



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I835794 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 03 月 21 日

(21)申請案號：108116423

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 05 月 13 日

(51)Int. Cl.：

*C07K14/705 (2006.01)**C07K16/28 (2006.01)**C07K14/725 (2006.01)**C12N5/0783 (2010.01)**C12N15/13 (2006.01)**A61K39/395 (2006.01)**A61P35/02 (2006.01)**A61P37/06 (2006.01)**A61K35/17 (2015.01)*

(30)優先權：2018/05/14 美國

62/671,193

(71)申請人：美商昂科 C 4 公司 (美國) ONCOC4, INC. (US)

美國

美國國家兒童醫學中心兒童研究所 (美國) CHILDREN'S RESEARCH INSTITUTE,
CHILDREN'S NATIONAL MEDICAL CENTER (US)

美國

(72)發明人：劉 陽 LIU, YANG (US)；鄭 盼 ZHENG, PAN (US)；弗洛斯 洛恩達 FLORES,
RHONDA (US)；周宏諺 CHOU, HUNG YEN (TW)；戴芬波特 馬汀
DEVENPORT, MARTIN (GB)；薛志紅 XUE, ZHIHONG (CN)；葉佩瑩 YE,
PEIYING (CN)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

WO 2009/063461A1

WO 2013/045112A1

期刊 E Weber et al. Antibodies to the protein core of the small cell
lung cancer workshop antigen cluster-w4 and to the leucocyte
workshop antigen CD24 recognize the same short protein sequence
leucine-alanine-proline. Clin Exp Immunol. 93(2). 1993 Aug.
279-285.期刊 Fumou Sun et al. Engineering a high-affinity humanized anti-
CD24 antibody to target hepatocellular carcinoma by a novel CDR
grafting design. Oncotarget. 8(31). 2017 Apr 19. 51238-51252.

審查人員：張茜毓

申請專利範圍項數：17 項 圖式數：33 共 145 頁

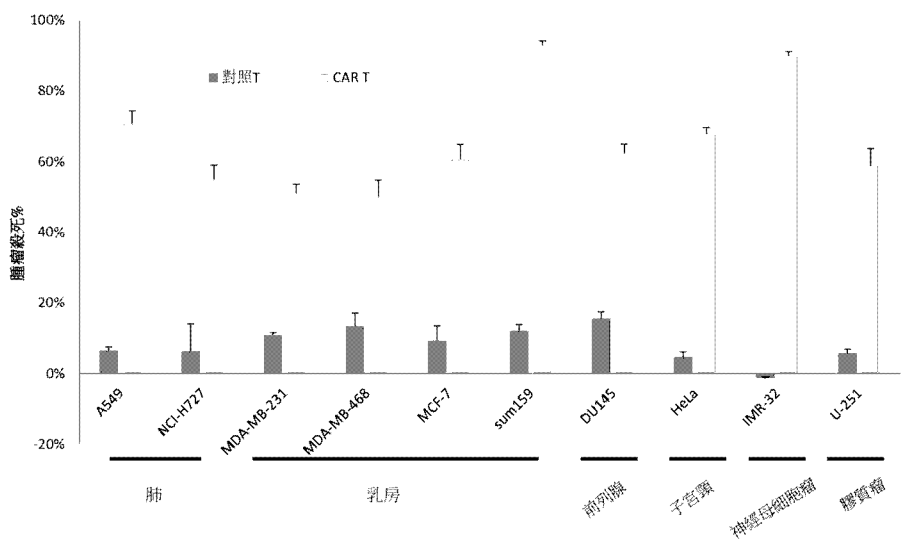
(54)名稱

抗 CD24 組合物及其用途

(57)摘要

本發明提供選擇性結合癌細胞中表現之人 CD24 但不結合非癌細胞中表現之人 CD24 之抗 CD24
抗體，及此抗體在癌症療法中之用途。Provided herein are anti-CD24 antibodies that selectively bind human CD24 expressed in cancer cells,
but not human CD24 expressed in non-cancerous cells, and the use of such antibodies in cancer therapy.

指定代表圖：



【圖26】



I835794

【發明摘要】

【中文發明名稱】

抗CD24組合物及其用途

【英文發明名稱】

ANTI-CD24 COMPOSITIONS AND USES THEREOF

【中文】

本發明提供選擇性結合癌細胞中表現之人CD24但不結合非癌細胞中表現之人CD24之抗CD24抗體，及此抗體在癌症療法中之用途。

【英文】

Provided herein are anti-CD24 antibodies that selectively bind human CD24 expressed in cancer cells, but not human CD24 expressed in non-cancerous cells, and the use of such antibodies in cancer therapy.

【指定代表圖】

圖26

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

抗CD24組合物及其用途

【英文發明名稱】

ANTI-CD24 COMPOSITIONS AND USES THEREOF

【技術領域】

【0001】 本發明係關於選擇性結合癌細胞中表現之人CD24而不結合非癌細胞中表現之人CD24之抗CD24抗體。本發明亦關於此類抗體在癌症治療中之用途。

【先前技術】

【0002】 CD24係一種小的高度糖基化之黏蛋白樣糖基磷脂醯肌醇(GPI)連接之細胞表面蛋白。CD24在造血細胞(包括B細胞、T細胞、嗜中性粒細胞、嗜酸性粒細胞、樹突細胞及巨噬細胞)以及非造血細胞(包括神經細胞、神經節細胞、上皮細胞、角質細胞、肌肉細胞、胰臟細胞及上皮幹細胞)上表現較高程度。一般而言，CD24傾向於在祖細胞及代謝活性細胞中以較高程度表現並在終末分化細胞中表現較少。CD24之功能在大多數細胞類型中尚不清楚，但已報導CD24之多種免疫功能。

【0003】 儘管CD24存在於許多正常組織及細胞類型中，但CD24在近70%的人類癌症中過度表現。藉由免疫組織化學偵測的高程度之CD24表現已在上皮性卵巢癌(83%)、乳癌(85%)、非小細胞肺癌(45%)、前列腺癌(48%)及胰臟癌(72%)中發現。CD24係癌細胞中過度表現最多的蛋白質之一。CD24表現在腫瘤發生中上調，表明其在腫瘤進展及轉移中的作用。CD24在癌症中之過度表現亦被鑑定為指示預後不良之標誌物及癌症

患者之更具侵襲性之疾病過程。在乳癌中，CD24之表現在浸潤性癌中顯著高於良性或癌前病變。在非小細胞肺癌中，CD24表現已被鑑定為患者總體存活期之獨立標誌物。此外，在食管鱗狀細胞癌中，CD24過度表現提示腫瘤淋巴結轉移、腫瘤分級差以及存活時間縮短。在許多其他癌症(包括結腸癌、肝細胞癌、膠質瘤、卵巢癌及前列腺癌)中發現類似的觀察結果。雖然CD24已被大量用作癌症的預後標誌物，但由於其在正常細胞類型中之表現及潛在毒性，其尚未被用作可成為癌症治療之潛在靶標之新抗原。

【0004】 成熟的CD24係31個胺基酸之小型高度糖基化之唾液酸糖蛋白，具有16個潛在O-糖基化位點及2個預測的N-糖基化位點。糖基化係蛋白質最複雜的轉譯後修飾之一。已知從正常糖基化途徑發生的轉變發生在許多癌細胞中，導致聚醣表現改變並導致許多細胞蛋白之超糖基化或低糖基化。在癌細胞中發現的改變的糖基化模式係許多促成因素之結果，包括轉錄水平之調節異常、糖基化期間伴侶蛋白之失調、及糖苷酶及糖轉移酶活性之改變。腫瘤相關聚醣變化包括N-聚醣分支變長或變短、O-聚醣之密度變高或變低、正常對應物(Tn、sTn及T抗原)之截短形式之產生、及具有唾液酸及岩藻糖(sLea及sLex抗原決定基)之末端結構之不尋常形式之產生。

【0005】 因此，本技術需要鑑定及治療癌症之改良的方法，特別係能夠區分癌細胞與非癌細胞之方法及組合物。

【發明內容】

【0006】 本文提供單株抗CD24抗體，其與CD24的結合被存在於正常細胞中但不存在於癌細胞中之糖基化阻斷。其抗體可結合至暴露於癌細

胞上但不暴露於非癌細胞上之聚醣屏蔽的抗原決定基。抗體可結合至包含 SEQ ID NO: 48 中描述之序列之肽。

【0007】 在另一個態樣中，單株抗體可結合至癌細胞，對非癌細胞具有最小的反應性或沒有反應性。

【0008】 在另一個態樣中，單株抗體可結合腫瘤細胞，對非腫瘤細胞具有最小的反應性或沒有反應性。

【0009】 在另一個態樣中，單株抗體可結合至循環癌細胞，對造血細胞具有最小的反應性或沒有反應性。

【0010】 在另一個態樣中，單株抗體不能結合缺乏癌症特異性糖基化模式之細胞上之 CD24，但可結合具有癌症特異性糖基化模式之細胞上之 CD24。

【0011】 在另一個態樣中，可係醫藥組合物的組合物包含單株抗體或其一或多個抗原結合片段。

【0012】 在另一個態樣中，該組合物係用於藉由抗體介導之細胞毒性(ADCC)殺死癌細胞。

【0013】 在另一個態樣中，該組合物係用於藉由抗體介導之細胞吞噬作用(ADCP)殺死癌細胞。

【0014】 在另一個態樣中，該組合物係用於藉由組合的 ADCC 及 ADCP 殺死癌細胞。

【0015】 在另一個態樣中，該組合物包含嵌合抗原受體 T 細胞，其可用於賦予 T 細胞癌細胞特異性。

【0016】 在另一個態樣中，該組合物包含單株抗體 3B6。

【0017】 在另一個態樣中，該組合物包含單株抗體，其包含 SEQ ID

NO: 1及2中描述之序列。

【0018】 在另一個態樣中，該組合物包含藉由單株抗體3B6之親和力成熟衍生之單株抗體。

【0019】 在另一個態樣中，該組合物包含單株抗體，該單株抗體包含選自SEQ ID NO: 3-10中描述之序列中之任一者之重鏈。

【0020】 在另一個態樣中，該組合物包含單株抗體，其包含選自SEQ ID NO: 11-16中描述之序列中之任一者之輕鏈。

【0021】 在另一個態樣中，該組合物包含藉由單株抗體3B6之親和力成熟衍生之單株抗體PP6373。

【0022】 在另一個態樣中，該組合物包含單株抗體，其包含SEQ ID NO: 6及16中描述之序列。

【0023】 在另一個態樣中，該組合物包含藉由人類化單株抗體PP6373衍生之單株抗體。

【0024】 在另一個態樣中，該組合物包含單株抗體，其包含選自SEQ ID NO: 29-32中描述之序列中之任一者之重鏈。

【0025】 在另一個態樣中，該組合物包含單株抗體，其包含選自SEQ ID NO: 33-36中描述之序列中之任一者之輕鏈。

【0026】 在另一個態樣中，該醫藥組合物包含藉由人類化單株抗體PP6373衍生之單株抗體H2L3。

【0027】 在另一個態樣中，該醫藥組合物包含藉由人類化單株抗體PP6373衍生之單株抗體H3L3。

【0028】 在另一個態樣中，該組合物包含單株抗體，其包括包含SEQ ID NO: 30中描述之序列之重鏈可變序列及包含SEQ ID NO: 35中描

述之序列之輕鏈可變區。

【0029】 在另一個態樣中，該組合物包含單株抗體，其包括包含SEQ ID NO: 31中描述之序列之重鏈可變區及包含SEQ ID NO: 33中描述之序列之輕鏈可變區。

【0030】 在另一個態樣中，該組合物包含單鏈單株抗體，其包含SEQ ID NO: 17中描述之序列。

【0031】 在另一個態樣中，該組合物包含雙特異性抗體，其包括包含抗CD24抗體或其抗原結合片段之第一抗體域、及包含第二抗體或其抗原結合片段之第二抗體域。雙特異性抗體可用於橋接需要治療或預防癌症的患者之癌症及免疫效應T細胞。

【0032】 在另一個態樣中，第二抗體域具有與第一抗體域不同的結合特異性。

【0033】 在另一個態樣中，第二抗體域將免疫效應T細胞吸引至癌細胞。

【0034】 在另一個態樣中，第二抗體或其抗原結合片段結合CD3。

【0035】 在另一個態樣中，第二抗體或其抗原結合片段結合TCR- α 鏈、TCR- β 鏈、TCR- γ 鏈或TCR- δ 鏈。

【0036】 在另一個態樣中，第一抗體域包括包含SEQ ID NO: 17中描述之序列之抗體及第二抗體域包含SEQ ID NO: 18中描述之序列。

【0037】 在另一個態樣中，第一抗體域包括包含SEQ ID NO: 23-27及37-41中描述之序列中之任一者之抗體。

【0038】 在另一個態樣中，包含雙特異性抗體之組合物可用於藉由抗體介導之細胞毒性(ADCC)治療癌細胞。

【0039】 在另一個態樣中，該組合物包含具有增強之ADCC活性之雙特異性抗體。

【0040】 在另一個態樣中，該組合物包含雙特異性抗體，其係用於藉由抗體介導之細胞吞噬作用(ADCP)治療癌細胞。

【0041】 在另一個態樣中，該組合物包含雙特異性抗體，其具有增強之ADCP活性。

【0042】 在另一個態樣中，該組合物包含用於免疫療法中之嵌合抗原受體，其中該受體包含單鏈抗體，該單鏈抗體包含SEQ ID NO: 1-36中描述之序列中之任一者。

【0043】 在另一個態樣中，該嵌合抗原受體係用於免疫療法中，其中該受體包含單鏈抗體，其包含SEQ ID NO: 28中描述之序列。

【0044】 在另一個態樣中，該醫藥組合物係結合第二抗癌療法使用。

【0045】 本文提供一種治療有此需要的患者之癌症之方法，其包括對患者投與本文所述的抗體、雙特異性抗體、嵌合抗原受體或組合物中之任何一者或多者，其中該癌症為肺癌、肝癌、腦癌、子宮頸癌、卵巢癌、腎癌、睪丸癌、前列腺癌或神經母細胞瘤。癌症可結合至本文所述的抗CD24抗體組合物。

【0046】 本文進一步提供藉由使用抗CD24抗體組合物診斷惡性組織或轉移病灶之方法。抗CD24抗體組合物可以高於臨限值量的濃度結合惡性組織或轉移病灶，高於臨限值量的濃度可指示惡性組織或轉移病灶。

【0047】 本文亦提供使用抗CD24抗體組合物鑑定循環癌細胞之方法。抗CD24抗體組合物可以高於臨限值量的濃度結合循環癌細胞，高於

臨限值量的濃度可指示循環癌細胞。本文進一步提供本文所述的組合物在製造用於治療本文所述的疾病或病症之藥物中之用途。

【圖式簡單說明】

【0048】 圖1. ELISA結果之條形圖指示抗CD24單株抗體3B6之結合受到聚醣存在之阻礙，而市售的抗CD24單株抗體ML5則不然。3B6強烈結合至剝離N-聚醣及唾液酸修飾的CD24 (N-SA-CD24)及剝離N-聚醣、唾液酸及O-聚醣修飾的CD24 (N-SA-O-CD24)，但非常弱地結合至剝離N-聚醣修飾的CD24 (N-CD24)或完全修飾的(N-聚醣+唾液酸+O-聚醣修飾)CD24。CD24GST代表陰性對照CD24-GST融合體。

【0049】 圖2A-B. 結合分析指示3B6結合至神經母細胞瘤細胞系及神經管胚細胞瘤腫瘤。圖2A. 針對6種神經母細胞瘤細胞系IMR32、SK-N-SH、SH-SY5Y、SK-N-BE(2)、SK-N-AS及SK-N-BE(2)C測試抗CD24單株抗體ML5、3B6及SN3及對照抗體之標準化親和力圖。儘管3B6對除SK-N-AS之外的所有神經母細胞瘤細胞系具有一定的親和力，但3B6之親和力相對於市售的抗CD24抗體ML5 (BD Bioscience Cat#555426)及SN3 (Thermo Fisher Cat#MA5-11833)顯著降低。圖2B. 3B6治療4種神經管胚細胞瘤之螢光顯影圖。3B6結合4個腫瘤中的3個。

【0050】 圖3. 比較3B6之變體阻斷3B6結合至CD24-GST融合蛋白之能力之競爭性ELISA之圖。PP6226具有與3B6相同的可變區。

【0051】 圖4. 比較3B6之變體阻斷3B6結合至CD24-GST融合蛋白之能力之競爭性ELISA之圖。PP6226具有與3B6相同的可變區。

【0052】 圖5. 比較3B6之變體阻斷3B6結合至CD24-GST融合蛋白之能力之競爭性ELISA之圖。PP6226具有與3B6相同的可變區。

【0053】 圖6. ELISA結果之條形圖指示親和力成熟嵌合抗CD24抗體對CHO細胞表現的CD24之相對親和力。相對於3B6(PP6226)，該等純系中的12個顯示增加的親和力及對完全糖基化的CD24、N-CD24、SA-CD24及N-SA-CD24之不同特異性。

【0054】 圖7. 針對肺癌細胞系NCI-H727(左圖)及神經母細胞瘤細胞系IMR32(右圖)測試的各種親和力成熟嵌合抗CD24抗體之滴定分析。測試的最大抗體濃度為5 $\mu\text{g/ml}$ ，滴定因子為2X，最小濃度為0.01 $\mu\text{g/ml}$ 。亦顯示未染色的(0 $\mu\text{g/ml}$)陰性對照。

【0055】 圖8. 不同CD24糖型及抗CD24抗體之間結合的定量比較：親本PP6229與親和力成熟的PP6373。將去除Fc之CD24塗佈於ELISA板上，及然後在加入給定劑量之PP6626(左圖)或PP6373(右圖)之前用緩衝液(CD24)、NanA(SA-)或NanA+N-葡聚糖酶(SA-N-)處理。測試的最大濃度為7812.50 ng/ml，滴定因子為5x，最小濃度為0.02 ng/ml。

【0056】 圖9. 藉由肽抑制分析定位3B6結合位點。在測試的五種重疊CD24肽中，僅一種(肽4)包含抗原性抗原決定基。

【0057】 圖10. 藉由肽抑制分析定位PP6373結合位點。在測試的五種重疊CD24肽中，僅一種(SNSGLAPNT(SEQ ID NO: 46))包含抗原性抗原決定基。

【0058】 圖11.以來自肽4抗原性抗原決定基序列之截短肽定位PP6373抗原決定基。資料指示最佳抗原決定基包含在序列SNSGLAPN(SEQ ID NO: 48)中。

【0059】 圖12. 圖指示PP6373在小鼠模型中減少體內腫瘤生長。具有可觸知之肺癌異種移植物之裸小鼠在箭頭指示的兩個時間點接受對照人

IgG或PP6373，隨後每週測量腫瘤之生長。

【0060】 圖13. 圖指示PP6373誘導針對人癌細胞系H727之細胞毒性(ADCC)。用5 $\mu\text{g/ml}$ 之PP6373及人IgG FC與效應細胞PBL共培養之H727細胞誘導ADCC。

【0061】 圖14. 圖指示沒有核心岩藻糖基化之PP6373(d6873)誘導針對人癌細胞系H727之ADCC高於PP6373。用5 $\mu\text{g/ml}$ 之d6373、PP6373及人IgG FC與效應細胞PBL共培養之H727細胞誘導ADCC。

【0062】 圖15. 流動式細胞測量術圖指示PP6373孔及OKT3結組合顯示比PP6373結及OKT3孔更高的雙特異性。將Jurkat細胞用經PP6373、OKT3、PP6373結& OKT3孔、或PP6373孔& OKT3結轉染之293T細胞之組織培養上清液染色，然後用生物素化SA-N-CD24蛋白培養。藉由流動式細胞測量術測量PE-鏈黴親和素信號。進行三次獨立實驗。

【0063】 圖16. 流動式細胞測量術圖指示PP6373-OKT3比OKT3-PP6373誘導更高的雙特異性活性。用經空質體(陰性對照)、PP6373-OKT3或OKT3-PP6373轉染之293T細胞之組織培養上清液染色Jurkat細胞，然後用生物素化SA-N-CD24蛋白培養。藉由流動式細胞測量術測量PE-鏈黴親和素信號。進行三次獨立實驗。

【0064】 圖17. 流動式細胞測量術圖指示雙特異性抗體PP6373-OKT3具有抗腫瘤活性。將肺癌細胞H727及經活化之人類T細胞用未處理的293T細胞之組織培養上清液以1:5培養或用空質體(未轉染的)、PP6373、OKT3、PP6373-OKT3轉染12小時。藉由流動式細胞測量術測量組織培養基中之細胞介素(IFN γ 、TNF、IL10、IL6、IL4及IL2)。進行三次獨立實驗。

【0065】 圖18. 流動式細胞測量術圖指示雙特異性抗體PP6373-OKT3藉由T細胞誘導腫瘤細胞之細胞毒性。將肺癌細胞H727及經活化之人類T細胞用未處理的293T細胞之組織培養上清液以1:5培養或用空質體(未轉染的)、PP6373、OKT3、PP6373-OKT3轉染12小時。收集肺癌細胞及人類T細胞並用抗人類CD45及活/死試劑Aqua染色。將腫瘤細胞數繪製為抗CD45及Aqua之雙陰性。進行三次獨立實驗。

【0066】 圖19. FIT-Ig之流動式細胞測量術分析誘導高雙特異性活性。用陰性對照(未轉染之293T上清液)或FIT-Ig染色Jurkat細胞，然後用生物素化SA-N-CD24蛋白培養。藉由流動式細胞測量術測量PE-鏈黴親和素信號。進行三次獨立實驗。

【0067】 圖20. 流動式細胞測量術分析指示FIT-Ig具有比PP6373-OKT3及OKT3-PP6373更高的抗腫瘤活性。將肺癌細胞H727及經活化之人T細胞用陰性對照(未轉染之293T上清液)、PP6373-OKT3、OKT3-PP6373或FIT-Ig以1:5培養12小時。藉由流動式細胞測量術測量組織培養基中之細胞介素(IFN γ 、TNF、IL10、IL6、IL4及IL2)。進行三次獨立實驗。

【0068】 圖21. 流動式細胞測量術分析指示FIT-Ig藉由T細胞誘導腫瘤細胞之細胞毒性。將肺癌細胞H727及經活化之人T細胞用陰性對照(未轉染之293T上清液)、PP6373-OKT3、OKT3-PP6373或FIT-Ig以1:5培養12小時。收集肺癌細胞及人類T細胞並用抗人類CD45及活/死試劑Aqua染色。將腫瘤細胞數繪製為抗CD45及Aqua之雙陰性。進行三次獨立實驗。

【0069】 圖22. 流動式細胞測量術分析指示FIT-Ig具有比PP6373-OKT3及OKT3-PP6373更高的熱穩定性。將所有雙特異性抗體PP6373-

OKT3、OKT3-PP6373及FIT-Ig在指定溫度下培養20分鐘，並將在14000 g下旋轉5分鐘後的上清液用於Jurkat細胞染色。然後將生物素化SA-N-CD24蛋白與Jurkat細胞一起培養並藉由流動式細胞測量術測量PE-鏈黴親和素信號。

【0070】 圖23. 包含抗CD24-scFv之CarT構築體之示意圖。

【0071】 圖24. CD24 CART誘導的對肺癌細胞系A549之細胞毒性的圖。

【0072】 圖25. 藉由IFN γ 之產生證實的腫瘤細胞系活化CART的圖。

【0073】 圖26. CD24 CART針對各種腫瘤類型之抗腫瘤活性的條形圖。所提供資料的E/T比為5。

【0074】 圖27. 嵌合PP6373(FR：白色，CDR：淺灰色)及huVHv1VLv1(FR：灰色，CDR：深灰色)之三維結構比對的帶狀圖。

【0075】 圖28. 不同抗體對用於表現並結合至CD24-GST之相對有效性的圖。

【0076】 圖29. H2L3及H3L3結合至人癌細胞系NCI-H727(上圖)及IMR32(下圖)的圖。顯示的資料係使用多種抗體時之平均螢光強度。

【0077】 圖30. 細胞死亡圖指示在低濃度下HL33在ADCC方面比PP6373更有效。肺癌細胞系A549用作靶標，而人類PBL用作效應子。所使用抗體的劑量為3 μ g/ml(上圖)或9 μ g/ml(下圖)。

【0078】 圖31. 細胞死亡圖指示H3L3賦予多種腫瘤細胞系(包括肺癌細胞系A549及NCI-H727及神經母細胞瘤細胞系IMR-32)有效的ADCC活性。人類PBMC用作效應細胞。

【0079】 圖32. 細胞死亡圖指示H3L3賦予多種腫瘤細胞系(包括肺癌細胞系A549及NCI-H727及神經母細胞瘤細胞系IMR-32)有效的ADCC活性。從人類PBMC純化之NK細胞用作效應細胞。

【0080】 圖33. 流動式細胞測量術分析指示識別聚糖屏蔽之抗原決定基之抗體不識別B細胞、紅血球，並與嗜中性粒細胞相互作用不良。

【實施方式】

【0081】 靶向癌症表現之抗原決定基係一種用於治療癌症之廣泛採用的方法。然而，許多此類抗原決定基不能產生良好的藥物靶標，因為其等亦表現於正常組織上，此可能導致毒性問題。理想的腫瘤特異性抗原(TSA)將在癌症中具有廣泛表現，但在基本宿主器官中表現很少或不表現。不太理想但同樣可行之TSA之特徵係在正常組織及癌組織中表現但差異修飾之TSA，即所謂的腫瘤相關抗原(TAA)。充分表徵的腫瘤抗原之實例為MAGE-A3、MUC-1及NY-ESO 1。

【0082】 鑑定新穎的TSA及TAA係開發新穎的或更有效的癌症療法之限制因素，特別係對於彼等目前不存在腫瘤抗原之癌症。CD24係一個很好的癌症標靶，原因如下：其在全部人類癌症的超過70%中廣泛過度表現並在癌症中差異糖基化，其似乎係致癌的並與各種癌症之不良預後相關並顯著縮短患者存活期，及其係藉由引起新的腫瘤可引起復發及轉移之癌症幹細胞之標誌物。本發明人已發現抗CD24抗體，其對CD24的結合被正常細胞中發生但不在癌細胞中發生的糖基化阻斷。因此，抗體結合至癌細胞系及癌組織，但對各種正常組織及造血細胞之反應性最小。

【0083】 本文提供抗體及其抗原結合片段。抗體可係單株抗體、人類抗體、嵌合抗體或人類化抗體。抗體可係單特異性的、雙特異性的、三

特異性的或多特異性的。抗體之抗原結合片段可免疫特異性結合至CD24，且特別係人類CD24，較佳以內源或轉染濃度表現在活細胞之表面上。抗原結合片段可結合至CD24。抗體可被可偵測地標記，或可包含經共軛之毒素、藥物、受體、酵素或受體配體。

【0084】除直接腫瘤靶向外，免疫系統亦具有識別及消除實驗模型系統及患者中癌症之能力。因此，癌症免疫療法正在成為最有希望的癌症療法領域之一。活性癌症免疫療法涉及擴增天然免疫反應之藥劑(包括針對PD-1、PD-L1或CTLA-4之抗體)；雙特異性分子，諸如橋接癌症及免疫效應T細胞之抗體；或使用離體刺激之腫瘤浸潤淋巴細胞(TIL)、經活化之自然殺手(NK)細胞或基因工程化T細胞(嵌合抗原受體(CAR)及T細胞受體(TCR)修飾之T細胞)之過繼細胞轉移(ACT)。許多此類技術需要腫瘤靶向組分以獲得特異性及效力。

1. 定義

【0085】本文使用的術語僅用於描述特定實施例之目的且無意係限制性的。如本說明書及隨附申請專利範圍中所用，單數形式「一」、「一個」及「該」包括複數指示物，除非本文清楚地另作指明。與數值連用的詞語「約」表示該值之合理近似值。在某些情況下，「約」可被解釋為在與其相關的特定值的多達10%以內。例如，片語「約100」將包含在90與110之間的任何值。

【0086】對於本文中數字範圍的敘述，明確考慮其間具有相同精度的每個中間數。例如，對於6-9的範圍，除了6及9之外亦考慮數字7及8，及對於範圍6.0-7.0，明確考慮數字6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9及7.0。

【0087】 當提及保護動物免於疾病時，「治療(Treatment)」或「治療(treating)」意指預防、抑制、壓制或完全消除疾病。預防疾病涉及在疾病發作之前對動物投與本發明之組合物。抑制疾病涉及在誘導疾病之後但在其臨床表現之前對動物投與本發明之組合物。壓制疾病涉及在疾病臨床表現之後對動物投與本發明之組合物。

【0088】 如本文所用，術語「抗體」意欲表示具有「可變區」抗原識別位點之免疫球蛋白分子。術語「可變區」意欲將免疫球蛋白之此域與抗體廣泛共有的域(諸如抗體Fc域)區分。可變區包含「超變區」，其殘基負責抗原結合。超變區包含「互補決定區」或「CDR」之胺基酸殘基(亦即，通常在輕鏈可變域中大約殘基24至34(L1)、50至56(L2)及89至97(L3)及在重鏈可變域中大約殘基27至35(H1)、50至65(H2)及95至102(H3))及/或「超變環」之殘基(亦即，輕鏈可變域中之殘基26至32(L1)、50至52(L2)及91至96(L3)及重鏈可變域中之26至32(H1)、53至55(H2)及96至101(H3))。「框架區」或「FR」殘基為本文定義的超變區殘基之外的可變域殘基。術語抗體包括單株抗體、多特異性抗體、人類抗體、人類化抗體、合成抗體、嵌合抗體、駱駝科(camelid)抗體、單鏈抗體、二硫鍵連接之Fvs (sdFv)、胞內抗體(intrabody)，及抗遺傳型(anti-idiotypic)(抗Id)抗體(包括例如針對本發明抗體之抗Id及抗抗Id抗體)。特別地，此等抗體包括任何類型(例如IgG、IgE、IgM、IgD、IgA及IgY)、類別(例如IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁及IgA₂)或亞類之免疫球蛋白分子。

【0089】 如本文所用，術語抗體之「抗原結合片段」係指抗體之一或多個部分，其包含抗體之CDR及視需要之包含抗體「可變區」抗原識別

位點之框架殘基，並展現免疫特異性結合抗原之能力。此等片段包括 Fab'、F(ab')₂、Fv、單鏈(ScFv)及其突變體、天然存在之變體，及包含抗體「可變區」抗原識別位點及異源蛋白(例如毒素、用於不同抗原之抗原識別位點、酵素、受體或受體配體等)之融合蛋白。如本文所用，術語「片段」係指包含至少5個連續胺基酸殘基、至少10個連續胺基酸殘基、至少15個連續胺基酸殘基、至少20個連續胺基酸殘基、至少25個連續胺基酸殘基、至少40個連續胺基酸殘基、至少50個連續胺基酸殘基、至少60個連續胺基酸殘基、至少70個連續胺基酸殘基、至少80個連續胺基酸殘基、至少90個連續胺基酸殘基、至少100個連續胺基酸殘基、至少125個連續胺基酸殘基、至少150個連續胺基酸殘基、至少175個連續胺基酸殘基、至少200個連續胺基酸殘基或至少250個連續胺基酸殘基之胺基酸序列之肽或多肽。

【0090】 人類抗體、嵌合抗體或人類化抗體尤佳用於人體內，然而，鼠類抗體或其他物種的抗體可有利地用於許多用途(例如，體外或原位偵測分析、急性體內使用等)。

【0091】 「嵌合抗體」係其中抗體之不同部分衍生自不同免疫球蛋白分子之分子，諸如具有衍生自非人類抗體之可變區及人類免疫球蛋白恆定區之抗體。包含來自非人類物種之一或多個CDR及來自人免疫球蛋白分子之框架區之嵌合抗體可使用本技術中已知的多種技術產生，包括(例如) CDR-移植(EP 239,400；國際公開案第WO 91/09967號；及美國專利第5,225,539號、第5,530,101號及第5,585,089號，其各自的內容係以全文的方式併入本文中)、飾面或表面重修(EP 592,106；EP 519,596，其各自的內容係以引用的方式併入本文中)及鏈改組(美國專利第5,565,332號，其內

容係以引用的方式併入本文中)。

【0092】 如本文所用，術語「人類化抗體」係指免疫球蛋白，其包含人框架區及來自非人類(通常係小鼠或大鼠)免疫球蛋白之一或多個CDR。提供CDR之非人類免疫球蛋白稱為「供體」及提供框架之人類免疫球蛋白稱為「受體」。不需要存在恆定區，但若其等存在，則其等必須與人類免疫球蛋白恆定區實質上相同，亦即，至少約85-90%，較佳約95%或更多相同。因此，除了可能的CDR之外，人類化免疫球蛋白之所有部分與天然人免疫球蛋白序列之對應部分實質上相同。人類化抗體係包含人類化輕鏈及人類化重鏈免疫球蛋白之抗體。例如，人類化抗體不包括典型嵌合抗體，因為，例如，嵌合抗體之整個可變區係非人類的。供體抗體可被稱為已藉由「人類化」過程「人類化」，因為預期所得的人類化抗體結合至與提供CDR之供體抗體相同的抗原。在大多數情況下，人類化抗體為人免疫球蛋白(受體抗體)，其中受體之超變區殘基被來自非人類物種(諸如小鼠、大鼠、兔或具有所需特異性、親和力及能力之非人類靈長類動物)(供體抗體)之超變區殘基置換。在一些情況下，人類免疫球蛋白之框架區(FR)殘基被對應之非人類殘基置換。此外，人類化抗體可包含在受體抗體或供體抗體中未發現的殘基。進行此等修飾以進一步精修抗體性能。一般而言，人類化抗體將包含實質上全部的至少一個(及通常兩個)可變域，其中所有或實質上所有超變區對應於非人類免疫球蛋白之超變區及所有或實質上所有FR為人免疫球蛋白序列之FR。人類化抗體亦視需要包含至少一部分免疫球蛋白恆定區(Fc)，通常，其係免疫特異性結合至FcγRIIB多肽之人類免疫球蛋白的Fc，其藉由引入胺基酸殘基取代、刪除或新增(亦即突變)而被改變。

2. 抗CD24抗體組合物

【0093】 本文描述抗CD24抗體，其可特異性靶向CD24之癌症特異性糖型。抗CD24抗體可用於開發癌症療法，包括(但不限於)：抗體-藥物共軛物、ADCC增強之治療性抗體、雙特異性抗體、CAR-T療法及TCR療法。具體地，抗CD24抗體或其抗原結合片段可結合至暴露於癌細胞但不暴露於非癌細胞之聚糖屏蔽之抗原決定基。及特別地，抗CD24抗體或其抗原結合片段可結合至包含胺基酸序列SNSGLAPN (SEQ ID NO: 48)之CD24肽。

【0094】 抗CD24抗體可係3B6，其可包括包含SEQ ID NO: 1中描述之序列之重鏈可變區及包含SEQ ID NO: 2中描述之序列之輕鏈可變區。抗CD24抗體或其抗原結合片段可係3B6之親和力成熟形式，及可包括包含SEQ ID NO: 3-10中描述之序列中之任一者之重鏈可變區及包含SEQ ID NO: 11-16中描述之序列中之任一者之輕鏈可變區。抗CD24抗體或其抗原結合片段可係PP6373，其可包括包含SEQ ID NO: 6中描述之序列之重鏈可變區及包含SEQ ID NO: 16中描述之序列之輕鏈可變區。對於人類的治療應用，抗CD24抗體或其抗原結合片段可係PP6373之人類化形式及可包括包含SEQ ID NO: 29-32中描述之序列中之任一者之重鏈可變區及包含SEQ ID NO: 33-36中描述之序列中之任一者之輕鏈可變區。特別地，人類化抗CD24抗體或其抗原結合片段可係H2L3，其可包括包含SEQ ID NO: 30中描述之序列之重鏈可變區及包含SEQ ID NO: 35中描述之序列之輕鏈可變區；或可係H3L3，其可包括包含SEQ ID NO: 31中描述之序列之重鏈可變區及包含SEQ ID NO: 35中描述之序列之輕鏈可變區。

3. 抗體-藥物共軛物組合物

【0095】 腫瘤靶向抗體可用於藉由影響腫瘤之生物學來直接阻止或限制腫瘤之生長。例如，人類化抗VEGF單株抗體(貝伐單抗(bevacizumab)；阿瓦斯汀(Avastin))藉由阻止VEGF誘導之腫瘤血管形成來阻斷腫瘤之生長。其他腫瘤靶向抗體用於藉由修飾抗體本身來抑制腫瘤細胞生長或殺死癌細胞。例如，腫瘤靶向免疫共軛物由藉由共價交聯或遺傳融合結合在一起之抗體及效應部分組成。效應部分可係細胞毒性藥物(抗體-藥物共軛物)、蛋白質毒素(免疫毒素)或放射性核素(放射免疫共軛物)。抗體-藥物共軛物之實例為布妥昔單抗維多汀(brentuximab vedotin)(ADCETRIS®，Seattle Genetics)，其由連接至抗有絲分裂劑單甲基奧瑞司他汀E(auristatin E) (MMAE，以藥物名稱中的「維多汀」反映)之三至五個單元之嵌合單株抗體布妥昔單抗(cAC10，其靶向細胞膜蛋白CD30)組成。

【0096】 抗CD24抗體或其抗原結合片段可包含在抗體藥物共軛物、免疫毒素或放射免疫共軛物中。此等組合物之抗CD24靶向組分可允許共軛物特異性遞送至癌細胞及組織，同時限制正常細胞及組織之暴露及因此防止脫靶毒性。

4. ADCC抗體組合物

【0097】 抗CD24抗體或其抗原結合片段、或包含前述中之一者之抗體組合物可用於藉由抗體介導之細胞毒性(ADCC)及抗體介導之細胞吞噬作用(ADCP)中之至少一者刺激癌細胞死亡。ADCC係一種免疫防禦機制，其中身體之一組特定免疫細胞(效應細胞)主動接合並裂解靶細胞(例如病原體)。ADCC已被確定為一種重要的細胞介導之先天免疫反應及作

為抵抗病原體之人體第一線起作用並起到限制及控制感染之作用。ADCC過程被設計成藉由非吞噬過程殺死抗體塗佈之靶細胞，且藉由靶向釋放細胞毒性顆粒或藉由細胞死亡誘導分子之表現來表徵。ADCC通常在宿主之特異性抗體(主要係IgG類)識別並結合靶細胞之膜表面抗原並同時接合效應細胞表面上之Fc受體(FcR)時啟動。介導ADCC之最常見的效應細胞為自然殺手(NK)細胞，儘管單核細胞、巨噬細胞、嗜中性粒細胞、嗜酸性粒細胞及樹突細胞亦能夠介導ADCC反應。儘管ADCC係相當快反應，但效力取決於幾個參數而變化，諸如靶細胞表面上之抗原密度及抗原-抗體相互作用之親和力以及決定抗體與Fc受體家族的不同成員相互作用之Fc片段之特徵。

【0098】 抗體結合至靶細胞上的特定細胞表面受體(稱為調理作用之過程)係ADCC過程之關鍵事件。調理作用過程將吞噬細胞吸引至靶細胞並可能引發吞噬作用。抗體Fc區結合至吞噬細胞上之FcR亦促進C3b (一種補體成分3之切割產物)之形成，其係啟動抗體調理之靶細胞吞噬之重要蛋白質。抗體介導之吞噬作用通常亦稱為抗體依賴性細胞介導之吞噬作用(ADCP)。然而，對於ADCC，病原體不需要被吞噬以被破壞。如上所述，細胞毒性效應細胞表面上之FcR係引發ADCC之關鍵。在人類中，能夠引發ADCC之最重要的FcR類係FcγRI(CD64)、FcγRIIa及FcγRIIc(CD32)、及FcγRIIIa(CD16)。然而，FcγRIIb受體抑制ADCC反應。因此，來自FcγR之活化信號與抑制信號之間的平衡係ADCC反應幅度之重要決定因素。在識別標靶後，細胞毒性效應細胞在鈣依賴性極化胞吐過程中釋放出特化細胞內顆粒(亦稱為分泌性溶酶體)。穿孔蛋白、細胞溶素及顆粒酶B係從顆粒釋放的關鍵組分。穿孔蛋白在靶細胞膜內插入並形成孔。

此過程需要鈣。顆粒酶B引起靶細胞DNA之片段化。藉由ADCC起作用的治療性抗體之一個實例係曲妥珠單抗(trastuzumab)(Herceptin, Genentech)。曲妥珠單抗靶向HER2，其在大量乳癌中以異常高程度表現且通常被稱為HER2陽性乳癌，並藉由在宿主中誘導ADCC來抑制HER2陽性乳癌之生長。

【0099】 用於ADCC介導之活性之抗體通常需要某種修飾以增強其ADCC活性。可用於此的技術有許多，其通常涉及將抗體工程化，使得抗體Fc區中之寡糖不具有任何岩藻糖單元，此改良對FcγRIIIa受體之結合。非岩藻糖基化抗體展示增加的抗體依賴性細胞毒性(ADCC)。例如，Biowa POTELLIGENT®技術使用FUT8基因敲除CHO細胞系來產生100%的非岩藻糖基化抗體。FUT8係編碼α1,6-岩藻糖基轉移酶的唯一基因，α1,6-岩藻糖基轉移酶催化複合型寡糖之α1,6-鍵中之岩藻糖從GDP-岩藻糖轉移至GlcNAc。Probiogen已開發一種CHO細胞系，其係經工程化在MAb上產生較低程度的岩藻糖基化聚醣，儘管不藉由FUT敲除。Probiogen系統引入一種細菌酵素，其將重新岩藻糖合成途徑再定向於不能被細胞代謝之糖核苷酸。作為一種替代方法，Seattle Genetics具有一種專有的饋送系統，其將在產生於CHO(及可能還有其他)細胞系中之MAb上產生較低程度之岩藻糖基化聚醣。Xencor已開發一種XmAb Fc域技術，其係設計成改良免疫系統消除腫瘤及其他病理細胞。該Fc域具有兩個胺基酸變化，導致對FcγRIIIa之親和力高40倍。其亦增加對FcγRIIa之親和力，具有募集其他效應細胞(諸如巨噬細胞)之潛力，其藉由吞噬及消化外來物質而在免疫中起作用。

【0100】 抗CD24抗體或其抗原結合片段可引入至ADCC介導之癌症

殺死抗體中。此種組合物之抗CD24靶向組分可允許癌細胞之特異性遞送靶向用於ADCC介導之破壞，同時保留正常細胞及組織。抗CD24抗體或其抗原結合片段之ADCC活性可藉由本文所述的修飾中之一者或多者來增強。

5. 雙特異性抗體組合物

【0101】 本文進一步提供雙特異性抗體，其包含第一抗體域，第一抗體域包含橋接至第二抗體或其抗原結合片段之第一抗體或其抗原結合片段。第一抗體域可包含本文所述的抗CD24抗體或其抗原結合片段，及第二抗體或其抗原結合片段可結合至其他免疫刺激分子。在一個特定實施例中，第二抗體域包含抗CD3抗體或其抗原結合片段。在此種情況下，雙特異性抗體可特異性靶向表現CD24之癌症特異性糖型之腫瘤細胞，而同時結合至細胞毒性T細胞上之CD3，從而將T細胞吸引至腫瘤部位，由此T細胞將浸潤腫瘤並導致腫瘤細胞毒性。出於將細胞毒性T細胞或其他效應細胞吸引至腫瘤部位之目的而在雙特異性抗體中使用的伴侶抗體之其他實例係本技術中已知的。

【0102】 第二抗體或其抗原結合片段可靶向互補抗腫瘤途徑或機制。第二抗體域可包含癌症免疫療法抗體或其抗原結合片段，其擴增天然免疫反應。此類癌症免疫療法抗體之實例包括抗PD-1、抗B7-H1、抗B7-H3、抗B7-H4、抗LIGHT、抗LAG3、抗TIM3、抗TIM4、抗CD40、抗OX40、抗GITR、抗BTLA、抗CD27、抗ICOS或抗4-1BB。此類抗體可用於治療癌症。第二抗體或其抗原結合片段可結合TCR- α 鏈、TCR- β 鏈、TCR- γ 鏈或TCR- δ 鏈。

【0103】 雙特異性抗體可包含SEQ ID NO: 17及18中描述之序列、

或SEQ ID NO: 23-27及37-41中描述之序列中之任一者。

【0104】 本技術中已知有許多不同的雙特異性抗體技術。其中大多數需要2種成分抗體為單鏈形式，因此此兩部分可在單一構築體中表現。一種較佳方法係將抗體表現為單鏈可變片段(scFv)。雙特異性抗體技術之非限制性實例包括BiTE(用於Bi特異性T細胞接頭)、DART(用於雙親和性再靶向)、串聯Fab免疫球蛋白(FIT-Ig)及結進孔(knob-into-hole)。本文特別考慮包含抗CD24抗體或其抗原結合片段之此類雙特異性抗體。

6. CAR-T治療組合物

【0105】 嵌合抗原受體(CAR)T細胞療法或CAR-T療法係一種細胞治療，其中癌症患者T細胞經離體遺傳修飾以表現CAR蛋白，因此其等將攻擊癌細胞。特定言之，T細胞取自患者血液，其特定言之可係患者自身的血液(自體)，並用表現重組CAR受體之基因構築體轉染。然後在實驗室中生長大量CAR T細胞並輸注回至患者體內，在此處其可靶向並破壞患者的癌細胞。T細胞亦可係與匹配的供體或來自通用或「現成」的T細胞系同種異體的，其中同種異體T細胞之TCR基因及HLA I類基因座中之一者或多者被破壞及所得的T細胞不能識別同種異體抗原。

【0106】 CAR蛋白構築體具有通常包含以下核心組分之模組化結構：細胞外單鏈可變片段(scFv)，其係衍生自抗體，接合至鉸鏈/間隔肽及跨膜域，其進一步連接至T細胞受體之細胞內T細胞信號傳導域。scFv係靶向元件且表現在CAR T細胞之表面上以賦予抗原特異性。間隔物將細胞外靶向元件連接至跨膜域並影響CAR功能及scFv自由度。跨膜域穿過細胞膜，將CAR錨定至細胞表面，並將細胞外域連接至細胞內信號傳導域，從而影響CAR在細胞表面上之表現。共刺激域衍生自共刺激蛋白之細胞內

信號傳導域，諸如CD28及4-1BB，其增強細胞因子之產生。CD3 ζ 域衍生自T細胞受體之細胞內信號傳導部分，其在T細胞活化期間介導下游信號傳導。CAR-T療法之實例包括彼等靶向B細胞表面抗原CD19(諸如JCAR017及JCAR014 [Juno Therapeutics])、CTL019 (tisagenlecleucel-T(Kymriah™) [Novartis])及KTE-C19 (axicabtagene ciloleucel (Yescarta®) [Kite Pharma])及CD22(JCAR014 [Juno Therapeutics])的CAR-T療法。CAR-T療法之其他實例包括彼等靶向L1-CAM(JCAR023 [Juno Therapeutics])、ROR-1 (JCAR024 [Juno Therapeutics])及MUC16 (JCAR020 [Juno Therapeutics])之CAR-T療法。

【0107】 CAR之scFv部分係關鍵組分及其確保對癌細胞之特異性，同時防止對正常細胞之活性，此與脫靶毒性相關。因此，scFv部分通常衍生自識別在癌細胞上特異性表現但在其他細胞及組織上更不頻繁表現或理想地根本不表現之靶蛋白之抗體部分。因此，衍生自本文所述的抗CD24抗體中之任何者之scFv片段可用作重組CAR蛋白之癌症靶向組分。特定言之，scFv蛋白可包含SEQ ID NO: 28中描述之序列。

【0108】 已證實CAR T細胞對血液腫瘤(諸如急性淋巴母細胞白血病(ALL)、B細胞急性淋巴母細胞白血病、成人骨髓性白血病(AML)、瀰漫性大B細胞淋巴瘤(DLBCL)、非霍奇金(Hodgkin)淋巴瘤(NHL)、慢性淋巴球性白血病(CLL)、原發性縱隔B細胞淋巴瘤(PMBCL)、套細胞淋巴瘤(MCL)及多發性骨髓瘤(MM))具有顯著效果。然而，CAR-T療法迄今為止僅證實對實體瘤的有限作用。由於CD24在腫瘤及正常組織中之特徵性表現模式，使用CD24 CAR-T產生的資料已證實可靶向的癌症之類型包括(但不限於)腦腫瘤、頭頸癌、肉瘤、肺癌、胃腸癌、乳癌、睪丸癌、前列

腺癌、胰臟癌、子宮頸癌、卵巢癌、肝癌或血液性惡性病。

7. TCR治療組合物

【0109】與CAR-T療法類似，遺傳修飾之T細胞受體療法(TCR)係一種細胞治療，其中癌症患者T細胞經離體遺傳修飾以表現修飾之TCR，以改良T細胞受體當其等被輸注回至患者體內時識別並攻擊特異性抗原細胞抗原之能力。然而，不像識別表面上表現的蛋白質之CAR T細胞，使用遺傳修飾之TCR之T細胞免疫療法更多地針對實體瘤。TCR可識別細胞內部的腫瘤特異性蛋白質。當腫瘤特異性蛋白質被分解成片段時，其等會在細胞表面出現稱為主要組織相容性複合物或MHC之另一種蛋白質。TCR經工程化以識別腫瘤特異性蛋白質片段/MHC組合。TCR修飾之T細胞之靶標之實例包括彼等靶向MAGE-A3之靶標，諸如KITE-718 (Kite Pharma)、Wilms腫瘤抗原 1 (WT-1)，諸如JTCR016 (Juno Therapeutics)、及NY-ESO 1。

【0110】TCR係由兩個亞單元TCR α 及TCR β 組成之異二聚體。每個亞單元包含位於T細胞膜旁邊並將受體錨定至細胞膜之恆定區、及在抗原識別中起作用之超變區。因此，衍生自本文所述的抗CD24抗體中之任一者之scFv片段可用作重組TCR蛋白之癌症靶向組分。特定言之，scFv蛋白可包含SEQ ID NO: 28中描述之序列。

8. 肽組合物

【0111】本文所述的抗CD24抗體或其抗原結合片段可結合至暴露於癌細胞而非暴露於非癌細胞之聚糖屏蔽抗原決定基。明確言之，抗CD24抗體或其抗原結合片段可結合至包含胺基酸序列SNSGLAPN(SEQ ID NO: 48)之CD24肽。因此，包含SEQ ID NO: 48中描述之序列之肽可

用於中和結合至包含SEQ ID NO: 48中描述之序列之核心序列之抗原決定基之抗CD24抗體。此可用於抗藥物抗體分析以偵測中和抗體。包含SEQ ID NO: 48中描述之序列之肽可用於抑制與結合至包含SEQ ID NO: 48中描述之序列核心之抗原決定基之抗體相關的潛在不利影響。該肽可使用本技術中已知的方法修飾以獲得更好的體內穩定性，包括(但不限於)使用D-胺基酸、在一或多個肽鍵中用S置換O、新增融合序列以改良溶解度或半衰期(例如白蛋白融合)。在又另一個實施例中，包含SEQ ID NO: 48中描述之序列之分子可用作用於治療及預防癌症之疫苗。

9. 治療方法

【0112】 本文所述的抗CD24抗體組合物或包含此類抗體組合物之細胞療法可用於治療或預防癌症或另一異常增殖性疾病。本文提供此種用於有此需要的患者之方法，其可包括對患者投與抗CD24抗體或其抗原結合片段或包含前述之醫藥組合物。此類分子及醫藥組合物亦可用於製造用於治療或預防癌症或另一異常增殖性疾病之藥物。如本文所用，術語「癌症」係指由細胞之異常不受控制之生長引起的贅瘤或腫瘤。如本文所用，癌症明確包括白血病及淋巴瘤。該術語係指涉及可能轉移至遠端部位之細胞之疾病。患者可能係人類。

【0113】 癌症或其他異常增殖性疾病可係(但不限於)以下一種或多種：癌，包括膀胱癌、乳癌、結腸癌、腎癌、肝癌、肺癌、卵巢癌、胰臟癌、胃癌、子宮頸癌、甲狀腺癌及皮膚癌；包括鱗狀細胞癌；淋巴譜系之造血腫瘤，包括白血病、急性淋巴球性白血病、急性淋巴母細胞白血病、B細胞淋巴瘤、T細胞淋巴瘤、伯奇氏淋巴瘤(Burkett's lymphoma)；骨髓譜系之造血腫瘤，包括急性及慢性骨髓性白血病及前骨髓細胞白血病；間

質來源之腫瘤，包括纖維肉瘤及橫紋肌肉瘤；其他腫瘤，包括黑色素瘤、精細胞瘤、畸胎瘤、神經母細胞瘤及膠質瘤；中樞及周邊神經系統腫瘤，包括星形細胞瘤、神經母細胞瘤、膠質瘤及神經鞘膜瘤；間質來源之腫瘤，包括纖維肉瘤、橫紋肌肉瘤及骨肉瘤；及其他腫瘤，包括黑色素瘤、色素性幹皮症、角化棘皮瘤、精細胞瘤、甲狀腺濾泡癌及畸胎瘤。亦預期由細胞凋亡異常引起的癌症亦可藉由本發明之方法及組合物治療。此類癌症可包括(但不限於)濾泡性淋巴瘤、具有p53突變之癌、乳房、前列腺及卵巢之激素依賴性腫瘤、及癌前病變，諸如家族性腺瘤性息肉及脊髓發育不良症候群。在特定實施例中，藉由本發明之方法及組合物治療或預防卵巢、膀胱、乳房、結腸、肺、皮膚、胰臟或子宮中的惡性病或增生不良的變化(諸如化生及增生不良)或過度增殖性病變。癌症亦可係肉瘤、黑色素瘤或白血病。

【0114】 抗CD24抗體或其抗原結合片段可與一或多種其他抗腫瘤療法組合使用，包括(但不限於)當前標準及實驗化學療法、激素療法、生物療法、免疫療法、放射療法或手術。在一些實施例中，抗CD24抗體或其抗原結合片段可與治療或預防有效量之一或多種藥劑、治療性抗體或熟習此項技術者已知的用於治療及/或預防癌症、自體免疫性疾病，傳染病或中毒之其他藥劑組合投與。此類藥劑包括(例如)任何上述生物反應調節劑、細胞毒素、抗代謝物、烷基化劑、抗生素或抗有絲分裂劑、以及免疫治療劑。

【0115】 抗CD24抗體或其抗原結合片段可與一或多種抗腫瘤免疫療法組合使用。抗腫瘤免疫療法可能涉及破壞或增強替代免疫調節途徑(諸如TIM3、TIM4、OX40、CD40、GITR、4-1-BB、B7-H1、PD-1、

B7-H3、B7-H4、LIGHT、BTLA、ICOS、CD27或LAG3)或調節效應分子(諸如細胞介素(例如，IL-4、IL-7、IL-10、IL-12、IL-15、IL-17、GF- β 、IFN γ 、Flt3、BLys)及趨化細胞素(例如，CCL21))之活性以增強免疫調節作用之分子。特定實施例包括雙特異性抗體，其包含抗CD24抗體或其抗體結合片段及抗PD-1(帕姆單抗(pembrolizumab) (Keytruda®)或納武單抗(nivolumab) (Opdivo®))、抗B7-H1(阿特珠單抗(atezolizumab) (Tecentriq®)或度伐魯單抗(durvalumab))、抗B7-H3、抗B7-H4、抗LIGHT、抗LAG3、抗TIM3、抗TIM4、抗CD40、抗OX40、抗GITR、抗BTLA、抗CD27、抗ICOS或抗4-1BB。在又另一個實施例中，抗CD24抗體或其抗原結合片段可與活化免疫反應之不同階段或態樣之分子組合投與以實現更廣泛的免疫反應。在更佳的實施例中，抗CD24抗體或其抗原結合片段可與抗PD-1或抗4-1BB抗體組合，而不會加劇自體免疫副作用。

10. 生產

【0116】 抗CD24抗體或其抗原結合片段可使用真核表現系統製備。表現系統可能需要自載體於哺乳動物細胞(諸如中國倉鼠卵巢(CHO)細胞)中表現。該系統亦可係病毒載體，諸如可用於感染真核細胞之複製缺陷型逆轉錄病毒載體。抗CD24抗體或其抗原結合片段亦可從穩定的細胞系產生，該細胞系從已整合至細胞基因組中之載體或載體之一部分表現抗體。穩定細胞系可從經整合之複製缺陷型逆轉錄病毒載體表現抗體。表現系統可係GPE_x™。

【0117】 抗CD24抗體或其抗原結合片段可使用(例如)層析方法純化，諸如親和層析、離子交換層析、疏水相互作用層析、DEAE離子交換、凝膠過濾及羧基磷灰石層析。在一些實施例中，融合蛋白可經工程化

以包含含有胺基酸序列之額外域，該胺基酸序列允許多肽被捕獲至親和基質上。例如，本文所述的包含免疫球蛋白域之Fc區之抗體可使用蛋白A柱從細胞培養上清液或細胞質提取物分離。另外，標籤(諸如c-myc、血球凝集素、聚組胺酸或Flag™ (Kodak)可用於輔助多肽純化。此類標籤可插入多肽內的任何位置，包括插入於羧基端或胺基端。可使用的其他融合物包括有助於偵測多肽之酵素，諸如鹼性磷酸酶。免疫親和層析亦可用於純化多肽。

【0118】 疫苗

【0119】 本文提供一種治療患者中癌症或提供預防本文所述癌症之方法。該方法可為患者接種抗癌疫苗。該方法可包括對需要的患者投與包含SEQ ID NO: 48中所述序列之組合物。該組合物亦可投與需要治療與包括使用抗CD24抗體或表現結合CD24之受體之細胞之療法相關副作用的患者。該組合物亦可用於製造用於治療癌症或提供癌症預防之藥物。

11. 醫藥組合物

【0120】 本文提供醫藥組合物，其包含治療有效量之上述抗CD24抗體、細胞療法或肽組合物中任一者及生理上可接受之載劑或賦形劑。醫藥組合物可包含預防或治療有效量之抗CD24抗體或其抗原結合片段及醫藥上可接受之載劑。

【0121】 在一個特定實施例中，術語「醫藥上可接受」意指由聯邦或州政府的管理機構批准或在美國藥典或其他公認的藥典中列出用於動物，及更特別是人類。術語「載劑」係指與治療劑一起投與的稀釋劑、佐劑(例如弗氏佐劑(Freund's adjuvant) (完全及不完全)、賦形劑或媒劑。此等醫藥載劑可係無菌液體，諸如水及油，包括石油、動物、植物或合成來

源者，諸如花生油、大豆油、礦物油、芝麻油及類似物。當靜脈內投與醫藥組合物時，水為較佳載劑。鹽水溶液及葡萄糖與甘油水溶液亦可用作液體載劑，特別用於可注射溶液。適宜之醫藥賦形劑包括澱粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明膠、麥芽、米、麵粉、白堊、矽膠、硬脂酸鈉、甘油單硬脂酸酯、滑石、氯化鈉、脫脂乳、甘油、丙烯、二醇、水、乙醇及類似物。若需要，醫藥組合物亦可包含少量潤濕劑或乳化劑，或pH緩衝劑。此等組合物可採用溶液、懸浮液、乳液、錠劑、丸劑、膠囊、粉末、持續釋放調配物及類似物之形式。

【0122】 一般而言，醫藥組合物之成分可單獨提供或混合在一起以單位劑型(例如，呈乾燥凍乾粉末或無水濃縮物，含在密封容器(諸如指示活性劑的量之安瓿或小藥囊)中)提供。在醫藥組合物欲藉由輸注投與的情況下，可用包含無菌醫藥級水或鹽水之輸注瓶施配。在醫藥組合物藉由注射投與的情況下，可提供一安瓿的無菌注射用水或鹽水，以便在投與前混合各成分。

【0123】 醫藥組合物可調配成中性或鹽形式。醫藥上可接受之鹽包括(但不限於)彼等與陰離子形成之鹽，諸如彼等衍生自鹽酸、磷酸、乙酸、草酸、酒石酸等之鹽，及彼等與陽離子形成之鹽，諸如彼等衍生自鈉、鉀、銨、鈣、氫氧化鐵、異丙胺、三乙胺、2-乙基胺基乙醇、組胺酸、普魯卡因(procaine)等之鹽。

12. 投與方法

【0124】 投與組合物及其醫藥組合物之方法包括(但不限於)非經腸投與(例如，皮內、肌肉內、腹膜內、靜脈內及皮下)、硬膜外及黏膜(例如，鼻內及口腔途徑)。在一個特定實施例中，組合物係經肌肉內、靜脈

內或皮下投與。組合物可藉由任何方便的途徑投與，例如，藉由輸注或推注注射、藉由穿過上皮或黏膜皮膚襯裡(例如，口腔黏膜、直腸和腸黏膜等)吸收，並可與一或多種其他生物活性劑一起投與。投與可係全身的或局部的。

實例

【0125】 本揭示內容具有由以下非限制性實例說明的多個態樣。

實例1

抗低糖基化CD24之單株抗體之產生

【0126】 腫瘤中NEU1及CD24之過度表現表明糖苷酶失調。糖苷酶之失調表明與MUC1類似，CD24可能在腫瘤中低糖基化。抗體3B6與CD24之結合受到唾液酸聚醣之阻礙(圖1)。相對於市售的抗CD24抗體ML5 (BD bioscience)，3B6強烈結合至N-SA-CD24及N-SA-O-CD24，但僅弱結合至N-CD24或完全糖基化之CD24，如藉由ELISA偵測。此表明3B6結合的抗原決定基確實係蛋白質骨架及3B6之結合受到抗原決定基之糖基化的阻礙。

【0127】 螢光活化細胞分選(FACS)及免疫螢光(IFA)染色結果顯示3B6結合多種癌細胞系，包括神經母細胞瘤及神經管胚細胞瘤(圖2A-B)。3B6結合至神經母細胞瘤細胞系IMR32、SK-N-SH、SH-SY5Y、SK-N-BE(2)及SK-N-BE(2)C，但不結合至SK-N-AS(圖2A)。如藉由IFA染色評估，3B6亦結合至從患者獲得的4個神經管胚細胞瘤腫瘤中的3個(圖2B)。此等資料表明3B6能夠結合至癌細胞系及腫瘤。

實例2

親和力成熟

【0128】 與商業抗體ML5 (BD Bioscience)及SN3 (Thermo Fisher)相比，3B6對CD24之結合親和力顯著降低。為增加3B6結合至其抗原之親和力及特異性，進行3B6之親和力成熟。吾人首先選殖3B6抗體之重鏈(IgH)及輕鏈(IgL)，並鑑定Ig可變區序列如下：

【0129】 3B6 IgH (SEQ ID NO: 1，CDR係加底線及粗體)

EVKFEESGGGLVQPGGSIKLSCAAS**GVTFSEAWMDWVRQSPEKGLEWVAEIRDKTKN**
YVTYYAESVKGRFTISRDDSKSRVYLQMNNLRTEDTGIYYCTGAMDYWGQGTSTVSS

【0130】 3B6 IgL (SEQ ID NO: 2，CDR係加底線及粗體)

DIVMTQTPLSLSVTIGQPASISCKSS**QSLLYSNGKTYLNWLQQRPGQSPKRLIYQVSKLD**
PGIPDRFSGSGSETDFTLKISRVEAEDLGIYYCLOGTSYPWTFGGGTKLEIK

【0131】 將來自親本3B6抗體之VH及VL片段轉化為scFv形式並選殖至噬菌體呈現載體中。scFv在噬菌體上單價展示，及因此允許選擇具有更高親和力之噬菌體純系。為驗證scFv展示程度，將scFv與Flag-6xHis偵測標籤融合。進行噬菌體ELISA以驗證親本抗體結合至噬菌體呈現形式之抗原。來自噬菌體上清液之結合信號係顯著的，及因此該項目繼續進行文庫建構。

【0132】 進行三輪選擇及篩選。遞減濃度之抗原CD24-GST及生物素化CD24-GST用於篩選以選擇更高的黏合劑純系。挑選來自每個CDR誘變文庫的48個純系，培養，測定結合並測序。一旦確認親和力成熟之scFv純系之序列，將親和力成熟純系之scFv再格式化為全長抗體基因並在哺乳動物細胞中瞬時表現。所有親和力成熟之抗體經歷0.01公升小規模生產。亦將親本抗體按比例放大以進行直接比較。使用化學定義的培養基，在不存在血清的情況下，將指定的重鏈及輕鏈之質體(表1)轉染至懸浮液HEK293細胞中，以製備抗體。轉染後5天，收集條件化培養基並澄清。使用MabSelect SuRe Protein A培養基(GE Healthcare)純化條件化培養基

中之全抗體。

表1 藉由瞬時轉染在HEK293細胞中產生並用IgG1純化的抗體

親本		親和力成熟之組1		親和力成熟之組2	
PP6226 - H4040+L4040	抗CD24	PP6228 - H4041+L4040	P3050.H1.A4	PP6368 - H4069+L4069	P3050.ComF1.A11
		PP6230 - H4042+L4040	P3050.H2.A7	PP6369 - H4070+L4069	P3050.ComF1.H4
		PP6231 - H4043+L4040	P3050.H2.B11	PP6370 - H4071+L4069	P3050.ComF1.2F4
		PP6232 - H4040+L4041	P3050.L3.B9	P6371 - H4072+L4070	P3050.ComF1.2F5
		PP6233 - H4040+L4042	P3050.L3.C7	PP6372 - H4073+L4071	P3050.ComF1.C9
		PP6234 - H4040+L4043	P3050.L3.D8	PP6373 - H4069+L4071	P3050.ComF1.2H1
		PP6235 - H4041+L4042	P3050.H1.A4.L3.C7	PP6387 - H4071+L4071	P3050.ComF2.B1
		PP6236 - H4043+L4042	P3050.H2.B11.L3.C7	PP6388 - H4072+L4069	P3050.ComF2.A5
表：獲得IgG的瞬時轉染及純化之列表。H40xx表示重鏈構築體及L40xx表示輕鏈構築體。P3050.xx表示從噬菌體淘選獲得的原始純系。所有IgG均表現良好。PP編號係用於區分產生的蛋白質之序列編碼。					

【0133】 藉由競爭ELISA評估經純化之親和力成熟之抗體及親本抗體對抗原之親和力。將抗體PP6226(3B6親本可變區)以2 μg/mL塗佈於板上。首先用CD24-GST培養親和力成熟之抗體，然後與板培養，接著進行二級偵測抗體培養。如圖3-5中所示，吾人產生具有與其親本純系競爭能力不同的16種抗體。此等抗體之重鏈及輕鏈之胺基酸序列為SEQ ID NO: 3-10(重鏈)及SEQ ID NO: 11-16(輕鏈)。

【0134】 為確定親和力成熟之純系是否具有更強的CD24結合及若相互作用係聚醣調節的，則吾人用N-聚醣酶(N-CD24)、唾液酸酶NanA(SA-CD24)或兩者(N-SA-CD24)處理CD24。使用ELISA測試描述於圖3-5中之16個純系。如圖6所示，儘管對CD24-GST具有顯著的親和力，但PP6231及PP6230不能結合至哺乳動物細胞表現的CD24，而與糖基化無關。另一方面，大多數其他純系保持優先結合至CD24，其用唾液酸酶及/N-聚醣酶處理。然而，由於唾液酸酶及N-聚醣酶對抗體結合之相對影響

在不同純系之間差異很大，因此必須單獨測試每個純系以確定其等對聚醣位阻之易感性。

【0135】 吾人選擇強結合SA-N-CD24之6個純系，但其展示與CD24的最小結合，並測試其等與兩種癌細胞系肺癌細胞系H727及神經母細胞瘤細胞系IMR32之結合。如圖7所示，儘管其等與SA-N-CD24具有相似的結合，但6個純系顯示與癌細胞的顯著不同的結合。重要地，PP6373對所測試的兩種癌細胞系均展示顯著更強的結合。因此，選擇該純系以用於進一步研究。PP6373之重鏈序列以SEQ ID NO: 6列出及輕鏈序列以SEQ ID No.16列出。與親本序列相比，重鏈在CDR2中具有三個突變，而輕鏈在輕鏈之CDR3中具有一個突變。如圖8所示，此等突變不僅使與SA-N-CD24的結合增加近100倍，而且亦藉由脫唾液酸化更嚴格地調節相互作用。亦值得注意的係，PP6373甚至在沒有去糖基化的情況下獲得結合至CD24之能力，其為結合至SA-N-CD24之能力的1/1000水平。然而，由於已知CHO細胞具有不完全的糖基化，因此結合可能反映抗體在偵測自CHO細胞製備的重組CD24中的較小糖型時的較高靈敏度。

實例3

3B6及PP6373識別的抗原性抗原決定基

【0136】 為確定3B6識別的抗原性抗原決定基及親和力成熟之純系PP6373，吾人合成覆蓋成熟CD24胺基酸序列(Seq ID No 42)之重疊肽，並用3B6抗體預培養其等，接著將3B6加入預塗有N⁻O⁻ CD24蛋白質(CD24Fc依次用N-糖苷酶、NanA及O-糖苷酶預處理)之板。如圖9所示，在測試的5種肽(SEQ ID NO: 43-47)中，僅肽4(SEQ ID NO: 46)證實3B6-CD24相互作用之顯著阻斷，此表明CD24結合抗原決定基包含在該序列

中。為證實PP6373識別相同的抗原決定基，吾人在大劑量範圍內滴定五種肽。如圖10所示，僅肽4顯示PP6373結合至SA-N-CD24之劑量依賴性抑制。

【0137】 為確定最小的PP6373結合位點，吾人一次截短肽4一個胺基酸，並比較其等對PP6373與SA-N-CD24結合之抑制。如圖11所示，雖然從C端刪除3個胺基酸消除抑制作用，但刪除一或兩個胺基酸顯著改良抑制作用(左圖)。此外，從肽4的N端刪除任何胺基酸亦消除抑制作用(右圖)。此等資料識別SNSGLAPN (SEQ ID NO: 48)為PP6373識別的最佳抗原決定基。

【0138】 吾人對抗原性抗原決定基的鑑定允許技術人員產生具有相似性質之額外抗體。在一個實施例中，技術人員可使用包含序列SNSGLAPN (SEQ ID NO: 48)之合成肽產生新抗體。肽可偶聯至另一免疫原性蛋白質載體，或與佐劑共同使用。在另一個實施例中，技術人員可使用肽來鑑定識別相同抗原決定基的其他抗CD24 mAb，以產生用於診斷及治療癌症之癌症特異性抗體。在又另一個實施例中，抗原肽可用於中和或抑制與結合至包含SEQ ID NO:48之核心序列之抗原決定基之抗體相關的潛在不利影響。該肽可使用本技術中已知的方法修飾以獲得更好的體內穩定性，包括(但不限於)使用D-胺基酸、在一或多個肽鍵中用S置換O、新增融合序列以改良溶解度或半衰期(例如白蛋白融合)。在又另一個實施例中，包含SEQ ID NO:48中之胺基酸序列之分子可用作用於治療及預防癌症之疫苗。

實例4

抗原性抗原決定基在正常組織與惡性組織中之表現

【0139】 為確定PP6373識別的抗原決定基是否優先在癌症與正常組織中呈現，吾人使用生物素化PP6373藉由免疫螢光分析組織結合。關於正常組織之資料概述於表2中，而癌組織之資料概述於表3中。此外，吾人評估抗體與正常良性及惡性腦癌之結合。資料概述於表4中。

表2. PP6373之免疫螢光染色顯示與正常組織之結合最小。

器官	+/-	染色圖案
正常胃	-	
正常十二指腸	-	
正常小腸	-	
正常結腸	-	
正常腮腺	-	
正常甲狀腺	-	
正常胰臟	+	弱的細胞表面，細胞內？
正常前列腺	-	
正常主動脈	-	
正常睪丸	-	
正常大網膜	-	
正常乳房	-	
正常淋巴結	-	
正常皮膚	-	
正常延髓		
正常脾臟	-	幾乎沒有陽性，細胞表面？
正常子宮	-	
正常陰道	-	
正常膀胱	-	
正常神經	-	

表3. PP6373對惡性組織之反應性

器官	陽性百分比	染色圖案
惡性結腸	0/1	
惡性食道	0/1	
惡性胃	0/2	
惡性卵巢	16/25	細胞表面
惡性軟組織	0/1	
惡性腎臟	1/1	微弱表面
惡性肝臟	14/19	細胞表面
惡性乳房	12/20	細胞表面
惡性皮膚	1/1	細胞表面

惡性睪丸	1/1	細胞內/細胞表面
惡性肺	11/39	細胞表面

表4. PP6373結合至正常的良性及惡性腦腫瘤

病理	細胞表面	細胞內	陰性
星形細胞瘤	2/24 (8%)	17/24 (71%)	5/24 (21%)
神經膠質母細胞瘤	3/8 (38%)	2/8 (25%)	5/8 (37%)
寡樹突神經膠質瘤	4/8 (50%)	3/8 (38%)	1/8 (12%)
室管膜瘤	5/8 (63%)	0/8 (0%)	3/8 (37%)
神經管胚細胞瘤	7/10 (70%)	0/10 (0%)	3/10 (30%)
良性腦膜瘤	0/22 (0%)	15/22 (68%)	7/22 (32%)
正常CNS組織	0/16 (0%)	0/16 (0%)	16/16 (100%)

【0140】 如表2所示，除胰臟及可能的脾臟外，PP6373沒有染色正常組織。值得注意的是，胰臟中的大部分染色均出現在細胞內。在脾臟中，罕見數量的細胞顯示染色。相反地，如表3所示，測試的大多數癌症顯示與PP6373的強結合。如表4所示，雖然正常的CNS組織缺乏CD24，但良性腦膜瘤顯示細胞內，儘管不係細胞表面染色。重要的是，惡性腦腫瘤(包括星形細胞瘤、神經膠質母細胞瘤及寡突神經膠質瘤)以8-70%之速率展示細胞表面染色，此外，一些癌組織顯示細胞內染色。

【0141】 在一個實施例中，PP6373可用於將惡性腦腫瘤與正常或良性腦組織區分開。在另一個實施例中，PP6367可用於鑑定實體器官諸如肝、肺、乳房及卵巢中之癌組織。

實例5

PP6373阻滯體內肺癌生長

【0142】 為測試PP6373是否可阻滯體內腫瘤生長，吾人用人類肺癌細胞系H727皮下攻擊裸小鼠。一旦腫瘤變得可觸知，攜帶腫瘤之小鼠接受兩次注射5 mg/kg的PP6373(H727接種後14及21天)。如圖12所示，與IgG對照相比，經PP6373處理之腫瘤以顯著降低之速率生長。此等資料證實未修飾之PP6373能夠在體內展示抗腫瘤活性。

【0143】 與體內腫瘤阻滯一致，吾人的體外研究證實PP6367介導有效的抗體依賴性細胞毒性，如圖13所證實。

【0144】 由於ADCC受糖基化(尤其係岩藻糖基化)之影響，吾人使用抗體工程化來產生沒有核心FC岩藻糖基化之PP6373(d6373)。如圖14所示，岩藻糖基化增加PP6373之ADCC活性。

【0145】 吾人的資料證實PP6373可用於治療癌症。在一個實施例中，PP6373 WT IgG1可用作癌症治療性抗體，以投與癌症患者。在另一個實施例中，抗體可以化學方式進行糖工程化，或在缺乏岩藻糖基轉移酶之細胞系中產生。

實例6

基於PP6373及OKT3序列之雙特異性抗體

【0146】 為使抗CD24抗體武裝化，吾人產生結合至CD24及CD3之雙特異性抗體。在一個實施例中，抗CD24及抗CD3(OKT3)抗體被分別轉化為對CD24及CD3具有反應性之單鏈抗體，並藉由撓性連接子序列GGGGSGGGGSGGGGS(SEQ ID NO: 49)連接。PP6373單鏈抗體之序列以SEQ ID NO:17列出，而OKT3單鏈序列列以SEQ ID NO: 18列出。

【0147】 在一個實施例中，雙特異性抗體係藉由結及孔技術產生，其中雙特異性分子之兩個搭配物在Fc區中具有互補突變以產生結及孔以促進雙特異性異二聚體之形成。PP6373及OKT3之結及孔變體之序列以SEQ ID NO:19-22列出。為評估不同結及孔配置之雙特異性，吾人開發一種分析法，包括用不同結-孔產品之共轉染產物染色Jurkat細胞。簡而言之，首先用來自經轉染之293T細胞之組織培養上清液染色CD3+ Jurkat細胞。洗去未結合之抗體後，用生物素化SA-N-CD24培養細胞。藉由PE-鏈黴親和

素偵測Jurkat細胞上SA-N-CD24的量。如圖15所示，PP6373-孔及OKT3-結之組合產生最高的CD24與Jurkat細胞之結合，此指示PP6373-孔及OKT3-結配對最適合於結-孔策略。

【0148】 在另一個實施例中，雙特異性抗體係藉由兩個單鏈結合動機之串聯重複產生。同樣地，吾人將兩種配置之活性與相反順序之不同結合基序PP6373-OKT3及OKT3-PP6373(分別以Seq ID-23及24列出)進行比較。如圖16所示，在N末端具有PP6373單鏈之構築體(PP6373-OKT3；SEQ ID NO:23)顯示更高的雙特異性活性。

【0149】 為確定雙特異性抗體是否具有抗腫瘤細胞活性，吾人將肺癌細胞系H727與已用抗CD3及抗CD28活化之T細胞共培養2天。吾人首先測試癌細胞是否可特異性引發細胞介素之產生。如圖17所示，大量的細胞介素由雙特異性抗體誘導，但不係由PP6373-Fc之OKT3-Fc誘導。更重要的是，除非T細胞及腫瘤細胞一起存在，否則雙特異性抗體不會誘導細胞介素之產生。此等資料證實雙特異性抗體藉由接合T細胞及腫瘤細胞而觸發T細胞活化。

【0150】 與細胞介素釋放分析同時地，吾人亦於基於珠子之活染料標記之腫瘤細胞計數藉由流動式細胞測量術評估對腫瘤細胞之細胞毒性。如圖18所示，當且僅當存在T細胞時，雙特異性抗體引起腫瘤細胞之損失。

【0151】 作為又另一個實施例，雙特異性抗體可藉由FIT-Ig技術產生。簡而言之，雙特異性抗體係藉由共表現分別編碼VL₆₃₇₃-CL-VH_{OKT3}-CH1-Fc(SEQ ID NO: 25)、VH₆₃₇₃-CH1(SEQ ID NO: 26)及VL_{OKT3}-CL(SEQ ID NO: 27)之三種構築體形成。如圖19所示，FIT-Ig抗體對

OKT3及SA-N-CD24均顯示良好的雙特異性結合活性。除結合外，吾人亦發現此種雙特異性抗體誘導顯著的細胞介素反應(圖20)及對腫瘤細胞之細胞毒性(圖21)。另外，與先前的雙特異性抗體PP6373-OKT3及OKT3-PP6373相比，該雙特異性抗體(FIT-Ig)顯示更高的熱穩定性(圖22)。

實例7

PP6373用於嵌合抗原受體(CAR)修飾之T細胞(CAR-T)以用於癌症療法之用途

【0152】 抗CD24抗體與廣譜癌細胞反應及可用於產生嵌合抗原受體以賦予T細胞抗癌活性。在一個實施例中，將PP6373單鏈Fv序列(SEQ ID NO:28)或其他抗CD24 mAb單鏈(α CD24SC)插入至本技術中已知的CAR-T載體中，如圖23所示。然後將構築體插入至本技術中已知的基因載體(包括彼等衍生自逆轉錄病毒、慢病毒、腺相關病毒或腺病毒載體之基因載體)中。

【0153】 為測試CAR之活性，藉由使用人類泛(Pan)T細胞分離套組(Miltenyl Biotec)(第0天)富集來自健康供體之PBMC之T細胞。用抗CD3及抗CD28刺激人類泛T細胞24小時並與IL-2一起培養2天。模擬處理經活化之T細胞(對照T)或用攜帶CD24-CAR之慢病毒感染(第2天)。為測試CAR-T之抗腫瘤活性，將對照T細胞或CD24 CAR-T細胞與CellTrace Violet (Thermo Fisher)標記之腫瘤細胞共培養過夜。藉由用Fixable Viability Dye eFluor™ 660 (eBioscience)染色測量腫瘤細胞之裂解並用下式計算：

【0154】 $\text{裂解}\% = (\text{死亡}\% - \text{自溶}\%) / (1 - \text{自溶}\%)$

【0155】 如圖24所示，在廣泛的效應物與靶標比(E/T)之間，CD24

CAR-T顯示對肺癌細胞系A549之有效細胞毒性。

【0156】 為測試CAR-T是否被癌細胞活化，吾人將 4×10^4 個CAR-T或對照T細胞與A549腫瘤細胞培養過夜並測量上清液中之 $\text{IFN}\gamma$ 。如圖25所示，CAR-T而非對照T細胞應A549腫瘤細胞刺激而產生 $\text{IFN}\gamma$ 。由於CD24在多種癌症類型中廣泛表現。如圖26所示，CD24 CAR-T對許多癌症類型(包括肺癌、乳癌、前列腺癌、子宮頸癌、神經母細胞瘤及膠質瘤)展示廣泛的細胞毒性。

【0157】 總之，吾人的資料證實基於吾人抗體之CD24 CAR-T在癌症治療中具有巨大潛力。可靶向的癌症類型包括(但不限於)腦腫瘤、頭頸癌、肉瘤、肺癌、胃腸癌、乳癌、睪丸癌、前列腺癌、胰臟癌、肝癌或血液惡性病。

實例8

用於癌症療法之PP6373之人類化

【0158】 藉由pdb 4PB0作為模型結構構建PP6373 Fv同源模型。VH及VL均與4PB0之VH及VL具有>90%的同源性。在查詢人類Ig資料庫後，人類生殖系V區序列IGHV3-73*01及J區序列IGHJ4*01被鑑定為適宜結構並用作重鏈(Onc-1 VH)之CDR區之人受體框架。應用人類生殖系V區IGKV2-29*02及J區序列IGKJ4*01作為輕鏈(Onc-1 VL)之CDR區之人受體框架。設計四個VH及四個VL序列(SEQ ID NOS: 29-36)。新產品將VH之人類化分數從73%提高至>83%及VL之人類化分數從80%提高至>83%。PP6373鼠Fv及人類化形式PP6373 (hu-VHv1VLv1；SEQ ID NO: 29及33)之Fv之結構比對證實高度的相似性(圖27)。

【0159】 為選擇用於CD24結合之HuVH及HuVL之最佳工作組合，

將不同的組合共同轉染至293細胞中72小時。然後用表現培養基進行兩次ELISA。ELISA 1：用經純化之山羊抗人多株IgG(GAH)塗佈96孔板，並在阻斷後，加入表現培養基或經純化之對照IgG，並使用山羊抗人IgG-HRP作為偵測抗體。ELISA 2：用CD24-GST蛋白質塗佈96孔板，並在阻斷後，加入表現培養基或經純化之對照IgG，並使用山羊抗人IgG-HRP作為偵測抗體。若在兩種ELISA中認為嵌合PP6373抗體之結合為100%，則將展示不同結合程度之各種VH及VL組合與嵌合抗體之組合進行比較並藉由相對結合進行排序(從篩選前選擇之引導子將在純化後再次比較)。第一輪預篩選資料概述於圖28中及該實驗資料表明，a) L3顯示每單位蛋白之高結合能力，使L3成為引導子；及b) H1L3 (SEQ ID NO: 29及35)、H2L3 (SEQ ID NO: 30及35)、H3L3 (SEQ ID NO 31及35)及H4L3 (SEQ ID NO: 32及35)係PP6373之四種人類化引導子。

【0160】 為測試引導子抗體H2L3及H3L3是否保留其結合腫瘤細胞之能力，吾人將人類化抗體與PP6373一起生物素化。如圖29所示，儘管PP6373與測試的兩種人癌細胞具有更好的結合，但H2L3及H3L3在nM範圍內均展示與IC₅₀的強結合。

【0161】 吾人使用PBL(圖30、圖31)或來自PBL之經純化之NK細胞(圖32)作為效應物及A549細胞作為靶細胞進行ADCC測定。令人驚訝地，儘管H2L3及H3L3與腫瘤細胞之結合較差(圖29)，但當使用低濃度之抗體時，其等在ADCC方面係更有效的效應物(圖30)。如所預期，去糖基化之PP6373(d6373)在ADCC方面更有效(圖31、圖32)。

【0162】 總之，吾人的資料證實PP6373之人類化純系展示與人癌細胞之顯著結合及令人驚訝的有效ADCC活性。在一個實施例中，抗體可用

於治療癌症。在另一個實施例中，人類化抗體可用作雙特異性抗體之關鍵組分。為探索此種活性，吾人產生包含H3及L3之兩個構築體，以產生基於FIT-Ig技術之雙特異性抗體。人類化FIT-Ig抗體之序列以Seq ID-37及38列出，並結合SEQ ID NO: 27使用。此外，吾人亦進行一些突變以最佳化人類化FIT-Ig序列並將其等以Seq ID-39-41列出。明確言之：所有三個序列在N末端包含用於蛋白質純化及合成之信號序列；在Seq ID-39中：將突變(D至A)引入至Fc區中以防止ADCC；在Seq ID-27中，VLOKT3與CL之間存在一個額外的R，其在構建期間由限制酶位點誘導及在Seq ID-41中，額外的R被刪除。

【0163】 在又另一個實施例中，使用本技術中已知的方法，人類化抗體可用作癌症療法之CAR-T之關鍵組分。

實例9

具有聚醣遮蔽抗原決定基之抗CD24抗體不結合至具有高表現CD24之正常細胞

【0164】 基於抗體之免疫療法之關鍵要求係對正常組織之最小反應性。由於CD24在造血細胞(尤其係粒細胞、B細胞、部分紅血球及部分單核細胞)中大量表現，吾人將PP6373及其兩個人類化純系H2L3及H3L3與習知抗CD24 mAb ML5進行比較。如圖33所示，儘管ML5顯示與通常表現高程度CD24之細胞之強結合，但H2L3及H3L3不結合至B細胞及紅血球，並與粒細胞結合不良。該結果證實與其他細胞類型(諸如巨噬細胞)及一部分非B淋巴細胞之結合最小。

<110> 美商昂科免疫公司(ONCOC4, INC.)
美國國家兒童醫學中心兒童研究所(CHILDREN'S RESEARCH INSTITUTE, CHILDREN'S
NATIONAL MEDICAL CENTER)

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
 145 150 155 160
 Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
 165 170 175
 Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
 180 185 190
 Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
 195 200 205
 Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
 210 215 220
 Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
 225 230 235 240
 Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
 245 250 255
 Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 260 265 270
 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 275 280 285
 Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 290 295 300
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
 305 310 315 320
 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 325 330 335
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
 340 345 350
 Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 355 360 365
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
 370 375 380
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 385 390 395 400
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr

405410415

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
420425430

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
435440445

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
450455460

Leu Ser Pro Gly
465

<210> 2
<211> 239
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗體 3B6 輕鏈 4040

<400> 2

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
151015

Gly Ser Thr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser
202530

Val Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser
354045

Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg
505560

Pro Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu Asp
65707580

Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe
859095

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr
100105110

Cys Leu Gln Gly Thr Ser Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
115120125

Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
130135140

Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
145150155160

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

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

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

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

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

<210> 3
<211> 468
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 親和力成熟之重鏈 4041

<400> 3

Met Asp Pro Lys Gly Ser Leu Ser Trp Arg Ile Leu Leu Phe Leu Ser
1 5 10 15

Leu Ala Phe Glu Leu Ser Tyr Gly Glu Val Lys Phe Glu Glu Ser Gly
20 25 30

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Ile Lys Leu Ser Cys Ala Ala
35 40 45

Ser Gly Val Ala Phe Ser Gly Ala Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser
50 55 60

Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Glu Ile Arg Asp Lys Thr Lys
65 70 75 80

Asn Tyr Val Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
85 90 95

Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Arg Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu
100 105 110

Arg Thr Glu Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys Thr Gly Ala Met Asp Tyr
115 120 125

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
130 135 140

Pro 145	Ser	Val	Phe	Pro	Leu 150	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys 155	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly 160
Thr	Ala	Ala	Leu	Gly 165	Cys	Leu	Val	Lys	Asp 170	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro 175	Val
Thr	Val	Ser	Trp	Asn 180	Ser	Gly	Ala	Leu 185	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe
Pro	Ala	Val 195	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly 200	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser 205	Ser	Val	Val
Thr	Val 210	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu 215	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr 220	Ile	Cys	Asn	Val
Asn 225	His	Lys	Pro	Ser	Asn 230	Thr	Lys	Val	Asp	Lys 235	Lys	Val	Glu	Pro	Lys 240
Ser	Cys	Asp	Lys	Thr 245	His	Thr	Cys	Pro	Pro 250	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu 255	Leu
Leu	Gly	Gly	Pro 260	Ser	Val	Phe	Leu	Phe 265	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr
Leu	Met	Ile 275	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu 280	Val	Thr	Cys	Val	Val 285	Val	Asp	Val
Ser 290	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val 295	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr 300	Val	Asp	Gly	Val
Glu 305	Val	His	Asn	Ala	Lys 310	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu 315	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser 320
Thr	Tyr	Arg	Val	Val 325	Ser	Val	Leu	Thr	Val 330	Leu	His	Gln	Asp	Trp 335	Leu
Asn	Gly	Lys	Glu 340	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val 345	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala 350
Pro	Ile 355	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys 360	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro 365	Arg	Glu	Pro
Gln 370	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro 375	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu 380	Thr	Lys	Asn	Gln
Val 385	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu 390	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr 395	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala 400
Val	Glu	Trp	Glu	Ser 405	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu 410	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr 415	Thr

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

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
435 440 445

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
450 455 460

Leu Ser Pro Gly
465

<210> 4
<211> 468
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 親和力成熟之重鏈 4042

<400> 4

Met Asp Pro Lys Gly Ser Leu Ser Trp Arg Ile Leu Leu Phe Leu Ser
1 5 10 15

Leu Ala Phe Glu Leu Ser Tyr Gly Glu Val Lys Phe Glu Glu Ser Gly
20 25 30

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Ile Lys Leu Ser Cys Ala Ala
35 40 45

Ser Gly Val Thr Phe Ser Glu Ala Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser
50 55 60

Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Glu Ile Arg Asp Lys Ser Thr
65 70 75 80

Asn Tyr Val Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
85 90 95

Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Arg Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu
100 105 110

Arg Thr Glu Asp Thr Gly Ile Tyr Tyr Cys Thr Gly Ala Met Asp Tyr
115 120 125

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
130 135 140

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
145 150 155 160

Thr	Ala	Ala	Leu	Gly 165	Cys	Leu	Val	Lys	Asp 170	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro 175	Val
Thr	Val	Ser	Trp 180	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu 185	Thr	Ser	Gly	Val	His 190	Thr	Phe
Pro	Ala	Val 195	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly 200	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser 205	Ser	Val	Val
Thr	Val 210	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu 215	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr 220	Ile	Cys	Asn	Val
Asn 225	His	Lys	Pro	Ser	Asn 230	Thr	Lys	Val	Asp	Lys 235	Lys	Val	Glu	Pro	Lys 240
Ser	Cys	Asp	Lys	Thr 245	His	Thr	Cys	Pro	Pro 250	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu 255	Leu
Leu	Gly	Gly	Pro 260	Ser	Val	Phe	Leu	Phe 265	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys 270	Asp	Thr
Leu	Met	Ile 275	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu 280	Val	Thr	Cys	Val	Val 285	Val	Asp	Val
Ser	His 290	Glu	Asp	Pro	Glu	Val 295	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr 300	Val	Asp	Gly	Val
Glu 305	Val	His	Asn	Ala	Lys 310	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu 315	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser 320
Thr	Tyr	Arg	Val	Val 325	Ser	Val	Leu	Thr	Val 330	Leu	His	Gln	Asp	Trp 335	Leu
Asn	Gly	Lys	Glu 340	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val 345	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu 350	Pro	Ala
Pro	Ile	Glu 355	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys 360	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro 365	Arg	Glu	Pro
Gln	Val 370	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro 375	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu 380	Thr	Lys	Asn	Gln
Val 385	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu 390	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr 395	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala 400
Val	Glu	Trp	Glu	Ser 405	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu 410	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr 415	Thr
Pro	Pro	Val	Leu 420	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser 425	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser 430	Lys	Leu

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
435 440 445

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
450 455 460

Leu Ser Pro Gly
465

- <210> 5
- <211> 468
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 親和力成熟之重鏈 4043
- <400> 5

Met Asp Pro Lys Gly Ser Leu Ser Trp Arg Ile Leu Leu Phe Leu Ser
1 5 10 15

Leu Ala Phe Glu Leu Ser Tyr Gly Glu Val Lys Phe Glu Glu Ser Gly
20 25 30

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Ile Lys Leu Ser Cys Ala Ala
35 40 45

Ser Gly Val Thr Phe Ser Glu Ala Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser
50 55 60

Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Glu Ile Arg Asp Asn Thr Thr
65 70 75 80

Asn Tyr Val Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
85 90 95

Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Arg Val Tyr Leu Glu Met Asn Asn Leu
100 105 110

Arg Thr Glu Asp Thr Gly Ile Tyr Tyr Cys Thr Gly Ala Met Asp Tyr
115 120 125

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
130 135 140

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
145 150 155 160

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

C221224SEQA.pdf

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
450 455 460

Leu Ser Pro Gly
465

<210> 6
<211> 468
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 親和力成熟之重鏈 4069 (PP6373)

<400> 6

Met Asp Pro Lys Gly Ser Leu Ser Trp Arg Ile Leu Leu Phe Leu Ser
1 5 10 15

Leu Ala Phe Glu Leu Ser Tyr Gly Glu Val Lys Phe Glu Glu Ser Gly
20 25 30

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Ile Lys Leu Ser Cys Ala Ala
35 40 45

Ser Gly Val Thr Phe Ser Glu Ala Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser
50 55 60

Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Glu Ile Arg Asp Lys Pro Asn
65 70 75 80

Ser Tyr Val Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
85 90 95

Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Arg Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu
100 105 110

Arg Thr Glu Asp Thr Gly Ile Tyr Tyr Cys Thr Gly Ala Met Asp Tyr
115 120 125

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
130 135 140

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
145 150 155 160

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Gln Pro Val
165 170 175

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
180 185 190

Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	
		195					200					205				
Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	
	210					215					220					
Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	
225					230					235					240	
Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	
				245					250					255		
Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	
			260					265						270		
Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	
	275						280					285				
Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	
	290					295					300					
Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	
305					310					315					320	
Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	
				325					330					335		
Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	
			340					345					350			
Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	
		355					360					365				
Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	
	370					375					380					
Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	
385					390					395					400	
Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	
				405					410					415		
Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	
			420					425					430			
Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	
		435					440					445				
Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	
	450					455					460					

Leu Ser Pro Gly
465

<210> 7
<211> 468
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 親和力成熟之重鏈 H4070

<400> 7

Met Asp Pro Lys Gly Ser Leu Ser Trp Arg Ile Leu Leu Phe Leu Ser
1 5 10 15

Leu Ala Phe Glu Leu Ser Tyr Gly Glu Val Lys Phe Glu Glu Ser Gly
20 25 30

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Ile Lys Leu Ser Cys Ala Ala
35 40 45

Ser Gly Val Pro Phe Ser Gly Ala Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser
50 55 60

Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Glu Ile Arg Asp Lys Thr Lys
65 70 75 80

Asn Tyr Val Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
85 90 95

Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Arg Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu
100 105 110

Arg Thr Glu Asp Thr Gly Ile Tyr Tyr Cys Thr Gly Ala Met Asp Tyr
115 120 125

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
130 135 140

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
145 150 155 160

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

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
180 185 190

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
195 200 205

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
210 215 220

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
225 230 235 240

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
245 250 255

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
260 265 270

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
275 280 285

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
290 295 300

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
305 310 315 320

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
325 330 335

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
340 345 350

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
355 360 365

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
370 375 380

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

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
405 410 415

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

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
435 440 445

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
450 455 460

Leu Ser Pro Gly
465

<210> 8
 <211> 468
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 親和力成熟之重鏈 4071

<400> 8

Met Asp Pro Lys Gly Ser Leu Ser Trp Arg Ile Leu Leu Phe Leu Ser
 1 5 10 15

Leu Ala Phe Glu Leu Ser Tyr Gly Glu Val Lys Phe Glu Glu Ser Gly
 20 25 30

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Ile Lys Leu Ser Cys Ala Ala
 35 40 45

Ser Gly Val Thr Phe Ser Glu Ala Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser
 50 55 60

Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Glu Ile Arg Asp Lys Thr Lys
 65 70 75 80

Asn Tyr Val Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
 85 90 95

Ser Arg Asp Asp Ser Lys Gly Arg Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu
 100 105 110

Arg Thr Glu Asp Thr Gly Ile Tyr Tyr Cys Thr Gly Ala Met Asp Tyr
 115 120 125

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
 130 135 140

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
 145 150 155 160

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

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
 180 185 190

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
 195 200 205

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
 210 215 220

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
 225 230 235 240
 Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
 245 250 255
 Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 260 265 270
 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 275 280 285
 Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 290 295 300
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
 305 310 315 320
 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 325 330 335
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
 340 345 350
 Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 355 360 365
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
 370 375 380
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 385 390 395 400
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 405 410 415
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
 420 425 430
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 435 440 445
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 450 455 460
 Leu Ser Pro Gly
 465
 <210> 9
 <211> 468

<2.2> PRT
<2.3> 人工序列

<220>
<223> 親和力成熟之重鏈 4072

<400> 9
Met Asp Pro Lys Gly Ser Leu Ser Trp Arg Ile Leu Leu Phe Leu Ser
1 5 10 15

Leu Ala Phe Glu Leu Ser Tyr Gly Glu Val Lys Phe Glu Glu Ser Gly
20 25 30

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Ile Lys Leu Ser Cys Ala Ala
35 40 45

Ser Gly Val Thr Phe Ser Glu Ala Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Thr
50 55 60

Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Glu Ile Arg Asp Arg Glu Trp
65 70 75 80

Lys Tyr Val Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
85 90 95

Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Arg Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu
100 105 110

Arg Thr Glu Asp Thr Gly Ile Tyr Tyr Cys Thr Gly Ala Met Asp Tyr
115 120 125

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
130 135 140

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
145 150 155 160

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

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
180 185 190

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
195 200 205

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
210 215 220

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
225 230 235 240

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
 245 250 255
 Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 260 265 270
 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 275 280 285
 Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 290 295 300
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
 305 310 315 320
 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 325 330 335
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
 340 345 350
 Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 355 360 365
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
 370 375 380
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 385 390 395 400
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 405 410 415
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
 420 425 430
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 435 440 445
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 450 455 460
 Leu Ser Pro Gly
 465

<210> 10
 <211> 468
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>

<223> 親和力成熟之重鏈 4073

<400> 10

```

Met Asp Pro Lys Gly Ser Leu Ser Trp Arg Ile Leu Leu Phe Leu Ser
1      5      10      15

Leu Ala Phe Glu Leu Ser Tyr Gly Glu Val Lys Phe Glu Glu Ser Gly
20      25      30

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Ile Lys Leu Ser Cys Ala Ala
35      40      45

Ser Gly Val Thr Phe Ser Glu Ala Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser
50      55      60

Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Glu Ile Arg Asp Lys Gln Asn
65      70      75      80

Glu Tyr Val Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
85      90      95

Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Arg Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu
100     105     110

Arg Thr Glu Asp Thr Gly Ile Tyr Tyr Cys Thr Gly Ala Met Asp Tyr
115     120     125

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
130     135     140

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
145     150     155     160

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

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
180     185     190

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
195     200     205

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
210     215     220

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
225     230     235     240

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
245     250     255

```

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
260 265 270

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
275 280 285

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
290 295 300

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
305 310 315 320

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
325 330 335

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
340 345 350

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
355 360 365

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
370 375 380

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

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
405 410 415

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

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
435 440 445

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
450 455 460

Leu Ser Pro Gly
465

- <210> 11
- <211> 239
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 親和力成熟之輕鏈 4041
- <400> 11

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15
Gly Ser Thr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser
20 25 30
Val Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser
35 40 45
Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg
50 55 60
Pro Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu Asp
65 70 75 80
Pro Gly Thr Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe
85 90 95
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr
100 105 110
Cys Met Gln Gly Thr Ser Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
115 120 125
Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
130 135 140
Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
145 150 155 160
Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
165 170 175
Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
180 185 190
Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
195 200 205
Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
210 215 220
Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

- <210> 12
- <211> 239
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 親和力成熟之輕鏈 4042

<400> 12

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser
20 25 30

Val Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser
35 40 45

Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg
50 55 60

Pro Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu Asp
65 70 75 80

Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe
85 90 95

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr
100 105 110

Cys Met Gln Gly Ala Ser Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
115 120 125

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

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

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

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

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

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

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

<210> 13

<211> 239

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 親和力成熟之輕鏈 4043

<400> 13

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser
20 25 30

Val Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser
35 40 45

Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg
50 55 60

Pro Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu Asp
65 70 75 80

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

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr
100 105 110

Cys Met Gln Gly Ala Ser Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
115 120 125

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

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

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

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

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

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

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

<210> 14

<211> 239
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 親和力成熟之輕鏈 4069

<400> 14
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
: 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser
20 25 30

Val Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser
35 40 45

Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg
50 55 60

Pro Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu Asp
65 70 75 80

Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe
85 90 95

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr
100 105 110

Cys Met Gln Gly Thr Tyr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
115 120 125

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

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

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

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

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

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

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

<210> 15
 <211> 239
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 親和力成熟之輕鏈 4070

<400> 15

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser
 20 25 30

Val Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser
 35 40 45

Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg
 50 55 60

Pro Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu Asp
 65 70 75 80

Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe
 85 90 95

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr
 100 105 110

Cys Met Gln Gly Thr Ser Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
 115 120 125

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

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

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

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

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

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

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

<210> 16
<211> 239
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 親和力成熟之輕鏈 4071 (PP6373)

<400> 16

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser
20 25 30

Val Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser
35 40 45

Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg
50 55 60

Pro Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu Asp
65 70 75 80

Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe
85 90 95

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr
100 105 110

Cys Met Gln Gly Ser Ser Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
115 120 125

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

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

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

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

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

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

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

<210> 17
<211> 479
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PP6373 單鏈

<400> 17

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

Ser Ile Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val Thr Phe Ser Glu Ala
20 25 30

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

Ala Glu Ile Arg Asp Lys Pro Asn Ser Tyr Val Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Thr Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95

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

Val Ser Ser Gly Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu
130 135 140

Ser Val Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln
145 150 155 160

Ser Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln
165 170 175

Arg Pro Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu
180 185 190

Asp Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Asp

	195		200		205										
Phe	Thr	Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Ile	Tyr
	210					215					220				
Tyr	Cys	Met	Gln	Gly	Ser	Ser	Leu	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr
225					230					235					240
Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Ile	Ser	Ala	Met	Val	Arg	Ser	Asp	Lys	Thr	His
				245					250					255	
Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val
			260					265					270		
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
		275					280					285			
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu
	290					295					300				
Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
305					310					315					320
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
				325					330					335	
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
			340					345					350		
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
		355					360					365			
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
	370					375					380				
Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu
385					390					395					400
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
				405					410					415	
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser
			420					425					430		
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg
		435					440					445			
Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu
450						455					460				

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470 475

<210> 18
<211> 476
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> OKT3 單鏈

<400> 18

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
20 25 30

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

Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Val
50 55 60

Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Thr Asp Lys Ser Lys Ser Thr Ala Phe
65 70 75 80

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

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
130 135 140

Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala
145 150 155 160

Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Lys
165 170 175

Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val
180 185 190

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr
195 200 205

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

210	215	220
Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Gln Ile 225 230 235 240		
Thr Arg Ile Ser Ala Met Val Arg Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro 245 250 255		
Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe 260 265 270		
Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val 275 280 285		
Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe 290 295 300		
Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro 305 310 315 320		
Arg Glu Glu Glu Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr 325 330 335		
Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val 340 345 350		
Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala 355 360 365		
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg 370 375 380		
Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly 385 390 395 400		
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro 405 410 415		
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser 420 425 430		
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln 435 440 445		
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His 450 455 460		
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys 465 470 475		

<210> 19
 <211> 479
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> PP6373 孔

<400> 19

```

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

Ser Ile Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val Thr Phe Ser Glu Ala
20          25          30

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

Ala Glu Ile Arg Asp Lys Pro Asn Ser Tyr Val Thr Tyr Tyr Ala Glu
50          55          60

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

Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Thr Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85          90          95

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

Val Ser Ser Gly Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115         120         125

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu
130         135         140

Ser Val Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln
145         150         155         160

Ser Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln
165         170         175

Arg Pro Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu
180         185         190

Asp Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Asp
195         200         205

Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr
210         215         220

Tyr Cys Met Gln Gly Ser Ser Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr

```

225		230		235		240										
Lys	Leu	Glu	Ile	Lys 245	Ile	Ser	Ala	Met	Val 250	Arg	Ser	Asp	Lys	Thr	His	255
Thr	Cys	Pro	Pro 260	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu 265	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro 270	Ser	Val	
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	
		275					280					285				
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	
	290						295				300					
Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	
305					310					315					320	
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	
				325					330					335		
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	
			340					345					350			
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	
		355					360					365				
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	
	370					375					380					
Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	
385					390					395					400	
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	
				405					410					415		
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	
			420					425					430			
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Thr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	
		435					440					445				
Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	
450						455					460					
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys		
465					470					475						
<210>	20															
<211>	479															
<212>	PR7															
<213>	人工序列															

<220>

<223> PP6373 結

<400> 20

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

Ser Ile Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val Thr Phe Ser Glu Ala
20 25 30

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

Ala Glu Ile Arg Asp Lys Pro Asn Ser Tyr Val Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Thr Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95

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

Val Ser Ser Gly Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu
130 135 140

Ser Val Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln
145 150 155 160

Ser Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln
165 170 175

Arg Pro Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu
180 185 190

Asp Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Asp
195 200 205

Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr
210 215 220

Tyr Cys Met Gln Gly Ser Ser Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr
225 230 235 240

Lys Leu Glu Ile Lys Ile Ser Ala Met Val Arg Ser Asp Lys Thr His

245								250				255			
Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val
			260					265					270		
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
		275					280					285			
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu
	290					295					300				
Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
305					310					315					320
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
				325					330					335	
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
			340					345					350		
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
		355					360					365			
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
	370					375					380				
Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Tyr	Cys	Leu
385					390					395					400
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
				405					410					415	
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser
			420					425					430		
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg
		435					440					445			
Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu
	450					455					460				
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	
465					470					475					

<210>	21
<211>	476
<212>	PRT
<213>	人工序列
<220>	
<223>	OKT3 孔

<400> 21

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
20 25 30

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

Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Val
50 55 60

Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Thr Asp Lys Ser Lys Ser Thr Ala Phe
65 70 75 80

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

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
130 135 140

Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala
145 150 155 160

Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Lys
165 170 175

Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val
180 185 190

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr
195 200 205

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
210 215 220

Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Gln Ile
225 230 235 240

Thr Arg Ile Ser Ala Met Val Arg Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
245 250 255

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe

260 265 270

Pro	Pro	Lys 275	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu 280	Met	Ile	Ser	Arg	Thr 285	Pro	Glu	Val
Thr	Cys 290	Val	Val	Val	Asp	Val 295	Ser	His	Glu	Asp	Pro 300	Glu	Val	Lys	Phe
Asn 305	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly 310	Val	Glu	Val	His	Asn 315	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro 320
Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr 325	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg 330	Val	Val	Ser	Val	Leu 335	Thr
Val	Leu	His	Gln 340	Asp	Trp	Leu	Asn 345	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys 350	Lys	Val
Ser	Asn	Lys 355	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro 360	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile 365	Ser	Lys	Ala
Lys	Gly 370	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro 375	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu 380	Pro	Pro	Ser	Arg
Glu 385	Glu	Met	Thr	Lys	Asn 390	Gln	Val	Ser	Leu	Thr 395	Cys	Leu	Val	Lys	Gly 400
Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp 405	Ile	Ala	Val	Glu	Trp 410	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln 415	Pro
Glu	Asn	Asn	Tyr 420	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro 425	Val	Leu	Asp	Ser	Asp 430	Gly	Ser
Phe	Phe	Leu 435	Thr	Ser	Lys	Leu	Thr 440	Val	Asp	Lys	Ser	Arg 445	Trp	Gln	Gln
Gly 450	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser 455	Val	Met	His	Glu	Ala 460	Leu	His	Asn	His
Tyr 465	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu 470	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly 475	Lys				

<210> 22
 <211> 476
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> OKT3結

<400> 22

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
20 25 30

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

Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Val
50 55 60

Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Thr Asp Lys Ser Lys Ser Thr Ala Phe
65 70 75 80

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

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
130 135 140

Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala
145 150 155 160

Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Lys
165 170 175

Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val
180 185 190

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr
195 200 205

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
210 215 220

Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Gln Ile
225 230 235 240

Thr Arg Ile Ser Ala Met Val Arg Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
245 250 255

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
260 265 270

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val

		275						280						285			
Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe		
	290					295					300						
Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro		
305					310					315					320		
Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr		
				325					330					335			
Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val		
			340					345					350				
Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala		
		355					360					365					
Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg		
	370					375					380						
Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Tyr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly		
385					390					395					400		
Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro		
				405					410					415			
Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser		
			420					425					430				
Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln		
		435					440					445					
Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His		
	450					455					460						
Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys						
465					470					475							
<210> 23																	
<211> 736																	
<212> PRT																	
<213> 人工序列																	
<220>																	
<223> PP6373-OKT3																	
<400> 23																	
Glu	Val	Lys	Phe	Glu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly		
1				5					10					15			
Ser	Ile	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Val	Thr	Phe	Ser	Glu	Ala		
			20					25					30				

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

Ala Glu Ile Arg Asp Lys Pro Asn Ser Tyr Val Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Thr Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95

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

Val Ser Ser Gly Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu
130 135 140

Ser Val Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln
145 150 155 160

Ser Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln
165 170 175

Arg Pro Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu
180 185 190

Asp Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Asp
195 200 205

Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr
210 215 220

Tyr Cys Met Gln Gly Ser Ser Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr
225 230 235 240

Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
245 250 255

Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val
260 265 270

Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
275 280 285

Phe Thr Arg Tyr Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly

290		295		300											
Leu 305	Glu	Trp	Ile	Gly	Tyr 310	Ile	Asn	Pro	Ser	Arg 315	Gly	Tyr	Thr	Asn	Tyr 320
Asn	Gln	Lys	Val	Lys 325	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile 330	Ser	Thr	Asp	Lys	Ser 335	Lys
Ser	Thr	Ala	Phe 340	Leu	Gln	Met	Asp	Ser 345	Leu	Arg	Pro	Glu	Asp 350	Thr	Ala
Val	Tyr	Tyr 355	Cys	Ala	Arg	Tyr	Tyr 360	Asp	Asp	His	Tyr	Cys 365	Leu	Asp	Tyr
Trp	Gly 370	Gln	Gly	Thr	Thr	Leu 375	Thr	Val	Ser	Ser	Thr 380	Gly	Gly	Gly	Gly
Ser 385	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser 390	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser 395	Asp	Ile	Gln	Met	Thr 400
Gln	Ser	Pro	Ser	Ser 405	Leu	Ser	Ala	Ser	Val 410	Gly	Asp	Arg	Val	Thr 415	Ile
Thr	Cys	Ser	Ala 420	Ser	Ser	Ser	Val	Ser 425	Tyr	Met	Asn	Trp	Tyr 430	Gln	Gln
Thr	Pro	Gly 435	Lys	Ala	Pro	Lys	Arg 440	Trp	Ile	Tyr	Asp	Thr 445	Ser	Lys	Leu
Ala 450	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg 455	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly 460	Ser	Gly	Thr	Asp
Tyr 465	Thr	Phe	Thr	Ile	Ser 470	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu 475	Asp	Ile	Ala	Thr	Tyr 480
Tyr	Cys	Gln	Gln	Trp 485	Ser	Ser	Asn	Pro	Phe 490	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly 495	Thr
Lys	Leu	Gln	Ile 500	Thr	Arg	Ile	Ser	Ala 505	Met	Val	Arg	Ser	Asp 510	Lys	Thr
His	Thr	Cys 515	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala 520	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly 525	Gly	Pro	Ser
Val 530	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys 535	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu 540	Met	Ile	Ser	Arg
Thr 545	Pro	Glu	Val	Thr	Cys 550	Val	Val	Val	Asp	Val 555	Ser	His	Glu	Asp	Pro 560

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
565 570 575

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
580 585 590

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
595 600 605

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
610 615 620

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
625 630 635 640

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
645 650 655

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
660 665 670

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
675 680 685

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
690 695 700

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
705 710 715 720

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
725 730 735

<210> 24
<211> 736
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> OKT3-PP6373

<400> 24

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
20 25 30

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

Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Val

50					55					60					
Lys 55	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile 70	Ser	Thr	Asp	Lys	Ser 75	Lys	Ser	Thr	Ala	Phe 80
Leu	Gln	Met	Asp	Ser 85	Leu	Arg	Pro	Glu	Asp 90	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr 95	Cys
Ala	Arg	Tyr	Tyr 100	Asp	Asp	His	Tyr	Cys 105	Leu	Asp	Tyr	Trp	Gly 110	Gln	Gly
Thr	Thr	Leu 115	Thr	Val	Ser	Ser	Thr 120	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser 125	Gly	Gly	Gly
Gly	Ser 130	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser 135	Asp	Ile	Gln	Met	Thr 140	Gln	Ser	Pro	Ser
Ser 145	Leu	Ser	Ala	Ser	Val 150	Gly	Asp	Arg	Val	Thr 155	Ile	Thr	Cys	Ser	Ala 160
Ser	Ser	Ser	Val	Ser 165	Tyr	Met	Asn	Trp	Tyr 170	Gln	Gln	Thr	Pro	Gly 175	Lys
Ala	Pro	Lys	Arg 180	Trp	Ile	Tyr	Asp	Thr 185	Ser	Lys	Leu	Ala	Ser 190	Gly	Val
Pro	Ser	Arg 195	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly 200	Ser	Gly	Thr	Asp	Tyr 205	Thr	Phe	Thr
Ile	Ser 210	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu 215	Asp	Ile	Ala	Thr	Tyr 220	Tyr	Cys	Gln	Gln
Trp 225	Ser	Ser	Asn	Pro	Phe 230	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly 235	Thr	Lys	Leu	Gln	Ile 240
Thr	Arg	Gly	Gly	Gly 245	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly 250	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly 255	Gly
Ser	Glu	Val	Lys 260	Phe	Glu	Glu	Ser	Gly 265	Gly	Gly	Leu	Val	Gln 270	Pro	Gly
Gly	Ser	Ile 275	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala 280	Ala	Ser	Gly	Val	Thr 285	Phe	Ser	Glu
Ala	Trp 290	Met	Asp	Trp	Val	Arg 295	Gln	Ser	Pro	Glu	Lys 300	Gly	Leu	Glu	Trp
Val 305	Ala	Glu	Ile	Arg	Asp 310	Lys	Pro	Asn	Ser	Tyr 315	Val	Thr	Tyr	Tyr	Ala 320

Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser
 325 330 335
 Arg Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Thr Glu Asp Thr Gly Ile
 340 345 350
 Tyr Tyr Cys Thr Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val
 355 360 365
 Thr Val Ser Ser Gly Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 370 375 380
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser
 385 390 395 400
 Leu Ser Val Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser
 405 410 415
 Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln
 420 425 430
 Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys
 435 440 445
 Leu Asp Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr
 450 455 460
 Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile
 465 470 475 480
 Tyr Tyr Cys Met Gln Gly Ser Ser Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly
 485 490 495
 Thr Lys Leu Glu Ile Lys Ile Ser Ala Met Val Arg Ser Asp Lys Thr
 500 505 510
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
 515 520 525
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 530 535 540
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 545 550 555 560
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 565 570 575
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 580 585 590

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
595 600 605

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
610 615 620

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
625 630 635 640

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
645 650 655

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
660 665 670

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
675 680 685

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
690 695 700

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
705 710 715 720

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
725 730 735

<210> 25
<211> 671
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VL6373-CL-VH0XT3-CH1-Fe

<400> 25

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

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

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu Asp Pro Gly Ile Pro
50 55 60

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

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

Ser Ser Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly 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 Gly Gly Gly Gln Val
210 215 220

Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu
225 230 235 240

Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Thr Met
245 250 255

His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr
260 265 270

Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Val Lys Asp
275 280 285

Arg Phe Thr Ile Ser Thr Asp Lys Ser Lys Ser Thr Ala Phe Leu Gln
290 295 300

Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
305 310 315 320

Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
325 330 335

Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
340 345 350

Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	355	360	365
Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	370	375	380
Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	385	390	395
Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	405	410	415
Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	420	425	430
Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	435	440	445
Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	450	455	460
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	465	470	475
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	485	490	495
Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	500	505	510
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	515	520	525
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	530	535	540
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	545	550	555
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	565	570	575
Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	580	585	590
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	595	600	605
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	610	615	620

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
625 630 635 640

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
645 650 655

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
660 665 670

<210> 26

<211> 218

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VH6373-CH1

<400> 26

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

Ser Ile Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val Thr Phe Ser Glu Ala
20 25 30

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

Ala Glu Ile Arg Asp Lys Pro Asn Ser Tyr Val Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Thr Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95

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

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

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

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

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180 185 190
Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205
Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215

<210> 27
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VLOKT3-CL

<400> 27

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 Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

Asn Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
65 70 75 80

Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr
85 90 95

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

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 28
<211> 522
<212> PR7
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD24IgV-sc

<400> 28

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

Ser Ile Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val Thr Phe Ser Glu Ala
20 25 30

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

Ala Glu Ile Arg Asp Lys Pro Asn Ser Tyr Val Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Thr Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95

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

Val Ser Ser Gly Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu
130 135 140

Ser Val Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln
145 150 155 160

Ser Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln
165 170 175

Arg Pro Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu

	180		185		190
Asp	Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Asp				
	195		200		205
Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr					
	210		215		220
Tyr Cys Met Gln Gly Ser Ser Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr					
	225		230		235
Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Ile					
		245		250	255
Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly					
		260		265	270
Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe					
		275		280	285
Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val					
		290		295	300
Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp					
		305		310	315
Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met					
		325		330	335
Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala					
		340		345	350
Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Phe Ser Val Val Lys					
		355		360	365
Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg					
		370		375	380
Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro					
		385		390	395
Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser					
		405		410	415
Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Glu Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu					
		420		425	430
Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg					
		435		440	445

Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Gln Arg Arg Lys Asn Pro
450 455 460

Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
465 470 475 480

Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
485 490 495

Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
500 505 510

Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
515 520

<210> 29
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Hu Onc-VIIV1

<400> 29

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val Thr Phe Ser Glu Ala
20 25 30

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

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

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

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

Tyr Cys Thr Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 30
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Hu Onc-VHv2

<400> 30
Glu Val Gln Phe Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val Thr Phe Ser Glu Ala
20 25 30

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

Ala Glu Ile Arg Asp Lys Pro Asn Ser Tyr Val Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Thr Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 31
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Hu Onc-VHv3

<400> 31
Glu Val Gln Phe Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val Thr Phe Ser Glu Ala
20 25 30

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

Ala Glu Ile Arg Asp Lys Pro Asn Ser Tyr Val Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Ile Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 32
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Hu Onc-VIIV4

<400> 32

Glu Val Gln Phe Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val Thr Phe Ser Glu Ala
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Glu Ile Arg Asp Lys Pro Asn Ser Tyr Val Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Thr
65 70 75 80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Ile Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 33
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Hu Onc-VLvl

<400> 33

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30
Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu Asp Pro Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly
85 90 95
Ser Ser Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 34
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Hu Onc-VL2
<400> 34

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Ile Gly
5 10 15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30
Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Gln Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu Asp Pro Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Glu Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly
85 90 95
Ser Ser Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 35
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Hu Onc-VLx3

<400> 35
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Ile Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

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

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu Asp Pro Gly Ile Pro
50 55 60

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

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

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

Arg

<210> 36
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Hu Onc-VLv4

<400> 36
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Ile Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

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

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu Asp Pro Gly Val Pro
50 55 60

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

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

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

Arg

<210> 37
<211> 671
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VL6373-L3-CL-VHOK73-CH1-Fe

<400> 37

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

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

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys Leu Asp Pro Gly Ile Pro
50 55 60

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

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

Ser Ser Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val 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 Gly Ser Gly Gln Val
 210 215 220
 Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu
 225 230 235 240
 Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Thr Met
 245 250 255
 His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr
 260 265 270
 Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Val Lys Asp
 275 280 285
 Arg Phe Thr Ile Ser Thr Asp Lys Ser Lys Ser Thr Ala Phe Leu Gln
 290 295 300
 Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
 305 310 315 320
 Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 325 330 335
 Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 340 345 350
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 355 360 365
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 370 375 380
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 385 390 395 400
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 405 410 415

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 420 425 430
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 435 440 445
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 450 455 460
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 465 470 475 480
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 485 490 495
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 500 505 510
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 515 520 525
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 530 535 540
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 545 550 555 560
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 565 570 575
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 580 585 590
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 595 600 605
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 610 615 620
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 625 630 635 640
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 645 650 655
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 660 665 670
 <210> 38
 <211> 218

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VH6373-H3-CH1

<400> 38

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val Thr Phe Ser Glu Ala
20 25 30

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

Ala Glu Ile Arg Asp Lys Pro Asn Ser Tyr Val Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

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

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

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

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

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215

<210> 39

<211> 693

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> WBP4002-A1 (在 Fc 上將 D 突變為 A)

<400> 39

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ile Val Met Tar Gln Thr Pro Leu Ser
20 25 30

Leu Ser Val Thr Ile Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser
35 40 45

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

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Gln Val Ser Lys
65 70 75 80

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

Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile
100 105 110

Tyr Tyr Cys Met Gln Gly Ser Ser Leu Pro Trp Tar Phe Gly Gly Gly
115 120 125

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

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

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

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

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

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

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

Cys Gly Ser Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val
 245 250 255
 Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
 260 265 270
 Phe Thr Arg Tyr Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
 275 280 285
 Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr
 290 295 300
 Asn Gln Lys Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Thr Asp Lys Ser Lys
 305 310 315 320
 Ser Thr Ala Phe Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala
 325 330 335
 Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr
 340 345 350
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
 355 360 365
 Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
 370 375 380
 Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
 385 390 395 400
 Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
 405 410 415
 Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
 420 425 430
 Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
 435 440 445
 Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
 450 455 460
 Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
 465 470 475 480
 Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 485 490 495
 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Ala Val
 500 505 510

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
515 520 525

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
530 535 540

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
545 550 555 560

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
565 570 575

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
580 585 590

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
595 600 605

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
610 615 620

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
625 630 635 640

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
645 650 655

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
660 665 670

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
675 680 685

Leu Ser Pro Gly Lys
690

<210> 40
<211> 237
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> WBP4002-A2
<400> 40

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Leu Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly
5 10 15

Val Gln Cys Glu Val Gln Phe Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val Thr Phe
35 40 45

Ser Glu Ala Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Glu Ile Arg Asp Lys Pro Asn Ser Tyr Val Thr Tyr
65 70 75 80

Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
85 90 95

Lys Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr
100 105 110

Ala Ile Tyr Tyr Cys Thr Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
130 135 140

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
195 200 205

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
210 215 220

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
225 230 235

- <210> 41
- <211> 235
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> WBP4002-A3 (在 VLOKT3 與 CL 之間刪除額外的 R)
- <400> 41

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser

20 25 30

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

Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Lys Ala
50 55 60

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

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Tar Ile
85 90 95

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

- <210> 42
- <211> 30
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> CD24 定位抗原決定基
- <400> 42

Ser Glu Thr Thr Thr Gly Tar Ser Ser Asn Ser Ser Gln Ser Thr Ser
1 5 10 15

Asn Ser Gly Leu Ala Pro Asn Pro Thr Asn Ala Thr Thr Lys
20 25 30

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

<220>
<223> 定位肽 1

<400> 43

Ser Glu Thr Thr Thr Gly Thr Ser Ser Asn
1 5 10

<210> 44
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 定位肽 2

<400> 44

Gly Thr Ser Ser Asn Ser Ser Gln Ser Thr
1 5 10

<210> 45
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 定位肽 3

<400> 45

Ser Ser Gln Ser Thr Ser Asn Ser Gly Leu
1 5 10

<210> 46
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 定位肽 4

<400> 46

Ser Asn Ser Gly Leu Ala Pro Asn Pro Thr
1 5 10

<210> 47
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 定位肽 5

<400> 47
Ala Pro Asn Pro Thr Asn Ala Thr Thr Lys
1 5 10

<210> 48
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 最小結合肽

<400> 48

Ser Asn Ser Gly Leu Ala Pro Asn
1 5

<210> 49
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 撓性連接子

<400> 49

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種抗CD24抗體，其中該抗體包括：(a)包含SEQ ID NO:31或30所述序列之重鏈可變區及包含SEQ ID NO:35所述序列之輕鏈可變區；或(b)來自包含SEQ ID NO: 6所述序列之重鏈之重鏈可變區及來自包含SEQ ID NO: 16所述序列之輕鏈之輕鏈可變區。

【請求項2】

如請求項1之抗CD24抗體，其中該抗體為單鏈抗體。

【請求項3】

如請求項1或2之抗CD24抗體，其中該重鏈可變區包含SEQ ID NO:31所述序列及該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 35所述序列。

【請求項4】

如請求項1或2之抗CD24抗體，其中該重鏈可變區包含SEQ ID NO:30所述序列及該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 35所述序列。

【請求項5】

如請求項1或2之抗CD24抗體，其包含來自包含SEQ ID NO:6所述序列之重鏈之重鏈可變區及來自包含SEQ ID NO:16所述序列之輕鏈之輕鏈可變區。

【請求項6】

一種雙特異性抗體，其包括包含如請求項1至5中任一項之抗CD24抗體之第一抗體域及包含第二抗體或其抗原結合片段之第二抗體域。

【請求項7】

如請求項6之雙特異性抗體，其中該第二抗體域吸引免疫效應T細胞

至癌細胞用於癌症免疫療法，及/或結合CD3、TCR- α 鏈、TCR- β 鏈，TCR- γ 鏈或TCR- δ 鏈。

【請求項8】

如請求項7之雙特異性抗體，其中該第二抗體域結合至CD3。

【請求項9】

如請求項8之雙特異性抗體，其中該第二抗體域包含SEQ ID NO: 18所述之序列。

【請求項10】

如請求項1或2之抗CD24抗體，其中該抗體具有抗體介導之細胞毒性(ADCC)活性或抗體介導之細胞吞噬(ADCP)活性。

【請求項11】

如請求項6至9中任一項之雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體具有抗體介導之細胞毒性(ADCC)活性或抗體介導之細胞吞噬(ADCP)活性。

【請求項12】

一種嵌合抗原受體，其包括包含如請求項1至5中任一項之抗CD24抗體。

【請求項13】

一種抗體-藥物共軛物(ADC)，其包括如請求項1至5中任一項之抗CD24抗體，其結合選自以下所組成之群之效應部分：細胞毒性藥物、蛋白質毒素及放射性核素。

【請求項14】

一種組合物，其包含如請求項1至5及10中任一項之抗CD24抗體、如請求項6至9及11中任一項之雙特異性抗體、如請求項12之嵌合抗原受體

或如請求項13之ADC，及第二種抗癌劑或抗癌抗體。

【請求項15】

一種如請求項1至5及10中任一項之抗CD24抗體、如請求項6至9及11中任一項之雙特異性抗體、如請求項12之嵌合抗原受體、如請求項13之ADC或如請求項14之組合物之用途，其用於製造治療癌症之醫藥品。

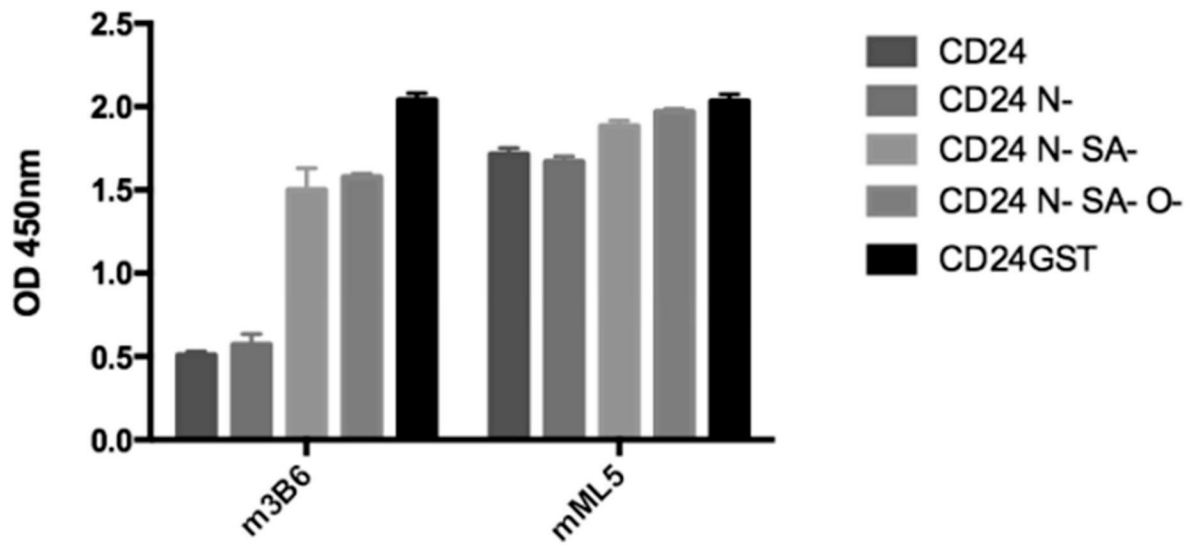
【請求項16】

如請求項15之用途，其中該癌症係肺癌、卵巢癌、乳癌、肝癌、腦癌、子宮頸癌、腎癌、睪丸癌或前列腺癌。

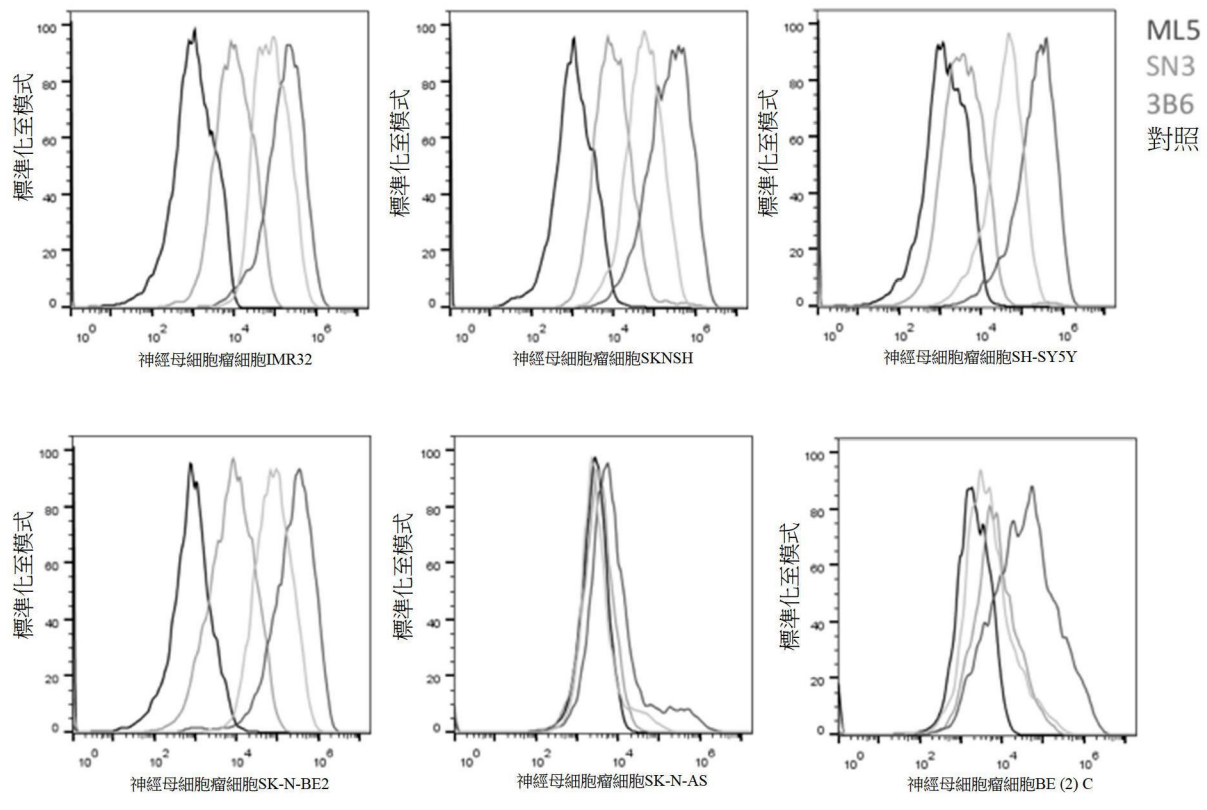
【請求項17】

如請求項16之用途，其中該腦癌為神經母細胞瘤。

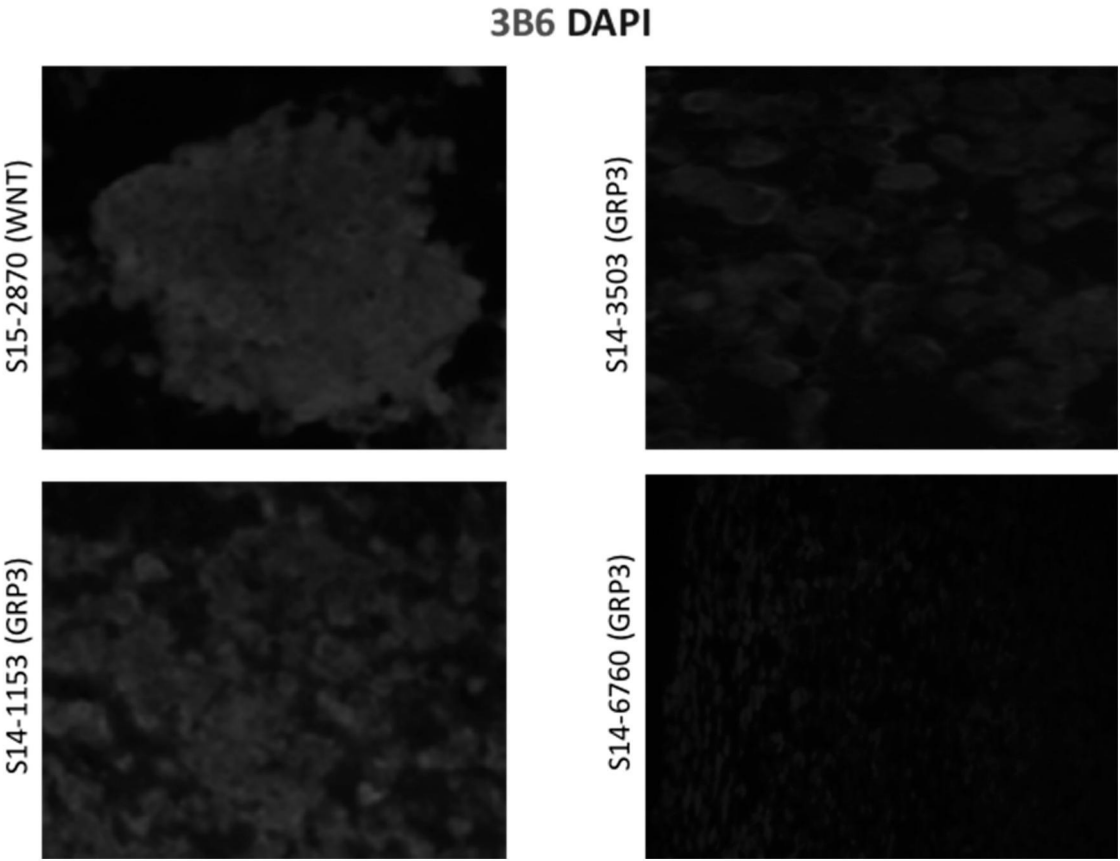
【發明圖式】



【圖1】

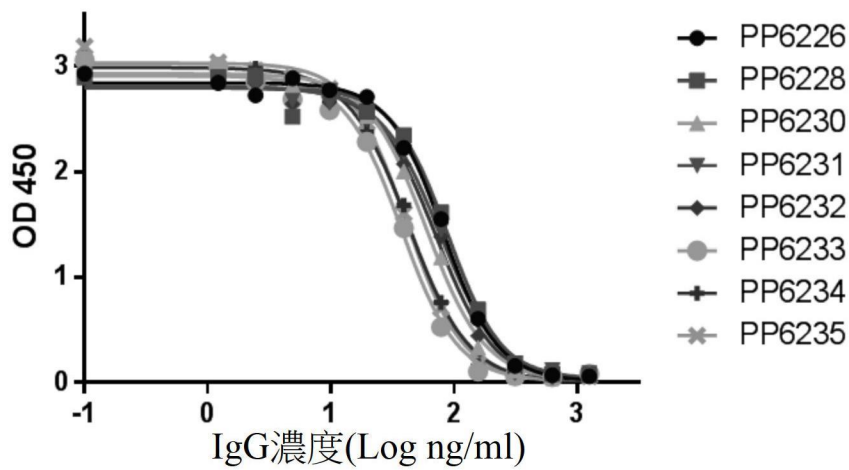


【圖2A】



【圖2B】

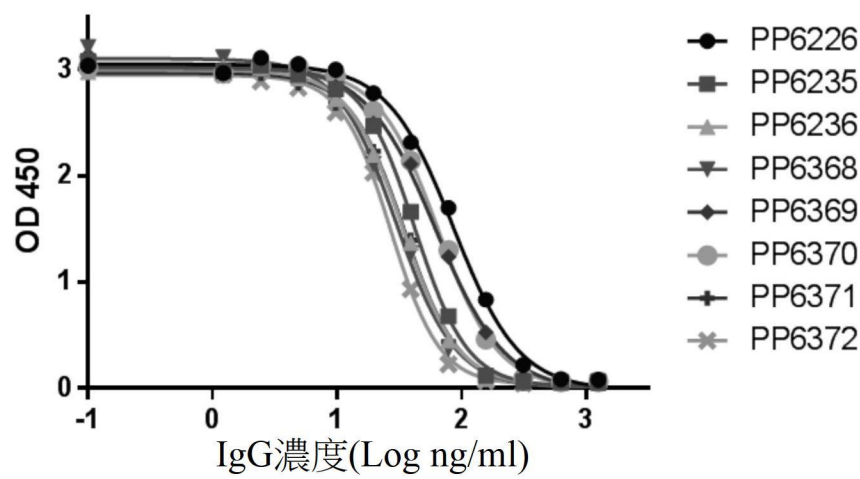
競爭性ELISA生物素-GST-CD24



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

【圖3】

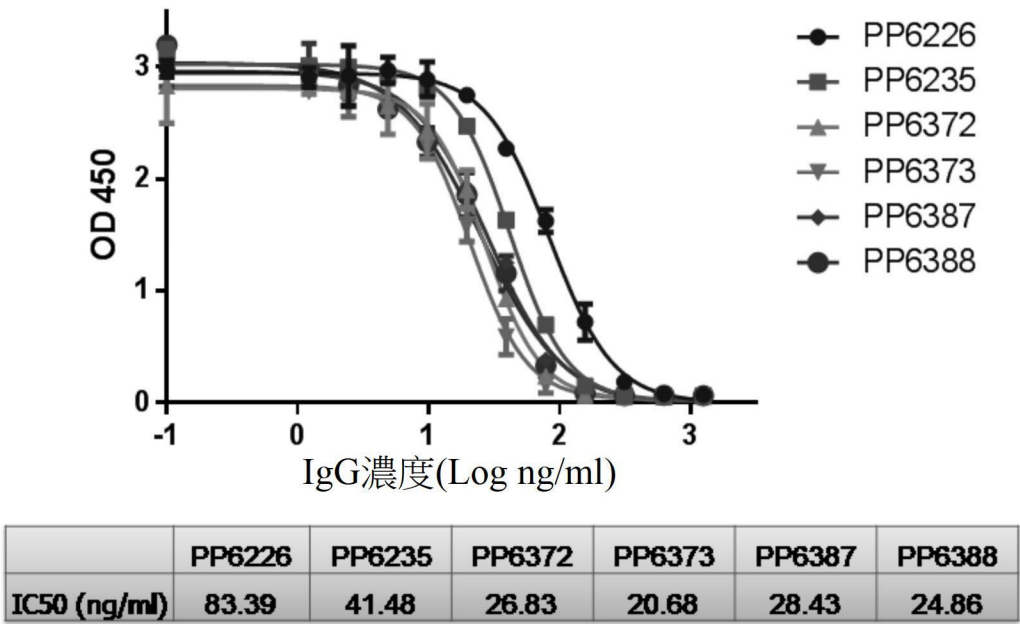
競爭性ELISA生物素-GST-CD24



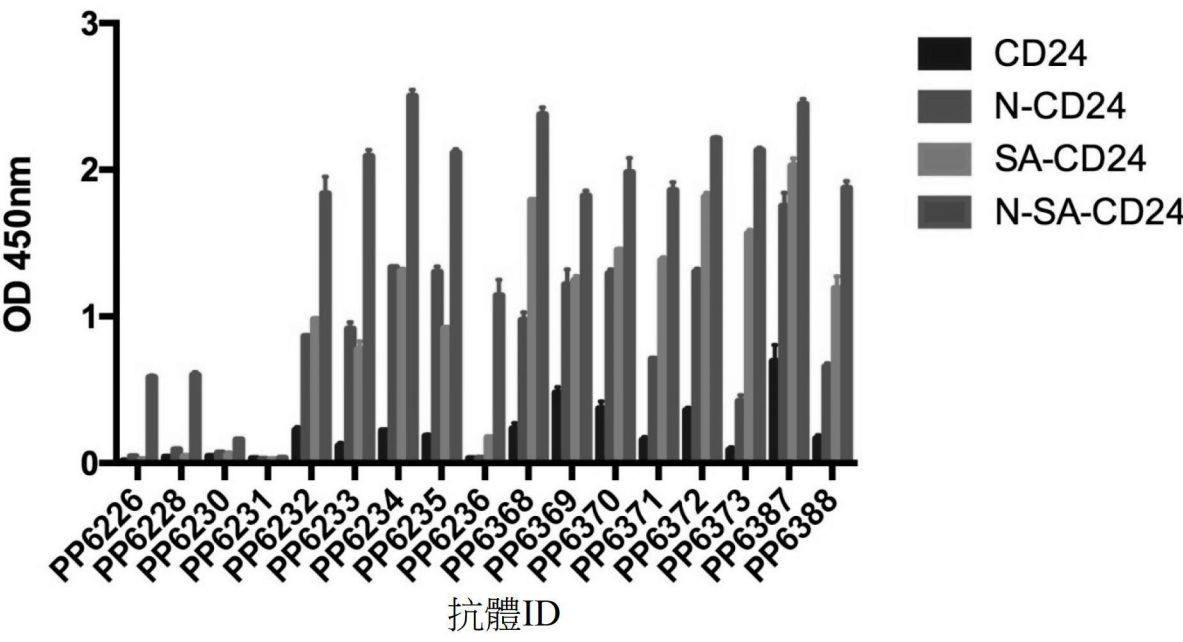
	PP6226	PP6235	PP6236	PP6368	PP6369	PP6370	PP6371	PP6372
IC50 (ng/ml)	85.64	41.87	33.63	29.85	61.12	64.23	34.52	26.89

【圖4】

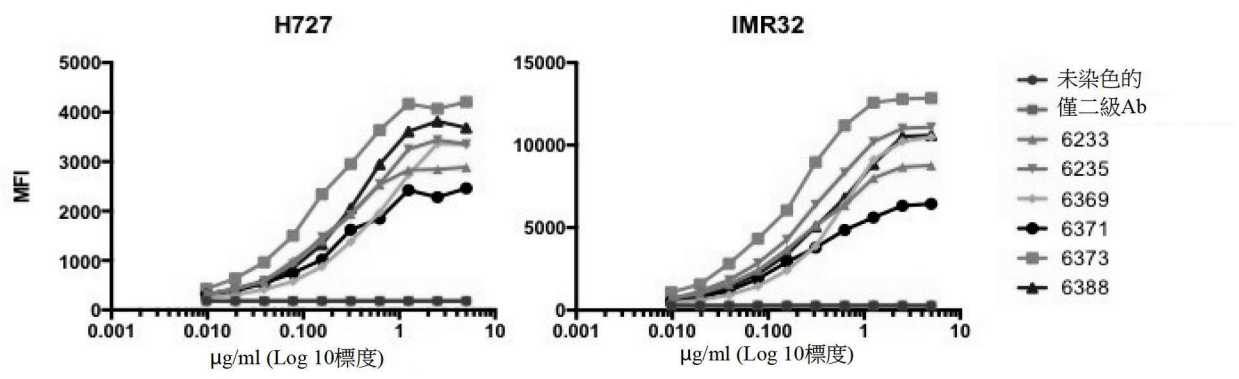
競爭性ELISA生物素-GST-CD24



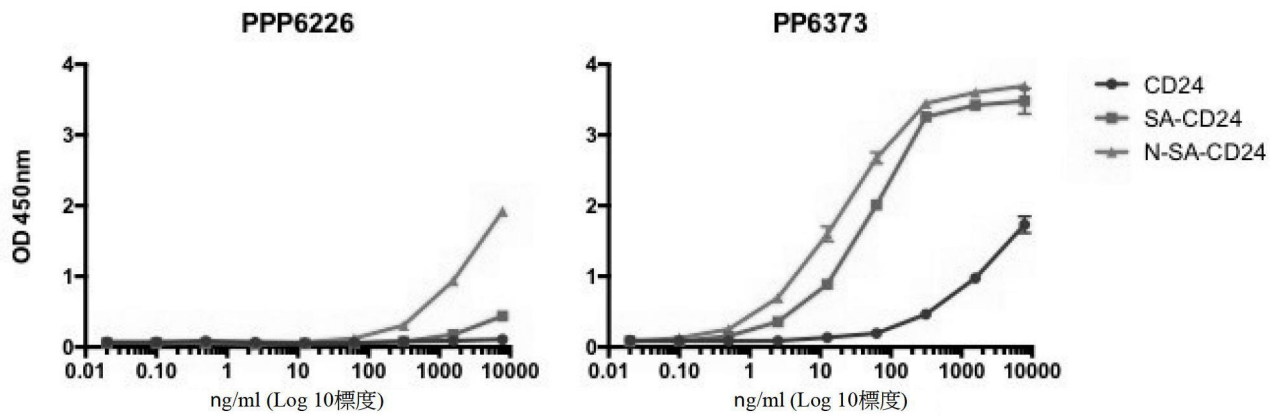
【圖5】



【圖6】

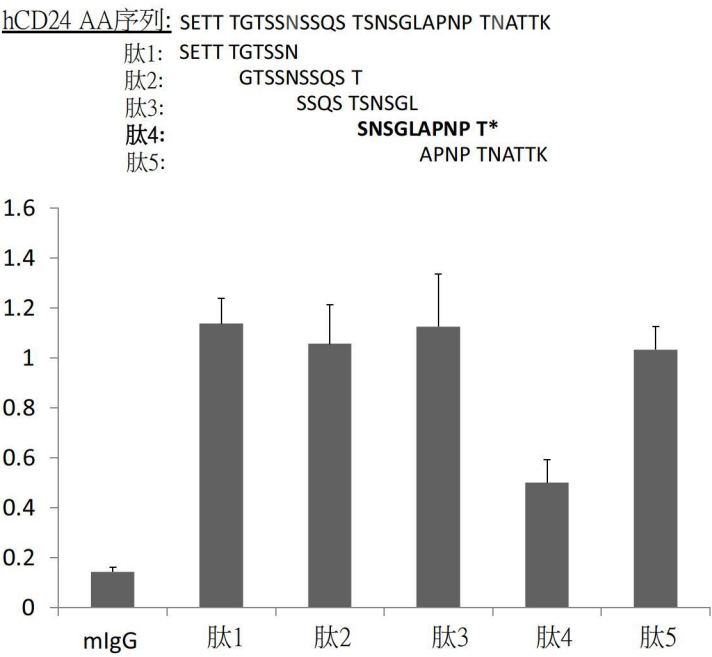


【圖7】

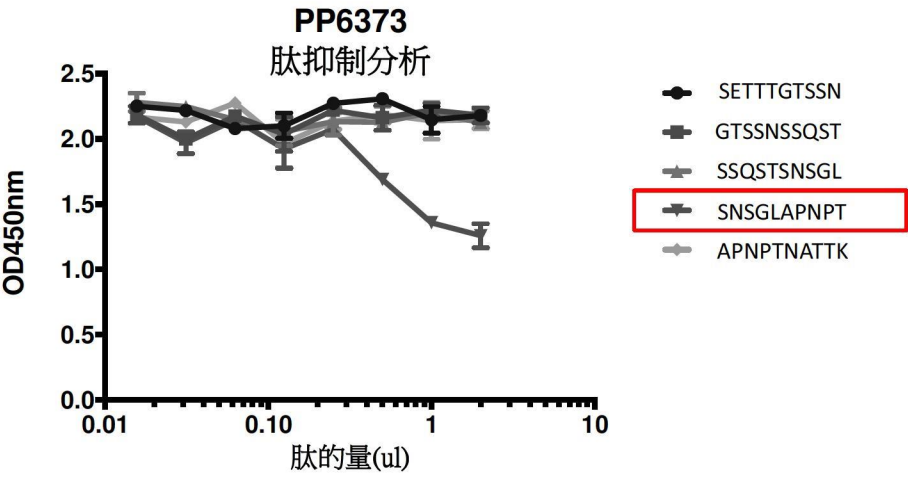


【圖8】

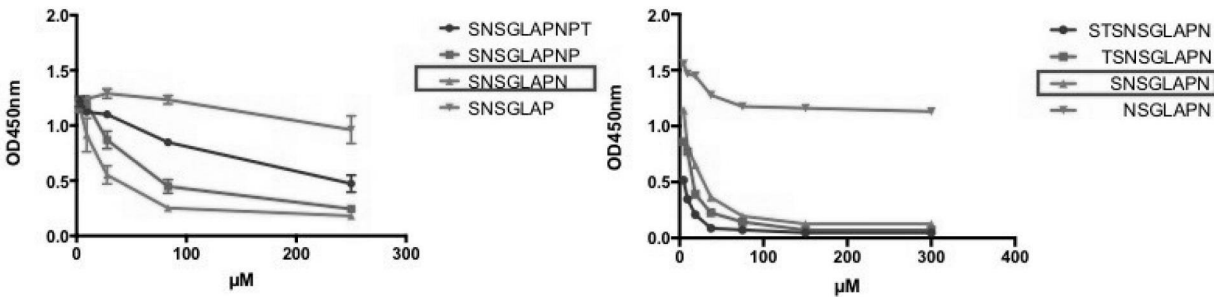
藉由肽抑制繪製3B6結合位點圖譜



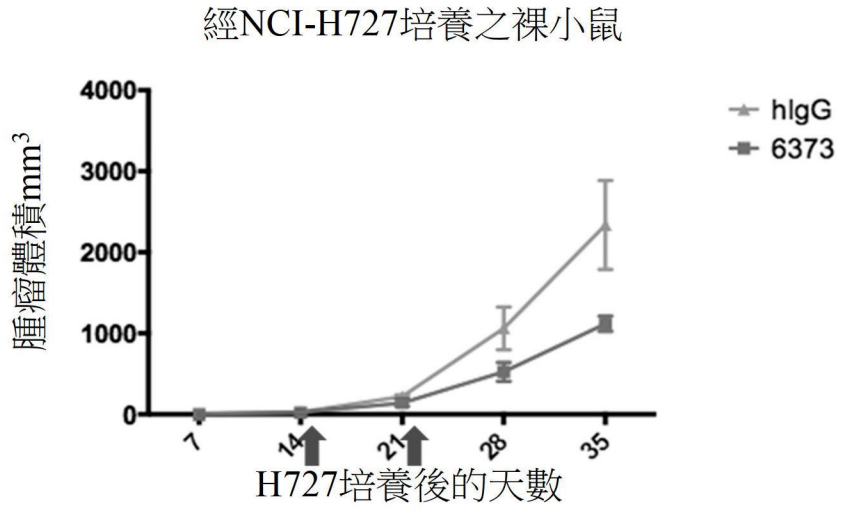
【圖9】



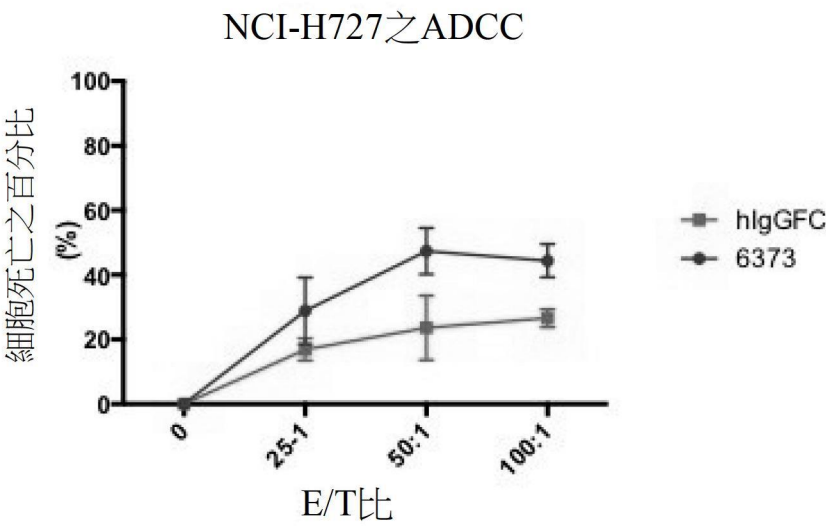
【圖10】



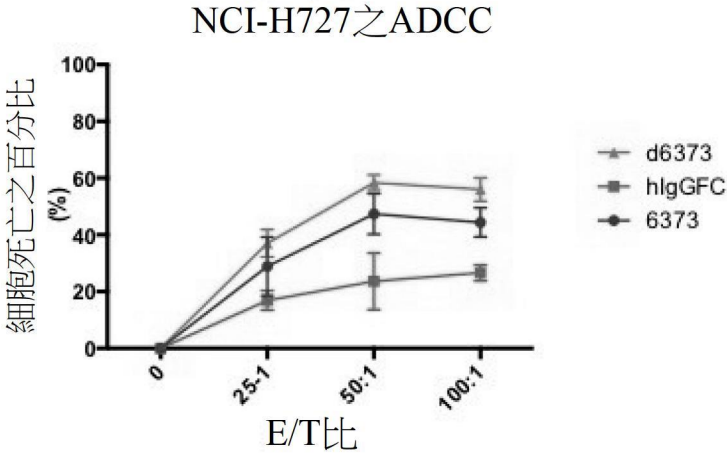
【圖11】



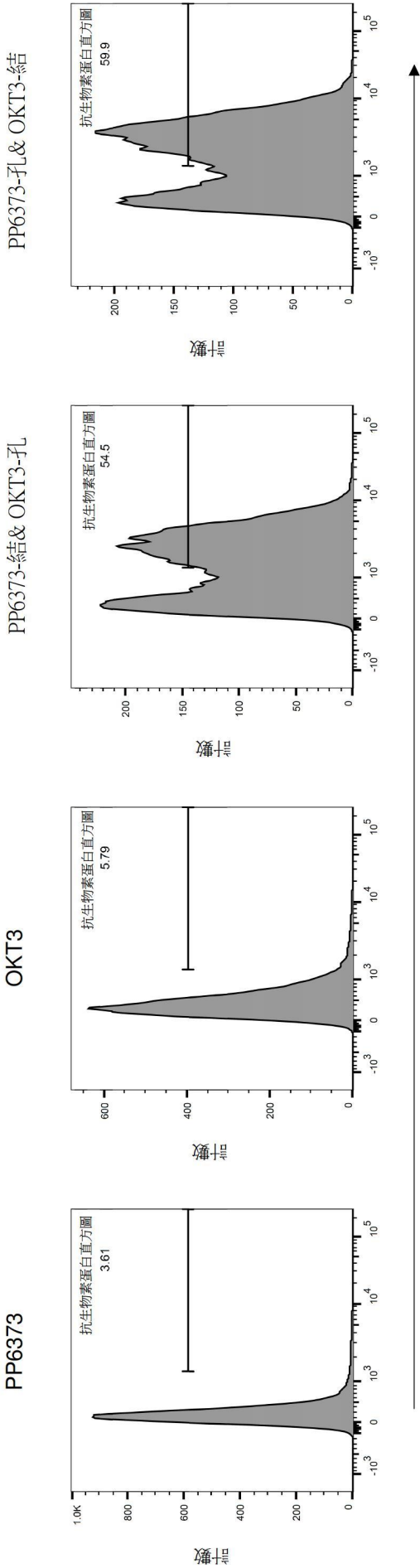
【圖12】



【圖13】

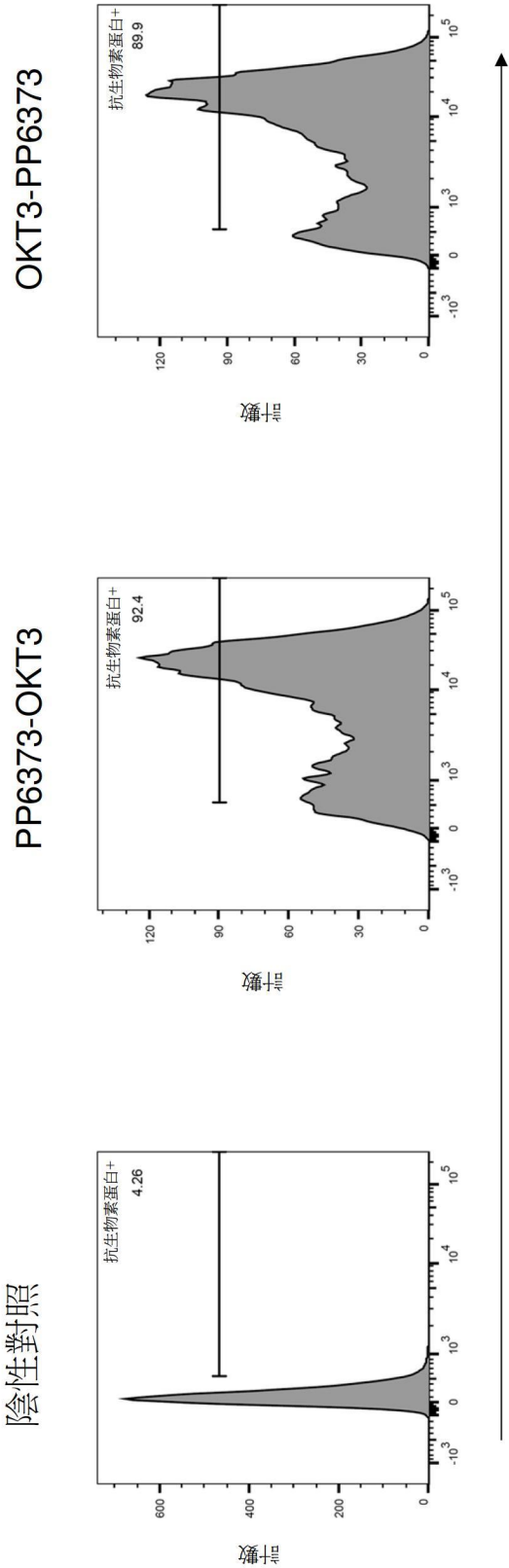


【圖14】

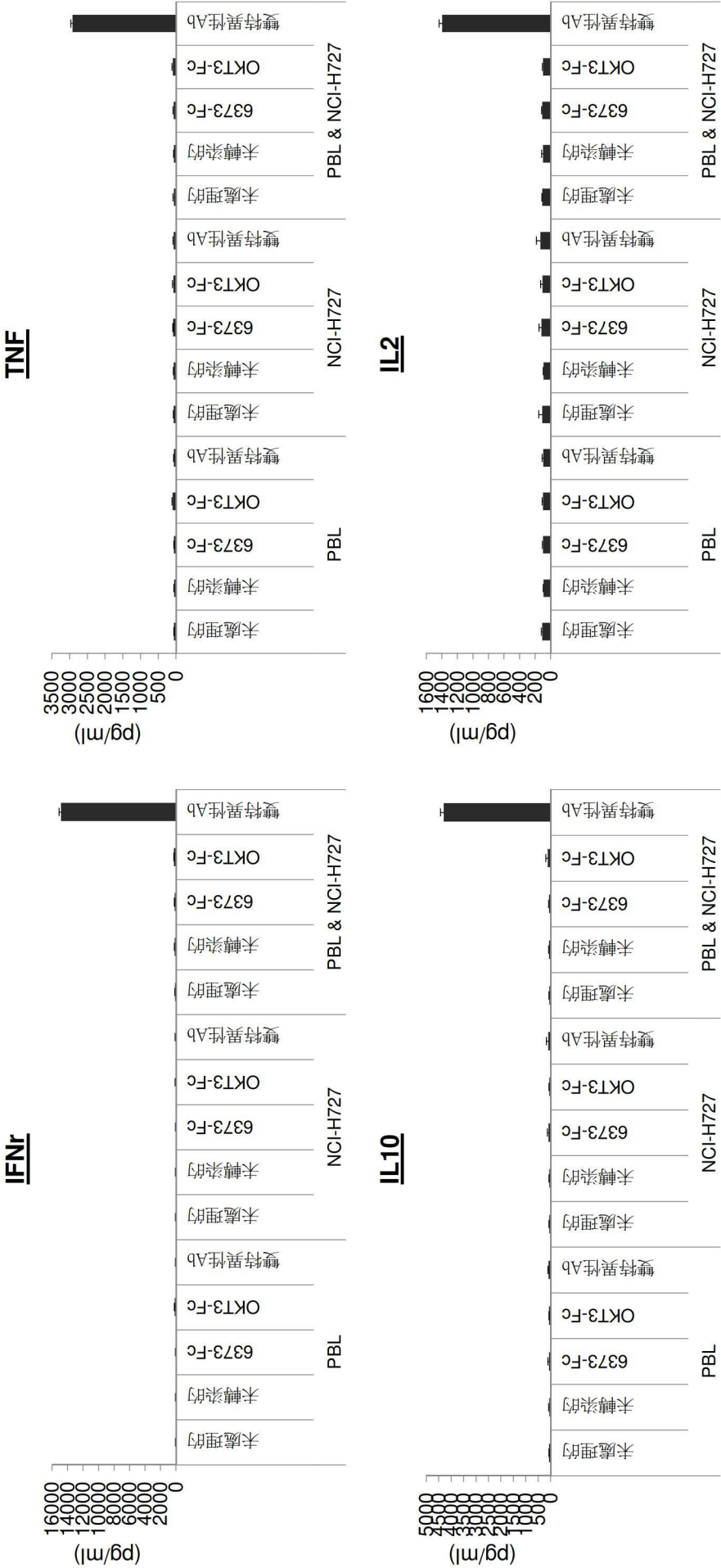


PE-鏈徽親和素

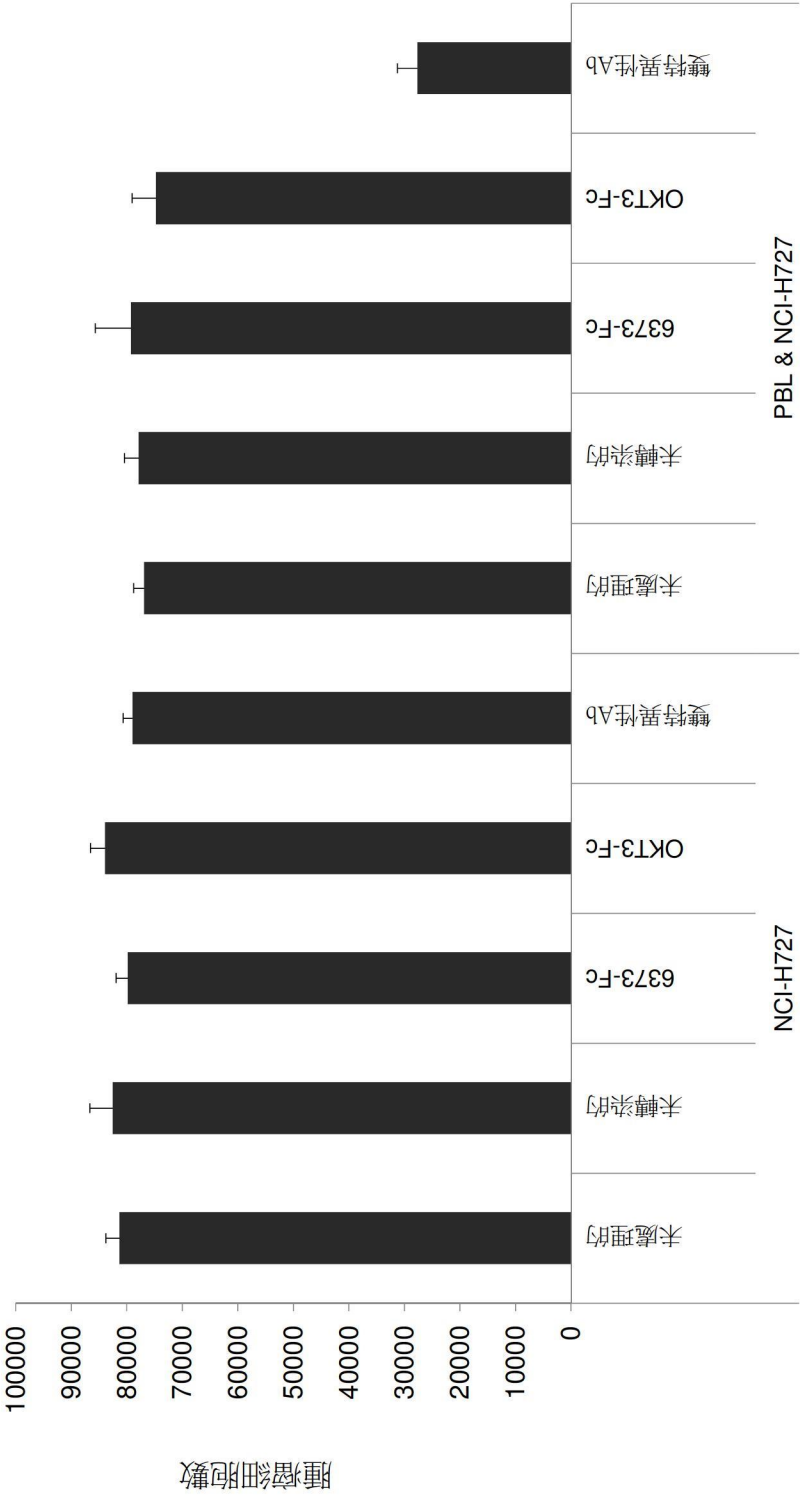
【圖15】



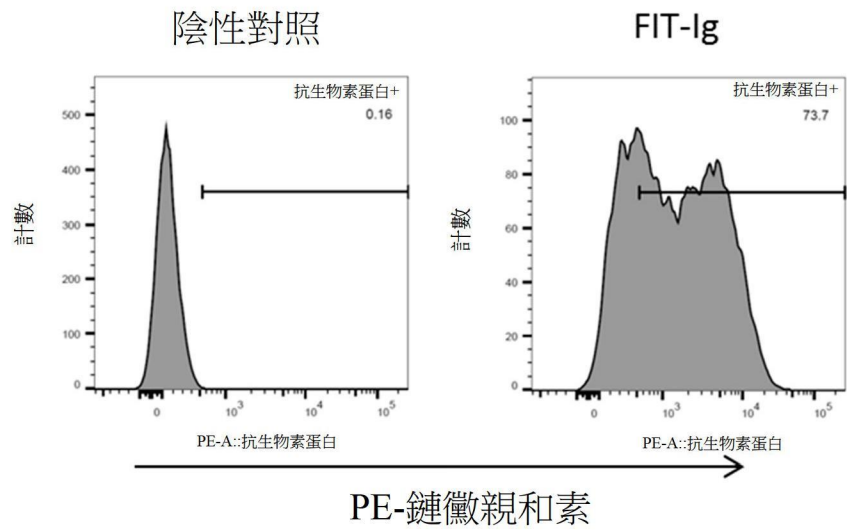
【圖16】



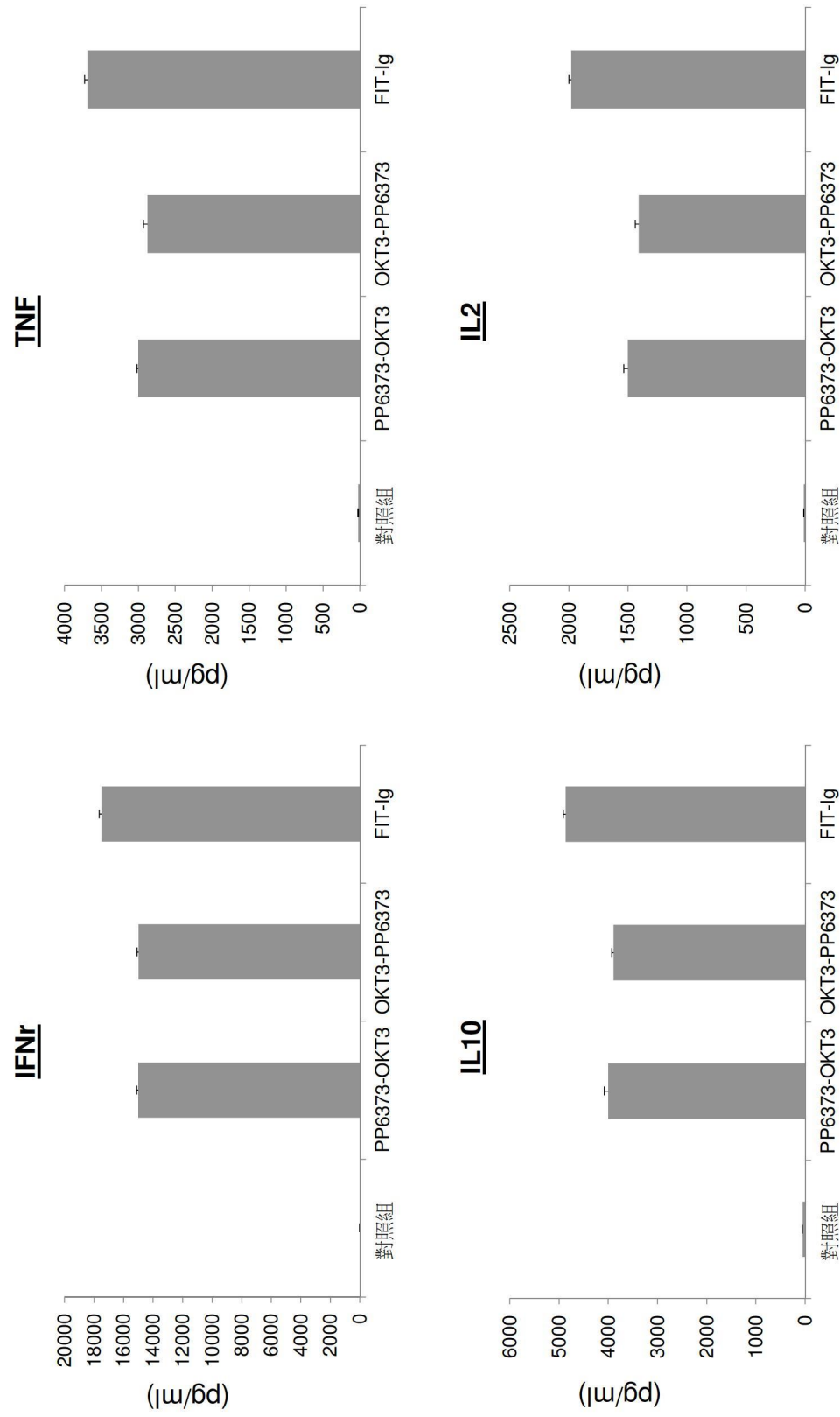
【圖17】



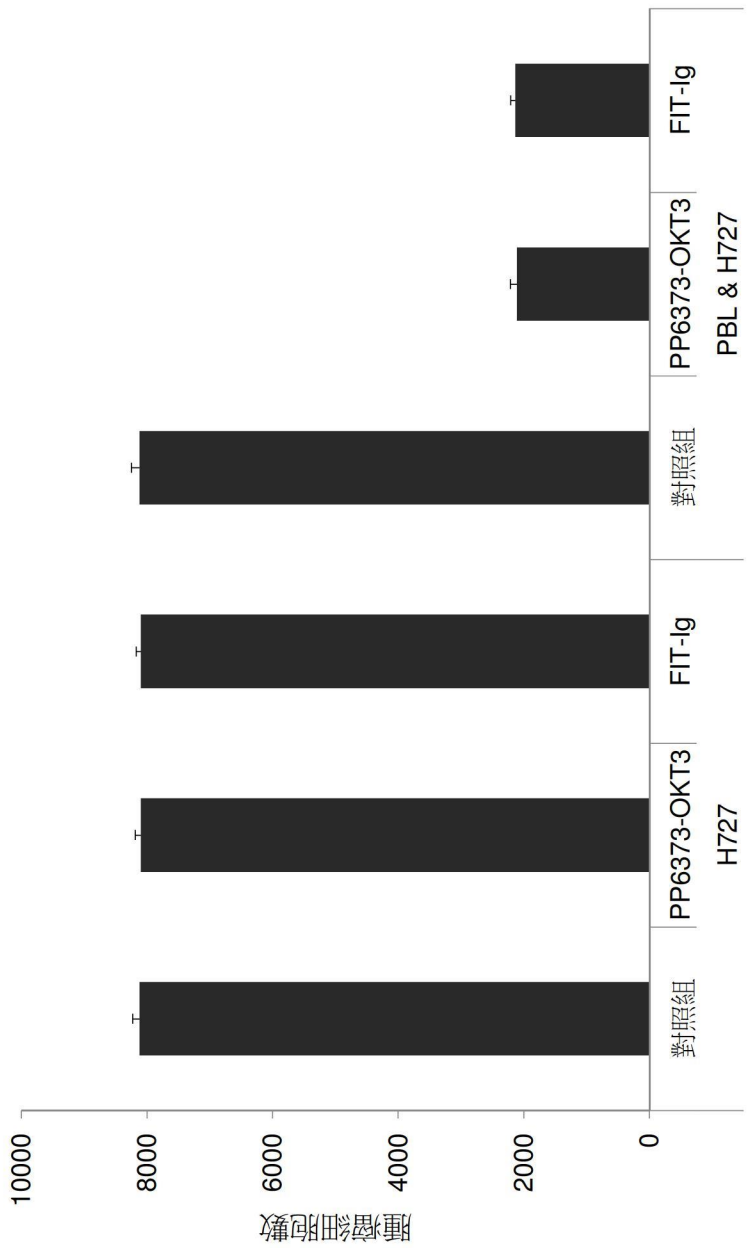
【圖18】



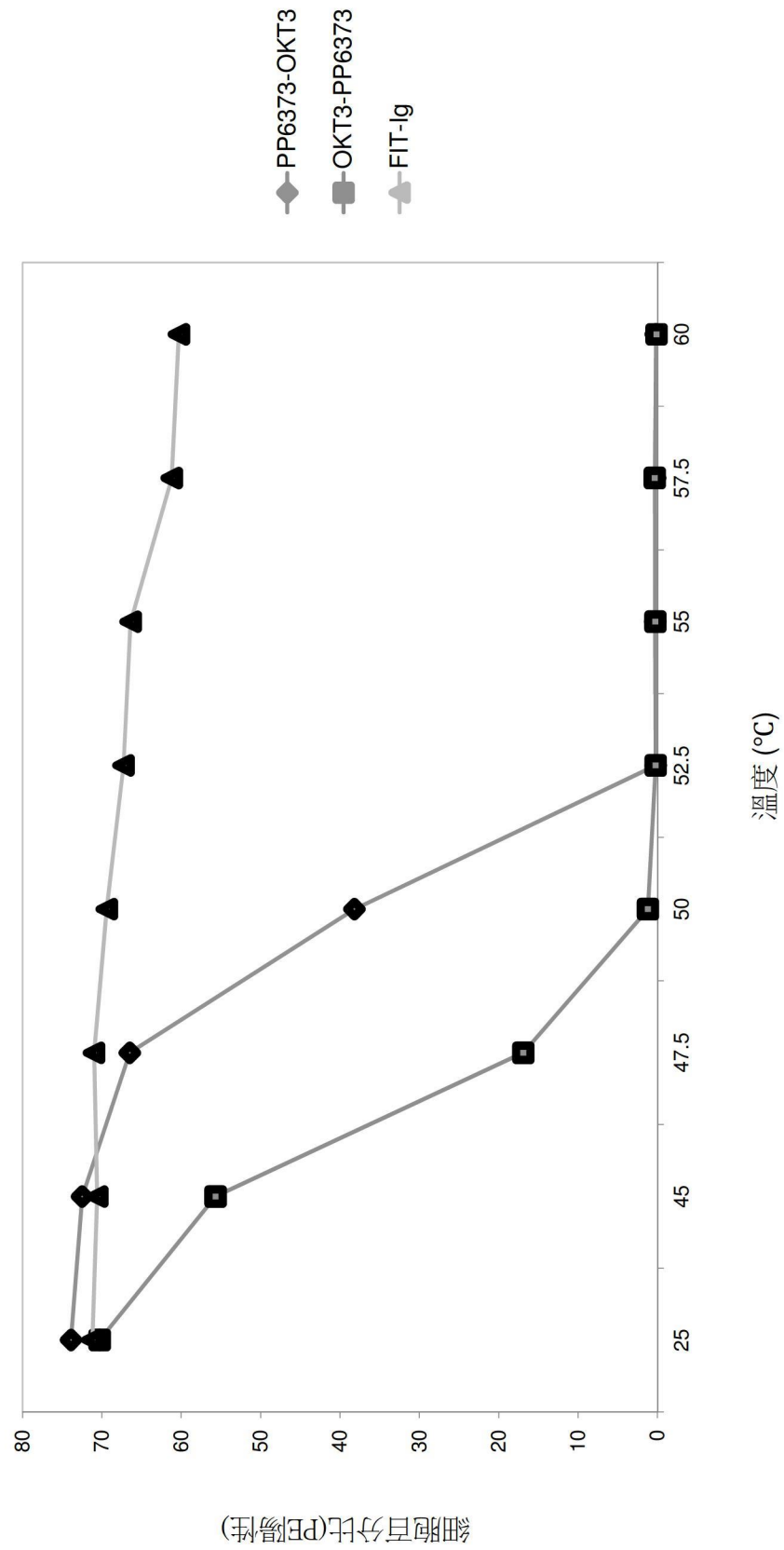
【圖19】



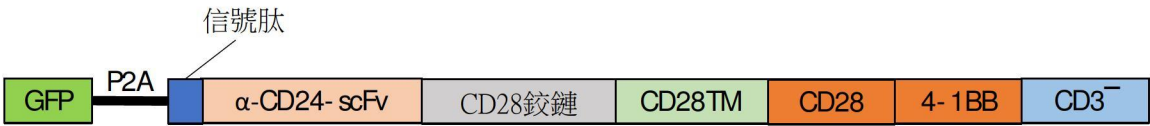
【圖20】



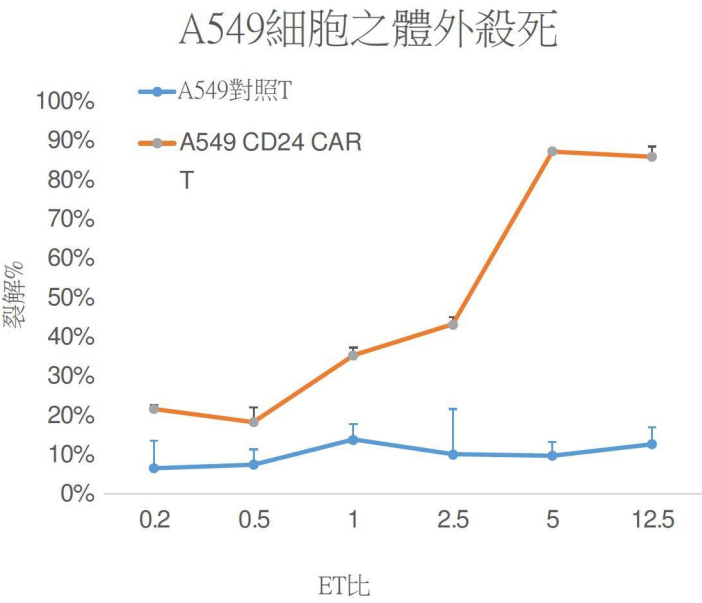
【圖21】



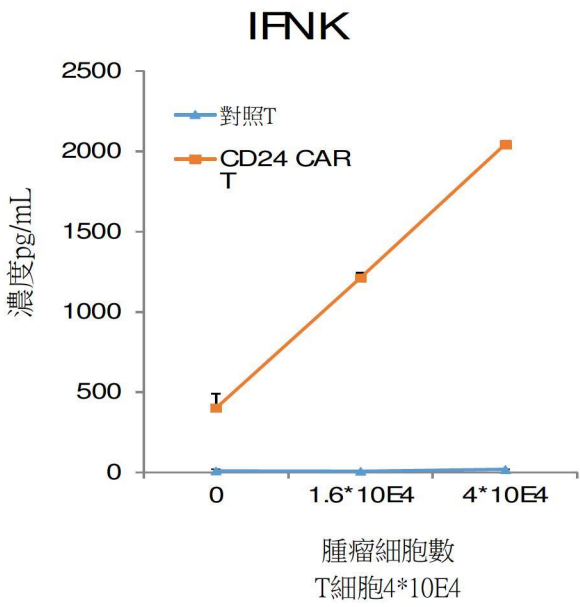
【圖22】



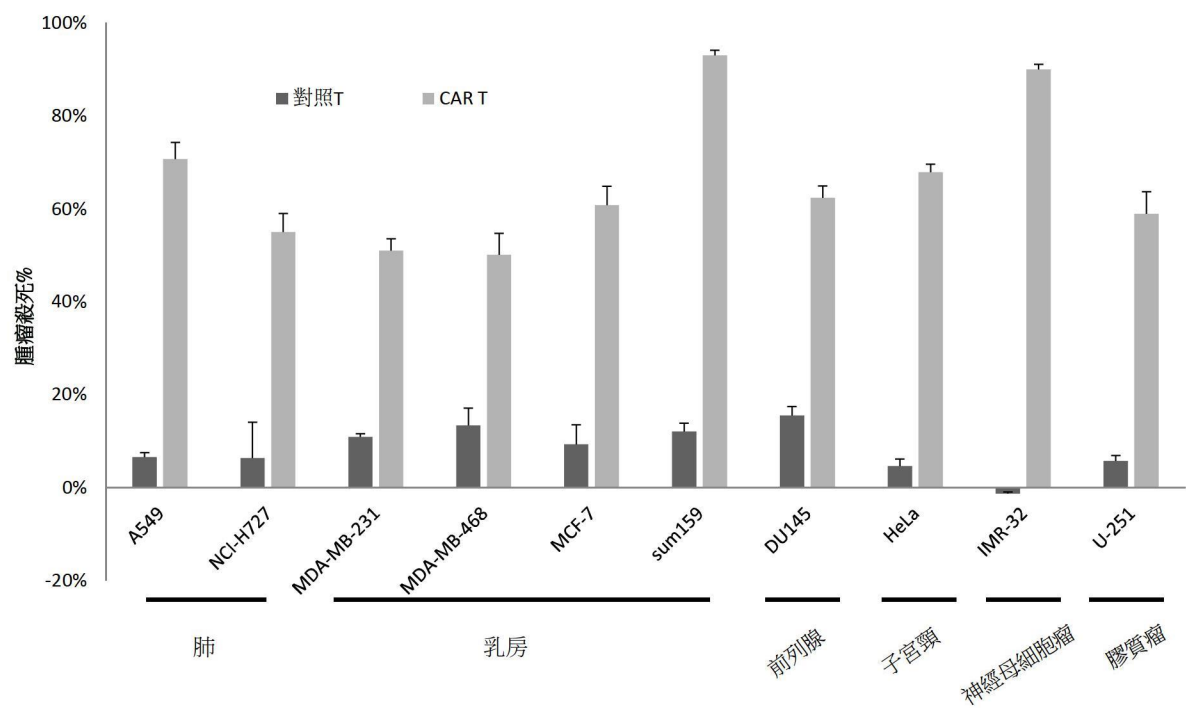
【圖23】



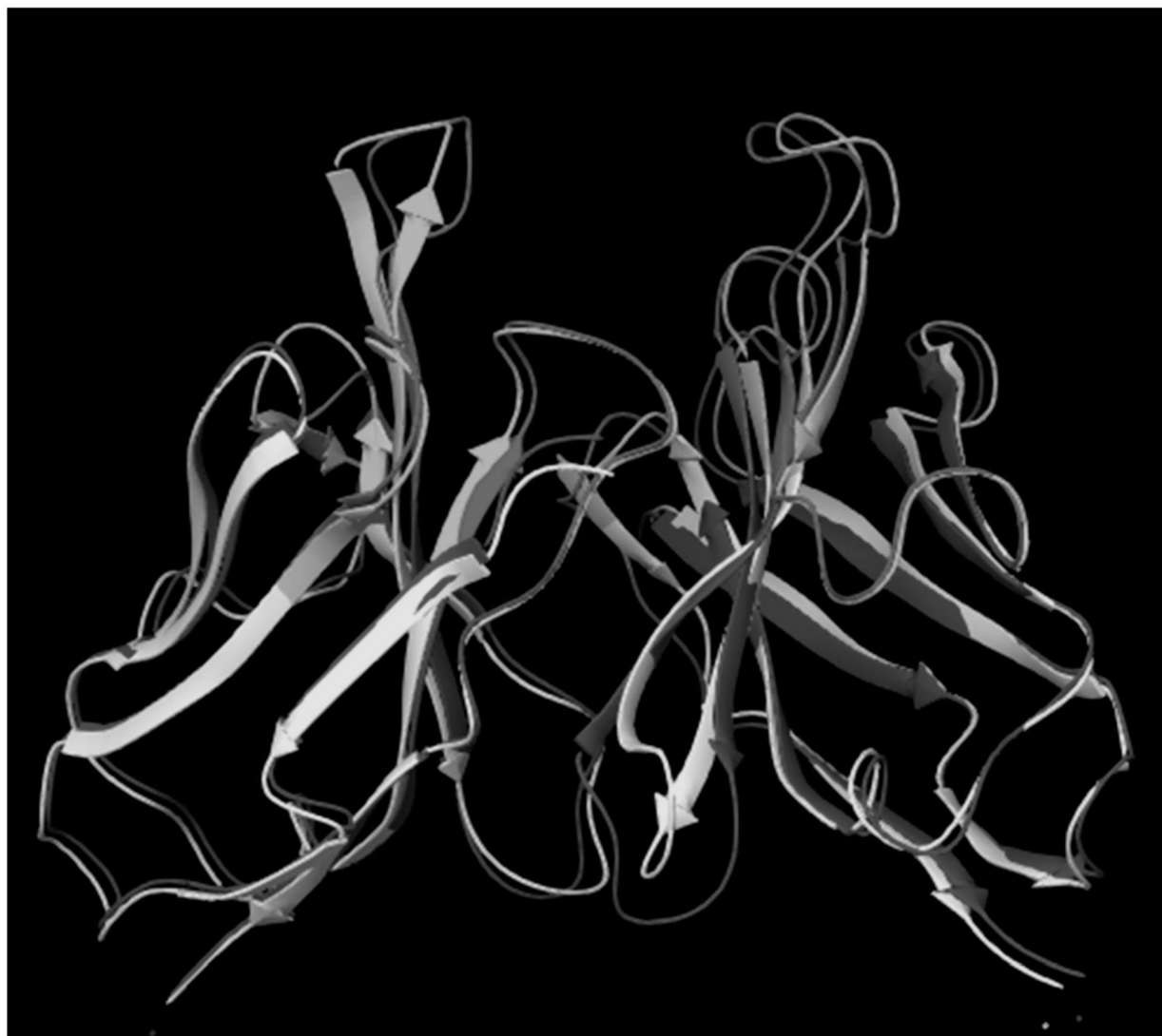
【圖24】



【圖25】

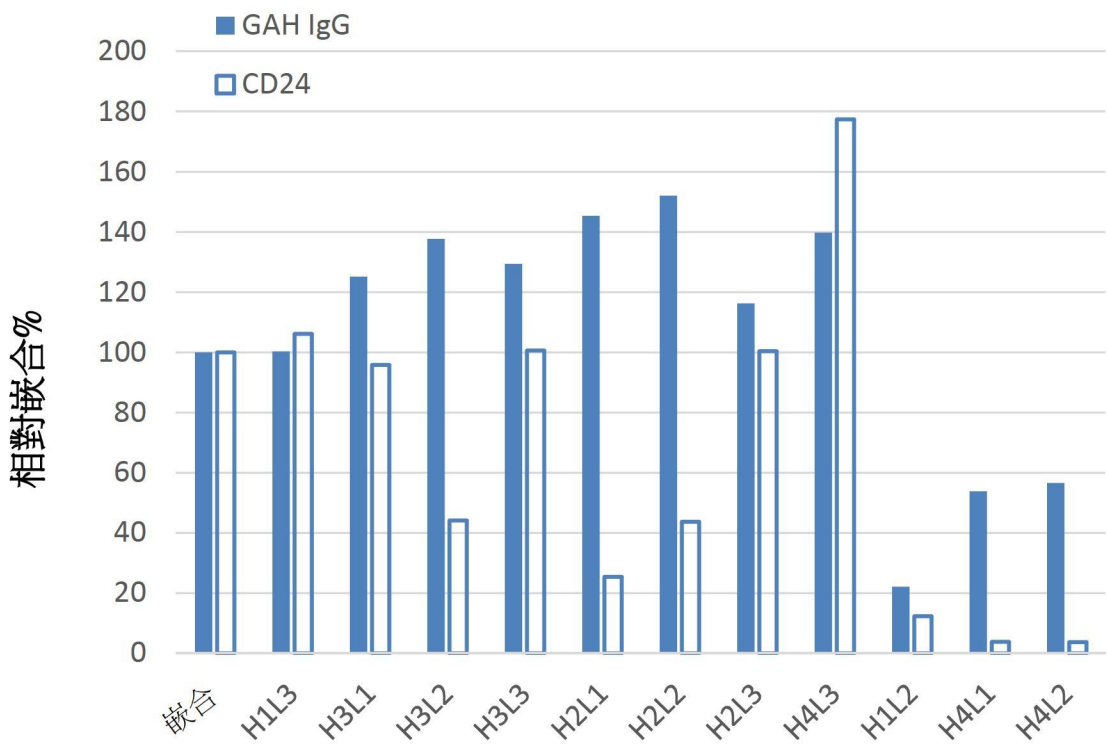


【圖26】

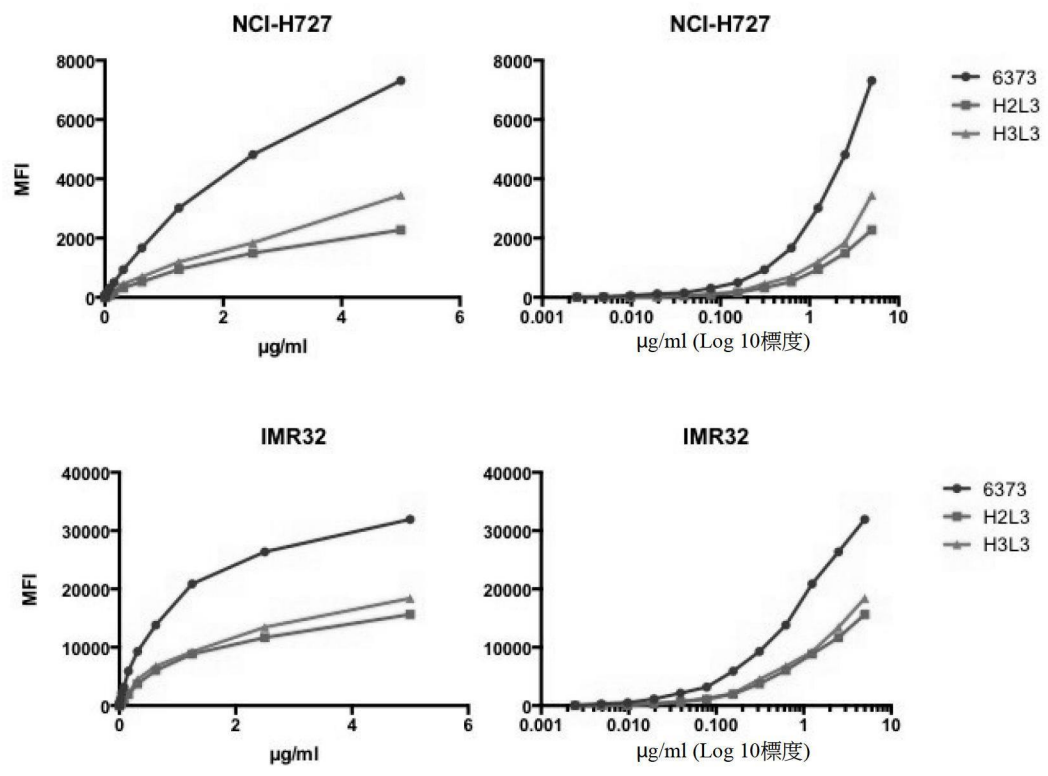


【圖27】

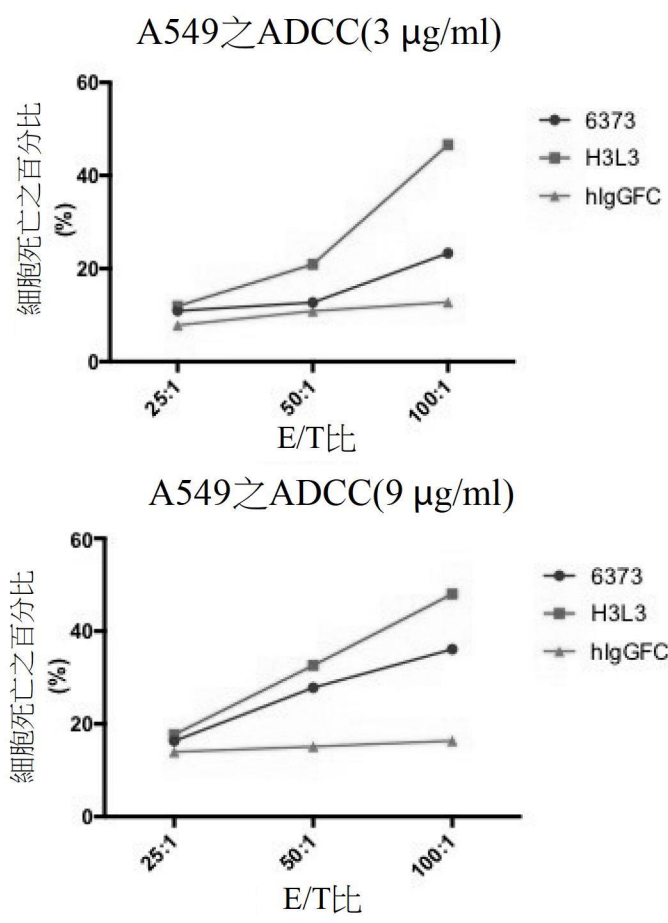
表徵用於表現及結合之轉染



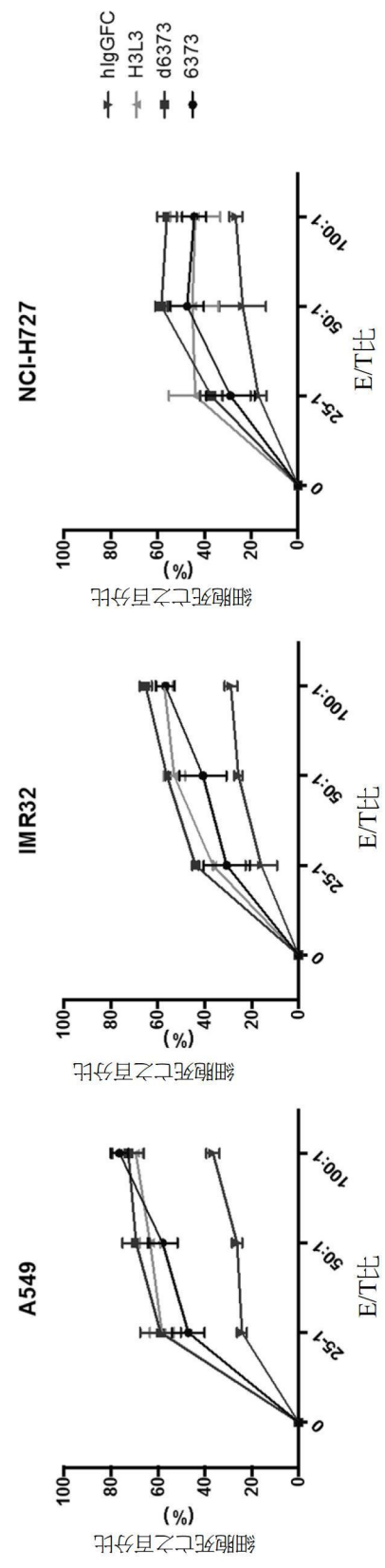
【圖28】



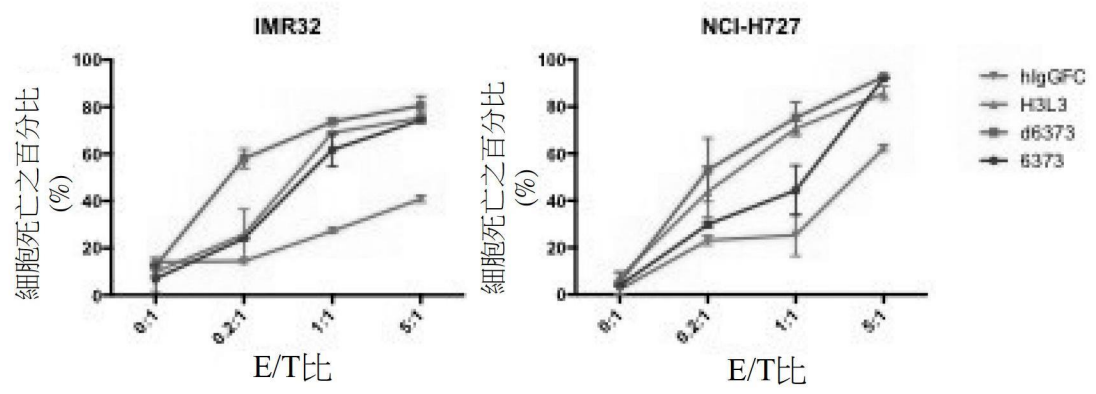
【圖29】



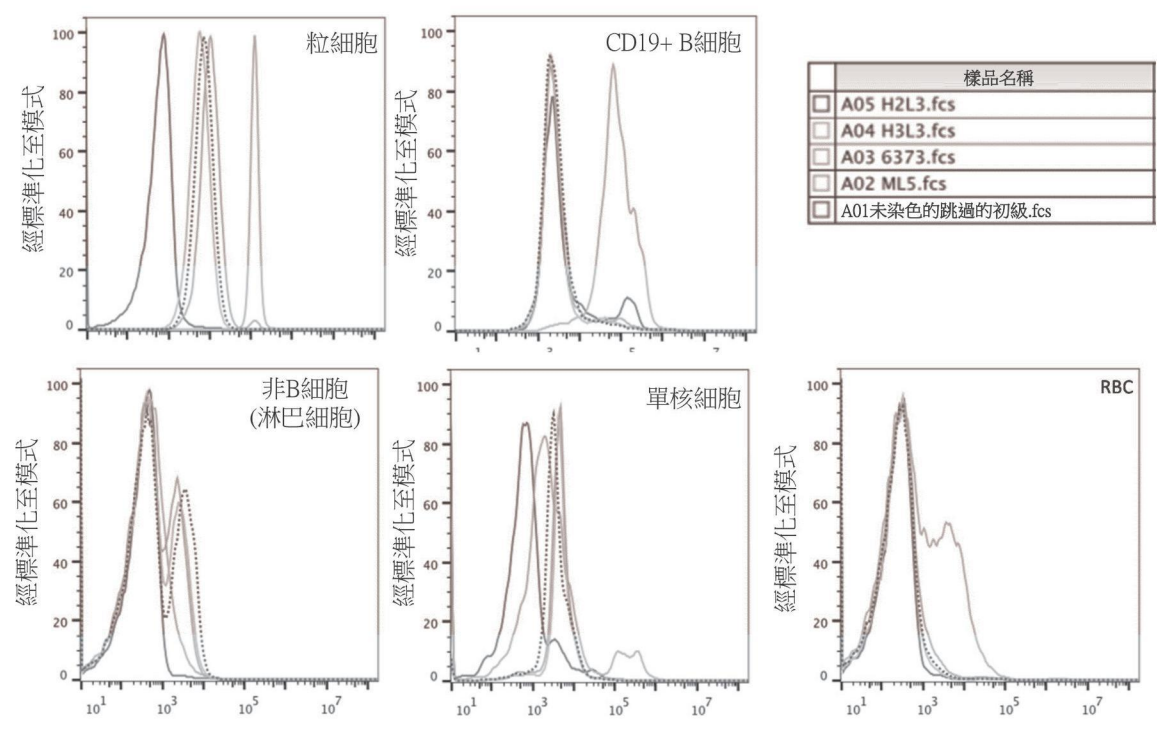
【圖30】



【圖31】



【圖32】



【圖33】