



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110352070 B

(45) 授权公告日 2024.09.17

(21) 申请号 201780045861.3

(22) 申请日 2017.06.14

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 110352070 A

(43) 申请公布日 2019.10.18

(30) 优先权数据

62/350,145 2016.06.14 US

62/353,511 2016.06.22 US

62/420,500 2016.11.10 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2019.01.23

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2017/037555 2017.06.14

(87) PCT国际申请的公布数据
W02017/218707 EN 2017.12.21

(73) 专利权人 XENCOR股份有限公司
地址 美国加利福尼亚

(72)发明人 M·博尔奈特 G·莫尔
J·德斯加尔莱斯 M·海德瓦特
C·邦松 A·尼萨尔
U·S·穆什哈尔

(74) 专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所
有限公司 11038
专利代理师 张小勇

(51) Int.Cl.

A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)

(56) 对比文件

WO 2016086196 A2, 2016.06.02

WO 2014209804 A1, 2014.12.31

宙查员 冷千里

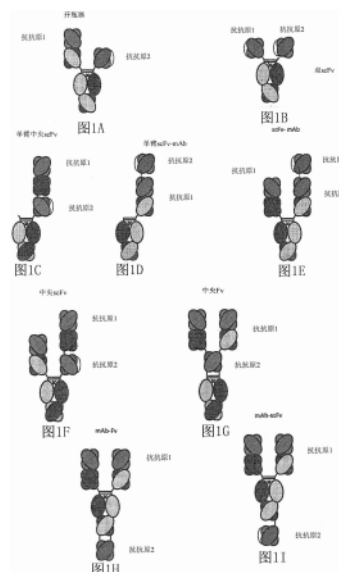
权利要求书1页 说明书85页
序列表(电子公布) 附图232页

(54) 发明名称

双特异性检查点抑制剂抗体

(57) 摘要

本发明涉及双特异性异源二聚体检查点抗体。



1. 一种异源二聚体抗体,其由以下组成:

a) 由以下序列组成的第一单体:

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGLEWVSFISYDGNKYYADSVKGRFTISR
DNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTGWLGPFDYWGGTLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK
DYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKT
HTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSD
IAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDFVSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK;

b) 由以下序列组成的第二单体:

EIVLTQSPATLSASPERVTLTCRASQSVGNDVAWYQQKPGQAPRLLINYASHRYTGVPDRFTGSGYGTEFT
LTISSVQSEDFGVYYCQQDFSSPRTFGGGTKVEIKGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSEVQLVESGGGLVKPGGSLRLS
CVASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAEIRLYSNNYATHYAESVKGRFTISRDDSKSTLYLQMNNLKTEDTGYY
CTRYYGNYGGYFDVWGRGTLTVVSSEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVK
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK;和

c) 由以下序列组成的轻链:

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDF
TLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPWTFGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ
WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC。

2. 一种核酸组合物,其对应地包括:

a) 第一核酸,其对权利要求1所述的第一单体进行编码;

b) 第二核酸,其对权利要求1所述的第二单体进行编码;以及

c) 第三核酸,其对权利要求1所述的轻链进行编码。

3. 一种表达载体组合物,其包括:

a) 第一表达载体,其包括权利要求2所述的第一核酸;

b) 第二表达载体,其包括权利要求2所述的第二核酸;以及

c) 第三表达载体,其包括权利要求2所述的第三核酸。

4. 一种宿主细胞,其包括权利要求3所述的表达载体组合物。

5. 一种用于制作根据权利要求1所述的异源二聚体抗体的方法,其包括在表达所述抗体的条件下培养根据权利要求4所述的宿主细胞,以及回收所述抗体。

双特异性检查点抑制剂抗体

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2016年6月14日提交的美国临时专利申请号62/350,145、于2016年6月22日提交的美国临时专利申请号62/353,511以及于2016年11月10日提交的美国临时专利申请号62/420,500的优先权,所述美国临时专利申请的内容通过引用以其全文明确地完全合并。

[0003] 序列表

[0004] 本申请含有呈ASCII格式以电子方式提交并且通过引用以其全文结合在此的序列表。于2017年6月9日创建的所述ASCII文本被命名为067461_5191W0_SL.txt并且大小为32,442,145千字节。

背景技术

[0005] 如CTLA-4、PD-1 (程序性细胞死亡1)、TIM-3 (T细胞免疫球蛋白和黏蛋白结构域3)、LAG-3 (淋巴细胞-活化基因3)、TIGIT (具有Ig和ITIM结构域的T细胞免疫受体)等检查点受体抑制T细胞和其它细胞类型的活化、增殖和/或效应子活性。根据检查点受体遏制针对肿瘤细胞的内源T细胞应答的假设,对抗CTLA4和抗PD1抗体 (包含纳武单抗 (nivolumab)、派姆单抗 (pembrolizumab)、伊匹单抗 (ipilimumab) 和替西木单抗 (tremelimumab)) 的临床前和临床研究已经确实证明,检查点阻断产生了令人难忘的抗肿瘤应答,刺激内源性T细胞攻击肿瘤细胞,从而使患有各种恶性肿瘤的一小部分患者有了长期癌症缓解。不幸的是,仅一小部分患者回应了这些疗法,其中各个疗法的应答率总体上从10%到30%变动并且有时更高,这取决于适应症和其它因素。这些药剂的疗法组合例如伊匹单抗加上纳武单抗产生了甚至更高的应答率,在一些情况下接近60%。临床前研究已经示出了抗PD-1抗体和/或抗CTLA-4抗体之间的额外协同,阻断了更多最近鉴定的检查点受体,包含LAG-3、TIM-3、BTLA和TIGIT。虽然多个检查点阻断的可能性非常大,但是利用此类药剂的组合疗法预期会带来较高的财政负担。而且,与单一疗法相比,组合疗法例如纳武单抗加上伊匹单抗的自身免疫毒性大大升高,从而使许多患者止步于疗法。

[0006] 检验肿瘤浸润性淋巴细胞 (TIL) 的多项研究 (Ahmadzadeh等人,《血液 (Blood)》114:1537 (2009)、Matsuzaki等人,《美国国家科学院院刊 (PNAS)》107 (17):7875-7880 (2010)、Fourcade等人,《癌症研究 (Cancer Res.)》72 (4):887-896 (2012) 以及Gros等人,《(临床研究杂志 (J.Clinical Invest.))》124 (5):2246 (2014)) 已经示出了TIL共同表达多个检查点受体。而且,表达多个检查点的TIL事实上有可能最具肿瘤反应性。相比之下,外围的非肿瘤反应性T细胞更有可能表达单个检查点。对于去阻遏假设促进自身免疫毒性的肿瘤反应性TIL相比于自身抗原反应性单表达T细胞,利用单特异性全长抗体的检查点阻断可能并无差别。

[0007] 因此,本发明涉及与两种不同的检查点抑制蛋白结合的双特异性抗体。

发明内容

[0008] 本发明提供了与两个不同的检查点细胞表面受体结合的双特异性异源二聚体抗体,如人PD-1、人CTLA-4、人TIM-3、人LAG-3和人TIGIT。因此,在一些方面,适合的双特异性抗体结合PD-1和CTLA-4、PD-1和TIM-3、PD-1和LAG-3、PD-1和TIGIT、PD-1和BTLA、CTLA-4和TIM-3、CTLA-4和LAG-3、CTLA-4和TIGIT、CTLA-4和BTLA、TIM-3和LAG-3、TIM-3和TIGIT、TIM-3和BTLA、LAG-3和TIGIT、LAG-3和BTLA、以及TIGIT和BTLA。

[0009] 在一方面,本发明提供了开瓶器格式,所述开瓶器格式包括:a)第一单体(“scFv单体”,有时被称为“scFv重链”),其包括具有使用带电荷scFv连接子连接的可变重结构域和可变轻结构域的scFv(图7的+H序列在一些实施例中是优选的)、包括倾斜变体S364K/E357Q和消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K的Fc结构域、以及与如本文所概述的检查点受体结合的Fv;b)第二单体(“Fab单体”或“重链”),其包括具有倾斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D和消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K的Fc结构域以及可变重结构域,所述可变重结构域与可变轻结构域构成与如本文所概述的第二检查点抑制剂结合的Fv;以及c)轻链。在这个特定实施例中,适合的单体Fv对包含(Fab首先被列出,scFv第二个被列出)PD-1和CTLA-4、CTLA-4和PD-1、PD-1和TIM-3、TIM-3和PD-1、PD-1和LAG-3、LAG-3和PD-1、PD-1和TIGIT、TIGIT和PD-1、PD-1和BTLA、BTLA和PD-1、CTLA-4和TIM-3、TIM-3和CTLA-4、CTLA-4和LAG-3、LAG-3和CTLA-4、CTLA-4和TIGIT、TIGIT和CTLA-4、CTLA-4和BTLA、BTLA和CTLA-4、TIM-3和LAG-3、LAG-3和TIM-3、TIM-3和TIGIT、TIGIT和TIM-3、TIM-3和BTLA、BTLA和TIM-3、LAG-3和TIGIT、TIGIT和LAG-3、LAG-3和BTLA、BTLA和LAG-3、BTLA和TIGIT、以及TIGIT和BTLA。

[0010] 本文中提供了本发明的其它方面。

附图说明

[0011] 图1A到图1I描绘了本发明的几种格式。第一种是“开瓶器(bottle opener)”格式,具有第一和第二抗原结合结构域。另外,示出了mAb-Fv格式、mAb-scFv格式、中央scFv格式、中央Fv格式、单臂中央scFv格式、单scFv-mAb格式、scFv-mAb和双scFv格式。对于所描绘的所有scFv结构域,其可以是N-末端到C-末端可变重-(任选连接子)-可变轻,或相反。另外,对于所有单臂scFv-mAb,scFv可以与重链单体的N-末端或轻链的N-末端相连。

[0012] 图2(图2A、图2B、图2C和图2D)描绘了用于本发明的多个抗原的抗原序列,在许多情况下包含人和食蟹猴,以促进与人和食蟹猴两者均结合的抗原结合结构域的发展以便于临床开发的。

[0013] 图3A到图3F描绘了有用对异源二聚体化变体组(包含倾斜和pI变体)。图3E中,存在并无相应“单体2”变体的变体;这些是可以单独用在单体上或例如包含在开瓶器的Fab侧上的pI变体,并且适当带电荷的scFv连接子可以用在将scFv用作第二抗原结合结构域的第二单体上。适合的带电荷连接子示出在图7中。

[0014] 图4描绘了同配变体抗体恒定区及其对应取代的列表,pI₋(-)指示较低pI变体,而pI₊(+)指示较高pI变体。

[0015] 这些可以与本发明的其它异源二聚体化变体(以及其它变体类型,如本文所概述的)任选地以及独立地组合。

[0016] 图5描绘了消融Fc γ R结合的有用消融变体(有时被称为“敲除”或“KO”变体)。通常,消融变体发现于这两个单体上,但是在一些情况下,消融变体可以仅在一个单体上。

[0017] 图6示出了本发明的可以用于图1A或图1F的格式的两个特别有用的实施例。对于图1A的格式,这个实施例的“非Fv”组分示出在图37A中,但是也可以使用其它格式(以及图38的格式)。

[0018] 图7描绘了用于增大或减小利用一个或多个scFv作为组分的异源二聚体抗体的pI的多个带电荷scFv连接子。(H)阳性连接子特别用于本文中,具体来说本文中示出了抗CD3 v1和vh序列。引用具有单个电荷的单个现有技术scFv连接子作为“Whitlow”,来自Whitlow等人《蛋白质工程(Protein Engineering)》6(8):989-995(1993)。应注意,这个连接子用于减少聚合并且增强scFv的蛋白水解稳定性。

[0019] 图8描绘了具有异源二聚体产率(通过HPLC-CIEX来确定)和热稳定性(通过DSC来确定)的工程化异源二聚体倾斜Fc变体列表。未确定的热稳定性用“n.d.”来指代。

[0020] 图9A到图9E描绘了选择数量的PD-1ABD,其中额外的抗PD-1ABD被列为SEQ ID NO: 6209到11464、SEQ ID NO:11465到17134、SEQ ID NO:33003到33072、SEQ ID NO:33073到35394和SEQ ID NO:36127到36146。CDR加下划线,scFv连接子加双下划线(在序列中,scFv连接子是带正电荷的scFv (GKPGS)₄连接子(SEQ ID NO:37755),但是如本领域技术人员将了解的,这个连接子可以被其它连接子代替,包含不带电荷的连接子或带负电荷的连接子,其中一些描绘在图7中),并且斜线指示可变结构域的一个或多个边界。另外,命名约定展示了scFv从N-末端到C-末端的朝向。即,“H1.279_L1.194”示出了,朝向为vh-scFv连接子-v1(从N-末端到C-末端,其中在一侧或两侧上有任意的结构域连接子,这取决于所使用的格式),但是这些序列也可以相反朝向(从N-末端到C-末端)v1-连接子-vh使用。类似地,“L1.194_H1.279”示出了,朝向为v1-scFv连接子-vh(从N-末端到C-末端,再次具有任意的结构域连接子),相反朝向也包含在本发明中。如本文中所指出的并且如本文中含有CDR的每个序列的真实情况那样,对CDR位置的精确鉴定可以根据如表1所示使用的编号而略有不同,并且因此本文中所包含的不仅有加下划线的CDR,还有使用其它编号系统的vh和v1结构域内所包含的CDR。此外,如对于附图中的所有序列,这些vh和v1序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0021] 图10A到图10PP描绘了多个的CTLA-4ABD,其中额外的抗CTLA-4ABD被列为SEQ ID NO:21到2918、SEQ ID NO:2919到6208、SEQ ID NO:36739到36818和SEQ ID NO:35395到35416。CDR加下划线,scFv连接子加双下划线(在序列中,scFv连接子是带正电荷的scFv (GKPGS)₄连接子(SEQ ID NO:37755),但是如本领域技术人员将了解的,这个连接子可以被其它连接子代替,包含不带电荷的连接子或带负电荷的连接子,其中一些描绘在图7中),并且斜线指示可变结构域的一个或多个边界。如上,命名约定展示了scFv从N-末端到C-末端的朝向;在本附图所列出的序列中,其均朝向为vh-scFv连接子-v1(从N-末端到C-末端),但是这些序列还可以相反朝向(从N-末端到C-末端)v1-连接子-vh使用;另外,SEQ ID NO:21到2918、SEQ ID NO:2919到6208、SEQ ID NO:36739到36818和SEQ ID NO:35395到35416中的一些序列处于相反朝向。如本文中所指出的并且如本文中含有CDR的每个序列的真实情况那样,对CDR位置的精确鉴定可以根据如表1所示使用的编号而略有不同,并且因此本文中所包含的不仅有加下划线的CDR,还有使用其它编号系统的vh和v1结构域内所包含的

CDR。此外,如对于附图中的所有序列,这些vh和v1序列可以scFv格式或Fab格式使用。具体地说,所述附图中的许多包含scFv格式以及Fab格式的XENP标识符;参见例如示出XENP19235是使用Fab格式的分子并且XENP19769是scFv分子的图10A。

[0022] 图11A到图11N描绘了多个LAG-3ABD,其中额外的抗LAG-3ABD被列为SEQ ID NO: 17135到20764、SEQ ID NO:36819到36962、SEQ ID NO:35417到35606、SEQ ID NO:25194到32793和SEQ ID NO:32794到33002。CDR加下划线,scFv连接子加双下划线(在序列中,scFv连接子是带正电荷的scFv (GKPGS)₄连接子,但是如本领域技术人员将了解的,这个连接子可以被其它连接子代替,包含不带电荷的连接子或带负电荷的连接子,其中一些描绘在图7中),并且斜线指示可变结构域的一个或多个边界。如上,命名约定展示了scFv从N-末端到C-末端的朝向;在本附图所列出的序列中,其均朝向为vh-scFv连接子-v1(从N-末端到C-末端),但是这些序列还可以相反朝向(从N-末端到C-末端)v1-连接子-vh使用;另外,SEQ ID NO:17135到20764、SEQ ID NO:36819到36962、SEQ ID NO:35417到35606、SEQ ID NO:25194到32793和SEQ ID NO:32794到33002中的一些序列处于相反朝向。如本文中所指出的并且如本文中含有CDR的每个序列的真实情况那样,对CDR位置的精确鉴定可以根据如表1所示使用的编号而略有不同,并且因此本文中所包含的不仅有加下划线的CDR,还有使用其它编号系统的vh和v1结构域内所包含的CDR。此外,如对于附图中的所有序列,这些vh和v1序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0023] 图12A到图12C描绘了多个BTLAABD,其中额外的抗BTLA ABD被列为SEQ ID NO: 20885到21503和SEQ ID NO:36707到36738。CDR加下划线,scFv连接子加双下划线(在序列中,scFv连接子是带正电荷的scFv (GKPGS)₄连接子,但是如本领域技术人员将了解的,这个连接子可以被其它连接子代替,包含不带电荷的连接子或带负电荷的连接子,其中一些描绘在图7中),并且斜线指示可变结构域的一个或多个边界。如上,命名约定展示了scFv从N-末端到C-末端的朝向;在本附图所列出的序列中,其均朝向为vh-scFv连接子-v1(从N-末端到C-末端),但是这些序列还可以相反朝向(从N-末端到C-末端)v1-连接子-vh使用;另外,SEQ ID NO:20885到21503和SEQ ID NO:36707到36738中的一些序列处于相反朝向。如本文中所指出的并且如本文中含有CDR的每个序列的真实情况那样,对CDR位置的精确鉴定可以根据如表1所示使用的编号而略有不同,并且因此本文中所包含的不仅有加下划线的CDR,还有使用其它编号系统的vh和v1结构域内所包含的CDR。此外,如对于附图中的所有序列,这些vh和v1序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0024] 图13A到图13I描绘了多个TIM-3ABD,其中额外的抗TIM-3ABD被列为SEQ ID NO: 20765到20884、SEQ ID NO:37587到37698和SEQ ID NO:36347到36706。CDR加下划线,scFv连接子加双下划线(在序列中,scFv连接子是带正电荷的scFv (GKPGS)₄连接子,但是如本领域技术人员将了解的,这个连接子可以被其它连接子代替,包含不带电荷的连接子或带负电荷的连接子,其中一些描绘在图7中),并且斜线指示可变结构域的一个或多个边界。如上,命名约定展示了scFv从N-末端到C-末端的朝向;在本附图所列出的序列中,其均朝向为vh-scFv连接子-v1(从N-末端到C-末端),但是这些序列还可以相反朝向(从N-末端到C-末端)v1-连接子-vh使用;另外,SEQ ID NO:20765到20884、SEQ ID NO:37587到37698和SEQ ID NO:36347到36706中的一些序列处于相反朝向。如本文中所指出的并且如本文中含有CDR的每个序列的真实情况那样,对CDR位置的精确鉴定可以根据如表1所示使用的编号而

略有不同,并且因此本文中所包含的不仅有加下划线的CDR,还有使用其它编号系统的vh和vl结构域内所包含的CDR。此外,如对于附图中的所有序列,这些vh和vl序列可以scFv格式或Fab格式使用。

[0025] 图14A到图14I描绘了开瓶器格式(Fab-scFv-Fc)的特异性抗CTLA-4X抗PD-1抗体的氨基酸序列。抗体使用以下进行命名:通过破折号分开的首先Fab可变区和其次scFv可变区,随后是链名称(Fab-Fc重链、scFv-Fc重链或轻链)。CDR加下划线,并且斜线指示可变区的一个或多个边界。scFv结构域具有如所示不同朝向(N-末端到C-末端)vh-连接子-vl或vl-连接子-vh,但是这可以颠倒。另外,本文所概述的每个序列均可以包含或不包含一个或优选地这两个Fc结构域中的M428L/N434S变体,这产生了较长的血清半衰期。

[0026] 图15A到图15K描绘了特异性抗LAG-3X抗PD-1Fab-scFv-Fc双特异性抗体的氨基酸序列。抗体使用以下进行命名:通过破折号分开的首先Fab可变区和其次scFv可变区,随后是链名称(Fab-Fc重链、scFv-Fc重链或轻链)。CDR加下划线,并且斜线指示可变区的一个或多个边界。scFv结构域具有朝向(N-末端到C-末端)vl-连接子-vh,但是这可以颠倒。另外,本文所概述的每个序列均可以包含或不包含一个或优选地这两个Fc结构域中的M428L/N434S变体,这产生了较长的血清半衰期。

[0027] 图16描绘了特异性抗BTLA抗PD-1Fab-scFv-Fc双特异性抗体的氨基酸序列。抗体使用以下进行命名:通过破折号分开的首先Fab可变区和其次scFv可变区,随后是链名称(Fab-Fc重链、scFv-Fc重链或轻链)。CDR加下划线,并且斜线指示可变区的一个或多个边界。scFv结构域具有朝向(N-末端到C-末端)vl-连接子-vh,但是这可以颠倒。另外,本文所概述的每个序列均可以包含或不包含一个或优选地这两个Fc结构域中的M428L/N434S变体,这产生了较长的血清半衰期。

[0028] 图17描绘了特异性抗LAG-3X抗CTLA-4Fab-scFv-Fc双特异性抗体的氨基酸序列。抗体使用以下进行命名:通过破折号分开的首先Fab可变区和其次scFv可变区,随后是链名称(Fab-Fc重链、scFv-Fc重链或轻链)。CDR加下划线,并且斜线指示可变区的一个或多个边界。scFv结构域具有朝向(N-末端到C-末端)vh-连接子-vl,但是这可以颠倒。另外,本文所概述的每个序列均可以包含或不包含一个或优选地这两个Fc结构域中的M428L/N434S变体,这产生了较长的血清半衰期。

[0029] 图18示出了一些抗LAG-3杂交瘤筛选的结果。将10 μ L中的1pg人LAG-3-hIg与50 μ L杂交瘤上清液(在RPMI培养基中用10% FBS进行2倍稀释8次)在室温下混合20分钟。加入40 μ L Daudi或Ramos细胞(所述细胞内源地表达MHC-II)并在4 $^{\circ}$ C下孵育30分钟。然后洗涤细胞并用抗人-Fc-Alexa647第二抗体孵育30分钟。然后洗涤细胞并针对Alexa647通过FACS进行分析。

[0030] 图19A和图19B描绘了在对人PBMC进行SEB刺激和用抗CTLA-4X抗PD-1双特异性抗体进行处理后的细胞因子释放测定(A:IL-2,B:IFN γ)。

[0031] 图20A到图20C描绘了在人PBMC在第0天移植到NGS小鼠中、随后在第1天用所示测试品给药之后第14天的CD45+事件和CD8+事件。

[0032] 图21A和图21B描绘了在SEB刺激的PBMC测定中通过从抗TIM-3杂交瘤生成的嵌合抗体进行的T细胞结合。

[0033] 图22描绘了来自三个实验的一些抗TIM-3抗原结合结构域工程化数据。这描绘了

二价实施例的XENP编码、衍生的克隆、vh和v1工程化结构域的名称、KD结合常数、如通过八隅体 (Octet) 测量的人TIM-3的缔合常数和解离常数。

[0034] 图23A到图23N描绘了一些抗PD-1抗原结合结构域工程化数据。这描绘了二价和scFv实施例的XENP编码、vh和v1工程化结构域的名称、scFv朝向 (N-末端到C-末端)、通过八隅体测量的人PD-1的KD结合常数、以及scFv的T_m。

[0035] 图24A到图24G描绘了一些抗CTLA-4Fab筛选的结果。这描绘了Fab和scFv实施例的XENP编码、vh和v1工程化结构域的名称、通过八隅体测量的人和食蟹猴CTLA-4的KD结合常数、以及scFv和Fab的T_m。另外,与至少一个人VH或VL种系精确匹配的多个序列9聚体被描绘成Fab和scFv的可变区的人源性的量度。

[0036] 图25描绘了通过以下来增强IL-2释放的混合淋巴细胞反应:单独的纳武单抗 (抗PD-1单克隆抗体,作为**Opdivo®**销售)、单独的伊匹单抗 (抗CTLA-4单克隆抗体,作为**Yervoy®**销售)、基于纳武单抗和伊匹单抗臂的原型抗CTLA-4x抗PD-1双特异性抗体、以及“单臂”组合对照物。

[0037] 图26描绘了通过以下来增强IL-2释放的混合淋巴细胞反应:具有变体抗CTLA-4Fab臂和变体抗PD-1scFv臂的抗CTLA-4x抗PD-1双特异性抗体、以及单独的纳武单抗、单独的伊匹单抗以及基于纳武单抗和伊匹单抗的原型抗CTLA-4x抗PD-1双特异性抗体作为对照物。

[0038] 图27示出了抗CTLA-4x抗PD-1双特异性抗体增强了人PBMC移植的NSG小鼠的移植 (如通过人CD45计数测量的)。此增强大于单独利用纳武单抗 (XENP16432) 看到的增强 (虚线)。

[0039] 图28描绘了移植物抗宿主疾病中体重与CD45细胞计数之间的相关性,从而证明了CD45细胞水平预示疾病。

[0040] 图29描绘了图27所描绘的研究中CD45细胞计数与IFN γ 释放之间的相关性。

[0041] 图30示出了抗CTLA-4x抗PD-1双特异性抗体增强了人PBMC移植的NSG小鼠的移植 (如通过人CD45计数测量的)。此增强大于单独利用纳武单抗 (XENP 16432) 看到的增强 (虚线)。

[0042] 图31描绘了图30所描绘的研究中CD45细胞计数与IFN γ 释放之间的相关性。

[0043] 图32示出了图27和图30所描绘的研究之间的测试品效果比较,从而证明了抗PD-1x抗CTLA-4双特异性检查点抗体相比于单独的纳武单抗具有一致优势。

[0044] 图33A和图33B示出了混合淋巴细胞反应的结果以评估抗CTLA-4x抗PD-1、抗LAG-3x抗PD-1和抗LAG-3x抗CTLA-4双特异性抗体。将分析物水平归一化到通过纳武单抗单独诱导的那些 (大于1的值表示相对于纳武单抗增强)。

[0045] 图34示出了SEB反应以评估抗LAG-3x抗CTLA-4双特异性抗体。相对于对照物,抗LAG-3x抗CTLA-4双特异性抗体本身增强了IL-2应答,但是其不如单独的纳武单抗。然而,与纳武单抗组合的抗LAG-3x抗CTLA-4双特异性抗体产生了比单独的任一者显著更高的IL-2应答。

[0046] 图35示出了抗CTLA-4x抗PD-1、抗LAG-3x抗PD-1、抗BTLA_x抗PD-1和抗LAG-3x抗CTLA-4双特异性抗体增强了人PBMC移植的NSG小鼠的移植 (如通过人CD45计数测量的)。此

增强大于单独利用纳武单抗 (XENP 16432) 看到的增强。而且, 抗LAG-3x抗CTLA-4双特异性抗体与纳武单抗组合以产生最高移植水平。

[0047] 图36A和图36B示出了抗BTLA_x抗PD-1双特异性抗体需要破坏HVEM/BTLA相互作用以拥有与纳武单抗相等的去阻遏活性。

[0048] 图37A到图37E示出了基于人IgG1的几个有用开瓶器格式主链的序列, 无Fv序列 (例如, scFv以及在Fab侧的vh和vl)。开瓶器主链1基于人IgG1 (356E/358M同种异型), 并且包含S364K/E357Q:L368D/K370S倾斜变体、在Fab侧的N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体和和在两种链上的E233P/L234V/L235A/G236del/S267K消融变体。开瓶器主链2基于人IgG1 (356E/358M同种异型), 并且包含不同的倾斜变体、在Fab侧的N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体和和在两种链上的E233P/L234V/L235A/G236del/S267K消融变体。开瓶器主链3基于人IgG1 (356E/358M同种异型), 并且包含不同的倾斜变体、在Fab侧的N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体和和在两种链上的E233P/L234V/L235A/G236del/S267K消融变体。开瓶器主链4基于人IgG1 (356E/358M同种异型), 并且包含不同的倾斜变体、在Fab侧的N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体和和在两种链上的E233P/L234V/L235A/G236del/S267K消融变体。开瓶器主链5基于人IgG1 (356D/358L同种异型), 并且包含S364K/E357Q:L368D/K370S倾斜变体、在Fab侧的N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体和和在两种链上的E233P/L234V/L235A/G236del/S267K消融变体。开瓶器主链6基于人IgG1 (356E/358M同种异型), 并且包含S364K/E357Q:L368D/K370S倾斜变体、在Fab侧的N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体和和在两种链上的E233P/L234V/L235A/G236del/S267K消融变体以及在两种链上的N297A变体。除了突变是N297S外, 开瓶器主链7与开瓶器主链7相同。开瓶器主链6和开瓶器主链7的替代格式可以不包含两种链中的消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K。主链8基于人IgG4, 并且包含S364K/E357Q:L368D/K370S倾斜变体、在Fab侧的N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体和和在两种链上的E233P/L234V/L235A/G236del/S267K消融变体以及在两种链上的如本领域已知的那样消融Fab臂交换的S228P (EU编号, 这是Kabat中的S241P) 变体。开瓶器主链8的替代格式可以不包含两种链中的消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K。主链9基于人IgG2, 并且包含S364K/E357Q:L368D/K370S倾斜变体、在Fab侧的N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体。主链10基于人IgG2, 并且包含S364K/E357Q:L368D/K370S倾斜变体、在Fab侧的N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体以及在两种链上的S267K变体。

[0049] 如本领域技术人员将了解的并且如下文所概述的, 这些序列可以与本文所概述的任何vh和vh对一起使用, 一个单体包含scFv (任选地包含带电荷scFv连接子) 并且另一个单体包含Fab序列 (例如, vh与“Fab侧重链”连接并且vl与“恒定轻链”连接)。即, 无论是作为scFv (再次, 任选地具有带电荷scFv连接子) 还是作为Fab, 本文所概述的用于抗CTLA-4、抗PD-1、抗LAG-3、抗TIM-3、抗TIGIT和抗BTLA的任何Fv序列均可以任何组合并入图37的这些主链中。图37A所描绘的恒定轻链可以用于此图中的所有构建体, 但是κ恒定轻链也可以被取代。

[0050] 应注意, 这些开瓶器主链用于图1F的中央scFv格式, 其中具有与第一Fab相同的抗原结合的第二Fab (vh-CH1和vl-恒定轻) 加入到在“开瓶器侧”的scFv的N-末端。

[0051] 这些主链中的每一个内包含 (如本文所定义的) 与所列举序列90%、95%、98%和

99%相同的序列,和/或含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个额外的氨基酸取代(如与附图的“亲本”相比,所述亲本如本领域技术人员将了解的如与亲本人IgG1(或IgG2或IgG4,这取决于主链)相比已经含有多个氨基酸修饰)。即,除了此图的主链内所含的倾斜变体、pI变体和消融变体之外,所列举主链可以含有额外的氨基酸修饰(通常是氨基酸取代)。

[0052] 图38A到图38D示出了本发明所使用的mAb-scFv主链的序列,本发明的Fv序列加入到所述序列。mAb-scFv主链1基于人IgG1(356E/358M同种异型),并且包含S364K/E357Q:L368D/K370S倾斜变体、在Fab侧的N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体和和在两种链上的E233P/L234V/L235A/G236del/S267K消融变体。主链2基于人IgG1(356D/358L同种异型),并且包含S364K/E357Q:L368D/K370S倾斜变体、在Fab侧的N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体和和在两种链上的E233P/L234V/L235A/G236del/S267K消融变体。主链3基于人IgG1(356E/358M同种异型),并且包含S364K/E357Q:L368D/K370S倾斜变体、在Fab侧的N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体和和在两种链上的E233P/L234V/L235A/G236del/S267K消融变体以及在两种链上的N297A变体。除了突变是N297S外,主链4与主链3相同。mAb-scFv主链3和mAb-scFv主链4的替代格式可以不包含两种链中的消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K。主链5基于人IgG4,并且包含S364K/E357Q:L368D/K370S倾斜变体、在Fab侧的N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体和和在两种链上的E233P/L234V/L235A/G236del/S267K消融变体以及在两种链上的如本领域已知的那样消融Fab臂交换的S228P(EU编号,这是Kabat中的S241P)变体。主链6基于人IgG2,并且包含S364K/E357Q:L368D/K370S倾斜变体、在Fab侧的N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体。主链7基于人IgG2,并且包含S364K/E357Q:L368D/K370S倾斜变体、在Fab侧的N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D pI变体以及在两种链上的S267K变体。

[0053] 如本领域技术人员将了解的并且如下文所概述的,这些序列可以与本文所概述的任何vh和vh对一起使用,一个单体包含Fab和scFv(任选地包含带电荷scFv连接子)并且另一个单体包含Fab序列(例如,vh与“Fab侧重链”连接并且v1与“恒定轻链”连接)。即,无论是作为scFv(再次,任选地具有带电荷scFv连接子)还是作为Fab,本文所概述的用于抗CTLA-4、抗PD-1、抗LAG-3、抗TIM-3、抗TIGIT和抗BTLA的任何Fv序列均可以任何组合并入图38的这个主链中。单体1侧是Fab-scFv pI负侧,并且包含异源二聚体化变体L368D/K370S、同配pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K(均相对于IgG1)。单体2侧是scFv pI正侧,并且包含异源二聚体化变体364K/E357Q。但是,其它倾斜变体对可以被取代,尤其是[S364K/E357Q:L368D/K370S]、[L368D/K370S:S364K]、[L368E/K370S:S364K]、[T411T/E360E/Q362E:D401K]、[L368D/K370S:S364K/E357L]、[K370S:S364K/E357Q]、[T366S/L368A/Y407V:T366W]和[T366S/L368A/Y407V/Y394C:T366W/S354C]。

[0054] 图38A所描绘的恒定轻链可以用于此图中的所有构建体,但是κ恒定轻链也可以被取代。

[0055] 应注意,这些mAb-scFv主链用于图1H的mAb-Fv格式(其中,一个单体包括C-末端处的v1并且另一个包括C-末端处的vh)以及图1E的scFv-mAb格式(scFv结构域加入到所述单体中的一个的C-末端)。

[0056] 这些主链中的每一个内包含(如本文所定义的)与所列举序列90%、95%、98%和99%相同的序列,和/或含有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个额外的氨基酸取代(如与附图的“亲本”相比,所述亲本如本领域技术人员将了解的如与亲本人IgG1(或IgG2或IgG4,这取决于主链)相比已经含有多个氨基酸修饰)。即,除了此图的主链内所含的倾斜变体、pI变体和消融变体之外,所列举主链可以含有额外的氨基酸修饰(通常是氨基酸取代)。

[0057] 图39A和图39B描绘了本发明的双特异性检查点抗体的可能组合的矩阵。在图39A中,组合不受格式限制,并且可以使用图1的任何格式。框中的“A”意指来自(X轴上列出的)第一ABD的CDR可以与(Y轴上列出的)第二ABD的CDR。框中的“B”意指来自第一ABD的vh链和v1链可以与来自第二ABD的vh链和v1链组合。框中的“C”意指来自第一ABD的CDR可以与来自第二ABD的vh链和v1链组合。框中的“D”意指来自第一ABD的vh链和v1链可以与来自第二ABD的CDR组合。框中的“E”意指PD-1ABD选自以下的群组:1G6_H1.279_L1.194;1G6_H1.280_L1.224;1G6_L1.194_H1.279;1G6_L1.210_H1.288;以及2E9_H1L1。框中的“F”意指CTLA-4ABD选自以下的群组:[CTLA-4]_H0.25_L0;[CTLA-4]_H0.26_L0;[CTLA-4]_H0.27_L0;[CTLA-4]_H0.29_L0;[CTLA-4]_H0.38_L0;[CTLA-4]_H0.39_L0;0[CTLA-4]_H0.40_L0;[CTLA-4]_H0.70_L0;[CTLA-4]_H0_L0.22;[CTLA-4]_H2_L0;[CTLA-4]_H3.21_L0.124;[CTLA-4]_H3.21_L0.129;[CTLA-4]_H3.21_L0.132;[CTLA-4]_H3.23_L0.124;[CTLA-4]_H3.23_L0.129;[CTLA-4]_H3.23_L0.132;[CTLA-4]_H3.25_L0.124;[CTLA-4]_H3.25_L0.129;[CTLA-4]_H3.25_L0.132;[CTLA-4]_H3.4_L0.118;[CTLA-4]_H3.4_L0.119;[CTLA-4]_H3.4_L0.12;[CTLA-4]_H3.4_L0.121;[CTLA-4]_H3.4_L0.122;[CTLA-4]_H3.4_L0.123;[CTLA-4]_H3.4_L0.124;[CTLA-4]_H3.4_L0.125;[CTLA-4]_H3.4_L0.126;[CTLA-4]_H3.4_L0.127;[CTLA-4]_H3.4_L0.128;[CTLA-4]_H3.4_L0.129;[CTLA-4]_H3.4_L0.130;[CTLA-4]_H3.4_L0.131;[CTLA-4]_H3.4_L0.132;[CTLA-4]_H3.5_L2.1;[CTLA-4]_H3.5_L2.2;[CTLA-4]_H3.5_L2.3;[CTLA-4]_H3_L0;[CTLA-4]_H3_L0.22;[CTLA-4]_H3_L0.44;[CTLA-4]_H3_L0.67;以及[CTLA-4]_H3_L0.74。框中的“G”意指TIM-3ABD选自以下的群组:1D10_H0L0;1D12_H0L0;3H3_H1_L2.1;6C8_H0L0;6D9_H0_1D12_L0;7A9_H0L0;7B11_H0L0;7B11var_H0L0;以及7C2_H0L0。框中的“H”意指LAG-3ABD选自以下标识符的群组:2A11_H0L0;2A11_H1.125_L2.113;2A11_H1.144_L2.142;2A11_H1_L2.122;2A11_H1_L2.123;2A11_H1_L2.124;2A11_H1_L2.25;2A11_H1_L2.47;2A11_H1_L2.50;2A11_H1_L2.91;2A11_H1_L2.93;2A11_H1_L2.97;2A11_H1L1;2A11_H1L2;2A11_H2L2;2A11_H3L1;2A11_H3L2;2A11_H4L1;2A11_H4L2;7G8_H0L0;7G8_H1L1;7G8_H3.18_L1.11;7G8_H3.23_L1.11;7G8_H3.28_L1;7G8_H3.28_L1.11;7G8_H3.28_L1.13;7G8_H3.30_L1.34;7G8_H3.30_L1.34;以及7G8_H3L1。框中的“I”意指框中的“J”意指BTLAABD选自群组:9C6_H0L0;9C6_H1.1_L1;以及9C6_H1.11_L1。除了图39B是针对开瓶器格式之外,图39B与图39A相同。在图39B中,当第一ABD结合PD-1时,第一ABD是scFv单体,并且其它ABD(CTLA-4、LAG-3、TIGIT、TIM-3和BTLA)处于Fab单体中。在图39B中,当第一ABD结合CTLA-4时,其处于scFv单体中(当其是Fab侧时,与PD-1组合时除外),其它ABD(CTLA-4、LAG-3、TIGIT、TIM-3和BTLA)处于Fab单体中。

[0058] 图40描绘了可能的开瓶器格式组合的矩阵。框中的“Q”意指(再次,X轴上列出的)第一ABD结构域是scF并且(再次,Y轴上列出的)第二ABD是Fab侧。框中的“R”意指第一ABD是

Fab侧并且第二ABD是scFv。框中的“S”意指第一ABD是抗PD-1并且是scFv侧。框中的“T”意指第一ABD是抗CTLA-4并且是scFv侧。框中的“U”意指第一ABD是抗TIM-3并且是scFv侧。框中的“V”意指第一ABD是抗LAG-3并且是scFv侧。框中的“W”意指第一ABD是抗TIGIT并且是scFv侧。框中的“X”意指第一ABD是抗BTLA并且是scFv侧。另外,图39中的每个组合可以使用图38的CDR、scFv以及vh和vl组合。另外,图39的开瓶器主链的特定实施例是图36的序列。

[0059] 图41A和图41B描绘了与使用两种不同的抗体或药物的组合疗法相比,双特异性检查点抗体可以提供的益处所关联的示意图。

[0060] 图42描绘了类似示意图,示出了因为肿瘤TIL共同表达多个检查点,因此二价结合增加了亲和力,从而增强了抗肿瘤活性并避免了外围毒性。

[0061] 图43示出了本发明的双特异性检查点抗体(例如,抗LAG-3x抗CTLA-4)可以与其它单特异性检查点抗体(例如,纳武单抗、派姆单抗)组合。

[0062] 图44示出了PD-1和CTLA-4以各种肿瘤类型进行共同表达,包含膀胱癌、乳腺癌、大肠癌、前列腺癌、肺癌、黑色素瘤和卵巢癌。

[0063] 图45A到图45C描绘了对IL-2增强的比较:在SEB刺激的PBMC测定中,B)抗PD-1二价抗体与抗CTLA-4x抗PD-1的比较和C)单臂抗PD-1+单臂抗CTLA-4与抗CTLA-4x抗PD-1的比较、以及C)在没有SEB刺激的情况下的对照实验。

[0064] 图46A和图46B描绘了相比于单臂抗PD-1抗体和单臂抗CTLA-4抗体,PD-1通过示例性抗CTLA-4x抗PD-1双特异性抗体对配体PD-L1和PD-L2的阻断。

[0065] 图47描绘了SEB刺激的PBMC测定中通过示例性抗CTLA-4x抗PD-1双特异性抗体进行的T细胞结合。

[0066] 图48示出了抗CTLA-4x抗PD-1双特异性抗体增强了人PBMC移植的NSG小鼠的移植(如通过人CD45计数测量的)。此增强大于单独利用纳武单抗(XENP 16432)看到的增强。

[0067] 图49示出了在SEB刺激的PBMC测定中,相比于“单臂”对照物,抗BTLA x抗PD-1双特异性候选物更亲和地结合T细胞。

[0068] 图50A和图50B示出了抗BTLAx抗PD-1嵌合双特异性抗体促进IL-2从SEB刺激的PBMC分泌。通过所示测试品用10ng/mL SEB刺激PBMC 3天。收集细胞上清液并通过MSD来测定所述细胞上清液中的所示分析物。A:20μg/mL测试品;B:5μg/mL测试品。

[0069] 图51A和图51B示出了抗BTLAx抗PD-1嵌合双特异性抗体促进IFN γ 从SEB刺激的PBMC分泌。通过所示测试品用10ng/mL SEB刺激PBMC 3天。收集细胞上清液并通过MSD来测定所述细胞上清液中的所示分析物。A:20μg/mL测试品;B:5μg/mL测试品。

[0070] 图52A和图52B示出了抗BTLAx抗PD-1双特异性抗体(是嵌合的并且具有人源化/优化的抗BTLA Fab臂)促进IL-2和IFN-γ 从SEB刺激的PBMC分泌。两个图均是通过所示20μg/mL测试品用10ng/mL SEB刺激3天的PBMC。72小时后收集细胞上清液并测定所述细胞上清液中的所示分析物。

[0071] 图53A到图53F示出了GVHD研究中通过示例性抗BTLAx抗PD-1双特异性抗体进行的CD45细胞计数增强和IFN γ 分泌时程(第10天、第14天和第22天)。

[0072] 图54描绘了一些9C6抗BTLA抗原结合结构域工程化数据。这描绘了二价实施例的XENP编码、vh和vl工程化结构域的名称和如通过八隅体测量的人BTLA的KD结合常数。

[0073] 图55A到图55E描绘了一些2A11抗LAG-3抗原结合结构域工程化数据。这描绘了Fab

实施例的XENP编码、vh和vl工程化结构域的名称、如通过八隅体测量的人LAG-3的KD结合常数以及Fab的Tm。

[0074] 图56A到图56K描绘了一些7G8抗LAG-3抗原结合结构域工程化数据。这描绘了Fab实施例的XENP编码、vh和vl工程化结构域的名称、如通过八隅体测量的人LAG-3的KD结合常数以及Fab的Tm。

[0075] 图57A和图57B描绘了如通过八隅体测量的基于优化2A11或7G8抗LAG-3Fab臂的抗LAG-3X抗CTLA-4双特异性异源二聚体开瓶器格式的Kd。

[0076] 图58示出了抗LAG-3(7G8)x抗CTLA-4和抗LAG-3(2A11)x抗CTLA-4双特异性抗体比单臂抗LAG-3对照物更亲和地结合。用100ng/mL SEB刺激PBMC 3天。然后将细胞在4°C下用所示测试品处理30分钟并洗涤两次。然后用抗CD3-FITC和抗人-Fc-APC抗体来处理细胞。然后将细胞洗涤两次并通过流式细胞术进行分析。

[0077] 图59A和图59B示出了如IL-2增强和IFN γ 释放所示,基于7G8的抗LAG-3x抗CTLA-4双特异性抗体对PBMC展现出比基于2A11的抗LAG-3x抗CTLA-4双特异性抗体更有选择性的功能。用500ng/mL SEB刺激PBMC 2天。然后将细胞在培养基中洗涤两次并结合所示量的测试品用500ng/mL SEB进行刺激。处理后24小时,测定细胞的所示分析物(IL-2或IFN- γ)。每个点表示在技术单线态下测试的唯一供体。

[0078] 图60A和图60B描绘了与抗LAG-3X抗CTLA-4双特异性抗体的混合淋巴细胞反应(MLR)。在20ug/mL所示测试品存在的情况下进行40个独特的MLR反应。然后在处理6天后通过MSD来测定细胞上清液的A:IL-2和B:IFN γ 。

[0079] 图61A和图61B示出了SEB测定中通过额外的抗LAG-3X抗CTLA-4候选物进行的IL-2增强和IFN γ 释放。用500ng/mL SEB刺激PBMC 2天。然后将细胞在培养基中洗涤两次并结合所示量的测试品用500ng/mL SEB进行刺激。处理后24小时,测定细胞的所示分析物(IL-2或IFN- γ)。每个点表示在技术单线态下测试的唯一供体。

[0080] 图62A和图62B描绘了如通过八隅体测量的基于优化2A11或7G8抗LAG-3Fab臂的抗LAG-3X抗PD-1双特异性异源二聚体开瓶器格式的Kd。

[0081] 图63A和图63B描绘了人源化/优化7G8和2A11抗LAG-3克隆阻断LAG-3与同源性地表达MHC-II的细胞的结合的能力。

[0082] 图64A和图64B描绘了针对SEB刺激的T细胞的抗LAG-3x抗PD-1候选物功能。用500ng/mL SEB刺激PBMC 2天。然后将细胞在培养基中洗涤两次并结合所示量的测试品用500ng/mL SEB进行刺激。处理后24小时,测定细胞的所示分析物。每个点表示在技术单线态下测试的唯一供体。

[0083] 图65是示出肿瘤浸润性淋巴细胞(TIL)共同表达各个肿瘤中的多个检查点受体的图。具体地说,图示出了各种肿瘤共同表达PD-1和CTLA-4、PD-1和BTLA、PD-1和LAG-3;以及LAG-3和CTLA-4。所示结果基于通过TCGA研究网(TCGA Research network)生成的数据:

[0084] <http://cancergenome.nih.gov/>

[0085] 图66示出了本文所提供的受试者双特异性抗体选择性地靶向双重检查点阳性T细胞。如相比于阴性对照物,双特异性PD-1x LAG-3抗体用于示出通过葡萄球菌肠毒素B(SEB)刺激的CD3+T细胞中的PD-1和LAG-3受体占用。

[0086] 图67A到图67F是示出本文所提供的受试者抗体的组分抗体结构域能够阻断检查

点受体/配体相互作用的图。

[0087] 具体地说,包括1G6抗PD-1scFv臂的双特异性抗体能够阻断PD-1/PD-L1相互作用和PD-1/PD-L2相互作用;7G8抗LAG-3单臂能够阻断LAG-3/MHC II相互作用;包括示例性抗PD-1Fab臂的双特异性抗体能够阻断CTLA-4/CD80相互作用和CTLA-4/CD86相互作用;并且包括9C6抗BTLAFab臂的双特异性抗体能够阻断BTLA/HVEM相互作用。

[0088] 图68比较了通过示例性抗CTLA-4x抗PD-1双特异性抗体和纳武单抗进行的IL-2释放增强。

[0089] 图69比较了通过示例性抗LAG-3x抗CTLA-4双特异性抗体、相同双特异性抗体结合纳武单抗以及单独的纳武单抗进行的IL-2释放增强。

[0090] 图70比较了通过示例性抗LAG-3x抗PD-1双特异性抗体和纳武单抗进行的IL-2释放增强。

[0091] 图71比较了通过示例性抗BTLAx抗PD-1双特异性抗体和纳武单抗进行的IL-2释放增强。

[0092] 图72比较了通过示例性抗PD-1x抗CTLA-4双特异性抗体、单独的纳武单抗以及纳武单抗结合伊匹单抗进行的GVHD增强(如CD45细胞计数所示)。

[0093] 图73比较了通过示例性抗BTLAx抗PD-1双特异性抗体和纳武单抗进行的GVHD增强(如CD45细胞计数所示)。

[0094] 图74比较了通过示例性抗LAG-3x抗CTLA-4双特异性抗体、相同双特异性抗体结合纳武单抗以及单独的纳武单抗进行的GVHD增强(如CD45细胞计数所示)。

[0095] 图75比较了通过示例性抗LAG-3x抗PD-1双特异性抗体和纳武单抗进行的GVHD增强(如CD45细胞计数所示)。

[0096] 图76A到图76B描绘了两个研究,从而示出了抗CTLA-4x抗PD-1双特异性抗体可以促进体内T细胞介导的抗肿瘤功效。将KGIa-luc癌细胞移植到小鼠中。二十一天后,将huPMC移植到相同小鼠中并施用每周抗体治疗(抗CTLA-4x抗PD-1双特异性抗体;抗PD-1二价抗体;或抗PD-1二价抗体+抗CTLA-4二价抗体)。如通过肿瘤通量变化确定的,对小鼠实施IVIS癌细胞成像以估计癌细胞大小。

具体实施方式

[0097] A.材料合并

[0098] 1.附图和图例

[0099] USSN 62,350,145、62/353,511和62/420,500的所有附图和所附图例均明确且独立地通过引用以其全文并入本文中,特别用于其中所描绘的氨基酸序列。

[0100] 2.序列

[0101] 参考所附序列表如下:适于用作ABD的抗PD-1序列包含SEQ ID NO:6209到11464(PD-1scFv序列,但是其中的Fv序列可以格式化为Fab)、SEQ ID NO:11465到17134(PD-1Fab序列,但是其中的Fv序列可以格式化为scFv)、SEQ ID NO:33003到33072(额外的PD-1Fab序列,但是其中的Fv序列可以格式化为scFv)、SEQ ID NO:33073到35394(额外的PD-1scFv序列,但是其中的Fv序列可以格式化为Fab)和SEQ ID NO:36127到36146(PD-1二价构建体,所述PD-1二价构建体可以格式化为scFv或Fab)。适于用作ABD的抗CTLA-4序列包含SEQ ID

N0:21到2918(CTLA-4scFv序列,但是其中的Fv序列可以格式化为Fab)、SEQ ID N0:2919到6208(CTLA-4Fab序列,但是其中的Fv序列可以格式化为scFv)、SEQ ID N0:36739到36818(额外的CTLA-4Fab序列,但是其中的Fv序列可以格式化为scFv)和SEQ ID N0:35395到35416(CTLA-4单臂构建体,所述CTLA-4单臂构建体可以格式化为scFv或Fab)。适于用作ABD的抗LAG-3序列包含SEQ ID N0:17135到20764(LAG-3Fab,但是其中的Fv序列可以格式化为scFv)、SEQ ID N0:36819到36962(额外的LAG-3Fab,但是其中的Fv序列可以格式化为scFv)、SEQ ID N0:35417到35606(额外的LAG-3Fab,但是其中的Fv序列可以格式化为scFv)、SEQ ID N0:25194到32793(额外的LAG-3Fab,但是其中的Fv序列可以格式化为scFv)和SEQ ID N0:32794到33002(单臂LAG-3构建体,所述单臂LAG-3构建体可以格式化为Fab或scFv)。适于用作ABD的抗TIM-3序列包含SEQ ID N0:20765到20884(TIM-3Fab,但是其中的Fv序列可以格式化为scFv)、SEQ ID N0:37587到37698(额外的TIM-3Fab,但是其中的Fv序列可以格式化为scFv)和SEQ ID N0:36347到36706(二价TIM-3构建体,所述二价TIM-3构建体可以格式化为Fab或scFv)。适于用作ABD的抗BTLA序列包含SEQ ID N0:20885到21503(BTLAFab,但是其中的Fv序列可以格式化为scFv)和SEQ ID N0:36707到36738(额外的BTLAFab,但是其中的Fv序列可以格式化为scFv)。适于用作ABD的抗TIGIT序列包含SEQ ID N0:21504到21523(TIGIT Fab,但是其中的Fv序列可以格式化为scFv)和SEQ ID N0:37435到37586(额外的TIGIT Fab,但是其中的Fv序列可以格式化为scFv)。

[0102] 本发明的双特异性抗体包含SEQ ID N0:35607到35866和SEQ ID N0:21524到22620的LAG3 X CTLA4构建体。PD-1X CTLA4构建体包含列为SEQ ID N0:36167到36346和SEQ ID N0:23316到23735的那些。PD-1X TIM3构建体包含列为SEQ ID N0:25174到25193的那些。PD-1X LAG3构建体包含列为SEQ ID N0:35867到36126和SEQ ID N0:23736到25133的那些。PD-1XTIGIT构建体包含列为SEQ ID N0:25134到25173的那些。PD-1X BTLA构建体包含列为SEQ ID N0:22724到23315和SEQ ID N0:36147到36166的那些。CTLA4 X BTLA构建体包含列为SEQ ID N0:22624到22723的那些。最终,非故意遗漏的以下的名称均本应已在标题中包含符号“M428L/N434S”:XENP23552、XENP22841、XENP22842、XENP22843、XENP22844、XENP22845、XENP22846、XENP22847、XENP22848、XENP22849、XENP22850、XENP22851、XENP22852、XENP22858、XENP22854、XENP22855。

[0103] B. 综述

[0104] 针对如PD-1等免疫检查点抑制剂的治疗性抗体在临床上、在有限情况下、在治疗癌症方面示出了很大希望。癌症可被视为患者不能识别和消除癌细胞。在许多情形下,这些转化的(例如,癌性的)细胞抵消免疫监视。存在限制体内T细胞活化以阻止无限制的T细胞活性的天然控制机制,所述天然控制机制可以被癌细胞用于规避或遏制免疫应答。恢复免疫效应细胞—尤其是T细胞—识别和消除癌症的能力是免疫疗法的目标。有时被称为“免疫疗法”的免疫肿瘤学领域正在迅速进化,最近获批了几种T细胞检查点抑制抗体如Yervoy、Keytruda和Opdivo。这些抗体通常被称为“检查点抑制剂”,因为其阻断了T细胞免疫的正常负调节物。通常应理解,共刺激且共抑制的各种免疫调节信号可以用于协调最佳抗原特异性免疫应答。

[0105] 通常,这些单克隆抗体与如CTLA-4和PD-1等检查点抑制蛋白结合,所述检查点抑制蛋白在正常情况下阻止或遏制细胞毒性T细胞(CTL)活化。通过抑制检查点蛋白,例如通

过使用结合那些蛋白质的抗体,可以实现针对肿瘤增加的T细胞应答。即,这些癌症检查点蛋白遏制免疫应答;当蛋白质被阻断时,例如使用针对检查点蛋白的抗体,免疫系统活化,产生免疫刺激,从而引起对如癌症和传染性疾病等病状的治疗。

[0106] 然而,如上文所讨论的,研究已经示出了TIL共同表达多个检查点受体;这可以表明,单个检查点阻断可能不足以促进T细胞完全应答。而且,表达多个检查点的TIL事实上有可能最具肿瘤反应性,从而表明涉及多于一种检查点抗原的疗法可能非常有用。

[0107] 因此,本发明提供了与表达两种抗原的细胞结合的双特异性检查点抗体以及活化T细胞和/或NK细胞以治疗如癌症和传染性疾病等疾病以及其中增加的免疫活性引起治疗的其它病状的方法。

[0108] 因此,在一些情形下,本发明涉及解决通过提供与单个细胞上的两种不同的检查点抑制剂分子结合的双特异性抗体来施用多种抗体并且有利地需要施用仅一种治疗性物质的毒性和费用问题。

[0109] 可以同时结合两种不同的靶标的双特异性抗体提供了提高靶向TIL与外围T细胞的选择性同时也降低疗法的成本的可能。抗体与细胞表面上的两个靶标的二价相互作用应当一在一些情况下一产生相对于一次与一个靶标的单价相互作用而言更高的结合亲和力。因为这样,正常的二价抗体倾向于对其在细胞表面上的靶标具有高亲和力。通过双特异性抗体,存在创建对同时表达两个不同的靶标的细胞的更高选择性的可能,从而利用通过与这两个靶标同时结合而提供的更高亲和力。

[0110] 因此,本发明涉及用于提供允许与多于一种检查点抗原或配体结合例如允许双特异性结合的异源二聚体抗体的新型构建体。因此,例如,抗PD1 x抗CTLA4 (PD1 x CTLA4) 双特异性抗体有望对PD1+CTLA4+双阳性TIL相比于单个阳性仅PD1或仅CTLA4 T细胞更具选择性。双阳性TIL相比于单阳性T细胞的选择性阻断因此有望提高组合检查点阻断的治疗指数。如本文所概述的其它可能组合也类似是这样。因此,本发明的适合的双特异性抗体结合PD-1和CTLA-4、PD-1和TIM-3、PD-1和LAG-3、PD-1和TIGIT、PD-1和BTLA、CTLA-4和TIM-3、CTLA-4和LAG-3、CTLA-4和TIGIT、CTLA-4和BTLA、TIM-3和LAG-3、TIM-3和TIGIT、TIM-3和BTLA、LAG-3和TIGIT、LAG-3和BTLA以及TIGIT和BTLA。应注意,针对每一对,这些双特异性抗体通常被命名为“抗PD-1X抗CTLA-4”或通常简化地或为方便起见(并且因此可互换地)被命名为“PD-1X CTLA-4”等。

[0111] 本发明的异源二聚体双特异性检查点抗体可用于治疗各种类型的癌症。如本领域技术人员将连接的,相比于与肿瘤抗原结合的传统单克隆抗体或结合例如CD3和肿瘤抗原的更新类别的双特异性抗体(如例如USSN 15/141,350所述),检查点抗体用于增加免疫应答但通常在其作用中并不具有肿瘤特异性。即,本发明的双特异性检查点抗体抑制对免疫系统的遏制,通常产生T细胞活化,这进而产生了对癌细胞的更大免疫应答并且因此产生治疗。此类抗体可能因此有望用于治疗各种肿瘤类型。例如,FDA最近批准了**Keytruda®**,基于遗传特征的抗PD-1单特异性抗体而非肿瘤型。

[0112] 如下文所讨论的,存在各种方式可以测量T细胞活化。可以通过测量以下参数的变化来在体外(并且在一些情况下是在体内,如下文更加充分地描述的)估计双特异性检查点抗体对NK细胞和T细胞的功能效应:增殖、细胞因子释放和细胞表面标志。对于NK细胞,细胞增殖的增加、细胞毒性(杀伤靶细胞的能力,如通过CD107a、粒酶和穿孔素表达的增加测量

的,或通过直接测量靶细胞杀伤)、细胞因子产生(例如,IFN- γ 和TNF)和细胞表面受体表达(例如,CD25)指示免疫调节,例如增强的癌细胞杀伤。对于T细胞,增殖的增加、对活化的细胞表面标志的表达(例如,CD25、CD69、CD137和PD1)的增加、细胞毒性(能够杀伤靶细胞)和细胞因子产生(例如,IL-2、IL-4、IL-6、IFN- γ 、TNF- α 、IL-10、IL-17A)指示免疫调节,例如增强的癌细胞杀伤。因此,可以使用评估以下中的一种或多种的测定法来评估治疗:(i)免疫应答增加;(ii) $\alpha\beta$ 和/或 $\gamma\delta$ T细胞的活化增加;(iii)细胞毒性T细胞活性增加;(iv)NK和/或NKT细胞活性增加;(v) $\alpha\beta$ 和/或 $\gamma\delta$ T细胞遏制缓解;(vi)促炎细胞因子分泌增加;(vii)IL-2分泌增加;(viii)干扰素- γ 产生增加;(ix)Th1应答增加;(x)Th2应答减少;(xi)调节T细胞和细胞中的至少一种的细胞数目和/或活性减少;(xii)肿瘤免疫浸润物增加。

[0113] 因此,在一些实施例中,本发明提供了使用双特异性检查点抗体来对有需要的受试者执行以下中的一种或多种:(a)上调促炎细胞因子;(b)增加T细胞增殖、扩增或肿瘤浸润;(c)通过T细胞来增加干扰素- γ 、TNF- α 和其它细胞因子产生;(d)增加IL-2分泌;(e)刺激抗体应答;(f)抑制癌细胞生长;(g)促进抗原特异性T细胞免疫;(h)促进CD4+和/或CD8+T细胞活化;(i)缓解T细胞遏制;(j)促进NK细胞活性;(k)促进癌细胞的细胞凋亡或溶解;和/或(l)对癌细胞的细胞毒性效应或细胞生长抑制效应。

[0114] 因此,本发明提供了双特异性异源二聚体检查点抗体。异源二聚体抗体构建体是基于抗体的重链的两个Fc结构域的自组装性,例如组装成“二聚体”的两个“单体”。通过更改每个单体的氨基酸序列来形成异源二聚体抗体,如下文中更加充分地讨论的。因此,本发明总体上涉及创建异源二聚体抗体,所述异源二聚体抗体可以通过多种方式共同接合检查点抗原,这依赖于在每个链上有所不同以促进异源二聚体形成和/或允许相比于同源二聚体易于纯化异源二聚体的、在恒定区中的氨基酸变体。

[0115] 因此,本发明提供了双特异性检查点抗体。抗体技术中始终存在的问题是期望“双特异性”抗体,所述双特异性抗体与两种(或更多种)不同的抗原同时结合,通常因此允许使不同抗原接近并产生新功能和疗法。通常,这些抗体通过使每个重链和轻链的基因包含在宿主细胞中来形成(在本发明中通常是指如本文所概述的两个重链单体和轻链的基因)。这通常导致形成期望的异源二聚体(A-B)以及两个同源二聚体(A-A和B-B)。然而,形成双特异性抗体的主要阻碍是难以纯化异源二聚体抗体远离同源二聚体抗体和/或相比于同源二聚体的形成偏置异源二聚体的形成。

[0116] 为了解决这个问题,存在多种机制可以用于生成本发明的异源二聚体。另外,如本领域技术人员将了解的,这些机制可以组合以确保高异源二聚体化。因此,导致异源二聚体抗体产生的氨基酸变体被称为“异源二聚体化变体”。如下文所讨论的,异源二聚体化变体可以包含

[0117] 空间变体(例如,下文所述“隆突与空穴(knobs and holes)”或“倾斜”变体和下文所述“电荷对”)以及“pI变体”,这允许纯化同源二聚体远离异源二聚体。

[0118] 还可以任选地使用指创建空间和/或静电影响以有利于异源二聚体形成并且不利于同源二聚体形成的氨基酸工程、在本领域通常被称为“隆突与空穴”(“KIH”)或在本文中有时被称为“倾斜”变体的一种机制,如以下所述:Ridgway等人,《蛋白质工程(Protein Engineering)》9(7):617(1996);Atwell等人,《分子生物学杂志(J.Mol.Biol.)》1997 270:26;美国专利号8,216,805;US 2012/0149876,以上均通过引用以其全文并入本文。附图标

识了包含“隆突与空穴”氨基酸取代的多对“单体A-单体B”。另外,如Merchant等人《自然生物技术(Nature Biotech.)》16:677(1998)所述,这些“隆突与空穴”突变可以与二硫键组合以使形成向异源二聚体化倾斜。本发明所使用的是与T366W配对的T366S/L368A/Y407V以及与桥接二硫化物配对的这个变体、与T366W/S354C成对的T366S/L368A/Y407V/Y349C,尤其是结合如下文所概述的包含pI变体的其它异源二聚体化变体。

[0119] 用于生成异源二聚体抗体的额外机制有时被称为“静电转向(electrostatic steering)”或“电荷对”,如通过引用以其全文合并在此的Gunasekaran等人《生物化学杂志(J.Biol.Chem.)》285(25):19637(2010)所述。这在本文中有时被称为“电荷对”。在这个实施例中,静电用于使形成向异源二聚体化倾斜。如本领域技术人员将了解的,这些电荷对还可以对pI有作用并因此对纯化有作用,并且因此在一些情况下还可以被视为pI变体。然而,由于这些电荷对被生成为迫使异源二聚体化并且不用作纯化工具,因此其被分类为“空间变体”。这些电荷对包含但不限于与D221R/P228R/K409R配对的D221E/P228E/L368E(例如,这些是“单体对应组”)和与C220R/E224R/P228R/K409R配对的C220E/P228E/368E以及附图所示的其它电荷对。

[0120] 在本发明中,在一些实施例中,pI变体用于更改单体中的一个或两个的pI并且因此允许等电分离A-A、A-B和B-B二聚体蛋白。

[0121] 在本发明中,存在几种基本机制可以导致易于纯化异源二聚体化蛋白质;一种机制依赖于使用pI变体,使得每个单体具有不同pI,从而允许等电纯化A-A、A-B和B-B二聚体蛋白。可替代地,一些支架格式如“三重F”格式也允许基于大小进行分离。如下文中进一步概述的,还可能相比于同源二聚体“倾斜”异源二聚体的形成。因此,空间异源二聚体化变体与pI或电荷对变体的组合特别用于本发明。另外,如下文中更加充分地概述的,利用如三重F格式等一个或多个scFv的支架可以包含出于纯化的目的给出另外的pI助推的带电荷scFv连接子(带正电荷或负电荷)。如本领域技术人员将了解的,一些三重F格式可与仅带电荷scFv连接子一起使用而无额外的pI调整,但是本发明还提供了一起使用倾斜变体与带电荷scFv连接子(以及本文所讨论的Fc、FcRn和K0变体的组合)。

[0122] 在将pI用作分离机制以允许纯化异源二聚体蛋白的本发明中,可以将氨基酸变体引入到单体多肽中的一个或两个中;即,可以使单体中的一个(为了简便在本文中被称为“单体A”)的pI工程化远离单体B,或可以改变单体A和单体B两者,其中单体A的pI增加并且单体B的pI减少。如下文中更加充分地概述的,任一个或两个单体的pI变化可以通过以下来完成:去除或添加带电荷残基(例如,用带正电荷或带负电荷的氨基酸残基来代替中性氨基酸,例如甘氨酸到谷氨酸)、将带电荷残基从带正电或带负电改变为相反电荷(例如,天冬氨酸到赖氨酸)或将带电荷残基改变为中性残基(例如,电荷损失;赖氨酸到丝氨酸)。多种这些变体示出在附图中。另外,本文中用于创建异源二聚体抗体的适合的pI变体是属于同种型的那些,例如从不同的IgG同种型输入pI,使得在未引入显著的免疫原性的情况下改变pI;参见通过引用以其全文合并在此的美国公开号US20140288275的图29。

[0123] 因此,本发明的这个实施例中提供了产生单体中的至少一个的充分pI变化,从而使得异源二聚体可以与同源二聚体分离。如本领域技术人员将了解的并且如下文中进一步讨论的,这可以通过以下来完成:使用“野生型”重链恒定区和已经工程化以增大或减小其pI的变体区(wt A-+B或wt A--B)或增大一个区并减小另一个区(A+-B-or A-B+)。

[0124] 因此,通常,本发明的一些实施例的组分是抗体的恒定区中的氨基酸变体,所述氨基酸变体涉及通过将氨基酸取代(“pI变体”或“pI取代”)合并到单体中的一个或两个中来更改单体中的至少一个(如果不是两个的话)的等电点(pI)以形成“pI异源二聚体”(当蛋白质是抗体时,这些pI异源二聚体被称为“pI抗体”)。如本文所示,异源二聚体与这两个同源二聚体的分离可以在这两个单体的pI相差少至0.1个pH单位时完成,0.2个、0.3个、0.4个和0.5个或更多个pH单位均用于本发明。

[0125] 如本领域技术人员将了解的,每一个或两个单体上要包含的用于得到良好分离的pI变体数目将部分地取决于所关注的scFv和Fab的起始pI。即,为了确定工程化哪个单体或处于哪个“方向”(例如,更具阳性或更具阴性),计算这两个靶抗原的Fv序列并据此作出决定。如本领域所已知的,不同的Fv将具有不同的起始pI,本发明中运用了所述起始pI。通常,如本文所概述的,将pI工程化以使各个单体的总pI差为至少约0.1logS,如本文所概述的优选0.2logS到0.5logS。

[0126] 此外,如本领域技术人员将了解的并且如本文所概述的,在一些情况下(根据格式),可以基于大小(例如,分子量)来使异源二聚体与同源二聚体分离。例如,如图1的一些实施例所示,一些格式产生了具有不同大小的同源二聚体和异源二聚体(例如,对于开瓶器,一个同源二聚体是“双scFv”格式,一个同源二聚体是标准抗体,并且异源二聚体具有一个Fab和一个scFv)。

[0127] 另外,如图1所描绘的,将认识到,一些抗原可能二价结合(例如,单个抗原的两个抗原结合位)。如将了解的,可以利用Fab和scFv的任何组合以实现期望的结果和组合。

[0128] 在pI变体用于实现相对于同源二聚体优化的异源二聚体的情况下,通过使用一个或多个重链的一个或多个恒定区,提供了用于设计和纯化多特异性蛋白质(包含抗体)的更模块化方法。因此,在一些实施例中,异源二聚体化变体(包含倾斜和纯化异源二聚体化变体)并不包含在可变区中,使得每个单独的抗体必须工程化。另外,在一些实施例中,通过从不同的IgG同种型输入pI变体,由pI变体造成免疫原性的可能性显著降低,使得在未引入显著免疫原性的情况下改变pI。因此,要解决的另一个问题是阐明具有较高人序列含量的低pI恒定结构域,例如最小化或避免任何特定位置处的非人残基。

[0129] 可能与这个pI工程化一起发生的负效应同样是血清半衰期延长和FcRn结合增加。即,如USSN 13/194,904(通过引用以其全文并入)所述,降低抗体恒定结构域(包含在抗体和Fc融合中找到的那些)的pI可能导致血清保留在体内更长时间。具有增加的血清半衰期的这些pI变体也促进了pI变化以进行纯化。

[0130] 另外,应注意,异源二聚体化变体的pI变体给予了双特异性抗体的分析和质量控制过程额外益处,因为在同源二聚体存在时消除、最小化和进行区分的能力较为显著。类似地,能够可靠地测试异源二聚体蛋白产生的可重现性很重要。

[0131] 如本领域技术人员将了解的并且如下文更加充分地讨论的,本发明的异源二聚体融合蛋白可以采取各种配置,如图1中总体上描绘的。一些附图描绘了“单端”配置,其中分子的一个“臂”上有一种类型的特异性并且另一个“臂”上有不同的特异性。其它附图描绘了“双端”配置,其中分子的“顶部”有至少一种类型的特异性并且分子的“底部”有一种或多种不同的特异性。因此,本发明涉及共同接合第一抗原和第二抗原的新型免疫球蛋白组成物。本发明的第一抗原和第二抗原在本文中分别被称为抗原1和抗原2(或“检查点1”和“检查点

2”)。

[0132] 特别用于本发明的一种异源二聚体支架是如图1A所描绘的“三重F”或“开瓶器”支架格式。在这个实施例中,抗体的一个重链含有单链Fv(“scFv”,如下文所定义的)并且另一个重链是包括可变重链和轻链的“常规”FAb格式。此结构在本文中有时被称为“三重F”格式(scFv-FAb-Fc)或“开瓶器”格式,这是由于与开瓶器具有大致视觉相似性(参见图1A)。通过使用恒定区(例如,Fc结构域和/或铰链区)中的如下文更加充分地描述的促进异源二聚体抗体形成的氨基酸变体,这两个链被放在一起。

[0133] 本发明的“三重F”格式存在几个明显优势。如本领域所已知的,依赖于两个scFv构建体的抗体类似物常常具有稳定性和聚合问题,在本发明中可以通过添加“常规”的重链和轻链配对来缓解所述稳定性和聚合问题。另外,如与依赖于两个重链和两个轻链的格式相反,不存在重链和轻链错误配对(例如,重链1与轻链2配对等)的问题。

[0134] 此外,如本文所概述的,可以将额外的氨基酸变体引入到本发明的双特异性抗体中以添加额外的功能。例如,可以加入Fc区内的氨基酸变化(到一个单体或两个单体)以促进增加的ADCC或CDC(例如,与Fc γ 受体的更改结合)以及增加与FcRn的结合和/或增加所得分子的血清半衰期。如本文中进一步描述的并且如本领域技术人员将了解的,本文所概述的任何以及所有变体可以与其它变体任选且独立地组合。

[0135] 类似地,另一类别的功能变体是“Fc γ 消融变体”或“Fc敲除(FcKO或KO)变体”。在这些实施例中,对于一些治疗性应用,期望减少或去除Fc结构域与Fc γ 受体(例如,Fc γ R1、Fc γ RIIa、Fc γ RIIb、Fc γ RIIIa等)中的一个或多个或所有的正常结合以避免额外的动作机制。即,例如,通常期望消融Fc γ RIIIa结合以消除或显著降低ADCC活性。适合的消融变体示出在图5中。

[0136] C.命名法

[0137] 本发明的双特异性抗体以几种不同的格式列出。给予每种多肽唯一的“XENP”编号,但是如本领域中了解的,较长的序列可能含有较短的XENP编号。例如,给定序列的开瓶器格式的scFv侧单体的重链将具有第一XENP编号,而scFv域将具有不同的XENP编号。一些分子具有三个多肽,因此在具有组分的情况下,XENP编号用作名称。因此,处于开瓶器格式分子XENP20717包括三个序列,通常被称为“XENP20717 HC-Fab”、“XENP20717 HC-scFv”和“XENP20717 LC”或等同物,但是本领域技术人员可能能够通过序列比对容易地鉴定这些。这些XENP编号在序列表以及标识符中,并且用在附图中。另外,包括三个组分的一个分子产生多个序列标识符。例如,Fab单体的列表具有全长序列、可变重序列和可变重序列的三个CDR;轻链具有全长序列、可变轻序列和可变轻序列的三个CDR;并且scFv-Fc结构域具有全长序列、scFv序列、可变轻序列、3个轻CDR、scFv结构、可变重序列和3个重CDR;应注意,本文中具有scFv结构域的所有分子使用单个带电荷scFv连接子(+H),但也可以使用其它的。另外,特定可变结构域的命名法使用“Hx.xx_Ly.yy”类型的格式,数字是特定可变链序列的唯一标识符。因此,XENP22841的Fab侧的可变结构域是“7G8_H3.30_L1.34”,这指示可变重结构域H3.30与轻结构域L1.34组合。在这些序列用作scFv的情况下,名称“7G8_H3.30_L1.34”指示可变重结构域H3.30与轻结构域L1.34组合并且处于从N-末端到C-末端vh-连接子-vl朝向。具有与重和轻可变结构域相同的序列但是处于颠倒顺序的这个分子可被称为“7G8_L1.34_H3.30”。类似地,不同构建体可以“混合并匹配”重链和轻链,如根据序

列表和附图将显而易见的。

[0138] D. 定义

[0139] 为了可以更加彻底地理解本申请,下文中阐述了几个定义。此类定义意在涵盖语法等同物。

[0140] 本文中的“消融”意指减小或去除活性。因此,例如,“Fc γ R消融结合”意指Fc区氨基酸变体与不含特异性变体的Fc区相比具有少于50%的起始结合,优选多于70%到80%到90%到95%到98%的活性损失,并且通常,活性低于Biacore、SPR或BLI测定中的可检测结合的水平。特别用于消融Fc γ R结合的是图5所示的那些变体,所述变体通常加入到两个单体中。

[0141] 如本文所使用的,“ADCC”或“抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”意指其中表达Fc γ R的非特异性细胞毒性细胞识别靶细胞上的结合抗体并且随后引起靶细胞溶解的细胞介导反应。ADCC与结合Fc γ RIIIa相关;与Fc γ RIIIa增加的结合导致ADCC活性增加。

[0142] 如本文所使用的,“ADCP”或抗体依赖性细胞介导的吞噬意指其中表达Fc γ R的非特异性吞噬细胞识别靶细胞上的结合抗体并且随后引起靶细胞吞噬的细胞介导反应。

[0143] 本文中的“抗原结合结构域”或“ABD”意指一组六个互补决定区(CDR)在作为多肽序列的一部分存在时如本文所讨论的特异性地结合靶抗原。因此,“检查点抗原结合结构域”如本文所概述的结合靶检查点抗原。如本领域所已知的,这些CDR通常作为第一组可变重CDR(vhCDR或VHCDR)和第二组可变轻CDR(vlCDR或VLCDR)存在,各自包括三个CDR:重链的vhCDR1、vhCDR2、vhCDR3以及轻链的vlCDR1、vlCDR2和vlCDR3。CDR分别存在于可变重结构域和可变轻结构域中并且一起形成Fv区。(CDR编号方案参见表1和上文相关讨论)。因此,在一些情况下,抗原结合结构域的六个CDR源自可变重结构域和可变轻结构域。在“Fab”格式中,一组6个CDR源自两个不同的多肽序列、可变重结构域(vh或VH;含有vhCDR1、vhCDR2和vhCDR3)和可变轻结构域(vl或VL;含有vlCDR1、vlCDR2和vlCDR3),vh结构域的C-末端与重链的CH1结构域的N-末端连接并且vl结构域的C-末端与恒定轻结构域的N-末端连接(并且因此形成轻链)。在scFv格式中,vh结构域和vl结构域通常通过使用如本文所概述的连接子(“scFv连接子”)二价连接到单个多肽序列中,这可以是(从N-末端开始)vh-连接子-vl或vl-连接子-vh,通常优选的是前者(包含各侧上的任选结构域连接子,这取决于所使用的格式(例如,根据图1))。通常,scFv结构域的C-末端与第二单体中的铰链的N-末端连接。

[0144] 本文中的“修饰”意指多肽序列中的氨基酸取代、插入和/或缺失或对与蛋白质化学连接的部分的更改。例如,修饰可以是与蛋白质连接的经更改的碳水化合物或PEG结构。本文中的“氨基酸修饰”意指多肽序列中的氨基酸取代、插入和/或缺失。为清楚起见,除非另外指出,否则氨基酸修饰总是用于由DNA编码的氨基酸,例如在DNA和RNA中具有密码子的20个氨基酸。

[0145] 本文中的“氨基酸取代”或“取代”意指用不同的氨基酸来代替亲本多肽序列中的特定位置处的氨基酸。具体地说,在一些实施例中,取代是用于并非天然发生在特定位置处或并非天然发生在生物体内或任何生物体中的氨基酸。例如,取代E272Y是指变体多肽,在这一情况下是指Fc变体,其中位置272处的谷氨酸用酪氨酸代替。为清楚起见,已经被工程化以改变核酸编码序列但不改变起始氨基酸(例如,将CGG(编码精氨酸)换成CGA(仍然编码精氨酸)以增加宿主生物体表达水平)的蛋白质不是“氨基酸取代”;即,尽管产生了编码相

同蛋白质的新基因,但是如果蛋白质在其开始的特定位置处具有相同氨基酸,则所述蛋白质不是氨基酸取代。

[0146] 如本文所使用的,“氨基酸插入”或“插入”意指在亲本多肽序列中的特定位置处添加氨基酸序列。例如,-233E或233E指代在位置233之后且在位置234之前插入谷氨酸。另外,-233ADE或A233ADE指代在位置233之后且在位置234之前插入AlaAspGlu。

[0147] 如本文所使用的,“氨基酸缺失”或“缺失”意指去除亲本多肽序列中的特定位置处的氨基酸序列。例如,E233-或E233#,E233()或E233de1指代位置233处的谷氨酸的缺失。另外,EDA233-或EDA233#指代开始于位置233的序列GluAspAla缺失。

[0148] 如本文所使用的,“变体蛋白质”或“蛋白质变体”或“变体”意指借助于与亲本蛋白质相差至少一个氨基酸修饰的蛋白质。与亲本蛋白质相比,蛋白质变体具有至少一个氨基酸修饰,

[0149] 但并没有多得使得变体蛋白质使用如下所述比对程序将不与亲本蛋白质比对。通常,使用下文所述比对程序如BLAST,变体蛋白质(如本文所概述的变体Fc结构域等)与亲本蛋白质通常至少75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同。

[0150] 如下所述,在一些实施例中,亲本多肽例如Fc亲本多肽是人野生型序列,如来自IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的重恒定结构域或Fc区,但是具有变体的人序列还可以用作“亲本多肽”,例如可以包含US公开2006/0134105的IgG1/2杂交体。本文中的蛋白质变体将与亲本蛋白质序列优选地拥有至少约80%同一性并且最优选地至少约90%同一性,更优选地至少约95%到98%到99%同一性。因此,如本文所使用的,“抗体变体”或“变体抗体”意指与亲本抗体相差至少一个氨基酸修饰的抗体,如本文所使用的,“IgG变体”或“变体IgG”意指与亲本IgG(再次,在一些情况下,来自人IgG序列)相差至少一个氨基酸修饰的抗体,并且如本文所使用的,“免疫球蛋白变体”或“变体免疫球蛋白”意指与亲本免疫球蛋白序列相差至少一个氨基酸修饰的免疫球蛋白序列。如本文所使用的,“Fc变体”或“变体Fc”意指包括如与人IgG1、IgG2或IgG4的Fc结构域相比Fc结构域的氨基酸修饰的蛋白质。

[0151] 本发明的Fc变体根据构成其的氨基酸修饰进行定义。因此,例如,N434S或434S是相对于亲本Fc多肽具有位置434处的丝氨酸取代的Fc变体,其中编号是根据EU索引。同样地,M428L/N434S定义了相对于亲本Fc多肽具有取代M428L和N434S的Fc变体。WT氨基酸的同一性可能未指明,在此情况下,上述变体被称为428L/434S。应注意,提供取代的顺序是任意的,也就是说,例如,N434S/M428L是与M428L/N434S相同的Fc变体等。对于本发明所讨论的涉及抗体的所有位置,除非另外指出,否则氨基酸位置编号是根据EU索引。EU索引或如Kabat或EU编号方案中的EU索引是指EU抗体的编号。

[0152] Kabat等人收集了重链和轻链的可变区的多个一级序列。基于,序列的保守度,其将各个一级序列分类成CDR和框架并且做出其列表(参见通过引用全文并入的《免疫学上关注的序列(SEQUENCES OF IMMUNOLOGICAL INTEREST)》第5版,NIH出版,号91-3242,E.A.Kabat等人)。还参见通过引用全文合并在此的Edelman等人,1969,《美国国家科学院院刊(Proc Natl Acad Sci USA)》63:78-85。修饰可以是添加、缺失或取代。

[0153] 本文中的“蛋白质”意指至少两个共价连接氨基酸,包含蛋白质、多肽、寡肽和肽。另外,构成本发明的抗体的多肽可以包含一个或多个侧链或末端的合成衍生化、糖基化、聚

乙二醇化、循环变换、环化、其它分子的连接子、与蛋白质或蛋白质结构域的融合以及肽标签或标记的加入。

[0154] 如本文所使用的,“残基”意指蛋白质中的位置或其关联氨基酸同一性。例如,天冬酰胺297(还被称为Asn297或N297)是人类抗体IgG1中位置297处的残基。

[0155] 如本文所使用的,“Fab”或“Fab区”意指包括通常在两个不同的多肽链上的VH、CH1、VL和CL免疫球蛋白结构域的多肽(例如,VH-CH1在一个链上并且VL-CL在另一个链上)。Fab可以指分离情况下的这个区或本发明的双特异性抗体的上下文中的这个区。在Fab的上下文中,除了CH1和CL结构之外,Fab还包括Fv区。

[0156] 如本文所使用的,“Fv”或“Fv片段”意指包括ABD的VL和VH结构域的多肽。Fv区可以格式化为Fab(如上文所讨论的,通常是还包含如上文所概述的恒定区的两个不同的多肽)和scFv两者,其中vl和vh结构域组合(通常是与如本文所讨论的连接子组合)形成scFv。

[0157] 本文中的“单链Fv”或“scFv”意指通常使用如本文所讨论的scFv连接子来与可变轻结构域共价连接以形成scFv或scFv结构域的可变重结构域。scFv结构域可以从N-末端到C-末端处于任一朝向(vh-连接子-vl或vl-连接子-vh)。在序列表和附图所描绘的序列中,vh和vl结构域的顺序以名称指示,例如,H.X L.Y意指N-末端到C-末端为vh-连接子-vl,并且L.Y H.X为vl-连接子-vh。

[0158] 如本文所使用的,“IgG亚类修饰”或“同种型修饰”意指将一个IgG同种型的一个氨基酸转换为不同的比对IgG同种型中的对应氨基酸的氨基酸修饰。例如,因为IgG1包括酪氨酸并且IgG2包括EU位置296处的苯基丙氨酸,因此IgG2的F296Y取代被视为IgG亚类修饰。

[0159] 如本文所使用的,“非天然发生修饰”意指不是同种型的氨基酸修饰。例如,因为人IgG均不包括位置434处的丝氨酸,因此IgG1、IgG2、IgG3或IgG4(或其杂交体)的取代434S被视为非天然发生修饰。

[0160] 如本文所使用的,“氨基酸”和“氨基酸同一性”意指由DNA和RNA编码的20个天然发生的氨基酸中的一个。

[0161] 如本文所使用的,“效应子功能”意指造成抗体Fc区与Fc受体或配置相互作用的生物化学事件。效应子功能包含但不限于ADCC、ADCP和CDC。

[0162] 如本文所使用的,“IgG Fc配体”意指来自与IgG抗体的Fc区结合形成Fc/Fc配体复合物的任何生物体的分子尤其是多肽。Fc配体包含但不限于Fc γ RI、Fc γ RII、Fc γ RIII、FcRn、Clq、C3、甘露聚糖结合凝集素、甘露糖受体、葡萄球菌蛋白A、链球菌蛋白G和病毒性Fc γ R。Fc配体还包含Fc受体同源物(FcRH),所述Fc受体同源物是与Fc γ R同源的Fc受体家族(Davis等人,2002,《免疫学评论(Immunological Reviews) 190:123-136》)。Fc配体可以包含结合Fc的未发现的分子。特别的IgG Fc配体是FcRn和Fc γ 受体。如本文所使用的,“Fc配体”意指来自与抗体的Fc区结合形成Fc/Fc配体复合物的任何生物体的分子尤其是多肽。

[0163] 如本文所使用的,“Fc γ 受体”或“Fc γ R(FcgammaR)”意指结合IgG抗体Fc区并由Fc γ R基因编码的蛋白质家族的任何成员。在人类中,这个家族包含但不限于:Fc γ RI(CD64),包含同型Fc γ RIa、Fc γ RIb和Fc γ RIc;Fc γ RII(CD32),包含同种型Fc γ RIIa(包含同种异型H131和R131)、Fc γ RIIb(包含Fc γ RIIb-1和Fc γ RIIb-2)和Fc γ RIIC;以及Fc γ RIII(CD16),包含同种型Fc γ RIIIIa(包含V158和F158)和Fc γ RIIIIb(包含同种异型Fc γ RIIIIb-NA1和Fc γ RIIIIb-NA2)(Jefferis等人,2002,《免疫学快报(Immunol Lett) 82:57-65》)以及任

何未发现的人Fc γ R或Fc γ R同种型或同种异型。Fc γ R可以来自任何生物体,包含但不限于人、小鼠、大鼠、兔和猴。小鼠Fc γ R包含但不限于Fc γ RI (CD64)、Fc γ RII (CD32)、Fc γ RIII (CD16)和Fc γ RIII-2 (CD16-2)以及任何未发现的小鼠Fc γ R或Fc γ R同种型或同种异型。

[0164] 如本文所使用的,“FcRn”或“新生的Fc受体”意指结合IgG抗体Fc区并至少部分地由FcRn基因编码的蛋白质。FcRn可以来自任何生物体,包含但不限于人、小鼠、大鼠、兔和猴。如本领域已知的,功能FcRn蛋白包括两种肽,常常被称为重链和轻链。轻链是 β -2-微球蛋白并且重链由FcRn基因编码。除非本文中另外指出,否则FcRn或FcRn蛋白是指FcRn重链与 β -2-微球蛋白的复合物。各种FcRn变体用于增加与FcRn受体的结合并且在一些情况下用于增加血清半衰期。“FcRn变体”是增加与FcRn受体的结合的变体,并且下文示出了适合的FcRn变体。

[0165] 如本文所使用的,“亲本多肽”意指随后修饰以生成变体的起始多肽。亲本多肽可以是天然发生的多肽或者天然发生的多肽的变体或工程化版本。因此,如本文所使用的,“亲本免疫球蛋白”意指被修饰以生成变体的未修饰免疫球蛋白多肽,并且如本文所使用的,“亲本抗体”意指被修饰以生成变体抗体的未修饰抗体。应注意,“亲本抗体”包含如下文所概述的、已知商用重组产生抗体。在这个上下文中,“亲本Fc结构域”将是相对于所列变体;因此,将“变体人IgG1 Fc结构域”与人IgG1的亲本Fc结构域相比较,将“变体人IgG4 Fc结构域”与亲本Fc结构域人IgG4相比较,等等。

[0166] 如本文所使用的,“Fc”或“Fc区”或“Fc结构域”意指包括IgG分子的CH2-CH3结构域并且在一些情况下包含铰链的多肽。在对人IgG1进行EU编号时,CH2-CH3结构域包括氨基酸231到447,并且铰链为216到230。因此,“Fc结构域”的定义包含氨基酸231到447 (CH2-CH3)或216到447 (铰链-CH2-CH3)或其片段。在这个上下文中,“Fc片段”可以从N-末端和C-末端中的任一者或两者含有较少氨基酸但仍保持能够与另一个Fc结构域或Fc片段形成二聚体,如可以使用通常基于大小的标准方法 (例如,非变性色谱法、大小排阻色谱法等) 检测到的。人IgG Fc结构域特别用于本发明,并且可以是来自人IgG1、IgG2或IgG4的Fc结构域。

[0167] 如与亲本Fc结构域相比,“变体Fc结构域”包含氨基酸修饰。因此,“变体人IgG Fc结构域”是如与人IgG1 Fc结构域相比含有氨基酸修饰 (通常是氨基酸取代,但是在消融变体的情况下,包含氨基酸缺失) 的变体Fc结构域。通常,变体Fc结构域与对应的亲本人IgG Fc结构域具有至少约80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%同一性 (使用下文所讨论的同一性算法,其中一个实施例利用如本领域已知的BLAST算法,使用默认参数)。可替代地,变体Fc结构域如与亲本Fc结构域相比可以具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个或20个氨基酸修饰。另外,如本文所讨论的,本文中的变体Fc结构域仍然保持与另一个Fc结构域形成二聚体的能力,如使用本文所述已知技术如非变性凝胶电泳所测量的。

[0168] 本文中的“重链恒定区”意指抗体 (或其片段) 的CH1-铰链-CH2-CH3部分,不包含可变重结构域;在人IgG1的EU编号中,这是氨基酸118到447。本文中的“重链恒定片段”意指从N-末端和C-末端中的任一者或两者含有较少氨基酸但仍保持能够与另一个重链恒定区形成二聚体的重链恒定区。

[0169] 如本文所使用的“位置”意指蛋白质的序列中的位置。位置可以顺序地或根据已建立格式例如抗体编号EU索引进行编号。

[0170] 如本文所使用的,“靶抗原”意指通过包括可变区或给定抗体的抗原结合结构域来特异性地结合的分子。如下文所讨论的,在此情况下,靶抗原是检查点抑制蛋白。

[0171] 在本文中,在本发明的异源二聚体抗体的单体的上下文中,“链型(strandedness)”意指,类似于DNA的“相匹配”的两个链,异源二聚体化变体合并到每个单体中以保存“相匹配”以形成异源二聚体的能力。例如,如果一些pI变体被工程化为单体A(例如,使pI更高),则属于也可以利用的“电荷对”的空间变体不干扰pI变体,例如使pI更高的电荷变体被放在同一个“链”或“单体”上以保存两者的功能。类似地,对于如下文更充分地概述的以成对的组出现的“倾斜”变体,技术人员将认为pI决定所述对中的一组将会进入的链或单体,从而使得还使用倾斜变体的pI使pI分离最大化。

[0172] 如本文所使用的,“靶细胞”意指表达靶抗原的细胞。

[0173] 在本文中,在产生根据本发明的双特异性抗体的上下文中,“宿主细胞”意指含有编码双特异性抗体的组分的外源性核酸并且能够在适合条件下表达双特异性抗体的细胞。下文中讨论了适合的宿主细胞。

[0174] 如本文所使用的,“可变区”或“可变结构域”意指包括基本上由分别构成 κ 、 λ 和重链免疫球蛋白基因位点的V κ 、V λ 、和/或VH基因编码的一个或多个Ig结构域并且含有赋予抗原特异性的CDR的免疫球蛋白。因此,“可变重结构域”与“可变轻结构域”配对以形成抗原结合结构域(“ABD”)。另外,每个可变结构域包括从氨基-末端到羧基-末端按以下顺序安排的三个高变区(“互补决定区”、“CDR”)(可变重结构域的vhCDR1、vhCDR2和vhCDR3和以及可变轻结构域的vlCDR1、vlCDR2和vlCDR3)和四个框架区(FR):FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。

[0175] 在本文中,“野生型或WT”意指在自然界发现的氨基酸序列或核苷酸序列,包含等位变异。WT蛋白质具有尚未有意修饰的氨基酸序列或核苷酸序列。

[0176] 本发明提供了与人类抗体结构域具有序列同一性的多个抗体结构域。两个类似序列之间的序列同一性(例如,抗体可变结构域)可以通过如以下的算法等算法测量:Smith, T.F.和Waterman, M.S. (1981) “生物序列比较 (Comparison Of Biosequences)”《应用数学进展 (Adv. Appl. Math.)》2:482[局部同源性算法]; Needleman, S.B. 和 Wunsch, C.D. (1970) “适用于搜索两种蛋白质的氨基酸序列的相似性的通用方法 (A General Method Applicable To The Search For Similarities In The Amino Acid Sequence Of Two Proteins)”,《分子生物学杂志 (J. Mol. Biol.)》48:443[同源性比对算法]; Pearson, W.R. 和 Lipman, D.J. (1988) “用于生物学序列比较的改进工具 (Improved Tools For Biological Sequence Comparison)”《美国国家科学院院刊 (Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.))》85:2444[相似性搜索方法]; 或 Altschul, S.F. 等人, (1990) “基础局部比对搜索工具 (Basic Local Alignment Search Tool)”《分子生物学杂志 (J. Mol. Biol.)》215:403-10, “BLAST”算法, 参见 <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>。在使用任何上述算法时,使用默认参数(针对窗口长度、空位罚分等)。在一个实施例中,使用默认参数用BLAST算法来完成序列同一性。

[0177] 本发明的抗体是通常是分离的或重组的。在用于描述本文所公开的各种多肽时,“分离”意指已经被鉴定出来并且与表达其的细胞或细胞培养物分离和/或从其恢复的多肽。一般而言,分离多肽将通过至少一个纯化步骤来制备。“分离抗体”是指基本上不含具有

不同抗原特异性的其它抗体的抗体。“重组”意指在外源性宿主细胞使用重组核酸技术生成抗体,并且也可以分离抗体。

[0178] “特异性结合”或“特异性地结合”或“特异于”特定抗原或表位意指可测量地不同于非特异性相互作用的结合。可以例如通过相比于对照分子的结合确定分子的结合来测量特异性结合,所述对照分子通常是具有无结合活性的类似结构的分子。例如,可以通过与类似于靶标的对照分子竞争来确定特异性结合。

[0179] 特定抗原或表位的特异性结合可以例如通过具有KD为以下的抗原或表位的抗体来展现:至少约 10^{-4} M、至少约 10^{-5} M、至少约 10^{-6} M、至少约 10^{-7} M、至少约 10^{-8} M、至少约 10^{-9} M、可替代地至少约 10^{-10} M、至少约 10^{-11} M、至少约 10^{-12} M或更大,其中KD是指特定的抗体-抗原相互作用的解离速率。典型地,相对于抗原或表位,特异性地结合抗原的抗体将具有比对照分子大20倍、50倍、100倍、500倍、1000倍、5,000倍、10,000倍或更多倍的KD。

[0180] 而且,特定抗原或表位的特异性可以例如通过具有KA或Ka为以下的抗原或表位的抗体来展现:相对于对照物,比表位大至少20倍、50倍、100倍、500倍、1000倍、5,000倍、10,000倍或更多倍,其中KA或Ka是指特定的抗体-抗原相互作用的缔合速率。结合亲和力通常使用Biacore、SPR或BLI测定法来测量。

[0181] E. 抗体

[0182] 如本文所讨论的,本发明涉及生成结合两种不同的检查点抗原的双特异性检查点抗体。如下文所讨论的,通常使用术语“抗体”。用于本发明的抗体可以采取如本文所描述的多种格式,包含本文所描述的和附图所描绘的传统抗体以及抗体衍生物、片段和模拟物。

[0183] 传统抗体结构单位通常包括四聚体。每个四聚体通常由两对相同的多肽链构成,每对具有一条“轻”链(通常,分子量为约25kDa)和一条“重”链(通常,分子量为约50kDa到70kDa)。人轻链分类为 κ 和 λ 轻链。本发明涉及通常基于IgG类的双特异性抗体,所述IgG类具有多个亚类,包含但不限于IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。通常,IgG1、IgG2和IgG4比IgG3使用得更频繁。应注意,IgG1在356(D或E)和358(L或M)具有带多态现象的不同同种异型。本文所描绘的序列使用356E/358M同种异型,然而,其它同种异型也包含在本文中。即,包含本文所包含的IgG1 Fc结构域的任何序列可以具有代替356E/358M同种异型的356D/358L。

[0184] 另外,本文中的许多抗体具有被丝氨酸代替的在位置220处的半胱氨酸中的至少一个;通常,这是在本文所描绘的大多数序列的“scFv单体”侧上,但是其也可以是在“Fab单体”侧上或在两者上以减少二硫化物形成。在本文中,被代替的这些半胱氨酸(C220S)中的一个或两个特异性地包含在序列中。

[0185] 因此,如本文所使用的,“同种型”意指免疫球蛋白的由其恒定区的化学和抗原特性定义的任何亚类。应理解,治疗性抗体还可以包括同种型和/或亚类的杂交体。例如,如通过引用合并的美国公开2009/0163699所示,本发明使用人IgG1/G2杂交体。

[0186] 高变区通常涵盖从轻链可变区中的约氨基酸残基24到34(LCDR1;“L”表示轻链)、50到56(LCDR2)和89到97(LCDR3)的氨基酸残基和在重链可变区中的约31到35B(HCDR1;“H”表示重链)、50到65(HCDR2)和95到102(HCDR3)周围的氨基酸残基;Rabat等人,《免疫学上关注的蛋白质序列(SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST)》第5版,公共卫生署(Public Health Service),国立卫生研究院(National Institutes of Health),贝塞斯达(Bethesda),马里兰州(Md.) (1991)和/或形成高变环的那些残基(例如,在轻链可变

区中的残基26到32(LCDR1)、50到52(LCDR2)和91到96(LCDR3)以及在重链可变区中的26到32(HCDR1)、53到55(HCDR2)和96到101(HCDR3);Chothia和Lesk(1987)《分子生物学杂志(J.Mol.Biol.)》196:901-917。下文中描述了本发明的特异性CDR。

[0187] 如本领域技术人员将了解的,在不同的编号系统中,CDR的精确编号和放置可以有所不同。然而,应理解,可变重和/或可变轻序列的公开内容包含关联(固有)CDR的公开内容。因此,每个可变重区的公开内容是vhCDR的公开内容(例如,vhCDR1、vhCDR2和vhCDR3),并且每个可变轻区的公开内容是vLCDR的公开内容(例如,vLCDR1、vLCDR2和vLCDR3)。CDR编号的有用比较如下,参见Lafranc等人,《发展免疫学与比较免疫学(Dev.Comp.Immunol.)》27(1):55-77(2003):

[0188] 表1

[0189]

	Kabat+Chothia	IMGT	Rabat	AbM	Chothia	Contact	Xencor
vhCDR1	26-35	27-38	31-35	26-35	26-32	30-35	27-35
vhCDR2	50-65	56-65	50-65	50-58	52-56	47-58	54-61
vhCDR3	95-102	105-117	95-102	95-102	95-102	93-101	103-116
vLCDR1	24-34	27-38	24-34	24-34	24-34	30-36	27-38
vLCDR2	50-56	56-65	50-56	50-56	50-56	46-55	56-62
vLCDR3	89-97	105-117	89-97	89-97	89-97	89-96	97-105

[0190] 贯穿本说明书,在提及可变结构域中的残基(大致上,轻链可变区的残基1到107和重链可变区的残基1到113)时通常使用Kabat编号系统,并且EU编号系统用于Fc区(例如,Kabat等人,同上(1991))。

[0191] 重链的另一种类型的Ig结构域是铰链区。在本文中,“铰链”或“铰链区”或“抗体铰链区”意指包括抗体的第一恒定结构域与第二恒定结构域之间的氨基酸的柔性多肽。在结构上,IgG CH1结构域在EU位置215处结束,并且IgG CH2结构域开始于残基EU位置231。因此,对于IgG,抗体铰链在本文中被定义为包含位置216(IgG1中的E216)到230(IgG1中的p230),其中编号是根据如Kabat的EU索引。在一些情况下,使用“铰链片段”,所述铰链片段在铰链结构域的N-末端和C-末端中的任一者或两者处含有较少氨基酸。如本文所指出的,pI变体也可以处于铰链区中。

[0192] 轻链通常包括可变轻结构域(含有轻链CDR并且与与可变重结构域一起形成Fv区)和恒定轻链区(常被称为CL或Cκ)这两个结构域。

[0193] 下文所概述的、额外取代所关注的另一个区是Fc区。

[0194] 本发明提供了大量不同的CDR组。在此情况下,“完整的CDR组”包括三个可变轻CDR和三个可变重CDR,例如vLCDR1、vLCDR2、vLCDR3、vhCDR1、vhCDR2和vhCDR3。郑重地,这些可以是较大的可变轻结构域或可变重结构域的一部分。另外,如本文中更充分地概述的,在使用重链和轻链时(例如,在使用Fab时),可变重结构域和可变轻结构域可以在各自的多肽链上,或者在scFv序列的情况下,在多肽单链上。

[0195] CDR促进了抗原结合或更具体地抗体的表位结合位的形成。“表位”是指与被称为互补位的抗体分子的可变轻中的特异性抗原结合位相互作用的决定簇。表位是如氨基酸或糖侧链等分子的基团(grouping)并且通常具有特定结构特性以及特定电荷特性。单个抗原可以具有多于一个表位。

[0196] 表位可以包括直接参与结合的氨基酸残基(还被称为表位的免疫显性组分)以及不直接参与结合的其他氨基酸残基,如被特异性地抗原结合的肽有效地阻断的氨基酸;换句话说,氨基酸残基在特异性地抗原结合的肽的足迹内。

[0197] 表位可以是构象的或线性的。构象表位由来自线性多肽链的不同片段的在空间上并列的氨基酸产生。线性表位是由多肽链中的相邻氨基酸残基产生的表位。构象表位与非构象表位的区别可以在于,在变性溶剂的存在下,丧失了与前者而非后者的结合。

[0198] 在独特的空间构象中,表位典型地包含至少3个并且更常见地至少5个或8个到10个氨基酸。识别相同表位的抗体可以用简单的免疫测定法来验证,所述免疫测定法示出了一个抗体阻断另一个抗体结合靶抗原的能力,例如“分仓”。如下文所概述的,本发明不仅包含本文中枚举的抗原结合结构域和抗体,还包含竞争结合枚举的抗原结合结构域所结合的表位的那些。

[0199] 因此,本发明提供了不同的抗体结构域。如本文所述以及本领域已知的,本发明的异源二聚体抗体包括重链和轻链内的不同结构域,所述结构域也可以重叠。这些结构域包含但不限于Fc结构域、CH1结构域、CH2结构域、CH3结构域、铰链结构域、重恒定结构域(CH1-铰链-Fc结构域或CH1-铰链-CH2-CH3)、可变重结构域、可变轻结构域、轻恒定结构域、Fab结构域和scFv结构域。

[0200] 因此,“Fc结构域”包含-CH2-CH3结构域以及任选地铰链结构域(-H-CH2-CH3)。在本文中的实施例中,在scFv与Fc结构域连接时,scFv构建体的C-末端与Fc结构域的铰链的全部或部分连接;例如,其通常与铰链的开始即序列EPKS连接。重链包括可变重结构域和恒定结构域,所述恒定结构域包含包括CH2-CH3的CH1-任选铰链-Fc结构域。轻链包括可变轻链和轻恒定结构域。scFv包括可变重链、scFv连接子和可变轻结构域。在本文所概述的大多数构建体和序列中,可变重链的C-末端与scFv连接子的N-末端连接,scFv连接子的C-末端与可变轻链的N-末端连接(N-vh-连接子-vl-C),但是可以切换(N-vl-连接子-vh-C)。

[0201] 本发明的一些实施例包括至少一个scFv结构域,所述至少一个scFv结构域虽然不是天然发生的但是通常包含通过scFv连接子连接在一起的可变重结构域和可变轻结构域。如本文所概述的,虽然scFv结构域通常从N-末端到C-末端朝向成vh-scFv连接子-vl,但是对于任何scFv结构域(或使用Fab的vh和vl序列构建的那些),这可以颠倒成vl-scFv连接子-vh,一端或两端处的任选连接子取决于格式(通常参见图1)。

[0202] 如本文所示,存在可以用于共价连接所列结构域的多个适合的连接子(用于用作结构域连接子或scFv连接子),包含通过重组技术生成的传统肽键。在一些实施例中,连接子肽可以主要包含以下氨基酸残基:Gly、Ser、Ala或Thr。连接子肽应当具有足够以这样的方式连接两个分子的长度:所述分子假设相对于彼此的正确构象使得其保留期望活性。在一个实施例中,连接子在长度上为约1个到50个氨基酸,在长度上优选地约1个到30个氨基酸。在一个实施例中,可以使用长度为1个到20个氨基酸的连接子,在一些实施例中使用约5个到约10个氨基酸。有用的连接子包含:甘氨酸-丝氨酸聚合物、甘氨酸-丙氨酸聚合物、丙氨酸-丝氨酸聚合物和其他柔性连接子,所述甘氨酸-丝氨酸聚合物包含例如(GS)_n、(GSGGS)_n(SEQ ID NO:37756)、(GGGS)_n(SEQ ID NO:37757)和(GGGGS)_n(SEQ ID NO:37758),其中n是至少为一(并且通常为3到4)的整数。可替代地,各种非蛋白质聚合物可以用作连接子,包含但不限于聚乙二醇(PEG)、聚丙二醇、聚氧化烯或聚乙二醇和聚丙二醇的

共聚物。

[0203] 其它连接子序列可以包含具有任何长度的CL/CH1结构域的任何序列,但并非CL/CH1结构域的所有残基;例如,CL/CH1结构域的前5个到12个氨基酸残基。连接子可以衍生自免疫球蛋白轻链,例如C κ 或C λ 。连接子可以衍生自任何同种型免疫球蛋白重链,包含例如C γ 1、C γ 2、C γ 3、C γ 4、C α 1、C α 2、C δ 、C ϵ 和C μ 。连接子序列还可以衍生自其它蛋白质,如类Ig蛋白(例如,TCR、FcR、KIR)、铰链区衍生序列以及来自其它蛋白质的其它天然序列。

[0204] 在一些实施例中,连接子是“结构域连接子”,用于将如本文所概述的任何两个结构域连接在一起。例如,在图1F中,可以有将Fab的CH1结构域的C-末端与scFv的N-末端连接的结构域连接子,另一个任选的结构域连接子将scFv的C-末端与CH2结构域连接(但是,在许多实施例中,铰链用作此结构域连接子)。虽然可以使用任何适合的连接子,但是许多实施例利用甘氨酸-丝氨酸聚合物作为结构域连接子以及允许以足够允许每个域保持其生物学功能的长度和柔性来重组连接这两个结构域的任何肽序列,所述甘氨酸-丝氨酸聚合物包含例如(GS) n 、(GSGGS) n (SEQ ID NO:37756)、(GGGGS) n (SEQ ID NO:37757)和(GGGS) n (SEQ ID NO:37758),其中 n 是至少为一(并且通常为3到4到5)的整数。在一些情况下并且在注意“链型”时,如下文所概述的,可以使用如scFv连接子的一些实施例中所使用的带电荷结构域连接子。

[0205] 在一些实施例中,连接子是scFv连接子,用于共价连接如本文所讨论的vh和vl结构域。在一些情况下,scFv连接子是带电荷scFv连接子,多个带电荷scFv连接子示出在

[0206] 图7中。因此,本发明进一步提供了带电荷scFv连接子以用于促进第一单体与第二单体之间的pI分离。即,通过并入带正电荷或带负电荷(或在使用不同单体上的scFv的支架的情况下两者皆有)的带电荷scFv连接子,这允许包括带电荷连接子的单体更改pI而不对Fc结构域做出进一步改变。这些带电荷连接子可以被取代到含有标准连接子的任何scFv中。再次,如本领域技术人员将了解的,根据期望的pI变化,带电荷scFv连接子用在正确的“链”或单体上。例如,如本文所讨论的,为了形成三重F格式的异源二聚体抗体,计算每个期望抗原结合结构域的Fv区的原始pI,并且一个被选择成形成scFv,并且根据pI,选择正或负连接子。

[0207] 带电荷结构域连接子还可以用于增加本发明的单体的pI分离,并且因此图7所包含的那些

[0208] 在本文中可以用于利用连接子的任何实施例中。

[0209] 具体来说,图1所描绘的格式是抗体,通常被称为“异源二聚体抗体”,意指蛋白质具有自组装成异源二聚体Fc结构域的至少两个关联Fc序列的以及至少两个Fv区,无论是作为Fab还是作为scFv。

[0210] F. 嵌合抗体和人源化抗体

[0211] 在某些实施例中,本发明的抗体包括来自特定种系重链免疫球蛋白基因的重链可变区和/或来自特定种系轻链免疫球蛋白基因的轻链可变区。例如,此类抗体可以包括包含是特定种系序列的“产物”或“衍生自”特定种系序列的重链区或轻链区的人类抗体或由其构成。是人类种系免疫球蛋白序列的“产物”或“衍生自”人类种系免疫球蛋白序列的人类抗体可以通过以下而被鉴定为是这样:将人类抗体的氨基酸序列与人类种系免疫球蛋白的氨基酸序列进行比较,并选择在序列上最接近(即,最大%同一性)人类抗体的序列的人类种

系免疫球蛋白序列。是特定人类种系免疫球蛋白序列的“产物”或“衍生自”特定人类种系免疫球蛋白序列的人类抗体与种系序列相比,可能由于例如天然发生的体细胞突变或故意引入的定点突变而含有氨基酸差异。然而,人源化抗体典型地与由人类种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列在氨基酸序列上具有至少90%的同一性,并且在与其它物种的种系免疫球蛋白氨基酸序列(例如,鼠类种系序列)进行比较时,含有将抗体鉴定为衍生自人类序列的氨基酸残基。在某些情况下,人源化抗体可以与由种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列在氨基酸序列上至少95%、96%、97%、98%或99%,或甚至至少96%、97%、98%或99%相同。典型地,衍生自特定人类种系序列的人源化抗体将显示出与由人类种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列不多于10个到20个氨基酸差异(在引入本文中的任何倾斜变体、pI变体和消融变体之前;即,在引入本发明的变体之前,变体数目通常较低)。在某些情况下,人源化抗体可以显示出与由种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列不多于5个或甚至不多于4个、3个、2个或1个氨基酸差异(再次,在引入本文中的任何倾斜变体、pI变体和消融变体之前;即,在引入本发明的变体之前,变体数目通常较低)。

[0212] 在一些实施例中,亲本抗体已经亲和力成熟,如本领域已知的。可以对人源化和亲和力成熟采用基于结构的方法,例如如USN 11/004,590所述。可以采用基于选择的方法使抗体可变区人源化和/或亲和力成熟,包括但不限于均通过引用以其全文合并的以下所描述的方法:Wu等人,1999,《分子生物学杂志(J.Mol.Biol.)》294:151-162;Baca等人,1997,《生物化学杂志(J.Biol.Chem.)》272(16):10678-10684;Rosok等人,1996《生物化学杂志(J.Biol.Chem.)》271(37):22611-22618;Rader等人,1998,《美国国家科学院院刊(Proc.Natl.Acad.Sci.USA)》95:8910-8915;Krauss等人,2003,《蛋白质工程(Protein Engineering)》16(10):753-759。其它人源化方法可以涉及CDR的仅一部分的移植,包括但不限于均通过引用以其全文并入的以下所描述的方法:USN 09/810,510;Tan等人,2002,《免疫学杂志(J.Immunol.)》169:1119-1125;De Pascalis等人,2002,《免疫学杂志(J.Immunol.)》169:3076-3084。

[0213] IV. 异源二聚体抗体

[0214] 因此,在一些实施例中,本发明提供了依赖于使用将自组装形成异源二聚体Fc结构域和异源二聚体抗体的两个不同的重链变体Fc序列的异源二聚体检查点抗体。

[0215] 本发明涉及用于提供允许与多于一种检查点抗原或配体结合例如允许双特异性结合的异源二聚体抗体的新型构建体。异源二聚体抗体构建体是基于抗体的重链的两个Fc结构域的自组装性,例如组装成“二聚体”的两个“单体”。通过更改每个单体的氨基酸序列来形成异源二聚体抗体,如下文中更加充分地讨论的。因此,本发明总体上涉及创建异源二聚体检查点抗体,所述异源二聚体检查点抗体可以通过多种方式共同接合抗原,这依赖于在每个链上有所不同以促进异源二聚体形成和/或允许相比于同源二聚体易于纯化异源二聚体的、在恒定区中的氨基酸变体。

[0216] 因此,本发明提供了双特异性抗体。抗体技术中始终存在的问题是期望“双特异性”抗体,所述双特异性抗体与两种不同的抗原同时结合,通常因此允许使不同抗原接近并产生新功能和疗法。通常,这些抗体通过包含每个重链和轻链的基因而形成在宿主细胞中。这通常导致期望的异源二聚体(A-B)以及两个同源二聚体(A-A和B-B(不包含轻链异源二聚体问题))形成。然而,形成双特异性抗体的主要阻碍是难以纯化异源二聚体抗体远离

同源二聚体抗体和/或相比于同源二聚体的形成偏置异源二聚体的形成。

[0217] 存在多种机制可以用于生成本发明的异源二聚体。另外,如本领域技术人员将了解的,这些机制可以组合以确保高异源二聚体化。因此,导致异源二聚体产生的氨基酸变体被称为“异源二聚体化变体”。如下文所讨论的,异源二聚体化变体可以包含空间变体(例如,下文所述“隆突与空穴”或“倾斜”变体和下文所述“电荷对”)以及“pI变体”,这允许纯化同源二聚体远离异源二聚体。如通过引用以其全文合并在此并且特别如下文用于讨论“异源二聚体化变体”的WO 2014/145806中总体上描述的,用于异源二聚体化的有用机制包含“隆突与空穴”(“KIH”;在本文中有时被称为“倾斜”变体(参见WO 2014/145806中的讨论))、如WO 2014/145806中所描述的“等电转向”或“电荷对”、如WO 2014/145806中所描述的pI变体以及如WO 2014/145806中和下文所概述的一般额外Fc变体。

[0218] 在本发明中,存在几种基本机制可以导致易于纯化异源二聚体化抗体;一种机制依赖于使用pI变体,使得每个单体具有不同pI,从而允许等电纯化A-A、A-B和B-B二聚体蛋白。可替代地,一些支架格式如“三重F”格式”也允许基于大小进行分离。如下文中进一步概述的,还可能相比于同源二聚体“倾斜”异源二聚体的形成。因此,空间异源二聚体化变体与pI或电荷对变体的组合特别用于本发明。

[0219] 通常,特别用于本发明的实施例依赖于包含倾斜变体的变体组,所述倾斜变体相比于同源二聚体化形成鼓励异源二聚体化形成、与pI变体偶联,所述pI变体增加两个单体之间的pI差异以促进纯化异源二聚体远离同源二聚体。

[0220] 另外,如下文更充分地概述的,根据异源二聚体抗体的格式,单体的恒定和/或Fc结构域内可以含有pI变体,或者可以使用带电荷连接子,结构域连接子或scFv连接子。即,利用如三重F格式等一个或多个scFv的支架可以包含出于纯化的目的给出另外的pI助推的带电荷scFv连接子(带正电荷或负电荷)。如本领域技术人员将了解的,一些三重F格式可与仅带电荷scFv连接子一起使用而无额外的pI调整,但是本发明还提供了在单体中的一个或两个上的pI变体和/或带电荷结构域连接子。另外,用于替代性功能的额外氨基酸工程还可以赋予pI变化,如Fc、FcRn和K0变体。

[0221] 在将pI用作分离机制以允许纯化异源二聚体蛋白的本发明中,可以将氨基酸变体引入到单体多肽中的一个或两个中;即,可以使单体中的一个(为了简便在本文中被称为“单体A”)的pI工程化远离单体B,或可以改变单体A和单体B两者,其中单体A的pI增加并且单体B的pI减少。如所讨论的,任一个或两个单体的pI变化可以通过以下来完成:去除或添加带电荷残基(例如,用带正电荷或带负电荷的氨基酸残基来代替中性氨基酸,例如甘氨酸到谷氨酸)、将带电荷残基从带正电或带负电改变为相反电荷(例如,天冬氨酸到赖氨酸)或将带电荷残基改变为中性残基(例如,电荷损失;赖氨酸到丝氨酸)。多种这些变体示出在附图中。

[0222] 因此,本发明的这个实施例提供了产生单体中的至少一个的充分pI变化,从而使得异源二聚体可以与同源二聚体分离。如本领域技术人员将了解的并且如下文中进一步讨论的,这可以通过以下来完成:使用“野生型”重链恒定区和已经工程化以增大或减小其pI的变体区(wt A⁺-B或wt A⁻-B)或增大一个区并减小另一个区(A⁺-B⁻或A⁻-B⁺)。

[0223] 因此,通常,本发明的一些实施例的组分是抗体的恒定区中的氨基酸变体,所述氨基酸变体涉及通过将氨基酸取代(“pI变体”或“pI取代”)合并到单体中的一个或两个中来

更改单体中的至少一个(如果不是两个的话)的等电点(pI)以形成“pI抗体”。如本文所示,异源二聚体与两个同源二聚体的分离可以在两个单体的pI相差少至0.1个pH单位时完成,0.2个、0.3个、0.4个和0.5个或更多个pH单位均用于本发明。

[0224] 如本领域技术人员将了解的,每一个或两个单体上要包含的用于得到良好分离的pI变体数目将部分地取决于组分的起始pI,例如在三重F格式中,所关注的scFv和Fab的起始pI。即,为了确定工程化哪个单体或处于哪个“方向”(例如,更具阳性或更具阴性),计算这两个靶抗原的Fv序列并据此作出决定。如本领域所已知的,不同的Fv将具有不同的起始pI,本发明中运用了所述起始pI。通常,如本文所概述的,将pI工程化以使各个单体的总pI差为至少约 $0.11\log S$,如本文所概述的优选 $0.21\log S$ 到 $0.51\log S$ 。

[0225] 此外,如本领域技术人员将了解的并且如本文所概述的,在一些实施例中,可以基于大小来使异源二聚体与同源二聚体分离。如图1所示,例如,几种格式允许基于大小来分离异源二聚体和同源二聚体。

[0226] A. 异源二聚体化变体

[0227] 本发明提供了异源二聚体蛋白,包含各种形式的异源二聚体抗体,所述异源二聚体抗体利用了异源二聚体变体以允许异源二聚体形成和/或纯化远离同源二聚体。

[0228] 存在适合的多对异源二聚体化倾斜变体组。这些变体以成“对”的“组”出现。即,所述对中的一组并入第一单体中并且所述对中的另一组并入第二单体中。应注意,这些组不一定表现为“隆突入空穴”变体,一个单体上的残基与另一个单体上的残基一一对应;即,这些对组形成了两个单体之间的相互作用,所述相互作用鼓励异源二聚体形成并且阻止同源二聚体形成,从而允许在生物学条件下自发形成的异源二聚体的百分比超过90%,而非预期的50%(25%同源二聚体A/A:50%异源二聚体A/B:25%同源二聚体B/B)。

[0229] B. 空间变体

[0230] 在一些实施例中,可以通过添加空间变体来促进异源二聚体形成。即,通过改变每个重链中的氨基酸,相比于与相同的Fc氨基酸序列形成同源二聚体,不同的重链更有可能相关联形成异源二聚体结构。附图中包含了适合的空间变体。

[0231] 一种机制在本领域中通常被称为“隆突与空穴”,是指创建空间影响以有利于异源二聚体形成并且不利于同源二聚体形成的氨基酸工程也可以任选地使用;这有时被称为“隆突与空穴”,如以下所描述的:USSN 61/596,846;Ridgway等人,《蛋白质工程(Protein Engineering)》9(7):617(1996);Atwell等人,《分子生物学杂志(J.Mol.Biol.)》1997 270:26;美国专利号8,216,805,以上均通过引用以其全文并入本文。附图标识了依赖于“隆突与空穴”的多对“单体A-单体B”。另外,如Merchant等人《自然生物技术(Nature Biotech.)》16:677(1998)所述,这些“隆突与空穴”突变可以与二硫键组合以使形成向异源二聚体化倾斜。

[0232] 用于生成异源二聚体的额外机制有时被称为“静电转向”,如通过引用以其全文合并在内的Gunasekaran等人《生物化学杂志(J.Biol.Chem.)》285(25):19637(2010)所述。这在本文中有时被称为“电荷对”。在这个实施例中,静电用于使形成向异源二聚体化倾斜。如本领域技术人员将了解的,这些电荷对还可以对pI有作用并因此对纯化有作用,并且因此一些情况下还可以被视为pI变体。然而,由于这些电荷对被生成为迫使异源二聚体化并且不用作纯化工具,因此其被分类为“空间变体”。这些电荷对包含但不限于与D221R/

P228R/K409R配对的D221E/P228E/L368E (例如,这些是“单体对应组”)和与C220R/E224R/P228R/K409R配对的C220E/P228E/368E。

[0233] 可以任选且独立地以任何数量与其它变体如本文所概述的pI变体或US 2012/0149876的图37所示的其它空间变体组合的额外的单体A和单体B变体,US2012/0149876的附图和图例以及SEQ ID NO通过引用明确地并入本文中。

[0234] 在一些实施例中,本文所概述的空间变体可以任选且独立地与任何pI变体(或其它变体,如Fc变体、FcRn变体等)合并到一个或两个单体中,并且可以独立且任选地包含在内或并不包含在本发明的蛋白质中。

[0235] 适合的倾斜变体的列表见于图3和图8,示出了在一些实施例中的一些成对的特定用途。包含但不限于以下的成对的组特别用于一些实施例中:S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q和T366S/L368A/Y407V:T366W(任选地包含桥接二硫化物T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C)。就命名法而言,“S364K/E357Q:L368D/K370S”对意指单体中的一个具有双变体组S364K/E357Q并且另一个具有双变体组L368D/K370S;如上,这些“链型”对取决于起始pI。

[0236] C.异源二聚体的pI(等电点)

[0237] 通常,如本领域技术人员将了解的,存在两种一般类别的pI变体:增大蛋白质的pI(碱性变化)的那些和减小蛋白质的pI(酸性变化)的那些。如本文所述,可以完成这些变体的所有组合:一个单体可以属于野生型或是不显示出与野生型显著不同的pI的变体,并且另一个可以更具碱性或更具酸性。可替代地,改变各个单体,一个改为更具碱性并且一个改为更具酸性。

[0238] pI变体的优选组合示出在图4中。如本文所概述的和附图所示的,这些变化是相对于IgG1示出的,但是可以以此方式更改所有同种型以及同种型杂交体。在重链恒定结构域来自IgG2到IgG4的情况下,也可以使用R133E和R133Q。

[0239] 在一个实施例中,例如在图1A、图1E、图1F、图1G、图1H和图1I的格式中,pI变体的优选组合具有包括208D/295E/384D/418E/421D变体(在相对于人IgG1时是N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D)的一个单体(负Fab侧)和包括带正电荷的scFv连接子的第二单体(正scFv侧),所述带正电荷的scFv连接子包含(GKPGS)₄(SEQ ID NO:37755)。然而,如本领域技术人员将了解的,第一单体包含CH1结构域,所述CH1结构域包含位置208。因此,在不包含CH1结构域的构建体(例如,针对不在结构域中的一个上利用CH1结构域的抗体,例如以双scFv格式或“单臂”格式,如图1B、图1C或图1D所描绘的那些格式)中,优选的负pI变体Fc组包含295E/384D/418E/421D变体(在相对于人IgG1时是Q295E/N384D/Q418E/N421D)。

[0240] 因此,在一些实施例中,一个单体具有来自图4的一组取代并且另一个单体具有带电荷连接子(呈带电荷scFv形式,因为那个单体包括如格式所指示的scFv或带电荷结构域连接子,所述带电荷结构域连接子可以选自图7所描绘的那些)。

[0241] 1.同种型变体

[0242] 另外,本发明的许多实施例依赖于特定位置处的pI氨基酸从一个IgG同种型到另一个的“输入”,由此降低或消除将不想要的免疫原性引入变体中的可能性。

[0243] 多个这些示出在通过引用合并在本文中的美国公开2014/0370013的图21中。即,

出于各种原因,IgG1是治疗性抗体的常用同种型,包含高效应子功能。然而,IgG1的重恒定区具有比IgG2的pI更高的pI(8.10相比于7.31)。通过将特定位置处的IgG2引入到IgG1主链中,所得单体的pI降低(或增高)并且另外展现出更长的血清半衰期。例如,IgG1具有位置137处的甘氨酸(pI为5.97),并且IgG2具有谷氨酸(pI为3.22);输入谷氨酸将影响所得蛋白质的pI。如下文所描述的,通常需要多个氨基酸取代来显著影响变体抗体的pI。然而,应注意,如下文所讨论的,即便是IgG2分子发生变化也允许血清半衰期增加。

[0244] 在其它实施例中,作出了非同种型氨基酸改变,以便降低所得蛋白质的总电荷状态(例如,通过将较高pI氨基酸改为较低pI氨基酸)或为了稳定而允许调节结构等,如下文中更进一步描述的。

[0245] 另外,通过pI工程化重和轻恒定结构域,可以看到异源二聚体的每个单体的显著变化。如本文所讨论的,使两个单体的pI相差至少0.5可以允许通过离子交换色谱法或等电聚焦或对等电点敏感的其它方法进行分离。

[0246] D. 计算pI

[0247] 每个单体的pI可以取决于变体重链恒定结构域的pI和总单体的pI,所述总单体包含变体重链恒定结构域和融合配偶体。因此,在一些实施例中,使用美国公开2014/0370013的图19中的图表、基于变体重链恒定结构域来计算pI变化。如本文所讨论的,要工程化哪个单体通常由Fv和支架区的固有pI来决定。可替代地,可以比较各个单体的pI。

[0248] E. 还赋予了更好的FcRn体内结合的pI变体

[0249] 在pI变体减小单体的pI的情况下,其可以具有提高体内血清固位的额外益处。

[0250] 尽管仍是在检查的情况下,据信,Fc区具有更长的体内半衰期,因为在核内体中、在pH为6时与FcRn的结合螯合了Fc(Ghetie和Ward,1997《今日免疫学(Immunol Today.)》18(12):592-598,通过引用全部并入)。核内体隔区然后使Fc循环到细胞表面。一旦隔区向胞外空间打开,则约7.4的较高pH诱导将Fc释放回到血液中。在鼠中,Da11'Acqua等人示出了,在pH为6和pH为7.4时具有增加的FcRn结合的Fc突变体实际上具有降低的血清浓度和与野生型Fc相同的半衰期(Da11'Acqua等人,2002,《免疫学杂志(J. Immunol.)》169:5171-5180,通过引用全部并入)。

[0251] 据认为,在pH为7.4时FcRn的Fc的增加的亲和力阻止将Fc释放回到血液中。因此,会增加Fc的体内半衰期的Fc突变将理想地增加较低pH时的FcRn结合,同时仍允许在较高pH时释放Fc。氨基酸组氨酸改变了其在6.0到7.4的pH范围下的电荷状态。因此,在Fc/FcRn复合物中的重要位置处发现His残基不足为奇。

[0252] 最近,已经提出,带具有较低等电点的可变区的抗体也可以具有较长的血清半衰期(Igawa等人,2010《PEDS.》23(5):385-392,通过引用全部并入)。然而,对其机制仍知之甚少。而且,可变区因抗体而有所不同。具有降低的pI和延长的半衰期的恒定区将会提供更具模块化的方法来提高抗体的药代动力学性质,如本文所描述的。

[0253] F. 用于额外功能的额外Fc变体

[0254] 除了pI氨基酸变体之外,存在出于各种原因可以作出的许多有用的Fc氨基酸修饰,包括但不限于更改与一个或多个Fc γ R受体的结合、与FcRn受体的更改结合等。

[0255] 因此,本发明的蛋白质可以包含氨基酸修饰,包含本文所概述的异二聚体化变体,所述异二聚体化变体包含pI变体和空间变体。每组变体可以独立且任选地包含在内或不包

含在任何特定异源二聚体蛋白中。

[0256] G.Fc γ R变体

[0257] 因此,存在可以作出以更改与Fc γ R受体中的一个或多个的结合的多个有用Fc取代。导致增加的结合以及减少的结合的取代可以是有用的。例如,已知与Fc γ RIIIIa增加的结合导致了增加的ADCC(抗体依赖性细胞介导的细胞毒性;其中表达Fc γ R的非特异性毒性细胞识别靶细胞上的结合抗体并且随后引起靶细胞溶解的细胞介导的反应)。类似地,与Fc γ RIIb(抑制性受体)的减少结合在一些情形下也可以是有用的。用于本发明的氨基酸取代包含USSN 11/124,620(尤其是图41)、11/174,287、11/396,495、11/538,406所列出的那些,其均通过引用以其全文明确地合并在本文中并且特别用于本文所公开的变体。所使用的特定变体包含但不限于236A、239D、239E、332E、332D、239D/332E、267D、267E、328F、267E/328F、236A/332E、239D/332E/330Y、239D、332E/330L、243A、243L、264A、264V和299T。

[0258] 另外,如通过引用以其全文合并在此的USSN 12/341,769所具体公开的,存在用于与FcRn增加的结合以及增加的血清半衰期的额外Fc取代,包含但不限于434S、434A、428L、308F、259I、428L/434S、259I/308F、436I/428L、436I或V/434S、436V/428L和259I/308F/428L。

[0259] H. 消融变体

[0260] 类似地,另一类别的功能变体是“Fc γ R消融变体”或“Fc敲除(FcKO或KO)变体”。在这些实施例中,对于一些治疗性应用,期望减少或去除Fc结构域与Fc γ 受体(例如,Fc γ RI、Fc γ RIIa、Fc γ RIIb、Fc γ RIIIIa等)中的一个或多个或所有的正常结合以避免额外的动作机制。即,例如,在许多实施例中,尤其是在使用双特异性检查点抗体时,期望消融Fc γ RIIIIa结合以消除或显著降低ADCC活性使得Fc结构域中的一个包括一个或多个Fc γ 受体消融变体。图5中描绘了这些消融变体,并且各自可以独立且任选地包含在内或不包含在内,优选方面利用了选自以下组成的群组的消融变体:G236R/L328R、E233P/L234V/L235A/G236del/S239K、E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、E233P/L234V/L235A/G236del/S239K/A327G、E233P/L234V/L235A/G236del/S267K/A327G和E233P/L234V/L235A/G236del。应注意,本文所引用的消融变体消融Fc γ R结合但通常不消融FcRn结合。

[0261] 如本领域所已知的,人IgG1的Fc结构域具有与Fc γ 受体的最高结合,并且因此,在异源二聚体抗体的主链中的恒定结构域(或Fc结构域)为IgG1时,可以使用消融变体。例如,可替代地或除了IgG1背景下的消融变体之外,糖基化位置297处的突变(通常突变成A或S)可以显著消融与Fc γ RIIIIa的结合。人IgG2和IgG4具有与Fc γ 受体天然减少的结合,并且因此那些主链可以在有或无消融变体的情况下使用。

[0262] I. 异源二聚体变体和Fc变体的组合

[0263] 如本领域技术人员将了解的,所有所列异源二聚体化变体(包含倾斜变体和/或pI变体)可以任何方式任选且独立地组合,只要其保持器“链型”或“单体分隔”即可。另外,所有这些变体可以组合成任何异源二聚体化格式。

[0264] 在pI变体的情况下,虽然附图中示出了特别有用的实施例,但是可以遵循改变两个单体之间的pI差异以促进纯化的基本规则,生成其它组合。

[0265] 另外,如本文中总体上概述的,异源二聚体化变体倾斜变体和pI变体中的任何也与Fc消融变体、Fc变体、FcRn变体独立且任选地组合。

[0266] V. 本发明的有用格式

[0267] 如本领域技术人员将了解的并且如下文更充分地讨论的,本发明的双特异性异源二聚体抗体可以采取各种配置,如图1中总体上描绘的。一些附图描绘了“单端”配置,其中分子的一个“臂”上有一种类型的特异性并且另一个“臂”上有不同的特异性。其它附图描绘了“双端”配置,其中分子的“顶部”有至少一种类型的特异性并且分子的“底部”有一种或多种不同的特异性。因此,本发明涉及共同接合不同的第一抗原和第二抗原的新型免疫球蛋白组成物。

[0268] 如本领域技术人员将了解的,本发明的异源二聚体格式可以具有不同的化合价并且可以是双特异性的。即,本发明的异源二聚体抗体可以是二价的且双特异性的,其中一个检查点靶标由一个ABD结合并且另一个检查点靶标由第二ABD结合。异源二聚体抗体还可以是三价的且双特异性的,其中第一抗体由两个ABD结合并且第二抗体由第二ABD结合。

[0269] A. 开瓶器格式

[0270] 特别用于本发明的一种异源二聚体支架是如图1A所示的“三重F”或“开瓶器”支架格式。在这个实施例中,抗体的一个重链含有单链Fv(“scFv”,如下文所定义的)并且另一个重链是包括可变重链和轻链的“常规”Fab格式。此结构在本文中有时被称为“三重F”格式(scFv-Fab-Fc)或“开瓶器”格式,这是由于与开瓶器具有大致视觉相似性(参见图1A)。通过使用恒定区(例如,Fc结构域、CH1结构域和/或铰链区)中的如下文更加充分地描述的促进异源二聚体抗体形成的氨基酸变体,这两个链被放在一起。

[0271] 本发明的“三重F”格式存在几个明显优势。如本领域所已知的,依赖于两个scFv构建体的抗体类似物常常具有稳定性和聚合问题,在本发明中可以通过添加“常规”的重链和轻链配对来缓解所述稳定性和聚合问题。另外,如与依赖于两个重链和两个轻链的格式相反,不存在重链和轻链错误配对(例如,重链1与轻链2配对等)的问题。

[0272] 本文所概述的许多实施例通常依赖于包括第一单体的开瓶器格式,所述第一单体包括scFv,所述scFv包括使用scFv连接子(在许多但并非所有情况下,带电荷)进行共价连接的可变重结构域和可变轻结构域,其中scFv常通过结构域连接子(如本文所概述的,所述结构域连接子可以是不带电荷的或带电荷的并且可以是外源的或内源的(例如,天然铰链结构域的全部或一部分))与第一Fc结构域的N-末端共价连接。开瓶器格式的第二单体是重链,并且组成物进一步包括轻链。

[0273] 另外,开瓶器格式的Fc结构域通常包括倾斜变体(例如,如图3和图8中所示的一组氨基酸取代,其中特别有用的倾斜变体选自由以下组成的群组:S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L、K370S:S364K/E357Q、T366S/L368A/Y407V:T366W和T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C)、任选地消融变体(包含图5所示的那些)、任选地带电荷scFv连接子(包含图7所示的那些),并且重链包括pI变体(包含图4所示的那些)。

[0274] 在一些实施例中,开瓶器格式包含倾斜变体、pI变体和消融变体。因此,一些实施例包含开瓶器格式,所述开瓶器格式包括:a)第一单体(“scFv单体”),其包括带电荷scFv连接子(图7的+H序列在一些实施例中是优选的)、倾斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K和与如本文所概述的检查点受体结合的Fv;b)第二单体(“Fab单体”),其包括倾斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体

E233P/L234V/L235A/G236del/S267K和可变重结构域,所述可变重结构域与可变轻结构域构成与如本文所概述的第二检查点受体结合的Fv;以及c)轻链。在这个特定实施例中,适合的单体Fv对包含(Fab首先被列出,scFv第二个被列出)PD-1和CTLA-4、CTLA-4和PD-1、PD-1和TIM-3、TIM-3和PD-1、PD-1和LAG-3、LAG-3X PD1、PD-1和TIGIT、TIGIT和PD-1、PD-1和BTLA、BTLA和PD-1、CTLA-4和TIM-3、TIM-3和CTLA-4、CTLA-4和LAG-3、LAG-3和CTLA-4、CTLA-4和TIGIT、TIGIT和CTLA-4、CTLA-4和BTLA、BTLA和CTLA-4、TIM-3和LAG-3、LAG-3和TIM-3、TIM-3和TIGIT、TIGIT和TIM-3、TIM-3和BTLA、BTLA和TIM-3、LAG-3和TIGIT、TIGIT和LAG-3、LAG-3和BTLA、BTLA和LAG-3、BTLA和TIGIT、以及TIGIT和BTLA。在这个特定实施例中,具有这些变体的开瓶器具有包括与具有特别用途的PD-1结合的ABD 1G6_L1.194_H1.279的scFv侧。在这个特定实施例中,具有这些变体的开瓶器具有包括与具有特别用途的CTLA-4结合的[CTLA-4]_H3.23_L0.129 ABD的scFv侧。

[0275] 尤其是在开瓶器格式下特别用于一些实施例中的是CTLA-4X PD-1、LAG-3X PD-1、BTLA X PD-1、TIM-3X PD-1和LAG-3X CTLA-4。

[0276] 这些组合的ABD序列可以如序列表所公开的或如图9到图13所示的,并且处于如图39和图40所示的任何组合。

[0277] 在一些实施例中,开瓶器格式包含倾斜变体、pI变体、消融变体和FcRn变体。因此,一些实施例包含开瓶器格式,所述开瓶器格式包括:a)第一单体(“scFv单体”),其包括带电荷scFv连接子(图7的+H序列在一些实施例中是优选的)、倾斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S和与如本文所概述的检查点抑制剂结合的Fv;b)第二单体(“Fab单体”),其包括倾斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S和可变重结构域,所述可变重结构域与可变轻结构域构成与如本文所概述的第二检查点抑制剂结合的Fv;以及c)轻链。在这个特定实施例中,适合的Fv对包含(Fab首先被列出,scFv第二个被列出)PD-1和CTLA-4、CTLA-4和PD-1、PD-1和TIM-3、TIM-3和PD-1、PD-1和LAG-3、LAG-3X PD1、PD-1和TIGIT、TIGIT和PD-1、PD-1和BTLA、BTLA和PD-1、CTLA-4和TIM-3、TIM-3和CTLA-4、CTLA-4和LAG-3、LAG-3和CTLA-4、CTLA-4和TIGIT、TIGIT和CTLA-4、CTLA-4和BTLA、BTLA和CTLA-4、TIM-3和LAG-3、LAG-3和TIM-3、TIM-3和TIGIT、TIGIT和TIM-3、TIM-3和BTLA、BTLA和TIM-3、LAG-3和TIGIT、TIGIT和LAG-3、LAG-3和BTLA、BTLA和LAG-3、BTLA和TIGIT、以及TIGIT和BTLA。在这个特定实施例中,具有这些变体的开瓶器具有包括与具有特别用途的PD-1结合的ABD 1G6_L1.194_H1.279的scFv侧。在这个特定实施例中,具有这些变体的开瓶器具有包括与具有特别用途的CTLA-4结合的[CTLA-4]_H3.23_L0.129 ABD的scFv侧。

[0278] 尤其是在开瓶器格式下特别用于一些实施例中的是CTLA-4X PD-1、LAG-3X PD-1、BTLA X PD-1、TIM-3X PD-1和LAG-3X CTLA-4。

[0279] 具体地说,图37示出了缺少本发明中可以使用的Fv序列的一些开瓶器“主链”序列。即,可以使用来自以下的任何组合的scFv部分和Fab部分的Fv序列:PD-1和CTLA-4、PD-1和TIM-3、PD-1和LAG-3、PD-1和TIGIT、PD-1和BTLA、CTLA-4和TIM-3、CTLA-4和LAG-3、CTLA-4和TIGIT、CTLA-4和BTLA、TIM-3和LAG-3、TIM-3和TIGIT、TIM-3和BTLA、LAG-3和TIGIT、LAG-3和BTLA、以及TIGIT和BTLA。序列可以是序列表和/或图9到图13中本文所公开的那些序列中

的任何序列。

[0280] 对于图37的开瓶器主链1,用于本发明的特定Fv组合包含PD-1和CTLA-4、PD-1和TIM-3、PD-1和LAG-3、PD-1和TIGIT、PD-1和BTLA、CTLA-4和TIM-3、CTLA-4和LAG-3、CTLA-4和TIGIT、CTLA-4和BTLA、TIM-3和LAG-3、TIM-3和TIGIT、TIM-3和BTLA、LAG-3和TIGIT、LAG-3和BTLA、以及TIGIT和BTLA。序列可以是序列表和/或图9到图13中本文所公开的那些序列中的任何序列。

[0281] 对于图37的开瓶器主链1,用于本发明的特定Fv组合包含CTLA-4 (Fab) X PD-1 (scFv)、PD-1 (Fab) X CTLA-4 (scFv)、LAG-3 (Fab) X PD-1 (scFv)、BTLA (Fab) X PD-1 (scFv) 和LAG-3 (Fab) X CTLA-4 (scFv)。

[0282] 对于图37的开瓶器主链1 (任选地包含428L/434S变体),结合人PD-1的特定ABD包含但不限于1G6_H1.279_L1.194、1G6_H1.280_L1.224、1G6_L1.194_H1.279、1G6_L1.210_H1.288和2E9H1L1、以及SEQ ID NO:6209到11464、SEQ ID NO:11465到17134、SEQ ID NO:33003到33072、SEQ ID NO:33073到35394和SEQ ID NO:36127到36146中列出的那些。

[0283] 对于图37的开瓶器主链1 (任选地包含428L/434S变体),结合人CTLA-4的特定ABD包含但不限于:[CTLA-4]_H0.25_L0;[CTLA-4]_H0.26_L0;[CTLA-4]_H0.27_L0;[CTLA-4]_H0.29_L0;[CTLA-4]_H0.38_L0;[CTLA-4]_H0.39_L0;[CTLA-4]_H0.40_L0;[CTLA-4]_H0.70_L0;[CTLA-4]_H0_L0.22;[CTLA-4]_H2_L0;[CTLA-4]_H3.21_L0.124;[CTLA-4]_H3.21_L0.129;[CTLA-4]_H3.21_L0.132;[CTLA-4]_H3.23_L0.124;[CTLA-4]_H3.23_L0.129;[CTLA-4]_H3.23_L0.132;[CTLA-4]_H3.25_L0.124;[CTLA-4]_H3.25_L0.129;[CTLA-4]_H3.25_L0.132;[CTLA-4]_H3.4_L0.118;[CTLA-4]_H3.4_L0.119;[CTLA-4]_H3.4_L0.12;[CTLA-4]_H3.4_L0.121;[CTLA-4]_H3.4_L0.122;[CTLA-4]_H3.4_L0.123;[CTLA-4]_H3.4_L0.124;[CTLA-4]_H3.4_L0.125;[CTLA-4]_H3.4_L0.126;[CTLA-4]_H3.4_L0.127;[CTLA-4]_H3.4_L0.128;[CTLA-4]_H3.4_L0.129;[CTLA-4]_H3.4_L0.130;[CTLA-4]_H3.4_L0.131;[CTLA-4]_H3.4_L0.132;[CTLA-4]_H3.5_L2.1;[CTLA-4]_H3.5_L2.2;[CTLA-4]_H3.5_L2.3;[CTLA-4]_H3_L0;[CTLA-4]_H3_L0.22;[CTLA-4]_H3_L0.44;[CTLA-4]_H3_L0.67和[CTLA-4]_H3_L0.74;以及SEQ ID NO:21到2918、SEQ ID NO:2919到6208、SEQ ID NO:36739到36818和SEQ ID NO:35395到35416中列出的那些。

[0284] 对于图37的开瓶器主链1 (任选地包含428L/434S变体),结合人LAG-3的特定ABD包含但不限于:2A11_H0L0;2A11_H1.125_L2.113;2A11_H1.144_L2.142;2A11_H1_L2.122;2A11_H1_L2.123;2A11_H1_L2.124;2A11_H1_L2.25;2A11_H1_L2.47;2A11_H1_L2.50;2A11_H1_L2.91;2A11_H1_L2.93;2A11_H1_L2.97;2A11_H1L1;2A11_H1L2;2A11_H2L2;2A11_H3L1;2A11_H3L2;2A11_H4L1;2A11_H4L2;7G8_H0L0;7G8_H1L1;7G8_H3.18_L1.11;7G8_H3.23_L1.11;7G8_H3.28_L1;7G8_H3.28_L1.11;7G8_H3.28_L1.13;7G8_H3.30_L1.34;7G8_H3.30_L1.34;和7G8_H3L1;以及SEQ ID NO:17135到20764、SEQ ID NO:36819到36962、SEQ ID NO:35417到35606、SEQ ID NO:25194到32793和SEQ ID NO:32794到33002中列出的那些。

[0285] 对于图37的开瓶器主链1 (任选地包含428L/434S变体),结合人BTLA的特定ABD包含但不限于:9C6_H0L0;9C6_H1.1_L1;和9C6_H1.11_L1;以及SEQ ID NO:20885到21503和SEQ ID NO:36707到36738中列出的那些。

[0286] 对于图37的开瓶器主链1 (任选地包含428L/434S变体),结合人TIM-3的特定ABD包

包括但不限于:1D10_H0L0;1D12_H0L0;3H3_H1_L2.1;6C8_H0L0;6D9_H0_1D12_L0;7A9_H0L0;7B11_H0L0;7B11var_H0L0和7C2_H0L0;以及SEQ ID NO:20765到20884、SEQ ID NO:37587到37698和SEQ ID NO:36347到36706中列出的那些。

[0287] 下文中概述了特定的开瓶器实施例。

[0288] B.mAb-Fv格式

[0289] 特别用于本发明的一种异源二聚体支架是如图1H所示的mAb-Fv格式。在这个实施例中,格式依赖于使用“额外”可变重结构域的C-末端与一个单体的连接以及“额外”可变轻结构域的C-末端与另一个单体的连接,从而形成第三抗原结合结构域,其中两个单体的Fab部分结合一个检查点靶标并且“额外”scFv结构域结合不同的检查点靶标。

[0290] 在这个实施例中,第一单体包括第一重链,所述第一重链包括第一可变重结构域和第一恒定重结构域,所述第一恒定重结构域包括第一Fc结构域,第一可变轻结构域使用结构域连接子(vh1-CH1-铰链-CH2-CH3-[任选连接子]-v12)来与第一Fc结构域的C-末端共价连接。第二单体包括第二可变重结构域和第三可变重结构域,所述第二可变重结构域属于包括第二Fc结构域的第二恒定重结构域,所述第三可变重结构域使用结构域连接子(vh1-CH1-铰链-CH2-CH3-[任选连接子]-vh2)来与第二Fc结构域的C-末端共价连接。两个C-末端连接可变结构域构成scFv。这个实施例进一步利用了包括可变轻结构域和恒定轻结构域的轻链,所述轻链与重链相关联以形成两个相同的Fab。对于本文中的许多实施例,如本文所期望和描述的,这些构建体包含倾斜变体、pI变体、消融变体、额外Fc变体等。在这个实施例中,适合的Fv对包含(Fab首先被列出,scFv第二个被列出)PD-1和CTLA-4、CTLA-4和PD-1、PD-1和TIM-3、TIM-3和PD-1、PD-1和LAG-3、LAG-3和PD-1、PD-1和TIGIT、TIGIT和PD-1、PD-1和BTLA、BTLA和PD-1、CTLA-4和TIM-3、TIM-3和CTLA-4、CTLA-4和LAG-3、LAG-3和CTLA-4、CTLA-4和TIGIT、TIGIT和CTLA-4、CTLA-4和BTLA、BTLA和CTLA-4、TIM-3和LAG-3、LAG-3和TIM-3、TIM-3和TIGIT、TIGIT和TIM-3、TIM-3和BTLA、BTLA和TIM-3、LAG-3和TIGIT、TIGIT和LAG-3、LAG-3和BTLA、BTLA和LAG-3、BTLA和TIGIT、以及TIGIT和BTLA。

[0291] 这些组合的ABD序列可以如序列表所公开的或如图9到图13所示的,并且处于如图39和图40所示的任何组合。

[0292] 另外,mAb-Fv格式的Fc结构域包括倾斜变体(例如,如图3和图8中所示出的一组氨基酸取代,其中特别有用的倾斜变体选自由以下组成的群组:S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L、K370S:S364K/E357Q、T366S/L368A/Y407V:T366W、以及T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C)、任选地消融变体(包含图5所示的那些)、任选地带电荷scFv连接子(包含图7所示的那些),并且重链包括pI变体(包含图4所示的那些)。

[0293] 在一些实施例中,mAb-Fv格式包含倾斜变体、pI变体和消融变体。因此,一些实施例包含开瓶器格式,所述开瓶器格式包括:a)第一单体,其包括倾斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、以及第一可变重结构域和第二可变重结构域,所述第一可变重结构域与轻链的第一可变轻结构域构成与第一检查点抑制剂结合的Fv;b)第二单体,其包括倾斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、以及第一可变重结构域和第二可变轻链,所述第一可变重结构域与第一可变轻结构域构成与如本文所概述的第一检查点抑制剂结合的Fv,所述

第二可变轻链与第二可变重链一起形成结合第二检查点抑制剂的Fv (ABD) ;以及c) 轻链,其包括第一可变轻结构域和恒定轻结构域。在这个格式下尤其用于一些实施例中的是 (Fab-scFv顺序) CTLA-4X PD-1、LAG-3X PD-1、BTLAX PD-1和LAG-3X CTLA-4。

[0294] 在一些实施例中, mAb-Fv格式包含倾斜变体、pI变体、消融变体和FcRn变体。因此, 一些实施例包含开瓶器格式, 所述开瓶器格式包括: a) 第一单体, 其包括倾斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、以及第一可变重结构域和第二可变重结构域, 所述第一可变重结构域与轻链的第一可变轻结构域构成与第一检查点抑制剂结合的Fv; b) 第二单体, 其包括倾斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、以及第一可变重结构域和第二可变轻链, 所述第一可变重结构域与第一可变轻结构域构成与如本文所概述的第一检查点抑制剂结合的Fv, 所述第二可变轻链与第二可变重链一起形成结合第二检查点抑制剂的Fv (ABD) ;以及c) 轻链, 其包括第一可变轻结构域和恒定轻结构域。在这个格式下尤其用于一些实施例中的是 (Fab-scFv顺序) CTLA-4X PD-1、LAG-3X PD-1、BTLAX PD-1和LAG-3XCTLA-4。

[0295] 对于类似于图38的mAb-scFv主链1的mAb-Fv序列 (任选地包含M428L/N434S), 结合入PD-1的特定ABD包含但不限于: 1G6_H1.279_L1.194、1G6_H1.280_L1.224、1G6_L1.194_H1.279、1G6_L1.210_H1.288和2E9_H1L1、以及SEQ ID NO:6209到11464、SEQ ID NO:11465到17134、SEQ ID NO:33003到33072、SEQ ID NO:33073到35394和SEQ ID NO:36127到36146中列出的那些。

[0296] 对于类似于图38的mAb-scFv主链1的mAb-Fv序列 (任选地包含M428L/N434S), 结合入CTLA-4的特定ABD包含但不限于: [CTLA-4]_H0.25_L0; [CTLA-4]_H0.26_L0; [CTLA-4]_H0.27_L0; [CTLA-4]_H0.29_L0; [CTLA-4]_H0.38_L0; [CTLA-4]_H0.39_L0; [CTLA-4]_H0.40_L0; [CTLA-4]_H0.70_L0; [CTLA-4]_H0_L0.22; [CTLA-4]_H2_L0; [CTLA-4]_H3.21_L0.124; [CTLA-4]_H3.21_L0.129; [CTLA-4]_H3.21_L0.132; [CTLA-4]_H3.23_L0.124; [CTLA-4]_H3.23_L0.129; [CTLA-4]_H3.23_L0.132; [CTLA-4]_H3.25_L0.124; [CTLA-4]_H3.25_L0.129; [CTLA-4]_H3.25_L0.132; [CTLA-4]_H3.4_L0.118; [CTLA-4]_H3.4_L0.119; [CTLA-4]_H3.4_L0.12; [CTLA-4]_H3.4_L0.121; [CTLA-4]_H3.4_L0.122; [CTLA-4]_H3.4_L0.123; [CTLA-4]_H3.4_L0.124; [CTLA-4]_H3.4_L0.125; [CTLA-4]_H3.4_L0.126; [CTLA-4]_H3.4_L0.127; [CTLA-4]_H3.4_L0.128; [CTLA-4]_H3.4_L0.129; [CTLA-4]_H3.4_L0.130; [CTLA-4]_H3.4_L0.131; [CTLA-4]_H3.4_L0.132; [CTLA-4]_H3.5_L2.1; [CTLA-4]_H3.5_L2.2; [CTLA-4]_H3.5_L2.3; [CTLA-4]_H3_L0; [CTLA-4]_H3_L0.22; [CTLA-4]_H3_L0.44; [CTLA-4]_H3_L0.67和[CTLA-4]_H3_L0.74; 以及SEQ ID NO:21到2918、SEQ ID NO:2919到6208、SEQ ID NO:36739到36818和SEQ ID NO:35395到35416中列出的那些。

[0297] 对于类似于图38的mAb-scFv主链1的mAb-Fv序列 (任选地包含M428L/N434S), 结合入LAG-3的特定ABD包含但不限于: 2A11_H0L0; 2A11_H1.125_L2.113; 2A11_H1.144_L2.142; 2A11_H1_L2.122; 2A11_H1_L2.123; 2A11_H1_L2.124; 2A11_H1_L2.25; 2A11_H1_L2.47; 2A11_H1_L2.50; 2A11_H1_L2.91; 2A11_H1_L2.93; 2A11_H1_L2.97; 2A11_H1L1; 2A11_H1L2; 2A11_H2L2; 2A11_H3L1; 2A11_H3L2; 2A11_H4L1; 2A11_H4L2; 7G8_H0L0; 7G8_H1L1; 7G8_H3.18_L1.11; 7G8_H3.23_L1.11; 7G8_H3.28_L1; 7G8_H3.28_L1.11; 7G8_H3.28_L1.13; 7G8_

H3.30_L1.34;7G8_H3.30_L1.34;和7G8_H3L1;以及SEQ ID NO:17135到20764、SEQ ID NO:36819到36962、SEQ ID NO:35417到35606、SEQ ID NO:25194到32793和SEQ ID NO:32794到33002中列出的那些。

[0298] 对于类似于图38的mAb-scFv主链1的mAb-Fv序列(任选地包含M428L/N434S),结合人BTLA的特定ABD包含但不限于:9C6_H0L0;9C6_H1.1_L1;和9C6_H1.11_L1;以及SEQ ID NO:20885到21503和SEQ ID NO:36707到36738中列出的那些。

[0299] 对于类似于图38的mAb-scFv主链1的mAb-Fv序列(任选地包含M428L/N434S),结合人TIM-3的特定ABD包含但不限于:1D10_H0L0;1D12_H0L0;3H3_H1_L2.1;6C8_H0L0;6D9_H0_1D12_L0;7A9_H0L0;7B11_H0L0;7B11var_H0L0和7C2_H0L0;以及SEQ ID NO:20765到20884、SEQ ID NO:37587到37698和SEQ ID NO:36347到36706中列出的那些。

[0300] C.mAb-scFv

[0301] 特别用于本发明的一种异源二聚体支架是如图1I所示的mAb-scFv格式。在这个实施例中,格式依赖于使用scFv的C-末端与单体中的一个的连接,从而形成第三抗原结合结构域,其中两个单体的Fab部分结合一个检查点靶标并且“额外”scFv结构域结合不同的检查点靶标。

[0302] 在这个实施例中,第一单体包括第一重链(包括可变重结构域和恒定结构域),其中C-末端共价连接的scFv包括在任一朝向上(vh1-CH1-铰链-CH2-CH3-[任选连接子]-vh2-scFv连接子-vl2或vh1-CH1-铰链-CH2-CH3-[任选连接子]-vl2-scFv连接子-vh2)的scFv可变轻结构域、scFv连接子和scFv可变重结构域。这个实施例进一步利用了包括可变轻结构域和恒定轻结构域的共有轻链,所述共有轻链与重链相关联以形成与靶抗原中的一个结合的两个相同的Fab。对于本文中的许多实施例,如本文所期望和描述的,这些构建体包含倾斜变体、pI变体、消融变体、额外Fc变体等。在这个实施例中,适合的Fv对包含(Fab首先被列出,scFv第二个被列出)PD-1和CTLA-4、CTLA-4和PD-1、PD-1和TIM-3、TIM-3和PD-1、PD-1和LAG-3、LAG-3和PD-1、PD-1和TIGIT、TIGIT和PD-1、PD-1和BTLA、BTLA和PD-1、CTLA-4和TIM-3、TIM-3和CTLA-4、CTLA-4和LAG-3、LAG-3和CTLA-4、CTLA-4和TIGIT、TIGIT和CTLA-4、CTLA-4和BTLA、BTLA和CTLA-4、TIM-3和LAG-3、LAG-3和TIM-3、TIM-3和TIGIT、TIGIT和TIM-3、TIM-3和BTLA、BTLA和TIM-3、LAG-3和TIGIT、TIGIT和LAG-3、LAG-3和BTLA、BTLA和LAG-3、BTLA和TIGIT、以及TIGIT和BTLA。

[0303] 这些组合的ABD序列可以如序列表所公开的或如图9到图13所示的,并且处于如图39和图40所示的任何组合。

[0304] 另外,mAb-scFv格式的Fc结构域通常包括倾斜变体(例如,如图3和图8所示的一组氨基酸取代,其中特别有用的倾斜变体选自由以下组成的群组:S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L、K370S:S364K/E357Q、T366S/L368A/Y407V:T366W、以及T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C)、任选地消融变体(包含图5所示的那些)、任选地带电荷scFv连接子(包含图7所示的那些),并且重链包括pI变体(包含图4所示的那些)。

[0305] 在一些实施例中,mAb-scFv格式包含倾斜变体、pI变体和消融变体。因此,一些实施例包含开瓶器格式,所述开瓶器格式包括:a)第一单体,其包括倾斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236de1/S267K、以及第一可变重结构域和第二可变重结构域,

所述第一可变重结构域与轻链的第一可变轻结构域构成与第一检查点抑制剂结合的Fv;b) 第二单体,其包括倾斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、以及第一可变重结构域和第二可变轻链,所述第一可变重结构域与第一可变轻结构域构成与如本文所概述的第一检查点抑制剂结合的Fv,所述第二可变轻链与第二可变重链一起形成结合第二检查点抑制剂的Fv (ABD);以及c) 轻链,其包括第一可变轻结构域和恒定轻结构域。在这个格式下尤其用于一些实施例中的是 (Fab-scFv顺序)CTLA-4X PD-1、LAG-3X PD-1、BTLA X PD-1和LAG-3X CTLA-4。

[0306] 在一些实施例中,mAb-scFv格式包含倾斜变体、pI变体、消融变体和FcRn变体。因此,一些实施例包含开瓶器格式,所述开瓶器格式包括:a) 第一单体,其包括倾斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、以及第一可变重结构域和第二可变重结构域,所述第一可变重结构域与轻链的第一可变轻结构域构成与第一检查点抑制剂结合的Fv;b) 第二单体,其包括倾斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、以及第一可变重结构域和第二可变轻链,所述第一可变重结构域与第一可变轻结构域构成与如本文所概述的第一检查点抑制剂结合的Fv,所述第二可变轻链与第二可变重链一起形成结合第二检查点抑制剂的Fv (ABD);以及c) 轻链,其包括第一可变轻结构域和恒定轻结构域。在mAb-scFv格式中,用于本发明的特定Fv组合包含CTLA-4 (Fab) X PD-1 (scFv)、PD-1 (Fab) X CTLA-4 (scFv)、LAG-3 (Fab) X PD-1 (scFv)、BTLA (Fab) X PD-1 (scFv) 和LAG-3 (Fab) X CTLA-4 (scFv)。

[0307] 在图38的mAb-scFv主链1 (任选地包含M428L/N434S) 中,结合人PD-1的特定ABD包含但不限于:1G6_H1.279_L1.194、1G6_H1.280_L1.224、1G6_L1.194_H1.279、1G6_L1.210_H1.288和2E9_H1L1、以及SEQ ID NO:6209到11464、SEQ ID NO:11465到17134、SEQ ID NO:33003到33072、SEQ ID NO:33073到35394和SEQ ID NO:36127到36146中列出的那些。

[0308] 在图38的mAb-scFv主链1 (任选地包含M428L/N434S) 中,结合人CTLA-4的特定ABD包含但不限于:[CTLA-4]_H0.25_L0;[CTLA-4]_H0.26_L0;[CTLA-4]_H0.27_L0;[CTLA-4]_H0.29_L0;[CTLA-4]_H0.38_L0;[CTLA-4]_H0.39_L0;[CTLA-4]_H0.40_L0;[CTLA-4]_H0.70_L0;[CTLA-4]_H0_L0.22;[CTLA-4]_H2_L0;[CTLA-4]_H3.21_L0.124;[CTLA-4]_H3.21_L0.129;[CTLA-4]_H3.21_L0.132;[CTLA-4]_H3.23_L0.124;[CTLA-4]_H3.23_L0.129;[CTLA-4]_H3.23_L0.132;[CTLA-4]_H3.25_L0.124;[CTLA-4]_H3.25_L0.129;[CTLA-4]_H3.25_L0.132;[CTLA-4]_H3.4_L0.118;[CTLA-4]_H3.4_L0.119;[CTLA-4]_H3.4_L0.12;[CTLA-4]_H3.4_L0.121;[CTLA-4]_H3.4_L0.122;[CTLA-4]_H3.4_L0.123;[CTLA-4]_H3.4_L0.124;[CTLA-4]_H3.4_L0.125;[CTLA-4]_H3.4_L0.126;[CTLA-4]_H3.4_L0.127;[CTLA-4]_H3.4_L0.128;[CTLA-4]_H3.4_L0.129;[CTLA-4]_H3.4_L0.130;[CTLA-4]_H3.4_L0.131;[CTLA-4]_H3.4_L0.132;[CTLA-4]_H3.5_L2.1;[CTLA-4]_H3.5_L2.2;[CTLA-4]_H3.5_L2.3;[CTLA-4]_H3_L0;[CTLA-4]_H3_L0.22;[CTLA-4]_H3_L0.44;[CTLA-4]_H3_L0.67和[CTLA-4]_H3_L0.74;以及SEQ ID NO:21到2918、SEQ ID NO:2919到6208、SEQ ID NO:36739到36818和SEQ ID NO:35395到35416中列出的那些。

[0309] 在图38的mAb-scFv主链1 (任选地包含M428L/N434S) 中,结合人LAG-3的特定ABD包含但不限于:2A11_H0L0;2A11_H1.125_L2.113;2A11_H1.144_L2.142;2A11_H1_L2.122;

2A11_H1_L2.123;2A11_H1_L2.124;2A11_H1_L2.25;2A11_H1_L2.47;2A11_H1_L2.50;2A11_H1_L2.91;2A11_H1_L2.93;2A11_H1_L2.97;2A11_H1L1;2A11_H1L2;2A11_H2L2;2A11_H3L1;2A11_H3L2;2A11_H4L1;2A11_H4L2;7G8_H0L0;7G8_H1L1;7G8_H3.18_L1.11;7G8_H3.23_L1.11;7G8_H3.28_L1;7G8_H3.28_L1.11;7G8_H3.28_L1.13;7G8_H3.30_L1.34;7G8_H3.30_L1.34;和7G8_H3L1;以及SEQ ID NO:17135到20764、SEQ ID NO:36819到36962、SEQ ID NO:35417到35606、SEQ ID NO:25194到32793和SEQ ID NO:32794到33002中列出的那些。

[0310] 在图38的mAb-scFv主链1(任选地包含M428L/N434S)中,结合人BTLA的特定ABD包含但不限于:9C6_H0L0;9C6_H1.1_L1;和9C6_H1.11_L1;以及SEQ ID NO:20885到21503和SEQ ID NO:36707到36738中列出的那些。

[0311] 在图38的mAb-scFv主链1(任选地包含M428L/N434S)中,结合人TIM-3的特定ABD包含但不限于:1D10_H0L0;1D12_H0L0;3H3_H1_L2.1;6C8_H0L0;6D9_H0_1D12_L0;7A9_H0L0;7B11_H0L0;7B11var_H0L0和7C2_H0L0;以及SEQ ID NO:20765到20884、SEQ ID NO:37587到37698和SEQ ID NO:36347到36706中列出的那些。

[0312] D. 中央scFv

[0313] 特别用于本发明的一种异源二聚体支架是如图1F所示出的中央-scFv格式。在这个实施例中,格式依赖于插入的scFv结构域的使用,从而形成第三抗原结合结构域,其中两个单体的Fab部分与一个检查点靶标结合,并且“额外”scFv结构域与另一个检查点靶标结合。scFv结构域被插入Fc结构域与单体之一的CH1-Fv区之间,从而提供第三抗原结合结构域。

[0314] 在这个实施例中,一个单体包括第一重链,所述第一重链包括第一可变重结构域、CH1结构域(以及任选的铰链)和Fc结构域,其中scFv包括scFv可变轻结构域、scFv连接子和scFv可变重结构域。使用任选结构域连接子(vh1-CH1-[任选连接子]-vh2-scFv连接子-vl2-[包含铰链的任选连接子]-CH2-CH3或scFv的相反朝向、vh1-CH1-[任选连接子]-vl2-scFv连接子-vh2-[包含铰链的任选连接子]-CH2-CH3)来将scFv共价连接在重恒定结构域的CH1结构域的C-末端与第一Fc结构域的N-末端之间。其它单体是标准Fab侧。这个实施例进一步利用了包括可变轻结构域和恒定轻结构域的共有轻链,所述共有轻链与重链相关联以形成结合检查点抑制剂的两个相同的Fab。对于本文中的许多实施例,如本文所期望和描述的,这些构建体包含倾斜变体、pI变体、消融变体、额外Fc变体等。在这个实施例中,适合的Fv对包含(Fab首先被列出,scFv第二个被列出)PD-1和CTLA-4、CTLA-4和PD-1、PD-1和TIM-3、TIM-3和PD-1、PD-1和LAG-3、LAG-3和PD-1、PD-1和TIGIT、TIGIT和PD-1、PD-1和BTLA、BTLA和PD-1、CTLA-4和TIM-3、TIM-3和CTLA-4、CTLA-4和LAG-3、LAG-3和CTLA-4、CTLA-4和TIGIT、TIGIT和CTLA-4、CTLA-4和BTLA、BTLA和CTLA-4、TIM-3和LAG-3、LAG-3和TIM-3、TIM-3和TIGIT、TIGIT和TIM-3、TIM-3和BTLA、BTLA和TIM-3、LAG-3和TIGIT、TIGIT和LAG-3、LAG-3和BTLA、BTLA和LAG-3、BTLA和TIGIT、以及TIGIT和BTLA。

[0315] 这些组合的ABD序列可以如序列表所公开的或如图9到图13所示的,并且处于如图39和图40所示的任何组合。

[0316] 此外,中央scFv格式的Fc结构域通常包括倾斜变体(例如,如图3和图8中所示出的一组氨基酸取代,其中特别有用的倾斜变体选自自由以下组成的群组:S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/

K370S:S364K/E357L、K370S:S364K/E357Q、T366S/L368A/Y407V:T366W、以及T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C)、任选地消融变体(包含如图5中所示出的那些变体)、任选地带电荷scFv连接子(包含如图7中所示出的那些连接子),并且重链包括pI变体(包含如图4中所示出的那些变体)。

[0317] 在一些实施例中,中央scFv格式包含倾斜变体、pI变体和消融变体。因此,一些实施例包含开瓶器格式,所述开瓶器格式包括:a)第一单体,其包括倾斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、以及第一可变重结构域和第二可变重结构域,所述第一可变重结构域与轻链的第一可变轻结构域构成与第一检查点抑制剂结合的Fv;b)第二单体,其包括倾斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、以及第一可变重结构域和第二可变轻链,所述第一可变重结构域与第一可变轻结构域构成与如本文所概述的第一检查点抑制剂结合的Fv,所述第二可变轻链与第二可变重链一起形成结合第二检查点抑制剂的Fv(ABD);以及c)轻链,其包括第一可变轻结构域和恒定轻结构域。在这个实施例中,适合的Fv对包含(Fab首先被列出,scFv第二个被列出)CTLA-4X PD-1、PD-1X CTLA-4、LAG-3X PD-1、BTLA X PD-1、以及LAG-3X CTLA-4。

[0318] 在一些实施例中,中央scFv格式包含倾斜变体、pI变体、消融变体和FcRn变体。因此,一些实施例包含开瓶器格式,所述开瓶器格式包括:a)第一单体,其包括倾斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、以及第一可变重结构域和第二可变重结构域,所述第一可变重结构域与轻链的第一可变轻结构域构成与第一检查点抑制剂结合的Fv;b)第二单体,其包括倾斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、以及第一可变重结构域和第二可变轻链,所述第一可变重结构域与第一可变轻结构域构成与如本文所概述的第一检查点抑制剂结合的Fv,所述第二可变轻链与第二可变重链一起形成结合第二检查点抑制剂的Fv(ABD);以及c)轻链,其包括第一可变轻结构域和恒定轻结构域。在这个实施例中,适合的Fv对包含(Fab首先被列出,scFv第二个被列出)CTLA-4X PD-1、PD-1X CTLA-4、LAG-3X PD-1、BTLAX PD-1、以及LAG-3X CTLA-4。

[0319] 对于类似于/利用图37的开瓶器主链1的中央-scFv序列(任选地包含M428L/N434S),用于本发明的特定Fv组合包含CTLA-4(Fab)X PD-1(scFv)、PD-1(Fab)X CTLA-4(scFv)、LAG-3(Fab)X PD-1(scFv)、BTLA(Fab)X PD-1(scFv)和LAG-3(Fab)X CTLA-4(scFv)。

[0320] 对于类似于/利用图37的开瓶器主链1的中央-scFv序列(任选地包含M428L/N434S),与人PD-1结合的特定ABD包含但不限于:1G6_H1.279_L1.194、1G6_H1.280_L1.224;1G6_L1.194_H1.279、1G6_L1.210_H1.288和2E9_H1L1、以及SEQ ID NO:6209到11464、SEQ ID NO:11465到17134、SEQ ID NO:33003到33072、SEQ ID NO:33073到35394和SEQ ID NO:36127到36146中列出的那些。

[0321] 对于类似于/利用图37的开瓶器主链1的中央-scFv序列(任选地包含M428L/N434S),与人CTLA-4结合的特定ABD包含但不限于:[CTLA-4]_H0.25_L0;[CTLA-4]_H0.26_L0;[CTLA-4]_H0.27_L0;[CTLA-4]_H0.29_L0;[CTLA-4]_H0.38_L0;[CTLA-4]_H0.39_L0;[CTLA-4]_H0.40_L0;[CTLA-4]_H0.70_L0;[CTLA-4]_H0_L0.22;[CTLA-4]_H2_L0;[CTLA-

4]_H3.21_L0.124; [CTLA-4]_H3.21_L0.129; [CTLA-4]_H3.21_L0.132; [CTLA-4]_H3.23_L0.124; [CTLA-4]_H3.23_L0.129; [CTLA-4]_H3.23_L0.132; [CTLA-4]_H3.25_L0.124; [CTLA-4]_H3.25_L0.129; [CTLA-4]_H3.25_L0.132; [CTLA-4]_H3.4_L0.118; [CTLA-4]_H3.4_L0.119; [CTLA-4]_H3.4_L0.12; [CTLA-4]_H3.4_L0.121; [CTLA-4]_H3.4_L0.122; [CTLA-4]_H3.4_L0.123; [CTLA-4]_H3.4_L0.124; [CTLA-4]_H3.4_L0.125; [CTLA-4]_H3.4_L0.126; [CTLA-4]_H3.4_L0.127; [CTLA-4]_H3.4_L0.128; [CTLA-4]_H3.4_L0.129; [CTLA-4]_H3.4_L0.130; [CTLA-4]_H3.4_L0.131; [CTLA-4]_H3.4_L0.132; [CTLA-4]_H3.5_L2.1; [CTLA-4]_H3.5_L2.2; [CTLA-4]_H3.5_L2.3; [CTLA-4]_H3_L0; [CTLA-4]_H3_L0.22; [CTLA-4]_H3_L0.44; [CTLA-4]_H3_L0.67和[CTLA-4]_H3_L0.74;以及SEQ ID NO:21到2918、SEQ ID NO:2919到6208、SEQ ID NO:36739到36818和SEQ ID NO:35395到35416中列出的那些。

[0322] 对于类似于/利用图37的开瓶器主链1的中央-scFv序列(任选地包含M428L/N434S),与人LAG-3结合的特定ABD包含但不限于:2A11_H0L0;2A11_H1.125_L2.113;2A11_H1.144_L2.142;2A11_H1_L2.122;2A11_H1_L2.123;2A11_H1_L2.124;2A11_H1_L2.25;2A11_H1_L2.47;2A11_H1_L2.50;2A11_H1_L2.91;2A11_H1_L2.93;2A11_H1_L2.97;2A11_H1L1;2A11_H1L2;2A11_H2L2;2A11_H3L1;2A11_H3L2;2A11_H4L1;2A11_H4L2;7G8_H0L0;7G8_H1L1;7G8_H3.18_L1.11;7G8_H3.23_L1.11;7G8_H3.28_L1;7G8_H3.28_L1.11;7G8_H3.28_L1.13;7G8_H3.30_L1.34;7G8_H3.30_L1.34;和7G8_H3L1;以及SEQ ID NO:17135到20764、SEQ ID NO:36819到36962、SEQ ID NO:35417到35606、SEQ ID NO:25194到32793和SEQ ID NO:32794到33002中列出的那些。

[0323] 对于类似于/利用图37的开瓶器主链1的中央-scFv序列(任选地包含M428L/N434S),与人BTLA结合的特定ABD包含但不限于:9C6_H0L0;9C6_H1.1_L1;和9C6_H1.11_L1;以及SEQ ID NO:20885到21503和SEQ ID NO:36707到36738中列出的那些。

[0324] 对于类似于/利用图37的开瓶器主链1的中央-scFv序列(任选地包含M428L/N434S),与人TIM-3结合的特定ABD包含但不限于:1D10_H0L0;1D12_H0L0;3H3_H1_L2.1;6C8_H0L0;6D9_H0_1D12_L0;7A9_H0L0;7B11_H0L0;7B11var_H0L0和7C2_H0L0;以及SEQ ID NO:20765到20884、SEQ ID NO:37587到37698和SEQ ID NO:36347到36706中列出的那些。

[0325] E. 中央-Fv格式

[0326] 特别用于本发明的一种异源二聚体支架是如图1G所示出的中央-Fv格式。在这个实施例中,格式依赖于插入的scFv结构域的使用,从而形成第三抗原结合结构域,其中两个单体的Fab部分与一个检查点靶标结合,并且“额外”scFv结构域与另一个检查点靶标结合。scFv结构域被插入Fc结构域与单体的CH1-Fv区之间,从而提供第三抗原结合结构域,其中每个单体含有scFv的组分(例如,一个单体包括可变重结构域,并且另一个单体包括可变轻结构域)。

[0327] 在这个实施例中,一个单体包括第一重链,所述第一重链包括第一可变重结构域、CH1结构域、以及Fc结构域和额外可变轻结构域。使用结构域连接子(vh1-CH1-[任选连接子]-vh2-铰链-CH2-CH3)将轻结构域共价连接在重恒定结构域的CH1结构域的C-末端与第一Fc结构域的N-末端之间。另一个单体包括第二重链,所述第二重链包括第二可变重结构域、CH1结构域、以及Fc结构域和额外可变重结构域(vh1-CHI-[任选连接子]-vh2-铰链-CH2-CH3)。使用结构域连接子将轻结构域共价连接在重恒定结构域的CH1结构域的C-末端

与第一Fc结构域的N-末端之间。这个实施例进一步利用了包括可变轻结构域和恒定轻结构域的共有轻链,所述共有轻链与重链相关联以形成结合TTA的两个相同的Fab。对于本文中的许多实施例,如本文所期望和描述的,这些构建体包含倾斜变体、pI变体、消融变体、额外Fc变体等。在这个实施例中,适合的Fv对包含(Fab首先被列出,scFv第二个被列出)PD-1和CTLA-4、CTLA-4和PD-1、PD-1和TIM-3、TIM-3和PD-1、PD-1和LAG-3、LAG-3X PD1、PD-1和TIGIT、TIGIT和PD-1、PD-1和BTLA、BTLA和PD-1、CTLA-4和TIM-3、TIM-3和CTLA-4、CTLA-4和LAG-3、LAG-3和CTLA-4、CTLA-4和TIGIT、TIGIT和CTLA-4、CTLA-4和BTLA、BTLA和CTLA-4、TIM-3和LAG-3、LAG-3和TIM-3、TIM-3和TIGIT、TIGIT和TIM-3、TIM-3和BTLA、BTLA和TIM-3、LAG-3和TIGIT、TIGIT和LAG-3、LAG-3和BTLA、BTLA和LAG-3、BTLA和TIGIT、以及TIGIT和BTLA。

[0328] 这些组合的ABD序列可以如序列表所公开的或如图9到图13所示的,并且处于如图39和图40所示的任何组合。

[0329] 在中央-scFv格式下,用于本发明的特定Fv组合包含CTLA-4 (Fab) X PD-1 (scFv)、PD-1 (Fab) X CTLA-4 (scFv)、LAG-3 (Fab) X PD-1 (scFv)、BTLA (Fab) X PD-1 (scFv) 和LAG-3 (Fab) X CTLA-4 (scFv)。

[0330] 在中央-scFv格式下,与人PD-1结合的特定ABD包含但不限于:1G6_H1.279_L1.194、1G6_H1.280_L1.224;1G6_L1.194_H1.279、1G6_L1.210_H1.288和2E9_H1L1、以及SEQ ID NO:6209到11464、SEQ ID NO:11465到17134、SEQ ID NO:33003到33072、SEQ ID NO:33073到35394和SEQ ID NO:36127到36146中列出的那些。

[0331] 在中央-scFv格式下,与人CTLA-4结合的特定ABD包含但不限于:[CTLA-4]_H0.25_L0;[CTLA-4]_H0.26_L0;[CTLA-4]_H0.27_L0;[CTLA-4]_H0.29_L0;[CTLA-4]_H0.38_L0;[CTLA-4]_H0.39_L0;[CTLA-4]_H0.40_L0;

[0332] [CTLA-4]_H0.70_L0;[CTLA-4]_H0_L0.22;[CTLA-4]_H2_L0;[CTLA-4]_H3.21_L0.124;[CTLA-4]_H3.21_L0.129;[CTLA-4]_H3.21_L0.132;[CTLA-4]_H3.23_L0.124;[CTLA-4]_H3.23_L0.129;[CTLA-4]_H3.23_L0.132;[CTLA-4]_H3.25_L0.124;[CTLA-4]_H3.25_L0.129;[CTLA-4]_H3.25_L0.132;[CTLA-4]_H3.4_L0.118;[CTLA-4]_H3.4_L0.119;[CTLA-4]_H3.4_L0.12;[CTLA-4]_H3.4_L0.121;[CTLA-4]_H3.4_L0.122;[CTLA-4]_H3.4_L0.123;[CTLA-4]_H3.4_L0.124;[CTLA-4]_H3.4_L0.125;[CTLA-4]_H3.4_L0.126;[CTLA-4]_H3.4_L0.127;[CTLA-4]_H3.4_L0.128;[CTLA-4]_H3.4_L0.129;[CTLA-4]_H3.4_L0.130;[CTLA-4]_H3.4_L0.131;[CTLA-4]_H3.4_L0.132;[CTLA-4]_H3.5_L2.1;[CTLA-4]_H3.5_L2.2;[CTLA-4]_H3.5_L2.3;[CTLA-4]_H3_L0;[CTLA-4]_H3_L0.22;[CTLA-4]_H3_L0.44;[CTLA-4]_H3_L0.67和[CTLA-4]_H3_L0.74;以及SEQ ID NO:21到2918、SEQ ID NO:2919到6208、SEQ ID NO:36739到36818和SEQ ID NO:35395到35416中列出的那些。

[0333] 在中央-scFv格式下,与人LAG-3结合的特定ABD包含但不限于:2A11_H0L0;2A11_H1.125_L2.113;2A11_H1.144_L2.142;2A11_H1_L2.122;2A11_H1_L2.123;2A11_H1_L2.124;2A11_H1_L2.25;2A11_H1_L2.47;2A11_H1_L2.50;2A11_H1_L2.91;2A11_H1_L2.93;2A11_H1_L2.97;2A11_H1L1;2A11_H1L2;2A11_H2L2;2A11_H3L1;2A11_H3L2;2A11_H4L1;2A11_H4L2;7G8_H0L0;7G8_H1L1;7G8_H3.18_L1.11;7G8_H3.23_L1.11;7G8_H3.28_L1;7G8_H3.28_L1.11;7G8_H3.28_L1.13;7G8_H3.30_L1.34;7G8_H3.30_L1.34;和7G8 H3L1、以及

SEQ ID NO:17135到20764、SEQ ID NO:36819到36962、SEQ ID NO:35417到35606、SEQ ID NO:25194到32793和SEQ ID NO:32794到33002中列出的那些。

[0334] 在中央-scFv格式下,与人BTLA结合的特定ABD包含但不限于:9C6_H0L0;9C6_H1.1_L1;和9C6_H1.11_L1;以及SEQ ID NO:20885到21503和SEQ ID NO:36707到36738中列出的那些。

[0335] 在中央-scFv格式下,与人TIM-3结合的特定ABD包含但不限于:1D10_H0L0;1D12_H0L0;3H3_H1L2.1;6C8_H0L0;6D9_H0_1D12_L0;7A9_H0L0;7B11_H0L0;7B11var_H0L0和7C2_H0L0;以及SEQ ID NO:20765到20884、SEQ ID NO:37587到37698和SEQ ID NO:36347到36706中列出的那些。

[0336] F. 单臂中央-scFv

[0337] 特别用于本发明的一种异源二聚体支架是如图1C所示出的单臂中央-scFv格式。在这个实施例中,一个单体包括仅一个Fc结构域,而另一个单体使用插入的scFv结构域,从而形成第二抗原结合结构域。在此格式下,Fab部分与一个检查点靶标结合,并且scFv与另一个检查点靶标结合。scFv结构域被插入Fc结构域与单体之一的CH1-Fv区之间。

[0338] 在这个实施例中,一个单体包括第一重链,所述第一重链包括第一可变重结构域、CH1结构域和Fc结构域,其中scFv包括scFv可变轻结构域、scFv连接子和scFv可变重结构域。使用结构域连接子将scFv共价连接在重恒定结构域的CH1结构域的C-末端与第一Fc结构域的N-末端之间。第二单体包括Fc结构域。这个实施例进一步利用了包括可变轻结构域和恒定轻结构域的轻链,所述轻链与重链相关联以形成Fab。对于本文中的许多实施例,如本文所期望和描述的,这些构建体包含倾斜变体、pI变体、消融变体、额外Fc变体等。在这个实施例中,适合的Fv对包含(Fab首先被列出,scFv第二个被列出)PD-1和CTLA-4、CTLA-4和PD-1、PD-1和TIM-3、TIM-3和PD-1、PD-1和LAG-3、LAG-3和PD-1、PD-1和TIGIT、TIGIT和PD-1、PD-1和BTLA、BTLA和PD-1、CTLA-4和TIM-3、TIM-3和CTLA-4、CTLA-4和LAG-3、LAG-3和CTLA-4、CTLA-4和TIGIT、TIGIT和CTLA-4、CTLA-4和BTLA、BTLA和CTLA-4、TIM-3和LAG-3、LAG-3和TIM-3、TIM-3和TIGIT、TIGIT和TIM-3、TIM-3和BTLA、BTLA和TIM-3、LAG-3和TIGIT、TIGIT和LAG-3、LAG-3和BTLA、BTLA和LAG-3、BTLA和TIGIT、以及TIGIT和BTLA。

[0339] 这些组合的ABD序列可以如列表所公开的或如图9到图13所示的,并且处于如图39和图40所示的任何组合。

[0340] 此外,单臂中央-scFv格式的Fc结构域通常包括倾斜变体(例如,如图3和图8中所示出的一组氨基酸取代,其中特别有用的倾斜变体选自以下组成的群组:S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L/K370S:S364K/E357Q、T366S/L368A/Y407V:T366W、以及T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C)、任选地消融变体(包含如图5中所示出的那些变体)、任选地带电荷scFv连接子(包含如图7中所示出的那些连接子),并且重链包括pI变体(包含如图4中所示出的那些变体)。

[0341] 在一些实施例中,单臂中央-scFv格式包含倾斜变体、pI变体和消融变体。因此,一些实施例包含开瓶器格式,所述开瓶器格式包括:a)第一单体,其包括倾斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、以及第一可变重结构域和第二可变重结构域,所述第一可变重结构域与轻链的第一可变轻结构域构成与第一检查点抑制剂结

合的Fv;b)第二单体,其包括倾斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、以及第一可变重结构域和第二可变轻链,所述第一可变重结构域与第一可变轻结构域构成与如本文所概述的第一检查点抑制剂结合的Fv,所述第二可变轻链与第二可变重链一起形成与第二检查点抑制剂结合的Fv(ABD);以及c)轻链,其包括第一可变轻结构域和恒定轻结构域。在这个实施例中,适合的Fv对包含(Fab首先被列出,scFv第二个被列出)CTLA-4X PD-1、PD-1X CTLA-4、LAG-3X PD-1、BTLAX PD-1、以及LAG-3X CTLA-4。

[0342] 在一些实施例中,单臂中央-scFv格式包含倾斜变体、pI变体、消融变体和FcRn变体。因此,一些实施例包含开瓶器格式,所述开瓶器格式包括:a)第一单体,其包括倾斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、以及第一可变重结构域和第二可变重结构域,所述第一可变重结构域与轻链的第一可变轻结构域构成与第一检查点抑制剂结合的Fv;b)第二单体,其包括倾斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、以及第一可变重结构域和第二可变轻链,所述第一可变重结构域与第一可变轻结构域构成与如本文所概述的第一检查点抑制剂结合的Fv,所述第二可变轻链与第二可变重链一起形成结合第二检查点抑制剂的Fv(ABD);以及c)轻链,其包括第一可变轻结构域和恒定轻结构域。在这个实施例中,适合的Fv对包含(Fab首先被列出,scFv第二个被列出)CTLA-4X PD-1、PD-1X CTLA-4、LAG-3X PD-1、BTLAX PD-1、以及LAG-3X CTLA-4。

[0343] 在单臂中央-scFv格式下,与人PD-1结合的特定ABD包含但不限于:1G6_H1.279_L1.194、1G6_H1.280_L1.224;1G6_L1.194_H1.279、1G6_L1.210_H1.288和2E9H1L1、以及SEQ ID NO:6209到11464、SEQ ID NO:11465到17134、SEQ ID NO:33003到33072、SEQ ID NO:33073到35394和SEQ ID NO:36127到36146中列出的那些。

[0344] 在单臂中央-scFv格式下,与人CTLA-4结合的特定ABD包含但不限于:[CTLA-4]_H0.25_L0;[CTLA-4]_H0.26_L0;[CTLA-4]_H0.27_L0;[CTLA-4]_H0.29_L0;[CTLA-4]_H0.38_L0;[CTLA-4]_H0.39_L0;[CTLA-4]_H0.40_L0;[CTLA-4]_H0.70_L0;[CTLA-4]_H0_L0.22;[CTLA-4]_H2_L0;[CTLA-4]_H3.21_L0.124;[CTLA-4]_H3.21_L0.129;[CTLA-4]_H3.21_L0.132;[CTLA-4]_H3.23_L0.124;[CTLA-4]_H3.23_L0.129;[CTLA-4]_H3.23_L0.132;[CTLA-4]_H3.25_L0.124;[CTLA-4]_H3.25_L0.129;[CTLA-4]_H3.25_L0.132;[CTLA-4]_H3.4_L0.118;[CTLA-4]_H3.4_L0.119;[CTLA-4]_H3.4_L0.12;[CTLA-4]_H3.4_L0.121;[CTLA-4]_H3.4_L0.122;[CTLA-4]_H3.4_L0.123;[CTLA-4]_H3.4_L0.124;[CTLA-4]_H3.4_L0.125;[CTLA-4]_H3.4_L0.126;[CTLA-4]_H3.4_L0.127;[CTLA-4]_H3.4_L0.128;[CTLA-4]_H3.4_L0.129;[CTLA-4]_H3.4_L0.130;[CTLA-4]_H3.4_L0.131;[CTLA-4]_H3.4_L0.132;[CTLA-4]_H3.5_L2.1;[CTLA-4]_H3.5_L2.2;[CTLA-4]_H3.5_L2.3;[CTLA-4]_H3_L0;[CTLA-4]_H3_L0.22;[CTLA-4]_H3_L0.44;[CTLA-4]_H3_L0.67和[CTLA-4]_H3_L0.74;以及SEQ ID NO:21到2918、SEQ ID NO:2919到6208、SEQ ID NO:36739到36818和SEQ ID NO:35395到35416中列出的那些。

[0345] 在单臂中央-scFv格式下,与人LAG-3结合的特定ABD包含但不限于:2A11_H0L0;2A11_H1.125_L2.113;2A11_H1.144_L2.142;2A11_H1_L2.122;2A11_H1_L2.123;2A11_H1_L2.124;2A11_H1_L2.25;2A11_H1_L2.47;2A11_H1_L2.50;2A11_H1_L2.91;2A11_H1_L2.93;

2A11_H1_L2.97;2A11_H1L1;2A11_H1L2;2A11_H2L2;2A11_H3L1;2A11_H3L2;2A11_H4L1;2A11_H4L2;7G8_H0L0;7G8_H1L1;7G8_H3.18_L1.11;7G8_H3.23_L1.11;7G8_H3.28_L1;7G8_H3.28_L1.11;7G8_H3.28_L1.13;7G8_H3.30_L1.34;7G8_H3.30_L1.34;和7G8_H3L1;以及SEQ ID NO:17135到20764、SEQ ID NO:36819到36962、SEQ ID NO:35417到35606、SEQ ID NO:25194到32793和SEQ ID NO:32794到33002中列出的那些。

[0346] 在单臂中央-scFv格式下,与人BTLA结合的特定ABD包含但不限于:9C6_H0L0;9C6_H1.1_L1;和9C6_H1.11_L1;以及SEQ ID NO:20885到21503和SEQ ID NO:36707到36738中列出的那些。

[0347] 在单臂中央-scFv格式下,与人TIM-3结合的特定ABD包含但不限于:1D10_H0L0;1D12_H0L0;3H3_H1L2.1;6C8_H0L0;6D9_H0_1D12_L0;7A9_H0L0;7B11_H0L0;7B11var_H0L0和7C2_H0L0;以及SEQ ID NO:20765到20884、SEQ ID NO:37587到37698和SEQ ID NO:36347到36706中列出的那些。

[0348] G. 单臂scFv-mAb

[0349] 特别用于本发明的一种异源二聚体支架是如图1D所示出的单臂scFv-mAb格式。在这个实施例中,一个单体包括仅一个Fc结构域,而另一个单体通常通过使用以下连接子来使用连接在重链的N-末端处的scFv结构域:vh-scFv连接子-vl-[任选结构域连接子]-CH1-铰链-CH2-CH3或(在相反朝向)v1-scFv连接子-vh-[任选结构域连接子]-CH1-铰链-CH2-CH3。在此格式下,Fab部分与一个检查点靶标结合,并且scFv与另一个检查点靶标结合。这个实施例进一步利用了包括可变轻结构域和恒定轻结构域的轻链,所述轻链与重链相关联以形成Fab。对于本文中的许多实施例,如本文所期望和描述的,这些构建体包含倾斜变体、pI变体、消融变体、额外Fc变体等。在这个实施例中,适合的Fv对包含(Fab首先被列出,scFv第二个被列出)PD-1和CTLA-4、CTLA-4和PD-1、PD-1和TIM-3、TIM-3和PD-1、PD-1和LAG-3、LAG-3X PD1、PD-1和TIGIT、TIGIT和PD-1、PD-1和BTLA、BTLA和PD-1、CTLA-4和TIM-3、TIM-3和CTLA-4、CTLA-4和LAG-3、LAG-3和CTLA-4、CTLA-4和TIGIT、TIGIT和CTLA-4、CTLA-4和BTLA、BTLA和CTLA-4、TIM-3和LAG-3、LAG-3和TIM-3、TIM-3和TIGIT、TIGIT和TIM-3、TIM-3和BTLA、BTLA和TIM-3、LAG-3和TIGIT、TIGIT和LAG-3、LAG-3和BTLA、BTLA和LAG-3、BTLA和TIGIT、以及TIGIT和BTLA。

[0350] 这些组合的ABD序列可以如序列表所公开的或如图9到图13所示的,并且处于如图39和图40所示的任何组合。

[0351] 此外,Fc结构域通常包括倾斜变体(例如,如图3和图8中所示出的一组氨基酸取代,其中特别有用的倾斜变体选自由以下组成的群组:S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L、K370S:S364K/E357Q、T366S/L368A/Y407V:T366W、以及T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C)、任选地消融变体(包含如图5中所示出的那些变体)、任选地带电荷scFv连接子(包含如图7中所示出的那些连接子),并且重链包括pI变体(包含如图4中所示出的那些变体)。

[0352] 在一些实施例中,单臂scFv-mAb格式包含倾斜变体、pI变体和消融变体。因此,一些实施例包含开瓶器格式,所述开瓶器格式包括:a)第一单体,其包括倾斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、以及第一可变重结构域和第二可变

重结构域,所述第一可变重结构域与轻链的第一可变轻结构域构成与第一检查点抑制剂结合的Fv;b)第二单体,其包括倾斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、以及第一可变重结构域和第二可变轻链,所述第一可变重结构域与第一可变轻结构域构成与如本文所概述的第一检查点抑制剂结合的Fv,所述第二可变轻链与第二可变重链一起形成与第二检查点抑制剂结合的Fv(ABD);以及c)轻链,其包括第一可变轻结构域和恒定轻结构域。在这个实施例中,适合的Fv对包含(Fab首先被列出,scFv第二个被列出)CTLA-4X PD-1、PD-1X CTLA-4、LAG-3X PD-1、BTLA X PD-1、以及LAG-3X CTLA-4。

[0353] 在一些实施例中,单臂scFv-mAb格式包含倾斜变体、pI变体、消融变体和FcRn变体。因此,一些实施例包含开瓶器格式,所述开瓶器格式包括:a)第一单体,其包括倾斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、以及第一可变重结构域和第二可变重结构域,所述第一可变重结构域与轻链的第一可变轻结构域构成与第一检查点抑制剂结合的Fv;b)第二单体,其包括倾斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、以及第一可变重结构域和第二可变轻链,所述第一可变重结构域与第一可变轻结构域构成与如本文所概述的第一检查点抑制剂结合的Fv,所述第二可变轻链与第二可变重链一起形成结合第二检查点抑制剂的Fv(ABD);以及c)轻链,其包括第一可变轻结构域和恒定轻结构域。在这个实施例中,适合的Fv对包含(Fab首先被列出,scFv第二个被列出)CTLA-4X PD-1、PD-1X CTLA-4、LAG-3X PD-1、BTLAX PD-1、以及LAG-3X CTLA-4。

[0354] 在单臂scFv-mAb格式下,与人PD-1结合的特定ABD包含但不限于:1G6_H1.279_L1.194、1G6_H1.280_L1.224;1G6_L1.194_H1.279、1G6_L1.210_H1.288和2E9H1L1、以及SEQ ID NO:6209到11464、SEQ ID NO:11465到17134、SEQ ID NO:33003到33072、SEQ ID NO:33073到35394和SEQ ID NO:36127到36146中列出的那些。

[0355] 在单臂scFv-mAb格式下,与人CTLA-4结合的特定ABD包含但不限于:[CTLA-4]_H0.25_L0;[CTLA-4]_H0.26_L0;[CTLA-4]_H0.27_L0;[CTLA-4]_H0.29_L0;[CTLA-4]_H0.38_L0;[CTLA-4]_H0.39_L0;[CTLA-4]_H0.40_L0;[CTLA-4]_H0.70_L0;[CTLA-4]_H0_L0.22;[CTLA-4]_H2_L0;[CTLA-4]_H3.21_L0.124;[CTLA-4]_H3.21_L0.129;[CTLA-4]_H3.21_L0.132;[CTLA-4]_H3.23_L0.124;[CTLA-4]_H3.23_L0.129;[CTLA-4]_H3.23_L0.132;[CTLA-4]_H3.25_L0.124;[CTLA-4]_H3.25_L0.129;[CTLA-4]_H3.25_L0.132;[CTLA-4]_H3.4_L0.118;[CTLA-4]_H3.4_L0.119;[CTLA-4]_H3.4_L0.12;[CTLA-4]_H3.4_L0.121;[CTLA-4]_H3.4_L0.122;[CTLA-4]_H3.4_L0.123;[CTLA-4]_H3.4_L0.124;[CTLA-4]_H3.4_L0.125;[CTLA-4]_H3.4_L0.126;[CTLA-4]_H3.4_L0.127;[CTLA-4]_H3.4_L0.128;[CTLA-4]_H3.4_L0.129;[CTLA-4]_H3.4_L0.130;[CTLA-4]_H3.4_L0.131;[CTLA-4]_H3.4_L0.132;[CTLA-4]_H3.5_L2.1;[CTLA-4]_H3.5_L2.2;[CTLA-4]_H3.5_L2.3;[CTLA-4]_H3_L0;[CTLA-4]_H3_L0.22;[CTLA-4]_H3_L0.44;[CTLA-4]_H3_L0.67和[CTLA-4]_H3_L0.74;以及SEQ ID NO:21到2918、SEQ ID NO:2919到6208、SEQ ID NO:36739到36818和SEQ ID NO:35395到35416中列出的那些。

[0356] 在单臂scFv-mAb格式下,与人LAG-3结合的特定ABD包含但不限于:2A11_H0L0;2A11_H1.125_L2.113;2A11_H1.144_L2.142;2A11_H1_L2.122;2A11_H1_L2.123;2A11_H1_

L2.124;2A11_H1_L2.25;2A11_H1_L2.47;2A11_H1_L2.50;2A11_H1_L2.91;2A11_H1_L2.93;2A11_H1_L2.97;2A11_H1L1;2A11_H1L2;2A11_H2L2;2A11_H3L1;2A11_H3L2;2A11_H4L1;2A11_H4L2;7G8_H0L0;7G8_H1L1;7G8_H3.18_L1.11;7G8_H3.23_L1.11;7G8_H3.28_L1;7G8_H3.28_L1.11;7G8_H3.28_L1.13;7G8_H3.30_L1.34;7G8_H3.30_L1.34;和7G8_H3L1;以及SEQ ID NO:17135到20764、SEQ ID NO:36819到36962、SEQ ID NO:35417到35606、SEQ ID NO:25194到32793和SEQ ID NO:32794到33002中列出的那些。

[0357] 在单臂scFv-mAb格式下,与人BTLA结合的特定ABD包含但不限于:9C6_H0L0;9C6_H1.1_L1;和9C6_H1.11_L1;以及SEQ ID NO:20885到21503和SEQ ID NO:36707到36738中列出的那些。

[0358] 在单臂scFv-mAb格式下,与人TIM-3结合的特定ABD包含但不限于:1D10_H0L0;1D12_H0L0;3H3_H1_L2.1;6C8_H0L0;6D9_H0_1D12_L0;7A9_H0L0;7B11_H0L0;7B11var_H0L0和7C2_H0L0;以及SEQ ID NO:20765到20884、SEQ ID NO:37587到37698和SEQ ID NO:36347到36706中列出的那些。

[0359] H.scFv-mAb格式

[0360] 特别用于本发明的一种异源二聚体支架是如图1E所示出的mAb-scFv格式。在这个实施例中,格式依赖于将scFv的N-末端连接用于单体之一,从而形成第三抗原结合结构域,其中两个单体的Fab部分与一个检查点靶标结合,并且“额外”scFv结构域与不同的检查点靶标结合。

[0361] 在这个实施例中,第一单体包括第一重链(包括可变重结构域和恒定结构域),其中N-末端共价连接的scFv包括在任一朝向上的scFv可变轻结构域、scFv连接子和scFv可变重结构域(((vh1-scFv连接子-vl1-[任选结构域连接子]-vh2-CH1-铰链-CH2-CH3)或(scFv在相反朝向上)((vl1-scFv连接子-vh1-[任选结构域连接子]-vh2-CH1-铰链-CH2-CH3))。这个实施例进一步利用了包括可变轻结构域和恒定轻结构域的共有轻链,所述共有轻链与重链相关联以形成结合靶抗原中的一个的两个相同的Fab。对于本文中的许多实施例,如本文所期望和描述的,这些构建体包含倾斜变体、pI变体、消融变体、额外Fc变体等。在这个实施例中,适合的Fv对包含(Fab首先被列出,scFv第二个被列出)PD-1和CTLA-4、CTLA-4和PD-1、PD-1和TIM-3、TIM-3和PD-1、PD-1和LAG-3、LAG-3X PD1、PD-1和TIGIT、TIGIT和PD-1、PD-1和BTLA、BTLA和PD-1、CTLA-4和TIM-3、TIM-3和CTLA-4、CTLA-4和LAG-3、LAG-3和CTLA-4、CTLA-4和TIGIT、TIGIT和CTLA-4、CTLA-4和BTLA、BTLA和CTLA-4、TIM-3和LAG-3、LAG-3和TIM-3、TIM-3和TIGIT、TIGIT和TIM-3、TIM-3和BTLA、BTLA和TIM-3、LAG-3和TIGIT、TIGIT和LAG-3、LAG-3和BTLA、BTLA和LAG-3、BTLA和TIGIT、以及TIGIT和BTLA。

[0362] 这些组合的ABD序列可以如序列表所公开的或如图9到图13所示的,并且处于如图39和图40所示的任何组合。

[0363] 此外,scFv-mAb格式的Fc结构域通常包括倾斜变体(例如,如图3和图8中所示出的一组氨基酸取代,其中特别有用的倾斜变体选自由以下组成的群组:S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L、K370S:S364K/E357Q、T366S/L368A/Y407V:T366W、以及T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C)、任选地消融变体(包含如图5中所示出的那些变体)、任选地带电荷scFv连接子(包含如图7中所示出的那些连接子),并且重链包括pI变体(包含如图4中

所示出的那些变体)。

[0364] 在一些实施例中,mAb-scFv格式包含倾斜变体、pI变体和消融变体。因此,一些实施例包含开瓶器格式,所述开瓶器格式包括:a)第一单体,其包括倾斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、以及第一可变重结构域和第二可变重结构域,所述第一可变重结构域与轻链的第一可变轻结构域构成与第一检查点抑制剂结合的Fv;b)第二单体,其包括倾斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、以及第一可变重结构域和第二可变轻链,所述第一可变重结构域与第一可变轻结构域构成与如本文所概述的第一检查点抑制剂结合的Fv,所述第二可变轻链与第二可变重链一起形成结合第二检查点抑制剂的Fv(ABD);以及c)轻链,其包括第一可变轻结构域和恒定轻结构域。在这个格式下尤其用于一些实施例中的是(Fab-scFv顺序)CTLA-4X PD-1、LAG-3X PD-1、BTLAX PD-1和LAG-3X CTLA-4。

[0365] 在一些实施例中,mAb-scFv格式包含倾斜变体、pI变体、消融变体和FcRn变体。因此,一些实施例包含开瓶器格式,所述开瓶器格式包括:a)第一单体,其包括倾斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、以及第一可变重结构域和第二可变重结构域,所述第一可变重结构域与轻链的第一可变轻结构域构成与第一检查点抑制剂结合的Fv;b)第二单体,其包括倾斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、以及第一可变重结构域和第二可变轻链,所述第一可变重结构域与第一可变轻结构域构成与如本文所概述的第一检查点抑制剂结合的Fv,所述第二可变轻链与第二可变重链一起形成结合第二检查点抑制剂的Fv(ABD);以及c)轻链,其包括第一可变轻结构域和恒定轻结构域。在这个格式下尤其用于一些实施例中的是(Fab-scFv顺序)CTLA-4X PD-1、LAG-3X PD-1、BTLAX PD-1和LAG-3XCTLA-4。

[0366] 对于来自图38的mAb-scFv格式主链1(任选地包含M428L/N434S),与人PD-1结合的特定ABD包含但不限于:1G6_H1.279_L1.194、1G6_H1.280_L1.224;1G6_L1.194_H1.279、1G6_L1.210_H1.288和2E9_H1L1、以及SEQ ID NO:6209到11464、SEQ ID NO:11465到17134、SEQ ID NO:33003到33072、SEQ ID NO:33073到35394和SEQ ID NO:36127到36146中列出的那些。

[0367] 对于来自图38的mAb-scFv格式主链1(任选地包含M428L/N434S),与人CTLA-4结合的特定ABD包含但不限于:[CTLA-4]_H0.25_L0;[CTLA-4]_H0.26_L0;[CTLA-4]_H0.27_L0;[CTLA-4]_H0.29_L0;[CTLA-4]_H0.38_L0;[CTLA-4]_H0.39_L0;[CTLA-4]_H0.40_L0;[CTLA-4]_H0.70_L0;[CTLA-4]_H0_L0.22;[CTLA-4]_H2_L0;[CTLA-4]_H3.21_L0.124;[CTLA-4]_H3.21_L0.129;[CTLA-4]_H3.21_L0.132;[CTLA-4]_H3.23_L0.124;[CTLA-4]_H3.23_L0.129;[CTLA-4]_H3.23_L0.132;[CTLA-4]_H3.25_L0.124;[CTLA-4]_H3.25_L0.129;[CTLA-4]_H3.25_L0.132;[CTLA-4]_H3.4_L0.118;[CTLA-4]_H3.4_L0.119;[CTLA-4]_H3.4_L0.12;[CTLA-4]_H3.4_L0.121;[CTLA-4]_H3.4_L0.122;[CTLA-4]_H3.4_L0.123;[CTLA-4]_H3.4_L0.124;[CTLA-4]_H3.4_L0.125;[CTLA-4]_H3.4_L0.126;[CTLA-4]_H3.4_L0.127;[CTLA-4]_H3.4_L0.128;[CTLA-4]_H3.4_L0.129;[CTLA-4]_H3.4_L0.130;[CTLA-4]_H3.4_L0.131;[CTLA-4]_H3.4_L0.132;[CTLA-4]_H3.5_L2.1;[CTLA-4]_H3.5_L2.2;[CTLA-4]_H3.5_L2.3;[CTLA-4]_H3_L0;[CTLA-4]_H3_L0.22;[CTLA-4]_H3_L0.44;

[0368] [CTLA-4]_{H3_L0.67}和[CTLA-4]_{H3_L0.74};以及SEQ ID NO:21到2918、SEQ ID NO:2919到6208、SEQ ID NO:36739到36818和SEQ ID NO:35395到35416中列出的那些。

[0369] 对于来自图38的mAb-scFv格式主链1(任选地包含M428L/N434S),与人LAG-3结合的特定ABD包含但不限于:2A11_H0L0;2A11_H1.125_L2.113;2A11_H1.144_L2.142;2A11_H1_L2.122;2A11_H1_L2.123;2A11_H1_L2.124;2A11_H1_L2.25;2A11_H1_L2.47;2A11_H1_L2.50;2A11_H1_L2.91;2A11_H1_L2.93;2A11_H1_L2.97;2A11_H1L1;2A11_H1L2;2A11_H2L2;2A11_H3L1;2A11_H3L2;2A11_H4L1;2A11_H4L2;7G8_H0L0;7G8_H1L1;7G8_H3.18_L1.11;7G8_H3.23_L1.11;7G8_H3.28_L1;7G8_H3.28_L1.11;7G8_H3.28_L1.13;7G8_H3.30_L1.34;7G8_H3.30_L1.34;和7G8_H3L1;以及SEQ ID NO:17135到20764、SEQ ID NO:36819到36962、SEQ ID NO:35417到35606、SEQ ID NO:25194到32793和SEQ ID NO:32794到33002中列出的那些。

[0370] 对于来自图38的mAb-scFv格式主链1(任选地包含M428L/N434S),与人BTLA结合的特定ABD包含但不限于:9C6_H0L0;9C6_H1.1_L1;和9C6_H1.11_L1;以及SEQ ID NO:20885到21503和SEQ ID NO:36707到36738中列出的那些。

[0371] 对于来自图38的mAb-scFv格式主链1(任选地包含M428L/N434S),与人TIM-3结合的特定ABD包含但不限于:1D10_H0L0;1D12_H0L0;3H3_H1L2.1;6C8_H0L0;6D9_H01D12_L0;7A9_H0L0;7B11_H0L0;7B11var_H0L0和7C2_H0L0;以及SEQ ID NO:20765到20884、SEQ ID NO:37587到37698和SEQ ID NO:36347到36706中列出的那些。

[0372] I. 双scFv格式

[0373] 本发明还提供了如本领域已知且图1B中示出的双scFv格式。在这个实施例中,异源二聚体双特异性抗体由两个scFv-Fc单体(这两个单体呈现(vh-scFv连接子-v1-[任选结构域连接子]-CH2-CH3)格式或(v1-scFv连接子-vh-[任选结构域连接子]-CH2-CH3)格式,或者一个单体在一个朝向上,而另一个单体在另一个朝向上)构成。

[0374] 在此情况下,所有ABD都呈scFv格式,其中PD-1和CTLA-4、PD-1和TIM-3、PD-1和LAG-3、PD-1和TIGIT、PD-1和BTLA、CTLA-4和TIM-3、CTLA-4和LAG-3、CTLA-4和TIGIT、CTLA-4和BTLA、TIM-3和LAG-3、TIM-3和TIGIT、TIM-3和BTLA、LAG-3和TIGIT、LAG-3和BTLA、以及TIGIT和BTLA的任何组合都是有用的。这些组合的ABD序列可以如序列表所公开的或如图9到图13所示的,并且处于如图39和图40所示的任何组合。

[0375] 此外,双scFv格式的Fc结构域通常包括倾斜变体(例如,如图3和图8中所示出的一组氨基酸取代,其中特别有用的倾斜变体选自由以下组成的群组:S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L、K370S:S364K/E357Q、T366S/L368A/Y407V:T366W、以及T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C)、任选地消融变体(包含如图5中所示出的那些变体)、任选地带电荷scFv连接子(包含如图7中所示出的那些连接子),并且重链包括pI变体(包含如图4中所示出的那些变体)。

[0376] 在一些实施例中,双scFv格式包含倾斜变体、pI变体和消融变体。因此,一些实施例包含开瓶器格式,所述开瓶器格式包括:a)第一单体,其包括倾斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、以及第一可变重结构域和第二可变重结构域,所述第一可变重结构域与轻链的第一可变轻结构域构成与第一检查点抑制剂结合的Fv;b)第

二单体,其包括倾斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、以及第一可变重结构域和第二可变轻链,所述第一可变重结构域与第一可变轻结构域构成与如本文所概述的第一检查点抑制剂结合的Fv,所述第二可变轻链与第二可变重链一起形成结合第二检查点抑制剂的Fv (ABD);以及c)轻链,其包括第一可变轻结构域和恒定轻结构域。在这个格式下尤其用于一些实施例中的是 (Fab-scFv顺序)CTLA-4X PD-1、LAG-3X PD-1、BTLAX PD-1和LAG-3X CTLA-4。

[0377] 在一些实施例中,双scFv格式包含倾斜变体、pI变体、消融变体和FcRn变体。因此,一些实施例包含开瓶器格式,所述开瓶器格式包括:a)第一单体,其包括倾斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、以及第一可变重结构域和第二可变重结构域,所述第一可变重结构域与轻链的第一可变轻结构域构成与第一检查点抑制剂结合的Fv;b)第二单体,其包括倾斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、以及第一可变重结构域和第二可变轻链,所述第一可变重结构域与第一可变轻结构域构成与如本文所概述的第一检查点抑制剂结合的Fv,所述第二可变轻链与第二可变重链一起形成结合第二检查点抑制剂的Fv (ABD);以及c)轻链,其包括第一可变轻结构域和恒定轻结构域。在这个格式下尤其用于一些实施例中的是 (Fab-scFv顺序)CTLA-4X PD-1、LAG-3X PD-1、BTLA X PD-1和LAG-3XCTLA-4。

[0378] J. 非异源二聚体双特异性抗体

[0379] 如本领域技术人员将了解的,本文所概述的Fv序列还可以用于单特异性抗体(例如,“传统单克隆抗体”)或非异源二聚体双特异性格式两者。

[0380] 适合的非异源二聚体双特异性格式是本领域已知的,并且包含如Spiess等人,《分子免疫学(Molecular Immunology)》(67):95-106(2015)和Kontermann,mAb 4:2,182-197(2012)中总体上描绘的许多不同格式,这两个文献通过引用明确地并入本文中的格式并且特别是对于附图、图例以及引文。

[0381] K. 单特异性单克隆抗体

[0382] 如本领域技术人员将了解的,本文所概述的新型Fv序列还可以用于单特异性抗体(例如,“传统单克隆抗体”)或非异源二聚体双特异性格式两者。因此,本发明提供了单克隆(单特异性)抗体,所述单克隆抗体包括6个CDR和/或来自附图的vh和vl序列,通常具有IgG1、IgG2、IgG3或IgG4恒定区,其中IgG1、IgG2和IgG4(包含包括S228P氨基酸取代的IgG4恒定区)尤其用于一些实施例中。也就是说,本文中的具有“H_L”名称的任何序列可以连接到人IgG1抗体的恒定区。

[0383] VI. 针对靶抗原的抗原结合结构域

[0384] 本发明的双特异性抗体具有两个不同的抗原结合结构域(ABD),所述两个不同的ABD与呈总体上如图1所示出的二价双特异性格式或三价双特异性格式的两个不同的靶检查点抗原(“靶对”)结合。适合的靶检查点抗原包含人(以及有时食蟹猴)PD-1、CTLA-4、TIM-3、LAG-3、TIGIT和BTLA,图2中示出了其序列。因此,适合的双特异性抗体与PD-1和CTLA-4、PD-1和TIM-3、PD-1和LAG-3、PD-1和TIGIT、PD-1和BTLA、CTLA-4和TIM-3、CTLA-4和LAG-3、CTLA-4和TIGIT、CTLA-4和BTLA、TIM-3和LAG-3、TIM-3和TIGIT、TIM-3和BTLA、LAG-3和TIGIT、LAG-3和BTLA、以及TIGIT和BTLA结合。应注意,针对每一对,这些双特异性抗体通常

被命名为“抗PD-1X抗CTLA-4”或通常简化地或为方便起见(并且因此可互换地)被命名为“PD-1X CTLA-4”等。应注意,除非本文另外说明,以名称列出的抗原的顺序不赋予结构;也就是说,PD-1X CTLA-4开瓶器抗体可以具有与PD-1或CTLA-4结合的scFv,尽管在一些情况下,所述顺序指定了如所指示的结构。

[0385] 如本文中更全面地概述的,ABD的这些组合可以呈如下文概述的各种各样的格式,通常是一个ABD呈Fab格式并且另一个呈scFv格式的组合。如本文中所讨论的并且如图1中所示出的,一些格式使用单个Fab和单个scFv(图1A、图1C和图1D),并且一些格式使用两个Fab和单个scFv(图1E、图1F、图1G、图1H和图1I)。

[0386] A. 抗原结合结构域

[0387] 如本文中所讨论的,本发明的双特异性检查点异源二聚体抗体包含两个抗原结合结构域(ABD),所述两个ABD中的每一个与不同的检查点蛋白质结合。如本文所概述的,这些异源二聚体抗体可以是双特异性且二价的(每个抗原与呈例如图1A中所描绘的格式的单个ABD结合)或双特异性且三价的(一个抗原与单个ABD结合,并且另一个抗原与例如如图1F中所描述的两个ABD结合)。

[0388] 此外,通常,ABD中的一个包括如本文中所概述的在从vh-scFv连接子-vl或vl-scFv连接子-vh的N-末端到C-末端的朝向上的scFv。根据格式,其它ABD中的一个或两个通常是包括一个蛋白质链上的vh结构域(通常作为重链的组分)和另一个蛋白质链上的vl(通常作为轻链的组分)的Fab。

[0389] 本发明还提供了与如下文所概述的许多不同的检查点蛋白质结合的许多ABD。如本领域技术人员将了解的,任何一组6个CDR或vh和vl结构域可以呈scFv格式或Fab格式,所述格式然后被添加到重恒定结构域和轻恒定结构域,其中重恒定结构域包括变体(包含在CH1结构域以及Fc结构域内)。序列表中含有的scFv序列利用特定带电荷连接子,而如本文所概述的,可以使用不带电荷或其它带电荷的连接子,包含图7中所描述的那些连接子。

[0390] 此外,如上文所讨论的,序列表中使用的用于鉴定CDR的编号是Kabat,然而,可以使用不同的编号,所述不同的编号将改变如表1所示出的CDR的氨基酸序列。

[0391] 对于本文所列出的所有可变重结构域和轻结构域,可以制作另外的变体。如本文所概述的,在一些实施例中,一组6个CDR可以具有0个、1个、2个、3个、4个或5个氨基酸修饰(其中氨基酸取代特别有用)以及可变重结构域和轻结构域的框架区的变化,只要框架(除CDR之外)保持与选自图1中的美国专利号7,657,380中列出的那些人种系序列至少约80%、85%或90%的同一性,所述美国专利的附图和图例通过引用以其全部内容并入本文。因此,例如,如本文所描述的相同CDR可以与来自人种系序列的不同框架序列组合,只要框架区保持与选自图1中的美国专利号7,657,380中列出的那些人种系序列至少80%、85%或90%的同一性。可替代地,CDR可以具有氨基酸修饰(例如,一组CDR中的1个、2个、3个、4个或5个氨基酸修饰(也就是说,只要一组6个CDR的总数量变化小于6个氨基酸修饰,CDR就可以被修饰,其中改变了CDR的任何组合;例如,vlCDR1中可以存在一个改变,vhCDR2中可以存在两个改变,vhCDR3中不存在改变等)),以及具有框架区改变,只要框架区保持与选自图1中的美国专利号7,657,380中列出的那些人种系序列至少80%、85%或90%的同一性。

[0392] B. PD-1抗原结合结构域

[0393] 在一些实施例中,ABD中的一个与PD-1结合。SEQ ID NO:6209到11464、SEQ ID NO:11465到17134、SEQ ID NO:33003到33072、SEQ ID NO:33073到35394和SEQ ID NO:36127到36146中描绘了适合的多组6个CDR和/或vh和v1结构域以及scFv序列。图9中示出了一些实施例中特别关注的ABD序列,并且所述ABD序列包含序列列表中的具有以下标识符的那些序列:1G6_H1.279_L1.194;1G6_H1.280_L1.224;1G6_L1.194_H1.279;1G6_L1.210_H1.288;和2E9_H1L1。

[0394] 如本领域技术人员将了解的,适合的抗PD-1ABD可以包括如在这些序列和附图中所描述的、如其被加下划线的一组6个CDR或在如本文中所描述和如表1中所示出的使用不同编号方案的情况下使用在vh和v1序列SEQ ID NO:6209到11464、SEQ ID NO:11465到17134、SEQ ID NO:33003到33072、SEQ ID NO:33073到35394、以及SEQ ID NO:36127到36146内的其它比对鉴定的CDR。适合的ABD还可以包含如这些序列和附图中所描绘的用作scFv或Fab的整个vh和v1序列。在本文中的含有Fv到PD-1的许多实施例中,scFv单体与PD-1结合。如本文所讨论的,当PD-1是抗原之一时,靶对的另一个选自CTLA-4 (SEQ ID NO:21到2918、SEQ ID NO:2919到6208、SEQ ID NO:36739到36818、以及SEQ ID NO:35395到35416中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列组或vh和v1序列))、TIM-3 (SEQ ID NO:20765到20884、SEQ ID NO:37587到37698、以及SEQ ID NO:36347到36706中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列组或vh和v1序列))、LAG-3 (SEQ ID NO:17135到20764、SEQ ID NO:36819到36962、SEQ ID NO:35417到35606、SEQ ID NO:25194到32793以及SEQ ID NO:32794到33002中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列组或vh和v1序列))、BTLA (SEQ ID NO:20885到21503和SEQ ID NO:36707到36738中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列组或vh和v1序列))、以及TIGIT (SEQ ID NO:21504到21523和SEQ ID NO:37435到37586中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列或vh和v1序列))。

[0395] 与人PD-1结合的特别有用的ABD包含但不限于:1G6_H1.279_L1.194、1G6_H1.280_L1.224;1G6_L1.194_H1.279、1G6_L1.210_H1.288和2E9_H1L1。

[0396] 除了序列列表中公开的形成ABD到PD-1的亲本CDR组之外,本发明提供了变体CDR组。在一个实施例中,如由Biacore、表面等离子体共振 (SPR) 和/或BLI (生物双层干涉,例如八隅体测定) 测定中的至少一个所测量的,只要ABD仍能够与靶抗原结合,一组6个CDR就可以具有来自亲本CDR的1个、2个、3个、4个或5个氨基酸改变,其中所述BLI特别用于许多实施例中。

[0397] 除了本文公开的形成ABD到PD-1的亲本可变重结构域和可变轻结构域之外,本发明提供了变体vh和v1结构域。在一个实施例中,如由Biacore、表面等离子体共振 (SPR) 和/或BLI (生物双层干涉,例如八隅体测定) 测定中的至少一个所测量的,只要ABD仍能够与靶抗原结合,变体vh和v1结构域各自就可以具有来自亲本vh和v1结构域的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸改变,其中所述BLI特别用于许多实施例中。在另一个实施例中,如由Biacore、表面等离子体共振 (SPR) 和/或BLI (生物双层干涉,例如八隅体测定) 测定中的至少一个所测量的,只要ABD仍能够与靶抗原结合,变体vh和v1就与相应的亲本vh或v1具有至少90%、95%、97%、98%或99%的同一性,其中所述BLI特别用于许多实施例中。

[0398] 特别优选的实施例包含图37的开瓶器格式主链的任一个内包含的呈scFv格式的1G6_L1.194_H1.279抗PD-1Fv。

[0399] 特别优选的实施例包含图38的mAb-scFv格式主链的任一个内包含的呈scFv格式的1G6_L1.194_H1.279抗PD-1Fv。

[0400] C.CTLA-4抗原结合结构域

[0401] 在一些实施例中,ABD中的一个与CTLA-4结合。SEQ ID NO:21到2918、SEQ ID NO:2919到6208、SEQ ID NO:36739到36818和SEQ ID NO:35395到35416中描绘了适合的多组6个CDR和/或vh和v1结构域以及scFv序列。图10中示出了一些实施例中特别关注的ABD序列,并且所述ABD序列还包含序列列表中的具有以下标识符的那些序列:[CTLA-4]_H0.25_L0;[CTLA-4]_H0.26_L0;[CTLA-4]_H0.27_L0;[CTLA-4]_H0.29_L0;[CTLA-4]_H0.38_L0;[CTLA-4]_H0.39_L0;0[CTLA-4]_H0.40_L0;[CTLA-4]_H0.70_L0;[CTLA-4]_H0_L0.22;[CTLA-4]_H2_L0;[CTLA-4]_H3.21_L0.124;[CTLA-4]_H3.21_L0.129;[CTLA-4]_H3.21_L0.132;[CTLA-4]_H3.23_L0.124;[CTLA-4]_H3.23_L0.129;[CTLA-4]_H3.23_L0.132;[CTLA-4]_H3.25_L0.124;[CTLA-4]_H3.25_L0.129;[CTLA-4]_H3.25_L0.132;[CTLA-4]_H3.4_L0.118;[CTLA-4]_H3.4_L0.119;[CTLA-4]_H3.4_L0.12;[CTLA-4]_H3.4_L0.121;[CTLA-4]_H3.4_L0.122;[CTLA-4]_H3.4_L0.123;[CTLA-4]_H3.4_L0.124;[CTLA-4]_H3.4_L0.125;[CTLA-4]_H3.4_L0.126;[CTLA-4]_H3.4_L0.127;[CTLA-4]_H3.4_L0.128;[CTLA-4]_H3.4_L0.129;[CTLA-4]_H3.4_L0.130;[CTLA-4]_H3.4_L0.131;[CTLA-4]_H3.4_L0.132;[CTLA-4]_H3.5_L2.1;[CTLA-4]_H3.5_L2.2;[CTLA-4]_H3.5_L2.3;[CTLA-4]_H3_L0;[CTLA-4]_H3_L0.22;[CTLA-4]_H3_L0.44;[CTLA-4]_H3_L0.67;以及[CTLA-4]_H3_L0.74。

[0402] 如本领域技术人员将了解的,适合的抗CTLA-4ABD可以包括如在这些序列和附图中所描述的、如其被加下划线的一组6个CDR或在如本文中所描述和如表1中所示出的使用不同编号方案的情况下使用在vh和v1序列SEQ ID NO:21到2918、SEQ ID NO:2919到6208、SEQ ID NO:36739到36818、以及SEQ ID NO:35395到35416内的其它比对鉴定的CDR。适合的ABD还可以包含如这些序列和附图中所描绘的用作scFv或Fab的整个vh和v1序列。在本文中的含有Fv到CTLA-4的许多实施例中,scFv单体与CTLA-4结合。如本文所讨论的,当CTLA-4是抗原之一时,靶对的另一个选自PD-1(SEQ ID NO:6209到11464、SEQ ID NO:11465到17134、SEQ ID NO:33003到33072、SEQ ID NO:33073到35394以及SEQ ID NO:36127到36146中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列组或vh和v1序列))、TIM-3(SEQ ID NO:20765到20884、SEQ ID NO:37587到-37698、以及SEQ ID NO:36347到36706中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列组或vh和v1序列))、LAG-3(SEQ ID NO:17135到-20764、SEQ ID NO:36819到36962、SEQ ID NO:35417到35606、SEQ ID NO:25194到32793以及SEQ ID NO:32794到33002中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列组或vh和v1序列))、BTLA(SEQ ID NO:20885到21503和SEQ ID NO:36707到36738中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列组或vh和v1序列)、以及TIGIT(SEQ ID NO:21504到21523和SEQ ID NO:37435到37586中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列或vh和v1序列))。

[0403] 除了序列列表中公开的形成ABD到CTLA-4的亲本CDR组之外,本发明提供了变体CDR

组。在一个实施例中,如由Biacore、表面等离子体共振 (SPR) 和/或BLI (生物双层干涉,例如八隅体测定) 测定中的至少一个所测量的,只要ABD仍能够与靶抗原结合,一组6个CDR就可以具有来自亲本CDR的1个、2个、3个、4个或5个氨基酸改变,其中所述BLI特别用于许多实施例中。

[0404] 除了本文公开的形成ABD到CTLA-4的亲本可变重结构域和可变轻结构域之外,本发明提供了变体vh和vl结构域。在一个实施例中,如由Biacore、表面等离子体共振 (SPR) 和/或BLI (生物双层干涉,例如八隅体测定) 测定中的至少一个所测量的,只要ABD仍能够与靶抗原结合,变体vh和vl结构域各自就可以具有来自亲本vh和vl结构域的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸改变,

[0405] 其中所述BLI特别用于许多实施例中。在另一个实施例中,如由Biacore、表面等离子体共振 (SPR) 和/或BLI (生物双层干涉,例如八隅体测定) 测定中的至少一个所测量的,只要ABD仍能够与靶抗原结合,变体vh和vl就与相应的亲本vh或vl具有至少90%、95%、97%、98%或99%的同一性,其中所述BLI特别用于许多实施例中。

[0406] 特别优选的实施例包含图37的开瓶器格式主链的任一个内包含的呈Fab格式的[CTLA-4]_{H3_L0.22}抗CTLA-4Fv。

[0407] 特别优选的实施例包含图37的开瓶器格式主链的任一个内包含的呈scFv格式的[CTLA-4]_{H3_L0.22}抗CTLA-4Fv。

[0408] 特别优选的实施例包含图38的mAb-scFv格式主链的任一个内包含的呈scFv格式的[CTLA-4]_{H3_L0.22}抗CTLA-4Fv。

[0409] 特别优选的实施例包含图38的mAb-scFv格式主链的任一个内包含的呈Fab格式的[CTLA-4]_{H3_L0.22}抗CTLA-4Fv。

[0410] D.TIM-3抗原结合结构域

[0411] 在一些实施例中,ABD中的一个与TIM-3结合。SEQ ID NO:20765到20884、SEQ ID NO:37587到37698和SEQ ID NO:36347到36706中描绘了适合的多组6个CDR和/或vh和vl结构域以及scFv序列。一些实施例中特别关注的ABD序列包含序列列表中的具有以下标识符的那些序列:1D10_H0L0;1D12_H0L0;3H3_H1_L2.1;6C8_H0L0;6D9_H0_1D12_L0;7A9_H0L0;7B11_H0L0;7B11var_H0L0;以及7C2_H0L0。

[0412] 如本领域技术人员将了解的,适合的抗TIM-3ABD可以包括如在这些序列和附图中所描述的、如其被加下划线的一组6个CDR或在如本文中所描述和如表1中所示出的使用不同编号方案的情况下使用在vh和vl序列SEQ ID NO:20765到20884、SEQ ID NO:37587到37698、以及SEQ ID NO:36347到36706内的其它比对鉴定的CDR。适合的ABD还可以包含如这些序列和附图中所描绘的用作scFv或Fab的整个vh和vl序列。在本文中的含有Fv到TIM-3的许多实施例中,Fab单体与TIM-3结合。如本文所讨论的,当TIM-3是抗原之一时,靶对的另一个选自PD-1 (SEQ ID NO:6209到11464、SEQ ID NO:11465到17134、SEQ ID NO:33003到33072、SEQ ID NO:33073到35394以及SEQ ID NO:36127到36146中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列组或vh和vl序列))、CTLA-4 (SEQ ID NO:21到2918、SEQ ID NO:2919到6208、SEQ ID NO:36739到36818以及SEQ ID NO:35395到35416中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列组或vh和vl序列))、LAG-3 (SEQ ID NO:17135到-20764、SEQ ID NO:36819到36962、SEQ ID NO:35417到35606、SEQ ID NO:25194到32793以

及SEQ ID NO:32794到33002中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列组或vh和v1序列))、BTLA(SEQ ID NO:20885到21503和SEQ ID NO:36707到36738中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列组或vh和v1序列)、以及TIGIT(SEQ ID NO:21504到21523和SEQ ID NO:37435到37586中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列或vh和v1序列))。

[0413] 除了序列表中公开的形成ABD到TIM-3的亲本CDR组之外,本发明提供了变体CDR组。在一个实施例中,如由Biacore、表面等离子体共振 (SPR) 和/或BLI (生物双层干涉,例如八隅体测定) 测定中的至少一个所测量的,只要ABD仍能够与靶抗原结合,一组6个CDR就可以具有来自亲本CDR的1个、2个、3个、4个或5个氨基酸改变,其中所述BLI特别用于许多实施例中。

[0414] 除了本文公开的形成ABD到TIM-3的亲本可变重结构域和可变轻结构域之外,本发明提供了变体vh和v1结构域。在一个实施例中,如由Biacore、表面等离子体共振 (SPR) 和/或BLI (生物双层干涉,例如八隅体测定) 测定中的至少一个所测量的,只要ABD仍能够与靶抗原结合,变体vh和v1结构域各自就可以具有来自亲本vh和v1结构域的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸改变,其中所述BLI特别用于许多实施例中。在另一个实施例中,如由Biacore、表面等离子体共振 (SPR) 和/或BLI (生物双层干涉,例如八隅体测定) 测定中的至少一个所测量的,只要ABD仍能够与靶抗原结合,变体vh和v1就与相应的亲本vh或v1具有至少90%、95%、97%、98%或99%的同一性,其中所述BLI特别用于许多实施例中。

[0415] LAG-3抗原结合结构域

[0416] 在一些实施例中,ABD中的一个与LAG-3结合。SEQ ID NO:17135到20764、SEQ ID NO:36819到36962、SEQ ID NO:35417到35606、SEQ ID NO:25194到32793以及SEQ ID NO:32794到33002中描绘了适合的多组6个CDR和/或vh和v1结构域以及scFv序列。图11中示出了一些实施例中特别关注的ABD序列,并且所述ABD序列还包含序列表中的具有以下标识符的那些序列:2A11_H0L0;2A11_H1.125_L2.113;2A11_H1.144_L2.142;2A11_H1_L2.122;2A11_H1_L2.123;2A11_H1_L2.124;2A11_H1_L2.25;2A11_H1_L2.47;2A11_H1_L2.50;2A11_H1_L2.91;2A11_H1_L2.93;2A11_H1_L2.97;2A11_H1L1;2A11_H1L2;2A11_H2L2;2A11_H3L1;2A11_H3L2;2A11_H4L1;2A11_H4L2;7G8_H0L0;7G8_H1L1;7G8_H3.18_L1.11;7G8_H3.23_L1.11;7G8_H3.28_L1;7G8_H3.28_L1.11;7G8_H3.28_L1.13;7G8_H3.30_L1.34;7G8_H3.30_L1.34;以及7G8_H3L1。

[0417] 如本领域技术人员将了解的,适合的抗LAG-3ABD可以包括如在这些序列和附图中所描述的、如其被加下划线的一组6个CDR或在如本文中所描述和如表1中所示出的使用不同编号方案的情况下使用在vh和v1序列SEQ ID NO:17135到20764、SEQ ID NO:36819到36962、SEQ ID NO:35417到35606、SEQ ID NO:25194到32793、以及SEQ ID NO:32794到33002内的其它比对鉴定的CDR。适合的ABD还可以包含如这些序列和附图中所描绘的用作scFv或Fab的整个vh和v1序列。在本文中的含有Fv到LAG-3的许多实施例中,Fab单体与LAG-3结合。如本文所讨论的,当LAG-3是抗原之一时,靶对的另一个选自PD-1 (SEQ ID NO:6209到11464、SEQ ID NO:11465到17134、SEQ ID NO:33003到33072、SEQ ID NO:33073到35394以及SEQ ID NO:36127到36146中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列组

或vh和v1序列))、CTLA-4(SEQ ID NO:21到2918、SEQ ID NO:2919到6208、SEQ ID NO:36739到36818以及SEQ ID NO:35395到35416中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列组或vh和v1序列))、TIM-3(SEQ ID NO:20765到20884、SEQ ID NO:37587到37698以及SEQ ID NO:36347到36706中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列组或vh和v1序列))、BTLA(SEQ ID NO:20885到21503和SEQ ID NO:36707到36738中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列组或vh和v1序列)、以及TIGIT(SEQ ID NO:21504到21523和SEQ ID NO:37435到37586中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列或vh和v1序列))。

[0418] 除了序列表中公开的形成ABD到LAG-3的亲本CDR组之外,本发明提供了变体CDR组。在一个实施例中,如由Biacore、表面等离子体共振 (SPR) 和/或BLI (生物双层干涉,例如八隅体测定) 测定中的至少一个所测量的,只要ABD仍能够与靶抗原结合,一组6个CDR就可以具有来自亲本CDR的1个、2个、3个、4个或5个氨基酸改变,其中所述BLI特别用于许多实施例中。

[0419] 除了本文公开的形成ABD到LAG-3的亲本可变重结构域和可变轻结构域之外,本发明提供了变体vh和v1结构域。在一个实施例中,如由Biacore、表面等离子体共振 (SPR) 和/或BLI (生物双层干涉,例如八隅体测定) 测定中的至少一个所测量的,只要ABD仍能够与靶抗原结合,变体vh和v1结构域各自就可以具有来自亲本vh和v1结构域的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸改变,其中所述BLI特别用于许多实施例中。在另一个实施例中,如由Biacore、表面等离子体共振 (SPR) 和/或BLI (生物双层干涉,例如八隅体测定) 测定中的至少一个所测量的,只要ABD仍能够与靶抗原结合,变体vh和v1就与相应的亲本vh或v1具有至少90%、95%、97%、98%或99%的同一性,其中所述BLI特别用于许多实施例中。

[0420] 特别优选的实施例包含图37的开瓶器格式主链的任一个内包含的呈Fab格式的7G8_H3.30_L1.34抗LAG-3Fv。

[0421] 特别优选的实施例包含图37的开瓶器格式主链的任一个内包含的呈scFv格式的7G8_H3.30_L1.34抗LAG-3Fv。

[0422] E.BTLA抗原结合结构域

[0423] 在一些实施例中,ABD中的一个与BTLA结合。SEQ ID NO:20885到21503和SEQ ID NO:36707到36738中描绘了适合的多组6个CDR和/或vh和v1结构域以及scFv序列。图12中示出了一些实施例中特别关注的ABD序列,并且所述ABD序列还包含序列表中的具有以下标识符的那些序列:9C6_H0L0;9C6_H1.1_L1;以及9C6_H1.11_L1。

[0424] 如本领域技术人员将了解的,适合的抗BTLAABD可以包括如在这些序列和附图中所描述的、如其被加下划线的一组6个CDR或在如本文中所描述和如表1中所示出的使用不同编号方案的情况下使用在vh和v1序列SEQ ID NO:20885到21503以及SEQ ID NO:36707到36738内的其它比对鉴定的CDR。适合的ABD还可以包含如这些序列和附图中所描绘的用作scFv或Fab的整个vh和v1序列。在本文中的含有Fv到BTLA的许多实施例中,Fab单体与BTLA结合。如本文所讨论的,当LAG-3是抗原之一时,靶对的另一个选自PD-1(SEQ ID NO:6209到11464、SEQ ID NO:11465到17134、SEQ ID NO:33003到33072、SEQ ID NO:33073到35394以及SEQ ID NO:36127到36146中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列组或

vh和v1序列))、CTLA-4 (SEQ ID NO:21到2918、SEQ ID NO:2919到6208、SEQ ID NO:36739到36818以及SEQ ID NO:35395到35416中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列组或vh和v1序列))、TIM-3 (SEQ ID NO:20765到20884、SEQ ID NO:37587到37698以及SEQ ID NO:36347到36706中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列组或vh和v1序列))、LAG-3 (SEQ ID NO:17135到20764、SEQ ID NO:36819到36962、SEQ ID NO:35417到35606、SEQ ID NO:25194到32793以及SEQ ID NO:32794到33002中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列组或vh和v1序列)、以及TIGIT (SEQ ID NO:21504到21523和SEQ ID NO:37435到37586中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列或vh和v1序列))。

[0425] 除了序列表中公开的形成ABD到BTLA的亲本CDR组之外,本发明提供了变体CDR组。在一个实施例中,如由Biacore、表面等离子体共振 (SPR) 和/或BLI (生物双层干涉,例如八隅体测定) 测定中的至少一个所测量的,只要ABD仍能够与靶抗原结合,一组6个CDR就可以具有来自亲本CDR的1个、2个、3个、4个或5个氨基酸改变,其中所述BLI特别用于许多实施例中。

[0426] 除了本文公开的形成ABD到BTLA的亲本可变重结构域和可变轻结构域之外,本发明提供了变体vh和v1结构域。在一个实施例中,如由Biacore、表面等离子体共振 (SPR) 和/或BLI (生物双层干涉,例如八隅体测定) 测定中的至少一个所测量的,只要ABD仍能够与靶抗原结合,变体vh和v1结构域各自就可以具有来自亲本vh和v1结构域的1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸改变,其中所述BLI特别用于许多实施例中。在另一个实施例中,如由Biacore、表面等离子体共振 (SPR) 和/或BLI (生物双层干涉,例如八隅体测定) 测定中的至少一个所测量的,只要ABD仍能够与靶抗原结合,变体vh和v1就与相应的亲本vh或v1具有至少90%、95%、97%、98%或99%的同一性,其中所述BLI特别用于许多实施例中。

[0427] 特别优选的实施例包含图37的开瓶器格式主链的任一个内包含的呈Fab格式的9C6_H1.1L1抗LAG-3Fv。

[0428] 特别优选的实施例包含图37的开瓶器格式主链的任一个内包含的呈scFv格式的7G8_H3.30_L1.34抗LAG-3Fv。

[0429] F.TIGIT抗原结合结构域

[0430] 在一些实施例中,ABD中的一个与TIGIT结合。SEQ ID NO:21504到21523和SEQ ID NO:37435到37586中描绘了适合的多组6个CDR和/或vh和v1结构域以及scFv序列。

[0431] 如本领域技术人员将了解的,适合的抗TIGIT ABD可以包括如在这些序列和附图中所描述的、如其被加下划线的一组6个CDR或在如本文中所描述和如表1中所示出的使用不同编号方案的情况下使用在vh和v1序列SEQ ID NO:21504到21523以及SEQ ID NO:37435到37586内的其它比对鉴定的CDR。适合的ABD还可以包含如这些序列和附图中所描绘的用作scFv或Fab的整个vh和v1序列。在本文中的含有Fv到TIGIT的许多实施例中,Fab单体与TIGIT结合。如本文所讨论的,当LAG-3是抗原之一时,靶对的另一个选自PD-1 (SEQ ID NO:6209到11464、SEQ ID NO:11465到17134、SEQ ID NO:33003到33072、SEQ ID NO:33073到35394以及SEQ ID NO:36127到36146中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列组或vh和v1序列))、CTLA-4 (SEQ ID NO:21到2918、SEQ ID NO:2919到6208、SEQ ID

NO:36739到36818以及SEQ ID NO:35395到35416中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列组或vh和v1序列))、TIM-3(SEQ ID NO:20765到20884、SEQ ID NO:37587到37698以及SEQ ID NO:36347到36706中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列组或vh和v1序列))、LAG-3(SEQ ID NO:17135到20764、SEQ ID

[0432] NO:36819到36962、SEQ ID NO:35417到35606、SEQ ID NO:25194到32793以及SEQ ID NO:32794到33002中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列或vh和v1序列))、以及BTLA(SEQ ID NO:20885到21503和SEQ ID NO:36707到36738中描绘了适合的序列(所述序列可以是scFv序列、CDR序列或vh和v1序列))。

[0433] G. 具体双特异性实施例

[0434] 本发明提供了如下文所概述的许多具体双特异性抗体。

[0435] 1. LAG-3X CTLA-4

[0436] 在一些实施例中,本发明提供了双特异性异源二聚体抗体,所述双特异性异源二聚体抗体包括与人LAG-3结合的第一ABD和与人CTLA-4结合的第二ABD,所述第一ABD和所述第二ABD可以呈图1中所示出的任何格式。本公开的大部分涉及一种开瓶器格式,其中Fab是LAG-3侧,并且CTLA-4侧是scFv侧,但这对于本文中的所有实施例可以是颠倒的。

[0437] 在一个实施例中,LAG-3X CTLA-4双特异性抗体呈图1A的开瓶器格式,其中CTLA-4ABD是scFv。在另一个实施例中,LAG-3X CTLA-4双特异性抗体呈图1F的中央-scFv格式,其中LAG-3ABD是Fab组分。在另一个实施例中,LAG-3X CTLA-4双特异性抗体呈图1F的中央-scFv格式,其中CTLA-4ABD是scFv。

[0438] LAG-3X CTLA-4双特异性抗体(呈开瓶器格式或中央-scFv格式)通常包含如本文中所概述的倾斜变体、pI变体和消融变体。也就是说,在任一格式下,两个单体的Fc结构域可以包括倾斜变体(例如,一组如图3和图8所示出的氨基酸取代),任选地消融变体(包含图5中示出的那些变体),并且包括Fab侧(例如,重链恒定结构域)的单体包括pI变体(包含图4中示出的那些变体)。

[0439] 在一些实施例中,LAG-3X CTLA-4双特异性抗体包括具有倾斜变体的Fc结构域,其中特别有用的倾斜变体选自由以下组成的群组:S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;T366S/L368A/Y407V:T366W以及T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C。

[0440] 在一些实施例中,LAG-3X CTLA-4抗体包含倾斜变体、pI变体和消融变体。因此,一些实施例包含开瓶器格式,所述开瓶器格式包括:a) 第一单体(“scFv单体”),其包括带电荷scFv连接子(图7的+H序列在一些实施例中是优选的)、倾斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、以及与如本文所概述的检查点抑制剂结合的Fv;b) 第二单体(“Fab单体”),其包括倾斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、以及可变重结构域,所述可变重结构域与可变轻结构域构成与如本文所概述的第二检查点抑制剂结合的Fv;以及c) 轻链。这个实施例的具体实例利用LAG-3Fab 7G8_H3.30_L1.34和CTLA-4scFv[CTLA-4]_H3.23_L0.129,尽管序列列表中的CTLA-4或LAG-3Fv中的任一个可以以任何组合成对并且使用。

[0441] 在一些实施例中,LAG-3X CTLA-4抗体包含倾斜变体、pI变体、消融变体和FcRn变

体。因此,一些实施例包含开瓶器格式,所述开瓶器格式包括:a)第一单体(“scFv单体”),其包括带电荷scFv连接子(图7的+H序列在一些实施例中是优选的)、倾斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S和与如本文所概述的检查点抑制剂结合的Fv;b)第二单体(“Fab单体”),其包括倾斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、以及可变重结构域,所述可变重结构域与可变轻结构域构成与如本文所概述的第二检查点抑制剂结合的Fv;以及c)轻链。这个实施例的具体实例利用LAG-3Fab7G8_H3.30_L1.34和CTLA-4scFv[CTLA-4]_H3.23_L0.129,尽管序列列表中的CTLA-4或LAG-3Fv中的任一个可以以任何组合成对并且使用。

[0442] 附加实施例包含来自图37的具有LAG-3Fab 7G8_H3.30_L1.34和CTLA-4scFv[CTLA-4]_H3.23_L0.129的主链中的任一个。

[0443] 附加实施例包含来自图38的具有LAG-3Fab 7G8_H3.30_L1.34和CTLA-4scFv[CTLA-4]_H3.23_L0.129的主链中的任一个。

[0444] 在一些实施例中,对于LAG-3X CTLA-4双特异性抗体,LAG-3Fab侧的Fv选自序列列表中的具有以下标识符的那些序列:2A11_H0L0;2A11_H1.125_L2.113;2A11_H1.144_L2.142;2A11_H1_L2.122;2A11_H1_L2.123;2A11_H1_L2.124;2A11_H1_L2.25;2A11_H1_L2.47;2A11_H1_L2.50;2A11_H1_L2.91;2A11_H1_L2.93;2A11_H1_L2.97;2A11_H1L1;2A11_H1L2;2A11_H2L2;2A11_H3L1;2A11_H3L2;2A11_H4L1;2A11_H4L2;7G8_H0L0;7G8_H1L1;7G8_H3.18_L1.11;7G8_H3.23_L1.11;7G8_H3.28_L1;7G8_H3.28_L1.11;7G8_H3.28_L1.13;7G8_H3.30_L1.34;7G8_H3.30_L1.34;以及7G8_H3L1。CTLA-4scFv侧的Fv选自序列列表中的具有以下标识符的那些序列:[CTLA-4]_H0.25_L0;[CTLA-4]_H0.26_L0;[CTLA-4]_H0.27_L0;[CTLA-4]_H0.29_L0;[CTLA-4]_H0.38_L0;[CTLA-4]_H0.39_L0;0[CTLA-4]_H0.40_L0;[CTLA-4]_H0.70_L0;[CTLA-4]_H0_L0.22;[CTLA-4]_H2_L0;[CTLA-4]_H3.21_L0.124;[CTLA-4]_H3.21_L0.129;[CTLA-4]_H3.21_L0.132;[CTLA-4]_H3.23_L0.124;[CTLA-4]_H3.23_L0.129;[CTLA-4]_H3.23_L0.132;[CTLA-4]_H3.25_L0.124;[CTLA-4]_H3.25_L0.129;[CTLA-4]_H3.25_L0.132;[CTLA-4]_H3.4_L0.118;[CTLA-4]_H3.4_L0.119;[CTLA-4]_H3.4_L0.12;[CTLA-4]_H3.4_L0.121;[CTLA-4]_H3.4_L0.122;[CTLA-4]_H3.4_L0.123;[CTLA-4]_H3.4_L0.124;[CTLA-4]_H3.4_L0.125;[CTLA-4]_H3.4_L0.126;[CTLA-4]_H3.4_L0.127;[CTLA-4]_H3.4_L0.128;[CTLA-4]_H3.4_L0.129;[CTLA-4]_H3.4_L0.130;[CTLA-4]_H3.4_L0.131;[CTLA-4]_H3.4_L0.132;[CTLA-4]_H3.5_L2.1;[CTLA-4]_H3.5_L2.2;[CTLA-4]_H3.5_L2.3;[CTLA-4]_H3_L0;[CTLA-4]_H3_L0.22;[CTLA-4]_H3_L0.44;[CTLA-4]_H3_L0.67;以及[CTLA-4]_H3_L0.74。

[0445] 在一些实施例中,LAG-3X CTLA-4双特异性抗体选自SEQ ID NO:35607到35866和SEQ ID NO:21524到22620中列出的那些构建体。

[0446] 在一些实施例中,LAG-3X CTLA-4双特异性抗体选自:XENP20206、XENP21582、XENP21584、XENP21588、XENP22123、XENP22124、XENP22125、XENP22604、XENP22672、XENP22847、XENP22847、XENP22841和XENP22849。

[0447] 2.BTLAX PD-1

[0448] 在一些实施例中,本发明提供了双特异性异源二聚体抗体,所述双特异性异源二

聚体抗体包括与人BTLA结合的第一ABD和与人PD-1结合的第二ABD,所述第一ABD和所述第二ABD可以呈图1中所示出的任何格式。本公开的大部分涉及一种开瓶器格式,其中Fab是BTLA侧,并且PD-1侧是scFv侧,但这对于本文中的所有实施例可以是颠倒的。

[0449] 在一个实施例中,BTLAX PD-1双特异性抗体呈图1A的开瓶器格式,其中PD-1ABD是scFv。在另一个实施例中,BTLA X PD-1双特异性抗体呈图1F的中央-scFv格式,其中BTLA ABD是Fab组分。在另一个实施例中,BTLA XPD-1双特异性抗体呈图1F的中央-scFv格式,其中PD-1ABD是scFv。

[0450] BTLA X PD-1双特异性抗体(呈开瓶器格式或中央-scFv格式)通常包含如本文中所概述的倾斜变体、pI变体和消融变体。也就是说,在任一格式下,两个单体的Fc结构域可以包括倾斜变体(例如,一组如图3和图8所示出的氨基酸取代),任选地消融变体(包含图5中示出的那些变体),并且包括Fab侧(例如,重链恒定结构域)的单体包括pI变体(包含图4中示出的那些变体)。

[0451] 在一些实施例中,BTLA X PD-1双特异性抗体包括具有倾斜变体的Fc结构域,其中特别有用的倾斜变体选自由以下组成的群组:S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;T366S/L368A/Y407V:T366W以及T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C。

[0452] 在一些实施例中,BTLA X PD-1抗体包含倾斜变体、pI变体和消融变体。因此,一些实施例包含开瓶器格式,所述开瓶器格式包括:a)第一单体(“scFv单体”),其包括带电荷scFv连接子(图7的+H序列在一些实施例中是优选的)、倾斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、以及与如本文所概述的检查点抑制剂结合的Fv;b)第二单体(“Fab单体”),其包括倾斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、以及可变重结构域,所述可变重结构域与可变轻结构域构成与如本文所概述的第二检查点抑制剂结合的Fv;以及c)轻链。这个实施例的具体实例利用BTLA Fab 9C6_H1.1_L1和PD-1scFv1G6_L1.194_H1.279,尽管序列列表中的BTLA或PD-1Fv中的任一个可以以任何组合成对并且使用。

[0453] 在一些实施例中,BTLA X PD-1抗体包含倾斜变体、pI变体、消融变体和FcRn变体。因此,一些实施例包含开瓶器格式,所述开瓶器格式包括:a)第一单体(“scFv单体”),其包括带电荷scFv连接子(图7的+H序列在一些实施例中是优选的)、倾斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、以及与如本文所概述的检查点抑制剂结合的Fv;b)第二单体(“Fab单体”),其包括倾斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S和可变重结构域,所述可变重结构域与可变轻结构域构成与如本文所概述的第二检查点抑制剂结合的Fv;以及c)轻链。这个实施例的具体实例利用BTLA Fab 9C6_H1.1_L1和PD-1scFv 1G6_L1.194_H1.279,尽管序列列表中的BTLA或PD-1Fv中的任一个可以以任何组合成对并且使用。

[0454] 附加实施例包含来自图37的具有BTLA Fab 9C6 H1.1L1和PD-1scFv1G6_L1.194_H1.279的主链中的任一个。

[0455] 附加实施例包含来自图38的具有BTLA Fab 9C6 H1.1L1和PD-1scFv1G6_L1.194_

H1.279的主链中的任一个。

[0456] 在一些实施例中,对于BTLA X PD-1双特异性抗体,BTLA Fab侧的Fv选自序列列表中的具有以下标识符的那些序列:9C6_H0L0、9C6_H1.1_L1、9C6_H1.11_L1。PD-1scFv侧的Fv选自序列列表中的具有以下标识符的那些序列:1G6_H1.279_L1.194;1G6_H1.280_L1.224;1G6_L1.194_H1.279;1G6_L1.210_H1.288;和2E9_H1L1。

[0457] 在一些实施例中,BTLA X PD-1双特异性抗体选自构建体,所述构建体包含SEQ ID NO:22724到23315和SEQ ID NO:36147到36166中列出那些构建体。

[0458] 在一些实施例中,BTLA X PD-1双特异性抗体选自XENP20895、XENP21220、XENP21221和XENP22858。

[0459] 3.CTLA-4X PD-1

[0460] 在一些实施例中,本发明提供了双特异性异源二聚体抗体,所述双特异性异源二聚体抗体包括与人CTLA-4结合的第一ABD和与人PD-1结合的第二ABD,所述第一ABD和所述第二ABD可以呈图1中所示出的任何格式。本公开的大部分涉及一种开瓶器格式,其中Fab是CTLA-4侧,并且PD-1侧是scFv侧,但这对于本文中的所有实施例可以是颠倒的。

[0461] 在一个实施例中,CTLA-4X PD-1双特异性抗体呈图1A的开瓶器格式,其中PD-1ABD是scFv。在另一个实施例中,CTLA-4X PD-1双特异性抗体呈图1F的中央-scFv格式,其中CTLA-4ABD是Fab组分。在另一个实施例中,CTLA-4X PD-1双特异性抗体呈图1F的中央-scFv格式,其中PD-1ABD是scFv。

[0462] CTLA-4X PD-1双特异性抗体(呈开瓶器格式或中央-scFv格式)通常包含如本文中所概述的倾斜变体、pI变体和消融变体。也就是说,在任一格式下,两个单体的Fc结构域可以包括倾斜变体(例如,一组如图3和图8所示出的氨基酸取代),任选地消融变体(包含图5中示出的那些变体),并且包括Fab侧(例如,重链恒定结构域)的单体包括pI变体(包含图4中示出的那些变体)。

[0463] 在一些实施例中,CTLA-4X PD-1双特异性抗体包括具有倾斜变体的Fc结构域,其中特别有用的倾斜变体选自由以下组成的群组:S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;T366S/L368A/Y407V:T366W以及T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C。

[0464] 在一些实施例中,CTLA-4X PD-1抗体包含倾斜变体、pI变体和消融变体。因此,一些实施例包含开瓶器格式,所述开瓶器格式包括:a)第一单体(“scFv单体”),其包括带电荷scFv连接子(图7的+H序列在一些实施例中是优选的)、倾斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、以及与如本文所概述的检查点抑制剂结合的Fv;b)第二单体(“Fab单体”),其包括倾斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、以及可变重结构域,所述可变重结构域与可变轻结构域构成与如本文所概述的第二检查点抑制剂结合的Fv;以及c)轻链。这个实施例的具体实例利用CTLA-4Fab[CTLA-4]_H3_L0.22和PD-1scFv 1G6_L1.194_H1.279,尽管序列列表中的CTLA-4或PD-1Fv中的任一个可以以任何组合成对并且使用。

[0465] 在一些实施例中,CTLA-4X PD-1抗体包含倾斜变体、pI变体、消融变体和FcRn变体。因此,一些实施例包含开瓶器格式,所述开瓶器格式包括:a)第一单体(“scFv单体”),其

包括带电荷scFv连接子(图7的+H序列在一些实施例中是优选的)、倾斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、以及与如本文所概述的检查点抑制剂结合的Fv;b)第二单体(“Fab单体”),其包括倾斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、以及可变重结构域,所述可变重结构域与可变轻结构域构成与如本文所概述的第二检查点抑制剂结合的Fv;以及c)轻链。这个实施例的具体实例利用CTLA-4Fab [CTLA-4]_H3_L0.22和PD-1scFv 1G6_L1.194_H1.279,尽管序列列表中的CTLA-4或PD-1Fv中的任一个可以以任何组合成对并且使用。

[0466] 附加实施例包含来自图37的具有CTLA-4Fab [CTLA-4]_H3_L0.22和PD-1scFv 1G6_L1.194_H1.279的主链中的任一个。

[0467] 附加实施例包含来自图38的具有CTLA-4Fab [CTLA-4]_H3_L0.22和PD-1scFv 1G6_L1.194_H1.279的主链中的任一个。

[0468] 在一些实施例中,对于CTLA-4X PD-1双特异性抗体,CTLA-4Fab侧的Fv选自序列列表中的具有以下标识符的那些序列:[CTLA-4]_H0.25_L0; [CTLA-4]_H0.26_L0; [CTLA-4]_H0.27_L0; [CTLA-4]_H0.29_L0; [CTLA-4]_H0.38_L0; [CTLA-4]_H0.39_L0; [CTLA-4]_H0.40_L0; [CTLA-4]_H0.70_L0; [CTLA-4]_H0_L0.22; [CTLA-4]_H2_L0; [CTLA-4]_H3.21_L0.124; [CTLA-4]_H3.21_L0.129; [CTLA-4]_H3.21_L0.132; [CTLA-4]_H3.23_L0.124; [CTLA-4]_H3.23_L0.129; [CTLA-4]_H3.23_L0.132; [CTLA-4]_H3.25_L0.124; [CTLA-4]_H3.25_L0.129; [CTLA-4]_H3.25_L0.132; [CTLA-4]_H3.4_L0.118; [CTLA-4]_H3.4_L0.119; [CTLA-4]_H3.4_L0.12; [CTLA-4]_H3.4_L0.121; [CTLA-4]_H3.4_L0.122; [CTLA-4]_H3.4_L0.123; [CTLA-4]_H3.4_L0.124; [CTLA-4]_H3.4_L0.125; [CTLA-4]_H3.4_L0.126; [CTLA-4]_H3.4_L0.127; [CTLA-4]_H3.4_L0.128; [CTLA-4]_H3.4_L0.129; [CTLA-4]_H3.4_L0.130; [CTLA-4]_H3.4_L0.131; [CTLA-4]_H3.4_L0.132; [CTLA-4]_H3.5_L2.1; [CTLA-4]_H3.5_L2.2; [CTLA-4]_H3.5_L2.3; [CTLA-4]_H3_L0; [CTLA-4]_H3_L0.22; [CTLA-4]_H3_L0.44; [CTLA-4]_H3_L0.67; 以及 [CTLA-4]_H3_L0.74。PD-1scFv侧的Fv选自序列列表中的具有以下标识符的那些序列:1G6_H1.279_L1.194; 1G6_H1.280_L1.224; 1G6_L1.194_H1.279; 1G6_L1.210_H1.288; 以及2E9H1L1。

[0469] 在一些实施例中,CTLA-4X PD-1双特异性抗体选自如SEQ ID NO:36167到36346和SEQ ID NO:23316到23735中列出那些抗体。

[0470] 在一些实施例中,CTLA-4X PD-1双特异性抗体选自:XENP19738、XENP19739、XENP19741、XENP20053、XENP20066、XENP20130、XENP20146、XENP20717和XENP22836。

[0471] 4.LAG-3X PD-1

[0472] 在一些实施例中,本发明提供了双特异性异源二聚体抗体,所述双特异性异源二聚体抗体包括与人LAG-3结合的第一ABD和与人PD-1结合的第二ABD,所述第一ABD和所述第二ABD可以呈图1中所示出的任何格式。本公开的大部分涉及一种开瓶器格式,其中Fab是LAG-3侧,并且PD-1侧是scFv侧,但这对于本文中的所有实施例可以是颠倒的。

[0473] 在一个实施例中,LAG-3X PD-1双特异性抗体呈图1A的开瓶器格式,其中PD-1ABD是scFv。在另一个实施例中,LAG-3X PD-1双特异性抗体呈图1F的中央-scFv格式,其中LAG-3ABD是Fab组分。在另一个实施例中,LAG-3X PD-1双特异性抗体呈图1F的中央-scFv格式,

其中PD-1ABD是scFv。

[0474] LAG-3X PD-1双特异性抗体(呈开瓶器格式或中央-scFv格式)通常包含如本文中所述概述的倾斜变体、pI变体和消融变体。也就是说,在任一格式下,两个单体的Fc结构域可以包括倾斜变体(例如,一组如图3和图8所示出的氨基酸取代),任选地消融变体(包含图5中示出的那些变体),并且包括Fab侧(例如,重链恒定结构域)的单体包括pI变体(包含图4中示出的那些变体)。

[0475] 在一些实施例中,LAG-3X PD-1双特异性抗体包括具有倾斜变体的Fc结构域,其中特别有用的倾斜变体选自以下组成的群组:S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;T366S/L368A/Y407V:T366W以及T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C。

[0476] 在一些实施例中,LAG-3X PD-1抗体包含倾斜变体、pI变体和消融变体。因此,一些实施例包含开瓶器格式,所述开瓶器格式包括:a)第一单体(“scFv单体”),其包括带电荷scFv连接子(图7的+H序列在一些实施例中是优选的)、倾斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、以及与如本文所概述的检查点抑制剂结合的Fv;b)第二单体(“Fab单体”),其包括倾斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、以及可变重结构域,所述可变重结构域与可变轻结构域构成与如本文所概述的第二检查点抑制剂结合的Fv;以及c)轻链。这个实施例的具体实例利用LAG-3Fab 7G8_H3.30_L1.34和PD-1scFv1G6_L1.194_H1.279,尽管序列列表中的LAG-3或PD-1Fv中的任一个可以以任何组合成对并且使用。

[0477] 在一些实施例中,LAG-3X PD-1抗体包含倾斜变体、pI变体、消融变体和FcRn变体。因此,一些实施例包含开瓶器格式,所述开瓶器格式包括:a)第一单体(“scFv单体”),其包括带电荷scFv连接子(图7的+H序列在一些实施例中是优选的)、倾斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S和与如本文所概述的检查点抑制剂结合的Fv;b)第二单体(“Fab单体”),其包括倾斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、以及可变重结构域,所述可变重结构域与可变轻结构域构成与如本文所概述的第二检查点抑制剂结合的Fv;以及c)轻链。这个实施例的具体实例利用LAG-3Fab7G8_H3.30_L1.34和PD-1scFv 1G6_L1.194_H1.279,尽管序列列表中的LAG-3或PD-1Fv中的任一个可以以任何组合成对并且使用。

[0478] 附加实施例包含来自图37的具有LAG-3Fab 7G8_H3.30_L1.34和PD-1scFv 1G6_L1.194_H1.279的主链中的任一个。

[0479] 附加实施例包含来自图38的具有LAG-3Fab 7G8_H3.30_L1.34和PD-1scFv 1G6_L1.194_H1.279的主链中的任一个。

[0480] 在一些实施例中,对于LAG-3X PD-1双特异性抗体,LAG-3Fab侧的Fv选自序列列表中的具有以下标识符的那些序列:2A11_H0L0;2A11_H1.125_L2.113;2A11_H1.144_L2.142;2A11_H1_L2.122;2A11_H1_L2.123;2A11_H1_L2.124;2A11_H1_L2.25;2A11_H1_L2.47;2A11_H1_L2.50;2A11_H1_L2.91;2A11_H1_L2.93;2A11_H1_L2.97;2A11_H1L1;2A11_H1L2;2A11_H2L2;2A11_H3L1;2A11_H3L2;2A11_H4L1;2A11_H4L2;7G8_H0L0;7G8_H1L1;7G8_

H3.18_L1.11;7G8_H3.23_L1.11;7G8_H3.28_L1;7G8_H3.28_L1.11;7G8_H3.28_L1.13;7G8_H3.30_L1.34;7G8_H3.30_L1.34;以及7G8_H3L1。PD-1scFv侧的Fv选自序列表中的具有以下标识符的那些序列:1G6_H1.279_L1.194;1G6_H1.280_L1.224;1G6_L1.194_H1.279;1G6_L1.210_H1.288;以及2E9_H1L1。

[0481] 在一些实施例中,LAG-3X PD-1双特异性抗体选自构建体,所述构建体包含SEQ ID NO:35867到36126和SEQ ID NO:23736到25133中列出那些构建体。

[0482] 在一些实施例中,LAG-3X PD-1双特异性抗体选自:XENP20206、XENP21582、XENP21584、XENP21588、XENP22123、XENP22124、XENP22125、XENP22604、XENP22672、XENP22847、XENP22847和XENP22849。

[0483] 5.TIGIT X PD-1

[0484] 在一些实施例中,TIGIT X PD-1双特异性抗体选自SEQ ID NO:25134到25173中列出的那些构建体。

[0485] 6.TIM-3X PD-1

[0486] 在一些实施例中,本发明提供了双特异性异源二聚体抗体,所述双特异性异源二聚体抗体包括与人TIM-3结合的第一ABD和与人PD-1结合的第二ABD,所述第一ABD和所述第二ABD可以呈图1中所示出的任何格式。本公开的大部分涉及一种开瓶器格式,其中Fab是TIM-3侧,并且PD-1侧是scFv侧,但这对于本文中的所有实施例可以是颠倒的。

[0487] 在一个实施例中,TIM-3X PD-1双特异性抗体呈图1A的开瓶器格式,其中PD-1ABD是scFv。在另一个实施例中,TIM-3X PD-1双特异性抗体呈图1F的中央-scFv格式,其中TIM-3ABD是Fab组分。在另一个实施例中,TIM-3XPD-1双特异性抗体呈图1F的中央-scFv格式,其中PD-1ABD是scFv。

[0488] TIM-3X PD-1双特异性抗体(呈开瓶器格式或中央-scFv格式)通常包含如本文中所概述的倾斜变体、pI变体和消融变体。也就是说,在任一格式下,两个单体的Fc结构域可以包括倾斜变体(例如,一组如图3和图8所示出的氨基酸取代),任选地消融变体(包含图5中示出的那些变体),并且包括Fab侧(例如,重链恒定结构域)的单体包括pI变体(包含图4中示出的那些变体)。

[0489] 在一些实施例中,TIM-3X PD-1双特异性抗体包括具有倾斜变体的Fc结构域,其中特别有用的倾斜变体选自由以下组成的群组:S364K/E357Q:L368D/K370S;L368D/K370S:S364K;L368E/K370S:S364K;T411T/E360E/Q362E:D401K;L368D/K370S:S364K/E357L;K370S:S364K/E357Q;T366S/L368A/Y407V:T366W以及T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C。

[0490] 在一些实施例中,TIM-3X PD-1抗体包含倾斜变体、pI变体和消融变体。因此,一些实施例包含开瓶器格式,所述开瓶器格式包括:a)第一单体(“scFv单体”),其包括带电荷scFv连接子(图7的+H序列在一些实施例中是优选的)、倾斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、以及与如本文所概述的检查点抑制剂结合的Fv;b)第二单体(“Fab单体”),其包括倾斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、以及可变重结构域,所述可变重结构域与可变轻结构域构成

[0491] 与如本文所概述的第二检查点抑制剂结合的Fv;以及c)轻链。这个实施例的具体

实例利用PD-1scFv 1G6_L1.194_H1.279,尽管序列列表中的TIM-3或PD-1Fv中的任一个可以以任何组合成对并且使用。

[0492] 在一些实施例中,TIM-3X PD-1抗体包含倾斜变体、pI变体、消融变体和FcRn变体。因此,一些实施例包含开瓶器格式,所述开瓶器格式包括:a)第一单体(“scFv单体”),其包括带电荷scFv连接子(图7的+H序列在一些实施例中是优选的)、倾斜变体S364K/E357Q、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S、以及与如本文所概述的检查点抑制剂结合的Fv;b)第二单体(“Fab单体”),其包括倾斜变体L368D/K370S、pI变体N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D、消融变体E233P/L234V/L235A/G236del/S267K、FcRn变体M428L/N434S和可变重结构域,所述可变重结构域与可变轻结构域构成与如本文所概述的第二检查点抑制剂结合的Fv;以及c)轻链。这个实施例的具体实例利用PD-1scFv1G6_L1.194_H1.279,尽管序列列表中的TIM-3或PD-1Fv中的任一个可以以任何组合成对并且使用。

[0493] 附加实施例包含来自图37的具有TIM-3Fab侧和PD-1scFv1G6_L1.194_H1.279的主链中的任一个。

[0494] 附加实施例包含来自图38的具有TIM-3Fab侧和PD-1scFv1G6_L1.194_H1.279的主链中的任一个。

[0495] 在一些实施例中,对于TIM-3Fab侧X PD-1双特异性抗体,TIM-3Fab侧的Fv选自序列列表中的具有以下标识符的那些序列:1D10_H0L0;1D12_H0L0;3H3_H1_L2.1;6C8_H0L0;6D9_H0_1D12_L0;7A9_H0L0;7B11_H0L0;7B11var_H0L0;以及7C2_H0L0。PD-1scFv侧的Fv选自序列列表中的具有以下标识符的那些序列:1G6_H1.279_L_1.194;1G6_H1.280_L1.224;1G6_L1.194_H1.279;1G6_L1.210_H1.288;以及2E9_H1L1。

[0496] 此外,本发明的抗体包含与和本文所概述的抗原结合结构域相同的表位结合或竞争与本文所概述的抗原结合结构域结合的抗体。在一些实施例中,双特异性检查点抗体可以含有本文所概述的ABD之一和竞争与本文所概述的ABD之一结合的第二ABD。在一些实施例中,这两个ABD竞争与本文所概述的相应ABD结合。通常使用Biacore、表面等离子体共振 (SPR) 和/或BLI (生物双层干涉,例如八隅体测定) 来确定结合竞争,其中所述BLI特别用于许多实施例中。

[0497] VII. 有用实施例

[0498] 在一个实施例中,用于本发明的倾斜变体和pI变体的特定组合为T366S/L368A/Y407V:T366W(任选地包含桥接二硫化物、T366S/L368A/Y407V/Y349C:T366W/S354C),其中一个单体包括Q295E/N384D/Q418E/N481D,并且另一个单体包括带正电荷的scFv连接子(当所述格式包含scFv结构域时)。如本领域将了解的,“杵臼结构”变体不改变pI,并且因此可以用在任一单体上。

[0499] VIII. 本发明的核酸

[0500] 本发明进一步提供了对本发明的双特异性抗体进行编码的核酸组合物(或者,在“单特异性”抗体的情况下,也对那些单特异性抗体进行编码的核酸)。

[0501] 如本领域技术人员将了解的,核酸组合物将依赖于异源二聚体蛋白的格式和支架。因此,例如,当格式需要三个氨基酸序列时,如对于除了双scFv格式之外图1所描述的所有格式,三个核酸序列可以并入一个或多个表达载体以进行表达。类似地,仅两个核酸需要

一些格式(例如,双scFv格式,如图1所公开的格式);再次,所述两个核酸被放入到一个或多个表达载体中。

[0502] 如本领域已知的,对本发明的组合物进行编码的核酸可以并入如本领域已知并且取决于用于产生本发明的异源二聚体抗体的宿主细胞的表达载体中。通常,核酸可操作地连接到任何数量的调节元件(启动子、复制起点、可选择标记、核糖体结合位点、诱导剂等)。表达载体可以是染色体外载体或整合载体。

[0503] 本发明的核酸和/或表达载体然后可以转化成如本领域众所周知的任何数量的不同类型的宿主细胞,包含哺乳动物细胞、细菌细胞、酵母细胞、昆虫细胞和/或真菌细胞,其中哺乳动物细胞(例如,CHO细胞)用于许多实施例中。

[0504] 在一些实施例中,如果取决于格式适用的话,对每个单体进行编码的核酸和对轻链进行编码的任选核酸通常在不同或相同的启动子对照条件下各自包含在单个表达载体内。在特别用于本发明的实施例中,这两个或这三个核酸中的每一个包含在不同表达载体上。如本文所示出并且如通过引用特此并入本文的62/025,931所示出的,不同的载体比可以用于驱使异源二聚体形成。也就是说,令人惊讶的是,虽然蛋白质包括比率为1:1:2的第一单体:第二单体:轻链(在本文中具有包括异源二聚体抗体的三个多肽的许多实施例的情况下),但是这些不是给出最佳结果的比率。

[0505] 通过培养包括如本领域众所周知的一个或多个表达载体的宿主细胞来制作本发明的异源二聚体抗体。一旦产生,就执行传统抗体纯化步骤,包含离子交换色谱法步骤。如本文所讨论的,使两个单体的pI相差至少0.5可以允许通过离子交换色谱法或等电聚焦或对等电点敏感的其它方法进行分离。也就是说,包含改变每个单体的等电点(pI)的pI取代使得每个单体具有不同的pI并且异源二聚体也具有不同的pI,从而促进“三重F”异源二聚体等电纯化(例如,阴离子交换柱、阳离子交换柱)。这些取代还有助于确定和监测任何污染的双scFv-Fc和纯化后mAb同源二聚体(例如,IEF凝胶、cIEF和分析型IEX柱)。

[0506] IX. 异源二聚体检查点抗体的生物学和生物化学功能通常,本发明的双特异性检查点抗体被施用给患有癌症的患者,并且以如本文所描述的多种方式对功效进行评估。因此,在可以进行标准功效测定时,如癌症负载、肿瘤大小、对存在或转移程度的评估等,也可以基于免疫状态评估来估计免疫肿瘤学治疗。这可以以多种方式进行,包含体外和体内测定两者。例如,可以进行免疫状态改变评估(例如,ipi治疗之后ICOS+CD4+T细胞的存在)与“老式”测量,如肿瘤负荷、大小、侵袭性、LN参与、转移等。因此,可以评估以下中的任一个或全部:检查点对CD4+T细胞活化或增殖、CD8+T(CTL)细胞活化或增殖、CD8+T细胞介导的细胞毒活性和/或CTL介导的细胞衰竭、NK细胞活性和NK介导的细胞衰竭的抑制作用、检查点对Treg细胞分化和增殖和Treg衍生或髓样衍生遏制细胞(MDSC)介导的免疫遏制或免疫耐受的增强作用、和/或检查点对通过免疫细胞产生的促炎细胞因子的作用,例如通过T细胞或其它免疫细胞产生的IL-2、IFN- γ 或TNF- α 。

[0507] 在一些实施例中,通过使用例如CFSE稀释方法、免疫效应细胞的Ki67细胞内染色和3H-胸腺嘧啶核苷掺入法评估免疫细胞增殖来进行治疗估计。在一些实施例中,通过评估基因表达增加或活化相关标志物的增加的蛋白质水平来进行治疗估计,包含以下中的一个或多个:CD25、CD69、CD137、ICOS、PD1、GITR、OX40、以及通过CD107A的表面表达测量的细胞脱颗粒。

[0508] 通常,如本领域已知的,进行基因表达测定。

[0509] 通常,如本领域已知的,还类似地进行蛋白质表达测量。

[0510] 在一些实施例中,通过评估各种细胞参数如酶活性(包含蛋白酶活性)、细胞膜渗透性、细胞粘附、ATP产生、辅酶产生和核苷酸摄取活性来估计通过靶细胞活力检测测量的细胞毒性进行治疗估计。这些测定的具体实例包含但不限于Trypan Blue或PI染色、⁵¹Cr或³⁵S释放方法、LDH活性、MTT和/或WST测定、钙黄绿素-AM测定、发光基测定以及其它测定。

[0511] 在一些实施例中,通过估计由细胞因子产生测量的T细胞活性、使用包含但不限于IFN γ 、TNF α 、GM-CSF、IL2、IL6、IL4、IL5、IL10、IL13的细胞因子在培养上清液中进行细胞内测量来使用众所周知的技术进行治疗估计。

[0512] 因此,可以使用评估以下中的一种或多种的测定法来评估治疗:(i)免疫应答增加;(ii) $\alpha\beta$ 和/或 $\gamma\delta$ T细胞的活化增加;(iii)细胞毒性T细胞活性增加;(iv)NK和/或NKT细胞活性增加;(v) $\alpha\beta$ 和/或 $\gamma\delta$ T细胞遏制缓解;(vi)促炎细胞因子分泌增加;(vii)IL-2分泌增加;(viii)干扰素- γ 产生增加;(ix)Th1应答增加;(x)Th2应答减少;(xi)调节T细胞(Tregs.和细胞中的至少一种的细胞数目和/或活性减少。

[0513] 用于测量功效的测定

[0514] 在一些实施例中,使用如本领域已知的混合淋巴细胞反应(MLR)测定来估计T细胞活化。活性增加指示免疫刺激活性。下文概述了活性适当增加。

[0515] 在一个实施例中,信号传导途径测定测量增加或减少如例如通过不同因素的磷酸化或去磷酸化测量或通过其它转译后修饰测量的免疫应答。活性增加指示免疫刺激活性。下文概述了活性适当增加。

[0516] 在一个实施例中,信号传导途径测定测量增加或减少如例如通过细胞因子分泌或通过增殖或通过改变活化标志物如例如CD137、CD107a、PD1等的表达测量的 $\alpha\beta$ 和/或 $\gamma\delta$ T细胞的活化。活性增加指示免疫刺激活性。下文概述了活性适当增加。

[0517] 在一个实施例中,信号传导途径测定测量增加或减少如例如通过直接杀伤靶细胞如例如癌细胞或通过细胞因子分泌或通过增殖或通过改变活化标志物如例如CD137、CD107a、PD1等的表达测量的毒性T细胞活性。活性增加指示免疫刺激活性。下文概述了活性适当增加。

[0518] 在一个实施例中,信号传导途径测定测量增加或减少如例如通过直接杀伤靶细胞如例如癌细胞或通过细胞因子分泌或通过改变活化标志物如例如CD107a等的表达测量的NK和/或NKT细胞活性。活性增加指示免疫刺激活性。下文概述了活性适当增加。

[0519] 在一个实施例中,信号传导途径测定测量增加或减少如例如通过细胞因子分泌或通过增殖或通过改变活化标志物如例如CD137、CD107a、PD1等的表达测量的 $\alpha\beta$ 和/或 $\gamma\delta$ T细胞遏制。活性增加指示免疫刺激活性。下文概述了活性适当增加。

[0520] 在一个实施例中,信号传导途径测定测量增加或减少如例如通过ELISA或通过Luminex或通过基于多珠方法或通过胞内染色和FACS分析或通过Alispot等测量的促炎性细胞因子分泌。活性增加指示免疫刺激活性。下文概述了活性适当增加。

[0521] 在一个实施例中,信号传导途径测定测量增加或减少如例如通过ELISA或通过Luminex或通过基于多珠方法或通过胞内染色和FACS分析或通过Alispot等测量的IL-2分泌。活性增加指示免疫刺激活性。下文概述了活性适当增加。

[0522] 在一个实施例中,信号传导途径测定测量增加或减少如例如通过ELISA或通过Luminex或通过基于多珠方法或通过胞内染色和FACS分析或通过Alispot等测量的干扰素- γ 产生。活性增加指示免疫刺激活性。下文概述了活性适当增加。

[0523] 在一个实施例中,信号传导途径测定测量增加或减少如例如通过细胞因子分泌或通过改变活化标志物的表达测量的Th1应答。活性增加指示免疫刺激活性。下文概述了活性适当增加。

[0524] 在一个实施例中,信号传导途径测定测量增加或减少如例如通过细胞因子分泌或通过改变活化标志物的表达测量的Th2应答。活性增加指示免疫刺激活性。下文概述了活性适当增加。

[0525] 在一个实施例中,信号传导途径测定测量增加或减少如例如通过流式细胞术或通过IHC测量的调节T细胞(Tregs)之一的细胞数量和/或活性。应答减少指示免疫刺激活性。下文概述的适当的减少与增加相同。

[0526] 在一个实施例中,信号传导途径测定测量增加或减少如例如通过流式细胞术或通过IHC测量的M2巨噬细胞数量。应答减少指示免疫刺激活性。下文概述的适当的减少与增加相同。

[0527] 在一个实施例中,信号传导途径测定测量增加或减少如例如通过细胞因子分泌或通过改变活化标志物的表达测量的M2巨噬细胞促致癌基因活性。应答减少指示免疫刺激活性。下文概述的适当的减少与增加相同。

[0528] 在一个实施例中,信号传导途径测定测量增加或减少如例如通过流式细胞术或通过IHC测量的N2中性粒细胞增加。应答减少指示免疫刺激活性。下文概述的适当的减少与增加相同。

[0529] 在一个实施例中,信号传导途径测定测量增加或减少如例如通过细胞因子分泌或通过改变活化标志物的表达测量的N2中性粒细胞促致癌基因活性。应答减少指示免疫刺激活性。下文概述的适当的减少与增加相同。

[0530] 在一个实施例中,信号传导途径测定测量增加或减少如例如通过细胞因子分泌或通过增殖或通过改变活化标志物如例如CD137、CD107a、PD1等的表达测量的对T细胞活化的抑制。活性增加指示免疫刺激活性。下文概述了活性适当增加。

[0531] 在一个实施例中,信号传导途径测定测量增加或减少如例如通过直接杀伤靶细胞如例如癌细胞或通过细胞因子分泌或通过增殖或通过改变活化标志物如例如CD137、CD107a、PD1等的表达测量的对CTL活化的抑制。活性增加指示免疫刺激活性。下文概述了活性适当增加。

[0532] 在一个实施例中,信号传导途径测定测量增加或减少如例如通过改变活化标志物的表达测量的 $\alpha\beta$ 和/或 $\gamma\delta$ T细胞耗竭。应答减少指示免疫刺激活性。下文概述的适当的减少与增加相同。

[0533] 在一个实施例中,信号传导途径测定测量增加或减少如例如通过细胞因子分泌或通过增殖或通过改变活化标志物如例如CD137、CD107a、PD1等的表达测量的 $\alpha\beta$ 和/或 $\gamma\delta$ T细胞应答。活性增加指示免疫刺激活性。下文概述了活性适当增加。

[0534] 在一个实施例中,信号传导途径测定测量增加或减少如例如通过细胞因子分泌或通过增殖或通过改变活化标志物如例如CD45RA、CCR7等的表达测量的对抗原特异性记忆应

答的刺激。活性增加指示免疫刺激活性。下文概述了活性适当增加。

[0535] 在一个实施例中,信号传导途径测定测量增加或减少如例如通过细胞毒性测定如例如MTT、Cr释放、钙黄绿素AM或通过基于流式细胞术测定如例如CFSE稀释或碘化丙啶染色等测量的癌细胞的凋亡或裂解。活性增加指示免疫刺激活性。下文概述了活性适当增加。

[0536] 在一个实施例中,信号传导途径测定测量增加或减少如例如通过细胞毒性测定如例如MTT、Cr释放、钙黄绿素AM或通过基于流式细胞术测定如例如CFSE稀释或碘化丙啶染色等测量的对癌细胞的细胞毒性效应或细胞生长抑制效应的刺激。活性增加指示免疫刺激活性。下文概述了活性适当增加。

[0537] 在一个实施例中,信号传导途径测定测量增加或减少如例如通过细胞毒性测定如例如MTT、Cr释放、钙黄绿素AM或通过基于流式细胞术测定如例如CFSE稀释或碘化丙啶染色等测量的对癌细胞的直接杀伤。活性增加指示免疫刺激活性。下文概述了活性适当增加。

[0538] 在一个实施例中,信号传导途径测定测量增加或减少如例如通过细胞因子分泌或通过增殖或通过改变活化标志物的表达测量的Th17活性。活性增加指示免疫刺激活性。下文概述了活性适当增加。

[0539] 在一个实施例中,信号传导途径测定测量增加或减少如例如通过细胞毒性测定如例如MTT、Cr释放、钙黄绿素AM或通过基于流式细胞术测定如例如CFSE稀释或碘化丙啶染色等测量的对补体依赖性细胞毒性和/或抗体依赖性细胞介导的细胞毒性的诱导。活性增加指示免疫刺激活性。下文概述了活性适当增加。

[0540] 在一个实施例中,例如通过直接杀伤靶细胞如例如癌细胞或通过细胞因子分泌或通过增殖或通过改变活化标志物如例如CD137、CD107a、PD1等的表达来测量T细胞活化。对于T细胞,增殖、活化的细胞表面标志物(例如,CD25、CD69、CD137、PD1)、细胞毒性(杀伤靶细胞的能力)、以及细胞因子产生(例如,IL-2、IL-4、IL-6、IFN γ 、TNF- α 、IL-10、IL-17A)的增加将指示将与增强的癌细胞杀伤一致的免疫调节。

[0541] 在一个实施例中,例如通过直接杀伤靶细胞如例如癌细胞或通过细胞因子分泌或通过改变活化标志物如例如CD107a等的表达来测量NK细胞活化。对于NK细胞,增殖、细胞毒性(杀伤靶细胞和增加CD 107a、颗粒酶以及进行表达的能力)、细胞因子产生(例如,IFN γ 和TNF)、以及细胞表面受体表达(例如,CD25)的增加将指示将与增强的癌细胞杀伤一致的免疫调节。

[0542] 在一个实施例中,例如通过细胞因子分泌或通过增殖或通过改变活化标志物的表达来测量 $\gamma \delta$ T细胞活化。

[0543] 在一个实施例中,例如通过细胞因子分泌或通过改变活化标志物的表达来测量Th1细胞活化。

[0544] 活性或应答的适当增加(或减少,如上文所概述的视情况而定)比参考样本或对照样本例如不含有本发明的抗体的测试样本中的信号增加10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或98%到99%。类似地,与参考样本或对照样本相比增加至少一倍、两倍、三倍、四倍或五倍示出了功效。

[0545] X. 治疗

[0546] 一旦制成,在与本发明的双特异性检查点抗体结合的情况下,通过治疗癌症、通常通过抑制对T细胞活化的遏制(例如,T细胞不再遏制),本发明的组合物可以用于许多肿瘤

学应用。

[0547] 因此,本发明的异源二聚体组合物可以用于治疗这些癌症。

[0548] XI. 组合疗法

[0549] 在一些实施例中,当双特异性检查点不包含抗PD-1抗原结合结构域时,双特异性抗体可以与单独的抗PD-1抗体如派姆单抗(Keytruda®)或纳武单抗(Opdivo®)共同施用。如本领域技术人员将了解的,共同施用可以同时或依次进行。

[0550] 也就是说,本文公开的CTLA-4X LAG-3双特异性检查点抗体或如并入来自序列表的抗LAG-3序列和抗CTLA-4序列的那些抗体中的任一个、以及具体地XENP22602、XENP22675、XENP22841或XENP22843可以与抗PD-1抗体共同施用。

[0551] 类似地,本文公开的BTLA X CTLA-4双特异性检查点或如并入来自序列表的抗BTLA序列和抗CTLA-4序列的那些抗体中的任一个可以与抗PD-1抗体共同施用。

[0552] CTLA-4X TIM-3双特异性检查点抗体如并入来自序列表的抗TIM-3序列和抗CTLA-4序列的那些抗体中的任一个可以与抗PD-1抗体共同施用。

[0553] CTLA-4和TIGIT双特异性检查点抗体如并入来自序列表的抗CTLA-4序列和抗TIGIT序列的那些抗体中的任一个可以与抗PD-1抗体共同施用。

[0554] TIM-3和LAG-3双特异性检查点抗体如并入来自序列表的抗TIM-3序列和抗LAG-3序列的那些抗体中的任一个可以与抗PD-1抗体共同施用。

[0555] TIM-3和TIGIT双特异性检查点抗体如并入来自序列表的抗TIM-3序列和抗TIGIT序列的那些抗体中的任一个可以与抗PD-1抗体共同施用。

[0556] TIM-3和BTLA双特异性检查点抗体如并入来自序列表的抗TIM-3序列和抗BTLA序列的那些抗体中的任一个可以与抗PD-1抗体共同施用。

[0557] LAG-3和TIGIT双特异性检查点抗体如并入来自序列表的抗LAG-3序列和抗TIGIT序列的那些抗体中的任一个可以与抗PD-1抗体共同施用。

[0558] LAG-3和BTLA双特异性检查点抗体如并入来自序列表的抗LAG-3序列和抗BTLA序列的那些抗体中的任一个可以与抗PD-1抗体共同施用。

[0559] TIGIT和BTLA双特异性检查点抗体如并入来自序列表的抗TIGIT序列和抗BTLA序列的那些抗体中的任一个可以与抗PD-1抗体共同施用。

[0560] XII. 体内施用的抗体组合物

[0561] 通过将具有期望程度的纯度的抗体与任选的药学上可接受的呈冻干配制品或水性溶液的形式载剂、赋形剂或稳定剂(如《雷明顿药物科学(Remington's Pharmaceutical Sciences)》,第16版,Osol, A. 编辑[1980])中所概述的)进行混合来制备根据本发明使用的抗体的配制品以供储存。可接受的载剂、缓冲剂、赋形剂或稳定剂在所采用的剂量和浓度下对接受者无毒,并且包含缓冲剂如磷酸、柠檬酸和其它有机酸;抗氧化剂,包含抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(如十八烷基二甲基苄基氯化铵;六甲氯铵;苯扎氯铵;苄索氯铵;苯酚、丁醇或苯甲醇;对羟基苯甲酸烷基酯如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯;儿茶酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;以及间甲酚);低分子量(少于约10个残基)的多肽;蛋白质,如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖和其它碳水化合物,包含葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂,如EDTA;糖,如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇;成盐反离子,如钠;金属络合物

(例如, Zn-蛋白络合物); 和/或非离子表面活性剂, 如TWEENTM、PLURONICSTM或聚乙二醇(PEG)。

[0562] 施用方式

[0563] 根据已知方法如作为大丸剂静脉内施用或通过连续注射一段时间将本发明的抗体和化疗剂施用给受试者。

[0564] 治疗方式

[0565] 在本发明的方法中, 用疗法来提供对疾病或病症的阳性治疗应答。“阳性治疗应答”旨在改善疾病或病症和/或改善与疾病或病症相关联的症状。例如, 阳性治疗应答将指对疾病的以下改善中的一种或多种: (1) 减少赘生性细胞的数量; (2) 增加赘生性细胞死亡; (3) 抑制赘生性细胞存活; (5) 抑制(即减慢到某种程度并且优选停止) 肿瘤生长; (6) 增加患者存活率; 以及 (7) 与疾病或病症相关联的一个或多个症状的一些缓解。

[0566] 可以通过对那个疾病或病症具有特异性的标准化应答标准来确定任何给定疾病或病症的阳性治疗应答。可以使用筛选技术如磁共振成像(MRI) 扫描、x-射线成像、计算机断层(CT) 扫描、骨扫描成像、内窥镜检查 and 肿瘤活检取样, 包含骨髓吸出(BMA) 和对循环中的肿瘤细胞计数来估计针对肿瘤形态(即总体肿瘤负荷、肿瘤大小等) 改变的肿瘤应答。

[0567] 除了这些阳性治疗应答之外, 正经受疗法的受试者可能经历与疾病相关联的症状的改善的有益效果。

[0568] 根据本发明的治疗包含所使用的“治疗有效量的”药物。“治疗有效量”是指以剂量计并且持续所需的时间段以实现所希望的治疗结果的有效量。

[0569] 治疗有效量可以根据因素而变化, 如个体的疾病状态、年龄、性别、以及体重、以及药物在个体中引发希望的应答的能力。治疗有效量也指抗体或抗体部分的治疗有益效果超过其任何毒性或有害效果的量。

[0570] 肿瘤疗法的“治疗有效量”还可以通过其稳定疾病的进展的能力测量。可以在预示人类肿瘤的功效的动物模型系统中评估化合物抑制癌症的能力。

[0571] 可替代地, 通过熟练的从业者已知的体外测定, 组合物的这种特性可以通过检验化合物抑制肿瘤生长或诱导凋亡的能力来评估。治疗有效量的治疗化合物能减小肿瘤大小或以其它方式减轻受试者的症状。本领域的普通技术人员将能够基于如受试者的尺寸、受试者症状的严重程度和特定的组合物或所选择的施用途径这种因素确定这种量。

[0572] 调整剂量方案以提供最佳的期望应答(例如, 治疗应答)。例如, 可以施用单个大丸剂, 可以随时间推移施用若干分次剂量, 或者可以按治疗状况的紧急情况所指出的成比例地减少或增加剂量。为了方便施用和剂量的均匀性, 肠胃外组合物可以按剂量单位配制。如本文使用的剂量单位是指作为针对待治疗受试者的单一剂量适合的物理上离散的单位; 每个单位含有与所需药物载体缔合的、经计算产生所希望的治疗效果的预定量的活性化合物。

[0573] 针对本发明的剂量单位形式的规格受制于并直接取决于: (a) 活性化合物的独特特性和待实现的特定治疗效果, 和 (b) 个体敏感性对复合用于治疗 of 此类活性化合物造成的本领域固有限制。

[0574] 用于本发明的双特异性抗体的有效剂量和剂量方案取决于待治疗的疾病或病症并且可以由本领域技术人员确定。

[0575] 用于本发明的双特异性抗体的治疗有效量的示例性非限制性范围为0.1mg/kg到100mg/kg。

[0576] 所有引用的参考文献通过引用以其全部内容明确地并入本文。

[0577] 尽管出于说明的目的已经在上文描述了本发明的具体实施例,但是本领域技术人员将了解的是,在不脱离如所附权利要求所描述的本发明的情况下可以做出许多细节变化。

[0578] 实例

[0579] 下文提供的实例旨在说明本发明。这些实例并非意在将本发明约束到任何具体应用或操作理论。对于本发明所讨论的所有恒定区位置,编号是根据如Kabat的EU索引的(Kabat等人,1991,《免疫学上感兴趣的蛋白质序列(Sequences of Proteins of Immunological Interest)》,第5版,美国公共卫生署(United States Public Health Service),国立卫生研究院(National Institute of Health),贝塞斯达(Bethesda),马里兰州,其通过引用以其全部内容并入本文)。抗体领域的技术人员将了解,这种转化由免疫球蛋白序列的特异性区域的无序编号组成,从而使能够标准化参考免疫球蛋白家族的保守位置。因此,如由EU索引限定的任何给定免疫球蛋白的位置将不一定对应于其顺序序列。

[0580] 美国公开2015/0307629、2014/0288275和W02014/145806中概述了通用和特定科学技术,所有所述公开通过引用以其全部内容明确地并入并且特别用于在此概述的技术。

[0581] A. 实例1:来自多种癌症类型的TIL共同表达免疫检查点受体[514] 为了研究PD-1、CTLA-4、LAG-3与BTLA之间的潜在关联性,来自癌症基因组图谱(TCGA)的RNA测序数据用于分析。从FireBrowse(<http://firebrowse.org/>)下载V2 RSEM数据。使用R与定制程序一起进行分析。图65中描述了PD-1与CTLA-4表达之间的相关性与所计算的R²值(Pearson相关系数的平方)。图65进一步示出了PD-1和LAG-3表达、PD-1和BTLA表达与LAG-3和CTLA-4表达之间的相关性。

[0582] 图44示出在包含膀胱癌、乳腺癌、结肠癌、前列腺癌、黑素瘤癌、卵巢癌和肺癌的癌症中共同表达的PD-1和CTLA-4,示出在包含膀胱癌、乳腺癌、结肠癌、头颈癌、肾癌、肺腺癌、肺鳞癌、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、黑素瘤癌的癌症中共同表达的组PD-1和CTLA-4、PD-1和LAG-3、PD-1和BTLA、以及LAG-3和CTLA-4。

[0583] B. 实例2:双特异性免疫检查点抗体优于单特异性免疫检查点抗体

[0584] 产生原型免疫检查点抗体(例如,纳武单抗和伊匹单抗)和基于原型抗体的双特异性免疫检查点抗体以证明双检查点阻断的效应。除非另有说明,否则本文中的双特异性首先使用Fab变体可变区命名,并且其次使用scFv可变区命名。序列表中列出了原型抗体的氨基酸序列。对重链和轻链进行编码的DNA通过基因合成(Blue Heron Biotechnology,博塞尔,华盛顿州)生成、使用标准分子生物技术亚克隆成含有二价或双特异性恒定区的表达载体pTT5、并且在HEK293E细胞中瞬时转染。通过蛋白A层析(以及针对双特异性抗体的阳离子交换色谱法)纯化抗体。通过尺寸排阻色谱法、阴离子交换色谱法和毛细管等电聚焦来估计纯度。

[0585] 1. 双特异性免疫检查点抗体选择性地占据双阳性细胞

[0586] 选择性地靶向相对于表达单个免疫检查点受体的非肿瘤反应性T细胞的表达多个免疫检查点受体的(如实例1中所示出的)肿瘤反应性TIL将增强抗肿瘤活性,同时避免周围

毒性(如图42所描绘的)。

[0587] SEB刺激的PBMC测定用于研究双特异性免疫检查点抗体与T细胞的结合。SEB刺激的PBMC测定是用于测定T辅助 (TH) 细胞增殖和用于生成细胞毒性T淋巴细胞 (CTL) 群的体外方法。当用葡萄球菌肠毒素B (SEB) 刺激PBMC时, TH细胞群扩增, 随后CTL群扩增。用100ng/mL SEB刺激PBMC 3天, 然后在4°C下用原型抗LAG-3x抗PD-1双特异性抗体和阴性对照物 (Numax 二价) 处理30分钟。处理之后, 在4°C下用APC标记的单臂抗LAG-3抗体、FITC标记的单臂抗PD-1抗体和BV605标记的抗CD3抗体孵育细胞30分钟。图67中描绘了CD3⁺T的散点图。数据示出, 抗LAG-3x抗PD-1双特异性选择性地占据表达PD-1和LAG-3两者的双阳性细胞, 这表明双特异性免疫检查点抗体选择性地靶向表达多个检查点受体的T细胞。

[0588] 2. 抗CTLA-4x抗PD-1双特异性增强混合淋巴细胞反应中的IL-2应答

[0589] 在混合淋巴细胞反应 (也被称为混合白血球反应或MLR) 中测试原型免疫检查点抗体XENP16432 (纳武单抗) 和XENP16433 (伊匹单抗)、基于纳武单抗和伊匹单抗的双特异性免疫检查点抗体XENP16004、以及单臂 (双特异性、单价) 组合对照物。MLR是用于测定T辅助 (TH) 细胞增殖和用于生成细胞毒性T淋巴细胞 (CTL) 群的另一种体外方法。当同种异体 (不同的MHC单倍型) 淋巴细胞一起培养时, TH细胞群扩增, 随后CTL群扩增。白介素-2 (IL-2) 分泌用于监测T细胞活化。

[0590] 使用Ficoll-PaqueTM Plus密度梯度从不同的匿名健康志愿者 (HemaCare, VanNuys, 加利福尼亚州) 的白细胞除去法中纯化不同组的人PBMC。将来自两个供体的PBMC混合并且然后使用20pg/mL的所示测试品对其进行处理。收集上清液, 并且使用IL-2ELISA测量IL-2的浓度, 并且所示出的数据描绘了一些抗CTLA-4Fab筛选的结果。这描绘了Fab和scFv实施例的XENP编码、vh和vl工程化结构域的名称、通过八隅体测量的人和食蟹猴CTLA-4的KD结合常数、以及scFv和Fab的T_m。另外, 与至少一个人VH或VL种系精确匹配的多个序列9聚体被描绘成Fab和scFv的可变区的人源性的量度。

[0591] 图25. 对于每栏, 每个数据点是与不同的供体-供体组合的单独反应。

[0592] 数据示出, 与单独的纳武单抗和伊匹单抗相比, 原型抗PD-1x抗CTLA-4双特异性抗体更大程度上增强了IL-2应答。值得注意的是, 单臂组合 (单独添加每个双特异性单价臂) 不如抗PD-1x抗CTLA-4双特异性, 这表明双特异性与双阳性PD-1+CTLA-4+细胞的更亲和结合, 这与图67中描绘的针对抗LAG-3x抗PD-1双特异性抗体的发现一致。

[0593] 3. 附加双特异性免疫检查点抗体增强混合淋巴细胞反应中的IL-2应答

[0594] 在如上文所描述的MLR测定中测试针对附加免疫检查点受体的附加原型免疫检查点抗体和双特异性免疫检查点抗体。创建了两组MLR, 其中20个供体靶向1个受体供体, 并且另一组20个供体靶向另一1个受体供体, 总计40个MLR反应。用20μg/mL的所示测试品孵育反应6天。图33中示出了描绘与用抗PD-1二价抗体 (XENP 16432) 处理相比, 用所示测试品处理后IL-2和IFN γ 的倍数增加 (如通过ELISA所测定的) 数据。数据示出附加双特异性免疫检查点抗体也优于单独活化T细胞的纳武单抗。

[0595] 4. 三重免疫检查点阻断-抗PD-1二价和抗LAG-3x抗CTLA-4双特异性抗体在增强SEB刺激的PBMC测定中的IL-2应答方面是协同的

[0596] 假设三重免疫检查点阻断如图43所描绘的抗PD-1二价和抗LAG-3x抗CTLA-4双特异性将在增强T细胞活化方面提供额外益处。为了测试假设, 在SEB刺激的PBMC测定中测试

原型免疫检查点抗体XENP16432(纳武单抗)、基于25F7和伊匹单抗的原型双特异性抗LAG-3x抗CTLA-4免疫检查点抗体XENP16430、以及XENP16432和XENP16430的组合。

[0597] 用具有20pg/mL的所示测试品的10ng/ml的SEB刺激来自多个供体的人PBMC 72小时。处理之后,通过ELISA来测定细胞上清液的IL-2。图33中的数据示出IL-2相对于Numax二价抗体的倍数增加。每个点指示以技术单线态表示的供体。

[0598] 数据示出抗LAG-3x抗CTLA-4双特异性检查点抗体(XENP 16430)单独增强相对于对照物(Numax二价)的IL-2应答,尽管增强低于单独的纳武单抗(XENP 16432)。然而,与纳武单抗组合的抗CTLA-4x抗LAG-3双特异性导致IL-2应答比单独的任一者显著更高。

[0599] 5. 检查点受体/配体相互作用的阻断对T细胞活化是必需的

[0600] 使用八隅体、基于生物双层干涉(BLI)的方法来筛选原型抗BTLA抗体4A7、E8D9和8D5阻断BTLA与其配体HVEM相互作用的能力。八隅体的实验步骤通常包含以下:固定(将配体或测试品捕获到生物传感器上);关联(将配体或测试品涂覆的生物传感器浸渍到含有相应测试品或配体的连续稀释液的孔中);以及离解(将生物传感器返回到含有缓冲剂的孔中)以确定测试品的单价亲和力。仅含有缓冲剂的参考孔也包含在用于在数据处理期间进行背景校正的方法中。孵育500nM的每种抗BTLA抗体和100nM的BTLA-Fc超过一个小时。Anti-Penta-HIS(HIS 1K)生物传感器用于捕获HVEM-Fc-His并且然后浸渍到抗体/BTLA混合物中以测量残留BTLA/HVEM结合。如图36B所描绘的,8D5不阻断BTLA/HVEM相互作用,而4A7和E8D9阻断BTLA/HVEM相互作用。

[0601] 在SEB刺激的PBMC测定中测试原型抗BTLA抗体和基于原型抗体的具有抗BTLA Fab臂的抗BTLA x抗PD-1双特异性抗体。具体地,用具有20pg/mL的所示测试品的20ng/mL的SEB刺激人PBMC 72小时。处理之后,通过ELISA来测定细胞上清液的IL-2。图36A中的数据示出IL-2相对于Numax二价抗体的倍数增加(每个点表示以单线态测试的单独PBMC供体)。数据示出双特异性抗体,其中不阻断8D5抗BTLA Fab臂诱导的IL-2显著少于纳武单抗,这指示阻断BTLA/HVEM相互作用对增强T细胞活化是必需的。

[0602] 6. 双特异性免疫检查点抗体增强人PBMC移植的NSG小鼠中的移植和疾病活性

[0603] 在对NSG(NOD-SCID- γ)免疫缺陷小鼠进行的移植抗宿主病(GVHD)模型中评估双特异性检查点抗体。当用人PBMC注射NSG小鼠时,人PBMC产生针对小鼠细胞的自身免疫应答。用人PBMC注射NSG小鼠、随后用免疫检查点抑制剂进行治疗抑制了移植的T细胞并且增强了移植。

[0604] 1千万人PBMC在第0天通过IV-OSP移植到NSG小鼠中,随后在第1天用所示测试品(5mg/kg或如所指示的)给药。在第14天测量到CD45+事件(图35)。虽然可以直接测量GVHD,但是增加的CD45+细胞水平与减少的体重相关(描绘了通过以下来增强IL-2释放的混合淋巴细胞反应:单独的纳武单抗(抗PD-1单克隆抗体,作为Opdivo®销售)、单独的伊匹单抗(抗CTLA-4单克隆抗体,作为Yervoy®销售)、基于纳武单抗和伊匹单抗臂的原型抗CTLA-4x抗PD-1双特异性抗体、以及“单臂”组合对照物。

[0605] 并且预言疾病。

[0606] 数据示出,本发明的双特异性检查点抗体增强CD45+细胞在相对于对照物(PBS+PBMC)的人PBMC移植的NSG小鼠中增殖。进一步地,此增强大于单独利用纳武单抗(XENP

16432)所看到的增强。此外,与纳武单抗组合的抗CTLA-4x抗LAG-3双特异性(XENP 16430)产生与实例2D中的数据一致的最高移植水平。

[0607] C.实例3:杂交瘤

[0608] 1.杂交瘤产生

[0609] 为了产生针对本发明的双特异性免疫检查点抗体的PD-1、LAG-3和BTLA靶向臂,首先通过ImmunoPrecise、通过其标准方法或快速灌注方法由杂交瘤技术产生单克隆抗体。

[0610] 对于标准方法,一种或多种抗原被注入到3BALB/c小鼠中。在处死用于杂交瘤产生之前的7天到10天,免疫的小鼠接收抗原加强免疫。通过ELISA评估针对抗原的抗体滴度,并且选择最好应答的小鼠进行融合。融合前4天给出最终抗原加强免疫。集中、纯化来自小鼠的淋巴细胞,然后与SP2/0骨髓瘤细胞融合。使融合的细胞在HAT选择性单步式克隆培养基上生成10天到12天,在此时间点,准备筛选杂交瘤。

[0611] 对于快速灌注方法,一种或多种抗原被注入到3BALB/c小鼠中。19天后,集中、纯化来自所有小鼠的淋巴细胞,然后与SP2/0骨髓瘤细胞融合。使融合的细胞在HAT选择性单步式克隆培养基上生成10天到12天,在此时间点,准备筛选杂交瘤。

[0612] 对于抗PD-1杂交瘤的产生,使用了标准方法和快速灌注方法,并且所使用的一种或多种抗原是人PD-1的小鼠Fc融合(huPD-1-mFc)、食蟹猴PD-1的小鼠Fc融合(cynoPD-1-mFc)、His标记的人PD-1(huPD-1-His)、His标记的食蟹猴PD-1(cynoPD-1-His)或其混合物。

[0613] 对于抗BTLA杂交瘤的产生,使用了标准方法和快速灌注方法,并且所使用的抗原是人BTLA的小鼠Fc融合(huBTLA-mFc)、食蟹猴BTLA的小鼠Fc融合(cynoBTLA-mFc)、His标记的人BTLA(huBTLA-His)或huBTLA-mFc和cynoBTLA-mFc的混合物。

[0614] 对于抗LAG-3杂交瘤的产生,使用了快速灌注方法,并且所使用的抗原是人LAG-3的小鼠Fc融合(huLAG-3-mFc)、食蟹猴LAG-3的小鼠Fc融合(cynoLAG-3-mFc)、His标记的人LAG-3(huLAG-3-His)、huLAG-3-mFc和cynoLAG-3-mFc的混合物或huLAG-3-His和cynoLAG-3-His的混合物。

[0615] 对于抗TIM-3杂交瘤的产生,使用了标准方法和快速灌注方法,并且所使用的一种或多种抗原是人TIM-3的小鼠Fc融合(huTIM-3-mFc)、食蟹猴TIM-3的小鼠Fc融合(cynoTIM-3-mFc)、His标记的人TIM-3(huTIM-3-His)、His标记的食蟹猴TIM-3(cynoTIM-3-His)或其混合物。

[0616] 2.筛选抗PD-1杂交瘤克隆

[0617] 使用八隅体使如上文所描述的产生的抗PD-1杂交瘤克隆经受两轮筛选。对于第一轮,在浸渍到500nM的二价人和食蟹猴PD-1-Fc-His的情况下,抗小鼠Fc(AMC)生物传感器用于捕获克隆。对于第二轮,在第一轮中鉴定的对人和食蟹猴PD-1两者呈阳性的克隆被捕获到AMC生物传感器上并且浸渍到500nM单价人和食蟹猴PD-1-His中。

[0618] 示例性抗PD-1抗体的序列在序列表中。

[0619] 3.筛选抗BTLA杂交瘤克隆

[0620] 使用八隅体使如上文所描述的产生的抗BTLA杂交瘤克隆经受两轮筛选。对于第一轮,在浸渍到多种浓度的人和食蟹猴BTLA-His的情况下,AMC生物传感器用于捕获克隆以确定KD。对于第二轮,阻断测定用于鉴定阻断BTLA/HVEM相互作用的克隆。Anti-Penta-HIS(HISIK)生物传感器用于捕获HVEM-Fc-His并且单独浸渍到杂交瘤样本的25nM BTLA-Fc或

25nM BTLA-F+1:1稀释液中以测量残留BTLA/HVEM结合。示例性抗BTLA抗体的序列在序列表中。

[0621] 4. 筛选抗LAG-3杂交瘤克隆

[0622] 使如上文所描述的产生的抗LAG-3杂交瘤克隆经受若干轮筛选以鉴定具有高亲和力的克隆,所述克隆阻断LAG-3与同源性地表达MHC-II的Ramos细胞结合并且结合与25F7 mAb不同的表位。

[0623] 使用八隅体确定亲和力。在浸渍到单浓度的人LAG-3-Fc和食蟹猴LAG-3-Fc的情况下,AMC生物传感器用于捕获克隆。为了鉴定阻断LAG-3/MHC-II相互作用的克隆,将10 μ L中的1 μ g人LAG-3-hIg与50 μ L杂交瘤上清液(在RPMI培养基中用10% FBS进行2倍稀释8次)在室温下混合20分钟。

[0624] 加入40 μ L Daudi或Ramos细胞(所述细胞内源地表达MHC-II)并在4 $^{\circ}$ C下孵育30分钟。然后洗涤细胞并用抗人-Fc-Alexa647第二抗体孵育30分钟。然后洗涤细胞并针对Alexa647通过FACS进行分析。图62中描绘了数据。为了鉴定结合与25F7 mAb不同的表位的克隆,在浸渍到具有500nM 25F7的100nM人LAG-3-hFc或100nM LAG-3-hFc的情况下,AMC生物传感器用于捕获克隆以测量残留结合。示例性抗LAG-3抗体的序列在序列表中。

[0625] 5. 筛选抗TIM-3杂交瘤克隆

[0626] 使如上文所描述的产生的抗TIM-3杂交瘤克隆经受两轮筛选。第一轮被分成筛选IgG样本和IgM克隆。对于IgG克隆,AMC生物传感器用于捕获克隆并且浸渍到多种浓度的人和食蟹猴TIM-3-His中。对于IgM克隆,使用AR2G将抗IgM mAb偶联到生物传感器中,所述生物传感器被浸渍到多种浓度的人和食蟹猴TIM-3-His中。IgM样本都不产生比基线高的结合信号。第一轮筛选之后,用二价版本的二价人和食蟹猴TIM-3-Fc重新筛选结合人和食蟹猴TIM-3两者的IgG克隆。示例性抗TIM-3抗体的序列在序列表中。

[0627] 在SEB刺激的PBMC测定中,嵌合并估计细胞结合的若干克隆。用100ng/mL SEB刺激人PBMC 3天。刺激之后,在4 $^{\circ}$ C下用所示测试品处理细胞30分钟。用抗人Fc第二抗体检测CD3⁺细胞上的结合,并且图21中描绘了所述结合。

[0628] 6. 衍生自杂交瘤的组分抗体结构域阻断检查点受体/配体相互作用

[0629] 如实例2E中所描述的,检查点受体/配体相互作用的阻断对T细胞活化是必需的。使用细胞结合测定或如图表中所描绘的八隅体研究包括衍生自杂交瘤的结构域的示例性抗体的阻断能力示出本文中提供的主题抗体的组分抗体结构域能够阻断检查点受体/配体相互作用。具体地说,包括1G6抗PD-1scFv臂的双特异性抗体能够阻断PD-1/PD-L1相互作用和PD-1/PD-L2相互作用;7G8抗LAG-3单臂能够阻断LAG-3/MHC II相互作用;包括示例性抗PD-1Fab臂的双特异性抗体能够阻断CTLA-4/CD80相互作用和CTLA-4/CD86相互作用;并且包括9C6抗BTLA Fab臂的双特异性抗体能够阻断BTLA/HVEM相互作用。

[0630] 图68.

[0631] 用XENP20717孵育外源地表达PD-1的HEK293T防止通过PD-L1和PD-L2以剂量依赖性方式与PD-1结合。用XENP22606孵育LAG-3防止其与内源地表达MHC-II的Daudi细胞结合。用XENP20066孵育CTLA-4防止与CD80和CD86残留结合。用XENP20895孵育BTLA防止与HVEM残留结合。

[0632] D. 实例4:亲和力和稳定性优化

[0633] 1. 抗PD-1mAb 1G6和2E9

[0634] 在用于双特异性免疫检查点抑制剂的scFv或Fab的背景下,在实例3中产生的抗PD-1杂交瘤克隆1G6和2E9被工程化为具有最佳亲和力和稳定性。首先使用字串内容优化(参见例如于2010年2月2日发布的美国专利号7,657,380)使克隆人源化。对重链和轻链进行编码的DNA通过基因合成(Blue Heron Biotechnology,博塞尔,华盛顿州)生成,并且使用标准分子生物技术亚克隆成表达载体pTT5。scFv的C-末端包含多组氨酸标签。Fv变体的文库通过

[0635] 标准诱变(QuikChange、Stratagene、Cedar Creek、Tx.)以全长二价、Fab-His和/或scFv-His格式构建。通过标准蛋白质A层析法纯化二价mAb,并且通过Ni-NTA层析法纯化scFv-His。序列表中列出了本发明的示例性1G6和2E9二价抗体、Fab和scFv的序列(尽管已经移除针对Fab和scFv的多组氨酸标签)。在初始筛选之后,组合由所关注的变体构成,并且这些组合被表达、纯化、并且重新检查其亲和力和稳定性。

[0636] 使用八隅体进行二价抗体的亲和力筛选。抗人Fc (AHC) 生物传感器用于捕获测试品并且浸渍在多种浓度的PD-1-His中以进行KD确定。使用差示扫描荧光测定法(DSF)来评估scFv-His的稳定性。使用Bio-Rad CFX连接实时PCR检测系统来进行DSF实验。将蛋白质与SYPRO Orange荧光染料混合并且稀释到PBS中0.2mg/mL中。SYPRO Orange的最终浓度为10X。在25°C下初始10分钟孵育时间段之后,使用1°C/分钟的升温速率将蛋白质从25°C加热到95°C。每30秒进行荧光测量。使用仪器软件计算熔融温度(T_m)。图23中示出了亲和力和稳定性结果。

[0637] 2. 抗CTLA-4mAb

[0638] 抗CTLA-4抗体的亲本可变区被工程化为用作各种双特异性的组分。采取两种方法来尝试鉴定具有改进特性的变体:(1)通过QuikChange (Stratagene、Cedar Creek、Tx.)进行单个、两个和三个氨基酸取代;(2)通过DNA合成和亚克隆构建具有与替代性人种系交换的框架的再移植序列(IGHV3-7、IGHV3-13、IGHV3-21、IGHV3-64、IGKV3D-20、IGKV3-15)。设计、表达并纯化变体Fab和scFv。使用八隅体测量针对Fab的人和食蟹猴CTLA-4的亲和力。AHC生物传感器用于捕获人或食蟹猴CTLA-4的Fc融合并且浸渍到多种浓度的Fab测试品中以进行KD确定。使用DSF测量Fab和scFv两者的热稳定性。此外,与至少一个人VH或VL种系精确匹配的多个序列9聚体被计数成Fab和scFv的可变区的人源性的量度(参见例如于2010年2月2日发布的美国专利号7,657,380)。在初始筛选之后,组合由所关注的变体构成,并且这些组合被表达、纯化、并且重新检查其亲和力和稳定性。结果总结在图24中。若干变体拥有与亲本可变区的热稳定性相比增加的热稳定性,同时保持人和食蟹猴CTLA-4两者类似的亲和力。此外,鉴定针对若干变体的如由多个人种系匹配序列9聚体所测量的序列人源性增加。优选变体包含:H0.25_L0、H0.26_L0、H0.27_L0、H0.29_L0、H0.38_L0、H0.39_L0、H0.40_L0、H0.70_L0、H0_L0.22、H2_L0、H3_L0、H3_L0.22、H3_L0.67、H3_L0.74、H3_L0.44、H3.4_L0.118、H3.4_L0.119、H3.4_L0.120、H3.4_L0.121、H3.4_L0.122、H3.4_L0.123、H3.4_L0.124、H3.4_L0.125、H3.4_L0.126、H3.4_L0.127、H3.4_L0.128、H3.4_L0.129、H3.4_L0.130、H3.4_L0.131、H3.4_L0.132、H3.5_L2.1、H3.5_L2.2、H3.5_L2.3、H3.21_L0.124、H3.21_L0.129、H3.21_L0.132、H3.23_L0.124、H3.23_L0.129、H3.23_L0.132、H3.25_L0.124、H3.25_L0.129和H3.25_L0.132。

[0639] 3. 抗BTLA mAb 9C6

[0640] 在实例3中产生的抗BTLA杂交瘤克隆9C6被人源化和工程化为具有如由上文实例4A中总体上描述的呈二价抗体格式的最佳亲和力和稳定性。序列表中列出了本发明的示例性抗BTLA二价抗体的序列。

[0641] 使用八隅体进行变体二价抗体的亲和力筛选。AHC生物传感器用于捕获测试品并且浸渍到具有多种浓度的BTLA-His的孔中以进行KD确定(A和B中示出抗BTLA x抗PD-1嵌合双特异性提高从SEB刺激的PBMC分泌的IFN γ 。通过所示测试品用10ng/mL SEB刺激PBMC 3天。收集细胞上清液并通过MSD来测定所述细胞上清液中的所示分析物。A:20 μ g/mL测试品; B:5 μ g/mL测试品。

[0642] 图52)。

[0643] 4. 抗LAG-3mAb 7G8和2A11

[0644] 在用于双特异性免疫检查点抑制剂的Fab的背景下,如上文实例4A中总体上描述的,在实例3中产生的抗LAG-3杂交瘤克隆7G8和2A11被人源化和工程化为具有最佳亲和力和稳定性。序列表中列出了本发明的示例性抗LAG-3二价抗体和Fab的序列。

[0645] 如上文实例4A中总体上描述的,确定变体抗LAG-3Fab的亲和力和稳定性。AMC生物传感器用于捕获人LAG-3的小鼠Fc融合并且浸渍到含有多种浓度的测试品的孔中以确定KD。图53中示出了2A11变体的结果,并且图54中示出了7G8变体的结果。

[0646] 进一步筛选示例性变体2A11和7G8抗LAG-3二价抗体阻断LAG-3与内源性表达MHC-II的Daudi细胞结合的能力。将1 μ g的LAG-3-mFc与所示浓度的mAb在室温下混合30分钟。然后添加Daudi细胞并在4°C下孵育30分钟。用抗鼠-Fc第二抗体检测LAG-3-mFc结合。图63中描绘了数据。

[0647] 5. 抗TIM-3mAb

[0648] 实例3中产生的抗TIM-3杂交瘤克隆被人源化和工程化为具有如上文实例4A中总体上描述的呈二价抗体格式的最佳亲和力和稳定性。序列表中列出了本发明的示例性抗TIM-3二价抗体的序列。

[0649] 使用八隅体进行变体二价抗体的亲和力筛选。AHC生物传感器用于捕获测试品并且浸渍到具有多种浓度的TIM-3-His的孔中以进行KD确定(如图22所示出的)。

[0650] 在SEB刺激的PBMC测定中,还测试了T细胞结合的优化变体。用100ng/mL SEB刺激人PBMC 72小时。刺激之后,用所示测试品处理细胞。用抗人Fc第二抗体检测CD3⁺细胞上的3H3 H1L2.1 (XENP21189) 结合,并且图21中描绘了所述结合。用抗人IgG-APC第二抗体检测CD3⁺细胞上的7B11HJ1L1.1 (XENP21196) 的结合,并且图21中描绘了所述结合。

[0651] 6. 变体抗LAG-3x抗CTLA-4Fab-scFv双特异性抗体的亲和力筛选

[0652] 使用如上文总体上描述的八隅体来筛选实例4D中描述的包括衍生自优化的抗LAG-3二价抗体的抗LAG-3Fab的双特异性抗体和实例4B中描述的示例性抗CTLA-4scFv的亲和力。具体地,AMC或HIS IK生物传感器用于捕获人LAG-3的小鼠Fc融合或人LAG-3的His-Avi标记的TEV-Fc融合并且浸渍到含有测试品的孔中以确定KD。结果示于图55中。

[0653] 7. 变体抗LAG-3x抗PD-1Fab-scFv双特异性抗体的亲和力筛选

[0654] 使用如上文总体上描述的八隅体来筛选实例4D中描述的包括衍生自优化的抗LAG-3二价抗体的抗LAG-3Fab的双特异性抗体和实例4A中描述的示例性抗PD-1scFv的亲

力。具体地,AMC或HIS1K生物传感器用于捕获人LAG-3的小鼠Fc融合或人LAG-3的His-Avi标记的TEV-Fc融合并且浸渍到含有测试品的孔中以确定KD。结果示于图62中。

[0655] E.实例5:在体外估计具有亲和力和稳定性优化臂的双特异性免疫检查点抗体

[0656] 1.抗PD-1x抗CTLA-4双特异性抗体

[0657] a.双特异性抗PD-1x抗CTLA-4双特异性抗体阻断PD-1与PD-L1和PD-L2相互作用

[0658] 在4°C下用XENP20717 (抗PD-1x抗CTLA-4) 和单臂抗PD-1和抗CTLA-4对照物 (对应地XENP20111和XENP20059) 孵育表达PD-1的HEK293T细胞30分钟。

[0659] 孵育之后,添加PD-L1-mFc或PD-L2-mFc并且允许在4°C下进一步孵育30分钟。用抗鼠IgG第二抗体检测PD-L1-mFc和PD-L2-mFc。

[0660] 图45示出XENP20717能够阻断PD-1与配体PD-L1和PD-L2以剂量依赖性方式结合。XENP20111还能够阻断PD-1与配体PD-L1和PD-L2结合,而XENP20559不阻断PD-1与其配体结合。

[0661] b.T细胞与CD3⁺细胞上双特异性抗CTLA-4x抗PD-1双特异性抗体结合

[0662] 用500ng/mL SEB刺激人PBMC 3天,在培养基中洗涤两次,并且然后用500ng/mL SEB重新刺激额外24小时。然后在4°C下用XENP20717 (抗CTLA-4x抗PD-1) 处理PBMC 30分钟。处理之后,洗涤并在具有抗CD3-FITC (UCHT1) mAb的CD3⁺细胞上用抗人Fc- (Fab片段特异性) -APC第二抗体 (Jackson Labs) 孵育PBMC。然后将PBMC洗涤两次并通过流式细胞术进行分析。图45描绘了7个独特PBMC供体的平均MFI并且示出XENP20717在CD3⁺T细胞上的结合,并且那种结合是以剂量依赖性方式进行的。

[0663] c.估计T细胞活化上的变体抗CTLA-4x抗PD-1双特异性抗体

[0664] 在MLR测定中测试具有变体抗CTLA-4Fab臂的抗CTLA-4x抗PD-1双特异性抗体。用69.5nM的二价抗体 (例如,纳武单抗) 或139nM的双特异性抗体 (例如,XENP16004) 处理混合的PBMC以得到等摩尔PD-1结合浓度。所描绘的数据描绘了一些抗CTLA-4Fab筛选的结果。这描绘了Fab和scFv实施例的XENP编码、vh和vl工程化结构域的名称、通过八隅体测量的人和食蟹猴CTLA-4的KD结合常数、以及scFv和Fab的T_m。另外,与至少一个人VH或VL种系精确匹配的多个序列9聚体被描绘成Fab和scFv的可变区的人源性的量度。

[0665] 图25示出许多双特异性抗体使IL-2诱导能够优于单独的纳武单抗。

[0666] 在SEB刺激的PBMC测定中,用500ng/mL SEB处理PBMC 2天。然后洗涤细胞并用20pg/mL的XENP16432 (纳武单抗) 或XENP20717和500ng/mL SEB进行处理。测定上清液的作为T细胞活化的指示剂的IL-2。图69中描绘的数据示出抗CTLA-4x抗PD-1双特异性诱导IL-2释放比单独的纳武单抗更显著。

[0667] 在另一个研究中,在SEB刺激的PBMC测定中测试XENP 16432、XENP20717和单臂组合对照物。用500ng/mL SEB刺激PBMC 2天。然后用PBS洗涤细胞一次,并且然后添加具有20pg/mL的所示测试品和500ng/mL SEB的培养基。24小时后收集上清液并测定IL-2。在没有SEB刺激的对照物实验中,在测定IL-2上清液之前,用所示测试品处理PBMC 3天。图45A到图45C中描绘了IL-2浓度的倍数变化。如图45B所示出的,与纳武单抗相比,XENP20717更显著地增强IL-2分泌。数据示出,XENP20717比单独的抗PD-1二价以及单臂抗PD-1和单臂抗CTLA-4的组合两者更有效地活化T细胞,这表明选择性活化表达多个免疫检查点受体的T细胞的优点。值得注意的并且与实例2B中所描述的发现一致的是,双特异性XENP20717与衍生

自XENP20717的单臂抗体的组合相比在更大程度上增强IL-2分泌。

[0668] 在SEB刺激的PBMC测定中测试靶向具有抗CTLA-4scFv臂和变体2E9抗PD-1Fab臂的CTLA-4和PD-1和对照测试品的附加双特异性抗体。用100ng/mL SEB刺激人PBMC 2天。洗涤细胞并用100ng/mL SEB与20pg/mL所示测试品组合进行重新刺激。处理后24小时,测定上清液的IL-2和IFN γ (图19A和图19B中分别描绘的)。

[0669] 2. 在体外估计抗LAG-3x抗PD-1双特异性检查点抗体

[0670] a. 估计T细胞活化上的变体抗LAG-3x抗PD-1双特异性抗体

[0671] 在SEB刺激的PBMC测定中,用500ng/mL SEB处理PBMC 2天。然后洗涤细胞并用20pg/mL的XENP16432(纳武单抗)或XENP22604和500ng/mL SEB进行处理。测定上清液的作为T细胞活化的指示剂的IL-2(图69中所描绘的)。

[0672] 在SEB刺激的PBMC测定中,还估计了具有(衍生自如实例4所描述的产生的变体mAb的)优化的2A11抗LAG-3Fab臂的附加抗LAG-3x抗PD-1双特异性抗体的T细胞活化。用500ng/mL的SEB刺激来自多个供体的人PBMC 2天。然后将细胞在培养基中洗涤两次并将500ng/mL SEB与10pg/mL所示测试品组合进行刺激。处理24小时之后,测定细胞上清液的IL-2和IFN γ 。图64中的数据示出IL-2和IFN γ 相对于Numax二价抗体的倍数增加。每个点指示以技术单线态表示的供体。

[0673] 数据示出,许多抗LAG-3x抗PD-1双特异性抗体比单独的纳武单抗或单独的抗LAG-3二价更有效地活化T细胞。

[0674] 3. 在体外估计抗BTLA x抗PD-1双特异性检查点抗体

[0675] a. T细胞与CD3⁺细胞上双特异性抗BTLA x抗PD-1双特异性抗体结合

[0676] 估计具有(衍生自如实例4所描述的产生的变体mAb的)优化的抗BTLA Fab臂的抗BTLA x抗PD-1双特异性抗体在T细胞上的结合。用100ng/mL SEB刺激人PBMC 3天,在此之后,在4°C下用所示测试品处理PBMC 30分钟。然后在4°C下用抗人Fc第二抗体孵育PBMC 30分钟。图47示出了所示测试品在CD3⁺细胞上的结合。

[0677] 数据示出,本发明的抗PD-1x抗BTLA双特异性检查点抗体(例如,XENP20895、XENP21220和XENP21221)与单臂对照物(例如,XENP21446和XENP16011)相比更亲和地结合T细胞。这表明人T细胞通常与双特异性抗体更好地结合,每个臂单价地结合不同抗原,而不是单价单特异性抗体,如单臂对照物。

[0678] b. 估计T细胞活化上的变体抗BTLA x抗PD-1双特异性抗体

[0679] 在SEB刺激的PBMC测定中,估计具有原型抗BTLA(例如,4C7、8D5和E8D9)和9C6 Fab臂的抗BTLA x抗PD-1双特异性抗体的T细胞活化。用具有5pg/mL或20pg/mL的如所指示的测试品的10ng/mL的SEB刺激来自多个供体的人PBMC 72小时。处理之后,如图50和图51中分别描绘的,通过ELISA测定细胞上清液的IL-2和IFN γ 。数据示出,包括9C6杂交瘤衍生的臂的双特异性抗体不仅比单独的抗PD-1二价抗体而且比具有原型抗BTLA Fab臂的双特异性抗体更强地增强T细胞活化。

[0680] 在SEB刺激的PBMC测定中估计示例性抗BTLA x抗PD-1XENP21220和XENP16432(纳武单抗)。用500ng/mL SEB处理PBMC 2天。然后洗涤细胞并用20pg/mL的XENP 16432或XENP21220和500ng/mL SEB进行处理。测定上清液的作为T细胞活化的指示剂的IL-2(图71中所描绘的)。

[0681] 如上文所描述的,在SEB刺激的PBMC测定中估计具有变体9C6抗BTLA Fab臂和单臂变体9C6抗体(单独和与单臂抗PD-1抗体组合)的附加抗BTLA x抗PD-1双特异性抗体的T细胞活化。图52A和图52B中的数据示出IL-2和IFN γ 分泌相对于用PBS进行的治疗的倍数增加。

[0682] 4. 在体外估计抗LAG-3x抗CTLA-4双特异性检查点抗体

[0683] a. T细胞与CD3⁺细胞上双特异性抗BTLA x抗PD-1双特异性抗体结合

[0684] 估计具有变体抗LAG-3Fab臂和单臂变体抗LAG-3抗体的抗LAG-3x抗CTLA-4双特异性抗体在T细胞上的结合。用100ng/mL SEB刺激人PBMC 3天,在此之后,在4°C下用所示测试品处理PBMC 30分钟。处理之后,在4°C下用抗CD3-FITC和抗人Fc-APC抗体孵育PBMC 30分钟。然后将PBMC洗涤两次并通过流式细胞术进行分析。图56示出了所示测试品在CD3⁺T细胞上的结合。

[0685] 数据示出,本发明的许多抗LAG-3x抗CTLA-4双特异性检查点抗体(例如,XENP22505和XENP21896)与单臂对照物(例如,XENP22516)相比更亲和地结合T细胞。这表明人T细胞可以与双特异性抗体更好地结合,每个臂单价地结合不同抗原,而不是单价单特异性抗体,如单臂对照物。

[0686] b. 通过抗LAG-3x抗CTLA-4双特异性抗体进行T细胞活化

[0687] 在MLR和SEB刺激的PBMC测定中估计抗LAG-3x抗CTLA-4双特异性抗体的T细胞活化。

[0688] 在存在20pg/mL所示测试品的情况下进行40个MLR反应,并且在处理后6天测定细胞上清液的IL-2和IFN γ 。图59描绘了IL-2和IFN γ 相对于抗RSV二价抗体(XENP 15074)的倍数诱导。

[0689] 在SEB刺激的PBMC测定中,用500ng/mL SEB处理PBMC 2天。然后洗涤细胞并用20pg/mL的XENP16432(纳武单抗)、XENP22602或XENP16432和XENP22602的组合和500ng/mL SEB进行处理。测定上清液的作为T细胞活化的指示剂的IL-2(图69中所描绘的)。

[0690] 在另一个SEB刺激的PBMC测定中,估计了附加抗LAG-3x抗CTLA-4双特异性抗体。用500ng/mL的SEB刺激来自多个供体的人PBMC 2天。然后将细胞在培养基中洗涤两次并将500ng/mL SEB与20pg/mL所示测试品组合进行刺激。处理24小时之后,测定细胞上清液的IL-2和IFN γ 。图57和图58和图60中的数据示出IL-2和IFN γ 相对于Numax二价抗体的倍数增加。每个点指示以技术单线态表示的供体。

[0691] 与实例2D一致的数据示出抗PD-1二价抗体与抗LAG-3x抗CTLA-4双特异性抗体的组合对T细胞活化施加协同作用。进一步地,数据示出基于7G8的抗LAG-3x抗CTLA-4双特异性抗体比基于2A11的抗LAG-3x抗CTLA-4双特异性抗体对PBMC具有更多选择功能。

[0692] F. 实例6:在体内估计双特异性免疫检查点抗体

[0693] 1. 抗CTLA-4x抗PD-1双特异性抗体增强人PBMC移植的NSG小鼠中的移植和疾病活性

[0694] 在若干GVHD研究中,本发明的示例性抗CTLA-4x抗PD-1双特异性抗体被示出为增强人PBMC移植的NSG小鼠中的移植和疾病活性。

[0695] 在第一个研究中,在第0天通过IV-OSP将1千万人PBMC移植到NSG小鼠中。在第1天,对小鼠给药XENP 16432(2.89mg/kg)、XENP20053(2mg/kg)以及XENP16432和XENP16433的组

合 (2.89+2.92mg/kg)。在第14天测量CD45+细胞计数(图72中所描绘的)。

[0696] 估计具有变体抗CTLA-4Fab和抗PD-1scFv臂的附加抗CTLA-4x抗PD-1双特异性抗体。1千万人PBMC在第0天通过IV-OSP移植到NSG小鼠中,随后在第1天用所示测试品(5mg/kg或如所指示的)给药。在第14天测量CD45+细胞计数。IFN γ 水平还被测量为GVHD的附加指示剂并且针对CD45+细胞水平绘制(描绘了通过以下来增强IL-2释放的混合淋巴细胞反应:具有变体抗CTLA-4Fab臂和变体抗PD-1scFv臂的抗CTLA-4x抗PD-1双特异性抗体、以及单独的纳武单抗、单独的伊匹单抗以及基于纳武单抗和伊匹单抗的原型抗CTLA-4x抗PD-1双特异性抗体作为对照物)。

[0697] 图27和图30)。

[0698] 数据示出,本发明的抗PD-1x抗CTLA-4双特异性检查点抗体增强CD45+细胞在相对于对照物(PBS+PBMC)的人PBMC移植的NSG小鼠中增殖。进一步地,此增强大于单独利用纳武单抗(XENP16432)所看到的增强。图31示出测试品对研究160314(图26中所呈现的)与160331(图29中所呈现的)之间的CD45+细胞增殖的影响的比较。这两个研究一致地表明抗PD-1x抗CTLA-4双特异性检查点抗体优于单独的纳武单抗。

[0699] 在另一个研究中,估计了具有Xtend Fc的抗CTLA-4x抗PD-1双特异性抗体。对PBMC移植的小鼠给药所示浓度下的所示测试品,并且在第14天测量CD45+、CD4+和CD8+事件(图20中所描绘的)。

[0700] 2. 抗CTLA-4x抗PD-1双特异性抗体增强人PBMC移植的NSG小鼠中的移植和疾病活性

[0701] 在第一个研究中,在第0天通过IV-OSP将1千万人PBMC移植到NSG小鼠中。在第1天,对小鼠给药XENP16432(2.89mg/kg)和XENP20895(5mg/kg)。在第14天测量CD45+细胞计数(图73中所描绘的)。

[0702] 在第二个GVHD研究中估计抗CTLA-4x抗PD-1双特异性XENP20895。1千万人PBMC在第0天通过IV-OSP移植到NSG小鼠中,随后在第1天用所示测试品(在所示浓度下)给药。在第10天、第14天和第22天测量CD45+细胞计数和IFN γ (对应地图51中所描绘的)。

[0703] 3. 抗LAG-3x抗PD-1双特异性抗体增强人PBMC移植的NSG小鼠中的移植和疾病活性

[0704] 在GVHD中,在第0天通过IV-OSP将1千万人PBMC移植到NSG小鼠中。在第1天,对小鼠给药XENP16432(2.89mg/kg)和XENP22672(5mg/kg)。在第14天测量CD45+细胞计数(图75中所描绘的)。

[0705] 在实例6A中所描述的第二研究中,还估计了另一个示例性抗LAG-3x抗PD-1(XENP22847)(图20C)。

[0706] 4. 抗LAG-3x抗CTLA-4双特异性抗体增强人PBMC移植的NSG小鼠中的移植和疾病活性

[0707] 在GVHD中,在第0天通过IV-OSP将1千万人PBMC移植到NSG小鼠中。在第1天,对小鼠给药XENP16432(2.89mg/kg)、XENP22675(5mg/kg)以及XENP16432和XENP22675的组合(5+5mg/kg)。在第14天测量CD45+细胞计数(图74中所描绘的)。

[0708] 数据示出XENP22675与单独给药纳武单抗相比增强了移植和疾病活性。值得注意的是,XENP22675与纳武单抗组合协同作用以进一步增强移植。

[0709] G. 实例7: 抗PD-1x抗CTLA-4双特异性抗体在移植有KG1 A-1uc癌细胞和人PBMC的NSG小鼠中具有抗肿瘤活性

[0710] NOD SCID γ (NSG) 小鼠在第0天移植有KG1A-luc癌细胞。在第21天,将人PBMC移植到小鼠腹膜内。在PBMC移植之后,通过腹膜内注射每周给药所示测试品(对照小鼠给药PBS)。通过测量每个小鼠的总通量来使用体内成像系统(**IVIS®** Lumina III)监测肿瘤生长,并且图71中示出了数据(第1次给药后的天数)。

[0711] XIII. 引用参考

[0712] 来自USSN 62/420,500的来自权利要求组A1到A30的“抗CTLA-4”、权利要求组B1到B30的“抗PD-1”、权利要求组C1到C28的“抗LAG-3”、权利要求组D1到D28的“抗TIM-3”、权利要求组E1到E28的“抗TIGIT”、权利要求组F1到F28的“抗BTLA”、权利要求组Y1到Y5的“主链加Fv”、以及权利要求组X1到X16的“特异性分子”的权利要求组通过引用以其全部内容明确地并入。

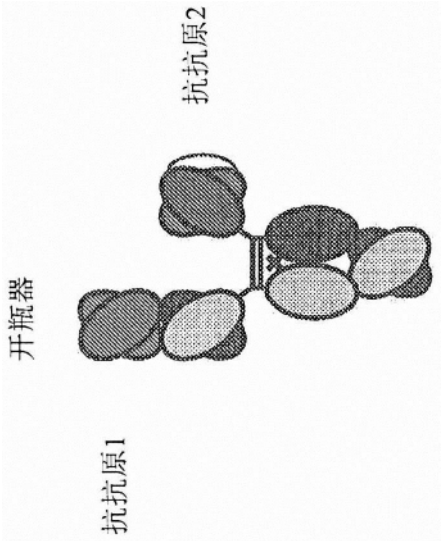


图1A

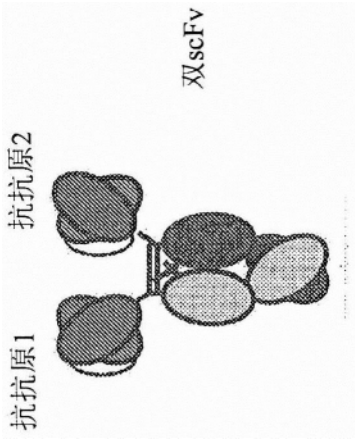


图1B

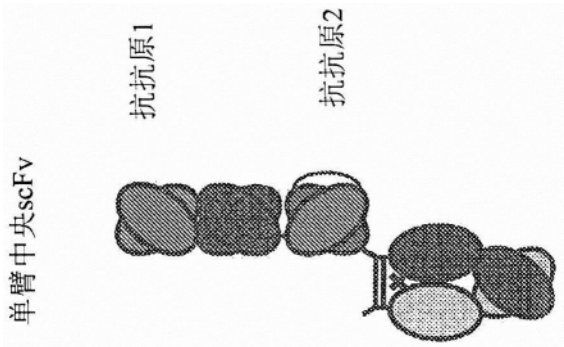


图1C

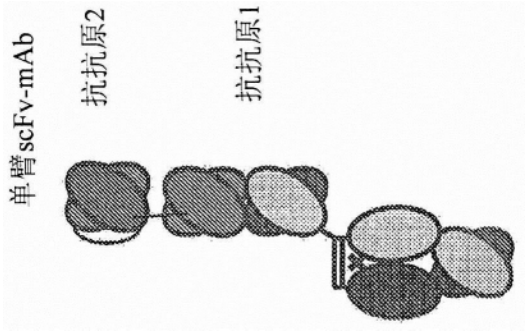


图1D

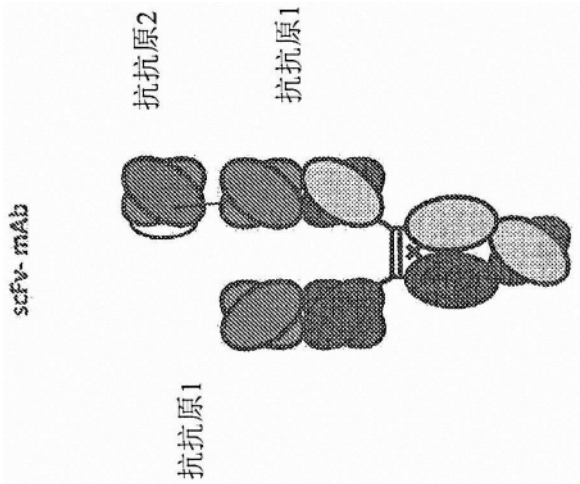


图1E

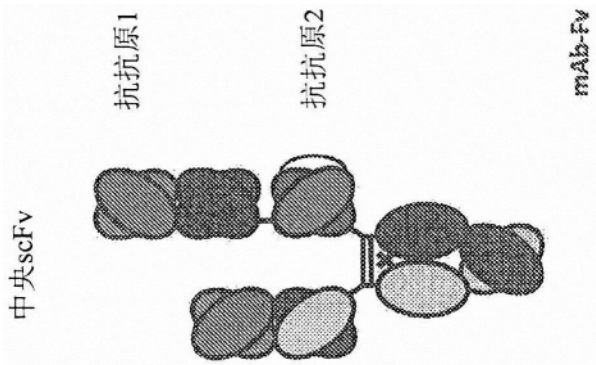


图1F

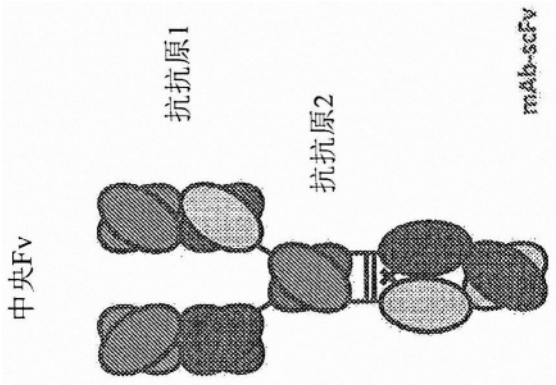


图1G

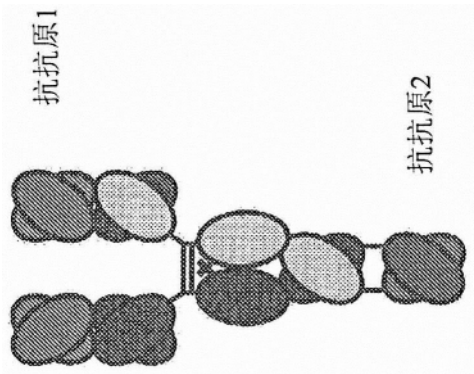


图1H

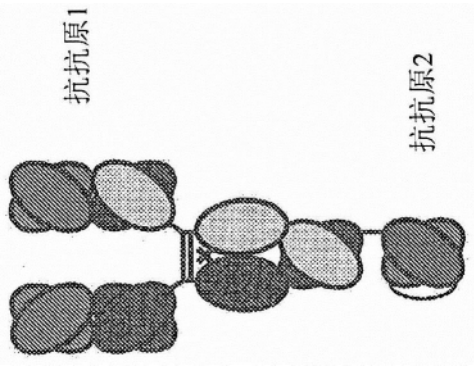


图1I

抗原序列

人PD-1序列

```
>sp|Q15116 SEQ ID NO: 1
MQIPQAPWPVVWAVLQLGWRPGWFLDSPDRPWNPTFSPALLVVTEDGNATFTCSFSNTSESFVLNWYRMSPSNQTDKLAAPFEDR
SQPGQDCRFRVTQLPNGRDFHMSVVRARRNDSTYLCGAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQTLVVG
VVGGLLGSLLVVLVWVLAVICSRRAAGTIGARRTGQPLKEDPSAVPVFSVDYGELDFQWREKTPPEPPVPCVPEQTEYATIVFPSGMG
TSSPARRGSAAGPRSAQPLRPEDGHCSWPL
```

人PD-1序列, 胞外域

```
>sp|Q15116|21-170 SEQ ID NO: 2
PGWFLDSPDRPWNPTFSPALLVVTEDGNATFTCSFSNTSESFVLNWYRMSPSNQTDKLAAPFEDRSQPGQDCRFRVTQLPNGRDF
HMSVVRARRNDSTYLCGAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQTLV
```

食蟹猴PD-1序列

```
>tr|B0LAJ3 SEQ ID NO: 3
MQIPQAPWPVVWAVLQLGWRPGWFLESPDRPWNPTFSPALLVVTEDGNATFTCSFSNASESFVLNWYRMSPSNQTDKLAAPFEDR
SQPGQDCRFRVTQLPNGRDFHMSVVRARRNDSTYLCGAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQALVVG
VVGGLLGSLLVVLVWVLAVICSRRAAGTIEARRTGQPLKEDPSAVPVFSVDYGELDFQWREKTPPEPPAPCVPEQTEYATIVFPGLG
TSSPARRGSAAGPRSPRLRPEDGHCSWPL
```

食蟹猴PD-1序列, 胞外域 (预测)

```
>tr|B0LAJ3|21-170 SEQ ID NO: 4
PGWFLESPDRPWNPTFSPALLVVTEDGNATFTCSFSNASESFVLNWYRMSPSNQTDKLAAPFEDRSQPGQDCRFRVTQLPNGRDF
HMSVVRARRNDSTYLCGAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQALV
```

人CTLA-4序列

```
>sp|P16410 SEQ ID NO: 5
MACLGFRHKAQLNLATRTWPCTLLFFLLFIPVFCAMHVAQPAVVLASSRGIA SFVCEYASPGKATEVRVTVLRQADSQVTEVCA
ATYMMGNETLFLDDSICTGTSSGNQVNLTIQGLRAMDTGLYICKVELMYPPPYLGIGNGTQIYVIDPEPCPDSDFLWILAAVSS
GLFFYSFLLTAVSLSKMLKKRSPLTTGVYVKMPPEPECEKQFPYFIPIN
```

人CTLA-4序列, 胞外域

```
>sp|P16410|36-161 SEQ ID NO: 6
KAMHVAQPAVVLASSRGIA SFVCEYASPGKATEVRVTVLRQADSQVTEVCAATYMMGNETLFLDDSICTGTSSGNQVNLTIQGLRA
MDTGLYICKVELMYPPPYLGIGNGTQIYVIDPEPCPDSD
```

图2A

食蟹猴CTLA-4序列

```
>tr|G7PL88 SEQ ID NO: 7  
MACLGFRQHKARLNLATRTPYTLLFSLLFIPVFSKAMHVAQPAVVLANSRGIASFVCEYASPGKATEVRVTVLRQADSQVTEVCA  
ATYMMGNELTFLDDSICTGTSSGNQVNLTIQGLRAMDTGLYICKVELMYPPPYMGIGNGTQIYVIDPEPCPDSDFLLWILAAVSS  
GLFFYSFLLTAVSLSKMLKKRSPLTTGVYVKMPPEPECEKQFQPYFIPIN
```

食蟹猴CTLA-4序列，胞外域（预测）

```
>tr|G7PL88 SEQ ID NO: 8  
KAMHVAQPAVVLANSRGIASFVCEYASPGKATEVRVTVLRQADSQVTEVCAATYMMGNELTFLDDSICTGTSSGNQVNLTIQGLRA  
MDTGLYICKVELMYPPPYMGIGNGTQIYVIDPEPCPDS
```

人LAG-3序列

```
>sp|P18627 SEQ ID NO: 9  
MWEAQFLGLLFLQPLWVAPVKPLQPGAEPVWVWAEQAGAPALPCSPPTIPLQDLSLLRRAGVTWQHQPDSGPPAAAPGHPLAPGPH  
AAPSSWGPRPRRYTVLSVGPGLRSGRLPLQPRVQLDERGRQGRGDFSLWLRPARRADAGEYRAAVHLRDRALSCRLRLRLGQASMT  
ASPPGSLRASDWVILNCSFSRDRPASVHWFNRGQGRVPVRESPPHHLAESFLFLPQVSPMDSGPWGCILTYRDGFNVSIMYNLT  
VLGLEPPTPLTVYAGAGSRVGLPCRLPAGVGTRSFRTAKWTPPGGGPDLLVTGDNGDFTLRLEDVSSQAQAGTYTCHIRLQEQQLNA  
TVTLAIITVTPKSFGSPGSLGKLLCEVTPVSGQERFVWSSLDTPSQRFSFGPWLEAQEAQLLSQPWQCQLYQGERLLGAAYYFTEL  
SSPGAQRSGRAPGALPAGHLFLILGVLSLLLVLTGAFGFHLWRRQWRPRRFSALEQGIHPPQAQSKIEELEQEPEPEPEPEPEPE  
EPEPEPEQL
```

人LAG-3序列，胞外域

```
>sp|P18627|29-450 SEQ ID NO: 10  
VPVWVWAEQAGAPALPCSPPTIPLQDLSLLRRAGVTWQHQPDSGPPAAAPGHPLAPGPHAAPSSWGPRPRRYTVLSVGPGLRSGRL  
PLQPRVQLDERGRQGRGDFSLWLRPARRADAGEYRAAVHLRDRALSCRLRLRLGQASMTASPPGSLRASDWVILNCSFSRDRPASV  
HWFNRGQGRVPVRESPPHHLAESFLFLPQVSPMDSGPWGCILTYRDGFNVSIMYNLTVLGLEPPTPLTVYAGAGSRVGLPCRLPA  
GVGTRSFRTAKWTPPGGGPDLLVTGDNGDFTLRLEDVSSQAQAGTYTCHIRLQEQQLNATVTLAIITVTPKSFGSPGSLGKLLCEVT  
PVSGQERFVWSSLDTPSQRFSFGPWLEAQEAQLLSQPWQCQLYQGERLLGAAYYFTELSPPGAQRSGRAPGALPAGHL
```

食蟹猴LAG-3序列（预测）

```
>gi|544467815|ref|XP_005570011.1 SEQ ID NO: 11  
MWEAQFLGLLFLQPLWVAPVKPPQGAESVWVWAEQAGAPALPCSPPTIPLQDLSLLRRAGVTWQHQPDSGPPAXAPGHPPVPGHRP  
AAPSSWGPRPRRYTVLSVGPGLRSGRLPLQPRVQLDERGRQGRGDFSLWLRPARRADAGEYRATVHLRDRALSCRLRLRVGQASMT  
ASPPGSLRTSDWVILNCSFSRDRPASVHWFNRGQGRVPVQGSPPHHLAESFLFLPHVGPMDSGLWGCILTYRDGFNVSIMYNLT  
VLGLEPATPLTVYAGAGSRVGLPCRLPPAVGTQSFLTAKWAPPGGGPDLLVAGDNGDFTLRLEDVSSQAQAGTYTCHIRLQEQQLNA  
TVTLAIITVTPKSFGSPGSLGKLLCEVTPASGQEHFVWSSPLNTPSQRFSFGPWLEAQEAQLLSQPWQCQLYQGERLLGAAYYFTEL  
SSPGAQRSGRAPGALRAGHLPLFLILGVLFLLLVLTGAFGFHLWRRQWRPRRFSALEQGIHPPQAQSKIEELEQEPEPEPEPELER  
ELGPEPEPGPEPEPEQL
```

图2B

食蟹猴LAG-3序列，胞外域（预测）

```
>gi|544467815|ref|XP_005570011.1|29-450 SEQ ID NO: 12
ISVVWAQEGAPQLPCSTPIFLQDLSSLRRAGVTWQHQPDSGPPAXAPGHPPVPGHRPAAPYSWGPRPRRYTVLSVGPGLRSGRL
PLQPRVQLDERGRQRGDFSLWLRPARRADAGEYRATVHLRDRALSCRLRLRVGQASMTASPPGSLRTSDWVILNCSFSRPDRPASV
HWFERSRGGQGRVFPVQGSPPHHHLAESFLFLPHVGPMDSGLWGCILTYRDGFNVSIMYNLTVLGLEPATPLTVYAGAGSRVELPCRLLP
AVGTQSFALTAKWAPPGGGPDLLVAGDNGDFTLRLEDVSSQAQAGTYICHIRLQGGQLNATVTLAIITVTPKSFGSPGSLGKLLCEVT
PASGQEHFVWSPLNTPSQRSFSGPWLEAQEAQLLSQPWQCQLHQGERLLGAAYVFTLSSPGAQRSGRAPGALRAGHL
```

人BTLA序列

```
>sp|Q7Z6A9 SEQ ID NO: 13
MKTLPAMLGTLGFLFWVFFLIPLYLDIWNHKGESCDVQLYIKRQSEHSILAGDPFELECPVKYCANRPHVTWCKLNGTTCVKLEDRQ
TSWKEEKNISFFILHFEFVLPNDNGSYRCSANFQSNLIESHSTTLYVTDVKSASERPSKDEMASRPWLLYRLLPLGGPLPLITTCF
CLFCCLRHRRHQKQNELSDTAGREINLVD AHLKSEQTEASTRQNSQVLLSETGIYDNDPDLCFRMQEGSEVYSNPCLEENKPGIVYA
SLNHSVIGPNSRLARNVKEAPTEYASICVRS
```

人BTLA序列，胞外域

```
>sp|Q7Z6A9|31-157 SEQ ID NO: 14
KESCDVQLYIKRQSEHSILAGDPFELECPVKYCANRPHVTWCKLNGTTCVKLEDRQTSWKEEKNISFFILHFEFVLPNDNGSYRCS
ANFQSNLIESHSTTLYVTDVKSASERPSKDEMASRPWLLYR
```

食蟹猴BTLA序列（预测）

```
>gi|355746406|gb|EHH51020.1 SEQ ID NO: 15
MKTLPAMLGSGRLFWVFFLIPLYLDIWNHKGESCDVQLYIKRQSYHSIFAGDRFKLECPVKYCAHRPQVTWCKLNGTTCVKLEGRH
TSWKQEKNSLFFILHFEFVLPNDNGSYRCSANFLSAIIESHSTTLYVTDVKSASERPSKDEMASRPWLLYSLLPLGGPLPLITTCF
CLFCCLRHRRHQKQNELSDTTRREITLVDPVFPKSEQTEASTRQNSQVLLSETGIYDNEPDLFCFRMQEGSEVYSNPCLEENKPGIYA
SLNHSIIGLNARQARNVKEAPTEYASICVRS
```

食蟹猴BTLA序列，胞外域（预测）

```
>gi|355746406|gb|EHH51020.1|31-157 SEQ ID NO: 16
KESCDVQLYIKRQSYHSIFAGDRFKLECPVKYCAHRPQVTWCKLNGTTCVKLEGRHTSWKQEKNSLFFILHFEFVLPNDNGSYRCS
ANFLSAIIESHSTTLYVTDVKSASERPSKDEMASRPWLLYS
```

人TIM-3序列

```
>sp|Q8TDQ0 SEQ ID NO: 17
MFSHLFFDCVLLLLLLLLLRSSEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWKGACPVFE CGNVVLR TDERDVNYWTSRYWLN
GDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNKLVIKPAKVTPAPTRQRDFTAAPRMLTTRGHGPAETQTLGSLPDIN
LTQISTLANELRDSRLANDLRDSGATIRIGIYIGAGICAGLALALIFGALIFKWYSHSKEKIQNLSLISLANLPPSGLANAVAEGI
RSEENIYTIENNVYVEEPNEYCYVSSRQQPSQPLGCRFAM
```

图2C

人TIM-3序列，胞外域

```
>sp|Q8TDQ0|22-202 SEQ ID NO: 18  
SEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFECCGNVLRDTERDVNYWTSRYWLNQDFRKGDVSLTIENVTLADSGI  
YCCRIQIPGIMNDEKFNKLVIKPAKVTAPTRQRDFTAAFPRLTTRGHGPAETQTLGSLPDINLTQISTLANEIRDSRLANDLR  
DSGATIRIG
```

食蟹猴TIM-3序列（预测）

```
>gi|355750365|gb|EHH54703.1 SEQ ID NO: 19  
MFSHLPFDCVLLLLLLLLLRSSEVEYIAEVGQNAYLPCSYTPAPPGNLVPVCWGKGACPVFDCSNVLRDNRDVNDRTSGRYWLK  
GDFHKGDVSLTIENVTLADSGVYCCRIQIPGIMNDEKHNKLVVVIKPAKVTAPTLQRDLTSAFPRMLTTGEHGAETQTPGSLPD  
VNLTVSNFFCELQIFTLTNELRDSGATIRTAIYIAAGISAGLALALIFGALIFKWYSHSKEKTQNLISLISLANIPPSGLANAVAEG  
IRSEENIYTTIEEDVYEVEEPNEYCYVSSGQQPSQPLGCRVAMP
```

食蟹猴TIM-3序列，胞外域（预测）

```
>gi|355750365|gb|EHH54703.1|22-203 SEQ ID NO: 20  
SEVEYIAEVGQNAYLPCSYTPAPPGNLVPVCWGKGACPVFDCSNVLRDNRDVNDRTSGRYWLKGDVSLTIENVTLADSG  
VYCCRIQIPGIMNDEKHNKLVVVIKPAKVTAPTLQRDLTSAFPRMLTTGEHGAETQTPGSLPDVNLTVSNFFCELQIFTLTNEL  
RDSGATIRTA
```

图2D

II. 倾斜变体

单体1	单体2
F405A	T394F
S364D	Y349K
S364E	L368K
S364E	Y349K
S364F	K370G
S364H	Y349K
S364H	Y349T
S364Y	K370G
T411K	K370E
V397S/F405A	T394F
K370R/T411K	K370E/T411E
L351E/S364D	Y349K/L351K
L351E/S364E	Y349K/L351K
L351E/T366D	L351K/T366K
P395T/V397S/F405A	T394F
S364D/K370G	S364Y/K370R
S364D/T394F	Y349K/F405A
S364E/F405A	Y349K/T394F
S364E/F405S	Y349K/T394Y
S364E/T411E	Y349K/D401K
S364H/D401K	Y349T/T411E
S364H/F405A	Y349T/T394F
S364H/T394F	Y349T/F405A
Y349C/S364E	Y349K/S354C
L351E/S364D/F405A	Y349K/L351K/T394F
L351K/S364H/D401K	Y349T/L351E/T411E
S364E/T411E/F405A	Y349K/T394F/D401K
S364H/D401K/F405A	Y349T/T394F/T411E
S364H/F405A/T411E	Y349T/T394F/D401K

图3A

单体1	单体2
K370E/T411D	T411K
L368E/K409E	L368K
Y349T/T394F/S354C	S364H/F405A/Y349C
T411E	D401K
T411E	D401R/T411R
Q347E/K360E	Q347R
L368E	S364K
L368E/K370S	S364K
L368E/K370T	S364K
L368E/D401R	S364K
L368E/D401N	S364K
L368E	E357S/S364K
L368E	S364K/K409E
L368E	S364K/K409V
L368D	S364K
L368D/K370S	S364K
L368D/K370S	S364K/E357L
L368D/K370S	S364K/E357Q
T411E/K360E/Q362E	D401K
K370S	S364K
L368E/K370S	S364K/E357Q
K370S	S364K/E357Q
T411E/K360D	D401K
T411E/K360E	D401K
T411E/Q362E	D401K
T411E/N390D	D401K
T411E	D401K/Q347K
T411E	D401K/Q347R
T411E/K360D/Q362E	D401K

图3B

单体1	单体2
K392D/K409D	E356K/D399K
K370D/K392D/K409D	E356K/E357K/D399K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_	Q196K/I199T/N276K
N384S/K392N/V397M/Q419E	N276K
D221E/P228E/L368E	D221R/P228R/K409R
C220E/P228E/L368E	C220R/E224R/P228R/K409R
F405L	K409R
T366I/K392M/T394W	F405A/Y407V
T366V/K409F	L351Y/Y407A
T366A/K392E/K409F/T411E	D399R/S400R/Y407A
L351K	L351E
I199T/N203D/K247Q/R355Q/Q419E/K447_	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/Q419E/K447_	Q196K/I199T/N276K
I199T N203D K274Q R355Q N384S K392N V397M Q419E DEL447	
N208D Q295E N384D Q418E N421D	
N208D Q295E Q418E N421D	
Q196K I199T P217R P228R N276K	
Q196K I199T N276K	
E269Q E272Q E283Q E357Q	
E269Q E272Q E283Q	
E269Q E272Q	
E269Q E283Q	
E272Q E283Q	
E269Q	

图3C

单体1	单体2
T411E/K360E/N390D	D401K
T411E/Q362E/N390D	D401K
T411E/Q347R	D401K/K360D
T411E/Q347R	D401K/K360E
T411E/K360	D401K/Q347K
T411E/K360D	D401K/Q347R
T411E/K360E	D401K/Q347K
T411E/K360E	D401K/Q347R
T411E/S364K	D401K/K370S
T411E/K370S	D401K/S364K
Q347E	E357Q
Q347E	E357Q/Q362K
K360D/Q362E	Q347R
K360D/Q362E	D401K
K360D/Q362E	Q347R/D401K
K360E/Q362E	Q347R
K360E/Q362E	D401K
K360E/Q362E	Q347R/D401K
Q362E/N390D	D401K
Q347E/K360D	D401N
K360D	Q347R/N390K
K360D	N390K/D401N
K360E	Y349H
K370S/Q347E	S364K
K370S/E357L	S364K
K370S/E357Q	S364K
K370S/Q347E/E357L	S364K
K370S/Q347E/E357Q	S364K

图3D

单体1	单体2
L368D/K370S/Q347E	S364K
L368D/K370S/E357L	S364K
L368D/K370S/E357Q	S364K
L368D/K370S/Q347E/E357L	S364K
L368D/K370S/Q347E/E357Q	S364K
L368E/K370S/Q347E	S364K
L368E/K370S/E357L	S364K
L368E/K370S/E357Q	S364K
L368E/K370S/Q347E/E357L	S364K
L368E/K370S/Q347E/E357Q	S364K
L368D/K370T/Q347E	S364K
L368D/K370T/E357L	S364K
L368D/K370T/E357Q	S364K
L368D/K370T/Q347E/E357L	S364K
L368D/K370T/Q347E/E357Q	S364K
L368E/K370T/Q347E	S364K
L368E/K370T/E357L	S364K
L368E/K370T/E357Q	S364K
L368E/K370T/Q347E/E357L	S364K
L368E/K370T/Q347E/E357Q	S364K
T411E/Q362E	D401K/T411K
T411E/N390D	D401K/T411K
T411E/Q362E	D401R/T411R
T411E/N390D	D401R/T411R
Y407T	T366Y
F405A	T394W
T366Y/F405A	T394W/Y407T
Y407A	T366W
T366S/L368A/Y407V	T366W

图3E

单体1	单体2
T366S/L368A/Y407V/Y349C	T366W/S354C
K392D/K409D	E356K/D399K
K370D/K392D/K409D	E356K/E357K/D399K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_	Q196K/I199T/N276K
N384S/K392N/V397M/Q419E	N276K
D221E/P228E/L368E	D221R/P228R/K409R
C220E/P228E/L368E	C220R/E224R/P228R/K409R
F405L	K409R
T366I/K392M/T394W	F405A/Y407V
T366V/K409F	L351Y/Y407A
T366A/K392E/K409F/T411E	D399R/S400R/Y407A
L351K	L351E
I199T/N203D/K247Q/R355Q/Q419E/K447_	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/Q419E/K447_	Q196K/I199T/N276K
I199T N203D K274Q R355Q N384S K392N V397M Q419E DEL447	
N208D Q295E N384D Q418E N421D	
Q295E N384D Q418E N421D	
N208D Q295E Q418E N421D	
Q295E Q418E N421D	
Q196K I199T P217R P228R N276K	
Q196K I199T N276K	
E269Q E272Q E283Q E357Q	
E269Q E272Q E283Q	
E269Q E272Q	
E269Q E283Q	
E272Q E283Q	
E269Q	

图3F

III. pI变体

变体恒定区取代

pI_ISO(-)	I199T N203D K274Q R355Q N384S K392N V397M Q419E DEL447
pI_(-)_同配_A	N208D Q295E N384D Q418E N421D
pI_(-)_同配_A-仅Fc	Q295E N384D Q418E N421D
pI_(-)_同配_B	N208D Q295E Q418E N421D
pI_(-)_同配_B-仅Fc	Q295E Q418E N421D
pI_ISO(+RR)	Q196K I199T P217R P228R N276K
pI_ISO(+)	Q196K I199T N276K
pI_(+)_同配_A	E269Q E272Q E283Q E357Q
pI_(+)_同配_B	E269Q E272Q E283Q
pI_(+)_同配_E269Q/E272Q	E269Q E272Q
pI_(+)_同配_E269Q/E283Q	E269Q E283Q
pI_(+)_同配_E272Q/E283Q	E272Q E283Q
pI_(+)_同配_E269Q	E269Q

图4

IV. 消融变体

变体	变体, 续
G236R	P329K
S239G	A330L
S239K	A330S/P331S
S239Q	I332K
S239R	I332R
V266D	V266D/A327Q
S267K	V266D/P329K
S267R	S267R/A327Q
H268K	S267R/P329K
E269R	G236R/L328R
299R	E233P/L234V/L235A/G236del/S239K
299K	E233P/L234V/L235A/G236del/S267K
K322A	E233P/L234V/L235A/G236del/S239K/A327G
A327G	E233P/L234V/L235A/G236del/S267K/A327G
A327L	E233P/L234V/L235A/G236del
A327N	S239K/S267K
A327Q	267K/P329K
L328E	
L328R	
P329A	
P329H	

图5

有用组合

scFv 单体(+)	Fab 单体(-)
异源二聚体pI变体S364K/E357Q	异源二聚体化pI变体L368D/K370S
包含但不限于(GKPCG) ₄ 的 任选的scFv带电荷连接子 (SEQ ID NO: 37755)	同配pI取代 N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D
FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267K	FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267K
用于FcRn的±428L/434S	用于FcRn的±428L/434S
检查点抑制剂的ABD的scFv	检查点抑制剂的ABD的另一个的Fv/Fab

图6A

scFv 单体	Fab 单体
异源二聚体pI变体S364K/E357Q	异源二聚体化pI变体L368D/K370S
包含但不限于(GKPCG) ₄ 的 任选的scFv带电荷连接子 (SEQ ID NO: 37755)	pI取代 I199T N203D K274Q R355Q Q419E K447del
FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267K	FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267K
用于FcRn的±428L/434S (任选)	用于FcRn的±428L/434S (任选)
检查点抑制剂的scFv	检查点抑制剂的ABD的另一个的Fv/Fab

图6B

连接子

带正电荷scFv连接子

名称	序列	长度	电荷	SEQ ID NO:
Gly-Ser 15	GGGGSGGGGS	15	0	37699
Whitlow连接子	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	18	+1	37700
6paxA_1 (+A)	IRPRAIGGSKPRVA	14	+4	37701
+B	GKGGSGKGGSGKGGGS	15	+3	37702
+C	GGKSGGKSGGGKGS	15	+3	37703
+D	GGGKSGGGKSGGGKS	15	+3	37704
+E	GKGKSGKGKSGKGKS	15	+6	37705
+F	GGGKSGGKSGKGGGS	15	+3	37706
+G	GKPGSGKPGSGKPGS	15	+3	37707
+H	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	20	+4	37708
+I	GKGKSGKGKSGKGKSGKGKS	20	+8	37709

带负电荷scFv连接子

名称	序列	长度	电荷	SEQ ID NO:
Gly-Ser 15	GGGGSGGGGS	20	0	37710
3hsc_2 (-A)	STAGDTHLGGEDFD	14	-4	37711
-B	GEGSGEGSGEGGS	15	-3	37712
-C	GGEGSGEGSGEGGS	15	-3	37713
-D	GGGESGGESGGGES	15	-3	37714
-E	GEGESGEGESGEGES	15	-6	37715
-F	GGGESGGESGEGGS	15	-3	37716
-G	GEGESGEGESGEGESGEGES	20	-8	37717

图7A

scFv连接子

GGGGSGGGGSGGGGS	(SEQ ID NO: 37718)
GGGGSGGGGSGGGGS	(SEQ ID NO: 37719)
GSTSGSGKPGSGEGSTKG	(SEQ ID NO: 37720)
PRGASKSGSASQTGSAPGS	(SEQ ID NO: 37721)
GTAAAGAGAAGGAAAGAAG	(SEQ ID NO: 37722)
GTSGSSGSGSGSGSGGGG	(SEQ ID NO: 37723)
GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	(SEQ ID NO: 37724)

图7B

VII. 倾斜变体的T_m

XENP	异源二聚体倾斜 变体, 链1	异源二聚体倾斜 变体, 链2	异源二聚体 产率 (%)	CH3 T _m (°C)
12757	无	无	52.7	83.1
12758	L368D/K370S	S364K	94.4	76.6
12759	L368D/K370S	S364K/E357L	90.2	77.2
12760	L368D/K370S	S364K/E357Q	95.2	77.5
12761	T411E/K360E/Q362E	D401K	85.6	80.6
12496	L368E/K370S	S364K	91.5	未确定
12511	K370S	S364K	59.9	未确定
12840	L368E/K370S	S364K/E357Q	59.5	未确定
12841	K370S	S364K/E357Q	90.4	未确定
12894	L368E/K370S	S364K	41.0	未确定
12895	K370S	S364K	49.3	未确定
12896	L368E/K370S	S364K/E357Q	73.9	未确定
12901	K370S	S364K/E357Q	87.9	未确定

图8

XENP19690 1G6_H1.279_L1.194 抗PD-1 Fv序列

名称	序列	SEQ ID NO:
Vh结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSNYWMNVRQAPGKGLGWVAEIRLYSNNYATHYAESVKGRFTISRDDSKSTLYLQMN NLKTEDTGVYYCTRYIGNYGGYFDVWGRGTLTVSS	37759
vhCDR1	<u>NYWMN</u>	37760
vhCDR2	<u>EIRLYSNNYATHYAESVKG</u>	37761
vhCDR3	<u>YGNIGGYFDV</u>	37762
scFv连接子	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	37708
VI结构域	EIVLTQSPATLSAIPGERVTLTCRASQSVGNDVAVYQQKPGQAPRLRLINYNASHRYTGVDRFTGSGYGTEFTLTISVQSEDFGVY YCQQDFSSPRTFGGTRKVEIK	37763
vICDR1	<u>RASQSVGNDVA</u>	37764
vICDR2	<u>YASHRYT</u>	37765
vICDR3	<u>QQDFSSPRT</u>	37766
scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSNYWMNVRQAPGKGLGWVAEIRLYSNNYATHYAESVKGRFTISRDDSKSTLYLQMN NLKTEDTGVYYCTRYIGNYGGYFDVWGRGTLTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSAIPGERVTLTCRASQSV GNDVAVYQQKPGQAPRLRLINYNASHRYTGVDRFTGSGYGTEFTLTISVQSEDFGVYCCQQDFSSPRTFGGTRKVEIK/	37767

图9A

1G6_H1.280_1.1.224 抗PD-1 Fv序列

名称	序列	SEQ ID NO:
可变速重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLTCAVAGFTFSNYMMNWVROAPGKGLGWVAEIRLYSNNTYATHYAESVKGRTISRDDSKSTLYLQMN NLKTEDTGYYCTRYGYGNYGGYFDVWGRGTLVTSS	37768
vhCDR1	NYMMN	37769
vhCDR2	ELRLYSNNYATHYAESVKG	37770
vhCDR3	YYGNYGGYFDV	37771
scFv连接子	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	37708
可变速轻 (vl) 结构域	EIVLTQSPATLSVSPGERVTLTCRASQSVGNDVAWYQOKPGQAPRLINYNASHRYTSVPDRFTGSGYGTFTLTISSVQSEDFAVY YCQQDWSSPRTFGGKVEIK	37772
vlCDR1	RASQSVGNDVA	37773
vlCDR2	YNASHRYT	37774
vlCDR3	QQDWSSPRT	37775
scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLTCAVAGFTFSNYMMNWVROAPGKGLGWVAEIRLYSNNTYATHYAESVKGRTISRDDSKSTLYLQMN NLKTEDTGYYCTRYGYGNYGGYFDVWGRGTLVTSS / GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS / EIVLTQSPATLSVSPGERVTLTCRASQSVGNDVAWYQOKPGQAPRLINYNASHRYTSVPDRFTGSGYGTFTLTISSVQSEDFAVYCYQQDWSSPRTFGGKVEIK	37776

图9B

XENP19692 1G6_L1.194_H1.279 抗PD-1 Fv序列

名称	序列	SEQ ID NO:
可 变 重 (vh) 结 构 域	EIVLTQSPATLSASPGERVTLTCRASQSVGNDVAWYQOKPGQAPRLLINYNASHRYTGVDRFTGSGYGTEFTLTITISSVQSEDFGVY YQQDFSSPRTFGGTVKVEIK	37777
vhCDR1	RASQSVGNDVA	37778
vhCDR2	YASHRYT	37779
vhCDR3	QQDFSSPRT	37780
scFv连接子	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	37708
可 变 轻 (vl) 结 构 域	EVQLVDSGGGLVKPGGSLRLSCVASGFTFSNTYMNWVRQAPGKGLEWVAEIRLYSNNYATHYAESVKGRFTISRDDSKSTLYLQMN NLKTEDTGYYCTRYYGNYGGYFDVWGRGTLTVSS	37781
viCDR1	NYWMN	37782
viCDR2	EIRLYSNNYATHYAESVKG	37783
viCDR3	YYGNYGGYFDV	37784
scFv	EIVLTQSPATLSASPGERVTLTCRASQSVGNDVAWYQOKPGQAPRLLINYNASHRYTGVDRFTGSGYGTEFTLTITISSVQSEDFGVY YQQDFSSPRTFGGTVKVEIK/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EVQLVDSGGGLVKPGGSLRLSCVASGFTFSNTYMNWVRQAPGK GLEWVAEIRLYSNNYATHYAESVKGRFTISRDDSKSTLYLQMNKTEDTGYYCTRYYGNYGGYFDVWGRGTLTVSS	37785

图9C

XENP19669 1G6_1.1.210_H1.288 抗PD-1 Fv序列

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EIVLTQSPATLSASPGERVTLTCRASQSVGNDVAWYQOKPGQAPRLLINYNASHRYTGYVDRFTGSGYGTEFTLTITISSVQSEDFGVY YCQQDFSSPRTFGCGTKVEIK	37786
vhCDR1	RASQSVGNDVA	37787
vhCDR2	YASHRYT	37788
vhCDR3	QQDFSSPRT	37789
scFv连接子	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	37708
可变轻 (vl) 结构域	EVQLVDSGGGLVKPGGSLRLSCVASGFTFSNTWMNWRQAPGKCLEWVAEIRLYSNNYATHYAESVKGRFTISRDDSKSTLYLQMN NLKTEDTGYYCTRYYGNYGGYFDVWGRGTLTVSS	37790
vlCDR1	NYWMN	37791
vlCDR2	EIRLYSNNYATHYAESVKG	37792
vlCDR3	YYGNYGGYFDV	37793
scFv	EIVLTQSPATLSASPGERVTLTCRASQSVGNDVAWYQOKPGQAPRLLINYNASHRYTGYVDRFTGSGYGTEFTLTITISSVQSEDFGVY YCQQDFSSPRTFGCGTKVEIK/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EVQLVDSGGGLVKPGGSLRLSCVASGFTFSNTWMNWRQAPGK CLEWVAEIRLYSNNYATHYAESVKGRFTISRDDSKSTLYLQMNLTEDTGYYCTRYYGNYGGYFDVWGRGTLTVSS	37794

图9D

XENP20162 2E9_H11.1 抗PD-1 Fv序列

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYFTN YWLGNV RQAPGQGLEWMGNFYPGSSNTYYNEKFQGRVTMTADKSI STAYMELSLRSDDTAVYFCARHYGTNRYFDVWGAGTLTVYSS	37795
vhCDR1	NYWLIG	37796
vhCDR2	NEYPGSSNTYYNEKFQG	37797
vhCDR3	HYGTNRYFDV	37798
scFv连接子	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGSG	37798
可变轻 (vl) 结构域	DIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSNDAVYQQKPGQSPRLIYYASNRYTGVPDRFTGSGYGTDFTLTIS RLEPEDEFAVYFCQQDYSSPYTFGGGTKVEIK	37799
vlCDR1	RASQSVSNDAV	37800
vlCDR2	YASNRYT	37801
vlCDR3	QQDYSSPYT	37802
scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYFTN YWLGNV RQAPGQGLEWMGNFYPGSSNTYYNEKFQGRVTMTADKSI STAYMELSLRSDDTAVYFCARHYGTNRYFDVWGAGTLTVYSS/GKPGSGKPGSGKPGSG/DIVLTQSPGT LSLSPGERATLSCRASQSVSNDAVYQQKPGQSPRLIYYASNRYTGVPDRFTGSGYGTDFTLTISRLEPEDEFAVY FCQQDYSSPYTFGGGTKVEIK	37803

图9E

[CTLA-4]_H0.25_L0_抗CTLA-4 Fv/序列[(XENP19235 Fab, XENP19769 scFv)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变速重 (vh) 结构域	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWV3QAPGKGLEWVTFISYDGNKKYYADSVKGRFTISRDN SKNTL YLQMNSLRAEDTAIYYCARIGWLGPEFDYWGQGTLLTVSS	37804
vhCDR1	<u>SYAMH</u>	37805
vhCDR2	<u>FISYDGNKKYYADSVKG</u>	37806
vhCDR3	<u>TGWLGPEDY</u>	37807
scFv连接子	<u>GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS</u>	37708
可变速轻 (vl) 结构域	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSYGSSYLAWYQOKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR L EPEDFAVYYCQYQGSSPWTFGQGTKVEIK	37808
viCDR1	<u>RASQSVGSSYLA</u>	37809
viCDR2	<u>GAFSRAT</u>	37810
viCDR3	<u>QYQGSSPWT</u>	37811
scFv	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWV3QAPGKGLEWVTFISYDGNKKYYADSVKGRFTISRDN SKNTL YLQMNSLRAEDTAIYYCARIGWLGPEFDYWGQGTLLTVSS/ <u>GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS</u> /EIVLTQSPGTLISLSPGER ATLSCRASQSYGSSYLAWYQOKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYQGSSP W TFQGQTKVEIK/	37812

图10A

[CTLA-4]_{H0.26_10} 抗CTLA-4 Fv序列 (XENP19236 Fab, XENP19770 scFv)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWTFISYDGNKKYYADSVKGRFTISRDN SKNTL YLOMNSLR AEDTAIYYCARTGWLGPFDDYWGQGTILVTVSS	37813
vhCDR1	<u>SYGMH</u>	37814
vhCDR2	<u>FISYDGNKKYYADSVKG</u>	37815
vhCDR3	<u>TGWLGPFDY</u>	37816
scFv连接子	<u>GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS</u>	37708
可变轻 (vl) 结构域	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSYGSSYLAWYQOKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR L EPEDFAVYYCQQYGSFPWFEGQGTKEIK	37817
viCDR1	<u>RASQSVGSSYLA</u>	37818
viCDR2	<u>GAFSRAT</u>	37819
viCDR3	<u>QQYGSSPWT</u>	37820
scFv	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWTFISYDGNKKYYADSVKGRFTISRDN SKNTL YLOMNSLR AEDTAIYYCARTGWLGPFDDYWGQGTILVTVSS / GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS / EIVLTQSPGTLTSLSPGER ATLSCRASQSYGSSYLAWYQOKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGS SPW TFGQGTKEIK	37821

图10B

[CTLA-4]_{H0.27_10} 抗CTLA-4 Fv序列 [XENP19237 Fab, XENP19771 scFv]

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYSMHVVRQAPGKGLEWVTFISYDGNKKYYADSVKGRFTISRDN SKNT LYLQMNSLRAEDTAIYCCARTGWLGPFDYWGQGTLVTVSS	37822
vhCDR1	<u>SYSMH</u>	37823
vhCDR2	<u>FLSYDGNKKYYADSVKG</u>	37824
vhCDR3	<u>TGWLGPFDY</u>	37825
scFv连接器	<u>GKPGSGKPGSGKPGSGKPGSG</u>	37708
可变轻 (vl) 结构域	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVGSSYLA ^Y QQKPGQAPRLLIYGA ^F SRATGIPDRFSGSGSGTDFLTISR LPEDEFAVYYCQQYGGSSPWTFGQGTKVEIK	37826
vlCDR1	<u>RASQSVGSSYLA</u>	37827
vlCDR2	<u>GAFSRAI</u>	37828
vlCDR3	<u>QQYGGSSPWT</u>	37829
scFv	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYSMHVVRQAPGKGLEWVTFISYDGNKKYYADSVKGRFTISRDN SKNT LYLQMNSLRAEDTAIYCCARTGWLGPFDYWGQGTLVTVSS/ <u>GKPGSGKPGSGKPGSGKPGSG</u> /EIVLTQSPGTLISLSPG ERATLSCRASQSVGSSYLA ^Y QQKPGQAPRLLIYGA ^F SRATGIPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPDEFAVYYCQQYGS SPWTFGQGTKVEIK	37830

图10C

[CTLA-4]_H0.29_L0 Fab XENP19773, scFv XENP19239

名称	序列	SEQ ID NO:
可变速 (vh) 结构域		
vhCDR1		
vhCDR2		
vhCDR3		
scFv连接子	<u>GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS</u>	37708
可变速 (vl) 结构域		
vlCDR1		
vlCDR2		
vlCDR3		
scFv	<u>QVQLVESGGGVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYYMHVVRQAPGKGLEWVTFISYDGNNKYYADSVKGRFTISRDN SKNT</u> <u>LYIQMNSLR AEDTA IYCAR TGNLGPFDYWGQGTLVTVSS / GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS / EIVLTQSPGTL SLS PG</u> <u>ERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGA FSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVY YCQQYGS</u> <u>SEWTFGQGTKVEIK</u>	37831

图10D

[CTLA-4]_H0.38_I0 (Fab XENP19248, scFv XENP19782)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSYTHHWVROAPGKLEWVAFISYDGNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTL YLNNSLR AEDTAIYYCARTGWLGPEFYWGQGTIVTVSS	37832
vhCDR1	<u>SYTMH</u>	37833
vhCDR2	<u>FISYDGNKKYADSVKG</u>	37834
vhCDR3	<u>TGWLGPEDY</u>	37835
scFv连接子	<u>GKPGSGKPGSGKPGSGKPGSG</u>	37708
可变轻 (vl) 结构域	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVGSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR L EPEDFAVYYCQQYGGSSPWTFGQGTKVEIK	37836
vlCDR1	<u>RASQSVGSYLA</u>	37837
vlCDR2	<u>GAFSRAT</u>	37838
vlCDR3	<u>QQYGGSSPWT</u>	37839
scFv	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSYTHHWVROAPGKLEWVAFISYDGNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTL YLNNSLR AEDTAIYYCARTGWLGPEFYWGQGTIVTVSS/ <u>GKPGSGKPGSGKPGSGKPGSG</u> /EIVLTQSPGTLISLSPGER ATLSCRASQSVGSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGGSSPW TFGQGTKVEIK/	37840

图10E

[CTLA-4]_H0.39_L0 (Fab XENP19249, scFv XENP19783)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	QVQLVSGGTVQPGKSLRLSCAASGFTFSYTMHWVQAQPGKGLWVGFIISYDGNKKYYADSVKGRFTISRDNKNTL YIQMNSLRADTAIYYCARTGWLGPFDYWGQGTLLTVSS	37841
vhCDR1	<u>SYTMH</u>	37842
vhCDR2	<u>FISYDGNKKYYADSVK</u>	37843
vhCDR3	<u>TGWLGPFDY</u>	37844
scFv连接子	<u>GKPGSGKPGSGKPGSG</u>	37708
可变轻 (vl) 结构域	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQOKPGQAPRLIIYGAFSRATGIPDRFSGSGGTDFLTISRLL EPEDFAVYCCQYGGSPFTFGQGTKVEIK	37845
vlCDR1	<u>RASQSVGSSYLA</u>	37846
vlCDR2	<u>GAFSRAT</u>	37847
vlCDR3	<u>QYGGSPFT</u>	37848
scFv	QVQLVSGGTVQPGKSLRLSCAASGFTFSYTMHWVQAQPGKGLWVGFIISYDGNKKYYADSVKGRFTISRDNKNTL YIQMNSLRADTAIYYCARTGWLGPFDYWGQGTLLTVSS / GKPGSGKPGSGKPGSG / EIVLTQSPGTLISLSPGER ATLSCRASQSVGSSYLAWYQOKPGQAPRLIIYGAFSRATGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYCCQYGGSPW TFGQGTKVEIK	37849

图10F

[CTLA-4] H0.70_L0 (Fab XENP19280, scFv XENP19818)		
名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	QVQLVESGGGVQPGKSLRLSCAASGFTFSYTMHWVROAPGKGLEWVTFISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNT LYLQMNSLR AEDTAIYYCARTGWLGPFDYWGQGTLVTVSS	37859
vhCDR1	SYTMH	37860
vhCDR2	FISYDGSNKYYADSVKG	37861
vhCDR3	TGWLGPFDY	37862
scFv连接子	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	37708
可变轻 (vl) 结构域	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFLTISR LEPEDFAVYYCQQYGS SPWTFGQGTKEIK	37863
viCDR1	RASQSVGSSYLA	37864
viCDR2	GAFSRAT	37865
viCDR3	QQYGS SPWT	37866
scFv	QVQLVESGGGVQPGKSLRLSCAASGFTFSYTMHWVROAPGKGLEWVTFISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNT LYLQMNSLR AEDTAIYYCARTGWLGPFDYWGQGTLVTVSS / GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS / EIVLTQSPGTLSLSPG ERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQYGS SPWTFGQGTKEIK	37867

图10H

[CTLA-4]_H0_L0.22 (Fab XENP19437, scFv XENP19910)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变更 (vh) 结构域	QVQLVESGGGVQPGPGRSLRLSCAASGFTFSYTMHWVRQAPGKGLEWVT <u>FISYDGNKKYYADSVKGRFT</u> SRDNSKNT LYLQMNLSRAEDTAIYYCARTGWLGPEDYWGQGTILVTVSS	37868
vhCDR1	<u>SYTMH</u>	37869
vhCDR2	<u>FISYDGNKKYYADSVKG</u>	37870
vhCDR3	<u>TGWLGPEDY</u>	37871
scFv连接器	<u>GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS</u>	37708
可变更 (vl) 结构域	EIVLTQSPGTLSPGGERATLSRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR LEPEDFAVYYCQQYGGSSPWTFGQGTKVEIK	37872
vlCDR1	<u>RASQSVSSSYLA</u>	37873
vlCDR2	<u>GAFSRAT</u>	37874
vlCDR3	<u>QQYGGSSPWT</u>	37875
scFv	QVQLVESGGGVQPGPGRSLRLSCAASGFTFSYTMHWVRQAPGKGLEWVT <u>FISYDGNKKYYADSVKGRFT</u> SRDNSKNT LYLQMNLSRAEDTAIYYCARTGWLGPEDYWGQGTILVTVSS/ <u>GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS</u> /EIVLTQSPGTLSPG ERATLSRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGS SPWTFGQGTKVEIK	37876

图10I

[CTLA-4]_H2_L0 (Fab XENP, 19545 scFv XENP19552)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGLEWVT <u>FISYDGNKKYYPGSVKGRFTISRENAKNS</u> LYLQMNSLRAGDTAVYYCARTGWLGPFEDYWGQGTLLTVSS	37877
vhCDR1	<u>SYTMH</u>	37878
vhCDR2	<u>FISYDGNKKYYPGSVKG</u>	37879
vhCDR3	<u>TGWLGPFDY</u>	37880
scFv连接子	<u>GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS</u>	37708
可变轻 (vl) 结构域	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR LEPEDFAVYYCQQYGSSPWTFGQTRVEIK	37881
vlCDR1	<u>RASQSVGSSYLA</u>	37882
vlCDR2	<u>GAFSRAT</u>	37883
vlCDR3	<u>QQYGSSPWT</u>	37884
scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGLEWVT <u>FISYDGNKKYYPGSVKGRFTISRENAKNS</u> LYLQMNSLRAGDTAVYYCARTGWLGPFEDYWGQGTLLTVSS/ <u>GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS</u> /EIVLTQSPGTLSLSPG ERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSS SPWTFGQTRVEIK	37885

图10J

[CTLA-4]_H3.21_L0.124 (Fab XENP20422, scFv XENP20431)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变更 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVAPGGSRLRLSCAASGFTFSSTMHVVRQAPGKGLEWVSFI SYDGN TKYYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQNNSLRAEDTAVYYCARGGILGPFDLWGQGTMTVSS	37886
vhCDR1	<u>SYTMH</u>	37887
vhCDR2	<u>FISYDGN TKYADSVKG</u>	37888
vhCDR3	<u>GGLLGPFDL</u>	37889
scFv连接子	<u>GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS</u>	37708
可变更 (vl) 结构域	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQOKPGQAPRLIIYGASSRATGIPDRFSGSGGTFTLTISR LEPEDEFAVYYCQOYGSSPWTFGQGTKVEIK	37890
vlCDR1	<u>RASQSVGSSYLA</u>	37891
vlCDR2	<u>GASSRAT</u>	37892
vlCDR3	<u>QOYGSSPWT</u>	37893
scFv	EVQLVESGGGLVAPGGSRLRLSCAASGFTFSSTMHVVRQAPGKGLEWVSFI SYDGN TKYYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQNNSLRAEDTAVYYCARGGILGPFDLWGQGTMTVSS / GKPGSGKPGSGKPGS / EIVLTQSPATLSVSPG ERATLSCRASQSVGSSYLAWYQOKPGQAPRLIIYGASSRATGIPDRFSGSGGTFTLTISRLEPEDEFAVYYCQOYGSS SPWTFGQGTKVEIK	37894

图10K

[CTLA-4]_H3.21_10.129 (Fab XENP20423, scFv XENP20432)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变更 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVROAPGKGLEWVSFISYDGNTKYYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEDTAVYVCARGGLLGPFDLWGQGTMTVSS	37895
vhCDR1	<u>SYTMH</u>	37896
vhCDR2	<u>FISYDGNTKYYADSVKG</u>	37897
vhCDR3	<u>GGLLGPFDL</u>	37898
scFv连接子	<u>GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS</u>	37708
可变更 (vl) 结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR LEPEDFAVYCCQQYGSSEFTFGQGTKVEIK	37899
vlCDR1	<u>RASQSVGSSYLA</u>	37900
vlCDR2	<u>GASSRAT</u>	37901
vlCDR3	<u>QQYGSSEFT</u>	37902
scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVROAPGKGLEWVSFISYDGNTKYYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEDTAVYVCARGGLLGPFDLWGQGTMTVSS / GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS / EIVLTQSPATLSLSPG ERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYCCQQYGS SPWTFGQGTKVEIK	37903

图10L

[CTLA-4]_H3.21_L0.132 (Fab XENP20424, scFv XENP20433)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVRQAPGKGLWVSFISYDGNTRYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGILLGPFDLWGQGTWTVSS	37904
vhCDR1	SYTMH	37905
vhCDR2	FISYDGNTRYADSVKG	37906
vhCDR3	GGLLGPFDL	37907
scFv连接子	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGSG	37708
可变轻 (vl) 结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLIYGASSRATGIPDRFSGSGTDFTLTISR LEPEDFAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKVEIK	37908
vlCDR1	RASQSVSSSYLA	37909
vlCDR2	GASSRAT	37910
vlCDR3	QQYGSSPWT	37911
scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVRQAPGKGLWVSFISYDGNTRYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGILLGPFDLWGQGTWTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSG/EIVLTQSPATLSLSPG ERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLIYGASSRATGIPDRFSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSG SPWTFGQGTKVEIK	37912

图10M

[CTLA-4]_H3.23_I0.124 (Fab XENP20425, scFv XENP20434)			
名称	序列	SEQ ID NO:	
可变更 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGLEWVSFISYDGNKYKYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGHLGPFDLWGQGTMTVTVSS	37913	
vhCDR1	<u>SYTMH</u>	37914	
vhCDR2	<u>FISYDGNKYKYADSVKG</u>	37915	
vhCDR3	<u>GCHLGPFDL</u>	37916	
scFv连接子	<u>GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS</u>	37708	
可变更 (vl) 结构域	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGGTDFTLISR LEPEDEFAVYYCQYGSFPWTFGQGTKVEIK	37917	
vlCDR1	<u>RASQSVGSSYLA</u>	37918	
vlCDR2	<u>GASSRAT</u>	37919	
vlCDR3	<u>QYGSFPWT</u>	37920	
scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGLEWVSFISYDGNKYKYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGHLGPFDLWGQGTMTVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSVSPG ERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGGTDFTLISRLEPEDEFAVYYCQYGS SPWTFGQGTKVEIK	37921	

图10N

[CTLA-4]_H3.23_L0.129 (Fab XENP20426, scFv XENP20435)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVAPGGSRLRLSCAASGTFSSYTMHWVRQAPGKGLEWVSFISYDGNKYIYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGHLGPFDLWGQGTMTVTVSS	37922
vhCDR1	SYTMH	37923
vhCDR2	FISYDGNKYIYADSVKG	37924
vhCDR3	GGHLGPFDL	37925
scFv连接子	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	37708
可变轻 (vl) 结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVGSYLAWYQQKPGQAPRLLITYGASSRATGIPDRFGSGSGTDFTLTISR LEPEDFAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKVEIK	37926
vlCDR1	RASQSVGSYLA	37927
vlCDR2	GASSRAT	37928
vlCDR3	QQYGSSPWT	37929
scFv	EVQLVESGGGLVAPGGSRLRLSCAASGTFSSYTMHWVRQAPGKGLEWVSFISYDGNKYIYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGHLGPFDLWGQGTMTVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSLSPG ERATLSCRASQSVGSYLAWYQQKPGQAPRLLITYGASSRATGIPDRFGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGS SPWTFGQGTKVEIK	37930

图100

[CTLA-4]_H3.23_10.132 (Fab XENP20427, scFv XENP20436)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGLEWVSFISYDGNVKKYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLR AEDTAVYYCARGGHLGPFDLWGQGTMTVSS	37931
vhCDR1	<u>SYTMH</u>	37932
vhCDR2	<u>FLSYDGNVKKYADSVKG</u>	37933
vhCDR3	<u>GGHLGPFDL</u>	37934
scFv连接子	<u>GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS</u>	37708
可变轻 (vl) 结构域	EIVLTQSPATLSISLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR LEPEDFAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKEIK	37935
vlCDR1	<u>RASQSVSSSYLA</u>	37936
vlCDR2	<u>GASSRAT</u>	37937
vlCDR3	<u>QQYGSSPWT</u>	37938
scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGLEWVSFISYDGNVKKYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLR AEDTAVYYCARGGHLGPFDLWGQGTMTVSS/ <u>GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS</u> /EIVLTQSPATLSLSPG ERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYG SPWTFGQGTKEIK	37939

图10P

[CTLA-4]_H3.25_10.124 (Fab XENP20428, scFv XENP20437)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变速重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVAPGQGLRIQLSCAASGFTFSSTYTHHWVRQAPGKGLIEWVSFISYDGNVYKYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRRAEDTAVYYCARGGILLGPFDLNGCGTMTVTSS	37940
vhCDR1	SYTHH	37941
vhCDR2	FISYDGNVYKYADSVKG	37942
vhCDR3	GGL-GPFDL	37943
scFv连接子	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	37708
可变速轻 (vl) 结构域	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR LEPEDFAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKVEIK	37944
vlCDR1	RASQSVGSSYLA	37945
vlCDR2	GASSRAT	37946
vlCDR3	QQYGSSPWT	37947
scFv	EVQLVESGGGLVAPGQGLRIQLSCAASGFTFSSTYTHHWVRQAPGKGLIEWVSFISYDGNVYKYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRRAEDTAVYYCARGGILLGPFDLNGCGTMTVTSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSVSPG ERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYG SPWTFGQGTKVEIK	37948

图10Q

[CTLA-4]_H3.25_10.129 (Fab XENP20429, scFv XENP20438)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVRQAPGKLEWVSFISYDGNKYKYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEEDTAVYFCARGGLLGPEFDLWGQGTMTVSS	37949
vhCDR1	SYTMH	37950
vhCDR2	FISYDGNKYKYADSVKG	37951
vhCDR3	GGLLGPEFDL	37952
scFv连接子	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	37708
可变轻 (vl) 结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR LEPEDFAVYICOQYGSSPWTFGQGTVEIK	37953
vlCDR1	RASQSVGSSYLA	37954
vlCDR2	QASSRAT	37955
vlCDR3	QQYGSSPWT	37956
scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVRQAPGKLEWVSFISYDGNKYKYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEEDTAVYFCARGGLLGPEFDLWGQGTMTVSS/GKPGSGKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSLSPG ERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYICOQYGS SPWTFGQGTVEIK	37957

图10R

[CTLA-4]_H3.25_10.132 (Fab XENP20430, scFv XENP20439)			名称	序列	SEQ ID NO:
可 变 重 链 结 构 域	vh	CDR1	可 变 重 链 结 构 域	EVQLVESGGGLVAPGQSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGLWVSFI SYDGNKYKYADSVKGRFTISRDNAKNS LYIQMNSLR AEDTAVYYCARGGILLGPFDLWGQGTWVTVSS	37958
			vhCDR1	SYTMH	37959
		vhCDR2	vhCDR2	FISYDGNKYKYADSVKG	37960
可 变 轻 链 结 构 域	vl	CDR1	可 变 轻 链 结 构 域	GGILLGPFDL	37961
			vlCDR1	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGSG	37708
		vlCDR2	vlCDR2	EIVLTQSPATLSISLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR LEPEDFAVYYCQQYSGSSPWTFGQGTWVTVSS	37962
可 变 重 链 结 构 域	vh	CDR1	可 变 重 链 结 构 域	RASQSVSSSYLA	37963
			vhCDR1	GASSRAT	37964
		vhCDR2	vhCDR2	QQYGSPPWT	37965
可 变 轻 链 结 构 域	vl	CDR1	可 变 轻 链 结 构 域	EVQLVESGGGLVAPGQSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGLWVSFI SYDGNKYKYADSVKGRFTISRDNAKNS LYIQMNSLR AEDTAVYYCARGGILLGPFDLWGQGTWVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGSG/EIVLTQSPATLSISLSPG ERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGS SPWTFGQGTWVTVSS	37966

图10S

[CTLA-4]_H3.4_10.118 (Fab XENP20341, scFv XENP20378)			
名称	序列	SEQ ID NO:	
可 变 重 (vh) 结 构 域	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGLEWVSFISYDGNHKYYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRAREDYAVYYCARTGHLGPEFDLWGQGTMTVTVSS	37967	
	SSYTMHI	37968	
	FISYDGNHKYYADSVKG	37969	
	TGHLGPEFDL	37970	
scFv连接子	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	37708	
可 变 轻 (vl) 结 构 域	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR LEPEDFAVYYCQQYGSSPWTTFGQGTVEIK	37971	
	RASQSVGSSYLA	37972	
	GAFSRAT	37973	
	QQYGSSPWT	37974	
scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGLEWVSFISYDGNHKYYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRAREDYAVYYCARTGHLGPEFDLWGQGTMTVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSVSPG ERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGS SPWTFGQGTVEIK	37975	

图10T

[CTLA-4]_H3.4_L0.119 (Fab XENP20342, scFv XENP20379)			
名称	序列		SEQ ID NO:
可变速重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVRQAPGKGLEWVSFISYDGNHKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCAR <u>TGHLGPFDLWGQGTMTVSS</u>		37976
vhCDR1	SYTMH		37977
vhCDR2	FISYDGNHKYYADSVKG		37978
vhCDR3	TGHLGPFDL		37979
scFv连接子	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS		37708
可变速轻 (vl) 结构域	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSYGVSSYLAWYQQKPGQAPRLIIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF AVYYCQQYGSSSEWTFGQGTKVEIK		37980
vlCDR1	RASQSVGSSYLA		37981
vlCDR2	GAFSRAT		37982
vlCDR3	QQYGSSSEWTF		37983
scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVRQAPGKGLEWVSFISYDGNHKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCAR <u>TGHLGPFDLWGQGTMTVSS</u> /GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQ SYGVSSYLAWYQQKPGQAPRLIIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSSEWTFGQGTKVEIK		37984

图10U

[CTLA-4] H3.4 L0.12 (Fab XENP20071, scFv XENP20078)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变速重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVRQAPGKGLEWVSFISYDGNHKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARTGHLGPFDFLWGQGTMTVSS	37985
vhCDR1	SYTMH	37986
vhCDR2	FISYDGNHKYYADSVKG	37987
vhCDR3	TGHLGPFDL	37988
scFv连接子	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	37708
可变速轻 (vl) 结构域	EIVLTQSPGTLSPVPERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRILLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF AVYYCQYGSSEPTFGQGTKVEIK	37989
vlCDR1	RASQSVGSSYLA	37990
vlCDR2	GAFSRAT	37991
vlCDR3	QYGSSEPT	37992
scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVRQAPGKGLEWVSFISYDGNHKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARTGHLGPFDFLWGQGTMTVSS / GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS / EIVLTQSPGTLSPVPERATLSCRASQS VGSSYLAWYQQKPGQAPRILLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYGSSEPTFGQGTKVEIK	37993

图10V

[CTLA-4]_H3.4_L0.121 (Fab XENP20344, scFv XENP20381)			
名称	序列		SEQ ID NO:
可 变 重 (vh) 结 构 域	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVROAPCGKLEWVSFTSYDGNHKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN		37994
	SLRAEDTAVYYCARTGHLGFDLWGQGTNVTSS		
	SYTMH		
vhCDR1			37995
vhCDR2	FTSYDGNHKYYADSVKG		37996
vhCDR3	TGHLGFDL		37997
scFv连接子	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS		37708
可 变 轻 (vl) 结 构 域	EIVLTQSPGTLSSVSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQOKPQAPRLIYGASSRATGIPDRFSGSGGTDFTTISRLEPEDF		37998
	AVVYCQYGSSEFWTFGQGTKVEIK		
vICDR1	RASQSVGSSYLA		37999
vICDR2	GASSRAT		38000
vICDR3	QYGSSEFWT		38001
scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVROAPCGKLEWVSFTSYDGNHKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN		38002
	SLRAEDTAVYYCARTGHLGFDLWGQGTNVTSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EIVLTQSPGTLSSVSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQOKPQAPRLIYGASSRATGIPDRFSGSGGTDFTTISRLEPEDFVAVYCQYGSSEFWTFGQGTKVEIK		

图10W

[CTLA-4]_H3.4_L0.122 (Fab XENP20345, scFv XENP20382)			
名称	序列	SEQ ID NO:	
可 变 重 (vh) 结 构 域	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVQAQPKGLEWVSFLSYDGNHKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN	38003	
	SLRAEDTAVYYCARTGHLGPFDLWGQGTMTVSS		
	SYTMH		
vhCDR1		38004	
vhCDR2	FISYDGNHKYYADSVKG	38005	
vhCDR3	TGHLGPFDL	38006	
scFv连接子	GAFGSGKPGSGKPGSGKPGSG	37708	
可 变 轻 (vl) 结 构 域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQVGSYLAWYQOKPQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSDFTLTISRLEPEDF	38007	
	AVYYCQYGSSEPTTRGQGTKVEIK		
viCDR1	RASQSVGSSYLA	38008	
viCDR2	GAFSRAT	38009	
viCDR3	QYGSSEPT	38010	
scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVQAQPKGLEWVSFLSYDGNHKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN	38011	
	SLRAEDTAVYYCARTGHLGPFDLWGQGTMTVSS/GAFGSGKPGSGKPGSGKPGSG/EIVLTQSPATLSLSPGERATLSRASQSVGSYLAWYQOKPQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYGSSEPTTRGQGTKVEIK		

图10X

[CTLA-4]_H3.4_L0.123 (Fab XENP20346, scFv XENP20383)

名称	序列	SEQ ID NO:
可 变 重 (vh) 结 构 域	EVQLVESGGGLVVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVQAQPGKGLEWVSFTSYDGNHKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCAR TGHLGPFDLWGQGTMTVSS	38012
vhCDR1	SYTMH	38013
vhCDR2	FISYDGNHKYYADSVKG	38014
vhCDR3	TGHLGPFDL	38015
scFv连接子	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	37708
可 变 轻 (vl) 结 构 域	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQOKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF AVYYCQYGGSSPWTFGQGTKVEIK	38016
vlCDR1	RASQSVSSSYLA	38017
vlCDR2	GAFSRAT	38018
vlCDR3	QYGGSSPWT	38019
scFv	EVQLVESGGGLVVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVQAQPGKGLEWVSFTSYDGNHKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCAR TGHLGPFDLWGQGTMTVSS /GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQOKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFVAVYYCQYGGSSPWTFGQGTKVEIK	38020

图10Y

[CTLA-4]_H3.4_L0.124 (Fab XENP20347, scFv XENP20384)			
名称	序列	SEQ ID NO:	
可变重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLV ^K PGGSLRLS ^{CA} ASGFTFS ^Y TMHW ^Y QA ^{PG} KGLEW ^V SFLSYDGN ^{IK} Y ^Y ADSV ^K GRFTISRDNAK ^{NS} LY-QMN	38021	
	SLRAEDTAV ^Y CART ^{GH} LGPF ^{DL} WGQGTW ^V VSS		
	SYTMH	38022	
vhCDR1			
vhCDR2	FLSYDGNHKY ^Y ADSV ^K G	38023	
vhCDR3	TGHLGPF ^{DL}	38024	
scFv连接子	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	37708	
可变轻 (vl) 结构域	EIVLTQSPATLS ^V SPGERATLSCRASQSVGS ^Y IAWYQQKPGQAPRLLIYGASERATGIPDRFSGSGCTDFTLTISRLEPEDF	38025	
	AVYYCQYGS ^{SP} WTFGQGT ^K VEIK		
viCDR1	RASQSVGS ^{SY} LA	38026	
viCDR2	GASSRAT	38027	
viCDR3	QYGS ^{SP} WT	38028	
scFv	EVQLVESGGGLV ^K PGGSLRLS ^{CA} ASGFTFS ^Y TMHW ^Y QA ^{PG} KGLEW ^V SFLSYDGN ^{IK} Y ^Y ADSV ^K GRFTISRDNAK ^{NS} LY-QMN	38029	
	SLRAEDTAV ^Y CART ^{GH} LGPF ^{DL} WGQGTW ^V VSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLS ^V SPGERATLS ^{CA} RSQS		
	VGS ^{SY} LAWYQQKPGQAPRLLIYGASERATGIPDRFSGSGCTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYGS ^{SP} WTFGQGT ^K VEIK		

图10Z

[CTLA-4]_H3.4_L0.125 (Fab XENP20348, scFv XENP20385)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLV KG PGSSLRISCAASGFTFSYTMHWV RA PGKGL EW VSFTISYDGNHKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SIRAE DT AVYYCARTGHLGPF DL WGQGTMTVSS	38030
vhCDR1	SYTMH	38031
vhCDR2	FISYDGNHKYYADSVKG	38032
vhCDR3	TGHLGPF DL	38033
scFv连接子	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	37708
可变轻 (vl) 结构域	EIVLTQSPGTLSI SP GERATLS CR ASQSVSSSYLA WY QOKPGQAPRLIIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF AVYYCQ QY GSSSEWTFGQGTKEIK	38034
vlCDR1	RASQSVSSSYLA	38035
vlCDR2	GAFSRAT	38036
vlCDR3	QYCGSSSEWT	38037
scFv	EVQLVESGGGLV KG PGSSLRISCAASGFTFSYTMHWV RA PGKGL EW VSFTISYDGNHKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SIRAE DT AVYYCARTGHLGPF DL WGQGTMTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EIVLTQSPGTLSI SP GERATLS CR ASQSVSSSYLA WY QOKPGQAPRLIIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQ QY GSSSEWTFGQGTKEIK	38038

图10AA

[CTLA-4]_H3.4_L0.126 (Fab XENP20349, scFv XENP20386)			
名称	序列		SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLS	CAASGFTFSYTMHWVROAPGKGL	38039
	SLRAEDTAVYYCARTGHLGFDL	WGQGTMTVSS	
vhCDR1	SYTMH		38040
vhCDR2	FISYDGNHKKYYADSVKG		38041
vhCDR3	TGHLGFDL		38042
scFv连接器	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS		37708
可变轻 (vl) 结构域	EIVLTQSPGTLSLSPGERATL	SCRASQSVGSSYLAWYQOKPGQAPRLIIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF	38043
	AVYYCQYGSSEPTFGQGTKVEIK		
vICDR1	RASQSVGSSYLA		38044
vICDR2	GASSRAT		38045
vICDR3	QYGSSEPT		38046
scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLS	CAASGFTFSYTMHWVROAPGKGL	38047
	SLRAEDTAVYYCARTGHLGFDL	WGQGTMTVSS / GKPGSGKPGSGKPGS / EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQOKPGQAPRLIIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYGSSEPTFGQGTKVEIK	

图10BB

[CTLA-4]_H3.4_L0.127 (Fab XENP20350, scFv XENP20387)				
名称	序列			SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTSSYTMHWVROAPGKGLEWVSFTSYDGNHKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN			38048
	SLRAEDTAVYYCARTGHLGPFDDLWGQGTMTVTVSS			
vhCDR1	SYTMH			38049
vhCDR2	FISYDGNHKYYADSVKG			38050
vhCDR3	TGHLGPFDL			38051
scFv连接器	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS			37708
可变轻 (vl) 结构域	EIVLTQSPGTTLSVSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQOKPGQAPRLLIYGASSRATGTPDRFSGSGSGCTDFTLTISRLEPEDF			38052
	AVYYCQQYQSSPWTFGQGTKEIK			
vlCDR1	RASQSVSSSYLA			38053
vlCDR2	GASSRAT			38054
vlCDR3	QQYQSSPWT			38055
scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTSSYTMHWVROAPGKGLEWVSFTSYDGNHKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN			38056
	SLRAEDTAVYYCARTGHLGPFDDLWGQGTMTVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EIVLTQSPGTTLSVSPGERATLSCRASQS			
	VSSSYLAWYQOKPGQAPRLLIYGASSRATGTPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYQSSPWTFGQGTKEIK			

图10CC

[CTLA-4] H3.4_L0.128 (Fab XENP20351, scFv XENP20388)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变速重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVRQAPCKGLEWVSTISYDGNHKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARTGHLGPFDFLWGQGTMTVTVSS	38057
vhCDR1	SYTMH	38058
vhCDR2	FISYDGNHKYYADSVKG	38059
vhCDR3	TGHLGPFDL	38060
scFv连接子	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	37708
可变速轻 (vl) 结构域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPKQAPRLLIYGAFSSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF AVYYCQQYGSSEPTFTGQGTKVEIK	38061
vlCDR1	RASQSVSSSYLA	38062
vlCDR2	GAFSRAT	38063
vlCDR3	QQYGSSEPT	38064
scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVRQAPCKGLEWVSTISYDGNHKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARTGHLGPFDFLWGQGTMTVTVSS / GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS / EIVLTQSPATLSLSPGERATLSRASQSVSSYLAWYQQKPKQAPRLLIYGAFSSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFVAVYYCQQYGSSEPTFTGQGTKVEIK	38065

图10DD

[CTLA-4]_H3.4_I0.129 (Fab XENP20352, scFv XENP20389)			SEQ ID NO:
名称	序列		
可 变 重 (vh) 结 构 域			
vhCDR1			
vhCDR2			
vhCDR3			
scFv 连 接 子	<u>GKPGSGK²SGKPGSGKPGS</u>		37708
可 变 轻 (vl) 结 构 域	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAAGFTFSYTMHWVRQAPGKLEWVSFISYDGNHKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCARTGHLGPFDLWGQGTMTVYSS		38066
vlCDR1	SYTMH		38067
vlCDR2	FISYDGNHKYYADSVKG		38068
vlCDR3	TGHLGPFDL		38069
scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAAAGFTFSYTMHWVRQAPGKLEWVSFISYDGNHKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCARTGHLGPFDLWGQGTMTVYSS / GKPGSGKPGSGKPGS / EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAS QSVGSSYLAWIQKPGQAPRLLIYCASSRATGIPDRFSGSGSTDFLTISRLEPEDFAVYYCQYGSSEWTFQGQTKVEIK		38070

图10EE

[CTLA-4] H3.4_L0.130 (Fab XENP20353, scFv XENP20390)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVQPKGSLRLSCAASGFTSSYTMHWVQA NSLRAEDTAVYYCARTGHLGPFDLWGQGTMTVYSS	38071
vhCDR1	SYTMH	38072
vhCDR2	FISYDGNHKYYADSVKG	38073
vhCDR3	TGHLGPFDL	38074
scFv连接子	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	37708
可变轻 (vl) 结构域	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSSYLA FAVYYQQYGSSEFWTFGQGTKEIK	38075
viCDR1	RASQSVSSSYLA	38076
viCDR2	GASSRAT	38077
viCDR3	QQYGSSEFWT	38078
scFv	EVQLVESGGGLVQPKGSLRLSCAASGFTSSYTMHWVQA NSLRAEDTAVYYCARTGHLGPFDLWGQGTMTVYSS QSVSSSYLA FAVYYQQYGSSEFWTFGQGTKEIK	38079

图10FF

[CTLA-4] H3.4_L0.131 (Fab XENP20354, scFv XENP20391)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变速重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVQAQPGKLEWVSFTSYDGNHKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCARTGHLGPFDIWGQGTMTVTVSS	38080
vhCDR1	SYTMH	38081
vhCDR2	FISYDGNHKYYADSVKG	38082
vhCDR3	TGHLGPFDI	38083
scFv连接器	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGSG	37708
可变速轻 (vl) 结构域	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQOKPGQAPRLLIYGASSRATGTPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPED FAVYYCQYGSSEPTFGQGTKVEIK	38084
vlCDR1	RASQSVSSSYLA	38085
vlCDR2	QASSRAT	38086
vlCDR3	QYGSSEPT	38087
scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVQAQPGKLEWVSFTSYDGNHKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCARTGHLGPFDIWGQGTMTVTVSS / GKPGSGKPGSGKPGSG / EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRAS QSVSSSYLAWYQOKPGQAPRLLIYGASSRATGTPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYGSSEPTFGQGTKVEIK	38088

图10GG

[CTLA-4] H3.4 [0.132 (Fab XENP20355, scFv XENP20392)]			
名称	序列		SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVROAPGKGLEWVVSFLSYDGNHKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCARTGHLGPFDLWGQGTMTVSS		38089
	SYTMH		38090
	FISYDGNHKYYADSVKG		38091
vhCDR2	TCHLGPFDL		38092
vhCDR3	GRPGSGKPGSGKPGSG		37708
scFv连接子	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYIAWYQQKPCQAPRLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPED FVYYCQYGSSPWTFGQGTKVEIK		38093
可变轻 (vl) 结构域	RASQSVSSSYLA		38094
	GASSRAT		38095
	QYGSPPWT		38096
scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVROAPGKGLEWVVSFLSYDGNHKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCARTGHLGPFDLWGQGTMTVSS /GKPGSGKPGSGKPGSG /EIVLTQSPATLSLSPGERATLSRAS QSVSSSYIAWYQQKPCQAPRLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFVYYCQYGSPPWTFGQGTKVEIK		38097

图10HH

[CTLA-4]_H3.5_12.1 (Fab XENP20357, scFv XENP20394)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGLEWVSFISYDGNTKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCARTGHLGPFDLWGQGTMTVYSS	38098
	SYTMH	38099
	FISYDGNTKYYADSVKG	38100
vhCDR1	TGHLGPFDL	38101
vhCDR2	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	37708
vhCDR3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSSYIAWYQOKPQAPRLIIYGAFSRATGIPARFSGSGSGTEFTITISLSQSED FAVYYCQYGGSSPWTFGQGTKVEIK	38102
scFv连接子	RASQSVSSSYLA	38103
可变轻 (vl) 结构域	GAFSRAT	38104
vICDR1	QYGGSSPWT	38105
vICDR2	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGLEWVSFISYDGNTKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCARTGHLGPFDLWGQGTMTVYSS / GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS / EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRAS QSVSSSYIAWYQOKPQAPRLIIYGAFSRATGIPARFSGSGSGTEFTITISLSQSEDFAVYYCQYGGSSPWTFGQGTKVEIK	38106
vICDR3		
scFv		

图10II

[CTLA-4]_H3.5_L2.2 (Fab XENP20358, scFv XENP20395)

名称	序列	SEQ ID NO:
可 变 重 (vh) 结 构 域	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVRAQPGKGLEWVSFLSYDGNTRYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLRAREDVAVYYCARTGHLGPFDLWGQGTMTVYSS	38107
vhCDR1	SYTMH	38108
vhCDR2	FISYDGNTRYADSVKG	38109
vhCDR3	TGHLGPFDL	38110
scFv 连 接 子	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGSG	37708
可 变 轻 (vl) 结 构 域	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRAQSIVGSSYLAWYQQKPGQAPRLIYGASSRATGIPARESGSGSGTEFTLTISLSQSED FAVYYCQYGSSEWTFGQGTKEIK	38111
vlCDR1	RASQSVGSSYLA	38112
vlCDR2	GASSRAT	38113
vlCDR3	QYGSSEWT	38114
scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVRAQPGKGLEWVSFLSYDGNTRYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLRAREDVAVYYCARTGHLGPFDLWGQGTMTVYSS / GKPGSGKPGSGKPGSG / EIVMTQSPATLSVSPGERATLSRAS QSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLIYGASSRATGIPARESGSGSGTEFTLTISLSQSEDFAVYYCQYGSSEWTFGQGTKEIK	38115

图10JJ

[CTLA-4] H3.5_L2.3 (Fab XENP20359, scFv XENP20396)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变速重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVRQAPGKGLEWVSTISYDGNTRYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLRAREDVAVYYCARTGHLGPFDLWGQGTMTVSS	38116
vhCDR1	SYTMH	38117
vhCDR2	FISYDGNTRYADSVKG	38118
vhCDR3	TGHLGPFDL	38119
scFv连接子	GKPGSGKGGKPGSGKPGS	37708
可变速轻 (vl) 结构域	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSSYIAWYQOKPGQAPRLLIYGASSRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLSQSRD FAVYYCQYGSSPWTFGQGTKVEIK	38120
vlCDR1	RASQSVSSSYLA	38121
vlCDR2	GASSRAT	38122
vlCDR3	QYGSSPWT	38123
scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVRQAPGKGLEWVSTISYDGNTRYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLRAREDVAVYYCARTGHLGPFDLWGQGTMTVSS / GKPGSGKPGSGKPGS / EIVMTQSPATLSVSPGERATLSKRAS QSVSSSYIAWYQOKPGQAPRLLIYGASSRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLSQSRDFAVYYCQYGSSPWTFGQGTKVEIK	38124

图10KK

[CTLA-4] H3_L0 (Fab XENP19546, scFv XENP19553)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLV PKG SLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGLEWVSFISYDGNKKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCARTGWL GPFDYWGQGT LVTVSS	38125
vhCDR1	SYTMH	38126
vhCDR2	FISYDGNKKYYADSVK G	38127
vhCDR3	TGWL GPFDY	38128
scFv连接子	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	37708
可变轻 (vl) 结构域	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGSYIAWYQKPGQAPRLLIYCAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPED FAVYYCQYQSSPWT FGQGT KVEIK	38129
vlCDR1	RASQSVGSYIA	38130
vlCDR2	GAFSRAT	38131
vlCDR3	QYQSSPWT	38132
scFv	EVQLVESGGGLV PKG SLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGLEWVSFISYDGNKKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCARTGWL GPFDYWGQGT LVTVSS/ GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS /EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRAS QSVGSYIAWYQKPGQAPRLLIYCAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYQSSPWT FGQGT KVEIK	38133

图10LL

[CTLA-4] H3 10.22 (Fab XENP20011)			名称	序列	SEQ ID NO:
可 变 重 结 构 域	vh	CDR1	可变重 (vh)	EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGLEWVSFISYDGNKKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTGWLGPFDYWGQGTLVTVSS	38134
			vhCDR1	SYTMH	38135
			vhCDR2	FISYDGNKKYYADSVKG	38136
可 变 轻 结 构 域	vl	CDR1	vhCDR3	TGWLGPFDY	38137
			scFv连接子	GKPGSGKPGSGRPGSGKPGS	37708
			可变轻 (vl)	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSSYLA ^W YQQKPGQAPRLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYGGSPWTFGQGTKVEIK	38138
scFv	scFv	CDR1	vlCDR1	RASQSVSSSYLA	38139
			vlCDR2	GAFSRAT	38140
			vlCDR3	QQYGGSPWT	38141
			scFv	EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGLEWVSFISYDGNKKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTGWLGPFDYWGQGTLVTVSS/ GKPGSGKPGSGRPGSGKPGS/EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSSYLA ^W YQQKPGQAPRLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYGGSPWTFGQGTKVEIK	38142

图10MM

[CTLA-4]_H3_L0.44 (Fab XENP20052)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVQAQPGKGLEWVSFTSYDGNKKYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSL RAEDTAVYYCARTGWLGPFDYWGQGTLLTVSS	38143
vhCDR1	SYTMH	38144
vhCDR2	FISYDGNKKYYADSVKG	38145
vhCDR3	TGWLGPFDY	38146
scFv连接子	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	37708
可变轻 (vl) 结构域	EIVLTQSPFTLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLSWYQQKPGQAPRLIYGAFSRATGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQYGSPPWTFGQGTKVEIK	38147
vlCDR1	RASQSVGSSYLS	38148
vlCDR2	GAFSRAT	38149
vlCDR3	QQYGSPPWT	38150
scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVQAQPGKGLEWVSFTSYDGNKKYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSL RAEDTAVYYCARTGWLGPFDYWGQGTLLTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/EIVLTQSPFTLSLSPGERATLSCRASQSVGSS YLSWYQQKPGQAPRLIYGAFSRATGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSPPWTFGQGTKVEIK	38151

图10NN

[CTLA-4] H3 L0.67 (Fab XENP20018)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGLEWVSFTSYDGNKKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSL RAEDTAVYYCARTGWLGPFDYWGQGTLLVTVSS	38152
vhCDR1	SYTMH	38153
vhCDR2	FISYDGNKKYYADSVKG	38154
vhCDR3	TGWLGPFDY	38155
scFv连接器	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	37708
可变轻 (vl) 结构域	EIVLTQSPGTTLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTTISRLEPEDFAV YYCQQYGSSPWTFGQGTKEIK	38156
vlCDR1	RASQSVGSSYLA	38157
vlCDR2	DAFSRAT	38158
vlCDR3	QQYGSSPWT	38159
scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGLEWVSFTSYDGNKKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSL RAEDTAVYYCARTGWLGPFDYWGQGTLLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/ EIVLTQSPGTTLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTTISRLEPEDFAV YYCQQYGSSPWTFGQGTKEIK	38160

图1000

[CTLA-4]_H3_L0.74 (Fab XENP20020)			名称	序列	SEQ ID NO:
可 变 重 域	vh	CDR1	可 变 重 域	EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVRAQPGKLEWVSEFISYDGNKKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSL RAEDTAVYYCARTGWLGPFDYWGQGLTVTVSS	38161
			vhCDR1	SYTMH	38162
		vhCDR2	vhCDR2	FISYDGNKKYYADSVKG	38163
可 变 轻 域	vl	CDR1	可 变 轻 域	TGWLGPFDY	38164
			scFv连接子	GRFGSGRPGSGKPGSGKPGS	37708
		vlCDR2	可 变 轻 域	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAYSRATGIPDRFSGSGSGTFTLTISRLEPEDFAV YYCQYGSSPWTFGQGTKVEIK	38165
scFv	scFv	CDR1	scFv	RASQSVGSSYLA	38166
			scFv	GAYSRAI	38167
		vlCDR3	scFv	QYGSSEPT	38168
scFv	scFv	CDR3	scFv	EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVRAQPGKLEWVSEFISYDGNKKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSL RAEDTAVYYCARTGWLGPFDYWGQGLTVTVSS/GRFGSGRPGSGKPGSGKPGS/	38169
			scFv	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAYSRATGIPDRFSGSGSGTFTLTISRLEPEDFAV YYCQYGSSPWTFGQGTKVEIK	
			scFv		

图10PP

7G8_H3.30_L1.34 (Fab XENP22594)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> <u>CAASGFTFDDAMSVVRQAPCKGLEWVAEISTKANNHATYYAESVK</u> <u>GRFTISRDDSKSSVYLQMNSLR</u> <u>AEDTAVYYCTRLATWDWYFDVWGQGT</u> <u>TVTVSS</u>	38170
vhCDR1	<u>DAWMS</u>	38171
vhCDR2	<u>EISTKANNHATYYAESVKG</u>	38172
vhCDR3	<u>LATWDWYFDV</u>	38173
可变轻 (vl) 结构域	<u>DIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSV</u> <u>DYDGDSYMNVQQKPGKPKLLIYAASELESGIPARFS</u> <u>GGSGTDFLTITSSLPQDE</u> <u>FATYYCQQSNEDPFTFGSGTKLEIK</u>	38174
vlCDR1	<u>RASQSV</u> <u>DYDGDSYMNV</u>	38175
vlCDR2	<u>AASELES</u>	38176
vlCDR3	<u>QQSNEDPFT</u>	38177

图11A

2A11_H1.144_L2.142 (Fab XENP22656)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGFNIKDYFMHWQQAPGKGLEWGWIDPELGDTEYAPKFFQGR VTITADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCYARGVYQALDYWGQGTLVTVSS	38178
vhCDR1	DYFMH	38179
vhCDR2	WIDPELGDTEYAPKFFQG	38180
vhCDR3	RGVYQALDY	38181
可变轻 (vl) 结构域	DIQMTQSPAFLSVTPEKVTITCQASQDIGNYLNWFQKPGQTVKLLIYFTSYLHSGVPSRFSGSGS GTDYFTTSSLEAEDAATYFCQQGNTLPYTFGGTKVEIK	38182
vlCDR1	QASQDIGNYLN	38183
vlCDR2	FTSYLHS	38184
vlCDR3	QQGNTLPYT	38185

图11B

7G8_H3.18_L1.11 (Fab XENP21670)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLISCAASGFTFDDAWMDWVRQAPGKGLEWVAEISTKANNHATYYAESVK GRFTISRDDSKSSVYLQMSLRAEDTAVYYCTRLATWDWYFDVWGQGTIVTVSS	38186
vhCDR1	DAWMD	38187
vhCDR2	EISTKANNHATYYAESVKG	38188
vhCDR3	LATWDWYFDV	38189
可变轻 (vl) 结构域	DTVLTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSVVDYDGDSYMNVQKPKPKLLIYAASELESGIPARLS GSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQSNEDPFTFGSGTKIEIK	38190
vlCDR1	RASQSVVDYDGDSYMNV	38191
vlCDR2	AASELES	38192
vlCDR3	QQSNEDPFT	38193

图11C

2A11_H010 (Fab XENP20930)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	<u>E</u> VKLEESGGIVQPGGSMKLSCAASGFTFSDAWMDWVRQSPKGLEWVAEIRTKANNHATYYAESVK <u>G</u> RFTISRDDSKSSVYLQMNSLRAEDTGIIYCTRIANWDWYFDVWGAGTIVTVSS	38194
vhCDR1	<u>DAWMD</u>	38195
vhCDR2	<u>EIRTKANNHATYYAESVKG</u>	38196
vhCDR3	<u>IANWDWYFDV</u>	38197
可变轻 (vl) 结构域	DFVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSDYDGDSDYMMWYQQKPGQPPKLLIYAASNLESGIPARLS GSGSGTDFTLNHPVEEEDAATYYCQSNEDPFTFGSGTKLEVK	38198
vlCDR1	<u>KASQSDYDGDSDYMN</u>	38199
vlCDR2	<u>AASNLES</u>	38200
vlCDR3	<u>QQSNEDPFT</u>	38201

图11D

2A11_H1.125_L2.113 (Fab XENP21921)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISKASGENIKHYFMHWVQQAPGKGLEWGWIDPYLGDTEYAPKFFQGR VTITADTSTNTAYMELSSLRSEDATVYCYARGVYQALDYGQGGLTIVSS	38202
vhCDR1	HYFMH	38203
vhCDR2	WIDPYLGDTEYAPKFFQG	38204
vhCDR3	RGVYQALDY	38205
可变轻 (vl) 结构域	DIQMTQSPAFLSVTPEGEKVTITCQASQDIGNYLNWFQQKPDQTVKLLIYFTSYLHSGVPSRFGSGS GTDYFTFTISSLEAEDAATVFCQQGNTLPYTFGGGKVEIK	38206
vICDR1	QASQDIGNYLN	38207
vICDR2	FTSYLHS	38208
vICDR3	QQGNTLPYT	38209

图11E

2A11_H1L2 (Fab XENP20847)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISKASGFNIKDYMHVWQQAPGKGLEWMGWIDPENGDT EYAPKFEQGR VTITADTSTNTAYMELSSLRSEDAVYCYARGVROALDYWGQGTLT VSS	38210
vhCDR1	DYYMH	38211
vhCDR2	WIDPENGDT EYAPKFEQ	38212
vhCDR3	RGVROALDY	38213
可变轻 (vl) 结构域	DIQMTQSPAFLSVT PGEKVTITCQASQDIGNYLNWFQOKPDQTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGS GTDYFTTISLSLEAEDAATVFCQQGNTLPYTFGGTKVEIK	38214
vlCDR1	QASQDIGNYLN	38215
vlCDR2	YTSRLHS	38216
vlCDR3	QQGNTLPYT	38217

图11F

2A11_H1_L2.25 (Fab XENP21372)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISKASGENIKDYMHVWQQAPGKGLEWMGWIDPENGDT EYAPKFQGR VTITADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCYARGVRQALDYWGQGTILVTVSS	38218
vhCDR1	DYYMH	38219
vhCDR2	WIDPENGDT EYAPKFQG	38220
vhCDR3	RGVRQALDY	38221
可变轻 (vl) 结构域	DIQMTQSPAFLSVT PGEKVTITCQASQDIGNHLNWFQKPDQTVKILLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGS GTDYFTFISSLEAEADAIFYCQQGNTLPYTFGGGTKVEIK	38222
vlCDR1	QASQDIGNHLN	38223
vlCDR2	YTSRLHS	38224
vlCDR3	QQGNTLPYT	38225

图11G

2A11_H1_L2.47 (Fab XENP21394)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISKASGFNIKDYMHVVOQAPGKGLEWMGVIDPENGDT EYAPKFQGR VTITADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYCY ARGVROALDYWGOGTLVTSS	38226
vhCDR1	<u>DYYMH</u>	38227
vhCDR2	<u>WIDPENGDTEYAPKFQGR</u>	38228
vhCDR3	<u>RGVROALDY</u>	38229
可变轻 (vl) 结构域	DIQMTQSPAFLSVTSGEVTITCOASQDIGNYINWFQQKPDQTVKLLIYYTSHLHSGVPSRFSGSGS GTDYFTTISSEAEADAATYFCQQGNTLPYTFGGGKVEIK	38230
vlCDR1	<u>QASQDIGNYLN</u>	38231
vlCDR2	<u>YTSHLHS</u>	38232
vlCDR3	<u>QQGNTLPYT</u>	38233

图11H

2A11_H1_L2.50 (Fab XENP21401)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISKASGFNIKDYMHVWQQAPGKGLEWGWIDPENGDT EYAPK FQGR VTITADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCYARGVRQALDYWGQGFLVTVSS	38234
vhCDR1	DYYMH	38235
vhCDR2	WIDPENGDT EYAPK FQG	38236
vhCDR3	RGVRQALDY	38237
可变轻 (vl) 结构域	DIQMTQSPAFLSVTPEGKVTITCQASQDIGNYLINWFQKPEDQTVKLLIYYT SYLHSGVPSRFS GSGS GTDYTF TISSLEAEDAATYFCQQGNTLPYTFGGTKVEIK	38238
vlCDR1	QASQDIGNYLN	38239
vlCDR2	YTSYLHS	38240
vlCDR3	QQGNTLPYT	38241

图111

2A11_H112 (Fab XENP20847)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISKASGFNIKDYMHVWQQAPGKGLEWMGWIDPENGDT EYAPKFFQGR VTITADTSTNTAYNELSSLRSEDTAVYYCYARGVROALDYWGQGTLLTVSS	38242
vhCDR1	DYMH	38243
vhCDR2	WIDPENGDT EYAPKFFQ	38244
vhCDR3	RGVROALDY	38245
可变轻 (vl) 结构域	DIQMTQSPAFLSVTPEGKVTITCQASQDIGNVINWFQKPEDQTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGS GTDYFTETISSLEAEADAIFYCQQGNLTPYTFGGTKVEIK	38246
vlCDR1	QASQDIGNYLN	38247
vlCDR2	YTSRLHS	38248
vlCDR3	QQGNLTPYT	38249

图11J

7G8_H3.23_L1.11 (fab XENP21670)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDAMDWVRQAPGKGLEWVAEISTKANNHATYYAESVKGRFTISRDDSKSSVYLOMNSLRAEDTAVYYCTRLATWDWYFDVWGQGTFVTVSS	38250
vhCDR1	DAWMD	38251
vhCDR2	EISTKANNHATYYAESVKG	38252
vhCDR3	LATWDWYFDV	38253
可变轻 (vl) 结构域	DTVLTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSDVDYDGDSYMNVYQQKPGKPKLLIYAASELESGIPARLSGSGGTFDTLTISLQPEDFATYYCQSNEDPFTFGSGTKLEIK	38254
vlCDR1	RASQSDVDYDGDSYMNV	38255
vlCDR2	AASELES	38256
vlCDR3	QQSNEDPFT	38257

图11K

7G8_H3.28_L1 (Fab XENP2.1892)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDAWMDWVRQAPGKGL EWVAEISTKAYNHATYYAESVK GRFTISRDDSKSSVYLQMNSLR AEDTAVYYCTRLATWDWYFDWVGQGITVT VSS	38258
vhCDR1	DAWMD	38259
vhCDR2	EISTKAYNHATYYAESVKG	38260
vhCDR3	LATWDWYFDV	38261
可变轻 (vl) 结构域	DTVLTSQSPSSLSASVGDRTTITCRASQSV DYDGDSYMNWYQQKPGKPKLLIYAASNLESGIPARLS GSGSGFDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQSNEDPFTFGSGTKLEIK	38262
vlCDR1	RASQSV DYDGDSYMN	38263
vlCDR2	AASNLES	38264
vlCDR3	QQSNEDPFT	38265

图11L

7G8_H3.28_L1.11 (Fab XENP21893)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDAWMDWVRQAPCKGLEWVAEISTKAYNHATYYAESVK GRFTISRDDSKSSVYLQMNSLRRAEDTAVYYCTRLATWDWYFDWVGQGTIVVSS	38266
vhCDR1	DAWMD	38267
vhCDR2	EISTKAYNHATYYAESVKG	38268
vhCDR3	LATWDWYFDV	38269
可变轻 (vl) 结构域	DTVLTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSDVDYDGDSYMNVQQKPGKPKLLIYAASELESGIPARLS GSGSGTDFLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPFTFGSGTKLEIK	38270
vlCDR1	RASQSDVDYDGDSYMNV	38271
vlCDR2	AASELES	38272
vlCDR3	QQSNEDPFT	38273

图11M

7G8_H3.28_L1.13 (Fab XENP21894)

名称	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDAWMDWVRQAPGKGLEWVAEISTKAYNHATYYAESVK GRFTISRDDSKSSVYLQMNSLRRAEDTAVYYCTRLATWDWYFDVWGQGTIVTVSS	38274
vhCDR1	DAWMD	38275
vhCDR2	EISTKAYNHATYYAESVKG	38276
vhCDR3	LATWDWYFDV	38277
可变轻 (vl) 结构域	DTVLTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSVVDHGDGDSYMNWYQKPKPKLLIYAASELESGIPARLS GSGGTDFTLTISSLQPEDEFTATYYCQSNEDPFTFGSGTKLEIK	38278
vlCDR1	RASQSVVDHGDGDSYMN	38279
vlCDR2	AASELES	38280
vlCDR3	QQSNEDPFT	38281

图11N

(抗BTLA4可变重和轻链+CDR)

名称: 抗BTLA XENP20269 9C6_H010	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	QVQLKESGPGLVAPQSQSLSTCTVSGFSLTGYGVNVRQPPGKGLEWLGMIWIDGSTCYNSALKSRLSIN KDNRSQVFLKMNSLOTDDIARYYCAPDRPDGRAMDYWGQTSVTVSS	38282
vhCDR1	GYGVN	38283
vhCDR2	MIWIDGSTDYNALKS	38284
vhCDR3	DRPDGRAMDY	38285
可变轻 (vl) 结构域	SIVMTQTPKFLIVSAGDRVTITCKASQSVNDVAWYQQKPGQSPKLLIYYASNRYTGVPDRFTGSGYCTD FTFTISTVQAEFLAVYFCQCDYSSPTFGGKLEIK	38286
vlCDR1	KASQSVNDVA	38287
vlCDR2	YASNRYT	38288
vlCDR3	QQDYSSPT	38289

图12A

名称: 抗BTLA XENP208729C6_H1.1L1	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	QVQLKESGAEVKKPKGASVKVCKVSGFSLTGYGVNVRQA ^P QGLEWMGMIWIDGSTDYNSKFQGRVTMT KNSKSTVYMEISSLRSEDTAVYYCARDRDPDGRAMDYWGQGTMTVYSS	38290
vhCDR1	GYGVN	38291
vhCDR2	MIWIDGSTDYNSKTFQG	38292
vhCDR3	DRPDGRAMDY	38293
可变轻 (vl) 结构域	SIVMTQSPDPSLAIVSLCERATINCKASQSVSNDVAVYQQKPGQSPKLLIYYASNRYTGV ^P DRFTGSGYGTGTD FTLTISSLQAEDEVAVYFCQQDYSSPTFGGGTKLEIK	38294
vlCDR1	KASQSVSNDVA	38295
vlCDR2	YASNRYT	38296
vlCDR3	QQDYSSPT	38297

图12B

(抗BTLA4可变重和轻链+CDR)

名称: 抗BTLA XENP020882 9C6_H1.1111	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	QVQLVOSGAEVKKPGASVKVSCKVSGFSLTGYGVNWVRQAPGQGLEWMGMITWIDGSTDYNKFKGRLSIN KDNKSTVYMEISSLRSEDTAVYYCARDPRPDGRAMDYWGQGTMTVSS	38298
vhCDR1	GYGVN	38299
vhCDR2	MIWIDGSTDYNKFKG	38300
vhCDR3	DRPDGRAMDY	38301
可变轻 (vl) 结构域	SIVMTQSPDLSAVSLGERATINCKASQSVSNDVAWYQOKPGOSPKLLIYYASNRYTGVPDRFTGSCYCTD FTLTISLSLOAEDVAVYFCQQDYSSPTFGGGTKLEIK	38302
vlCDR1	KASQSVSNDVA	38303
vlCDR2	YASNRYT	38304
vlCDR3	QQDYSSPT	38305

图12C

(抗TIM3可变重和轻链+CDR)

名称: 抗TIM3 XENP21503 1D10_H010	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVKPGGSLKFSCAASGFAFSSFDMSWVRQTPEKRLEWVAYISSDGASTFYPD TM TKGRFTI SRD ^{NA} KNTLYLQMS ^{SL} KS ^{ED} TAMYCY ^{TR} L ^{GA} YWGGQ ^{GL} TVTVSA	38306
v ^h CDR1	SFDM	38307
v ^h CDR2	YISSDGASTFYPD TM MKG	38308
v ^h CDR3	LGAY	38309
可变轻 (vl) 结构域	DVMTQTPLT ^{LS} VTIGQPASISCKSSQSL ^{LD} SDGKTYLNWLLQRPQSPKRLIYL ^{VS} KL ^{DS} GV ^{PD} DRFTGS GSGTDFTLKISRVEA ^{ED} LG ^{VY} YC ^{WQ} THFPYTFGGG ^{TK} LEIK	38310
v ^l CDR1	KSSQSL ^{LD} SDGKTYLN	38311
v ^l CDR2	VSKLDS	38312
v ^l CDR3	WQTHFPYT	38313

图13A

名称: 抗TIM3 XENP21492 1D12_H010	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVQLVESGGGLVHPGGSLLKFSCAASGFAFSSFDMSWVRQTPEKRLWVAYISSDGASTFYPTMKGRFTI SRD NAKNTLYIQMSSLKSEDT AMYYCTRLGAYWGQGLVTVYSA	38314
vCDR1	SFDMS	38315
vCDR2	YISSDGASTFYPTMKG	38316
vCDR3	LGAY	38317
可变轻 (vl) 结构域	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVEYYGTSIMQWYQOKPGQPPKLLIYAASNVESGVPARFSGSG SGTDFSLNIHPVEEDDIAM YFCQSRKVPWT FGG TKLEIK	38318
vCDR1	RASESVEYYGTSIQ	38319
vCDR2	AASNVES	38320
vCDR3	QQSRKVPWT	38321

图13B

(抗TIM3可变重和轻链+CDR)

名称: 抗TIM3 XENP21189 3H3_H1L2.1	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	QVTLKESGPVIVKP ² ETETLFLACTVSGFSLNGYGVNWVRQPPGKGLEWLA ¹ MIWGDGSTDYNSALKSR ¹ L ¹ TIS KD ¹ NSK ¹ SQV ¹ LTNTNMDPVD ¹ TATYYCAR ¹ SY ¹ TSDE ¹ YWGQGT ¹ LVTVSS	38322
vhCDR1	GYGVN	38323
vhCDR2	MIWGDGSTDYNSA ¹ L ¹ KS	38324
vhCDR3	SY ¹ TSDE ¹ Y	38325
可变轻 (vl) 结构域	DI ¹ VTQSP ¹ DS ¹ LAVSLGERATINCKSSQSL ¹ NSRTRK ¹ NYLA ¹ WYQOKPGQSPK ¹ LLIYWASTRESGV ¹ PD ¹ RF ¹ TG SGSG ¹ TD ¹ FT ¹ LTISS ¹ LQAE ¹ DVAVYYCKQSYSLR ¹ TFGG ¹ TKVEIK	38326
vlCDR1	KSSQSL ¹ NSRTRK ¹ NYLA	38327
vlCDR2	WASTRES	38328
vlCDR3	KQSYSLRT	38329

图13C

名称: 抗TIM3 XENP21493 6C8_H0L0	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	QVQLKESGPGLVAPQSQSLTCTVSGFSLNGYGVNWRQPPGKGLEWLGMIWGDGSTDYNALKSRLSIS KDNRSQVFLKMNSLQDDTARYYCARSYTSDEDIWGQGLTVTSA	38330
vHCDR1	GYGVN	38331
vHCDR2	MIWGDGSTDYNSALKS	38332
vHCDR3	SYTTSDEDIY	38333
可变轻 (vl) 结构域	DIVMTQSQKTMSTSVGDRVSVTCCKASQNVGSNVAWCQOKPGQSPKALLYSASFRTSGVDPDRFTGSGSGTID FTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNISYPYTFGGTKLEIK	38334
vLCDR1	KASQNVGSNVA	38335
vLCDR2	SASFRTYS	38336
vLCDR3	QQYNISYPYT	38337

图13D

(抗TIM3可变重和轻链+CDR)		
名称: 抗TIM3 XENP21494 6D9H0_1D12_0	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	QVQLKQSGPGLVQPSSLSITCTVSGFSLTSYGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSGGSTEYNAAFISRLSIS KDNSKQVFFKMNSLQADDTAIYYCARGGLSPFDYWGQGTTLTVSS	38338
vhCDR1	SYGVH	38339
vhCDR2	VIWSGGSTEYNAAFIS	38340
vhCDR3	GGLLSPFDY	38341
可变轻 (vl) 结构域	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGQPPLLIYAASNVESGVPARFSGSG SGTDFSLNIHPEVEEDDIAMYFCQSRKVPWFIFGGGTKLEIK	38342
vlCDR1	RASESVEYYGTSLMQ	38343
vlCDR2	AASNVES	38344
vlCDR3	QQSRKVPWT	38345

图13E

名称: 抗TIM3 XENP214957A9_H0L0	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVKLLSGGGLVQPGGSLKLSCAAGDFSRYYMSWVRQAPGKGLEWIGEINPDSSSTINYTPSLKDKELI SRDNAKNTLYLQMSKVRSEDTALYYCARPNGYVVGTFIEFFAYWGQGLTVTSA	38346
vhCDR1	RYWMS	38347
vhCDR2	EINPDSSSTINYTPSLKD	38348
vhCDR3	ENGYVVGTFIEFFAY	38349
可变轻 (vl) 结构域	QAVVTOESALTTSPGETVTTLICRSSSTGAVTTSNYANWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIG DKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNHWVFGGTKLTVLG	38350
vlCDR1	RSSTGAVTTSNYAN	38351
vlCDR2	GTNNRAP	38352
vlCDR3	ALWYSNHWV	38353

图13F

(抗TIM3可变重和轻链+CDR)

名称: 抗TIM3 XENP21496 7B11_H0L0	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	QVQLKQSGGGLVQPSSQLSTCTVSGFSLTSYAVNWVROSPGKLEWLGVIWSGGSTDYNAAFISRLSIS KNSKSKQVFFMNSLQANDTAIYYCVSLYYRYDGFYWGQGLTVTSA	38354
vHCDR1	SYAVN	38355
vHCDR2	VTWSGGSTDYNAAFIS	38356
vHCDR3	LYRYDGFY	38357
可变轻 (vl) 结构域	DIVLTQSQKFTLSTSVGDRVSVTCKASQNVGTHVARYQOKPGQSPKALVYSASYRYSGVDPDRFTGSGGSTD FTLTISNVQSEDLAEYFCQYNSYPLTFFGGTKLEIK	38358
vLCDR1	KASQNVGTHVA	38359
vLCDR2	SASYRYS	38360
vLCDR3	QQNSYPLT	38361

图13G

名称: 抗TIM3 XENP21501 B11var_HOLO	序列	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	QVQLKQSGPGCLVQPSQSLSTICTVSGFSLTSYAVNWRQSPGKGLEWLGVIWSGGSTDYNAAFIISRLSIS KNSKSKQVFFKMNSLQADDTAIYYCVSLYYRYDGFYWGQGLVTYSA	38362
vHCDR1	SYAVN	38363
vHCDR2	VIWSGGSTDYNAAFIS	38364
vHCDR3	LYRYDGFY	38365
可变轻 (vl) 结构域	DIVLTQSQKELSTSVGDRVSVTCASQNVGTHVARYQQKPGQSPKALVYSSYRYSYGVFDRFTGSGSGTD FTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNSTPLTFGGGTKLEIK	38366
vLCDR1	KASQNVGTHVA	38367
vLCDR2	SASYRYS	38368
vLCDR3	QQYNSTPLT	38369

图13H

(抗TIM3可变量和轻链+CDR)

名称: 抗TIM3 XENP215027C2_H0L0	sequence	SEQ ID NO:
可变重 (vh) 结构域	EVKVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSRYAMSWVRQTPEKRLIEWVASISGGSTYYPD ¹ SYQGRFTIS RDNARNILLYLQMSSLSRSEDTAMYYCARGDYEGYFDYWGQGTSLTVSS	38370
vHCDR1	RYAMS	38371
vHCDR2	SISGGSTYYPD ² SVQG	38372
vHCDR3	GDYEGYFDY	38373
可变轻 (vl) 结构域	DI ³ VTQSPSSLAMSVGQKV ⁴ TM ⁵ CKSSQSL ⁶ LNSINQKN ⁷ YLAWYQ ⁸ QKPGQSPK ⁹ LLVYFAS ¹⁰ TRESGV ¹¹ PD ¹² RF ¹³ IG SGSGTDF ¹⁴ TLTIS ¹⁵ SVQAE ¹⁶ LD ¹⁷ YFCQ ¹⁸ QHYST ¹⁹ PLT ²⁰ FGACT ²¹ KLE ²² LK	38374
vLCDR1	KSSQSL ²³ LNSINQKN ²⁴ YLA	38375
vLCDR2	FASTRES	38376
vLCDR3	QQHYST ²⁵ PLT	38377

图13I

(CTLA-4 X PD-1)

XENP19738

XENP019738 伊匹单抗_H3L0-1G6_L1.210_H1.288 Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38378-38382)
 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYTMHWVRQAPGKGLWVSFISYDNKKYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMSLRAEDEVAVYYCARTGWLGFDDYWGQGTLLVTVSS/ASTKGFSVFP
 LAPSSKSTSGCTAALGCLVVDYFPEPTVTSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGCTQYICNVNHPKSDTKVDKKVEPKSCDKTHCTPCPCPAPFVAGPSVFLFPPKPKDTIMISRTF
 EVTCVVVDVQKHEDPEVKENWYVDGVEVHNKT KPREESYNTYRVSVLVVHLVHQQDLNGKRYCKVSNKALPAFIEKTIISKAKGQPREPQVYITLPPSRREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSSDI AVEWESDQ
 PENNYKTTTPPVLDSDGSEFFLYSKLTAVDKSRNEQGDVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP019738 伊匹单抗_H3L0-1G6_L1.210_H1.288 scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38383-38392, 连接子公开为SEQ ID NO: 37708)
 EIVLTQSPATLSASPGERVTLTCRASQSVGNVDVAVYQKRPQAPRLLINYNASHRYTGVDPDRFTSGSGYGTFTFTISSVQSEDEGVYCCQDFFSSPRTEGCGTKVEIK/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/
 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASSGFTFSNYMMWVRQAPGKGLWVAEIRLYSNVATHYAESVKGRTISRDDSKSTLYLQMNKLKTEDTGVYICTRYIGNYGGYFDVWGRTLLVTVSS/EPKSSD
 KTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTIMISRTPEVTCVVVDVQKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNKT KPREEQYNSTYRVSVLVVHLVHQQDLNGKEYCKVSNKALPAFIEKTIISKAKGQPREPQVYITL
 PPSREQMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRNQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP019738 伊匹单抗_H3L0-1G6_L1.210_H1.288 轻链 (SEQ ID NOS 38393-38397)
 EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPWTFGQGT KVEIK/RTVAAPSVEIFPPPSDEQLK
 GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSLTLSKADYERHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图14A

XENP19739

XENP019739 伊匹单抗_H3L0-1G6_H1.279_L1.194 Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38398-38402)
EVQLVESGGGLVAPGGSRLRLSCAASGFTFSYTMHWVRQAPGKGLWVSFLSDGNKKYADSVKGRFTISRDNANKSLYLQNNSLRAEDTAVYYCARTGLGPEFYWGQGTIVTVSS/ASTKGPSVFP
IAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVFPSSSLGTQTYICNVNHHKPSDTKVDKKVEPKSCDKHTCTPCPAPFVAGSEVLFPPKPKDTLMISRTPE
EYTCVVVDVQKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREERYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYITLPPSRRENTKKNQVSLTCDVSGFGFYPSDIAVEWESDQ
PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTIVDKSRWEQGVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP019739 伊匹单抗_H3L0-1G6_H1.279_L1.194 scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38403-38412, 连接子公开为SEQ ID NO: 37708)

EVQLVESGGGLVAPGGSRLRLSCVASGFTFSNTYMMNWVRQAPGKGLWVAEIRLYSNNTATHYAESVKGRTISRDDSKSTLYLQNNLKTEDTGYYCTRYNGYGGYFDVWGRGTLTVTVSS/GKPGSG
KPGSGKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSASPGERVTLTCRASQSVGVNDVAVYQOKPGCAPRLINVAISHRYTGVDPDRFTGSGYGTETPTLTISSVQSEDFGVYCCQDSESSRTFGGGTKVEIK/BPKSSD
KTHCTPCPAPPVAGPSVFLFPFKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVQKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYITL
PPSRQMTKNQVQLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTIVDKSRWQGVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP019739 伊匹单抗_H3L0-1G6_H1.279_L1.194 轻链 (SEQ ID NOS 38413-38417)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQOKPGQAPRLITYGAFSRATGIPDRFGSGSGTDFTLTITSRLEPDEFAVYYCQYGGSPWTIFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLK
GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYERHKVYACEVTHQGLSLSPVTKSENRGEC

图14B

(CTLA-4 X PD-1)

XENP19741

XENP019741 伊匹单抗_H3L0-1G6_L1.194_H1.279 Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38418-38422)
 EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVRQAPGKGLEWVSFISYDGNRKYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMSLRAEDTAVYYCARTGWLGPEDYWGQGITLVYSS/ASTKGFVSFP
 LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKYDKKVEPKSCDKHTCTPCPCPAPVAGPSVLEFPEPKKDTLMISRTF
 EFTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEYNSTYRVSVLTAVLHQDWLNGKEYCKVKSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRREEMTKNQVSLTCTDVSGEYPSDIAVEWESDQG
 PENNYKTTTPPVLDSDGSFFELYSKLTVDKSRWEGQGVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP019741 伊匹单抗_H3L0-1G6_L1.194_H1.279 scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38423-38432, 连接子公开为SEQ ID NO: 37708)

EIVLTQSPATLSAIPGERVTLTCRASQSVGNDVAWYQKPGQAPRLIINVASHRVTGVPDRFTGSGYGTFTLTITSSVQSEDFGVYCCQDFSSPRTFGGTKVEIK/GKPGSKPGSGKPGSGKPGS/
 EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCVASGFTFSNYWMNWRQAPGKGLEWVAEIRLYSNVATHYAESVKGRFTISRDDSKSTLYLQMNLTEDTGVYCYTRYGNIGYGFDMWGRGTLVTYSS/EPKSSD
 KTHTCPCPAPPVAGPSVLEFPEPKKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTRPREEQYNSTYRVSVLTAVLHQDWLNGKEYCKVKSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
 PPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFELYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP019741 伊匹单抗_H3L0-1G6_L1.194_H1.279 轻链 (SEQ ID NOS 38433-38437)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQKPGQAPRLIIVGAFSRAITGIPDRFSGSGGTDFLTITISRLPEPDFAVYYCCQYGSPPWTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKLS
 STASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图14C

XENP20053

XENP020053 伊匹单抗_H3L0.22-1G6_L1.194_H1.279 Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38438-38442)
 EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWRAQPGKGLWVSEISYDGNKKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTAVYYCARTGMLGPDYWGQGTILTVSS/ASTKGPSPFP
 LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSNVNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTPSSSLGTQTYICNVNHPKSDTKVDKVEPKSCDKHTCPCPAPFVAGPSVLEFPKPKDITLMISRTF
 EFTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKPREEEYNSTRYVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRREENTKNQVSLTCDVSGGFPSPDIAVEWESDGG
 PENNYKTTTPVLDSDSGSFYLYSKLTVDKSRWEEQGVDFVSCVMHEALHNHYTQKSLSISPGK

XENP020053 伊匹单抗_H3L0.22-1G6_L1.194_H1.279 scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38443-38452, 连接子公开为SEQ ID NO: 37708)

EIVLTQSPATLSASPGERVTTCRASQSYGNDAWYQQKPGQAPRLINYNASHRYTGVPRDFTGSGYGTETFTITSSVQSEDFGVYQQQDFSSPRTFGGGTKEIK/GKPGSGKPGSGKPGSG/

XENP020053 伊匹单抗_H3L0.22-1G6_L1.194_H1.279 轻链 (SEQ ID NOS 38453-38457)

EIVLTQSPGTLSPGGRATISCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLIIYCAFSRATGIPDRFSGSGSTDTFTLTISRLEPEDFAVYYCQYQSGSPWTFGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKKS
 GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYERHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图14D

(CTLA-4 X PD-1)

XENP20066

XENP020066 伊匹单抗_H3_L0_22-1g6_H1_279_I1.194 Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38458-38462)
 EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVRQAPGKLEWVSFISYDGNKKYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTGHLGPFEDYWGQGITLVTVSS/ASTKGPSVF?LAPSSKSTSGGTAAIGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLISVTVFSSSLGTQYICNVNHHKPSDTKVDKVEPKSCDKTHCTPCPCPAPPVAGPSVTLFPKPKDTIMISRT?EVTICVVVDVKHEDPEVZENWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVSVLVLVHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYITLPPSRREMTKNQVSLTCDVSGFYPESDIAREWESDGGPENNYYKTTTPVLDSDSGSFFLYSKLTVDKSRWEQGGVDFSGSVMEALHNHYTQKSLSISPGK

XENP020066 伊匹单抗_H3_L0_22-1g6_H1_279_I1.194 scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38463-38472, 连接子公开为SEQ ID NO: 37708)

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVAGSFTFSNTYMMWVRQAPGKLEWVAEIRLYSNNTYATHYAESVKGRTISRDDSKSTLYLQMNNLKTEDTGYYCTRYGNYGGYEDVMGKGTITLVTVSS/GKPGSGKPGSGKPGK?GS/EIVLTQSPATLSAPGGERVTLTCRASQSVGNDVAVYQKPGQAPRLLINVAISHRYTGVDPDRFTSGYCTEFTLTISVQSEDPGVYCCQDSESSPRTFGGGTKVEIK/EPKSSDKHTCCPCPAPPVAGPSVTLFPKPKDTIMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYITLPPSRREQMTRNQVKLTCLVKGFFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDSGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSISPGK

XENP020066 伊匹单抗_H3_L0_22-1g6_H1_279_I1.194 轻链 (SEQ ID NOS 38473-38477)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFGSGSGTDFTLTISKLEPEDFPAVYYCQYQYGSPPWTFGGGTKEIK/RTVAAPSVTIFPPPSDEQLKSGTASVYCLINNYFREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图14E

XENP20130

XENP020130 伊匹单抗_H3_L0.22-1g6_L1.210_H1.288 Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38478-38482)
 EVQLVESGGGLVPRGGSRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGLWVSFISYDGNKKYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQNNSLRAEDTAVYYCARTGHLGPFDYWGQGTLLTVSS/ASTKGPSVFPP
 LAPSSKSTSGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVTPSSSIGTQTYICNVNHNKPSDTKVDKKVEPKSCDKHTCTPCPADPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTTP
 EFTCVVVDVKHEDPEVKENWYDGVFVHNKT KPREEXNSTRYVSVLTFLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRREMTKNQVSLTCDVSGFYPSTIAVEWESDQG
 PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEEQGVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP020130 伊匹单抗_H3_L0.22-1g6_L1.210_H1.288 scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38483-38492, 连接子公开为SEQ ID NO: 37708)

EIVLTQSPATLSASPGGERVTLTCSRASQSVGNDVANYQKPGQAPRLLIYNASHRYTGVPDRFTGSGYGTFTLTISVVQSEDFGVYYCQDDESSPRTFGCCTKVELK/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/
 EVQLVESGGGLVPRGGSRLSCVAGSFTFSNYMHWVRQAPGKCLWVAIRLISNNYATHYAESVKGRTISRDDSKSTLYLQNNLKTEDTGYYCTRYIGNYGGYFDVWGRGTLLTVSS/EPKSSD
 KHTCTPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTIMI SRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKENWYDGVFVHNKT KPREEQYNSTRYVSVLTFLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITL
 PPSREQMTKNQVLTCLVKGFTYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVTFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP020130 伊匹单抗_H3_L0.22-1g6_L1.210_H1.288 轻链 (SEQ ID NOS 38493-38497)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQKPGQAPRLLIYCAFSRAIGIPDRFGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYQGSSEPTFGQGT KVEIK/RTVAAPSVFIFPPPSDEQLKS
 GTASIVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEHKHYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图14F

(CTLA-4 X PD-1)

XENP20146

XENP020146 伊匹单抗_H3_L0.22-1G6_H1.280_L1.224 Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38498-38502)
 EVQLVESGGGLVPRGGSRLRSCTAASGFTTSSYTHHWRAAPGKLEWVSFISYDGNKYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQNNSLRAEDTAVYYCARTGWLGPFDYWGQGTLVTVSS/ASTKGPSVFPP
 LAPSSKSTSGGTAALGLCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVFPSSSLGTQTYICNVNKKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHCTPCPPAPFVAGPSVTFPPKPKDITLMISRTP
 EVTCVVVDVQKHEDPEVFNWYVDGVGEVHNATKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRFEENTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGG
 PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEGQDVFSCSVNHEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP020146 伊匹单抗_H3_L0.22-1G6_H1.280_L1.224 scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38503-38512, 连接子公开为SEQ ID NO: 37708)

EVQLVESGGGLVPRGGSRLRITCVASGFTFSNYMNNWRQAPGKLEWVAEIRLYSNNYATHYAESVKGRFTISRDDSKSTIYLQNNLKTEDTGYYICTRYIGNYGGYEDWMGRGTLVTVSS/GKPGSG
 KPGSGRPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSVSPGERVLTTCRASQSVGNDAVYQQKPGQAPRLIIYASHRYTSVPDRFTGSGYGTETFLTITSSVQSEDFAVYYCQQDWSSPRTFGGKTKVEIK/EPKSSD
 KTHCTPCPPAPFVAGPSVTFPPKPKDITLMISRTPENTCIVVDVQKHEDPEVFNWYVDGVGEVHNATKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
 PESREQMTRKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSCSVNHEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP020146 伊匹单抗_H3_L0.22-1G6_H1.280_L1.224 轻链 (SEQ ID NOS 38513-38517)

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLIIYGAFSRAIGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDEFAVYYCQQYGSSPMTFGQGTKEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLK
 GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

图14G

XENP20717

XENP020717 伊匹单抗_H3_L0.22-1G6_L1.194_H1.279_M428L/N434S_Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38518-38522)
 EVQLVESGGGLVAPGGSRLRSCAASGFTFSYTHRWQAQPGKGLEWVSFISDGNKYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMSLRAEDTAVYICARTGMLGPPEDYWGOGTLVTSS/ASTKQPSVFP
 LAPSSKSTSGGTAAALGCLVRYDFPEPVTVSNWGAHSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVFSSLSGTQTYICNVNKHFTSDTKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP
 EYTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRREEMTKNQVSLTCTDWSGFPSPDI AVEWESDQG
 PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEGQGFVSCSVLHEALHSHYTKQKLSLSLSPGK

XENP020717 伊匹单抗_H3_L0.22-1G6_L1.194_H1.279_M428L/N434S_scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38523-38532, 连接子公开为SEQ ID NO: 37708)

EIVLTQSPATLSASPGHERVTLTCRASQSVGNDVAVYQOKPGQAPRLILINVASHRITGVDPDRFTGSGYCTEFTLTISVQSEDFGVYCCQDDFSSPRTFGGTKVEIK/GKPGSGKPGSGKPGSGS/
 EVQLVESGGGLVAPGGSRLRSCVASGFTFSNWNWVRQAQPGKLEWVAEIRLYSNVYATHYASVKGRTISRDDSKSTLYLQMNLTEDTGYYICTRYGNYGGYEDVWCRTGLVTSS/EPKSSD
 KHTCCPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITL
 PPSREQMTRKNQVKLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQFENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSVLHEALHSHYTKQKLSLSLSPGK

XENP020717 伊匹单抗_H3_L0.22-1G6_L1.194_H1.279_M428L/N434S_轻链 (SEQ ID NOS 38533-38537)
 EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQOKPGQAPRLILYGAFSRAIGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDEFAVYCCQYCGSSPMTFGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKS
 GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYERHKVYACEVTHQGLSPPVTKSFNRGEC

图14H

(CTLA-4 X PD-1)

XENP22836

XENP022836 2E9_H1L1_Fab-[CTLA-4]_H3_23_I0.129_scFv HC-Fab (SEQ ID NOS 38538-38542);
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTNYLWGVRQAPGGGLEWGMGFYPCSSNTYYNEKFGQGRVTMTADKSIATAWELSRLSDDTAAYFCARHYGTNYRYFDYWGAGTILVTYSS/ASTKGPSV
 FPLAPSSKSTSGGTAAAGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPVPSSTLTQTYICNNHKKPSDTKVDKVEPKSCDKTHTPCCPAPPVAGPSVFLFPKPKDITIMISR
 TPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEYNSITRYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESD
 GQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEGDVFSCSVMEALHNHYTQKSISLSPGK

XENP022836 2E9_H1L1_Fab-[CTLA-4]_H3_23_I0.129_scFv HC-scFv (SEQ ID NOS 38543-38552;连接子公开为SEQ ID NO: 37708)
 EVQLVESGGGLVKPGSLRLSCAASGFTFSYTHHWVRQAPGKGLWVSIYSIDGNKYKYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSRAEDTAVYYCARGHGLGPFDLWGQGTMTYVSS/GKPGSGKPGS
 GKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLIYGCASSRATGIPDRFSGSGCTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYGGSPWTFGQGTKVELK/EPKSSDKTH
 TCPPCPAPPVAGPSVFLFPKPKDITIMISRTPETVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
 REQMTKMQVKLTCLVKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSISLSEPK

XENP022836 2E9_H1L1_Fab-[CTLA-4]_H3_23_I0.129_scFv 轻链 (SEQ ID NOS 38553-38557)
 DIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVNDVAVYQQKPGQSPRLIYYASNNRYTGPVDRFTSGYGHDFTLTISRLEPEDFAVYFCQQDYSSPYTFGGGTKVELK/RTVAAPSVFTIFPPPSDEQLKSG
 TASVVCILNNFYPREAKVQWIKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSLSTITLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSLSPVTKSFNRGEC

图14I

(LAG-3 X PD-1)

XENP20206

XENP020206 2A11_H1L2-1G6_L1.194_H1.279 Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38558-38562):
 EVQLVQSGAEVKKRQGTAVKIISKASGFTNIKDYIMHWQAPGKLEWGMIDPENGDEYAPKFGQRTITADITSTNTAYMELSLASEDTAVYCYARGVRQALDYWGQTLVTSS/ASTKGPSVFP
 LAPSSKSTSGGTAALGCLVKKDYFEPPTVSVNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSDTKVDKVEPKSCDTHTCPCPAPFVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTF
 EVTCVVVDVWVDEPEVKENWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCTDVSQGYFESDIAVEWESDGG
 PENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEEQGVDFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP020206 2A11_H1L2-1G6_L1.194_H1.279 scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38563-38572, 连接子公开为SEQ ID NO: 37708),
 EIVLTQSPATLSASPGERVTLTCRASQSVGNVDVAYQKPGQAPRLINLYASHRYTGVPDRFTGSGYGEFTLTISSVQSEDFGVYCCQDFSSPRTFGGTTKVEIK/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/
 EVQLVESGGGLVFRPGGSLRLSCVAGSFTFSNYMMWVWVQAPGKLEWVAIRLYSNVYATHYAESVAGRTISRDDSKSTLYLQNNLKTEDTGVIYCTRIYGNIGGYFDVWGRGTLVTSS/EPKSSD
 KHTCCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVWVDEPEVKENWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYITL
 PPSREQMKNQVKLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP020206 2A11_H1L2-1G6_L1.194_H1.279 轻链 (SEQ ID NOS 38573-38577)
 DIQMTQSPALFSLVTPGEKVTITCQASQDIGNYLNWFOQKPDQTVKLLIYYTSTRLHSGVPSRFSGSGSGFDYFTTISGLEAEDAATYFCQQGNTLPLYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT
 ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图15A

XENP21582

XENP021582 2A11_H1_L2.91_Fab-1G6_L1.194_H1.279_Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38578-38582)
 EYQLVQSGAEVKKPGATVKLSCKASGFNIKDYIMHWQQAQPCGKLEWMMGWLDPENGITEXAPKQGRVLTITADTSTNTAYMELSLRSEDTAVYYCYARGYRQALDYWCQGTLLVTYSS/ASTKGPSVEP
 LAPSKSTGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSGGLYSLSVTPSSSLGTQYICNVNHPKSDTKVDKRVKPKCDKTHCPCPAPFVAGPSVLEFPKPKDTLMISRTTP
 EVTCVVVDVNHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKPREEYFNSTYRVVSVLVTHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCDVSSEYFSDIAVEWESDQG
 PENNYKTTTPVLDSDGSFFELYSKLTVDKSRWEEQGVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP021582 2A11_H1_L2.91_Fab-1G6_L1.194_H1.279 scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38583-38592, 连接子公开为SEQ ID NO: 37708)

EIVLTQSPATLSASPGSERVTLTCRASQSVGNDAWYQOKPGQAPRLLIINYASHRYTGVPRFTSGSYGTEFTLTSSVQSEDFGVYCCQDDFSSPRTFGGTKVEIK/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/
 EYQLVESGGGLVAPGGSRLRLSCVASGFTFSNYYMMNWVRQAPCGKLEWVAEIRLYSNNTYATHYAESVKGRTISRDDSKSTLYLQMANLKTIEDTGVYICTRYYGNYGGYEDVWGRGTLVTVSS/EPKSSD
 KTHTCPCFAPFVAGPSVLEFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVNHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKPREQYINSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITL
 PPSREQMTRKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFELYSKLTVDKSRWEEQGVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP021582 2A11_H1_L2.91_Fab-1G6_L1.194_H1.279 轻链 (SEQ ID NOS 38593-38597)

DIQMTQSPAFLSVTPEKVTITCQASQDIGNYINFWQKPGQTVKLLIYTSRLHSGVPSRFGSGSGTDYTFITSSLEAEDAATYFCQOGNTLIPYTFGGGTKEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
 TASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKLSLTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图15B

(LAG-3 X PD-1)

XENP21584

XENP021584 2A11_H1_L2.93 Fab-1G6_L1.194_H1.279 Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38598-38602)
 EVQLVQSGAEVKKPGATVKIISKASGFNIKDYMHVWQQAPGKGLWMGNIIDPENGDEYAPKFGQGVITITADTSTNTAYMELSSLSRSEDTAVYCYARGYRQALDYWGQGITLVTVSS/ASTKGPSVFP
 LAPSSKSTSGGTALGCLVKDYFPEPTVYSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVFSSSLGTQYICNVNHRKPSDTKVKKEPKSCDKHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
 EVTCVVVDVCKHEDEPKENWYVDGVEVHNATKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYITLPPSRDEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVWESDQ
 PENNYKTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWEGQDFVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSISPGK

XENP021584 2A11_H1_L2.93 Fab-1G6_L1.194_H1.279 scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38603-38612, 连接子公开为 SEQ ID NO: 37708)
 EIVLTQSPATISAPGERVTTICRASQSYGNDVAMVYQKPGQAPRLINIVASHRYTGVDFRFTGSYGTEFTITISSVQSEDFGVYCCQDFSSPRTFGGGTKEIK/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/
 EVQLVESGGGLVAPGGSILRLSCVASGFTFSNVMWVRQAPGKGLWVAIRLYSNVATYAEISVKGRTISRDDSKSTLXLQMNLIKTEDTGVIYCTRIYGYGDFVWCRGTLTVTVSS/EPKSSD
 KTHCTPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKPREEQNKSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYITL
 PPSREQMTKNQVKLTCCLVKGYFPSDIAVWESNGQPFENNYKTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSISPGK

XENP021584 2A11_H1_L2.93 Fab-1G6_L1.194_H1.279 轻链 (SEQ ID NOS 38613-38617)
 DIQMTQSPAFLSVTPEKVTITQASQDIGNVFNWFOQKPDQTPKLLIYTSRLHSGVPSRFGSGSGTDYTFITSSLEAEDAATVFCQQGNITLPYTFGGGTKEIK/RTVAAPSVEIFPPSPDEQLKSG
 TASVVCILNNFYPREAKVQMKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSLSTLTLSKADYERKHVYACEVTHQGLSSPVTKSENRGEC

图15C

XENP21588

XENP021588 2A11_H1_L2_97_Fab-1G6_L1.194_H1.279_Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38618-38622)
 EVQLVQSGAEVKRPGATVKISCKASGFNIKDYIMHWQQAPGKGLWMGWDIPENGDEYAPKQGRVTITADTSINTAYMELSSLRSEDTAVYCYARGVRQALDYWGQGITLVTVSS/ASTKGFSVPF
 LAPSSKSTSGGTALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSISVWTVPESSISGTQTYICNVNHRPSTDKVKVEPKSCDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTF
 EVTCVVVDVCKHEDEPEVKENWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYITLPPSRRENTKNQVSLTCDVSGFYPSPDIAVEWESDQG
 PENNYKITTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGVDFSCSVMEALHNHYTQKSISLSPGK

>XENP021588 2A11_H1_L2_97_Fab-1G6_L1.194_H1.279 scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38623-38632, 连接子公开为 SEQ ID NO: 37708)

EIVLTQSPATLSASPGERVTLTICRASQSVGNDVAWYQQKPGQAPRLINAYASHRYIGVDPDRFTGSGYGTFTLTISVQSEDFGVVYCOODESSPRITFGGKTKVEIK/GKPGSGKPGSGKPGKPGS/
 EVQLVESGGGLVAPGGSRLRSCVASGFTFSNYMMNWVRQAPGKGLWVAEIRLYSNNYATHYAESVKGRTISRDDSKSTLYLOMNNLKTEDTGYYCTRYGNYGGYFDVWGRGTILVTVSS/EPKSSD
 KTHICPCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVCKHEDEPEVKENWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYITL
 PPSREQMTKNQVKLTCLVKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSISLSPGK

XENP021588 2A11_H1_L2_97_Fab-1G6_L1.194_H1.279 轻链 (SEQ ID NOS 38633-38637)
 DIOMTQSPAFLSVTPGEKVTITCQASQDIGNYLAWFOOKPDQTPKLLIYYTSLRHSGVPSRFSGSGGTFDVTFTISLSLEADAATVYVCOQGNITLPTVTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
 TASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTISKADYEHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图15D

(LAG-3 X PD-1)

XENP22123

XENP022123 2A11_H1_L2.122_Fab-1G6_L1.194_H1.279_Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38638-38642)
 EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGENIKDYIMHWQOAPGKGLWMGMDIPENGDTETAYAPKFGQRTITADISTNTATWELSSLESDTAVYCYARGVQRQALDYWGQGTLLVTVSS/ASTKGFSPVTP
 LAPSSKSTSGGTALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQYICNVNHPKSDTKVDKVEPKSCDKHTCPFPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTTP
 EVTCVVVDVQKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEYNSIVRVVSVLTAVLHQDLNKGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRREMTKNQVSLTCDVSGFYPSPDLIAVEWESDGG
 PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEEQGVFSCSVMEALHNHHTQKSLSLSPGK

XENP022123 2A11_H1_L2.122_Fab-1G6_L1.194_H1.279_scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38643-38652, 连接子公开为SEQ ID NO: 37708)

EIVLTQSPATLSASGERVTITCRASQSYGNDVAVYQQKPGQAPRLLIYNVASHRYTGPDRFTGSGYGTFTTITSSVQSEDEGVYQCQDFFSSPRTFEGGTKEIK/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/
 EQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVASGFTFSNYWMWVRQAPGKGLHWVAELRLYSNNVATHYAESYKGRFTISRDDSKSTLYLQMNLIKTEDGVYYCTRYRYGNYGGYFDWGRGTLTVTVSS/EPKSSD
 KTHICPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVQKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEYNSIVRVVSVLTAVLHQDLNKGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTL
 PPSREQWTKHQVKLTCLVKGFFVPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMEALHNHHTQKSLSLSPGK

XENP022123 2A11_H1_L2.122_Fab-1G6_L1.194_H1.279_轻链 (SEQ ID NOS 38653-38657)

DIQMTQSPATLSVTPGEKVTITCAQASQDIGNYLINWFQKPGQTPKLLIYTSRLHSGVPSRFSGSGSDTYFTTSSLEAEDAATYFCQQGNTLIFYTTFGGGTKEIK/RTVAAPSVTIFFPPSDDEQLKSG
 TASVWCILLNNFYPREAKVQWVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTISLSTITLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSLSPVTKSFNRGEC

图15E

XENP22124

XENP022124 2A11_H1_L2.123_Fab-1G6_L1.194_H1.279_Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38658-38662)
 EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGFNIKQYMHWOQAPGKLEWMCWIDPENGDTIEYAPKFGQRTVITADTSNTAYMELSLRSEDTAVYCYVARGVYRQALDYMGGTLTVSS/ASTKGPSVEP
 LAPSSKSTSGGTAAIGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHPKSDTKVDKVEPKSCDKHTCTPCPAPFVAGFSVFLPPKPKDTLMISRTTP
 EVTCVVVDVCKHEDEPKENWYVDGVEVHNAKTKPREERYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFVPSDIAVEWESDGGQ
 PENNYKTTTPPVLDSDGSEFTYSKLTVDKSRWEQGGDVFCSCVMHEALHNHHTQKSLSPGK

XENP022124 2A11_H1_L2.123_Fab-1G6_L1.194_H1.279_scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38663-38672, 连接子公开为SEQ ID NO: 37708)

EIVLTQSPATISAPGERVTLTCRASQSVGNDVAMVYQKPGQAPRLINAYASHRYTGVDPDRFTGSGYGTFTLTISSVQSEDFGVVYCCQDFSSPRTFGGTVKVEIK/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/
 EVQLVSGGGLVIRPGGSLRLSCVASGFTFSNYWMNWRAQAPCGKLEWVAIRLNSNYATHYAESVKGRFTISRDDSKSTLYIQMNNLKTEDTGYYICTRYGNYGGYFDWGRGTLTVSS/EPKSSD
 RTHCTCPCPAPFVAGPSVFLPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTL
 PPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSEFTYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHHTQKSLSPGK

XENP022124 2A11_H1_L2.123_Fab-1G6_L1.194_H1.279_轻链 (SEQ ID NOS 38673-38677)

DIQMTQSPFLSVTPGEKVTITCQASQDIGNYNMFQKPGQSPKLLIYTSRLHSGVPSRFSGSGSDYFTTISLLEADAATYFCQQNTILFYTFGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
 TASVVCILNNFYPREAKVQHWVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTISLSTLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图15F

(LAG-3 X PD-1)

XENP22125

XENP022125 2A11_H1_L2.124_Fab-1G6_L1.194_H1.279_Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38678-38682)
 EVQLVQSGAEVKKPGATVKISKASGFNIKDYMLHWQAPGKGLWMGIDPENGDTFYLAKPFGQGRVTITADTSINTAYMELSSLSRSEDTAVYCYARGVROALDYWGQGITLVTVSS/ASTKGPSVEP
 LAPSKSTSGGTALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPPAVLQSSGLYSLSVTVTPSSSLGTQYICNVNHRPSDTKVRKVEPKSCDKTHTCPCPAPFVAGPSVFLFPEPKKDTLMISRTPE
 EVTCVVVDVCKHEDPEVKENWYDGYEVHNAKTKPREEXYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYITLPPSRREMTKNQVSLTCDVSGFYFSDIAVEWESDGG
 PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEGQDVFSCSVNHEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP022125 2A11_H1_L2.124_Fab-1G6_L1.194_H1.279_scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38683-38692, 连接子公开为SEQ ID NO: 37708)
 EIVLTQSPATLSASPGSERVITLCRASQSVGNDAWYQKPGQAPRLINVASHRVTGVPDRFTGSGYGTFTLTISVQSEDFGVYCCQDESSPRTFGGKVELK/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/
 EVQLVESGGGLVAPGGSRLRSCVASGFTFSNYMMNWVROAPGKGLWVAEIRLSNNYATHYAESVKGRFTISRDDSKSTLYLQMNLIKTEDTGYYCTRYGNYGGEYEDVWNGRGTILVTVSS/EPKSSD
 KTHTCPCPAPFVAGPSVFLFPPPKDITMISRTPEVTCVVVDVCKHEDPEVKFNWYDGVGVHNAKTKPREEQMNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYITL
 PPSREQMTKNQVSLTCDVSGFYFSDIAVEWESDGGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSCSVNHEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP022125 2A11_H1_L2.124_Fab-1G6_L1.194_H1.279_轻链 (SEQ ID NOS 38693-38697)
 DIQMTQSPAFLSVTPGEKVTITCSASQDIGNYLWFGKPGKVPKLLIYYTISRLLHSGVPSRFGSGSGTDYTFITSSLEAEDAATYFCQQGNTLIPYTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
 TASVWCILLANNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSLTITLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSLEVTKESTRNGEC

图15G

XENP22604

XENP022604 7G8_H3.30_L1.34-1G6_L1.194_H1.279_Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38698-38702)
 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDAWMSWRQAPGKLEWVALESTKANNHATFYAESVKGRTISRDDSKSVYLQMSLRAEDTAVYYCTRLATWMYFDWGGQTTTVSS/ASTKGPS
 VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYICNVNHKPSDTIKVDKVEPKSCDKHTCCPPCPAPPVAGPSVFLPPKPKDTLMIS
 RTPEVTCVVVDVHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVSVLTVLTQHDWLNKGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTNQVSLTCDVSGFIPSDIAVEWES
 DGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLITVDKSRWEGQGVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP022604 7G8_H3.30_L1.34-1G6_L1.194_H1.279_scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38703-38712, 连接子公开为SEQ ID NO: 37708)
 EIVLTQSPATLSAIFGHRVTLTCRASQSVGNDAWYQQKPGQAPRLLIYNASHRYTIGVPDRFTGSGYGTFTLTITSSVQSEDFGVYCCQDFSSPRTFGGTVKVEIK/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/
 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSNYMMWVRQAPGKLEWVALEIRLSNNYATHYAESVKGRTISRDDSKSVYLQMSNLKTEDTGVYCTRYIGNYGGYFDWGGTLLTVSS/EPKSSD
 KTHTCPCPAPPVAGPSVFLPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLTQHDWLNKGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
 PPSREQMTKNQVKLTCLVKGFTYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLITVDKSRWQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP022604 7G8_H3.30_L1.34-1G6_L1.194_H1.279_轻链 (SEQ ID NOS 38713-38717)
 DIVLTQSPSSLSASVGRVITTCRASQSVDDYDGSYMMWYQQKPGKPPKLLIYNAASELESGIPARFSGSGCTDFTLTITSSIQPEDFATYYCQSNEDPFTFGSGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQ
 LKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSLTITLSKADYERKHVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图15H

(LAG-3 X PD-1)

XENP22672

XENP022672 2A11_H1.144_L2.142_Fab-1G6_L1.194_H1.279_Fab-Pc 重链 (SEQ ID NOS 38718-38722)
 EVQLVQSGAEVKKPGATVKISKASGENLKDYFMHWQAPGKGLRWGMDPELGDTEYAEKFGSRVTITADTSTNTAYMELSLSEDTAVYCYARGYQALDYWGQGITLVTVSS/ASTKGPSVFPP
 LAFSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTIKVKVEPKSCDKHTCTPCPCPAPEVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
 EVTCVVVDVCKHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKLSKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCTDVSGFYPSDIAVEWESDGG
 PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEGQGVFSCSVNHEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP022672 2A11_H1.144_L2.142_Fab-1G6_L1.194_H1.279_scFv-Pc 重链 (SEQ ID NOS 38723-38732, 连接子公开为SEQ ID NO: 37708)
 EIVLTQSPATLSAIPGGERVTITCRASQSVGNDAWYQKPGQAPRLINVAASHRYTGPDRFTGSGYGFETLTISVSQSEDFGVYCCQDFSSPRTFGGTTKVEIK/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/
 EVQLVESGGGLVKGGLRLSCVASGFTFSNVMNWROAPGKGLRWAEIRLSNNYATHYAESVKGRFTISRDDSKSTLYLQMNLLKTEDTGYYICTRYIGNYGGYEDVWGRGITLVTVSS/EPKSSD
 KTHCTPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDKHEDPVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITL
 PPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFCSVNHEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP022672 2A11_H1.144_L2.142_Fab-1G6_L1.194_H1.279_轻链 (SEQ ID NOS 38733-38737)
 DIQMTQSPAFLSVTPGEKVTITCQASQDIGNYLINWFQKPGQVKLLIYFTSYLHSGVPSRFSGSGGTDYTFETISSLEAEDAATYFCQQNTTLFPTTFGGGTTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
 TASVVCCLNNFYPREAKVQWYVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图15I

XENP22847

XENP022847 768_H3_30_L1_34_Fab-1G6_L1_194_H1_279_scFv M428L/N434S Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38738-38742)
 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDAMMSFVRQAQPKGLEWVAISTKANNHATYYAESVKGRFTIIRDDSKSSVYLQMSLRAREDYVYCTRLATWDYFDYWGQGTFTVYSS/ASTKGGSVYFFLAPSSKTSGGTA
 ALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVTHFPAVLQSGLYSLSVSVVTPSSSLGTQTYITCNVNHKFSITVDKAKVEFKSCDKHTCCPCPAPPVAGPSVFLFPKPKDTLMISRTEFTVCVVDVKHEDPEVKFNWYDGVGEVHN
 AKTKRDEEYNSTYRVVSVLTVHLQDMLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYITLPPSRDEMTKNQVSLTCHVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPVLLSDGSEFLYKSLTVDKSNWEQGDVFCSVLHEA
 LSHYITQESLSLSPGK

XENP022847 768_H3_30_L1_34_Fab-1G6_L1_194_H1_279_scFv M428L/N434S scFv--Fc 重链 (SEQ ID NOS 38743-38752, 连接子公开为SEQ ID NO: 37708)
 EIVLTQSPATLSASPGSERVTLTCRASQSVGNDAWYQQKPGQAPRLINYNASHRYTGVDPDRFTGSGYGTFTLTITISSVQSEDFGVYCCQDIFSSPRTFGGATVVEIK/GKPSGSRKPSGSKSGSGKPGS/EVQLVESGGGLVQPGG
 SLRLSCVASGFTFSNYYMMNWVRQAQPKGLEWVAEIRLYSNNTATHYAESVKGRFTISRDDSKSITLYLQMNKLATEDTGYYICTAYYGNYGGIYDVGRTLVYSS/EPKSSDKHTCCPCPAPPVAGPSVFLFPKPKDTLMISR
 RTEFTVCVVDVKHEDPEVKFNWYDGVGEVHNATKPREEQNSTYRVVSVLTVHLQDMLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYITLPPSRDEMTKNQVSLTCHVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPVLLSDG
 SDFSEFLYKSLTVDKSNWEQGDVFCSVLHEALSHYITQESLSLSPGK

XENP022847 768_H3_30_L1_34_Fab-1G6_L1_194_H1_279_scFv M428L/N434S 轻链 (SEQ ID NOS 38753-38757)
 DIVLHQSPSSLSASVGDRTVITCRASQSVYDGDSTNNWYQQKPGKPKLLIYAASELESIGIPARFSGSGSGTDFTLTITSSIQPEDFATYYCQSSKEDEFTFGSGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFY
 PREAVQWVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图15J

(LAG-3 X PD-1)

XENP22849

XENP022849 2A11_H1.144_L2.142_Fab-1G6_L1.194_H1.279_scFv M428L/N434S Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38758-38762)
 EVQLVQSGAEVKKPGATVKISKASGFNIKDYFMHWVQQAPGKLEWMCIDPELGDTFYEYAPKFGQRTVITADTSINTAYMELSSLSEDTAVYCYARGYQALDIWGGTILVTSS/ASTKGFSPVP
 LAPSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSIGTQYICNVNHPKSDTKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMTSRTP
 EYTCVVVDVHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVYSVLTVTHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRREMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDQG
 PENNYKTTTPPVLDSDGSGFFLYSKLTVDKSRWEGQDVFSCSVLHEALHSHYTKQKSLSLSPGK

XENP022849 2A11_H1.144_L2.142_Fab-1G6_L1.194_H1.279_scFv M428L/N434S scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38763-38772, 连接子公开为SEQ ID NO: 37708)

EIVLTQSPATLSAPGERVTTCRASQSVGNDAVMYQKPGQAPRLINVAASHRYTGVDPDRFTGSGYGTETFTITISSVQSEDFGVYCCQDFSSPRTFGGTTKVEIK/GKPGSGKPGSGKPGSG/

EVQLVESGGGLVAPGASVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVYSVLTVTHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITL

PPSRREQTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVLHEALHSHYTKQKSLSLSPGK

>XENP022849 2A11_H1.144_L2.142_Fab-1G6_L1.194_H1.279_scFv M428L/N434S 轻链 (SEQ ID NOS 38773-38777)

DIQMTQSPALFSTPPGKVTITCQASQDIGNLYLNWFQQKPGQTVKLLIYFTSYLHSGVPSRPSGSGTDTYFTTSSLEAEDAAITYFCQQGNTILPYTFGGGTTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG

TASVVCILNNFYPREAKVQWVKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图15K

(BTIA X PD-1)

XENP20895

XENP020895 9C6 HO10-1G6_I1.194 H1.279 Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38778-38782)
 OVQLKESGPGIAPSQSLSTCTVSGFSLTGYNWVRQPPGKGLWLCMTIDGSTDYNALKSRSLINKDMSKQVFLKMNLSQFDDTARYYCARDPDGRAMDYWGQGTSVTVSS/ASTKGPSPFP
 LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPPPTVSNWNGALTSVHTFPNAVLTSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYICNVNHPDTRVKVPEPKSCDKHTCTPCPAPVAVGSVFLFPPKPKDTLMI SRTF
 EVTCVVVAVKHEDPEVKFNWYVDGYEVHNATKPREEEYNSTYRVSVLTFLHODWLNKKEYCKKVSNNKALPAIEKTIISKANGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFFYSDIAVEWESDGG
 PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDYFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSFGK

XENP020895 9C6 HO10-1G6_I1.194 H1.279 scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38783-38792, 连接子公开为SEQ ID NO: 37708)
 EIVLTQSPATLSASFGERVTLTCRASQSVGNDAWYQKPGQAPRLINYNASHRYTGVDPDRFTGSGYGTFTITISSVQSEDFGVYCCQDFSSPRTFGGTKVEIK/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/
 EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCVAGSFYFSNYMNNWVRQAPGKGLWVAEIRLYSNVYATHYAESVKGRTISRDDSKSTLYLQMNNAKTEDTGYYICTRYGNYGGYEDWNGRGTLLTVYSS/EPKSSD
 KHTCTPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVCKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKPREEQINSTYRVSVLTFLHODWLNKKEYCKKVSNNKALPAIEKTIISKANGQPREPQVYITL
 PPSREQMTRKNQVLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSFGK

XENP020895 9C6 HO10-1G6_I1.194 H1.279 轻链 (SEQ ID NOS 38793-38797)
 SIVMTQTCPKFLVSAQDRVTITCRASQSVSNDAWYQKPGQSPKLLIYYASNRYTGVDPDRFTGSGYGTFTITSTVQAEDLAVYFCQQDYSSFTFGGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT
 ASVVCILLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKUSTYISSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHOGLSSPVTKSFNRGEC

图16A

XENP21220

XENP021220 9C6 H1.1_I1-1G6_I1.194_H1.279 Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38798-38802)
 QVQLKESGAEVKKEGASVKVSGFSLTGYGVNWRQAPGCGLEWGMILWIDGSTDYNKFKQGRVMTKNSKSTVYNELSLRSEDNAVYICARDPRDGRAMDYWGQGTMTVTVSS/ASTKGPSVFPP
 LAPSKSTSGGTALGCLVDYFPEFVTVSNWNGALTSVHTFPFVLIQSSGLYSLSVTVTPSSIGTQYICNVNHPKSDTKVDKVEPKSCDKHTCPGCPAPFVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
 EVTCVVVDVCKHEDPEVKFNWVVDGVEVHNAKTKPRREEYNSTIRVVSFLTVLHODWLNKGKEYCKKCVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDDIAVENEWDGQ
 PENNYKTPPVLDSDGSGFFLYSKLTVDKSRWEEQGDVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP021220 9C6 H1.1_I1-1G6_I1.194_H1.279 scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38803-38812, 连接子公开为SEQ ID NO: 37708)
 EIVLTQSPATLSAEPGERVTLTCRAISQSVGNDVAYQQKPGQAPRLINYNASHRYTGVDPDRFTGSGYGFETLTISVQSEDFGVVYQQQDEFSSPRTFGGKTKVEIK/GKPGSGKPGSGKPGSCPKCS/
 EVQLVESGGGLVIRPGGSIRLSCVAGFTFSNWMNWRQAPGKGLWEAIVRLYSNNYATHVAESVKGRFTISRDDSKSTLYIQMNNLKTEDTGYYICTRYGNYGGYFDVWGRGTLVTVSS/EPKSSD
 KTHCTCPCPAPFVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVCKHEDPEVKFNWVVDGVEVHNAKTKPREQYNSTIRVVSFLTVLHODWLNKGKEYCKKCVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
 PPSREQMTKQVQLTCLVKGFFYPSDIAVENEWNGQPENNYKTPPVLDSDGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP021220 9C6 H1.1_I1-1G6_I1.194_H1.279 轻链 (SEQ ID NOS 38813-38817)
 SIIVTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVSNVDVAYQQKPGQSPKLLIYYASNRYTGVDPDRFTGSGYGFDTLTITSSLQAEADVAVYFCQDYSSPTFGGKTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT
 ASVVCILINNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTISLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图16B

(BTIA X PD-1)

XENP21221

XENP021221 9C6 HI.11 LI-1G6 LI.194 HI.279 Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38818-38822)
QVQLVQSGAEVKKPGASVKCKVSGFSLTGYGVNWRQAPGGQGLEWMGMIVIDGSTDYNKSKFQGRISINKDKNSKSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARDPRDGRAMDYWGQGTMTVYSS/ASTKQPSVFP
LAPSSKSTSGGTAAIGCLLVKDYFPEPTVTVSNNSGALTSGVHTFPVAVLQSSGLYSLSVTVFSSSLGTQTYICNVNHNKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPPVAGPSVLEFPKPKDTIMISRTF
EVTCCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSPDI AVEWESDGG
PENNYKTTTPPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWEQGVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP021221 9C6 HI.11 LI-1G6 LI.194 HI.279 scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38823-38832 连接子公开为 SEQ ID NO: 37708)
EIVLTQSPATLSASPGERVITCRASQSVGNDVATQKPGQAPRLINYNASHRYTGVDPDFTGSGYGTFTLTISSVQSEDFGVYCOQDFSSPRTFGGGTKVETIK/GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS/
EYQLVESGGGLVFRPGGSLRLSCVASGFTFSNNYNNWRQAPGGLWVAIRLISNNYATHYAESVKGRTTISRDDSKSTLYIQMNNLAKTEDGVYCTRYGNGGYEDVWGRTLVTVSS/EPKSSD
KTHTCPCPAPPVAGPSVLEFPKPKDTIMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSRREQMTKNQVKLTCILVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQGVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP021221 9C6 HI.11 LI-1G6 LI.194 HI.279 轻链 (SEQ ID NOS 38833-38837)
SIWMTQSPDSLVSLGERATINCRASQSVSNDAWYQKPGQSPKLLIYYASNNRYTGVDPDRTGSGYGTDFTLTISISIQAEVDVAVVFCQDDYSSPTFGGGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT
ASVVCCLNNFYPREAKVQWKNVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

图16C

XENP22858

XENP022858 9C6 H1.1 I1_Fab-1G6 I1.194 H1.279_scFv M428L/N434S Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38838-38842)
 QVQLKESGAEVKKPGASVKVSCKVSGFSLTGTGYNWVRQAPGGQLEWMGMWIDGSTDYNKSFQGRVTMTKDNKSTVYNELSSLSASEDAVYCARDPRDPGRAMDYMQGGMVTVSS/ASTKGPSVFP
 LAPSSKSTSGTAAIGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFPSSSLGTQTYICNVNHNKPSDITKDKKVEPKSCDKTHCTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTF
 EFTCVVDVKHEDPEVKENWYDGVGVHNAKTKPREEEYNSTRYVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVKSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRREENTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDQG
 PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEGQDFVSCSVLHEALHSHYTKQKSLSPGK

XENP022858 9C6 H1.1 I1_Fab-1G6 I1.194 H1.279_scFv M428L/N434S scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38843-38852, 连接子公开为SEQ
 ID NO: 37708)

EIVLTQSPATLSASPGERVTITCRASQSVGNDVAVYQQKPGQAPRLINIVASHRYTGVDPDRFTGSGYGTFTTITSSVQSEDFGVYCCQDFSSPRTFGGKTKEIK/GKPGSSKPGSGKPGSGKPGS/
 EVQLVESGGGLVFRPGGSLRLSCVASGETFSNYWMWVRQAPGKGLEWVAEIRLYSNRYATHYAESVKGRFTISRDDSKSTLYLQMNLAETEDGVYYCTRYGNYGGYEDVWGRGTLIVTVSS/EPKSSD
 KTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKENWYDGVGVHNAKTKPREEQYNSTRYVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVKSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
 PPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSCSVLHEALHSHYTKQKSLSPGK

XENP022858 9C6 H1.1 I1_Fab-1G6 I1.194 H1.279_scFv M428L/N434S 轻链 (SEQ ID NOS 38853-38857)
 SIIVMTQSPDSLVSLGERATINCASQSVSNDVAVYQQKPGQSPKLLIYYASNPRTGVDPDRFTGSGYGTDFTLTITSSLAQEDVAVYFCQQDYSSPTFGGGTKLEIK/RTVAAPSVTIFPPSDEQLKSGT
 ASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

图16D

XENP20153

XENP020153 2A11_H1L2-[CTIA-4]_H3.4_I0.12 Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38858-38862)

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGFTNIDKYYMHWQAPGKGLFWMGHIDPENGDEYAPKFGQGRVTITADTSNTAWELSSLSEDTAVYCYARGTRQALDYWGQGITLVTVSS/ASTKGPSVFP
LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLISVYVPFSSISLTQTYICNVNHPKSDTKVDKKEPKSCDKHTCPCPAPAEVAGPSVELFPKPKDTIMISRTF
EYTCVVDVKHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTPREEYNSTYRVSVLVTLVHQLDNLNGKEYCKKVSNNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRTEEMTKNQVSLTCDVSGFYSCLIAVEWESEDGQ
PENNYKTTTPVLDSDGSFFLISKLVTDKSRWEQGDVFSCSVNHEALHNHYTQKSLSISPGK

>XENP020153 2A11_H1L2-[CTIA-4]_H3.4_I0.12 scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38863-38872, 连接子公开为 SEQ ID NO: 37708)

EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWROAPGKGLFWVSFISYDGNHKYIYADSVKGRFTISRDNAKNSLYIQMNSLRAEDEVYCYARTGHLGPELWGQGTWTVSS/GKPGSGKPGS
GKPGSGKPGS/EIVLTQSPGTLISVSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLIIYGAFASTRATGIPDRFSGSGSTDTLTITISRLPEDEVYCYQYGSFPWFEGQTKVEIK/EPKSSDKTH
TCPGPCPAPVAGPSVELFPKPKDTIMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTPREEYNSTYRVSVLVTLVHQLDNLNGKEYCKKVSNNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REQMTKRNQVKLTCLVKGFGYPSDIAVEWESEDGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLISKLVTDKSRWQGNVFSCSVNHEALHNHYTQKSLSISPGK

>XENP020153 2A11_H1L2-[CTIA-4]_H3.4_I0.12 轻链 (SEQ ID NOS 38873-38877)

DIQMTQSPAFLSVTPGEEKVTTTCQASQDIGNVLNWFQKPKDQGVKLLIYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTTTISLAEADAATYFCQQGNTLTLYTTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
TASVVCCLNNFYPREAKVQWVKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTISLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图17A

XENP20833

>XENP020833 7G8_H3L1_Fab-[CTIA-4]_H3.23_L0.129_Fab-FC 重链 (SEQ ID NOS 38878-38882)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDAWMDWRQAPGKGLEWVAEIRTKANNHATYYAESVKGRFTISRDDSKSVYLQMNLSRAEDTAVYYCTRLANWDWYEDYWGQGTITVTVSS/ASTKGPFS
VFPLAPSSKSTSGGTAAIGCLVKDYFPEPTVTSNNGALTISGHTPPAVLQSSGLYSLSVTVFSSSLGTQTYICNVNHRPSDTKYDKKVEPKSCDKHTCPCPAPPAEVAGFVSFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVHREDPEVKENWYVDGVEVHNAKTPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRREMTKNQVSLTCDVSGFYSFDIAVEWES
DQQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEGQDVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

>XENP020833 7G8_H3L1_Fab-[CTIA-4]_H3.23_L0.129_sceV-FC 重链 (SEQ ID NOS 38883-38892, 连接子公开为 SEQ ID NO: 37708)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVRQAPGKLEWVSFISYDGNKYIADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSRAEDTAVYYCARGGHLPEDLWGQGTMTVTVSS/GKPGSGKPGS
GKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCASQSVSSYLAHYQOKPGQAPRLIIYGASSRAIGIPDRFSGSGGTDFLTITSRLEPEDFAVYYCQYGSFPTFGQGTKVEIK/EPKSSDKTH
TCCPCPAPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVHREDPEVKENWYVDGVEVHNAKTPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPS
REQMTKNQVKLTCLVKGKYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

>XENP020833 7G8_H3L1_Fab-[CTIA-4]_H3.23_L0.129_轻链 (SEQ ID NOS 38893-38897)
DVLVLTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSDVDYDGSYMNWYQOKPGKPKLLIYAASNLSEGIPARLSGSGGTDFLTITSSLPQEPDAFYCYQQSNEDPFTFGSGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQ
LKSGTASVVCLLANNFYPREAKVQWVKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKYACEVTHQGLSSTPVTKSFNRGEC

图17B

XENP21859

>XENP021859 2A11_H1_I2.47_Fab-[CTLA-4]_H3.23_I0.129 Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38898-38902)
 EVQLVQSGAEVVKRPGATVKISKASGFNIKDYMHVQAPGKLEWGWIDPENGDTETAPKFGQRTITADTSTNTATYMELSLRSEDTAVYCYARGVROALDYWGQGITLVTVSS/ASTKGPSVFP
 LAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSPSSSLGTQTYICNVNHNKPSDTKVDKVEPKSCDKTHTCTPCPAPFVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTTP
 EYTCVVYVDVKHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVSVLTFLHQDWLNGKEYCKVKSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRREMTKNQVSLTCDVSGFYPSSDI AVEWESDQ
 PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEGQDFVSCSVMEALHNHYTQKSISLSPGK

>XENP021859 2A11_H1_I2.47_Fab-[CTLA-4]_H3.23_I0.129 scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38903-38912, 连接子公开为 SEQ ID NO: 37708)

RVQLVRSGGGTVKPGSLRLSCAASGFTTFSSYTMHWVRQAPGKGLIEWVSFISYDGNKYIADSVKGRFTISRDNKNSLYLQNSLRAEDTAVYCARGHLPFDLWGQGTMTVTYSS/GKPGSGKPGS
 GKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLIYIGASSRATGIPDRFSGSGCTDFTLTISRLEPEDFAVYCCQYGGSSPMTFGQGTQKVEIK/EPKSSDKTH
 TCPPCPAPFVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTFLHQDWLNGKEYCKVKSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
 REQMTKNQVKLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSISLSPGK

>XENP021859 2A11_H1_I2.47_Fab-[CTLA-4]_H3.23_I0.129 轻链 (SEQ ID NOS 38913-38917)

DIQMTQSPAFLSVTPGEKVTITCQASQDIGNVILNWFOQKPDQTVKLLIYTTSHLHSGVPSRFSGSGSGTDYTFITSSLEAEDAATYFCQQGNITLPTFGGGTKVLEIK/RTVAAPSVEIFPPSDEQLKSG
 TASVWCILNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图17C

XENP21860

>XENP021860 2A1.1_H1_I2.50_Fab-[CTLA-4]_H3.23_I0.129_Fab-**Fc重链**(SEQ ID NOS 38918-38922)
 EVQLVQSGAEVKKPGATVKISKASGFNIKDYMHVQOAPGKLEWGMIDPENGDTPEYAPKFGQRTVITADTSTNTAYMELSLRSSEDTAVYCYARGVRQALDYMGGTIVTVSS/ASTKGPSVEP
 LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLIQSSGLYSISLVVTPSSSLGCTQTYICNVNHKPSDTKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPEPKRTIMISRT
 EPTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEYNSTYRVSVLVVLIHQDLNMGKEYCKVKSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRREENTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGG
 PENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEGQDFVSCVMHEALHNHYTQKSLSISPGK

>XENP021860 2A1.1_H1_I2.50_Fab-[CTLA-4]_H3.23_I0.129_scfv-Fc**重链**(SEQ ID NOS 38923-38932,连接子公开为SEQ ID NO: 37708)

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSQAASGFTFSYTMHWVRQAPGKLEWVSFISYDGNKYKYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQNSLRAEDTAVYCARGSHLGPFDLWGGTMTVTVSS/GKPGSGKPGS
 GKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLIYIGASSTRATGIPDRFSGSGCTDFTLTISRLEPEDFAVYCYQYGSSEMTFGQGTKEIK/EPKSSDKTH
 TCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKNIEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLVVLIHQDLNMGKEYCKVKSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
 REQMTKNQVXLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSISPGK

>XENP021860 2A1.1_H1_I2.50_Fab-[CTLA-4]_H3.23_I0.129**轻链**(SEQ ID NOS 38933-38937)

DIQMTQSPFLSVTPGEKVTITCQASQDIGNVLIWVQQKPDQTVKLLIYTSYLSHGVPSRFSGSGTDYFTTISLSLEAEDAATYFCQQGNITLPYTPGGGTKEIK/RTVAAPSVEITFPSPDEQLKSG
 TASVVCILNNFYPREAKVQWVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTISLSSTLTLSKADYERKHVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图17D

XENP21895

>XENP021895 7G8_H3.18_L1-[CTLA-4]_H3.23_L0.129_Fab-Fc重链 (SEQ ID NOS 38938-38942)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTDDAWMDWVRQAPGKLEWVAEISTKANNAHYAEVSKGRFTISRDDSKSSVYLQMNSLRaedTAVYYCTRLATWDWYFDVWGOGTTVVSS/ASTKGPS
VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTTPAVLTQSSGLYSLSVSVTVPSSSLGTGTYYICNVNHNKPSDTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPFCFAPVAGPSVFLFPPKPKDTLMTS
RTPEVTCVVVDVWVDEPEVKENWYVDGVEVHNKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVKSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRHEEMTKNQVSLTCTDVSGFYPSDIAVEWES
DGQFPENNYKTTTPVLDSDGSSEFLYSKLTITVDKSRWEGQDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

>XENP021895 7G8_H3.18_L1-[CTLA-4]_H3.23_L0.129_scFv-Fc重链 (SEQ ID NOS 38943-38952, 连接子公开为SEQ ID NO: 37708)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYTHHWVROAPGKLEWVSFISYDGNKYKYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLRaedTAVYYCARGHGLGPFDLWGOGTTVVSS/GKPGSGKPGS
GKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCHASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLIIYGASSRAIGIPDRFSGSGSTDTLTITSRLEPEDFAVYYCQYQSGSPWTFGQGTKVEIK/EPKSSDKTH
TCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVWVDEPEVKFNWYVDGVEVHNKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVKSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REQMTKNQVXLTCIVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSSEFLYSKLTITVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

>XENP021895 7G8_H3.18_L1-[CTLA-4]_H3.23_L0.129轻链 (SEQ ID NOS 38953-38957)
DVLVLTQSPSSLASVGRVTITCRASQSYDYDGSYMAWYQQKPGKPPKLLIYAASNLESGIPARLSGSGSTDTLTITISLQPEDFAVYYCQOSNEDPFTFGSGTKLEIK/RTVAAPSVFIIFPPSDEQ
LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTISLSTLTLSKADYERKHVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图17E

XENP21896

>XENP021896 7G8_H3.18_L1.11-[CTLA-4]_H3.23_L0.129 Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38958-38962)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTDDAMMDWVRQAPGKGLWVAEISTKANNHATYYAESVKGRTISRDDSKSVYLQMNLSRAEDTAVYYCTRLATWDFYFDWGQGT^{TV}VSS/ASTKGPS
VFPLAIPSSKSTSGGTAAIGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQYICNVNHNKPSDTKVDKKEPKSCDTHCTCPCPAPFPVAGESVFLFPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVXHEDEPEVFNWYVDGVGVHNAKTKPREEENSTYRVSVLVTHQDWLNGKEYCKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRREEMTKNQVSLTCTDVS^{GF}PSDIAVEWES
DGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWFGQDVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

>XENP021896 7G8_H3.18_L1.11-[CTLA-4]_H3.23_L0.129 scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38963-38972, 连接子公开为 SEQ ID NO: 37708)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTSSYTMHWVRQAPGKGLWVSEFISYDGNKYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSRAEDTAVYYCARGGHLGPFDLWGQGT^{TV}VSS/GKPGSGKPGS
SKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCASQSVSSYLLAWYQQKPGQAPRLIIYGASSRATCIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYGSSEPTFGQGT^{KVEIK}/EPKSSDKTH
TCPFCPPAPPVAGPSVFLPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVXHEDEPEVFNWYVDGVGVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLVTHQDWLNGKEYCKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPS
REQMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

>XENPC21896 7G8_H3.18_L1.11-[CTLA-4]_H3.23_L0.129 轻链 (SEQ ID NOS 38973-38977)

DIIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSYVDYDGSYMNWYQQKPGKPPKLLIYAASELESGIPARLSSGSGTDFLTITSSLPQEDFAVYYCQQSNEDPFTFGSGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQ
LAKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWVKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTISKADYERKHVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图17F

XENP21902

>XENP021902 7G8_H3.23_L1.11-[CTLA-4]_H3.23_L0.129 Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38978-38982)
 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDAIMDWRQAPGKLEWVAEISTKANNHATYYAESVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNLSRAEDTAVYYCTRLATWDWYEDVWGOGTTVTVSS/ASTKGPS
 VFTLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVSPSSSLGTQYICNVNHNKPSDTKDKKVEPKSCDKHTCCPCFAPPVAGPSVFLFPPKPKDTIMIS
 RPEPTCVVDVVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTRPEEEENSTYRWVSIVTLVHODWLNKGEYKCKVSNKALPAPLEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSREENTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWES
 DGQPENNYKTPPVYLDSDGSFELYSKLITVDKSRWEGQDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

>XENP021902 7G8_H3.23_L1.11-[CTLA-4]_H3.23_L0.129 scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38983-38992, 连接子公开为 SEQ ID NO: 37708)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWROAPGKLEWVSFTSYDGNKYKYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSRAEDTAVYYCARGGHLGPFDLWGOGTTVTVSS/GKPGSGKPGS
 GKPGSGKPGS/EIVLTQSPFATLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKQAPRLIIYGASRATGIPDRFSGSGGTDFLTITSLRLEPEDFAVYYCQYGGSPWTFGQGTKEIK/EPKSSDKTH
 TCFPCFAPPVAGPSVFLFPPKPKDTIMISRTPEVTCVVDVVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTRPEEQMNSTYRWVSIVTLVHODWLNKGEYKCKVSNKALPAPLEKTSKAKGQPREPQVYTLPPS
 REQMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVYLDSDGSFELYSKLITVDKSRWQQGNVFSCSVHHEALHNHYTQKSLSLSPGK

>XENP021902 7G8_H3.23_L1.11-[CTLA-4]_H3.23_L0.129 轻链 (SEQ ID NOS 38993-38997)

DTVLITQSPSSLASVGDRTVITCRASQSYVDYDSDSYMNWYQQKPGKPKPLIIYAASELESIGIPARLSGSGGTDFLTITSSLOPEDFAVYYCQGSNEDPF¹FGSGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQ
 LKSGTASVVCILNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSLTITLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图17G

XENP21904

>XENP021904 768_H3.28_L1-[CTILA-4]_H3.23_L0.129 Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 38998-39002)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDAMMDWVRQAPGKLEWVAELSTKAYNHATYAEVSKGRFTISRDDSKSSVYLQMNSLRAEEDTAVYCTRLATWDMYEDVWGQGT^{TV}VSS/ASTKGPS
VFPLAPSSKSTSGCTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKHTCTPCPEAPFVAGPSVFLFPPKPKDTLMTIS
RTPEVTCVVVDV^{NR}HEDPEVFNK^YVDGVFNHAKT^KPREEEYNSTYRVSVLT^{VI}HQDLNAGKEYCKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY^{TL}PPSRREEMTKNQVSLTCTDVS^{GF}YPSDIAVEMES
DGQFPENNYK^{TT}PPVLDSDG^{SF}FLYSLK^{LT}VDKSRWEGDVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

>XENP021904 768_H3.28_L1-[CTILA-4]_H3.23_L0.129 scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 39003-39012, 连接子公开为 SEQ ID NO: 37708)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKLEWV^{SF}ISYDGNKYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEEDTAVYCYARGGHLG^{PD}ELWGQGT^{MT}VVSS/GKPGSGKPGS
GKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSLSPGERATISCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLIIYGASSRATGIPDRFSGSGGTDF^{LT}ITISRLEPEDFAVYCYQQYGSSPWTFGQGT^{KV}EIK/EPKSSDKTH
TCPPEAPFVAGPSVFLFPPKPKDTLMTISRTPEVTCVVVDV^{NR}HEDPEVFNK^YVDGVFNHAKT^KPREEQYNSTYRVSVLT^{VI}HQDLNAGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY^{TL}PPS
REQMTKNQV^{KL}TCIVKGFYPSDIAVEMESNGQPENNYK^{TT}PPVLDSDG^{SF}FLYSLK^{LT}VDKSRWQGGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

>XENP021904 768_H3.28_L1-[CTILA-4]_H3.23_L0.129 轻链 (SEQ ID NOS 39013-39017)
DVTLTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSV^{YD}DGDSYMMWYQQKPGKPK^{LI}LYAASNL^{ESG}IPARLSGSGGTDF^{LT}ITISSLPQEDFATVYCYQQSNEDP^{FT}FGSGTKLEIK/RTVAAPSVFIFEPSSDEQ
LKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQW^{KV}DNALQSGNSQESVTEQDSKDS^{TY}SLSTLTISKADY^{EK}HKHYAC^{EV}THQGLSLSPVTK^SFNRGEC

图17H

XENP21905

>XENP021905 7G8_H3.28 1.1.11-[CTLA-4]_H3.23 1.0.129 Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 39018-39022)
 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDAMDWVRQAPGKLEWVAELSTKYNHATYAEVYKGRFTISRDDSKSSVYIQMNSLRAPDFTAVYYCTRLATWDMYFDVWGQGTTVTVSS/ASTKGPSS
 VPELAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSISGTQYICNVNHKPSDTKDKVEPKSCDKHTCPCPAPPVAGPSVFLPEPKKDTLMTS
 RTEPVCVVVDVHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTRPEEEYNSTYRVVSVLTVILHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRREMTKNQVSLTCDVSGFYPSSDI AVEWES
 DQQPENNYKTTTPPVLDSDGSEFLYSKLTVDKSRWEGQGVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

>XENP021905 7G8_H3.28 1.1.11-[CTLA-4]_H3.23 1.0.129 scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 39023-39032, 连接子公开为 SEQ ID NO: 37708)
 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMHWVRQAPGKLEWVSLISYDGNKYADSVKGRFTISRDNKNSLYIQMNSLRAPDFTAVYYCARGGHLGPEDLMGQGTMTVTVSS/GKPGSGKPGS
 GKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLIIYGASRATGIPDRFGSGSGTDFTLTISRLEFEDFAVYYCQYGGSPFTFGQGTKVETIK/EPKSSDKTH
 TCPPCPAPPVAGPSVFLPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTRPEEQYNSTYRVVSVLTVILHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPS
 REQWTKNQVXLTCIVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSEFLYSKLTVDKSRWQGNVFSCSVNHEALHNHYTQKSLSLSPGK

>XENP021905 7G8_H3.28 1.1.11-[CTLA-4]_H3.23 1.0.129 轻链 (SEQ ID NOS 39033-39037)
 DIWLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSYVDYDGDSYIMHWYQQKPGKPPKLLIYAASELESGIPARLSGSGSGTDFTITISLSQPEDFAVYYCQQSNEDPFTFGSGTKLEIK/RTVAAPSVFIFPPSDEQ
 LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSLTITLSKADYERKHVYACEVTHQGLSSPVTKSRNGEC

图17I

XENP21906

>XENP021906 7g8_H3.28_L1.13-[CTLA-4]_H3.23_I0.129 Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 39038-39042)
 EVLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDAMDWVRQAPGKLEWVAELISTKYNHATYYAESVKGRFTISRDDSKSVYLQMSLRRAEDTAVYYCTRLATWDWYFDYWGQGITTVTVSS/ASTKGPFS
 VFELAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLOSSGLYSLSVVTPSSSLGTQTYICNVNHRKPSDTKVKVEPKSCDKHTCPCCPAPEVAGPSVFLPEPKPKDTLMIS
 RTFEVTCVVVDVRRHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEYNTYRVSVLVFLVHODMANGKEYCKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRREEMTKNQVSLTCTCDVSGFYPDSIAVEWES
 DQGPENNYKTTTPPVLDSDGSEFLYSKLTVDKSRWEGQDFVFCVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

>XENP021906 7g8_H3.28_L1.13-[CTLA-4]_H3.23_I0.129 scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 39043-39052, 连接子公开为SEQ ID NO: 37708)
 EVLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMHWROAPGKLEWVSFISYDGNKYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMSLRRAEDTAVYYCARGGHLGPEDLWGQGTMTVTVSS/GKPGSGKPGS
 GKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLIIYGASSRATGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYGSFPWTFGGGTKEIK/EPKSSDKTH
 TCPPCPAPPVAGPSVFLPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVRRHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLVFLVHODMANGKEYCKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
 REQMTKNQVRLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSEFLYSKLTVDKSRWQGGNVFSCVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

>XENP021906 7g8_H3.28_L1.13-[CTLA-4]_H3.23_I0.129 轻链 (SEQ ID NOS 39053-39057)
 DTVLTQSPSSLASVGRVITTCRASQSVDDHSDSYMNWYQQKPGKPPKLLIYAASELESCIPARLSGSGGTDFTLTISLSLQPEDFATYYCQSNEDPFTFGSGTKLEIK/RCVAAPSVEIFFPPSDEQ
 LKSGTASVVCLLANNFYPREAKVQWKNALQSGNSQESVTEQDQSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKYVACEVTHQGLISFPTKSFNRGEC

图17J

XENP22505

>XENP022505 2A11_H1.125_L2.113_Fab-[CTLA-4]_H3.23_L0.129 Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 39058-39062)
 EVQLVDSGAEVKKPGATVKISCKASGFNKHIFEMHWQQAPGKGLWMGWIDPYLGDTEYAPKFGKRVITITADTSTNTAYMELSSLASEDTAVYCYARGVYQALDYWGQGTLYTVSS/ASTKGPSVFP
 LAPSSKSTSGGTALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTCTYICNVNHPKSDTKVDKVEPKSCDKHTCTPCPCPAPFVAGPSVELFPKPKDTLMISRTF
 EYTCVVDVKHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTFRPEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSHEEMTKNQVSLTCDVSGFYPSPDIAVEWESDQG
 PENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCVMHEALHNHYTQKSISLSPGK

>XENP022505 2A11_H1.125_L2.113_Fab-[CTLA-4]_H3.23_L0.129 scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 39063-39072, 连接器公开为SEQ ID NO: 37708)

EVQLVESGGGLYKGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWNRQAPGKGLWEWSEISYDGNKYKYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRADTAVYCARGGHLPFLWGQGTMTVSS/GKPGSGKPGS
 GRPGSGKPGS/EIWLQSPATISLSPGERATISCRASQSVSSYLAWYQQKQPAPRLIYGASSRATGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFVAVYCCQYGSFPTFGQGTKEIK/EPKSSDKTH
 TCPPCPAPPVAGPSVELFPKPKDTLMISRTFEVTCVVDVKHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTFRPEEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPS
 REQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSISLSPGK

>XENP022505 2A11_H1.125_L2.113_Fab-[CTLA-4]_H3.23_L0.129 轻链 (SEQ ID NOS 39073-39077)
 DIQMTQSPAFLSVTPGEKVTITCQASQDIGNVLTNWFOQKPDQTVKLLIYFISYLHSGVPSRFSGSGSGTDTYFTISILEADDAATYFCQQGNTILPYTFEGGGTKVEIK/RTVAAPSVTIFPPSPDEQLKSG
 TASVWCILANNFYPREAKVQWVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTISLSTITLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图17K

XENP22510

>XENP022510 2A11_H1_L2.25_Fab-[CTLA-4]_H3.23_L0.129 Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 39078-39082)
 EVQLVQSGAEVKKPGATVKISKASGFNLIKDYIMHWVQAPGKLEWGWIDPENGUTEYAPKFOGRVTITADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYCYARGVRQALDYWGQGLTVTVSS/ASTKGPSVFP
 LAPSSKSTSGGTARLGLCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSISLVTVFSSSLGTQTYICNVNKKPSDTKYDKKVEPKSCDKHTCPGCPAPVAVGFSVFLPPKPKDTLMISRTPE
 EFTCVVVDVKHDEPEVKENWYDGVGVHNAKTPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRREENTKNQVSLTCDVSGFYPFSDIAVEWESDQG
 PENNYKTPPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWEGQGVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

>XENP022510 2A11_H1_L2.25_Fab-[CTLA-4]_H3.23_L0.129 scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 39083-39092, 连接子公开为SEQ ID NO: 37708)
 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWVRQAPGKLEWVSEFISDGNKYADSVKGRFTISRDNKNSLYIQMNSLRRAEDTAVYCYARGGHLGPFDLWGQGLTVTVSS/GKPGSGKPGS
 GKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLIIYGASRAIGIPDRFSGSGSTDFTLTISRLEPEDFAVYCYQQYGSFPWTFGQGTKEIK/EPKSSDKTH
 TCEPCFAPPVAGPSVFLPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHDEPEVKENWYDGVGVHNAKTPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPS
 REQMTKRNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

>XENP022510 2A11_H1_L2.25_Fab-[CTLA-4]_H3.23_L0.129 轻链 (SEQ ID NOS 39093-39097)
 DIQMTQSPAFLSVTPGEKVTITCQASQDIGNHLNWFQKPDQVTKLLIYTSRLHSGVPSRFSGSGSTDTFTTISLSEARDAATYFCQQGNTLFTFGGGTKVEIK/RTVAAPSVFIFPPPSDEQLKSG
 TASVVCILNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图17L

XENP22602

>XENP022602 7G8_H3_30_I1.34-[CTLA-4]_H3.23_I0.129 Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 39098-39102)
 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDAAWMSWRQAPGKGLWVAEISTKANNHATYYAESVKGRETTISRDSDSKSSVYLQMNSLRAREDYAVYYCTRLATWDWYFDVWGQGT^{TV}VSS/ASTKGPS
 VFEFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTPDAVQLSSGILYSSVTVVPS^{SS}SLGTQTYICNVNHHKPSDTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPRDTLMIS
 RTPEVTCVVVDV^{KH}EDPEVKFNWYVDGVEVFN^{AKT}KPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP^{IEKT}ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCTDVS^{GF}YPSDIAVEWES
 DQGPENNYK^{TT}TPPVLDSDGSFELYSKLTVDKSRWEGQDVFSCSVMH^{EA}LHNHYTQKSLSLSPGK

>XENP022602 7G8_H3_30_I1.34-[CTLA-4]_H3.23_I0.129 scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 39103-39112, 连接子公开为SEQ ID NO: 37708)
 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASCTFSSYTMHWVRQAPGKGLWV^SFTSYDGNVKKYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAREDYAVYYCARGGHLGPF^{DL}WGQGT^{TV}VSS/GKPGSGKPGS
 GKPGSGKPGS/EIVLTQSPATLSLSPGERATISCRASQSYGSSYLAWYQQKPGQAPRLIIYGASSRATCIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGS^{SP}TFGGQTKV^{IEIK}/EPKSSDKTH
 TCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPRDTLMISRTPEVTCVVVDV^{KH}EDPEVKFNWYVDGVEVFN^{AKT}KPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP^{IEKT}ISKAKGQPREPQVYTLPPS
 REQMTKNQVKLTCLVKG^{FP}PSDIAVEWESNGQPENNYK^{TT}TPPVLDSDGSFELYSKLTVDKSRWQ^QGVFSCSVMH^{EA}LHNHYTQKSLSLSPGK

>XENP022602 7G8_H3_30_I1.34-[CTLA-4]_H3.23_I0.129 轻链 (SEQ ID NOS 39113-39117)
 DIVLTQSPFSSLSASVGRV^{TT}TCRASQSYVDYDGD^{SY}MNWYQQKPGKPPKLLIYAA^{SE}LESGIPARFSGSGGT^{DF}FTIT^{IS}SLQPEDFAVYYCQ^QSNED^{PT}FGSGTK^{LEIK}/RTVAAPSVFIFPPSDEQ
 LKSGTASVVC^{LL}NNFYPREAKVQW^{KVD}NALQSGNSQ^{ES}YTEQDSKSTYSLSSTITISKADY^{EKH}KVACEVTHQGLS^{SP}TKS^{FN}RGE^C

图17M

XENP22675

>XENP022675 2A11_H1.144_L2.142_Fab-[CTLA-4]_H3.23_L0.129_Fab-Fc 重链 (SEQ ID NOS 39118-39122)
 EVQLVSGAIVKPGATVKISKASGFNIKDYFMHWQAPGKGLWNGWIDPELGDTEYAPKFGQRTVITADTSTNAYMELSSLRSEDTAVYCYARGVYQALDYWGQGTIVTVSS/ASTKGFSPFP
 LAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLISVWVPSSSLGTQYTCNVNHPKSDTKVDKVKPKSDTKHTCPCPAPEVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
 EVTCVVVDVHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTTSKAKGQPREPQVYTTLPSPREEMTKNQVSLTCDVSGFPSPSDIAVEMESDGG
 PENNYKRTTPPVLDSDGSGFFLYSKLTVDKSRWEGQGVFSCVMHEALHNHYTQKSISLSPGK

>XENP022675 2A11_H1.144_L2.142_Fab-[CTLA-4]_H3.23_L0.129_scFv-Fc 重链 (SEQ ID NOS 39123-39132, 连接子公开为SEQ ID NO: 37708)
 EVQLVSGGGLVKEGGSLRLSCAASGFTFSYTMHWROAPGKGLFWVSIISYDGNKYKYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYCARGGHLPEDLWGQGTIVTVSS/GKPGSGKPGS

GKPGSGKPGS/EIVLTQSPATISLSPGERATISCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLIYCASSRATGIPDRFSGSGCTDFTLTISRLEPEPEFAVYCCQYGGSPMTFGQGTQVRIK/EPKSGDKTH
 TCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTTISKAKGQPREPQVYTTLPES
 REQMTKRNQVKLTCCLVKGFPYSDIAVEMESNGQFENNYKTTPEVLDSDGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSISLSPGK

>XENP022675 2A11_H1.144_L2.142_Fab-[CTLA-4]_H3.23_L0.129_轻链 (SEQ ID NOS 39133-39137)
 DIQMTQSPATLSVTPGERKVTITCQASQDIGNYLNWFOQKPGQTVKLLIYFTSYLHSGVPSRFSGSGSGTDYTFITSSLEAEDAATYFCQQGNTLIPYTFGGGTQVRIK/RTVAAPSVFIFFPSPDEQLKSG
 ;PREAKVQWVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTITLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图17N

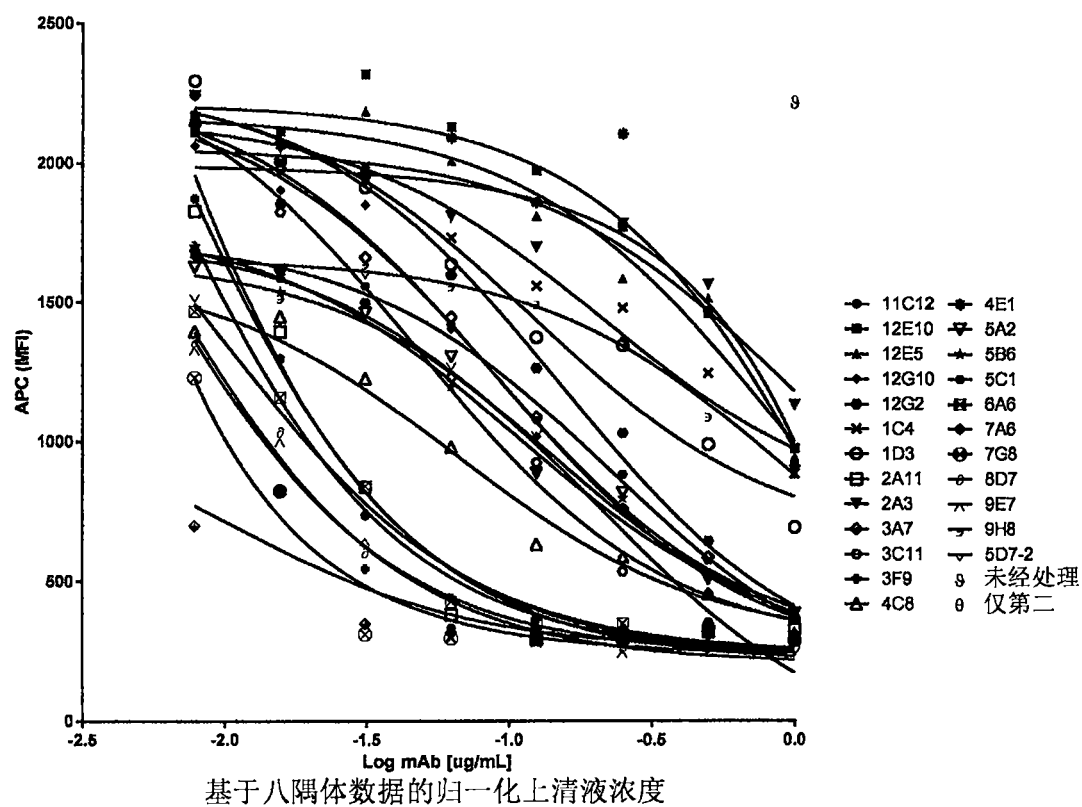


图18

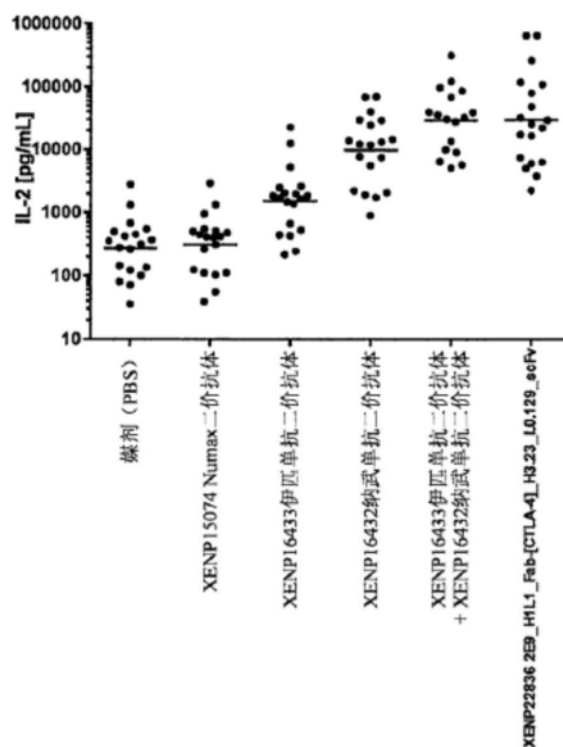


图19A

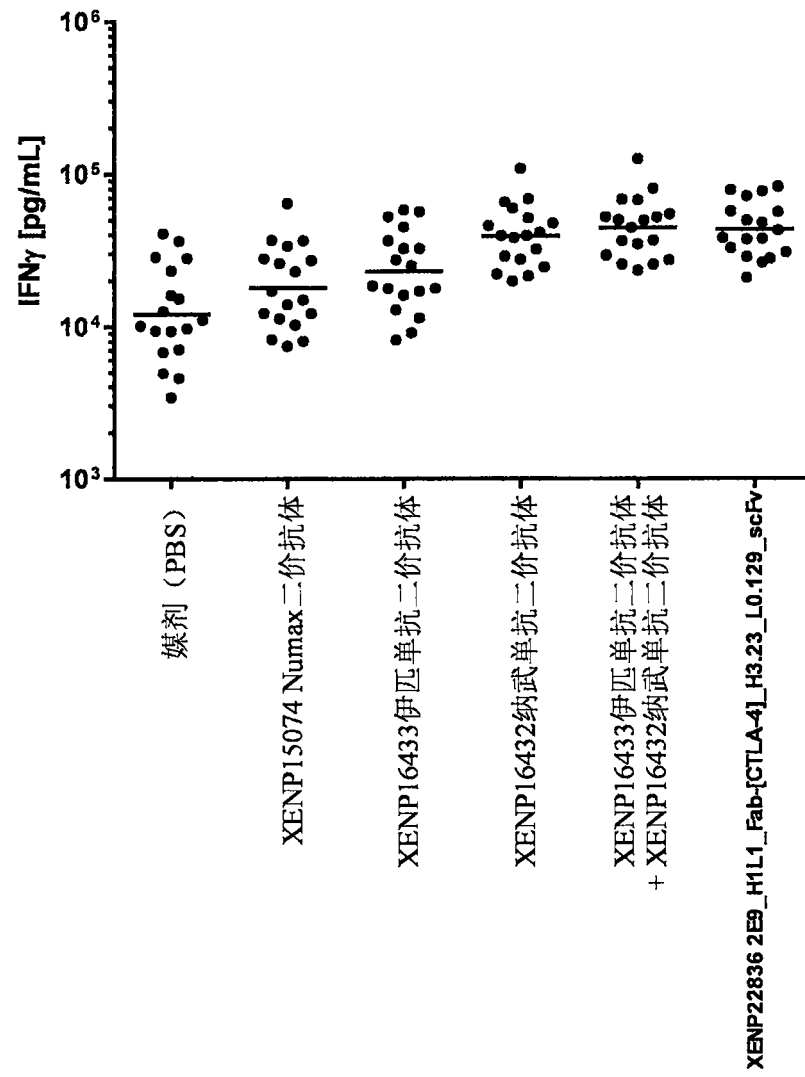


图19B

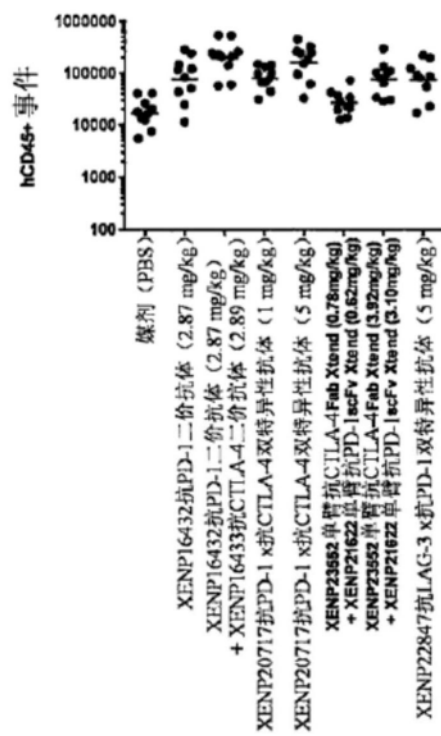


图20A

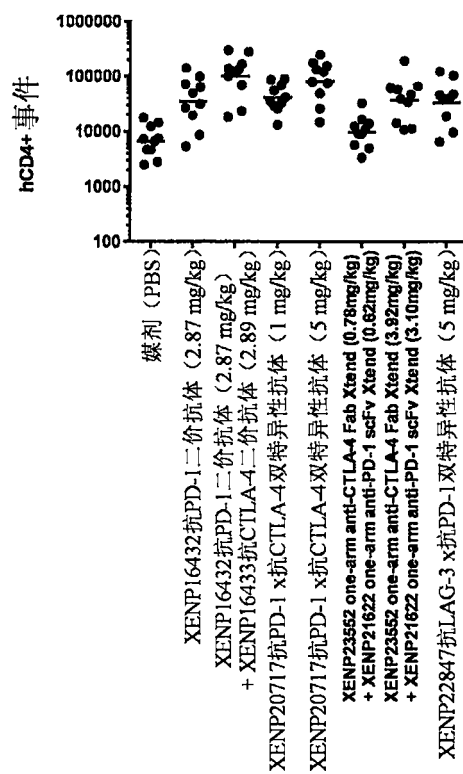


图20B

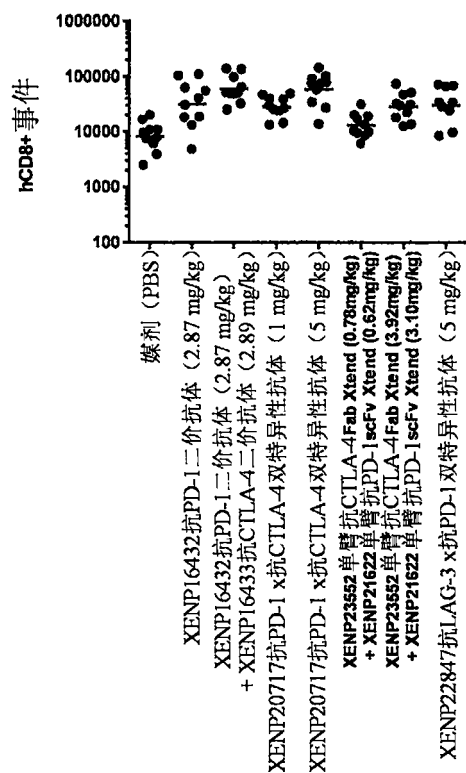


图20C

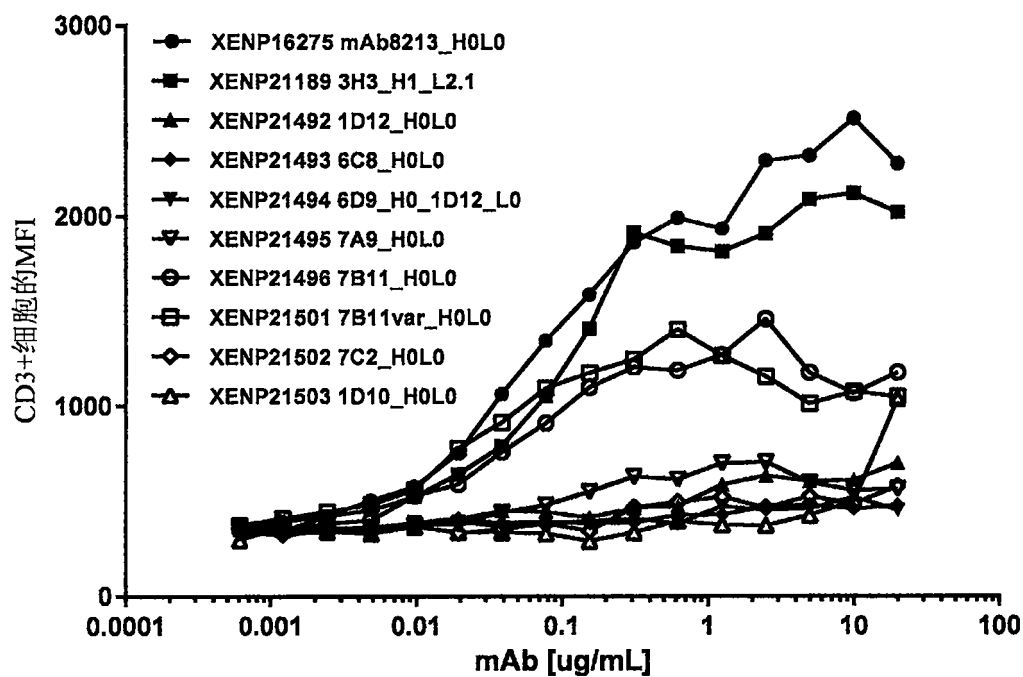


图21A

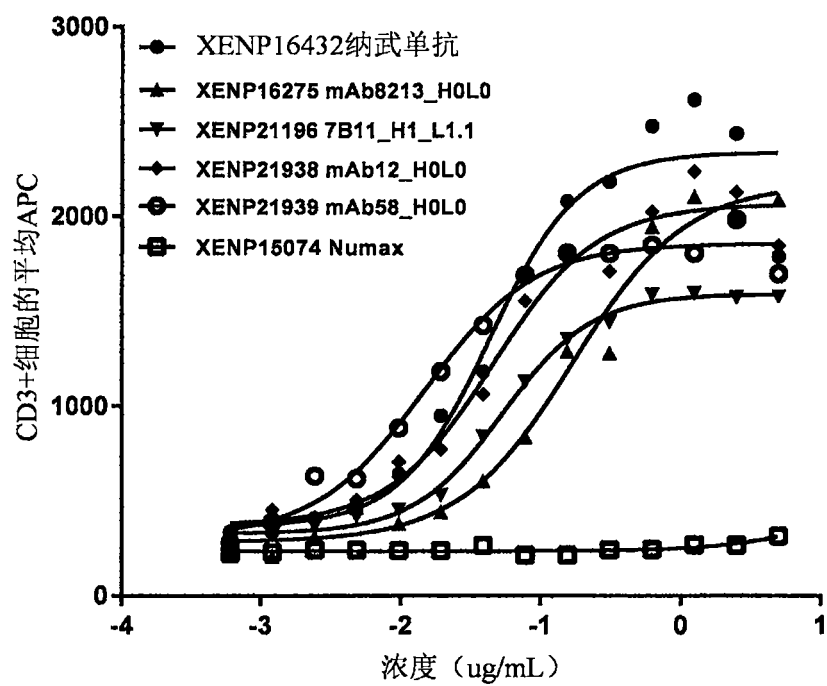


图21B

XENP	克隆	VH	VL	KD (M)	ka (1/Ms)	kd (1/s)
实验 #1						
16275	mAb8213	H0	L0	4.94E-09; 5.93E-09	7.34E04; 8.63E04	3.63E-04; 5.12E-04
17973	ABTIM3	H0	L0	1.74E-09; 2.75E-09	1.45E05; 1.97E05	2.52E-04; 5.42E-04
20850	1D12	H1	L1	9.07E-09	2.45E05	2.22E-03
20851	1D12	H1	L2	2.84E-08	1.72E05	4.87E-03
20853	3H3	H1	L1	4.49E-09	1.04E05	4.66E-04
20854	3H3	H1	L2	7.64E-09	7.07E04	5.40E-04
20855	3H3	H2	L1	5.16E-09	1.97E05	1.02E-03
20856	3H3	H2	L2	1.30E-08	1.11E05	1.44E-03
20857	3H3	H3	L1	7.11E-09	1.04E05	7.39E-04
20858	3H3	H3	L2	1.57E-08	8.16E04	1.28E-03
20859	3H3	H4	L1	4.50E-09	1.53E05	6.88E-04
20860	3H3	H4	L2	8.20E-09	9.15E04	7.50E-04
20861	7B11	H1	L1	1.07E-08	2.86E05	3.06E-03
20862	7B11	H1	L2	1.24E-08	1.37E05	1.70E-03
20863	7B11	H2	L1	9.24E-09	2.77E05	2.56E-03
20864	7B11	H2	L2	1.85E-08	1.34E05	2.48E-03
20865	7C2	H1	L1	5.90E-09	3.01E05	1.78E-03
实验 #2						
16275	mAb8213	H0	L0	8.37E-10	1.84E05	1.54E-04
21188	3H3	H1	L1.1	5.34E-09	1.38E05	7.35E-04
21189	3H3	H1	L2.1	2.61E-09	1.54E05	4.00E-04
21190	3H3	H2	L1.1	8.61E-09	2.93E05	2.52E-03
21191	3H3	H2	L2.1	6.90E-09	2.52E05	1.74E-03
21192	3H3	H3	L1.1	1.25E-08	1.14E05	1.42E-03
21193	3H3	H3	L2.1	6.32E-09	1.56E05	9.87E-04
21194	3H3	H4	L1.1	4.60E-09	1.80E05	8.26E-04
21195	3H3	H4	L2.1	2.50E-09	1.78E05	4.45E-04
21196	7B11	H1	L1.1	3.11E-08	4.32E05	1.34E-02
21201	7B11	H1	L2.1	3.76E-08	3.87E05	1.45E-02
21202	7B11	H2.1	L1.1	3.25E-08	5.00E05	1.63E-02
21203	7B11	H2.1	L2.1	2.66E-08	4.80E05	1.28E-02
21204	7C2	H1.1	L1.1	9.41E-10	1.56E06	1.47E-03
实验 #3						
16275	mAb8213	H0	L0	8.50E-11	1.86E05	1.58E-05
21492	1D12	H0	L0	1.07E-07	1.97E05	2.11E-02
21495	7A9	H0	L0	3.06E-08	2.03E05	6.21E-03
21496	7B11	H0	L0	2.24E-08	2.61E05	5.84E-03
21501	7B11var	H0	L0	2.02E-08	2.90E05	5.84E-03
21502	7C2	H0	L0	6.43E-09	2.68E06	1.72E-02

图22

全长mAb XENP	scFv XENP	VH	VL	scFv 朝向	人PD-1 mAb K _D (M)	scFv T _m (°C)
17906	17922	H1	L1	VH-VL	1.49E-07	56.5
18094	18493	H1.1	L1	VH-VL	1.62E-07	56.5
18095	18494	H1.2	L1	VH-VL	1.59E-07	57.0
18096	18495	H1.3	L1	VH-VL	1.86E-07	55.0
18101	18496	H1.4	L1	VH-VL	1.66E-07	56.5
18102	18501	H1.5	L1	VH-VL	1.79E-07	56.0
18103	18502	H1.6	L1	VH-VL	1.43E-07	56.0
18104	18503	H1.7	L1	VH-VL	1.18E-07	56.0
18105	18504	H1.8	L1	VH-VL	1.21E-07	57.0
18106	18505	H1.9	L1	VH-VL	1.91E-07	54.5
18107	18506	H1.10	L1	VH-VL	2.80E-07	
18108	18507	H1.11	L1	VH-VL	1.22E-07	56.5
18109	18508	H1.12	L1	VH-VL	1.48E-07	56.0
18110	18509	H1.13	L1	VH-VL	1.65E-07	55.5
18111	18510	H1.14	L1	VH-VL	1.59E-07	55.5
18112	18511	H1.15	L1	VH-VL	1.30E-07	55.5
18113	18512	H1.16	L1	VH-VL	1.39E-07	55.0
18114	18513	H1.17	L1	VH-VL	5.15E-07	
18115	18514	H1.18	L1	VH-VL	1.20E-07	55.5
18116	18515	H1.19	L1	VH-VL	1.70E-07	56.0
18117	18516	H1.20	L1	VH-VL	1.47E-07	
18118	18517	H1.21	L1	VH-VL	2.04E-07	
18119	18518	H1.22	L1	VH-VL	1.24E-07	55.5
18120	18519	H1.23	L1	VH-VL	1.39E-06	
18121	18520	H1.24	L1	VH-VL	1.84E-07	
18122	18521	H1.25	L1	VH-VL	1.71E-07	
18123	18522	H1.26	L1	VH-VL	1.20E-07	54.5
18124	18523	H1.27	L1	VH-VL	2.02E-07	55.0
18125	18524	H1.28	L1	VH-VL	9.64E-08	56.0
18126	18525	H1.29	L1	VH-VL	1.51E-07	
18127	18526	H1.30	L1	VH-VL	2.01E-07	
18128	18527	H1.31	L1	VH-VL	1.83E-07	
18129	18528	H1.32	L1	VH-VL	2.53E-07	
18130	18529	H1.33	L1	VH-VL	1.87E-07	
18131	18530	H1.34	L1	VH-VL	1.45E-07	
18132	18531	H1.35	L1	VH-VL	2.19E-07	
18133	18532	H1.36	L1	VH-VL	2.18E-07	
18134	18533	H1.37	L1	VH-VL	2.63E-07	
18135	18534	H1.38	L1	VH-VL	2.12E-07	
18136	18535	H1.39	L1	VH-VL	1.90E-07	
18137	18536	H1.40	L1	VH-VL	3.78E-07	
18138	18537	H1.41	L1	VH-VL	1.60E-07	
18139	18538	H1.42	L1	VH-VL	1.74E-07	
18140	18539	H1.43	L1	VH-VL	1.64E-07	

图23A

全长mAb XENP	scFv XENP	VH	VL	scFv 朝向	人PD-1 mAb K _D (M)	scFv T _m (°C)
18141	18540	H1.44	L1	VH-VL	弱	55.0
18142	18541	H1.45	L1	VH-VL	1.34E-07	51.0
18143	18542	H1.46	L1	VH-VL	1.10E-07	56.5
18144	18543	H1.47	L1	VH-VL	1.11E-07	
18145	18544	H1.48	L1	VH-VL	9.01E-08	
18146	18545	H1.49	L1	VH-VL	1.33E-07	56.0
18147	18546	H1.50	L1	VH-VL	1.44E-07	56.5
18148	18547	H1.51	L1	VH-VL	1.17E-07	51.0
18149	18548	H1.52	L1	VH-VL	9.92E-08	57.0
18150	18549	H1.53	L1	VH-VL	1.36E-07	55.5
18151	18550	H1.54	L1	VH-VL	1.70E-07	
18152	18551	H1.55	L1	VH-VL	1.31E-07	
18153	18552	H1.56	L1	VH-VL	弱	
18154	18553	H1.57	L1	VH-VL	3.66E-07	
18155	18554	H1.58	L1	VH-VL	弱	
18156	18555	H1.59	L1	VH-VL	1.65E-06	
18157	18556	H1.60	L1	VH-VL	1.84E-07	
18158	18557	H1.61	L1	VH-VL	弱	
18159	18558	H1.62	L1	VH-VL	1.37E-07	
18160	18559	H1.63	L1	VH-VL	1.00E-07	56.0
18161	18560	H1.64	L1	VH-VL	1.75E-07	
18162	18561	H1.65	L1	VH-VL	2.76E-07	
18163	18562	H1.66	L1	VH-VL	2.02E-07	
18164	18563	H1.67	L1	VH-VL	8.12E-07	
18165	18564	H1.68	L1	VH-VL	2.23E-07	
18166	18565	H1.69	L1	VH-VL	1.82E-07	
18167	18566	H1.70	L1	VH-VL	1.97E-07	
18168	18567	H1.71	L1	VH-VL	4.53E-07	
18169	18568	H1.72	L1	VH-VL	4.29E-07	
18170	18569	H1.73	L1	VH-VL	1.79E-07	54.5
18171	18570	H1.74	L1	VH-VL	1.45E-07	55.5
18172	18571	H1.75	L1	VH-VL	1.65E-07	53.0
18173	18572	H1.76	L1	VH-VL	1.41E-07	55.5
18174	18573	H1.77	L1	VH-VL	1.25E-07	54.0
18175	18574	H1.78	L1	VH-VL	1.09E-07	53.5
18176	18575	H1.79	L1	VH-VL	2.52E-07	
18177	18576	H1.80	L1	VH-VL	1.91E-07	
18178	18577	H1.81	L1	VH-VL	2.13E-07	
18179	18578	H1.82	L1	VH-VL	2.40E-07	
18180	18579	H1.83	L1	VH-VL	弱	
18181	18580	H1.84	L1	VH-VL	1.03E-07	55.5
18182	18581	H1.85	L1	VH-VL	8.62E-08	55.0
18183	18582	H1.86	L1	VH-VL	8.39E-08	55.5
18184	18583	H1.87	L1	VH-VL	9.43E-08	54.0

图23B

全长mAb XENP	scFv XENP	VH	VL	scFv 朝向	人PD-1 mAb K_D (M)	scFv T_m (°C)
18185	18584	H1.88	L1	VH-VL	8.51E-08	56.0
18186	18585	H1.89	L1	VH-VL	8.09E-08	54.5
18187	18586	H1.90	L1	VH-VL	7.54E-08	55.0
18188	18587	H1.91	L1	VH-VL	1.04E-07	54.5
18189	18588	H1.92	L1	VH-VL	1.07E-07	
18190	18589	H1.93	L1	VH-VL	1.21E-07	
18191	18590	H1.94	L1	VH-VL	8.46E-08	
18192	18591	H1.95	L1	VH-VL	9.15E-08	
18193	18592	H1.96	L1	VH-VL	6.42E-08	
18194	18593	H1.97	L1	VH-VL	8.23E-08	
18195	18594	H1.98	L1	VH-VL	2.41E-07	56.0
18196	18595	H1.99	L1	VH-VL	2.10E-07	56.5
18201	18596	H1.100	L1	VH-VL	2.51E-07	55.0
18202	18601	H1.101	L1	VH-VL	2.32E-07	58.0
18203	18602	H1.102	L1	VH-VL	2.15E-07	56.0
18204	18603	H1.103	L1	VH-VL	2.89E-07	
18205	18604	H1.104	L1	VH-VL	1.98E-07	56.0
18206	18605	H1.105	L1	VH-VL	2.57E-07	53.5
18207	18606	H1.106	L1	VH-VL	1.85E-07	54.5
18208	18607	H1.107	L1	VH-VL	2.33E-07	55.5
18209	18608	H1.108	L1	VH-VL	2.07E-07	55.0
18210	18609	H1.109	L1	VH-VL	2.38E-07	54.5
18211	18610	H1.110	L1	VH-VL	1.78E-07	56.0
18212	18611	H1.111	L1	VH-VL	1.56E-07	55.5
18213	18612	H1.112	L1	VH-VL	1.60E-07	55.0
18214	18613	H1.113	L1	VH-VL	1.65E-07	55.0
18215	18614	H1.114	L1	VH-VL	2.79E-07	55.0
18216	18615	H1.115	L1	VH-VL	1.93E-07	55.0
18217	18616	H1.116	L1	VH-VL	1.80E-07	54.0
18218	18617	H1.117	L1	VH-VL	1.80E-07	56.0
18219	18618	H1.118	L1	VH-VL	2.51E-07	55.0
18220	18619	H1.119	L1	VH-VL	1.57E-07	55.5
18221	18620	H1.120	L1	VH-VL	1.64E-07	54.0
18222	18621	H1.121	L1	VH-VL	1.53E-07	53.5
18223	18622	H1.122	L1	VH-VL	1.67E-07	54.5
18224	18623	H1.123	L1	VH-VL	1.71E-07	52.5
18225	18624	H1.124	L1	VH-VL	1.51E-07	53.0
18226	18625	H1.125	L1	VH-VL	1.88E-07	53.0
18227	18626	H1.126	L1	VH-VL	1.45E-07	53.5
18228	18627	H1.127	L1	VH-VL	1.60E-07	52.5
18229	18628	H1.128	L1	VH-VL	1.51E-07	55.0
18230	18629	H1.129	L1	VH-VL	1.81E-07	
18231	18630	H1.130	L1	VH-VL	1.41E-07	56.0
18232	18631	H1.131	L1	VH-VL	1.34E-07	55.5

图23C

全长mAb XENP	scFv XENP	VH	VL	scFv 朝向	人PD-1 mAb K _D (M)	scFv T _m (°C)
18233	18632	H1.132	L1	VH-VL	1.92E-07	
18234	18633	H1.133	L1	VH-VL	1.97E-07	55.5
18235	18634	H1.134	L1	VH-VL	2.20E-07	
18236	18635	H1.135	L1	VH-VL	1.53E-07	54.5
18237	18636	H1.136	L1	VH-VL	2.00E-07	
18238	18637	H1.137	L1	VH-VL	1.16E-07	57.0
18239	18638	H1.138	L1	VH-VL	1.42E-07	55.5
18240	18639	H1.139	L1	VH-VL	1.62E-07	56.5
18241	18640	H1.140	L1	VH-VL	1.18E-07	57.0
18242	18641	H1.141	L1	VH-VL	1.53E-07	55.5
18243	18642	H1.142	L1	VH-VL	1.70E-07	56.5
18244	18643	H1.143	L1	VH-VL	1.34E-07	
18245	18644	H1.144	L1	VH-VL	1.50E-07	55.0
18246	18645	H1.145	L1	VH-VL	1.42E-07	57.0
18247	18646	H1.146	L1	VH-VL	1.44E-07	54.0
18248	18647	H1.147	L1	VH-VL	1.28E-07	55.0
18249	18648	H1.148	L1	VH-VL	1.32E-07	56.0
18250	18649	H1.149	L1	VH-VL	1.27E-07	54.5
18251	18650	H1.150	L1	VH-VL	1.23E-07	55.5
18252	18651	H1.151	L1	VH-VL	1.12E-07	57.0
18253	18652	H1.152	L1	VH-VL	8.58E-08	56.5
18254	18653	H1.153	L1	VH-VL	1.66E-07	55.5
18255	18654	H1.154	L1	VH-VL	1.37E-07	56.5
18256	18655	H1.155	L1	VH-VL	9.70E-08	56.5
18257	18656	H1.156	L1	VH-VL	2.80E-07	
18258	18657	H1.157	L1	VH-VL	1.51E-07	57.0
18259	18658	H1.158	L1	VH-VL	1.32E-07	56.5
18260	18659	H1.159	L1	VH-VL	1.39E-07	56.0
18261	18660	H1.160	L1	VH-VL	1.28E-07	57.0
18262	18661	H1.161	L1	VH-VL	1.53E-07	56.5
18263	18662	H1.162	L1	VH-VL	2.78E-07	
18264	18663	H1.163	L1	VH-VL	1.07E-07	55.5
18265	18664	H1.164	L1	VH-VL	2.16E-07	
18266	18665	H1.165	L1	VH-VL	弱	
18267	18666	H1.166	L1	VH-VL	2.43E-07	
18268	18667	H1.167	L1	VH-VL	弱	
18269	18668	H1.168	L1	VH-VL	弱	
18270	18669	H1.169	L1	VH-VL	7.90E-06	
18271	18670	H1.170	L1	VH-VL	弱	
18272	18671	H1.171	L1	VH-VL	弱	
18273	18672	H1.172	L1	VH-VL	弱	
18274	18673	H1.173	L1	VH-VL	弱	
18275	18674	H1.174	L1	VH-VL	弱	
18276	18675	H1.175	L1	VH-VL	弱	

图23D

全长mAb XENP	scFv XENP	VH	VL	scFv 朝向	人PD-1 mAb K _D (M)	scFv T _m (°C)
18277	18676	H1.176	L1	VH-VL	1.32E-07	56.0
18278	18677	H1.177	L1	VH-VL	弱	
18279	18678	H1.178	L1	VH-VL	弱	
18280	18679	H1.179	L1	VH-VL	3.40E-07	
18281	18680	H1.180	L1	VH-VL	弱	
18282	18681	H1.181	L1	VH-VL	弱	
18283	18682	H1.182	L1	VH-VL	弱	
18284	18683	H1.183	L1	VH-VL	弱	
18285	18684	H1.184	L1	VH-VL	弱	
18286	18685	H1.185	L1	VH-VL	弱	
18287	18686	H1.186	L1	VH-VL	弱	
18288	18687	H1.187	L1	VH-VL	弱	
18289	18688	H1.188	L1	VH-VL	1.61E-07	56.5
18290	18689	H1.189	L1	VH-VL	弱	
18291	18690	H1.190	L1	VH-VL	弱	
18292	18691	H1.191	L1	VH-VL	弱	
18293	18692	H1.192	L1	VH-VL	弱	
18294	18693	H1.193	L1	VH-VL	弱	
18295	18694	H1.194	L1	VH-VL	弱	
18296	18695	H1.195	L1	VH-VL	5.81E-07	
18301	18696	H1.196	L1	VH-VL	弱	
18302	18701	H1.197	L1	VH-VL	6.15E-07	
18303	18702	H1.198	L1	VH-VL	弱	
18304	18703	H1.199	L1	VH-VL	弱	
18305	18704	H1.200	L1	VH-VL	1.77E-07	
18306	18705	H1.201	L1	VH-VL	弱	
18307	18706	H1.202	L1	VH-VL	弱	
18308	18707	H1.203	L1	VH-VL	3.95E-07	
18309	18708	H1.204	L1	VH-VL	弱	
18310	18709	H1.205	L1	VH-VL	弱	
18311	18710	H1.206	L1	VH-VL	弱	
18312	18711	H1.207	L1	VH-VL	弱	
18313	18712	H1.208	L1	VH-VL	弱	
18314	18713	H1.209	L1	VH-VL	弱	
18315	18714	H1.210	L1	VH-VL	弱	
18316	18715	H1.211	L1	VH-VL	1.40E-07	58.5
18317	18716	H1.212	L1	VH-VL	1.24E-07	
18318	18717	H1.213	L1	VH-VL	弱	
18319	18718	H1.214	L1	VH-VL	弱	
18320	18719	H1.215	L1	VH-VL	弱	
18321	18720	H1.216	L1	VH-VL	弱	
18322	18721	H1.217	L1	VH-VL	弱	
18323	18722	H1.218	L1	VH-VL	弱	
18324	18723	H1.219	L1	VH-VL	弱	

图23E

全长mAb XENP	scFv XENP	VH	VL	scFv 朝向	人PD-1 mAb K _D (M)	scFv T _m (°C)
18325	18724	H1.220	L1	VH-VL	弱	
18326	18725	H1.221	L1	VH-VL	弱	
18327	18726	H1.222	L1	VH-VL	弱	
18328	18727	H1.223	L1	VH-VL	弱	
18329	18728	H1.224	L1	VH-VL	弱	
18330	18729	H1.225	L1	VH-VL	弱	
18331	18730	H1.226	L1	VH-VL	弱	
18332	18731	H1.227	L1	VH-VL	弱	
18333	18732	H1.228	L1	VH-VL	弱	
18334	18733	H1.229	L1	VH-VL	弱	
18335	18734	H1.230	L1	VH-VL	弱	
18336	18735	H1.231	L1	VH-VL	弱	
18337	18736	H1.232	L1	VH-VL	弱	
18338	18737	H1.233	L1	VH-VL	弱	
18339	18738	H1.234	L1	VH-VL	弱	
18340	18739	H1.235	L1	VH-VL	弱	
18341	18740	H1.236	L1	VH-VL	弱	
18342	18741	H1.237	L1	VH-VL	1.95E-07	
18343	18742	H1.238	L1	VH-VL	1.16E-07	57.0
18344	18743	H1	L1.1	VH-VL	1.11E-07	56.5
18345	18744	H1	L1.2	VH-VL	1.20E-07	54.5
18346	18745	H1	L1.3	VH-VL	1.07E-07	55.0
18347	18746	H1	L1.4	VH-VL	8.73E-08	57.0
18348	18747	H1	L1.5	VH-VL	1.02E-07	56.5
18349	18748	H1	L1.6	VH-VL	1.12E-07	57.0
18350	18749	H1	L1.7	VH-VL	1.40E-07	55.5
18351	18750	H1	L1.8	VH-VL	1.40E-07	56.0
18352	18751	H1	L1.9	VH-VL	1.24E-07	57.0
18353	18752	H1	L1.10	VH-VL	1.44E-07	54.5
18354	18753	H1	L1.11	VH-VL	1.46E-07	56.0
18355	18754	H1	L1.12	VH-VL	1.39E-07	58.0
18356	18755	H1	L1.13	VH-VL	1.46E-07	
18357	18756	H1	L1.14	VH-VL	9.95E-08	57.5
18358	18757	H1	L1.15	VH-VL	1.21E-07	56.5
18359	18758	H1	L1.16	VH-VL	2.86E-07	
18360	18759	H1	L1.17	VH-VL	1.13E-07	54.5
18361	18760	H1	L1.18	VH-VL	2.71E-07	
18362	18761	H1	L1.19	VH-VL	2.84E-07	
18363	18762	H1	L1.20	VH-VL	1.75E-07	
18364	18763	H1	L1.21	VH-VL	1.22E-07	58.0
18365	18764	H1	L1.22	VH-VL	3.33E-07	
18366	18765	H1	L1.23	VH-VL	8.20E-08	59.0
18367	18766	H1	L1.24	VH-VL	4.46E-07	
18368	18767	H1	L1.25	VH-VL	4.09E-07	

图23F

全长mAb XENP	scFv XENP	VH	VL	scFv 朝向	人PD-1 mAb K _D (M)	scFv T _m (°C)
18369	18768	H1	L1.26	VH-VL	弱	
18370	18769	H1	L1.27	VH-VL	3.73E-07	
18371	18770	H1	L1.28	VH-VL	1.22E-07	
18372	18771	H1	L1.29	VH-VL	弱	
18373	18772	H1	L1.30	VH-VL	弱	
18374	18773	H1	L1.31	VH-VL	弱	
18375	18774	H1	L1.32	VH-VL	7.36E-07	
18376	18775	H1	L1.33	VH-VL	弱	
18377	18776	H1	L1.34	VH-VL	1.45E-06	
18378	18777	H1	L1.35	VH-VL	4.28E-07	
18379	18778	H1	L1.36	VH-VL	弱	
18380	18779	H1	L1.37	VH-VL	弱	
18381	18780	H1	L1.38	VH-VL	弱	
18382	18781	H1	L1.39	VH-VL	5.45E-07	
18383	18782	H1	L1.40	VH-VL	弱	
18384	18783	H1	L1.41	VH-VL	弱	
18385	18784	H1	L1.42	VH-VL	弱	
18386	18785	H1	L1.43	VH-VL	弱	
18387	18786	H1	L1.44	VH-VL	弱	
18388	18787	H1	L1.45	VH-VL	弱	
18389	18788	H1	L1.46	VH-VL	2.19E-07	
18390	18789	H1	L1.47	VH-VL	1.06E-07	55.0
18391	18790	H1	L1.48	VH-VL	1.35E-07	
18392	18791	H1	L1.49	VH-VL	1.49E-07	
18393	18792	H1	L1.50	VH-VL	1.17E-07	57.0
18394	18793	H1	L1.51	VH-VL	1.09E-07	55.5
18395	18794	H1	L1.52	VH-VL	9.28E-08	54.0
18396	18795	H1	L1.53	VH-VL	1.46E-07	
18401	18796	H1	L1.54	VH-VL	4.49E-07	
18402	18801	H1	L1.55	VH-VL	弱	
18403	18802	H1	L1.56	VH-VL	弱	
18404	18803	H1	L1.57	VH-VL	弱	
18405	18804	H1	L1.58	VH-VL	弱	
18406	18805	H1	L1.59	VH-VL	弱	
18407	18806	H1	L1.60	VH-VL	弱	
18408	18807	H1	L1.61	VH-VL	弱	
18409	18808	H1	L1.62	VH-VL	弱	
18410	18809	H1	L1.63	VH-VL	弱	
18411	18810	H1	L1.64	VH-VL	1.79E-07	
18412	18811	H1	L1.65	VH-VL	2.91E-07	
18413	18812	H1	L1.66	VH-VL	3.29E-07	
18414	18813	H1	L1.67	VH-VL	1.46E-07	54.0
18415	18814	H1	L1.68	VH-VL	1.60E-07	
18416	18815	H1	L1.69	VH-VL	弱	

图23G

全长mAb XENP	scFv XENP	VH	VL	scFv 朝向	人PD-1 mAb K _D (M)	scFv T _m (°C)
18417	18816	H1	L1.70	VH-VL	1.34E-07	
18418	18817	H1	L1.71	VH-VL	3.71E-07	
18419	18818	H1	L1.72	VH-VL	6.40E-07	
18420	18819	H1	L1.73	VH-VL	1.52E-07	
18421	18820	H1	L1.74	VH-VL	1.75E-07	
18422	18821	H1	L1.75	VH-VL	1.78E-07	
18423	18822	H1	L1.76	VH-VL	1.33E-07	56.5
18424	18823	H1	L1.77	VH-VL	3.78E-07	
18425	18824	H1	L1.78	VH-VL	弱	
18426	18825	H1	L1.79	VH-VL	弱	
18427	18826	H1	L1.80	VH-VL	弱	
18428	18827	H1	L1.81	VH-VL	2.54E-07	
18429	18828	H1	L1.82	VH-VL	7.67E-08	
18430	18829	H1	L1.83	VH-VL	1.07E-05	
18431	18830	H1	L1.84	VH-VL	5.39E-07	
18432	18831	H1	L1.85	VH-VL	1.56E-07	
18433	18832	H1	L1.86	VH-VL	1.24E-07	55.5
18434	18833	H1	L1.87	VH-VL	2.51E-07	
18435	18834	H1	L1.88	VH-VL	1.40E-07	56.0
18436	18835	H1	L1.89	VH-VL	6.50E-07	
18437	18836	H1	L1.90	VH-VL	1.22E-06	
18438	18837	H1	L1.91	VH-VL	1.79E-07	
18439	18838	H1	L1.92	VH-VL	4.04E-07	
18440	18839	H1	L1.93	VH-VL	7.76E-07	
18441	18840	H1	L1.94	VH-VL	8.48E-08	53.0
18442	18841	H1	L1.95	VH-VL	1.23E-07	54.5
18443	18842	H1	L1.96	VH-VL	1.30E-07	55.5
18444	18843	H1	L1.97	VH-VL	1.06E-07	56.5
18445	18844	H1	L1.98	VH-VL	1.84E-07	
18446	18845	H1	L1.99	VH-VL	1.48E-06	
18447	18846	H1	L1.100	VH-VL	9.17E-08	55.5
18448	18847	H1	L1.101	VH-VL	1.35E-07	
18449	18848	H1	L1.102	VH-VL	1.06E-07	55.0
18450	18849	H1	L1.103	VH-VL	9.46E-08	60.0
18451	18850	H1	L1.104	VH-VL	1.08E-07	57.0
18452	18851	H1	L1.105	VH-VL	1.02E-07	55.0
18453	18852	H1	L1.106	VH-VL	1.01E-07	57.5
18454	18853	H1	L1.107	VH-VL	弱	
18455	18854	H1	L1.108	VH-VL	弱	
18456	18855	H1	L1.109	VH-VL	弱	
18457	18856	H1	L1.110	VH-VL	弱	
18458	18857	H1	L1.111	VH-VL	弱	
18459	18858	H1	L1.112	VH-VL	1.92E-07	
18460	18859	H1	L1.113	VH-VL	弱	

图23H

全长mAb XENP	scFv XENP	VH	VL	scFv 朝向	人PD-1 mAb K _D (M)	scFv T _m (°C)
18461	18860	H1	L1.114	VH-VL	2.87E-07	
18462	18861	H1	L1.115	VH-VL	弱	
18463	18862	H1	L1.116	VH-VL	5.60E-08	55.5
18464	18863	H1	L1.117	VH-VL	1.58E-07	58.0
18465	18864	H1	L1.118	VH-VL	7.90E-08	51.00, 58.00
18466	18865	H1	L1.119	VH-VL	4.88E-08	54.0
18467	18866	H1	L1.120	VH-VL	7.74E-08	50.50, 57.00
18468	18867	H1	L1.121	VH-VL	1.08E-07	54.5
18469	18868	H1	L1.122	VH-VL	9.36E-08	51.0
18470	18869	H1	L1.123	VH-VL	1.32E-07	49.00, 59.00
18471	18870	H1	L1.124	VH-VL	8.70E-08	53.5
18472	18871	H1	L1.125	VH-VL	1.06E-07	53.0
18473	18872	H1	L1.126	VH-VL	7.34E-08	51.0
18474	18873	H1	L1.127	VH-VL	1.10E-07	55.5
18475	18874	H1	L1.128	VH-VL	1.07E-07	57.0
18476	18875	H1	L1.129	VH-VL	1.00E-07	57.0
18477	18876	H1	L1.130	VH-VL	1.18E-07	54.5
18478	18877	H1	L1.131	VH-VL	1.96E-07	55.5
18479	18878	H1	L1.132	VH-VL	1.51E-07	55.0
18480	18879	H1	L1.133	VH-VL	1.32E-07	54.0
18481	18880	H1	L1.134	VH-VL	1.97E-07	57.0
18482	18881	H1	L1.135	VH-VL	1.56E-07	54.5
18483	18882	H1	L1.136	VH-VL	2.41E-07	56.5
18484	18883	H1	L1.137	VH-VL	1.87E-07	56.0
18485	18884	H1	L1.138	VH-VL	2.05E-07	56.0
18486	18885	H1	L1.139	VH-VL	1.76E-07	54.0
18487	18886	H1	L1.140	VH-VL	2.52E-07	
18488	18887	H1	L1.141	VH-VL	2.05E-07	57.0
18489	18888	H1	L1.142	VH-VL	1.09E-07	54.0
18490	18889	H1	L1.143	VH-VL	2.36E-07	
18491	18890	H1	L1.144	VH-VL	1.83E-07	57.0
18492	18891	H1	L1.145	VH-VL	1.63E-07	54.0
18892	18895	H0	L0	VH-VL	1.24E-07	62.0
N/A	18896 (rvs scFv)	H1	L1	VL-VH		58.5
N/A	18921	H1	L3	VH-VL		55.0
N/A	18922	H1	L4	VH-VL		57.0
N/A	18923	H1	L5	VH-VL		60.0
N/A	18924	H2	L1	VH-VL		
N/A	18925	H2	L2	VH-VL		
N/A	18926	H2	L3	VH-VL		
N/A	18927	H2	L4	VH-VL		
N/A	18928	H2	L5	VH-VL		
N/A	18929	H3	L1	VH-VL		
N/A	18930	H3	L2	VH-VL		

图23I

全长mAb XENP	scFv XENP	VH	VL	scFv 朝向	人PD-1 mAb K_D (M)	scFv T_m (°C)
N/A	18931	H3	L3	VH-VL		
N/A	18932	H3	L4	VH-VL		
N/A	18933	H3	L5	VH-VL		
N/A	18934	H4	L1	VH-VL		
N/A	18935	H4	L2	VH-VL		
N/A	18936	H4	L3	VH-VL		
N/A	18937	H4	L4	VH-VL		
N/A	18938	H4	L5	VH-VL		
18910	N/A	H1.90	L1.119	VH-VL	1.254E-08	
18911	N/A	H1.90	L1.23	VH-VL	2.278E-08	
18912	N/A	H1.90	L1.67	VH-VL	3.224E-08	
18913	N/A	H1.90	L1.94	VH-VL	2.27E-08	
18914	N/A	H1.90	L1.116	VH-VL	1.634E-08	
18915	N/A	H1.155	L1.119	VH-VL	1.971E-08	
18980	19064	H1.239	L1	VH-VL		56.5
18981	19065	H1.240	L1	VH-VL		56.5
18982	19066	H1.241	L1	VH-VL		57.0
18983	19067	H1.242	L1	VH-VL		56.5
18984	19068	H1.243	L1	VH-VL		55.0
18985	19069	H1.244	L1	VH-VL		55.5
18986	19070	H1.245	L1	VH-VL		56.0
18987	19071	H1.246	L1	VH-VL		54.0
18988	19072	H1.247	L1	VH-VL		56.5
18989	19073	H1.248	L1	VH-VL		55.0
18990	19074	H1.249	L1	VH-VL		54.0
18991	19075	H1.250	L1	VH-VL		56.0
18992	19076	H1.251	L1	VH-VL	6.054E-08	57.0
18993	19077	H1.252	L1	VH-VL		56.5
18994	19078	H1.253	L1	VH-VL		55.0
18995	19079	H1.254	L1	VH-VL		56.5
18996	19080	H1.255	L1	VH-VL		
19001	19081	H1.256	L1	VH-VL		56.0
19002	19082	H1.257	L1	VH-VL	5.607E-08	58.0
19003	19083	H1.258	L1	VH-VL		56.0
19004	19084	H1.259	L1	VH-VL		
19005	19085	H1.260	L1	VH-VL		
19006	19086	H1.261	L1	VH-VL	7.064E-08	57.0
19007	19087	H1.262	L1	VH-VL	6.263E-08	57.0
19008	19088	H1.263	L1	VH-VL		50.0
19009	19089	H1.264	L1	VH-VL		52.0
19010	19090	H1.265	L1	VH-VL		56.0
19011	19091	H1.266	L1	VH-VL		55.0
19012	19092	H1.267	L1	VH-VL		
19013	19093	H1.268	L1	VH-VL		56.5

图23J

全长mAb XENP	scFv XENP	VH	VL	scFv 朝向	人PD-1 mAb K_D (M)	scFv T_m (°C)
19014	19094	H1.269	L1	VH-VL	2.267E-08	54.5
19015	19095	H1.270	L1	VH-VL		52.0
19016	19096	H1.271	L1	VH-VL		55.5
19017	19101	H1.272	L1	VH-VL		55.5
19018	19102	H1.273	L1	VH-VL		52.0
19019	19103	H1.274	L1	VH-VL		56.5
19020	19104	H1.275	L1	VH-VL		50.0
19021	19105	H1.276	L1	VH-VL		
19022	19106	H1.277	L1	VH-VL		58.0
19023	19107	H1	L1.146	VH-VL	6.46E-08	57.0
19024	19108	H1	L1.147	VH-VL	6.665E-08	54.5
19025	19109	H1	L1.148	VH-VL		58.0
19026	19110	H1	L1.149	VH-VL		55.5
19027	19111	H1	L1.150	VH-VL	7.238E-08	57.5
19028	19112	H1	L1.151	VH-VL	9.671E-08	
19029	19113	H1	L1.152	VH-VL		56.0
19030	19114	H1	L1.153	VH-VL		55.0
19031	19115	H1	L1.154	VH-VL		54.5
19032	19116	H1	L1.155	VH-VL		55.5
19033	19117	H1	L1.156	VH-VL		56.5
19034	19118	H1	L1.157	VH-VL		56.0
19035	19119	H1	L1.158	VH-VL		58.0
19036	19120	H1	L1.159	VH-VL		52.0
19037	19121	H1	L1.160	VH-VL		
19038	19122	H1	L1.161	VH-VL		47.5
19039	19123	H1	L1.162	VH-VL		
19040	19124	H1	L1.163	VH-VL		55.5
19041	19125	H1	L1.164	VH-VL		56.0
19042	19126	H1	L1.165	VH-VL		58.5
19043	19127	H1	L1.166	VH-VL		49.0
19044	19128	H1	L1.167	VH-VL		53.0
19045	19129	H1	L1.168	VH-VL		54.0
19046	19130	H1	L1.169	VH-VL		67.0
19047	19131	H1	L1.170	VH-VL		65.5
19048	19132	H1	L1.171	VH-VL		51.5
19049	19133	H1	L1.172	VH-VL		53.0
19050	19134	H1	L1.173	VH-VL		54.5
19051	19135	H1	L1.174	VH-VL		53.5
19052	19136	H1	L1.175	VH-VL		54.0
19053	19137	H1	L1.176	VH-VL		54.0
19054	19138	H1	L1.177	VH-VL		56.0
19055	19139	H1	L1.178	VH-VL		52.5
19056	19140	H1	L1.179	VH-VL		
19057	19141	H1	L1.180	VH-VL		

图23K

全长mAb XENP	scFv XENP	VH	VL	scFv 朝向	人PD-1 mAb K _D (M)	scFv T _m (°C)
19058	19142	H1	L1.181	VH-VL		
19059	19143	H1	L1.182	VH-VL		52.0
19060	19144	H1	L1.183	VH-VL		53.5
19061	19145	H1	L1.184	VH-VL		
19062	19146	H1	L1.185	VH-VL		55.5
19063	19147	H1	L1.186	VH-VL		54.0
N/A	19148	H1.257	L1.152	VH-VL		57.5
N/A	19149	H1.257	L1.151	VH-VL		55.5
N/A	19150	H1.139	L1.134	VH-VL		57.5
N/A	19151	H1.48	L1.187	VH-VL		53.5
N/A	19152	H1.48	L1.151	VH-VL		52.5
N/A	19153	H1.43	L1.159	VH-VL		50.0
N/A	19154	H1.90	L1.119	VH-VL		53.0
N/A	19155	H1.90	L1.23	VH-VL		57.5
N/A	19156	H1.90	L1.67	VH-VL		53.0
N/A	19157	H1.90	L1.94	VH-VL		52.0
N/A	19158	H1.90	L1.116	VH-VL		54.5
N/A	19159	H1.155	L1.119	VH-VL		54.5
19160	N/A	H1.269	L1.116	VH-VL		
19161	N/A	H1.271	L1.116	VH-VL	1.233E-08	
19162	N/A	H1.272	L1.116	VH-VL		
19163	N/A	H1.90	L1.177	VH-VL		
19164	N/A	H1.269	L1.177	VH-VL		
19165	N/A	H1.271	L1.177	VH-VL	4.682E-09	
19166	N/A	H1.272	L1.177	VH-VL	6.386E-09	
19167	N/A	H1.90	L1.175	VH-VL		
19168	N/A	H1.269	L1.175	VH-VL		
19169	N/A	H1.271	L1.175	VH-VL		
19170	N/A	H1.272	L1.175	VH-VL		
19172	19182	H1	L1.190	VH-VL	2.577E-08	58.5
19173	19183	H1	L1.191	VH-VL		57.0
19174	N/A	H1.90	L1.190	VH-VL	1.103E-08	
19175	N/A	H1.90	L1.191	VH-VL		
19176	N/A	H1.269	L1.190	VH-VL		
19177	N/A	H1.271	L1.190	VH-VL	8.287E-09	
19178	N/A	H1.272	L1.190	VH-VL	7.09E-09	
19179	N/A	H1.269	L1.191	VH-VL		
19180	N/A	H1.271	L1.191	VH-VL		
19181	N/A	H1.272	L1.191	VH-VL		
19193	19203	H1	L1.188	VH-VL	2.596E-08	
19194	19204	H1	L1.189	VH-VL	1.366E-08	64.0
19195	19205	H1.278	L1.188	VH-VL	6.689E-09	66.0
19196	19206	H1.278	L1.189	VH-VL	4.683E-09	67.5
19201	19202	H1.278	L1	VH-VL	1.861E-08	60.0

图23L

全长mAb XENP	scFv XENP	VH	VL	scFv 朝向	人PD-1 mAb K_D (M)	scFv T_m (°C)
N/A	19207	H1.278	L1.188	VH-VL		68.0
N/A	19208	H1.278	L1.189	VH-VL		69.5
19589	19618	H1.279	L1.189	VH-VL	1.254E-08	68.5
19590	19619	H1.280	L1.189	VH-VL	5.393E-09	69.0
19591	19620	H1.281	L1.189	VH-VL		68.0
19592	19621	H1.282	L1.189	VH-VL	1.291E-08	68.5
19593	19622	H1.283	L1.189	VH-VL	7.859E-09	69.0
19594	19623	H1.284	L1.189	VH-VL		70.5
19595	19624	H1.285	L1.189	VH-VL		70.0
19596	19625	H1.286	L1.189	VH-VL	1.41E-08	69.5
19601	19626	H1.278	L1.192	VH-VL	6.268E-09	67.5
19602	19627	H1.278	L1.193	VH-VL	1.37E-08	69.5
19603	19628	H1.278	L1.194	VH-VL	7.5E-09	69.0
19604	19629	H1.278	L1.195	VH-VL		69.5
19605	19630	H1.278	L1.196	VH-VL	4.443E-08	71.0
19606	19631	H1.278	L1.197	VH-VL	2.079E-08	69.5
19607	19632	H1.278	L1.198	VH-VL		67.5
19608	19633	H1.278	L1.199	VH-VL		67.5
19609	19634	H1.278	L1.200	VH-VL		67.5
19610	19635	H1.278	L1.201	VH-VL		67.5
19611	19636	H1.278	L1.202	VH-VL		67.5
19612	19637	H1.278	L1.203	VH-VL		67.5
19613	19638	H1.278	L1.204	VH-VL		67.0
19614	19639	H1.278	L1.205	VH-VL	1.266E-08	68.0
19615	19640	H1.278	L1.206	VH-VL		69.0
19616	19641	H1.278	L1.207	VH-VL		68.5
19617	19642	H1.278	L1.208	VH-VL		68.5
N/A	19643	H1.279	L1.189	VL-VH		71.5
N/A	19644	H1.280	L1.189	VL-VH		70.5
N/A	19645	H1.281	L1.189	VL-VH		69.5
N/A	19646	H1.282	L1.189	VL-VH		70.0
N/A	19647	H1.283	L1.189	VL-VH		70.5
N/A	19648	H1.284	L1.189	VL-VH		70.5
N/A	19649	H1.285	L1.189	VL-VH		71.5
N/A	19650	H1.278	L1.192	VL-VH		69.0
N/A	19651	H1.278	L1.193	VL-VH		71.5
N/A	19652	H1.278	L1.194	VL-VH		71.5
N/A	19653	H1.278	L1.195	VL-VH		71.5
N/A	19654	H1.278	L1.196	VL-VH		64.0
N/A	19655	H1.278	L1.197	VL-VH		72.0
N/A	19664	H1.287	L1.209	VH-VL		70.5
N/A	19665	H1.287	L1.209	VL-VH		72.0
N/A	19666	H1.284	L1.194	VH-VL		70.5
N/A	19667	H1.284	L1.194	VL-VH		72.5

图23M

全长mAb XENP	scFv XENP	VH	VL	scFv 朝向	人PD-1 mAb K _D (M)	scFv T _m (°C)
N/A	19668	H1.288	L1.210	VH-VL	7.268E-09	72.5
N/A	19669	H1.288	L1.210	VL-VH		72.0
19678	N/A	H1.279	L1.192	VH-VL		
19679	N/A	H1.280	L1.192	VH-VL		
19680	N/A	H1.281	L1.192	VH-VL		
19681	N/A	H1.282	L1.192	VH-VL		
19682	N/A	H1.279	L1.193	VH-VL		
19683	N/A	H1.280	L1.193	VH-VL		
19684	N/A	H1.281	L1.193	VH-VL		
19685	N/A	H1.282	L1.193	VH-VL		
19686	19690	H1.279	L1.194	VH-VL		70.0
19687	N/A	H1.280	L1.194	VH-VL		
19688	N/A	H1.281	L1.194	VH-VL		
19689	19691	H1.282	L1.194	VH-VL	1.212E-08	70.5
N/A	19692	H1.279	L1.194	VL-VH		71.5
N/A	19693	H1.282	L1.194	VL-VH		71.5
N/A	21215	H1.280	L1.224	VH-VL		65.0
N/A	21216	H1.280	L1.224	VL-VH		66.5

图23N

Fab XENP	scFv XENP	VH	VL	人CTLA-4 Fab K _D (M)	食蟹猴CTLA-4 Fab K _D (M)	Fab T _m (°C)	scFv T _m (°C)	VH 9 聚体	Δ VH 9 聚体	VL 9 聚体	Δ VL 9 聚体
9950	19533	H0	L0	5.61E-09	3.29E-08	75.8	63.9	65	0	82	0
19211	19745	H0.1	L0	6.33E-09	未测出	75.5	64	65	0	82	0
19212	19746	H0.2	L0	5.60E-09	未测出	74.8	63	61	-4	82	0
19213	19747	H0.3	L0	6.39E-09	未测出	75	63.5	65	0	82	0
19214	19748	H0.4	L0	6.49E-09	未测出	71.6	58	56	-9	82	0
19215	19749	H0.5	L0	1.09E-08	未测出	74.5	未测出	52	-13	82	0
19216	19750	H0.6	L0	6.60E-09	未测出	76	63.5	56	-9	82	0
19217	19751	H0.7	L0	1.55E-08	未测出	75.5	未测出	56	-9	82	0
19218	19752	H0.8	L0	6.94E-09	未测出	78	66	65	0	82	0
19219	19753	H0.9	L0	6.20E-09	未测出	75.5	65.5	56	-9	82	0
19220	19754	H0.10	L0	3.25E-08	未测出	未测出	未测出	59	-6	82	0
19221	19755	H0.11	L0	4.12E-08	未测出	未测出	未测出	64	-1	82	0
19222	19756	H0.12	L0	1.08E-08	未测出	76	64.5	63	-2	82	0
19223	19757	H0.13	L0	7.05E-08	未测出	未测出	未测出	65	0	82	0
19224	19758	H0.14	L0	4.24E-08	未测出	未测出	未测出	64	-1	82	0
19225	19759	H0.15	L0	5.00E-07	未测出	未测出	未测出	64	-1	82	0
19226	19760	H0.16	L0	1.29E-08	未测出	76.5	65	63	-2	82	0
19227	19761	H0.17	L0	6.59E-08	未测出	未测出	未测出	63	-2	82	0
19228	19762	H0.18	L0	5.00E-07	未测出	未测出	未测出	64	-1	82	0
19229	19763	H0.19	L0	7.02E-09	未测出	74	61.5	64	-1	82	0
19230	19764	H0.20	L0	1.19E-08	未测出	75.5	未测出	64	-1	82	0
19231	19765	H0.21	L0	5.00E-07	未测出	未测出	未测出	64	-1	82	0
19232	19766	H0.22	L0	4.09E-08	未测出	未测出	未测出	64	-1	82	0
19233	19767	H0.23	L0	5.00E-07	未测出	未测出	未测出	64	-1	82	0
19234	19768	H0.24	L0	1.13E-07	未测出	未测出	未测出	64	-1	82	0
19235	19769	H0.25	L0	5.97E-08	未测出	未测出	未测出	74	9	82	0
19236	19770	H0.26	L0	5.70E-08	未测出	未测出	未测出	74	9	82	0
19237	19771	H0.27	L0	6.54E-08	未测出	未测出	未测出	68	3	82	0
19238	19772	H0.28	L0	4.33E-08	未测出	未测出	未测出	65	0	82	0
19239	19773	H0.29	L0	5.00E-07	未测出	未测出	未测出	68	3	82	0
19240	19774	H0.30	L0	5.00E-07	未测出	未测出	未测出	65	0	82	0
19241	19775	H0.31	L0	5.00E-07	未测出	未测出	未测出	63	-2	82	0
19242	19776	H0.32	L0	2.87E-08	未测出	未测出	未测出	65	0	82	0
19243	19777	H0.33	L0	5.00E-07	未测出	未测出	未测出	65	0	82	0
19244	19778	H0.34	L0	5.00E-07	未测出	未测出	未测出	63	-2	82	0
19245	19779	H0.35	L0	2.31E-08	未测出	未测出	未测出	63	-2	82	0
19246	19780	H0.36	L0	4.92E-09	未测出	74	62.5	61	-4	82	0
19247	19781	H0.37	L0	5.53E-08	未测出	未测出	未测出	60	-5	82	0
19248	19782	H0.38	L0	3.63E-08	未测出	未测出	未测出	66	1	82	0
19249	19783	H0.39	L0	2.64E-08	未测出	未测出	未测出	68	3	82	0
19250	19784	H0.40	L0	2.80E-09	未测出	61.5	66.5	66	1	82	0
19251	19785	H0.41	L0	1.55E-08	未测出	63	未测出	65	0	82	0
19252	19786	H0.42	L0	4.66E-08	未测出	未测出	未测出	65	0	82	0
19253	19787	H0.43	L0	4.42E-08	未测出	未测出	未测出	65	0	82	0
19254	19788	H0.44	L0	5.00E-07	未测出	未测出	未测出	65	0	82	0
19255	19789	H0.45	L0	1.40E-08	未测出	71	未测出	65	0	82	0
19256	19790	H0.46	L0	5.00E-07	未测出	未测出	未测出	65	0	82	0
19257	19791	H0.47	L0	5.00E-07	未测出	未测出	未测出	65	0	82	0
19258	19792	H0.48	L0	5.01E-08	未测出	未测出	未测出	65	0	82	0

图24A

Fab XENP	scFv XENP	VH	VL	人CTLA-4 Fab K _D (M)	食蟹猴CTLA-4 Fab K _D (M)	Fab T _m (°C)	scFv T _m (°C)	VH 9 聚体	Δ VH 9 聚体	VL 9 聚体	Δ VL 9 聚体
19259	19793	H0.49	L0	5.00E-07	未测出	未测出	未测出	65	0	82	0
19260	19794	H0.50	L0	1.41E-09	未测出	未测出	86.5	65	0	82	0
19261	19795	H0.51	L0	8.43E-09	未测出	未测出	57.5	65	0	82	0
19262	19796	H0.52	L0	1.13E-08	3.69E-08	74.5	未测出	65	0	82	0
19263	19801	H0.53	L0	1.27E-08	未测出	未测出	未测出	65	0	82	0
19264	19802	H0.54	L0	5.00E-07	未测出	未测出	未测出	65	0	82	0
19265	19803	H0.55	L0	3.43E-08	未测出	未测出	未测出	65	0	82	0
19266	19804	H0.56	L0	5.95E-08	未测出	未测出	未测出	65	0	82	0
19267	19805	H0.57	L0	9.15E-09	未测出	62.5	62	65	0	82	0
19268	19806	H0.58	L0	3.93E-09	未测出	58.5	59	65	0	82	0
19269	19807	H0.59	L0	1.91E-09	未测出	73	60	65	0	82	0
19270	19808	H0.60	L0	7.46E-09	未测出	63.5	59.5	65	0	82	0
19271	19809	H0.61	L0	未测出	未测出	未测出	未测出	65	0	82	0
19272	19810	H0.62	L0	5.48E-08	未测出	未测出	未测出	56	-9	82	0
19273	19811	H0.63	L0	3.66E-09	未测出	58	59	65	0	82	0
19274	19812	H0.64	L0	2.04E-08	未测出	未测出	未测出	65	0	82	0
19275	19813	H0.65	L0	5.00E-07	未测出	未测出	未测出	56	-9	82	0
19276	19814	H0.66	L0	2.08E-08	未测出	59.5	未测出	65	0	82	0
19277	19815	H0.67	L0	1.10E-08	未测出	58.5	未测出	65	0	82	0
19278	19816	H0.68	L0	7.32E-09	未测出	62	63.5	65	0	82	0
19279	19817	H0.69	L0	1.79E-08	未测出	58	未测出	65	0	82	0
19280	19818	H0.70	L0	1.42E-08	未测出	56.5	未测出	71	6	82	0
19281	19819	H0.71	L0	3.00E-08	未测出	未测出	未测出	64	-1	82	0
19282	19820	H0.72	L0	5.00E-07	未测出	未测出	未测出	64	-1	82	0
19283	19821	H0.73	L0	2.07E-09	未测出	76	64.5	64	-1	82	0
19284	19822	H0.74	L0	1.24E-08	未测出	59	未测出	64	-1	82	0
19285	19823	H0.75	L0	3.55E-09	未测出	76	65	64	-1	82	0
19286	19824	H0.76	L0	1.08E-08	未测出	76.5	65	64	-1	82	0
19287	19825	H0.77	L0	3.42E-08	未测出	未测出	未测出	64	-1	82	0
19288	19826	H0.78	L0	2.10E-08	未测出	75.5	未测出	64	-1	82	0
19289	19827	H0.79	L0	3.79E-08	未测出	未测出	未测出	62	-3	82	0
19290	19828	H0.80	L0	1.24E-08	未测出	75.5	未测出	62	-3	82	0
19291	19829	H0.81	L0	5.65E-09	未测出	74.5	63	59	-6	82	0
19292	19830	H0.82	L0	5.13E-09	未测出	73.5	62.5	56	-9	82	0
19293	19831	H0.83	L0	5.33E-09	未测出	72.5	61.5	56	-9	82	0
19294	19832	H0.84	L0	7.94E-09	未测出	67.5	未测出	56	-9	82	0
19295	19833	H0.85	L0	2.10E-09	未测出	70	55.5	56	-9	82	0
19296	19834	H0.86	L0	6.78E-09	未测出	75.8	65	56	-9	82	0
19301	19835	H0.87	L0	5.15E-08	未测出	未测出	未测出	56	-9	82	0
19302	19836	H0.88	L0	9.63E-09	未测出	73.5	未测出	58	-7	82	0
19303	19837	H0.89	L0	2.12E-08	未测出	未测出	未测出	65	0	82	0
19304	19838	H0.90	L0	7.82E-09	未测出	75.5	55.5	65	0	82	0
19305	19839	H0.91	L0	6.11E-09	未测出	75.5	65	61	-4	82	0
19306	19840	H0.92	L0	5.72E-09	未测出	73.5	61	65	0	82	0
19307	19841	H0.93	L0	5.13E-09	未测出	74.5	63.5	56	-9	82	0
19308	19842	H0.94	L0	5.90E-09	未测出	75.5	64	56	-9	82	0
19309	19843	H0.95	L0	1.02E-08	未测出	76	64	56	-9	82	0
19310	19844	H0.96	L0	1.53E-08	未测出	77	65.5	57	-8	82	0
19311	19845	H0.97	L0	6.30E-09	3.17E-08	76	64	65	0	82	0

图24B

Fab XENP	scFv XENP	VH	VL	人CTLA-4 Fab K _D (M)	食蟹猴CTLA-4 Fab K _D (M)	Fab T _m (°C)	scFv T _m (°C)	VH 9 聚体	Δ VH 9 聚体	VL 9 聚体	Δ VL 9 聚体
19312	19846	H0.98	L0	7.36E-09	3.38E-08	74.5	61.5	70	5	82	0
19313	19847	H0.99	L0	7.01E-09	3.53E-08	76	63.5	71	8	82	0
19314	19848	H0.100	L0	1.10E-08	3.14E-08	75.5	未测出	65	0	82	0
19315	19849	H0.101	L0	2.90E-08	5.00E-07	72	未测出	65	0	82	0
19316	19850	H0.102	L0	3.48E-08	5.00E-07	79	未测出	65	0	82	0
19317	19851	H0.103	L0	1.02E-08	3.68E-08	77.5	65.5	65	0	82	0
19318	19852	H0.104	L0	5.00E-07	5.00E-07	72.5	未测出	65	0	82	0
19319	19853	H0.105	L0	5.00E-07	5.00E-07	78.5	未测出	65	0	82	0
19320	19854	H0.106	L0	2.37E-08	5.00E-07	74	未测出	65	0	82	0
19321	19855	H0.107	L0	5.00E-07	5.00E-07	70	未测出	65	0	82	0
19322	19856	H0.108	L0	1.67E-08	2.17E-08	76.5	64.5	65	0	82	0
19323	19857	H0.109	L0	1.51E-08	4.39E-08	77	65	65	0	82	0
19324	19858	H0.110	L0	5.00E-07	5.00E-07	76.5	未测出	65	0	82	0
19325	19859	H0.111	L0	6.52E-09	3.30E-08	76	64	65	0	82	0
19326	19860	H0.112	L0	5.00E-07	5.00E-07	77	未测出	65	0	82	0
19327	19861	H0.113	L0	1.12E-08	3.64E-08	76.5	65	65	0	82	0
19328	19862	H0.114	L0	3.64E-09	2.28E-08	76.5	64.5	65	0	82	0
19329	19863	H0.115	L0	1.19E-08	4.10E-08	76	未测出	65	0	82	0
19330	19864	H0.116	L0	3.45E-08	5.00E-07	76	未测出	65	0	82	0
19331	19865	H0.117	L0	5.00E-07	5.00E-07	76.5	未测出	65	0	82	0
19332	19866	H0.118	L0	1.65E-08	5.00E-07	76	未测出	65	0	82	0
19333	19867	H0.119	L0	5.00E-07	5.00E-07	73.5	未测出	65	0	82	0
19334	19868	H0.120	L0	5.00E-07	5.00E-07	73.5	未测出	65	0	82	0
19335	19869	H0.121	L0	5.00E-07	5.00E-07	74	未测出	65	0	82	0
19336	19870	H0.122	L0	2.20E-08	5.00E-07	75.5	未测出	64	-1	82	0
19337	19871	H0.123	L0	2.25E-08	5.00E-07	75.5	未测出	64	-1	82	0
19338	19872	H0.124	L0	5.00E-07	5.00E-07	71	未测出	63	-2	82	0
19339	19873	H0.125	L0	3.08E-08	5.00E-07	75	未测出	63	-2	82	0
19340	19874	H0.126	L0	5.00E-07	5.00E-07	70.5	未测出	63	-2	82	0
19341	19875	H0.127	L0	3.20E-08	5.00E-07	70.5	未测出	63	-2	82	0
19342	19876	H0.128	L0	1.84E-08	5.00E-07	71	未测出	63	-2	82	0
19343	19877	H0.129	L0	5.00E-07	5.00E-07	72	未测出	63	-2	82	0
19344	19878	H0.130	L0	6.51E-09	3.93E-08	76	64	63	-2	82	0
19345	19879	H0.131	L0	5.82E-09	3.40E-08	78	66.5	62	-3	82	0
19346	19880	H0.132	L0	6.46E-09	3.82E-08	74.5	62.5	65	0	82	0
19347	19881	H0.133	L0	2.03E-08	4.95E-08	77.5	未测出	62	-3	82	0
19348	19882	H0.134	L0	1.58E-07	5.00E-07	低信号	64.5	62	-3	82	0
19349	19883	H0.135	L0	6.69E-09	4.03E-08	76.5	64.5	62	-3	82	0
19350	19884	H0.136	L0	7.41E-09	4.21E-08	75.5	63	62	-3	82	0
19416	19885	H0	L0.1	1.14E-08	4.63E-08	未测出	未测出	65	0	81	-1
19417	19886	H0	L0.2	6.94E-09	3.77E-08	75.5	62	65	0	81	-1
19418	19887	H0	L0.3	9.31E-09	4.19E-08	75.5	低信号	65	0	81	-1
19419	19888	H0	L0.4	1.95E-07	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	81	-1
19420	19889	H0	L0.5	8.28E-09	3.95E-08	76	低信号	65	0	79	-3
19421	19890	H0	L0.6	5.00E-07	5.16E-08	未测出	未测出	65	0	71	-11
19422	19891	H0	L0.7	1.36E-08	7.79E-08	未测出	未测出	65	0	78	-4
19423	19892	H0	L0.8	1.07E-08	5.50E-08	未测出	未测出	65	0	82	0
19424	19893	H0	L0.9	8.18E-09	4.70E-08	76.5	64.5	65	0	78	-4
19425	19894	H0	L0.10	8.97E-09	4.60E-08	76.5	64.5	65	0	73	-9

图24C

Fab XENP	scFv XENP	VH	VL	人CTLA-4 Fab K _D (M)	食蟹猴CTLA-4 Fab K _D (M)	Fab T _m (°C)	scFv T _m (°C)	VH 9 聚体	Δ VH 9 聚体	VL 9 聚体	Δ VL 9 聚体
19426	19895	H0	L0.11	5.00E-07	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	73	-9
19427	19896	H0	L0.12	7.59E-09	4.14E-08	77	63.5	65	0	77	-5
19428	19901	H0	L0.13	9.71E-09	5.19E-08	75.5	63	65	0	73	-9
19429	19902	H0	L0.14	8.04E-09	4.90E-08	76	63.5	65	0	73	-9
19430	19903	H0	L0.15	9.79E-09	5.37E-08	73.5	61	65	0	82	0
19431	19904	H0	L0.16	1.43E-08	5.23E-08	未测出	未测出	65	0	73	-9
19432	19905	H0	L0.17	2.17E-08	4.96E-08	未测出	未测出	65	0	73	-9
19433	19906	H0	L0.18	8.28E-09	4.59E-08	75.5	62.5	65	0	77	-5
19434	19907	H0	L0.19	2.86E-09	1.64E-08	72	57.5	65	0	81	-1
19435	19908	H0	L0.20	5.00E-07	9.64E-07	未测出	未测出	65	0	81	-1
19436	19909	H0	L0.21	1.79E-08	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	82	0
19437	19910	H0	L0.22	1.46E-08	5.28E-08	未测出	64.5	65	0	91	9
19438	19911	H0	L0.23	2.02E-08	5.47E-08	未测出	未测出	65	0	82	0
19439	19912	H0	L0.24	1.26E-08	5.36E-08	未测出	未测出	65	0	81	-1
19440	19913	H0	L0.25	4.60E-09	2.85E-08	76	64	65	0	81	-1
19441	19914	H0	L0.26	9.55E-09	4.17E-08	76	64	65	0	81	-1
19442	19915	H0	L0.27	1.20E-08	5.58E-08	未测出	未测出	65	0	81	-1
19443	19916	H0	L0.28	5.00E-07	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	81	-1
19444	19917	H0	L0.29	2.09E-08	5.16E-08	未测出	未测出	65	0	80	-2
19445	19918	H0	L0.30	1.10E-08	5.42E-08	未测出	未测出	65	0	80	-2
19446	19919	H0	L0.31	8.90E-09	4.62E-08	76.5	65	65	0	81	-1
19447	19920	H0	L0.32	8.69E-09	5.14E-08	76	64.5	65	0	80	-2
19448	19921	H0	L0.33	1.37E-07	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	80	-2
19449	19922	H0	L0.34	4.27E-08	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	81	-1
19450	19923	H0	L0.35	5.00E-07	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	79	-3
19451	19924	H0	L0.36	1.60E-08	5.00E-07	未测出	63.5	65	0	79	-3
19452	19925	H0	L0.37	7.60E-09	3.37E-08	75	63	65	0	79	-3
19453	19926	H0	L0.38	5.73E-08	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	81	-1
19454	19927	H0	L0.39	2.39E-08	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	79	-3
19455	19928	H0	L0.40	1.15E-08	3.66E-08	73.5	60.5	65	0	79	-3
19456	19929	H0	L0.41	7.20E-09	3.96E-08	76	64	65	0	78	-4
19457	19930	H0	L0.42	5.00E-07	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	77	-5
19458	19931	H0	L0.43	5.00E-07	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	68	-14
19459	19932	H0	L0.44	3.85E-08	5.00E-07	未测出	60	65	0	82	0
19460	19933	H0	L0.45	7.16E-08	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	82	0
19461	19934	H0	L0.46	9.56E-09	5.16E-08	72	低信号	65	0	74	-8
19462	19935	H0	L0.47	1.91E-08	4.75E-08	未测出	未测出	65	0	75	-7
19463	19936	H0	L0.48	9.34E-09	4.70E-08	75	61.5	65	0	74	-8
19464	19937	H0	L0.49	1.10E-08	4.42E-08	未测出	未测出	65	0	68	-14
19465	19938	H0	L0.50	9.39E-09	4.63E-08	71.5	58	65	0	73	-9
19466	19939	H0	L0.51	7.20E-09	4.05E-08	75	62.5	65	0	75	-7
19467	19940	H0	L0.52	7.50E-09	3.91E-08	75	62.5	65	0	74	-8
19468	19941	H0	L0.53	1.87E-07	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	74	-8
19469	19942	H0	L0.54	2.15E-08	4.66E-08	未测出	未测出	65	0	76	-6
19470	19943	H0	L0.55	5.00E-07	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	73	-9
19471	19944	H0	L0.56	5.75E-09	3.57E-08	76	64	65	0	73	-9
19472	19945	H0	L0.57	7.61E-09	3.87E-08	73	60	65	0	75	-7
19473	19946	H0	L0.58	7.85E-09	4.46E-08	未测出	未测出	65	0	66	-16
19474	19947	H0	L0.59	7.36E-09	4.29E-08	75.5	63.5	65	0	75	-7

图24D

Fab XENP	scFv XENP	VH	VL	人CTLA-4 Fab K _D (M)	食蟹猴CTLA-4 Fab K _D (M)	Fab T _m (°C)	scFv T _m (°C)	VH 9 聚体	Δ VH 9 聚体	VL 9 聚体	Δ VL 9 聚体
19475	19948	H0	L0.60	6.52E-08	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	76	-6
19476	19949	H0	L0.61	5.00E-07	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	73	-9
19477	19950	H0	L0.62	2.36E-08	5.40E-08	未测出	未测出	65	0	79	-3
19478	19951	H0	L0.63	8.66E-09	5.13E-08	75	62.5	65	0	79	-3
19479	19952	H0	L0.64	2.65E-08	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	79	-3
19480	19953	H0	L0.65	1.23E-08	4.90E-08	未测出	未测出	65	0	79	-3
19481	19954	H0	L0.66	1.55E-08	5.53E-08	未测出	未测出	65	0	79	-3
19482	19955	H0	L0.67	5.00E-08	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	82	0
19483	19956	H0	L0.68	6.98E-09	4.30E-08	75.5	63	65	0	80	-2
19484	19957	H0	L0.69	1.62E-08	4.75E-08	未测出	未测出	65	0	81	-1
19485	19958	H0	L0.70	6.58E-09	4.02E-08	76	64.5	65	0	82	0
19486	19959	H0	L0.71	8.41E-09	4.21E-08	76	64.5	65	0	82	0
19487	19960	H0	L0.72	9.76E-09	4.90E-08	75	63	65	0	82	0
19488	19961	H0	L0.73	4.75E-09	未测出	76.5	65	65	0	91	9
19489	19962	H0	L0.74	9.11E-09	未测出	76	64.5	65	0	82	0
19490	19963	H0	L0.75	3.53E-08	未测出	未测出	未测出	65	0	81	-1
19491	19964	H0	L0.76	4.95E-08	未测出	未测出	未测出	65	0	81	-1
19492	19965	H0	L0.77	6.63E-09	未测出	76.5	65.5	65	0	81	-1
19493	19966	H0	L0.78	4.18E-09	未测出	76.5	65	65	0	81	-1
19494	19967	H0	L0.79	5.13E-09	3.81E-08	76	64	65	0	81	-1
19495	19968	H0	L0.80	4.44E-09	2.91E-08	72.5	59.5	65	0	79	-3
19496	19969	H0	L0.81	6.03E-09	3.61E-08	75.5	64	65	0	78	-4
19501	19970	H0	L0.82	5.34E-09	3.25E-08	76	64	65	0	78	-4
19502	19971	H0	L0.83	5.18E-09	3.14E-08	75.5	63.5	65	0	81	-1
19503	19972	H0	L0.84	5.22E-09	3.20E-08	74	61.5	65	0	73	-9
19504	19973	H0	L0.85	4.90E-09	3.00E-08	76	64.5	65	0	80	-2
19505	19974	H0	L0.86	3.51E-09	2.65E-08	74.5	61.5	65	0	77	-5
19506	19975	H0	L0.87	7.35E-09	4.11E-08	75.5	63.5	65	0	82	0
19507	19976	H0	L0.88	6.06E-09	3.73E-08	未测出	未测出	65	0	82	0
19508	19977	H0	L0.89	6.40E-09	3.95E-08	75.5	64.5	65	0	73	-9
19509	19978	H0	L0.90	7.22E-09	3.74E-08	75.5	63	65	0	75	-7
19510	19979	H0	L0.91	4.69E-09	3.06E-08	75	62.5	65	0	74	-8
19511	19980	H0	L0.92	7.82E-09	4.24E-08	75	62.5	65	0	73	-9
19512	19981	H0	L0.93	7.70E-08	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	73	-9
19513	19982	H0	L0.94	5.40E-07	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	73	-9
19514	19983	H0	L0.95	1.71E-07	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	73	-9
19515	19984	H0	L0.96	1.80E-09	1.06E-08	72.5	59.5	65	0	73	-9
19516	19985	H0	L0.97	8.41E-08	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	73	-9
19517	19986	H0	L0.98	5.00E-07	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	73	-9
19518	19987	H0	L0.99	5.00E-07	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	73	-9
19519	19988	H0	L0.100	8.03E-08	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	73	-9
19520	19989	H0	L0.101	1.84E-08	6.21E-08	未测出	未测出	65	0	73	-9
19521	19990	H0	L0.102	2.02E-09	2.20E-08	76	62	65	0	73	-9
19522	19991	H0	L0.103	7.60E-09	4.24E-08	75.5	65	65	0	73	-9
19523	19992	H0	L0.104	7.47E-08	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	75	-7
19524	19993	H0	L0.105	5.00E-07	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	74	-8
19525	19994	H0	L0.106	2.33E-08	3.30E-08	未测出	未测出	65	0	77	-5
19526	19995	H0	L0.107	5.00E-07	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	73	-9
19527	19996	H0	L0.108	5.00E-07	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	80	-2

图24E

Fab XENP	scFv XENP	VH	VL	人CTLA-4 Fab K _D (M)	食蟹猴CTLA-4 Fab K _D (M)	Fab T _m (°C)	scFv T _m (°C)	VH 9 聚体	Δ VH 9 聚体	VL 9 聚体	Δ VL 9 聚体
19528	20001	H0	L0.109	5.00E-07	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	77	-5
19529	20002	H0	L0.110	5.00E-07	5.00E-07	未测出	未测出	65	0	81	-1
19530	20003	H0	L0.111	4.58E-09	1.68E-08	73.5	60.5	65	0	73	-9
19531	20004	H0	L0.112	6.08E-09	2.93E-08	75.5	63.5	65	0	77	-5
19532	20005	H0	L0.113	6.82E-09	4.48E-08	未测出	62	65	0	74	-8
	19534	H0.36	L0.50	未测出	未测出	未测出	62.5	61	-4	73	-9
	19535	H0.38	L0.51	未测出	未测出	未测出	62	61	-4	75	-7
	19536	H0.37	L0.50	未测出	未测出	未测出	59.5	60	-5	73	-9
	19537	H0.37	L0.113	未测出	未测出	未测出	63.5	60	-5	74	-8
	19538	H0.134	L0.51	未测出	未测出	未测出	64	62	-3	75	-7
20006	19539	H0.134	L0.53	5.02E-09	2.00E-08	75.5	65	62	-3	74	-8
	19540	H0.134	L0.57	未测出	未测出	未测出	61	62	-3	75	-7
	19541	H0.137	L0.114	未测出	未测出	未测出	66	60	-5	74	-8
	19542	H0.138	L0.115	未测出	未测出	未测出	64	59	-6	73	-9
	19543	H0.139	L0.116	未测出	未测出	未测出	62.5	59	-6	73	-9
19585	19587	H0.140	L0	2.83E-09	1.76E-08	78.5	68	56	-9	82	0
19586	19588	H0	L0.117	4.09E-09	2.52E-08	76.5	63.5	65	0	69	-13
19544	19551	H1	L0	1.77E-08	2.51E-08	74.5	61.5	70	5	82	0
19545	19552	H2	L0	1.10E-07	5.00E-07	未测出	66.5	69	4	82	0
19546	19553	H3	L0	2.87E-09	1.92E-08	78.3	65.9	72	7	82	0
19547	19554	H4	L0	5.00E-07	5.00E-07	67.5	51.8	71	6	82	0
19548	19555	H0	L1	7.42E-09	4.37E-08	73.5	59.8	65	0	81	-1
19549	19556	H0	L2	3.15E-09	2.32E-08	75	61	65	0	81	-1
9950	19550	H0	L0	5.61E-09	3.29E-08	75.8	63.5	65	0	82	0
20007		H3	L1	3.35E-09	1.89E-08	75	未测出	72	7	81	-1
20008		H3	L2	1.41E-09	1.28E-08	77	未测出	72	7	81	-1
20009		H3	L0.12	2.46E-09	1.71E-08	79	未测出	72	7	77	-5
20010		H3	L0.18	2.17E-09	1.57E-08	77	未测出	72	7	77	-5
20011		H3	L0.22	4.13E-09	2.46E-08	78.5	未测出	72	7	91	9
20012		H3	L0.27	1.31E-09	1.04E-08	77.5	未测出	72	7	81	-1
20013		H3	L0.32	1.59E-09	1.48E-08	78.5	未测出	72	7	80	-2
20014		H3	L0.36	3.75E-09	2.39E-08	77.5	未测出	72	7	79	-3
20015		H3	L0.37	1.44E-09	1.06E-08	77	未测出	72	7	79	-3
20016		H3	L0.39	1.29E-08	3.75E-08	77.5	未测出	72	7	79	-3
20017		H3	L0.41	1.84E-09	1.65E-08	78	未测出	72	7	78	-4
20018		H3	L0.67	3.49E-08	5.00E-07	77.5	未测出	72	7	82	0
20019		H3	L0.69	2.64E-09	未测出	77.5	未测出	72	7	81	-1
20020		H3	L0.74	2.68E-09	未测出	78.8	未测出	72	7	82	0
20021		H3	L0.75	2.81E-09	未测出	78	未测出	72	7	81	-1
20022		H3	L0.103	3.69E-09	2.64E-08	78	未测出	72	7	73	-9
20052		H3	L0.44	6.78E-09	4.20E-08	75.8	未测出	72	7	82	0
20068	20075	H3.1	L0.12	5.37E-10	3.64E-09	81	69	68	3	77	-5
20069	20076	H3.2	L0.12	6.24E-10	4.10E-09	81	69.5	68	3	77	-5
20070	20077	H3.3	L0.12	2.21E-09	1.08E-08	81	67	68	3	77	-5
20071	20078	H3.4	L0.12	1.37E-09	6.14E-09	81	69.5	68	3	77	-5
20072	20079	H3.5	L0.12	3.72E-09	1.59E-08	81.5	70	68	3	77	-5
20073	20080	H3.6	L0.12	8.14E-09	2.59E-08	81.5	69.5	68	3	77	-5
20074	20081	H3.7	L0.12	1.58E-09	1.11E-08	80	67	62	-3	77	-5
20323	20360	H3.9	L0.12	1.16E-09	5.54E-09	未测出	69.5	68	3	77	-5

图24F

Fab XENP	scFv XENP	VH	VL	人CTLA-4 Fab K _D (M)	食蟹猴CTLA-4 Fab K _D (M)	Fab T _m (°C)	scFv T _m (°C)	VH 9 聚体	Δ VH 9 聚体	VL 9 聚体	Δ VL 9 聚体
20324	20361	H3.10	L0.12	7.08E-10	3.34E-09	未测出	68.5	68	3	77	-5
20325	20362	H3.11	L0.12	1.65E-09	6.52E-09	未测出	71	68	3	77	-5
20326	20363	H3.12	L0.12	1.20E-08	4.13E-08	未测出	70	68	3	77	-5
20327	20364	H3.13	L0.12	8.15E-10	4.56E-09	未测出	70	68	3	77	-5
20328	20365	H3.14	L0.12	3.46E-09	1.95E-08	未测出	69.5	68	3	77	-5
20329	20366	H3.15	L0.12	8.65E-09	3.62E-08	未测出	71.5	68	3	77	-5
20330	20367	H3.16	L0.12	1.56E-08	6.23E-08	未测出	70.5	68	3	77	-5
20331	20368	H3.17	L0.12	3.93E-09	2.51E-08	未测出	70.5	68	3	77	-5
20332	20369	H3.18	L0.12	1.71E-08	8.46E-08	未测出	69.5	68	3	77	-5
20333	20370	H3.19	L0.12	4.09E-09	1.60E-08	未测出	71.5	68	3	77	-5
20334	20371	H3.20	L0.12	2.59E-08	2.54E-06	未测出	70.5	68	3	77	-5
20335	20372	H3.21	L0.12	1.55E-09	9.54E-09	未测出	71	68	3	77	-5
20336	20373	H3.22	L0.12	7.49E-09	2.98E-08	未测出	69.5	68	3	77	-5
20337	20374	H3.23	L0.12	1.17E-09	4.78E-09	未测出	70.5	68	3	77	-5
20338	20375	H3.24	L0.12	8.44E-09	2.96E-08	未测出	69.5	68	3	77	-5
20339	20376	H3.25	L0.12	4.51E-10	2.75E-09	未测出	69.5	68	3	77	-5
20340	20377	H3.26	L0.12	1.97E-09	1.23E-08	未测出	69	68	3	77	-5
20341	20378	H3.4	L0.118	1.55E-09	6.67E-09	未测出	70.5	68	3	82	0
20342	20379	H3.4	L0.119	1.89E-09	8.23E-09	未测出	70	68	3	82	0
20343	20380	H3.4	L0.120	2.70E-09	1.06E-08	未测出	70	68	3	86	4
20344	20381	H3.4	L0.121	1.28E-09	5.54E-09	未测出	71	68	3	86	4
20345	20382	H3.4	L0.122	1.98E-09	8.47E-09	未测出	71	68	3	82	0
20346	20383	H3.4	L0.123	2.74E-09	1.14E-08	未测出	71.5	68	3	91	9
20347	20384	H3.4	L0.124	1.41E-09	5.67E-09	未测出	72.5	68	3	91	9
20348	20385	H3.4	L0.125	3.20E-09	1.37E-08	未测出	70.5	68	3	91	9
20349	20386	H3.4	L0.126	1.68E-09	7.52E-09	未测出	71.5	68	3	91	9
20350	20387	H3.4	L0.127	2.46E-09	9.53E-09	未测出	72	68	3	95	13
20351	20388	H3.4	L0.128	3.16E-09	1.33E-08	未测出	72	68	3	91	9
20352	20389	H3.4	L0.129	1.65E-09	7.31E-09	未测出	73	68	3	91	9
20353	20390	H3.4	L0.130	2.77E-09	1.09E-08	未测出	73	68	3	100	18
20354	20391	H3.4	L0.131	2.70E-09	1.08E-08	未测出	72.5	68	3	100	18
20355	20392	H3.4	L0.132	2.78E-09	1.12E-08	未测出	73.5	68	3	100	18
20356	20393	H3.5	L2	2.17E-09	1.13E-08	未测出	67	68	3	81	-1
20357	20394	H3.5	L2.1	4.52E-09	2.41E-08	未测出	67.5	68	3	90	8
20358	20395	H3.5	L2.2	1.90E-09	1.04E-08	未测出	68.5	68	3	89	7
20359	20396	H3.5	L2.3	3.90E-09	2.05E-08	未测出	69	68	3	98	16
20422	20431	H3.21	L0.124	5.55E-09	1.23E-08	未测出	74	68	3	91	9
20423	20432	H3.21	L0.129	5.42E-09	1.36E-08	未测出	74.5	68	3	91	9
20424	20433	H3.21	L0.132	5.27E-09	1.60E-08	未测出	75	68	3	100	18
20425	20434	H3.23	L0.124	2.63E-09	4.99E-09	未测出	73.5	68	3	91	9
20426	20435	H3.23	L0.129	2.97E-09	4.99E-09	未测出	74	68	3	91	9
20427	20436	H3.23	L0.132	4.84E-09	8.89E-09	未测出	74.5	68	3	100	18
20428	20437	H3.25	L0.124	4.80E-09	8.65E-09	未测出	72.5	68	3	91	9
20429	20438	H3.25	L0.129	2.05E-09	3.99E-09	未测出	73	68	3	91	9
20430	20439	H3.25	L0.132	1.80E-09	3.81E-09	未测出	73.5	68	3	100	18

图24G

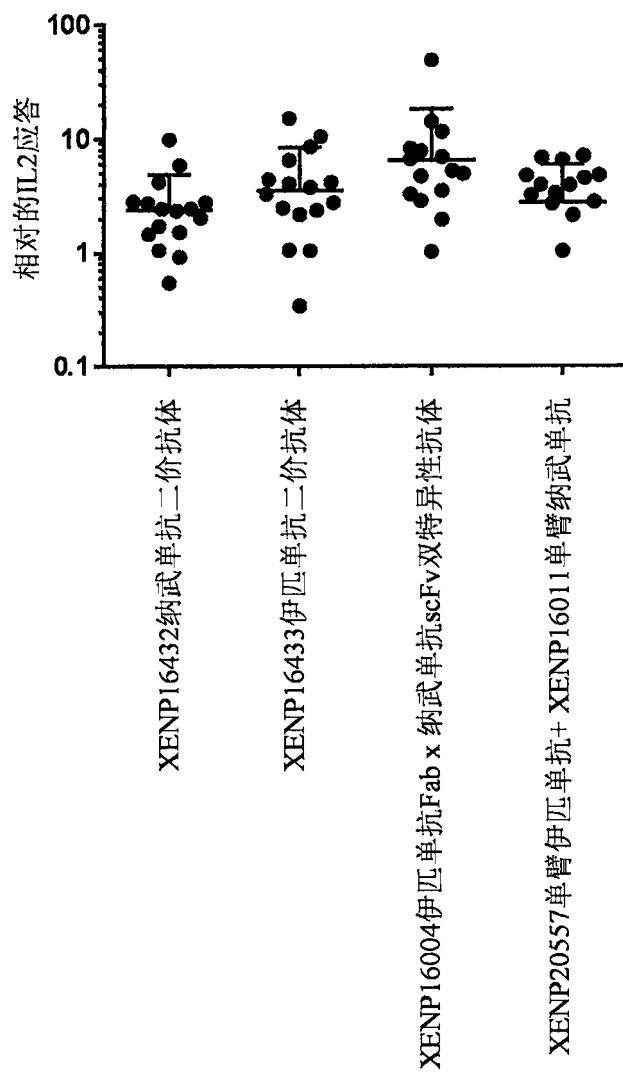


图25

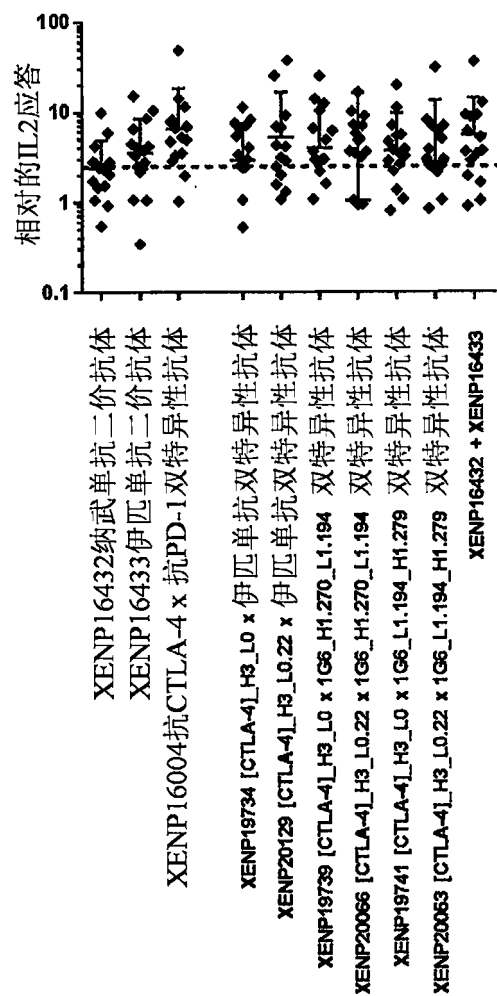


图26

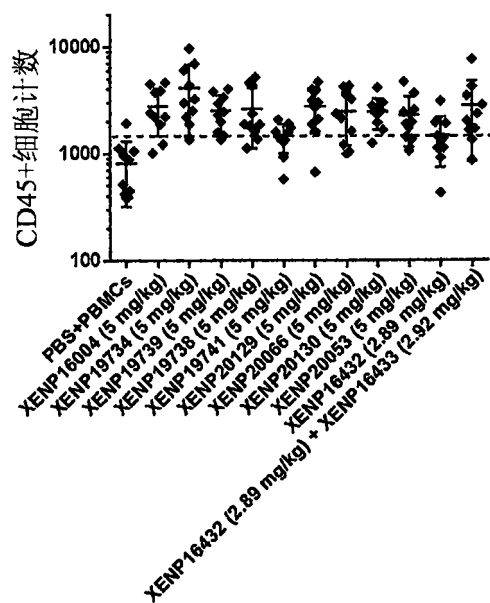


图27

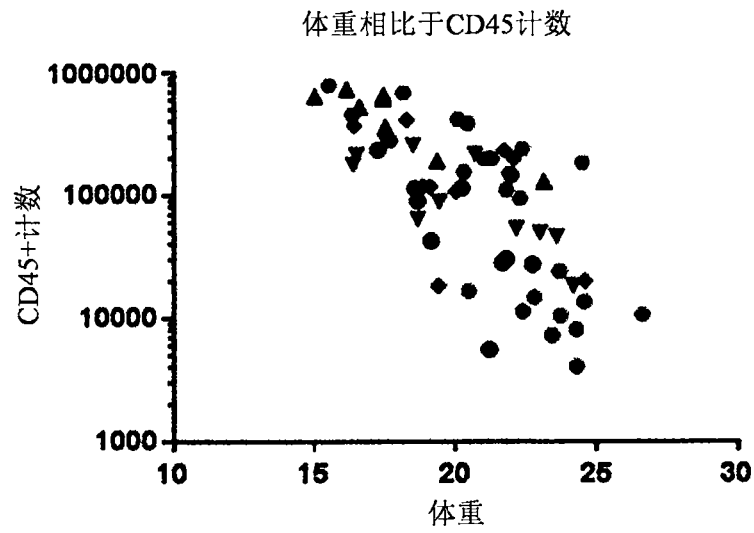


图28

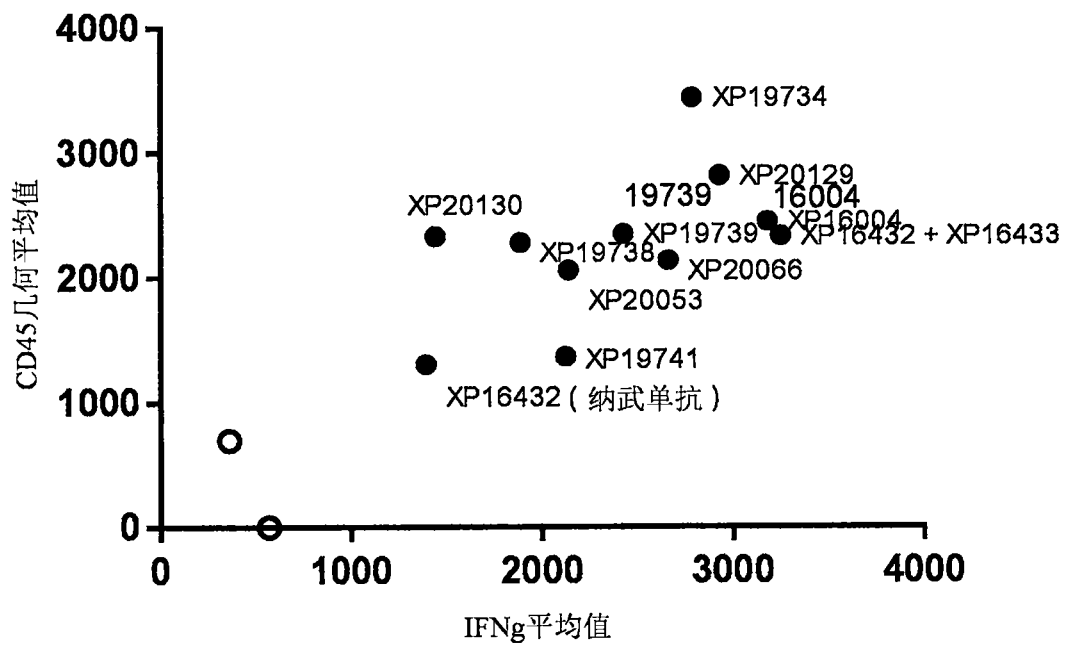


图29

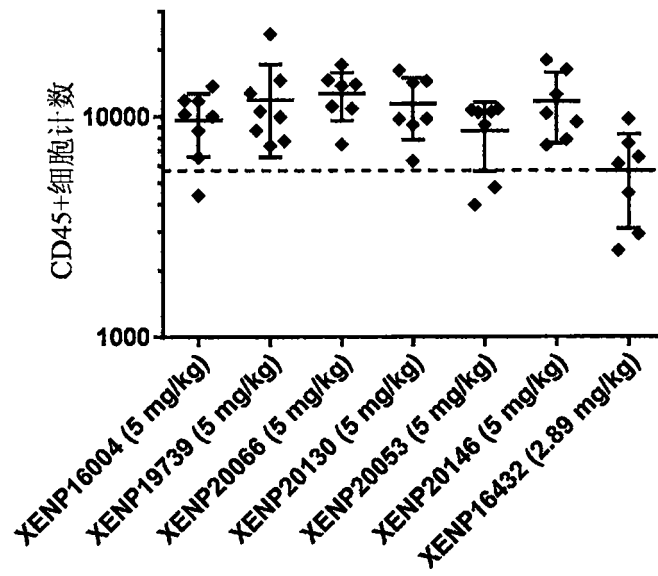


图30

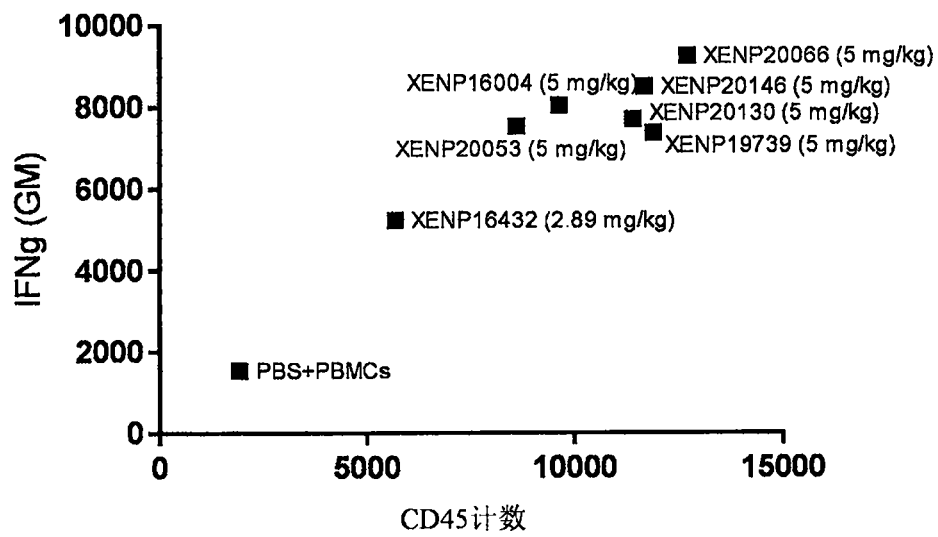


图31

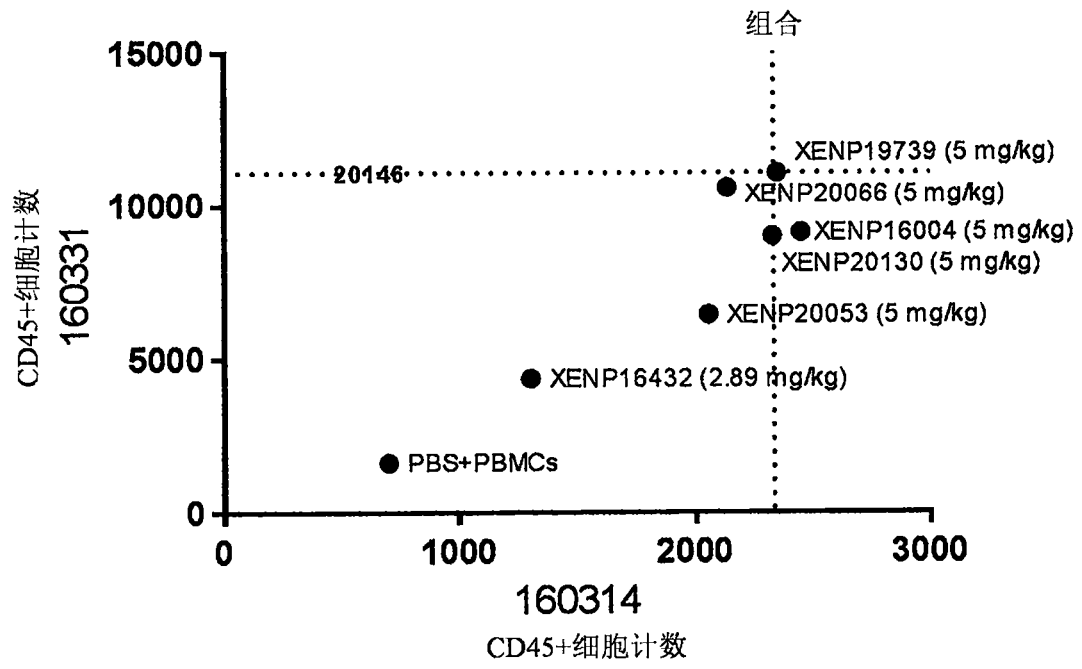


图32

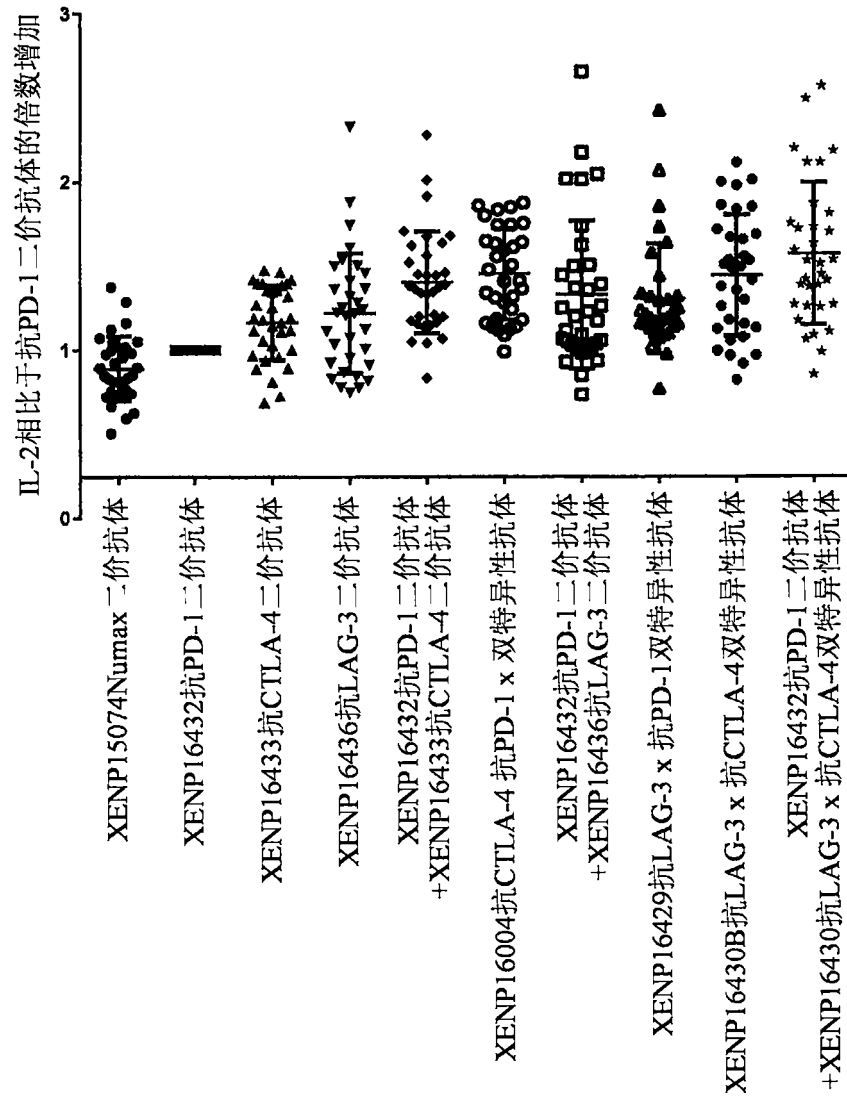


图33A

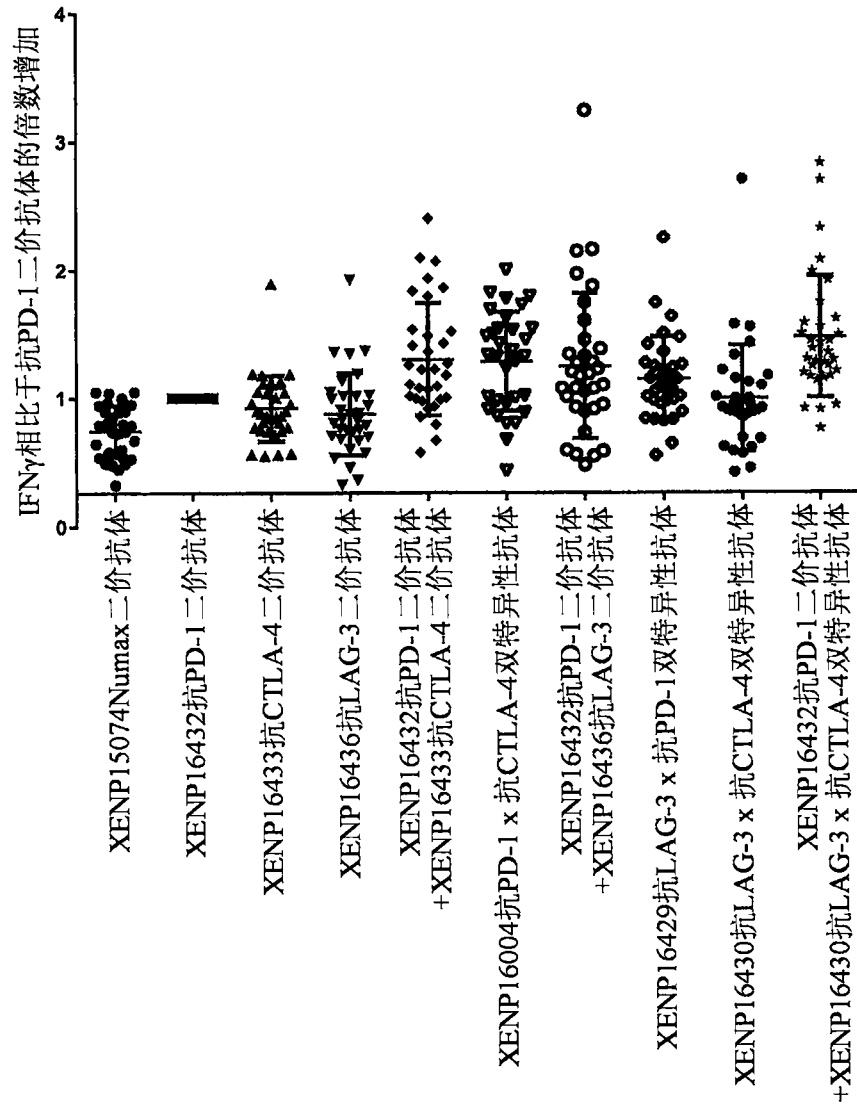


图33B

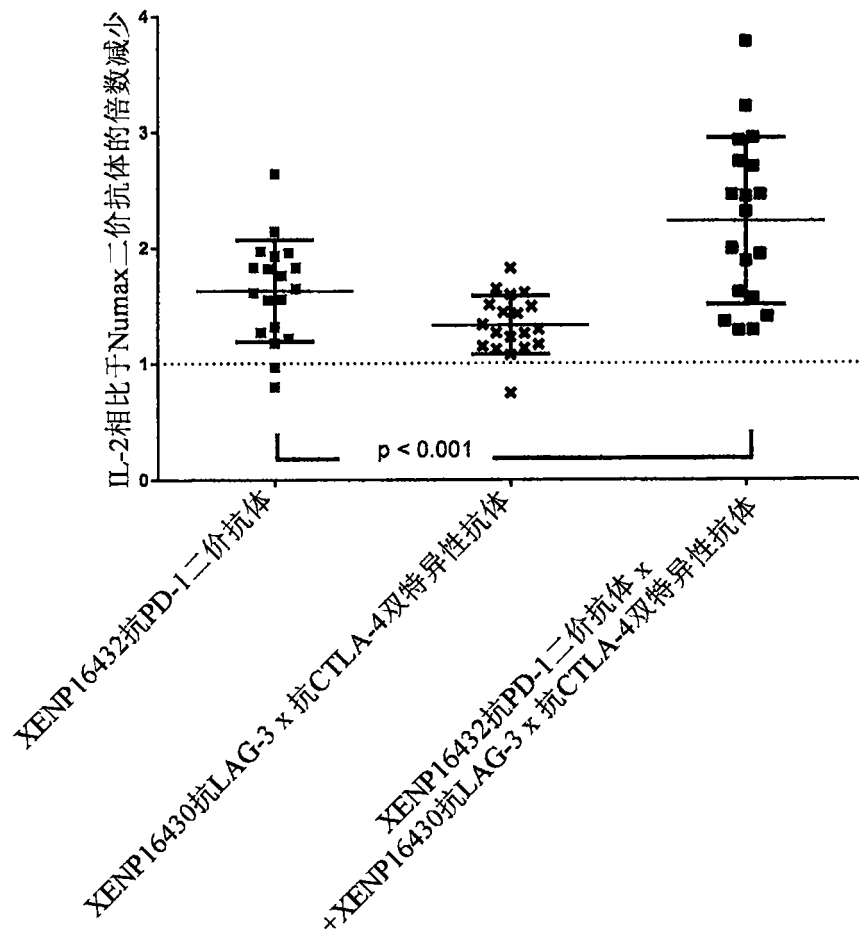


图34

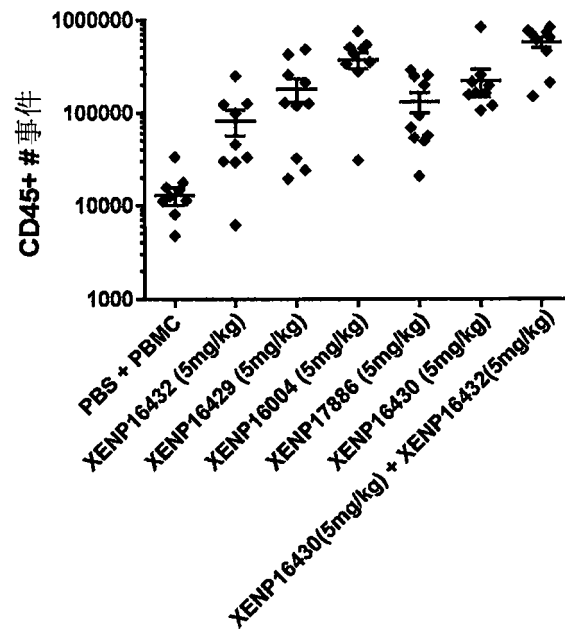


图35

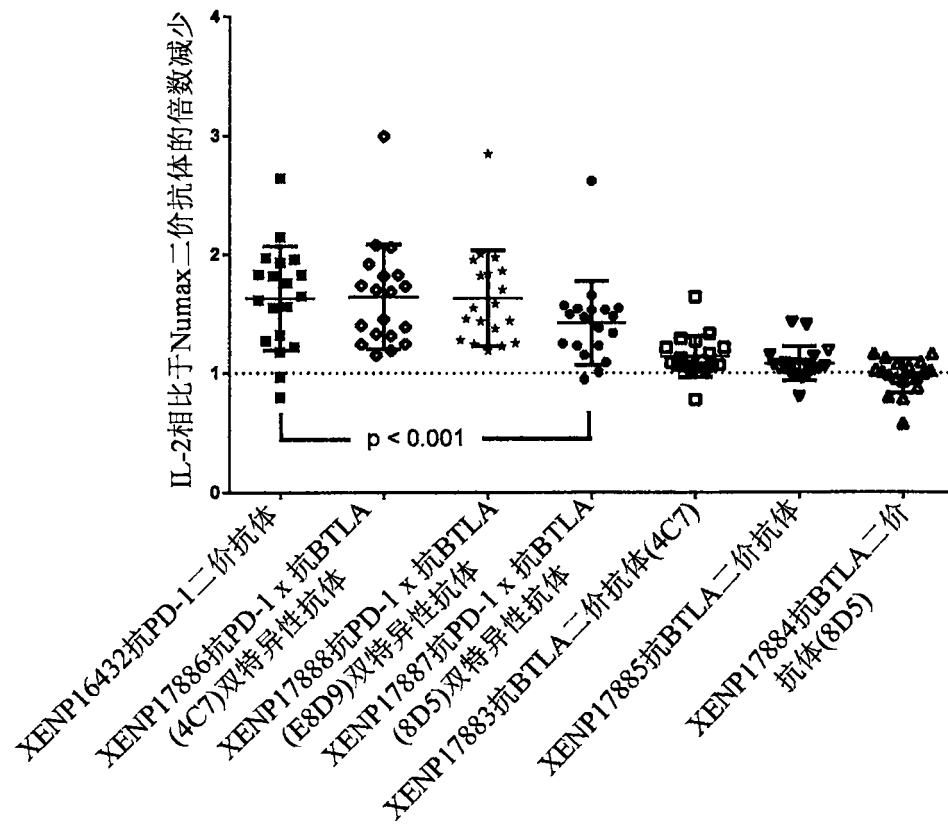


图36A

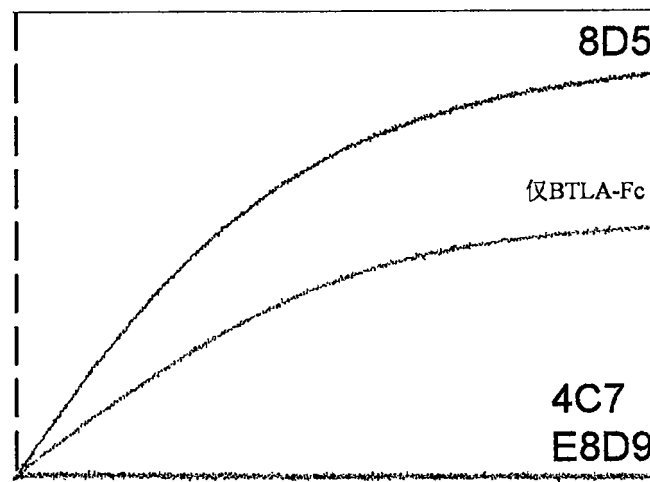


图36B

开瓶器主链 1

Fab侧重链 (SEQ ID NO:37725)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFPPSVSLQTQTYICNVMHKKPSDTKVDDKKVEPKSCDKTH
 TCPPCPAPFVAGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI
 EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGVFSCSVMEALHNHYTQK
 SLSLSPGK

scFv重链 (SEQ ID NO:37726)

EPKSSDKTHTCPPCPAPFVAGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
 SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGYFSPDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGVFSCSVME
 ALHNHYTQKSLSLSPGK

恒定轻链 (SEQ ID NO:37727)

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLYSLSSLTLSKADYEKKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

开瓶器主链 2

Fab侧重链 (SEQ ID NO:37728)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFPPSVSLQTQTYICNVMHKKPSDTKVDDKKVEPKSCDKTH
 TCPPCPAPFVAGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI
 EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGVFSCSVMEALHNHYTQK
 SLSLSPGK

scFv重链 (SEQ ID NO:37729)

EPKSSDKTHTCPPCPAPFVAGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
 SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGYFSPDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGVFSCSVME
 ALHNHYTQKSLSLSPGK

图37A

开瓶器主链 3

Fab侧重链 (SEQ ID NO:37731)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTH
 TCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI
 EKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRREMTKNQVSLTCEVSGEYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQK
 SLSLSPGK

scFv重链 (SEQ ID NO:37732)

EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
 SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRREMTKNQVSLTCLVKGFEYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHE
 ALHNHYTQKSLSLSPGK

开瓶器主链 4

Fab侧重链 (SEQ ID NO:37734)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTH
 TCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI
 EKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRREMTENEVSLTCLVKGFEYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLEVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGK

scFv重链 (SEQ ID NO:37735)

EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
 SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRREMTKNQVSLTCLVKGFEYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHE
 ALHNHYTQKSLSLSPGK

图37B

开瓶器主链 5 (356D/358L 同种异型)

Fab 侧重链 (SEQ ID NO: 39158)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKEPKSCDKTH
 TCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI
 EKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCTDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLITVDKSRWEQGDVFSVMSHEALHNHYTQK
 SLSLSPGK

scFv 重链 (SEQ ID NO: 39159)

EPKSSDKTHHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
 SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRQEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLITVDKSRWQQGNVFSVMSHE
 ALHNHYTQKSLSLSPGK

开瓶器主链 6

Fab 侧重链 (SEQ ID NO: 39160)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKEPKSCDKTH
 TCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI
 EKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRQEMTKNQVSLTCTDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLITVDKSRWEQGDVFSVMSHEALHNHYTQK
 SLSLSPGK

scFv 重链 (SEQ ID NO: 39161)

EPKSSDKTHHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
 SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRQEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLITVDKSRWQQGNVFSVMSHE
 ALHNHYTQKSLSLSPGK

图37C

开瓶器主链 7

Fab侧重链 (SEQ ID NO: 39162)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTH
 TCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEYSSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI
 EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRHEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLITVDKSRWEQGDVFSCSVMEALHNHYTQK
 SLSLSPGK

scFv重链 (SEQ ID NO: 39163)

EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYSSYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
 SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRQMTKNQVSLTCLVKGYFSPDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLITVDKSRWQQGNVFSVMHE
 ALHNHYTQKSLSLSPGK

开瓶器主链 8

Fab侧重链 (SEQ ID NO: 39164)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVDHKPSDTKVDKRVESKYGPFCPP
 PCPAPAEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKQEDPEVFQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK
 TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLITVDKSRWEEGDVFSCSVMEALHNHYTQKSL
 SLSLIGK

scFv重链 (SEQ ID NO: 39165)

ESKYGPPCPCPAPAEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKQEDPEVFQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
 KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEQMTKNQVSLTCLVKGYFSPDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLITVDKSRWQEGNVFSVMHEAL
 HNHYTQKSLSLIGK

图37D

开瓶器主链 9

Fab侧重链 (SEQ ID NO: 39166)

ASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQYTCNVDPKPSDTKVDKTVKCCVECP
PCPAPPVAGPSVFLPPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKT
ISKTKGQPREPQVYTLPPSREMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPMLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK

scFv重链 (SEQ ID NO: 39167)

ERKCSVECPPCPAPPVAGPSVFLPPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNK
GLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSSVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGK

开瓶器主链 10

Fab侧重链 (SEQ ID NO: 39168)

ASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQYTCNVDPKPSDTKVDKTVKCCVECP
PCPAPPVAGPSVFLPPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKT
ISKTKGQPREPQVYTLPPSREMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPMLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK

scFv重链 (SEQ ID NO: 39169)

ERKCSVECPPCPAPPVAGPSVFLPPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNK
GLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSSVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGK

图37E

mAb-scFv主链 1 (356E/358M 同种异型)

单体 1 (Fab-scFv侧) (SEQ ID NO: 37737)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFPPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCTCPCPAPP
VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKKVSNNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTT
LPPSREEMTKNQVSLTCTCDVSGFYPGSDIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGVFSCSVNHEALHNHYTQKSLSLSPGK

单体 2 (Fab侧) (SEQ ID NO: 37738)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFPPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCTCPCPAPP
VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKKVSNNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTT
LPPSREEMTKNQVSLTCTCDVSGFYPGSDIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGVFSCSVNHEALHNHYTQKSLSLSPGK

恒定轻链 (SEQ ID NO: 37739)

RTVAAPSVEIFPPSDEQLKSGTASVWCCLLNFFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图38A

mAb-scFv主链 2

Fab-scFv-Hc - 356D/358L 同种异型 (SEQ ID NO: 39170)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFPPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKVEPKSCDKTHHTCPPCPAPP
VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYDGVGEVHNATKPREEEYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYIT
LPPSREEMTKNQVSLTCTCDVSGFYPSPDI AVEWESDGGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEEQGVFSCSVMHAEALHNHYTQKSLSLSPGK

>mAb-scFv Fab-Hc - 356D/358L 同种异型 (SEQ ID NO: 39171)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFPPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKVEPKSCDKTHHTCPPCPAPP
VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYDGVGEVHNATKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYIT
LPPSRDQLTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGVFSCSVMHAEALHNHYTQKSLSLSPGK

mAb-scFv主链 3

>mAb-scFv Fab-scFv-Hc - N297A (SEQ ID NO: 39172)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFPPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKVEPKSCDKTHHTCPPCPAPP
VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYDGVGEVHNATKPREEEYASTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYIT
LPPSREEMTKNQVSLTCTCDVSGFYPSPDI AVEWESDGGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEEQGVFSCSVMHAEALHNHYTQKSLSLSPGK

>mAb-scFv Fab-Hc - N297A (SEQ ID NO: 39173)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFPPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKVEPKSCDKTHHTCPPCPAPP
VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYDGVGEVHNATKPREEQYASTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYIT
LPPSREQMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGVFSCSVMHAEALHNHYTQKSLSLSPGK

图38B

mAb-scFv主链 4

>mAb-scFv Fab-scFv-Hc - N297s (SEQ ID NO: 39174)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPPCPAPP
VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEYSSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPTEKTI SKAKGQPREPQVYTT
LPPSREEMTKNQVSLTCLDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEEGDFVSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

>mAb-scFv Fab-Hc - N297s (SEQ ID NO: 39175)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSSDKTHTCTPPCPAPP
VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYSSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPTEKTI SKAKGQPREPQVYTT
LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

mAb-scFv主链 5

>mAb-scFv Fab-scFv-IgG4-Hc (SEQ ID NO: 39176)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVDHKPSDTKVDKRVESKYGPCCPAPAFELG
GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYITLP
PSQEEMTKNQVSLTCLDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEEGDFVSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

>mAb-scFv Fab-IgG4-Hc (SEQ ID NO: 39177)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVDHKPSDTKVDKRVESKYGPCCPAPAFELG
GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYITLP
PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图38C

mAb-scFv主链 6

>mAb-scFv Fab-scFv-IgG2-Hc - 无 S267K (SEQ ID NO: 39178)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSNFTQTTCNVDHKPSDTKVDKTVVERKCCVECPGPCPAPPVAG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYITLPP
SREEMTKNQVSLTCLDKGTSTQDAVIDSGDFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGDNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

>mAb-scFv Fab-IgG2-Hc - 无 S267K (SEQ ID NO: 39179)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSNFTQTTCNVDHKPSDTKVDKTVVERKCSVECPGPCPAPPVAG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYITLPP
SREOMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

mAb-scFv主链 7

>mAb-scFv Fab-scFv-IgG2-Hc - 有 S267K (SEQ ID NO: 39180)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSNFTQTTCNVDHKPSDTKVDKTVVERKCCVECPGPCPAPPVAG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYITLPP
SREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGDNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

>mAb-scFv Fab-IgG2-Hc - 有 S267K (SEQ ID NO: 39181)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSNFTQTTCNVDHKPSDTKVDKTVVERKCSVECPGPCPAPPVAG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYITLPP
SREOMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

图38D

A

第1/第2 抗原	PD-1	CTLA-4	TIM-3	LAG-3	TIGIT	BTLA
PD-1	XXX	A, B, C, D, E	A, B, C, D, E	A, B, C, D, E	A, B, C, D, E	A, B, C, D, E
CTLA-4	A, B, C, D, F	XXX	A, B, C, D, F	A, B, C, D, F	A, B, C, D, F	A, B, C, D, F
TIM-3	A, B, C, D, G	A, B, C, D, G	XXX	A, B, C, D, G	A, B, C, D, G	A, B, C, D, G
LAG-3	A, B, C, D, H	A, B, C, D, H	A, B, C, D, H	XXX	A, B, C, D, H	A, B, C, D, H
TIGIT	A, B, C, D, I	A, B, C, D, I	A, B, C, D, I	A, B, C, D, I	XXX	A, B, C, D, I
BTLA	A, B, C, D, J	A, B, C, D, J	A, B, C, D, J	A, B, C, D, J	A, B, C, D, J	XXX

图39A

B

第1/第2 抗原	PD-1	CTLA-4	TIM-3	LAG-3	TIGIT	BTLA
PD-1	XXX	A, B, C, D, E	A, B, C, D, E	A, B, C, D, E	A, B, C, D, E	A, B, C, D, E
CTLA-4	A, B, C, D, F	XXX	A, B, C, D, F	A, B, C, D, F	A, B, C, D, F	A, B, C, D, F
TIM-3	A, B, C, D, G	A, B, C, D, G	XXX	A, B, C, D, G	A, B, C, D, G	A, B, C, D, G
LAG-3	A, B, C, D, H	A, B, C, D, H	A, B, C, D, H	XXX	A, B, C, D, H	A, B, C, D, H
TIGIT	A, B, C, D, I	A, B, C, D, I	A, B, C, D, I	A, B, C, D, I	XXX	A, B, C, D, I
BTLA	A, B, C, D, J	A, B, C, D, J	A, B, C, D, J	A, B, C, D, J	A, B, C, D, J	XXX

(doc 3154955)

图39B

第1/第2 抗原	PD-1	CTLA-4	TM-3	LAG-3	TIGIT	BTLA
PD-1	—	Q,R,S	Q,R,S	Q,R,S	Q,R,S	Q,R,S
CTLA-4	Q,R,T	—	Q,R,T	Q,R,T	Q,R,T	Q,R,T
TM-3	Q,R,U	Q,R,U	—	Q,R,U	Q,R,U	Q,R,U
LAG-3	Q,R,V	Q,R,V	Q,R,V	—	Q,R,V	Q,R,V
TIGIT	Q,R,W	Q,R,W	Q,R,W	Q,R,W	—	Q,R,W
BTLA	Q,R,X	Q,R,X	Q,R,X	Q,R,X	Q,R,X	—

图40

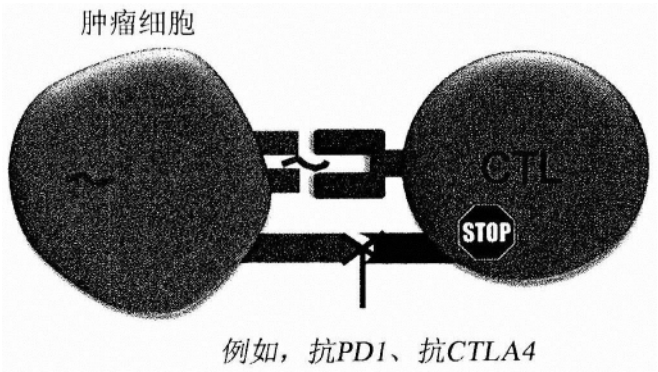


图41A

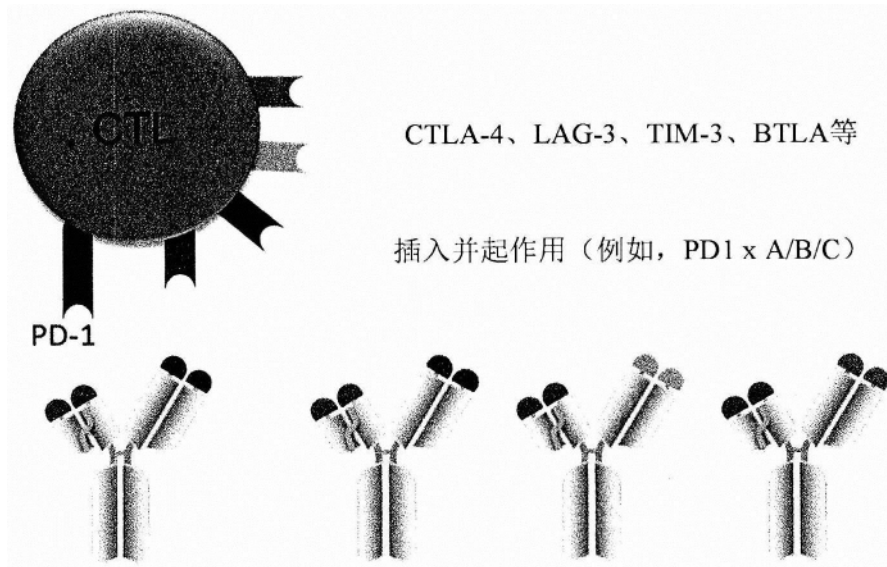


图41B

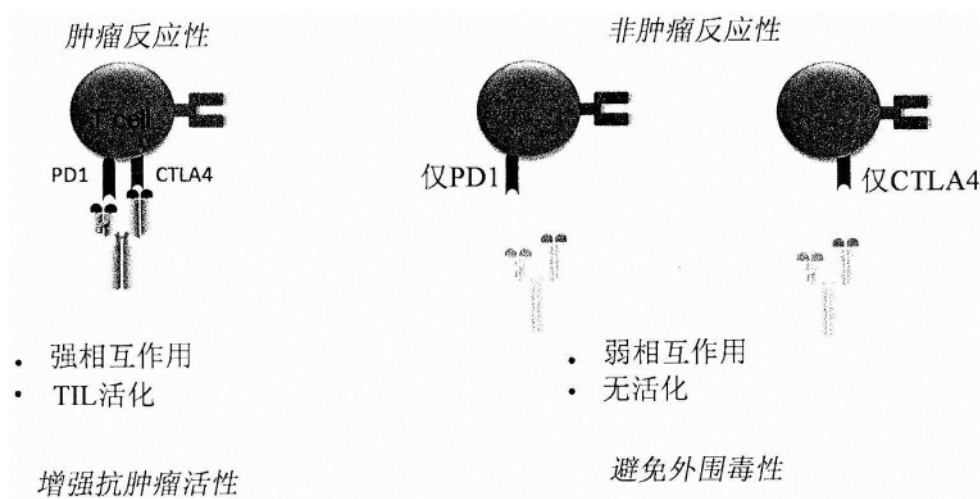


图42

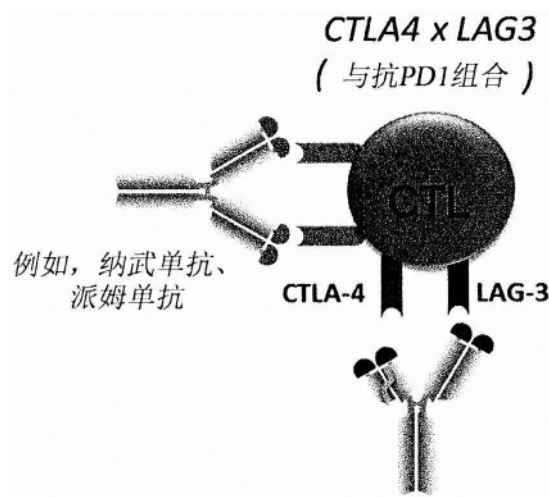


图43

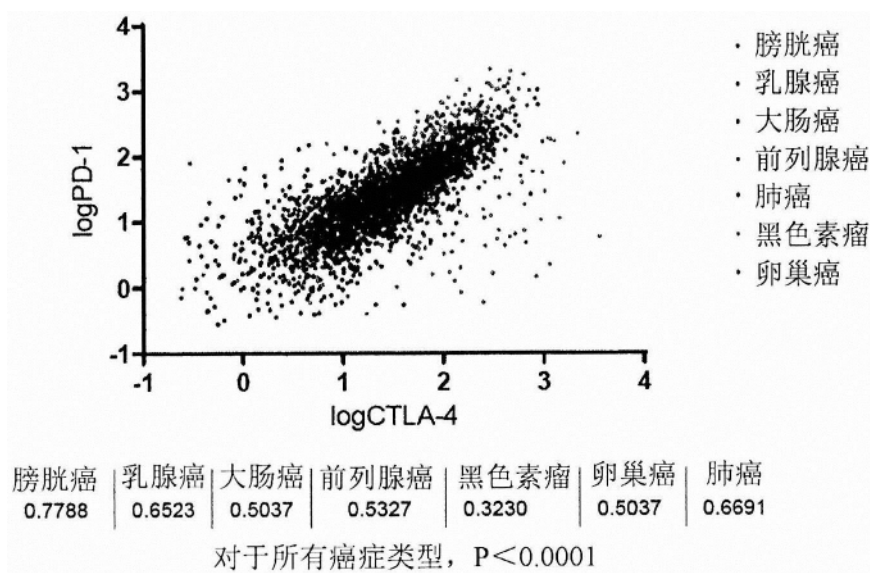


图44

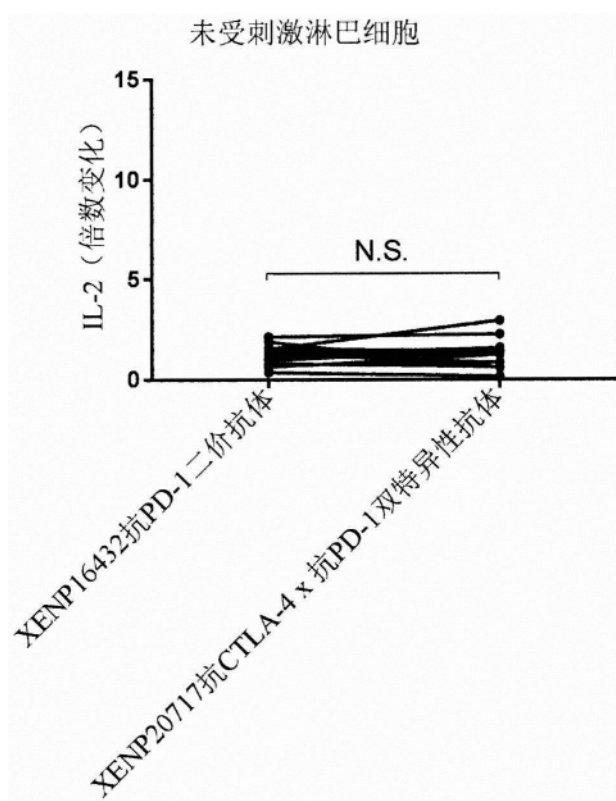


图45A

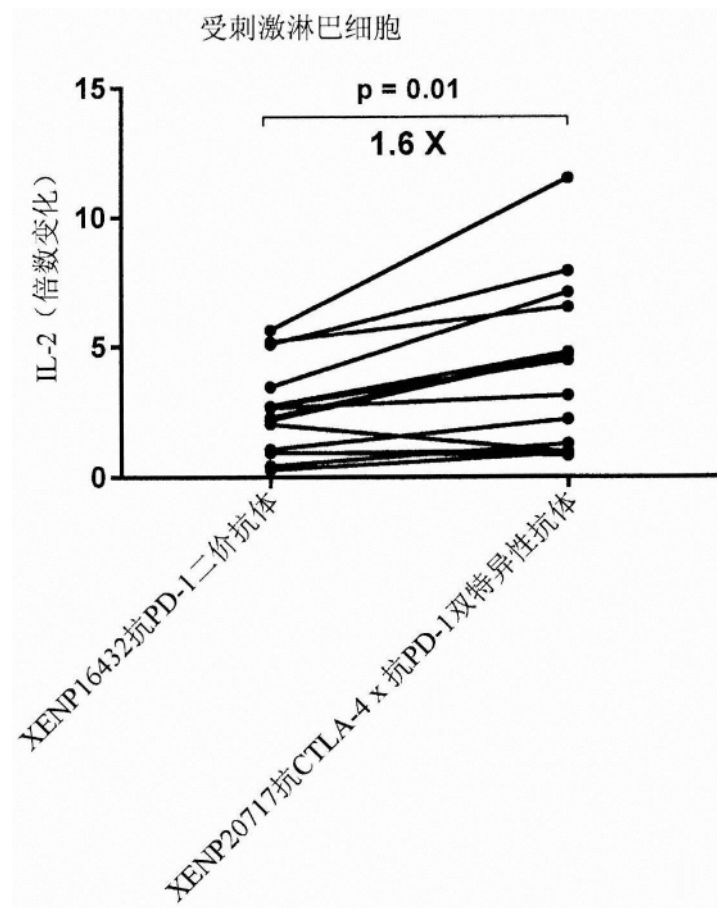


图45B

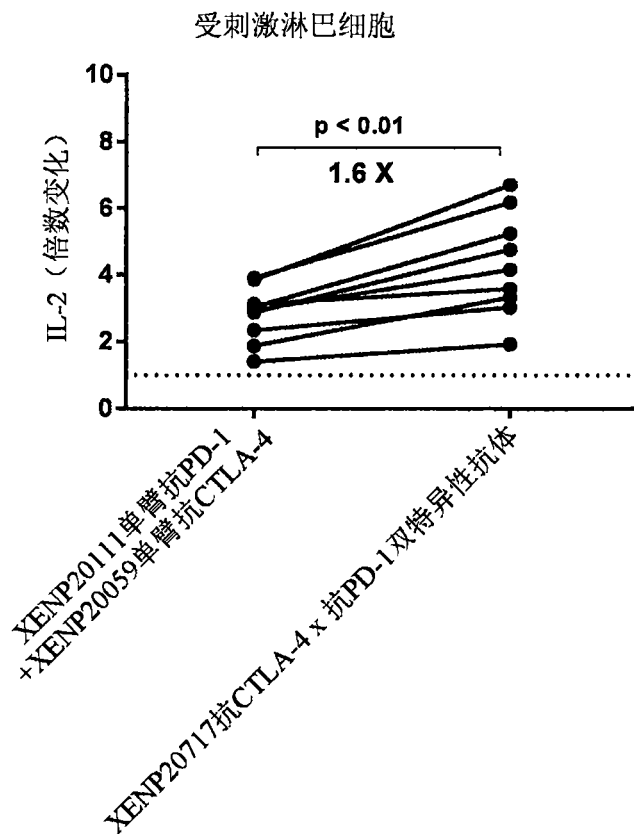


图45C

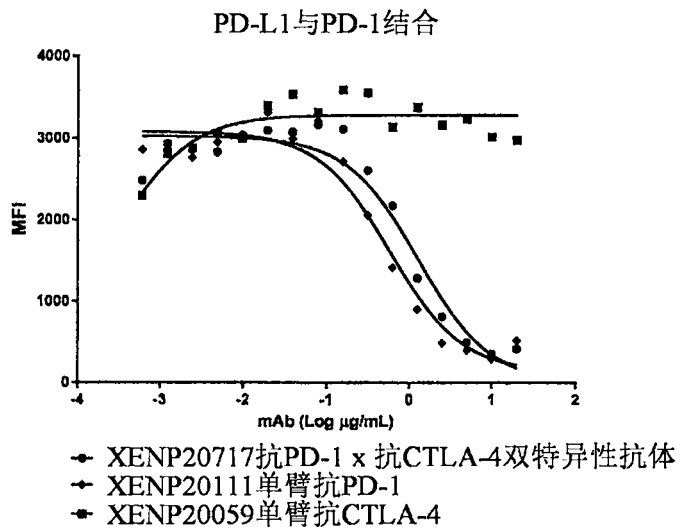


图46A

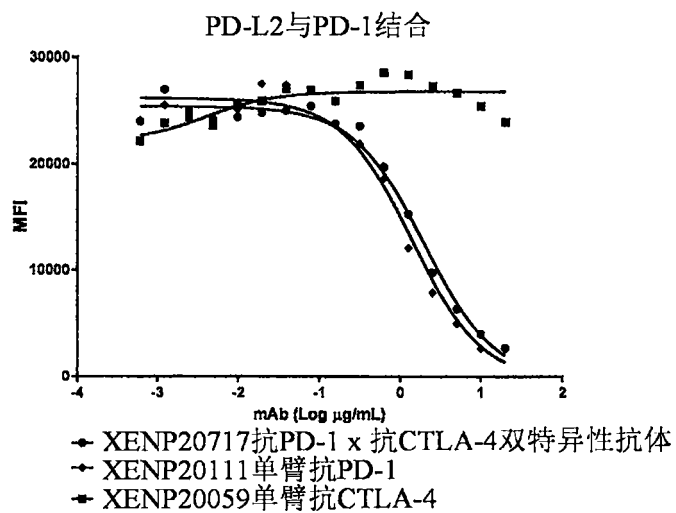


图46B

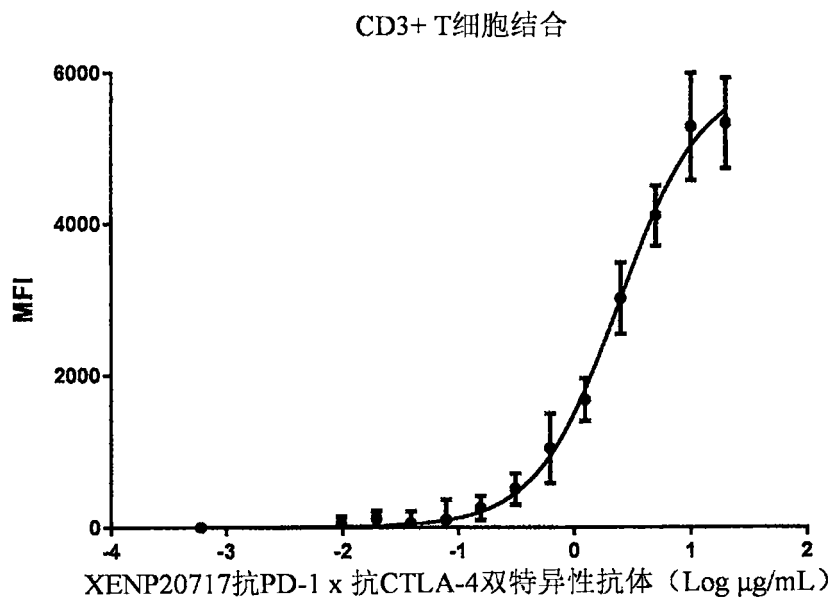


图47

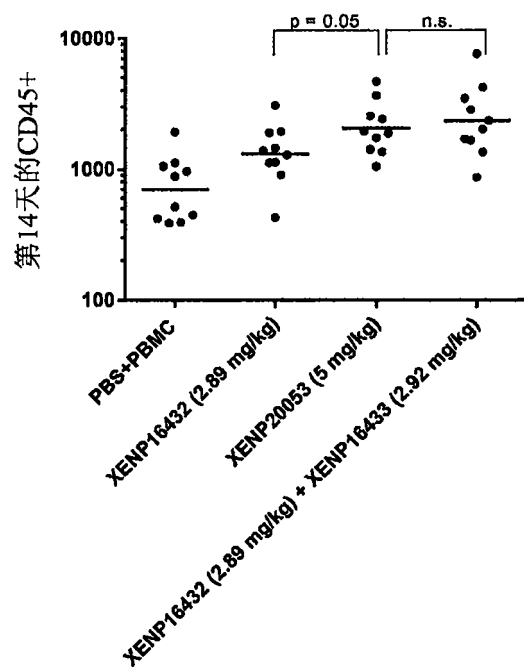


图48

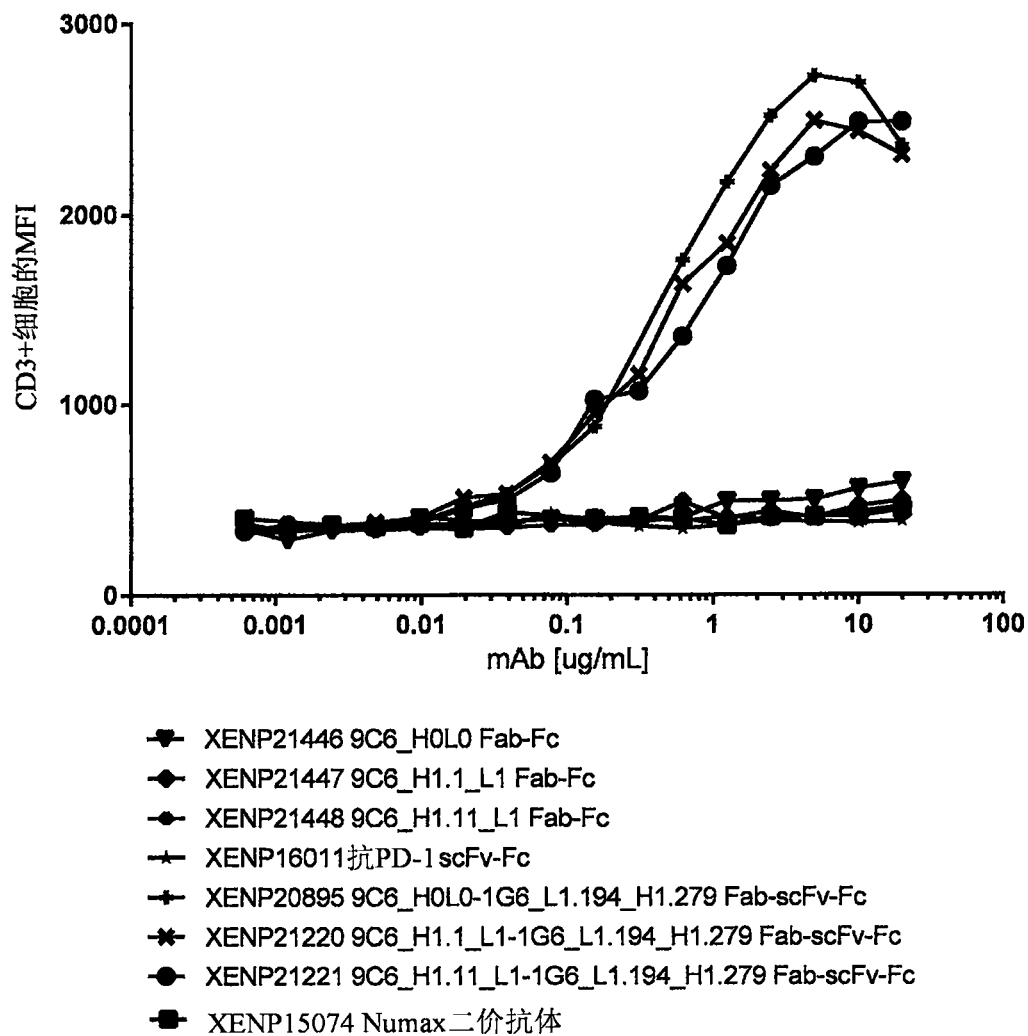


图49

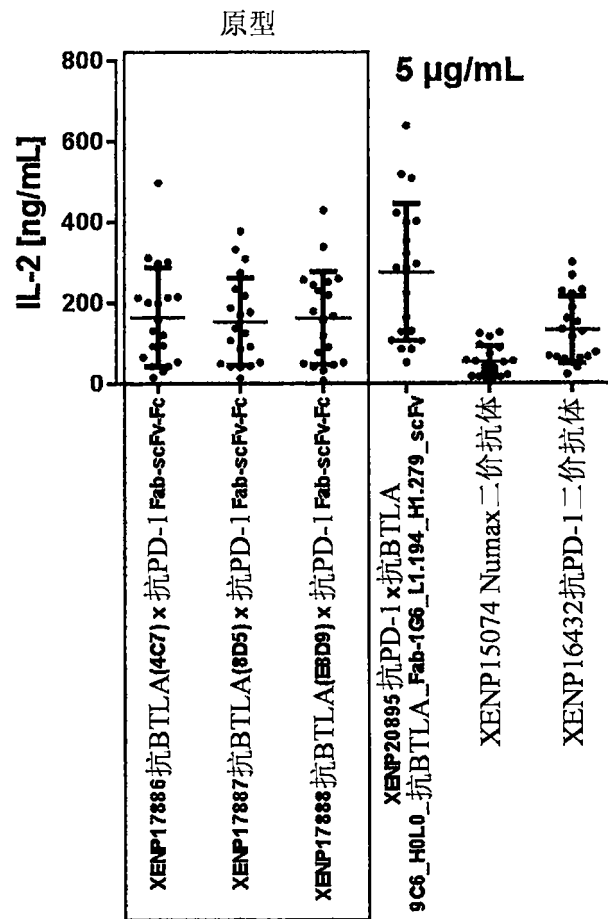


图50A

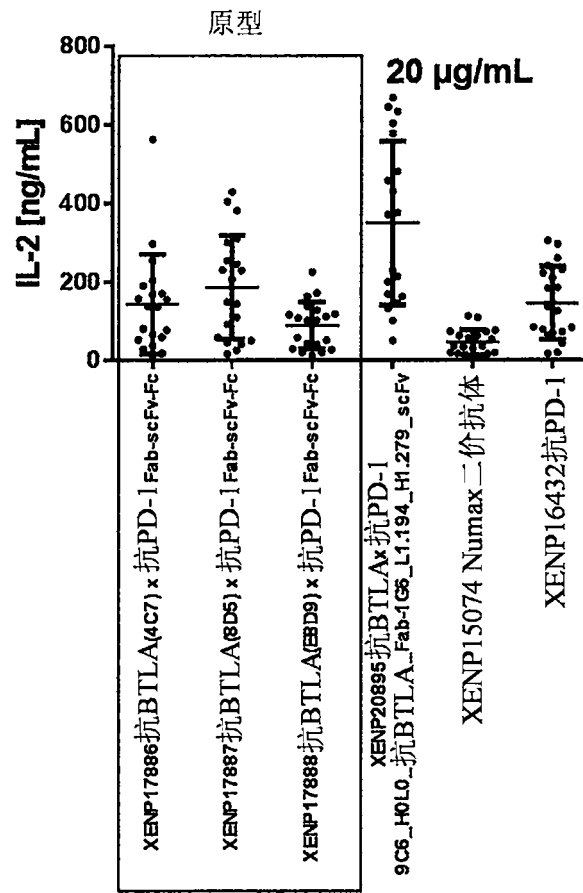


图50B

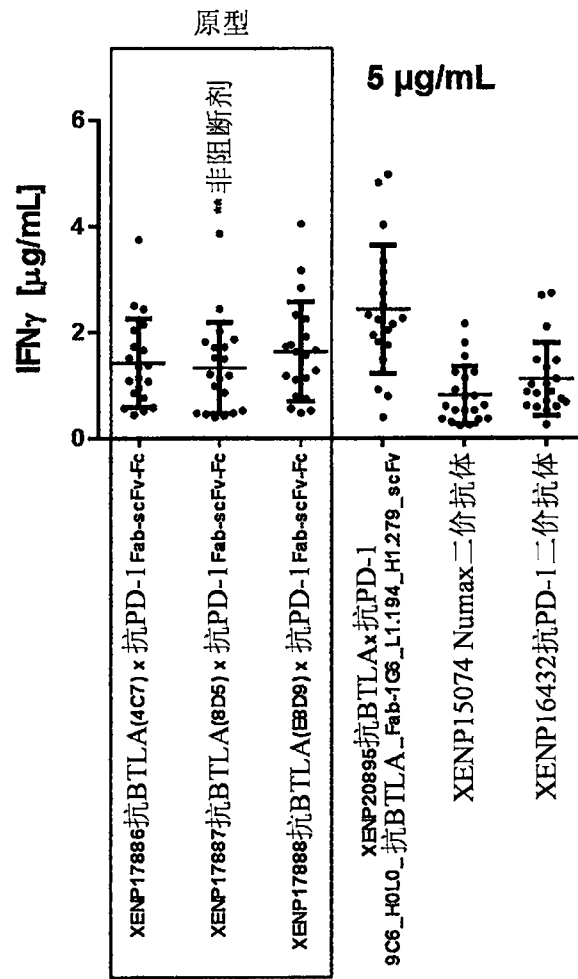


图51A

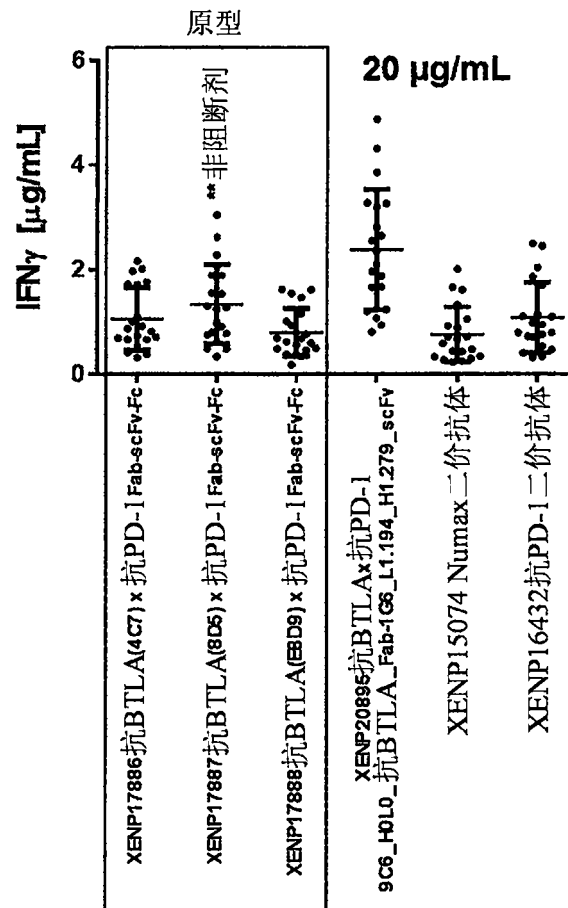


图51B

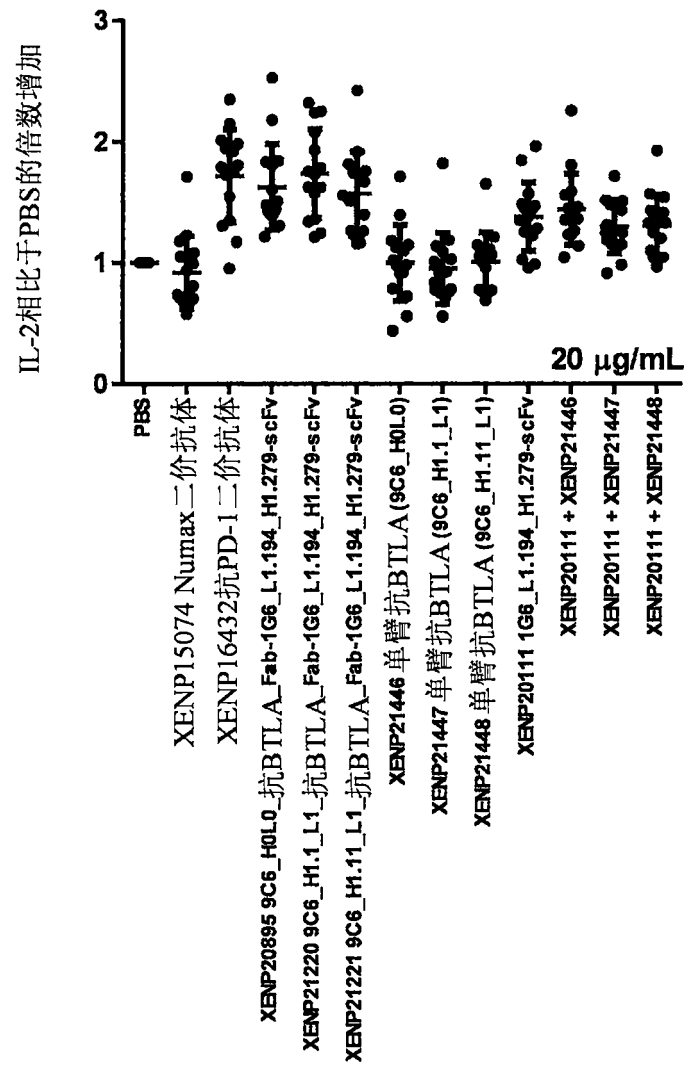


图52A

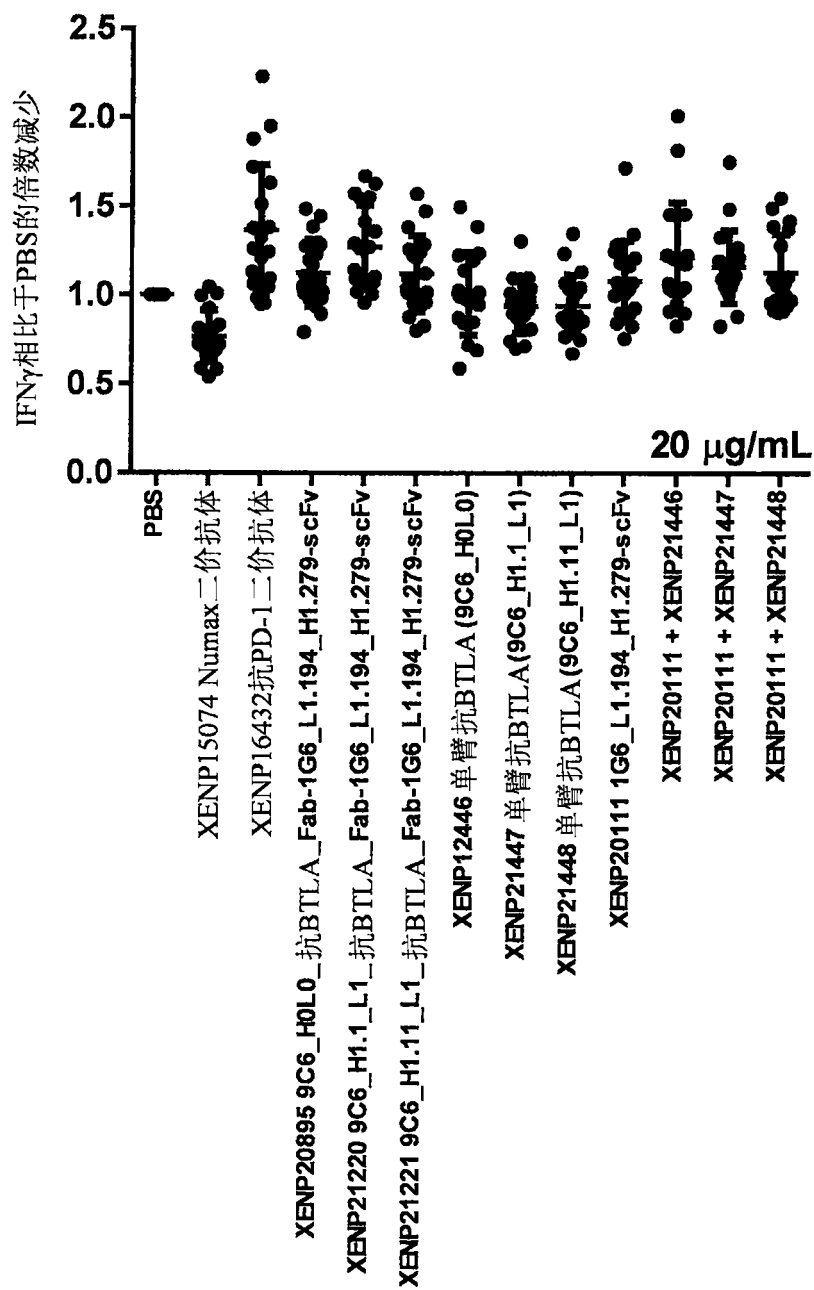


图52B

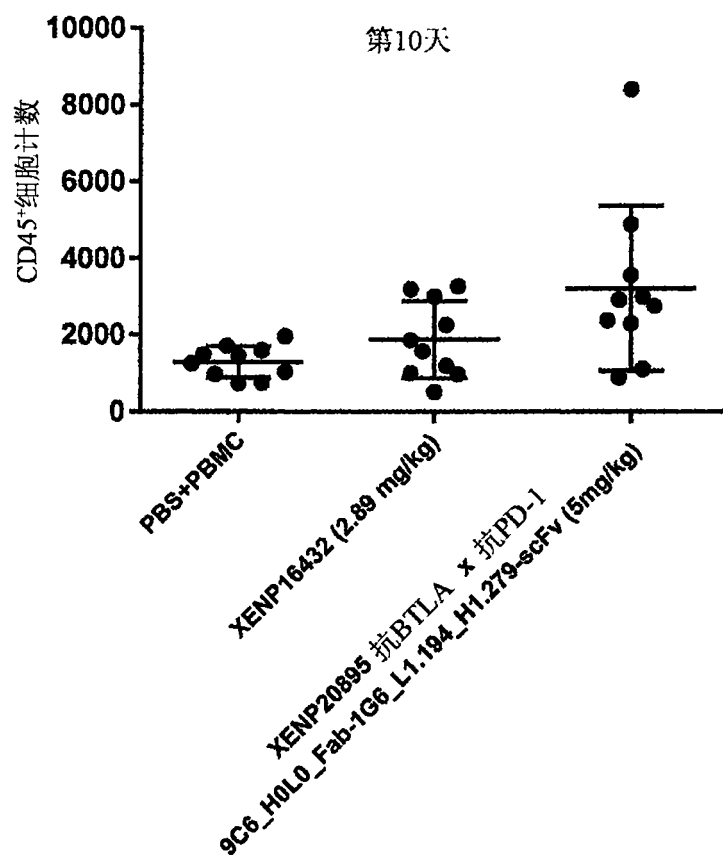


图53A

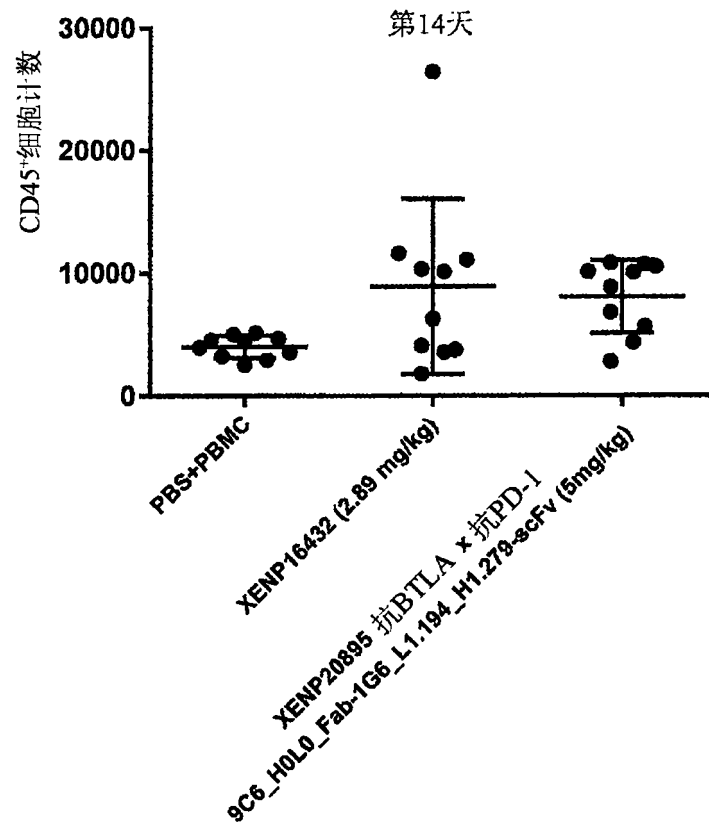


图53B

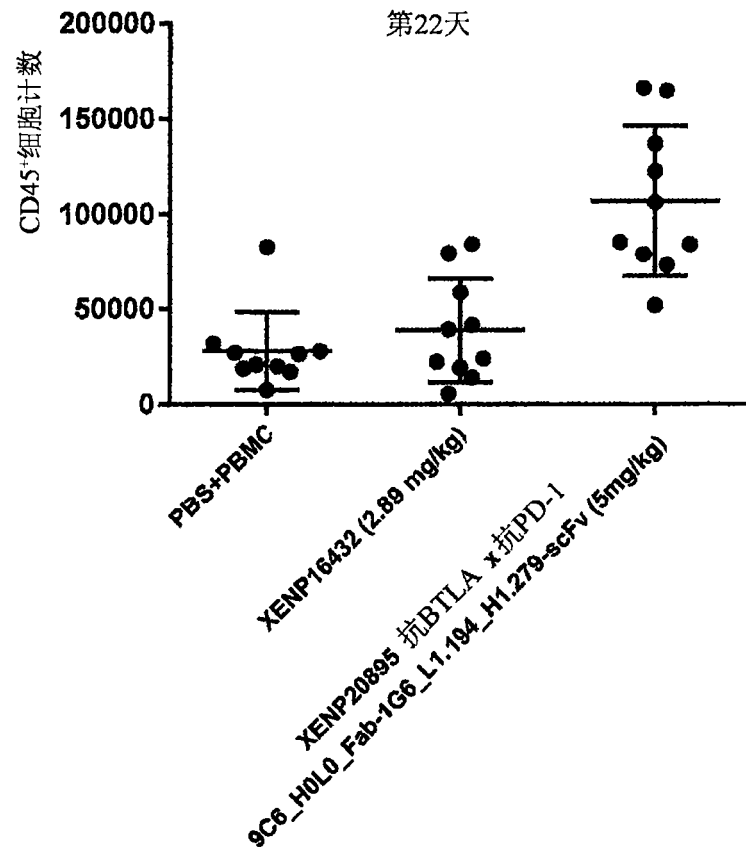


图53C

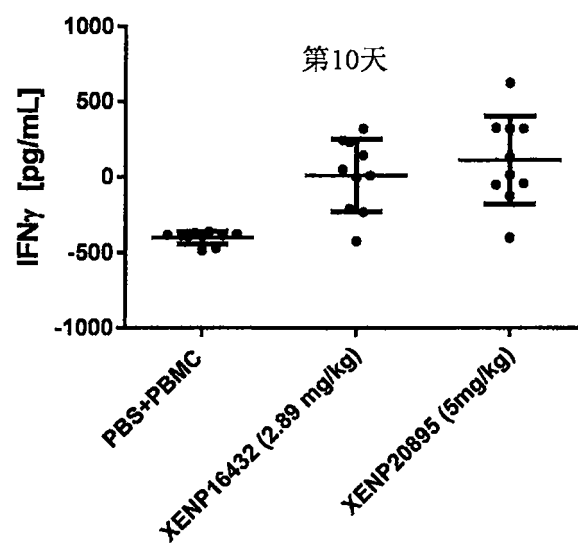


图53D

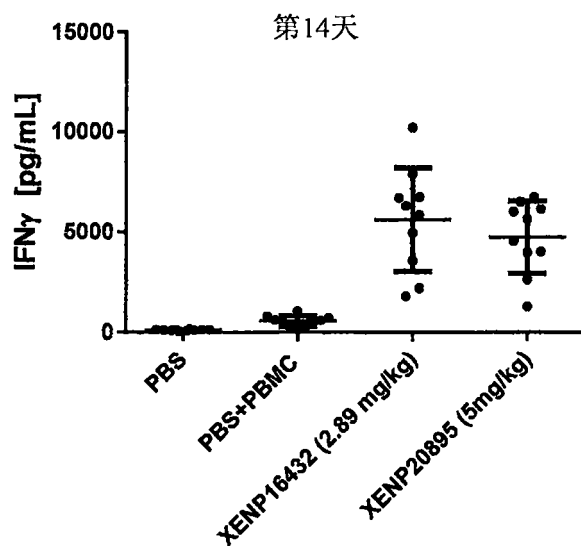


图53E

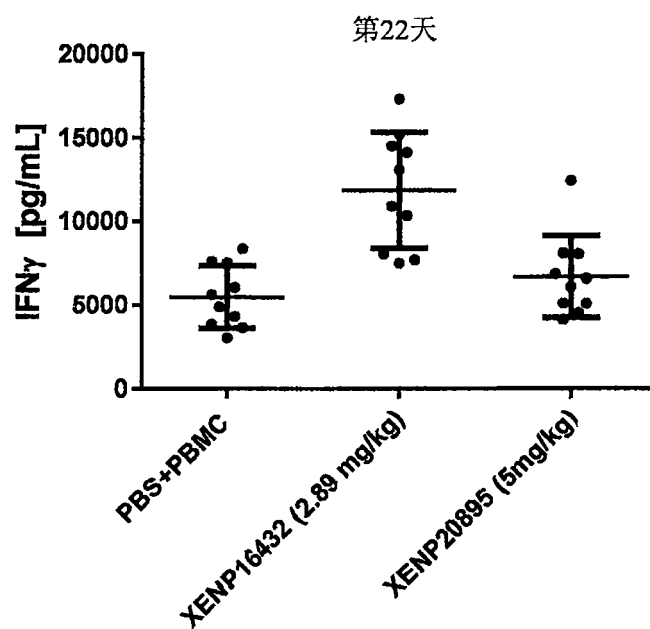


图53F

XENP (二价mAb)	克隆	VH	VL	KD (M;人BTLA)
20269	9C6	H0	L0	1.3E-08
20744	9C6	H0	L1	1.4E-08
20745	9C6	H0	L2	1.9E-08
20746	9C6	H1	L0	1.8E-08
20747	9C6	H1	L1	2.7E-08
20748	9C6	H1	L2	4.2E-08
20749	9C6	H2	L0	2.1E-08
20750	9C6	H2	L1	3.7E-08
20751	9C6	H2	L2	5.1E-08
20752	9C6	H3	L0	2.3E-08
20753	9C6	H3	L1	3.2E-08
20754	9C6	H3	L2	3.1E-08
20872	9C6	H1.1	L1	2.4E-08
20873	9C6	H1.2	L1	3.8E-08
20874	9C6	H1.3	L1	5.0E-08
20875	9C6	H1.4	L1	4.5E-08
20876	9C6	H1.5	L1	4.7E-08
20877	9C6	H1.6	L1	4.6E-08
20878	9C6	H1.7	L1	4.5E-08
20879	9C6	H1.8	L1	4.7E-08
20880	9C6	H1.9	L1	3.5E-08
20881	9C6	H1.10	L1	5.1E-08
20882	9C6	H1.11	L1	2.2E-08
20883	9C6	H1.12	L1	3.4E-08
20884	9C6	H1.13	L1	3.0E-08
20885	9C6	H1.14	L1	3.4E-08
20886	9C6	H1.15	L1	3.4E-08
20887	9C6	H1.16	L1	3.7E-08
20888	9C6	H1	L1.1	3.1E-08
20889	9C6	H1	L1.2	3.0E-08
20890	9C6	H1	L1.3	3.2E-08
20891	9C6	H1	L1.4	3.1E-08
20892	9C6	H1	L1.5	3.1E-08
20893	9C6	H1	L1.6	3.4E-08
20894	9C6	H1	L1.7	6.2E-08

图54

Fab XENP	VH	VL	人LAG-3 Fab K_D (M)	Fab T_m (°C)
20847	H1	L2	1.37E-08	73.5
21228	H1.1	L2	1.43E-08	72.5
21232	H1.5	L2	1.73E-08	73
21235	H1.8	L2	1.15E-08	72.5
21236	H1.9	L2	1.26E-08	73
21239	H1.12	L2	1.25E-08	73.5
21245	H1.18	L2	1.27E-08	72.5
21249	H1.22	L2	9.50E-09	72.5
21256	H1.29	L2	1.30E-08	73.5
21264	H1.37	L2	3.60E-09	73
21284	H1.57	L2	2.36E-08	73.5
21286	H1.59	L2	3.61E-08	73.5
21291	H1.64	L2	6.71E-09	73
21292	H1.65	L2	7.08E-09	73
21295	H1.68	L2	1.31E-08	72.5
21301	H1.70	L2	5.47E-09	72.5
21302	H1.71	L2	1.25E-08	74.5
21304	H1.73	L2	1.63E-08	73.5
21306	H1.75	L2	1.69E-08	74
21327	H1.96	L2	1.93E-08	73.5
21329	H1.98	L2	1.11E-08	73.5
21332	H1.101	L2	1.43E-08	73.5
21336	H1.105	L2	5.41E-09	73
21339	H1.108	L2	1.29E-08	73.5
21342	H1.111	L2	1.18E-08	73.5
21344	H1.113	L2	1.16E-08	73
21351	H1	L2.4	1.07E-08	71.5
21353	H1	L2.6	1.68E-08	70.5
21360	H1	L2.13	1.17E-08	74
21369	H1	L2.22	1.74E-08	71
21370	H1	L2.23	9.74E-09	73
21371	H1	L2.24	1.80E-08	73
21382	H1	L2.35	5.44E-09	73
21392	H1	L2.45	5.09E-09	72
21394	H1	L2.47	3.40E-09	73.5
21395	H1	L2.48	8.27E-09	72
21401	H1	L2.50	2.30E-09	73.5
21402	H1	L2.51	8.47E-09	73
21409	H1	L2.58	3.11E-09	77

图55A

Fab XENP	VH	VL	人LAG-3 Fab K_D (M)	Fab T_m (°C)
21411	H1	L2.60	1.46E-08	75
21421	H1	L2.70	6.58E-09	74
21423	H1	L2.72	1.15E-08	73
21424	H1	L2.73	7.68E-09	74
21426	H1	L2.75	1.61E-08	74.5
21609	H1.64	L2.35	1.16E-08	
21610	H1.64	L2.47	3.30E-09	
21611	H1.64	L2.50	2.34E-09	
21612	H1.70	L2.35	1.30E-08	
21613	H1.70	L2.47	6.29E-09	
21614	H1.70	L2.50	6.48E-09	
21615	H1.105	L2.35	5.82E-09	
21616	H1.105	L2.47	3.62E-09	
21617	H1.105	L2.50	2.02E-09	
21705	H.117	L2	2.90E-09	
21706	H.118	L2	4.06E-09	
21707	H.119	L2	7.72E-09	
21708	H.120	L2	8.48E-09	
21709	H.121	L2	3.19E-09	
21710	H.122	L2	4.54E-09	
21711	H.123	L2	7.63E-09	
21712	H.124	L2	1.08E-08	
21713	H.126	L2	1.63E-09	
21714	H.128	L2	5.70E-09	
21715	H.129	L2	1.16E-08	
21716	H.130	L2	9.43E-09	
21717	H.131	L2	1.63E-08	
21718	H.132	L2	2.12E-08	
21719	H.133	L2	1.60E-08	
21720	H.134	L2	2.45E-08	
21721	H.135	L2	5.71E-09	
21722	H.136	L2	3.03E-09	
21723	H.137	L2	7.26E-09	
21724	H.138	L2	8.29E-09	
21725	H.139	L2	7.00E-09	
21726	H.140	L2	1.03E-08	
21727	H.141	L2	4.74E-09	
21728	H.142	L2	1.61E-06	
21729	H.143	L2	4.70E-09	

图55B

Fab XENP	VH	VL	人LAG-3 Fab K_D (M)	Fab T_m (°C)
21730	H.144	L2	1.64E-09	
21731	H.145	L2	5.19E-09	
21732	H.146	L2	2.95E-09	
21794	H1.125	L2	8.13E-10	
21795	H1.127	L2	2.36E-09	
21796	H1	L2.102	1.21E-08	
21801	H1	L2.103	3.22E-08	
21802	H1	L2.104	2.09E-07	
21803	H1	L2.105	8.35E-08	
21804	H1	L2.106	1.43E-07	
21805	H1	L2.107		
21806	H1	L2.108		
21807	H1	L2.109	1.68E-08	
21808	H1	L2.110		
21809	H1	L2.111	2.24E-09	
21810	H1	L2.112	3.26E-09	
21811	H1	L2.113	1.29E-09	
21812	H1	L2.114	2.79E-09	
21813	H1	L2.115	6.06E-09	
21814	H1	L2.116	1.58E-09	
21815	H1	L2.117		
21816	H1	L2.118	1.13E-08	
21817	H1	L2.119	3.99E-09	
21818	H1	L2.120	2.90E-09	
21819	H1	L2.121	1.12E-08	
21912	H1.117	L2.50		
21913	H1.125	L2.50	1.75E-10	
21914	H1.126	L2.50	2.75E-10	
21915	H1.144	L2.50	4.63E-10	
21916	H1.127	L2.50	5.28E-10	
21917	H1.136	L2.50	5.12E-10	
21918	H1.154	L2.50	9.22E-10	
21919	H1.141	L2.50	1.71E-09	
21920	H1.117	L2.113	7.96E-10	
21921	H1.125	L2.113	1.38E-10	
21922	H1.126	L2.113	3.96E-10	
21923	H1.144	L2.113	2.84E-10	
21924	H1.127	L2.113	5.20E-10	
21925	H1.136	L2.113	3.08E-10	

图55C

Fab XENP	VH	VL	人LAG-3 Fab K_D (M)	Fab T_m (°C)
21926	H1.154	L2.113	9.08E-10	
21927	H1.141	L2.113	5.63E-10	
21928	H1.117	L2.116	3.23E-10	
21929	H1.125	L2.116	3.64E-10	
21930	H1.126	L2.116	9.37E-10	
21931	H1.144	L2.116	9.74E-10	
21932	H1.127	L2.116	1.66E-09	
21933	H1.136	L2.116	1.31E-09	
21934	H1.154	L2.116	3.58E-09	
21935	H1.141	L2.116	2.16E-09	
21915	H1.144	L2.50	7.66E-10	
21923	H1.144	L2.113	7.31E-10	
22138	H1.158	L2.126	1.58E-07	
22139	H1.159	L2.126	2.12E-07	
22140	H1.160	L2.126	1.70E-07	
22141	H1.161	L2.126	8.77E-08	
22142	H1.162	L2.126	1.20E-07	
22143	H1.163	L2.126	4.62E-07	
22144	H1.164	L2.126	3.46E-07	
22145	H1.165	L2.126	2.01E-07	
22146	H1.166	L2.126	2.59E-07	
22147	H1.167	L2.126	4.12E-08	
22148	H1.168	L2.126	3.43E-07	
22149	H1.169	L2.126	3.24E-07	
22453	H1.144	L2.131	2.00E-09	
22454	H1.167	L2.128	3.00E-07	
22455	H1.167	L2.129	1.68E-06	
22456	H1.167	L2.130	2.64E-07	
22457	H1.167	L2.131	3.76E-07	
22461	H1.125	L2.131	1.67E-09	
22450	H1.144	L2.128	2.55E-09	67
22451	H1.144	L2.129	4.26E-09	67.5
22452	H1.144	L2.130	4.95E-09	68.5
22458	H1.125	L2.128	2.24E-09	65
22459	H1.125	L2.129	5.64E-09	67
22460	H1.125	L2.130	3.21E-09	67
22570	H1.144	L2.132	2.44E-09	66.5
22571	H1.144	L2.133	4.71E-09	67
22572	H1.144	L2.134	5.54E-09	69

图55D

Fab XENP	VH	VL	人LAG-3 Fab K_D (M)	Fab T_m (°C)
22574	H1.125	L2.132	1.98E-09	65.5
22575	H1.125	L2.133	3.19E-09	65
22578	H1.141	L2.132	2.93E-12	66.5
22579	H1.141	L2.133	9.21E-09	68
22580	H1.141	L2.134	4.12E-09	69.5
22609	H1.144	L2.136	4.60E-09	67.5
22610	H1.125	L2.136	3.81E-09	66
22611	H1.141	L2.136	4.30E-09	68
22612	H1.144	L2.137	2.03E-08	
22613	H1.125	L2.137	5.09E-09	66
22614	H1.141	L2.137	7.35E-09	68.5
22576	H1.125	L2.134	3.46E-09	66.5
22615	H1.144	L2.126	2.69E-09	
22616	H1.144	L2.91	1.26E-08	74
22617	H1.144	L2.93	8.31E-09	72.5
22618	H1.144	L2.122	9.12E-09	74.5
22619	H1.144	L2.124	1.03E-08	73.5
22620	H1.125	L2.126	1.20E-09	64
22621	H1.125	L2.91	5.96E-09	73.5
22622	H1.125	L2.93	5.81E-09	72
22623	H1.125	L2.122	6.81E-09	73
22624	H1.125	L2.124	7.00E-09	73
22652	H1.144	L2.138	1.32E-09	74
22653	H1.144	L2.139	2.41E-09	
22654	H1.144	L2.140	2.89E-09	
22655	H1.144	L2.141	3.65E-09	
22656	H1.144	L2.142	1.29E-09	74
22657	H1.144	L2.143	3.33E-09	
22658	H1.144	L2.144	3.04E-09	
22659	H1.144	L2.145	3.43E-09	
22660	H1.125	L2.138	9.29E-10	73.5
22661	H1.125	L2.139	2.34E-09	
22662	H1.125	L2.140	2.24E-09	73.5
22663	H1.125	L2.141	2.41E-09	73
22664	H1.125	L2.142	3.62E-10	73.5
22665	H1.125	L2.143	2.74E-09	
22666	H1.125	L2.144	2.58E-09	
22667	H1.125	L2.145	2.70E-09	

图55E

XENP	克隆	VH	VL	KD (M)	kdls(1/s)	DSF T _M (°C)
20844	7G8	H3	L1	4.84E-08	3.51E-02	59.0
20911	7G8	H3.1	L1	2.13E-08	6.47E-03	
20912	7G8	H3.2	L1	5.51E-08	1.22E-02	
20913	7G8	H3.3	L1	2.16E-08	7.75E-03	
20914	7G8	H3.4	L1	1.64E-08	7.57E-03	
20915	7G8	H3.5	L1	8.38E-08	3.72E-03	
20916	7G8	H3.6	L1	6.50E-08	1.90E-02	
20917	7G8	H3.8	L1	1.62E-08	8.26E-03	
20918	7G8	H3	L1.1	8.19E-08	2.45E-02	
20919	7G8	H3	L1.2	弱	弱	
20920	7G8	H3	L1.3	弱	弱	
20921	7G8	H3	L1.4	8.16E-08	2.17E-02	
20922	7G8	H3	L1.5	弱	弱	
20923	7G8	H3	L1.6	4.42E-06	3.89E-02	
20924	7G8	H3	L1.8	6.43E-08	1.41E-02	
20925	7G8	H3.1	L1.1	4.31E-08	5.78E-03	
20926	7G8	H3.1	L1.5	5.26E-08	5.85E-03	
20927	7G8	H3.5	L1.1	1.61E-06	7.44E-03	
20928	7G8	H3.5	L1.5	7.31E-08	6.77E-03	
20929	7G8	H3	L0	4.17E-08	3.08E-02	
20930	7G8	H0	L0	6.59E-08	6.10E-02	
20931	7G8	H1	L0	1.09E-07	3.18E-02	
20932	7G8	H2	L0	8.33E-08	6.28E-02	
20933	7G8	H0.1	L0	2.44E-08	2.70E-02	
20934	7G8	H0.2	L0	2.11E-08	2.05E-02	
20935	7G8	H0.3	L0	3.07E-08	1.43E-02	
20936	7G8	H0.4	L0	3.55E-08	3.29E-02	
20937	7G8	H0.5	L0	5.33E-08	3.46E-02	
20938	7G8	H0.6	L0	1.86E-08	2.48E-02	
20939	7G8	H0.7	L0	7.57E-08	9.20E-02	
20940	7G8	H0.8	L0	2.24E-08	3.65E-02	
20941	7G8	H0.9	L0	7.91E-08	1.16E-01	
20942	7G8	H0.10	L0	1.08E-07	1.05E-01	
20943	7G8	H0.11	L0	8.29E-08	1.15E-01	
20944	7G8	H0.12	L0	1.19E-06	3.47E-01	
20945	7G8	H0.13	L0	9.61E-08	1.03E-01	
20946	7G8	H0.14	L0	1.85E-07	2.53E-01	
20947	7G8	H0.15	L0	7.88E-08	1.99E-01	

图56A

XENP	克隆	VH	VL	KD (M)	kdls(1/s)	DSF T _M (°C)
20948	7G8	H0.17	L0	4.14E-08	5.74E-02	
20949	7G8	H0.18	L0	3.74E-08	4.05E-02	
20950	7G8	H0.19	L0	3.85E-08	3.85E-02	
20951	7G8	H0.20	L0	7.09E-08	9.98E-02	
20952	7G8	H0.21	L0	6.30E-08	3.75E-02	
20953	7G8	H0.22	L0	9.92E-08	5.17E-02	
20954	7G8	H0.23	L0	4.49E-08	2.71E-02	
20955	7G8	H0.24	L0	弱	弱	
20956	7G8	H0.25	L0	9.22E-08	6.99E-02	
20957	7G8	H0.26	L0	1.09E-07	1.18E-01	
20958	7G8	H0.27	L0	3.45E-08	5.35E-02	
20959	7G8	H0.28	L0	5.30E-08	5.63E-02	
20960	7G8	H0.29	L0	6.01E-08	4.73E-02	
20961	7G8	H0.30	L0	2.31E-08	2.00E-02	
20962	7G8	H0.31	L0	1.05E-08	1.29E-02	
20963	7G8	H0.32	L0	6.80E-08	5.77E-02	
20964	7G8	H0.33	L0	6.46E-08	1.61E-02	
20965	7G8	H0.34	L0	3.29E-08	1.77E-02	
20966	7G8	H0.35	L0	8.17E-08	1.70E-02	
20967	7G8	H0.36	L0	3.61E-07	1.49E-01	
20968	7G8	H0.37	L0	8.90E-08	1.33E-01	
20969	7G8	H0.38	L0	1.00E-07	1.66E-01	
20970	7G8	H0.39	L0	1.19E-07	1.62E-01	
20971	7G8	H0.40	L0	2.45E-07	1.49E-01	
20972	7G8	H0.41	L0	6.40E-08	1.48E-01	
20973	7G8	H0.42	L0	5.41E-08	1.17E-01	
20974	7G8	H0.43	L0	1.30E-06	4.23E-01	
20975	7G8	H0.44	L0	5.03E-07	2.47E-01	
20976	7G8	H0.45	L0	3.41E-08	5.79E-02	
20977	7G8	H0.46	L0	2.45E-08	4.35E-02	
20978	7G8	H0.47	L0	3.94E-08	3.73E-02	
20979	7G8	H0.48	L0	3.16E-08	3.07E-02	
20980	7G8	H0.49	L0	2.89E-08	2.66E-02	
20981	7G8	H0.50	L0	2.70E-08	2.71E-02	
20982	7G8	H0.51	L0	3.12E-08	3.57E-02	
20983	7G8	H0.52	L0	3.38E-08	2.95E-02	
20984	7G8	H0.53	L0	3.05E-08	2.31E-02	
20985	7G8	H0.54	L0	6.81E-08	5.02E-02	

图56B

XENP	克隆	VH	VL	KD (M)	kdis(1/s)	DSF T _M (°C)
20986	7G8	H0.55	L0	4.72E-08	4.53E-02	
20987	7G8	H0.56	L0	1.37E-07	1.06E-01	
20988	7G8	H0.57	L0	5.69E-08	4.86E-02	
20989	7G8	H0.58	L0	6.58E-08	6.12E-02	
20990	7G8	H0.59	L0	3.52E-07	8.60E-02	
20991	7G8	H0.60	L0	7.59E-08	6.07E-02	
20992	7G8	H0.61	L0	1.86E-06	2.22E-01	
20993	7G8	H0.62	L0	3.12E-08	3.17E-02	
20994	7G8	H0.63	L0	2.50E-07	1.67E-01	
20995	7G8	H0.64	L0	9.55E-08	6.47E-02	
20996	7G8	H0.65	L0	1.53E-06	2.43E-01	
21001	7G8	H0.66	L0	3.19E-06	1.47E-01	
21002	7G8	H0.67	L0	1.12E-06	3.70E-01	
21003	7G8	H0.68	L0	7.10E-06	3.57E-01	
21004	7G8	H0.69	L0	1.34E-07	1.39E-01	
21005	7G8	H0.70	L0	1.45E-07	8.55E-02	
21006	7G8	H0.71	L0	2.35E-08	2.46E-02	
21007	7G8	H0.72	L0	4.36E-08	4.93E-02	
21008	7G8	H0.73	L0	1.57E-07	8.04E-02	
21009	7G8	H0.74	L0	6.39E-08	5.12E-02	
21010	7G8	H0.75	L0	9.21E-08	8.34E-02	
21011	7G8	H0.76	L0	5.84E-08	8.50E-02	
21012	7G8	H0.77	L0	1.07E-07	6.84E-02	
21013	7G8	H0.78	L0	1.56E-07	9.33E-02	
21014	7G8	H0.79	L0	5.11E-08	5.02E-02	
21015	7G8	H0.80	L0	1.11E-07	6.42E-02	
21016	7G8	H0.81	L0	6.41E-08	7.22E-02	
21017	7G8	H0.82	L0	1.08E-07	1.12E-01	
21018	7G8	H0.83	L0	3.88E-08	5.32E-02	
21019	7G8	H0.84	L0	1.04E-07	1.06E-01	
21020	7G8	H0.85	L0	5.13E-08	5.55E-02	
21021	7G8	H0.86	L0	8.11E-08	8.50E-02	
21022	7G8	H0.87	L0	1.61E-07	1.14E-01	
21023	7G8	H0.88	L0	8.22E-08	9.43E-02	
21024	7G8	H0.89	L0	6.36E-08	9.23E-02	
21025	7G8	H0.90	L0	6.07E-08	6.79E-02	
21026	7G8	H0.91	L0	8.91E-08	9.16E-02	
21027	7G8	H0.92	L0	7.61E-08	7.27E-02	

图56C

XENP	克隆	VH	VL	KD (M)	kdls(1/s)	DSF T _M (°C)
21028	7G8	H0.93	L0	6.69E-08	6.88E-02	
21029	7G8	H0.94	L0	9.67E-08	2.04E-01	
21030	7G8	H0.95	L0	3.11E-08	3.15E-02	
21031	7G8	H0.96	L0	3.74E-08	3.89E-02	
21032	7G8	H0.97	L0	4.45E-08	3.44E-02	
21033	7G8	H0.98	L0	3.64E-08	2.58E-02	
21034	7G8	H0.99	L0	2.23E-08	1.77E-02	
21035	7G8	H0.100	L0	3.37E-08	2.26E-02	
21036	7G8	H0.101	L0	2.27E-08	1.79E-02	
21037	7G8	H0.102	L0	1.64E-08	1.84E-02	
21038	7G8	H0.103	L0	1.09E-08	1.03E-02	
21039	7G8	H0.104	L0	7.96E-08	4.16E-01	
21040	7G8	H0.105	L0	3.54E-08	2.87E-02	
21041	7G8	H0.106	L0	5.76E-08	3.36E-01	
21042	7G8	H0.107	L0	5.06E-08	3.82E-02	
21043	7G8	H0.110	L0	1.16E-07	4.05E-02	
21044	7G8	H0.111	L0	2.33E-07	2.48E-01	
21045	7G8	H0.112	L0	4.31E-07	5.82E-01	
21046	7G8	H0.114	L0	4.20E-08	7.45E-02	
21047	7G8	H0.115	L0	6.98E-08	7.11E-02	
21048	7G8	H0.116	L0	3.52E-08	3.42E-02	
21049	7G8	H0.117	L0	8.34E-07	2.83E-01	
21050	7G8	H0.118	L0	1.50E-07	1.23E-01	
21051	7G8	H0.119	L0	2.71E-08	4.85E-02	
21052	7G8	H0.120	L0	8.60E-08	7.91E-02	
21053	7G8	H0.121	L0	1.92E-07	3.86E-01	
21054	7G8	H0.122	L0	4.63E-08	2.90E-02	
21055	7G8	H0.123	L0	6.45E-07	1.88E-01	
21056	7G8	H0.124	L0	2.15E-07	2.02E-01	
21057	7G8	H0.125	L0	9.51E-07	1.77E-01	
21058	7G8	H0.126	L0	3.12E-07	1.44E-01	
21059	7G8	H0.127	L0	1.35E-07	1.43E-01	
21060	7G8	H0.128	L0	1.34E-07	1.68E-01	
21061	7G8	H0.129	L0	1.17E-08	1.53E-02	
21062	7G8	H0.130	L0	1.24E-07	9.49E-02	
21063	7G8	H0.131	L0	1.44E-07	6.58E-01	
21064	7G8	H0.132	L0	3.56E-05	2.33E-02	
21065	7G8	H0.134	L0	<1.0E-12	<1.0E-07	

图56D

XENP	克隆	VH	VL	KD (M)	kdls(1/s)	DSF T _M (°C)
21066	7G8	H0.141	L0	1.11E-07	2.25E-01	
21067	7G8	H0.142	L0	6.72E-08	8.34E-02	
21068	7G8	H0.143	L0	2.35E-07	2.77E-01	
21069	7G8	H0.145	L0	6.09E-08	6.17E-02	
21070	7G8	H0.146	L0	5.40E-08	9.04E-02	
21071	7G8	H0.147	L0	5.53E-07	3.88E-01	
21072	7G8	H0.148	L0	2.10E-07	1.79E-01	
21074	7G8	H0	L0.1	9.61E-08	1.30E-01	
21075	7G8	H0	L0.2	8.81E-08	9.74E-02	
21076	7G8	H0	L0.3	1.86E-07	2.70E-01	
21077	7G8	H0	L0.4	1.09E-07	1.76E-01	
21078	7G8	H0	L0.5	4.48E-08	4.49E-01	
21079	7G8	H0	L0.6	1.28E-07	1.39E-01	
21080	7G8	H0	L0.7	5.79E-06	7.16E-02	
21081	7G8	H0	L0.8	1.16E-07	4.00E-01	
21082	7G8	H0	L0.9	8.20E-06	1.43E-01	
21083	7G8	H0	L0.10	6.42E-08	1.08E-01	
21084	7G8	H0	L0.11	2.70E-08	2.64E-02	
21085	7G8	H0	L0.12	6.51E-08	7.19E-02	
21086	7G8	H0	L0.13	7.75E-08	1.04E-01	
21087	7G8	H0	L0.14	1.19E-07	2.90E-01	
21088	7G8	H0	L0.15	1.57E-07	3.83E-01	
21089	7G8	H0	L0.16	0.00E+00	<1.0E-07	
21090	7G8	H0	L0.17	2.80E-07	3.17E-01	
21091	7G8	H0	L0.18	6.26E-05	2.72E+01	
21092	7G8	H0	L0.19	1.27E-06	2.47E-01	
21093	7G8	H0	L0.20	5.16E-08	7.64E-02	
21094	7G8	H0	L0.21	5.43E-08	8.04E-02	
21095	7G8	H0	L0.22	1.06E-07	1.33E-01	
21096	7G8	H0	L0.23	5.58E-08	1.71E-01	
21101	7G8	H0	L0.24	4.43E-08	1.79E-01	
21102	7G8	H0	L0.25	6.10E-08	1.51E-01	
21103	7G8	H0	L0.26	7.99E-08	1.48E-01	
21104	7G8	H0	L0.27	5.62E-08	1.35E-01	
21105	7G8	H0	L0.28	7.77E-08	9.49E-02	
21106	7G8	H0	L0.29	7.83E-08	5.16E-02	
21107	7G8	H0	L0.30	5.72E-08	4.66E-02	
21108	7G8	H0	L0.31	1.05E-07	4.67E-02	

图56E

XENP	克隆	VH	VL	KD (M)	kdis(1/s)	DSF T_M (°C)
21109	7G8	H0	L0.32	4.68E-08	4.50E-02	
21110	7G8	H0	L0.33	6.87E+05	4.23E+08	
21111	7G8	H0	L0.34	2.75E-08	2.68E-02	
21112	7G8	H0	L0.35	9.77E-08	8.71E-02	
21113	7G8	H0	L0.36	1.20E-07	6.11E-02	
21114	7G8	H0	L0.37	3.00E-08	3.15E-02	
21115	7G8	H0	L0.38	1.12E-07	7.85E-02	
21116	7G8	H0	L0.39	3.17E-08	5.71E-02	
21117	7G8	H0	L0.40	2.27E-07	7.01E-01	
21118	7G8	H0	L0.41	8.48E-08	1.31E-01	
21119	7G8	H0	L0.42	2.50E-10	4.30E-03	
21120	7G8	H0	L0.43	2.39E-07	2.12E-01	
21121	7G8	H0	L0.44	2.46E-06	1.14E-01	
21122	7G8	H0	L0.45	1.75E-07	5.49E-01	
21123	7G8	H0	L0.46	2.60E-06	3.50E-01	
21124	7G8	H0	L0.47	6.27E-08	5.49E-02	
21125	7G8	H0	L0.48	3.15E-08	3.71E-02	
21126	7G8	H0	L0.49	5.22E-08	5.09E-02	
21127	7G8	H0	L0.50	4.37E-08	3.69E-02	
21128	7G8	H0	L0.51	2.23E-09	1.89E-02	
21129	7G8	H0	L0.52	5.88E-08	9.73E-02	
21130	7G8	H0	L0.53	3.55E-08	3.99E-02	
21131	7G8	H0	L0.54	8.64E-08	1.08E-01	
21132	7G8	H0	L0.55	弱	弱	
21133	7G8	H0	L0.56	6.02E-07	2.78E-01	
21134	7G8	H0	L0.57	3.63E-08	3.47E-02	
21135	7G8	H0	L0.58	1.65E-07	9.58E-02	
21136	7G8	H0	L0.59	2.27E-08	2.30E-02	
21137	7G8	H0	L0.60	2.65E-08	3.61E-02	
21138	7G8	H0	L0.61	9.30E-08	1.32E-01	
21139	7G8	H0	L0.62	2.91E-08	3.44E-02	
21140	7G8	H0	L0.63	3.40E-08	3.40E-02	
21141	7G8	H0	L0.64	3.69E-08	2.72E-02	
21142	7G8	H0	L0.65	3.09E-08	4.10E-02	
21143	7G8	H0	L0.66	7.34E-08	1.20E-01	
21144	7G8	H0	L0.67	1.26E-07	6.24E-02	
21145	7G8	H0	L0.68	8.99E-08	3.43E-01	
21146	7G8	H0	L0.69	5.94E-08	2.05E-01	

图56F

XENP	克隆	VH	VL	KD (M)	kdis(1/s)	DSF T _M (°C)
21147	7G8	HO	L0.70	4.22E-08	8.54E-02	
21148	7G8	HO	L0.71	1.79E-07	2.51E-01	
21149	7G8	HO	L0.72	1.23E-07	2.35E-01	
21150	7G8	HO	L0.73	7.55E-08	1.58E-01	
21151	7G8	HO	L0.74	1.64E-07	1.84E-01	
21152	7G8	HO	L0.75	9.32E-08	1.42E-01	
21153	7G8	HO	L0.76	弱	弱	
21154	7G8	HO	L0.77	1.87E-07	8.91E-02	
21155	7G8	HO	L0.78	2.94E-07	4.70E-02	
21156	7G8	HO	L0.79	弱	弱	
21157	7G8	HO	L0.80	弱	弱	
21158	7G8	HO	L0.81	弱	弱	
21159	7G8	HO	L0.82	6.04E-07	4.40E-01	
21160	7G8	HO	L0.83	6.50E-08	3.50E-02	
21161	7G8	HO	L0.84	3.52E-06	1.08E-01	
21162	7G8	HO	L0.85	9.89E-08	4.37E-02	
21163	7G8	HO	L0.86	4.90E-08	4.85E-02	
21164	7G8	HO	L0.87	1.25E-07	1.41E-01	
21165	7G8	HO	L0.88	1.90E-07	1.87E-01	
21166	7G8	HO	L0.89	3.52E-06	6.60E-02	
21167	7G8	HO	L0.90	2.54E-08	2.01E-02	
21168	7G8	HO	L0.91	1.12E-06	1.99E-01	
21169	7G8	HO	L0.92	1.20E-07	7.65E-02	
21170	7G8	HO	L0.93	4.81E-08	5.41E-02	
21171	7G8	HO	L0.94	6.64E-07	1.82E-01	
21172	7G8	HO	L0.95	7.61E-08	8.11E-02	
21173	7G8	HO	L0.96	7.95E-07	8.67E-02	
21174	7G8	HO	L0.97	6.75E-08	6.60E-02	
21175	7G8	HO	L0.98	6.19E-08	4.49E-02	
21176	7G8	HO	L0.99	3.97E-08	4.14E-02	
21177	7G8	HO	L0.100	8.53E-08	5.75E-02	
21178	7G8	HO	L0.101	3.33E-07	1.95E+00	
21179	7G8	HO	L0.102	1.04E-07	2.79E-01	
21180	7G8	HO	L0.103	1.50E-07	2.14E+01	
21181	7G8	HO	L0.104	6.11E+16	2.82E+26	
21182	7G8	HO	L0.105	弱	弱	
21183	7G8	HO	L0.106	3.27E-06	7.92E-02	
21184	7G8	HO	L0.107	弱	弱	

图56G

XENP	克隆	VH	VL	KD (M)	kdls(1/s)	DSF T _M (°C)
21558	7G8	H3.1	L0.59	7.44E-09	4.35E-03	54.5
21559	7G8	H3.4	L0.59	6.72E-09	4.71E-03	
21560	7G8	H0.129	L0.59	7.05E-09	6.94E-03	
21561	7G8	H0.31	L0.59	6.39E-09	6.75E-03	
21562	7G8	H0.103	L0.59	3.09E-08	5.24E-03	
21563	7G8	H0.71	L0.59	7.04E-09	7.48E-03	
21564	7G8	H3.1	L0	6.73E-09	6.58E-03	
21565	7G8	H3.4	L0	8.47E-09	8.54E-03	
21566	7G8	H3.1	L0.11	4.56E-08	3.76E-02	
21567	7G8	H3.4	L0.11	5.84E-08	4.23E-02	
21568	7G8	H0.129	L0.11	1.26E-07	8.67E-02	
21569	7G8	H3.1	L0.34	1.05E-08	7.33E-03	
21570	7G8	H3.4	L0.34	1.13E-08	9.28E-03	
21571	7G8	H0.129	L0.34	1.33E-08	1.29E-02	
21662	7G8	H3.18	L1	3.04E-09	3.04E-03	
21663	7G8	H3.15	L1	3.50E-09	2.64E-03	
21664	7G8	H3.19	L1	7.41E-09	7.68E-03	
21665	7G8	H3.17	L1	4.07E-09	3.47E-03	
21666	7G8	H3.16	L1	1.63E-08	4.73E-03	
21667	7G8	H3.21	L1	8.57E-09	2.33E-03	
21668	7G8	H3.22	L1			
21669	7G8	H3.23	L1	4.10E-09	3.88E-03	
21670	7G8	H3.18	L1.11	2.88E-09	2.39E-03	
21671	7G8	H3.15	L1.11	2.76E-09	2.48E-03	
21672	7G8	H3.19	L1.11	4.23E-09	4.54E-03	
21673	7G8	H3.17	L1.11	3.75E-09	2.73E-03	
21674	7G8	H3.16	L1.11	1.16E-08	3.38E-03	
21675	7G8	H3.21	L1.11	9.61E-09	2.05E-03	
21676	7G8	H3.22	L1.11			
21677	7G8	H3.23	L1.11	2.83E-09	2.29E-03	
21678	7G8	H3.18	L1.13	6.65E-09	5.02E-03	
21679	7G8	H3.15	L1.13	8.37E-09	4.87E-03	
21680	7G8	H3.19	L1.13	1.70E-08	9.72E-03	
21681	7G8	H3.17	L1.13	1.19E-08	7.68E-03	
21682	7G8	H3.16	L1.13	2.95E-08	1.38E-02	
21683	7G8	H3.21	L1.13	1.10E-08	5.13E-03	
21684	7G8	H3.22	L1.13			
21685	7G8	H3.23	L1.13	1.02E-08	7.76E-03	

图56H

XENP	克隆	VH	VL	KD (M)	kdls(1/s)	DSF T_M (°C)
21686	7G8	H3.18	L1.15	9.47E-09	7.62E-03	
21687	7G8	H3.15	L1.15	2.04E-08	7.79E-03	
21688	7G8	H3.19	L1.15	1.75E-08	1.04E-02	
21689	7G8	H3.17	L1.15	2.19E-08	1.21E-02	
21690	7G8	H3.16	L1.15	9.19E-08	9.61E-03	
21691	7G8	H3.21	L1.15	2.34E-08	8.44E-03	
21692	7G8	H3.22	L1.15	2.12E-08	1.31E-02	
21693	7G8	H3.23	L1.15	8.80E-09	6.46E-03	
21694	7G8	H3	L1.9	3.14E-07	1.16E-01	
21695	7G8	H3	L1.10	8.99E-08	3.06E-02	
21696	7G8	H3	L1.11	4.10E-08	1.48E-02	
21701	7G8	H3	L1.12	4.12E-06	2.07E-01	
21702	7G8	H3	L1.13	2.91E-07	8.61E-02	
21703	7G8	H3	L1.14	1.34E-07	2.39E-02	
21704	7G8	H3	L1.15	1.08E-06	3.49E-01	
21742	7G8	H3.11	L1.13	1.85E-08	1.25E-02	
21743	7G8	H3.4	L1.13	2.90E-08	2.04E-02	
21744	7G8	H3.1	L1.13	4.92E-08	1.89E-02	
21745	7G8	H3.11	L1.15	1.84E-08	1.33E-02	
21746	7G8	H3.4	L1.15	4.31E-08	1.71E-02	
21747	7G8	H3.1	L1.15	2.69E-07	0.0364	
21889	7G8	H3.27	L1	2.48E-09	3.04E-03	
21890	7G8	H3.27	L1.11	2.20E-09	1.81E-03	
21891	7G8	H3.27	L1.13	5.02E-09	5.79E-03	
21892	7G8	H3.28	L1	3.55E-09	4.33E-03	
21893	7G8	H3.28	L1.11	2.10E-09	2.67E-03	
21894	7G8	H3.28	L1.13	6.83E-09	7.95E-03	
22379	7G8	H3.29	L1.11			
22380	7G8	H3.30	L1.11	2.07E-09	2.11E-03	59.5
22381	7G8	H3.31	L1.11	6.94E-09	6.82E-03	
22382	7G8	H3.32	L1.11			
22383	7G8	H3.33	L1.11	6.00E-09	5.14E-03	62.5
22384	7G8	H3.34	L1.11	9.12E-09	2.43E-03	55.0
22385	7G8	H3.35	L1.11	3.18E-09	2.66E-03	56.0
22386	7G8	H3.36	L1.11			
22387	7G8	H3.37	L1.11			
22388	7G8	H3.38	L1.11			
22389	7G8	H3.39	L1.11	3.57E-09	2.54E-03	

图56I

XENP	克隆	VH	VL	KD (M)	kdis(1/s)	DSF T_M (°C)
22390	7G8	H3.40	L1.11			
22391	7G8	H3.41	L1.11			
22392	7G8	H3.42	L1.11			
22393	7G8	H3.43	L1.11			
22394	7G8	H3.44	L1.11			
22395	7G8	H3.45	L1.11			
22396	7G8	H3.46	L1.11			
22401	7G8	H3.47	L1.11	3.50E-09	2.68E-03	
22402	7G8	H3.48	L1.11			
22403	7G8	H3.49	L1.11	2.37E-09	2.85E-03	55.0
22404	7G8	H3.50	L1.11			
22405	7G8	H3.51	L1.11			
22406	7G8	H3.52	L1.11			
22407	7G8	H3.53	L1.11			
22408	7G8	H3.18	L1.16	2.83E-09	3.27E-03	58.0
22409	7G8	H3.18	L1.17	3.04E-09	3.25E-03	56.0
22410	7G8	H3.18	L1.18			
22411	7G8	H3.18	L1.19			
22412	7G8	H3.18	L1.20			
22413	7G8	H3.18	L1.21			
22414	7G8	H3.18	L1.22			
22415	7G8	H3.18	L1.23			
22416	7G8	H3.18	L1.24			
22417	7G8	H3.18	L1.25			
22418	7G8	H3.18	L1.26			
22419	7G8	H3.18	L1.27			
22420	7G8	H3.18	L1.28	2.36E-09	2.55E-03	
22421	7G8	H3.18	L1.29			
22422	7G8	H3.18	L1.30	1.95E-09	3.13E-03	63.0
22423	7G8	H3.18	L1.31	2.65E-09	2.84E-03	
22424	7G8	H3.18	L1.32	2.98E-09	2.95E-03	
22425	7G8	H3.18	L1.33			
22582	7G8	H3.30	L1.30	2.34E-09	2.03E-03	67.5
22583	7G8	H3.33	L1.30	4.51E-09	3.15E-03	68.5
22588	7G8	H3.54	L1.30	8.45E-10	2.18E-03	65.5
22589	7G8	H3.55	L1.30	2.86E-09	4.56E-03	67.5
22590	7G8	H3.56	L1.30	4.85E-08	1.55E-03	66.5
22591	7G8	H3.57	L1.30	3.24E-09	3.45E-03	68.5

图56J

XENP	克隆	VH	VL	KD (M)	kdis(1/s)	DSF T_M (°C)
22592	7G8	H3.58	L1.30	1.97E-09	2.31E-03	67.0
22593	7G8	H3.59	L1.30	3.54E-09	3.88E-03	69.0
22594	7G8	H3.30	L1.34	6.30E-10	1.48E-03	68.5
22595	7G8	H3.30	L1.36	2.86E-09	2.86E-03	69.5
22596	7G8	H3.33	L1.34	3.45E-09	3.02E-03	68.5
22601	7G8	H3.33	L1.36	1.09E-08	6.95E-03	70.0

图56K

XENP	Fab侧 (抗LAG-3)	scFv侧 (抗CTLA-4)	人LAG-3 KD (M)
22518	2A11_H1.144_L2.133	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	1.7E-09
22506	2A11_H1.144_L2.113	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	2.0E-10
22505	2A11_H1.125_L2.113	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	4.0E-10
22509	2A11_H1_L2.113	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	7.8E-10
20444	2A11_H1L2	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	3.5E-09
21859	2A11_H1_L2.47	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	3.5E-10
21860	2A11_H1_L2.50	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	1.2E-09
22507	2A11_H1.117_L2.116	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	6.2E-10
22508	2A11_H1.144_L2	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	1.2E-09
22510	2A11_H1_L2.25	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	2.3E-08
22630	2A11_H1.144_L2.137	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	9.4E-10

图57A

XENP	Fab侧 (抗LAG-3)	scFv侧 (抗CTLA-4)	人LAG-3 KD (nM)
20833	7G8_H3L1	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	9.1
21895	7G8_H3.18_L1	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	1.1
21896	7G8_H3.18_L1.11	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	1.0
21901	7G8_H3.15_L1.11	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	
21902	7G8_H3.23_L1.11	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	1.1
21903	7G8_H3.18_L1.13	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	2.2
21904	7G8_H3.28_L1	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	1.7
21905	7G8_H3.28_L1.11	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	1.1
21906	7G8_H3.28_L1.13	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	2.1
22555	7G8_H3.30_L1.11	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	1.2
22556	7G8_H3.33_L1.11	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	2.6
22557	7G8_H3.18_L1.30	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	0.7
22558	7G8_H3.30_L1.30	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	0.3
22559	7G8_H3.33_L1.30	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	1.6
22602	7G8_H3.30_L1.34	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	0.2
22603	7G8_H3.30_L1.36	[CTLA-4]_H3.23_L0.129	0.4

图57B

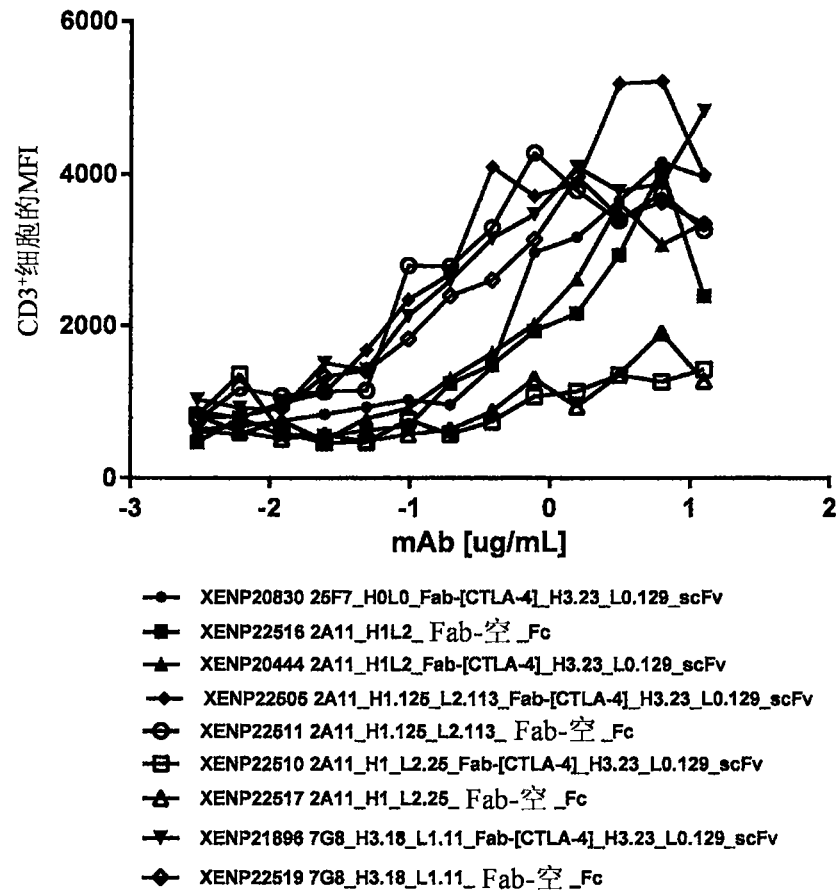


图58

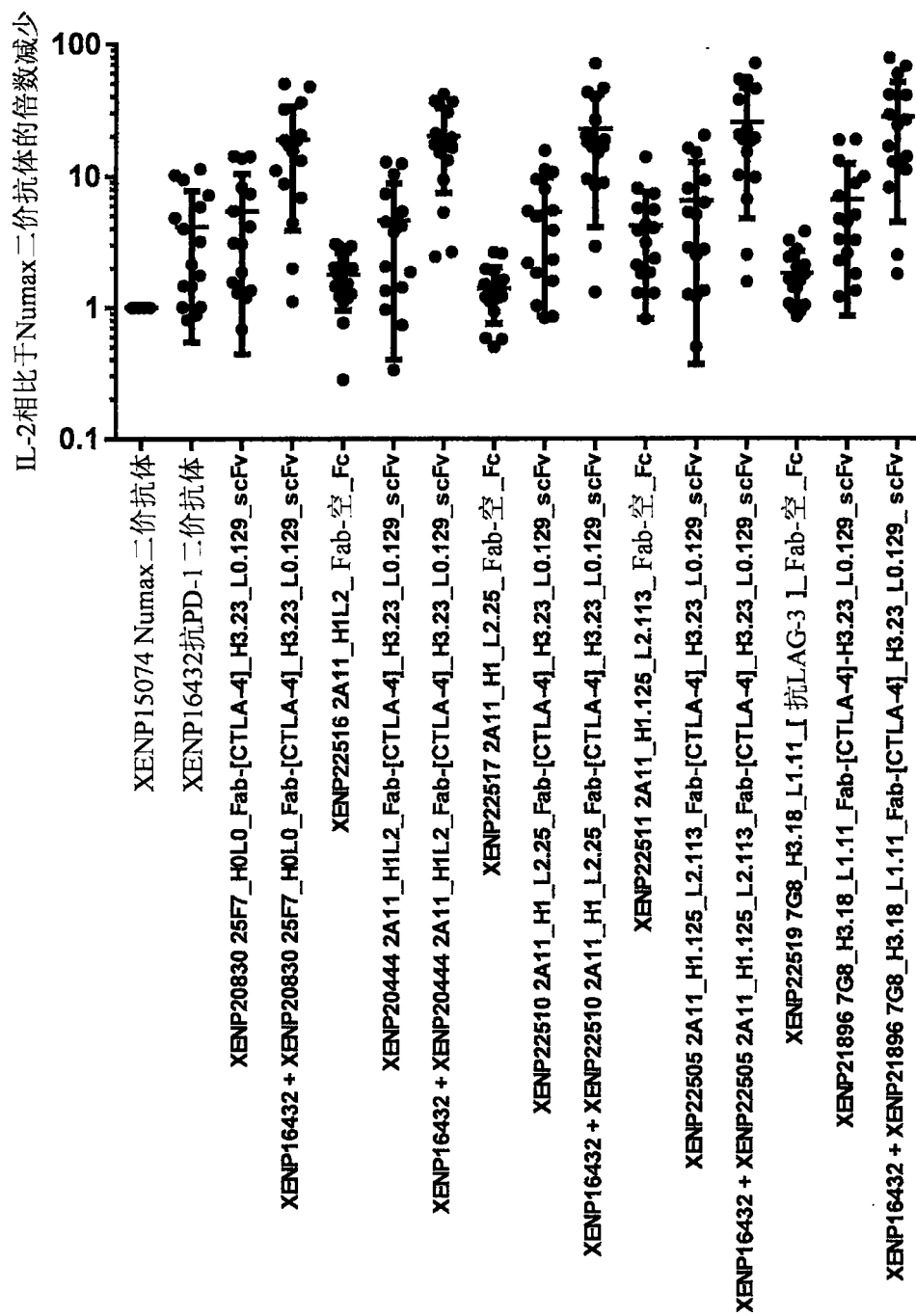


图59A

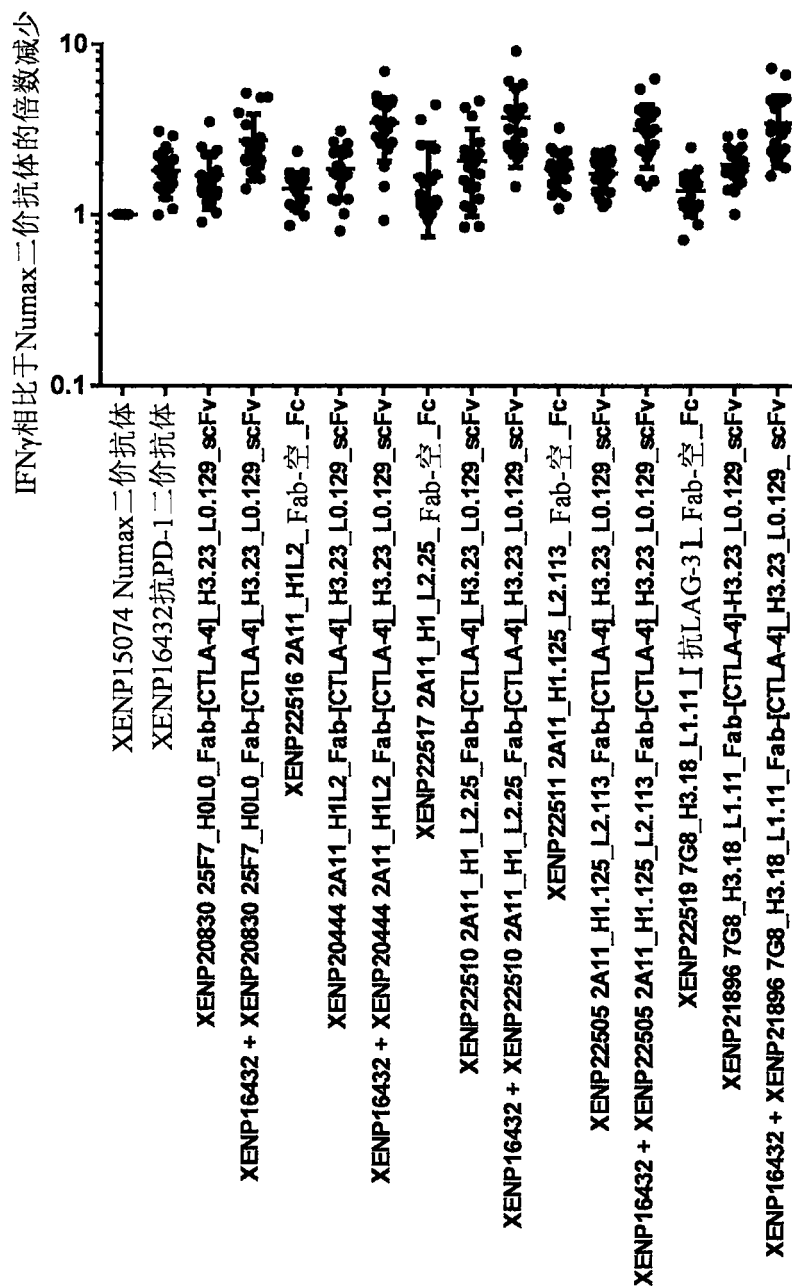


图59B

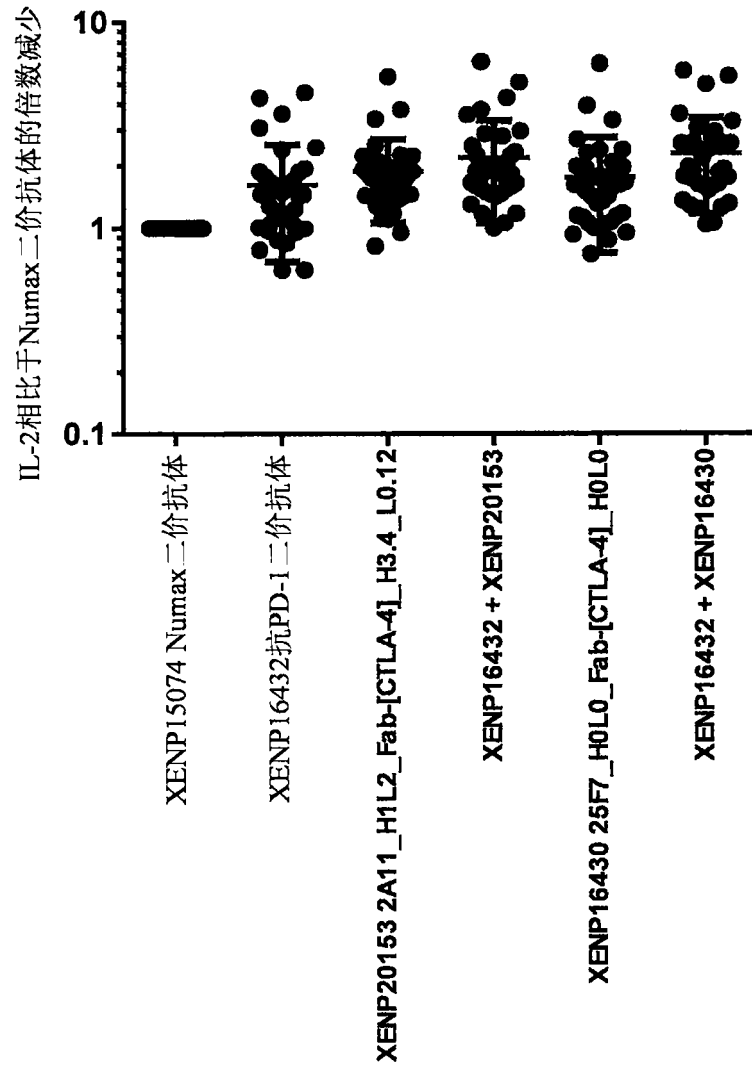


图60A

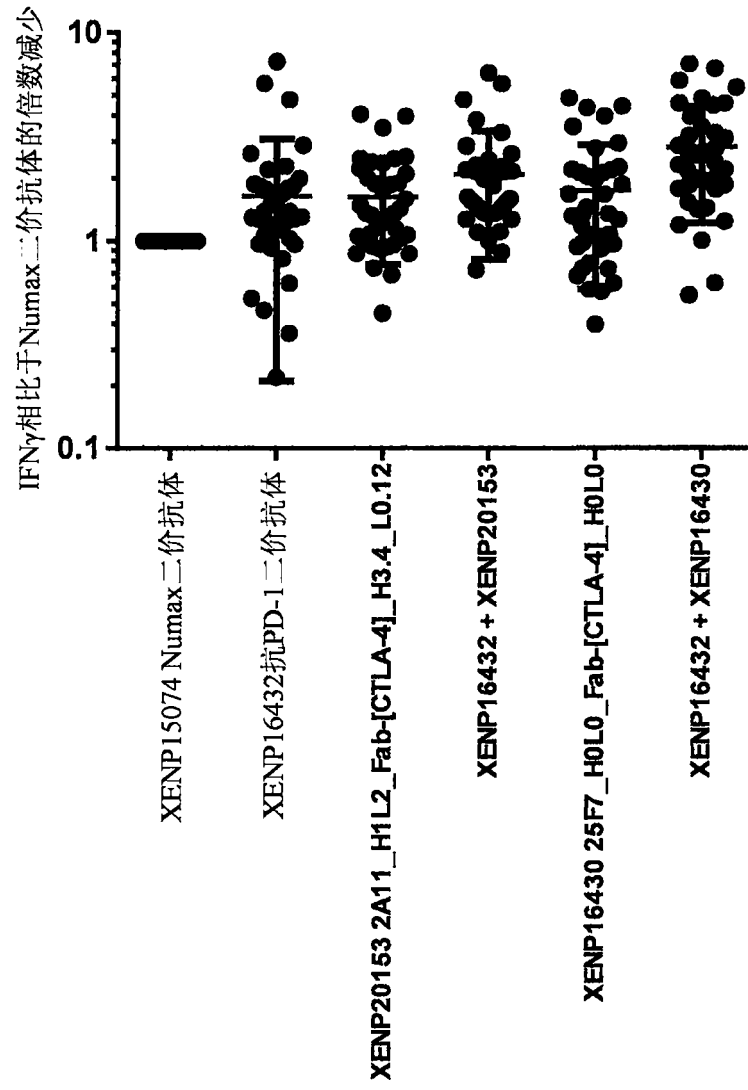


图60B

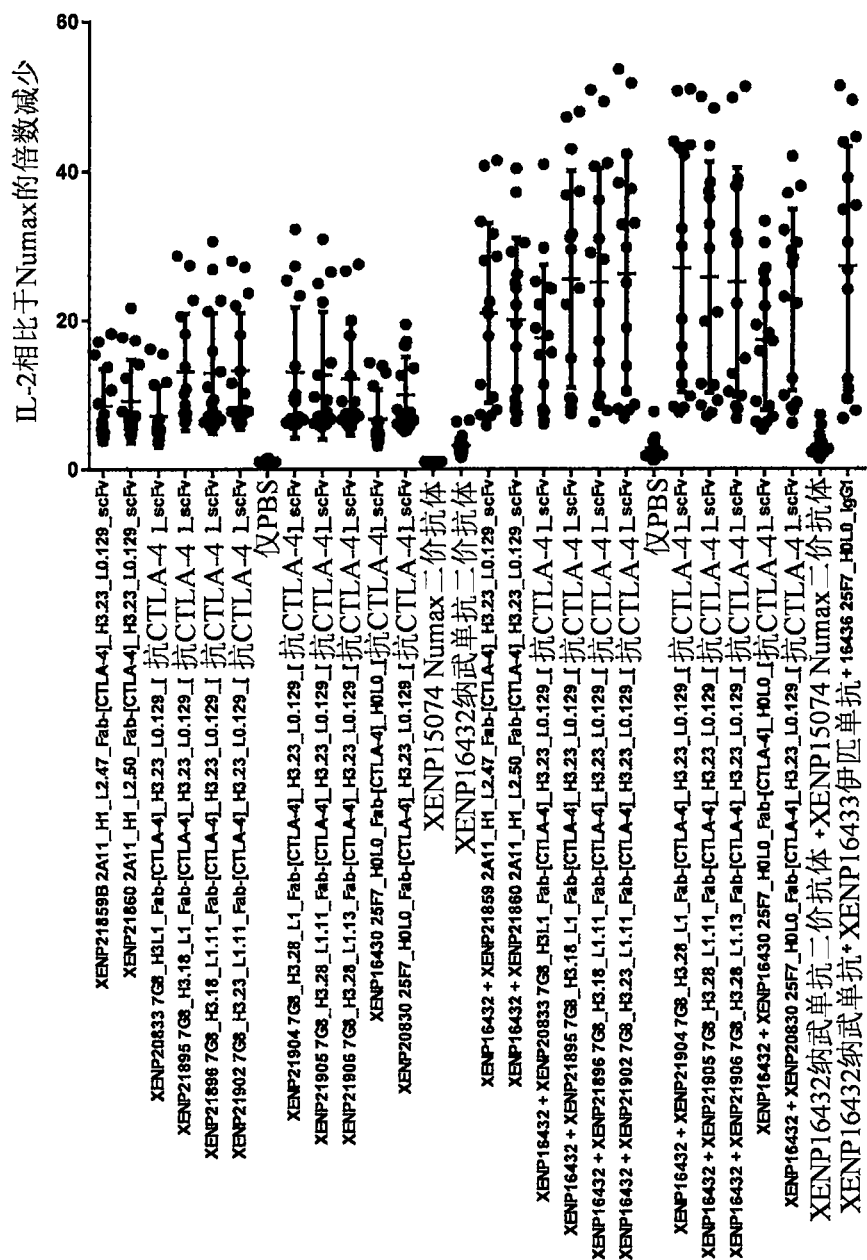


图61A

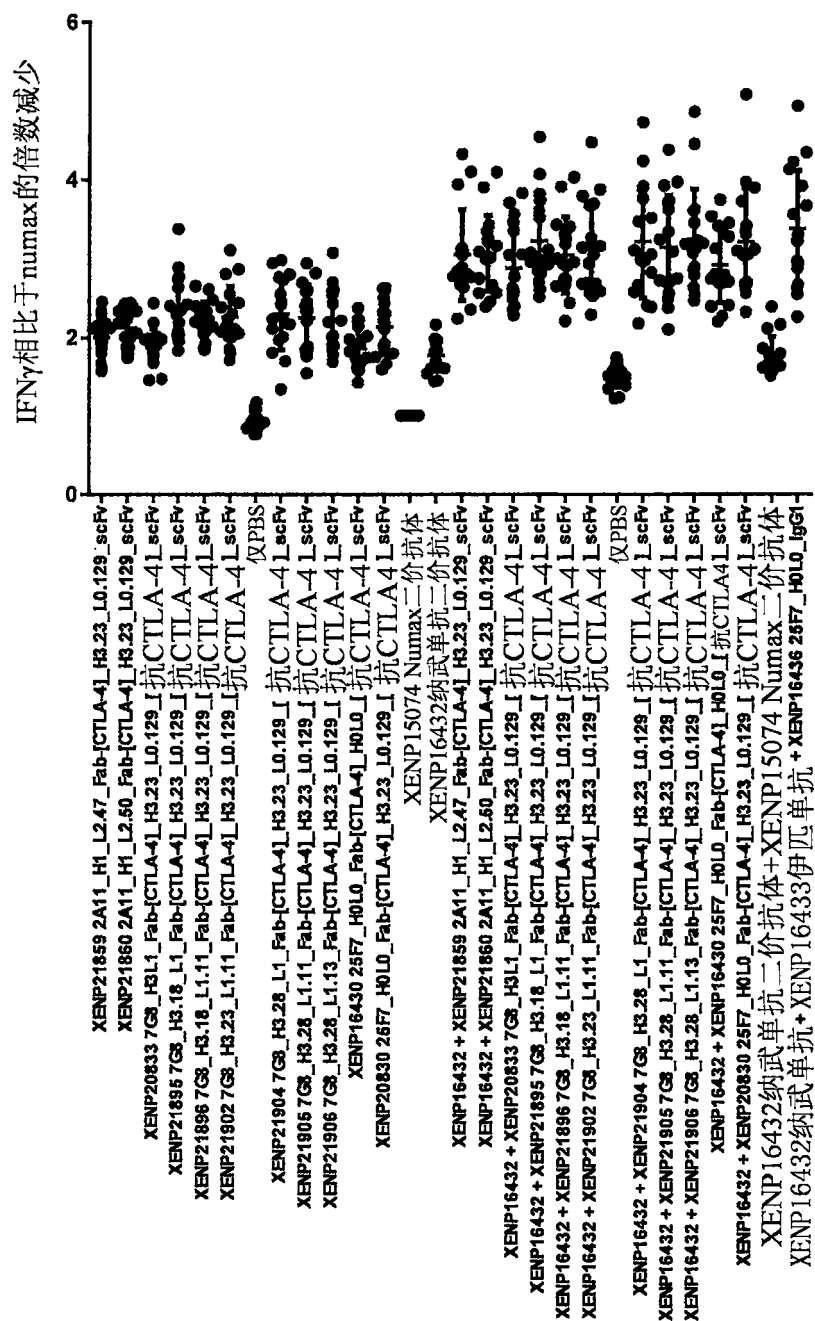


图61B

XENP	Fab侧（抗LAG-3）	scFv侧（抗PD-1）	人LAG-3 KD（M）
20206	2A11_H1L2	1G6_L1.194_H1.279	2.2E-09
21584	2A11_H1_L2.93	1G6_L1.194_H1.279	1.4E-08
22123	2A11_H1_L2.122	1G6_L1.194_H1.279	1.9E-08
22125	2A11_H1_L2.124	1G6_L1.194_H1.279	2.0E-08
21582	2A11_H1_L2.91	1G6_L1.194_H1.279	6.2E-09
22627	2A11_H1.144_L2.133	1G6_L1.194_H1.279	3.8E-10
22628	2A11_H1.125_L2.113	1G6_L1.194_H1.279	<1.0E-12
22629	2A11_H1.144_L2.113	1G6_L1.194_H1.279	4.4E-11

图62A

XENP	Fab侧（抗LAG-3）	scFv侧（抗PD-1）	人LAG-3 KD（M）
22521	7G8_H3.18_L1.11	1G6_L1.194_H1.279	NT
22522	7G8_H3.28_L1.13	1G6_L1.194_H1.279	NT
22565	7G8_H3.30_L1.11	1G6_L1.194_H1.279	NT
22566	7G8_H3.33_L1.11	1G6_L1.194_H1.279	NT
22567	7G8_H3.18_L1.30	1G6_L1.194_H1.279	1.0
22568	7G8_H3.30_L1.30	1G6_L1.194_H1.279	0.3
22569	7G8_H3.33_L1.30	1G6_L1.194_H1.279	1.5
22604	7G8_H3.30_L1.34	1G6_L1.194_H1.279	0.5
22605	7G8_H3.30_L1.36	1G6_L1.194_H1.279	0.5

图62B

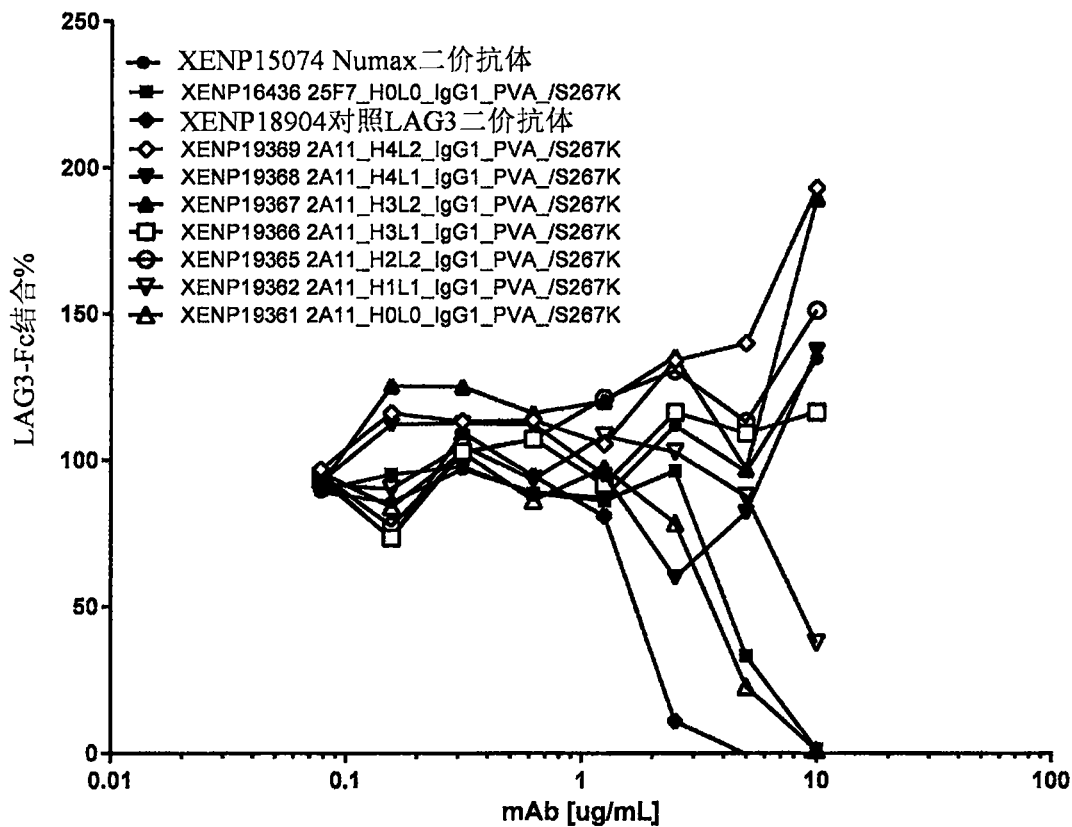


图63A

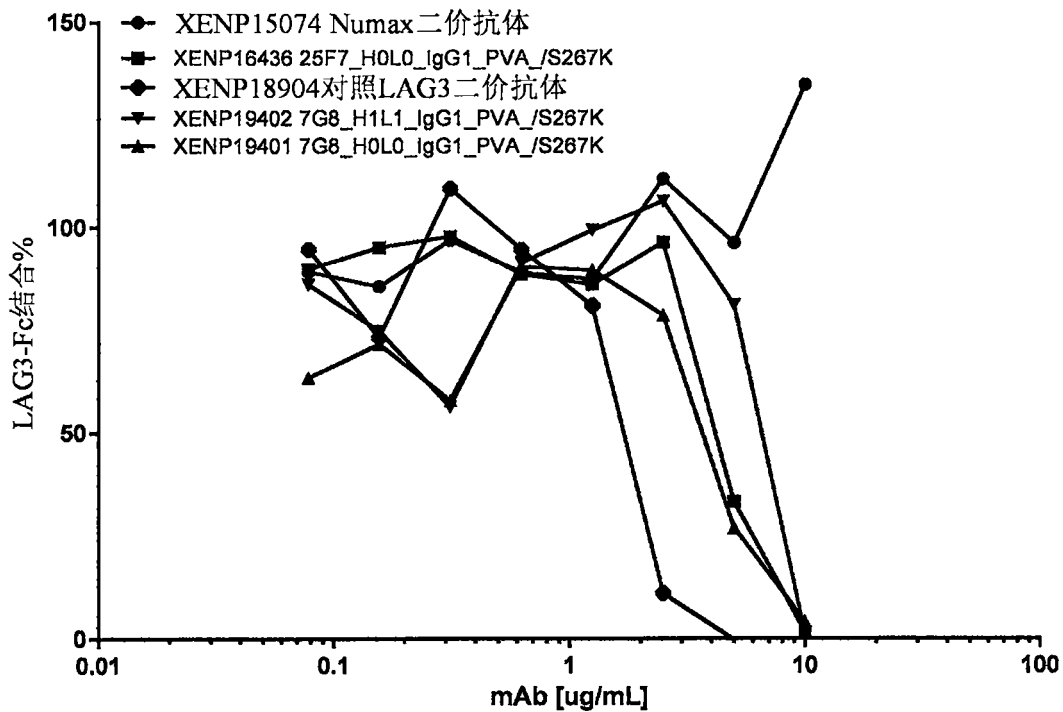


图63B

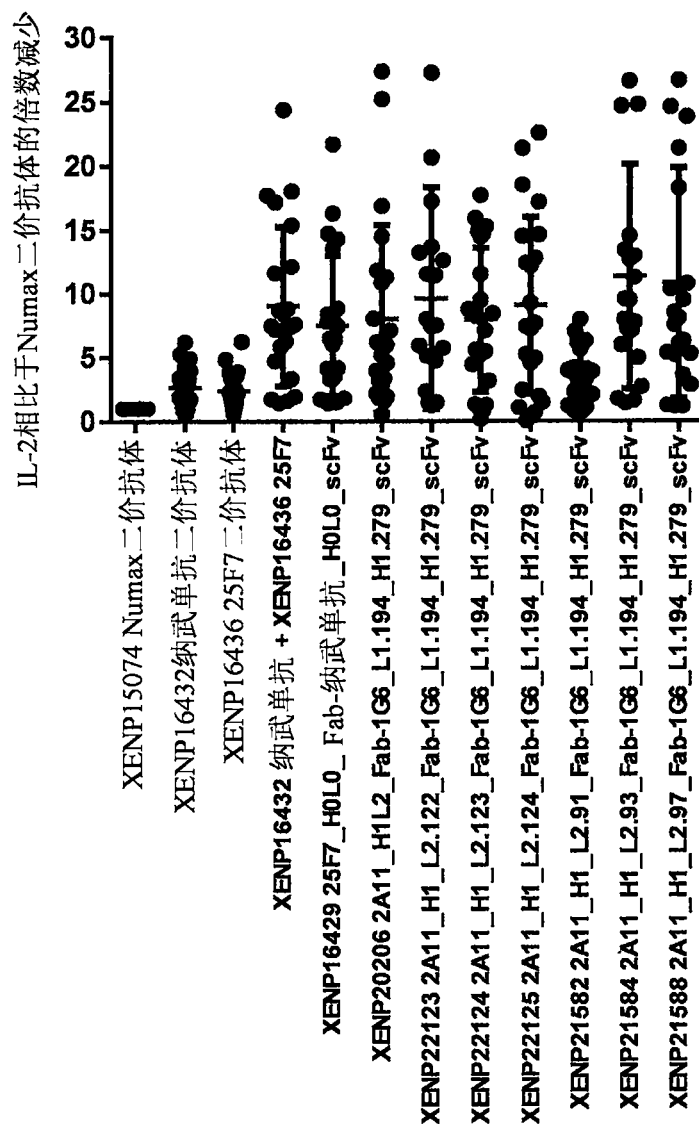


图64A

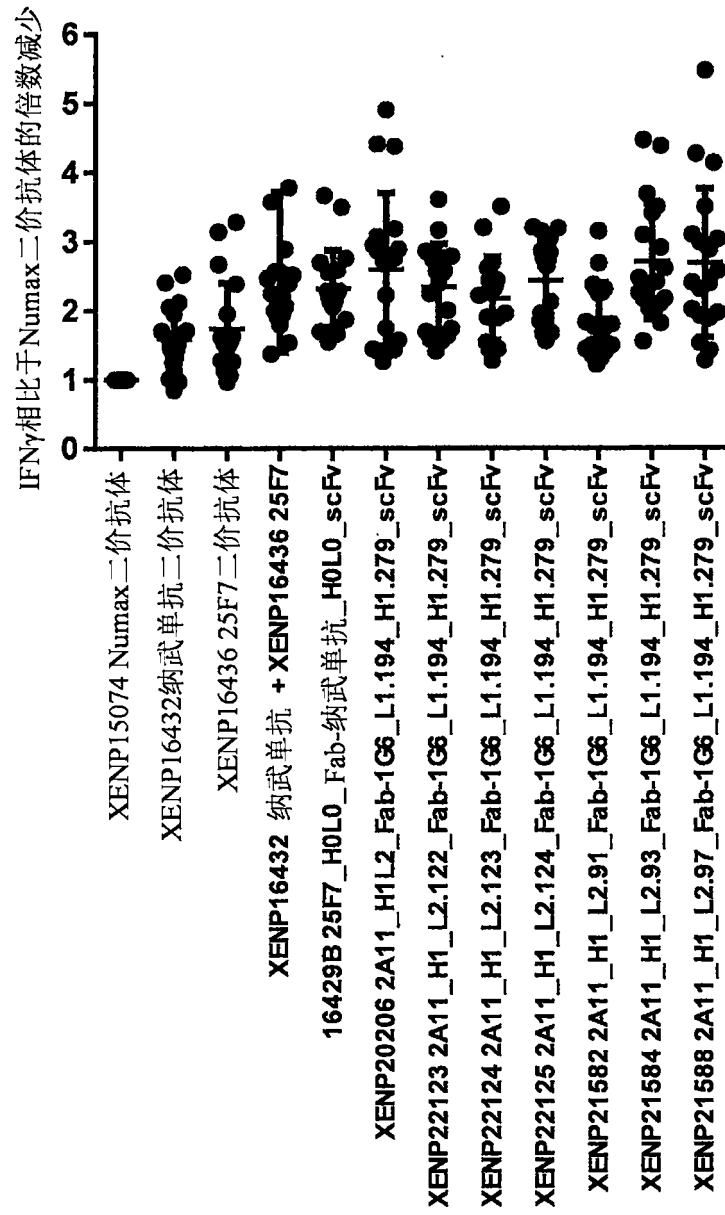


图64B

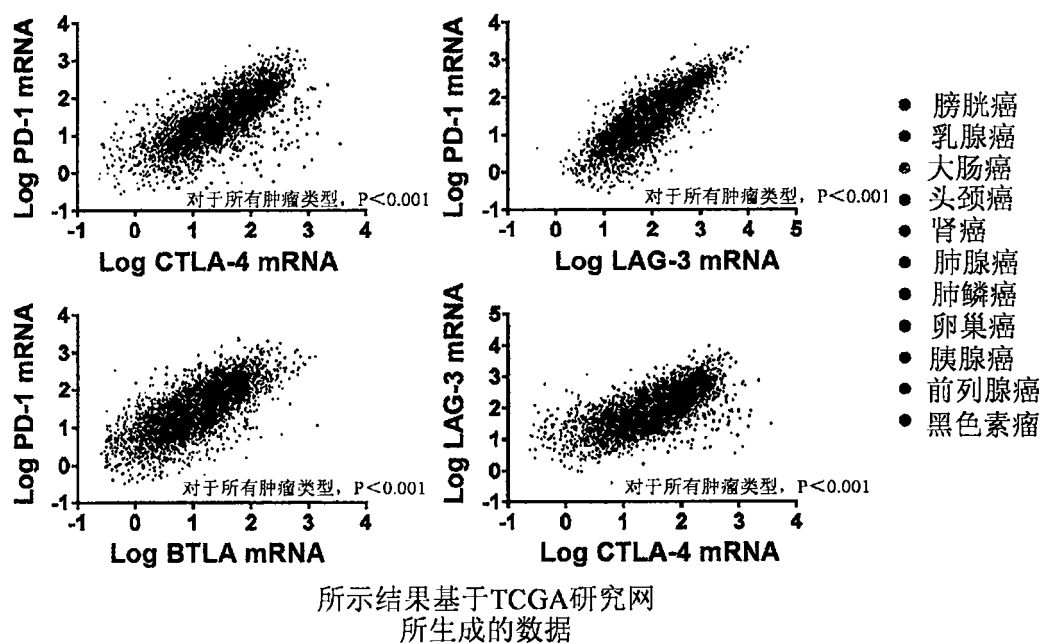


图65

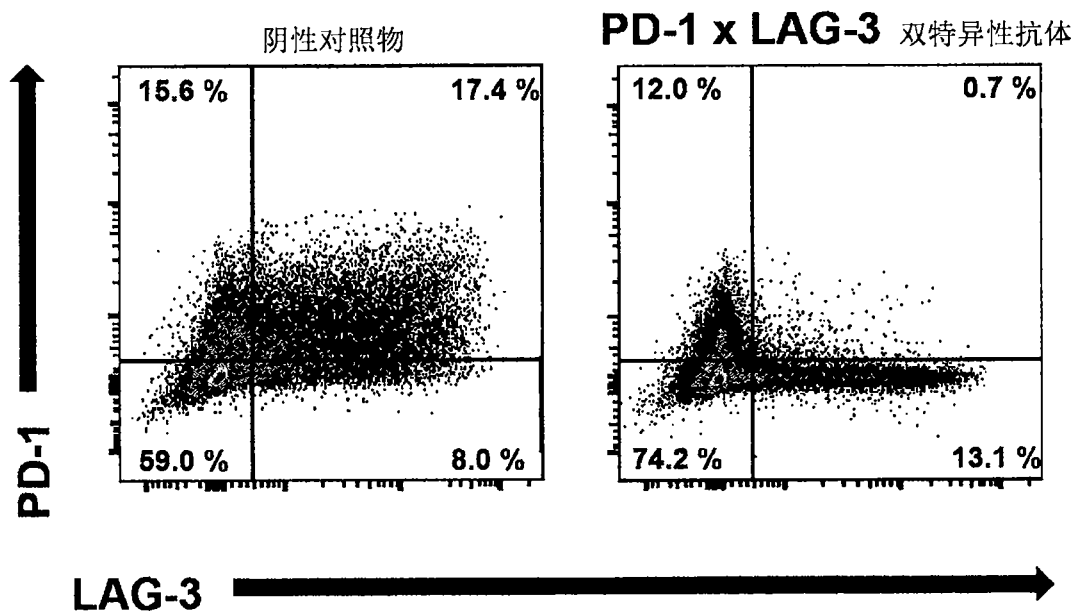


图66

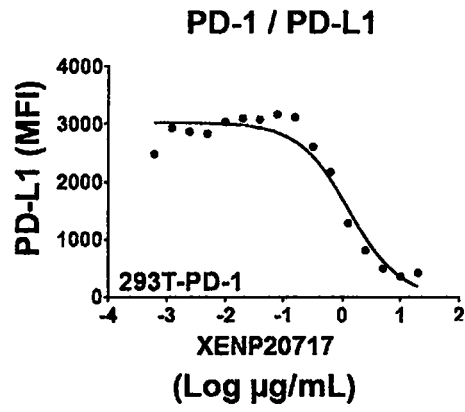


图67A

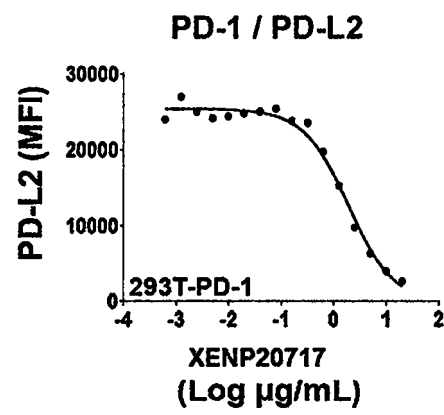


图67B

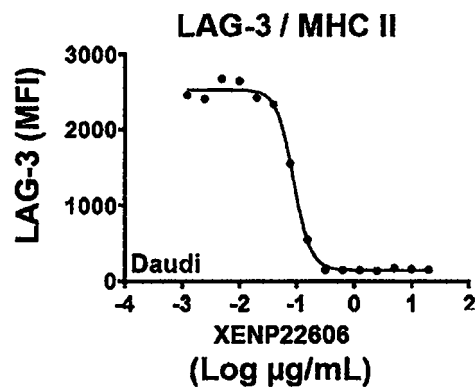


图67C

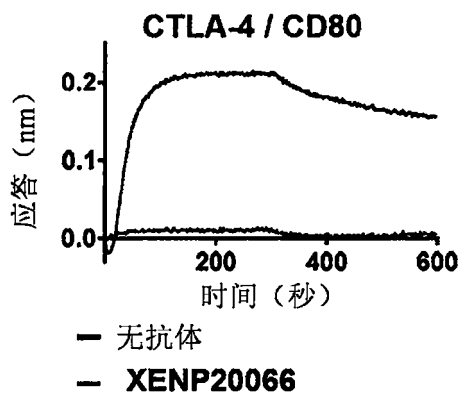


图67D

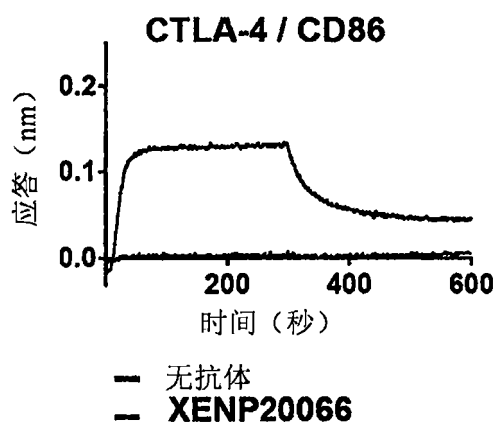


图67E

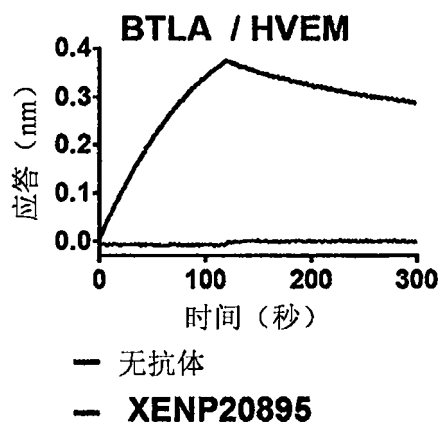


图67F

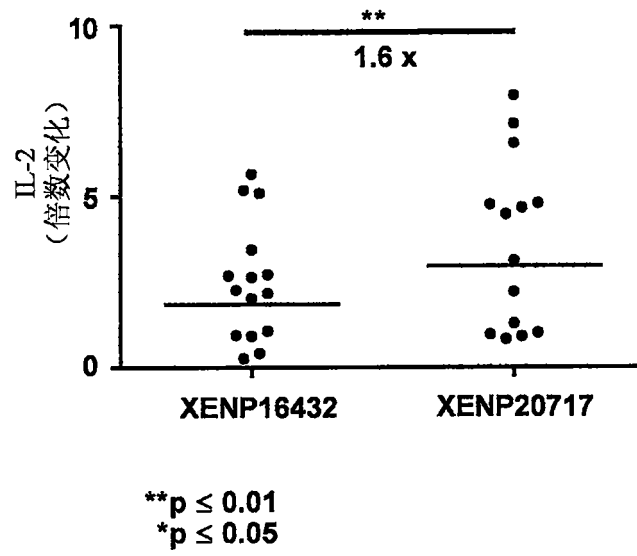


图68

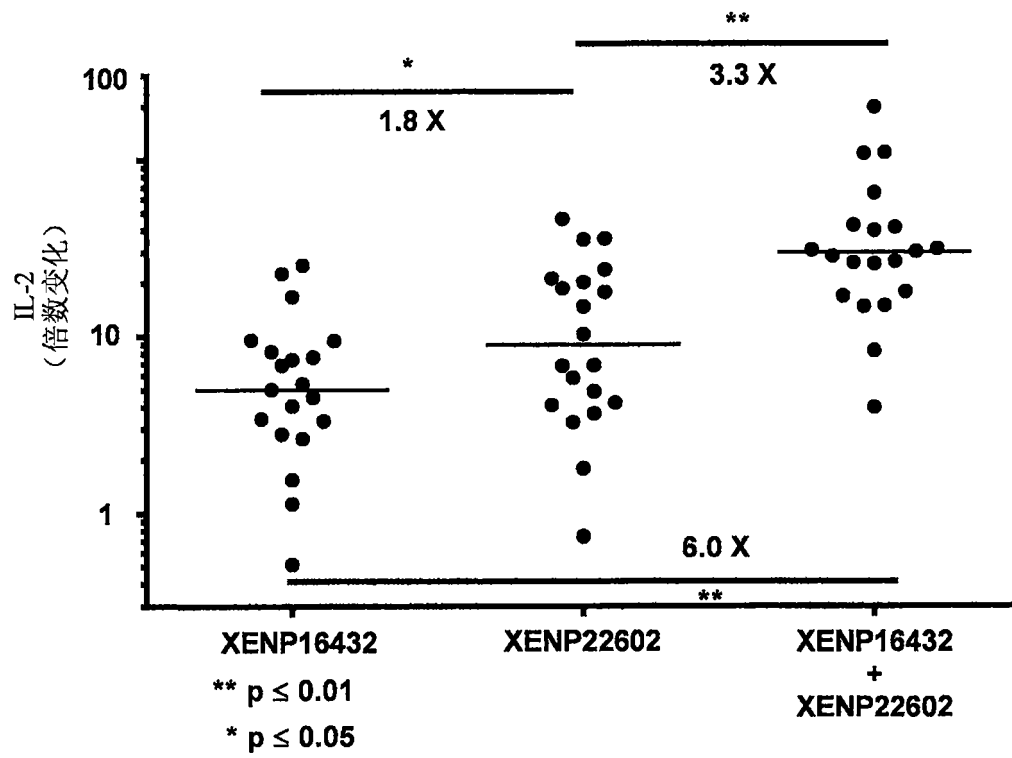


图69

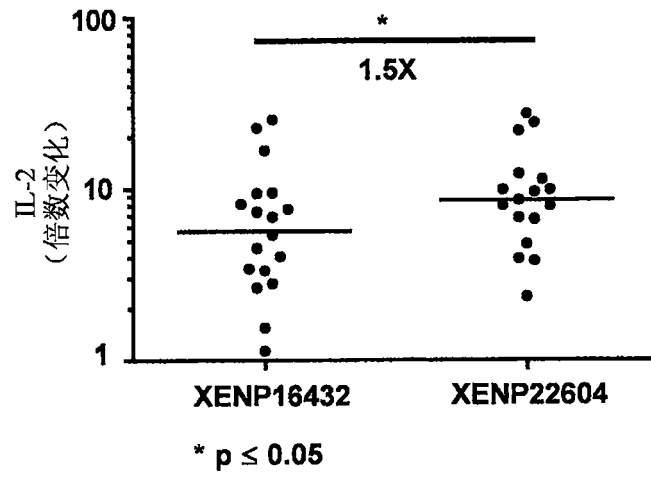


图70

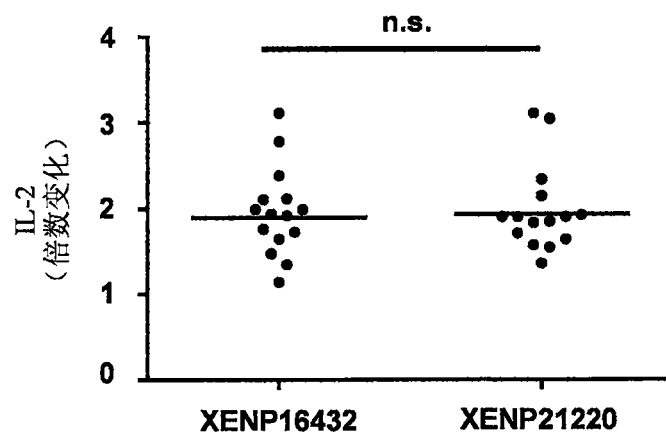


图71

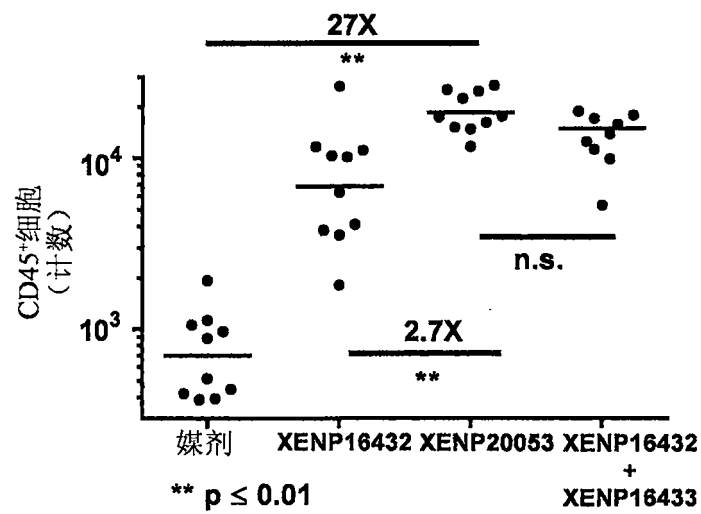


图72

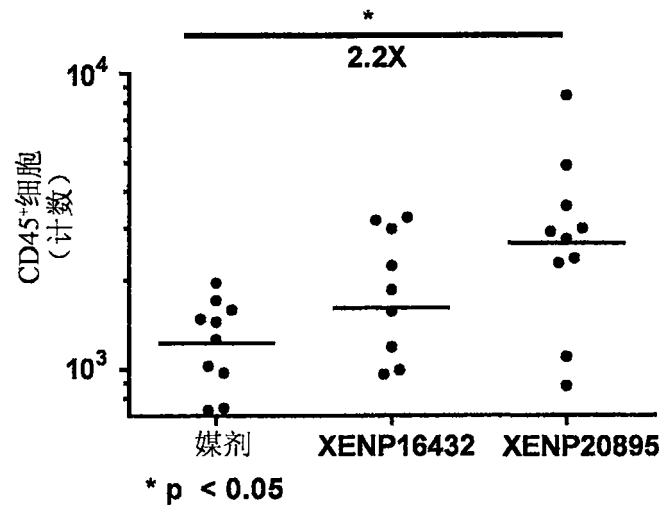


图73

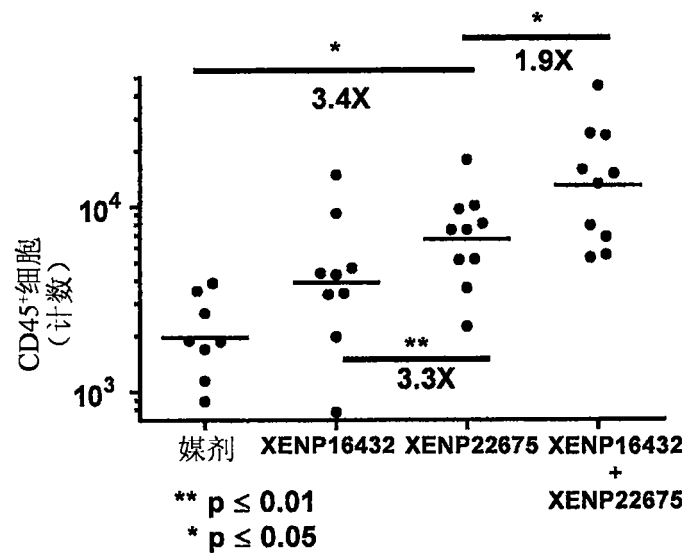


图74

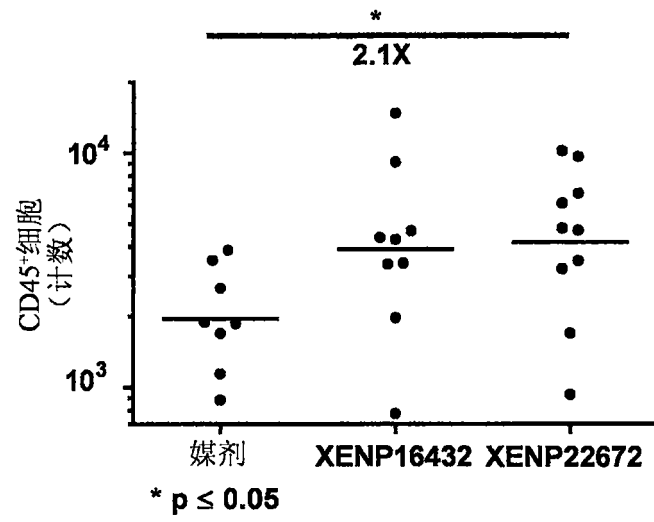


图75

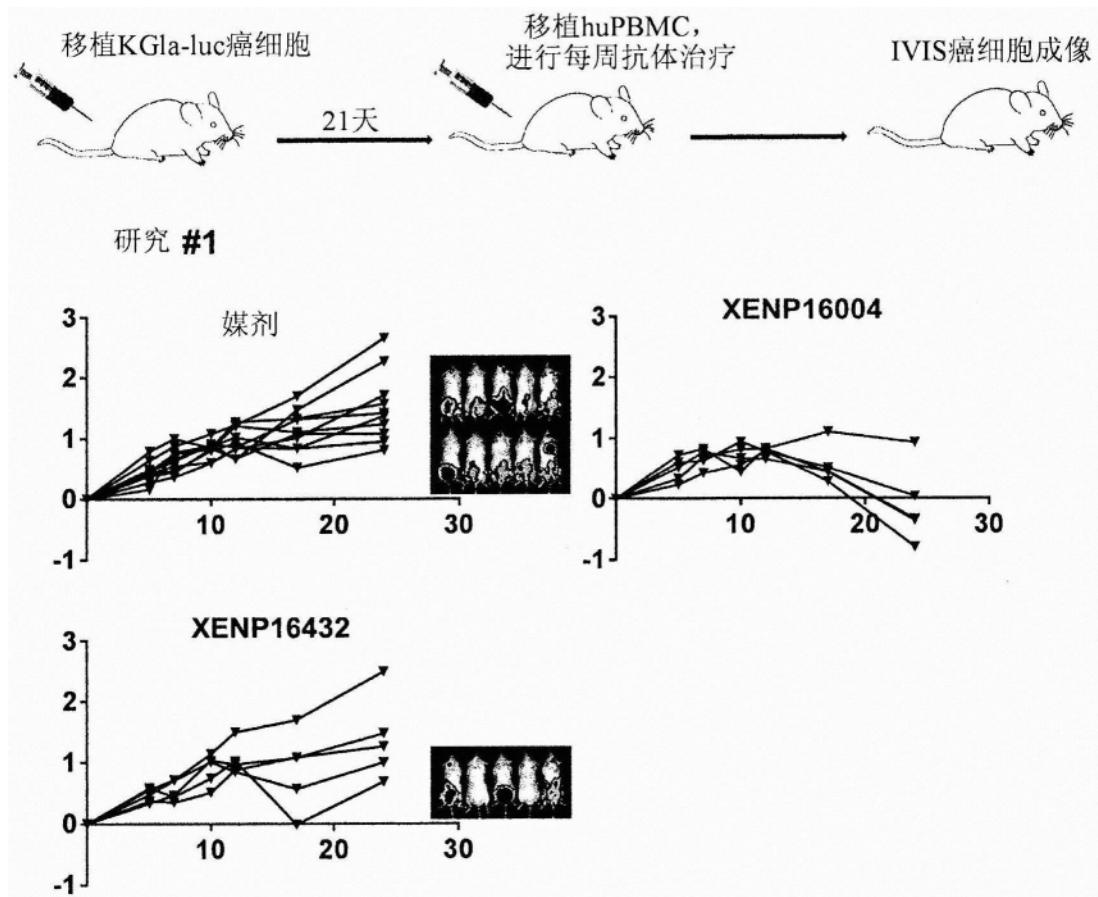


图76A

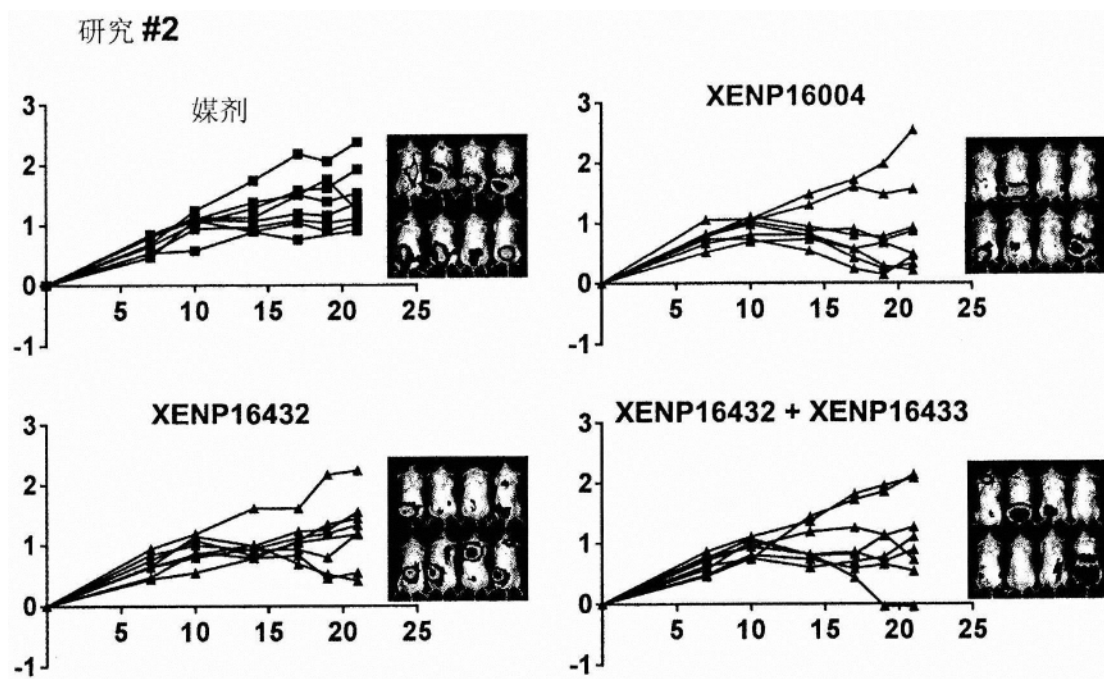


图76B