(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 115515981 A
(43)申请公布日 2022.12.23

(21)申请号 202180032994.3

(22)申请日 2021.05.06

(30)优先权数据
63/021,215 2020.05.07 US
62/706,131 2020.08.03 US
63/198,420 2020.10.16 US
63/131,394 2020.12.29 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.11.04

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2021/031055 2021.05.06

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/226321 EN 2021.11.11

(71)申请人 凡恩世制药公司
地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 吴惠文 贾海群 邹晖 王明晗

(74)专利代理机构 上海一平知识产权代理有限公司 31266
专利代理师 徐迅 崔佳佳

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

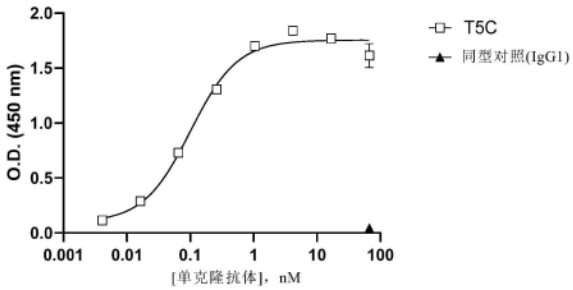
权利要求书13页 说明书67页
序列表92页 附图11页

(54)发明名称

抗肿瘤相关抗原抗体及其用途

(57)摘要

描述了抗TAA抗体及其抗原结合片段。还描述了编码所述抗体的核酸、含有所述抗体的组合物以及生产抗体和使用抗体治疗或预防癌症和/或炎性疾病等疾病的方法。



CN 115515981 A

1.一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3,轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3,其分别具有以下多肽序列:

(1)SEQ ID NOs:87、88、89、90、91和92;

(2)SEQ ID NOs:108、109、110、111、112和113;

(3)SEQ ID NOs:17、18、19、20、21和22;

(4)SEQ ID NOs:31、32、33、34、35和36;

(5)SEQ ID NOs:45、46、47、48、49和50;

(6)SEQ ID NOs:59、60、61、62、63和64;或

(7)SEQ ID NOs:73、74、75、76、77和78;

其中所述的抗体或其抗原结合片段特异性结合GPC3,优选人的GPC3。

2.一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3,轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3,其分别具有以下多肽序列:

(1)SEQ ID NOs:93、94、95、96、97和98;

(2)SEQ ID NOs:114、115、116、117、118和119;

(3)SEQ ID NOs:23、24、25、26、27和28;

(4)SEQ ID NOs:37、38、39、40、41和42;

(5)SEQ ID NOs:51、52、53、54、55和56;

(6)SEQ ID NOs:65、66、67、68、69和70;或

(7)SEQ ID NOs:79、80、81、82、83和84;

其中所述的抗体或其抗原结合片段特异性结合GPC3,优选人的GPC3。

3.一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3,轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3,其分别具有以下多肽序列:

(1)SEQ ID NOs:3、4、5、6、7和8;

其中所述的抗体或其抗原结合片段特异性结合TIP-1,优选人的TIP-1。

4.一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3,轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3,其分别具有以下多肽序列:

(1)SEQ ID NOs:9、10、11、12、13和14;

其中所述的抗体或其抗原结合片段特异性结合TIP-1,优选人的TIP-1。

5.一种如权利要求1-4中任一所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包括重链可变区,其具有的多肽序列与SEQ ID NO:85、106、15、29、43、57、71或1具有至少95%同一性,或轻链可变区,其具有的多肽序列与SEQ ID NO:86、107、16、30、44、58、72或2具有至少95%同一性。

6.一种如权利要求1-5中任一所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包括:

a.具有SEQ ID NO:85多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:86多肽序列的轻链可

变区；

b.具有SEQ ID NO:106多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:107多肽序列的轻链可变区；

c.具有SEQ ID NO:15多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:16多肽序列的轻链可变区；

d.具有SEQ ID NO:29多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:30多肽序列的轻链可变区；

e.具有SEQ ID NO:43多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:44多肽序列的轻链可变区；

f.具有SEQ ID NO:57多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:58多肽序列的轻链可变区；

g具有SEQ ID NO:71多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:72多肽序列的轻链可变区;或

h.具有SEQ ID NO:1多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:2多肽序列的轻链可变区。

7.一种如权利要求1-6中任一所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段是嵌合的和/或人的或人源化的。

8.一种如权利要求7中所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,所述的人源化的单克隆抗体或其抗原结合片段包括重链可变区,其具有的多肽序列与SEQ IDNO:99-102、120-123、126-132、139-140、143-149、153-156、160-163、183-197或202-205中任一所示的具有至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性,或轻链可变区,其具有的多肽序列与SEQ ID NO:103-105、124-125、133-138、141-142、150-152、157-159、164-166或198-201中任一所示的具有至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性。

9.一种如权利要求8中所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,所述的人源化的单克隆抗体或其抗原结合片段包括:

(1)具有SEQ ID NO:99多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103多肽序列的轻链可变区；

(2)具有SEQ ID NO:99多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

(3)具有SEQ ID NO:100多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103多肽序列的轻链可变区；

(4)具有SEQ ID NO:100多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

(5)具有SEQ ID NO:101多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103多肽序列的轻链可变区；

(6)具有SEQ ID NO:101多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

(7)具有SEQ ID NO:102多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:105多肽序列的轻链可变区；

(8)具有SEQ ID NO:120多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124多肽序列的轻链可变区；

(9)具有SEQ ID NO:120多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:125多肽序列的轻链可变区；

(10)具有SEQ ID NO:121多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124多肽序列的轻链可变区；

(11)具有SEQ ID NO:121多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:125多肽序列的轻链可变区；

(12)具有SEQ ID NO:122多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124多肽序列的轻链可变区；

(13)具有SEQ ID NO:122多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:125多肽序列的轻链可变区；

(14)具有SEQ ID NO:123多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124多肽序列的轻链可变区；

(15)具有SEQ ID NO:139多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:141多肽序列的轻链可变区；

(16)具有SEQ ID NO:139多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:142多肽序列的轻链可变区；

(17)具有SEQ ID NO:140多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:141多肽序列的轻链可变区；

(18)具有SEQ ID NO:140多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:142多肽序列的轻链可变区；

(19)具有SEQ ID NO:153多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:157多肽序列的轻链可变区；

(20)具有SEQ ID NO:153多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:158多肽序列的轻链可变区；

(21)具有SEQ ID NO:154多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:157多肽序列的轻链可变区；

(22)具有SEQ ID NO:154多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:158多肽序列的轻链可变区；

(23)具有SEQ ID NO:143多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:150多肽序列的轻链可变区；

(24)具有SEQ ID NO:144多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:150多肽序列的轻链可变区；

(25)具有SEQ ID NO:145多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:150多肽序列的轻链可变区；

(26)具有SEQ ID NO:147多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:151多肽序列的轻链可变区；

(27)具有SEQ ID NO:147多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:152多肽序列的轻

链可变区；

(28)具有SEQ ID NO:148多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:151多肽序列的轻链可变区；

(29)具有SEQ ID NO:148多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:152多肽序列的轻链可变区；

(30)具有SEQ ID NO:149多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:151多肽序列的轻链可变区；

(31)具有SEQ ID NO:149多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:152多肽序列的轻链可变区；

(32)具有SEQ ID NO:160多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

(33)具有SEQ ID NO:161多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

(34)具有SEQ ID NO:162多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

(35)具有SEQ ID NO:163多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

(36)具有SEQ ID NO:205多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

(37)具有SEQ ID NO:202多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

(38)具有SEQ ID NO:203多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

(39)具有SEQ ID NO:204多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

(40)具有SEQ ID NO:100多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:198多肽序列的轻链可变区；

(41)具有SEQ ID NO:183多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

(42)具有SEQ ID NO:183多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:198多肽序列的轻链可变区；

(43)具有SEQ ID NO:185多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

(44)具有SEQ ID NO:186多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

(45)具有SEQ ID NO:185多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

(46)具有SEQ ID NO:186多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

(47)具有SEQ ID NO:189多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

(48)具有SEQ ID NO:188多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103多肽序列的轻链可变区；

(49)具有SEQ ID NO:190多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

(50)具有SEQ ID NO:191多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

(51)具有SEQ ID NO:192多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

(52)具有SEQ ID NO:193多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

(53)具有SEQ ID NO:194多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

(54)具有SEQ ID NO:189多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

(55)具有SEQ ID NO:190多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

(56)具有SEQ ID NO:191多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

(57)具有SEQ ID NO:192多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

(58)具有SEQ ID NO:193多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

(59)具有SEQ ID NO:194多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

(60)具有SEQ ID NO:189多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

(61)具有SEQ ID NO:190多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

(62)具有SEQ ID NO:191多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

(63)具有SEQ ID NO:192多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

(64)具有SEQ ID NO:193多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

(65)具有SEQ ID NO:186多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

(66)具有SEQ ID NO:195多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻

链可变区；

(67)具有SEQ ID NO:195多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

(68)具有SEQ ID NO:195多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

(69)具有SEQ ID NO:194多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

(70)具有SEQ ID NO:185多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

(71)具有SEQ ID NO:187多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

(72)具有SEQ ID NO:187多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区。

(73)具有SEQ ID NO:187多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

(74)具有SEQ ID NO:196多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:201多肽序列的轻链可变区;或

(75)具有SEQ ID NO:197多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:201多肽序列的轻链可变区。

10.一种如权利要求1-9中任一所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述的抗体或其抗原结合片段能够诱导介导的肿瘤细胞裂解,通过抗体依赖性细胞毒性(ADCC)、抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)、和/或补体依赖性细胞毒性(CDC)、和/或调解偶联药物的招募、和/或与另一具有杀伤癌症效应的单克隆抗体或其抗原结合片段形成具有抗癌作用的双特异性抗体。

11.一种双特异性抗体或其抗原结合片段,所述双特异性抗体或其抗原结合片段含有权利要求1-10中任一所述的单克隆抗体或其抗原结合片段。

12.一种分离的核酸,所述核酸编码权利要求1-10中任一所述的单克隆抗体或其抗原结合片段。

13.一种分离的核酸,所述分离的核酸编码编码权利要求11中所述的双特异性抗体或其抗原结合片段。

14.一种载体,所述载体含有权利要求12或13所述的分离的核酸。

15.一种宿主细胞,所述宿主细胞含有权利要求14所述的载体。

16.一种药物组合物,所述的药物组合物含有权利要求1-10中任一所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段、或权利要求11中所述的双特异性抗体或其结合片段以及药学上可接受的载体。

17.一种靶向有需要的受试者的癌细胞表面的TAA、和/或治疗癌症、和/或治疗炎性疾病的方法,所述方法包括对受试者施用权利要求16所述的药物组合物,可选地,其中所述癌症选自下组:肺癌、胃癌、食管癌、胆管癌、胆管细胞癌、结肠癌、肝细胞癌、肾细胞癌、膀胱尿路上皮癌、转移性黑色素瘤、乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、头颈癌、胰腺癌、胶质瘤、胶质母细胞

瘤以及其他实体瘤、和非霍奇金淋巴瘤(NHL)、急性淋巴细胞白血病(ALL)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性髓性白血病(CML)、多发性骨髓瘤(MM)、急性髓性白血病(AML)和其他液体肿瘤。

18.一种产生权利要求1-10中任一所述的单克隆抗体或其抗原结合片段、或权利要求11中所述的双特异性抗体或其抗原结合片段的方法,所述方法包括在产生所述单克隆抗体或其抗原结合片段、或双特异性抗体或其抗原结合片段的条件下,培养包含编码所述单克隆抗体或其抗原结合片段、或双特异性抗体或其抗原结合片段的核酸的细胞,并从所述细胞或培养物中回收所述单克隆抗体或其抗原结合片段、或双特异性抗体或其抗原结合片段。

19.一种制备包含权利要求1-10中任一所述的单克隆抗体或抗原结合片段、或权利要求11中所述的双特异性抗体或其抗原结合片段的药物组合物的方法,所述方法包括将单克隆抗体或抗原结合片段、或双特异性抗体或其抗原结合片段与药学上可接受的载体组合以获得药物组合物。

20.一种测定受试者中TAA水平的方法,所述方法包括:

a.从受试者获得样本;

b.将权利要求1-10中任一所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段与样品接触;和

c.确定受试者TAA的水平。

21.如权利要求20所述的方法,所述样本是组织样本或血液样本,可选地,其中所述组织样本是癌症组织样本。

22.一种含有编码嵌合抗原受体(CAR)的核酸序列的分离的多核苷酸,其中所述的CAR包括:

(a)至少一种特异性结合GPC3的细胞外结合域;

(b)铰链区;

(c)跨膜区;和

(d)细胞内信号区域。

23.如权利要求22所述的分离多核苷酸,所述的抗原结合域含有重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3,轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3,其分别具有以下多肽序列:

(1)SEQ ID NOs:87、88、89、90、91和92;

(2)SEQ ID NOs:108、109、110、111、112和113;

(3)SEQ ID NOs:17、18、19、20、21和22;

(4)SEQ ID NOs:31、32、33、34、35和36;

(5)SEQ ID NOs:45、46、47、48、49和50;

(6)SEQ ID NOs:59、60、61、62、63和64;或

(7)SEQ ID NOs:73、74、75、76、77和78;

其中所述的抗原结合域特异性结合GPC3,优选人的GPC3。

24.如权利要求22所述的分离的多核苷酸,所述的抗原结合域含有重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3,轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3,其分别具有以下多肽序列:

(1)SEQ ID NOs:93、94、95、96、97和98；

(2)SEQ ID NOs:114、115、116、117、118和119；

(3)SEQ ID NOs:23、24、25、26、27和28；

(4)SEQ ID NOs:37、38、39、40、41和42；

(5)SEQ ID NOs:51、52、53、54、55和56；

(6)SEQ ID NOs:65、66、67、68、69和70;或

(7)SEQ ID NOs:79、80、81、82、83和84；

其中所述的抗原结合域特异性结合GPC3,优选人的GPC3。

25.如权利要求22-24中任一所述的分离的多核苷酸,所述的抗原结合域包括具有与SEQ ID NO:85、106、15、29、43、57、或71具有至少95%同一性的多肽序列的重链可变区,或具有与SEQ ID NO:86、107、16、30、44、58、或72具有至少95%同一性的多肽序列的轻链可变区。

26.如权利要求25所述的分离的多核苷酸,所述的抗原结合域包括：

a.具有SEQ ID NO:85多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:86多肽序列的轻链可变区；

b.具有SEQ ID NO:106多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:107多肽序列的轻链可变区；

c.具有SEQ ID NO:15多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:16多肽序列的轻链可变区；

d.具有SEQ ID NO:29多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:30多肽序列的轻链可变区；

e具有SEQ ID NO:43多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:44多肽序列的轻链可变区；

f.具有SEQ ID NO:57多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:58多肽序列的轻链可变区;或

g.具有SEQ ID NO:71多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:72多肽序列的轻链可变区。

27.如权利要求22-24中任一所述的分离的多核苷酸,所述的抗原结合域是人源化的,以及包括具有与SEQ ID NO:99-102、120-123、126-132、139-140、143-149、153-156、160-163、183-197或202-205中的任一个具有至少95%同一性的多肽序列的重链可变区,或具有与SEQ ID NO:103-105、124-125、133-138、141-142、150-152、157-159、164-166或198-201中的任一个具有至少95%同一性的多肽序列的轻链可变区。

28.如权利要求27所述的分离的多核苷酸,其中所述的抗原结合域是人源化的,以及包括：

(1)具有SEQ ID NO:99多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103多肽序列的轻链可变区；

(2)具有SEQ ID NO:99多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

(3)具有SEQ ID NO:100多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103多肽序列的轻链

可变区；

(4)具有SEQ ID NO:100多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

(5)具有SEQ ID NO:101多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103多肽序列的轻链可变区；

(6)具有SEQ ID NO:101多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

(7)具有SEQ ID NO:102多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:105多肽序列的轻链可变区；

(8)具有SEQ ID NO:120多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124多肽序列的轻链可变区；

(9)具有SEQ ID NO:120多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:125多肽序列的轻链可变区；

(10)具有SEQ ID NO:121多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124多肽序列的轻链可变区；

(11)具有SEQ ID NO:121多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:125多肽序列的轻链可变区；

(12)具有SEQ ID NO:122多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124多肽序列的轻链可变区；

(13)具有SEQ ID NO:122多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:125多肽序列的轻链可变区；

(14)具有SEQ ID NO:123多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124多肽序列的轻链可变区；

(15)具有SEQ ID NO:139多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:141多肽序列的轻链可变区；

(16)具有SEQ ID NO:139多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:142多肽序列的轻链可变区；

(17)具有SEQ ID NO:140多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:141多肽序列的轻链可变区；

(18)具有SEQ ID NO:140多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:142多肽序列的轻链可变区；

(19)具有SEQ ID NO:153多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:157多肽序列的轻链可变区；

(20)具有SEQ ID NO:153多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:158多肽序列的轻链可变区；

(21)具有SEQ ID NO:154多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:157多肽序列的轻链可变区；

(22)具有SEQ ID NO:154多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:158多肽序列的轻链可变区；

(23)具有SEQ ID NO:143多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:150多肽序列的轻链可变区；

(24)具有SEQ ID NO:144多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:150多肽序列的轻链可变区；

(25)具有SEQ ID NO:145多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:150多肽序列的轻链可变区；

(26)具有SEQ ID NO:147多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:151多肽序列的轻链可变区；

(27)具有SEQ ID NO:147多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:152多肽序列的轻链可变区；

(28)具有SEQ ID NO:148多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:151多肽序列的轻链可变区；

(29)具有SEQ ID NO:148多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:152多肽序列的轻链可变区；

(30)具有SEQ ID NO:149多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:151多肽序列的轻链可变区；

(31)具有SEQ ID NO:149多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:152多肽序列的轻链可变区；

(32)具有SEQ ID NO:160多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

(33)具有SEQ ID NO:161多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

(34)具有SEQ ID NO:162多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

(35)具有SEQ ID NO:163多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

(36)具有SEQ ID NO:205多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

(37)具有SEQ ID NO:202多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

(38)具有SEQ ID NO:203多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

(39)具有SEQ ID NO:204多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

(40)具有SEQ ID NO:100多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:198多肽序列的轻链可变区；

(41)具有SEQ ID NO:183多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

(42)具有SEQ ID NO:183多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:198多肽序列的轻

链可变区；

(43)具有SEQ ID NO:185多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

(44)具有SEQ ID NO:186多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

(45)具有SEQ ID NO:185多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

(46)具有SEQ ID NO:186多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

(47)具有SEQ ID NO:189多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

(48)具有SEQ ID NO:188多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103多肽序列的轻链可变区；

(49)具有SEQ ID NO:190多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

(50)具有SEQ ID NO:191多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

(51)具有SEQ ID NO:192多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

(52)具有SEQ ID NO:193多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

(53)具有SEQ ID NO:194多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

(54)具有SEQ ID NO:189多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

(55)具有SEQ ID NO:190多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

(56)具有SEQ ID NO:191多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

(57)具有SEQ ID NO:192多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

(58)具有SEQ ID NO:193多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

(59)具有SEQ ID NO:194多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

(60)具有SEQ ID NO:189多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

(61)具有SEQ ID NO:190多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

(62)具有SEQ ID NO:191多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区;

(63)具有SEQ ID NO:192多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区;

(64)具有SEQ ID NO:193多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区;

(65)具有SEQ ID NO:186多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区;

(66)具有SEQ ID NO:195多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区;

(67)具有SEQ ID NO:195多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区;

(68)具有SEQ ID NO:195多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区;

(69)具有SEQ ID NO:194多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区;

(70)具有SEQ ID NO:185多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区;

(71)具有SEQ ID NO:187多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区;

(72)具有SEQ ID NO:187多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区。

(73)具有SEQ ID NO:187多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区;

(74)具有SEQ ID NO:196多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:201多肽序列的轻链可变区;或

(75)具有SEQ ID NO:197多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:201多肽序列的轻链可变区。

29.如权利要求22-28中任一所述的分离的多核苷酸,其中所述抗原结合域是特异性结合GPC3的单链抗体(scFv),优选人的GPC3。

30.如权利要求29所述的分离的多核苷酸,其中所述的单链可变片段(scFv)是人源化的。

31.如权利要求29或30所述的分离的多核苷酸,所述的单链可变片段(scFv)具有与SEQ ID NO:167-182中的任一个具有至少95%同一性的多肽序列。

32.如权利要求22-31中任一所述的分离的多核苷酸,所述的嵌合抗原受体(CAR)含有一个或多个抗原结合域。

33.如权利要求22-32中任一所述的分离的多核苷酸,所述的细胞内信号域含有一个或多个共刺激域和一个或多个激活域。

34.一种嵌合抗原受体(CAR),所述的嵌合抗原受体(CAR)由权利要求22-33中任一所述

的分离的多核苷酸编码。

35.一种载体,所述载体含有权利要求22-33中任一所述的分离的多核酸。

36.一种宿主细胞,所述宿主细胞含有权利要求35所述的载体。

37.如权利要求36所述的宿主细胞,所述的宿主细胞是T细胞,优选人的T细胞。

38.如权利要求36所述的宿主细胞,所述的宿主细胞是NK细胞,优选人的NK细胞。

39.一种制备表达嵌合抗原受体(CAR)的细胞的方法,所述方法包括用权利要求35所述的载体转导T细胞。

40.一种制备本发明的CAR-T细胞的方法,所述方法包括:在产生CAR-T细胞的条件下,培养含有编码权利要求22-33中任一所述的嵌合抗原受体(CAR)的核酸的分离的多核苷酸的T细胞,并回收所述的CAR-T细胞。

41.一种制备表达嵌合抗原受体(CAR)的细胞的方法,所述方法包括用权利要求35所述的载体转导NK细胞。

42.一种制备本发明的CAR-NK细胞的方法,所述方法包括:在产生CAR-NK细胞的条件下,培养含有编码权利要求22-33中任一所述的嵌合抗原受体(CAR)的核酸的分离的多核苷酸的T细胞,并回收所述的CAR-NK细胞。

43.一种生成含有嵌合抗原受体(CAR)的细胞的方法,所述方法包括将细胞与含有编码权利要求22-33中任一所述的嵌合抗原受体(CAR)的核酸的分离的多核苷酸接触,其中所述的分离的多核苷酸是体外转录的RNA或合成的RNA。

44.一种治疗有需要的受试者的癌症的方法,包括给有需要的受试者施用权利要求36-38中任一所述的宿主细胞,其中所述癌症任选地选自:肺癌、胃癌、食管癌、胆管癌、胆管细胞癌、结肠癌、肝细胞癌、肾细胞癌、膀胱尿路上皮癌、转移性黑色素瘤、乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、头颈癌、胰腺癌、胶质瘤、胶质母细胞瘤以及其他实体瘤、和非霍奇金淋巴瘤(NHL)、急性淋巴细胞白血病(ALL)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性髓性白血病(CML)、多发性骨髓瘤(MM)、急性髓性白血病(AML)和其他液体肿瘤。

45.如权利要求44所述的方法,所述方法还包括将一种制剂给药给有需要的受试者,所述试剂能够提高表达CAR的细胞的功效。

46.如权利要求44所述的方法,所述方法还包括将一种制剂给药给有需要的受试者,所述制剂可改善与给药表达CAR的细胞相关的一种或多种副作用。

47.如权利要求44所述的方法,所述方法还包括将一种制剂给药给有需要的受试者,所述制剂可治疗与GPC3相关的疾病。

抗肿瘤相关抗原抗体及其用途

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2020年5月7日提交的美国临时申请号63/021,215、2020年8月3号提交的美国临时申请号62/706,131、2020年10月16号提交的美国临时申请号63/198,420以及2020年12月29号提交的美国申请号63/131,394的优先权。每个公开内容通过引用全文合并于此。

技术领域

[0003] 本发明涉及一种抗肿瘤相关抗原(TAA)单克隆抗体、编码所述抗体的核酸和表达载体、含有所述载体的重组细胞和含有所述抗体的组合物。还提供了制备所述抗体的方法，以及使用所述抗体治疗包括癌症和炎症性疾病和/或相关并发症在内的疾病的方法。

[0004] 以电子方式提交的序列表的引用

[0005] 该申请包含序列表，它通过EFS-Web以电子方式以ASCII格式序列表提交，文件名为“065799.34WO1序列表”，创建日期为2021年4月28日，大小为150kb。通过EFS-Web提交的序列表是本说明书的一部分，通过引用全文合并与此。

背景技术

[0006] “肿瘤相关抗原(TAA)”是指在肿瘤中以高于正常组织中的水平存在的任何细胞表面肽和/或抗原，或细胞表面肽和/或抗原以及翻译后修饰片段(如糖基化)的组合。一些特异性存在于肿瘤的肿瘤相关抗原也被称为肿瘤特异性抗原(TSAs)。肿瘤相关抗原的例子有由致癌病毒编码的病毒蛋白；突变的癌蛋白或肿瘤抑制因子；在肿瘤细胞上和/或肿瘤细胞中过表达的正常蛋白；细胞表面蛋白的翻译后修饰；癌胚蛋白，其表达在发育阶段通常受限，但在成人组织中不受限；以及细胞型特异性蛋白，其表达仅限制于非必需组织。

[0007] Tax-相互作用蛋白1(TIP-1，也称为Tax1bp3或谷氨酰胺酶作用蛋白，GIP)是一种PDZ(PSD-95/Discs大型/ZO-1同源)结构域细胞内蛋白(在人和小鼠中有124个氨基酸)。单个PDZ结构域，包含124个氨基酸蛋白质中的残基13-112(Olalla等人，《FEBS通讯》2001；488:116-122)，是TIP-1中唯一能被识别的功能和结构单元，这表明TIP-1在含PDZ的蛋白质中是独一无二的，可能仅通过蛋白质-蛋白质相互作用来实现其功能。TIP-1通过PDZ结构域与许多细胞内蛋白相互作用，包括谷胱酰胺酶L、β-连环蛋白、FAS、HTLV Tax、HPV E6、Rho靶蛋白(Rhotekin)和Kir 2.3(Zoetewey等人，《生物化学》，2011；50:3528-3539)。然而，TIP-1的确切生物功能尚不清楚。在人浸润性乳腺癌细胞中检测到TIP-1表达升高，并被证明与肿瘤细胞粘附、迁移和肺转移有关(Han等人，《生化生理研究通讯》，12，422:139-145)。最近，研究发现，TIP-1在辐射诱导后转移到癌细胞表面(Yan等人，Oncotarget，2016；43352-43362)，表明TIP-1可能是诱导后的肿瘤新抗原。因此，抗TIP-1单克隆抗体(mAb)可以用于选择性靶向癌细胞，并作为一种潜在的治疗方法。

[0008] Glypican-3(GPC3)是一种GPI锚定的细胞表面糖蛋白，其包含一个66KDa的核心蛋白和两条硫酸肝素(HS)糖胺聚糖多糖链。它属于磷脂酰肌醇蛋白聚糖(glypican)家族，其

有6个成员(GPC1到GPC6)。GPC3是一种癌胎蛋白,只在胚胎发育期间表达,但在70%的肝细胞癌(HCC)中过表达(Baumhoer等人,《美国临床病理学期刊》,2008年6月,129(6):899-906)。GPC3在癌细胞中的限制性表达使其成为肿瘤特异性抗原(TSA),可以利用单克隆抗体为基础的治疗方法靶向癌细胞。除了肿瘤特异性表达外,GPC3还可能促进肿瘤生长。GPC3可调节Wnt信号通路。GPC3的核心蛋白与Wnt相互作用,并作为辅助受体通过β-连环蛋白和YAP激活卷曲蛋白(FZD)和下游信号(Capurro等人,《癌症研究》,2005年7月15日;65(14):6245-54)。事实上,Wnt信号在HCC中经常被激活(Khalaf AM等人,《肝细胞癌》,2018;5:61-73)。因此,GPC3是一个很有前景用于治疗HCC和任何其他过表达GPC3的癌症的治疗靶点。

发明概要

[0009] 在一般方面,本发明涉及特异性结合TAAs(如TIP-1和GPC3)的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段。

[0010] 提供了分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3,和轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3,其分别具有以下多肽序列:

[0011] (1)SEQ ID NOs:87、88、89、90、91和92;

[0012] (2)SEQ ID NOs:108、109、110、111、112和113;

[0013] (3)SEQ ID NOs:17、18、19、20、21和22;

[0014] (4)SEQ ID NOs:31、32、33、34、35和36;

[0015] (5)SEQ ID NOs:45、46、47、48、49和50;

[0016] (6)SEQ ID NOs:59、60、61、62、63和64;或

[0017] (7)SEQ ID NOs:73、74、75、76、77和78;

[0018] 其中所述的抗体或其抗原结合片段特异性结合GPC3,优选人的GPC3。

[0019] 提供了分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3,和轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3,其分别具有以下多肽序列:

[0020] (1)SEQ ID NOs:93、94、95、96、97和98;

[0021] (2)SEQ ID NOs:114、115、116、117、118和119;

[0022] (3)SEQ ID NOs:23、24、25、26、27和28;

[0023] (4)SEQ ID NOs:37、38、39、40、41和42;

[0024] (5)SEQ ID NOs:51、52、53、54、55和56;

[0025] (6)SEQ ID NOs:65、66、67、68、69和70;或

[0026] (7)SEQ ID NOs:79、80、81、82、83和84;

[0027] 其中所述的抗体或其抗原结合片段特异性结合GPC3,优选人的GPC3。

[0028] 提供了分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3,和轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3,其分别具有以下多肽序列:

[0029] (1)SEQ ID NOs:3、4、5、6、7和8;

[0030] 其中所述的抗体或其抗原结合片段特异性结合TIP-1,优选人的TIP-1。

[0031] 提供了分离的单克隆抗体或其抗原结合片段，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3，和轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3，其分别具有以下多肽序列：

[0032] (1)SEQ ID NOs:9、10、11、12、13和14；

[0033] 其中所述的抗体或其抗原结合片段特异性结合TIP-1，优选人的TIP-1。

[0034] 在某些实施方案中，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包括重链可变区，其具有的多肽序列与SEQ ID NO:85、106、15、29、43、57、71或1具有至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性，或轻链可变区，其具有的多肽序列与SEQ ID NO:86、107、16、30、44、58、72或2具有至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性。

[0035] 在某些实施方案中，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包括：

[0036] (a)具有SEQ ID NO:85所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:86所示多肽序列的轻链可变区；

[0037] (b)具有SEQ ID NO:106所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:107所示多肽序列的轻链可变区；

[0038] (c)具有SEQ ID NO:15所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:16所示多肽序列的轻链可变区；

[0039] (d)具有SEQ ID NO:29所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:30所示多肽序列的轻链可变区；

[0040] (e)具有SEQ ID NO:43所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:44所示多肽序列的轻链可变区；

[0041] (f)具有SEQ ID NO:57所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:58所示多肽序列的轻链可变区；

[0042] (g)具有SEQ ID NO:71所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:72所示多肽序列的轻链可变区；或

[0043] (h)具有SEQ ID NO:1所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:2所示多肽序列的轻链可变区。

[0044] 在某些实施方案中，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段特异性结合于TAA，并能够通过抗体依赖性细胞毒性(ADCC)、抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)、和/或补体依赖性细胞毒性(CDC)；和/或调解偶联药物的招募；和/或与另一具有癌症杀伤效应的单克隆抗体或其抗原结合片段形成具有抗癌作用的双特异性抗体，诱导效应子介导的肿瘤细胞裂解。

[0045] 在某些实施方案中，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段是嵌合的。

[0046] 在某些实施方案中，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段是人的或人源化的。在某些实施方案中，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包括重链可变区，其具有的多肽序列与SEQ ID NO:99-102、120-123、126-132、139-140、143-149、153-156、160-163、183-197或202-205中任一所示的具有至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性，或轻链可变区，其具有的多肽序列与SEQ ID NO:103-105、124-125、133-138、141-142、150-152、157-159、164-166或198-201中任一所示的具有至少95％、至少96％、至

少97％、至少98％或至少99％同一性。

[0047] 在某些实施方案中,所述的人源化的单克隆抗体或其抗原结合片段包括:

[0048] (1)具有SEQ ID NO:99所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103所示多肽序列的轻链可变区;

[0049] (2)具有SEQ ID NO:99所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示多肽序列的轻链可变区;

[0050] (3)具有SEQ ID NO:100所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103所示多肽序列的轻链可变区;

[0051] (4)具有SEQ ID NO:100所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示多肽序列的轻链可变区;

[0052] (5)具有SEQ ID NO:101所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103所示多肽序列的轻链可变区;

[0053] (6)具有SEQ ID NO:101所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示多肽序列的轻链可变区;

[0054] (7)具有SEQ ID NO:102所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:105所示多肽序列的轻链可变区;

[0055] (8)具有SEQ ID NO:120所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124所示多肽序列的轻链可变区;

[0056] (9)具有SEQ ID NO:120所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:125所示多肽序列的轻链可变区;

[0057] (10)具有SEQ ID NO:121所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124所示多肽序列的轻链可变区;

[0058] (11)具有SEQ ID NO:121所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:125所示多肽序列的轻链可变区;

[0059] (12)具有SEQ ID NO:122所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124所示多肽序列的轻链可变区;

[0060] (13)具有SEQ ID NO:122所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:125所示多肽序列的轻链可变区;

[0061] (14)具有SEQ ID NO:123所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124所示多肽序列的轻链可变区;

[0062] (15)具有SEQ ID NO:139所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:141所示多肽序列的轻链可变区;

[0063] (16)具有SEQ ID NO:139所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:142所示多肽序列的轻链可变区;

[0064] (17)具有SEQ ID NO:140所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:141所示多肽序列的轻链可变区;

[0065] (18)具有SEQ ID NO:140所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:142所示多肽序列的轻链可变区;

[0066] (19)具有SEQ ID NO:153所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:157所示

多肽序列的轻链可变区；

[0067] (20)具有SEQ ID NO:153所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:158所示多肽序列的轻链可变区；

[0068] (21)具有SEQ ID NO:154所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:157所示多肽序列的轻链可变区；

[0069] (22)具有SEQ ID NO:154所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:158所示多肽序列的轻链可变区；

[0070] (23)具有SEQ ID NO:143所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:150所示多肽序列的轻链可变区；

[0071] (24)具有SEQ ID NO:144所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:150所示多肽序列的轻链可变区；

[0072] (25)具有SEQ ID NO:145所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:150所示多肽序列的轻链可变区；

[0073] (26)具有SEQ ID NO:147所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:151所示多肽序列的轻链可变区；

[0074] (27)具有SEQ ID NO:147所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:152所示多肽序列的轻链可变区；

[0075] (28)具有SEQ ID NO:148所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:151所示多肽序列的轻链可变区；

[0076] (29)具有SEQ ID NO:148所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:152所示多肽序列的轻链可变区；

[0077] (30)具有SEQ ID NO:149所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:151所示多肽序列的轻链可变区；

[0078] (31)具有SEQ ID NO:149所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:152所示多肽序列的轻链可变区；

[0079] (32)具有SEQ ID NO:160所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164所示多肽序列的轻链可变区；

[0080] (33)具有SEQ ID NO:161所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164所示多肽序列的轻链可变区；

[0081] (34)具有SEQ ID NO:162所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164所示多肽序列的轻链可变区；

[0082] (35)具有SEQ ID NO:163所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164所示多肽序列的轻链可变区；

[0083] (36)具有SEQ ID NO:205所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164所示多肽序列的轻链可变区；

[0084] (37)具有SEQ ID NO:202所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164所示多肽序列的轻链可变区；

[0085] (38)具有SEQ ID NO:203所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164所示多肽序列的轻链可变区；

[0086] (39)具有SEQ ID NO:204所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164所示多肽序列的轻链可变区；

[0087] (40)具有SEQ ID NO:100所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:198所示多肽序列的轻链可变区；

[0088] (41)具有SEQ ID NO:183所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示多肽序列的轻链可变区；

[0089] (42)具有SEQ ID NO:183所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:198所示多肽序列的轻链可变区；

[0090] (43)具有SEQ ID NO:185所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示多肽序列的轻链可变区；

[0091] (44)具有SEQ ID NO:186所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示多肽序列的轻链可变区；

[0092] (45)具有SEQ ID NO:185所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199所示多肽序列的轻链可变区；

[0093] (46)具有SEQ ID NO:186所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199所示多肽序列的轻链可变区；

[0094] (47)具有SEQ ID NO:189所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示多肽序列的轻链可变区；

[0095] (48)具有SEQ ID NO:188所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103所示多肽序列的轻链可变区；

[0096] (49)具有SEQ ID NO:190所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示多肽序列的轻链可变区；

[0097] (50)具有SEQ ID NO:191所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示多肽序列的轻链可变区；

[0098] (51)具有SEQ ID NO:192所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示多肽序列的轻链可变区；

[0099] (52)具有SEQ ID NO:193所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示多肽序列的轻链可变区；

[0100] (53)具有SEQ ID NO:194所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示多肽序列的轻链可变区；

[0101] (54)具有SEQ ID NO:189所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199所示多肽序列的轻链可变区；

[0102] (55)具有SEQ ID NO:190所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199所示多肽序列的轻链可变区；

[0103] (56)具有SEQ ID NO:191所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199所示多肽序列的轻链可变区；

[0104] (57)具有SEQ ID NO:192所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199所示多肽序列的轻链可变区；

[0105] (58)具有SEQ ID NO:193所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199所示

多肽序列的轻链可变区；

[0106] (59)具有SEQ ID NO:194所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199所示多肽序列的轻链可变区；

[0107] (60)具有SEQ ID NO:189所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200所示多肽序列的轻链可变区；

[0108] (61)具有SEQ ID NO:190所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200所示多肽序列的轻链可变区；

[0109] (62)具有SEQ ID NO:191所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200所示多肽序列的轻链可变区；

[0110] (63)具有SEQ ID NO:192所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200所示多肽序列的轻链可变区；

[0111] (64)具有SEQ ID NO:193所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200所示多肽序列的轻链可变区；

[0112] (65)具有SEQ ID NO:186所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200所示多肽序列的轻链可变区；

[0113] (66)具有SEQ ID NO:195所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示多肽序列的轻链可变区；

[0114] (67)具有SEQ ID NO:195所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199所示多肽序列的轻链可变区；

[0115] (68)具有SEQ ID NO:195所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200所示多肽序列的轻链可变区；

[0116] (69)具有SEQ ID NO:194所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200所示多肽序列的轻链可变区；

[0117] (70)具有SEQ ID NO:185所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200所示多肽序列的轻链可变区；

[0118] (71)具有SEQ ID NO:187所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示多肽序列的轻链可变区；

[0119] (72)具有SEQ ID NO:187所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200所示多肽序列的轻链可变区。

[0120] (73)具有SEQ ID NO:187所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199所示多肽序列的轻链可变区；

[0121] (74)具有SEQ ID NO:196所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:201所示多肽序列的轻链可变区;或

[0122] (75)具有SEQ ID NO:197所示多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:201所示多肽序列的轻链可变区。

[0123] 还提供了双特异性抗体,所述双特异性抗体含有本发明的单克隆抗体或其抗原结合片段。

[0124] 还提供了编码本发明所述的单克隆抗体或其抗原结合片段或双特异性抗体的分离的核酸

[0125] 还提供了包含编码本发明的单克隆抗体或其抗原结合片段、或双特异性抗体或其抗原结合片段的分离的核酸的载体。

[0126] 还提供了包括载体的宿主细胞，所述载体包含编码本发明的单克隆抗体或其抗原结合片段、或双特异性抗体或其抗原结合片段的分离的核酸。

[0127] 在某些实施方案中，提供了一种药物组合物，所述的药物组合物包含本发明所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段、或双特异性抗体或其抗原结合片段以及药学上可接受的载体。

[0128] 还提供了特异性靶向有需要的受试者的癌细胞表面的TAA(如TIP-A或GPC3)的方法，包括对受试者施用本发明的药物组合物。

[0129] 还提供了治疗有需要的受试者的癌症的方法，所述方法包括对受试者施用本发明的药物组合物。所述癌症可以是液体或实体癌症，例如，可以选自但不限于，肺癌、胃癌、食管癌、胆管癌、胆管细胞癌、结肠癌、肝细胞癌、肾细胞癌、膀胱尿路上皮癌、转移性黑色素瘤、乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、头颈癌、胰腺癌、胶质瘤、胶质母细胞瘤以及其他实体瘤、非霍奇金淋巴瘤(NHL)、急性淋巴细胞白血病(ALL)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性髓性白血病(CML)、多发性骨髓瘤(MM)、急性髓性白血病(AML)和其他液体肿瘤。

[0130] 还提供了治疗有需要的受试者炎性疾病的方法，所述方法包括对受试者施用本发明的药物组合物。

[0131] 还提供了产生本发明的单克隆抗体或其抗原结合片段、或双特异性抗体或其抗原结合片段的方法，所述方法包括在产生所述单克隆抗体或其抗原结合片段、或双特异性抗体或其抗原结合片段的条件下，培养包含编码所述单克隆抗体或其抗原结合片段、或双特异性抗体或其抗原结合片段的核酸的细胞，并从所述细胞或培养物中回收所述单克隆抗体或其抗原结合片段、或双特异性抗体或其抗原结合片段。

[0132] 还提供了制备包含本发明的单克隆抗体或抗原结合片段、或双特异性抗体或其抗原结合片段的药物组合物的方法。所述方法包括将单克隆抗体或抗原结合片段、或双特异性抗体或其抗原结合片段与药学上可接受的载体组合以获得药物组合物。

[0133] 还提供了测定受试者中的TAA(如TIP-A或GPC3)水平的方法。所述方法包括：(a)从受试者获得样本；(b)将本发明的抗体或其抗原结合片段与样品接触；和(c)确定受试者中的TAA的水平。在某些实施方案中，样本是组织样本。例如，所述组织样本可以是癌症组织样本。在某些实施方案中，样本是血液样本。

[0134] 在另一方面，本发明涉及一种能够诱导T细胞介导癌症杀伤的嵌合抗原受体(CAR)构建物，其中所述的CAR构建物包括至少一种特异性结合人GPC3的抗原结合域、铰链区、跨膜区和细胞内信号区域。

[0135] 提供了分离的多核苷酸，所述多核苷酸含有编码嵌合抗原受体(CAR)的核酸序列。所述CAR可以包括：(a)细胞外区域，其含有至少一种特异性结合GPC3的抗原结合域；(b)铰链区；(c)跨膜区；和(d)细胞内信号区域。

[0136] 在某些实施方案，所述的抗原结合域含有重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3，轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3，其分别具有以下多肽序列：

[0137] (1)SEQ ID NOs:87、88、89、90、91和92；

[0138] (2)SEQ ID NOs:108、109、110、111、112和113；

[0139] (3)SEQ ID NOs:17、18、19、20、21和22；

[0140] (4)SEQ ID NOs:31、32、33、34、35和36；

[0141] (5)SEQ ID NOs:45、46、47、48、49和50；

[0142] (6)SEQ ID NOs:59、60、61、62、63和64;或

[0143] (7)SEQ ID NOs:73、74、75、76、77和78；

[0144] 其中所述的抗体或其抗原结合片段特异性结合GPC3,优选人的GPC3。

[0145] 在某些实施方案,所述的抗原结合域含有重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3,轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3,其分别具有以下多肽序列：

[0146] (1)SEQ ID NOs:93、94、95、96、97和98；

[0147] (2)SEQ ID NOs:114、115、116、117、118和119；

[0148] (3)SEQ ID NOs:23、24、25、26、27和28；

[0149] (4)SEQ ID NOs:37、38、39、40、41和42；

[0150] (5)SEQ ID NOs:51、52、53、54、55和56；

[0151] (6)SEQ ID NOs:65、66、67、68、69和70;或

[0152] (7)SEQ ID NOs:79、80、81、82、83和84；

[0153] 其中所述的抗体或其抗原结合片段特异性结合GPC3,优选人的GPC3。

[0154] 在某些实施方案中,所述的抗原结合域包括重链可变区,其具有的多肽序列与SEQ ID NO:85、106、15、29、43、57或71具有至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性,和轻链可变区,其具有的多肽序列与SEQ ID NO:86、107、16、30、44、58或72具有至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性。

[0155] 在某些实施方案中,所述的抗原结合域包括：

[0156] (a)具有SEQ ID NO:85所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:86所示的多肽序列的轻链可变区；

[0157] (b)具有SEQ ID NO:106所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:107所示的多肽序列的轻链可变区；

[0158] (c)具有SEQ ID NO:15所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:16所示的多肽序列的轻链可变区；

[0159] (d)具有SEQ ID NO:29所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:30所示的多肽序列的轻链可变区；

[0160] (e)具有SEQ ID NO:43所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:44所示的多肽序列的轻链可变区；

[0161] (f)具有SEQ ID NO:57所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:58所示的多肽序列的轻链可变区；

[0162] (g)具有SEQ ID NO:71所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:72所示的多肽序列的轻链可变区。

[0163] 在某些实施方案,所述的抗原结合域是人源化的,以及包括具有重链可变区,其具有的多肽序列的与SEQ ID NO:99-102、120-123、126-132、139-140、143-149、153-156、160-163、183-197或202-205中任一所示的具有至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性,或轻链可变区,其具有的多肽序列与SEQ ID NO:103-105、124-125、133-138、

141-142、150-152、157-159、164-166或198-201中任一所示的具有至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性。

[0164] 在某些实施方案中，所述的抗原结合域是人源化的，以及包括：

[0165] (1)具有SEQ ID NO:99所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103所示的多肽序列的轻链可变区；

[0166] (2)具有SEQ ID NO:99所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示的多肽序列的轻链可变区；

[0167] (3)具有SEQ ID NO:100所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103所示的多肽序列的轻链可变区；

[0168] (4)具有SEQ ID NO:100所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示的多肽序列的轻链可变区；

[0169] (5)具有SEQ ID NO:101所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103所示的多肽序列的轻链可变区；

[0170] (6)具有SEQ ID NO:101所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示的多肽序列的轻链可变区；

[0171] (7)具有SEQ ID NO:102所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:105所示的多肽序列的轻链可变区；

[0172] (8)具有SEQ ID NO:120所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124所示的多肽序列的轻链可变区；

[0173] (9)具有SEQ ID NO:120所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:125所示的多肽序列的轻链可变区；

[0174] (10)具有SEQ ID NO:121所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124所示的多肽序列的轻链可变区；

[0175] (11)具有SEQ ID NO:121所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:125所示的多肽序列的轻链可变区；

[0176] (12)具有SEQ ID NO:122所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124所示的多肽序列的轻链可变区；

[0177] (13)具有SEQ ID NO:122所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:125所示的多肽序列的轻链可变区；

[0178] (14)具有SEQ ID NO:123所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124所示的多肽序列的轻链可变区；

[0179] (15)具有SEQ ID NO:139所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:141所示的多肽序列的轻链可变区；

[0180] (16)具有SEQ ID NO:139所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:142所示的多肽序列的轻链可变区；

[0181] (17)具有SEQ ID NO:140所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:141所示的多肽序列的轻链可变区；

[0182] (18)具有SEQ ID NO:140所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:142所示的多肽序列的轻链可变区；

[0183] (19)具有SEQ ID NO:153所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:157所示的多肽序列的轻链可变区；

[0184] (20)具有SEQ ID NO:153所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:158所示的多肽序列的轻链可变区；

[0185] (21)具有SEQ ID NO:154所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:157所示的多肽序列的轻链可变区；

[0186] (22)具有SEQ ID NO:154所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:158所示的多肽序列的轻链可变区；

[0187] (23)具有SEQ ID NO:143所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:150所示的多肽序列的轻链可变区；

[0188] (24)具有SEQ ID NO:144所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:150所示的多肽序列的轻链可变区；

[0189] (25)具有SEQ ID NO:145所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:150所示的多肽序列的轻链可变区；

[0190] (26)具有SEQ ID NO:147所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:151所示的多肽序列的轻链可变区；

[0191] (27)具有SEQ ID NO:147所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:152所示的多肽序列的轻链可变区；

[0192] (28)具有SEQ ID NO:148所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:151所示的多肽序列的轻链可变区；

[0193] (29)具有SEQ ID NO:148所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:152所示的多肽序列的轻链可变区；

[0194] (30)具有SEQ ID NO:149所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:151所示的多肽序列的轻链可变区；

[0195] (31)具有SEQ ID NO:149所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:152所示的多肽序列的轻链可变区；

[0196] (32)具有SEQ ID NO:160所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164所示的多肽序列的轻链可变区；

[0197] (33)具有SEQ ID NO:161所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164所示的多肽序列的轻链可变区；

[0198] (34)具有SEQ ID NO:162所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164所示的多肽序列的轻链可变区；

[0199] (35)具有SEQ ID NO:163所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164所示的多肽序列的轻链可变区；

[0200] (36)具有SEQ ID NO:205所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164所示的多肽序列的轻链可变区；

[0201] (37)具有SEQ ID NO:202所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164所示的多肽序列的轻链可变区；

[0202] (38)具有SEQ ID NO:203所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164所

示的多肽序列的轻链可变区；

[0203] (39)具有SEQ ID NO:204所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164所示的多肽序列的轻链可变区；

[0204] (40)具有SEQ ID NO:100所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:198所示的多肽序列的轻链可变区；

[0205] (41)具有SEQ ID NO:183所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示的多肽序列的轻链可变区；

[0206] (42)具有SEQ ID NO:183所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:198所示的多肽序列的轻链可变区；

[0207] (43)具有SEQ ID NO:185所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示的多肽序列的轻链可变区；

[0208] (44)具有SEQ ID NO:186所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示的多肽序列的轻链可变区；

[0209] (45)具有SEQ ID NO:185所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199所示的多肽序列的轻链可变区；

[0210] (46)具有SEQ ID NO:186所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199所示的多肽序列的轻链可变区；

[0211] (47)具有SEQ ID NO:189所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示的多肽序列的轻链可变区；

[0212] (48)具有SEQ ID NO:188所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103所示的多肽序列的轻链可变区；

[0213] (49)具有SEQ ID NO:190所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示的多肽序列的轻链可变区；

[0214] (50)具有SEQ ID NO:191所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示的多肽序列的轻链可变区；

[0215] (51)具有SEQ ID NO:192所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示的多肽序列的轻链可变区；

[0216] (52)具有SEQ ID NO:193所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示的多肽序列的轻链可变区；

[0217] (53)具有SEQ ID NO:194所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示的多肽序列的轻链可变区；

[0218] (54)具有SEQ ID NO:189所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199所示的多肽序列的轻链可变区；

[0219] (55)具有SEQ ID NO:190所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199所示的多肽序列的轻链可变区；

[0220] (56)具有SEQ ID NO:191所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199所示的多肽序列的轻链可变区；

[0221] (57)具有SEQ ID NO:192所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199所示的多肽序列的轻链可变区；

[0222] (58)具有SEQ ID NO:193所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199所示的多肽序列的轻链可变区;

[0223] (59)具有SEQ ID NO:194所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199所示的多肽序列的轻链可变区;

[0224] (60)具有SEQ ID NO:189所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200所示的多肽序列的轻链可变区;

[0225] (61)具有SEQ ID NO:190所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200所示的多肽序列的轻链可变区;

[0226] (62)具有SEQ ID NO:191所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200所示的多肽序列的轻链可变区;

[0227] (63)具有SEQ ID NO:192所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200所示的多肽序列的轻链可变区;

[0228] (64)具有SEQ ID NO:193所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200所示的多肽序列的轻链可变区;

[0229] (65)具有SEQ ID NO:186所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200所示的多肽序列的轻链可变区;

[0230] (66)具有SEQ ID NO:195所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示的多肽序列的轻链可变区;

[0231] (67)具有SEQ ID NO:195所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199所示的多肽序列的轻链可变区;

[0232] (68)具有SEQ ID NO:195所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200所示的多肽序列的轻链可变区;

[0233] (69)具有SEQ ID NO:194所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200所示的多肽序列的轻链可变区;

[0234] (70)具有SEQ ID NO:185所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200所示的多肽序列的轻链可变区;

[0235] (71)具有SEQ ID NO:187所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104所示的多肽序列的轻链可变区;

[0236] (72)具有SEQ ID NO:187所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200所示的多肽序列的轻链可变区。

[0237] (73)具有SEQ ID NO:187所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199所示的多肽序列的轻链可变区;

[0238] (74)具有SEQ ID NO:196所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:201所示的多肽序列的轻链可变区;或

[0239] (75)具有SEQ ID NO:197所示的多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:201所示的多肽序列的轻链可变区。

[0240] 在某些实施方案中,所述抗原结合域是特异性结合GPC3的单链可变片段(scFv),优选人的GPC3。

[0241] 在某些实施方案中,所述抗原结合域是特异性结合GPC3的人源化的单链可变片段

(scFv),优选人的GPC3。在某些实施方案,所述的人源化的单链可变片段(scFv)具有的多肽序列与SEQ ID NO:167-182中任一所示的具有至少95%同一性。

[0242] 在某些实施方案中,所述的嵌合抗原受体(CAR)含有一个或多个抗原结合域。

[0243] 在某些实施方案中,所述的细胞内信号域含有一个或多个共刺激域和一个或多个激活域。

[0244] 还提供了本发明的分离的多核苷酸编码的嵌合抗原受体(CARs)。

[0245] 还提供了含有所述分离的多核苷酸的载体,所述多核苷酸包含编码本发明CAR的核酸。

[0246] 还提供了宿主细胞,所述宿主细胞含有本发明所述的载体。

[0247] 在某些实施方案中,所述的宿主细胞是T细胞,优选人的T细胞。在某些实施方案中,所述的宿主细胞是NK细胞,优选人的NK细胞。例如,可以对所述的T细胞或NK细胞进行工程改造以表达本发明的CAR,以治疗癌症等疾病。

[0248] 还提供了使宿主细胞表达本发明的嵌合抗原受体(CAR)的方法。所述方法包括用包含编码本发明的CAR的分离核酸的载体转导T细胞或NK细胞。

[0249] 还提供了制备本发明的CAR-T细胞或CAR-NK细胞的方法。所述方法包括:在产生CAR-T细胞或CAR-NK细胞的条件下,培养含有编码本发明的嵌合抗原受体(CAR)的核酸的分离的多核苷酸的T细胞或NK细胞,并回收所述的CAR-T细胞或CAR-NK细胞。

[0250] 还提供了生成含有本发明的嵌合抗原受体(CAR)的RNA工程化细胞群的方法。所述方法包括将细胞与包含编码本发明的嵌合抗原受体(CAR)的核酸的分离的多核苷酸接触,其中所述的多核苷酸是体外转录的RNA或合成的RNA。

[0251] 还提供了治疗有需要的受试者中的癌症的方法,包括给有需要的受试者施用本发明的CAR-T细胞或CAR-NK细胞。所述癌症可以是液体或实体癌症,例如,可以选自但不限于,肺癌、胃癌、食管癌、胆管癌、胆管细胞癌、结肠癌、肝细胞癌、肾细胞癌、膀胱尿路上皮癌、转移性黑色素瘤、乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、头颈癌、胰腺癌、胶质瘤、胶质母细胞瘤以及其他实体瘤、非霍奇金淋巴瘤(NHL)、急性淋巴细胞白血病(ALL)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性髓性白血病(CML)、多发性骨髓瘤(MM)、急性髓性白血病(AML)和其他液体肿瘤。

[0252] 在某些实施方案中,所述的治疗有需要的受试者癌症的方法还包括给有需要的受试者施用能够增加CAR分子表达的细胞功效的试剂。

[0253] 在某些实施方案中,所述的治疗有需要的受试癌症的方法还包括给有需要的受试者施用试剂,所述试剂可改善与给药表达CAR的细胞相关的一种或多种副作用。

[0254] 在某些实施方案中,所述的在有需要的受试者中治疗癌症的方法还包括给有需要的受试者施用治疗GPC3相关的疾病的试剂。

[0255] 附图简要说明

[0256] 结合附图阅读时,将更好地了解上述概要以及下文对本申请的优选实施方案的详细描述。然而,应该理解的是,本申请并不限于图中所示的明确实施方案。

[0257] 图1显示了ELISA试验中纯化的嵌合抗TIP-1单抗T5C(小鼠单抗T5的VH和VL区分别融合到人的IgG1重链和κ轻链的恒定区)与固定的TIP-1的结合。所述抗原为在C端标记有Myc的人的TIP-1(Origene,CAT#:TP304776)。

[0258] 图2A-2G显示了纯化的嵌合抗GPC3单抗(小鼠抗GPC3的VH和VL区分别融合到人的

IgG1重链和κ轻链的恒定区)与GPC3的结合。图2A-2B,抗GPC3单抗与固定的人GPC3的结合[FLAG-huGPC3-His;人GPC3(25-559)融合蛋白N端为FLAG,N端为His标签)]。图2C-2E,利用FACS分析抗GPC3单抗与表达人GPC3的HEK293稳定细胞系的结合。图2F-2G,利用FACS分析在26nM的抗GPC3单抗与对照HEK293细胞(未外源引入GPC3表达)的结合。同型对照,阴性对照抗体;只有第二抗体,仅添加第二抗体作为阴性对照。

[0259] 图3A-3O显示了通过FACS分析的人源化抗GPC3单克隆抗体与表达人GPC3的HEK293稳定细胞系的结合。同型对照,阴性对照抗体;只有第二抗体,在试验中仅添加第二抗体作为阴性对照。M3-C,M3的嵌合版本;26A1、36F8、39E1、43b和F7的命名规则相同。

[0260] 图4A-4E显示了通过FACS分析的抗GPC3 scFv分子与表达人GPC3的HEK293稳定细胞系的结合。同型对照,阴性对照抗体;只有第二抗体,在试验中仅添加第二抗体作为阴性对照。

[0261] 发明详述

[0262] 在背景和整个说明书中引用或描述了各种出版物、文章和专利;这些参考文献每一篇通过引用全文合并于此。本说明书中包含的文件、行为、材料、装置、物品或类似内容的讨论是为了提供本发明的背景。就所公开或要求保护的任何发明而言,这样的讨论并不承认任何或所有这些事项构成现有技术的一部分。

[0263] 除非另有定义,本文所述的所有技术及科学术语均具有与本发明所涉领域内技术人员通常理解的相同含义。否则,本文所使用的某些术语具有本说明书中规定的含义。

[0264] 必须注意的是,如在本文和所附权利要求中所使用的,除非上下文另有明确规定,否则单数形式“一(a)”、“一种(an)”和“该(the)”包括复数指代。

[0265] 除非另有说明,否则任何数值(如此处所述的浓度或浓度范围)都应理解为在所有情况下通过术语“约(about)”进行修改。因此,数值通常包括所述值的±10%。例如,1mg/mL的浓度包括0.9mg/mL至1mg/mL。同样,浓度范围为1%-10%(w/v)包括0.9%(w/v)-11%(w/v)。如本文所述,数值范围的使用明确地包括所有可能的范围、该范围内的所有单个数值,包括该范围内的整数和小数值,除非上下文另有明确说明。

[0266] 除非另有说明,在一系列元素之前的术语“至少”应理解为指所述系列中的每一个元素。本领域的技术人员将认识到或能够仅通过常规试验确定许多本文所描述的本发明的具体实施方案的等同替代。本发明意在包含这些等同替代。

[0267] 如本文所用,术语“包括”、“包括的”、“包含”、“含有”、“有”、“具有”、“含”或“拥有”或其任何其他变体,将被理解为隐含地包含一个指定的整数或整数组,但不排除任何其他整数或整数组,并且是非排他性或开放性的。例如,包含一系列元素的组合物、混合物、过程、方法、物品或装置,不一定只局限于这些元素,但可以包括这些组合物、混合物、过程、方法、物品或装置中没有明确列出或固有的其他元素。此外,除非有明确的相反声明,“或”指的是包含性的或,而不是排他性的或。例如,以下任意一项均满足条件A或B:A为真(或存在)并且B为假(或不存在)、A为假(或不存在)并且B为真(或存在)、A和B都为真(或存在)。

[0268] 如本文所用,多种所述元素之间的连词术语“和/或”被理解为均包含单个选项和组合选项。例如,当两个元素由“和/或”连在一起时,第一选项指的是第一个元素的适用性,而没有第二个元素。第二个选项是指第二个元素的适用性,而没有第一个元素。第三个选项指的是第一和第二个元素一起的适用性。这些选项的任何一个都被理解为属于含义范围

内,因此满足本文所用的术语“和/或”的需求。多个选项的并发适用性也被理解为术语所述含义,因此满足术语“和/或”的需求。

[0269] 如本文所用,在整个说明书和权利要求中使用的术语“由...组成”或变体,例如“由……构成”或“由……所组成”,表明包含任何所述的整数或整数组,但是不能添加额外的整数或整数组到指定的方法、结构和组合中。

[0270] 如本文所用,在整个说明书和权利要求中使用的术语“基本上由...组成”或变体,例如“基本上由……构成”或“基本上由……所组成”,表明包含任何所述的整数或整数组,而该整数或整数组不会实质性地改变指定的方法、结构和组合的基本或新属性。见M.P.E.P.§2111.03。

[0271] 如本文所用,“受试者”是指任何动物,优选哺乳动物,最优选人。如本文所用的术语“哺乳动物”包括任何哺乳动物。哺乳动物的例子包括但不限于,牛、马、羊、猪、猫、狗、小鼠、大鼠、兔子、豚鼠、猴子、人类等,更优选人类。

[0272] 单词“左”、“右”、“下”和“上”在附图中表示参考的方向。

[0273] 还应理解的是,如本文所用的术语“大约”、“近似”、“通常”、“基本上”以及类似的术语,指的是更优选的本发明的组分的维度或特征,表明所述的维度/特征不是一个严格的边界或参数,不排除其功能相同或类似的微小变化,正如本领域技术人员所理解的那样。至少,这些包含数值参数的参考应该包括使用本领域公认的数学和工业原理(例如,四舍五入、测量或其他系统误差、制造公差等),不会改变最小有效数字的变化。

[0274] 在两条或多条核酸或多肽序列(如抗TAA抗体和编码它们的多核苷酸、TAA多肽和编码它们的TAA多核苷酸、含有特异于GPC3的抗原结合域的嵌合抗原受体(CARs)和编码它们的多核苷酸)的上下文中,术语“同一的”或百分比“同一性”指的是,当使用下列序列比较算法的一种或目视检查进行比较和比对以获得最大的对应关系时,两条或多条序列或子序列相同或具有指定百分比的氨基酸残基或核苷酸相同。

[0275] 对于序列比较,通常一个序列作为参比序列,与测试序列进行比较。在使用序列比较算法时,将测试序列与参比序列输入计算机,必要时指定子序列坐标,并指定序列算法程序参数。然后,根据指定的程序参数,序列比较算法计算测试序列相对于参比序列的序列同一性百分比。

[0276] 采用Smith&Waterman,《应用数学和力学的进展》,1981;2:482的局部同源算法、采用Needleman&Wunsch,《分子生物学期刊》,1970,48:443的同源对齐算法、采用arson&Lipman,《美国国家科学院》,1988,485:2444的相似度搜索方法、通过计算机实现这些算法(威斯康星遗传学软件包,遗传学计算机组,575科学博士,麦迪逊,威斯康星州),或通过视觉(通常参阅,《分子生物学实验室指南》,F.M.Ausubel等人,编,《通用指南》,格林出版联合公司和John Wiley&Sons公司合资出版,1995年增刊(Ausubel))可以对序列进行最优比对。

[0277] 适合于确定序列同一性和序列相似度百分比的算法的例子是BLAST和BLAST2.0算法,它们分别描述于Altschul等人,《分子生物学期刊》,1990;215:403-410和Altschul等人,《核酸研究》,1997;25:3389-3402。进行BLAST分析的软件可通过国家生物技术信息中心公开使用。这种算法首先通过识别查询序列中字长为W的短序列来识别高评分的序列对(HSPs),当与数据库序列中长度相同的单词对齐时,这些短序列匹配或满足某个正值阈值得分T。T被称为领域序列评分阈值(Altschul等人,同上述)。这些最初的临近序列的命中作

为启动搜索的种子,以寻找包含它们的较长HSP。然后沿着两个方向将序列的命中在每个序列延伸直到累计比对得分增加。

[0278] 对于核酸序列,使用参数M(一对匹配残基的加数,始终>0)和N(错配残基的罚分,始终<0)计算累积分数。对于氨基酸序列,使用评分矩阵计算累积得分。在以下情况下,将停止序列的命中在每个方向上的延伸:累积比对得分比其最大获得值下降X的数值;由于一个或多个负评分残基比对的累积,累积得分为零或以下;或达到任意一个序列的末端。BLAST算法参数W、T和X决定了比对的灵敏度和速度。BLASTN程序(用于核酸序列)默认使用的字长(W)为3,期望值(E)为10,M=5、N=-4,以及两条链的比较作为默认值。对于氨基酸序列,BLASTP程序默认使用字长(W)为3、期望值(E)为10和BLOSUM62评分矩阵作为默认值(见Henikoff&Henikoff,《美国国家科学院》,1989;89:10915)。

[0279] 除了计算序列同一性百分比外,BLAST算法还对两个序列之间的相似度进行统计分析(参见,例如Karlin&Altschul,《美国国家科学院》,1993;90:5873-5787)。BLAST算法提供的一种相似度度量方法是最小和概率(P(N)),它提供了两个核酸或氨基酸序列之间偶然发生匹配的概率指示。例如,如果被测核酸与参考核酸的比较中,最小和概率小于约0.1,更优选小于约0.01,最优选小于约0.001,则认为该核酸与参比序列相似。

[0280] 进一步表明两条核酸序列或多肽基本上同一的是,由第一核酸编码的多肽与由第二核酸编码的多肽发生免疫交叉反应,如下所述。因此,例如当一个多肽与另一个多肽之间的差异仅在于保守取代时,这两个多肽通常基本上是相同的。另一个表明两条核酸序列基本上同一的是,两个分子在严格的条件下相互杂交。

[0281] 如本文所用,术语“分离的”是指生物成分(如核酸、肽或蛋白质)已从自然存在该成分的生物体的其他生物成分(即其他染色体和染色体外的DNA和RNA以及蛋白质)基本分离、生产或纯化。因此,被“分离的”核酸、肽和蛋白质包括用标准纯化方法纯化的核酸和蛋白质。“分离的”核酸、肽和蛋白质可以是某一组合物的一部分,如果该组合物不是核酸、肽和蛋白质的原生环境的一部分,则该组合物可以被分离。该术语还包括在宿主细胞中通过重组表达制备的核酸、肽和蛋白质以及化学合成的核酸。

[0282] 如本文所用,术语“多核苷酸”,同义称为“核酸分子”、“核苷酸”或“核酸”,是指任何的多核糖核苷酸或多脱氧核糖核苷酸,其可以是未修饰的RNA或DNA,也可以是修饰的RNA或DNA。“多核苷酸”包括但不限于单链和双链DNA、单链和双链区混合的DNA、单链或双链RNA和单链和双链区混合的RNA、由单链或更典型的双链或单链和双链区混合的杂交分子。此外,“多核苷酸”是指含有RNA或DNA或同时包含RNA或DNA的三链区域。术语多核苷酸还包括含有一个或多个修饰碱基的DNAs或RNAs,以及由于稳定性或其他原因而修饰骨架的DNA或RNA。例如,“修饰的”碱基包括但不限于三苯甲基化(tritylated)碱基和肌苷等不常见的碱基。可以对DNA和RNA进行各种各样的修饰。因此,“多核苷酸”包括自然界中常见的多核苷酸的化学、酶和代谢修饰形式,以及病毒和细胞所特有的DNA和RNA的化学形式。“多核苷酸”还包括相对短的核酸链,通常称为寡核苷酸。

[0283] 如本文所用,术语“载体”是可操作性地插入另一核酸片段以产生片段的复制或表达的复制子。

[0284] 如本文所用,术语“宿主细胞”是指含有本发明的核酸分子的细胞。所述“宿主细胞”可以是任何类型的细胞,例如,原代细胞、培养中的细胞或细胞系中的细胞。在一个实施

方案中，“宿主细胞”是用本发明的核酸分子转染的细胞。在另一个实施方案中，“宿主细胞”是这种转染细胞的子代或潜在的子代。细胞的子代可能与亲本细胞相同，也可能不同。例如，由于在后代中可能发生的突变或环境影响，或由于核酸分子整合到宿主细胞基因组中。

[0285] 如本文所用，术语“表达”指的是基因产物的生物合成。所述术语包括基因转录成RNA的过程。所述术语还包括RNA翻译成一个或多个多肽，进一步包括所有自然发生的转录后和翻译后修饰。所述表达的多肽可以在宿主细胞的细胞质内、进入细胞外环境如细胞培养的生长培养基或锚定在细胞膜上。

[0286] 如本文所用，术语“肽”、“多肽”或“蛋白质”可以指由氨基酸组成的分子，并可以被本领域技术人员识别为蛋白质。本文使用氨基酸残基的常规单字母或三字母编码。术语“肽”、“多肽”和“蛋白质”在本文中可以互换使用，指任何长度的氨基酸聚合物。所述聚合物可以是直链的或支链的，它可以包括经修饰的氨基酸，并且可以被非氨基酸打断。所述术语还包括经过自然修饰或干预修饰的氨基酸聚合物，例如形成二硫键、糖基化、脂化、乙酰化、磷酸化或任何其他操作或修饰，例如偶联标记组件。该定义还包括，例如，含有一个或多个氨基酸类似物(包括例如非天然氨基酸等)的多肽，以及本领域已知的其他修饰。

[0287] 本文所述的肽序列是按照通常的惯例编写的，即肽的N端区域在左边，C端区域在右边。虽然氨基酸的异构体形式是已知的，但除非另有特别说明，否则所表示的是氨基酸的L型。

[0288] 嵌合抗体受体(CAR)

[0289] 如本文所用，术语“嵌合抗体受体”(CAR)是指含有至少一个特异性地与抗原或靶标结合的胞外结构域、跨膜结构域和细胞内T细胞受体激活信号域的重组多肽。CAR的胞外结构域与靶细胞表面的靶抗原结合，导致CAR聚集，并向含有CAR的细胞传递激活刺激。CARs重定向免疫效应细胞的特异性，并以主要组织相容性(MHC)独立的方式触发增殖、细胞因子的产生、吞噬和/或介导靶抗原表达细胞死亡的分子的产生。

[0290] 在一个方面，所述的CAR包括抗原结合域、铰链区、共刺激区、激活区和跨膜区。在一个方面，所述的CAR包括抗原结合域、铰链区、两个共刺激区、激活区和跨膜区。在一个方面，所述的CAR包括两个抗原结合域、铰链区、共刺激区、激活区和跨膜区。在一个方面，所述的CAR包括两个抗原结合域、铰链区、两个共刺激区、激活区和跨膜区。

[0291] 如本文所用，术语“信号肽”是指新生CAR蛋白的氨基端(N端)的前导序列，它共同翻译或后翻译引导新生CAR蛋白进入内质网并随后在表面表达。

[0292] 如本文所用，术语“胞外结构域”、“胞外区域”或“胞外配体结合域”是指位于细胞膜外的CAR的一部分，并能够与抗原、靶标或配体结合。

[0293] 如本文所用，术语“铰链区”是指连接CAR蛋白两个相邻结构域的CAR的一部分，如胞外结构域和跨膜结构域。

[0294] 如本文所用，术语“跨膜结构域”是指CAR的跨细胞膜延伸并将CAR锚定到细胞膜上的CAR的一部分。它有时被称为“跨膜区”。

[0295] 共刺激域

[0296] 如本文所用，嵌合抗体受体可以合并共刺激(信号)结构域以增加其效力。共刺激(信号)结构域可以衍生自共刺激分子。共刺激分子是细胞表面分子，而不是有效免疫反应所需的抗原受体或其配体以外的。共刺激区可以衍生自共刺激分子，其包括但不限于CD28、

CD28T、OX40、4-1BB/CD137、CD2、CD3、CD28、CD28T、OX40、4-1BB/CD137、CD2、CD3(α、β、δ、ε、γ、ζ)、CD4、CD5、CD7、CD9、CD16、CD22、CD27、CD30、CD33、CD37、CD40、CD45、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154、程序性死亡-1(PD-1)、诱导T细胞共刺激因子(ICOS)、淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1;CD11a和CD18)、CD247、CD276(B7-H3)、LIGHT(肿瘤坏死因子超家族成员14;TNFSF14)、NKG2C、Igα(CD79a)、DAP10、Fcγ受体、MHC I类分子、TNFR、整合素、信号淋巴因子激活分子、BTLA、Toll配体受体、ICAM-1、CDS、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM(LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD8α、CD8β、IL-2Rβ、IL-2Rγ、IL-7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、ITGAE、CD103、ITGAL、CD1a、CD1b、CD1c、CD1d、ITGAM、ITGAX、ITGB1、CD29、ITGB2(CD18)、ITGB7、NKG2D、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD 160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、CD83配体、细胞因子受体、激活NK细胞受体或其片段或任意组合。

[0297] 激活结构域

[0298] 如本文所用,嵌合抗体受体可以包括激活结构域。激活结构域可以包括但不限于CD3。CD3是初始T细胞上T细胞受体的一种元件,经证明,CD3在CAR中是一种重要的细胞内激活元件。在优选实施方案中,所述CD3是CD3ζ。

[0299] 铰链区

[0300] 如本文所用,嵌合抗体受体可以包括铰链区。这是细胞外结构域的一部分,有时被称为"间隔"区。根据本发明,可以使用多种铰链区,包括如上所述的共刺激分子、免疫球蛋白(IgG)序列或其他合适的分子,以实现与靶向细胞所需的特殊距离。在某些实施方案中,整个细胞外区含有铰链区。

[0301] 跨膜区

[0302] 如本文所用,嵌合抗体受体可以包括跨膜区/结构域。所述CAR可以被设计成包括一个跨膜结构域,该跨膜结构域融合到CAR的细胞外结构域。类似地,它可以融合到CAR的细胞内结构域。在一个实施方案中,使用跨膜结构域与CAR中的一个结构域自然关联。在某些情况下,可以通过氨基酸取代来选择或修饰跨膜结构域,以避免这些结构域与相同或不同表面膜蛋白的跨膜结构域结合,从而减少与受体复合体其他成员的相互作用。跨膜结构域可以来自天然或合成的来源。当来源是天然的,该结构域可能来自任何膜结合蛋白或跨膜蛋白。本发明中特别使用的跨膜区可以来自(即包含或工程化自)但不限于CD28、CD28T、OX40、4-1BB/CD137、CD2、CD3、CD28、CD28T、OX40、4-1BB/CD137、CD2、CD3(α、β、δ、ε、γ、ζ)、CD4、CD5、CD7、CD9、CD16、CD22、CD27、CD30、CD33、CD37、CD40、CD45、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154、程序性死亡-1(PD-1)、诱导T细胞共刺激因子(ICOS)、淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1;CD11a和CD18)、CD247、CD276(B7-H3)、LIGHT(肿瘤坏死因子超家族成员14;TNFSF14)、NKG2C、Igα(CD79a)、DAP10、Fcγ受体、MHC I类分子、TNFR、整合素、信号淋巴因子激活分子、BTLA、Toll配体受体、ICAM-1、CDS、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM(LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD8α、CD8β、IL-2Rβ、IL-2Rγ、IL-7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、ITGAE、CD103、ITGAL、CD1a、CD1b、CD1c、CD1d、ITGAM、ITGAX、ITGB1、CD29、ITGB2(CD18)、ITGB7、NKG2D、TNFR2、TRANCE/

RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD 160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、CD83配体、细胞因子受体、激活NK细胞受体或其片段或任意组合。

[0303] 免疫细胞

[0304] 根据特定方面,本发明提供了免疫细胞,所述免疫细胞含有所述分离的多核苷酸或包含所述编码CAR的核酸序列的所述分离多核苷酸的载体。本发明所述的含有分离的多核苷酸和/或载体的免疫细胞可称为“工程化免疫细胞”。优选地,所述工程化免疫细胞来自人类(在重组前是起源人类的)。

[0305] 例如,所述的工程化免疫细胞可以是淋巴系细胞。淋巴系细胞的非限制性例子包括T细胞和自然杀伤(NK)细胞。T细胞表达T细胞受体(TCR),大部分细胞表达α和β链,少部分细胞表达γ和δ链。作为本发明的工程化免疫细胞的有用的T细胞可以是$CD4^+$或$CD8^+$,可以包括但不限于T辅助细胞($CD4^+$)、细胞毒性T细胞(又称为细胞毒性T淋巴细胞,CTL;$CD8^+$细胞)和记忆T细胞,包括中央记忆T细胞、干细胞样记忆T细胞、效应T细胞、自然杀伤T细胞、黏膜相关不变T细胞和γδT细胞。其他典型的免疫细胞包括但不限于吞噬细胞、抗原提呈细胞(APCs)或表达细胞介导免疫反应抑制剂的任何免疫细胞,例如免疫检查点抑制剂通路受体(如PD-1)。根据本发明可以使用的免疫细胞的前体细胞包括造血干细胞和/或祖细胞。造血干细胞和/或祖细胞可以通过本领域已知的方法从骨髓、脐带血、细胞因子动员后的成体外周血中获得。免疫细胞被改造以重组表达本发明的CARs。

[0306] 免疫细胞及其前体细胞可以用本领域现有的方法分离,包括商业上可用的方法(例如,见Rowland Jones等人,《淋巴细胞:一种使用的方法》,牛津大学出版社,纽约,2009年)。免疫细胞或其前体细胞的来源包括但不限于外周血、脐带血、骨髓或造血细胞的其他来源。可以使用各种技术分离细胞,以分离或富集所需的免疫细胞。例如,阴性选择方法可用于去除非所需的免疫细胞。此外,阳性选择方法可用于分离或富集所需的免疫细胞或其前体,或阳性和阴性选择方法组合使用。如果要分离特定类型的T细胞,如特定的T细胞,可以使用各种细胞表面标记或标记的组合(如CD3、CD4、CD8、CD34)来分离细胞。

[0307] 所述的免疫细胞或其前体细胞可以是在本发明的治疗方法中施用给受试者的自体的或非自体的。从受试者中分离出自体细胞,对其施用重组表达CAR的工程化免疫细胞。可选地,所述细胞可以通过白细胞分离术获得,即从抽的血中有选择地取出白细胞,进行重组,然后再输回供者体内。或者,可以使用从非受试者的非自体供体的异体细胞。在非自体供体的情况下,将细胞分型并匹配人类白细胞抗原(HLA),以确定适当的相容性水平。对于自体和非自体细胞,可以选择性地冷冻保存细胞直到准备使用。

[0308] 之前已经描述了分离可用于本发明CARs的重组表达的免疫细胞的各种方法,并可使用,包括但不限于,使用外周供体淋巴细胞(Sadelain等人,《癌症自然评论》,2003;3:35-45;Morgan等人,《自然》,2006;314:126-9),在肿瘤活检中使用来自肿瘤浸润淋巴细胞(TILs)的淋巴细胞培养物(Panelli等人,《免疫学期刊》,2000;164:495-504;Panelli等人,《免疫学期刊》,2000;164:4382-92)和采用人工抗原提呈细胞(AAPCs)或树突状细胞,选择性使用体外扩增的抗原特异性外周血白细胞(Dupont等人,《癌症研究》,2005;65:5417-427;Papanicolaou等人,《血液》,2003;102:2498-505)。在使用干细胞的情况下,可以通过

本领域已知的方法分离细胞(例如见Klug等人,《造血干细胞方法》,哈门那(Humana)出版社,新泽西州,2002;Freshney等人,《人类干细胞的培养》,John Wiley&Sons,2007)。

[0309] 根据特定的实施方案,所述的制备工程化免疫细胞的方法包括转染或转导从个体分离的免疫效应细胞,使免疫效应细胞表达根据本发明实施方案的一个或多个CARs。例如,在WO2014/130635、WO2013/176916和WO2013/176915中描述了制备用于免疫治疗的免疫细胞的方法,在此通过引用并入全文作为参考。公开了用于制备工程化免疫细胞的各个步骤,例如在WO2014/039523、WO2014/184741、WO2014/191128、WO2014/184744和WO2014/184143中,在此通过引入全文作为参考。

[0310] 在一个特定实施方案中,免疫效应细胞,例如T细胞,用本发明的CARs(如用含有编码CAR的核酸的病毒载体转导)进行基因修饰,然后在体外被激活和扩增。在各种实施方案中,可以在基因修饰前或后激活或扩增T细胞以表达CAR,使用如在US6352694、US6534055、US6905680、US6692964、US5858358、US6887466、US6905681、US7144575、US7067318、US7172869、US7232566、US7175843、US5883223、US6905874、US6797514、US6867041、US2006/121005中所述的方法,在此引入全文作为参考。T细胞可以在体内或体外扩增。一般来说,可以通过接触附着其表面上的刺激CD3/TCR复合物相关信号的试剂和刺激T细胞表面上的共刺激分子的配体来扩增本发明的T细胞。作为非限制性的例子,可以如本文所述的那样刺激T细胞群,例如通过与抗CD3抗体或其抗原结合片段,或固定在表面的抗CD抗体接触,或通过与偶联有钙离子团蛋白激酶C激活剂(如苔藓虫素)接触,或通过激活CAR本身。对于T细胞表面的辅助分子的共刺激,使用与辅助分子结合的配体。例如,在适合刺激T细胞增殖的条件下,T细胞群可以与抗CD3抗体和抗CD38抗体接触。适合T细胞培养的条件包括,例如合适的培养基(如最小基本培养基或RPMI培养基或X-vivo 5(Lonza),该培养基可以包含增殖和生存所必需的因素(如血清(如胎牛或人血清)、细胞因子(如IL-2、IL-7、IL-15和/或IL-17)、胰岛素、IFN-g、GM-CSF、TGF-β和/或任何本领域技术人员已知的用于细胞生长的其他添加剂。在其他实施例中,可以激活和刺激T细胞,与饲养层细胞和适当的抗体和细胞因子一起增殖,使用US6040177、US5827642和WO2012129514中描述的方法,在本文中作为参考纳入。

[0311] 抗体和抗原结合域

[0312] 本发明一般涉及分离的抗TAA抗体(如抗TIP-1或抗GPC3抗体)、嵌合抗原受体(CARs)、核酸和编码所述抗体和CARs的表达载体、含有所述载体的重组细胞,以及含有所述抗体、CARs和表达所述CARs的重组细胞的组合物。制备所述抗体和CARs的方法,以及使用所述抗体和CARs治疗包括癌症和炎性疾病在内的疾病的方法。本发明所述的抗体和CARs的抗原结合域具有一种或多种理想的功能特性,包括但不限于对TAAs的高亲和力结合、对TAAs的高特异性、对表达TAAs的细胞刺激补体依赖性细胞毒性(CDC)、抗体依赖性细胞吞噬(ADCP)和/或抗体依赖性细胞介导毒性(ADCC)的能力,以及单独或与其他抗癌疗法联合使用时,抑制受试者和动物模型中肿瘤生长的能力。

[0313] 在一般方面,本发明涉及与TAAs结合的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段(如TIP-1或GPC3)。

[0314] 如本文所用,术语“抗体”是广义的,并且包括单克隆或多克隆的人的、人源的、复合的和嵌合抗体以及抗原片段的免疫球蛋白或抗体分子。一般来说,抗体是表现出与特定抗原具有结合特异性的蛋白质或肽链。抗体的结构是众所周知的。免疫球蛋白可根据重链

恒定域的氨基酸序列分为五大类(即IgA、IgD、IgE、IgG和IgM)。IgA和IgG进一步细分为IgA1、IgA2、IgG1、IgG2、IgG3和IgG4同种型。因此,本发明所述的抗体可以是五大类中的任何一类或相应的亚类。优选地,本发明所述的抗体为IgG1、IgG2、IgG3或IgG4。脊椎动物的抗体轻链可以根据其恒定结构域的氨基酸序列划分为两种明显不同的类型之一,即κ和λ。因此,本发明所述的抗体可以包含κ和λ轻链恒定结构域。根据特定实施方案,本发明所述的抗体包括来自大鼠或人抗体的重链和/或轻链恒定区。除了重链和轻链恒定结构域,抗体还包含抗原结合区,该抗原结合区由轻链可变区和重链可变区组成,每个重链可变区包含三个结构域(即互补决定区1-3:CDR1、CDR2和CDR3)。轻链可变区结构域被可替代地称为LCDR1、LCDR2和LCDR3,重链可变区结构域被可替代地称为HCDR1、HCDR2和HCDR3。

[0315] 如本文所用,术语"分离的抗体"指的是基本上不含其他具有不同抗原特异性的抗体的抗体(例如,特异性结合TAA(如TIP-1或GPC3)的分离的抗体基本上不受不与同一TAA结合的抗体(如TIP-1或GPC3)的影响)。此外,分离的抗体基本上不含有其他细胞物质和/或化学物质。

[0316] 如本文所用,术语"单克隆抗体"是指从基本均质的抗体中获得的抗体,即,除了可能自然发生的少量突变外,包含群体的单个抗体是同一的。本发明所述的单克隆抗体可通过杂交瘤法、噬菌体展示技术、单淋巴细胞基因克隆技术或DNA重组方法制备。例如,所述单克隆抗体可以由杂交瘤产生,该杂交瘤包括从转基因非人类动物(如转基因小鼠或大鼠)获得的B细胞,其基因组包括人类重链转基因和轻链转基因。

[0317] 如本文所用,术语"抗原结合片段"和/或"抗原结合域"指的是抗体片段,例如,双抗体、Fab、Fab'、F(ab')2、Fv片段、二硫键稳定的Fv片段(dsFv)、$(dsFv)_2$、双特异性dsFv(dsFv-dsFv')、二硫键稳定的双抗体(ds双抗体)、单链抗体分子(scFv)、单域抗体(sdab)、scFv二聚体(二价双抗体)、由含有一个或多个CDR的抗体的一部分形成的多特异性抗体、骆源单域抗体、纳米抗体、结构域抗体、二价结构域抗体或其他与抗原结合但不包含完整抗体结构的抗体片段。抗原结合片段能够与亲本抗体或亲本抗体片段结合的同一抗原结合。根据具体实施方案,所述抗原结合片段包括轻链可变区、轻链恒定区和重链Fd段。根据其他特定实施方案,所述抗原结合片段包括Fab和F(ab')。抗原结合域能够与亲本抗体结合的同一抗原结合。根据特定实施方案,所述抗原结合域包括单链抗体分子(scFv)。

[0318] 如本文所用,术语"单链抗体"是指本领域中的常规单链抗体,其包括由约15～20个氨基酸组成的短肽连接的重链可变区和轻链可变区。如本文所用,术语"单域抗体"是指本领域中的常规单域抗体,其包括一个重链可变区和一个重链恒定区或仅包括一个重链可变区。

[0319] 如本文所用,术语"人抗体"是指由人产生的抗体,或使用本领域已知的任何技术产生的与人类产生的抗体具有相应氨基酸序列的抗体。人抗体的定义包括完整或全长抗体、其片段和/或包含至少一种人重链和/或轻链多肽的抗体。

[0320] 如本文所用,术语"人源化抗体"和/或"人源化抗原结合域"指的是非人的抗体和/或非人抗原结合域,其经过修饰,增加了与人抗体和/或抗原结合域的序列同源性,从而保留抗体和/或抗原结合域的抗原结合特性,但其在人体的免疫原性降低。

[0321] 如本文所用,术语"嵌合抗体"和/或"嵌合抗原结合域"是指免疫球蛋白分子的氨基酸序列来源于两个或两个以上物种的抗体和/或抗原结合域。轻链和重链可变区通常对

应于来自一种哺乳动物(如小鼠、大鼠、兔子等)的抗体和/或抗原结合域,并具有所需的特异性、亲和力和性能的可变区域,而恒定区域对应于来自另一种哺乳动物(如人类)的抗体和/或抗原结合域的序列,以避免引起该物种的免疫反应。

[0322] 如本文所用,术语"多特异性抗体"是指包含多个免疫球蛋白可变域序列的抗体,其中所述的多个中的第一个免疫球蛋白可变域序列具有针对第一表位的结合特异性,所述的多个中的第二个免疫球蛋白可变域序列具有针对第二表位的结合特异性。在一个实施方案中,第一和第二表位位于同一抗原上,例如,同一蛋白质(或多聚体蛋白质的亚基)上。在一个实施方案中,第一和第二表位重叠或基本上重叠。在一个实施方案中,第一和第二表位不重叠或基本上不重叠。在一个实施方案中,第一和第二表位位于不同抗原上,例如,不同的蛋白质(或多聚体蛋白质的不同亚基)上。在一个实施方案中,多特异性抗体包括第三、第四或第五免疫球蛋白可变结构域。在一个实施方案中,多特异性抗体是双特异性抗体分子、三特异性抗体分子或四特异性抗体分子。

[0323] 如本文所用,术语"双特异性抗体"是指结合不超过两个表位或两个抗原的多特异性抗体。双特异性抗体的特点是具有对第一表位的结合特异性的第一免疫球蛋白可变结构域序列和具有对第二表位的结合特异性的第二免疫球蛋白可变结构域序列。在一个实施方案中,所述第一和第二表位位于同一抗原上,例如,同一蛋白质(或多聚体蛋白质亚基)上。在一个实施方案中,所述第一和第二表位重叠或基本上重叠。在一个实施方案中,所述第一和第二表位位于不同抗原上,例如,不同的蛋白质(或不同的多聚体蛋白质亚基)上。在一个实施方案中,双特异性抗体包括对第一表位具有结合特异性的的重链可变结构域序列和轻链可变结构域序列,以及对第二表位具有结合特异性的重链可变结构域序列和轻链可变结构域序列。在一个实施方案中,双特异性抗体包括对第一表位具有结合特异性的半抗体或其片段,以及对第二表位具有结合特异性的半抗体或其片段。在一个实施方案中,双特异性抗体包括对第一表位具有结合特异性的scFv或其片段,和对第二表位具有结合特异性的scFv或其片段。在一个实施方案中,所述第一表位位于本发明的TAA上,第二表位位于PD-1、PD-L1、TIM-3、LAG-3、CTLA-4、EGFR、HER-2、CD19、CD20、CD33、CD3、CD73、CD47、TIP-1、GPC3、爱帕琳肽(apelin)、DLL-3、叶酸受体α、克劳丁18.2(Claudin 18.2))和/或其他肿瘤相关的免疫抑制剂或表位抗原上。在一个实施方案中,第一和第二表位位于本发明的同一TAA上。

[0324] 如本文所用,"特异性结合TAA"的抗体和/或抗原结合域是指与TAA结合的抗体和/或抗原结合域,优选人TAA受体(如TIP-1或GPC3),其KD值为1×10^{-7}M或更低、优选1×10^{-8}M或更低、更优选5×10^{-9}M或更低、1×10^{-9}M或更低、5×10^{-10}M或更低或1×10^{-10}M或更低。术语"KD"指的是解离常数,由Kd与Ka(即Kd/Ka)的比值得到,并表示为摩尔浓度(M)。抗体和/或抗原结合域的KD值可以根据本发明使用本领域中的方法来确定。例如,抗体和/或抗原结合域的KD可以通过表面等离子共振来确定,如使用生物传感器系统,如Biacore® 系统,或使用生物层干涉测量技术,如Octet RED96系统。

[0325] 抗体和/或抗原结合域的KD值越小,抗体和/或抗原结合域与靶抗原结合的亲和力越高。

[0326] 根据一个特定的方面,本发明涉及一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段或含有抗原结合域的嵌合抗原受体(CAR),其中所述分离的单克隆抗体或其抗原结合片段或抗原结合域包括重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3、轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和

LCDR3,其分别具有以下多肽序列:

[0327] (1)SEQ ID NOs:87、88、89、90、91和92;

[0328] (2)SEQ ID NOs:108、109、110、111、112和113;

[0329] (3)SEQ ID NOs:17、18、19、20、21和22;

[0330] (4)SEQ ID NOs:31、32、33、34、35和36;

[0331] (5)SEQ ID NOs:45、46、47、48、49和50;

[0332] (6)SEQ ID NOs:59、60、61、62、63和64;或

[0333] (7)SEQ ID NOs:73、74、75、76、77和78;

[0334] 其中所述抗体或其抗原结合片段或其抗原结合域特异性结合GPC3,优选人GPC3。

[0335] 根据一个特定的方面,本发明涉及一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段或含有抗原结合域的嵌合抗原受体(CAR),其中所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段或其抗原结合域包括重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3,和轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3,其分别具有以下多肽序列:

[0336] (1)SEQ ID NOs:93、94、95、96、97和98;

[0337] (2)SEQ ID NOs:114、115、116、117、118和119;

[0338] (3)SEQ ID NOs:23、24、25、26、27和28;

[0339] (4)SEQ ID NOs:37、38、39、40、41和42;

[0340] (5)SEQ ID NOs:51、52、53、54、55和56;

[0341] (6)SEQ ID NOs:65、66、67、68、69和70;或

[0342] (7)SEQ ID NOs:79、80、81、82、83和84;

[0343] 其中所述的抗体或其抗原结合片段或其抗原结合域特异性结合GPC3,优选人的GPC3。

[0344] 根据一个特定的方面,本发明涉及一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包括重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3,和轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3,其分别具有以下多肽序列:

[0345] (1)SEQ ID NOs:3、4、5、6、7和8;

[0346] 其中所述的抗体或其抗原结合片段特异性结合TIP-1,优选人的TIP-1。

[0347] 根据一个特定的方面,本发明涉及一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包括重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3,和轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3,其分别具有以下多肽序列:

[0348] (1)SEQ ID NOs:9、10、11、12、13和14;

[0349] 其中所述的抗体或其抗原结合片段特异性结合TIP-1,优选人的TIP-1。

[0350] 根据另一个特定的方面,本发明涉及一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段或含有抗原结合域的嵌合抗原受体(CAR),其中所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段或抗原结合域包括重链可变区,其包含的多肽序列与SEQ ID NO:85、106、15、29、43、57、71或1中的任一个具有至少85%、优选90%、更优选95%或更多(如95%、96%、97%、98%或99%)同一性,或轻链可变区,其包含的多肽序列与SEQ ID NO:86、107、16、30、44、58、72或2中的任一个具有至少85%、优选90%、更优选95%或更多(如95%、96%、97%、98%或99%)同一性。根据一个优选的实施方案,本发明所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段或

其抗原结合域包括重链可变区，其包含的多肽序列分别与SEQ ID NO:85、106、15、29、43、57、71或1具有至少85％、优选90％、更优选95％或更多(如95％、96％、97％、98％或99％)同一性，和轻链可变区，其包含的多肽序列分别与SEQ ID NO:86、107、16、30、44、58、72或2具有至少85％、优选90％、更优选95％或更多(如95％、96％、97％、98％或99％)同一性。

[0351] 根据另一个特定的方面，本发明涉及一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段或本发明的抗原结合域，包括：

[0352] (a)具有SEQ ID NO:85多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:86多肽序列的轻链可变区；

[0353] (b)具有SEQ ID NO:106多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:107多肽序列的轻链可变区；

[0354] (c)具有SEQ ID NO:15多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:16多肽序列的轻链可变区；

[0355] (d)具有SEQ ID NO:29多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:30多肽序列的轻链可变区；

[0356] (e)具有SEQ ID NO:43多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:44多肽序列的轻链可变区；

[0357] (f)具有SEQ ID NO:57多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:58多肽序列的轻链可变区；

[0358] (g)具有SEQ ID NO:71多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:72多肽序列的轻链可变区；或

[0359] (h)具有SEQ ID NO:1多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:2多肽序列的轻链可变区。

[0360] 在一个实施方案中，本发明涉及一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3，其分别具有SEQ ID NOs:3、4、5、6、7和8的多肽序列。在另一个实施方案中，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有与SEQ ID NO:1具有至少85％、优选90％、更优选95％或更多(如95％、96％、97％、98％或99％)同一性的多肽序列的重链可变区，和具有与SEQ ID NO:2具有至少85％、优选90％、更优选95％或更多(如95％、96％、97％、98％或99％)同一性的多肽序列的轻链可变区。优选地，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包括具有SEQ ID NO:1的多肽序列的重链可变区，和具有SEQ ID NO:2的多肽序列的轻链可变区。

[0361] 在一个实施方案中，本发明涉及一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3，其分别具有SEQ ID NOs:17、18、19、20、21和22的多肽序列。在另一个实施方案中，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有与SEQ ID NO:15具有至少85％、优选90％、更优选95％或更多(如95％、96％、97％、98％或99％)同一性的多肽序列的重链可变区，和具有与SEQ ID NO:16具有至少85％、优选90％、更优选95％或更多(如95％、96％、97％、98％或99％)同一性的多肽序列的轻链可变区。优选地，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包括具有SEQ ID NO:15的多肽序列的重链可变区，和具有SEQ ID NO:16的多肽序列的轻链可变区。

[0362] 在一个实施方案中，本发明涉及一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3，其分别具有SEQ ID NOs:31、32、33、34、35和36的多肽序列。在另一个实施方案中，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有与SEQ ID NO:29具有至少85％、优选90％、更优选95％或更多(如95％、96％、97％、98％或99％)同一性的多肽序列的重链可变区，和具有与SEQ ID NO:30具有至少85％、优选90％、更优选95％或更多(如95％、96％、97％、98％或99％)同一性的多肽序列的轻链可变区。优选地，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包括具有SEQ ID NO:29的多肽序列的重链可变区，和具有SEQ ID NO:30的多肽序列的轻链可变区。

[0363] 在一个实施方案中，本发明涉及一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3，其分别具有SEQ ID NOs:45、46、47、48、49和50的多肽序列。在另一个实施方案中，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有与SEQ ID NO:43具有至少85％、优选90％、更优选95％或更多(如95％、96％、97％、98％或99％)同一性的多肽序列的重链可变区，和具有与SEQ ID NO:44具有至少85％、优选90％、更优选95％或更多(如95％、96％、97％、98％或99％)同一性的多肽序列的轻链可变区。优选地，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包括具有SEQ ID NO:43的多肽序列的重链可变区，和具有SEQ ID NO:44的多肽序列的轻链可变区。

[0364] 在一个实施方案中，本发明涉及一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3，其分别具有SEQ ID NOs:59、60、61、62、63和64的多肽序列。在另一个实施方案中，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有与SEQ ID NO:57具有至少85％、优选90％、更优选95％或更多(如95％、96％、97％、98％或99％)同一性的多肽序列的重链可变区，和具有与SEQ ID NO:58具有至少85％、优选90％、更优选95％或更多(如95％、96％、97％、98％或99％)同一性的多肽序列的轻链可变区。优选地，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包括具有SEQ ID NO:57的多肽序列的重链可变区，和具有SEQ ID NO:58的多肽序列的轻链可变区。

[0365] 在一个实施方案中，本发明涉及一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3，其分别具有SEQ ID NOs:73、74、75、76、77和78的多肽序列。在另一个实施方案中，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有与SEQ ID NO:71具有至少85％、优选90％、更优选95％或更多(如95％、96％、97％、98％或99％)同一性的多肽序列的重链可变区，和具有与SEQ ID NO:72具有至少85％、优选90％、更优选95％或更多(如95％、96％、97％、98％或99％)同一性的多肽序列的轻链可变区。优选地，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包括具有SEQ ID NO:71的多肽序列的重链可变区，和具有SEQ ID NO:72的多肽序列的轻链可变区。

[0366] 在一个实施方案中，本发明涉及一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3，其分别具有SEQ ID NOs:87、88、89、90、91和92的多肽序列。在另一个实施方案中，所述的分离

的单克隆抗体或其抗原结合片段含有与SEQ ID NO:85具有至少85％、优选90％、更优选95％或更多(如95％、96％、97％、98％或99％)同一性的多肽序列的重链可变区,和具有与SEQ ID NO:86具有至少85％、优选90％、更优选95％或更多(如95％、96％、97％、98％或99％)同一性的多肽序列的轻链可变区。优选地,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包括具有SEQ ID NO:85的多肽序列的重链可变区,和具有SEQ ID NO:86的多肽序列的轻链可变区。

[0367] 在一个实施方案中,本发明涉及一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,其分别具有SEQ ID NOs:108、109、110、111、112和113的多肽序列。在另一个实施方案中,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有与SEQ ID NO:106具有至少85％、优选90％、更优选95％或更多(如95％、96％、97％、98％或99％)同一性的多肽序列的重链可变区,和具有与SEQ ID NO:107具有至少85％、优选90％、更优选95％或更多(如95％、96％、97％、98％或99％)同一性的多肽序列的轻链可变区。优选地,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包括具有SEQ ID NO:106的多肽序列的重链可变区,和具有SEQ ID NO:107的多肽序列的轻链可变区。

[0368] 在一个实施方案中,本发明涉及一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,其分别具有SEQ ID NOs:9、10、11、12、13和14的多肽序列。在另一个实施方案中,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有与SEQ ID NO:1具有至少85％、优选90％、更优选95％或更多(如95％、96％、97％、98％或99％)同一性的多肽序列的重链可变区,和具有与SEQ ID NO:2具有至少85％、优选90％、更优选95％或更多(如95％、96％、97％、98％或99％)同一性的多肽序列的轻链可变区。优选地,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包括具有SEQ ID NO:1的多肽序列的重链可变区,和具有SEQ ID NO:2的多肽序列的轻链可变区。

[0369] 在一个实施方案中,本发明涉及一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,其分别具有SEQ ID NOs:23、24、25、26、27和28的多肽序列。在另一个实施方案中,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有与SEQ ID NO:15具有至少85％、优选90％、更优选95％或更多(如95％、96％、97％、98％或99％)同一性的多肽序列的重链可变区,和具有与SEQ ID NO:16具有至少85％、优选90％、更优选95％或更多(如95％、96％、97％、98％或99％)同一性的多肽序列的轻链可变区。优选地,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包括具有SEQ ID NO:15的多肽序列的重链可变区,和具有SEQ ID NO:16的多肽序列的轻链可变区。

[0370] 在一个实施方案中,本发明涉及一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,其分别具有SEQ ID NOs:37、38、39、40、41和42的多肽序列。在另一个实施方案中,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有与SEQ ID NO:29具有至少85％、优选90％、更优选95％或更多(如95％、96％、97％、98％或99％)同一性的多肽序列的重链可变区,和具有与SEQ ID NO:30具有至少85％、优选90％、更优选95％或更多(如95％、96％、97％、98％或

99%)同一性的多肽序列的轻链可变区。优选地,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包括具有SEQ ID NO:29的多肽序列的重链可变区,和具有SEQ ID NO:30的多肽序列的轻链可变区。

[0371] 在一个实施方案中,本发明涉及一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,其分别具有SEQ ID NOs:51、52、53、54、55和56的多肽序列。在另一个实施方案中,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有与SEQ ID NO:43具有至少85%、优选90%、更优选95%或更多(如95%、96%、97%、98%或99%)同一性的多肽序列的重链可变区,和具有与SEQ ID NO:44具有至少85%、优选90%、更优选95%或更多(如95%、96%、97%、98%或99%)同一性的多肽序列的轻链可变区。优选地,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包括具有SEQ ID NO:43的多肽序列的重链可变区,和具有SEQ ID NO:44的多肽序列的轻链可变区。

[0372] 在一个实施方案中,本发明涉及一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,其分别具有SEQ ID NOs:65、66、67、68、69和70的多肽序列。在另一个实施方案中,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有与SEQ ID NO:57具有至少85%、优选90%、更优选95%或更多(如95%、96%、97%、98%或99%)同一性的多肽序列的重链可变区,和具有与SEQ ID NO:58具有至少85%、优选90%、更优选95%或更多(如95%、96%、97%、98%或99%)同一性的多肽序列的轻链可变区。优选地,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包括具有SEQ ID NO:57的多肽序列的重链可变区,和具有SEQ ID NO:58的多肽序列的轻链可变区。

[0373] 在一个实施方案中,本发明涉及一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,其分别具有SEQ ID NOs:79、80、81、82、83和84的多肽序列。在另一个实施方案中,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有与SEQ ID NO:71具有至少85%、优选90%、更优选95%或更多(如95%、96%、97%、98%或99%)同一性的多肽序列的重链可变区,和具有与SEQ ID NO:72具有至少85%、优选90%、更优选95%或更多(如95%、96%、97%、98%或99%)同一性的多肽序列的轻链可变区。优选地,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包括具有SEQ ID NO:71的多肽序列的重链可变区,和具有SEQ ID NO:72的多肽序列的轻链可变区。

[0374] 在一个实施方案中,本发明涉及一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,其分别具有SEQ ID NOs:93、94、94、96、97和98的多肽序列。在另一个实施方案中,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有与SEQ ID NO:85具有至少85%、优选90%、更优选95%或更多(如95%、96%、97%、98%或99%)同一性的多肽序列的重链可变区,和具有与SEQ ID NO:86具有至少85%、优选90%、更优选95%或更多(如95%、96%、97%、98%或99%)同一性的多肽序列的轻链可变区。优选地,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包括具有SEQ ID NO:85的多肽序列的重链可变区,和具有SEQ ID NO:86的多肽序列的轻链可变区。

[0375] 在一个实施方案中，本发明涉及一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3，其分别具有SEQ ID NOs:114、115、116、117、118和119的多肽序列。在另一个实施方案中，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有与SEQ ID NO:106具有至少85％、优选90％、更优选95％或更多(如95％、96％、97％、98％或99％)同一性的多肽序列的重链可变区，和具有与SEQ ID NO:107具有至少85％、优选90％、更优选95％或更多(如95％、96％、97％、98％或99％)同一性的多肽序列的轻链可变区。优选地，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包括具有SEQ ID NO:106的多肽序列的重链可变区，和具有SEQ ID NO:107的多肽序列的轻链可变区。

[0376] 根据另一个特定方面，本发明涉及一种本发明的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段，其中所述的抗体或其抗原结合片段是嵌合的。

[0377] 根据另一个特定方面，本发明涉及一种本发明的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段，其中所述的抗体或其抗原结合片段是人的或人源化的。

[0378] 根据另一个特定方面，所述的人源化单克隆抗体或其抗原结合片段包括具有与SEQ ID NOs:99-102、120-123、126-132、139-140、143-149、153-156、160-163、183-197或202-205中的任一个具有至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的多肽序列的重链可变区，或SEQ ID NOs:103-105、124-125、126-132、133-138、141-142、150-152、157-159、164-166或198-201中的任一个具有至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的多肽序列的轻链可变区。

[0379] 根据另一个特定方面，所述的人源化单克隆抗体或其抗原结合片段含有：

[0380] (1)具有SEQ ID NO:99多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103多肽序列的轻链可变区；

[0381] (2)具有SEQ ID NO:99多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0382] (3)具有SEQ ID NO:100多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103多肽序列的轻链可变区；

[0383] (4)具有SEQ ID NO:100多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0384] (5)具有SEQ ID NO:101多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103多肽序列的轻链可变区；

[0385] (6)具有SEQ ID NO:101多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0386] (7)具有SEQ ID NO:102多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:105多肽序列的轻链可变区；

[0387] (8)具有SEQ ID NO:120多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124多肽序列的轻链可变区；

[0388] (9)具有SEQ ID NO:120多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:125多肽序列的轻链可变区；

[0389] (10)具有SEQ ID NO:121多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124多肽序列

的轻链可变区；

[0390] (11)具有SEQ ID NO:121多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:125多肽序列的轻链可变区；

[0391] (12)具有SEQ ID NO:122多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124多肽序列的轻链可变区；

[0392] (13)具有SEQ ID NO:122多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:125多肽序列的轻链可变区；

[0393] (14)具有SEQ ID NO:123多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124多肽序列的轻链可变区；

[0394] (15)具有SEQ ID NO:139多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:141多肽序列的轻链可变区；

[0395] (16)具有SEQ ID NO:139多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:142多肽序列的轻链可变区；

[0396] (17)具有SEQ ID NO:140多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:141多肽序列的轻链可变区；

[0397] (18)具有SEQ ID NO:140多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:142多肽序列的轻链可变区；

[0398] (19)具有SEQ ID NO:153多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:157多肽序列的轻链可变区；

[0399] (20)具有SEQ ID NO:153多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:158多肽序列的轻链可变区；

[0400] (21)具有SEQ ID NO:154多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:157多肽序列的轻链可变区；

[0401] (22)具有SEQ ID NO:154多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:158多肽序列的轻链可变区；

[0402] (23)具有SEQ ID NO:143多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:150多肽序列的轻链可变区；

[0403] (24)具有SEQ ID NO:144多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:150多肽序列的轻链可变区；

[0404] (25)具有SEQ ID NO:145多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:150多肽序列的轻链可变区；

[0405] (26)具有SEQ ID NO:147多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:151多肽序列的轻链可变区；

[0406] (27)具有SEQ ID NO:147多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:152多肽序列的轻链可变区；

[0407] (28)具有SEQ ID NO:148多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:151多肽序列的轻链可变区；

[0408] (29)具有SEQ ID NO:148多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:152多肽序列的轻链可变区；

[0409] (30)具有SEQ ID NO:149多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:151多肽序列的轻链可变区；

[0410] (31)具有SEQ ID NO:149多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:152多肽序列的轻链可变区；

[0411] (32)具有SEQ ID NO:160多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0412] (33)具有SEQ ID NO:161多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0413] (34)具有SEQ ID NO:162多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0414] (35)具有SEQ ID NO:163多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0415] (36)具有SEQ ID NO:205多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0416] (37)具有SEQ ID NO:202多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0417] (38)具有SEQ ID NO:203多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0418] (39)具有SEQ ID NO:204多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0419] (40)具有SEQ ID NO:100多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:198多肽序列的轻链可变区；

[0420] (41)具有SEQ ID NO:183多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0421] (42)具有SEQ ID NO:183多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:198多肽序列的轻链可变区；

[0422] (43)具有SEQ ID NO:185多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0423] (44)具有SEQ ID NO:186多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0424] (45)具有SEQ ID NO:185多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0425] (46)具有SEQ ID NO:186多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0426] (47)具有SEQ ID NO:189多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0427] (48)具有SEQ ID NO:188多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103多肽序列的轻链可变区；

[0428] (49)具有SEQ ID NO:190多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列

的轻链可变区；

[0429] (50)具有SEQ ID NO:191多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0430] (51)具有SEQ ID NO:192多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0431] (52)具有SEQ ID NO:193多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0432] (53)具有SEQ ID NO:194多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0433] (54)具有SEQ ID NO:189多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0434] (55)具有SEQ ID NO:190多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0435] (56)具有SEQ ID NO:191多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0436] (57)具有SEQ ID NO:192多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0437] (58)具有SEQ ID NO:193多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0438] (59)具有SEQ ID NO:194多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0439] (60)具有SEQ ID NO:189多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0440] (61)具有SEQ ID NO:190多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0441] (62)具有SEQ ID NO:191多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0442] (63)具有SEQ ID NO:192多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0443] (64)具有SEQ ID NO:193多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0444] (65)具有SEQ ID NO:186多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0445] (66)具有SEQ ID NO:195多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0446] (67)具有SEQ ID NO:195多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0447] (68)具有SEQ ID NO:195多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0448] (69)具有SEQ ID NO:194多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区;

[0449] (70)具有SEQ ID NO:185多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区;

[0450] (71)具有SEQ ID NO:187多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区;

[0451] (72)具有SEQ ID NO:187多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区。

[0452] (73)具有SEQ ID NO:187多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区;

[0453] (74)具有SEQ ID NO:196多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:201多肽序列的轻链可变区;或

[0454] (75)具有SEQ ID NO:197多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:201多肽序列的轻链可变区。

[0455] 根据另一个特定方面,所述的抗原结合域是人源化的,并包括具有与SEQ ID NOs:99-102、120-123、126-132、139-140、143-149、153-156、160-163、183-197或202-205具有至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的多肽序列的重链可变区,或具有与SEQ ID NOs:103-105、124-125、126-132、133-138、141-142、150-152、157-159、164-166或198-201具有至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的多肽序列的轻链可变区。

[0456] 根据另一个特定方面,所述的抗原结合域是人源化的,并包括:

[0457] (1)具有SEQ ID NO:99多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103多肽序列的轻链可变区;

[0458] (2)具有SEQ ID NO:99多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区;

[0459] (3)具有SEQ ID NO:100多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103多肽序列的轻链可变区;

[0460] (4)具有SEQ ID NO:100多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区;

[0461] (5)具有SEQ ID NO:101多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103多肽序列的轻链可变区;

[0462] (6)具有SEQ ID NO:101多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区;

[0463] (7)具有SEQ ID NO:102多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:105多肽序列的轻链可变区;

[0464] (8)具有SEQ ID NO:120多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124多肽序列的轻链可变区;

[0465] (9)具有SEQ ID NO:120多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:125多肽序列的轻链可变区;

[0466] (10)具有SEQ ID NO:121多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124多肽序列的轻链可变区；

[0467] (11)具有SEQ ID NO:121多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:125多肽序列的轻链可变区；

[0468] (12)具有SEQ ID NO:122多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124多肽序列的轻链可变区；

[0469] (13)具有SEQ ID NO:122多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:125多肽序列的轻链可变区；

[0470] (14)具有SEQ ID NO:123多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124多肽序列的轻链可变区；

[0471] (15)具有SEQ ID NO:139多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:141多肽序列的轻链可变区；

[0472] (16)具有SEQ ID NO:139多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:142多肽序列的轻链可变区；

[0473] (17)具有SEQ ID NO:140多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:141多肽序列的轻链可变区；

[0474] (18)具有SEQ ID NO:140多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:142多肽序列的轻链可变区；

[0475] (19)具有SEQ ID NO:153多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:157多肽序列的轻链可变区；

[0476] (20)具有SEQ ID NO:153多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:158多肽序列的轻链可变区；

[0477] (21)具有SEQ ID NO:154多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:157多肽序列的轻链可变区；

[0478] (22)具有SEQ ID NO:154多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:158多肽序列的轻链可变区；

[0479] (23)具有SEQ ID NO:143多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:150多肽序列的轻链可变区；

[0480] (24)具有SEQ ID NO:144多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:150多肽序列的轻链可变区；

[0481] (25)具有SEQ ID NO:145多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:150多肽序列的轻链可变区；

[0482] (26)具有SEQ ID NO:147多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:151多肽序列的轻链可变区；

[0483] (27)具有SEQ ID NO:147多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:152多肽序列的轻链可变区；

[0484] (28)具有SEQ ID NO:148多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:151多肽序列的轻链可变区；

[0485] (29)具有SEQ ID NO:148多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:152多肽序列

的轻链可变区；

[0486] (30)具有SEQ ID NO:149多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:151多肽序列的轻链可变区；

[0487] (31)具有SEQ ID NO:149多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:152多肽序列的轻链可变区；

[0488] (32)具有SEQ ID NO:160多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0489] (33)具有SEQ ID NO:161多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0490] (34)具有SEQ ID NO:162多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0491] (35)具有SEQ ID NO:163多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0492] (36)具有SEQ ID NO:205多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0493] (37)具有SEQ ID NO:202多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0494] (38)具有SEQ ID NO:203多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0495] (39)具有SEQ ID NO:204多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0496] (40)具有SEQ ID NO:100多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:198多肽序列的轻链可变区；

[0497] (41)具有SEQ ID NO:183多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0498] (42)具有SEQ ID NO:183多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:198多肽序列的轻链可变区；

[0499] (43)具有SEQ ID NO:185多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0500] (44)具有SEQ ID NO:186多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0501] (45)具有SEQ ID NO:185多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0502] (46)具有SEQ ID NO:186多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0503] (47)具有SEQ ID NO:189多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0504] (48)具有SEQ ID NO:188多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103多肽序列的轻链可变区；

[0505] (49)具有SEQ ID NO:190多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0506] (50)具有SEQ ID NO:191多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0507] (51)具有SEQ ID NO:192多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0508] (52)具有SEQ ID NO:193多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0509] (53)具有SEQ ID NO:194多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0510] (54)具有SEQ ID NO:189多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0511] (55)具有SEQ ID NO:190多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0512] (56)具有SEQ ID NO:191多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0513] (57)具有SEQ ID NO:192多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0514] (58)具有SEQ ID NO:193多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0515] (59)具有SEQ ID NO:194多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0516] (60)具有SEQ ID NO:189多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0517] (61)具有SEQ ID NO:190多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0518] (62)具有SEQ ID NO:191多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0519] (63)具有SEQ ID NO:192多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0520] (64)具有SEQ ID NO:193多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0521] (65)具有SEQ ID NO:186多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0522] (66)具有SEQ ID NO:195多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0523] (67)具有SEQ ID NO:195多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0524] (68)具有SEQ ID NO:195多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列

的轻链可变区；

[0525] (69)具有SEQ ID NO:194多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0526] (70)具有SEQ ID NO:185多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0527] (71)具有SEQ ID NO:187多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0528] (72)具有SEQ ID NO:187多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区。

[0529] (73)具有SEQ ID NO:187多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0530] (74)具有SEQ ID NO:196多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:201多肽序列的轻链可变区;或

[0531] (75)具有SEQ ID NO:197多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:201多肽序列的轻链可变区。

[0532] 根据另一个特定方面,所述的抗原结合域是与GPC3特异性结合的单链可变片段(scFv),优选人的GPC3。

[0533] 在某些实施方案中,所述的编码抗原结合域是与GPC3特异性结合的人源化的单链可变片段(scFv),优选人的GPC3。在某些实施方案中,所述的抗原结合域是与GPC3特异性结合的人源化的单链可变片段(scFv),优选人的GPC3。在某些实施方案中,所述的人源化的单链可变片段(scFv)包括具有与SEQ ID NOs:167-182中的任一个具有至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的多肽序列。在某些实施方案中,所述的人源化的单链可变片段(scFv)包括多肽序列,其具有选自下组的SEQ ID NOs:167-182的氨基酸序列。

[0534] 根据另一个特定方面,所述的嵌合抗原受体含有一个或多个抗原结合域。

[0535] 根据另一个特定方面,所述的细胞内信号域包含一个或多个共刺激结构域和一个或多个激活结构。

[0536] 在另一个一般方面,本发明涉及一种编码本发明的单克隆抗体或其抗原结合片段、和/或双特异性抗体或其抗原结合片段的分离的核酸。在另一个一般方面,本发明涉及一种分离的多核苷酸,其包含编码嵌合抗体(CAR)的核酸,其中所述的CAR包含本发明的抗原结合域。本领域技术人员应理解,可在不改变蛋白质的氨基酸序列的情况下改变蛋白质的编码序列(例如,替换、删除、插入等)。因此,本领域技术人员应理解,可改变编码本发明的单克隆抗体或其抗原结合片段的核酸序列,而不改变所述蛋白质的氨基酸序列。

[0537] 在另一个一般方面,本发明涉及一种载体,所述载体包括分离的核酸,其编码本发明的单克隆抗体或其抗原结合片段、双特异性抗体或其抗原结合片段和/或CAR的。就本公开而言,可以使用本领域技术人员已知的任何载体,如质粒、黏粒、吞噬体载体或病毒载体。在一些实施方案中,所述载体是重组表达载体,如质粒。所述载体可以包括任何建立表达载体常规功能的元素,例如启动子、核糖体结合元素、终止子、增强子、选择标记和复制起点。所述的启动子可以是组成的、诱导的或抑制的启动子。本领域已知许多能够将核酸运送到细胞的表达载体,并可用于在细胞中生产其抗体或抗原结合片段。根据本发明的实施方案,

可以使用常规克隆技术或人工基因合成来生成重组表达载体。

[0538] 在另一个一般方面，本发明涉及包含编码本发明单克隆抗体或其抗原结合片段和/或双特异性抗体或其抗原结合片段的分离核酸的宿主细胞。鉴于本公开，本领域技术人员已知的任何宿主细胞都可以用于本发明的抗体或其抗原结合片段的重组表达。在一些实施方案，所述的宿主细胞是大肠杆菌(E.coli)TG1或BL21细胞(用于如scFv或Fab抗体的表达)、CHO-DG44或CHO-K1细胞或HEK 293细胞(用于如全长IgG抗体的表达)。根据特定的实施方案，通过诸如化学转染、热休克或电穿孔等常规方法将所述的重组表达载体转化到宿主细胞中，使其稳定地整合到宿主细胞基因组中，从而有效地表达重组核酸。

[0539] 在另一个一般方面，本发明涉及生产本发明的单克隆抗体或其抗原结合片段和/或双特异性抗体或其抗原结合片段的方法，包括：在产生本方面的单克隆抗体或其抗原结合片段或双特异性抗体或其抗原结合片段的条件下，培养含有编码单克隆抗体或其抗原结合片段或双特异性抗原或其抗原结合片段的核酸的细胞，并从细胞或细胞培养物(如上清液)中回收所述抗体或其抗原结合片段。可从细胞中获得表达的抗体或其抗原结合片段，并根据本领域已知的和其中所述的常规技术进行纯化。

[0540] 在另一个一般方面，本发明涉及用含有编码本发明的CARs的分离核酸的载体转导的细胞。术语“转导的”或“转导”是指外源核酸被转移或导入宿主细胞的过程。“转导”的细胞是被外源核酸转导的细胞。所述细胞包括原代受试者细胞及其子代细胞。在某些实施方案中，所述细胞是CAR-T细胞，优选人的CAR-T细胞，其中所述T细胞被改造成表达本发明的CAR，以治疗如癌症等疾病。在某些实施方案中，所述细胞是CAR-NK细胞，优选人CAR-NK细胞，其中经工程化改造的CAR的NK细胞表达本发明的CAR以用于治疗如癌症等疾病。

[0541] 在另一个一般方面，本发明涉及一种制备CAR-T细胞的方法，所述方法通过将含有编码本发明的CAR的分离核酸的载体转导T细胞。

[0542] 在另一个一般方面，本发明涉及一种生产本发明的CAR-T细胞的方法，所述方法包括：在生产CAR-T细胞的条件下，培养含有本发明的嵌合抗原受体(CAR)的核酸的T细胞，并回收CAR-T细胞。

[0543] 在另一个一般方面，本发明涉及一种制备CAR-NK细胞的方法，所述方法通过将含有编码本发明的CAR的分离核酸的载体转导NK细胞。

[0544] 在另一个一般方面，本发明涉及一种生产本发明的CAR-NK细胞的方法，所述方法包括：在生产CAR-NK细胞的条件下，培养含有本发明的嵌合抗原受体(CAR)的核酸的NK细胞，并回收CAR-NK细胞。

[0545] 在另一个一般方面，本发明涉及一种生产含有本发明的嵌合抗原受体(CAR)的RNA工程化细胞群的方法。所述方法包括将细胞群与包含编码本发明的CAR的核酸的分离的多核苷酸接触，其中所述的多核苷酸是体外转录的RNA或合成的RNA。

[0546] 药物组合物

[0547] 在另一个一般方面，本发明涉及一种药物组合物，所述药物组合物含有本发明的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段、双特异性抗体或其抗原结合片段、分离的多核苷酸、分离的多肽、宿主细胞和/或工程化免疫细胞以及药学上可接受的载体。

[0548] 如本文所用，术语“药物组合物”是指含有本发明的分离的多核苷酸、本发明的分离的多肽、本发明的宿主细胞、本发明的工程化免疫细胞、抗TIP-1或抗GPC3单克隆抗体或

其抗原结合片段、和/或本发明的双特异性抗体以及药学上可接受的载体的产品。本发明的多核苷酸、多肽、宿主细胞、工程化免疫细胞、抗TIP-1或抗GPC3单克隆抗体或其抗原结合片段、和/或本发明的双特异性抗体以及包含它们的组合物也可用于制造本发明提及的治疗用途的药物。

[0549] 如本文所用，术语“载体”是指任何赋形剂、稀释剂、填充剂、盐、缓冲液、稳定剂、增溶剂、油、脂类、含脂囊泡、微球、脂质体包封剂或本领域已知的用于药剂配方的其他材料。应理解，载体、赋形剂或稀释剂的特性将取决于特定应用的给药途径。如本文所用，术语“药学上可接受的载体”是指不干扰本发明组合物的有效性或根据本发明化合物的生物活性的无毒性材料。根据具体实施方案，鉴于本公开，可以在本发明中使用任何药学上可接受的适用于抗体药物组合物的载体。

[0550] 药学上可接受载体的药物活性成分的配制在本领域是已知的，如《雷明顿：科学和药学实践》(如21版(2005年)和任何后续版本)。额外的非限制性例子包括：缓冲液、稀释剂、溶剂、张力调节剂、防腐剂、稳定剂和螯合剂。一种或多种药学上可接受的载体可用于配制本发明的药物组合物。

[0551] 在本发明的一个实施方案中，所述的药物组合物是液体制剂。液体制剂的优选例子是水溶性制剂，即含水的制剂。所述液体制剂可包括溶液、悬浮液、乳液、微乳液、凝胶等。水溶性制剂通常包含至少50％w/w的水，或至少60％、70％、75％、80％、85％、90％或至少95％w/w的水。

[0552] 在一个实施方案中，所述药物组合物可配制为可注射的注射剂，例如通过注射装置(例如，注射器或输液泵)。所述注射剂可以通过皮下注射、肌肉注射、腹腔注射、体内注射或静脉注射等方式递送。

[0553] 在另一个实施方案中，所述药物组合物为固体制剂，如冻干或喷雾干燥组合物，其可按原样，或在使用前由医生或患者添加溶剂和/或稀释剂。固体剂型可以包括片剂(如压缩片剂和/或包膜片剂)和胶囊(如硬或软明胶胶囊)。例如，所述药物组合物还可以是小袋、糖衣、粉末、颗粒、锭剂或用于重构的粉末的形式。

[0554] 所述剂型可以是立即释放，在这种情况下，它们可以包含水溶性或分散载体，或者它们可以是延迟释放、缓释、或修饰释放，在这种情况下，它们可以包括不溶于水的聚合物，可以调节剂型在胃肠道或皮下的溶解速度。

[0555] 在其他实施方案中，所述药物组合物可以经鼻内、口腔或舌下递送。

[0556] 水性制剂的pH可以在pH值3至pH值10之间。在本发明的一个实施方案中，所述制剂的pH值约为7.0至约9.5。在本发明的另一个实施方案中，所述制剂的pH值约为3.0至约7.0。

[0557] 在本发明的另一个实施方案中，所述药物组合物包括缓冲液。缓冲液的非限制性例子包括：精氨酸、天冬氨酸、N-二甘氨酸(bicine)、柠檬酸、磷酸氢二钠、富马酸、甘氨酸、甘氨酸、组氨酸、赖氨酸、马来酸、苹果酸、醋酸钠、碳酸钠、磷酸二氢钠、磷酸钠、琥珀酸、酒石酸、三(羟甲基)甲基甘氨酸(tricine)和三(羟甲基)氨基甲烷及其混合物。所述缓冲液可以单独存在，也以聚集形式存在，其浓度为约0.01mg/ml到约50mg/ml，例如从约0.1mg/ml到约20mg/ml。含有每一种这些特定缓冲液的药物组合物构成本发明的备选实施例方案。

[0558] 在本发明的另一个实施方案中，所述的药物组合物包括防腐剂。非限制性的防腐剂的例子包括：苄索氯铵、苯甲酸、苄醇、溴溴酚、4-羟基苯甲酸丁酯、氯丁醇、氯甲酚、氯己

定、氯苯内酯、邻甲酚、间甲酚、对甲酚、4-羟基苯甲酸乙酯、咪脲、4-羟基苯甲酸甲酯、苯酚、2-苯氧乙醇、2-苯乙醇、4-羟基苯甲酸丙酯、去氢乙酸钠、硫柳汞及其混合物。所述防腐剂可以单独存在，也可以以聚集形式存在，其浓度为约0.01mg/ml到约50mg/ml，例如从约0.1mg/ml到约20mg/ml。含有每一种这些特定防腐剂的药物组合物构成本发明的备选实施方案。

[0559] 在本发明的另一个实施方案中，所述的药物组合物包括等渗剂。非限制性的等渗剂的例子包括盐(如氯化钠)、氨基酸(如甘氨酸、组氨酸、精氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、天冬氨酸、色氨酸和苏氨酸)、醛二醇(如甘油、1,2-丙烯丙二醇)、1,3-丙二醇和1,3-丁二醇)、聚乙二醇(如PEG400)及其混合物。等渗剂的另一个例子包括糖。非限制性的糖的例子可以是单糖、二糖或多糖或水溶性葡聚糖，包括例如果糖、葡萄糖、甘露糖、山梨糖、木糖、麦芽糖、乳糖、蔗糖、海藻糖、葡聚糖、普鲁兰糖、糊精、环糊精、α和β-HPCD、可溶性淀粉、羟乙基淀粉和羧甲基纤维素钠。等渗剂的另一个例子是糖醇，其中“糖醇”一词定义为至少具有一个-OH基团的C(4-8)烃。糖醇的非限制性例子包括甘露醇、山梨醇、肌醇、半乳糖醇、杜糖醇、木糖醇和阿拉伯糖醇。等渗剂可以单独存在，也可以以聚集形式存在，其浓度为0.01mg/ml到约50mg/ml，例如从约0.1mg/ml到约20mg/ml。含有每一种这些特定等渗剂的药物组合物构成了本发明的备选实施方案。

[0560] 在本发明的另一个实施方案中，所述药物组合物包括螯合剂。螯合剂的非限制性例子包括柠檬酸、天冬氨酸、乙二胺四乙酸盐(EDTA)及其混合物。所述螯合剂可以单独存在，也可以以聚集形式存在，其浓度为约0.01mg/ml到约50mg/ml，例如从约0.1mg/ml到约20mg/ml。包含每一种这些特定螯合剂的药物组合物构成了本发明的备选实施方案。

[0561] 在本发明的另一个实施方案中，所述药物组合物包括稳定剂。稳定剂的非限制性例子包括一种或多种聚集抑制剂、一种或多种氧化抑制剂、一种或多种表面活性剂和/或一种或多种蛋白酶抑制剂。

[0562] 在本发明的另一个实施方案中，所述药物组合物包括稳定剂，其中所述稳定剂为羧基/羟基纤维素及其衍生物(如HPC、HPC-SL、HPC-L和HPMC)、环糊精、2-甲基硫代乙醇、聚乙二醇(如PEG 3350)、聚乙烯醇(PVA)、聚乙烯醇吡啶烷酮、盐(如氯化钠)、含硫物质(如一巯基甘油))或巯基乙酸。稳定剂可以单独存在，也可以以聚集形式存在，其浓度为0.01mg/ml到约50mg/ml，例如从约0.1mg/ml到约20mg/ml。包含每一种这些特定稳定剂的药物组合物构成了本发明的可选实施方案。

[0563] 在本发明的进一步实施方案中，所述药物组合物包括一种或多种表面活性剂，优选为一种表面活性剂、至少一种表面活性剂或两种不同的表面活性剂。术语“表面活性剂”是指由水溶性(亲水)部分和脂溶性(亲脂)部分组成的任何分子或离子。例如，所述表面活性剂可以选自阴离子表面活性剂、阳离子表面活性剂、非离子表面活性剂和/或两性离子表面活性剂。所述表面活性剂可以单独存在，也可以以聚集形式存在，其浓度为约0.1mg/ml到约20mg/ml不等。包含每一种这些特定表面活性剂的药物组合物构成了本发明的备选实施方案。

[0564] 在本发明的进一步实施方案中，所述的药物组合物包括一种或多种蛋白酶抑制剂，例如EDTA和/或苯甲脒盐酸(HCl)。所述蛋白酶抑制剂可以单独存在，也可以以聚集形式存在，其浓度约为0.1mg/ml至20mg/ml。包含每一种这些特定蛋白酶抑制剂的药物组合物构成了本发明的备选实施方案。

[0565] 在另一个一般方面，本发明涉及制备包含本发明的单克隆抗体或其抗原结合片段、和/或双特异性抗体或其抗原结合片段的药物组合物的方法，所述方法包括将单克隆抗体或其抗原结合片段、和/或双特异性抗体或其抗原结合片段与药学上可接受的载体组合以获得药物组合物。

[0566] 使用方法

[0567] 在另一个一般方面，本发明涉及一种治疗有需要的受试者中癌症的方法，包括给有需要的受试者施用本发明的CAR-T细胞和/或CAR-NK细胞。例如，所述癌症可以选自但不限于，肺癌、胃癌、食管癌、胆管癌、胆管细胞癌、结肠癌、肝细胞癌、肾细胞癌、膀胱尿路上皮癌、转移性黑色素瘤、乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、头颈癌、胰腺癌、胶质瘤、胶质母细胞瘤以及其他实体瘤，和非霍奇金淋巴瘤(NHL)、急性淋巴细胞白血病(ALL)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性髓性白血病(CML)、多发性骨髓瘤(MM)、急性髓性白血病(AML)和其他液体肿瘤。

[0568] 在另一个一般方面，本发明涉及一种靶向有需要的受试者中癌细胞表面的TAA(如TIP-1或GPC3)以实现细胞杀伤的方法，所述方法包括对受试者施用分离的单克隆抗体或其抗原结合片段、和/或与TAA特异性结合的双特异性抗体或其抗原结合片段或含有本发明的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段、和/或与TAA特异性结合的双特异性抗体或其抗原结合片段的药物组合物。TAA单克隆抗体或双特异性抗体或抗原结合片段与TAA结合可以介导补体性依赖性细胞毒性(CDC)、抗体依赖性细胞吞噬(ADCP)和/或抗体依赖性细胞毒性(ADCC)或导致靶向癌细胞死亡的其他作用。例如，所述单克隆抗体或其抗原结合片段可用于招募偶联药物，和/或可与另一单克隆抗体形成双特异性抗体以介导靶向癌细胞的死亡。

[0569] 与TAA(如TIP-1或GPC3)结合的抗体或其抗原结合片段的功能活性可以使用本领域已知的方法进行表征，如本文所述。表征与TAA结合的抗体及其抗原结合片段的方法包括但不限于亲和力和特异性分析，包括Biacore、ELISA和OctetRed分析，以及通过FACS检测抗体及其抗原结合片段与细胞上TAA的结合(无论是转染TAA的细胞还是自然表达TAA的细胞)。根据特定实施方案，表征与TAA结合的抗体及其抗原结合片段的方法包括如下所述的方法。

[0570] 在另一个一般方面，本发明涉及一种治疗有需要的受试者中癌症的方法，包括给有需要的受试者施用与TAA(如TIP-1或GPC3)特异性结合的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段、和/或双特异性抗体或其抗原结合片段或本发明的药物组合物。例如，所述癌症可以选自但不限于，肺癌、胃癌、食管癌、胆管癌、胆管细胞癌、结肠癌、肝细胞癌、肾细胞癌、膀胱尿路上皮癌、转移性黑色素瘤、乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、头颈癌、胰腺癌、胶质瘤、胶质母细胞瘤以及其他实体瘤，和非霍奇金淋巴瘤(NHL)、急性淋巴细胞白血病(ALL)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性髓性白血病(CML)、多发性骨髓瘤(MM)、急性髓性白血病(AML)和其他液体肿瘤。

[0571] 在另一个一般方面，本发明涉及一种治疗有需要的受试者中炎性疾病的方法，包括给受试者施用与TAA(如TIP-1或GPC3)特异性结合的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段、和/或双特异性抗体或其抗原结合片段或本发明的药物组合物。

[0572] 根据本发明的实施方案，所述CAR-T细胞或CAR-NK细胞包括表达治疗有效量的本发明的CARs，以及所述药物组合物包括治疗有效量的抗TAA抗体或其抗原结合片段(如抗TIP-1抗体或抗GPC3抗体)。如本文所用，术语“治疗有效量”是指在受试者引起预期的生物

或药物反应的活性成分或组分的量。治疗有效量可以通过经验和常规的方法确定，与声明的目的无关。

[0573] 如本文所提到的CARs，治疗有效量是指在转导的T细胞或NK细胞中表达的CAR分子的量，这些细胞可以调节有需要的受试者中的免疫反应。此外，如本文所提到的CARs，治疗有效量是指在转导的T细胞或NK细胞中表达的CAR分子的量，该数量可导致疾病、紊乱或状况的治疗；预防或减缓疾病、紊乱或状况的进展；或减轻或完全减轻与疾病、紊乱或状况相关的症状。

[0574] 如本文所述的对于CAR-T细胞或CAR-NK细胞，治疗有效量是指CAR-T细胞或CAR-NK细胞的量，这些细胞可以调节有需要的受试者中的免疫反应。此外，如本文所述的对于CAR-T细胞或CAR-NK细胞，治疗有效量是指CAR-T细胞或CAR-NK细胞的量，该数量可导致疾病、紊乱或状况的治疗、预防或减缓疾病、紊乱或状况的进展或减轻或完全减轻与疾病、紊乱或状况相关的症状。

[0575] 如本文所述的对于TAA抗体或其抗原结合片段，治疗有效量是指TAA抗体或其抗原结合片段的量，这些细胞可以调节有需要的受试者中的免疫反应。此外，如本文所述的对于TAA抗体或其抗原结合片段，治疗有效量是指TAA抗体或其抗原结合片段的量，该数量可导致疾病、紊乱或状况的治疗、预防或减缓疾病、紊乱或状况的进展或减轻或完全减轻与疾病、紊乱或状况相关的症状。

[0576] 根据具体实施方案，待治疗的疾病、紊乱或状况是癌症，优选癌症选自下组：肺癌、胃癌、食管癌、胆管癌、胆管细胞癌、结肠癌、肝细胞癌、肾细胞癌、膀胱尿路上皮癌、转移性黑色素瘤、乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、头颈癌、胰腺癌、胶质瘤、胶质母细胞瘤以及其他实体瘤、非霍奇金淋巴瘤(NHL)、急性淋巴细胞白血病(ALL)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性髓性白血病(CML)、多发性骨髓瘤(MM)、急性髓性白血病(AML)和其他液体肿瘤。根据其他的特定的实施方案，待治疗的疾病、紊乱或状况是炎性疾病。

[0577] 根据具体实施方案，治疗有效量是指足以达到下列一、二、三、四种或更多效果的治疗量：(i)减轻或改善待治疗疾病、紊乱或状况或与之相关的症状的严重程度；(ii)缩短待治疗疾病、紊乱或状况，或与之有关的症状的持续时间；(iii)预防待治疗疾病、紊乱或状况，或与之有关的症状的发展；(iv)导致待治疗疾病、紊乱或状况或与之有关的症状的消退；(v)防止待治疗疾病、紊乱或状况，或与之有关的症状的发展或发作；(vi)防止待治疗的疾病、紊乱或状况，或与之有关的症状复发；(vii)减少因患有待治疗疾病、紊乱或状况，或与该疾病、紊乱或状况有关的症状而住院的人数；(viii)缩短患有待治疗的疾病、紊乱或状况，或与该疾病、紊乱或状况有关的症状的人的住院时间；(ix)增加患有待治疗的疾病、紊乱或状况，或与该疾病、紊乱或与之相关的症状的受试者的存活时间；(xi)抑制或减轻受试者体内待治疗的疾病、紊乱或状况，或与之相关的症状；和/或(xii)加强或改善另一种治疗的预防或治疗效果。

[0578] 所述的治疗有效量或剂量可因各种因素而异，如待治疗的疾病、紊乱或状况、给药方法、靶点、受试者的生理状态(包括，例如，年龄、体重、健康状况)、受试者是人还是动物、给药的其他药物以及治疗是预防性的还是治疗性的。对治疗剂量进行最优滴定以优化安全性和有效性。

[0579] 根据具体实施方案，本文所述的组合物被配制为适合于向受试者给药的预期途

径。例如，本文所述的组合物可以配制成适合于静脉、皮下或肌肉内给药。

[0580] 本发明的细胞可以以本领域技术人员已知的任何方便的方式给药。例如，本发明的细胞可以通过气溶胶吸入、注射、摄入、输血、植入和/或移植给受试者。含有本发明细胞的组合物可以经动脉、皮下、皮内、瘤内、结内、髓内、肌内、胸腔内、静脉(i.v)注射或腹腔内给药。在某些实施方案中，本发明所述的细胞可以在有或无受试者淋巴衰竭的情况下给药。

[0581] 包含表达本发明的CAR的本发明细胞的药物组合物可以在无菌液体制剂中提供，通常是带有细胞悬浮液的等渗水溶液、或可选地作为乳剂、分散剂或类似物，其通常缓冲到指定的PH值。所述组合物可以包括载体，例如，水、盐水、磷酸盐缓冲液和类似物，适合于细胞完整性和活力以及用于细胞组合物的给药。

[0582] 根据需要，可以将本发明的细胞与适当数量的适当溶剂和各种其他成分结合，从而制备无菌可注射溶液。这些组合物可以包括药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂，如无菌水、生理盐水、葡萄糖、右旋糖或类似物，它们适合与细胞组合物一起使用并给药给受试者(如人)。用于提供细胞组合物的合适缓冲液在本领域是众所周知的。所使用的任何载体、稀释剂或添加剂都与保存本发明细胞的完整性和活力相容。

[0583] 本发明的细胞可以在任何生理上可接受的载体中施用。包含本发明细胞的细胞群可以包含纯化的细胞群。那些本领域技术人员可以很容易地使用各种众所周知的方法确定细胞群中的细胞。含有本发明基因修饰的细胞的细胞群纯度的范围可从约50％至约55％、约55％至约60％、约60％至约65％、约65％至约70％、约70％至约75％、约75％至约80％、约80％至约85％、约85％至约90％、约90％至约95％、或约95％至约100％。本领域技术人员可以很容易地调整剂量，例如，纯度的降低可能需要增加剂量。

[0584] 本发明的细胞通常以给药对象体重每公斤(细胞/公斤)的细胞为基础进行给药。一般来说，所述的细胞剂量在约10^4～10^{10}细胞/kg体重范围内，例如，根据给药方式和位置的不同，约10^5～10^9个细胞、约10^5～10^8个细胞、约10^5～10^7个细胞或约10^5～10^6个细胞。一般来说，在全身给药的情况下，使用的剂量高于局部给药，即在肿瘤和/或癌症区域给药本发明的免疫细胞。示范剂量范围包括但不限于，$1x10^4$～$1x10^8$、$2x10^4$～$1x10^8$、$3x10^4$～$1x10^8$、$4x10^4$～$1x10^8$、$5x10^4$～$6x10^8$、$7x10^4$～$1x10^8$、$8x10^4$～$1x10^8$、$9x10^4$～$1x10^8$、$1x10^5$～$1x10^8$、$1x10^5$～$9x10^7$、$1x10^5$～$8x10^7$、$1x10^5$～$7x10^7$、$1x10^5$～$6x10^7$、$1x10^5$～$5x10^7$、$1x10^5$～$4x10^7$、$1x10^5$～$4x10^7$、$1x10^5$～$3x10^7$、$1x10^5$～$2x10^7$、$1x10^5$～$1x10^7$、$1x10^5$～$9x10^6$、$1x10^5$～$8x10^6$、$1x10^5$～$7x10^6$、$1x10^5$～$6x10^6$、$1x10^5$～$5x10^6$、$1x10^5$～$4x10^6$、$1x10^5$～$4x10^6$、$1x10^5$～$3x10^6$、$1x10^5$～$2x10^6$、$1x10^5$～$1x10^6$、$2x10^5$～$9x10^7$、$2x10^5$～$8x10^7$、$2x10^5$～$7x10^7$、$2x10^5$～$6x10^7$、$2x10^5$～$5x10^7$、$2x10^5$～$4x10^7$、$2x10^5$～$4x10^7$、$2x10^5$～$3x10^7$、$2x10^5$～$2x10^7$、$2x10^5$～$1x10^7$、$2x10^5$～$9x10^6$、$2x10^5$～$8x10^6$、$2x10^5$～$7x10^6$、$2x10^5$～$6x10^6$、$2x10^5$～$5x10^6$、$2x10^5$～$4x10^6$、$2x10^5$～$4x10^6$、$2x10^5$～$3x10^6$、$2x10^5$～$2x10^6$、$2x10^5$～$1x10^6$、$3x10^5$～$3x10^6$细胞/kg，等等。此外，剂量可以根据是单剂还是多剂进行调整。准确确定有效剂量可根据每个受试者的个别因素而定。

[0585] 如本文所用，术语“治疗”、“处理”和“医治”都意在指与癌症和/或炎性疾病、紊乱或状况相关的至少一个可测量的物理参数的改善或逆转，这在受试者中不一定能够辨别，但可以在受试者中能够辨别。术语“治疗”、“处理”和“医治”也可以指引起疾病、紊乱或状况消退，防止进展，或至少减缓其进展。在具体实施方案中，“治疗”、“处理”和“医治”指的是与

疾病、紊乱或状况(如肿瘤或更优选的癌症)相关的一个或多个症状的缓解、发展或发作的预防,或持续时间的缩短。在具体实施方案中,“治疗”、“处理”和“医治”指的是预防疾病、紊乱或状况的复发。在具体实施方案中,“治疗”、“处理”和“医治”指的是患有该疾病、紊乱或状况的受试者的生存率的增加。在具体实施方案中,“治疗”、“处理”和“医治”指消除受试者中的疾病、紊乱或状况。

[0586] 根据具体实施方案,提供了用于治疗癌症和/或炎性疾病、紊乱或状况的组合物。对于癌症治疗,提供了可与其他治疗结合使用的组合物,包括但不限于化疗、抗-CD20单抗、抗-TIM-3单抗、抗-LAG-3单抗、抗-EGFR单抗、抗-HER-2单抗、抗-CD19单抗、抗-CD33单抗、抗-CD47单抗、抗-CD73单抗、抗-DLL-3单抗、抗-爱帕琳肽单抗、抗-FOLR1单抗、抗-CTLA-4单抗、抗-PD-L1单抗、抗-PD-1单抗、抗-克劳丁(Claudin)18.2单抗、其他免疫肿瘤药物、抗血管生成剂、放射疗法、抗体药物偶联物体(ADC)、靶向疗法或其他抗癌药物。针对特定TAA的抗体可用于与针对PD-1、PD-L1、LAG-3、TIM-3、CTLA-4、EGFR、HER-2、CD19、CD20、CD33、CD73、CD47、CD3、爱帕琳肽(apelin)、DLL-3、TIP-1、GPC3、克劳丁18.2(Claudin 18.2)、叶酸受体α、和/或第二个TAA的单抗构建双特异性抗体,以治疗表达TAA的肿瘤/癌症。

[0587] 根据具体实施方案,治疗有需要受试者中癌症的方法包括将本发明的CAR-T细胞和/或CAR-NK细胞与能够增加CAR分子表达的细胞功效的制剂联合给药给受试者。这些制剂包括但不限于与CD73、CD39、PD-1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM-3或LAG-3结合的抗体片段,或腺苷A2a受体拮抗剂。

[0588] 根据具体实施方案,治疗有需要受试者中癌症的方法包括将本发明的CAR-T细胞和/或CAR-NK细胞与能够改善与CAR分子的细胞给药相关的一种或多种副作用的制剂联合给药给受试者。这些制剂包括但不限于与类固醇、TNFα抑制剂或IL-6抑制剂。

[0589] 根据具体实施方案,治疗有需要受试者中癌症的方法包括将本发明的CAR-T细胞和/或CAR-NK细胞与治疗与GPC3相关的疾病的制剂联合给药给受试者。这些制剂包括但不限于抗GPC3单克隆抗体或双特异性抗体。

[0590] 如本文所用,在给药给受试者两种或更多疗法的情况下,术语“联合”指的是一种以上疗法的使用。术语“联合”的使用并不限制给药给受试者的疗法的顺序。例如,给受试者进行第一次给药治疗(如本文所述的组合物)可以在第二次给药治疗之前(如5分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、16小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、8周或12周之前)、与此同时、或之后(如5分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、16小时、24小时、48小时内、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、8周或12周后)。

[0591] 在另一个方面,本发明涉及一种测定受试者TAA(如TIP-1或GPC3)水平的方法。所述方法包括:(a)从受试者获得样本;(b)将本发明的单克隆抗体或其抗原结合片段与样本进行接触;和(c)确定受试者TAA水平。

[0592] 如本文所用,“样本”是指从受试者身上分离得到的生物样本,可以包括但不限于全血、血清、血浆、血细胞、内皮细胞、活检组织(如癌组织)、淋巴液、腹水、间质液、骨髓、脑脊液、唾液、粘液、痰、汗、尿液或其他分秘物、排泄物或其他体液。“血液样本”是指全血或其任何成分,包括血细胞、血清和血浆。

[0593] 在某些实施例中,可以使用检测方法来确定受试者中的TAA(如TIP-1或GPC3)水

平,这些方法选自但不限制于蛋白质印迹(Western blot)检测、免疫组化(IHC)和ELISA检测。相对蛋白水平可以通过蛋白质印迹分析和免疫组化(IHC)来确定,绝对蛋白水平可以通过ELISA检测来确定。当确定TAA的相对水平时,至少可以确定两个样本之间的TAA水平,例如,来自同一受试者不同时间点的样本之间、来自同一受试者不同组织的样本之间、和/或来自不同受试者的样本之间。另外,当确定TAA的绝对水平时,如通过ELISA测定,样品中的TAA的绝对水平可以通过在检测样品之前创建ELISA测定的标准来确定。本领域的技术人员将理解使用哪些分析技术来利用本发明的抗体或其抗原结合片段确定受试者样本中的TAA水平。

[0594] 利用从受试者样本中确定TAA(如TIP-1或GPC3)水平的方法可以诊断疾病中TAA水平异常(升高、降低或不足),并作出适当的治疗决定。例如,这种疾病可以选自但不限于癌症和炎性反应。此外,通过监测受试者的TAA水平,可以根据对特定疾病和/或特定疾病进展过程中TAA水平的了解,来确定上述疾病发生的风险。

[0595] 实施方案

[0596] 本发明还提供以下非限制性实施方案。

[0597] 实施方案1是一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包括重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3、轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3,其分别具有以下多肽序列:

[0598] (1)SEQ ID NOs:87、88、89、90、91和92;

[0599] (2)SEQ ID NOs:108、109、110、111、112和113;

[0600] (3)SEQ ID NOs:17、18、19、20、21和22;

[0601] (4)SEQ ID NOs:31、32、33、34、35和36;

[0602] (5)SEQ ID NOs:45、46、47、48、49和50;

[0603] (6)SEQ ID NOs:59、60、61、62、63和64;或

[0604] (7)SEQ ID NOs:73、74、75、76、77和78;

[0605] 其中所述抗体或其抗原结合片段特异性结合GPC3,优选特异性结合人GPC3。

[0606] 实施方案2是一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包括重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3、轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3,其分别具有以下多肽序列:

[0607] (1)SEQ ID NOs:93、94、95、96、97和98;

[0608] (2)SEQ ID NOs:114、115、116、117、118和119;

[0609] (3)SEQ ID NOs:23、24、25、26、27和28;

[0610] (4)SEQ ID NOs:37、38、39、40、41和42;

[0611] (5)SEQ ID NOs:51、52、53、54、55和56;

[0612] (6)SEQ ID NOs:65、66、67、68、69和70;或

[0613] (7)SEQ ID NOs:79、80、81、82、83和84;

[0614] 其中所述的抗体或其抗原结合片段特异性结合GPC3,优选特异性结合人的GPC3。

[0615] 实施方案3是一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3,轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3,其分别具有以下多肽序列:

[0616] (1)SEQ ID NOs:3、4、5、6、7和8；

[0617] 其中所述的抗体或其抗原结合片段特异性结合TIP-1，优选人的TIP-1。

[0618] 实施方案4是一种分离的单克隆抗体或其抗原结合片段，所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段含有重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3，轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3，其分别具有以下多肽序列：

[0619] (1)SEQ ID NOs:9、10、11、12、13和14；

[0620] 其中所述的抗体或其抗原结合片段特异性结合TIP-1，优选人的TIP-1。

[0621] 实施方案5是实验方案1-4中任一所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段，包括重链可变区，其具有的多肽序列与SEQ ID NO:85、106、15、29、43、57、71或1具有至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性，或轻链可变区，其具有的多肽序列与SEQ ID NO:86、107、16、30、44、58、72或2具有至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性。

[0622] 实施方案6是实验方案1-5中任一所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段，包括：

[0623] (1)具有SEQ ID NO:85多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:86多肽序列的轻链可变区；

[0624] (2)具有SEQ ID NO:106多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:107多肽序列的轻链可变区；

[0625] (3)具有SEQ ID NO:15多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:16多肽序列的轻链可变区；

[0626] (4)具有SEQ ID NO:29多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:30多肽序列的轻链可变区；

[0627] (5)具有SEQ ID NO:43多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:44多肽序列的轻链可变区；

[0628] (6)具有SEQ ID NO:57多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:58多肽序列的轻链可变区；

[0629] (7)具有SEQ ID NO:71多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:72多肽序列的轻链可变区；或

[0630] (8)具有SEQ ID NO:1多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:2多肽序列的轻链可变区。

[0631] 实施方案7是实验方案1-6中任一所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段，其中所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段是嵌合的和/或人的或人源化的。

[0632] 实施方案8是实验方案7中所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段，其中所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包括重链可变区，其具有的多肽序列与SEQ ID NO:99-102、120-123、126-132、139-140、143-149、153-156、160-163、183-197或202-205中任一所示的具有至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性，或轻链可变区，其具有的多肽序列与SEQ ID NO:103-105、124-125、133-138、141-142、150-152、157-159、164-166或198-201中任一所示的具有至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性。

[0633] 实施方案9是实验方案8中所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述的人源化的单克隆抗体或其抗原结合片段包括:

[0634] (1)具有SEQ ID NO:99多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103多肽序列的轻链可变区;

[0635] (2)具有SEQ ID NO:99多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区;

[0636] (3)具有SEQ ID NO:100多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103多肽序列的轻链可变区;

[0637] (4)具有SEQ ID NO:100多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区;

[0638] (5)具有SEQ ID NO:101多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103多肽序列的轻链可变区;

[0639] (6)具有SEQ ID NO:101多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区;

[0640] (7)具有SEQ ID NO:102多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:105多肽序列的轻链可变区;

[0641] (8)具有SEQ ID NO:120多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124多肽序列的轻链可变区;

[0642] (9)具有SEQ ID NO:120多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:125多肽序列的轻链可变区;

[0643] (10)具有SEQ ID NO:121多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124多肽序列的轻链可变区;

[0644] (11)具有SEQ ID NO:121多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:125多肽序列的轻链可变区;

[0645] (12)具有SEQ ID NO:122多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124多肽序列的轻链可变区;

[0646] (13)具有SEQ ID NO:122多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:125多肽序列的轻链可变区;

[0647] (14)具有SEQ ID NO:123多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124多肽序列的轻链可变区;

[0648] (15)具有SEQ ID NO:139多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:141多肽序列的轻链可变区;

[0649] (16)具有SEQ ID NO:139多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:142多肽序列的轻链可变区;

[0650] (17)具有SEQ ID NO:140多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:141多肽序列的轻链可变区;

[0651] (18)具有SEQ ID NO:140多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:142多肽序列的轻链可变区;

[0652] (19)具有SEQ ID NO:153多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:157多肽序列

的轻链可变区；

[0653] (20)具有SEQ ID NO:153多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:158多肽序列的轻链可变区；

[0654] (21)具有SEQ ID NO:154多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:157多肽序列的轻链可变区；

[0655] (22)具有SEQ ID NO:154多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:158多肽序列的轻链可变区；

[0656] (23)具有SEQ ID NO:143多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:150多肽序列的轻链可变区；

[0657] (24)具有SEQ ID NO:144多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:150多肽序列的轻链可变区；

[0658] (25)具有SEQ ID NO:145多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:150多肽序列的轻链可变区；

[0659] (26)具有SEQ ID NO:147多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:151多肽序列的轻链可变区；

[0660] (27)具有SEQ ID NO:147多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:152多肽序列的轻链可变区；

[0661] (28)具有SEQ ID NO:148多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:151多肽序列的轻链可变区；

[0662] (29)具有SEQ ID NO:148多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:152多肽序列的轻链可变区；

[0663] (30)具有SEQ ID NO:149多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:151多肽序列的轻链可变区；

[0664] (31)具有SEQ ID NO:149多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:152多肽序列的轻链可变区；

[0665] (32)具有SEQ ID NO:160多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0666] (33)具有SEQ ID NO:161多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0667] (34)具有SEQ ID NO:162多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0668] (35)具有SEQ ID NO:163多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0669] (36)具有SEQ ID NO:205多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0670] (37)具有SEQ ID NO:202多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0671] (38)具有SEQ ID NO:203多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0672] (39)具有SEQ ID NO:204多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0673] (40)具有SEQ ID NO:100多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:198多肽序列的轻链可变区；

[0674] (41)具有SEQ ID NO:183多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0675] (42)具有SEQ ID NO:183多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:198多肽序列的轻链可变区；

[0676] (43)具有SEQ ID NO:185多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0677] (44)具有SEQ ID NO:186多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0678] (45)具有SEQ ID NO:185多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0679] (46)具有SEQ ID NO:186多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0680] (47)具有SEQ ID NO:189多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0681] (48)具有SEQ ID NO:188多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103多肽序列的轻链可变区；

[0682] (49)具有SEQ ID NO:190多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0683] (50)具有SEQ ID NO:191多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0684] (51)具有SEQ ID NO:192多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0685] (52)具有SEQ ID NO:193多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0686] (53)具有SEQ ID NO:194多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0687] (54)具有SEQ ID NO:189多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0688] (55)具有SEQ ID NO:190多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0689] (56)具有SEQ ID NO:191多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0690] (57)具有SEQ ID NO:192多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0691] (58)具有SEQ ID NO:193多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列

的轻链可变区；

[0692] (59)具有SEQ ID NO:194多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0693] (60)具有SEQ ID NO:189多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0694] (61)具有SEQ ID NO:190多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0695] (62)具有SEQ ID NO:191多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0696] (63)具有SEQ ID NO:192多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0697] (64)具有SEQ ID NO:193多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0698] (65)具有SEQ ID NO:186多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0699] (66)具有SEQ ID NO:195多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0700] (67)具有SEQ ID NO:195多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0701] (68)具有SEQ ID NO:195多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0702] (69)具有SEQ ID NO:194多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0703] (70)具有SEQ ID NO:185多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0704] (71)具有SEQ ID NO:187多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0705] (72)具有SEQ ID NO:187多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区。

[0706] (73)具有SEQ ID NO:187多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0707] (74)具有SEQ ID NO:196多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:201多肽序列的轻链可变区；或

[0708] (75)具有SEQ ID NO:197多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:201多肽序列的轻链可变区。

[0709] 实施方案10是实验方案1-9中任一所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段，其中所述的人源化的单克隆抗体或其抗原结合片段能够诱导介导的肿瘤细胞裂解，通过抗体依赖性细胞毒性(ADCC)、抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)、和/或补体依赖性细胞毒性(CDC)；和/或调解偶联药物的招募；和/或与另一具有杀伤癌症效应的单克隆抗体或其抗原

结合片段形成具有抗癌作用的双特异性抗体。

[0710] 实施方案11是一种分离的双特异性抗体或其抗原结合片段,其中所述的分离的双特异性抗体或其抗原结合片段包括实验方案1-10中任一所述的单克隆抗体或其抗原结合片段。

[0711] 实施方案12是一种编码实验方案1-10中任一所述的单克隆抗体或其抗原结合片段的分离的核酸。

[0712] 实施方案13是一种编码实验方案11中所述的双特异性抗体或其抗原结合片段的分离的核酸。

[0713] 实施方案14是一种含有实验方案12或13中所述的分离的核酸的载体。

[0714] 实施方案15是一种含有实验方案14中所述的载体的宿主细胞。

[0715] 实施方案16是一种药物组合物,所述药物组合物包括实施方案1-10中任一所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段或实施方案11中所述的双特异性抗体或其抗原结合片段以及药学上可接受的载体。

[0716] 实施方案17是一种靶向癌细胞表面的TAA、和/或治疗癌症、和/或治疗有需要的受试者中炎性疾病的方法,所述方法包括将实施方案16中的药物组合物给药给受试者,可选地,其中所述的癌症选自下组:肺癌、胃癌、食管癌、胆管癌、胆管细胞癌、结肠癌、肝细胞癌、肾细胞癌、膀胱尿路上皮癌、转移性黑色素瘤、乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、头颈癌、胰腺癌、胶质瘤、胶质母细胞瘤以及其他实体瘤、和非霍奇金淋巴瘤(NHL)、急性淋巴细胞白血病(ALL)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性髓性白血病(CML)、多发性骨髓瘤(MM)、急性髓性白血病(AML)和其他液体肿瘤。

[0717] 实施方案18是一种生产实施方案1-10中任一所述的单克隆抗体或其抗原结合片段或实施方案11中所述的双特异性抗体或其抗原结合片段的方法,所述方法包括:在生产所述的单克隆抗体或其抗原结合片段或双特异性抗体或其抗原结合片段的条件下,培养含有编码所述的单克隆抗体或其抗原结合片段或双特异性抗体或其抗原结合片段的核酸,并从细胞或培养物中回收所述的单克隆抗体或其抗原结合片段或双特异性抗体或其抗原结合片段。

[0718] 实施方案19是一种制备含有实施方案1-10中任一所述的单克隆抗体或其抗原结合片段或实施方案11中所述的双特异性抗体或其抗原结合片段的药物组合物的方法,所述方法包括将所述单克隆抗体或其抗原结合片段或双特异性抗体或其抗原结合片段与药学上可接受的载体组合以获得所述的药物组合物。

[0719] 实施方案20是确定受试者中TAA水平的方法,所述方法包括:

[0720] a.从受试者获得样本;

[0721] b.将实施方案1-10中任一所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段与样品接触;和

[0722] c.确定受试者TAA的水平。

[0723] 实施方案21是如实施方案20所述的方法,其中所述样本是组织样本或是血液样本,可选地,其中所述组织样本是癌症组织样本。

[0724] 实施方案22是一种含有编码嵌合抗原受体(CAR)的核酸序列的分离的多核苷酸,其中所述CAR可以包括:

[0725] (a)含有至少一种特异性结合GPC3的抗原结合域的细胞外结构域；

[0726] (b)铰链区；

[0727] (c)跨膜区；和

[0728] (d)细胞内信号区域。

[0729] 实施方案23是如实施方案22中所述的分离的多核苷酸，其中所述的抗原结合域含有重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3，轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3，其分别具有以下多肽序列：

[0730] (1)SEQ ID NOs:87、88、89、90、91和92；

[0731] (2)SEQ ID NOs:108、109、110、111、112和113；

[0732] (3)SEQ ID NOs:17、18、19、20、21和22；

[0733] (4)SEQ ID NOs:31、32、33、34、35和36；

[0734] (5)SEQ ID NOs:45、46、47、48、49和50；

[0735] (6)SEQ ID NOs:59、60、61、62、63和64；或

[0736] (7)SEQ ID NOs:73、74、75、76、77和78；

[0737] 其中所述的抗体或其抗原结合片段特异性结合GPC3，优选人的GPC3。

[0738] 实施方案24是实施方案22中所述的多核苷酸，其中所述的抗原结合域含有重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3，轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3，其分别具有以下多肽序列：

[0739] (1)SEQ ID NOs:93、94、95、96、97和98；

[0740] (2)SEQ ID NOs:114、115、116、117、118和119；

[0741] (3)SEQ ID NOs:23、24、25、26、27和28；

[0742] (4)SEQ ID NOs:37、38、39、40、41和42；

[0743] (5)SEQ ID NOs:51、52、53、54、55和56；

[0744] (6)SEQ ID NOs:65、66、67、68、69和70；或

[0745] (7)SEQ ID NOs:79、80、81、82、83和84；

[0746] 其中所述的抗体或其抗原结合片段特异性结合GPC3，优选人的GPC3。

[0747] 实施方案25是实施方案22-24中任一所述的分离的多核苷酸，其中所述的抗原结合域包括具有与SEQ ID NO:85、106、15、29、43、57、或71具有至少95％同一性的多肽序列的重链可变区，或具有与SEQ ID NO:86、107、16、30、44、58、或72具有至少95％同一性的多肽序列的轻链可变区。

[0748] 实施方案26是实施方案25中所述的分离的多核苷酸，其中所述的抗原结合域包括：

[0749] (a)具有SEQ ID NO:85多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:86多肽序列的轻链可变区；

[0750] (b)具有SEQ ID NO:106多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:107多肽序列的轻链可变区；

[0751] (c)具有SEQ ID NO:15多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:16多肽序列的轻链可变区；

[0752] (d)具有SEQ ID NO:29多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:30多肽序列的轻

链可变区；

[0753] (e)具有SEQ ID NO:43多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:44多肽序列的轻链可变区；

[0754] (f)具有SEQ ID NO:57多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:58多肽序列的轻链可变区;或

[0755] (g)具有SEQ ID NO:71多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:72多肽序列的轻链可变区。

[0756] 实施方案27是实施方案22-24中任一所述的分离的多核苷酸,其中所述的抗原结合域是人源化的,并且包括具有与SEQ ID NO:99-102、120-123、126-132、139-140、143-149、153-156、160-163、183-197或202-205中的任一个具有至少95%同一性的多肽序列的重链可变区,或具有与SEQ ID NO:103-105、124-125、133-138、141-142、150-152、157-159、164-166或198-201中的任一个具有至少95%同一性的多肽序列的轻链可变区。

[0757] 实施方案28是实施方案27中所述的分离的多核苷酸,其中所述的抗原结合域是人源化的,并包括：

[0758] (1)具有SEQ ID NO:99多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103多肽序列的轻链可变区；

[0759] (2)具有SEQ ID NO:99多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0760] (3)具有SEQ ID NO:100多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103多肽序列的轻链可变区；

[0761] (4)具有SEQ ID NO:100多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0762] (5)具有SEQ ID NO:101多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103多肽序列的轻链可变区；

[0763] (6)具有SEQ ID NO:101多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0764] (7)具有SEQ ID NO:102多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:105多肽序列的轻链可变区；

[0765] (8)具有SEQ ID NO:120多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124多肽序列的轻链可变区；

[0766] (9)具有SEQ ID NO:120多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:125多肽序列的轻链可变区；

[0767] (10)具有SEQ ID NO:121多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124多肽序列的轻链可变区；

[0768] (11)具有SEQ ID NO:121多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:125多肽序列的轻链可变区；

[0769] (12)具有SEQ ID NO:122多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124多肽序列的轻链可变区；

[0770] (13)具有SEQ ID NO:122多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:125多肽序列

的轻链可变区；

[0771] (14)具有SEQ ID NO:123多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:124多肽序列的轻链可变区；

[0772] (15)具有SEQ ID NO:139多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:141多肽序列的轻链可变区；

[0773] (16)具有SEQ ID NO:139多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:142多肽序列的轻链可变区；

[0774] (17)具有SEQ ID NO:140多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:141多肽序列的轻链可变区；

[0775] (18)具有SEQ ID NO:140多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:142多肽序列的轻链可变区；

[0776] (19)具有SEQ ID NO:153多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:157多肽序列的轻链可变区；

[0777] (20)具有SEQ ID NO:153多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:158多肽序列的轻链可变区；

[0778] (21)具有SEQ ID NO:154多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:157多肽序列的轻链可变区；

[0779] (22)具有SEQ ID NO:154多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:158多肽序列的轻链可变区；

[0780] (23)具有SEQ ID NO:143多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:150多肽序列的轻链可变区；

[0781] (24)具有SEQ ID NO:144多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:150多肽序列的轻链可变区；

[0782] (25)具有SEQ ID NO:145多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:150多肽序列的轻链可变区；

[0783] (26)具有SEQ ID NO:147多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:151多肽序列的轻链可变区；

[0784] (27)具有SEQ ID NO:147多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:152多肽序列的轻链可变区；

[0785] (28)具有SEQ ID NO:148多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:151多肽序列的轻链可变区；

[0786] (29)具有SEQ ID NO:148多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:152多肽序列的轻链可变区；

[0787] (30)具有SEQ ID NO:149多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:151多肽序列的轻链可变区；

[0788] (31)具有SEQ ID NO:149多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:152多肽序列的轻链可变区；

[0789] (32)具有SEQ ID NO:160多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0790] (33)具有SEQ ID NO:161多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0791] (34)具有SEQ ID NO:162多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0792] (35)具有SEQ ID NO:163多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0793] (36)具有SEQ ID NO:205多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0794] (37)具有SEQ ID NO:202多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0795] (38)具有SEQ ID NO:203多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0796] (39)具有SEQ ID NO:204多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:164多肽序列的轻链可变区；

[0797] (40)具有SEQ ID NO:100多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:198多肽序列的轻链可变区；

[0798] (41)具有SEQ ID NO:183多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0799] (42)具有SEQ ID NO:183多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:198多肽序列的轻链可变区；

[0800] (43)具有SEQ ID NO:185多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0801] (44)具有SEQ ID NO:186多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0802] (45)具有SEQ ID NO:185多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0803] (46)具有SEQ ID NO:186多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0804] (47)具有SEQ ID NO:189多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0805] (48)具有SEQ ID NO:188多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:103多肽序列的轻链可变区；

[0806] (49)具有SEQ ID NO:190多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0807] (50)具有SEQ ID NO:191多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0808] (51)具有SEQ ID NO:192多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0809] (52)具有SEQ ID NO:193多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列

的轻链可变区；

[0810] (53)具有SEQ ID NO:194多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0811] (54)具有SEQ ID NO:189多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0812] (55)具有SEQ ID NO:190多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0813] (56)具有SEQ ID NO:191多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0814] (57)具有SEQ ID NO:192多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0815] (58)具有SEQ ID NO:193多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0816] (59)具有SEQ ID NO:194多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0817] (60)具有SEQ ID NO:189多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0818] (61)具有SEQ ID NO:190多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0819] (62)具有SEQ ID NO:191多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0820] (63)具有SEQ ID NO:192多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0821] (64)具有SEQ ID NO:193多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0822] (65)具有SEQ ID NO:186多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0823] (66)具有SEQ ID NO:195多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0824] (67)具有SEQ ID NO:195多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区；

[0825] (68)具有SEQ ID NO:195多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0826] (69)具有SEQ ID NO:194多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0827] (70)具有SEQ ID NO:185多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区；

[0828] (71)具有SEQ ID NO:187多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:104多肽序列的轻链可变区；

[0829] (72)具有SEQ ID NO:187多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:200多肽序列的轻链可变区。

[0830] (73)具有SEQ ID NO:187多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:199多肽序列的轻链可变区;

[0831] (74)具有SEQ ID NO:196多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:201多肽序列的轻链可变区;或

[0832] (75)具有SEQ ID NO:197多肽序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:201多肽序列的轻链可变区。

[0833] 实施方案29是实施方案22-28中任一所述的分离的多核苷酸,其中所述的抗原结合域是与GPC3特异性结合的单链可变片段(scFv),优选人的GPC3。

[0834] 实施方案30是实施方案29中所述的分离的多核苷酸,其中所述的单链可变片段(scFv)是人源化的。

[0835] 实施方案31是实施方案29或30中所述的分离的多核苷酸,其中所述的单链可变片段(scFv)含有与SEQ ID NO:167-182中的任一个具有至少95%同一性的多肽序列。

[0836] 实施方案32是实施方案22-31中任一所述的分离的多核苷酸,其中所述的嵌合抗原受体(CAR)含有一个或多个抗原结合域。

[0837] 实施方案33是实施方案22-32中任一所述的分离的多核苷酸,其中所述的细胞内信号域含有一个或多个共刺激域和一个或多个激活域。

[0838] 实施方案34是一种由实施方案22-33中任一所述的分离的多核苷酸编码的嵌合抗原受体(CAR)。

[0839] 实施方案35是一种含有实施方案22-33中任一所述的分离的多核苷酸的载体。

[0840] 实施方案36是一种含有实施方案35中所述的载体的宿主细胞。

[0841] 实施方案37是实施方案36中所述的宿主细胞,其中所述的宿主细胞是T细胞,优选人T细胞。

[0842] 实施方案38是实施方案36中所述的宿主细胞,其中所述的宿主细胞是NK细胞,优选人NK细胞。

[0843] 实施方案39是一种制备表达嵌合抗原受体(CAR)的宿主细胞的方法,所述方法包括:用实施方案35中所述的载体转导T细胞。

[0844] 实施方案40是一种产生嵌合抗原受体(CAR)-T细胞的方法,所述方法包括:在产生CAR-T细胞的情况下,培养含有所述分离多核苷酸的T细胞,所述的多核苷酸含有编码实施方案22-33中任一所述的嵌合抗原受体(CAR)的核酸,并回收CAR-T细胞。

[0845] 实施方案41是一种制备表达嵌合抗原受体(CAR)的宿主细胞的方法,所述方法包括:用实施方案35中所述的载体转导NK细胞。

[0846] 实施方案42是一种产生嵌合抗原受体(CAR)-NK细胞的方法,所述方法包括:在产生CAR-NK细胞的情况下,培养含有所述分离多核苷酸的T细胞,所述的多核苷酸含有编码实施方案22-33中任一所述的嵌合抗原受体(CAR)的核酸,并回收CAR-NK细胞。

[0847] 实施方案43是一种生成含有嵌合抗原受体(CAR)的细胞的方法,所述方法包括:将细胞与含有编码实施方案22-33中任一所述的嵌合抗原受体(CAR)的核酸的分离的多核苷酸接触,其中所述的分离的多核苷酸体外转录的RNA或合成的RNA。

[0848] 实施方案44是治疗有需要的受试者中癌症的方法，所述方法包括将实施方案36-38中任一所述的宿主细胞给药给有需要的受试者，可选地，其中所述癌症选自肺癌、胃癌、食管癌、胆管癌、胆管细胞癌、结肠癌、肝细胞癌、肾细胞癌、膀胱尿路上皮癌、转移性黑色素瘤、乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、头颈癌、胰腺癌、胶质瘤、胶质母细胞瘤以及其他实体瘤、和非霍奇金淋巴瘤(NHL)、急性淋巴细胞白血病(ALL)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性髓性白血病(CML)、多发性骨髓瘤(MM)、急性髓性白血病(AML)和其他液体肿瘤。

[0849] 实施方案45是实施方案44中所述的方法，还包括将一种制剂给药给有需要的受试者，所述试剂能够提高表达CAR的细胞的功效。

[0850] 实施方案46是实施方案44中所述的方法，还包括将一种制剂给药给有需要的受试者，所述制剂可改善与给药表达CAR的细胞相关的一种或多种副作用。

[0851] 实施方案47是实施方案44中所述的方法，还包括将一种制剂给药给有需要的受试者，所述制剂可治疗与GPC3相关的疾病。

实施例

[0852] 实施例1抗TAA单克隆抗体的鉴定

[0853] 用抗原免疫小鼠，产生杂交瘤细胞，并用ELISA和/或FACS进行筛选。分离阳性克隆并测序。

[0854] 抗TAA单克隆抗体的重链可变区与轻链可变区(分别为VH和VL区)的序列表见表1和表2，以及抗TAA单克隆抗体的CDR区见表3-6。

[0855] 表1单克隆抗体(mAbs)重链可变区序列

[0856]

靶点	单克隆抗体	VH	SEQ ID NO:
TIP-1	T5	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSMHWVKQAPGK GLKWMGWIKTETGKPIYTDDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLK NEDTATYFCAPTGMDYWGQGTSVTVSS	1
GPC3	26A1	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPG QGLEWIGEIDPFDSYTYYNQKFKGKATLTVDKSSNTAYMQLSSL TSEDSAVYYCARRDGVYKWYFDVWGAGTTVTVSS	15
GPC3	30D11	QVQLQQSGAELVRPGASVKLSCKASGYTFTDYEMHWVKETPV HGLEWIGAIDPENGGIAFNQKFKDKATLSADKSSSTAYMELRSL TYEDSAVYYCTREEIYNDYDGVDYWGQGTTLTVSS	29
GPC3	36F8	QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYAFSNSWMNWVKQRPG KGLEWIGWIYPGDGDTNYNGKFKGKATLAADKSSSTAYMQLSS LTSEDSAVYFCARSGPITMGFTYWGQGTLVTVSA	43
GPC3	39E1	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPG QGLEWIGEIDPFDSYTYYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMQLSSL TSEDSAVYYCARHYGYDRWYFDVWGAGTTVTVSS	57
GPC3	43B9	QVQLQQSGPELLKPGASVKISCKASGYAFSDYWMNWVKQRPG EGLEWIGRIYPGDGDTNYSGKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSL TSEDSAVYFCARLSFGAWFAYWGQGTLVTVSA	71
GPC3	M3	QVQLQQSGAELVRPGASVKLSCKASGYTFTDYEMHWVKQTPV HGLEWIGAIDPETGDTAYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMDLRS LTSEDSAVYYCTRYFSFAYWGQGTLVTVSA	85
GPC3	F7	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFTFSNYWMNWVRQSPE KGLEWVAQIRLKSDNYATHYAESVKGRFTISRDDSKSSVYLQM NNLRAEDTGIYYCTVGGNYWGQGTSVTVSS	106

[0857] VH:重链可变区

[0858] 表2单克隆抗体(mAbs)轻链可变区序列

[0859]

靶点	单克隆抗体	VL	SEQ ID NO:
TIP-1	T5	DVVMTQTPLTLSVTIGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRP GQSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGV YYCWQGTHFPRTFGGGTKLEIK	2
GPC3	26A1	DIQMTQSPSSLSASLGGKVTITCKASQDINKSIAWYQHKPGKGPR LLIHYTSTLQPGIPSRFSGSGSGRDYSFSISNLEPEDIATYYCLQYD SLLYTFGGGTKLEIK	16
GPC3	30D11	DVVMTQTPLSLSVTIGQPASISCKSSQSLLYSDGKTYLNWLQQRP GQSPKRLMYQVSKLDPGIPDRFSGSGSETDFTLKISRVEAEDLGV YYCLQVTYYPYTFGGGTKLEIK	30
GPC3	36F8	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCSASQGISNYLSWYQQKPDGTVK	44

[0860]

		LLIYYTSNLHSGVPSRFSGSESGTDYSLTITNLEPEDIATYYCQQY SKFPWTFGGGTKLEIK	
GPC3	39E1	DIQMTQSPSSLSASLGGKVTITCKASQDINKYIVWYQHKPGKGP RLLIHYTSTLQPGIPSRFSGSGSGRDYSFSISNLEPEDIATYYCQQY DNLLRTFGGGTKLEIK	58
GPC3	43B9	DIQMTQSPSSLSASLGGKVTITCKASRDINKYIGWYQHKPGKGP RLLIHYTSTLQPGTPSRFSGSGSGRDYSFSISNLEPEDIATYYCLQ YDNLYTFGGGTKLEIK	72
GPC3	M3	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLRHSNGNTYLQWYLQK PGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGI YFCYQSKHVPYTFGGGTKLEIK	86
GPC3	F7	AIQMTQSPSSLSASLGERVSLTCRASQEISGNLGWLQQKPHGTIK RLIYAATTLDSGVPKRFSGSRSGSDYTLTISSLESEDFADYYCLQ YDSYPWTFGGGTKLEIK	107

[0861] VL:轻链可变区

[0862] 表3单克隆抗体(mAbs)重链CDR区1-3

[0863]

靶点	单克隆抗体	HC CDR1	NO	HC CDR2	NO	HC CDR3	NO
TIP-1	T5	GYTFTDYS	3	IKTETGKP	4	APTGMDY	5
GPC3	26A1	GYTFTSYW	17	IDPFDSYT	18	ARRDGVYKWYFDV	19
GPC3	30D11	GYTFTDYE	31	IDPENGGI	32	TREEIYNDYDGVDY	33
GPC3	36F8	GYAFSNSW	45	IYPGDGDT	46	ARSGPITMGFTY	47
GPC3	39E1	GYTFTSYW	59	IDPFDSYT	60	ARHYGYDRWYFDV	61
GPC3	43B9	GYAFSDYW	73	IYPGDGDT	74	ARLSFGAWFAY	75
GPC3	M3	GYTFTDYE	87	IDPETGDT	88	TRYFSFAY	89
GPC3	F7	GFTFSNYW	108	IRLKSDNYAT	109	TVGGNY	110

[0864] HC:重链;CDR:互补决定区;NO:SEQ ID NO。

[0865] 使用IMGT的方法确定抗TAA单克隆抗体的HC CDR(Lefranc M.-P等人,《核酸研究》,1999;27:209-212)。

[0866] 表4单克隆抗体(mAbs)轻链CDR区1-3

[0867]

靶点	单克隆抗体	LC CDR1	NO	LC CDR2	NO	LC CDR3	NO
TIP-1	T5	QSLLDSDGKTY	6	LVS	7	WQGTHFPRT	8
GPC3	26A1	QDINKS	20	YTS	21	LQYDSLLYT	22
GPC3	30D11	QSLLYSDGKTY	34	QVS	35	LQVTYYPYT	36
GPC3	36F8	QGISNY	48	YTS	49	QQYSKFPWT	50
GPC3	39E1	QDINKY	62	YTS	63	QQYDNLLRT	64
GPC3	43B9	RDINKY	76	YTS	77	LQYDNLYT	78
GPC3	M3	QSLRHSNGNTY	90	KVS	91	YQSKHVPYT	92

GPC3	F7	QEISGN	111	AAT	112	LQYDSYPWT	113

[0868] LC:轻链;CDR:互补决定区;NO:SEQ ID NO。

[0869] 使用IMGT的方法确定抗TAA单克隆抗体的LC CDR(Lefranc M.-P等人,《核酸研究》,1999;27:209-212)。

[0870] 表5单克隆抗体(mAbs)重链CDR区1-3

[0871]

靶点	单克隆抗体	HC CDR1	NO	HC CDR2	NO	HC CDR3	NO
TIP-1	T5	DYSMH	9	WIKTETGKPIYTDDFKG	10	TGMDY	11
GPC3	26A1	SYWMH	23	EIDPFDSYTYYNQKFKG	24	RDGVYKWYFDV	25
GPC3	30D11	DYEMH	37	AIDPENGGIAFNQKFKD	38	EEIYNDYDGVDY	39
GPC3	36F8	NSWMN	51	WIYPGDGDTNYNGKFKG	52	SGPITMGFTY	53
GPC3	39E1	SYWMH	65	EIDPFDSYTYYNQKFKG	66	HYGYDRWYFDV	67
GPC3	43B9	DYWMN	79	RIYPGDGDTNYSGKFKG	80	LSFGAWFAY	81
GPC3	M3	DYEMH	93	AIDPETGDTAYNQKFKG	94	YFSFAY	95
GPC3	F7	NYWMN	114	QIRLKSDNYATHYAESVKG	115	GGNY	116

[0872] HC:重链;CDR:互补决定区;NO:SEQ ID NO。

[0873] 使用Kabat的方法确定抗TAA单克隆抗体的HC CDR(ElvinA.Kavat等人,《免疫学相关蛋白序列第5版》,1991)。

[0874] 表6单克隆抗体(mAbs)轻链CDR区1-3

[0875]

靶点	单克隆抗体	LC CDR1	NO	LC CDR2	NO	LC CDR3	NO
TIP-1	T5	KSSQSLLDSDGKTYLN	12	LVSKLDS	13	WQGTHFPRT	14
GPC3	26A1	KASQDINKSIA	26	YTSTLQP	27	LQYDSLLYT	28
GPC3	30D11	KSSQSLLYSDGKTYLN	40	QVSKLDP	41	LQVTYYPYT	42
GPC3	36F8	SASQGISNYLS	54	YTSNLHS	55	QQYSKFPWT	56
GPC3	39E1	KASQDINKYIV	68	YTSTLQP	69	QQYDNLLRT	70
GPC3	43B9	KASRDINKYIG	82	YTSTLQP	83	LQYDNLYT	84
GPC3	M3	RSSQSLRHSNGNTYLQ	96	KVSNRFS	97	YQSKHVPYT	98
GPC3	F7	RASQEISGNLG	117	AATTLDS	118	LQYDSYPWT	119

[0876] LC:轻链;CDR:互补决定区;NO:SEQ ID NO。

[0877] 使用Kabat的方法确定抗TAA单克隆抗体的LC CDR(ElvinA.Kavat等人,《免疫学相关蛋白序列第5版》,1991)。

[0878] 实施例2从转染细胞培养基中制备和纯化单克隆抗体

[0879] 为了获得重组抗TAA嵌合单克隆抗体,分别将含有小鼠可变区(VH和VL)与人IgG1重链和κ轻链的恒定区融合的表达载体瞬时转染到ExpiCHO-S或Expi293F细胞。使用蛋白A亲和层析法纯化在ExpiCHO-S或Expi293F细胞悬浮液中产生的重组抗体。

[0880] 实施例3纯化的嵌合单克隆抗体的ELISA结合分析

[0881] 用ELISA法检测纯化的嵌合单克隆抗体与固定的TIP-1结合的能力。在室温下将PBS缓冲液中的重组人TIP-1包被在96孔板上1小时。在室温下,用5% BSA将平板置于TBST中封闭1小时。在单个平板的每个孔中,不同浓度的单克隆抗体在室温下孵育1小时。清洗平板,用与辣根过氧化物酶(hIgG-HRP)结合的抗人IgG(赛默飞世尔科技,Cat#:H10007)在室温下孵育1小时,检测与TIP-1的结合。洗涤后,用一步法检测溶液(赛默飞世尔科技,Cat#:

34028)进行ELISA,并在450nm处测定吸光度。除了使用镍涂层板赛默飞世尔,Cat#:15442)外,在类似的试验中检测了抗GPC3嵌合抗体。结果如图1和图2A-2B所示。

[0882] 实施例4纯化的单克隆抗体的FACS结合分析

[0883] 将表达全长人GPC3的HEK293细胞转移到96孔板上。约50,000个细胞用纯化的嵌合抗GPC3单抗(小鼠单抗的可变区分别融合到人IgG1重链和κ轻链的恒定区)在4℃下以不同浓度孵育。在一些情况下,每孔使用100,000个细胞。然后将细胞离心5分钟,用FACS缓冲液(在HBSS中添加5% BSA和0.05%叠氮化钠)清洗一次。然后用Alexa Fluor 488偶联抗人IgG二抗(ThermoFisher,Cat#:H10120)孵育细胞,并在冰上孵育15分钟。然后用FACS缓冲液清洗细胞一次,并在FACS缓冲液中重悬。然后细胞通过Attune NxT运行,并用Attune NxT软件对数据进行分析。结果如图2C-2E所示。不表达GPC3的HEK293细胞作为阴性对照(图2F-2G)。

[0884] 实施例5抗GPC3单克隆抗体的人源化

[0885] 将小鼠抗GPC3单克隆抗体人源化,以降低其用于人体患者时的免疫原性。将重链和轻链可变区(VH和VL)序列与蛋白数据库(PDB)中的人抗体序列进行比较,并建立同源性模型。将小鼠单克隆抗体的重链和轻链中的CDR均移植到人类框架中,这些框架最有可能保持抗原结合所需的适当结构。必要时设计从人类残基到小鼠残基或其他突变的回复突变。人源化的VH和VL区的序列如表7所示。分别将人源化的VH和VL区融合到人IgG1重链和κ轻链的恒定区。采用FACS法评估人源化单克隆抗体与GPC3的结合情况(图3A-3O)。M3-H1L1为用表7所示的M3-H1重链和M3-L1轻链构成的人源化单克隆抗体,其他人源化单克隆抗体也遵循同样的命名规则。

[0886] 表7人源化抗GPC3单克隆抗体的重链和轻链可变区序列

[0887]

VH/VL	序列	NO
M3-H1	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEMHWVRQAPGQGLEWIG AIDPETGDTAYNQKFKGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRY FSFAYWGQGTLVTVSS	99
M3-H2	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEMHWVRQAPGHGLEWI GAIDPETGDTAYNQKFKGRATLTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR	100

[0888]

	YFSFAYWGQGTLVTVSS	
M3-H3	EVVLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTDYEMSWVRQAPGKGLEWIG AIDPETGDTYYADSVKGRATLSADKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCTR YFSFAYWGQGTLVTVSS	101
M3-H4	EVQLVESGAEVKKPGESLKISCKASGYTFTDYEIGWVRQMPGKGLEWIGII DPETGDTRYSPSFQGQATLSADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCTRYFSF AYWGQGTMVTVSS	102
M3-L1	DVQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRSSQSLRHSNGNTYLQWYQQKPGKAPK LLIYKVSNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCYQSKHVPYTF GQGTKVEIK	103
M3-L2	EVVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSQSLRHSNGNTYLQWYQQKPGQAPR LLIYKVSNRFSGVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYFCYQSKHVPYT FGGGTKVEIK	104
M3-L3	EVVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSQSLRHSNGNTYLQWYQQKPGQAPR LLIYKVSNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYFCYQSKHVPYTF GQGTKVEIK	105
26A1-H1	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWI GEIDPFDSYTYYNQKFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR RDGVYKWYFDVWGQGTLVTVSS	120
26A1-H2	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGKGLEWI GEIDPFDSYTYYNQKFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR RDGVYKWYFDVWGQGTLVTVSS	121
26A1-H3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMHWVRQAPGKGLEWIG EIDPFDSYTYYNQKFKGRATLSVDKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR RDGVYKWYFDVWGQGTLVTVSS	122
26A1-H4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGKGLEWIG EIDPFDSYTYYNQKFKGRATLSVDKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR RDGVYKWYFDVWGQGTLVTVSS	123
26A1-L1	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCKASQDINKSIAWYQHKPGKAPKLLIHYT STLQPGVPSRFSGSGSGRDYTLTISSLQPEDFATYYCLQYDSLLYTFGQGTK VEIK	124
26A1-L2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINKSIAWYQHKPGKAPKLLIHYTS TLQPGVPSRFSGSGSGRDFTLTISSLQPEDFATYYCLQYDSLLYTFGQGTKV EIK	125
30D11-H1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEMHWVREAPGQGLEWIG AIDPENGGIAFNQKFKDRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTREE IYNDYDGVDYWGQGTLVTVSS	126
30D11-H2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYEMHWVREAPGQGLEWI GAIDPENGGIAFNQKFKDRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRE EIYNDYDGVDYWGQGTLVTVSS	127
30D11-H3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTDYEMHWVREAPGKGLEWIG AIDPENGGIAFNQKFKDRATLSADKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRE EIYNDYDGVDYWGQGTMVTVSS	128
30D11-H4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYEFHWVREAPGQGLEWIG IIDPENGGISYAQKFGDRAILTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTREEI YNDYDGVDYWGQGTLVTVSS	129
30D11-H5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYEMHWVREAPGQGLEWI GIIDPENGGISYAQKFGDRAILTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTREE IYNDYDGVDYWGQGTLVTVSS	130
30D11-H6	EQQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEISWVREAPGQGLEWIGS IDPENGGINYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTREEI YNDYDGVDYWGQGTLVTVSS	131
30D11-H7	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEMSWVREAPGQGLEWIG AIDPENGGIAFAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTREE IYNDYDGVDYWGQGTLVTVSS	132
30D11-L1	DVVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLYSDGKTYLNWLQQKPGQPPK RLMYQVSKLDPGVPDRFSGSGSETDFTLTISSLQAEDVAVYYCLQVTYYP YTFGQGTRLEIK	133
30D11-L2	DVQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRSSQSLLYSDGKTYLNWLQQKPGKAPK RLMYQVSKLDPGVPSRFSGSGSETEFTLTISSLQPDDFATYYCLQVTYYPY TFGQGTKVEIK	134

[0889]

30D11-L3	EVVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSQSLLYSDGKTYLNWLEQKPGKAPK RLMYQVSSLQSGVPSRFSGSGSETEFTLTISSLQPEDFATYYCLQVTYYPYT FGQGTRLEIK	135
30D11-L4	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSQSLLYSDGKTYLNWLEQKPGKAPKR LMYQVSKLQSGVPSRFSGSGSETEFTLTISSLQPEDFATYYCLQVTYYPYTF GQGTRLEIK	136
30D11-L5	DVQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRSSQSLLYSDGKTYLNWLQQKPGKAPK RLMYQVSSLQSGVPSRFSGSGSETDFTLTISSLQPEDFATYYCLQVTYYPYT FGQGTKVEIK	137
30D11-L6	DVQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRSSQSLLYSDGKTYLNWLQQKPGKAPK RLMYQVSKLQSGVPSRFSGSGSETDFTLTISSLQPEDFATYYCLQVTYYPY TFGQGTKVEIK	138
36F8-H1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFSNSWMHWVRQAPGQGLEWI GWIYPGDGDTNYAQKFQGRATLTADKSISTAYMELSRLRSDDTAVYFCAR SGPITMGFTYWGQGTLVTVSS	139
36F8-H2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFSNSWMNWVRQAPGQGLEWI GWIYPGDGDTNYAQKFQGRATLTADKSISTAYMELSRLRSDDTAVYFCAR SGPITMGFTYWGQGTLVTVSS	140
36F8-L1	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQGISNYLSWYQQKPGQAVRLLIYYT SNRATGIPARFSGSESGTDYTLTISSLEPEDFAVYYCQQYSKFPWTFGQGTK LEIK	141
36F8-L2	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQGISNYLSWYQQKPGQAVRLLIYYT SNLHTGIPARFSGSESGTDYTLTISSLEPEDFAVYYCQQYSKFPWTFGQGTK LEIK	142
39E1-H1	QVQLEESGPGLVKPSETLSLTCSASGYTFTSYWMHWVRQPPGKGLEWIGE IDPFDSYTYYNQKFKGRATLSVDKSKNEASLRLTSVTAADTAVYYCARHY GYDRWYFDVWGQGTLVTVSS	143
39E1-H2	QVQLEESGPGLVKPSETLSLTCTASGYTFTSYWMHWVRQPPGKGLEWIGE IDPFDSYTYYNQKFKGRATISVDKSKNEASLRLTSVTAADTAVYYCARHY GYDRWYFDVWGQGTLVTVSS	144
39E1-H3	QVQLEESGPGLVKPSETLSLTCTASGYTFTSYWMHWVRQPPGKGLEWIGE IDPFDSYTYYNPKFKGRATISVDKSKNEASLRLTSVTAADTAVYYCARHY GYDRWYFDVWGQGTLVTVSS	145
39E1-H4	QVVLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYWISWVRQAPGQGLEWIG GIDPFDSYTNYAQKFQGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARH YGYDRWYFDVWGQGTLVTVSS	146
39E1-H5	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWI GEIDPFDSYTYYAQKFQGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR HYGYDRWYFDVWGQGTLVTVSS	147
39E1-H6	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWI GEIDPFDSYTYYNQKFQGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR HYGYDRWYFDVWGQGTLVTVSS	148
39E1-H7	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKASGYTFTSYWMHWVRQMPGKGLEWIG EIDPFDSYTYYAPSFQGQATLSVDKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARH YGYDRWYFDVWGQGTLVTVSS	149
39E1-L1	DIVMTQSPSSLSASIGDRVTITCKASQDINKYIVWYQHKPGKAPKLLIHYTS TLQPGVPSRFSGSGSGREYTLTIRSLQPEDFATYYCQQYDNLLRTFGQGTK VEIK	150
39E1-L2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDINKYLVWYQHKPGKAPKLLIHYT SSLQSGVPSRFSGSGSGRDYTLTISSLQPEDFATYYCQQYDNLLRTFGQGT KVEIK	151
39E1-L3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINKYIVWYQHKPGKAPKLLIHYT STLQSGVPSRFSGSGSGRDYTLTISSLQPEDFATYYCQQYDNLLRTFGQGT KVEIK	152
43B9-H1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGYAFSDYWMYWVRQAPGKGLEWI GLIYPGDGDTMYAEKFRGRATLTADKSTDTAYLELSSLRSEDTAVYFCAR LSFGAWFAYWGQGTLVSVSS	153
43B9-H2	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGYAFSDYWMNWVRQAPGKGLEWI GRIYPGDGDTNYAEKFRGRVTITADTSTDTAYLELSSLRSEDTAVYYCARL SFGAWFAYWGQGTTVTVSS	154
43B9-H3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYAFSDYWMNWVRQAPGKGLEWI	155

	GRIYPGDGDTNYSGKFKGRATLSADKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYFCA RLSFGAWFAYWGQGTLVTVSS	
43B9-H4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCKASGYAFSDYWMNWVRQAPGKGLEWI GRIYPGDGDTNYSGKFKGRATLSADKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYFCA RLSFGAWFAYWGQGTLVTVSS	156
43B9-L1	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASRDINKYLGWYQHKPGKAPKLLIHYT STLQSGVPSRFSGSGSGRDYSLTINSLQPEDFATYYCLQYDNLYTFGGGTK VEIK	157
43B9-L2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRDINKYLGWYQQKPGKAPKLLIHYT STLQSGVPSRFSGSGSGRDFSLTINSLQPEDFATYYCLQYDNLYTFGGGTK VEIK	158
43B9-L3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDINKYIGWYQHKPGKAPKLLIHYT STLQPGVPSRFSGSGSGRDYTLTISSLQPEDFATYYCLQYDNLYTFGQGTK VEIK	159
F7-H1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWV AQIRLKSDNYATHYAESVKGRFTISRDDSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYC TVGGNYWGQGTLVTVSS	160
F7-H2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWV AQIRLKSDNYATHYAESVKGRFTISRDDSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYC TVGGNYWGQGTLVTVSS	161
F7-H3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWV AQIRLKSDNYATYYAESLEGRFTISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTAVYYC TVGGNYWGQGTLVTVSS	162
F7-H4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWV AQIRLKSDNYATHYAESLEGRFTISRDDSKNSVYLQMNSLKTEDTAVYYC TVGGNYWGQGTLVTVSS	163
F7-L1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQEISGNLGWLQQKPGKAIKRLIYAAT TLDSGVPSRFSGSRSGSDYTLTISSLQPEDFATYYCLQYDSYPWTFGQGTK VEIK	164
F7-L2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQEISGNLGWLQQKPGKAIKRLIYAA TNLADGVPSRFSGSRSGSDYTLTISSLQPEDFATYYCLQYDSYPWTFGQGT KLEIK	165
F7-L3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQEISGNLGWLQQKPGKAIKRLIYAAT TLADGVPSRFSGSRSGSDYTLTISSLQPEDFATYYCLQYDSYPWTFGQGTK LEIK	166
M3-H5	QVQLVQSGSGVKKPGASVRVSCWASGYTFTDYEMHWVRQAPGQGLEWI GAIDPETGDTAYNQKFKGRASLTADKDLFTAHMDIRGLTQGDTATYYCTR YFSFAYWGRGTLIVVSS	183
M3-H6	QVQLVQSGAEMKKPGASVKVSCKASGYTFTDYEINWVRQAPGQGLEWIG WMDPETGDTGYPQKFQGRATLTANKSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRY FSFAYWGQGTTVTVSS	184
M3-H7	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYEMHWVRQAPGQGLEWI GAIDPETGDTAYNQKFKGRATLTADKSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCT RYFSFAYWGQGTTVTVSS	185
M3-H8	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYEMHWVKQAPGQGLEWI GAIDPETGDTAYNQKFKGKATLTADKSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCT RYFSFAYWGQGTTVTVSS	186
M3-H9	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYEMHWVRQAPGQGLEWI GAIDPETGATAYNQKFKGRATLTADKSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCT RYFSFAYWGQGTTVTVSS	187
M3-H10	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEMHWVRQAPGQGLEWIG AIDPETGATAYNQKFKGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRY FSFAYWGQGTLVTVSS	188
M3-H11	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEMHWVRQAPGHGLEWI GAIDPETGDTAYNQKFKGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR YFSFAYWGQGTLVTVSS	189
M3-H12	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEMHWVRQAPGHGLEWI GAIDPETGDTAYNQKFKGKATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR YFSFAYWGQGTLVTVSS	190
M3-H13	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEMHWVRQAPGHGLEWI GAIDPETGATAYNQKFKGKATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR	191

[0890]

[0891]

	YFSFAYWGQGTLVTVSS	
M3-H14	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEMHWVRQAPGHGLEWI GAIDPETGDTAYNQKFKGKATLTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR YFSFAYWGQGTLVTVSS	192
M3-H15	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEMHWVRQAPGHGLEWI GAIDPETGATAYNQKFKGKATLTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR YFSFAYWGQGTLVTVSS	193
M3-H16	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEMHWVRQAPGHGLEWI GAIDPETGDTAYNQKFKGKATLTADKSTTTAYMELSSLQFDDTAVYYCTR YFSFAYWGQGTLVTVSS	194
M3-H18	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEMHWVKQAPGHGLEWI GAIDPETGDTAYNQKFKGKATLTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR YFSFAYWGQGTLVTVSS	195
M3-H19	QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTASGYTFTDYEMHWVRQPPGKALEWIGA IDPETGDTAYNQKFKGRATLSADKSKNQAVLTMTNMDPVDTATYYCTRY FSFAYWGQGSLVTVSS	196
M3-H20	QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCKASGYTFTDYEMHWVKQPPGKALEWIG AIDPETGDTAYNQKFKGKATLSADKSKNQAVLTMTNMDPVDTATYYCTR YFSFAYWGQGSLVTVSS	197
M3-L4	EVVMTQSPGTLSLSPGETASLSCRSSQSLRHSNGNTYLQWYQQKPGQPPK LLIYKVSNRFSGIPDRFSGSGFGTQFTLTITRMEPEDFARYFCYQSKHVPYT FGQGTRLEIR	198
M3-L5	EVVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSQSLRHSNGNTYLQWYQQKPGQAPR LLIYKVSNRFSGVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYFCYQSKHVPYT FGGGTKVEIK	199
M3-L6	EIVLTQSPATLSLSPGERATISCRSSQSLRHSNGNTYLQWYQQKPGQAPRLL IYKVSNRFSGVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYFCYQSKHVPYTFG GGTKVEIK	200
M3-L7	DVVMTQSPDSLSVSLGERATINCRSSQSLRHSNGNTYLQWYQQKPGQPPK LLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYFCYQSKHVPYT FGGGTKVEIK	201
F7-H5	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWV AQIRLKSDNYATHYADSVKGRFTISRDDSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYY CTVGGNYWGQGTLVTVSS	202
F7-H6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMNWVRQATGKGLEWV AQIRLKSDNYATHYPDSVKGRFTISREDAKNSVYLQMNSLRAGDTAVYYC TVGGNYWGQGTTVTVSS	203
F7-H9	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWV AQIRLKSDNYATHYAESVKGRFTISRDDAKNSVYLDMNSLRAEDTAVYY CTVGGNYWGQGTLVTVSS	204
F7-H10	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWV AQIRLKSDNYATHYADSVKGRFTISRDDSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYY CTVGGNYWGQGTLVTVSS	205

[0892] NO:SEQ ID NO。

[0893] 实施例6抗GPC3单克隆抗体单链抗体(scFv)分子的构建

[0894] 利用抗GPC3单克隆抗体的人源化序列构建单链抗体(scFv)分子,并与人IgG1 Fc区融合。所设计的scFv分子序列如表8所示。融合分子在CHO细胞中表达,纯化并使用FACS法检测其与GPC3的结合(图4A-4E)。

[0895] 表8人源化抗GPC3单克隆抗体的单链片段可变(scFv)序列

[0896]

VH/VL	序列	NO
M3-H1L1/VH-(G4S)4-VL	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEMHWVRQAPGQGLEWIGAIDPETGDTAYNQKFKGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYFSFAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRSSQSLRHSNGNTYLQWYQQKPGKAPKLLIYKVSNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCYQSKHVPYTFGQGTKVEIK	167
M3-H1L1/VH-(G4S)3-VL	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEMHWVRQAPGQGLEWIGAIDPETGDTAYNQKFKGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYFSFAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDVQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRSSQSLRHSNGNTYLQWYQQKPGKAPKLLIYKVSNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCYQSKHVPYTFGQGTKVEIK	168
M3-H1L1/VL-(G4S)4-VH	DVQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRSSQSLRHSNGNTYLQWYQQKPGKAPKLLIYKVSNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCYQSKHVPYTFGQGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEMHWVRQAPGQGLEWIGAIDPETGDTAYNQKFKGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYFSFAYWGQGTLVTVSS	169
M3-H1L1/VL-(G4S)3-VH	DVQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRSSQSLRHSNGNTYLQWYQQKPGKAPKLLIYKVSNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCYQSKHVPYTFGQGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEMHWVRQAPGQGLEWIGAIDPETGDTAYNQKFKGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYFSFAYWGQGTLVTVSS	170
26A1-H3L2 / VH-(G4S)4-VL	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMHWVRQAPGKGLEWIGEIDPFDSYTYYNQKFKGRATLSVDKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRDGVYKWYFDVWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINKSIAWYQHKPGKAPKLLIHYTSTLQPGVPSRFSGSGSGRDFTLTISSLQPEDFATYYCLQYDSLLYTFGQGTKVEIK	171
26A1-H3L2/VH-(G4S)3-VL	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMHWVRQAPGKGLEWIGEIDPFDSYTYYNQKFKGRATLSVDKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRDGVYKWYFDVWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINKSIAWYQHKPGKAPKLLIHYTSTLQPGVPSRFSGSGSGRDFTLTISSLQPEDFATYYCLQYDSLLYTFGQGTKVEIK	172
43B9-H1L2/VH-(G4S)4-VL	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGYAFSDYWMYWVRQAPGKGLEWIGLIYPGDGDTMYAEKFRGRATLTADKSTDTAYLELSSLRSEDTAVYFCARLSFGAWFAYWGQGTLVSVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRDINKYLGWYQQKPGKAPKLLIHYTSTLQSGVPSRFSGSGSGRDFSLTINSLQPEDFATYYCLQYDNLYTFGGGTKVEIK	173
43B9-H1L2/VH-(G4S)3-VL	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGYAFSDYWMYWVRQAPGKGLEWIGLIYPGDGDTMYAEKFRGRATLTADKSTDTAYLELSSLRSEDTAVYFCARLSFGAWFAYWGQGTLVSVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRDINKYLGWYQQKPGKAPKLLIHYTSTLQSGVPSRFSGSGSGRDFSLTINSLQPEDFATYYCLQYDNLYTFGGGTKVEIK	174
36F8-H2L1/VH-(G4S)4-VL	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFSNSWMNWVRQAPGQGLEWIGWIYPGDGDTNYAQKFQGRATLTADKSISTAYMELSRLRSDDTAVYFCARSGPITMGFTYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQGISNYLSWYQQKPGQAVRLLIYYTSNRATGIPARFSGSESGTDYTLTISSLEPEDFAVYYCQQYSKFPWTFGQGTKLEIK	175
36F8-H2L1/VH-(G4S)3-VL	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFSNSWMNWVRQAPGQGLEWIGWIYPGDGDTNYAQKFQGRATLTADKSISTAYMELSRLRSDDTAVYFCARSGPITMGFTYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQGISNYLSWYQQKPGQAVRLLIYYTSNRATGIPARFSGSESGTDYTLTISSLEPEDFAVYYCQQYSKFPWTFGQGTKLEIK	176
39E1-H6L3/VH-(G4S)4-VL	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGEIDPFDSYTYYNQKFQGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARHYGYDRWYFDVWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINKYIVWYQHKPGKAPKLLIHYTSTLQSGVPSRFSGSGSGRDYTLTISSLQPEDFATYYCQQYDNLLRTFGQGTKVEIK	177
39E1-H6L3/VH-(G4S)3-VL	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGEIDPFDSYTYYNQKFQGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARHYGYDRWYFDVWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLS	178

[0897]

	ASVGDRVTITCKASQDINKYIVWYQHKPGKAPKLLIHYTSTLQSGVPSRFS GSGSGRDYTLTISSLQPEDFATYYCQQYDNLLRTFGQGTKVEIK	
F7-H1L1/ VH-(G4S)4-VL	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWV AQIRLKSDNYATHYAESVKGRFTISRDDSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYC TVGGNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCRASQEISGNLGWLQQKPGKAIKRLIYAATTLDSGVPSRFSG SRSGSDYTLTISSLQPEDFATYYCLQYDSYPWTFGQGTKVEIK	179
F7-H1L1/ VH-(G4S)3-VL	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWV AQIRLKSDNYATHYAESVKGRFTISRDDSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYC TVGGNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQEISGNLGWLQQKPGKAIKRLIYAATTLDSGVPSRFSGSRSGS DYTLTISSLQPEDFATYYCLQYDSYPWTFGQGTKVEIK	180
26A1-H1L1/ VH-(G4S)4-VL	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIG EIDPFDSYTYYNQKFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARR DGVYKWYFDVWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQS PSSVSASVGDRVTITCKASQDINKSIAWYQHKPGKAPKLLIHYTSTLQPGVP SRFSGSGSGRDYTLTISSLQPEDFATYYCLQYDSLLYTFGQGTKVEIK	181
26A1-H1L1/ VH-(G4S)3-VL	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIG EIDPFDSYTYYNQKFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARR DGVYKWYFDVWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSA SVGDRVTITCKASQDINKSIAWYQHKPGKAPKLLIHYTSTLQPGVPSRFSGS GSGRDYTLTISSLQPEDFATYYCLQYDSLLYTFGQGTKVEIK	182

[0898] NO:SEQ ID NO。

[0899] 本领域技术人员将理解到,在不背离宽泛的创造性概念的情况下,可以对上述实施方案进行修改。因此,应理解,本发明不限于所公开的具体实施方案,但它旨在涵盖本说明书所定义的本发明精神和范围内的修改。

序列表

<110> 凡恩世制药公司

<120> 抗肿瘤相关抗原抗体及其用途

<130> 065799.34WO1

<150> US 63/021,215

<151> 2020-05-07

<150> US 62/706,131

<151> 2020-08-03

<150> US 63/198,420

<151> 2020-10-16

<150> US 63/131,394

<151> 2020-12-29

<160> 205

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> T5 VH

<400> 1

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

<210> 2

<211> 112

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> T5 VL
<400> 2

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

<210> 3
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> T5 HCDR1
<400> 3

```
Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Ser
1               5
```

<210> 4
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> T5 HCDR2
<400> 4

```
Ile Lys Thr Glu Thr Gly Lys Pro
1               5
```

<210> 5
<211> 7

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> T5 HCDR3
<400> 5
Ala Pro Thr Gly Met Asp Tyr
1 5
<210> 6
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> T5 LCDR1
<400> 6
Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr
1 5 10
<210> 7
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> T5 LCDR2
<400> 7
Leu Val Ser
1
<210> 8
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> T5 LCDR3
<400> 8
Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Arg Thr
1 5
<210> 9
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> T5 HCDR1
<400> 9
Asp Tyr Ser Met His
1 5
<210> 10
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> T5 HCDR2
<400> 10
Trp Ile Lys Thr Glu Thr Gly Lys Pro Ile Tyr Thr Asp Asp Phe Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 11
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> T5 HCDR3
<400> 11
Thr Gly Met Asp Tyr
1 5
<210> 12
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> T5 LCDR1
<400> 12
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15
<210> 13
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> T5 LCDR2
<400> 13

Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser
1 5

<210> 14
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> T5 LCDR3
<400> 14
Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Arg Thr
1 5

<210> 15
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 26A1 VH
<400> 15
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Asp Pro Phe Asp Ser Tyr Thr Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Asp Gly Val Tyr Lys Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala
100 105 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 16
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 26A1 VL
<400> 16
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15
Gly Lys Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Lys Ser
20 25 30
Ile Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Gly Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
His Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Pro Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Arg Asp Tyr Ser Phe Ser Ile Ser Asn Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Ser Leu Leu Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105
<210> 17
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 26A1 HCDR1
<400> 17
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp
1 5
<210> 18
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 26A1 HCDR2
<400> 18
Ile Asp Pro Phe Asp Ser Tyr Thr
1 5
<210> 19
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 26A1 HCDR3
<400> 19
Ala Arg Arg Asp Gly Val Tyr Lys Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10
<210> 20
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 26A1 LCDR1
<400> 20
Gln Asp Ile Asn Lys Ser
1 5
<210> 21
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 26A1 LCDR2
<400> 21
Tyr Thr Ser
1
<210> 22
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 26A1 LCDR3
<400> 22
Leu Gln Tyr Asp Ser Leu Leu Tyr Thr
1 5
<210> 23
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 26A1 HCDR1
<400> 23
Ser Tyr Trp Met His

1 5

<210> 24

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 26A1 HCDR2

<400> 24

Glu Ile Asp Pro Phe Asp Ser Tyr Thr Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 25

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 26A1 HCDR3

<400> 25

Arg Asp Gly Val Tyr Lys Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 26

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 26A1 LCDR1

<400> 26

Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Lys Ser Ile Ala
1 5 10

<210> 27

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 26A1 LCDR2

<400> 27

Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Pro
1 5

<210> 28

<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 26A1 LCDR3
<400> 28
Leu Gln Tyr Asp Ser Leu Leu Tyr Thr
1 5
<210> 29
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 30D11 VH
<400> 29
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Glu Met His Trp Val Lys Glu Thr Pro Val His Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ala Ile Asp Pro Glu Asn Gly Gly Ile Ala Phe Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Lys Ala Thr Leu Ser Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Tyr Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Glu Glu Ile Tyr Asn Asp Tyr Asp Gly Val Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 30
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 30D11 VL
<400> 30
Asp Val 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
Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Lys Arg Leu Met 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 Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Val
85 90 95
Thr Tyr Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 31
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 30D11 HCDR1
<400> 31
Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Glu
1 5

<210> 32
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 30D11 HCDR2
<400> 32
Ile Asp Pro Glu Asn Gly Gly Ile
1 5

<210> 33
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 30D11 HCDR3
<400> 33
Thr Arg Glu Glu Ile Tyr Asn Asp Tyr Asp Gly Val Asp Tyr

1 5 10

<210> 34

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 30D11 LCDR1

<400> 34

Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Asp Gly Lys Thr Tyr

1 5 10

<210> 35

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 30D11 LCDR2

<400> 35

Gln Val Ser

1

<210> 36

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 30D11 LCDR3

<400> 36

Leu Gln Val Thr Tyr Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 37

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 30D11 HCDR1

<400> 37

Asp Tyr Glu Met His

1 5

<210> 38

<211> 17

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 30D11 HCDR2
<400> 38
Ala Ile Asp Pro Glu Asn Gly Gly Ile Ala Phe Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15
Asp
<210> 39
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 30D11 HCDR3
<400> 39
Glu Glu Ile Tyr Asn Asp Tyr Asp Gly Val Asp Tyr
1 5 10
<210> 40
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 30D11 LCDR1
<400> 40
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15
<210> 41
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 30D11 LCDR2
<400> 41
Gln Val Ser Lys Leu Asp Pro
1 5
<210> 42
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 30D11 LCDR3
<400> 42
Leu Gln Val Thr Tyr Tyr Pro Tyr Thr
1 5
<210> 43
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 36F8 VH
<400> 43
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Asn Ser
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Ala Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Ser Gly Pro Ile Thr Met Gly Phe Thr Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115
<210> 44
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 36F8 VL
<400> 44
Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

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

<210> 45
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 36F8 HCDR1
<400> 45
Gly Tyr Ala Phe Ser Asn Ser Trp
1 5
<210> 46
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 36F8 HCDR2
<400> 46
Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr
1 5
<210> 47
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 36F8 HCDR3
<400> 47
Ala Arg Ser Gly Pro Ile Thr Met Gly Phe Thr Tyr
1 5 10
<210> 48
<211> 6

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 36F8 LCDR1
<400> 48
Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
1 5
<210> 49
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 36F8 LCDR2
<400> 49
Tyr Thr Ser
1
<210> 50
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 36F8 LCDR3
<400> 50
Gln Gln Tyr Ser Lys Phe Pro Trp Thr
1 5
<210> 51
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 36F8 HCDR1
<400> 51
Asn Ser Trp Met Asn
1 5
<210> 52
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 36F8 HCDR2
<400> 52
Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 53
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 36F8 HCDR3
<400> 53
Ser Gly Pro Ile Thr Met Gly Phe Thr Tyr
1 5 10
<210> 54
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 36F8 LCDR1
<400> 54
Ser Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Ser
1 5 10
<210> 55
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 36F8 LCDR2
<400> 55
Tyr Thr Ser Asn Leu His Ser
1 5
<210> 56
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 36F8 LCDR3
<400> 56

Gln Gln Tyr Ser Lys Phe Pro Trp Thr
1 5

<210> 57
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 39E1 VH
<400> 57

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Asp Pro Phe Asp Ser Tyr Thr Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg His Tyr Gly Tyr Asp Arg Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala
100 105 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 58
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 39E1 VL
<400> 58

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15
Gly Lys Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Lys Tyr
20 25 30
Ile Val Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Gly Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
His Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Pro Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60
Ser Gly Ser Gly Arg Asp Tyr Ser Phe Ser Ile Ser Asn Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Leu Arg
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105
<210> 59
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 39E1 HCDR1
<400> 59
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp
1 5
<210> 60
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 39E1 HCDR2
<400> 60
Ile Asp Pro Phe Asp Ser Tyr Thr
1 5
<210> 61
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 39E1 HCDR3
<400> 61
Ala Arg His Tyr Gly Tyr Asp Arg Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10
<210> 62
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 39E1 LCDR1
<400> 62
Gln Asp Ile Asn Lys Tyr
1 5
<210> 63
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 39E1 LCDR2
<400> 63
Tyr Thr Ser
1
<210> 64
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 39E1 LCDR3
<400> 64
Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Leu Arg Thr
1 5
<210> 65
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 39E1 HCDR1
<400> 65
Ser Tyr Trp Met His
1 5
<210> 66
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 39E1 HCDR2
<400> 66
Glu Ile Asp Pro Phe Asp Ser Tyr Thr Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15
Gly
<210> 67
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 39E1 HCDR3
<400> 67
His Tyr Gly Tyr Asp Arg Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10
<210> 68
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 39E1 LCDR1
<400> 68
Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Lys Tyr Ile Val
1 5 10
<210> 69
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 39E1 LCDR2
<400> 69
Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Pro
1 5
<210> 70
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 39E1 LCDR3
<400> 70
Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Leu Arg Thr
1 5
<210> 71

<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 43B9 VH
<400> 71

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

<210> 72
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 43B9 VL
<400> 72

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Asn Leu Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105
<210> 73
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 43B9 HCDR1
<400> 73
Gly Tyr Ala Phe Ser Asp Tyr Trp
1 5
<210> 74
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 43B9 HCDR2
<400> 74
Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr
1 5
<210> 75
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 43B9 HCDR3
<400> 75
Ala Arg Leu Ser Phe Gly Ala Trp Phe Ala Tyr
1 5 10
<210> 76
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 43B9 LCDR1
<400> 76
Arg Asp Ile Asn Lys Tyr

1 5

<210> 77

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 43B9 LCDR2

<400> 77

Tyr Thr Ser

1

<210> 78

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 43B9 LCDR3

<400> 78

Leu Gln Tyr Asp Asn Leu Tyr Thr

1 5

<210> 79

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 43B9 HCDR1

<400> 79

Asp Tyr Trp Met Asn

1 5

<210> 80

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 43B9 HCDR2

<400> 80

Arg Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Ser Gly Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 81

<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 43B9 HCDR3
<400> 81
Leu Ser Phe Gly Ala Trp Phe Ala Tyr
1 5
<210> 82
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 43B9 LCDR1
<400> 82
Lys Ala Ser Arg Asp Ile Asn Lys Tyr Ile Gly
1 5 10
<210> 83
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 43B9 LCDR2
<400> 83
Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Pro
1 5
<210> 84
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 43B9 LCDR3
<400> 84
Leu Gln Tyr Asp Asn Leu Tyr Thr
1 5
<210> 85
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> M3 VH
<400> 85

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

<210> 86
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3 VL
<400> 86

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

100 105 110

<210> 87
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3 HCDR1
<400> 87
Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Glu
1 5
<210> 88
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3 HCDR2
<400> 88
Ile Asp Pro Glu Thr Gly Asp Thr
1 5
<210> 89
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3 HCDR3
<400> 89
Thr Arg Tyr Phe Ser Phe Ala Tyr
1 5
<210> 90
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3 LCDR1
<400> 90
Gln Ser Leu Arg His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr
1 5 10
<210> 91
<211> 3

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3 LCDR2
<400> 91
Lys Val Ser
1
<210> 92
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3 LCDR3
<400> 92
Tyr Gln Ser Lys His Val Pro Tyr Thr
1 5
<210> 93
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3 HCDR1
<400> 93
Asp Tyr Glu Met His
1 5
<210> 94
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3 HCDR2
<400> 94
Ala Ile Asp Pro Glu Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 95
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> M3 HCDR3
<400> 95
Tyr Phe Ser Phe Ala Tyr
1 5
<210> 96
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3 LCDR1
<400> 96
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Arg His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Gln
1 5 10 15
<210> 97
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3 LCDR2
<400> 97
Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5
<210> 98
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3 LCDR3
<400> 98
Tyr Gln Ser Lys His Val Pro Tyr Thr
1 5
<210> 99
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3 VH H1
<400> 99

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

<210> 100
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3 VH H2
<400> 100

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

<210> 101
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3 VH H3
<400> 101

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

<210> 102
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3 VH H4
<400> 102

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Glu Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ile Ile Asp Pro Glu Thr Gly Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly Gln Ala Thr Leu Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Tyr Phe Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 103
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3 VL L1
<400> 103
Asp Val Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Arg His Ser
20 25 30
Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
35 40 45
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75 80
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Tyr Gln Ser
85 90 95
Lys His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110
<210> 104
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3 VL L2
<400> 104
Glu Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Arg His Ser
20 25 30

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

<210> 105
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3 VL L3
<400> 105
Glu Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Arg His Ser
20 25 30
Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45
Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro
50 55 60
Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75 80
Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Tyr Gln Ser
85 90 95
Lys His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 106
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> F7 VH
<400> 106
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

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

<210> 107
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> F7 VL
<400> 107

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

<210> 108
<211> 8
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> F7 HCDR1
<400> 108
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Trp
1 5
<210> 109
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> F7 HCDR2
<400> 109
Ile Arg Leu Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr
1 5 10
<210> 110
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> F7 HCDR3
<400> 110
Thr Val Gly Gly Asn Tyr
1 5
<210> 111
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> F7 LCDR1
<400> 111
Gln Glu Ile Ser Gly Asn
1 5
<210> 112
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> F7 LCDR2

<400> 112
Ala Ala Thr
1
<210> 113
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> F7 LCDR3
<400> 113
Leu Gln Tyr Asp Ser Tyr Pro Trp Thr
1 5
<210> 114
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> F7 HCDR1
<400> 114
Asn Tyr Trp Met Asn
1 5
<210> 115
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> F7 HCDR2
<400> 115
Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu Ser
1 5 10 15
Val Lys Gly
<210> 116
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> F7 HCDR3
<400> 116
Gly Gly Asn Tyr

1
<210> 117
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> F7 LCDR1
<400> 117
Arg Ala Ser Gln Glu Ile Ser Gly Asn Leu Gly
1 5 10
<210> 118
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> F7 LCDR2
<400> 118
Ala Ala Thr Thr Leu Asp Ser
1 5
<210> 119
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> F7 LCDR3
<400> 119
Leu Gln Tyr Asp Ser Tyr Pro Trp Thr
1 5
<210> 120
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 26A1 VH H1
<400> 120
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Asp Pro Phe Asp Ser Tyr Thr Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Asp Gly Val Tyr Lys Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 121
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 26A1 VH H2
<400> 121

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Asp Pro Phe Asp Ser Tyr Thr Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Asp Gly Val Tyr Lys Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 122
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 26A1 VH H3
<400> 122
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Asp Pro Phe Asp Ser Tyr Thr Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Ala Thr Leu Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Asp Gly Val Tyr Lys Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 123
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 26A1 VH H4
<400> 123
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Asp Pro Phe Asp Ser Tyr Thr Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Ala Thr Leu Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Asp Gly Val Tyr Lys Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 124
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 26A1 VL L1
<400> 124

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

<210> 125
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 26A1 VL L2
<400> 125

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Lys Ser
20 25 30
Ile Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
His Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Arg Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Ser Leu Leu Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 126
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 30D11 VH H1
<400> 126
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Glu Met His Trp Val Arg Glu Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ala Ile Asp Pro Glu Asn Gly Gly Ile Ala Phe Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Glu Glu Ile Tyr Asn Asp Tyr Asp Gly Val Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 127
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 30D11 VH H2
<400> 127
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30
Glu Met His Trp Val Arg Glu Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ala Ile Asp Pro Glu Asn Gly Gly Ile Ala Phe Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Glu Glu Ile Tyr Asn Asp Tyr Asp Gly Val Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 128
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 30D11 VH H3
<400> 128
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Glu Met His Trp Val Arg Glu Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ala Ile Asp Pro Glu Asn Gly Gly Ile Ala Phe Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Ala Thr Leu Ser Ala Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Glu Glu Ile Tyr Asn Asp Tyr Asp Gly Val Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 129
<211> 121
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 30D11 VH H4
<400> 129

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Glu Phe His Trp Val Arg Glu Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ile Ile Asp Pro Glu Asn Gly Gly Ile Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gly Asp Arg Ala Ile Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Glu Glu Ile Tyr Asn Asp Tyr Asp Gly Val Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 130
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 30D11 VH H5
<400> 130

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

Thr Arg Glu Glu Ile Tyr Asn Asp Tyr Asp Gly Val Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 131
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 30D11 VH H6
<400> 131

Glu Gln Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Glu Ile Ser Trp Val Arg Glu Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ser Ile Asp Pro Glu Asn Gly Gly Ile Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Glu Glu Ile Tyr Asn Asp Tyr Asp Gly Val Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 132
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 30D11 VH H7
<400> 132

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Glu Met Ser Trp Val Arg Glu Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Ala Ile Asp Pro Glu Asn Gly Gly Ile Ala Phe Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Glu Glu Ile Tyr Asn Asp Tyr Asp Gly Val Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 133
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 30D11 VL L1
<400> 133

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

<210> 134
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 30D11 VL L2
<400> 134

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

<210> 135
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 30D11 VL L3
<400> 135

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

<210> 136
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 30D11 VL L4
<400> 136

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

<210> 137
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 30D11 VL L5
<400> 137

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

<210> 138

<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 30D11 VL L6
<400> 138

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

<210> 139
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 36F8 VH H1
<400> 139

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

Ala Arg Ser Gly Pro Ile Thr Met Gly Phe Thr Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 140
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 36F8 VH H2
<400> 140

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

<210> 141
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 36F8 VL L1
<400> 141

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Val Arg Leu Leu Ile

35 40 45

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

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Lys Phe Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 142
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 36F8 VL L2
<400> 142

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

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

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

Tyr Tyr Thr Ser Asn Leu His Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Lys Phe Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 143
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 39E1 VH H1
<400> 143

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Asp Pro Phe Asp Ser Tyr Thr Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Ala Thr Leu Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Glu Ala Ser
65 70 75 80
Leu Arg Leu Thr Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg His Tyr Gly Tyr Asp Arg Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 144
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 39E1 VH H2
<400> 144

Gln Val Gln Leu Glu Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Asp Pro Phe Asp Ser Tyr Thr Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Ala Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Glu Ala Ser
65 70 75 80
Leu Arg Leu Thr Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg His Tyr Gly Tyr Asp Arg Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 145
<211> 120

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 39E1 VH H3
<400> 145

Gln Val Gln Leu Glu Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Asp Pro Phe Asp Ser Tyr Thr Tyr Tyr Asn Pro Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Ala Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Glu Ala Ser
65 70 75 80
Leu Arg Leu Thr Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg His Tyr Gly Tyr Asp Arg Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 146
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 39E1 VH H4
<400> 146

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

85 90 95
Ala Arg His Tyr Gly Tyr Asp Arg Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 147
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 39E1 VH H5
<400> 147
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Asp Pro Phe Asp Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg His Tyr Gly Tyr Asp Arg Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 148
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 39E1 VH H6
<400> 148
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Asp Pro Phe Asp Ser Tyr Thr Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg His Tyr Gly Tyr Asp Arg Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 149
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 39E1 VH H7
<400> 149

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Asp Pro Phe Asp Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly Gln Ala Thr Leu Ser Val Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg His Tyr Gly Tyr Asp Arg Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 150
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 39E1 VL L1
<400> 150

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

<210> 151
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 39E1 VL L2
<400> 151

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

<210> 152

<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 39E1 VL L3
<400> 152

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

<210> 153
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 43B9 VH H1
<400> 153

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

Ala Arg Leu Ser Phe Gly Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Ser Val Ser Ser
115

<210> 154
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 43B9 VH H2
<400> 154

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

<210> 155
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 43B9 VH H3
<400> 155

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

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

<210> 156
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 43B9 VH H4
<400> 156
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Ser Gly Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Ala Thr Leu Ser Ala Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Ser Phe Gly Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 157
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 43B9 VL L1

<400> 157

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

<210> 158

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 43B9 VL L2

<400> 158

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

<210> 159

<211> 106

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 43B9 VL L3
<400> 159

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

<210> 160
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> F7 VH H1
<400> 160

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr His 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
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Val Gly Gly Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 161
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> F7 VH H2
<400> 161

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

<210> 162
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> F7 VH H3
<400> 162

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60
Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Val Gly Gly Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 163
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> F7 VH H4
<400> 163

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

<210> 164
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> F7 VL L1

<400> 164

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

<210> 165
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> F7 VL L2
<400> 165

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

<210> 166
<211> 107
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> F7 VL L3
<400> 166

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

<210> 167
<211> 247
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3-H1L1/VH-(G4S)4-VL
<400> 167

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

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
130 135 140
Ser Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser
145 150 155 160
Ser Gln Ser Leu Arg His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Gln Trp Tyr
165 170 175
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
180 185 190
Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
195 200 205
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
210 215 220
Thr Tyr Phe Cys Tyr Gln Ser Lys His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln
225 230 235 240
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 168
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3-H1L1/VH-(G4S)3-VL
<400> 168
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Glu Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ala Ile Asp Pro Glu Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Tyr Phe Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Asp Val Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser
130 135 140
Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Arg
145 150 155 160
His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
165 170 175
Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly
180 185 190
Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
195 200 205
Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Tyr
210 215 220
Gln Ser Lys His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
225 230 235 240
Ile Lys

<210> 169
<211> 247
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3-H1L1/VL-(G4S)4-VH
<400> 169

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

115 120 125

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
130 135 140

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

Phe Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
165 170 175

Leu Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Glu Thr Gly Asp Thr Ala Tyr
180 185 190

Asn Gln Lys Phe Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr
195 200 205

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
210 215 220

Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Tyr Phe Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 170

<211> 242

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> M3-H1L1/VL-(G4S)3-VH

<400> 170

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

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

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

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

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

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

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

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu

115 120 125

Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser
130 135 140

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

Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
165 170 175

Ala Ile Asp Pro Glu Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
180 185 190

Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met
195 200 205

Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr
210 215 220

Arg Tyr Phe Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
225 230 235 240

Ser Ser

<210> 171

<211> 247

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 26A1-H3L2/VH-(G4S)4-VL

<400> 171

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

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

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

Gly Glu Ile Asp Pro Phe Asp Ser Tyr Thr Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Ala Thr Leu Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Arg Asp Gly Val Tyr Lys Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

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

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met
130 135 140
Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
145 150 155 160
Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Lys Ser Ile Ala Trp Tyr
165 170 175
Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile His Tyr Thr Ser
180 185 190
Thr Leu Gln Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
195 200 205
Arg Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
210 215 220
Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Ser Leu Leu Tyr Thr Phe Gly Gln
225 230 235 240
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 172
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 26A1-H3L2/VH-(G4S)3-VL
<400> 172
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Asp Pro Phe Asp Ser Tyr Thr Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Ala Thr Leu Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Asp Gly Val Tyr Lys Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser 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 Lys Ala
145 150 155 160
Ser Gln Asp Ile Asn Lys Ser Ile Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly
165 170 175
Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile His Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Pro Gly
180 185 190
Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Arg Asp Phe Thr Leu
195 200 205
Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu
210 215 220
Gln Tyr Asp Ser Leu Leu Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
225 230 235 240
Ile Lys

<210> 173
<211> 244
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 43B9-H1L2/VH-(G4S)4-VL
<400> 173

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Leu Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Met Tyr Ala Glu Lys Phe
50 55 60
Arg Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Ser Phe Gly Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Ser Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln

130 135 140

Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr
145 150 155 160
Cys Arg Ala Ser Arg Asp Ile Asn Lys Tyr Leu Gly Trp Tyr Gln Gln
165 170 175
Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile His Tyr Thr Ser Thr Leu
180 185 190
Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Arg Asp
195 200 205
Phe Ser Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
210 215 220
Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Asn Leu Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
225 230 235 240
Val Glu Ile Lys

<210> 174
<211> 239
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 43B9-H1L2/VH-(G4S)3-VL
<400> 174
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Leu Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Met Tyr Ala Glu Lys Phe
50 55 60
Arg Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Ser Phe Gly Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Ser Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu
130 135 140

Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg
145 150 155 160
Asp Ile Asn Lys Tyr Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
165 170 175
Pro Lys Leu Leu Ile His Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
180 185 190
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Arg Asp Phe Ser Leu Thr Ile
195 200 205
Asn Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr
210 215 220
Asp Asn Leu Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
225 230 235

<210> 175
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 36F8-H2L1/VH-(G4S)4-VL
<400> 175

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Asn Ser
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Ser Gly Pro Ile Thr Met Gly Phe Thr Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Met Thr
130 135 140
Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu
145 150 155 160

Ser Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln
165 170 175
Gln Lys Pro Gly Gln Ala Val Arg Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Asn
180 185 190
Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Glu Ser Gly Thr
195 200 205
Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val
210 215 220
Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Lys Phe Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly
225 230 235 240
Thr Lys Leu Glu Ile Lys
245

<210> 176
<211> 241
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 36F8-H2L1/VH-(G4S)3-VL
<400> 176
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Asn Ser
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Ser Gly Pro Ile Thr Met Gly Phe Thr Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr
130 135 140
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser
145 150 155 160

Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
165 170 175
Ala Val Arg Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile
180 185 190
Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Glu Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr
195 200 205
Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
210 215 220
Tyr Ser Lys Phe Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
225 230 235 240
Lys

<210> 177
<211> 247
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 39E1-H6L3/VH-(G4S)4-VL
<400> 177
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Asp Pro Phe Asp Ser Tyr Thr Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg His Tyr Gly Tyr Asp Arg Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met
130 135 140
Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
145 150 155 160
Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Lys Tyr Ile Val Trp Tyr

165 170 175
Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile His Tyr Thr Ser
180 185 190
Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
195 200 205
Arg Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
210 215 220
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Leu Arg Thr Phe Gly Gln
225 230 235 240
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 178
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 39E1-H6L3/VH-(G4S)3-VL
<400> 178
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Asp Pro Phe Asp Ser Tyr Thr Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg His Tyr Gly Tyr Asp Arg Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser 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 Lys Ala
145 150 155 160
Ser Gln Asp Ile Asn Lys Tyr Ile Val Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly

165 170 175
Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile His Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Ser Gly
180 185 190
Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Arg Asp Tyr Thr Leu
195 200 205
Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
210 215 220
Gln Tyr Asp Asn Leu Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
225 230 235 240
Ile Lys

<210> 179
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> F7-H1L1/VH-(G4S)4-VL
<400> 179

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr His 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
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Val Gly Gly Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser 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 Arg Ala
145 150 155 160
Ser Gln Glu Ile Ser Gly Asn Leu Gly Trp Leu Gln Gln Lys Pro Gly
165 170 175

Lys Ala Ile Lys Arg Leu Ile Tyr Ala Ala Thr Thr Leu Asp Ser Gly
180 185 190
Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Ser Asp Tyr Thr Leu
195 200 205
Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu
210 215 220
Gln Tyr Asp Ser Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
225 230 235 240
Ile Lys

<210> 180
<211> 237
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> F7-H1L1/VH-(G4S)3-VL
<400> 180

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr His 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
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Val Gly Gly Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser
130 135 140
Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Glu Ile Ser
145 150 155 160
Gly Asn Leu Gly Trp Leu Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Ile Lys Arg
165 170 175
Leu Ile Tyr Ala Ala Thr Thr Leu Asp Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe

180 185 190
Ser Gly Ser Arg Ser Gly Ser Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
195 200 205
Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Ser Tyr
210 215 220
Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
225 230 235

<210> 181
<211> 247
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 26A1-H1L1/VH-(G4S)4-VL
<400> 181
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Asp Pro Phe Asp Ser Tyr Thr Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Asp Gly Val Tyr Lys Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met
130 135 140
Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
145 150 155 160
Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Lys Ser Ile Ala Trp Tyr
165 170 175
Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile His Tyr Thr Ser
180 185 190
Thr Leu Gln Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly

195 200 205

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

Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Ser Leu Leu Tyr Thr Phe Gly Gln
225 230 235 240

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 182

<211> 242

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 26A1-H1L1/VH-(G4S)3-VL

<400> 182

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Asp Pro Phe Asp Ser Tyr Thr Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Asp Gly Val Tyr Lys Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

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

Ser Gln Asp Ile Asn Lys Ser Ile Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly
165 170 175

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile His Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Pro Gly
180 185 190

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

195 200 205

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

Gln Tyr Asp Ser Leu Leu Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
225 230 235 240

Ile Lys

<210> 183
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3-H5
<400> 183

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

Ser Val Arg Val Ser Cys Trp Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

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

Gly Ala Ile Asp Pro Glu Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

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

Met Asp Ile Arg Gly Leu Thr Gln Gly Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Tyr Phe Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu Ile Val
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 184
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3-H6
<400> 184

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

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

<210> 185
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3-H7
<400> 185
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Val Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Glu Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ala Ile Asp Pro Glu Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Lys Ser Leu Gln Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Tyr Phe Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 186
<211> 115
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> M3-H8
<400> 186

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

<210> 187
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3-H9
<400> 187

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

Thr Arg Tyr Phe Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 188
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3-H10
<400> 188
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Glu Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ala Ile Asp Pro Glu Thr Gly Ala Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Tyr Phe Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 189
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3-H11
<400> 189
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Glu Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Ala Ile Asp Pro Glu Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 190
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3-H12
<400> 190

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

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

Gly Ala Ile Asp Pro Glu Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 191
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> M3-H13
<400> 191
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Glu Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ala Ile Asp Pro Glu Thr Gly Ala Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Tyr Phe Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 192
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3-H14
<400> 192
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Glu Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ala Ile Asp Pro Glu Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Tyr Phe Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 193
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3-H15
<400> 193

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

<210> 194
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3-H16
<400> 194

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Glu Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ala Ile Asp Pro Glu Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Gln Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Tyr Phe Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 195
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3-H18
<400> 195
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Glu Met His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ala Ile Asp Pro Glu Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Tyr Phe Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 196
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3-H19
<400> 196

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

<210> 197
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3-H20
<400> 197

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

<210> 198
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3-L4
<400> 198

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

<210> 199
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3-L5
<400> 199

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

85 90 95
Lys His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 200
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3-L6
<400> 200

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

<210> 201
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> M3-L7
<400> 201

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ser Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Arg His Ser
20 25 30
Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro
35 40 45
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75 80
Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Phe Cys Tyr Gln Ser
85 90 95
Lys His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 202
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> F7-H5
<400> 202

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

<210> 203
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> F7-H6
<400> 203

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

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

<210> 204
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> F7-H9
<400> 204
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ala Lys Asn Ser
65 70 75 80
Val Tyr Leu Asp Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Val Gly Gly Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 205
<211> 115
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> F7-H10

<400> 205

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

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

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

Ala Gln Ile Arg Leu Lys Ser Asp Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Thr Val Gly Gly Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

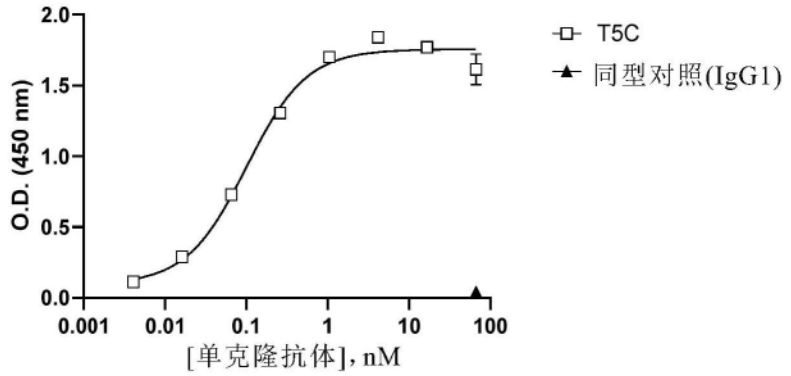

T5C
同型对照(IgG1)
O.D. (450 nm)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
[单克隆抗体], nM

图1

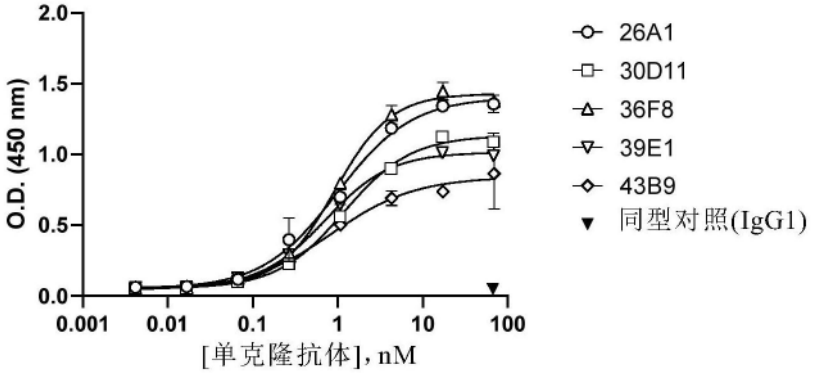

26A1
30D11
36F8
39E1
43B9
同型对照(IgG1)
O.D. (450 nm)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
[单克隆抗体], nM

图2A

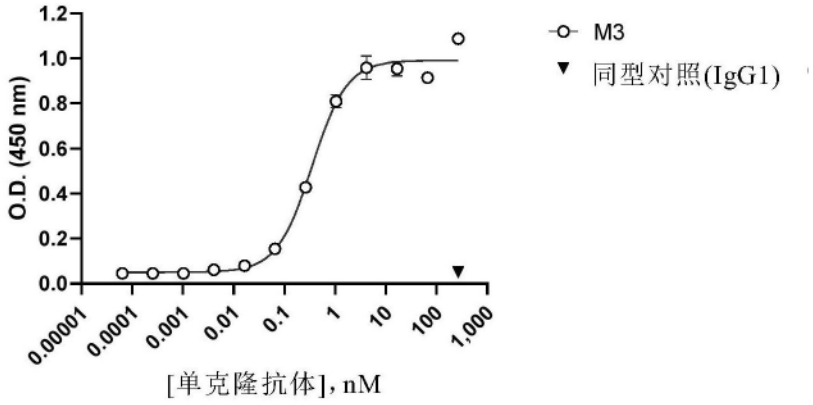

M3
同型对照(IgG1)
O.D. (450 nm)
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[单克隆抗体], nM

图2B

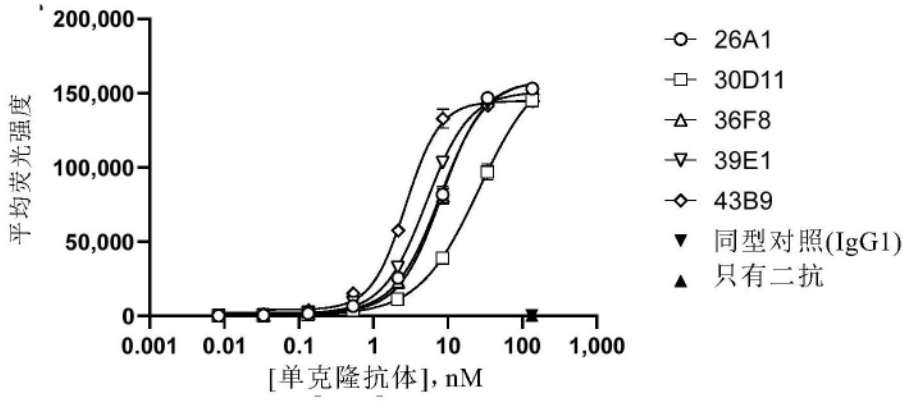

200,000
150,000
100,000
50,000
0
平均荧光强度
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[单克隆抗体], nM
26A1
30D11
36F8
39E1
43B9
同型对照(IgG1)
只有二抗

图2C

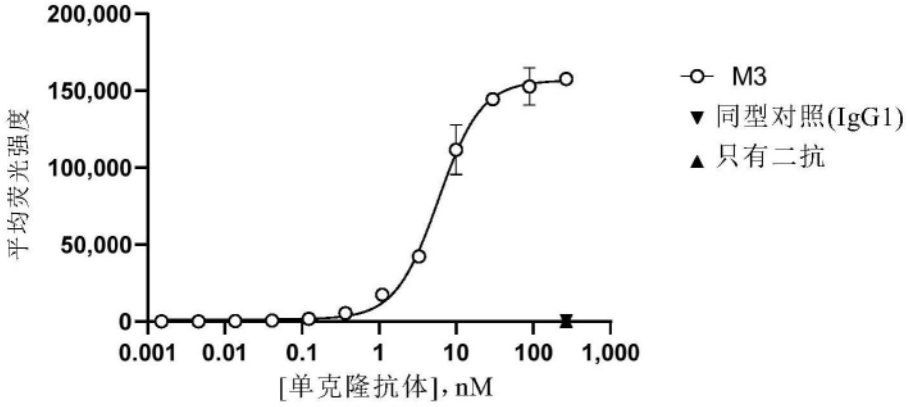

200,000
150,000
100,000
50,000
0
平均荧光强度
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[单克隆抗体], nM
M3
同型对照(IgG1)
只有二抗

图2D

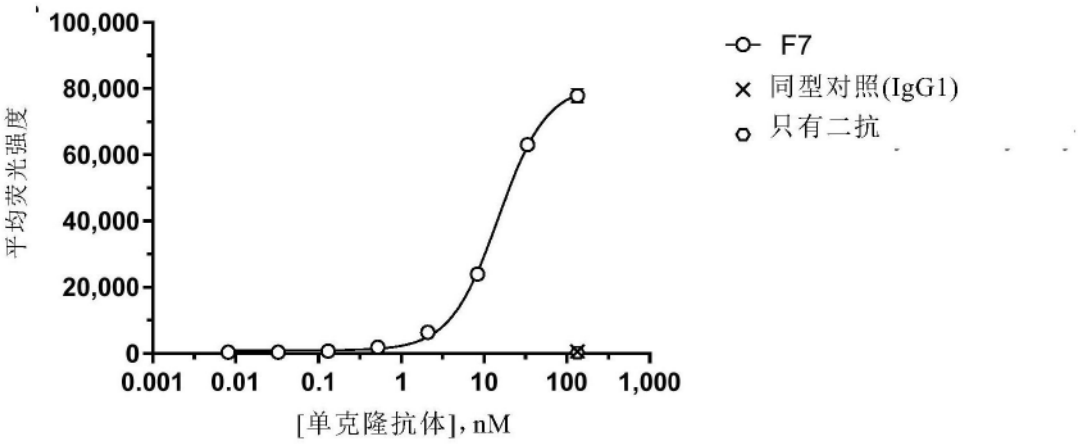

100,000
80,000
60,000
40,000
20,000
0
平均荧光强度
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[单克隆抗体], nM
F7
同型对照(IgG1)
只有二抗

图2E

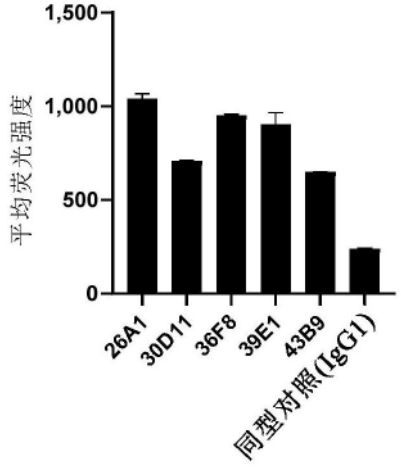

1,500
1,000
500
0
平均荧光强度
26A1
30D11
36F8
39E1
43B9
同型对照(IgG1)

图2F

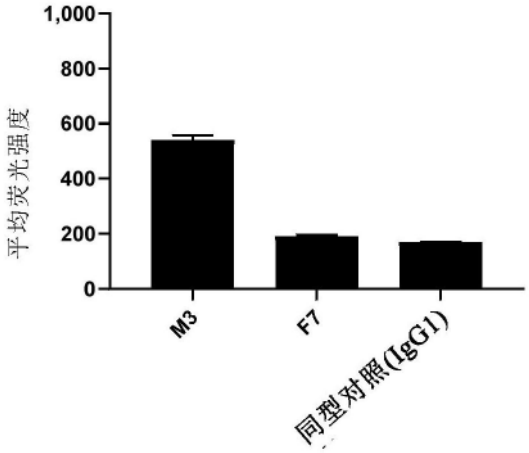

1,000
800
600
400
200
0
平均荧光强度
M3
F7
同型对照(IgG1)

图2G

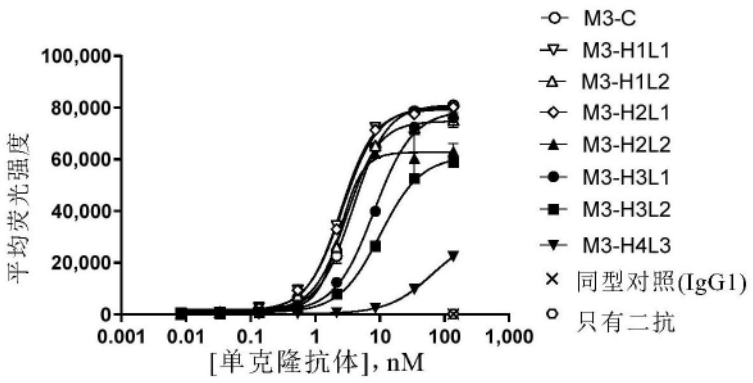

100,000
80,000
60,000
40,000
20,000
0
平均荧光强度
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[单克隆抗体], nM
M3-C
M3-H1L1
M3-H1L2
M3-H2L1
M3-H2L2
M3-H3L1
M3-H3L2
M3-H4L3
同型对照(IgG1)
只有二抗

图3A

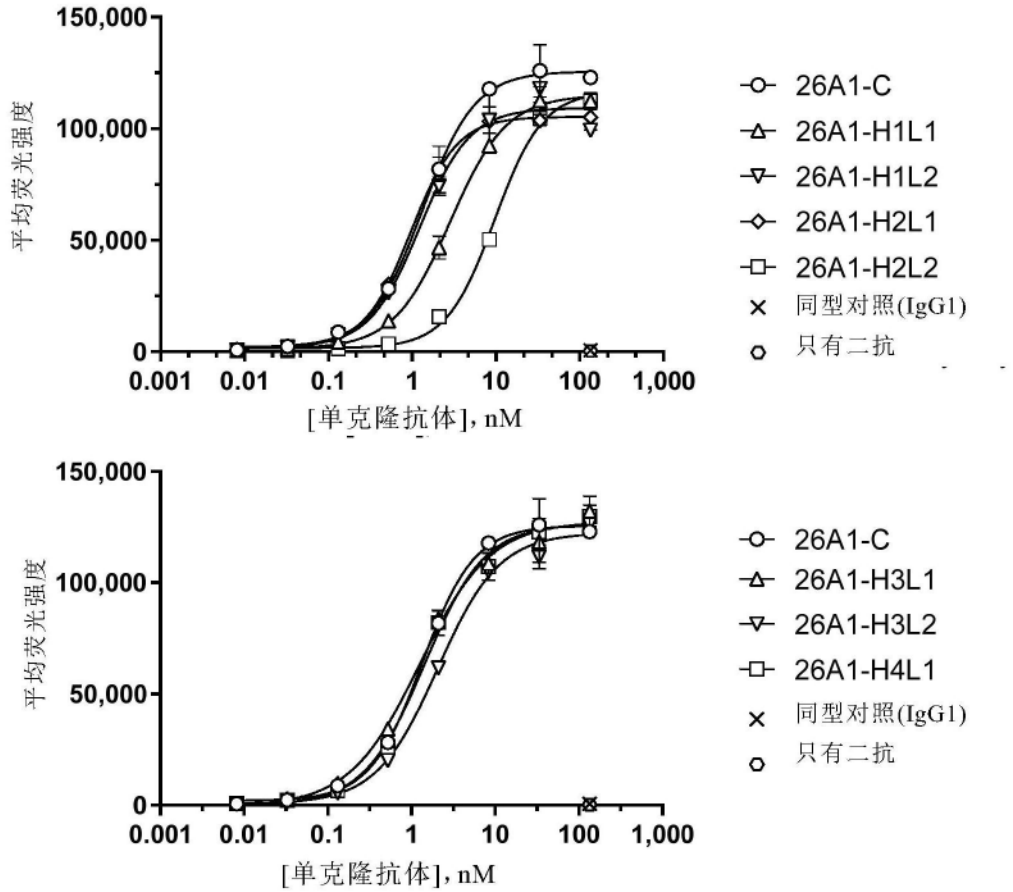

150,000
100,000
50,000
0
平均荧光强度
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[单克隆抗体], nM
26A1-C
26A1-H1L1
26A1-H1L2
26A1-H2L1
26A1-H2L2
同型对照(IgG1)
只有二抗
150,000
100,000
50,000
0
平均荧光强度
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[单克隆抗体], nM
26A1-C
26A1-H3L1
26A1-H3L2
26A1-H4L1
同型对照(IgG1)
只有二抗

图3B

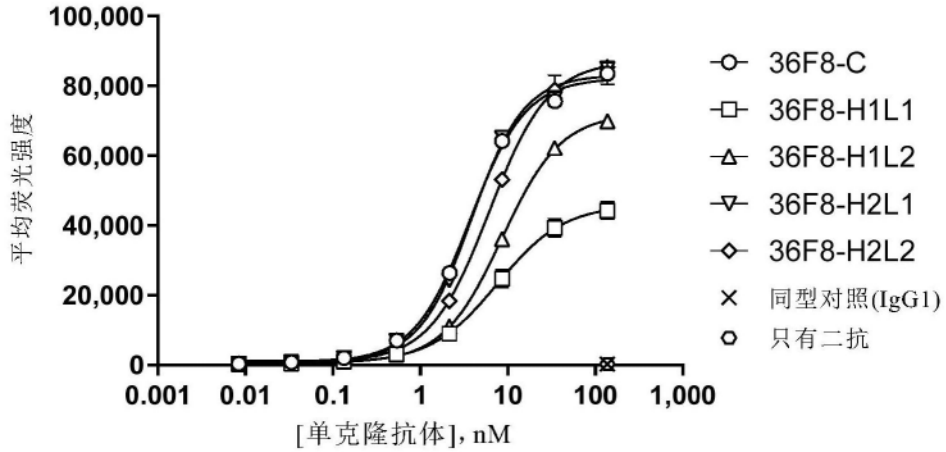

100,000
80,000
60,000
40,000
20,000
0
平均荧光强度
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[单克隆抗体], nM
36F8-C
36F8-H1L1
36F8-H1L2
36F8-H2L1
36F8-H2L2
同型对照(IgG1)
只有二抗

图3C

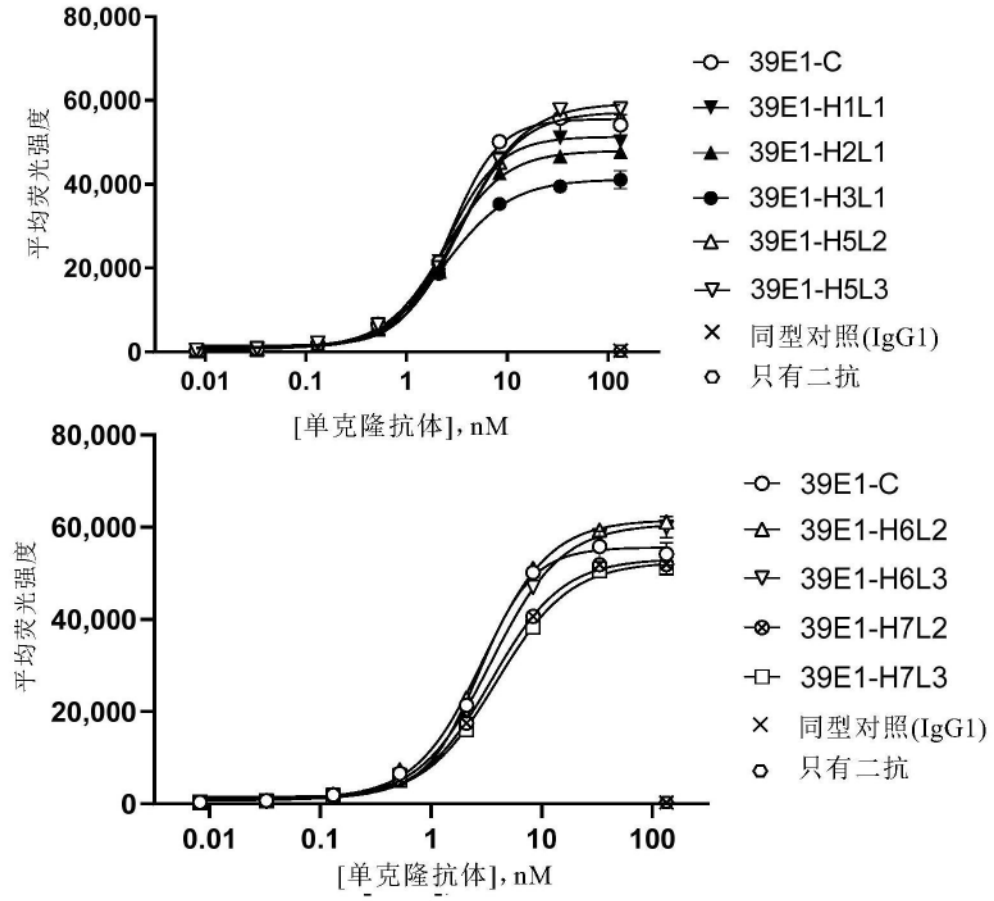

80,000
60,000
40,000
20,000
0
平均荧光强度
0.01
0.1
1
10
100
[单克隆抗体], nM
39E1-C
39E1-H1L1
39E1-H2L1
39E1-H3L1
39E1-H5L2
39E1-H5L3
同型对照(IgG1)
只有二抗
80,000
60,000
40,000
20,000
0
平均荧光强度
0.01
0.1
1
10
100
[单克隆抗体], nM
39E1-C
39E1-H6L2
39E1-H6L3
39E1-H7L2
39E1-H7L3
同型对照(IgG1)
只有二抗

图3D

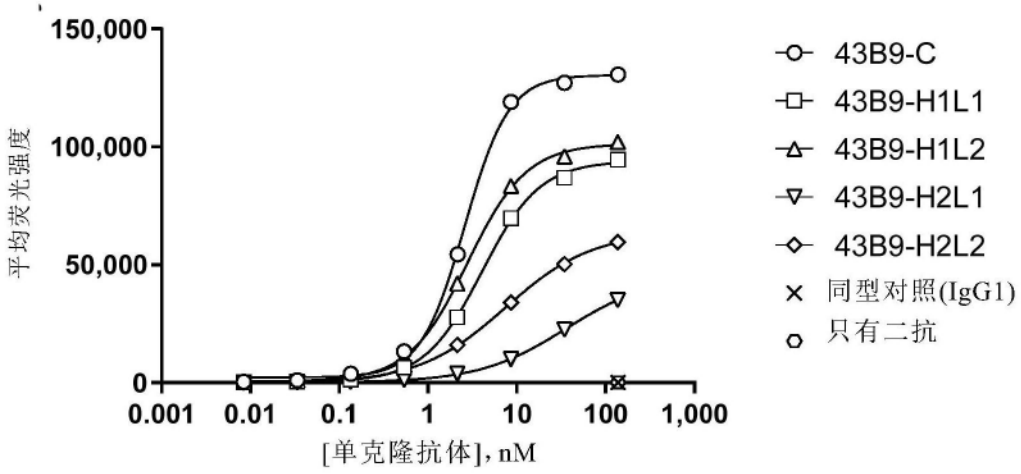

150,000
100,000
50,000
0
平均荧光强度
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[单克隆抗体], nM
43B9-C
43B9-H1L1
43B9-H1L2
43B9-H2L1
43B9-H2L2
同型对照(IgG1)
只有二抗

图3E

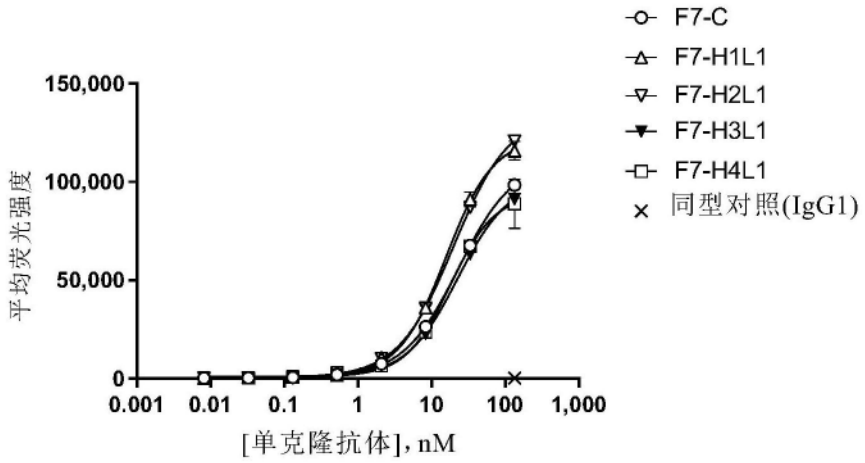

F7-C
F7-H1L1
F7-H2L1
F7-H3L1
F7-H4L1
同型对照(IgG1)
平均荧光强度
150,000
100,000
50,000
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[单克隆抗体], nM

图3F

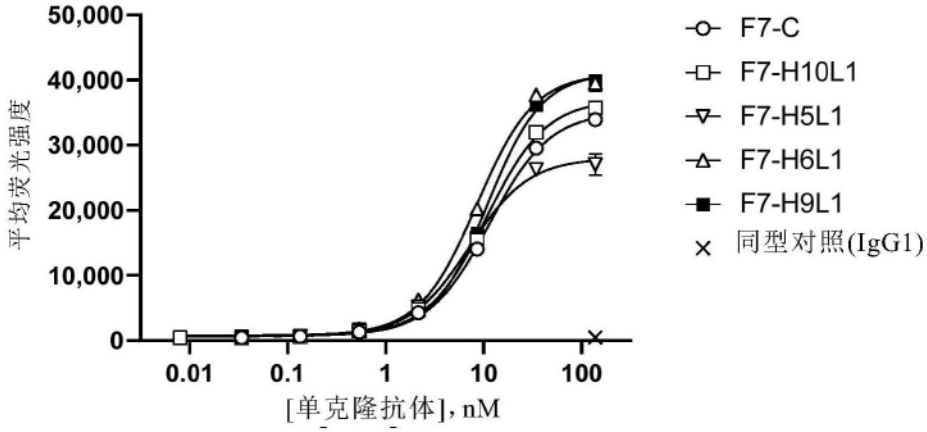

F7-C
F7-H10L1
F7-H5L1
F7-H6L1
F7-H9L1
同型对照(IgG1)
平均荧光强度
50,000
40,000
30,000
20,000
10,000
0
0.01
0.1
1
10
100
[单克隆抗体], nM

图3G

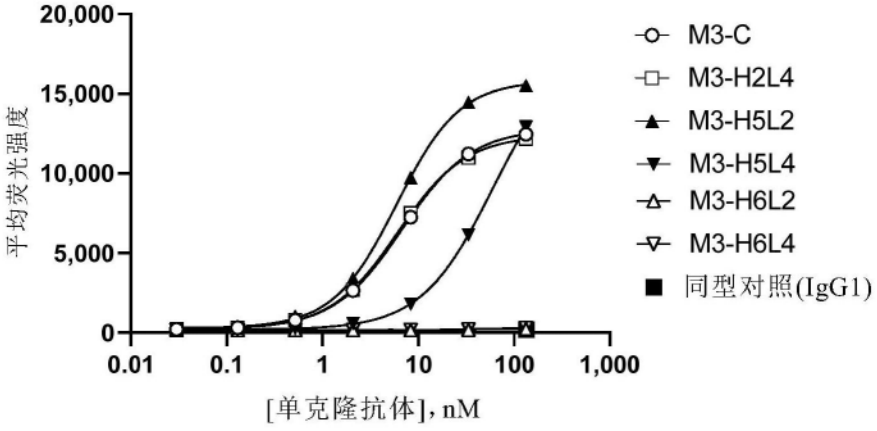

M3-C
M3-H2L4
M3-H5L2
M3-H5L4
M3-H6L2
M3-H6L4
同型对照(IgG1)
平均荧光强度
20,000
15,000
10,000
5,000
0
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[单克隆抗体], nM

图3H

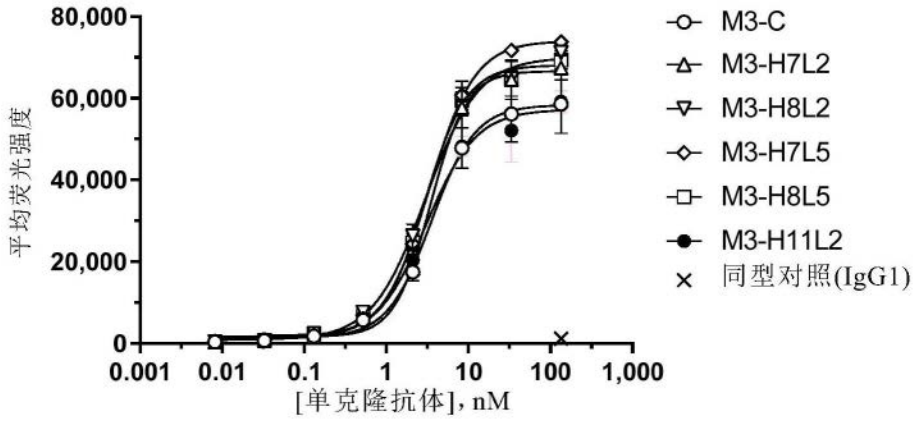
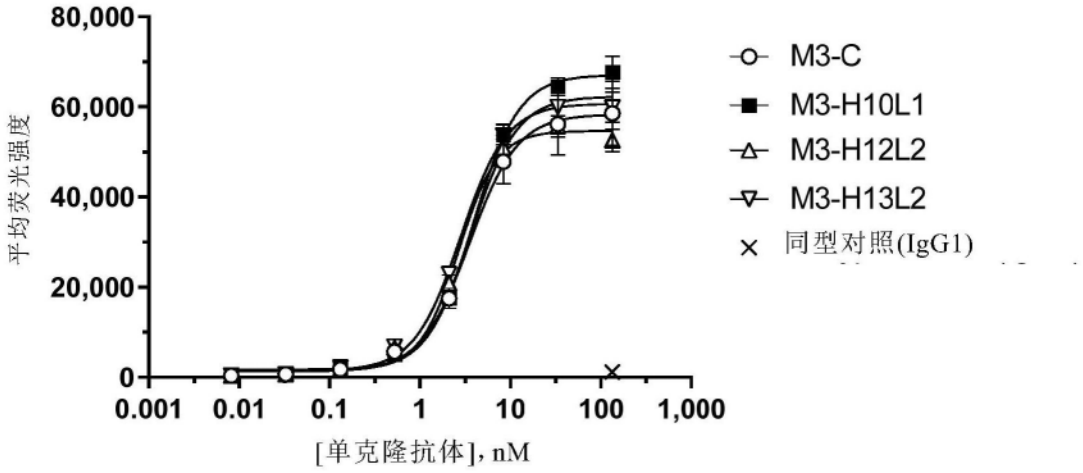

80,000
60,000
40,000
20,000
0
平均荧光强度
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[单克隆抗体], nM
M3-C
M3-H7L2
M3-H8L2
M3-H7L5
M3-H8L5
M3-H11L2
同型对照(IgG1)

图3I


80,000
60,000
40,000
20,000
0
平均荧光强度
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[单克隆抗体], nM
M3-C
M3-H10L1
M3-H12L2
M3-H13L2
同型对照(IgG1)

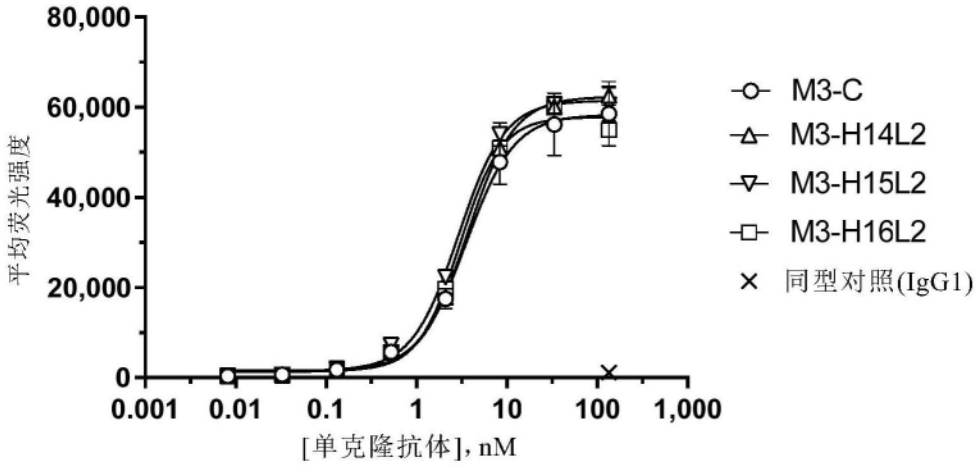

80,000
60,000
40,000
20,000
0
平均荧光强度
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[单克隆抗体], nM
M3-C
M3-H14L2
M3-H15L2
M3-H16L2
同型对照(IgG1)

图3J

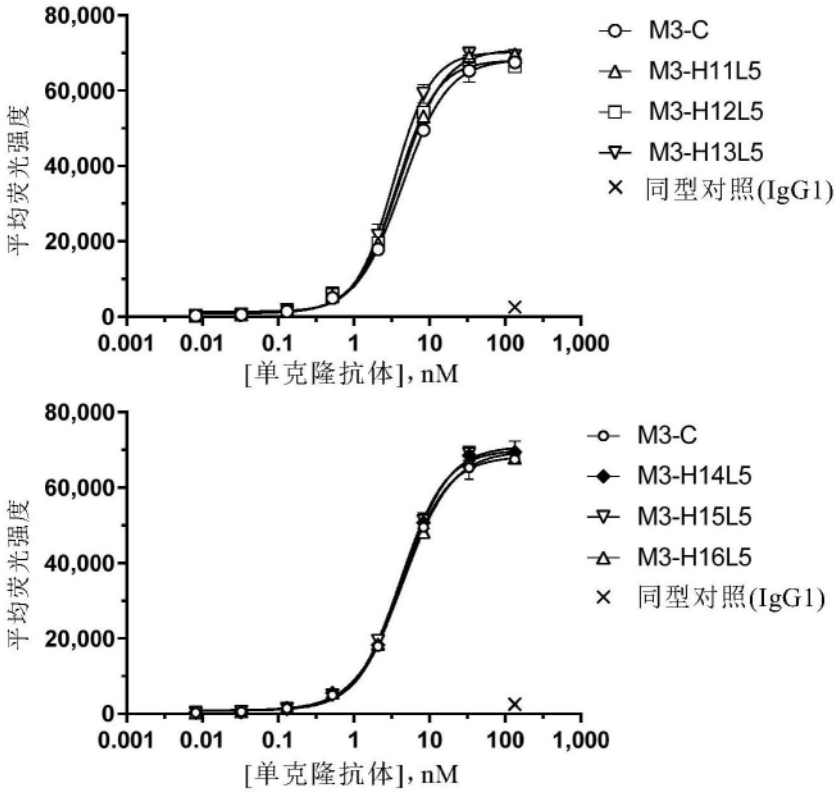

80,000
60,000
40,000
20,000
0
平均荧光强度
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[单克隆抗体], nM
M3-C
M3-H11L5
M3-H12L5
M3-H13L5
同型对照(IgG1)
M3-H14L5
M3-H15L5
M3-H16L5

图3K

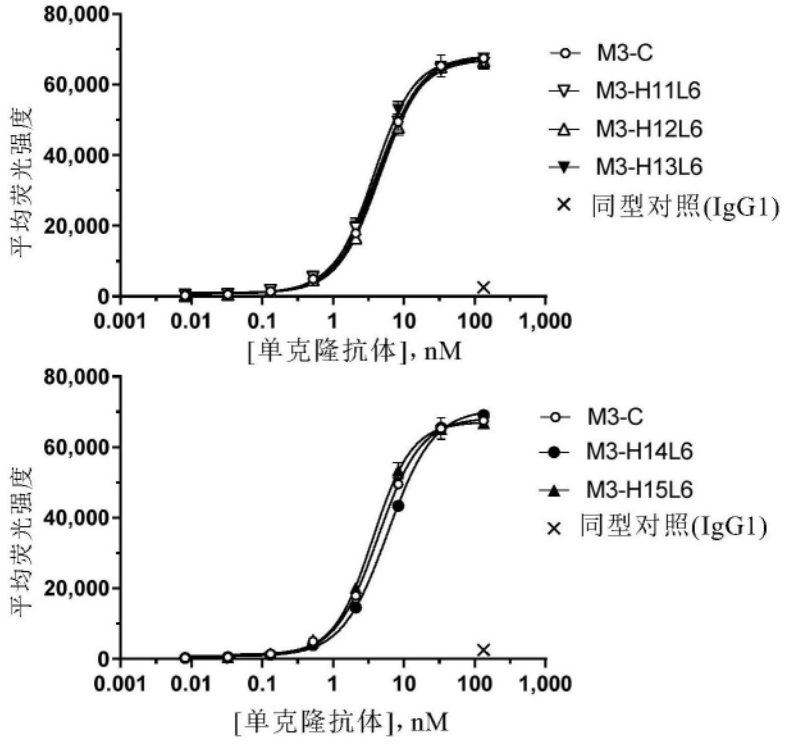

80,000
60,000
40,000
20,000
0
平均荧光强度
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[单克隆抗体], nM
M3-C
M3-H11L6
M3-H12L6
M3-H13L6
同型对照(IgG1)
M3-H14L6
M3-H15L6

图3L

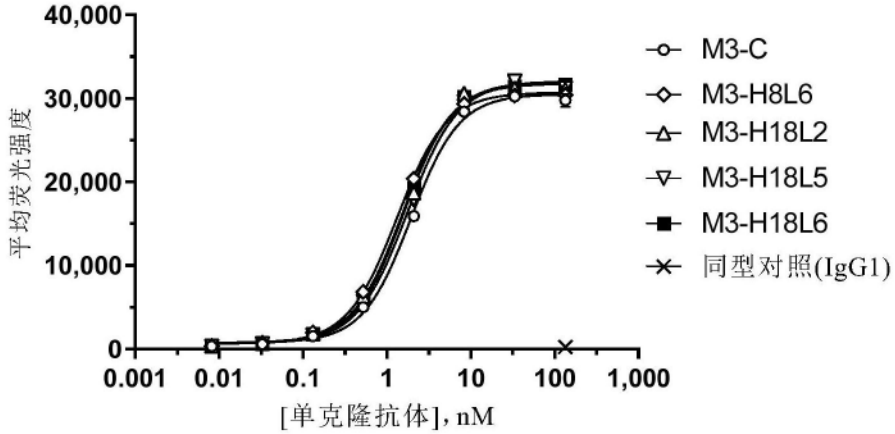

40,000
30,000
20,000
10,000
0
平均荧光强度
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[单克隆抗体], nM
M3-C
M3-H8L6
M3-H18L2
M3-H18L5
M3-H18L6
同型对照(IgG1)

图3M

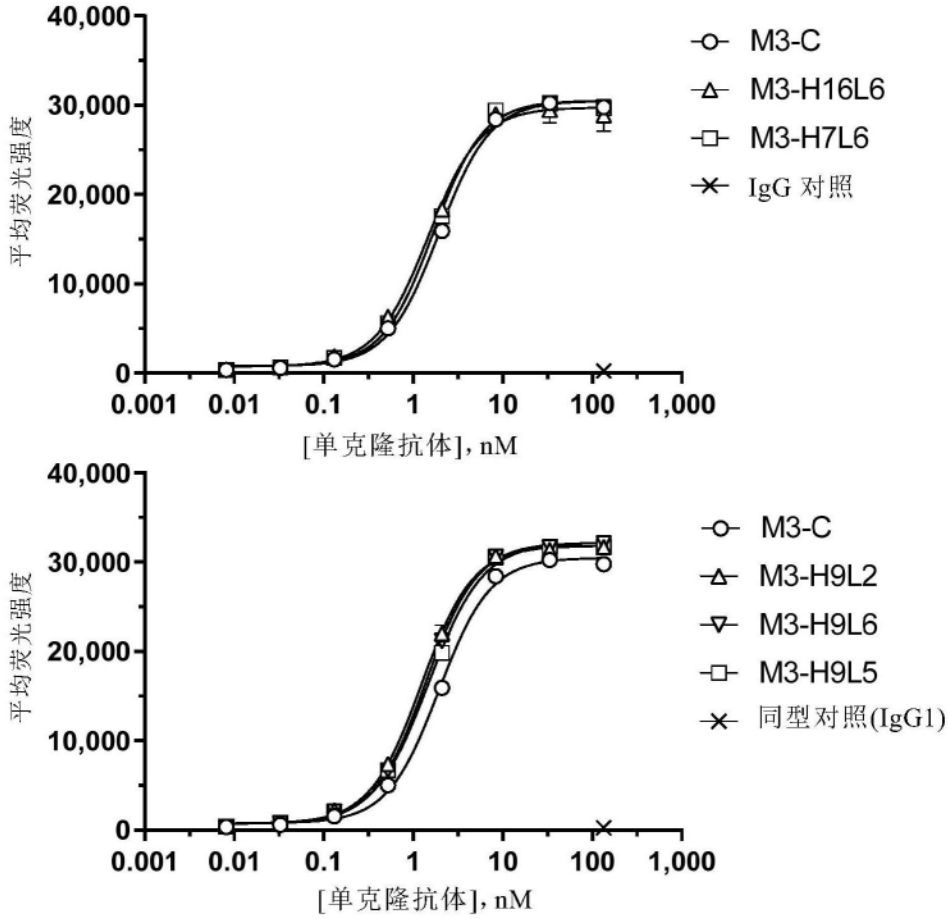

40,000
30,000
20,000
10,000
0
平均荧光强度
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[单克隆抗体], nM
M3-C
M3-H16L6
M3-H7L6
IgG 对照
40,000
30,000
20,000
10,000
0
平均荧光强度
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[单克隆抗体], nM
M3-C
M3-H9L2
M3-H9L6
M3-H9L5
同型对照(IgG1)

图3N

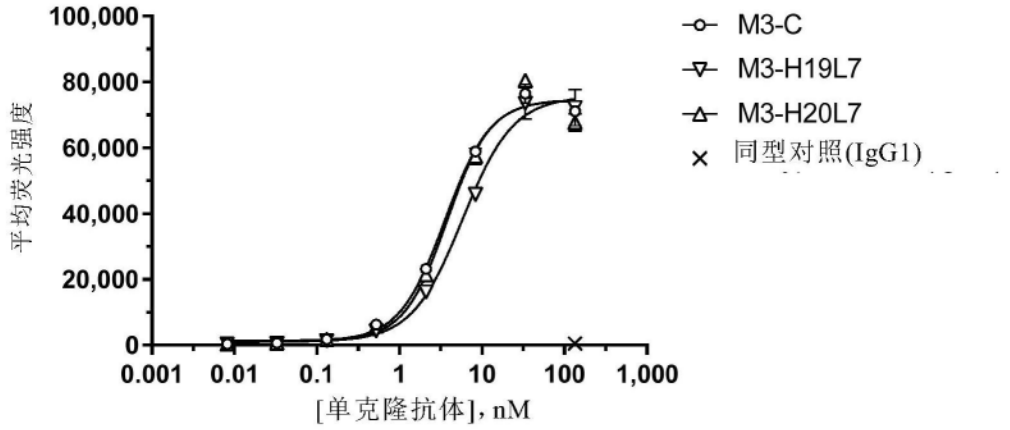

100,000
80,000
60,000
40,000
20,000
0
平均荧光强度
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[单克隆抗体], nM
M3-C
M3-H19L7
M3-H20L7
同型对照(IgG1)

图30

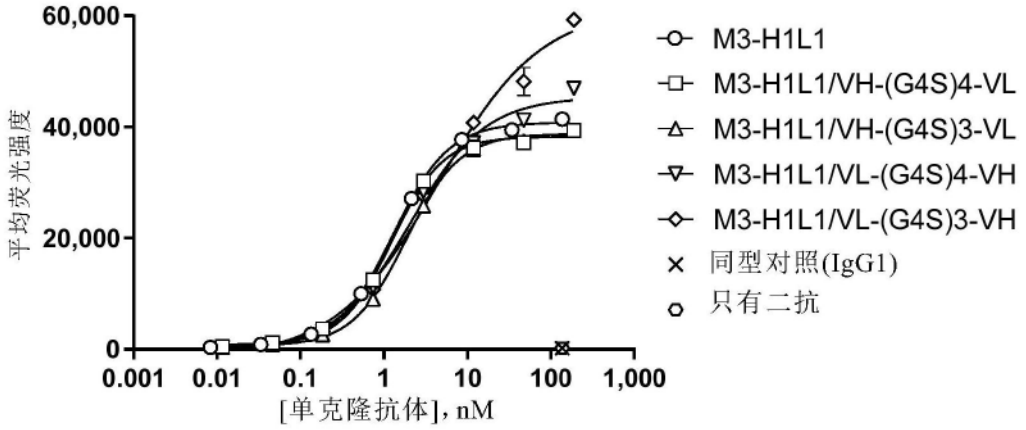

60,000
40,000
20,000
0
平均荧光强度
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[单克隆抗体], nM
M3-H1L1
M3-H1L1/VH-(G4S)4-VL
M3-H1L1/VH-(G4S)3-VL
M3-H1L1/VL-(G4S)4-VH
M3-H1L1/VL-(G4S)3-VH
同型对照(IgG1)
只有二抗

图4A

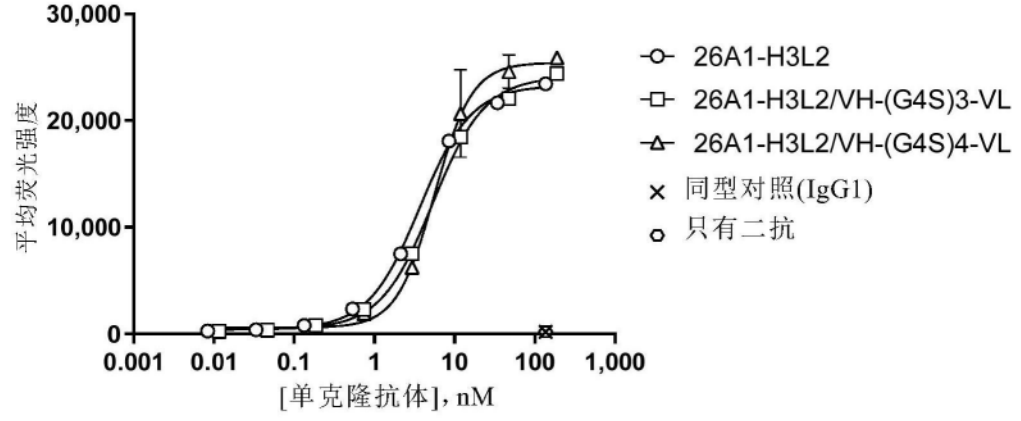

30,000
20,000
10,000
0
平均荧光强度
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[单克隆抗体], nM
26A1-H3L2
26A1-H3L2/VH-(G4S)3-VL
26A1-H3L2/VH-(G4S)4-VL
同型对照(IgG1)
只有二抗

图4B

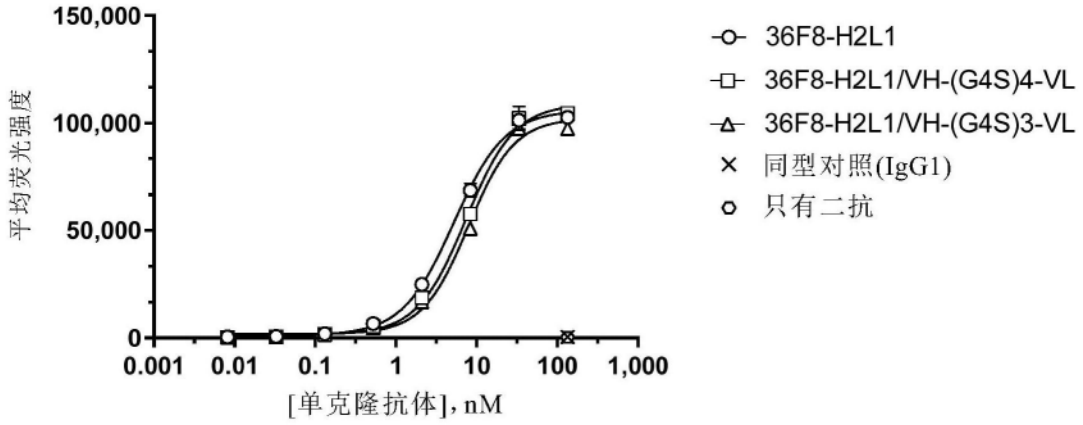

150,000
100,000
50,000
0
平均荧光强度
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[单克隆抗体], nM
36F8-H2L1
36F8-H2L1/VH-(G4S)4-VL
36F8-H2L1/VH-(G4S)3-VL
同型对照(IgG1)
只有二抗

图4C

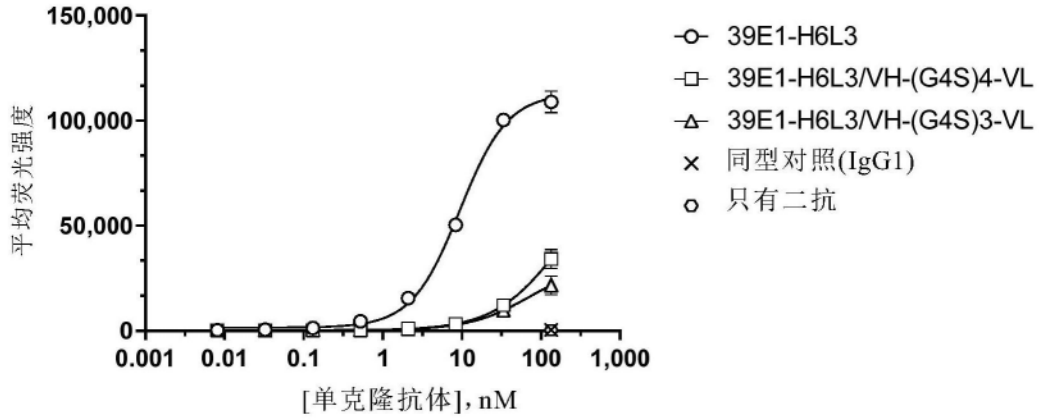

150,000
100,000
50,000
0
平均荧光强度
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[单克隆抗体], nM
39E1-H6L3
39E1-H6L3/VH-(G4S)4-VL
39E1-H6L3/VH-(G4S)3-VL
同型对照(IgG1)
只有二抗

图4D

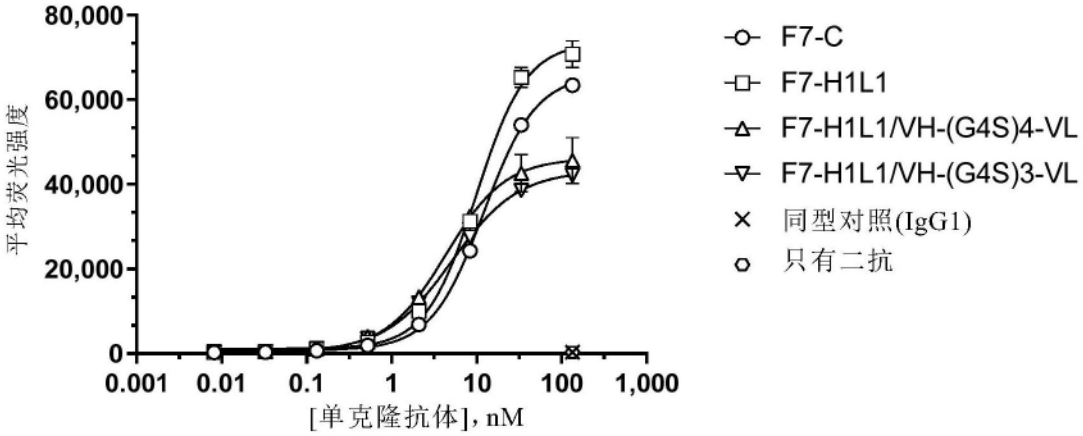

80,000
60,000
40,000
20,000
0
平均荧光强度
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[单克隆抗体], nM
F7-C
F7-H1L1
F7-H1L1/VH-(G4S)4-VL
F7-H1L1/VH-(G4S)3-VL
同型对照(IgG1)
只有二抗

图4E