAGCAACAAGGGCCTGCCAAGCAG CATCGAGAAGACCATCAGCAAGGCCAAG GGCCAGCCACGCGAGCCACAGGTGTACAC CCTGCCACCAAGCCAGGAGGAGATGACCA AGAACCAGGTGAGCCTGTGGTGCCTGGTG AAGGGCTTCTACCCAAGCGACATCGCCGT GGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCAGAG AACAACTACAAGACCACCCCACCAGTGCT GGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACA GCCGCCTGACCGTGGACAAGAGCCGCTGG CAGGAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGT GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACA CCCAGAAGAGCCTGAGCCTGAGCCTGGGC AAG
32	PRT	人工合成	B23B49 半抗体	MAWVWTLLFLMAAAQSIQAEIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKP GQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFT LTISRLEPEDFAVYYCQQDYGFPWTFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGSEGKSSGS GSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGSEVQLVQS GAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWISWVR QMPGKGLEWMGIIDPSDSDTRYSPSFQGQV TISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAR GDGSTDLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ

[0267]

				PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLWCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSLGK
33	DNA	人工合成	B23B49半抗体	ATGGCCTGGGTGTGGACCCTGCTGTTCCT GATGGCCGCCGCCCAGAGCATCCAGGCCG ACATCGTGATGACCCAGAGCCCAGACAGC CTGGCCGTGAGCCTGGGCGAGCGCGCCAC CATCAACTGCCGCGCCAGCCAGAGCGTGG ACTACAACGGCATCAGCTACATGCACTGG TACCAGCAGAAGCCAGGCCAGCCACCAA AGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAACCCA GAGAGCGGCGTGCCAGACCGCTTCAGCGG CAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGA CCATCAGCAGCCTGCAGGCCGAGGACGTG GCCGTGTACTACTGCCAGCAGATCATCGA GGACCCATGGACCTTCGGCCAGGGCACCA AGGTGGAGATCAAGCGCACCGTGGCCGCC CCAAGCGTGTTCATCTTCCCACCAAGCGA CGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGC GTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCC ACGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTG GACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCC AGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAA GGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCC TGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAG CACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCA CCAGGGCCTGAGCAGCCCAGTGACCAAGA GCTTCAACCGCGGCGAGTGCGGCGGCAGC GAGGGCAAGAGCAGCGGCAGCGGCAGCG AGAGCAAGAGCACCGAGGGCAAGAGCAG CGGCAGCGGCAGCGAGAGCAAGAGCACC GGCGGCAGCCAGATCACCCTGAAGGAGA GCGGCCCAACCCTGGTGAAGCCAACCCAG ACCCTGACCCTGACCTGCACCTTCAGCGG CTTCAGCCTGAGCACCAGCGGCATGGGCG TGAGCTGGATCCGCCAGCCACCAGGCAAG GCCCTGGAGTGGCTGGCCCACATCTACTG GGACGACGACAAGCGCTACAACCCAAGC CTGAAGAGCCGCCTGACCATCACCAAGGA CACCAGCAAGAACCAGGTGGTGCTGACCA TGACCAACATGGACCCAGTGGACACCGCC ACCTACTACTGCGCCCGCCTGTACGGCTTC ACCTACGGCTTCGCCTACTGGGGCCAGGG CACCCTGGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCA CCAAGGGCCCAAGCGTGTTCCCACTGGCC CCATGCAGCCGCAGCACCAGCGAGAGCAC CGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACT ACTTCCCAGAGCCAGTGACCGTGAGCTGG

[0268]

				AACAGCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCA CACCTTCCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCG GCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACC GTGCCAAGCAGCAGCCTGGGCACCAAGAC CTACACCTGCAACGTGGACCACAAGCCAA GCAACACCAAGGTGGACAAGCGCGTGGA GAGCAAGTACGGCCCACCATGCCCACCAT GCCCAGCCCCAGAGGCCGCCGGCGGCCCA AGCGTGTTCCTGTTCCCACCAAAGCCAAA GGACACCCTGATGATCAGCCGCACCCCAG AGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CAGGAGGACCCAGAGGTGCAGTTCAACTG GTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACG CCAAGACCAAGCCACGCGAGGAGCAGTTC AACAGCACCTACCGCGTGGTGAGCGTGCT GACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACG GCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGAGCAA CAAGGGCCTGCCAAGCAGCATCGAGAAG ACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCAC GCGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCACCA AGCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGG TGAGCCTGTGGTGCCTGGTGAAGGGCTTC TACCCAAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGA GAGCAACGGCCAGCCAGAGAACAACTAC AAGACCACCCCACCAGTGCTGGACAGCGA CGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCCGCCTGA CCGTGGACAAGAGCCGCTGGCAGGAGGG CAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACG AGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAG AGCCTGAGCCTGAGCCTGGGCAAG
34	PRT	人工合成	HCDR1	SYWIS
35	PRT	人工合成	HCDR2	IIDPSDSDTRYSPSFQG
36	PRT	人工合成	HCDR3	GDGSTDLDY
37	PRT	人工合成	LCDR1	RASQSVSSSYL
38	PRT	人工合成	LCDR2	GASSRAT
39	PRT	人工合成	LCDR3	QQDYGFPWT
40	PRT	人工合成	HC	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTS YWISWVRQMPGKGLEWMGIIDPSDSDTRYS PSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTA MYYCARGDGSTDLDYWGQGTLVTVSS
41	PRT	人工合	LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSS

[0269]

		成		YLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDR FSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQDY GFPWTFGQGTKVEIK
42	PRT	人工合成	IGHJ1*01 HC	WGQGTLVTVSS
43	PRT	人工合成	IGKJ2*01 LC	FGQGTKLEIK
44	PRT	人工合成	Va10.2_Fc	MAWVWTLLFLMAAAQSIQAQLLEQSPQFLS IQEGENLTVYCNSSSVFSSLQWYRQEPGEGP VLLVTVVTGGEVKKLKRLTFQFGDARKDSS LHITAAQPGDTGLYLCAGAGSQGNLIFGKG TKLSVKPNIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCL FTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDMRS MDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPE DTFFPSepkscdkthtcppcpapeLLggpsvflfppkpkdtl misrtpevtcvvvDvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpree qynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiska kgqprepqvyVYppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewe sngqpennykttppvldsdgsfAlVskltvdksrwqqgnvfscs vmhealhnhytqkslslspg

序列表

<110> Janssen Biotech, Inc.

<120> 抗 VB17/抗 CD123 双特异性抗体及其用途

<130> PRD4012WOPCT

<150> US62/816,464
<151> 2019-03-11

<160> 44

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B17B01 HCDR1

[0001]

<400> 1

Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr Phe Trp Asn
1 5 10

<210> 2
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B17B01 HCDR2

<400> 2

Tyr Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Asn
1 5

<210> 3

<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B17B01 HCDR3

<400> 3

Pro Ser Pro Gly Thr Gly Tyr Ala Val Asp Tyr
1 5 10

<210> 4
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B17B01 LCDR1

[0002] <400> 4

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B17B01 LCDR2

<400> 5

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 6
<211> 9
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> B17B01 LCDR3

<400> 6

Ser Gln Ser Thr His Val Pro Phe Thr
1 5

<210> 7
<211> 444
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B17B01 重链

<400> 7

[0003] Asn Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Ala Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30

Tyr Phe Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

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

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

Ala Ser Pro Ser Pro Gly Thr Gly Tyr Ala Val Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val
115 120 125

Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

[0004]

Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Thr Trp Pro Ser Gln Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala
195 200 205

Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys
210 215 220

Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe
260 265 270

Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Lys Pro
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Ile Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro
290 295 300

Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val
305 310 315 320

Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr
325 330 335

Tyr Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys
340 345 350

[0005] Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asn
355 360 365

Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro
370 375 380

Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser
385 390 395 400

Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala
405 410 415

Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His
420 425 430

His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 8
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B17B01 轻链

<400> 8

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

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

[0006]

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

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

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

Thr His Val Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu
115 120 125

Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe

130 135 140

Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg
145 150 155 160

Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu
180 185 190

Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser
195 200 205

Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210 215

[0007]

<210> 9
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B17B1 重链

<400> 9

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

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Ala Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30

Tyr Phe Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

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

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

Ala Ser Pro Ser Pro Gly Thr Gly Tyr Ala Val Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

[0008]

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

[0009]

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Leu Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 10
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B17B1 轻链

<400> 10

[0010]

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

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser

85 90 95

Thr His Val Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu
115 120 125

Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg
145 150 155 160

Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

[0011]

Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu
180 185 190

Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser
195 200 205

Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210 215

<210> 11
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B17B2 重链

<400> 11

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

Ser Leu Ser Val Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30

Tyr Tyr Trp Asn Trp Tyr Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

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

[0012]

Leu Lys Leu Thr Tyr Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Pro Ser Pro Gly Thr Gly Tyr Ala Val Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

[0013]

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Leu Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
[0014] 435 440 445

<210> 12
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B17B2 轻链

<400> 12

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

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

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro

35 40 45

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

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

Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu
115 120 125

[0015]

Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg
145 150 155 160

Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu
180 185 190

Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser
195 200 205

Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

210 215

<210> 13
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B17B21 重链

<400> 13

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30

[0016] Tyr Phe Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Ser Pro Gly Thr Gly Tyr Ala Val Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
195 200 205

[0017] Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
[0018] 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 14
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B17B21 轻链

<400> 14

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
35 40 45

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

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

[0019]

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

165 170 175

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

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

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 15
<211> 445
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[0020] <223> I3RB217 重链

<400> 15

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

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

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

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

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

[0021]

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln
260 265 270

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

Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335

[0022]

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350

Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415

Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 16
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> I3RB217 轻链

<400> 16

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

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

[0023]

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

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

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

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

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser

115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

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

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

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

[0024]

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 17
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Null 重链

<400> 17

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

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

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

Trp Leu Ala His Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Leu Tyr Gly Phe Thr Tyr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

[0025]

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

[0026] Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 18
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

[0027] <220>
<223> Null 轻链

<400> 18

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asn
20 25 30

Gly Ile Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Pro Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

65 70 75 80

Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ile Ile
85 90 95

Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

[0028]

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

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

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

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 19
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B17H3

<400> 19

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

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

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

Val Ser Tyr Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

[0029]

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

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

Ala Lys Pro Ser Pro Gly Thr Gly Tyr Ala Val Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
115

<210> 20
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B17H4

<400> 20

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

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

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

Val Ser Tyr Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

[0030]

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

Ala Ser Pro Ser Pro Gly Thr Gly Tyr Ala Val Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 21
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B17H5

<400> 21

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30

Tyr Phe Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0031] 85 90 95

Ala Ser Pro Ser Pro Gly Thr Gly Tyr Ala Val Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 22
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B17L3

<400> 22

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
35 40 45

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

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

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser
85 90 95

[0032]

Thr His Val Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 23
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B17L4

<400> 23

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
35 40 45

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

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

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

[0033]
<210> 24
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B17L5

<400> 24

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Arg Phe Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

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

Thr His Val Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 25
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[0034] <223> B17H1

<400> 25

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

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Ala Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30

Tyr Phe Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

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

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

Ala Ser Pro Ser Pro Gly Thr Gly Tyr Ala Val Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 26
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B17L1

<400> 26

[0035]

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

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser

85 90 95

Thr His Val Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 27
<211> 493
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> TCR-Vβ17_Fc 融合体

<400> 27

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

[0036] Ile Gln Ala Val Asp Gly Gly Ile Thr Gln Ser Pro Lys Tyr Leu Phe
20 25 30

Arg Lys Glu Gly Gln Asn Val Thr Leu Ser Cys Glu Gln Asn Leu Asn
35 40 45

His Asp Ala Met Tyr Trp Tyr Arg Gln Asp Pro Gly Gln Gly Leu Arg
50 55 60

Leu Ile Tyr Tyr Ser Gln Ile Val Asn Asp Phe Gln Lys Gly Asp Ile
65 70 75 80

Ala Glu Gly Tyr Ser Val Ser Arg Glu Lys Lys Glu Ser Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Val Thr Ser Ala Gln Lys Asn Pro Thr Ala Phe Tyr Leu Cys Ala
100 105 110

Ser Ser Ser Arg Ser Ser Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg
115 120 125

Leu Thr Val Thr Glu Asp Leu Lys Asn Val Phe Pro Pro Glu Val Ala
130 135 140

Val Phe Glu Pro Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr
145 150 155 160

Leu Val Cys Leu Ala Thr Gly Phe Tyr Pro Asp His Val Glu Leu Ser
165 170 175

Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro
180 185 190

[0037] Gln Pro Leu Lys Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Ser Leu
195 200 205

Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn
210 215 220

His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu
225 230 235 240

Trp Thr Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu
245 250 255

Ala Trp Gly Arg Ala Asp Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
260 265 270

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
275 280 285

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
290 295 300

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
305 310 315 320

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
325 330 335

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
340 345 350

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
355 360 365

[0038]

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
370 375 380

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro
385 390 395 400

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Leu Cys Leu Val
405 410 415

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
420 425 430

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Leu Thr Trp Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
435 440 445

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
450 455 460

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
465 470 475 480

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
485 490

<210> 28
<211> 719
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B17B21 半抗体

<400> 28

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

[0039]

Ile Gln Ala Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala
20 25 30

Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu
35 40 45

Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
50 55 60

Gly Lys Ala Pro Lys Phe Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
65 70 75 80

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
85 90 95

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys

100 105 110

Ser Gln Ser Thr His Val Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu
115 120 125

Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
130 135 140

Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
145 150 155 160

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
165 170 175

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
180 185 190

[0040]

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
195 200 205

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
210 215 220

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly
225 230 235 240

Ser Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu
245 250 255

Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Ser
260 265 270

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

275 280 285

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
290 295 300

Tyr Phe Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
305 310 315 320

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
325 330 335

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
340 345 350

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
355 360 365

[0041]

Ala Ser Pro Ser Pro Gly Thr Gly Tyr Ala Val Asp Tyr Trp Gly Gln
370 375 380

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
385 390 395 400

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
405 410 415

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
420 425 430

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
435 440 445

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

450 455 460

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
465 470 475 480

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
485 490 495

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
500 505 510

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
515 520 525

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
530 535 540

[0042]

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
545 550 555 560

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
565 570 575

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
580 585 590

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
595 600 605

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
610 615 620

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala

625 630 635 640

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
645 650 655

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
660 665 670

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
675 680 685

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
690 695 700

His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
705 710 715

[0043]

<210> 29
<211> 4320
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> B17B21 半抗体

<400> 29
atggcctggg tgtggaccct gctgttcctg atggccgccg cccagagcat ccaggccgac 60

atccagatga cccagagccc aagcagcctg agcgccagcg tgggcgaccg cgtgaccatc 120

acctgccgca gcagccagag cctggtgcac agcaacggca acacctacct gcactggtac 180

cagcagaagc caggcaaggc cccaaagttc ctgatctaca aggtgagcaa ccgcttcagc 240

ggcgtgccaa gccgcttcag cggcagcggc agcggcaccg acttcaccct gaccatcagc 300

agcctgcagc cagaggactt cgccacctac tactgcagcc agagcaccca cgtgccattc 360

accttcggcc agggcaccaa gctggagatc aagcgcaccg tggccgcccc aagcgtgttc 420

atcttcccac caagcgacga gcagctgaag agcggcaccg ccagcgtggt gtgcctgctg 480

aacaacttct acccacgcga ggccaaggtg cagtggaagg tggacaacgc cctgcagagc 540

ggcaacagcc aggagagcgt gaccgagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctgagc 600

agcaccctga ccctgagcaa ggccgactac gagaagcaca aggtgtacgc ctgcgaggtg 660

acccaccagg gcctgagcag cccagtgacc aagagcttca accgcggcga gtgcggcggc 720

agcgagggca agagcagcgg cagcggcagc gagagcaaga gcaccgaggg caagagcagc 780

ggcagcggca gcgagagcaa gagcaccggc ggcagccagg tgcagctgca ggagagcggc 840

ccaggcctgg tgaagccaag cgagaccctg agcctgacct gcaccgtgag cggctacagc 900

atcaccagcg gctacttctg gaactggatc cgccagccac caggcaaggg cctggagtgg 960

atcggctaca tcagctacga cggcagcaac aactacaacc caagcctgaa gagccgcgtg 1020

[0044]

accatcagcc gcgacaccag caagaaccag ttcagcctga agctgagcag cgtgaccgcc 1080

gccgacaccg ccgtgtacta ctgcgccagc ccaagcccag gcaccggcta cgccgtggac 1140

tactggggcc agggcaccct ggtgaccgtg agcagcgcca gcaccaaggg cccaagcgtg 1200

ttcccactgg ccccatgcag ccgcagcacc agcgagagca ccgccgccct gggctgcctg 1260

gtgaaggact acttcccaga gccagtgacc gtgagctgga acagcggcgc cctgaccagc 1320

ggcgtgcaca ccttcccagc cgtgctgcag agcagcggcc tgtacagcct gagcagcgtg 1380

gtgaccgtgc caagcagcag cctgggcacc aagacctaca cctgcaacgt ggaccacaag 1440

ccaagcaaca ccaaggtgga caagcgcgtg gagagcaagt acggcccacc atgcccacca 1500

tgcccagccc cagaggccgc cggcggccca agcgtgttcc tgttcccacc aaagccaaag 1560

gacaccctga tgatcagccg caccccagag gtgacctgcg tggtggtgga cgtgagccag 1620

gaggacccag aggtgcagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca caacgccaag 1680

accaagccac gcgaggagca gttcaacagc acctaccgcg tggtgagcgt gctgaccgtg 1740

ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggag tacaagtgca aggtgagcaa caagggcctg 1800

ccaagcagca tcgagaagac catcagcaag gccaagggcc agccacgcga gccacaggtg 1860

tacaccctgc caccaagcca ggaggagatg accaagaacc aggtgagcct gagctgcgcc 1920

gtgaagggct tctacccaag cgacatcgcc gtggagtggg agagcaacgg ccagccagag 1980

aacaactaca agaccacccc accagtgctg gacagcgacg gcagcttctt cctggtgagc 2040

cgcctgaccg tggacaagag ccgctggcag gagggcaacg tgttcagctg cagcgtgatg 2100

cacgaggccc tgcacaaccg cttcacccag aagagcctga gcctgagcct gggcaagatg 2160

gcctgggtgt ggaccctgct gttcctgatg gccgccgccc agagcatcca ggccgacatc 2220

cagatgaccc agagcccaag cagcctgagc gccagcgtgg gcgaccgcgt gaccatcacc 2280

tgccgcagca gccagagcct ggtgcacagc aacggcaaca cctacctgca ctggtaccag 2340

[0045]

cagaagccag gcaaggcccc aaagttcctg atctacaagg tgagcaaccg cttcagcggc 2400

gtgccaagcc gcttcagcgg cagcggcagc ggcaccgact tcaccctgac catcagcagc 2460

ctgcagccag aggacttcgc cacctactac tgcagccaga gcacccacgt gccattcacc 2520

ttcggccagg gcaccaagct ggagatcaag cgcaccgtgg ccgccccaag cgtgttcatc 2580

ttcccaccaa gcgacgagca gctgaagagc ggcaccgcca gcgtggtgtg cctgctgaac 2640

aacttctacc cacgcgaggc caaggtgcag tggaaggtgg acaacgccct gcagagcggc 2700

aacagccagg agagcgtgac cgagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctgagcagc 2760

accctgaccc tgagcaaggc cgactacgag aagcacaagg tgtacgcctg cgaggtgacc 2820

caccagggcc tgagcagccc agtgaccaag agcttcaacc gcggcgagtg cggcggcagc 2880

gagggcaaga gcagcggcag cggcagcgag agcaagagca ccgagggcaa gagcagcggc 2940

agcggcagcg agagcaagag caccggcggc agccaggtgc agctgcagga gagcggccca 3000

ggcctggtga agccaagcga gaccctgagc ctgacctgca ccgtgagcgg ctacagcatc 3060

accagcggct acttctggaa ctggatccgc cagccaccag gcaagggcct ggagtggatc 3120

ggctacatca gctacgacgg cagcaacaac tacaacccaa gcctgaagag ccgcgtgacc 3180

atcagccgcg acaccagcaa gaaccagttc agcctgaagc tgagcagcgt gaccgccgcc 3240

gacaccgccg tgtactactg cgccagccca agcccaggca ccggctacgc cgtggactac 3300

tggggccagg gcaccctggt gaccgtgagc agcgccagca ccaagggccc aagcgtgttc 3360

ccactggccc catgcagccg cagcaccagc gagagcaccg ccgccctggg ctgcctggtg 3420

aaggactact tcccagagcc agtgaccgtg agctggaaca gcggcgccct gaccagcggc 3480

gtgcacacct tcccagccgt gctgcagagc agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtg 3540

accgtgccaa gcagcagcct gggcaccaag acctacacct gcaacgtgga ccacaagcca 3600

agcaacacca aggtggacaa gcgcgtggag agcaagtacg gcccaccatg cccaccatgc 3660

[0046]

ccagccccag aggccgccgg cggcccaagc gtgttcctgt tcccaccaaa gccaaaggac 3720

accctgatga tcagccgcac cccagaggtg acctgcgtgg tggtggacgt gagccaggag 3780

gacccagagg tgcagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcacaa cgccaagacc 3840

aagccacgcg aggagcagtt caacagcacc taccgcgtgg tgagcgtgct gaccgtgctg 3900

caccaggact ggctgaacgg caaggagtac aagtgcaagg tgagcaacaa gggcctgcca 3960

agcagcatcg agaagaccat cagcaaggcc aagggccagc cacgcgagcc acaggtgtac 4020

accctgccac caagccagga ggagatgacc aagaaccagg tgagcctgag ctgcgccgtg 4080

aagggcttct acccaagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaacggcca gccagagaac 4140

aactacaaga ccaccccacc agtgctggac agcgacggca gcttcttcct ggtgagccgc 4200

ctgaccgtgg acaagagccg ctggcaggag ggcaacgtgt tcagctgcag cgtgatgcac 4260

gaggccctgc acaaccgctt cacccagaag agcctgagcc tgagcctggg caagtgatag 4320

<210> 30
<211> 713
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> I3RB217 半抗体

<400> 30

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

Ile Gln Ala Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu
20 25 30

Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val
35 40 45

[0047]

Ser Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr
100 105 110

Gly Phe Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln

130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
210 215 220

[0048]

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Ser Glu Gly Lys
225 230 235 240

Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser
245 250 255

Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
260 265 270

Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile
275 280 285

Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Ser Trp
290 295 300

Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Asp

305 310 315 320

Pro Ser Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val
325 330 335

Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser
340 345 350

Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asp
355 360 365

Gly Ser Thr Asp Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
370 375 380

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

[0049]

Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
405 410 415

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
420 425 430

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
435 440 445

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
450 455 460

Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
465 470 475 480

Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro

485 490 495

Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
500 505 510

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
515 520 525

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

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
545 550 555 560

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
565 570 575

[0050]

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
580 585 590

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
595 600 605

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
610 615 620

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
625 630 635 640

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
645 650 655

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu

660 665 670

Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
675 680 685

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
690 695 700

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
705 710

<210> 31
<211> 2139
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
[0051] <223> I3RB217 半抗体

<400> 31
atggcctggg tgtggaccct gctgttcctg atggccgccg cccagagcat ccaggccgag 60

atcgtgctga cccagagccc aggcaccctg agcctgagcc caggcgagcg cgccaccctg 120

agctgccgcg ccagccagag cgtgagcagc agctacctgg cctggtacca gcagaagcca 180

ggccaggccc cacgcctgct gatctacggc gccagcagcc gcgccaccgg catcccagac 240

cgcttcagcg gcagcggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatcagccg cctggagcca 300

gaggacttcg ccgtgtacta ctgccagcag gactacggct tcccatggac cttcggccag 360

ggcaccaagg tggagatcaa gcgcaccgtg gccgccccaa gcgtgttcat cttcccacca 420

agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac 480

ccacgcgagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag 540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600

ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660

ctgagcagcc cagtgaccaa gagcttcaac cgcggcgagt gcggcggcag cgagggcaag 720

agcagcggca gcggcagcga gagcaagagc accgagggca agagcagcgg cagcggcagc 780

gagagcaaga gcaccggcgg cagcgaggtg cagctggtgc agagcggcgc cgaggtgaag 840

aagccaggcg agagcctgaa gatcagctgc aagggcagcg gctacagctt caccagctac 900

tggatcagct gggtgcgcca gatgccaggc aagggcctgg agtggatggg catcatcgac 960

ccaagcgaca gcgacacccg ctacagccca agcttccagg gccaggtgac catcagcgcc 1020

gacaagagca tcagcaccgc ctacctgcag tggagcagcc tgaaggccag cgacaccgcc 1080

atgtactact gcgcccgcgg cgacggcagc accgacctgg actactgggg ccagggcacc 1140

ctggtgaccg tgagcagcgc cagcaccaag ggcccaagcg tgttcccact ggccccatgc 1200

agccgcagca ccagcgagag caccgccgcc ctgggctgcc tggtgaagga ctacttccca 1260

[0052]

gagccagtga ccgtgagctg gaacagcggc gccctgacca gcggcgtgca caccttccca 1320

gccgtgctgc agagcagcgg cctgtacagc ctgagcagcg tggtgaccgt gccaagcagc 1380

agcctgggca ccaagaccta cacctgcaac gtggaccaca agccaagcaa caccaaggtg 1440

gacaagcgcg tggagagcaa gtacggccca ccatgcccac catgcccagc cccagaggcc 1500

gccggcggcc caagcgtgtt cctgttccca ccaaagccaa aggacaccct gatgatcagc 1560

cgcaccccag aggtgacctg cgtggtggtg gacgtgagcc aggaggaccc agaggtgcag 1620

ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg cacaacgcca agaccaagcc acgcgaggag 1680

cagttcaaca gcacctaccg cgtggtgagc gtgctgaccg tgctgcacca ggactggctg 1740

aacggcaagg agtacaagtg caaggtgagc aacaagggcc tgccaagcag catcgagaag 1800

accatcagca aggccaaggg ccagccacgc gagccacagg tgtacaccct gccaccaagc 1860

caggaggaga tgaccaagaa ccaggtgagc ctgtggtgcc tggtgaaggg cttctaccca 1920

agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaac ggccagccag agaacaacta caagaccacc 1980

ccaccagtgc tggacagcga cggcagcttc ttcctgtaca gccgcctgac cgtggacaag 2040

agccgctggc aggagggcaa cgtgttcagc tgcagcgtga tgcacgaggc cctgcacaac 2100

cactacaccc agaagagcct gagcctgagc ctgggcaag 2139

<210> 32
<211> 713
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B23B49 半抗体

<400> 32

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

[0053]

Ile Gln Ala Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu
20 25 30

Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val
35 40 45

Ser Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr

100 105 110

Gly Phe Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
180 185 190

[0054]

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Ser Glu Gly Lys
225 230 235 240

Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser
245 250 255

Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
260 265 270

Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile

275 280 285

Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Ser Trp
290 295 300

Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Asp
305 310 315 320

Pro Ser Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val
325 330 335

Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser
340 345 350

Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asp
355 360 365

[0055]

Gly Ser Thr Asp Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
370 375 380

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

Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
405 410 415

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
420 425 430

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
435 440 445

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr

450 455 460

Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
465 470 475 480

Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
485 490 495

Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
500 505 510

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
515 520 525

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

[0056]

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
545 550 555 560

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
565 570 575

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
580 585 590

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
595 600 605

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
610 615 620

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro

625 630 635 640

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
645 650 655

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
660 665 670

Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
675 680 685

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
690 695 700

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
705 710

[0057]

<210> 33
<211> 2154
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> B23B49 半抗体

<400> 33
atggcctggg tgtggaccct gctgttcctg atggccgccg cccagagcat ccaggccgac 60

atcgtgatga cccagagccc agacagcctg gccgtgagcc tgggcgagcg cgccaccatc 120

aactgccgcg ccagccagag cgtggactac aacggcatca gctacatgca ctggtaccag 180

cagaagccag gccagccacc aaagctgctg atctacgccg ccagcaaccc agagagcggc 240

gtgccagacc gcttcagcgg cagcggcagc ggcaccgact tcaccctgac catcagcagc 300

ctgcaggccg aggacgtggc cgtgtactac tgccagcaga tcatcgagga cccatggacc 360

ttcggccagg gcaccaaggt ggagatcaag cgcaccgtgg ccgccccaag cgtgttcatc 420

ttcccaccaa gcgacgagca gctgaagagc ggcaccgcca gcgtggtgtg cctgctgaac 480

aacttctacc cacgcgaggc caaggtgcag tggaaggtgg acaacgccct gcagagcggc 540

aacagccagg agagcgtgac cgagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctgagcagc 600

accctgaccc tgagcaaggc cgactacgag aagcacaagg tgtacgcctg cgaggtgacc 660

caccagggcc tgagcagccc agtgaccaag agcttcaacc gcggcgagtg cggcggcagc 720

gagggcaaga gcagcggcag cggcagcgag agcaagagca ccgagggcaa gagcagcggc 780

agcggcagcg agagcaagag caccggcggc agccagatca ccctgaagga gagcggccca 840

accctggtga agccaaccca gaccctgacc ctgacctgca ccttcagcgg cttcagcctg 900

agcaccagcg gcatgggcgt gagctggatc cgccagccac caggcaaggc cctggagtgg 960

ctggcccaca tctactggga cgacgacaag cgctacaacc caagcctgaa gagccgcctg 1020

[0058]

accatcacca aggacaccag caagaaccag gtggtgctga ccatgaccaa catggaccca 1080

gtggacaccg ccacctacta ctgcgcccgc ctgtacggct tcacctacgg cttcgcctac 1140

tggggccagg gcaccctggt gaccgtgagc agcgccagca ccaagggccc aagcgtgttc 1200

ccactggccc catgcagccg cagcaccagc gagagcaccg ccgccctggg ctgcctggtg 1260

aaggactact tcccagagcc agtgaccgtg agctggaaca gcggcgccct gaccagcggc 1320

gtgcacacct tcccagccgt gctgcagagc agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtg 1380

accgtgccaa gcagcagcct gggcaccaag acctacacct gcaacgtgga ccacaagcca 1440

agcaacacca aggtggacaa gcgcgtggag agcaagtacg gcccaccatg cccaccatgc 1500

ccagccccag aggccgccgg cggcccaagc gtgttcctgt tcccaccaaa gccaaaggac 1560

accctgatga tcagccgcac cccagaggtg acctgcgtgg tggtggacgt gagccaggag 1620

gacccagagg tgcagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcacaa cgccaagacc 1680

aagccacgcg aggagcagtt caacagcacc taccgcgtgg tgagcgtgct gaccgtgctg 1740

caccaggact ggctgaacgg caaggagtac aagtgcaagg tgagcaacaa gggcctgcca 1800

agcagcatcg agaagaccat cagcaaggcc aagggccagc cacgcgagcc acaggtgtac 1860

accctgccac caagccagga ggagatgacc aagaaccagg tgagcctgtg gtgcctggtg 1920

aagggcttct acccaagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaacggcca gccagagaac 1980

aactacaaga ccaccccacc agtgctggac agcgacggca gcttcttcct gtacagccgc 2040

ctgaccgtgg acaagagccg ctggcaggag ggcaacgtgt tcagctgcag cgtgatgcac 2100

gaggccctgc acaaccacta cacccagaag agcctgagcc tgagcctggg caag 2154

<210> 34
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

[0059]

<220>
<223> I3RB217 HCDR1

<400> 34

Ser Tyr Trp Ile Ser
1 5

<210> 35
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> I3RB217 HCDR2

<400> 35

Ile Ile Asp Pro Ser Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 36
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> I3RB217 HCDR3

<400> 36

Gly Asp Gly Ser Thr Asp Leu Asp Tyr
1 5

<210> 37
<211> 11
<212> PRT
[0060] <213> 人工序列

<220>
<223> I3RB217 LCDR1

<400> 37

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu
1 5 10

<210> 38
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> I3RB217 LCDR2

<400> 38

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 39
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> I3RB217 LCDR3

<400> 39

Gln Gln Asp Tyr Gly Phe Pro Trp Thr
1 5

<210> 40
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

[0061]

<220>
<223> I3RB217 HC

<400> 40

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

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

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 41
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[0062] <223> I3RB217 LC

<400> 41

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

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

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

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

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

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

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

<210> 42
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IGHJ1*01 HC

<400> 42

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

[0063]

<210> 43
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IGKJ2*01 LC

<400> 43

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 44
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Va10.2_Fc 融合体

<400> 44

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

Ile Gln Ala Gln Leu Leu Glu Gln Ser Pro Gln Phe Leu Ser Ile Gln
20 25 30

Glu Gly Glu Asn Leu Thr Val Tyr Cys Asn Ser Ser Ser Val Phe Ser
35 40 45

Ser Leu Gln Trp Tyr Arg Gln Glu Pro Gly Glu Gly Pro Val Leu Leu
50 55 60

Val Thr Val Val Thr Gly Gly Glu Val Lys Lys Leu Lys Arg Leu Thr
65 70 75 80

[0064]

Phe Gln Phe Gly Asp Ala Arg Lys Asp Ser Ser Leu His Ile Thr Ala
85 90 95

Ala Gln Pro Gly Asp Thr Gly Leu Tyr Leu Cys Ala Gly Ala Gly Ser
100 105 110

Gln Gly Asn Leu Ile Phe Gly Lys Gly Thr Lys Leu Ser Val Lys Pro
115 120 125

Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys
130 135 140

Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr
145 150 155 160

Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Thr

165 170 175

Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val Ala
180 185 190

Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser
195 200 205

Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

[0065]

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

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

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340 345 350

Val Tyr Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

[0066]

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

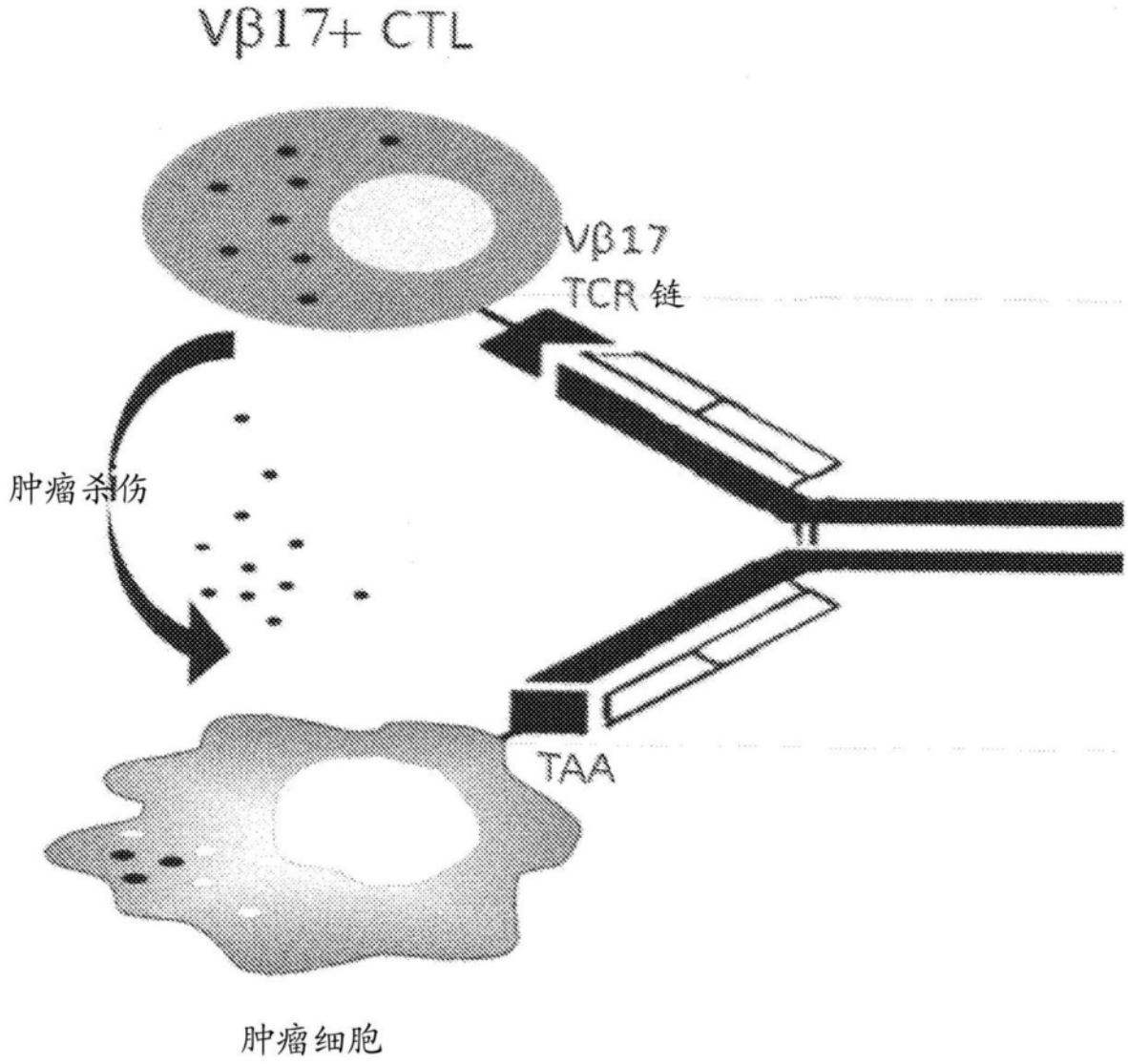


图1

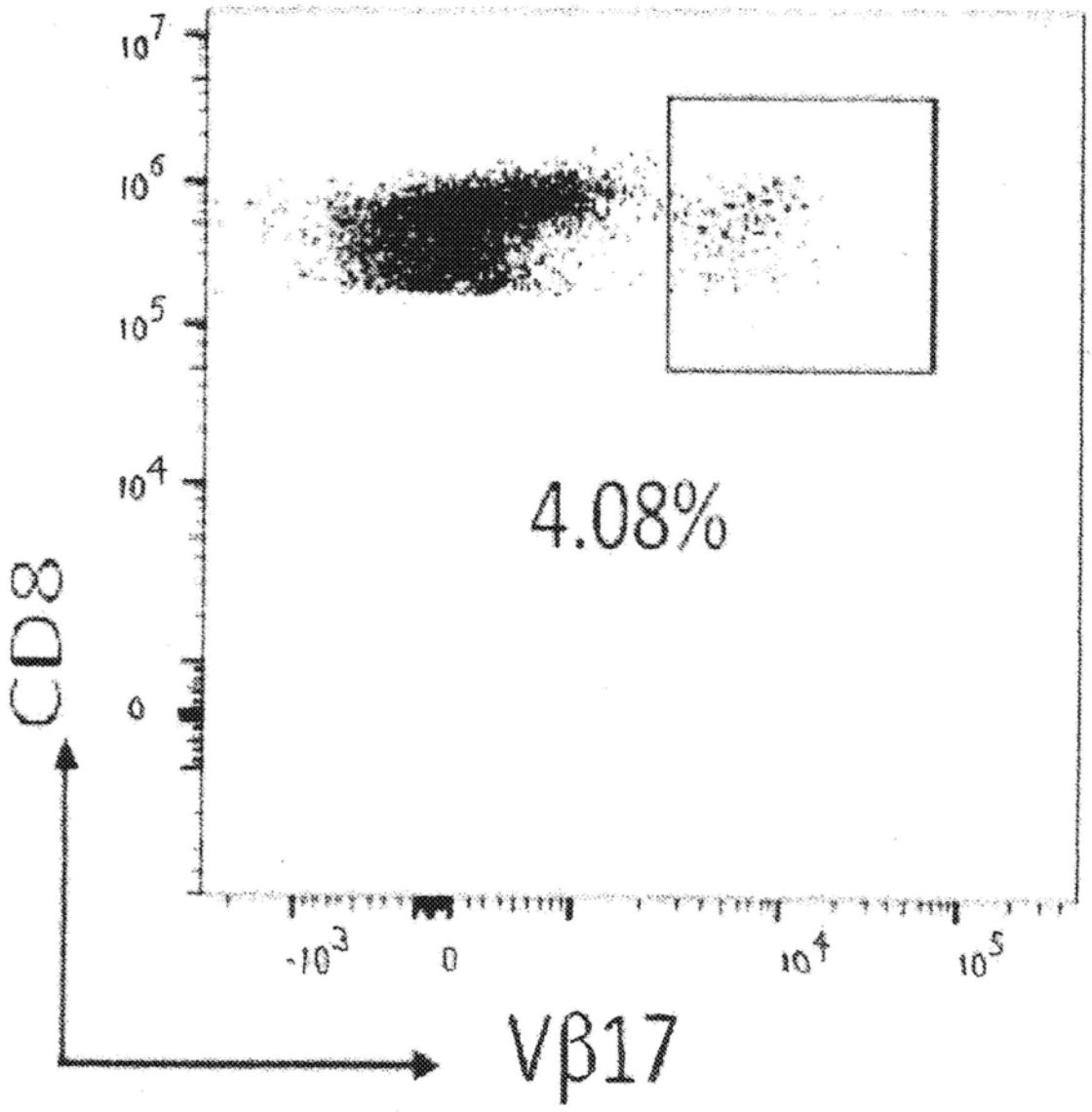


图2A

供体	HLA状态	CD8 T细胞中的Vβ17+的%（第0天）	CD8 T细胞中的Vβ17+的%（第14天）
HPU-03033	A2	5.45	14.4
HPU-07540	A2	3.70	34.4
HPU-08694	A2	3.88	75
17043595	A*0201	2	15
14035473	A*0201	2.8	40.7
15036948	A*0201	3.64	43.0

图2B

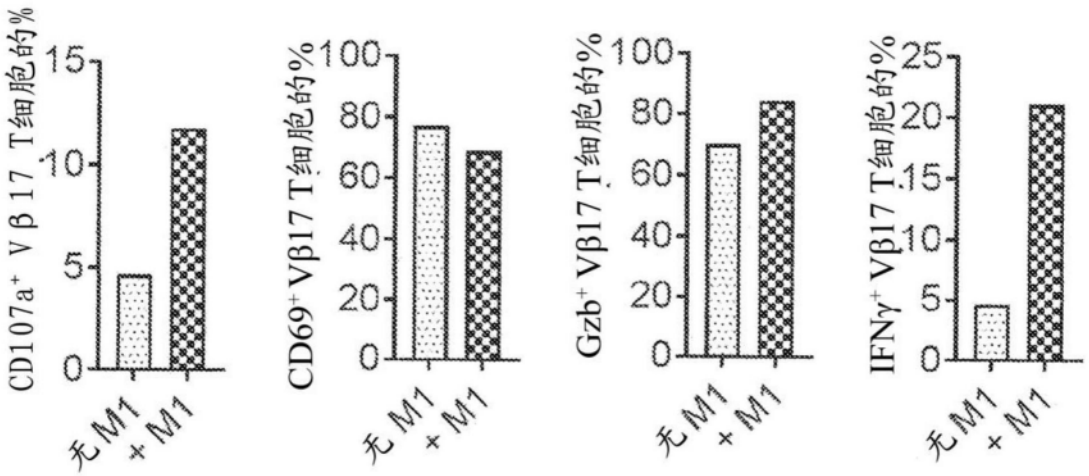
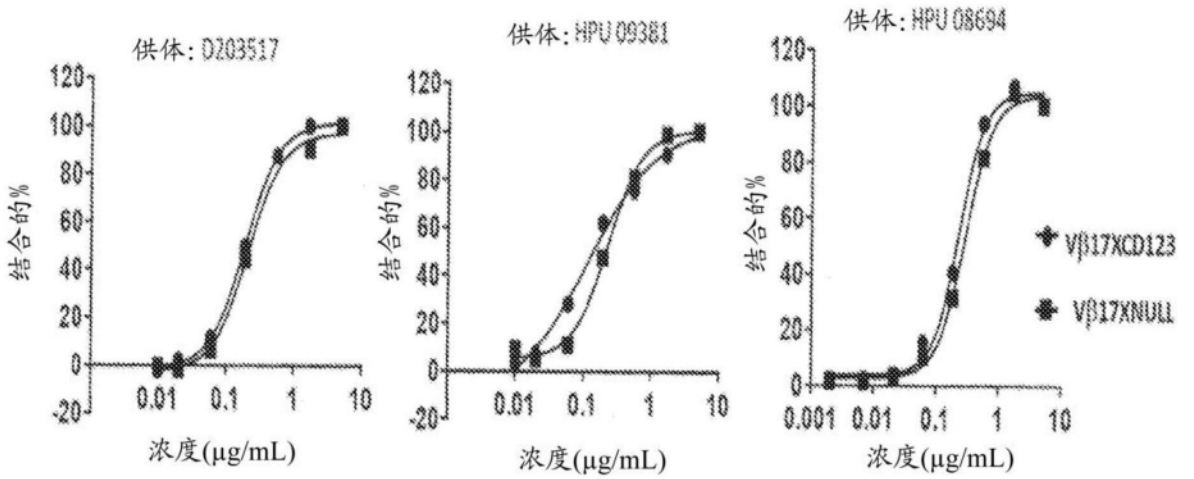


图3

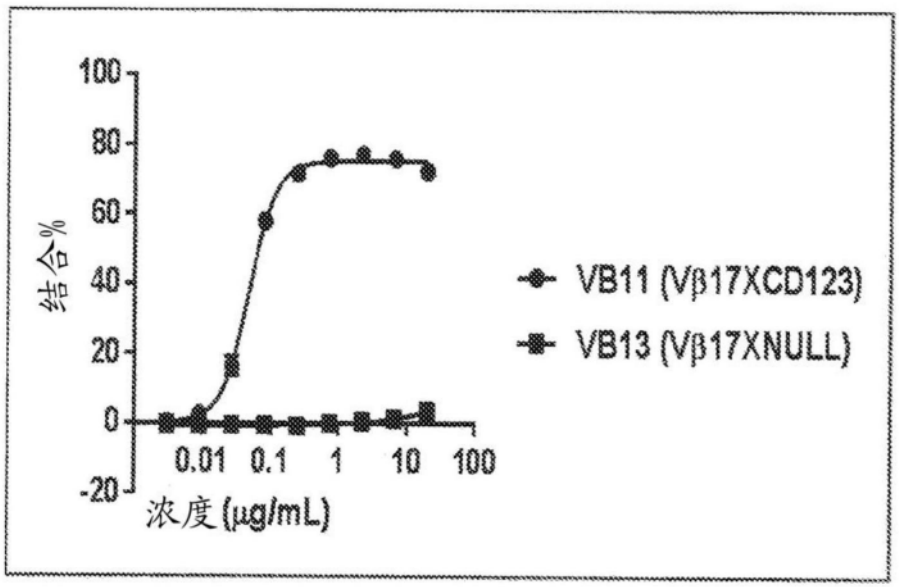


	Vβ17XCD123	Vβ17XNULL
EC_{50}(nM)	1.26	1.4

	Vβ17XCD123	Vβ17XNULL
EC_{50}(nM)	0.8	1.5

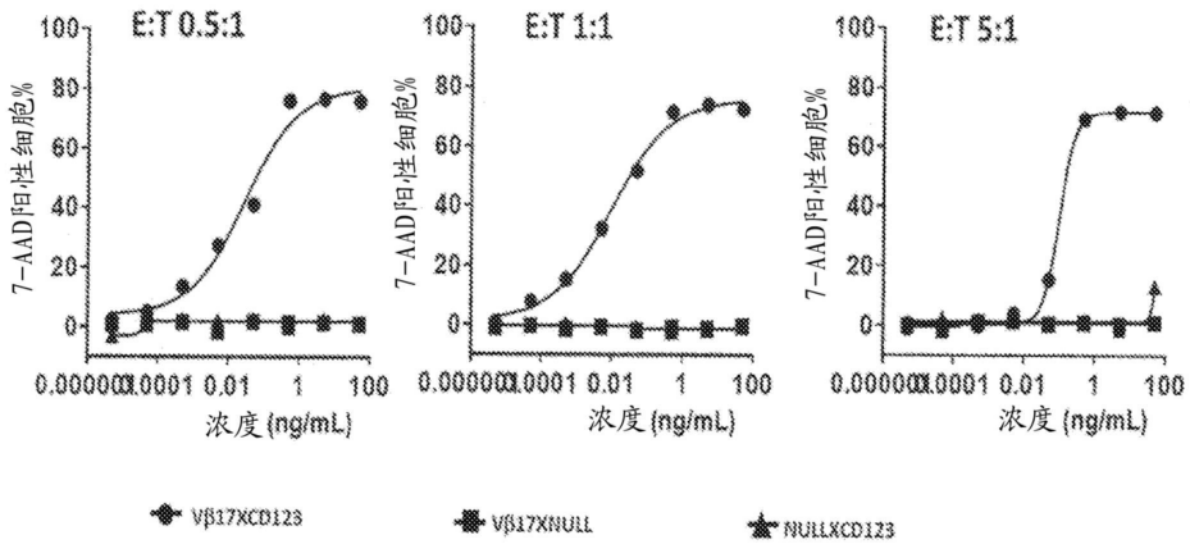
	Vβ17XCD123	Vβ17XNULL
EC_{50}(nM)	1.9	1.5

图4



	Vβ17XCD123	Vβ17XNULL
EC_{50} (nM)	0.33	ND

图5



EC_{50} (pM)

ET比	0.5:1	1:1	5:1
NULLXCD123	ND	ND	ND
Vβ17XNULL	ND	ND	ND
Vβ17XCD123	0.4	0.2	1.0

图6

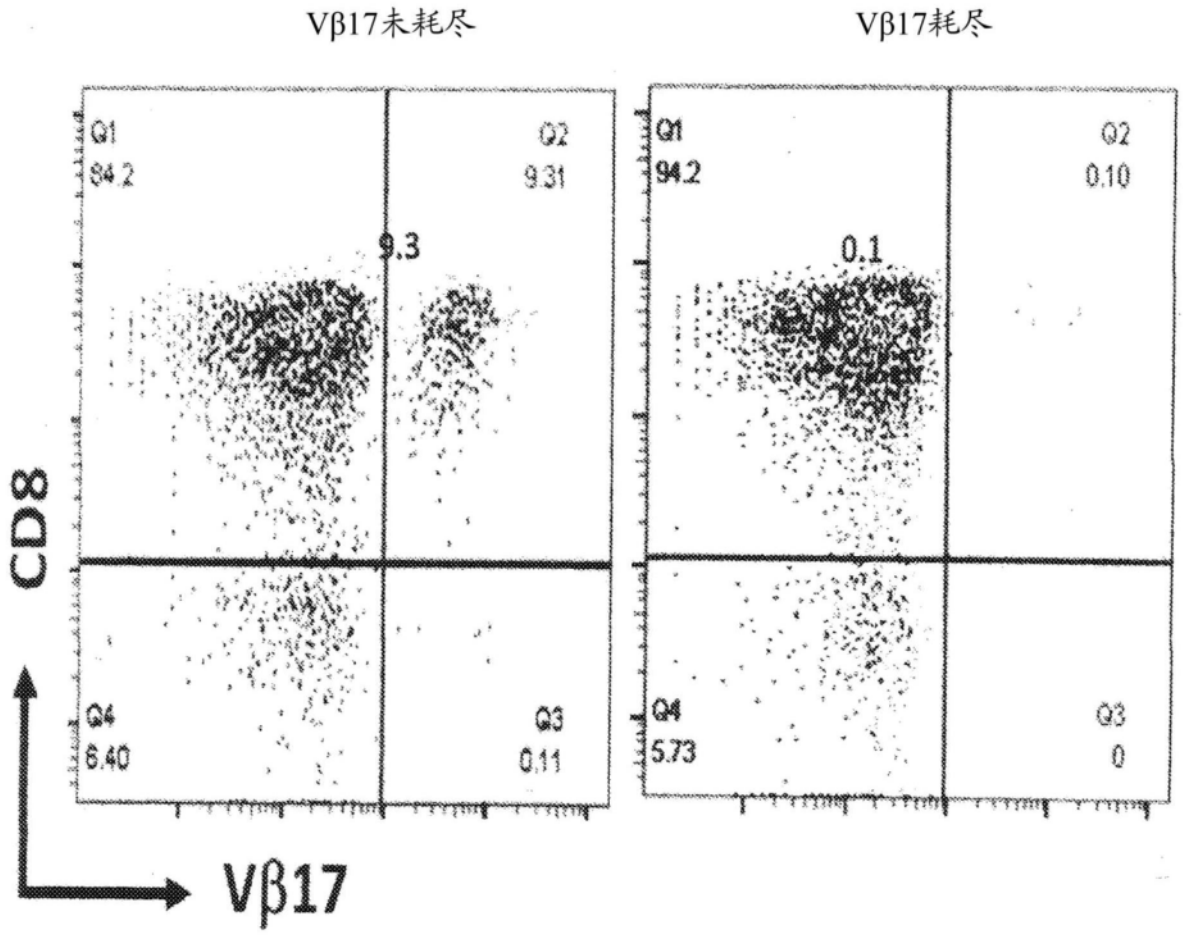
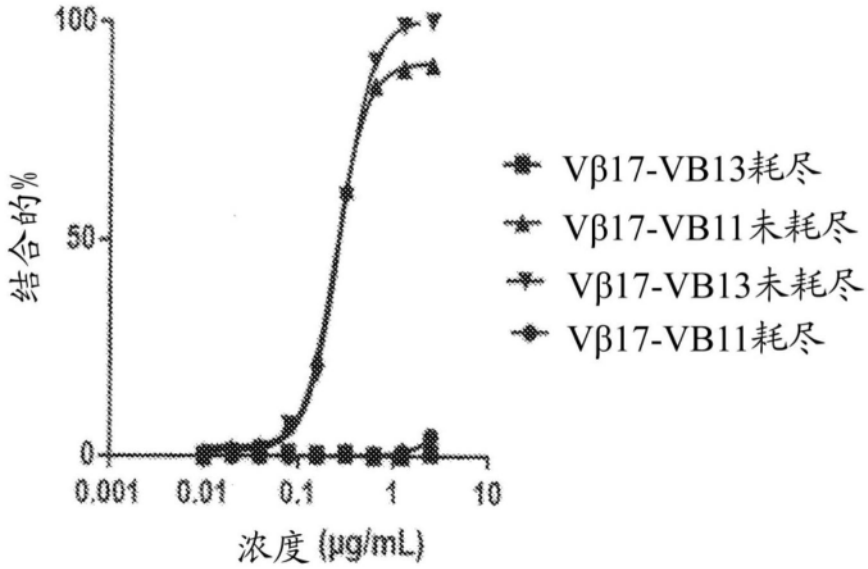
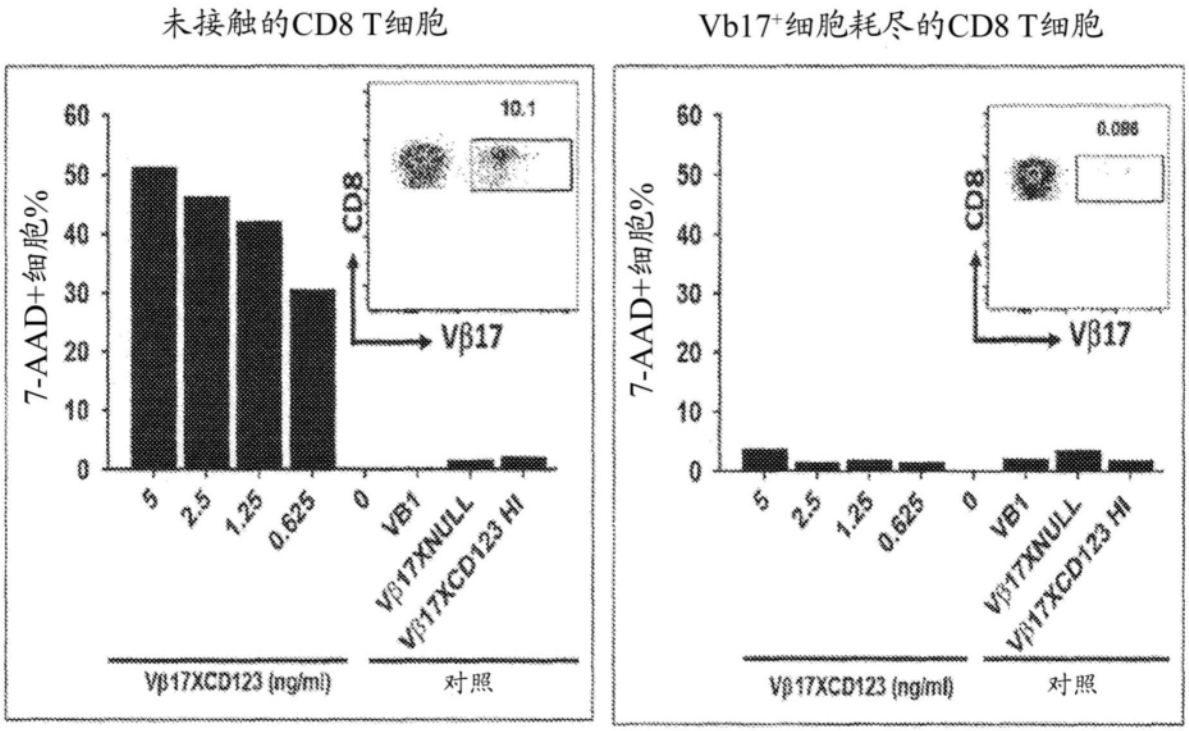

Vβ17未耗尽
Vβ17耗尽
Q1
84.2
Q2
9.31
9.3
Q4
6.40
Q3
0.11
Q1
94.2
Q2
0.10
0.1
Q4
5.73
Q3
0
CD8
Vβ17

图7A



	EC50 (nM)
VB11	12.2
VB13	12.6

图7B



- VB1: NULLXCD123
- Vβ17XCD123 HI: 热变性的Vβ17XCD123（在95℃下保持6分钟）

图8

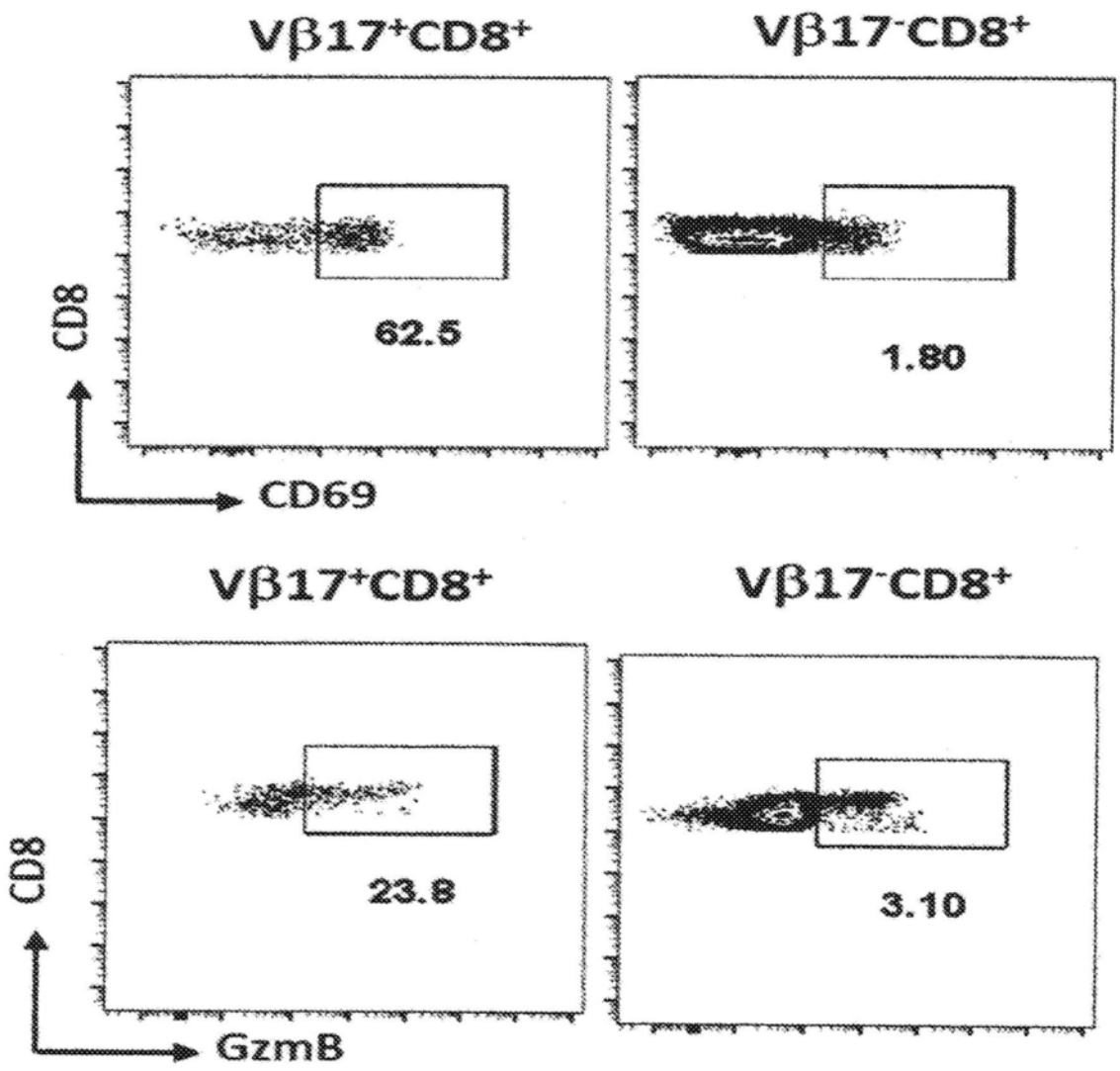

Vβ17+CD8+
Vβ17-CD8+
CD8
62.5
1.80
CD69
Vβ17+CD8+
Vβ17-CD8+
CD8
23.8
3.10
GzmB

图9A

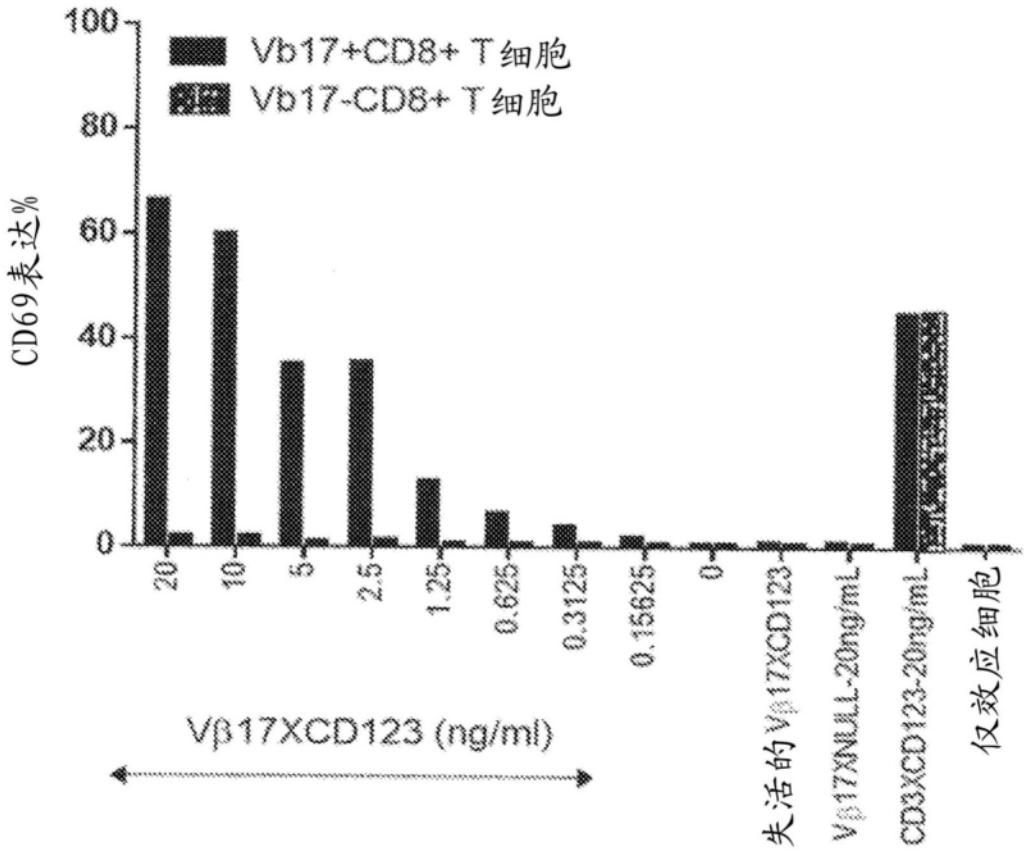

Vb17+CD8+ T细胞
Vb17-CD8+ T细胞
CD69表达%
100
80
60
40
20
0
20
10
5
2.5
1.25
0.625
0.3125
0.15625
0
Vβ17XCD123 (ng/ml)
失活的Vβ17XCD123
Vβ17XNULL-20ng/mL
CD3XCD123-20ng/mL
仅效应细胞

图9B

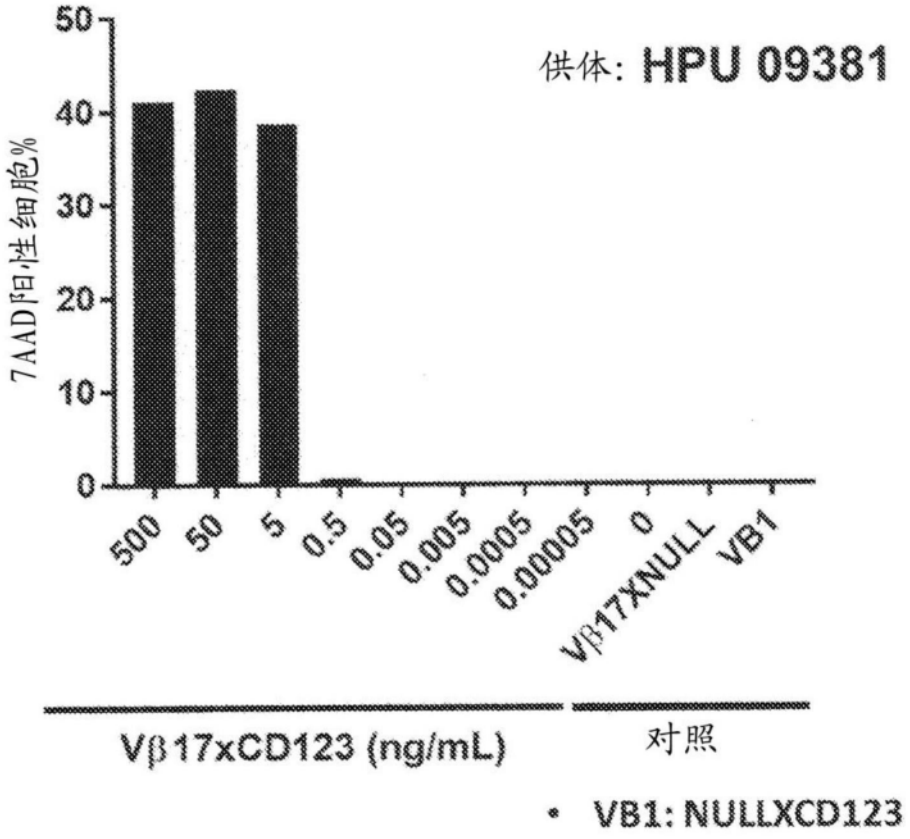

供体: HPU 09381
7AAD阳性细胞%
50
40
30
20
10
0
500
50
5
0.5
0.05
0.005
0.0005
0.00005
0
VB1
Vβ17XNULL
Vβ17xCD123 (ng/mL)
对照
• VB1: NULLXCD123

图10