(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 114173801 A
(43)申请公布日 2022.03.11

(21)申请号 202080055485.8

(22)申请日 2020.07.31

(30)优先权数据
62/882,387 2019.08.02 US
62/882,291 2019.08.02 US
62/882,361 2019.08.02 US
62/882,346 2019.08.02 US
62/940,196 2019.11.25 US
62/940,206 2019.11.25 US
62/940,232 2019.11.25 US
62/940,220 2019.11.25 US
62/940,200 2019.11.25 US
62/940,228 2019.11.25 US
62/940,208 2019.11.25 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.01.29

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2020/044497 2020.07.31

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/025997 EN 2021.02.11

(71)申请人 詹森生物科技公司
地址 美国宾夕法尼亚州

(72)发明人 R·贾内桑 B·V·马鲁塔查拉姆
A·兹沃拉克 B·盖斯特
X·林-施米德特
S·文卡塔拉马尼 S·辛赫

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
代理人 李进 彭昶

(51)Int.Cl.
A61K 38/00(2006.01)
A61K 45/00(2006.01)
A61P 1/00(2006.01)
A61P 1/14(2006.01)

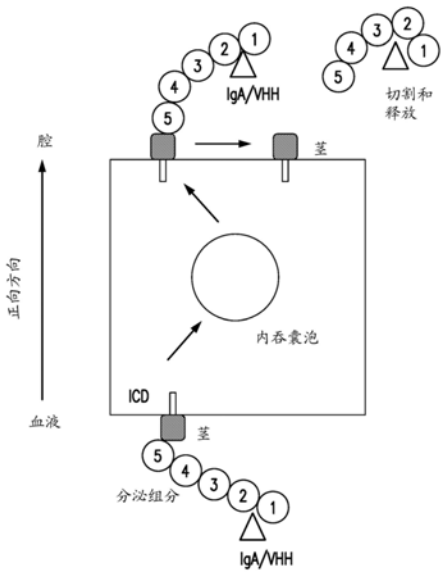
权利要求书33页 说明书124页
序列表111页 附图54页

(54)发明名称

用于多向生物转运的材料和方法

(57)摘要

本发明描述了一种用于将单结构域抗体或治疗性分子从表达聚合免疫球蛋白受体(pIgR)的细胞的顶端表面递送至该表达pIgR的细胞的基底外侧表面的方法,该方法包括使该表达pIgR的细胞与该单结构域抗体或该治疗性分子接触,其中该单结构域抗体与pIgR结合,并且该治疗性分子包含试剂和该单结构域抗体。本发明还描述了一种用于将此类治疗性分子转运至受试者的体循环或固有层或胃肠道的方法,该方法包括将该治疗性分子经由口服递送、经颊递送、经鼻递送或吸入递送而施用至该受试者。



CN 114173801 A

1.一种用于将单结构域抗体或治疗性分子从表达聚合免疫球蛋白受体(pIgR)的细胞的顶端表面递送至所述表达pIgR的细胞的基底外侧表面的方法,所述方法包括使所述表达pIgR的细胞与所述单结构域抗体或所述治疗性分子接触,其中所述单结构域抗体与pIgR结合,并且所述治疗性分子包含试剂和所述单结构域抗体。

2.一种用于将治疗性分子转运至受试者的所述表达pIgR的细胞的基底外侧表面的方法,所述方法包括向所述受试者施用所述治疗性分子,所述治疗性分子包含试剂和与pIgR结合的单结构域抗体。

3.根据权利要求2所述的方法,其中所述治疗性分子经由口服递送、经颊递送、经鼻递送或吸入递送而施用至所述受试者。

4.一种用于将治疗性分子转运至受试者的体循环的方法,所述方法包括向所述受试者施用包含试剂和与pIgR结合的单结构域抗体的治疗性分子,其中所述治疗性分子经由口服递送、经颊递送、经鼻递送或吸入递送而施用至所述受试者。

5.一种用于将治疗性分子转运至受试者的固有层或胃肠道的方法,所述方法包括向所述受试者施用包含试剂和与pIgR结合的单结构域抗体的治疗性分子,其中所述治疗性分子经由口服递送、经颊递送、经鼻递送或吸入递送而施用至所述受试者。

6.根据权利要求2至5中任一项所述的方法,其中所述治疗剂从所述受试者中表达pIgR的细胞的顶端表面被转运至所述表达pIgR的细胞的基底外侧表面。

7.根据权利要求1或权利要求6所述的方法,其中所述单结构域抗体或包含所述试剂和所述单结构域抗体的所述治疗性分子能够从所述表达pIgR的细胞的所述基底外侧表面被转运至所述表达pIgR的细胞的所述顶端表面。

8.根据权利要求1至7中任一项所述的方法,其中所述表达pIgR的细胞是上皮细胞。

9.根据权利要求8所述的方法,其中所述上皮细胞是肠腔细胞或气道上皮细胞。

10.根据权利要求1至9中任一项所述的方法,其中所述试剂是糖尿病药物。

11.根据权利要求10所述的方法,其中所述糖尿病药物选自由以下项组成的组:胰岛素、胰高血糖素样肽-1、胰岛素模拟肽和胰高血糖素样肽-1模拟肽。

12.根据权利要求1至9中任一项所述的方法,其中所述试剂是肽或抗体或其片段。

13.根据权利要求12所述的方法,其中所述抗体或其片段选自由以下项组成的组:抗TNF-α抗体或其片段、抗IL23抗体或其片段、与IL23的受体结合的抗体或其片段、或IL23的受体的抑制剂。

14.根据权利要求1至9中任一项所述的方法,其中所述试剂是疫苗。

15.根据权利要求14所述的方法,其中所述疫苗用于预防选自由以下项组成的组的感染:弧菌、霍乱、伤寒、轮状病毒、肺结核、HIV、流感、埃博拉病毒和仙台病毒。

16.根据权利要求1至15中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与pIgR的胞外结构域1、胞外结构域2、胞外结构域1-2、胞外结构域3、胞外结构域2-3、胞外结构域4-5或胞外结构域5结合。

17.根据权利要求1至15中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与pIgR的胞外结构域1结合。

18.根据权利要求1至15中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与pIgR的胞外结构域2结合。

19.根据权利要求1至15中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与pIgR的胞外结构域1-2结合。

20.根据权利要求1至15中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与pIgR的胞外结构域3结合。

21.根据权利要求1至15中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与pIgR的胞外结构域2-3结合。

22.根据权利要求1至15中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与pIgR的胞外结构域4-5结合。

23.根据权利要求1至15中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与pIgR的胞外结构域5结合。

24.根据权利要求1至23中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与IgA竞争结合所述pIgR。

25.根据权利要求1至23中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体促进IgA与所述pIgR的结合。

26.根据权利要求1至25中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与pIgR结合的K_D为约4nM至约525nM。

27.根据权利要求1至25中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与pIgR结合的K_D小于约50nM。

28.根据权利要求1至25中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与pIgR结合的K_D为约4nM至约34nM。

29.根据权利要求1至28中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体的T_m为约53℃至约77℃。

30.根据权利要求1至28中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体的T_m为53.9℃至76.4℃。

31.根据权利要求1至30中任一项所述的方法,其中pIgR是人pIgR。

32.根据权利要求1至30中任一项所述的方法,其中pIgR是小鼠pIgR。

33.根据权利要求1至30中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体不与人pIgR的茎序列和/或小鼠pIgR的茎序列结合。

34.根据权利要求1至33中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体包含GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:60)、TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:61)、DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:62)、PLTAR(SEQ ID NO:63)、DPFNQGY(SEQ ID NO:64)、PLTSR(SEQ ID NO:65)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:66)、DQRGY(SEQ ID NO:67)、QRGY(SEQ ID NO:271)、DPFNQGY(SEQ ID NO:68)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:69)、ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:70)、GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:71)、SIDLNWYGGMD(SEQ ID NO:272)、TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:72)、TVLTDPRVLNEYA(SEQ ID NO:273)、DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:73)、VFGSSGYVET(SEQ ID NO:274)、PLTAR(SEQ ID NO:74)、LTA(SEQ ID NO:275)、DPFNQGY(SEQ ID NO:75)、PFNQG(SEQ ID NO:276)、PLTSR(SEQ ID NO:76)、LTS(SEQ ID NO:277)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:77)、VNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:278)、DQRGY(SEQ ID NO:78)、RG(SEQ ID NO:279)、DPFNQGY(SEQ ID NO:79)、PFNQG(SEQ ID

NO:280)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:80)、LAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:281)、ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:81)、RYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:282)、CAAGSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:82)、AAGSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:283)、CAATTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:83)、AATTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:284)、KADVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:84)、NHPLTAR(SEQ ID NO:85)、AADPFNQGY(SEQ ID NO:86)、NHPLTSR(SEQ ID NO:87)、ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:88)、NDQRGY(SEQ ID NO:89)、AADPFNQGY(SEQ ID NO:90)、AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:91)、AAARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:92)、GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:214)、TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:215)、DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:216)、PLTAR(SEQ ID NO:217)、DPFNQGY(SEQ ID NO:218)、PLTSR(SEQ ID NO:219)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:220)、QRGY(SEQ ID NO:221)、DPFNQGY(SEQ ID NO:222)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:223)、ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:224)、AAGSIDLNWYGGMD(SEQ ID NO:225)、AATTVLTDPRVLNEYA(SEQ ID NO:226)、KADVFGSSGYVET(SEQ ID NO:227)、NHPLTA(SEQ ID NO:228)、AADPFNQG(SEQ ID NO:229)、NHPLTS(SEQ ID NO:230)、ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:231)、NDQRG(SEQ ID NO:232)、AADPFNQG(SEQ ID NO:233)、AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:234)、AAARYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:235)、GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:236)、TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:237)、DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:238)、PLTAR(SEQ ID NO:239)、DPFNQGY(SEQ ID NO:240)、PLTSR(SEQ ID NO:241)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:242)、QRGY(SEQ ID NO:243)、DPFNQGY(SEQ ID NO:244)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:245)或ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:246)的CDR3序列。

35.根据权利要求1至34中任一项所述的方法，其中所述单结构域抗体包含AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:30)、RINGGGITHYAESVKG(SEQ ID NO:31)、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:32)、AITWNGGTTYYADSVKG(SEQ ID NO:33)、FISGGGTTTYADSVKG(SEQ ID NO:34)、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:35)、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:36)、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:37)、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:38)、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:39)、DWNGRGTYY(SEQ ID NO:40)、WNGRGTY(SEQ ID NO:260)、NGGGI(SEQ ID NO:41)、GGG(SEQ ID NO:261)、DRIAT(SEQ ID NO:42)、RIA(SEQ ID NO:262)、TWNGGT(SEQ ID NO:43)、WNGG(SEQ ID NO:263)、SGGGT(SEQ ID NO:44)、GGG(SEQ ID NO:264)、TGGGS(SEQ ID NO:45)、GGG(SEQ ID NO:265)、SWSGGS(SEQ ID NO:46)、WSGG(SEQ ID NO:266)、SWSGSS(SEQ ID NO:47)、WSGS(SEQ ID NO:267)、RWSGGR(SEQ ID NO:48)、WSGG(SEQ ID NO:268)、TWNGGS(SEQ ID NO:49)、WNGG(SEQ ID NO:269)、IDWNGRGTYY(SEQ ID NO:50)、IDWNGRGTYYR(SEQ ID NO:270)、INGGGIT(SEQ ID NO:51)、IDRIATT(SEQ ID NO:52)、ITWNGGTT(SEQ ID NO:53)、ISGGGTT(SEQ ID NO:54)、ITGGGST(SEQ ID NO:55)、ISWSGGST(SEQ ID NO:56)、ISWSGSSA(SEQ ID NO:57)、IRWSGGRT(SEQ ID NO:58)、ITWNGGST(SEQ ID NO:59)、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:184)、RINGGGITHYAESVKG(SEQ ID NO:185)、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:186)、AITWNGGTTYYADSVKG(SEQ ID NO:187)、FISGGGTTTYADSVKG(SEQ ID NO:188)、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:189)、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:190)、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:191)、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:192)、

SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:193)、FVAAIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:194)、LVARINGGGITH(SEQ ID NO:195)、WVGFIDRIATTT(SEQ ID NO:196)、FVAAITWNGGTTY(SEQ ID NO:197)、WVAFISGGGTTT(SEQ ID NO:198)、LVARITGGGSTH(SEQ ID NO:199)、FVAAISWSGGSTT(SEQ ID NO:200)、FVAAISWSGSSAG(SEQ ID NO:201)、FVAAIRWSGGRTL(SEQ ID NO:202)、FVASITWNGGSTS(SEQ ID NO:203)、AIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:204)、RINGGGITH(SEQ ID NO:205)、FIDRIATTT(SEQ ID NO:206)、AITWNGGTTY(SEQ ID NO:207)、FISGGGTTT(SEQ ID NO:208)、RITGGGSTH(SEQ ID NO:209)、AISWSGGSTT(SEQ ID NO:210)、AISWSGSSAG(SEQ ID NO:211)、AIRWSGGRTL(SEQ ID NO:212)或SITWNGGSTS(SEQ ID NO:213)的CDR2序列。

36.根据权利要求1至35中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体包含SYRMG(SEQ ID NO:1)、INVMG(SEQ ID NO:2)、SNAMG(SEQ ID NO:3)、SYAMG(SEQ ID NO:4)、SDAMG(SEQ ID NO:5)、INVMG(SEQ ID NO:6)、TYRMG(SEQ ID NO:7)、RYAMG(SEQ ID NO:8)、FTTYRMG(SEQ ID NO:258)、TYRMG(SEQ ID NO:259)、FNTYAMG(SEQ ID NO:9)、GLTFSSY(SEQ ID NO:10)、GSIFSIN(SEQ ID NO:11)、GTSVSSN(SEQ ID NO:12)、GRTFSSY(SEQ ID NO:13)、GSSVSSD(SEQ ID NO:14)、RSIGSIN(SEQ ID NO:15)、GRTFSTY(SEQ ID NO:16)、GFTFTRY(SEQ ID NO:17)、GRTFTTY(SEQ ID NO:18)、GRTLSFNTY(SEQ ID NO:19)、GLTFSSYR(SEQ ID NO:20)、GSIFSINV(SEQ ID NO:21)、GTSVSSNA(SEQ ID NO:22)、GRTFSSYA(SEQ ID NO:23)、GSSVSSDA(SEQ ID NO:24)、RSIGSINV(SEQ ID NO:25)、GRTFSTYR(SEQ ID NO:26)、GFTFTRYA(SEQ ID NO:27)、GRTFTTYR(SEQ ID NO:28)、GRTLSFNTYA(SEQ ID NO:29)、GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:154)、GSIFSINVMG(SEQ ID NO:155)、GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:156)、GRTFSSYAMG(SEQ ID NO:157)、GSSVSSDAMG(SEQ ID NO:158)、RSIGSINVMG(SEQ ID NO:159)、GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:160)、GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:161)、GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:162)、GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:163)、SSYRMG(SEQ ID NO:164)、SINVMG(SEQ ID NO:165)、SSNAMG(SEQ ID NO:166)、SSYAMG(SEQ ID NO:167)、SSDAMG(SEQ ID NO:168)、SINVMG(SEQ ID NO:169)、STYRMG(SEQ ID NO:170)、TRYAMG(SEQ ID NO:171)、TTYRMG(SEQ ID NO:172)、SFNTYAMG(SEQ ID NO:173)、GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:174)、GSIFSINVMG(SEQ ID NO:175)、GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:176)、GRTFSSYAMG(SEQ ID NO:177)、GSSVSSDAMG(SEQ ID NO:178)、RSIGSINVMG(SEQ ID NO:179)、GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:180)、GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:181)、GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:182)或GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:183)的CDR1序列。

37.根据权利要求1至36中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体包含选自由以下项组成的组的单结构域抗体的CDR1序列、CDR2序列和CDR3序列:

a)VHH1:

i)SYRMG(SEQ ID NO:1)的所述CDR1序列、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:30)的所述CDR2序列和GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:60)的所述CDR3序列;

ii)GLTFSSY(SEQ ID NO:10)的所述CDR1序列、DWNGRGTYY(SEQ ID NO:40)或WNGRGTY(SEQ ID NO:260)的所述CDR2序列以及GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:71)或SIDLNWYGGMD(SEQ ID NO:272)的所述CDR3序列;

iii)GLTFSSYR(SEQ ID NO:20)的所述CDR1序列、IDWNGRGTYY(SEQ ID NO:50)或IDWNGRGTYYR(SEQ ID NO:270)的所述CDR2序列以及CAAGSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:82)或AAGSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:283)的所述CDR3序列;

iv)GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:154)的所述CDR1序列、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:184)的所述CDR2序列和GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:214)的所述CDR3序列；

v)SSYRMG(SEQ ID NO:164)的所述CDR1序列、FVAAIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:194)的所述CDR2序列和AAGSIDLNWYGGMD(SEQ ID NO:225)的所述CDR3序列；或者

vi)GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:174)的所述CDR1序列、AIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:204)的所述CDR2序列和GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:236)的所述CDR3序列；

b)VHH2：

i)SYRMG(SEQ ID NO:1)的所述CDR1序列、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:30)的所述CDR2序列和TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:61)的所述CDR3序列；

ii)GLTFSSY(SEQ ID NO:10)的所述CDR1序列、DWNGRGTYY(SEQ ID NO:40)或WNGRGTY(SEQ ID NO:260)的所述CDR2序列以及TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:72)或TVLTDPRVLNEYA(SEQ ID NO:273)的所述CDR3序列；

iii)GLTFSSYR(SEQ ID NO:20)的所述CDR1序列、IDWNGRGTYY(SEQ ID NO:50)或IDWNGRGTYYR(SEQ ID NO:270)的所述CDR2序列以及CAATTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:83)或AATTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:284)的所述CDR3序列；

iv)GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:154)的所述CDR1序列、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:184)的所述CDR2序列和TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:215)的所述CDR3序列；

v)SSYRMG(SEQ ID NO:164)的所述CDR1序列、FVAAIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:194)的所述CDR2序列和AATTVLTDPRVLNEYA(SEQ ID NO:226)的所述CDR3序列；或者

vi)GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:174)的所述CDR1序列、AIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:204)的所述CDR2序列和TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:237)的所述CDR3序列；

c)VHH3：

i)INVMG(SEQ ID NO:2)的所述CDR1序列、RINGGGITHYAESVKG(SEQ ID NO:31)的所述CDR2序列和DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:62)的所述CDR3序列；

ii)GSIFSIN(SEQ ID NO:11)的所述CDR1序列、NGGGI(SEQ ID NO:41)或GGG(SEQ ID NO:261)的所述CDR2序列以及DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:73)或VFGSSGYVET(SEQ ID NO:274)的所述CDR3序列；

iii)GSIFSINV(SEQ ID NO:21)的所述CDR1序列、INGGGIT(SEQ ID NO:51)的所述CDR2序列和KADVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:84)的所述CDR3序列；

iv)GSIFSINVMG(SEQ ID NO:155)的所述CDR1序列、RINGGGITHYAESVKG(SEQ ID NO:185)的所述CDR2序列和DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:216)的所述CDR3序列；

v)SINVMG(SEQ ID NO:165)的所述CDR1序列、LVARINGGGITH(SEQ ID NO:195)的所述CDR2序列和KADVFGSSGYVET(SEQ ID NO:227)的所述CDR3序列；或者

vi)GSIFSINVMG(SEQ ID NO:175)的所述CDR1序列、RINGGGITH(SEQ ID NO:205)的所述CDR2序列和DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:238)的所述CDR3序列；

d)VHH4：

i)SNAMG(SEQ ID NO:3)的所述CDR1序列、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:32)的所述CDR2序列和PLTAR(SEQ ID NO:63)的所述CDR3序列；

ii)GTSVSSN(SEQ ID NO:12)的所述CDR1序列、DRIAT(SEQ ID NO:42)或RIA(SEQ ID

NO:262)的所述CDR2序列以及PLTAR(SEQ ID NO:74)或LTA(SEQID NO:275)的所述CDR3序列;

iii)GTSVSSNA(SEQ ID NO:22)的所述CDR1序列、IDRIATT(SEQ ID NO:52)的所述CDR2序列和NHPLTAR(SEQ ID NO:85)的所述CDR3序列;

iv)GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:156)的所述CDR1序列、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:186)的所述CDR2序列和PLTAR(SEQ ID NO:217)的所述CDR3序列;

v)SSNAMG(SEQ ID NO:166)的所述CDR1序列、WVGFIDRIATTT(SEQ ID NO:196)的所述CDR2序列和NHPLTA(SEQ ID NO:228)的所述CDR3序列;或者

vi)GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:176)的所述CDR1序列、FIDRIATTT(SEQ ID NO:206)的所述CDR2序列和PLTAR(SEQ ID NO:239)的所述CDR3序列;

e)VHH5:

i)SYAMG(SEQ ID NO:4)的所述CDR1序列、AITWNGGTTYYADSVKG(SEQ ID NO:33)的所述CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:64)的所述CDR3序列;

ii)GRTFSSY(SEQ ID NO:13)的所述CDR1序列、TWNGGT(SEQ ID NO:43)或WNGG(SEQ ID NO:263)的所述CDR2序列以及DPFNQGY(SEQ ID NO:75)或PFNQG(SEQ ID NO:276)的所述CDR3序列;

iii)GRTFSSYA(SEQ ID NO:23)的所述CDR1序列、ITWNGGTT(SEQ ID NO:53)的所述CDR2序列和AADPFNQGY(SEQ ID NO:86)的所述CDR3序列;

iv)GRTFSSYAMG(SEQ ID NO:157)的所述CDR1序列、AITWNGGTTYYADSVKG(SEQ ID NO:187)的所述CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:218)的所述CDR3序列;

v)SSYAMG(SEQ ID NO:167)的所述CDR1序列、FVAAITWNGGTTY(SEQ ID NO:197)的所述CDR2序列和AADPFNQG(SEQ ID NO:229)的所述CDR3序列;或者

vi)GRTFSSYAMG(SEQ ID NO:177)的所述CDR1序列、AITWNGGTTY(SEQ ID NO:207)的所述CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:240)的所述CDR3序列;

f)VHH6:

i)SDAMG(SEQ ID NO:5)的所述CDR1序列、FISGGGTTTYADSVKG(SEQ ID NO:34)的所述CDR2序列和PLTSR(SEQ ID NO:65)的所述CDR3序列;

ii)GSSVSSD(SEQ ID NO:14)的所述CDR1序列、SGGGT(SEQ ID NO:44)或GGG(SEQ ID NO:264)的所述CDR2序列以及PLTSR(SEQ ID NO:76)或LTS(SEQ ID NO:277)的所述CDR3序列;

iii)GSSVSSDA(SEQ ID NO:24)的所述CDR1序列、ISGGGTT(SEQ ID NO:54)的所述CDR2序列和NHPLTSR(SEQ ID NO:87)的所述CDR3序列;

iv)GSSVSSDAMG(SEQ ID NO:158)的所述CDR1序列、FISGGGTTTYADSVKG(SEQ ID NO:188)的所述CDR2序列和PLTSR(SEQ ID NO:219)的所述CDR3序列;

v)SSDAMG(SEQ ID NO:168)的所述CDR1序列、WVAFISGGGTTT(SEQ ID NO:198)的所述CDR2序列和NHPLTS(SEQ ID NO:230)的所述CDR3序列;或者

vi)GSSVSSDAMG(SEQ ID NO:178)的所述CDR1序列、FISGGGTTT(SEQ ID NO:208)的所述CDR2序列和PLTSR(SEQ ID NO:241)的所述CDR3序列;

g)VHH7:

i)INVMG(SEQ ID NO:6)的所述CDR1序列、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:35)的所述CDR2序列和MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:66)的所述CDR3序列；

ii)RSIGSIN(SEQ ID NO:15)的所述CDR1序列、TGGGS(SEQ ID NO:45)或GGG(SEQ ID NO:265)的所述CDR2序列以及MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:77)或VNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:278)的所述CDR3序列；

iii)RSIGSINV(SEQ ID NO:25)的所述CDR1序列、ITGGGST(SEQ ID NO:55)的所述CDR2序列和ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:88)的所述CDR3序列；

iv)RSIGSINVMG(SEQ ID NO:159)的所述CDR1序列、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:189)的所述CDR2序列和MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:220)的所述CDR3序列；

v)SINVMG(SEQ ID NO:169)的所述CDR1序列、LVARITGGGSTH(SEQ ID NO:199)的所述CDR2序列和ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:231)的所述CDR3序列；或者

vi)RSIGSINVMG(SEQ ID NO:179)的所述CDR1序列、RITGGGSTH(SEQ ID NO:209)的所述CDR2序列和MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:242)的所述CDR3序列；

h)VHH9：

i)TYRMG(SEQ ID NO:7)的所述CDR1序列、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:36)的所述CDR2序列以及DQRGY(SEQ ID NO:67)或QRGY(SEQ ID NO:271)的所述CDR3序列；

ii)GRTFSTY(SEQ ID NO:16)的所述CDR1序列、SWSGGS(SEQ ID NO:46)或WSGG(SEQ ID NO:266)的所述CDR2序列以及DQRGY(SEQ ID NO:78)或RG(SEQ ID NO:279)的所述CDR3序列；

iii)GRTFSTYR(SEQ ID NO:26)的所述CDR1序列、ISWSGGST(SEQ ID NO:56)的所述CDR2序列和NDQRGY(SEQ ID NO:89)的所述CDR3序列；

iv)GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:160)的所述CDR1序列、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:190)的所述CDR2序列和QRGY(SEQ ID NO:221)的所述CDR3序列；

v)STYRMG(SEQ ID NO:170)的所述CDR1序列、FVAAISWSGGSTT(SEQ ID NO:200)的所述CDR2序列和NDQRG(SEQ ID NO:232)的所述CDR3序列；或者

vi)GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:180)的所述CDR1序列、AISWSGGSTT(SEQ ID NO:210)的所述CDR2序列和QRGY(SEQ ID NO:243)的所述CDR3序列；

i)VHH10：

i)RYAMG(SEQ ID NO:8)的所述CDR1序列、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:37)的所述CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:68)的所述CDR3序列；

ii)GFTFTRY(SEQ ID NO:17)的所述CDR1序列、SWSGSS(SEQ ID NO:47)或WSGS(SEQ ID NO:267)的所述CDR2序列以及DPFNQGY(SEQ ID NO:79)或PFNQG(SEQ ID NO:280)的所述CDR3序列；

iii)GFTFTRYA(SEQ ID NO:27)的所述CDR1序列、ISWSGSSA(SEQ ID NO:57)的所述CDR2序列和AADPFNQGY(SEQ ID NO:90)的所述CDR3序列；

iv)GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:161)的所述CDR1序列、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:191)的所述CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:222)的所述CDR3序列；

v)TRYAMG(SEQ ID NO:171)的所述CDR1序列、FVAAISWSGSSAG(SEQ ID NO:201)的所述CDR2序列和AADPFNQG(SEQ ID NO:233)的所述CDR3序列；或者

vi)GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:181)的所述CDR1序列、AISWSGSSAG(SEQ ID NO:211)的所述CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:244)的所述CDR3序列；

j)VHH11：

i)FTTYRMG(SEQ ID NO:258)或TYRMG(SEQ ID NO:259)的所述CDR1序列、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:38)的所述CDR2序列和DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:69)的所述CDR3序列；

ii)GRTFTTY(SEQ ID NO:18)的所述CDR1序列、RWSGGR(SEQ ID NO:48)或WSGG(SEQ ID NO:268)的所述CDR2序列以及DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:80)或LAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:281)的所述CDR3序列；

iii)GRTFTTYR(SEQ ID NO:28)的所述CDR1序列、IRWSGGRT(SEQ ID NO:58)的所述CDR2序列和AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:91)的所述CDR3序列；

iv)GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:162)的所述CDR1序列、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:192)的所述CDR2序列和DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:223)的所述CDR3序列；

v)TTYRMG(SEQ ID NO:172)的所述CDR1序列、FVAAIRWSGGRTL(SEQ ID NO:202)的所述CDR2序列和AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:234)的所述CDR3序列；或者

vi)GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:182)的所述CDR1序列、AIRWSGGRTL(SEQ ID NO:212)的所述CDR2序列和DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:245)的所述CDR3序列；以及

k)VHH12：

i)FNTYAMG(SEQ ID NO:9)的所述CDR1序列、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:39)的所述CDR2序列和ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:70)的所述CDR3序列；

ii)GRTLSFNTY(SEQ ID NO:19)的所述CDR1序列、TWNGGS(SEQ ID NO:49)或WNGG(SEQ ID NO:269)的所述CDR2序列以及ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:81)或RYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:282)的所述CDR3序列；

iii)GRTLSFNTYA(SEQ ID NO:29)的所述CDR1序列、ITWNGGST(SEQ ID NO:59)的所述CDR2序列和AAARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:92)的所述CDR3序列；

iv)GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:163)的所述CDR1序列、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:193)的所述CDR2序列和ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:224)的所述CDR3序列；

v)SFNTYAMG(SEQ ID NO:173)的所述CDR1序列、FVASITWNGGSTS(SEQ ID NO:203)的所述CDR2序列和AAARYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:235)的所述CDR3序列；或者

vi)GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:183)的所述CDR1序列、SITWNGGSTS(SEQ ID NO:213)的所述CDR2序列和ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:246)的所述CDR3序列。

38.根据权利要求1至37中任一项所述的方法，其中所述单结构域抗体包含来源于包含以下序列的所述单结构域抗体中的任一种的框架的框架：QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYGGMDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:93)、EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYATWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:94)、QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:95)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIATTTIATSVKGR

FAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:96)、QVQLVESGGGLVQA GGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWNGGTTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPED TAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:97)、EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMG WYRQAPGNQRAWVAFISGGGTTTYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTV SS(SEQ ID NO:98)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTHY AESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:99)、QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGGSTTYADPVKG RFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:100)、EVQVVESGGGLVQ AGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGSSAGYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPE DTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQID NO:101)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRM GWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRTLYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSP ADSPAGYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:102)或QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWF RQAPGKEREFVASITWNGGSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPANYW GQGTQVTVSS(SEQ ID NO:103)。

39.根据权利要求1至37中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体包含框架,所述框架包含与以下序列具有至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的序列:QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTY YRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYGGMDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO: 93)、EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRST ISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYATWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:94)、QLQLVE SGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQM NSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:95)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCA VSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIATTTIATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPL TARWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:96)、QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREF VAAITWNGGTTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:97)、EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTTTYADSVKGRFTI SRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:98)、EVQVVESGGGLVQAGGS LRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVY YCASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:99)、QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAV SGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGGSTTYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQR GYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:100)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSF VAAISWSGSSAGYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:101)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRTLYADSVKGRF TISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPAGYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:102) 或QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASITWNGGSTSYADSVKGRFTITR DNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPANYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:103)。

40.根据权利要求1至39中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体包含与以下序列具有至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的序列:QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRD

NAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYGGMDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:93)、EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYATWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:94)、QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQ

MNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:95)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIATTTIATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:96)、QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWNGGTTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:97)、EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTTTYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:98)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:99)、QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGGSTTYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:100)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGSSAGYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:101)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRTLYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPAGYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:102)或QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASITWNGGSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPANYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:103)。

41.根据权利要求1至40中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与所述试剂基因融合或化学缀合。

42.根据权利要求41所述的方法,所述方法还包括在所述单结构域抗体与所述试剂之间的接头。

43.根据权利要求42所述的方法,其中所述接头是多肽。

44.根据权利要求43所述的方法,其中所述接头是包含选自由以下项组成的组的序列的柔性接头:EPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPK(SEQ ID NO:130)、(EAAAK)n(SEQ ID NO:147)、(GGGGS)n(SEQ ID NO:148)和(GGGS)n(SEQ ID NO:149),其中n是1至20的整数。

45.根据权利要求41至44中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与所述试剂化学缀合。

46.根据权利要求41至44中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与所述试剂非共价结合。

47.根据权利要求1至46中任一项所述的方法,其中所述方法不抑制pIgR介导的IgA转胞吞。

48.根据权利要求47所述的方法,其中所述单结构域抗体包含SNAMG(SEQ ID NO:3)、INVMG(SEQ ID NO:6)、TYRMG(SEQ ID NO:7)、RYAMG(SEQ ID NO:8)、FTTYRMG(SEQ ID NO:258)、TYRMG(SEQ ID NO:259)、FNTYAMG(SEQ ID NO:9)、GTSVSSN(SEQ ID NO:12)、GRTFSSY(SEQ ID NO:13)、RSIGSIN(SEQ ID NO:15)、GRTFSTY(SEQ ID NO:16)、GFTFTRY(SEQ ID NO:17)、GRTFTTY(SEQ ID NO:18)、GRTLSFNTY(SEQ ID NO:19)、GTSVSSNA(SEQ ID NO:22)、RSIGSINV(SEQ ID NO:25)、GRTFSTYR(SEQ ID NO:26)、GFTFTRYA(SEQ ID NO:27)、GRTFTTYR

(SEQ ID NO:28)、GRTLSFNTYA(SEQ ID NO:29)、GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:156)、RSIGSINVMG(SEQ ID NO:159)、GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:160)、GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:161)、GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:162)、GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:163)、SSNAMG(SEQ ID NO:166)、SINVMG(SEQ ID NO:169)、STYRMG(SEQ ID NO:170)、TRYAMG(SEQ ID NO:171)、TTYRMG(SEQ ID NO:172)、SFNTYAMG(SEQ ID NO:173)、GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:176)、RSIGSINVMG(SEQ ID NO:179)、GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:180)、GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:181)、GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:182)或GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:183)的CDR1序列。

49.根据权利要求47或权利要求48所述的方法,其中所述单结构域抗体包含FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:32)、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:35)、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:36)、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:37)、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:38)、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:39)、DRIAT(SEQ ID NO:42)、RIA(SEQ ID NO:262)、TGGGS(SEQ ID NO:45)、GGG(SEQ ID NO:265)、SWSGGS(SEQ ID NO:46)、WSGG(SEQ ID NO:266)、SWSGSS(SEQ ID NO:47)、WSGS(SEQ ID NO:267)、RWSGGR(SEQ ID NO:48)、WSGG(SEQ ID NO:268)、TWNGGS(SEQ ID NO:49)、WNGG(SEQ ID NO:269)、IDRIATT(SEQ ID NO:52)、ITGGGST(SEQ ID NO:55)、ISWSGGST(SEQ ID NO:56)、ISWSGSSA(SEQ ID NO:57)、IRWSGGRT(SEQ ID NO:58)、ITWNGGST(SEQ ID NO:59)、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:186)、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:189)、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:190)、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:191)、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:192)、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:193)、WVGFIDRIATTT(SEQ ID NO:196)、LVARITGGGSTH(SEQ ID NO:199)、FVAAISWSGGSTT(SEQ ID NO:200)、FVAAISWSGSSAG(SEQ ID NO:201)、FVAAIRWSGGRTL(SEQ ID NO:202)、FVASITWNGGSTS(SEQ ID NO:203)、FIDRIATTT(SEQ ID NO:206)、RITGGGSTH(SEQ ID NO:209)、AISWSGGSTT(SEQ ID NO:210)、AISWSGSSAG(SEQ ID NO:211)、AIRWSGGRTL(SEQ ID NO:212)或SITWNGGSTS(SEQ ID NO:213)的CDR2序列。

50.根据权利要求47至49中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体包含PLTAR(SEQ ID NO:63)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:66)、DQRGY(SEQ ID NO:67)、QRGY(SEQ ID NO:271)、DPFNQGY(SEQ ID NO:68)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:69)、ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:70)、PLTAR(SEQ ID NO:74)、LTA(SEQ ID NO:275)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:77)、VNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:278)、DQRGY(SEQ ID NO:78)、RG(SEQ ID NO:279)、DPFNQGY(SEQ ID NO:79)、PFNQG(SEQ ID NO:280)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:80)、LAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:281)、ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:81)、RYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:282)、NHPLTAR(SEQ ID NO:85)、ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:88)、NDQRGY(SEQ ID NO:89)、AADPFNQGY(SEQ ID NO:90)、AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:91)、AAARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:92)、PLTAR(SEQ ID NO:217)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:220)、QRGY(SEQ ID NO:221)、DPFNQGY(SEQ ID NO:222)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:223)、ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:224)、NHPLTA(SEQ ID NO:228)、ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:231)、NDQRG(SEQ ID NO:232)、AADPFNQG(SEQ ID NO:233)、AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:234)、AAARYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:235)、PLTAR(SEQ ID NO:239)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:242)、QRGY(SEQ ID NO:243)、

DPFNQGY(SEQ ID NO:244)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:245)或ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:246)的CDR3序列。

51.一种用于向受试者提供分子的方法,所述方法包括向所述受试者施用包含试剂和与聚合免疫球蛋白受体(pIgR)结合的单结构域抗体的分子,其中所述分子经由口服递送、经颊递送、经鼻递送或吸入递送而施用至受试者。

52.根据权利要求51所述的方法,其中所述分子能够从所述受试者中表达pIgR的细胞的顶端表面被提供至所述表达pIgR的细胞的基底外侧表面。

53.根据权利要求51或权利要求52所述的方法,其中所述分子能够从所述受试者中所述表达pIgR的细胞的基底侧表面被提供至所述表达pIgR的细胞的顶端表面。

54.根据权利要求51至53中任一项所述的方法,其中所述表达pIgR的细胞是上皮细胞。

55.根据权利要求54所述的方法,其中所述上皮细胞是肠腔细胞或气道上皮细胞。

56.根据权利要求51至55中任一项所述的方法,其中所述试剂是糖尿病药物。

57.根据权利要求56所述的方法,其中所述糖尿病药物选自由以下项组成的组:胰岛素、胰高血糖素样肽-1、胰岛素模拟肽和胰高血糖素样肽-1模拟肽。

58.根据权利要求51至55中任一项所述的方法,其中所述试剂是肽、或抗体或其片段。

59.根据权利要求58所述的方法,其中所述抗体或其片段选自由以下项组成的组:抗TNF-α抗体或其片段、抗IL23抗体或其片段以及与IL23的受体结合的抗体或其片段。

60.根据权利要求51至55中任一项所述的方法,其中所述试剂是疫苗。

61.根据权利要求60所述的方法,其中所述疫苗用于预防选自由以下项组成的组的感染:弧菌、霍乱、伤寒、轮状病毒、肺结核、HIV、流感、埃博拉病毒和仙台病毒。

62.根据权利要求51至61中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与pIgR的胞外结构域1、胞外结构域2、胞外结构域1-2、胞外结构域3、胞外结构域2-3、胞外结构域4-5或胞外结构域5结合。

63.根据权利要求51至61中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与pIgR的胞外结构域1结合。

64.根据权利要求51至61中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与pIgR的胞外结构域2结合。

65.根据权利要求51至61中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与pIgR的胞外结构域1-2结合。

66.根据权利要求51至61中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与pIgR的胞外结构域3结合。

67.根据权利要求51至61中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与pIgR的胞外结构域2-3结合。

68.根据权利要求51至61中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与pIgR的胞外结构域4-5结合。

69.根据权利要求51至61中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与pIgR的胞外结构域5结合。

70.根据权利要求51至69中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与IgA竞争结合所述pIgR。

71.根据权利要求51至69中任一项所述的方法，其中所述单结构域抗体促进IgA与所述pIgR的结合。

72.根据权利要求51至71中任一项所述的方法，其中所述单结构域抗体与pIgR结合的K_D为约4nM至约525nM。

73.根据权利要求51至71中任一项所述的方法，其中所述单结构域抗体与pIgR结合的K_D小于约50nM。

74.根据权利要求51至71中任一项所述的方法，其中所述单结构域抗体与pIgR结合的K_D为约4nM至约34nM。

75.根据权利要求51至74中任一项所述的方法，其中所述单结构域抗体的T_m为约53℃至约77℃。

76.根据权利要求51至74中任一项所述的方法，其中所述单结构域抗体的T_m为53.9℃至76.4℃。

77.根据权利要求51至76中任一项所述的方法，其中pIgR是人pIgR。

78.根据权利要求51至76中任一项所述的方法，其中pIgR是小鼠pIgR。

79.根据权利要求51至76中任一项所述的方法，其中所述单结构域抗体不与人pIgR的茎序列和/或小鼠pIgR的茎序列结合。

80.根据权利要求51至79中任一项所述的方法，其中所述单结构域抗体包含GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:60)、TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:61)、DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:62)、PLTAR(SEQ ID NO:63)、DPFNQGY(SEQ ID NO:64)、PLTSR(SEQ ID NO:65)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:66)、DQRGY(SEQ ID NO:67)、QRGY(SEQ ID NO:271)、DPFNQGY(SEQ ID NO:68)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:69)、ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:70)、GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:71)、SIDLNWYGGMD(SEQ ID NO:272)、TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:72)、TVLTDPRVLNEYA(SEQ ID NO:273)、DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:73)、VFGSSGYVET(SEQ ID NO:274)、PLTAR(SEQ ID NO:74)、LTA(SEQ ID NO:275)、DPFNQGY(SEQ ID NO:75)、PFNQG(SEQ ID NO:276)、PLTSR(SEQ ID NO:76)、LTS(SEQ ID NO:277)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:77)、VNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:278)、DQRGY(SEQ ID NO:78)、RG(SEQ ID NO:279)、DPFNQGY(SEQ ID NO:79)、PFNQG(SEQ ID NO:280)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:80)、LAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:281)、ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:81)、RYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:282)、CAAGSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:82)、AAGSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:283)、CAATTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:83)、AATTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:284)、KADVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:84)、NHPLTAR(SEQ ID NO:85)、AADPFNQGY(SEQ ID NO:86)、NHPLTSR(SEQ ID NO:87)、ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:88)、NDQRGY(SEQ ID NO:89)、AADPFNQGY(SEQ ID NO:90)、AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:91)、AAARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:92)、GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:214)、TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:215)、DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:216)、PLTAR(SEQ ID NO:217)、DPFNQGY(SEQ ID NO:218)、PLTSR(SEQ ID NO:219)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:220)、QRGY(SEQ ID NO:221)、DPFNQGY(SEQ ID NO:222)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:223)、ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:224)、AAGSIDLNWYGGMD(SEQ ID NO:225)、AATTVLTDPRVLNEYA

(SEQ ID NO:226)、KADVFGSSGYVET(SEQ ID NO:227)、NHPLTA(SEQ ID NO:228)、AADPFNQG(SEQ ID NO:229)、NHPLTS(SEQ ID NO:230)、ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:231)、NDQRG(SEQ ID NO:232)、AADPFNQG(SEQ ID NO:233)、AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:234)、AAARYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:235)、GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:236)、TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:237)、DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:238)、PLTAR(SEQ ID NO:239)、DPFNQGY(SEQ ID NO:240)、PLTSR(SEQ ID NO:241)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:242)、QRGY(SEQ ID NO:243)、DPFNQGY(SEQ ID NO:244)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:245)或ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:246)的CDR3序列。

81.根据权利要求51至80中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体包含AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:30)、RINGGGITHYAESVKG(SEQ ID NO:31)、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:32)、AITWNGGTTYYADSVKG(SEQ ID NO:33)、FISGGGTTTYADSVKG(SEQ ID NO:34)、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:35)、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:36)、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:37)、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:38)、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:39)、DWNGRGTYY(SEQ ID NO:40)、WNGRGTY(SEQ ID NO:260)、NGGGI(SEQ ID NO:41)、GGG(SEQ ID NO:261)、DRIAT(SEQ ID NO:42)、RIA(SEQ ID NO:262)、TWNGGT(SEQ ID NO:43)、WNGG(SEQ ID NO:263)、SGGGT(SEQ ID NO:44)、GGG(SEQ ID NO:264)、TGGGS(SEQ ID NO:45)、GGG(SEQ ID NO:265)、SWSGGS(SEQ ID NO:46)、WSGG(SEQ ID NO:266)、SWSGSS(SEQ ID NO:47)、WSGS(SEQ ID NO:267)、RWSGGR(SEQ ID NO:48)、WSGG(SEQ ID NO:268)、TWNGGS(SEQ ID NO:49)、WNGG(SEQ ID NO:269)、IDWNGRGTYY(SEQ ID NO:50)、IDWNGRGTYYR(SEQ ID NO:270)、INGGGIT(SEQ ID NO:51)、IDRIATT(SEQ ID NO:52)、ITWNGGTT(SEQ ID NO:53)、ISGGGTT(SEQ ID NO:54)、ITGGGST(SEQ ID NO:55)、ISWSGGST(SEQ ID NO:56)、ISWSGSSA(SEQ ID NO:57)、IRWSGGRT(SEQ ID NO:58)、ITWNGGST(SEQ ID NO:59)、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:184)、RINGGGITHYAESVKG(SEQ ID NO:185)、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:186)、AITWNGGTTYYADSVKG(SEQ ID NO:187)、FISGGGTTTYADSVKG(SEQ ID NO:188)、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:189)、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:190)、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:191)、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:192)、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:193)、FVAAIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:194)、LVARINGGGITH(SEQ ID NO:195)、WVGFIDRIATTT(SEQ ID NO:196)、FVAAITWNGGTTY(SEQ ID NO:197)、WVAFISGGGTTT(SEQ ID NO:198)、LVARITGGGSTH(SEQ ID NO:199)、FVAAISWSGGSTT(SEQ ID NO:200)、FVAAISWSGSSAG(SEQ ID NO:201)、FVAAIRWSGGRTL(SEQ ID NO:202)、FVASITWNGGSTS(SEQ ID NO:203)、AIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:204)、RINGGGITH(SEQ ID NO:205)、FIDRIATTT(SEQ ID NO:206)、AITWNGGTTY(SEQ ID NO:207)、FISGGGTTT(SEQ ID NO:208)、RITGGGSTH(SEQ ID NO:209)、AISWSGGSTT(SEQ ID NO:210)、AISWSGSSAG(SEQ ID NO:211)、AIRWSGGRTL(SEQ ID NO:212)或SITWNGGSTS(SEQ ID NO:213)的CDR2序列。

82.根据权利要求51至81中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体包含SYRMG(SEQ ID NO:1)、INVMG(SEQ ID NO:2)、SNAMG(SEQ ID NO:3)、SYAMG(SEQ ID NO:4)、SDAMG(SEQ ID NO:5)、INVMG(SEQ ID NO:6)、TYRMG(SEQ ID NO:7)、RYAMG(SEQ ID NO:8)、FTTYRMG(SEQ ID NO:258)、TYRMG(SEQ ID NO:259)、FNTYAMG(SEQ ID NO:9)、GLTFSSY(SEQ ID NO:10)、

GSIFSIN(SEQ ID NO:11)、GTSVSSN(SEQ ID NO:12)、GRTFSSY(SEQ ID NO:13)、GSSVSSD(SEQ ID NO:14)、RSIGSIN(SEQ ID NO:15)、GRTFSTY(SEQ ID NO:16)、GFTFTRY(SEQ ID NO:17)、GRTFTTY(SEQ ID NO:18)、GRTLSFNTY(SEQ ID NO:19)、GLTFSSYR(SEQ ID NO:20)、GSIFSINV(SEQ ID NO:21)、GTSVSSNA(SEQ ID NO:22)、GRTFSSYA(SEQ ID NO:23)、GSSVSSDA(SEQ ID NO:24)、RSIGSINV(SEQ ID NO:25)、GRTFSTYR(SEQ ID NO:26)、GFTFTRYA(SEQ ID NO:27)、GRTFTTYR(SEQ ID NO:28)、GRTLSFNTYA(SEQ ID NO:29)、GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:154)、GSIFSINVMG(SEQ ID NO:155)、GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:156)、GRTFSSYAMG(SEQ ID NO:157)、GSSVSSDAMG(SEQ ID NO:158)、RSIGSINVMG(SEQ ID NO:159)、GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:160)、GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:161)、GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:162)、GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:163)、SSYRMG(SEQ ID NO:164)、SINVMG(SEQ ID NO:165)、SSNAMG(SEQ ID NO:166)、SSYAMG(SEQ ID NO:167)、SSDAMG(SEQ ID NO:168)、SINVMG(SEQ ID NO:169)、STYRMG(SEQ ID NO:170)、TRYAMG(SEQ ID NO:171)、TTYRMG(SEQ ID NO:172)、SFNTYAMG(SEQ ID NO:173)、GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:174)、GSIFSINVMG(SEQ ID NO:175)、GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:176)、GRTFSSYAMG(SEQ ID NO:177)、GSSVSSDAMG(SEQ ID NO:178)、RSIGSINVMG(SEQ ID NO:179)、GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:180)、GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:181)、GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:182)或GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:183)的CDR1序列。

83.根据权利要求51至82中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体包含选自由以下项组成的组的单结构域抗体的CDR1序列、CDR2序列和CDR3序列:

a)VHH1:

i)SYRMG(SEQ ID NO:1)的所述CDR1序列、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:30)的所述CDR2序列和GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:60)的所述CDR3序列;

ii)GLTFSSY(SEQ ID NO:10)的所述CDR1序列、DWNGRGTYY(SEQ ID NO:40)或WNGRGTY(SEQ ID NO:260)的所述CDR2序列以及GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:71)或SIDLNWYGGMD(SEQ ID NO:272)的所述CDR3序列;

iii)GLTFSSYR(SEQ ID NO:20)的所述CDR1序列、IDWNGRGTYY(SEQ ID NO:50)或IDWNGRGTYYR(SEQ ID NO:270)的所述CDR2序列以及CAAGSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:82)或AAGSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:283)的所述CDR3序列;

iv)GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:154)的所述CDR1序列、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:184)的所述CDR2序列和GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:214)的所述CDR3序列;

v)SSYRMG(SEQ ID NO:164)的所述CDR1序列、FVAAIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:194)的所述CDR2序列和AAGSIDLNWYGGMD(SEQ ID NO:225)的所述CDR3序列;或者

vi)GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:174)的所述CDR1序列、AIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:204)的所述CDR2序列和GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:236)的所述CDR3序列;

b)VHH2:

i)SYRMG(SEQ ID NO:1)的所述CDR1序列、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:30)的所述CDR2序列和TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:61)的所述CDR3序列;

ii)GLTFSSY(SEQ ID NO:10)的所述CDR1序列、DWNGRGTYY(SEQ ID NO:40)或WNGRGTY(SEQ ID NO:260)的所述CDR2序列以及TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:72)或TVLTDPRVLNEYA(SEQ ID NO:273)的所述CDR3序列;

iii)GLTFSSYR(SEQ ID NO:20)的所述CDR1序列、IDWNGRGTYY(SEQ ID NO:50)或IDWNGRGTYYR(SEQ ID NO:270)的所述CDR2序列以及CAATTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:83)或AATTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:284)的所述CDR3序列;

iv)GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:154)的所述CDR1序列、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:184)的所述CDR2序列和TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:215)的所述CDR3序列;

v)SSYRMG(SEQ ID NO:164)的所述CDR1序列、FVAAIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:194)的所述CDR2序列和AATTVLTDPRVLNEYA(SEQ ID NO:226)的所述CDR3序列;或者

vi)GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:174)的所述CDR1序列、AIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:204)的所述CDR2序列和TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:237)的所述CDR3序列;

c)VHH3:

i)INVMG(SEQ ID NO:2)的所述CDR1序列、RINGGGITHYAESVKG(SEQ ID NO:31)的所述CDR2序列和DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:62)的所述CDR3序列;

ii)GSIFSIN(SEQ ID NO:11)的所述CDR1序列、NGGGI(SEQ ID NO:41)或GGG(SEQ ID NO:261)的所述CDR2序列以及DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:73)或VFGSSGYVET(SEQ ID NO:274)的所述CDR3序列;

iii)GSIFSINV(SEQ ID NO:21)的所述CDR1序列、INGGGIT(SEQ ID NO:51)的所述CDR2序列和KADVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:84)的所述CDR3序列;

iv)GSIFSINVMG(SEQ ID NO:155)的所述CDR1序列、RINGGGITHYAESVKG(SEQ ID NO:185)的所述CDR2序列和DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:216)的所述CDR3序列;

v)SINVMG(SEQ ID NO:165)的所述CDR1序列、LVARINGGGITH(SEQ ID NO:195)的所述CDR2序列和KADVFGSSGYVET(SEQ ID NO:227)的所述CDR3序列;或者

vi)GSIFSINVMG(SEQ ID NO:175)的所述CDR1序列、RINGGGITH(SEQ ID NO:205)的所述CDR2序列和DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:238)的所述CDR3序列;

d)VHH4:

i)SNAMG(SEQ ID NO:3)的所述CDR1序列、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:32)的所述CDR2序列和PLTAR(SEQ ID NO:63)的所述CDR3序列;

ii)GTSVSSN(SEQ ID NO:12)的所述CDR1序列、DRIAT(SEQ ID NO:42)或RIA(SEQ ID NO:262)的所述CDR2序列以及PLTAR(SEQ ID NO:74)或LTA(SEQ ID NO:275)的所述CDR3序列;

iii)GTSVSSNA(SEQ ID NO:22)的所述CDR1序列、IDRIATT(SEQ ID NO:52)的所述CDR2序列和NHPLTAR(SEQ ID NO:85)的所述CDR3序列;

iv)GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:156)的所述CDR1序列、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:186)的所述CDR2序列和PLTAR(SEQ ID NO:217)的所述CDR3序列;

v)SSNAMG(SEQ ID NO:166)的所述CDR1序列、WVGFIDRIATTT(SEQ ID NO:196)的所述CDR2序列和NHPLTA(SEQ ID NO:228)的所述CDR3序列;或者

vi)GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:176)的所述CDR1序列、FIDRIATTT(SEQ ID NO:206)的所述CDR2序列和PLTAR(SEQ ID NO:239)的所述CDR3序列;

e)VHH5:

i)SYAMG(SEQ ID NO:4)的所述CDR1序列、AITWNGGTTYYADSVKG(SEQ ID NO:33)的所述

CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:64)的所述CDR3序列；

ii)GRTFSSY(SEQ ID NO:13)的所述CDR1序列、TWNGGT(SEQ ID NO:43)或WNGG(SEQ ID NO:263)的所述CDR2序列以及DPFNQGY(SEQ ID NO:75)或PFNQG(SEQ ID NO:276)的所述CDR3序列；

iii)GRTFSSYA(SEQ ID NO:23)的所述CDR1序列、ITWNGGTT(SEQ ID NO:53)的所述CDR2序列和AADPFNQGY(SEQ ID NO:86)的所述CDR3序列；

iv)GRTFSSYAMG(SEQ ID NO:157)的所述CDR1序列、AITWNGGTTYYADSVKG(SEQ ID NO:187)的所述CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:218)的所述CDR3序列；

v)SSYAMG(SEQ ID NO:167)的所述CDR1序列、FVAAITWNGGTTY(SEQ ID NO:197)的所述CDR2序列和AADPFNQG(SEQ ID NO:229)的所述CDR3序列；或者

vi)GRTFSSYAMG(SEQ ID NO:177)的所述CDR1序列、AITWNGGTTY(SEQ ID NO:207)的所述CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:240)的所述CDR3序列；

f)VHH6：

i)SDAMG(SEQ ID NO:5)的所述CDR1序列、FISGGGTTTYADSVKG(SEQ ID NO:34)的所述CDR2序列和PLTSR(SEQ ID NO:65)的所述CDR3序列；

ii)GSSVSSD(SEQ ID NO:14)的所述CDR1序列、SGGGT(SEQ ID NO:44)或GGG(SEQ ID NO:264)的所述CDR2序列以及PLTSR(SEQ ID NO:76)或LTS(SEQ ID NO:277)的所述CDR3序列；

iii)GSSVSSDA(SEQ ID NO:24)的所述CDR1序列、ISGGGTT(SEQ ID NO:54)的所述CDR2序列和NHPLTSR(SEQ ID NO:87)的所述CDR3序列；

iv)GSSVSSDAMG(SEQ ID NO:158)的所述CDR1序列、FISGGGTTTYADSVKG(SEQ ID NO:188)的所述CDR2序列和PLTSR(SEQ ID NO:219)的所述CDR3序列；

v)SSDAMG(SEQ ID NO:168)的所述CDR1序列、WVAFISGGGTTT(SEQ ID NO:198)的所述CDR2序列和NHPLTS(SEQ ID NO:230)的所述CDR3序列；或者

vi)GSSVSSDAMG(SEQ ID NO:178)的所述CDR1序列、FISGGGTTT(SEQ ID NO:208)的所述CDR2序列和PLTSR(SEQ ID NO:241)的所述CDR3序列；

g)VHH7：

i)INVMG(SEQ ID NO:6)的所述CDR1序列、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:35)的所述CDR2序列和MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:66)的所述CDR3序列；

ii)RSIGSIN(SEQ ID NO:15)的CDR1序列、TGGGS(SEQ ID NO:45)或GGG(SEQ ID NO:265)的CDR2序列以及MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:77)或VNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:278)的CDR3序列；

iii)RSIGSINV(SEQ ID NO:25)的所述CDR1序列、ITGGGST(SEQ ID NO:55)的所述CDR2序列和ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:88)的所述CDR3序列；

iv)RSIGSINVMG(SEQ ID NO:159)的所述CDR1序列、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:189)的所述CDR2序列和MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:220)的所述CDR3序列；

v)SINVMG(SEQ ID NO:169)的所述CDR1序列、LVARITGGGSTH(SEQ ID NO:199)的所述CDR2序列和ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:231)的所述CDR3序列；或者

vi)RSIGSINVMG(SEQ ID NO:179)的所述CDR1序列、RITGGGSTH(SEQ ID NO:209)的所述

CDR2序列和MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:242)的所述CDR3序列；

h)VHH9：

i)TYRMG(SEQ ID NO:7)的所述CDR1序列、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:36)的所述CDR2序列以及DQRGY(SEQ ID NO:67)或QRGY(SEQ ID NO:271)的所述CDR3序列；

ii)GRTFSTY(SEQ ID NO:16)的所述CDR1序列、SWSGGS(SEQ ID NO:46)或WSGG(SEQ ID NO:266)的所述CDR2序列以及DQRGY(SEQ ID NO:78)或RG(SEQ ID NO:279)的所述CDR3序列；

iii)GRTFSTYR(SEQ ID NO:26)的所述CDR1序列、ISWSGGST(SEQ ID NO:56)的所述CDR2序列和NDQRGY(SEQ ID NO:89)的所述CDR3序列；

iv)GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:160)的所述CDR1序列、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:190)的所述CDR2序列和QRGY(SEQ ID NO:221)的所述CDR3序列；

v)STYRMG(SEQ ID NO:170)的所述CDR1序列、FVAAISWSGGSTT(SEQ ID NO:200)的所述CDR2序列和NDQRG(SEQ ID NO:232)的所述CDR3序列；或者

vi)GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:180)的所述CDR1序列、AISWSGGSTT(SEQ ID NO:210)的所述CDR2序列和QRGY(SEQ ID NO:243)的所述CDR3序列；

i)VHH10：

i)RYAMG(SEQ ID NO:8)的所述CDR1序列、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:37)的所述CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:68)的所述CDR3序列；

ii)GFTFTRY(SEQ ID NO:17)的所述CDR1序列、SWSGSS(SEQ ID NO:47)或WSGS(SEQ ID NO:267)的所述CDR2序列以及DPFNQGY(SEQ ID NO:79)或PFNQG(SEQ ID NO:280)的所述CDR3序列；

iii)GFTFTRYA(SEQ ID NO:27)的所述CDR1序列、ISWSGSSA(SEQ ID NO:57)的所述CDR2序列和AADPFNQGY(SEQ ID NO:90)的所述CDR3序列；

iv)GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:161)的所述CDR1序列、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:191)的所述CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:222)的所述CDR3序列；

v)TRYAMG(SEQ ID NO:171)的所述CDR1序列、FVAAISWSGSSAG(SEQ ID NO:201)的所述CDR2序列和AADPFNQG(SEQ ID NO:233)的所述CDR3序列；或者

vi)GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:181)的所述CDR1序列、AISWSGSSAG(SEQ ID NO:211)的所述CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:244)的所述CDR3序列；

j)VHH11：

i)FTTYRMG(SEQ ID NO:258)或TYRMG(SEQ ID NO:259)的所述CDR1序列、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:38)的所述CDR2序列和DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:69)的所述CDR3序列；

ii)GRTFTTY(SEQ ID NO:18)的所述CDR1序列、RWSGGR(SEQ ID NO:48)或WSGG(SEQ ID NO:268)的所述CDR2序列以及DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:80)或LAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:281)的所述CDR3序列；

iii)GRTFTTYR(SEQ ID NO:28)的所述CDR1序列、IRWSGGRT(SEQ ID NO:58)的所述CDR2序列和AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:91)的所述CDR3序列；

iv)GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:162)的所述CDR1序列、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:

192)的所述CDR2序列和DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:223)的所述CDR3序列;

v)TTYRMG(SEQ ID NO:172)的所述CDR1序列、FVAAIRWSGGRTL(SEQ ID NO:202)的所述CDR2序列和AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:234)的所述CDR3序列;或者

vi)GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:182)的所述CDR1序列、AIRWSGGRTL(SEQ ID NO:212)的所述CDR2序列和DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:245)的所述CDR3序列;以及

k)VHH12:

i)FNTYAMG(SEQ ID NO:9)的所述CDR1序列、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:39)的所述CDR2序列和ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:70)的所述CDR3序列;

ii)GRTLSFNTY(SEQ ID NO:19)的所述CDR1序列、TWNGGS(SEQ ID NO:49)或WNGG(SEQ ID NO:269)的所述CDR2序列以及ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:81)或RYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:282)的所述CDR3序列;

iii)GRTLSFNTYA(SEQ ID NO:29)的所述CDR1序列、ITWNGGST(SEQ ID NO:59)的所述CDR2序列和AAARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:92)的所述CDR3序列;

iv)GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:163)的所述CDR1序列、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:193)的所述CDR2序列和ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:224)的所述CDR3序列;

v)SFNTYAMG(SEQ ID NO:173)的所述CDR1序列、FVASITWNGGSTS(SEQ ID NO:203)的所述CDR2序列和AAARYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:235)的所述CDR3序列;或者

vi)GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:183)的所述CDR1序列、SITWNGGSTS(SEQ ID NO:213)的所述CDR2序列和ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:246)的所述CDR3序列。

84.根据权利要求51至83中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体包含来源于包含以下序列的所述单结构域抗体中的任一种的框架的框架:QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYGGMDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:93)、EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYATWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:94)、QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:95)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIATTTIATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:96)、QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWNGGTTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:97)、EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTTTYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:98)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:99)、QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGGSTTYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:100)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGSSAGYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:101)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRTLYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPAGYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:102)或QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGW

FRQAPGKEREFVASITWNGGSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPANY WGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:103)。

85.根据权利要求51至83中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体包含框架,所述框架包含与以下序列具有至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的序列:QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTY YRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYGGMDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO: 93)、EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRST ISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYATWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:94)、QLQLVE SGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQM NSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:95)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCA VSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIATTTIATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPL TARWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:96)、QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREF VAAITWNGGTTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:97)、EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTTTYADSVKGRFTI SRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:98)、EVQVVESGGGLVQAGGS LRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVY YCASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:99)、QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAV SGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGGSTTYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQR GYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:100)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSF VAAISWSGSSAGYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:101)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRTLYADSVKGRF TISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPAGYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:102) 或QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASITWNGGSTSYADSVKGRFTITR DNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPANYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:103)。

86.根据权利要求51至85中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体包含与以下序列具有至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的序列:QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTI SRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYGGMDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:93)、EVQVVESGG GLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQ MNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYATWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:94)、QLQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYC KADVFGSSGYVETYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:95)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGW YRQAPGKQREWVGFIDRIATTTIATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO:96)、QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWNGGTTYYA DSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:97)、EVQLVE SGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTTTYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHM NSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:98)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGS INVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAW GTIGVREIPDYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:99)、QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWF

RQAPGKERSFVAAISWSGGSTTYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:100)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGSSAGYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:101)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRTLYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPAGYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:102)或QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASITWNGGSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPANYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:103)。

87.根据权利要求51至86中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与所述试剂基因融合或化学缀合。

88.根据权利要求87所述的方法,所述方法还包括在所述单结构域抗体与所述试剂之间的接头。

89.根据权利要求88所述的方法,其中所述接头是多肽。

90.根据权利要求89所述的方法,其中所述接头是包含选自由以下项组成的组的序列的柔性接头:EPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPK(SEQ ID NO:130)、(EAAAK)n(SEQ ID NO:147)、(GGGGS)n(SEQ ID NO:148)和(GGGS)n(SEQ ID NO:149),其中n是1至20的整数。

91.根据权利要求87至90中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与所述试剂化学缀合。

92.根据权利要求87至90中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与所述试剂非共价结合。

93.根据权利要求51至92中任一项所述的方法,其中所述方法不抑制pIgR介导的IgA转胞吞。

94.根据权利要求93所述的方法,其中所述单结构域抗体包含SNAMG(SEQ ID NO:3)、INVMG(SEQ ID NO:6)、TYRMG(SEQ ID NO:7)、RYAMG(SEQ ID NO:8)、FTTYRMG(SEQ ID NO:258)、TYRMG(SEQ ID NO:259)、FNTYAMG(SEQ ID NO:9)、GTSVSSN(SEQ ID NO:12)、GRTFSSY(SEQ ID NO:13)、RSIGSIN(SEQ ID NO:15)、GRTFSTY(SEQ ID NO:16)、GFTFTRY(SEQ ID NO:17)、GRTFTTY(SEQ ID NO:18)、GRTLSFNTY(SEQ ID NO:19)、GTSVSSNA(SEQ IDNO:22)、RSIGSINV(SEQ ID NO:25)、GRTFSTYR(SEQ ID NO:26)、GFTFTRYA(SEQ ID NO:27)、GRTFTTYR(SEQ ID NO:28)、GRTLSFNTYA(SEQ ID NO:29)、GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:156)、RSIGSINVMG(SEQ ID NO:159)、GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:160)、GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:161)、GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:162)、GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:163)、SSNAMG(SEQ ID NO:166)、SINVMG(SEQ ID NO:169)、STYRMG(SEQ ID NO:170)、TRYAMG(SEQ ID NO:171)、TTYRMG(SEQ ID NO:172)、SFNTYAMG(SEQ ID NO:173)、GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:176)、RSIGSINVMG(SEQ ID NO:179)、GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:180)、GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:181)、GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:182)或GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:183)的CDR1序列。

95.根据权利要求93或权利要求94所述的方法,其中所述单结构域抗体包含FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:32)、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:35)、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:36)、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:37)、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:38)、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:39)、DRIAT(SEQ ID NO:42)、RIA(SEQ ID NO:262)、TGGGS(SEQ ID NO:45)、GGG(SEQ ID NO:265)、SWSGGS(SEQ

ID NO:46)、WSGG(SEQ ID NO:266)、SWSGSS(SEQ ID NO:47)、WSGS(SEQ ID NO:267)、RWSGGR(SEQ ID NO:48)、WSGG(SEQ ID NO:268)、TWNGGS(SEQ ID NO:49)、WNGG(SEQ ID NO:269)、IDRIATT(SEQ ID NO:52)、ITGGGST(SEQ ID NO:55)、ISWSGGST(SEQ ID NO:56)、ISWSGSSA(SEQ ID NO:57)、IRWSGGRT(SEQ ID NO:58)、ITWNGGST(SEQ ID NO:59)、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:186)、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:189)、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:190)、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:191)、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:192)、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:193)、WVGFIDRIATTT(SEQ ID NO:196)、LVARITGGGSTH(SEQ ID NO:199)、FVAAISWSGGSTT(SEQ ID NO:200)、FVAAISWSGSSAG(SEQ ID NO:201)、FVAAIRWSGGRTL(SEQ ID NO:202)、FVASITWNGGSTS(SEQ ID NO:203)、FIDRIATTT(SEQ ID NO:206)、RITGGGSTH(SEQ ID NO:209)、AISWSGGSTT(SEQ ID NO:210)、AISWSGSSAG(SEQ ID NO:211)、AIRWSGGRTL(SEQ ID NO:212)、SITWNGGSTS(SEQ ID NO:213)的CDR2序列。

96.根据权利要求93至95中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体包含PLTAR(SEQ ID NO:63)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:66)、DQRGY(SEQ ID NO:67)、QRGY(SEQ ID NO:271)、DPFNQGY(SEQ ID NO:68)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:69)、ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:70)、PLTAR(SEQ ID NO:74)、LTA(SEQ ID NO:275)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:77)、VNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:278)、DQRGY(SEQ ID NO:78)、RG(SEQ ID NO:279)、DPFNQGY(SEQ ID NO:79)、PFNQG(SEQ ID NO:280)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:80)、LAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:281)、ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:81)、RYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:282)、NHPLTAR(SEQ ID NO:85)、ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:88)、NDQRGY(SEQ ID NO:89)、AADPFNQGY(SEQ ID NO:90)、AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:91)、AAARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:92)、PLTAR(SEQ ID NO:217)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:220)、QRGY(SEQ ID NO:221)、DPFNQGY(SEQ ID NO:222)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:223)、ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:224)、NHPLTA(SEQ ID NO:228)、ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:231)、NDQRG(SEQ ID NO:232)、AADPFNQG(SEQ ID NO:233)、AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:234)、AAARYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:235)、PLTAR(SEQ ID NO:239)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:242)、QRGY(SEQ ID NO:243)、DPFNQGY(SEQ ID NO:244)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:245)或ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:246)的CDR3序列。

97.一种方法,所述方法包括向受试者提供分子的步骤。

98.根据权利要求97所述的方法,其中所述分子包含试剂和与pIgR结合的单结构域抗体。

99.根据权利要求98所述的方法,其中所述试剂是抗体或其片段、肽、疫苗、小分子、多核苷酸、放射性同位素、毒素、酶、抗凝剂、激素、细胞因子、抗炎分子、RNAi、抗生素或抗体-抗生素缀合物。

100.根据权利要求97至99中任一项所述的方法,其中所述试剂是抗体或其片段、肽或疫苗。

101.根据权利要求98至100中任一项所述的方法,其中所述单结构域抗体与所述试剂基因融合或化学缀合。

102.一种用于向受试者的固有层提供分子的系统，所述系统包括适于向所述受试者施用的分子，所述分子包含试剂和与pIgR结合的单结构域抗体，其中所述分子经由口服递送、经颊递送、经鼻递送或吸入递送或它们的组合施用至所述受试者。

103.根据权利要求102所述的系统，其中所述试剂是糖尿病药物。

104.根据权利要求103所述的系统，其中所述糖尿病药物选自由以下项组成的组：胰岛素、胰高血糖素样肽-1、胰岛素模拟肽和胰高血糖素样肽-1模拟肽。

105.根据权利要求102所述的系统，其中所述试剂是肽、或抗体或其片段。

106.根据权利要求105所述的系统，其中所述抗体或其片段选自由以下项组成的组：抗TNF-α抗体或其片段、抗IL23抗体或其片段以及与IL23的受体结合的抗体或其片段。

107.根据权利要求102所述的系统，其中所述试剂是疫苗。

108.根据权利要求107所述的系统，其中所述疫苗用于预防选自由以下项组成的组的感染：弧菌、霍乱、伤寒、轮状病毒、肺结核、HIV、流感、埃博拉病毒和仙台病毒。

109.根据权利要求102至108中任一项所述的系统，其中所述单结构域抗体与pIgR的胞外结构域1、胞外结构域2、胞外结构域1-2、胞外结构域3、胞外结构域2-3、胞外结构域4-5或胞外结构域5结合。

110.根据权利要求102至108中任一项所述的系统，其中所述单结构域抗体与pIgR的胞外结构域1结合。

111.根据权利要求102至108中任一项所述的系统，其中所述单结构域抗体与pIgR的胞外结构域2结合。

112.根据权利要求102至108中任一项所述的系统，其中所述单结构域抗体与pIgR的胞外结构域1-2结合。

113.根据权利要求102至108中任一项所述的系统，其中所述单结构域抗体与pIgR的胞外结构域3结合。

114.根据权利要求102至108中任一项所述的系统，其中所述单结构域抗体与pIgR的胞外结构域2-3结合。

115.根据权利要求102至108中任一项所述的系统，其中所述单结构域抗体与pIgR的胞外结构域4-5结合。

116.根据权利要求102至108中任一项所述的系统，其中所述单结构域抗体与pIgR的胞外结构域5结合。

117.根据权利要求102至116中任一项所述的系统，其中所述单结构域抗体与IgA竞争结合所述pIgR。

118.根据权利要求102至116中任一项所述的系统，其中所述单结构域抗体促进IgA与所述pIgR的结合。

119.根据权利要求102至118中任一项所述的系统，其中所述单结构域抗体与pIgR结合的K_D为约4nM至约525nM。

120.根据权利要求102至118中任一项所述的系统，其中所述单结构域抗体与pIgR结合的K_D小于约50nM。

121.根据权利要求102至118中任一项所述的系统，其中所述单结构域抗体与pIgR结合的K_D为约4nM至约34nM。

122.根据权利要求102至121中任一项所述的系统，其中所述单结构域抗体的T_m为约53℃至约77℃。

123.根据权利要求102至121中任一项所述的系统，其中所述单结构域抗体的T_m为53.9℃至76.4℃。

124.根据权利要求102至123中任一项所述的系统，其中pIgR是人pIgR。

125.根据权利要求102至123中任一项所述的系统，其中pIgR是小鼠pIgR。

126.根据权利要求102至123中任一项所述的系统，其中所述单结构域抗体不与人pIgR的茎序列和/或小鼠pIgR的茎序列结合。

127.根据权利要求102至126中任一项所述的系统，其中所述单结构域抗体包含GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:60)、TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:61)、DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:62)、PLTAR(SEQ ID NO:63)、DPFNQGY(SEQ ID NO:64)、PLTSR(SEQ ID NO:65)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:66)、DQRGY(SEQ ID NO:67)、QRGY(SEQ ID NO:271)、DPFNQGY(SEQ ID NO:68)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:69)、ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:70)、GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:71)、SIDLNWYGGMD(SEQ ID NO:272)、TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:72)、TVLTDPRVLNEYA(SEQ ID NO:273)、DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:73)、VFGSSGYVET(SEQ ID NO:274)、PLTAR(SEQ ID NO:74)、LTA(SEQ ID NO:275)、DPFNQGY(SEQ ID NO:75)、PFNQG(SEQ ID NO:276)、PLTSR(SEQ ID NO:76)、LTS(SEQ ID NO:277)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:77)、VNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:278)、DQRGY(SEQ ID NO:78)、RG(SEQ ID NO:279)、DPFNQGY(SEQ ID NO:79)、PFNQG(SEQ ID NO:280)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:80)、LAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:281)、ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:81)、RYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:282)、CAAGSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:82)、AAGSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:283)、CAATTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:83)、AATTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:284)、KADVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:84)、NHPLTAR(SEQ ID NO:85)、AADPFNQGY(SEQ ID NO:86)、NHPLTSR(SEQ ID NO:87)、ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:88)、NDQRGY(SEQ ID NO:89)、AADPFNQGY(SEQ ID NO:90)、AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:91)、AAARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:92)、GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:214)、TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:215)、DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:216)、PLTAR(SEQ ID NO:217)、DPFNQGY(SEQ ID NO:218)、PLTSR(SEQ ID NO:219)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:220)、QRGY(SEQ ID NO:221)、DPFNQGY(SEQ ID NO:222)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:223)、ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:224)、AAGSIDLNWYGGMD(SEQ ID NO:225)、AATTVLTDPRVLNEYA(SEQ ID NO:226)、KADVFGSSGYVET(SEQ ID NO:227)、NHPLTA(SEQ ID NO:228)、AADPFNQG(SEQ ID NO:229)、NHPLTS(SEQ ID NO:230)、ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:231)、NDQRG(SEQ ID NO:232)、AADPFNQG(SEQ ID NO:233)、AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:234)、AAARYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:235)、GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:236)、TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:237)、DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:238)、PLTAR(SEQ ID NO:239)、DPFNQGY(SEQ ID NO:240)、PLTSR(SEQ ID NO:241)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:242)、QRGY(SEQ ID NO:243)、DPFNQGY(SEQ ID NO:244)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:245)或ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:246)的CDR3序列。

128.根据权利要求102至127中任一项所述的系统，其中所述单结构域抗体包含AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:30)、RINGGGITHYAESVKG(SEQ ID NO:31)、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:32)、AITWNGGTTYYADSVKG(SEQ ID NO:33)、FISGGGTTTYADSVKG(SEQ ID NO:34)、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:35)、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:36)、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:37)、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:38)、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:39)、DWNGRGTYY(SEQ ID NO:40)、WNGRGTY(SEQ ID NO:260)、NGGGI(SEQ ID NO:41)、GGG(SEQ ID NO:261)、DRIAT(SEQ ID NO:42)、RIA(SEQ ID NO:262)、TWNGGT(SEQ ID NO:43)、WNGG(SEQ ID NO:263)、SGGGT(SEQ ID NO:44)、GGG(SEQ ID NO:264)、TGGGS(SEQ ID NO:45)、GGG(SEQ ID NO:265)、SWSGGS(SEQ ID NO:46)、WSGG(SEQ ID NO:266)、SWSGSS(SEQ ID NO:47)、WSGS(SEQ ID NO:267)、RWSGGR(SEQ ID NO:48)、WSGG(SEQ ID NO:268)、TWNGGS(SEQ ID NO:49)、WNGG(SEQ ID NO:269)、IDWNGRGTYY(SEQ ID NO:50)、IDWNGRGTYYR(SEQ ID NO:270)、INGGGIT(SEQ ID NO:51)、IDRIATT(SEQ ID NO:52)、ITWNGGTT(SEQ ID NO:53)、ISGGGTT(SEQ ID NO:54)、ITGGGST(SEQ ID NO:55)、ISWSGGST(SEQ ID NO:56)、ISWSGSSA(SEQ IDNO:57)、IRWSGGRT(SEQ ID NO:58)、ITWNGGST(SEQ ID NO:59)、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:184)、RINGGGITHYAESVKG(SEQ ID NO:185)、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:186)、AITWNGGTTYYADSVKG(SEQ ID NO:187)、FISGGGTTTYADSVKG(SEQ ID NO:188)、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:189)、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:190)、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:191)、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:192)、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:193)、FVAAIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:194)、LVARINGGGITH(SEQ ID NO:195)、WVGFIDRIATTT(SEQ ID NO:196)、FVAAITWNGGTTY(SEQ ID NO:197)、WVAFISGGGTTT(SEQ ID NO:198)、LVARITGGGSTH(SEQ ID NO:199)、FVAAISWSGGSTT(SEQ ID NO:200)、FVAAISWSGSSAG(SEQ ID NO:201)、FVAAIRWSGGRTL(SEQ ID NO:202)、FVASITWNGGSTS(SEQ ID NO:203)、AIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:204)、RINGGGITH(SEQ ID NO:205)、FIDRIATTT(SEQ ID NO:206)、AITWNGGTTY(SEQ ID NO:207)、FISGGGTTT(SEQ ID NO:208)、RITGGGSTH(SEQ ID NO:209)、AISWSGGSTT(SEQ ID NO:210)、AISWSGSSAG(SEQ ID NO:211)、AIRWSGGRTL(SEQ ID NO:212)或SITWNGGSTS(SEQ ID NO:213)的CDR2序列。

129.根据权利要求102至128中任一项所述的系统，其中所述单结构域抗体包含SYRMG(SEQ ID NO:1)、INVMG(SEQ ID NO:2)、SNAMG(SEQ ID NO:3)、SYAMG(SEQ ID NO:4)、SDAMG(SEQ ID NO:5)、INVMG(SEQ ID NO:6)、TYRMG(SEQ ID NO:7)、RYAMG(SEQ ID NO:8)、FTTYRMG(SEQ ID NO:258)、TYRMG(SEQ ID NO:259)、FNTYAMG(SEQ ID NO:9)、GLTFSSY(SEQ ID NO:10)、GSIFSIN(SEQ ID NO:11)、GTSVSSN(SEQ ID NO:12)、GRTFSSY(SEQ ID NO:13)、GSSVSSD(SEQ ID NO:14)、RSIGSIN(SEQ ID NO:15)、GRTFSTY(SEQ ID NO:16)、GFTFTRY(SEQ ID NO:17)、GRTFTTY(SEQ ID NO:18)、GRTLSFNTY(SEQ ID NO:19)、GLTFSSYR(SEQ ID NO:20)、GSIFSINV(SEQ ID NO:21)、GTSVSSNA(SEQ ID NO:22)、GRTFSSYA(SEQ ID NO:23)、GSSVSSDA(SEQ ID NO:24)、RSIGSINV(SEQ ID NO:25)、GRTFSTYR(SEQ ID NO:26)、GFTFTRYA(SEQ ID NO:27)、GRTFTTYR(SEQ ID NO:28)、GRTLSFNTYA(SEQ ID NO:29)、GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:154)、GSIFSINVMG(SEQ ID NO:155)、GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:156)、GRTFSSYAMG(SEQ ID NO:157)、GSSVSSDAMG(SEQ ID NO:158)、RSIGSINVMG(SEQ ID NO:159)、GRTFSTYRMG(SEQ

ID NO:160)、GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:161)、GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:162)、GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:163)、SSYRMG(SEQ ID NO:164)、SINVMG(SEQ ID NO:165)、SSNAMG(SEQ ID NO:166)、SSYAMG(SEQ ID NO:167)、SSDAMG(SEQ ID NO:168)、SINVMG(SEQ ID NO:169)、STYRMG(SEQ ID NO:170)、TRYAMG(SEQ ID NO:171)、TTYRMG(SEQ ID NO:172)、SFNTYAMG(SEQ ID NO:173)、GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:174)、GSIFSINVMG(SEQ ID NO:175)、GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:176)、GRTFSSYAMG(SEQ ID NO:177)、GSSVSSDAMG(SEQ ID NO:178)、RSIGSINVMG(SEQ ID NO:179)、GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:180)、GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:181)、GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:182)或GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:183)的CDR1序列。

130.根据权利要求102至129中任一项所述的系统,其中所述单结构域抗体包含选自由以下项组成的组的单结构域抗体的CDR1序列、CDR2序列和CDR3序列:

a)VHH1:

i)SYRMG(SEQ ID NO:1)的所述CDR1序列、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:30)的所述CDR2序列和GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:60)的所述CDR3序列;

ii)GLTFSSY(SEQ ID NO:10)的所述CDR1序列、DWNGRGTYY(SEQ ID NO:40)或WNGRGTY(SEQ ID NO:260)的所述CDR2序列以及GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:71)或SIDLNWYGGMD(SEQ ID NO:272)的所述CDR3序列;

iii)GLTFSSYR(SEQ ID NO:20)的所述CDR1序列、IDWNGRGTYY(SEQ ID NO:50)或IDWNGRGTYYR(SEQ ID NO:270)的所述CDR2序列以及CAAGSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:82)或AAGSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:283)的所述CDR3序列;

iv)GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:154)的所述CDR1序列、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:184)的所述CDR2序列和GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:214)的所述CDR3序列;

v)SSYRMG(SEQ ID NO:164)的所述CDR1序列、FVAAIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:194)的所述CDR2序列和AAGSIDLNWYGGMD(SEQ ID NO:225)的所述CDR3序列;或者

vi)GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:174)的所述CDR1序列、AIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:204)的所述CDR2序列和GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:236)的所述CDR3序列;

b)VHH2:

i)SYRMG(SEQ ID NO:1)的所述CDR1序列、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:30)的所述CDR2序列和TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:61)的所述CDR3序列;

ii)GLTFSSY(SEQ ID NO:10)的所述CDR1序列、DWNGRGTYY(SEQ ID NO:40)或WNGRGTY(SEQ ID NO:260)的所述CDR2序列以及TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:72)或TVLTDPRVLNEYA(SEQ ID NO:273)的所述CDR3序列;

iii)GLTFSSYR(SEQ ID NO:20)的所述CDR1序列、IDWNGRGTYY(SEQ ID NO:50)或IDWNGRGTYYR(SEQ ID NO:270)的所述CDR2序列以及CAATTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:83)或AATTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:284)的所述CDR3序列;

iv)GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:154)的所述CDR1序列、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:184)的所述CDR2序列和TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:215)的所述CDR3序列;

v)SSYRMG(SEQ ID NO:164)的所述CDR1序列、FVAAIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:194)的所述CDR2序列和AATTVLTDPRVLNEYA(SEQ ID NO:226)的所述CDR3序列;或者

vi)GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:174)的所述CDR1序列、AIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:204)的

所述CDR2序列和TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:237)的所述CDR3序列；

c)VHH3：

i)INVMG(SEQ ID NO:2)的所述CDR1序列、RINGGGITHYAESVKG(SEQ ID NO:31)的所述CDR2序列和DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:62)的所述CDR3序列；

ii)GSIFSIN(SEQ ID NO:11)的所述CDR1序列、NGGGI(SEQ ID NO:41)或GGG(SEQ ID NO:261)的所述CDR2序列以及DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:73)或VFGSSGYVET(SEQ ID NO:274)的所述CDR3序列；

iii)GSIFSINV(SEQ ID NO:21)的所述CDR1序列、INGGGIT(SEQ ID NO:51)的所述CDR2序列和KADVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:84)的所述CDR3序列；

iv)GSIFSINVMG(SEQ ID NO:155)的所述CDR1序列、RINGGGITHYAESVKG(SEQ ID NO:185)的所述CDR2序列和DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:216)的所述CDR3序列；

v)SINVMG(SEQ ID NO:165)的所述CDR1序列、LVARINGGGITH(SEQ ID NO:195)的所述CDR2序列和KADVFGSSGYVET(SEQ ID NO:227)的所述CDR3序列;或者

vi)GSIFSINVMG(SEQ ID NO:175)的所述CDR1序列、RINGGGITH(SEQ ID NO:205)的所述CDR2序列和DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:238)的所述CDR3序列；

d)VHH4：

i)SNAMG(SEQ ID NO:3)的所述CDR1序列、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:32)的所述CDR2序列和PLTAR(SEQ ID NO:63)的所述CDR3序列；

ii)GTSVSSN(SEQ ID NO:12)的所述CDR1序列、DRIAT(SEQ ID NO:42)或RIA(SEQ ID NO:262)的所述CDR2序列以及PLTAR(SEQ ID NO:74)或LTA(SEQ ID NO:275)的所述CDR3序列；

iii)GTSVSSNA(SEQ ID NO:22)的所述CDR1序列、IDRIATT(SEQ ID NO:52)的所述CDR2序列和NHPLTAR(SEQ ID NO:85)的所述CDR3序列；

iv)GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:156)的所述CDR1序列、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:186)的所述CDR2序列和PLTAR(SEQ ID NO:217)的所述CDR3序列；

v)SSNAMG(SEQ ID NO:166)的所述CDR1序列、WVGFIDRIATTT(SEQ ID NO:196)的所述CDR2序列和NHPLTA(SEQ ID NO:228)的所述CDR3序列;或者

vi)GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:176)的所述CDR1序列、FIDRIATTT(SEQ ID NO:206)的所述CDR2序列和PLTAR(SEQ ID NO:239)的所述CDR3序列；

e)VHH5：

i)SYAMG(SEQ ID NO:4)的所述CDR1序列、AITWNGGTTYYADSVKG(SEQ ID NO:33)的所述CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:64)的所述CDR3序列；

ii)GRTFSSY(SEQ ID NO:13)的所述CDR1序列、TWNGGT(SEQ ID NO:43)或WNGG(SEQ ID NO:263)的所述CDR2序列以及DPFNQGY(SEQ ID NO:75)或PFNQG(SEQ ID NO:276)的所述CDR3序列；

iii)GRTFSSYA(SEQ ID NO:23)的所述CDR1序列、ITWNGGTT(SEQ ID NO:53)的所述CDR2序列和AADPFNQGY(SEQ ID NO:86)的所述CDR3序列；

iv)GRTFSSYAMG(SEQ ID NO:157)的所述CDR1序列、AITWNGGTTYYADSVKG(SEQ ID NO:187)的所述CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:218)的所述CDR3序列；

v)SSYAMG(SEQ ID NO:167)的所述CDR1序列、FVAAITWNGGTTY(SEQ ID NO:197)的所述CDR2序列和AADPFNQG(SEQ ID NO:229)的所述CDR3序列;或者

vi)GRTFSSYAMG(SEQ ID NO:177)的所述CDR1序列、AITWNGGTTY(SEQ ID NO:207)的所述CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:240)的所述CDR3序列;

f)VHH6:

i)SDAMG(SEQ ID NO:5)的所述CDR1序列、FISGGGTTTYADSVKG(SEQ ID NO:34)的所述CDR2序列和PLTSR(SEQ ID NO:65)的所述CDR3序列;

ii)GSSVSSD(SEQ ID NO:14)的所述CDR1序列、SGGGT(SEQ ID NO:44)或GGG(SEQ ID NO:264)的所述CDR2序列以及PLTSR(SEQ ID NO:76)或LTS(SEQ ID NO:277)的所述CDR3序列;

iii)GSSVSSDA(SEQ ID NO:24)的所述CDR1序列、ISGGGTT(SEQ ID NO:54)的所述CDR2序列和NHPLTSR(SEQ ID NO:87)的所述CDR3序列;

iv)GSSVSSDAMG(SEQ ID NO:158)的所述CDR1序列、FISGGGTTTYADSVKG(SEQ ID NO:188)的所述CDR2序列和PLTSR(SEQ ID NO:219)的所述CDR3序列;

v)SSDAMG(SEQ ID NO:168)的所述CDR1序列、WVAFISGGGTTT(SEQ ID NO:198)的所述CDR2序列和NHPLTS(SEQ ID NO:230)的所述CDR3序列;或者

vi)GSSVSSDAMG(SEQ ID NO:178)的所述CDR1序列、FISGGGTTT(SEQ ID NO:208)的所述CDR2序列和PLTSR(SEQ ID NO:241)的所述CDR3序列;

g)VHH7:

i)INVMG(SEQ ID NO:6)的所述CDR1序列、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:35)的所述CDR2序列和MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:66)的所述CDR3序列;

ii)RSIGSIN(SEQ ID NO:15)的CDR1序列、TGGGS(SEQ ID NO:45)或GGG(SEQ ID NO:265)的CDR2序列以及MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:77)或VNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:278)的CDR3序列;

iii)RSIGSINV(SEQ ID NO:25)的所述CDR1序列、ITGGGST(SEQ ID NO:55)的所述CDR2序列和ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:88)的所述CDR3序列;

iv)RSIGSINVMG(SEQ ID NO:159)的所述CDR1序列、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:189)的所述CDR2序列和MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:220)的所述CDR3序列;

v)SINVMG(SEQ ID NO:169)的所述CDR1序列、LVARITGGGSTH(SEQ ID NO:199)的所述CDR2序列和ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:231)的所述CDR3序列;或者

vi)RSIGSINVMG(SEQ ID NO:179)的所述CDR1序列、RITGGGSTH(SEQ ID NO:209)的所述CDR2序列和MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:242)的所述CDR3序列;

h)VHH9:

i)TYRMG(SEQ ID NO:7)的所述CDR1序列、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:36)的所述CDR2序列以及DQRGY(SEQ ID NO:67)或QRGY(SEQ ID NO:271)的所述CDR3序列;

ii)GRTFSTY(SEQ ID NO:16)的所述CDR1序列、SWSGGS(SEQ ID NO:46)或WSGG(SEQ ID NO:266)的所述CDR2序列以及DQRGY(SEQ ID NO:78)或RG(SEQ ID NO:279)的所述CDR3序列;

iii)GRTFSTYR(SEQ ID NO:26)的所述CDR1序列、ISWSGGST(SEQ ID NO:56)的所述CDR2

序列和NDQRGY(SEQ ID NO:89)的所述CDR3序列；

iv)GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:160)的所述CDR1序列、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:190)的所述CDR2序列和QRGY(SEQ ID NO:221)的所述CDR3序列；

v)STYRMG(SEQ ID NO:170)的所述CDR1序列、FVAAISWSGGSTT(SEQ ID NO:200)的所述CDR2序列和NDQRG(SEQ ID NO:232)的所述CDR3序列；或者

vi)GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:180)的所述CDR1序列、AISWSGGSTT(SEQ ID NO:210)的所述CDR2序列和QRGY(SEQ ID NO:243)的所述CDR3序列；

i)VHH10：

i)RYAMG(SEQ ID NO:8)的所述CDR1序列、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:37)的所述CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:68)的所述CDR3序列；

ii)GFTFTRY(SEQ ID NO:17)的所述CDR1序列、SWSGSS(SEQ ID NO:47)或WSGS(SEQ ID NO:267)的所述CDR2序列以及DPFNQGY(SEQ ID NO:79)或PFNQG(SEQ ID NO:280)的所述CDR3序列；

iii)GFTFTRYA(SEQ ID NO:27)的所述CDR1序列、ISWSGSSA(SEQ ID NO:57)的所述CDR2序列和AADPFNQGY(SEQ ID NO:90)的所述CDR3序列；

iv)GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:161)的所述CDR1序列、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:191)的所述CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:222)的所述CDR3序列；

v)TRYAMG(SEQ ID NO:171)的所述CDR1序列、FVAAISWSGSSAG(SEQ ID NO:201)的所述CDR2序列和AADPFNQG(SEQ ID NO:233)的所述CDR3序列；或者

vi)GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:181)的所述CDR1序列、AISWSGSSAG(SEQ ID NO:211)的所述CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:244)的所述CDR3序列；

j)VHH11：

i)FTTYRMG(SEQ ID NO:258)或TYRMG(SEQ ID NO:259)的所述CDR1序列、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:38)的所述CDR2序列和DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:69)的所述CDR3序列；

ii)GRTFTTY(SEQ ID NO:18)的所述CDR1序列、RWSGGR(SEQ ID NO:48)或WSGG(SEQ ID NO:268)的所述CDR2序列以及DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:80)或LAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:281)的所述CDR3序列；

iii)GRTFTTYR(SEQ ID NO:28)的所述CDR1序列、IRWSGGRT(SEQ ID NO:58)的所述CDR2序列和AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:91)的所述CDR3序列；

iv)GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:162)的所述CDR1序列、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:192)的所述CDR2序列和DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:223)的所述CDR3序列；

v)TTYRMG(SEQ ID NO:172)的所述CDR1序列、FVAAIRWSGGRTL(SEQ ID NO:202)的所述CDR2序列和AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:234)的所述CDR3序列；或者

vi)GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:182)的所述CDR1序列、AIRWSGGRTL(SEQ ID NO:212)的所述CDR2序列和DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:245)的所述CDR3序列；以及

k)VHH12：

i)FNTYAMG(SEQ ID NO:9)的所述CDR1序列、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:39)的所述CDR2序列和ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:70)的所述CDR3序列；

ii)GRTLSFNTY(SEQ ID NO:19)的所述CDR1序列、TWNGGS(SEQ ID NO:49)或WNGG(SEQ ID NO:269)的所述CDR2序列以及ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:81)或RYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:282)的所述CDR3序列；

iii)GRTLSFNTYA(SEQ ID NO:29)的所述CDR1序列、ITWNGGST(SEQ ID NO:59)的所述CDR2序列和AAARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:92)的所述CDR3序列；

iv)GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:163)的所述CDR1序列、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:193)的所述CDR2序列和ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:224)的所述CDR3序列；

v)SFNTYAMG(SEQ ID NO:173)的所述CDR1序列、FVASITWNGGSTS(SEQ ID NO:203)的所述CDR2序列和AAARYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:235)的所述CDR3序列；或者

vi)GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:183)的所述CDR1序列、SITWNGGSTS(SEQ ID NO:213)的所述CDR2序列和ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:246)的所述CDR3序列。

131.根据权利要求102至130中任一项所述的系统，其中所述单结构域抗体包含来源于包含以下序列的所述单结构域抗体中的任一种的框架的框架：QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYGGMDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:93)、EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYATWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:94)、QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:95)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIATTTIATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:96)、QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWNGGTTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:97)、EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTTTYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:98)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:99)、QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGGSTTYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:100)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGSSAGYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:101)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRTLYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPAGYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:102)或QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASITWNGGSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPANYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:103)。

132.根据权利要求102至130中任一项所述的系统，其中所述单结构域抗体包含框架，所述框架包含与以下序列具有至少75％、80％、85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％或100％序列同一性的序列：QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYGGMDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:93)、EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYATWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:94)、

QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHYAESVKGRFTISRDNAKN TVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:95)、EVQVVESGGGLVQAGGS LRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIATTTIATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVY YCNHPLTARWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:96)、QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAP GKEREFVAAITWNGGTTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO:97)、EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTTTYAD SVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:98)、EVQVVESGG GLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSL EPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:99)、QVQLVESGGGLVQAGG SLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGGSTTYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTA VYYCNDQRGYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:100)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQ APGKERSFVAAISWSGSSAGYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO:101)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRTLY ADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPAGYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:102)或QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASITWNGGSTSYADSVK GRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPANYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:103)。

133.根据权利要求102至132中任一项所述的系统,其中所述单结构域抗体包含与以下序列具有至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的序列:QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTI SRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYGGMDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:93)、EVQVVESGG GLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQ MNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYATWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:94)、QLQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYC KADVFGSSGYVETYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:95)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGW YRQAPGKQREWVGFIDRIATTTIATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO:96)、QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWNGGTTYYA DSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:97)、EVQLVE SGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTTTYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHM NSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:98)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGS INVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAW GTIGVREIPDYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:99)、QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWF RQAPGKERSFVAAISWSGGSTTYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:100)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGSSAGY GDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:101)、EVQV VESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRTLYADSVKGRFTISRDNAKNTAY LQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPAGYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:102)或QVQLVETGG GLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASITWNGGSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRM NSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPANYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:103)。

134.根据权利要求102至133中任一项所述的系统,其中所述单结构域抗体与所述试剂

基因融合或化学缀合。

135.根据权利要求134所述的系统,所述系统还包括在所述单结构域抗体与所述试剂之间的接头。

136.根据权利要求135所述的系统,其中所述接头是多肽。

137.根据权利要求136所述的系统,其中所述接头是包含选自由以下项组成的组的序列的柔性接头:EPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPK(SEQ ID NO:130)、(EAAAK)n(SEQ ID NO:147)、(GGGGS)n(SEQ ID NO:147)和(GGGS)n(SEQ ID NO:149),其中n是1至20的整数。

138.根据权利要求134至137中任一项所述的系统,其中所述单结构域抗体与所述试剂化学缀合。

139.根据权利要求134至137中任一项所述的系统,其中所述单结构域抗体与所述试剂非共价结合。

140.根据权利要求102至139中任一项所述的系统,其中所述系统不抑制pIgR介导的IgA转胞吞。

141.根据权利要求140所述的系统,其中所述单结构域抗体包含SNAMG(SEQ ID NO:3)、INVMG(SEQ ID NO:6)、TYRMG(SEQ ID NO:7)、RYAMG(SEQ ID NO:8)、FTTYRMG(SEQ ID NO:258)、TYRMG(SEQ ID NO:259)、FNTYAMG(SEQ ID NO:9)、GTSVSSN(SEQ ID NO:12)、GRTFSSY(SEQ ID NO:13)、RSIGSIN(SEQ ID NO:15)、GRTFSTY(SEQ ID NO:16)、GFTFTRY(SEQ ID NO:17)、GRTFTTY(SEQ ID NO:18)、GRTLSFNTY(SEQ ID NO:19)、GTSVSSNA(SEQ ID NO:22)、RSIGSINV(SEQ ID NO:25)、GRTFSTYR(SEQ ID NO:26)、GFTFTRYA(SEQ ID NO:27)、GRTFTTYR(SEQ ID NO:28)、GRTLSFNTYA(SEQ ID NO:29)、GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:156)、RSIGSINVMG(SEQ ID NO:159)、GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:160)、GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:161)、GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:162)、GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:163)、SSNAMG(SEQ ID NO:166)、SINVMG(SEQ ID NO:169)、STYRMG(SEQ ID NO:170)、TRYAMG(SEQ ID NO:171)、TTYRMG(SEQ ID NO:172)、SFNTYAMG(SEQ ID NO:173)、GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:176)、RSIGSINVMG(SEQ ID NO:179)、GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:180)、GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:181)、GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:182)或GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:183)的CDR1序列。

142.根据权利要求140或权利要求141所述的系统,其中所述单结构域抗体包含FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:32)、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:35)、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:36)、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:37)、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:38)、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:39)、DRIAT(SEQ ID NO:42)、RIA(SEQ ID NO:262)、TGGGS(SEQ ID NO:45)、GGG(SEQ ID NO:265)、SWSGGS(SEQ ID NO:46)、WSGG(SEQ ID NO:266)、SWSGSS(SEQ ID NO:47)、WSGS(SEQ ID NO:267)、RWSGGR(SEQ ID NO:48)、WSGG(SEQ ID NO:268)、TWNGGS(SEQ ID NO:49)、WNGG(SEQ ID NO:269)、IDRIATT(SEQ ID NO:52)、ITGGGST(SEQ ID NO:55)、ISWSGGST(SEQ ID NO:56)、ISWSGSSA(SEQ ID NO:57)、IRWSGGRT(SEQ ID NO:58)、ITWNGGST(SEQ ID NO:59)、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:186)、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:189)、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:190)、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:191)、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:192)、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:193)、WVGFIDRIATTT(SEQ ID NO:196)、LVARITGGGSTH(SEQ ID NO:199)、FVAAISWSGGSTT(SEQ ID NO:200)、FVAAISWSGSSAG(SEQ ID NO:201)、

FVAAIRWSGGRTL(SEQ ID NO:202)、FVASITWNGGSTS(SEQ ID NO:203)、FIDRIATTT(SEQ ID NO:206)、RITGGGSTH(SEQ ID NO:209)、AISWSGGSTT(SEQ ID NO:210)、AISWSGSSAG(SEQ ID NO:211)、AIRWSGGRTL(SEQ ID NO:212)、SITWNGGSTS(SEQ ID NO:213)的CDR2序列。

143.根据权利要求140至142中任一项所述的系统,其中所述单结构域抗体包含PLTAR(SEQ ID NO:63)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:66)、DQRGY(SEQ ID NO:67)、QRGY(SEQ ID NO:271)、DPFNQGY(SEQ ID NO:68)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:69)、ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:70)、PLTAR(SEQ ID NO:74)、LTA(SEQ ID NO:275)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:77)、VNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:278)、DQRGY(SEQ ID NO:78)、RG(SEQ ID NO:279)、DPFNQGY(SEQ ID NO:79)、PFNQG(SEQ ID NO:280)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:80)、LAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:281)、ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:81)、RYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:282)、NHPLTAR(SEQ ID NO:85)、ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:88)、NDQRGY(SEQ ID NO:89)、AADPFNQGY(SEQ ID NO:90)、AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:91)、AAARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:92)、PLTAR(SEQ ID NO:217)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:220)、QRGY(SEQ ID NO:221)、DPFNQGY(SEQ ID NO:222)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:223)、ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:224)、NHPLTA(SEQ ID NO:228)、ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:231)、NDQRG(SEQ ID NO:232)、AADPFNQG(SEQ ID NO:233)、AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:234)、AAARYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:235)、PLTAR(SEQ ID NO:239)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:242)、QRGY(SEQ ID NO:243)、DPFNQGY(SEQ ID NO:244)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:245)或ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:246)的CDR3序列。

144.一种系统,所述系统包括用于向受试者的固有层提供分子的装置。

145.根据权利要求144所述的系统,其中所述分子包含试剂和与pIgR结合的单结构域抗体。

146.根据权利要求145所述的系统,其中所述试剂是抗体或其片段、肽、疫苗、小分子、多核苷酸、放射性同位素、毒素、酶、抗凝剂、激素、细胞因子、抗炎分子、RNAi、抗生素或抗体-抗生素缀合物。

147.根据权利要求144至146中任一项所述的系统,其中所述试剂是抗体或其片段、肽或疫苗。

148.根据权利要求145至147中任一项所述的系统,其中所述单结构域抗体与所述试剂基因融合或化学缀合。

用于多向生物转运的材料和方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2019年11月25日提交的美国临时专利申请号62/940,232、2019年11月25日提交的美国临时专利申请号62/940,228、2019年11月25日提交的美国临时专利申请号62/940,220、2019年11月25日提交的美国临时专利申请号62/940,208、2019年11月25日提交的美国临时专利申请号62/940,206、2019年11月25日提交的美国临时专利申请号62/940,200、2019年11月25日提交的美国临时专利申请号62/940,196、2019年8月2日提交的美国临时专利申请号62/882,387、2019年8月2日提交的美国临时专利申请号62/882,361、2019年8月2日提交的美国临时专利申请号62/882,346和2019年8月2日提交的美国临时专利申请号62/882,291的权益,这些临时专利申请中的每个临时专利申请以引用的方式全文并入本文。

[0003] 序列表

[0004] 与本申请一起提交的作为文本格式的序列表以引用方式并入本申请,该序列表的标题为"14620-204-228_SL.txt",在2020年7月28日创建,大小为169,502字节。

1.技术领域

[0005] 本文提供了单结构域抗体(例如VHH结构域)及其用于递送试剂(例如,治疗剂)的用途,包括通过将该试剂从表达聚合免疫球蛋白受体(pIgR)的细胞的顶端表面转运至该表达pIgR的细胞的基底外侧表面。

2.背景技术

[0006] 生物制剂已成为药物领域的驱动力,其具有越来越大的潜力来解决许多疾病、障碍和病症,包括慢性疾病和各种未满足的医疗需求。实际上,开发中的生物制剂的数量持续呈指数增加,特别是在癌症和癌症相关病症、罕见疾病、神经障碍和免疫或炎性疾病、障碍和病症(包括自身免疫障碍)的治疗领域中。

[0007] 然而,生物制剂的递送是具有挑战性的,部分是由于它们的分子量和复杂性。尽管合成的小分子药物的分子量在几百至可能几千道尔顿(Da)的范围内,但生物制剂的分子量可达到150,000Da以上。它们相对大的尺寸限制了它们跨上皮的转运,包括通过粘膜上皮屏障的转运,并且对于生物制剂到达和通过粘膜存在转运挑战。因此,最普遍的施用模式是侵入性施用,经常需要在昂贵的保健环境中的健康专业人员的服务。因此,本领域需要有效的药物施用方法,特别是用于通过侵入性较小或非侵入性途径诸如口服递送、经颊递送、经鼻递送或吸入递送的生物制剂。

3.发明内容

[0008] 在一个方面,本文提供了一种用于从表达聚合免疫球蛋白受体(pIgR)的细胞的顶端表面递送至表达pIgR的细胞的基底外侧表面的方法,该方法包括使表达pIgR的细胞与(i)与pIgR结合的单结构域抗体或(ii)包含试剂和该单结构域抗体的治疗性分子接触。

[0009] 在另一方面，本文提供了一种用于将治疗性分子转运至受试者的表达pIgR的细胞的基底外侧表面的方法，该方法包括向受试者施用包含试剂和单结构域抗体的治疗性分子。在一些实施方案中，治疗性分子经由口服递送、经颊递送、经鼻递送或吸入递送而施用至受试者。在一些实施方案中，治疗剂从受试者中表达pIgR的细胞的顶端表面转运至表达pIgR的细胞的基底外侧表面。

[0010] 在另一方面，本文提供了一种用于将治疗性分子转运至受试者的体循环的方法，该方法包括向受试者施用包含试剂和单结构域抗体的治疗性分子，其中该治疗性分子经由口服递送、经颊递送、经鼻递送或吸入递送而施用至受试者。在一些实施方案中，治疗剂从受试者中表达pIgR的细胞的顶端表面转运至表达pIgR的细胞的基底外侧表面。

[0011] 在另一方面，本文提供了一种用于将治疗性分子转运至受试者的固有层或胃肠道的方法，该方法包括向受试者施用包含试剂和单结构域抗体的治疗性分子，其中该治疗性分子经由口服递送、经颊递送、经鼻递送或吸入递送而施用至受试者。在一些实施方案中，治疗剂从受试者中表达pIgR的细胞的顶端表面转运至表达pIgR的细胞的基底外侧表面。

[0012] 在一些实施方案中，单结构域抗体或包含试剂和单结构域抗体的治疗性分子能够从表达pIgR的细胞的基底外侧表面被转运至表达pIgR的细胞的顶端表面。

[0013] 在一些实施方案中，表达pIgR的细胞是上皮细胞。在一些实施方案中，上皮细胞是肠腔细胞或气道上皮细胞。

[0014] 在一些实施方案中，试剂是糖尿病药物。在一些实施方案中，糖尿病药物选自由以下项组成的组：胰岛素、胰高血糖素样肽-1、胰岛素模拟肽和胰高血糖素样肽-1模拟肽。

[0015] 在一些实施方案中，试剂是肽或抗体或其片段。在一些实施方案中，抗体或其片段选自由以下项组成的组：抗TNF-α抗体或其片段、抗IL23抗体或其片段以及结合IL23的受体的抗体或其片段。

[0016] 在一些实施方案中，试剂是疫苗。在一些实施方案中，疫苗用于预防选自由以下项组成的组的感染：弧菌、霍乱、伤寒、轮状病毒、肺结核、HIV、流感、埃博拉病毒和仙台病毒。

[0017] 在另一方面，本文提供了一种用于向受试者提供分子的方法，该方法包括向受试者施用包含试剂和与聚合免疫球蛋白受体(pIgR)结合的单结构域抗体的分子，其中该分子经由口服递送、经颊递送、经鼻递送或吸入递送而施用至受试者。

[0018] 在一些实施方案中，该分子能够从受试者中表达pIgR的细胞的顶端表面被提供至表达pIgR的细胞的基底外侧表面。

[0019] 在一些实施方案中，该分子能够从受试者中表达pIgR的细胞的基底外侧表面被提供至表达pIgR的细胞的顶端表面。

[0020] 在一些实施方案中，表达pIgR的细胞是上皮细胞。在一些实施方案中，上皮细胞是肠腔细胞或气道上皮细胞。

[0021] 在一些实施方案中，试剂是糖尿病药物。在一些实施方案中，糖尿病药物选自由以下项组成的组：胰岛素、胰高血糖素样肽-1、胰岛素模拟肽和胰高血糖素样肽-1模拟肽。

[0022] 在一些实施方案中，试剂是肽或抗体或其片段。在一些实施方案中，抗体或其片段选自由以下项组成的组：抗TNF-α抗体或其片段、抗IL23抗体或其片段以及结合IL23的受体的抗体或其片段。

[0023] 在一些实施方案中，试剂是疫苗。在一些实施方案中，疫苗用于预防选自由以下项

组成的组的感染:弧菌、霍乱、伤寒、轮状病毒、肺结核、HIV、流感、埃博拉病毒和仙台病毒。

[0024] 在另一方面,本文提供了一种方法,该方法包括向受试者提供分子的步骤。

[0025] 在一些实施方案中,该分子包含试剂和与pIgR结合的单结构域抗体。

[0026] 在一些实施方案中,试剂是抗体或其片段、肽、疫苗、小分子、多核苷酸、放射性同位素、毒素、酶、抗凝剂、激素、细胞因子、抗炎分子、RNAi、抗生素或抗体-抗生素缀合物。

[0027] 在一些实施方案中,试剂是抗体或其片段、肽或疫苗。

[0028] 在一些实施方案中,单结构域抗体与试剂基因融合或化学缀合。

[0029] 在一个方面,本文提供了一种用于向受试者的固有层或胃肠道提供分子的系统,该系统包括适于向受试者施用的分子,该分子包含试剂和与pIgR结合的单结构域抗体,其中该分子经由口服递送、经颊递送、经鼻递送或吸入递送或它们的组合施用至受试者。

[0030] 在一些实施方案中,试剂是糖尿病药物。在一些实施方案中,糖尿病药物选自由以下项组成的组:胰岛素、胰高血糖素样肽-1、胰岛素模拟肽和胰高血糖素样肽-1模拟肽。

[0031] 在一些实施方案中,试剂是肽或抗体或其片段。在一些实施方案中,抗体或其片段选自由以下项组成的组:抗TNF-α抗体或其片段、抗IL23抗体或其片段以及结合IL23的受体的抗体或其片段。

[0032] 在一些实施方案中,试剂是疫苗。在一些实施方案中,疫苗用于预防选自由以下项组成的组的感染:弧菌、霍乱、伤寒、轮状病毒、肺结核、HIV、流感、埃博拉病毒和仙台病毒。

[0033] 在另一方面,本文提供了一种系统,该系统包括用于向受试者的固有层或胃肠道提供分子的装置。

[0034] 在一些实施方案中,该分子包含试剂和与pIgR结合的单结构域抗体。

[0035] 在一些实施方案中,试剂是抗体或其片段、肽、疫苗、小分子、多核苷酸、放射性同位素、毒素、酶、抗凝剂、激素、细胞因子、抗炎分子、RNAi、抗生素或抗体-抗生素缀合物。

[0036] 在一些实施方案中,试剂是抗体或其片段、肽或疫苗。

[0037] 在一些实施方案中,单结构域抗体与试剂基因融合或化学缀合。

[0038] 在一些实施方案中,单结构域抗体与pIgR的胞外结构域1、胞外结构域2、胞外结构域1-2、胞外结构域3、胞外结构域2-3、胞外结构域4-5或胞外结构域5结合。

[0039] 在一些实施方案中,单结构域抗体与pIgR的胞外结构域1结合。在一些实施方案中,单结构域抗体与pIgR的胞外结构域2结合。在一些实施方案中,单结构域抗体与pIgR的胞外结构域1-2结合。在一些实施方案中,单结构域抗体与pIgR的胞外结构域3结合。在一些实施方案中,单结构域抗体与pIgR的胞外结构域2-3结合。在一些实施方案中,单结构域抗体与pIgR的胞外结构域4-5结合。在一些实施方案中,单结构域抗体与pIgR的胞外结构域5结合。

[0040] 在一些实施方案中,单结构域抗体与IgA竞争结合pIgR。在一些实施方案中,单结构域抗体促进IgA与pIgR结合。

[0041] 在一些实施方案中,单结构域抗体与pIgR结合的K_D为约4nM至约525nM。在一些实施方案中,单结构域抗体与pIgR结合的K_D小于约50nM。在一些实施方案中,单结构域抗体与pIgR结合的K_D为约4nM至约34nM。

[0042] 在一些实施方案中,单结构域抗体的T_m为约53℃至约77℃。在其他实施方案中,单结构域抗体的T_m为53.9℃至76.4℃。

[0043] 在一些实施方案中,pIgR是人pIgR。在其他实施方案中,pIgR是小鼠pIgR。

[0044] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体不与人pIgR的茎序列(例如,SEQ ID NO:143)和/或小鼠pIgR的茎序列(例如,SEQ ID NO:144或SEQ ID NO:145)结合。

[0045] 在一些实施方案中,单结构域抗体包含GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:60)、TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:61)、DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:62)、PLTAR(SEQ ID NO:63)、DPFNQGY(SEQ ID NO:64)、PLTSR(SEQ ID NO:65)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:66)、DQRGY(SEQ ID NO:67)、QRGY(SEQ ID NO:271)、DPFNQGY(SEQ ID NO:68)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:69)、ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:70)、GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:71)、SIDLNWYGGMD(SEQ ID NO:272)、TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:72)、TVLTDPRVLNEYA(SEQ ID NO:273)、DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:73)、VFGSSGYVET(SEQ ID NO:274)、PLTAR(SEQ ID NO:74)、LTA(SEQ ID NO:275)、DPFNQGY(SEQ ID NO:75)、PFNQG(SEQ ID NO:276)、PLTSR(SEQ ID NO:76)、LTS(SEQ ID NO:277)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:77)、VNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:278)、DQRGY(SEQ ID NO:78)、RG(SEQ ID NO:279)、DPFNQGY(SEQ ID NO:79)、PFNQG(SEQ ID NO:280)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:80)、LAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:281)、ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:81)、RYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:282)、CAAGSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:82)、AAGSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:283)、CAATTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:83)、AATTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:284)、KADVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:84)、NHPLTAR(SEQ ID NO:85)、AADPFNQGY(SEQ ID NO:86)、NHPLTSR(SEQ ID NO:87)、ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:88)、NDQRGY(SEQ ID NO:89)、AADPFNQGY(SEQ ID NO:90)、AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:91)、AAARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:92)、GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:214)、TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:215)、DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:216)、PLTAR(SEQ ID NO:217)、DPFNQGY(SEQ ID NO:218)、PLTSR(SEQ ID NO:219)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:220)、QRGY(SEQ ID NO:221)、DPFNQGY(SEQ ID NO:222)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:223)、ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:224)、AAGSIDLNWYGGMD(SEQ ID NO:225)、AATTVLTDPRVLNEYA(SEQ ID NO:226)、KADVFGSSGYVET(SEQ ID NO:227)、NHPLTA(SEQ ID NO:228)、AADPFNQG(SEQ ID NO:229)、NHPLTS(SEQ ID NO:230)、ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:231)、NDQRG(SEQ ID NO:232)、AADPFNQG(SEQ ID NO:233)、AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:234)、AAARYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:235)、GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:236)、TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:237)、DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:238)、PLTAR(SEQ ID NO:239)、DPFNQGY(SEQ ID NO:240)、PLTSR(SEQ ID NO:241)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:242)、QRGY(SEQ ID NO:243)、DPFNQGY(SEQ ID NO:244)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:245)或ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:246)的CDR3序列。

[0046] 在一些实施方案中,单结构域抗体包含AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:30)、RINGGGITHYAESVKG(SEQ ID NO:31)、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:32)、AITWNGGTTYYADSVKG(SEQ ID NO:33)、FISGGGTTTYADSVKG(SEQ ID NO:34)、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:35)、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:36)、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:37)、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:38)、

SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:39)、DWNGRGTYY(SEQ ID NO:40)、WNGRGTY(SEQ ID NO:260)、NGGGI(SEQ ID NO:41)、GGG(SEQ ID NO:261)、DRIAT(SEQ ID NO:42)、RIA(SEQ ID NO:262)、TWNGGT(SEQ ID NO:43)、WNGG(SEQ ID NO:263)、SGGGT(SEQ ID NO:44)、GGG(SEQ ID NO:264)、TGGGS(SEQ ID NO:45)、GGG(SEQ ID NO:265)、SWSGGS(SEQ ID NO:46)、WSGG(SEQ ID NO:266)、SWSGSS(SEQ ID NO:47)、WSGS(SEQ ID NO:267)、RWSGGR(SEQ ID NO:48)、WSGG(SEQ ID NO:268)、TWNGGS(SEQ ID NO:49)、WNGG(SEQ ID NO:269)、IDWNGRGTYY(SEQ ID NO:50)、IDWNGRGTYYR(SEQ ID NO:270)、INGGGIT(SEQ ID NO:51)、IDRIATT(SEQ ID NO:52)、ITWNGGTT(SEQ ID NO:53)、ISGGGTT(SEQ ID NO:54)、ITGGGST(SEQ ID NO:55)、ISWSGGST(SEQ ID NO:56)、ISWSGSSA(SEQ ID NO:57)、IRWSGGRT(SEQ ID NO:58)、ITWNGGST(SEQ ID NO:59)、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:184)、RINGGGITHYAESVKG(SEQ ID NO:185)、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:186)、AITWNGGTTYYADSVKG(SEQ ID NO:187)、FISGGGTTTYADSVKG(SEQ ID NO:188)、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:189)、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:190)、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:191)、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:192)、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:193)、FVAAIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:194)、LVARINGGGITH(SEQ ID NO:195)、WVGFIDRIATTT(SEQ ID NO:196)、FVAAITWNGGTTY(SEQ ID NO:197)、WVAFISGGGTTT(SEQ ID NO:198)、LVARITGGGSTH(SEQ ID NO:199)、FVAAISWSGGSTT(SEQ ID NO:200)、FVAAISWSGSSAG(SEQ ID NO:201)、FVAAIRWSGGRTL(SEQ ID NO:202)、FVASITWNGGSTS(SEQ ID NO:203)、AIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:204)、RINGGGITH(SEQ ID NO:205)、FIDRIATTT(SEQ ID NO:206)、AITWNGGTTY(SEQ ID NO:207)、FISGGGTTT(SEQ ID NO:208)、RITGGGSTH(SEQ ID NO:209)、AISWSGGSTT(SEQ ID NO:210)、AISWSGSSAG(SEQ ID NO:211)、AIRWSGGRTL(SEQ ID NO:212)或SITWNGGSTS(SEQ ID NO:213)的CDR2序列。

[0047] 在一些实施方案中,单结构域抗体包含SYRMG(SEQ ID NO:1)、INVMG(SEQ ID NO:2)、SNAMG(SEQ ID NO:3)、SYAMG(SEQ ID NO:4)、SDAMG(SEQ ID NO:5)、INVMG(SEQ ID NO:6)、TYRMG(SEQ ID NO:7)、RYAMG(SEQ ID NO:8)、FTTYRMG(SEQ ID NO:258)、TYRMG(SEQ ID NO:259)、FNTYAMG(SEQ ID NO:9)、GLTFSSY(SEQ ID NO:10)、GSIFSIN(SEQ ID NO:11)、GTSVSSN(SEQ ID NO:12)、GRTFSSY(SEQ ID NO:13)、GSSVSSD(SEQ ID NO:14)、RSIGSIN(SEQ ID NO:15)、GRTFSTY(SEQ ID NO:16)、GFTFTRY(SEQ ID NO:17)、GRTFTTY(SEQ ID NO:18)、GRTLSFNTY(SEQ ID NO:19)、GLTFSSYR(SEQ ID NO:20)、GSIFSINV(SEQ ID NO:21)、GTSVSSNA(SEQ ID NO:22)、GRTFSSYA(SEQ ID NO:23)、GSSVSSDA(SEQ ID NO:24)、RSIGSINV(SEQ ID NO:25)、GRTFSTYR(SEQ ID NO:26)、GFTFTRYA(SEQ ID NO:27)、GRTFTTYR(SEQ ID NO:28)、GRTLSFNTYA(SEQ ID NO:29)、GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:154)、GSIFSINVMG(SEQ ID NO:155)、GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:156)、GRTFSSYAMG(SEQ ID NO:157)、GSSVSSDAMG(SEQ ID NO:158)、RSIGSINVMG(SEQ ID NO:159)、GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:160)、GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:161)、GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:162)、GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:163)、SSYRMG(SEQ ID NO:164)、SINVMG(SEQ ID NO:165)、SSNAMG(SEQ ID NO:166)、SSYAMG(SEQ ID NO:167)、SSDAMG(SEQ ID NO:168)、SINVMG(SEQ ID NO:169)、STYRMG(SEQ ID NO:170)、TRYAMG(SEQ ID NO:171)、TTYRMG(SEQ ID NO:172)、SFNTYAMG(SEQ ID NO:173)、GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:174)、GSIFSINVMG(SEQ ID NO:175)、GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:176)、GRTFSSYAMG(SEQ ID

NO:177)、GSSVSSDAMG(SEQ ID NO:178)、RSIGSINVMG(SEQ ID NO:179)、GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:180)、GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:181)、GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:182)或GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:183)的CDR1序列。

[0048] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含选自由以下项组成的组的单结构域抗体的CDR1序列、CDR2序列和CDR3序列:

[0049] a)VHH1:

[0050] i)SYRMG(SEQ ID NO:1)的CDR1序列、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:30)的CDR2序列和GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:60)的CDR3序列;

[0051] ii)GLTFSSY(SEQ ID NO:10)的CDR1序列、DWNGRGTYY(SEQ ID NO:40)或WNGRGTY(SEQ ID NO:260)的CDR2序列以及GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:71)或SIDLNWYGGMD(SEQ ID NO:272)的CDR3序列;

[0052] iii)GLTFSSYR(SEQ ID NO:20)的CDR1序列、IDWNGRGTYY(SEQ ID NO:50)或IDWNGRGTYYR(SEQ ID NO:270)的CDR2序列以及CAAGSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:82)或AAGSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:283)的CDR3序列;

[0053] iv)GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:154)的CDR1序列、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:184)的CDR2序列和GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:214)的CDR3序列;

[0054] v)SSYRMG(SEQ ID NO:164)的CDR1序列、FVAAIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:194)的CDR2序列和AAGSIDLNWYGGMD(SEQ ID NO:225)的CDR3序列;或者

[0055] vi)GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:174)的CDR1序列、AIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:204)的CDR2序列和GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:236)的CDR3序列;

[0056] b)VHH2:

[0057] i)SYRMG(SEQ ID NO:1)的CDR1序列、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:30)的CDR2序列和TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:61)的CDR3序列;

[0058] ii)GLTFSSY(SEQ ID NO:10)的CDR1序列、DWNGRGTYY(SEQ ID NO:40)或WNGRGTY(SEQ ID NO:260)的CDR2序列以及TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:72)或TVLTDPRVLNEYA(SEQ ID NO:273)的CDR3序列;

[0059] iii)GLTFSSYR(SEQ ID NO:20)的CDR1序列、IDWNGRGTYY(SEQ ID NO:50)或IDWNGRGTYYR(SEQ ID NO:270)的CDR2序列以及CAATTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:83)或AATTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:284)的CDR3序列;

[0060] iv)GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:154)的CDR1序列、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:184)的CDR2序列和TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:215)的CDR3序列;

[0061] v)SSYRMG(SEQ ID NO:164)的CDR1序列、FVAAIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:194)的CDR2序列和AATTVLTDPRVLNEYA(SEQ ID NO:226)的CDR3序列;或者

[0062] vi)GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:174)的CDR1序列、AIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:204)的CDR2序列和TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:237)的CDR3序列;

[0063] c)VHH3:

[0064] i)INVMG(SEQ ID NO:2)的CDR1序列、RINGGGITHYAESVKG(SEQ ID NO:31)的CDR2序列和DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:62)的CDR3序列;

[0065] ii)GSIFSIN(SEQ ID NO:11)的CDR1序列、NGGGI(SEQ ID NO:41)或GGG(SEQ ID

NO:261)的CDR2序列以及DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:73)或VFGSSGYVET(SEQ ID NO:274)的CDR3序列;

[0066] iii)GSIFSINV(SEQ ID NO:21)的CDR1序列、INGGGIT(SEQ ID NO:51)的CDR2序列和KADVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:84)的CDR3序列;

[0067] iv)GSIFSINVMG(SEQ ID NO:155)的CDR1序列、RINGGGITHYAESVKG(SEQ ID NO:185)的CDR2序列和DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:216)的CDR3序列;

[0068] v)SINVMG(SEQ ID NO:165)的CDR1序列、LVARINGGGITH(SEQ ID NO:195)的CDR2序列和KADVFGSSGYVET(SEQ ID NO:227)的CDR3序列;或者

[0069] vi)GSIFSINVMG(SEQ ID NO:175)的CDR1序列、RINGGGITH(SEQ ID NO:205)的CDR2序列和DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:238)的CDR3序列;

[0070] d)VHH4:

[0071] i)SNAMG(SEQ ID NO:3)的CDR1序列、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:32)的CDR2序列和PLTAR(SEQ ID NO:63)的CDR3序列;

[0072] ii)GTSVSSN(SEQ ID NO:12)的CDR1序列、DRIAT(SEQ ID NO:42)或RIA(SEQ ID NO:262)的CDR2序列以及PLTAR(SEQ ID NO:74)或LTA(SEQ ID NO:275)的CDR3序列;

[0073] iii)GTSVSSNA(SEQ ID NO:22)的CDR1序列、IDRIATT(SEQ ID NO:52)的CDR2序列和NHPLTAR(SEQ ID NO:85)的CDR3序列;

[0074] iv)GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:156)的CDR1序列、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:186)的CDR2序列和PLTAR(SEQ ID NO:217)的CDR3序列;

[0075] v)SSNAMG(SEQ ID NO:166)的CDR1序列、WVGFIDRIATTT(SEQ ID NO:196)的CDR2序列和NHPLTA(SEQ ID NO:228)的CDR3序列;或者

[0076] vi)GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:176)的CDR1序列、FIDRIATTT(SEQ ID NO:206)的CDR2序列和PLTAR(SEQ ID NO:239)的CDR3序列;

[0077] e)VHH5:

[0078] i)SYAMG(SEQ ID NO:4)的CDR1序列、AITWNGGTTYYADSVKG(SEQ ID NO:33)的CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:64)的CDR3序列;

[0079] ii)GRTFSSY(SEQ ID NO:13)的CDR1序列、TWNGGT(SEQ ID NO:43)或WNGG(SEQ ID NO:263)的CDR2序列以及DPFNQGY(SEQ ID NO:75)或PFNQG(SEQ ID NO:276)的CDR3序列;

[0080] iii)GRTFSSYA(SEQ ID NO:23)的CDR1序列、ITWNGGTT(SEQ ID NO:53)的CDR2序列和AADPFNQGY(SEQ ID NO:86)的CDR3序列;

[0081] iv)GRTFSSYAMG(SEQ ID NO:157)的CDR1序列、AITWNGGTTYYADSVKG(SEQ ID NO:187)的CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:218)的CDR3序列;

[0082] v)SSYAMG(SEQ ID NO:167)的CDR1序列、FVAAITWNGGTTY(SEQ ID NO:197)的CDR2序列和AADPFNQG(SEQ ID NO:229)的CDR3序列;或者

[0083] vi)GRTFSSYAMG(SEQ ID NO:177)的CDR1序列、AITWNGGTTY(SEQ ID NO:207)的CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:240)的CDR3序列;

[0084] f)VHH6:

[0085] i)SDAMG(SEQ ID NO:5)的CDR1序列、FISGGGTTTYADSVKG(SEQ ID NO:34)的CDR2序列和PLTSR(SEQ ID NO:65)的CDR3序列;

[0086] ii)GSSVSSD(SEQ ID NO:14)的CDR1序列、SGGGT(SEQ ID NO:44)或GGG(SEQ ID NO:264)的CDR2序列以及PLTSR(SEQ ID NO:76)或LTS(SEQ ID NO:277)的CDR3序列;

[0087] iii)GSSVSSDA(SEQ ID NO:24)的CDR1序列、ISGGGTT(SEQ ID NO:54)的CDR2序列和NHPLTSR(SEQ ID NO:87)的CDR3序列;

[0088] iv)GSSVSSDAMG(SEQ ID NO:158)的CDR1序列、FISGGGTTTYADSVKG(SEQ ID NO:188)的CDR2序列和PLTSR(SEQ ID NO:219)的CDR3序列;

[0089] v)SSDAMG(SEQ ID NO:168)的CDR1序列、WVAFISGGGTTT(SEQ ID NO:198)的CDR2序列和NHPLTS(SEQ ID NO:230)的CDR3序列;或者

[0090] vi)GSSVSSDAMG(SEQ ID NO:178)的CDR1序列、FISGGGTTT(SEQ ID NO:208)的CDR2序列和PLTSR(SEQ ID NO:241)的CDR3序列;

[0091] g)VHH7:

[0092] i)INVMG(SEQ ID NO:6)的CDR1序列、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:35)的CDR2序列和MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:66)的CDR3序列;

[0093] ii)RSIGSIN(SEQ ID NO:15)的CDR1序列、TGGGS(SEQ ID NO:45)或GGG(SEQ ID NO:265)的CDR2序列以及MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:77)或VNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:278)的CDR3序列;

[0094] iii)RSIGSINV(SEQ ID NO:25)的CDR1序列、ITGGGST(SEQ ID NO:55)的CDR2序列和ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:88)的CDR3序列;

[0095] iv)RSIGSINVMG(SEQ ID NO:159)的CDR1序列、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:189)的CDR2序列和MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:220)的CDR3序列;

[0096] v)SINVMG(SEQ ID NO:169)的CDR1序列、LVARITGGGSTH(SEQ ID NO:199)的CDR2序列和ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:231)的CDR3序列;或者

[0097] vi)RSIGSINVMG(SEQ ID NO:179)的CDR1序列、RITGGGSTH(SEQ ID NO:209)的CDR2序列和MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:242)的CDR3序列;

[0098] h)VHH9:

[0099] i)TYRMG(SEQ ID NO:7)的CDR1序列、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:36)的CDR2序列以及DQRGY(SEQ ID NO:67)或QRGY(SEQ ID NO:271)的CDR3序列;

[0100] ii)GRTFSTY(SEQ ID NO:16)的CDR1序列、SWSGGS(SEQ ID NO:46)或WSGG(SEQ ID NO:266)的CDR2序列以及DQRGY(SEQ ID NO:78)或RG(SEQ ID NO:279)的CDR3序列;

[0101] iii)GRTFSTYR(SEQ ID NO:26)的CDR1序列、ISWSGGST(SEQ ID NO:56)的CDR2序列和NDQRGY(SEQ ID NO:89)的CDR3序列;

[0102] iv)GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:160)的CDR1序列、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:190)的CDR2序列和QRGY(SEQ ID NO:221)的CDR3序列;

[0103] v)STYRMG(SEQ ID NO:170)的CDR1序列、FVAAISWSGGSTT(SEQ ID NO:200)的CDR2序列和NDQRG(SEQ ID NO:232)的CDR3序列;或者

[0104] vi)GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:180)的CDR1序列、AISWSGGSTT(SEQ ID NO:210)的CDR2序列和QRGY(SEQ ID NO:243)的CDR3序列;

[0105] i)VHH10:

[0106] i)RYAMG(SEQ ID NO:8)的CDR1序列、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:37)的CDR2

序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:68)的CDR3序列;

[0107] ii)GFTFTRY(SEQ ID NO:17)的CDR1序列、SWSGSS(SEQ ID NO:47)或WSGS(SEQ ID NO:267)的CDR2序列以及DPFNQGY(SEQ ID NO:79)或PFNQG(SEQ ID NO:280)的CDR3序列;

[0108] iii)GFTFTRYA(SEQ ID NO:27)的CDR1序列、ISWSGSSA(SEQ ID NO:57)的CDR2序列和AADPFNQGY(SEQ ID NO:90)的CDR3序列;

[0109] iv)GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:161)的CDR1序列、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:191)的CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:222)的CDR3序列;

[0110] v)TRYAMG(SEQ ID NO:171)的CDR1序列、FVAAISWSGSSAG(SEQ ID NO:201)的CDR2序列和AADPFNQG(SEQ ID NO:233)的CDR3序列;或者

[0111] vi)GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:181)的CDR1序列、AISWSGSSAG(SEQ ID NO:211)的CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:244)的CDR3序列;

[0112] j)VHH11:

[0113] i)FTTYRMG(SEQ ID NO:258)或TYRMG(SEQ ID NO:259)的CDR1序列、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:38)的CDR2序列和DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:69)的CDR3序列;

[0114] ii)GRTFTTY(SEQ ID NO:18)的CDR1序列、RWSGGR(SEQ ID NO:48)或WSGG(SEQ ID NO:268)的CDR2序列以及DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:80)或LAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:281)的CDR3序列;

[0115] iii)GRTFTTYR(SEQ ID NO:28)的CDR1序列、IRWSGGRT的CDR2序列(SEQ ID NO:58)和AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:91)的CDR3序列;

[0116] iv)GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:162)的CDR1序列、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:192)的CDR2序列和DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:223)的CDR3序列;

[0117] v)TTYRMG(SEQ ID NO:172)的CDR1序列、FVAAIRWSGGRTL(SEQ ID NO:202)的CDR2序列和AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:234)的CDR3序列;或者

[0118] vi)GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:182)的CDR1序列、AIRWSGGRTL(SEQ ID NO:212)的CDR2序列和DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:245)的CDR3序列;以及

[0119] k)VHH12:

[0120] i)FNTYAMG(SEQ ID NO:9)的CDR1序列、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:39)的CDR2序列和ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:70)的CDR3序列;

[0121] ii)GRTLSFNTY(SEQ ID NO:19)的CDR1序列、TWNGGS(SEQ ID NO:49)或WNGG(SEQ ID NO:269)的CDR2序列以及ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:81)或RYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:282)的CDR3序列;

[0122] iii)GRTLSFNTYA(SEQ ID NO:29)的CDR1序列、ITWNGGST(SEQ ID NO:59)的CDR2序列和AAARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:92)的CDR3序列;

[0123] iv)GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:163)的CDR1序列、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:193)的CDR2序列和ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:224)的CDR3序列;

[0124] v)SFNTYAMG(SEQ ID NO:173)的CDR1序列、FVASITWNGGSTS(SEQ ID NO:203)的CDR2序列和AAARYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:235)的CDR3序列;或者

[0125] vi)GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:183)的CDR1序列、SITWNGGSTS(SEQ ID NO:213)的

CDR2序列和ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:246)的CDR3序列。

[0126] 在一些实施方案中,单结构域抗体包含来源于包含以下序列的单结构域抗体中的任一种的框架的框架:QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYGGMDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:93)、EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYATWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:94)、QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:95)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIATTTIATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:96)、QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWNGGTTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:97)、EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTTTYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:98)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:99)、QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGGSTTYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:100)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGSSAGYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:101)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRTLYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPAGYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:102)或QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASITWNGGSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPANYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:103)。

[0127] 在一些实施方案中,单结构域抗体包含框架,该框架包含与以下序列具有至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的序列:QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYGGMDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:93)、EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYATWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:94)、QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:95)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIATTTIATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:96)、QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWNGGTTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:97)、EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTTTYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:98)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:99)、QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGGSTTYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:100)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGSSAGYGDSVKGRFTIS

RDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:101)、EVQVVESGGGLVQAG GSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRTLYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDT AVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPAGYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:102)或QVQLVETGGGLVQAGDSLRL SCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASITWNGGSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVY YCAAARYYVSGTYFPANYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:103)。

[0128] 在一些实施方案中,单结构域抗体包含与以下序列具有至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的序列:QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACA APGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYC AAGSIDLNWYGGMDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:93)、EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMG WFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVL NEYATWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:94)、QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQR ELVARINGGGITHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO:95)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIATTTIAT SVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:96)、QVQLVESGG GLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWNGGTTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNS LKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:97)、EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVS SDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTTTYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQG TQVTVSS(SEQ ID NO:98)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGG GSTHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO:99)、QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGGSTTYA DPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:100)、EVQVVESG GGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGSSAGYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMN SLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:101)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRT FTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRTLYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYS GTYSSPADSPAGYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:102)或QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNT YAMGWFRQAPGKEREFVASITWNGGSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTY FPANYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:103)。

[0129] 在一些实施方案中,单结构域抗体与试剂基因融合或化学缀合。

[0130] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体还包含单结构域抗体与试剂之间的接头。在一些实施方案中,接头是多肽。在一些实施方案中,接头是包含选自由以下项组成的组的序列的柔性接头:EPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPK(SEQ ID NO:130)、(EAAAK)n(SEQ ID NO:147)、(GGGGS)n(SEQ ID NO:148)和(GGGS)n(SEQ ID NO:149),其中n是1至20的整数。

[0131] 在一些实施方案中,单结构域抗体与试剂化学缀合。在其他实施方案中,单结构域抗体与试剂非共价结合。

[0132] 在一些实施方案中,本文提供的方法不抑制pIgR介导的IgA转胞吞。

[0133] 在一些实施方案中,单结构域抗体包含SNAMG(SEQ ID NO:3)、INVMG(SEQ ID NO:6)、TYRMG(SEQ ID NO:7)、RYAMG(SEQ ID NO:8)、FTTYRMG(SEQ ID NO:258)、TYRMG(SEQ ID NO:259)、FNTYAMG(SEQ ID NO:9)、GTSVSSN(SEQ ID NO:12)、GRTFSSY(SEQ ID NO:13)、

RSIGSIN(SEQ ID NO:15)、GRTFSTY(SEQ ID NO:16)、GFTFTRY(SEQ ID NO:17)、GRTFTTY(SEQ ID NO:18)、GRTLSFNTY(SEQ ID NO:19)、GTSVSSNA(SEQ ID NO:22)、RSIGSINV(SEQ ID NO:25)、GRTFSTYR(SEQ ID NO:26)、GFTFTRYA(SEQ ID NO:27)、GRTFTTYR(SEQ ID NO:28)、GRTLSFNTYA(SEQ ID NO:29)、GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:156)、RSIGSINVMG(SEQ ID NO:159)、GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:160)、GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:161)、GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:162)、GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:163)、SSNAMG(SEQ ID NO:166)、SINVMG(SEQ ID NO:169)、STYRMG(SEQ ID NO:170)、TRYAMG(SEQ ID NO:171)、TTYRMG(SEQ ID NO:172)、SFNTYAMG(SEQ ID NO:173)、GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:176)、RSIGSINVMG(SEQ ID NO:179)、GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:180)、GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:181)、GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:182)或GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:183)的CDR1序列。

[0134] 在一些实施方案中,单结构域抗体包含FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:32)、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:35)、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:36)、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:37)、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:38)、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:39)、DRIAT(SEQ ID NO:42)、RIA(SEQ ID NO:262)、TGGGS(SEQ ID NO:45)、GGG(SEQ ID NO:265)、SWSGGS(SEQ ID NO:46)、WSGG(SEQ ID NO:266)、SWSGSS(SEQ ID NO:47)、WSGS(SEQ ID NO:267)、RWSGGR(SEQ ID NO:48)、WSGG(SEQ ID NO:268)、TWNGGS(SEQ ID NO:49)、WNGG(SEQ ID NO:269)、IDRIATT(SEQ ID NO:52)、ITGGGST(SEQ ID NO:55)、ISWSGGST(SEQ ID NO:56)、ISWSGSSA(SEQ ID NO:57)、IRWSGGRT(SEQ ID NO:58)、ITWNGGST(SEQ ID NO:59)、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:186)、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:189)、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:190)、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:191)、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:192)、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:193)、WVGFIDRIATTT(SEQ ID NO:196)、LVARITGGGSTH(SEQ ID NO:199)、FVAAISWSGGSTT(SEQ ID NO:200)、FVAAISWSGSSAG(SEQ ID NO:201)、FVAAIRWSGGRTL(SEQ ID NO:202)、FVASITWNGGSTS(SEQ ID NO:203)、FIDRIATTT(SEQ ID NO:206)、RITGGGSTH(SEQ ID NO:209)、AISWSGGSTT(SEQ ID NO:210)、AISWSGSSAG(SEQ ID NO:211)、AIRWSGGRTL(SEQ ID NO:212)或SITWNGGSTS(SEQ ID NO:213)的CDR2序列。

[0135] 在一些实施方案中,单结构域抗体包含PLTAR(SEQ ID NO:63)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:66)、DQRGY(SEQ ID NO:67)、QRGY(SEQ ID NO:271)、DPFNQGY(SEQ ID NO:68)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:69)、ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:70)、PLTAR(SEQ ID NO:74)、LTA(SEQ ID NO:275)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:77)、VNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:278)、DQRGY(SEQ ID NO:78)、RG(SEQ ID NO:279)、DPFNQGY(SEQ ID NO:79)、PFNQG(SEQ ID NO:280)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:80)、LAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:281)、ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:81)、RYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:282)、NHPLTAR(SEQ ID NO:85)、ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:88)、NDQRGY(SEQ ID NO:89)、AADPFNQGY(SEQ ID NO:90)、AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:91)、AAARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:92)、PLTAR(SEQ ID NO:217)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:220)、QRGY(SEQ ID NO:221)、DPFNQGY(SEQ ID NO:222)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:223)、ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:224)、NHPLTA(SEQ ID NO:228)、ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:231)、

NDQRG(SEQ ID NO:232)、AADPFNQG(SEQ ID NO:233)、AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:234)、AAARYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:235)、PLTAR(SEQ ID NO:239)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:242)、QRGY(SEQ ID NO:243)、DPFNQGY(SEQ ID NO:244)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:245)或ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:246)的CDR3序列。

4.附图说明

[0136] 本专利或专利申请文件包含至少一张绘制成彩色的附图。在提出请求并且支付必要的费用后,美国专利和商标局将会提供本专利或专利申请公开的带彩图副本。

[0137] 图1A和图1B是示出pIgR介导的双向转胞吞途径的示意图。图1A显示,与pIgR胞外域的分泌组分(结构域1-5)结合的分子,诸如二聚IgA(天然配体)或VHH(人工pIgR配体),可从基底外侧至顶端方向胞转上皮细胞,并从血液到达粘膜腔。这种分泌组分介导的正向转运可用于将分子从体循环递送至粘膜腔。本文描述了与分泌组分结合并从基底外侧胞转到上皮的顶端侧的VHH分子。图1B显示,与pIgR胞外域的茎区结合的分子(任何人工配体)可从顶端至基底外侧方向胞转上皮细胞,并从粘膜腔到达血液。这种茎介导的反向转运可用于在口服之后将分子递送至体循环。

[0138] 图2示出了pIgR结合物的表位作图数据。使用固定化金属离子亲和色谱法,从HEK293细胞表达并纯化了九种HIS标记的pIgR构建体(D1、D2、D3、D4、D5、D1-D2、D2-D3、D3-D4和D4-D5)。因为两种构建体(D4和D3-D4)的表达和纯化产率非常低,所以它们不用于结合研究。图2的热图示出了VHH-单Fc分子与固定化pIgR构建体在电化学发光单元中的结合。通过生物层干涉测量法测量所有正相互作用的K_D值。图2的热图指示VHH2和VHH3的表位主要包含在hpIgR结构域-1内,VHH4和VHH6的表位主要包含在hpIgR结构域-2内,并且其他六种VHH的表位主要包含在hpIgR结构域4-5内。

[0139] 图3A至图3B示出了VHH对IgA与hpIgR-ECD结合的作用的数据。图3A示出了在不存在(蓝色)和存在(红色)dIgA2的情况下全长hpIgR ECD与固定化VHH-单Fc结合的K_D值。图3B示出了在有和没有VHH-单Fc分子存在的情况下固定化dIgA2与hpIgR胞外域结合的K_D值。使用胺反应性生物传感器固定dIgA2,并且通过生物层干涉测量法测量pIgR和pIgR-VHH复合物的结合。三种分子(VHH2、VHH3和VHH5)对IgA与pIgR的结合具有负面作用。其他VHH分子对IgA与pIgR的结合显示小的积极作用。

[0140] 图4描绘了VHH-单Fc分子的转胞吞活性的测定结果。上图是用于测定VHH转胞吞的EpiAirway原代人肺组织模型的示意图。开发了中尺度发现(MSD)测定以定量在转胞吞前后基底外侧腔室和顶端腔室中存在的VHH的量。使用生物素酰化的抗VHH抗体在链霉亲和素板上捕获VHH-单Fc分子,并使用钌化的抗人-Fc抗体作为检测抗体。下图是显示VHH处理后24小时顶端粘液中存在的VHH量的图。五种VHH分子(VHH2、VHH6、VHH9、VHH11和VHH12)显示,相对于对照VHH分子(VHH1、VHH13和VHH14)它们的粘膜量增加大于20倍。

[0141] 图5示出了显示跨原代人肺组织模型追踪pIgR和VHH的数据。图5的左图是显示在转胞吞后EpiAirway原代人肺组织模型上保留的pIgR的量的热图。图5的右图是显示在转胞吞后EpiAirway原代人肺组织模型上保留的VHH量的热图。处理后48小时后,将组织样品固定,透化并染色hpIgR和VHH。使用Opera Phenix共聚焦激光显微镜通过间接免疫荧光定量

跨组织模型保留的pIgR和VHH的量。图5示出了VHH显示跨组织深度维度的pIgR和VHH分布的不同特征。图5还显示，在显示出有效转胞吞的五种VHH中，VHH2、VHH9和VHH12处理的组织模型在顶端表面附近显示出比其他VHH更高的VHH染色。VHH6处理的模型跨组织厚度显示出对VHH和pIgR两者的最低染色。成像研究证实了转胞吞结果，并显示hpIgR和VHH的共定位，尤其是更靠近顶端上皮。

[0142] 图6A是示出pIgR结构的示意图。

[0143] 图6B是示出pIgR介导的转运机制的示意图。该图改编自Kaetzel，Curr.Biol.，2001，11(1)：R35-38。

[0144] 图7示出了各种器官中pIgR的表达。

[0145] 图8示出了用于评估由mpIgR抗原生成的VHH分子的选择标准。

[0146] 图9示出了用于评估由hpIgR抗原生成的VHH分子的选择标准。

[0147] 图10示出了VHH分子与表达pIgR的MDCK细胞结合的能力的测定结果。

[0148] 图11示出了hpIgR在MDCK细胞上的表达。染色显示hpIgR位于MDCK细胞单层的表面和内部。单层内hpIgR染色的分布不均匀。初始实验显示每个细胞表面上的hpIgR受体密度为约6000。蓝色指示细胞核的Hoechst染色，绿色指示抗体染色，并且红色指示抗Rab5染色。

[0149] 图12A至图12B示出了如实施例3中所述使用MDCK-hpIgR细胞进行VHH转胞吞测定的结果。图12B左图示出了在0、24和48小时处的顶端VHH量。图12B右图示出了在24小时处相对于对照VHH的顶端VHH量的倍数增加。

[0150] 图12C示出了VHH-单Fc分子跨MDCK-hpIgR单层从基底外侧到顶端腔室的转胞吞活性。示出了在24小时处相对于对照VHH的顶端VHH量的倍数增加。

[0151] 图13示出了一组VHH分子的序列特征，其中示出了高度保守的序列相似性的区域(SEQ ID NO:93-95、97-103和247-249)。

[0152] 图14是汇总VHH分子纯化的图表。

[0153] 图15示出了VHH分子的A-SEC纯化的结果。

[0154] 图16示出了VHH分子的SEC-MALS分析的结果。

[0155] 图17示出了通过差示扫描荧光测定(DSF)的VHH分子的热稳定性测定的结果。

[0156] 图18描绘了EpiAirway人组织模型。

[0157] 图19示出了使用EpiAirway模型的VHH转胞吞测定的结果。左图示出了0、24和48小时处顶端粘液中每种测试的VHH的量的热图。将从MSD测定获得的电化学发光(ECLU)单元绘制为热图。右上图示出了24小时处顶端粘液中VHH的量，并且右下图示出了在顶端粘液中VHH相对于对照的倍数增加。右上图显示，五种VHH(VHH2、VHH6、VHH9、VHH11和VHH12)显示相对于对照VHH分子，它们的粘膜量增加＞20倍，并且VHH12显示相对于对照VHH，粘液增加38倍，并显示出最高的转胞吞活性。

[0158] 图20示出了使用EpiAirway模型的IgA转胞吞测定的结果。图20显示，VHH2和VHH12处理的组织样品对VHH强烈染色并且相对于VHH3和VHH14(阴性对照)与pIgR共定位。

[0159] 图21示出了hpIgR和VHH的共定位。

[0160] 图22显示3D重建示出了至EpiAirway模型的顶端表面的hpIgR和VHH的定位。

[0161] 图23显示EpiAirway组织模型位于倾斜膜上。

[0162] 图24示出了Opera Phenix成像和分析的策略，以克服利用EpiAirway组织模型的

倾斜组织问题。

[0163] 图25示出了处于非活性构象的未配位hpIgR的晶体结构。该图改编自Stadtmueller等人,Elife,March 4,2016,e10640。

[0164] 图26示出了通过约束散射建模的pIgR:IgA复合物的结构。该图改编自Bonner等人,J.Biol.Chem.,2009,284(8):5077-87。

[0165] 图27A示出了IgA转胞吞的结构模型。该图改编自Stadtmueller等人,Elife,March 4,2016,e10640。

[0166] 图27B示出了跨粘膜上皮屏障的pIgR介导的二聚IgA转运的示意图。(1)浆细胞产生IgA和IgA二聚化;(2)二聚IgA(dIgA)与上皮基底外侧上的pIgR ECD结合(pIgR-dIgA相互作用由pIgR的结构域1和5以及dIgA的Fc和J链介导);(3)pIgR介导的二聚IgA的转胞吞(网格蛋白介导的内吞驱动基底外侧至顶端转运,并且在到达顶端侧时,pIgR ECD被蛋白水解切割并与IgA一起释放到粘液中。与分泌的pIgR ECD(分泌组分)复合的粘膜IgA被称为分泌型IgA(sIgA));以及(4)通过sIgA中和粘膜抗原。

[0167] 图28A至图28D示出了IgA对VHH与hpIgR结合的作用。

[0168] 图29示出了pIgR结合物VHH1、VHH2、VHH3、VHH4、VHH5、VHH6、VHH7、VHH9、VHH10、VHH11和VHH12的结构域水平表位作图的结果。上卡通图改编自Stadtmueller等人,Elife,March4,2016,e10640。

[0169] 图30A示出了hpIgR D2结合物的结合动力学。

[0170] 图30B示出了hpIgR D4-D5结合物的结合动力学。

[0171] 图31示出了VHH2和VHH3(SEQ ID NO:93-95)的特性。

[0172] 图32A示出了hpIgR的结构域和序列的结构,并且显示D1对于IgA与hpIgR的结合是必需的。该图改编自Stadtmueller等人,Elife,March 4,2016,e10640(SEQ ID NO:250-252)。

[0173] 图32B示出了通过溶液散射和AUC信息(由PDB ID 3CHN产生)的约束建模获得的分泌型IgA1(sIgA1)即二聚IgA与分泌组分之间的复合物的结构。重链以橙色示出,轻链以绿色示出,J链以粉红色示出并且分泌组分以青色示出。该图改编自Bonner等人,Mucosal Immunol.,2:74-84(2009)。

[0174] 图33A至图33D示出了实施例6的VHH/IgA竞争研究的结果。图33A中的晶体结构改编自Stadtmueller等人,Elife,March 4,2016,e10640(SEQ ID NO:250和253-257)。图33B示出了由PDB ID 5D4K产生的hpIgR结构域-1的卡通表示。hpIgR结构域-1的CDR1、CDR2和CDR3分别以橙色、粉红色和浅红色示出,其中hpIgR结构域-1CDR与对应的硬骨鱼CDR交换以测试hpIgR结构域-1CDR对VHH结合的影响。图33C示出了IgA与固定化pIgR构建体的结合,包括KD值(KD、Kon或Koff)。图33D示出了VHH2和VHH3与传感器固定的HIS标记的pIgR蛋白构建体结合的动力学参数。KD、Kon或Koff分别显示在左下图、左上图和右上图中。图33D示出了hD1_tCDR2构建体未显示与VHH2和VHH3两者结合。通过生物层干涉测量法获得了结合动力学参数,并且示出了VHH2和VHH3相对于全长hpIgR ECD与pIgR结构域构建体结合的KD值的倍数变化,其示于右下图中。

[0175] 图34示出了描述VHH2和VHH3如何彼此竞争结合pIgR的数据。

[0176] 图35示出了四种分子(VHH3、VHH4、VHH5和VHH6)识别pIgR上的掩埋表位。

[0177] 图36A至图36B显示VHH3识别hpIgR结构域-1界面上的复杂表位。

[0178] 图37A至图37B示出了如实施例7中所述使用MDCK-hpIgR单层的VHH-单Fc分子在正向和反向转胞吞测定中的结果。这些结果证明了双向转运。图37A示出了正向转胞吞(基底外侧至顶端方向)的结果,其中将20μg测试或对照VHH-单Fc分子添加到基底外侧腔室中,并且示出了在处理后24小时(浅灰色)和48小时(深灰色)处的顶端[VHH]相对于对照的倍数增加。对于正向转胞吞,在48小时处,相对于对照VHH-单Fc分子,包含VHH2、VHH6、VHH9、VHH11或VHH12结构域的五种VHH-单Fc分子显示它们的顶端浓度增加>20倍,而包含VHH4结构域的VHH-单Fc分子显示其顶端浓度增加15倍。图37B示出了反向转胞吞(顶端至基底外侧方向)的结果,其中将20μg测试或对照VHH-单Fc分子添加到顶端腔室中,并且示出了在处理后24小时(浅灰色)和48小时(深灰色)处基底外侧[VHH]相对于对照的倍数增加。在48小时处,相对于对照VHH-单-Fc分子,包含VHH6、VHH11或VHH12结构域的VHH-单Fc分子显示它们的基底外侧浓度增加>10倍。对于反向转胞吞,在48小时处,相对于对照VHH-单Fc分子,包含VHH2、VHH4或VHH9结构域的VHH-单Fc分子显示它们的基底外侧浓度增加>5倍。图37A和图37B的结果从三个独立实验获得,每个实验包含两个技术重复。

[0179] 图38A至图38B示出了在如实施例7中所述的使用MDCK-hpIgR单层的正向和反向转胞吞测定中VHH-单Fc分子的结果。这些导致证明了双向转运。为了测试正向转胞吞活性,将20μg测试或对照VHH-单Fc分子添加到基底外侧腔室中,并定量处理后24和48小时处的顶端VHH-单Fc的量(B至A测定)。为了测试反向转胞吞活性,将20μg测试或对照VHH-单Fc分子添加到顶端腔室中,并定量处理后24和48小时处的基底外侧VHH的量(A至B测定)。B至A测定中的顶端VHH(μg)以浅灰色示出,并且A至B测定中的基底外侧VHH(μg)以深灰色示出。图38A示出了VHH处理后24小时的VHH-单-Fc分子正向和反向转运的比较。图38B示出了VHH处理后48小时的VHH-单-Fc分子正向和反向转运的比较。

[0180] 图39A至图39B示出了如实施例7中所述的VHH-单Fc分子跨MDCK-hpIgR单层的正向和反向转胞吞动力学结果。图39A示出了正向转胞吞动力学(基底外侧至顶端方向)的结果,其中将20μg测试或对照VHH-单Fc分子添加到基底外侧腔室中。对在VHH处理后的不同时间点(0、4、8、12、24、36和48小时)处存在于顶端腔室中的VHH的量(μg)进行定量并且示出。VHH-单Fc分子的浓度在顶端腔室中随时间增加。对于八种VHH-单Fc分子,将>10%的基底外侧VHH输入(2μg)转运至顶端腔室(除了包含VHH3或VHH7结构域的VHH-单Fc分子之外)。图39B示出了反向转胞吞动力学(顶端至基底外侧方向)的结果,其中将20μg测试或对照VHH-单Fc分子添加至顶端腔室中。对在VHH处理后的不同时间点(0、4、8、12、24、36和48小时)处存在于基底外侧腔室中的VHH的量(μg)进行定量并且示出。VHH-单Fc分子的浓度在基底外侧腔室中随时间增加。对于六种VHH-单-Fc分子,将>10%的顶端VHH输入(2μg)转运至基底外侧腔室(包含VHH2、VHH4、VHH6、VHH9、VHH11或VHH12结构域的VHH-单Fc分子)。

5.具体实施方式

[0181] 本公开部分地基于令人惊讶的发现,如本文提供的与pIgR结合的单结构域抗体(例如,VHH结构域)能够将试剂从表达聚合免疫球蛋白受体(pIgR)的细胞的顶端表面转运或促进转运至表达pIgR的细胞的基底外侧表面,并因此提供了一种用于经由例如口服递送、经颊递送、经鼻递送或吸入递送将治疗性分子(包括诊断性分子)施用至例如受试者的

体循环或固有层或胃肠道的有效方法。

[0182] 5.1.定义

[0183] 本文描述或引用的技术和程序包括本领域技术人员通常熟知的和/或使用常规方法通常采用的那些，诸如例如以下文献中描述的广泛利用的方法：Sambrook等人，Molecular Cloning:A Laboratory Manual(3d ed.2001)；Current Protocols in Molecular Biology(Ausubel等人编辑，2003)；Therapeutic Monoclonal Antibodies:From Bench to Clinic(An编辑，2009)；Monoclonal Antibodies:Methods and Protocols(Albitar编辑，2010)；以及Antibody Engineering，第1卷和第2卷(Kontermann和Dübel编辑，第2版，2010)。

[0184] 除非本文另有定义，否则本说明书中使用的技术和科学术语具有本领域普通技术人员通常理解的含义。出于解释本说明书的目的，将应用以下术语描述，并且只要适当，以单数使用的术语也将包括复数，反之亦然。在所阐述的术语的任何描述与以引用方式并入本文的任何文档冲突的情况下，将以下面所阐述的术语的描述为准。

[0185] 术语"抗体"、"免疫球蛋白"或"Ig"在本文中可互换使用，并且以最广泛的意义使用，并且具体地涵盖例如单克隆抗体(包括激动剂、拮抗剂、中和抗体、全长或完整的单克隆抗体)、具有多表位或单表位特异性的抗体组合物、多克隆或单价抗体、多价抗体、由至少两种完整抗体形成的多特异性抗体(例如，双特异性抗体，只要它们表现出期望的生物活性即可)、单链抗体以及它们的片段，如下文所述。抗体可以是人的、人源化的、嵌合的和/或亲和力成熟的，以及来自其他物种例如小鼠和兔等的抗体。术语"抗体"旨在包括免疫球蛋白多肽类别内的B细胞的多肽产物，其能够与特定分子抗原结合并且由两对相同的多肽链组成，其中每对具有一条重链(约50-70kDa)和一条轻链(约25kDa)，每条链的每个氨基末端部分包括约100至约130个或更多个氨基酸的可变区，并且每条链的每个羧基末端部分包括恒定区。参见例如，Antibody Engineering(Borrebaeck编辑，第2版，1995)；和Kuby，Immunology(第3版，1997)。在具体实施方案中，特异性分子抗原可被本文提供的抗体结合，包括多肽或表位。抗体还包括但不限于合成抗体、重组产生的抗体、包括来自骆驼科物种(例如美洲驼或羊驼)的单结构域抗体或其人源化变体、胞内抗体、抗独特型(抗Id)抗体和上述任一种的功能性片段(例如，抗原结合片段)，其是指保留了该片段所来源的抗体的一些或全部结合活性的抗体重链或轻链多肽的部分。功能性片段(例如，抗原结合片段)的非限制性示例包括单链Fvs(scFv)(例如，包括单特异性、双特异性等)、Fab片段、F(ab′)片段、$F(ab)_2$片段、$F(ab')_2$片段、二硫键连接的Fvs(dsFv)、Fd片段、Fv片段、双抗体、三抗体、四抗体和微抗体。具体地，本文提供的抗体包括免疫球蛋白分子和免疫球蛋白分子的免疫活性部分，例如，含有结合抗原的抗原结合位点的抗原结合结构域或分子(例如，抗体的一个或多个CDR)。此类抗体片段可见于例如Harlow和Lane，Antibodies:A Laboratory Manual(1989)；Mol.Biology and Biotechnology:A Comprehensive Desk Reference(Myers编辑，1995)；Huston等人，1993，Cell Biophysics22:189-224；Plückthun和Skerra，1989，Meth.Enzymol.178:497-515；和Day，Advanced Immunochemistry(第2版，1990)。本文提供的抗体可以是免疫球蛋白分子的任何种类(例如IgG、IgE、IgM、IgD和IgA)或任何亚类(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)。抗体可以是激动性抗体或拮抗性抗体。抗体可能既不是激动性的也不是拮抗性的。

[0186] ″抗原″是抗体可选择性结合的结构。靶抗原可以是多肽、碳水化合物、核酸、脂质、半抗原或其他天然存在的或合成的化合物。在一些实施方案中，靶抗原是多肽。在某些实施方案中，抗原与细胞缔合，例如，存在于细胞上或细胞中。

[0187] ″完整″抗体是包含抗原结合位点以及CL和至少重链恒定区CH1、CH2和CH3的抗体。恒定区可包括人恒定区或其氨基酸序列变体。在某些实施方案中，完整抗体具有一种或多种效应子功能。

[0188] 术语″抗原结合片段″、″抗原结合结构域″、″抗原结合区″和类似术语是指结合分子的包含与抗原相互作用并赋予结合剂对抗原(例如，CDR)的特异性和亲和力的氨基酸残基的那部分。如本文所用，″抗原结合片段″包括

[0189] ″抗体片段″，其包含完整抗体的一部分，诸如完整抗体的抗原结合区或可变区。抗体片段的示例包括但不限于Fab、Fab′、F(ab')$_2$和Fv片段；双抗体和双-双抗体(参见，例如，Holliger等人，1993，Proc.Natl.Acad.Sci.90:6444-48；Lu等人，2005，J.Biol.Chem.280:19665-72；Hudson等人，2003，Nat.Med.9:129-34；WO 93/11161；以及美国专利5,837,242和6,492,123)；单链抗体分子(参见例如，美国专利4,946,778；5,260,203；5,482,858；和5,476,786)；双可变结构域抗体(参见例如，美国专利7,612,181)；单可变结构域抗体(sdAb)(参见例如，Woolven等人，1999，Immunogenetics 50:98-101；和Streltsov等人，2004，Proc Natl Acad Sci USA.101:12444-49)；以及由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0190] 如本文所用，″单结构域抗体″或″sdAb″是指单个单体可变抗体结构域并且能够抗原结合(例如，与pIgR结合的单结构域抗体)。单结构域抗体包括如本文所述的VHH结构域。单结构域抗体的示例包括但不限于天然缺乏轻链的抗体诸如来自骆驼科物种(例如美洲驼)的那些、来源于常规4链抗体的单结构域抗体、工程化抗体和不同于来源于抗体的那些的单结构域支架。单结构域抗体可来源于任何物种，包括但不限于小鼠、人、骆驼、美洲驼、山羊、兔和牛。例如，单结构域抗体可来源于在骆驼科物种中例如在骆驼、美洲驼、单峰驼、羊驼和原驼中产生的抗体，如本文所述。除骆驼科之外的其他物种可产生天然不含轻链的重链抗体；来源于此类其他物种的VHH在本公开的范围内。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体(例如，VHH)具有FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4的结构。单结构域抗体可与本文所述的另一分子(例如，试剂)基因融合或化学缀合。

[0191] 术语″结合(binds)″或″结合(binding)″是指分子之间的相互作用，包括例如形成复合物。相互作用可以是例如非共价相互作用，包括氢键、离子键、疏水相互作用和/或范德华相互作用。复合物还可包括通过共价键或非共价键、相互作用或力保持在一起的两个或多个分子的结合。抗体上的单个抗原结合位点和靶分子诸如抗原的单个表位之间的总非共价相互作用的强度是抗体或功能性片段对该表位的亲和力。结合分子(例如抗体)与单价抗原的解离速率(k_{off})与缔合速率(k_{on})的比率(k_{off}/k_{on})为解离常数K_D，其与亲和力成反比。K_D值越低，抗体的亲和力越高。K_D值对于抗体和抗原的不同复合物而变化，并且取决于k_{on}和k_{off}两者。本文提供的抗体的解离常数K_D可使用本文提供的任何方法或本领域技术人员众所周知的任何其他方法来确定。一个结合位点处的亲和力并不总是反映抗体与抗原之间的相互作用的真实强度。当含有多个重复抗原决定簇的复合抗原(诸如多价抗原)与含有多个结合位点的抗体接触时，抗体与抗原在一个位点处的相互作用将增加在第二个位点处反应的概率。多价抗体与抗原之间的这种多重相互作用的强度称为亲合力。

[0192] 与本文所述的结合分子相关的术语，诸如"结合"、"特异性结合"和类似术语在本文中也可互换使用，并且是指特异性结合抗原诸如多肽的抗原结合结构域的结合分子。结合或特异性结合抗原的结合分子或抗原结合结构域可与相关抗原交叉反应。在某些实施方案中，结合或特异性结合抗原的结合分子或抗原结合结构域不与其他抗原交叉反应。结合或特异性结合抗原的结合分子或抗原结合结构域可例如通过免疫测定、Octet®、Biacore®或本领域技术人员已知的其他技术来鉴定。在一些实施方案中，如使用实验技术诸如放射性免疫测定(RIA)和酶联免疫吸附测定(ELISA)确定的，当结合分子或抗原结合结构域以比与任何交叉反应性抗原更高的亲和力结合抗原时，它结合或特异性结合抗原。典型地，特异性或选择性反应将为背景信号或噪声的至少两倍，并且可以是背景的10倍以上。参见例如，Fundamental Immunology 332-36(Paul编辑，第2版，1989)有关结合特异性的讨论。在某些实施方案中，结合分子或抗原结合结构域与"非靶"蛋白的结合程度小于结合分子或抗原结合结构域与其特定靶抗原结合的约10％，例如，如通过荧光活化细胞分选(FACS)分析或RIA所确定的。关于诸如"特异性结合"、"特异性地结合"或"特异于"的术语意指与非特异性相互作用明显不同的结合。特异性结合可例如通过确定与对照分子的结合相比的分子的结合来测量，该对照分子通常是不具有结合活性的类似结构的分子。例如，特异性结合可通过与类似于靶的对照分子竞争来确定，例如过量的未标记靶。在这种情况下，如果标记靶与探针的结合被过量的未标记靶竞争性地抑制，则指示特异性结合。与抗原结合的结合分子或抗原结合结构域包括能够以足够亲和力结合抗原的一种结合分子或抗原结合结构域，使得结合分子可用作例如靶向抗原的诊断剂。在某些实施方案中，与抗原结合的结合分子或抗原结合结构域具有小于或等于800nM、600nM、550nM、500nM、300nM、250nM、100nM、50nM、10nM、5nM、4nM、3nM、2nM、1nM、0.9nM、0.8nM、0.7nM、0.6nM、0.5nM、0.4nM、0.3nM、0.2nM或0.1nM的解离常数(K_D)。在某些实施方案中，结合分子或抗原结合结构域结合在来自不同物种(例如，在人和食蟹猴物种之间)的抗原中保守的抗原表位。

[0193] "结合亲和力"通常是指分子(例如，结合蛋白诸如抗体)的单个结合位点与其结合配偶体(例如，抗原)之间的非共价相互作用的总和的强度。除非另外指明，否则如本文所用，"结合亲和力"是指内在结合亲和力，其反映结合对的成员(例如，抗体与抗原)之间的1:1相互作用。结合分子X对其结合配偶体Y的亲和力通常可由解离常数(K_D)表示。亲和力可通过本领域已知的常见方法测量，包括本文所述的那些。低亲和力抗体通常缓慢结合抗原并且倾向于易于解离，而高亲和力抗体通常更快地结合抗原并且趋向于更长地保持结合。测量结合亲和力的多种方法是本领域已知的，其中的任何方法都可用于本公开的目的。具体的例示性实施方案包括以下。在一个实施方案中，"K_D"或"K_D值"可通过本领域已知的测定例如通过结合测定来测量。K_D可在RIA中测量，例如用目的抗体及其抗原的Fab版本进行(Chen等人，1999，J.Mol Biol 293:865-81)。K_D或K_D值还可通过使用生物层干涉测量法(BLI)或表面等离子体共振(SPR)测定由Octet®使用例如Octet®Red96系统、或由Biacore®使用例如Biacore®TM-2000或Biacore®TM-3000来测量。"结合速率"或"缔合的速率"或"缔合速率"或"kon"也可用上述相同的生物层干涉测量法(BLI)或表面等离子共振(SPR)技术使用例如Octet®Red96、Biacore®TM-2000或Biacore®TM-3000系统来确定。

[0194] 在某些实施方案中，结合分子或抗原结合结构域可包含"嵌合"序列，其中重链和/或轻链的一部分与来源于特定物种或属于特定抗体种类或亚类的抗体中的对应序列相同

或同源，而链的剩余部分与来源于另一物种或属于另一抗体种类或亚类的抗体以及此类抗体的片段中的对应序列相同或同源，只要它们表现出期望的生物活性即可(参见美国专利4,816,567；和Morrison等人，1984，Proc.Natl.Acad.Sci.USA 81:6851-55)。嵌合序列可包括人源化序列。

[0195] 在某些实施方案中，结合分子或抗原结合域可包含非人(例如，骆驼、鼠、非人灵长类动物)抗体的"人源化"形式的部分，其包括来自人免疫球蛋白(例如，受体抗体)的序列，其中天然CDR残基被来自非人物种诸如骆驼、小鼠、大鼠、兔或非人灵长类动物(例如，供体抗体)的具有期望的特异性、亲和力和能力的对应CDR残基替换。在一些情况下，人免疫球蛋白序列的一个或多个FR区残基被对应的非人残基替换。此外，人源化抗体可包含受体抗体或供体抗体中没有的残基。进行这些修饰以进一步改善抗体性能。人源化抗体重链或轻链可包含基本上所有的至少一个或多个可变区，其中所有或基本上所有的CDR对应于非人免疫球蛋白的那些，并且所有或基本上所有的FR是人免疫球蛋白序列的那些。在某些实施方案中，人源化抗体将包含免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分，通常是人免疫球蛋白的恒定区的至少一部分。对于更多细节，参见Jones等人，1986，Nature 321:522-25；Riechmann等人，1988，Nature 332:323-29；Presta，1992，Curr.Op.Struct.Biol.2:593-96；Carter等人，1992，Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89:4285-89；美国专利:6,800,738；6,719,971；6,639,055；6,407,213；和6,054,297。

[0196] 在某些实施方案中，结合分子或抗原结合结构域可包含"完全人抗体"或"人抗体"的部分，其中这些术语在本文中可互换使用并且是指包含人可变区和例如人恒定区的抗体。结合分子可包含单结构域抗体序列。在具体实施方案中，这些术语是指包含人来源的可变区和恒定区的抗体。在某些实施方案中，"完全人"抗体还可涵盖结合多肽并由核酸序列编码的抗体，该核酸序列是人种系免疫球蛋白核酸序列的天然存在的体细胞变体。术语"完全人抗体"包括具有对应于如Kabat等人所述的人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区的抗体(参见Kabat等人(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest，第五版，U.S.Department of Health and Human Services，NIH公开号91-3242)。"人抗体"是指具有与由人产生和/或已使用用于制备人抗体的任何技术制备的抗体的氨基酸序列相对应的氨基酸序列的抗体。人抗体的这一定义特别排除了包含非人抗原结合残基的人源化抗体。可使用本领域已知的各种技术来产生人抗体，包括噬菌体展示文库(Hoogenboom和Winter，1991，J.Mol.Biol.227:381；Marks等人，1991，J.Mol.Biol.222:581)和酵母展示文库(Chao等人，2006，Nature Protocols1:755-68)。也可用于制备人单克隆抗体的方法描述于Cole等人，Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy 77(1985)；Boerner等人，1991，J.Immunol.147(1):86-95；以及van Dijk和van de Winkel，2001，Curr.Opin.Pharmacol.5:368-74。人抗体可通过将抗原施用到转基因动物来制备，该转基因动物已被修饰以响应于抗原攻击而产生此类抗体，但其内源性基因座已被禁用，例如小鼠(参见例如，Jakobovits，1995，Curr.Opin.Biotechnol.6(5):561-66；Br ü ggemann和Taussing，1997，Curr.Opin.Biotechnol.8(4):455-58；和关于XENOMOUSE™技术的美国专利6,075,181和6,150,584)。还参见例如Li等人，2006，Proc.Natl.Acad.Sci.USA 103:3557-62关于经由人B细胞杂交瘤技术生成的人抗体。

[0197] 在某些实施方案中，结合分子或抗原结合结构域可包含"重组人抗体"的部分，其

中该短语包括通过重组手段制备、表达、产生或分离的人抗体，诸如使用转染到宿主细胞中的重组表达载体表达的抗体、从重组组合人抗体文库中分离的抗体、从人免疫球蛋白基因的转基因和/或转染色体的动物(例如，小鼠或牛)中分离的抗体(参见例如，Taylor，L.D.等人(1992)Nucl.Acids Res.20:6287-6295)或通过涉及将人免疫球蛋白基因序列剪接到其他DNA序列的任何其他手段制备、表达、产生或分离的抗体。此类重组人抗体可具有来源于人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区(参见Kabat，E.A.等人(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest，第五版，U.S.Department of Health and Human Services，NIH公开号91-3242)。然而，在某些实施方案中，对此类重组人抗体进行体外诱变(或者，当使用针对人Ig序列的转基因动物时，进行体内体细胞诱变)，并且因此重组抗体的VH和VL区的氨基酸序列是这样的序列，其虽然来源于人种系VH和VL序列并与之相关，但可能不天然存在于体内人抗体种系库内。

[0198] 在某些实施方案中，结合分子或抗原结合结构域可包含"单克隆抗体"的一部分，其中如本文所用的术语是指从基本上均一的抗体群体中获得的抗体，例如，除了可能以少量存在的天然存在的突变或众所周知的翻译后修饰诸如氨基酸磷酸化或脱酰胺化、甲硫氨酸氧化或天冬酰胺或谷氨酰胺脱酰胺化之外，组成群体的单个抗体是相同的，每个单克隆抗体通常将识别抗原上的单个表位。在具体实施方案中，如本文所用，"单克隆抗体"是由单个杂交瘤或其他细胞产生的抗体。术语"单克隆"不限于用于制备抗体的任何特定方法。例如，可用于本公开的单克隆抗体可通过首先由Kohler等人，1975，Nature 256:495描述的杂交瘤方法制备，或者可在细菌或真核动物或植物细胞中使用重组DNA方法制备(参见例如，美国专利4,816,567)。"单克隆抗体"也可使用例如Clackson等人，1991，Nature 352:624-28和Marks等人，1991，J.Mol.Biol.222:581-97中描述的技术从噬菌体抗体文库中分离。用于制备克隆细胞系和由此表达的单克隆抗体的其他方法在本领域中是众所周知的。参见例如，Short Protocols in Molecular Biology(Ausubel等人编辑，第5版，2002)。

[0199] 典型的4链抗体单元是由两条相同的轻(L)链和两条相同的重(H)链组成的异四聚体糖蛋白。在IgG的情况下，4链单元通常为约150,000道尔顿。每条L链通过一个共价二硫键与H链连接，而两条H链根据H链同种型通过一个或多个二硫键彼此连接。每条H和L链还具有规则间隔的链内二硫键。每条H链在N-末端具有可变结构域(VH)，随后是α链和γ链中的每一条的三个恒定结构域(CH)以及μ和ε同种型的四个CH结构域。每条L链在N-末端具有可变结构域(VL)，随后在其另一端具有恒定结构域(CL)。VL与VH对准，并且CL与重链的第一恒定结构域(CH1)对准。据信特定的氨基酸残基在轻链和重链可变结构域之间形成界面。VH和VL的配对一起形成单个抗原结合位点。对于不同类别的抗体的结构和特性，参见例如，Basic and Clinical Immunology 71(Stites等人编辑，第8版，1994)；和Immunobiology(Janeway等人编辑，第5版，2001)。

[0200] 术语"Fab"或"Fab区"是指结合抗原的抗体区。常规IgG通常包含两个Fab区，每个Fab区驻留在Y形IgG结构的两个臂中的一个臂上。每个Fab区通常由重链和轻链中的每一者的一个可变区和一个恒定区构成。更具体地，Fab区中重链的可变区和恒定区为VH和CH1区，并且Fab区中的轻链的可变区和恒定区为VL和CL区。Fab区中的VH、CH1、VL和CL可以各种方式布置以赋予根据本公开的抗原结合能力。例如，VH和CH1区可在一个多肽上，并且VL和CL区可在单独的多肽上，类似于常规IgG的Fab区。另选地，VH、CH1、VL和CL区可全部在同一多

肽上并以不同的顺序取向，如下文部分更详细描述的。

[0201] 术语"可变区"、"可变结构域"、"V区"或"V结构域"是指抗体的轻链或重链的一部分，其通常位于轻链或重链的氨基末端，并且在重链中具有约120至130个氨基酸的长度以及在轻链中具有约100至110个氨基酸的长度，并且用于每个特定抗体对其特定抗原的结合和特异性。重链的可变区可被称为"VH"。轻链的可变区可被称为"VL"。术语"可变"是指可变区的某些片段在抗体之间在序列上广泛不同的事实。V区介导抗原结合并限定特定抗体对其特定抗原的特异性。然而，可变性在可变区的110个氨基酸跨度上不是均匀分布的。相反，V区由较少可变(例如，相对不变)的称为框架区(FR)的约15-30个氨基酸的延伸组成，其被称为"高变区"的较大可变性(例如，极端可变性)的较短区域分开，该较短区域各自长约9-12个氨基酸。重链和轻链可变区各自包含四个FR，主要采用β片构型，由三个高变区连接，它们形成连接β折叠结构的环并且在一些情况下形成其部分。每条链中的高变区通过FR并与来自另一条链的高变区紧密靠近地保持在一起，有助于抗体的抗原结合位点的形成(参见例如，Kabat等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest(第5版，1991)。恒定区不直接参与抗体与抗原的结合，但表现出各种效应子功能，诸如抗体参与抗体依赖性细胞毒性(ADCC)和补体依赖性细胞毒性(CDC)。不同抗体之间的可变区在序列上广泛不同。在具体实施方案中，可变区是人可变区。

[0202] 术语"根据Kabat的可变区残基编号"或"如Kabat中的氨基酸位置编号"及其变体是指Kabat等人(出处同上)中用于抗体编译的重链可变区或轻链可变区的编号系统。使用该编号系统，实际线性氨基酸序列可含有对应于可变结构域的FR或CDR的缩短或插入的更少或另外的氨基酸。例如，重链可变结构域可包括在残基52之后的单个氨基酸插入(根据Kabat的残基52a)和在残基82之后的三个插入残基(例如，根据Kabat的残基82a、82b和82c等)。通过在抗体序列的同源区与"标准"Kabat编号序列比对，可确定给定抗体的Kabat残基编号。当提及可变结构域中的残基(大约轻链的残基1-107和重链的残基1-113)时，通常使用Kabat编号系统(例如，Kabat等人，出处同上)。当提及免疫球蛋白重链恒定区中的残基时，通常使用"EU编号系统"或"EU索引"(例如，Kabat等人中报道的EU索引，出处同上)。"如Kabat中的EU索引"是指人IgG 1EU抗体的残基编号。其他编号系统已由例如AbM、Chothia、Contact、IMGT和AHon描述。

[0203] 当参考抗体使用时，术语"重链"是指约50-70kDa的多肽链，其中氨基末端部分包括约120至130个或更多个氨基酸的可变区，并且羧基末端部分包括恒定区。基于重链恒定区的氨基酸序列，恒定区可以是五种不同类型中的一种(例如，同种型)，称为α(α)、δ(δ)、ε(ε)、γ(γ)和μ(μ)。不同的重链大小不同：α、δ和γ含有大约450个氨基酸，而μ和ε含有大约550个氨基酸。当与轻链结合时，这些不同类型的重链分别产生五种众所周知的类别(例如，同种型)的抗体，即IgA、IgD、IgE、IgG和IgM，包括IgG的四个亚类，即IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。

[0204] 当参考抗体使用时，术语"轻链"是指约25kDa的多肽链，其中氨基末端部分包括约100至约110个氨基酸的可变区，并且羧基末端部分包括恒定区。轻链的近似长度为211至217个氨基酸。基于恒定结构域的氨基酸序列，存在两种不同类型，称为κ(κ)或λ(λ)。

[0205] 如本文所用，术语"高变区"、"HVR"、"互补决定区"和"CDR"可互换使用。"CDR"是指免疫球蛋白(Ig或抗体)VHβ-片框架的非框架区内的三个高变区(H1、H2或H3)中的一个高变

区，或抗体VL β-片框架的非框架区内的三个高变区(L1、L2或L3)中的一个高变区。因此，CDR是散布在框架区序列内的可变区序列。

[0206] CDR区是本领域技术人员众所周知的，并且已由众所周知的编号系统定义。例如，Kabat互补决定区(CDR)是基于序列变异性的，并且是最常用的(参见例如，Kabat等人，出处同上)。相反，Chothia是指结构环的位置(参见例如，Chothia和Lesk，1987，J.Mol.Biol.196:901-17)。当使用Kabat编号惯例编号时，Chothia CDR-H1环的末端在H32和H34之间变化，这取决于环的长度(这是因为Kabat编号方案将插入置在H35A和H35B处；如果35A和35B都不存在，则环在32处结束；如果仅存在35A，则环在33处结束；如果35A和35B都存在，则环在34处结束)。AbM高变区表示Kabat CDR与Chothia结构环之间的折衷，并且由Oxford Molecular的AbM抗体建模软件使用(参见例如，Antibody Engineering，第2卷(Kontermann和Dübel编辑，第2版，2010))。"contact"高变区是基于对可获得的复杂晶体结构的分析。已经开发并广泛采用的另一种通用编号系统是ImMunoGeneTics(IMGT) InformationSystem®(Lafranc等人，2003，Dev.Comp.Immunol.27(1):55-77)。IMGT是专门研究人和其他脊椎动物的免疫球蛋白(IG)、T细胞受体(TCR)和主要组织相容性复合物(MHC)的整合信息系统。在本文中，CDR根据氨基酸序列以及轻链或重链内的位置两者来引用。由于CDR在免疫球蛋白可变结构域结构内的"位置"在物种之间是保守的，并且存在于称为环的结构中，因此通过使用根据结构特征比对可变结构域序列的编号系统，CDR和构架残基容易鉴定。该信息可用于将来自一个物种的免疫球蛋白的CDR残基移植和替换到通常来自人抗体的受体框架中。Honegger和Plückthun，2001，J.Mol.Biol.309:657-70开发了一种附加编号系统(AHon)。编号系统(包括例如Kabat编号和IMGT独特编号系统)之间的对应关系是本领域技术人员众所周知的(参见例如，Kabat，出处同上；Chothia和Lesk，出处同上；Martin，出处同上；Lefranc等人，出处同上)。来自这些高变区或CDR中的每一者的残基在下文中指出。

[0207]

环	Kabat	AbM	Chothia	Contact	IMGT
CDR L1	L24--L34	L24--L34	L24--L34	L30--L36	L27--L38
CDR L2	L50--L56	L50--L56	L50--L56	L46--L55	L56--L65
CDR L3	L89--L97	L89--L97	L89--L97	L89--L96	L105-L117
CDR H1	H31--H35B (Kabat 编号)	H26--H35B	H26--H32..34	H30--H35B	H27--H38
CDR H1	H31--H35 (Chothia 编	H26--H35	H26--H32	H30--H35	

[0208]

环	Kabat	AbM	Chothia	Contact	IMGT
	号)				
CDR H2	H50--H65	H50--H58	H52--H56	H47--H58	H56--H65
CDR H3	H95--H102	H95--H102	H95--H102	H93--H101	H105-H117

[0209] 给定CDR的边界可根据用于识别的方案而变化。因此，除非另有说明，否则给定抗体或其区域(诸如可变区)的术语"CDR"和"互补决定区"以及抗体或其区域的单独CDR(例如，"CDR-H1、CDR-H2)应理解为涵盖如上文所述的任何已知方案所定义的互补决定区。在一些情况下，指定用于识别特定CDR或CDR的方案，诸如由Kabat、Chothia或Contact方法定义

的CDR。在其他情况下，给出了CDR的特定氨基酸序列。

[0210] 高变区可包括如下"扩展高变区"：VL中的24-36或24-34(L1)、46-56或50-56(L2)和89-97或89-96(L3)，以及VH中的26-35或26-35A(H1)、50-65或49-65(H2)和93-102、94-102或95-102(H3)。

[0211] 术语"恒定区"或"恒定结构域"是指轻链和重链的羧基末端部分，其不直接参与抗体与抗原的结合，但表现出各种效应子功能，诸如与Fc受体的相互作用。该术语是指免疫球蛋白分子的相对于免疫球蛋白的其他部分(包含抗原结合位点的可变区)具有更保守的氨基酸序列的部分。恒定区可包含重链的CH1、CH2和CH3区和轻链的CL区。

[0212] 术语"框架"或"FR"是指侧接CDR的那些可变区残基。FR残基存在于例如嵌合的、人源化的、人的结构域抗体(例如，单结构域抗体)、双抗体、线性抗体和双特异性抗体中。FR残基是除高变区残基或CDR残基之外的那些可变结构域残基。

[0213] 术语"Fc区"在本文中用于定义免疫球蛋白重链的C-末端区域，包括例如天然序列Fc区、重组Fc区和变异Fc区。尽管免疫球蛋白重链的Fc区的边界可能变化，但人IgG重链Fc区通常被定义为从位置Cys226的氨基酸残基或从Pro230延伸到其羧基末端。Fc区的C-末端赖氨酸(残基447根据EU编号系统)可例如在抗体的生产或纯化期间或通过重组工程化编码抗体重链的核酸来去除。因此，完整抗体的组合物可包括去除了所有K447残基的抗体群、没有去除K447残基的抗体群体、以及具有含和不含K447残基的抗体混合物的抗体群体。"功能性Fc区"具有天然序列Fc区的"效应子功能"。示例性"效应子功能"包括C1q结合；CDC；Fc受体结合；ADCC；吞噬作用；细胞表面受体(例如，B细胞受体)的下调等。此类效应子功能通常需要Fc区与结合区或结合结构域(例如，抗体可变区或结构域)组合，并且可使用本领域技术人员已知的各种测定来评估。"变体Fc区"包括由于至少一个氨基酸修饰(例如，取代、添加或缺失)而与天然序列Fc区的氨基酸序列不同的氨基酸序列。在某些实施方案中，变体Fc区与天然序列Fc区或亲本多肽的Fc区相比具有至少一个氨基酸取代，例如，在天然序列Fc区或亲本多肽的Fc区中约一至约十个氨基酸取代，或约一至约五个氨基酸取代。本文的变体Fc区可与天然序列Fc区和/或亲本多肽的Fc区具有至少约80％的同源性，或者与其具有至少约90％的同源性，例如与其具有至少约95％的同源性。

[0214] 如本文所用，"表位"是本领域的术语，并且是指结合分子(例如，包含单结构域抗体序列的抗体)可特异性结合的抗原的局部区域。表位可以是线性表位或构象、非线性或不连续表位。在多肽抗原的情况下，例如，表位可以是多肽的连续氨基酸("线性"表位)，或者表位可包含来自多肽的两个或更多个非连续区域的氨基酸("构象"、"非线性"或"不连续"表位)。本领域技术人员将理解，一般来讲，线性表位可取决于或不取决于二级、三级或四级结构。例如，在一些实施方案中，结合分子与一组氨基酸结合，而无论它们是否在天然三维蛋白质结构中折叠。在其他实施方案中，结合分子需要构成表位的氨基酸残基表现出特定的构象(例如弯曲、扭曲、翻转或折叠)以便识别和结合表位。

[0215] 所谓"增强"或"促进"或"增加"或"扩大"或"改进"通常是指与由媒介物或对照分子/组合物引起的响应相比，本文预期的组合物产生、引发或导致更大生理响应(即，下游作用)的能力。可测量的生理响应可包括但不限于正向或反向转胞吞的增加，以及从本领域的理解和本文的描述中显而易见的其他响应。在某些实施方案中，"增加的"或"增强的"量可以是"统计学上显著的"量，并且可包括由媒介物或对照组合物产生的响应的1.1、1.2、1.5、

2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30或更多倍(例如,500、1000倍)(包括介于和大于1之间的所有整数和小数点,例如1.5、1.6、1.7、1.8等)的增加。

[0216] 术语"多肽"、"肽"和"蛋白质"在本文中可互换使用,并且是指任何长度的氨基酸的聚合物。该聚合物可以是直链或支链的,其可包含经修饰的氨基酸,并且其可夹杂有非氨基酸。该术语还涵盖已被天然修饰或通过干预修饰的氨基酸聚合物;例如二硫键形成、糖基化、脂化、乙酰化、磷酸化或任何其他操作或修饰。该定义还包括例如含有一种或多种氨基酸类似物(包括但不限于非天然氨基酸)以及本领域已知的其他修饰的多肽。应当理解,因为本公开的多肽可基于抗体或免疫球蛋白超家族的其他成员,所以在某些实施方案中,"多肽"可作为单链或两个或更多个相关链出现。

[0217] 术语"载体"是指用于携带或包含核酸序列的物质,该核酸序列包括例如编码如本文所述的结合分子(例如抗体)的核酸序列,以便将核酸序列引入宿主细胞。适用的载体包括例如表达载体、质粒、噬菌体载体、病毒载体、附加体和人工染色体,其可包括可操作用于稳定整合到宿主细胞染色体中的选择序列或标记。另外,载体可包括一个或多个选择性标记基因和适当的表达控制序列。可包括的选择性标记基因例如提供对抗生素或毒素的抗性,补充营养缺陷,或提供不在培养基中的关键营养物。表达控制序列可包括本领域众所周知的组成型和诱导型启动子、转录增强子、转录终止子等。当两个或更多个核酸分子被共表达时(例如,抗体重链和轻链或抗体VH和VL两者),两种核酸分子都可被插入例如单个表达载体或单独的表达载体中。对于单个载体表达,编码核酸可操作地连接到一个共同表达控制序列或连接到不同的表达控制序列,诸如一个诱导型启动子和一个组成型启动子。将核酸分子引入宿主细胞可使用本领域众所周知的方法来确认。此类方法包括例如核酸分析,诸如mRNA的Northern印迹或聚合酶链反应(PCR)扩增、用于基因产物表达的免疫印迹或其他合适的分析方法,以测试引入的核酸序列或其对应基因产物的表达。本领域技术人员应理解,核酸分子以足以产生期望产物的量表达,并且进一步理解,可使用本领域众所周知的方法优化表达水平以获得足够的表达。

[0218] 如本文所用,术语"宿主"是指动物,诸如哺乳动物(例如,人)。

[0219] 如本文所用,术语"宿主细胞"是指可用核酸分子转染的特定受试者细胞和此类细胞的后代或潜在后代。此类细胞的后代可与用核酸分子转染的亲本细胞不同,由于可在后代中发生的突变或环境影响或者由于核酸分子整合到宿主细胞基因组中。

[0220] "分离的核酸"是基本上与天然序列自然伴随的其他基因组DNA序列以及蛋白质或复合物诸如核糖体和聚合酶分离的核酸,例如RNA、DNA或混合核酸。"分离的"核酸分子是与存在于该核酸分子的天然来源中的其他核酸分子分离的核酸分子。此外,"分离的"核酸分子,诸如cDNA分子,当通过重组技术产生时可基本上不含其他细胞材料或培养基,或当化学合成时基本上不含化学前体或其他化学品。在一个具体实施方案中,分离或纯化编码单结构域抗体或如本文所述的抗体的一种或多种核酸分子。该术语涵盖已从其天然存在的环境中去除的核酸序列,并且包括重组或克隆的DNA分离物和化学合成的类似物或通过异源系统生物合成的类似物。基本上纯的分子可包括该分子的分离形式。

[0221] 如在本文中可互换使用的"多核苷酸"或"核酸"是指任何长度的核苷酸的聚合物并且包括DNA和RNA。核苷酸可以是脱氧核糖核苷酸、核糖核苷酸、修饰的核苷酸或碱基和/或它们的类似物,或是可通过DNA或RNA聚合酶或通过合成反应掺入聚合物中的任何底物。

多核苷酸可包含修饰的核苷酸，诸如甲基化核苷酸及其类似物。如本文所用，"寡核苷酸"是指短的、通常单链的合成多核苷酸，其长度通常但不一定少于约200个核苷酸。术语"寡核苷酸"和"多核苷酸"不是相互排斥的。以上针对多核苷酸的描述同样并且完全适用于寡核苷酸。产生本公开的结合分子的细胞可包括亲本杂交瘤细胞，以及其中已引入编码抗体的核酸的细菌和真核宿主细胞。除非另有说明，否则本文所公开的任何单链多核苷酸序列的左侧末端是5′末端；双链多核苷酸序列的左侧方向被称为5'方向。新生RNA转录物的5′至3′添加方向被称为转录方向；DNA链上具有与RNA转录物相同序列的序列区域，其在RNA转录物的5′至5端，被称为"上游序列"；DNA链上具有与RNA转录物相同序列的序列区域，其在RNA转录物的3′至3′端，被称为"下游序列"。

[0222] 如本文所用，当参考核酸或氨基酸使用时，术语"可操作地连接"和类似的短语(例如，基因融合)是指分别以彼此的功能关系放置的核酸序列或氨基酸序列的操作连接。例如，可操作地连接的启动子、增强子元件、开放阅读框、5′和3′UTR和终止子序列导致核酸分子(例如，RNA)的准确产生。在一些实施方案中，可操作地连接的核酸元件导致开放阅读框的转录并最终产生多肽(即，开放阅读框的表达)。又如，可操作地连接的肽是其中功能性结构域彼此以适当距离放置以赋予每个结构域预期功能的肽。

[0223] 如本文所用，术语"药学上可接受的"意指在动物并且更具体地在人中使用的由联邦或州政府的监管机构批准的或在美国药典、欧洲药典或其他公认的药典中列出的。

[0224] "赋形剂"意指药学上可接受的材料、组合物或媒介物，诸如液体或固体填充剂、稀释剂、溶剂或包封材料。赋形剂包括例如包封材料或添加剂，诸如吸收促进剂、抗氧化剂、粘结剂、缓冲液、载体、包衣剂、着色剂、稀释剂、崩解剂、乳化剂、增量剂、填充剂、调味剂、保湿剂、润滑剂、香料、防腐剂、推进剂、释放剂、灭菌剂、甜味剂、增溶剂、润湿剂以及它们的混合物。术语"赋形剂"还可指稀释剂、佐剂(例如，弗氏佐剂(完全或不完全)或媒介物。

[0225] 在一些实施方案中，赋形剂是药学上可接受的赋形剂。药学上可接受的赋形剂的示例包括缓冲液，诸如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸；抗氧化剂，包括抗坏血酸；低分子量(例如，少于约10个氨基酸残基)多肽；蛋白质，诸如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白；亲水性聚合物，诸如聚乙烯吡咯烷酮；氨基酸，诸如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、精氨酸或赖氨酸；单糖、二糖和其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合剂，诸如EDTA；糖醇，诸如甘露醇或山梨糖醇；成盐抗衡离子，诸如钠；和/或非离子表面活性剂，诸如TWEEN™、聚乙二醇(PEG)和PLURONICS™。药学上可接受的赋形剂的其他示例描述于Remington和Gennaro，Remington's Pharmaceutical Sciences(第18版，1990)中。

[0226] 在一个实施方案中，每种组分在与药物制剂的其他成分相容的意义上是"药学上可接受的"，并且适用于与人和动物的组织或器官接触而没有过度毒性、刺激、过敏反应、免疫原性或其他问题或并发症，与合理的益处/风险比相称。参见例如，Lippincott Williams&Wilkins:Philadelphia,PA,2005;Handbook of Pharmaceutical Excipients，第6版;Rowe等人编辑;The Pharmaceutical Press and the American Pharmaceutical Association:2009;Handbook of Pharmaceutical Additives，第3版;Ash和Ash编辑;Gower Publishing Company:2007;Pharmaceutical Pretormulation and Formulation，第2版;Gibson编辑;CRC Press LLC:Boca Raton,FL,2009。在一些实施方案中，药学上可接受的赋形剂在所采用的剂量和浓度下对暴露于其的细胞或哺乳动物无毒。在一些实施方案

中，药学上可接受的赋形剂是pH缓冲水溶液。

[0227] 在一些实施方案中，赋形剂是无菌液体，诸如水和油，包括石油、动物、植物或合成来源诸如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等的那些。当静脉内施用组合物(例如，药物组合物)时，水是示例性赋形剂。盐水溶液和右旋糖水溶液以及甘油溶液也可用作液体赋形剂，尤其是用于注射溶液。赋形剂还可包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、大米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、脱脂奶粉、甘油、丙烯、二醇、水、乙醇等。如果需要，组合物还可含有少量润湿剂或乳化剂或pH缓冲剂。组合物可采用溶液、悬浮液、乳液、片剂、丸剂、胶囊、粉末、缓释制剂等形式。口服组合物，包括制剂，可包括标准赋形剂，诸如药物级甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素、碳酸镁等。

[0228] 例如，包括药物化合物的组合物可含有结合分子(例如，抗体)，例如以分离或纯化的形式与合适量的赋形剂一起。

[0229] 如本文所用，术语"有效量"或"治疗有效量"是指足以产生期望结果的本文提供的单结构域抗体或包含试剂和单结构域抗体的治疗性分子或药物组合物的量。

[0230] 术语"受试者"和"患者"可互换使用。如本文所用，在某些实施方案中，受试者是哺乳动物，诸如非灵长类动物(例如，牛、猪、马、猫、狗、大鼠等)或灵长类动物(例如，猴和人)。在具体实施方案中，受试者是人。在一个实施方案中，受试者是被诊断患有病症或障碍的哺乳动物，例如人。在另一个实施方案中，受试者是具有发展病症或障碍的风险的哺乳动物，例如人。

[0231] "施用"(administer或administration)是指将存在于体外的物质注射或以其他方式物理递送至患者体内的动作，诸如通过粘膜、皮内、静脉内、肌内递送和/或本文所述或本领域已知的任何其他物理递送方法。

[0232] 如本文所用，术语"治疗"(treat、treatment和treating)是指由施用一种或多种疗法引起的疾病或病症的进展、严重程度和/或持续时间的减少或改善。治疗可通过评估是否已存在与潜在障碍相关的一种或多种症状的减少、减轻和/或缓解来确定，使得尽管患者可能仍然受到潜在障碍的折磨，但观察到患者的改善。术语"治疗"包括管理和改善疾病。术语"管理"(manage、managing和management)是指受试者从不一定导致疾病治愈的疗法中获得的有益效果。

[0233] 术语"预防"(prevention、preventing和prevention)是指降低疾病、障碍、病症或相关联症状(例如，糖尿病或癌症)发作(或复发)的可能性。

[0234] 术语"约"和"大约"意指在给定值或范围的20％内、15％内、10％内、9％内、8％内、7％内、6％内、5％内、4％内、3％内、2％内、1％内或更小。

[0235] 如本公开和权利要求书中所用，单数形式"一"、"一个"和"该"包括复数形式，除非上下文清楚表明并非如此。

[0236] 应当理解，在本文中用术语"包括"描述实施方案的任何地方，还提供了根据"由.....组成"和/或"基本上由.....组成"描述的其他类似实施方案。还应理解，在本文中用短语"基本上由...组成"描述实施方案的任何地方，还提供了根据"由.....组成"描述的其他类似实施方案。

[0237] 如在短语诸如"A与B之间"或"A-B之间"中使用的术语"之间"是指包括A和B两者的范围。

[0238] 如在短语诸如"A和/或B"中使用的术语"和/或"在此旨在包括A和B两者;A或B;A(单独);和B(单独)。同样,如在短语诸如"A、B和/或C"中使用的术语"和/或"旨在涵盖以下实施方案中的每个实施方案:A、B和C;A、B或C;A或C;A或B;B或C;A和C;A和B;B和C;A(单独);B(单独);和C(单独)。

[0239] 5.2.单结构域抗体

[0240] 5.2.1靶向pIGR的单结构域抗体

[0241] 本文提供了能够结合聚合免疫球蛋白受体(pIgR)的单结构域抗体(例如,VHH结构域),其可充当治疗剂的递送结构域。

[0242] 在各种实施方案中,本文提供的单结构域抗体(例如,VHH结构域)与人pIgR(Genbank ID:CR749533)结合(参见Turula,H.&Wobus,C.E.The Role of the Polymeric Immunoglobulin Receptor and Secretory Immunoglobulins during Mucosal Infection and Immunity.Viruses10(2018))。在其他实施方案中,本文提供的单结构域抗体(例如,VHH结构域)与小鼠pIgR结合。

[0243] 人pIgR(hpIgR)是含有620个残基的胞外结构域(ECD)、23个残基的跨膜结构域和103个残基的胞内结构域的82kDa、单程跨膜受体。

[0244] pIgR将可溶性聚合形式的IgA和IgM从上皮的基底外侧转运至顶端粘膜组织中。将聚合免疫球蛋白从基底外侧转运至顶端侧的过程为转胞吞。转胞吞后,含有五个结构域(分泌组分)的pIgR ECD在有或没有IgA的情况下被蛋白水解切割并释放到粘液中。除了转胞吞之外,pIgR还具有几种不同的功能,包括但不限于赋予IgA稳定性、免疫排斥、抗炎特性和粘膜免疫系统中共生物的稳态。

[0245] 每日总抗体产生的大约75%针对IgA分子。在人中,存在编码IgA亚类的两个cα基因:IgA1和IgA2(IgA2m(1)和(2)同种异型)。IgA1具有在IgA2中缺乏的伸长铰链区,其含有若干O-聚糖位点并且易受蛋白水解切割的影响。内源性IgA以区室依赖性方式以多种形式存在。单体IgA(mIgA)是血清中的主要形式(浓度为1mg/mL-3mg/mL),主要作为在骨髓中产生的IgA1(约90%)。二聚IgA(dIgA)通过C-末端Fc尾片与J链的S-S桥接形成。dIgA在作用的靶位点处局部产生并且跨粘膜表面转运至呼吸道、GI和泌尿生殖道的分泌物中。分泌型IgA(S-IgA)通过dIgA与聚合Ig受体(pIgR)的胞外结构域的复合物形成。上皮细胞粘膜表面处的分泌组分(SC)的切割释放S-IgA。

[0246] 聚合免疫球蛋白受体(pIgR)通过Fc和J链介导的相互作用结合可溶性二聚IgA。pIgR不跨粘膜上皮结合或转运IgG分子。尽管IgG分子缺乏靶向腔的活性转运机制,但赋予IgG的pIgR结合能力可介导IgG抗体选择性转运进入粘膜腔内。

[0247] pIgR的结构总结在图6A中。pIgR介导的转运机制总结在图6B中。pIgR在各种器官中的表达示于图7中。

[0248] 通过本公开的令人惊讶的发现是,本文提供的单结构域抗体从顶端表面转运至基底外侧表面(反向转胞吞)以及从基底外侧转运至顶端侧(转胞吞)。

[0249] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体(例如,VHH结构域)与IgA竞争结合pIgR。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体(例如,VHH结构域)促进IgA与pIgR的结合。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体(例如,VHH结构域)与pIgR结合的K_D为4nM至525nM。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体(例如,VHH结构域)与pIgR结合的K_D

小于525nM。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体(例如，VHH结构域)与pIgR结合的K_D小于400nM。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体(例如，VHH结构域)与pIgR结合的K_D小于350nM。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体(例如，VHH结构域)与pIgR结合的K_D小于300nM。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体(例如，VHH结构域)与pIgR结合的K_D小于250nM。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体(例如，VHH结构域)与pIgR结合的K_D小于200nM。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体(例如，VHH结构域)与pIgR结合的K_D小于150nM。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体(例如，VHH结构域)与pIgR结合的K_D小于100nM。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体(例如，VHH结构域)与pIgR结合的K_D小于50nM。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体(例如，VHH结构域)与pIgR结合的K_D为4nm至525nm。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体(例如，VHH结构域)与pIgR结合的K_D为4nm至34nm。本文所述的生物层干涉测量实验显示8种VHH结构域结合物结合人pIgR胞外域的K_D值＜50nM(见表1)。

[0250] 在一些实施方案中，单结构域抗体(例如，VHH结构域)的T_m为53至77℃。在一些实施方案中，单结构域抗体(例如，VHH结构域)的T_m为53.9至76.4℃。在一些实施方案中，单结构域抗体(例如，VHH结构域)的T_m为61至77℃。在一些实施方案中，单结构域抗体(例如，VHH结构域)的T_m为61至71℃。

[0251] 在一些实施方案中，单结构域抗体(例如，VHH结构域)与MDCK-hpIgR细胞结合的EC50值小于10nM。表1中描述了六种包含VHH结构域的此类结合物。

[0252] 在一个方面，本文提供了与pIgR的结构域1结合的VHH结构域，其中该VHH结构域包含本文所述的VHH2或VHH3的CDR1、CDR2和/或CDR3序列。因此，在一些实施方案中，与pIgR的结构域1结合的VHH结构域包含以下CDR1、CDR2和CDR3序列：

[0253] VHH2：

[0254] i)SYRMG(SEQ ID NO:1)的CDR1序列、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:30)的CDR2序列和TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:61)的CDR3序列；

[0255] ii)GLTFSSY(SEQ ID NO:10)的CDR1序列、DWNGRGTYY(SEQ ID NO:40)或WNGRGTY(SEQ ID NO:260)的CDR2序列以及TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:72)或TVLTDPRVLNEYA(SEQ ID NO:273)的CDR3序列；

[0256] iii)GLTFSSYR(SEQ ID NO:20)的CDR1序列、IDWNGRGTYY(SEQ ID NO:50)或IDWNGRGTYYR(SEQ ID NO:270)的CDR2序列以及CAATTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:83)或AATTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:284)的CDR3序列；

[0257] iv)GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:154)的CDR1序列、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:184)的CDR2序列和TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:215)的CDR3序列；

[0258] v)SSYRMG(SEQ ID NO:164)的CDR1序列、FVAAIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:194)的CDR2序列和AATTVLTDPRVLNEYA(SEQ ID NO:226)的CDR3序列；或者

[0259] vi)GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:174)的CDR1序列、AIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:204)的CDR2序列和TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:237)的CDR3序列；或者

[0260] VHH3：

[0261] i)INVMG(SEQ ID NO:2)的CDR1序列、RINGGGITHYAESVKG(SEQ ID NO:31)的CDR2序列和DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:62)的CDR3序列；

[0262] ii)GSIFSIN(SEQ ID NO:11)的CDR1序列、NGGGI(SEQ ID NO:41)或GGG(SEQ ID NO:261)的CDR2序列以及DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:73)或VFGSSGYVET(SEQ ID NO:274)的CDR3序列;

[0263] iii)GSIFSINV(SEQ ID NO:21)的CDR1序列、INGGGIT(SEQ ID NO:51)的CDR2序列和KADVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:84)的CDR3序列;

[0264] iv)GSIFSINVMG(SEQ ID NO:155)的CDR1序列、RINGGGITHYAESVKG(SEQ ID NO:185)的CDR2序列和DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:216)的CDR3序列;

[0265] v)SINVMG(SEQ ID NO:165)的CDR1序列、LVARINGGGITH(SEQ ID NO:195)的CDR2序列和KADVFGSSGYVET(SEQ ID NO:227)的CDR3序列;或者

[0266] vi)GSIFSINVMG(SEQ ID NO:175)的CDR1序列、RINGGGITH(SEQ ID NO:205)的CDR2序列和DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:238)的CDR3序列。

[0267] 在一个方面,本文提供了与pIgR的结构域2结合的VHH结构域,其中该VHH结构域包含本文所述的VHH4或VHH6的CDR1、CDR2和/或CDR3序列。因此,在一些实施方案中,与pIgR的结构域2结合的VHH结构域包含以下CDR1、CDR2和CDR3序列:

[0268] VHH4:

[0269] i)SNAMG(SEQ ID NO:3)的CDR1序列、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:32)的CDR2序列和PLTAR(SEQ ID NO:63)的CDR3序列;

[0270] ii)GTSVSSN(SEQ ID NO:12)的CDR1序列、DRIAT(SEQ ID NO:42)或RIA(SEQ ID NO:262)的CDR2序列以及PLTAR(SEQ ID NO:74)或LTA(SEQ ID NO:275)的CDR3序列;

[0271] iii)GTSVSSNA(SEQ ID NO:22)的CDR1序列、IDRIATT(SEQ ID NO:52)的CDR2序列和NHPLTAR(SEQ ID NO:85)的CDR3序列;

[0272] iv)GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:156)的CDR1序列、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:186)的CDR2序列和PLTAR(SEQ ID NO:217)的CDR3序列;

[0273] v)SSNAMG(SEQ ID NO:166)的CDR1序列、WVGFIDRIATTT(SEQ ID NO:196)的CDR2序列和NHPLTA(SEQ ID NO:228)的CDR3序列;或者

[0274] vi)GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:176)的CDR1序列、FIDRIATTT(SEQ ID NO:206)的CDR2序列和PLTAR(SEQ ID NO:239)的CDR3序列;或者

[0275] VHH6:

[0276] i)SDAMG(SEQ ID NO:5)的CDR1序列、FISGGGTTTYADSVKG(SEQ ID NO:34)的CDR2序列和PLTSR(SEQ ID NO:65)的CDR3序列;

[0277] ii)GSSVSSD(SEQ ID NO:14)的CDR1序列、SGGGT(SEQ ID NO:44)或GGG(SEQ ID NO:264)的CDR2序列以及PLTSR(SEQ ID NO:76)或LTS(SEQ ID NO:277)的CDR3序列;或者

[0278] iii)GSSVSSDA(SEQ ID NO:24)的CDR1序列、ISGGGTT(SEQ ID NO:54)的CDR2序列和NHPLTSR(SEQ ID NO:87)的CDR3序列;

[0279] iv)GSSVSSDAMG(SEQ ID NO:158)的CDR1序列、FISGGGTTTYADSVKG(SEQ ID NO:188)的CDR2序列和PLTSR(SEQ ID NO:219)的CDR3序列;

[0280] v)SSDAMG(SEQ ID NO:168)的CDR1序列、WVAFISGGGTTT(SEQ ID NO:198)的CDR2序列和NHPLTS(SEQ ID NO:230)的CDR3序列;或者

[0281] vi)GSSVSSDAMG(SEQ ID NO:178)的CDR1序列、FISGGGTTT(SEQ ID NO:208)的CDR2

序列和PLTSR(SEQ ID NO:241)的CDR3序列。

[0282] 在一个方面,本文提供了与pIgR的结构域4-5结合的VHH结构域,其中该VHH结构域包含本文所述的VHH5、VHH7、VHH9、VHH10或VHH11的CDR1、CDR2和/或CDR3序列。因此,在一些实施方案中,与pIgR的结构域4-5结合的VHH结构域包含以下CDR1、CDR2和CDR3序列:

[0283] VHH5:

[0284] i)SYAMG(SEQ ID NO:4)的CDR1序列、AITWNGGTTYYADSVKG(SEQ ID NO:33)的CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:64)的CDR3序列;

[0285] ii)GRTFSSY(SEQ ID NO:13)的CDR1序列、TWNGGT(SEQ ID NO:43)或WNGG(SEQ ID NO:263)的CDR2序列以及DPFNQGY(SEQ ID NO:75)或PFNQG(SEQ ID NO:276)的CDR3序列;

[0286] iii)GRTFSSYA(SEQ ID NO:23)的CDR1序列、ITWNGGTT(SEQ ID NO:53)的CDR2序列和AADPFNQGY(SEQ ID NO:86)的CDR3序列;

[0287] iv)GRTFSSYAMG(SEQ ID NO:157)的CDR1序列、AITWNGGTTYYADSVKG(SEQ ID NO:187)的CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:218)的CDR3序列;

[0288] v)SSYAMG(SEQ ID NO:167)的CDR1序列、FVAAITWNGGTTY(SEQ ID NO:197)的CDR2序列和AADPFNQG(SEQ ID NO:229)的CDR3序列;或者

[0289] vi)GRTFSSYAMG(SEQ ID NO:177)的CDR1序列、AITWNGGTTY(SEQ ID NO:207)的CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:240)的CDR3序列;

[0290] VHH7:

[0291] i)INVMG(SEQ ID NO:6)的CDR1序列、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:35)的CDR2序列和MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:66)的CDR3序列;

[0292] ii)RSIGSIN(SEQ ID NO:15)的CDR1序列、TGGGS(SEQ ID NO:45)或GGG(SEQ ID NO:265)的CDR2序列以及MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:77)或VNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:278)的CDR3序列;

[0293] iii)RSIGSINV(SEQ ID NO:25)的CDR1序列、ITGGGST(SEQ ID NO:55)的CDR2序列和ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:88)的CDR3序列;

[0294] iv)RSIGSINVMG(SEQ ID NO:159)的CDR1序列、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:189)的CDR2序列和MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:220)的CDR3序列;

[0295] v)SINVMG(SEQ ID NO:169)的CDR1序列、LVARITGGGSTH(SEQ ID NO:199)的CDR2序列和ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:231)的CDR3序列;或者

[0296] vi)RSIGSINVMG(SEQ ID NO:179)的CDR1序列、RITGGGSTH(SEQ ID NO:209)的CDR2序列和MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:242)的CDR3序列;

[0297] VHH9:

[0298] i)TYRMG(SEQ ID NO:7)的CDR1序列、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:36)的CDR2序列以及DQRGY(SEQ ID NO:67)或QRGY(SEQ ID NO:271)的CDR3序列;

[0299] ii)GRTFSTY(SEQ ID NO:16)的CDR1序列、SWSGGS(SEQ ID NO:46)或WSGG(SEQ ID NO:266)的CDR2序列以及DQRGY(SEQ ID NO:78)或RG(SEQ ID NO:279)的CDR3序列;

[0300] iii)GRTFSTYR(SEQ ID NO:26)的CDR1序列、ISWSGGST(SEQ ID NO:56)的CDR2序列和NDQRGY(SEQ ID NO:89)的CDR3序列;

[0301] iv)GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:160)的CDR1序列、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:

190)的CDR2序列和QRGY(SEQ ID NO:221)的CDR3序列;

[0302] v)STYRMG(SEQ ID NO:170)的CDR1序列、FVAAISWSGGSTT(SEQ ID NO:200)的CDR2序列和NDQRG(SEQ ID NO:232)的CDR3序列;或者

[0303] vi)GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:180)的CDR1序列、AISWSGGSTT(SEQ ID NO:210)的CDR2序列和QRGY(SEQ ID NO:243)的CDR3序列;

[0304] VHH10:

[0305] i)RYAMG(SEQ ID NO:8)的CDR1序列、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:37)的CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:68)的CDR3序列;

[0306] ii)GFTFTRY(SEQ ID NO:17)的CDR1序列、SWSGSS(SEQ ID NO:47)或WSGS(SEQ ID NO:267)的CDR2序列以及DPFNQGY(SEQ ID NO:79)或PFNQG(SEQ ID NO:280)的CDR3序列;

[0307] iii)GFTFTRYA(SEQ ID NO:27)的CDR1序列、ISWSGSSA(SEQ ID NO:57)的CDR2序列和AADPFNQGY(SEQ ID NO:90)的CDR3序列;

[0308] iv)GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:161)的CDR1序列、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:191)的CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:222)的CDR3序列;

[0309] v)TRYAMG(SEQ ID NO:171)的CDR1序列、FVAAISWSGSSAG(SEQ ID NO:201)的CDR2序列和AADPFNQG(SEQ ID NO:233)的CDR3序列;或者

[0310] vi)GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:181)的CDR1序列、AISWSGSSAG(SEQ ID NO:211)的CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:244)的CDR3序列;或者

[0311] VHH11:

[0312] i)FTTYRMG(SEQ ID NO:258)或TYRMG(SEQ ID NO:259)的CDR1序列、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:38)的CDR2序列和DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:69)的CDR3序列;

[0313] ii)GRTFTTY(SEQ ID NO:18)的CDR1序列、RWSGGR(SEQ ID NO:48)或WSGG(SEQ ID NO:268)的CDR2序列以及DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:80)或LAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:281)的CDR3序列;

[0314] iii)GRTFTTYR(SEQ ID NO:28)的CDR1序列、IRWSGGRT的CDR2序列(SEQ ID NO:58)和AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:91)的CDR3序列;

[0315] iv)GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:162)的CDR1序列、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:192)的CDR2序列和DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:223)的CDR3序列;

[0316] v)TTYRMG(SEQ ID NO:172)的CDR1序列、FVAAIRWSGGRTL(SEQ ID NO:202)的CDR2序列和AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:234)的CDR3序列;或者vi)GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:182)的CDR1序列、AIRWSGGRTL(SEQ ID NO:212)的CDR2序列和DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:245)的CDR3序列。

[0317] 在一个方面,本文提供了与pIgR的结构域5结合的VHH结构域,其中该VHH结构域包含本文所述的VHH12的CDR1、CDR2和/或CDR3序列。因此,在一些实施方案中,与pIgR的结构域5结合的VHH结构域包含以下CDR1、CDR2和CDR3序列:

[0318] VHH12:

[0319] i)FNTYAMG(SEQ ID NO:9)的CDR1序列、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:39)的CDR2序列和ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:70)的CDR3序列;

[0320] ii)GRTLSFNTY(SEQ ID NO:19)的CDR1序列、TWNGGS(SEQ ID NO:49)或WNGG(SEQ ID NO:269)的CDR2序列以及ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:81)或RYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:282)的CDR3序列;

[0321] iii)GRTLSFNTYA(SEQ ID NO:29)的CDR1序列、ITWNGGST(SEQ ID NO:59)的CDR2序列和AAARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:92)的CDR3序列;

[0322] iv)GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:163)的CDR1序列、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:193)的CDR2序列和ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:224)的CDR3序列;

[0323] v)SFNTYAMG(SEQ ID NO:173)的CDR1序列、FVASITWNGGSTS(SEQ ID NO:203)的CDR2序列和AAARYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:235)的CDR3序列;或者

[0324] vi)GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:183)的CDR1序列、SITWNGGSTS(SEQ ID NO:213)的CDR2序列和ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:246)的CDR3序列。

[0325] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体是VHH结构域。如下所述生成示例性VHH结构域,并且这些VHH结构域(称是mpIgR_011、hpIgR_021、hpIgR_073、hpIgR_175、hpIgR_181、hpIgR_198、hpIgR_201、hpIgR_221、hpIgR_225、hpIgR_250、hpIgR_266、mpIgR_338和hpIgR_349)共享一些序列特征,如图13所示。高度保守的序列相似性的区域以黄色示出。如图14所示,mpIgR_011是VHH1,hpIgR_021是VHH3,hpIgR_073是VHH4,hpIgR_175是VHH5,hpIgR_181是VHH6,hpIgR_198是VHH7,hpIgR_201是VHH8,hpIgR_221是VHH9,hpIgR_225是VHH10,hpIgR_250是VHH11,hpIgR_266是VHH12,并且mpIgR_338是VHH2。

[0326] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含VHH1、VHH2、VHH3、VHH4、VHH5、VHH6、VHH7、VHH9、VHH10、VHH11和VHH12中任一种的一个或多个CDR序列。

[0327] 因此,在一些实施方案中,本文提供了与pIgR结合的单结构域抗体,其包含以下结构:FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4,其中这些CDR序列是针对VHH1、VHH2、VHH3、VHH4、VHH5、VHH6、VHH7、VHH9、VHH10、VHH11和VHH12中的那些选择的。

[0328] 更具体地,本文提供了与pIgR结合的单结构域抗体,其包含以下结构:FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4,其中

[0329] (i)CDR1具有选自由以下项组成的组的氨基酸序列:SYRMG(SEQ ID NO:1)、INVMG(SEQ ID NO:2)、SNAMG(SEQ ID NO:3)、SYAMG(SEQ ID NO:4)、SDAMG(SEQ ID NO:5)、INVMG(SEQ ID NO:6)、TYRMG(SEQ ID NO:7)、RYAMG(SEQ ID NO:8)、FTTYRMG(SEQ ID NO:258)、TYRMG(SEQ ID NO:259)、FNTYAMG(SEQ ID NO:9)、GLTFSSY(SEQ ID NO:10)、GSIFSIN(SEQ ID NO:11)、GTSVSSN(SEQ ID NO:12)、GRTFSSY(SEQ ID NO:13)、GSSVSSD(SEQ ID NO:14)、RSIGSIN(SEQ ID NO:15)、GRTFSTY(SEQ ID NO:16)、GFTFTRY(SEQ ID NO:17)、GRTFTTY(SEQ ID NO:18)、GRTLSFNTY(SEQ ID NO:19)、GLTFSSYR(SEQID NO:20)、GSIFSINV(SEQ ID NO:21)、GTSVSSNA(SEQ ID NO:22)、GRTFSSYA(SEQ ID NO:23)、GSSVSSDA(SEQ ID NO:24)、RSIGSINV(SEQ ID NO:25)、GRTFSTYR(SEQ ID NO:26)、GFTFTRYA(SEQ ID NO:27)、GRTFTTYR(SEQ ID NO:28)、GRTLSFNTYA(SEQ ID NO:29)、GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:154)、GSIFSINVMG(SEQ ID NO:155)、GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:156)、GRTFSSYAMG(SEQ ID NO:157)、GSSVSSDAMG(SEQ ID NO:158)、RSIGSINVMG(SEQ ID NO:159)、GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:160)、GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:161)、GRTFTTYRMG(SEQ IDNO:162)、GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:163)、SSYRMG(SEQ IDNO:164)、SINVMG(SEQ ID NO:165)、SSNAMG(SEQ ID NO:166)、

SSYAMG(SEQ ID NO:167)、SSDAMG(SEQ ID NO:168)、SINVMG(SEQ ID NO:169)、STYRMG(SEQ ID NO:170)、TRYAMG(SEQ ID NO:171)、TTYRMG(SEQ ID NO:172)、SFNTYAMG(SEQID NO:173)、GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:174)、GSIFSINVMG(SEQID NO:175)、GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:176)、GRTFSSYAMG(SEQ ID NO:177)、GSSVSSDAMG(SEQ ID NO:178)、RSIGSINVMG(SEQ ID NO:179)、GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:180)、GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:181)、GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:182)和GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:183)；

[0330] (ii)CDR2具有选自由以下项组成的组的氨基酸序列:AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:30)、RINGGGITHYAESVKG(SEQ ID NO:31)、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:32)、AITWNGGTTYYADSVKG(SEQ ID NO:33)、FISGGGTTTYADSVKG(SEQ ID NO:34)、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:35)、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:36)、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:37)、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:38)、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:39)、DWNGRGTYY(SEQ ID NO:40)、WNGRGTY(SEQ ID NO:260)、NGGGI(SEQ ID NO:41)、GGG(SEQ ID NO:261)、DRIAT(SEQ ID NO:42)、TWNGGT(SEQ ID NO:43)、WNGG(SEQ ID NO:263)、SGGGT(SEQ ID NO:44)、GGG(SEQ ID NO:264)、TGGGS(SEQ ID NO:45)、GGG(SEQ ID NO:265)、SWSGGS(SEQ ID NO:46)、WSGG(SEQ ID NO:266)、SWSGSS(SEQ ID NO:47)、WSGS(SEQ ID NO:267)、RWSGGR(SEQ ID NO:48)、WSGG(SEQ ID NO:268)、TWNGGS(SEQ ID NO:49)、WNGG(SEQ ID NO:269)、IDWNGRGTYY(SEQ ID NO:50)、IDWNGRGTYYR(SEQ ID NO:270)、INGGGIT(SEQ ID NO:51)、IDRIATT(SEQ ID NO:52)、ITWNGGTT(SEQ ID NO:53)、ISGGGTT(SEQ ID NO:54)、ITGGGST(SEQ ID NO:55)、ISWSGGST(SEQ ID NO:56)、ISWSGSSA(SEQ ID NO:57)、IRWSGGRT(SEQ ID NO:58)、ITWNGGST(SEQ ID NO:59)、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:184)、RINGGGITHYAESVKG(SEQ ID NO:185)、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:186)、AITWNGGTTYYADSVKG(SEQ ID NO:187)、FISGGGTTTYADSVKG(SEQ ID NO:188)、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:189)、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:190)、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:191)、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:192)、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:193)、FVAAIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:194)、LVARINGGGITH(SEQ ID NO:195)、WVGFIDRIATTT(SEQ ID NO:196)、FVAAITWNGGTTY(SEQ ID NO:197)、WVAFISGGGTTT(SEQ ID NO:198)、LVARITGGGSTH(SEQ ID NO:199)、FVAAISWSGGSTT(SEQ ID NO:200)、FVAAISWSGSSAG(SEQ ID NO:201)、FVAAIRWSGGRTL(SEQ ID NO:202)、FVASITWNGGSTS(SEQ ID NO:203)、AIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:204)、RINGGGITH(SEQ ID NO:205)、FIDRIATTT(SEQ ID NO:206)、AITWNGGTTY(SEQ ID NO:207)、FISGGGTTT(SEQ ID NO:208)、RITGGGSTH(SEQ ID NO:209)、AISWSGGSTT(SEQ ID NO:210)、AISWSGSSAG(SEQ ID NO:211)、AIRWSGGRTL(SEQ ID NO:212)和SITWNGGSTS(SEQ ID NO:213)；以及

[0331] (iii)CDR3具有选自由以下项组成的组的氨基酸序列:GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:60)、TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:61)、DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:62)、PLTAR(SEQ ID NO:63)、DPFNQGY(SEQ ID NO:64)、PLTSR(SEQ ID NO:65)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:66)、DQRGY(SEQ ID NO:67)、QRGY(SEQ ID NO:271)、DPFNQGY(SEQ ID NO:68)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:69)、ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:70)、GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:71)、SIDLNWYGGMD(SEQ ID NO:272)、TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID

NO:72)、TVLTDPRVLNEYA(SEQ ID NO:273)、DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:73)、VFGSSGYVET(SEQ ID NO:274)、PLTAR(SEQ ID NO:74)、LTA(SEQ ID NO:275)、DPFNQGY(SEQ ID NO:75)、PFNQG(SEQ ID NO:276)、PLTSR(SEQ ID NO:76)、LTS(SEQ ID NO:277)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:77)、VNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:278)、DQRGY(SEQ ID NO:78)、RG(SEQ ID NO:279)、DPFNQGY(SEQ ID NO:79)、PFNQG(SEQ ID NO:280)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:80)、LAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:281)、ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:81)、RYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:282)、CAAGSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:82)、AAGSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:283)、CAATTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:83)、AATTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:284)、KADVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:84)、NHPLTAR(SEQ ID NO:85)、AADPFNQGY(SEQ ID NO:86)、NHPLTSR(SEQ ID NO:87)、ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:88)、NDQRGY(SEQ ID NO:89)、AADPFNQGY(SEQ ID NO:90)、AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:91)、AAARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:92)、GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:214)、TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:215)、DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:216)、PLTAR(SEQ ID NO:217)、DPFNQGY(SEQ ID NO:218)、PLTSR(SEQ ID NO:219)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:220)、QRGY(SEQ ID NO:221)、DPFNQGY(SEQ ID NO:222)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:223)、ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:224)、AAGSIDLNWYGGMD(SEQ ID NO:225)、AATTVLTDPRVLNEYA(SEQ ID NO:226)、KADVFGSSGYVET(SEQ ID NO:227)、NHPLTA(SEQ ID NO:228)、AADPFNQG(SEQ ID NO:229)、NHPLTS(SEQ ID NO:230)、ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:231)、NDQRG(SEQ ID NO:232)、AADPFNQG(SEQ ID NO:233)、AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:234)、AAARYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:235)、GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:236)、TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:237)、DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:238)、PLTAR(SEQ ID NO:239)、DPFNQGY(SEQ ID NO:240)、PLTSR(SEQ ID NO:241)、MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:242)、QRGY(SEQ ID NO:243)、DPFNQGY(SEQ ID NO:244)、DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:245)和ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:246)。

[0332] 在一些实施方案中,本文提供了与pIgR结合的包含可变区(例如,VH)的单结构域抗体,该可变区包含如表1中所示抗体中的任何一种抗体的CDR1、CDR2和CDR3。

[0333] 在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH1中的CDR1序列,例如SYRMG(SEQ ID NO:1)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH2中的CDR1序列,例如SYRMG(SEQ ID NO:1)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH3中的CDR1序列,例如INVMG(SEQ ID NO:2)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH4中的CDR1序列,例如SNAMG(SEQ ID NO:3)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH5中的CDR1序列,例如SYAMG(SEQ ID NO:4)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH6中的CDR1序列,例如SDAMG(SEQ ID NO:5)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH7中的CDR1序列,例如INVMG(SEQ ID NO:6)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH9中的CDR1序列,例如TYRMG(SEQ ID NO:7)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体

包含存在于VHH10中的CDR1序列，例如RYAMG(SEQ ID NO:8)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH11中的CDR1序列，例如TYRMG(SEQ ID NO:259)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH12中的CDR1序列，例如FNTYAMG(SEQ ID NO:9)的CDR1序列。

[0334] 在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH1中的CDR1序列，例如GLTFSSY(SEQ ID NO:10)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH2中的CDR1序列，例如GLTFSSY(SEQ ID NO:10)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH3中的CDR1序列，例如GSIFSIN(SEQ ID NO:11)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH4中的CDR1序列，例如GTSVSSN(SEQ ID NO:12)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH5中的CDR1序列，例如GRTFSSY(SEQ ID NO:13)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH6中的CDR1序列，例如GSSVSSD(SEQ ID NO:14)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH7中的CDR1序列，例如RSIGSIN(SEQ ID NO:15)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH9中的CDR1序列，例如GRTFSTY(SEQ ID NO:16)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH10中的CDR1序列，例如GFTFTRY(SEQ ID NO:17)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH11中的CDR1序列，例如GRTFTTY(SEQ ID NO:18)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH12中的CDR1序列，例如GRTLSFNTY(SEQ ID NO:19)的CDR1序列。

[0335] 在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH1中的CDR1序列，例如GLTFSSYR(SEQ ID NO:20)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH2中的CDR1序列，例如GLTFSSYR(SEQ ID NO:20)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH3中的CDR1序列，例如GSIFSINV(SEQ ID NO:21)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH4中的CDR1序列，例如GTSVSSNA(SEQ ID NO:22)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH5中的CDR1序列，例如GRTFSSYA(SEQ ID NO:23)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH6中的CDR1序列，例如GSSVSSDA(SEQ ID NO:24)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH7中的CDR1序列，例如RSIGSINV(SEQ ID NO:25)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH9中的CDR1序列，例如GRTFSTYR(SEQ ID NO:26)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH10中的CDR1序列，例如GFTFTRYA(SEQ ID NO:27)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH11中的CDR1序列，例如GRTFTTYR(SEQ ID NO:28)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH12中的CDR1序列，例如GRTLSFNTYA(SEQ ID NO:29)的CDR1序列。

[0336] 在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH1中的CDR1序列，例如GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:154)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案

中,单结构域抗体包含存在于VHH2中的CDR1序列,例如GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:154)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH3中的CDR1序列,例如GSIFSINVMG(SEQ ID NO:155)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH4中的CDR1序列,例如GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:156)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH5中的CDR1序列,例如GRTFSSYAMG(SEQ ID NO:157)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH6中的CDR1序列,例如GSSVSSDAMG(SEQ ID NO:158)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH7中的CDR1序列,例如RSIGSINVMG(SEQ ID NO:159)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH9中的CDR1序列,例如GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:160)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH10中的CDR1序列,例如RYAMG GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:161)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH11中的CDR1序列,例如GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:162)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH12中的CDR1序列,例如GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:163)的CDR1序列。

[0337] 在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH1中的CDR1序列,例如GLTFSSY SSYRMG(SEQ ID NO:164)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH2中的CDR1序列,例如SSYRMG(SEQ ID NO:164)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH3中的CDR1序列,例如SINVMG(SEQ ID NO:165)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH4中的CDR1序列,例如SSNAMG(SEQ ID NO:166)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH5中的CDR1序列,例如SSYAMG(SEQ ID NO:167)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH6中的CDR1序列,例如SSDAMG(SEQ ID NO:168)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH7中的CDR1序列,例如SINVMG(SEQ ID NO:169)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH9中的CDR1序列,例如STYRMG(SEQ ID NO:170)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH10中的CDR1序列,例如TRYAMG(SEQ ID NO:171)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH11中的CDR1序列,例如TTYRMG(SEQ ID NO:172)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH12中的CDR1序列,例如SFNTYAMG(SEQ ID NO:173)的CDR1序列。

[0338] 在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH1中的CDR1序列,例如GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:174)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH2中的CDR1序列,例如GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:174)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH3中的CDR1序列,例如GSIFSINVMG(SEQ ID NO:175)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH4中的CDR1序列,例如GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:176)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH5中的CDR1序

列,例如GRTFSSYAMG(SEQ ID NO:177)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH6中的CDR1序列,例如GSSVSSDAMG(SEQ ID NO:178)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH7中的CDR1序列,例如RSIGSINVMG(SEQ ID NO:179)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH9中的CDR1序列,例如GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:180)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH10中的CDR1序列,例如GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:181)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH11中的CDR1序列,例如GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:182)的CDR1序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH12中的CDR1序列,例如GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:183)的CDR1序列。

[0339] 在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH1中的CDR2序列,例如AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:30)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH2中的CDR2序列,例如AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:30)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH3中的CDR2序列,例如RINGGGITHYAESVKG(SEQ ID NO:31)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH4中的CDR2序列,例如FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:32)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH5中的CDR2序列,例如AITWNGGTTYYAD SVKG(SEQ ID NO:33)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH6中的CDR2序列,例如FISGGGTTTYADSVKG(SEQ ID NO:34)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH7中的CDR2序列,例如RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:35)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH9中的CDR2序列,例如AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:36)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH10中的CDR2序列,例如AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:37)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH11中的CDR2序列,例如AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:38)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH12中的CDR2序列,例如SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:39)的CDR2序列。

[0340] 在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH1中的CDR2序列,例如DWNGRGTYY(SEQ ID NO:40)或WNGRGTY(SEQ ID NO:260)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH2中的CDR2序列,例如DWNGRGTYY(SEQ ID NO:40)或WNGRGTY(SEQ ID NO:260)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH3中的CDR2序列,例如NGGGI(SEQ ID NO:41)或GGG(SEQ ID NO:261)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH4中的CDR2序列,例如DRIAT(SEQ ID NO:42)或RIA(SEQ ID NO:262)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH5中的CDR2序列,例如TWNGGT(SEQ ID NO:43)或WNGG(SEQ ID NO:263)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH6中的CDR2序列,例如SGGGT(SEQ ID NO:44)或GGG(SEQ ID NO:264)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体

包含存在于VHH7中的CDR2序列，例如TGGGS(SEQ ID NO:45)或GGG(SEQ ID NO:265)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH9中的CDR2序列，例如SWSGGS(SEQ ID NO:46)或WSGG(SEQ ID NO:266)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH10中的CDR2序列，例如SWSGGS(SEQ ID NO:47)或WSGS(SEQ ID NO:267)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH11中的CDR2序列，例如RWSGGR(SEQ ID NO:48)或WSGG(SEQ ID NO:268)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH12中的CDR2序列，例如TWNGGS(SEQ ID NO:49)或WNGG(SEQ ID NO:269)的CDR2序列。

[0341] 在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH1中的CDR2序列，例如IDWNGRGTYY(SEQ ID NO:50)或IDWNGRGTYYR(SEQ ID NO:270)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH2中的CDR2序列，例如IDWNGRGTYY(SEQ ID NO:50)或IDWNGRGTYYR(SEQ ID NO:270)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH3中的CDR2序列，例如INGGGIT(SEQ ID NO:51)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH4中的CDR2序列，例如IDRIATT(SEQ ID NO:52)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH5中的CDR2序列，例如ITWNGGTT(SEQ ID NO:53)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH6中的CDR2序列，例如ISGGGTT(SEQ ID NO:54)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH7中的CDR2序列，例如ITGGGST(SEQ ID NO:55)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH9中的CDR2序列，例如ISWSGGST(SEQ ID NO:56)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH10中的CDR2序列，例如ISWSGSSA(SEQ ID NO:57)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH11中的CDR2序列，例如IRWSGGRT(SEQ ID NO:58)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH12中的CDR2序列，例如ITWNGGST(SEQ ID NO:59)的CDR2序列。

[0342] 在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH1中的CDR2序列，例如AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:184)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH2中的CDR2序列，例如AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:184)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH3中的CDR2序列，例如RINGGGITHYAESVKG(SEQ ID NO:185)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH4中的CDR2序列，例如FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:186)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH5中的CDR2序列，例如AITWNGGTTYYADSVKG(SEQ ID NO:187)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH6中的CDR2序列，例如FISGGGTTTYADSVKG(SEQ ID NO:188)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH7中的CDR2序列，例如RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:189)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH9中的CDR2序列，例如AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:190)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH10中的CDR2序列，例如

AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:191)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH11中的CDR2序列,例如AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:192)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH12中的CDR2序列,例如SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:193)的CDR2序列。

[0343] 在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH1中的CDR2序列,例如FVAAIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:194)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH2中的CDR2序列,例如FVAAIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:194)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH3中的CDR2序列,例如LVARINGGGITH(SEQ ID NO:195)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH4中的CDR2序列,例如WVGFIDRIATTT(SEQ ID NO:196)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH5中的CDR2序列,例如FVAAITWNGGTTY(SEQ ID NO:197)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH6中的CDR2序列,例如WVAFISGGGTTT(SEQ ID NO:198)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH7中的CDR2序列,例如LVARITGGGSTH(SEQ ID NO:199)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH9中的CDR2序列,例如FVAAISWSGGSTT(SEQ ID NO:200)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH10中的CDR2序列,例如FVAAISWSGSSAG(SEQ ID NO:201)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH11中的CDR2序列,例如FVAAIRWSGGRTL(SEQ ID NO:202)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH12中的CDR2序列,例如FVASITWNGGSTS(SEQ ID NO:203)的CDR2序列。

[0344] 在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH1中的CDR2序列,例如AIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:204)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH2中的CDR2序列,例如AIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:204)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH3中的CDR2序列,例如RINGGGITH(SEQ ID NO:205)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH4中的CDR2序列,例如FIDRIATTT(SEQ ID NO:206)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH5中的CDR2序列,例如AITWNGGTTY(SEQ ID NO:207)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH6中的CDR2序列,例如FISGGGTTT(SEQ ID NO:208)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH7中的CDR2序列,例如RITGGGSTH(SEQ ID NO:209)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH9中的CDR2序列,例如AISWSGGSTT(SEQ ID NO:210)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH10中的CDR2序列,例如AISWSGSSAG(SEQ ID NO:211)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH11中的CDR2序列,例如AIRWSGGRTL(SEQ ID NO:212)的CDR2序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH12中的CDR2序列,例如SITWNGGSTS(SEQ ID NO:213)的CDR2序列。

[0345] 在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH1中的CDR3序列,例如GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:60)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH2中的CDR3序列,例如TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:61)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH3中的CDR3序列,例如DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:62)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH4中的CDR3序列,例如PLTAR(SEQ ID NO:63)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH5中的CDR3序列,例如DPFNQGY(SEQ ID NO:64)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH6中的CDR3序列,例如PLTSR(SEQ ID NO:65)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH7中的CDR3序列,例如MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:66)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH9中的CDR3序列,例如DQRGY(SEQ ID NO:67)或QRGY(SEQ ID NO:271)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH10中的CDR3序列,例如DPFNQGY(SEQ ID NO:68)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH11中的CDR3序列,例如DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:69)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH12中的CDR3序列,例如ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:70)的CDR3序列。

[0346] 在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH1中的CDR3序列,例如GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:71)或SIDLNWYGGMD(SEQ ID NO:272)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH2中的CDR3序列,例如TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:72)或TVLTDPRVLNEYA(SEQ ID NO:273)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH3中的CDR3序列,例如DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:73)或VFGSSGYVET(SEQ ID NO:274)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH4中的CDR3序列,例如PLTAR(SEQ ID NO:74)或LTA(SEQ ID NO:275)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH5中的CDR3序列,例如DPFNQGY(SEQ ID NO:75)或PFNQG(SEQ ID NO:276)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH6中的CDR3序列,例如PLTSR(SEQ ID NO:76)或LTS(SEQ ID NO:277)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH7中的CDR3序列,例如MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:77)或VNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:278)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH9中的CDR3序列,例如DQRGY(SEQ ID NO:78)或RG(SEQ ID NO:279)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH10中的CDR3序列,例如DPFNQGY(SEQ ID NO:79)或PFNQG(SEQ ID NO:280)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH11中的CDR3序列,例如DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:80)或LAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:281)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH12中的CDR3序列,例如ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:81)或RYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:282)的CDR3序列。

[0347] 在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH1中的CDR3序列,例如CAAGSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:82)或AAGSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:283)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH2中的CDR3序列,例如CAATTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:83)或AATTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:284)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH3中的CDR3序列,例如KADVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:84)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH4中的CDR3序列,例如NHPLTAR(SEQ ID NO:85)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH5中的CDR3序列,例如AADPFNQGY(SEQ ID NO:86)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH6中的CDR3序列,例如NHPLTSR(SEQ ID NO:87)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH7中的CDR3序列,例如ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:88)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH9中的CDR3序列,例如NDQRGY(SEQ ID NO:89)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH10中的CDR3序列,例如AADPFNQGY(SEQ ID NO:90)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH1 1中的CDR3序列,例如AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:91)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH12中的CDR3序列,例如AAARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:92)的CDR3序列。

[0348] 在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH1中的CDR3序列,例如GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:214)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH2中的CDR3序列,例如TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:215)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH3中的CDR3序列,例如DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:216)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH4中的CDR3序列,例如PLTAR(SEQ ID NO:217)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH5中的CDR3序列,例如DPFNQGY(SEQ ID NO:218)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH6中的CDR3序列,例如PLTSR(SEQ ID NO:219)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH7中的CDR3序列,例如MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:220)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH9中的CDR3序列,例如QRGY(SEQ ID NO:221)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH10中的CDR3序列,例如DPFNQGY(SEQ ID NO:222)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH11中的CDR3序列,例如DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:223)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH12中的CDR3序列,例如ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:224)的CDR3序列。

[0349] 在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH1中的CDR3序列,例如AAGSIDLNWYGGMD(SEQ ID NO:225)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH2中的CDR3序列,例如AATTVLTDPRVLNEYA(SEQ ID NO:226)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含存在于VHH3

中的CDR3序列，例如KADVFGSSGYVET(SEQ ID NO:227)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH4中的CDR3序列，例如NHPLTA(SEQ ID NO:228)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH5中的CDR3序列，例如AADPFNQG(SEQ ID NO:229)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH6中的CDR3序列，例如NHPLTS(SEQ ID NO:230)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH7中的CDR3序列，例如ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:231)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH9中的CDR3序列，例如NDQRG(SEQ ID NO:232)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH10中的CDR3序列，例如AADPFNQG(SEQ ID NO:233)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH11中的CDR3序列，例如AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:234)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH12中的CDR3序列，例如AAARYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:235)的CDR3序列。

[0350] 在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH1中的CDR3序列，例如GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:236)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH2中的CDR3序列，例如TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:237)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH3中的CDR3序列，例如DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:238)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH4中的CDR3序列，例如PLTAR(SEQ ID NO:239)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH5中的CDR3序列，例如DPFNQGY(SEQ ID NO:240)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH6中的CDR3序列，例如PLTSR(SEQ ID NO:241)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH7中的CDR3序列，例如MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:242)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH9中的CDR3序列，例如QRGY(SEQ ID NO:243)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH10中的CDR3序列，例如DPFNQGY(SEQ ID NO:244)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH11中的CDR3序列，例如DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:245)的CDR3序列。在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含存在于VHH12中的CDR3序列，例如ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:246)的CDR3序列。

[0351] 在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含选自由以下项组成的组的单结构域抗体的CDR1序列、CDR2序列和CDR3序列：

[0352] a)VHH2：

[0353] i)SYRMG(SEQ ID NO:1)的CDR1序列、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:30)的CDR2序列和TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:61)的CDR3序列；

[0354] ii)GLTFSSY(SEQ ID NO:10)的CDR1序列、DWNGRGTYY(SEQ ID NO:40)或WNGRGTY(SEQ ID NO:260)的CDR2序列以及TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:72)或TVLTDPRVLNEYA(SEQ ID NO:273)的CDR3序列；

[0355] iii)GLTFSSYR(SEQ ID NO:20)的CDR1序列、IDWNGRGTYY(SEQ ID NO:50)或IDWNGRGTYYR(SEQ ID NO:270)的CDR2序列以及CAATTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:83)或AATTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:284)的CDR3序列;

[0356] iv)GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:154)的CDR1序列、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:184)的CDR2序列和TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:215)的CDR3序列;

[0357] v)SSYRMG(SEQ ID NO:164)的CDR1序列、FVAAIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:194)的CDR2序列和AATTVLTDPRVLNEYA(SEQ ID NO:226)的CDR3序列;或者

[0358] vi)GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:174)的CDR1序列、AIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:204)的CDR2序列和TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:237)的CDR3序列;

[0359] b)VHH3:

[0360] i)INVMG(SEQ ID NO:2)的CDR1序列、RINGGGITHYAESVKG(SEQ ID NO:31)的CDR2序列和DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:62)的CDR3序列;

[0361] ii)GSIFSIN(SEQ ID NO:11)的CDR1序列、NGGGI(SEQ ID NO:41)或GGG(SEQ ID NO:261)的CDR2序列以及DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:73)或VFGSSGYVET(SEQ ID NO:274)的CDR3序列;

[0362] iii)GSIFSINV(SEQ ID NO:21)的CDR1序列、INGGGIT(SEQ ID NO:51)的CDR2序列和KADVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:84)的CDR3序列;

[0363] iv)GSIFSINVMG(SEQ ID NO:155)的CDR1序列、RINGGGITHYAESVKG(SEQ ID NO:185)的CDR2序列和DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:216)的CDR3序列;

[0364] v)SINVMG(SEQ ID NO:165)的CDR1序列、LVARINGGGITH(SEQ ID NO:195)的CDR2序列和KADVFGSSGYVET(SEQ ID NO:227)的CDR3序列;或者

[0365] vi)GSIFSINVMG(SEQ ID NO:175)的CDR1序列、RINGGGITH(SEQ ID NO:205)的CDR2序列和DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:238)的CDR3序列;

[0366] c)VHH4:

[0367] i)SNAMG(SEQ ID NO:3)的CDR1序列、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:32)的CDR2序列和PLTAR(SEQ ID NO:63)的CDR3序列;

[0368] ii)GTSVSSN(SEQ ID NO:12)的CDR1序列、DRIAT(SEQ ID NO:42)或RIA(SEQ ID NO:262)的CDR2序列以及PLTAR(SEQ ID NO:74)或LTA(SEQ ID NO:275)的CDR3序列;

[0369] iii)GTSVSSNA(SEQ ID NO:22)的CDR1序列、IDRIATT(SEQ ID NO:52)的CDR2序列和NHPLTAR(SEQ ID NO:85)的CDR3序列;

[0370] iv)GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:156)的CDR1序列、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:186)的CDR2序列和PLTAR(SEQ ID NO:217)的CDR3序列;

[0371] v)SSNAMG(SEQ ID NO:166)的CDR1序列、WVGFIDRIATTT(SEQ ID NO:196)的CDR2序列和NHPLTA(SEQ ID NO:228)的CDR3序列;或者

[0372] vi)GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:176)的CDR1序列、FIDRIATTT(SEQ ID NO:206)的CDR2序列和PLTAR(SEQ ID NO:239)的CDR3序列;

[0373] d)VHH5:

[0374] i)SYAMG(SEQ ID NO:4)的CDR1序列、AITWNGGTTYYADSVKG(SEQ ID NO:33)的CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:64)的CDR3序列;

[0375] ii)GRTFSSY(SEQ ID NO:13)的CDR1序列、TWNGGT(SEQ ID NO:43)或WNGG(SEQ ID NO:263)的CDR2序列以及DPFNQGY(SEQ ID NO:75)或PFNQG(SEQ ID NO:276)的CDR3序列;

[0376] iii)GRTFSSYA(SEQ ID NO:23)的CDR1序列、ITWNGGTT(SEQ ID NO:53)的CDR2序列和AADPFNQGY(SEQ ID NO:86)的CDR3序列;

[0377] iv)GRTFSSYAMG(SEQ ID NO:157)的CDR1序列、AITWNGGTTYYADSVKG(SEQ ID NO:187)的CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:218)的CDR3序列;

[0378] v)SSYAMG(SEQ ID NO:167)的CDR1序列、FVAAITWNGGTTY(SEQ ID NO:197)的CDR2序列和AADPFNQG(SEQ ID NO:229)的CDR3序列;或者

[0379] vi)GRTFSSYAMG(SEQ ID NO:177)的CDR1序列、AITWNGGTTY(SEQ ID NO:207)的CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:240)的CDR3序列;

[0380] e)VHH6:

[0381] i)SDAMG(SEQ ID NO:5)的CDR1序列、FISGGGTTTYADSVKG(SEQ ID NO:34)的CDR2序列和PLTSR(SEQ ID NO:65)的CDR3序列;

[0382] ii)GSSVSSD(SEQ ID NO:14)的CDR1序列、SGGGT(SEQ ID NO:44)或GGG(SEQ ID NO:264)的CDR2序列以及PLTSR(SEQ ID NO:76)或LTS(SEQ ID NO:277)的CDR3序列;

[0383] iii)GSSVSSDA(SEQ ID NO:24)的CDR1序列、ISGGGTT(SEQ ID NO:54)的CDR2序列和NHPLTSR(SEQ ID NO:87)的CDR3序列;

[0384] iv)GSSVSSDAMG(SEQ ID NO:158)的CDR1序列、FISGGGTTTYADSVKG(SEQ ID NO:188)的CDR2序列和PLTSR(SEQ ID NO:219)的CDR3序列;

[0385] v)SSDAMG(SEQ ID NO:168)的CDR1序列、WVAFISGGGTTT(SEQ ID NO:198)的CDR2序列和NHPLTS(SEQ ID NO:230)的CDR3序列;或者

[0386] vi)GSSVSSDAMG(SEQ ID NO:178)的CDR1序列、FISGGGTTT(SEQ ID NO:208)的CDR2序列和PLTSR(SEQ ID NO:241)的CDR3序列;

[0387] f)VHH7:

[0388] i)INVMG(SEQ ID NO:6)的CDR1序列、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:35)的CDR2序列和MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:66)的CDR3序列;

[0389] ii)RSIGSIN(SEQ ID NO:15)的CDR1序列、TGGGS(SEQ ID NO:45)或GGG(SEQ ID NO:265)的CDR2序列以及MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:77)或VNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:278)的CDR3序列;

[0390] iii)RSIGSINV(SEQ ID NO:25)的CDR1序列、ITGGGST(SEQ ID NO:55)的CDR2序列和ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:88)的CDR3序列;

[0391] iv)RSIGSINVMG(SEQ ID NO:159)的CDR1序列、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:189)的CDR2序列和MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:220)的CDR3序列;

[0392] v)SINVMG(SEQ ID NO:169)的CDR1序列、LVARITGGGSTH(SEQ ID NO:199)的CDR2序列和ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:231)的CDR3序列;或者

[0393] vi)RSIGSINVMG(SEQ ID NO:179)的CDR1序列、RITGGGSTH(SEQ ID NO:209)的CDR2序列和MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:242)的CDR3序列;

[0394] g)VHH9:

[0395] i)TYRMG(SEQ ID NO:7)的CDR1序列、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:36)的CDR2

序列以及DQRGY(SEQ ID NO:67)或QRGY(SEQ ID NO:271)的CDR3序列;

[0396] ii)GRTFSTY(SEQ ID NO:16)的CDR1序列、SWSGGS(SEQ ID NO:46)或WSGG(SEQ ID NO:266)的CDR2序列以及DQRGY(SEQ ID NO:78)或RG(SEQ ID NO:279)的CDR3序列;

[0397] iii)GRTFSTYR(SEQ ID NO:26)的CDR1序列、ISWSGGST(SEQ ID NO:56)的CDR2序列和NDQRGY(SEQ ID NO:89)的CDR3序列;

[0398] iv)GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:160)的CDR1序列、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:190)的CDR2序列和QRGY(SEQ ID NO:221)的CDR3序列;

[0399] v)STYRMG(SEQ ID NO:170)的CDR1序列、FVAAISWSGGSTT(SEQ ID NO:200)的CDR2序列和NDQRG(SEQ ID NO:232)的CDR3序列;或者

[0400] vi)GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:180)的CDR1序列、AISWSGGSTT(SEQ ID NO:210)的CDR2序列和QRGY(SEQ ID NO:243)的CDR3序列;

[0401] h)VHH10:

[0402] i)RYAMG(SEQ ID NO:8)的CDR1序列、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:37)的CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:68)的CDR3序列;

[0403] ii)GFTFTRY(SEQ ID NO:17)的CDR1序列、SWSGSS(SEQ ID NO:47)或WSGS(SEQ ID NO:267)的CDR2序列以及DPFNQGY(SEQ ID NO:79)或PFNQG(SEQ ID NO:280)的CDR3序列;

[0404] iii)GFTFTRYA(SEQ ID NO:27)的CDR1序列、ISWSGSSA(SEQ ID NO:57)的CDR2序列和AADPFNQGY(SEQ ID NO:90)的CDR3序列;

[0405] iv)GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:161)的CDR1序列、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:191)的CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:222)的CDR3序列;

[0406] v)TRYAMG(SEQ ID NO:171)的CDR1序列、FVAAISWSGSSAG(SEQ ID NO:201)的CDR2序列和AADPFNQG(SEQ ID NO:233)的CDR3序列;或者

[0407] vi)GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:181)的CDR1序列、AISWSGSSAG(SEQ ID NO:211)的CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:244)的CDR3序列;

[0408] i)VHH11:

[0409] i)FTTYRMG(SEQ ID NO:258)或TYRMG(SEQ ID NO:259)的CDR1序列、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:38)的CDR2序列和DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:69)的CDR3序列;

[0410] ii)GRTFTTY(SEQ ID NO:18)的CDR1序列、RWSGGR(SEQ ID NO:48)或WSGG(SEQ ID NO:268)的CDR2序列以及DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:80)或LAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:281)的CDR3序列;

[0411] iii)GRTFTTYR(SEQ ID NO:28)的CDR1序列、IRWSGGRT的CDR2序列(SEQ ID NO:58)和AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:91)的CDR3序列;

[0412] iv)GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:162)的CDR1序列、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:192)的CDR2序列和DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:223)的CDR3序列;

[0413] v)TTYRMG(SEQ ID NO:172)的CDR1序列、FVAAIRWSGGRTL(SEQ ID NO:202)的CDR2序列和AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:234)的CDR3序列;或者

[0414] vi)GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:182)的CDR1序列、AIRWSGGRTL(SEQ ID NO:212)的CDR2序列和DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:245)的CDR3序列;以及

[0415] j)VHH12：

[0416] i)FNTYAMG(SEQ ID NO:9)的CDR1序列、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:39)的CDR2序列和ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:70)的CDR3序列；

[0417] ii)GRTLSFNTY(SEQ ID NO:19)的CDR1序列、TWNGGS(SEQ ID NO:49)或WNGG(SEQ ID NO:269)的CDR2序列以及ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:81)或RYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:282)的CDR3序列；

[0418] iii)GRTLSFNTYA(SEQ ID NO:29)的CDR1序列、ITWNGGST(SEQ ID NO:59)的CDR2序列和AAARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:92)的CDR3序列；

[0419] iv)GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:163)的CDR1序列、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:193)的CDR2序列和ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:224)的CDR3序列；

[0420] v)SFNTYAMG(SEQ ID NO:173)的CDR1序列、FVASITWNGGSTS(SEQ ID NO:203)的CDR2序列和AAARYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:235)的CDR3序列；或者

[0421] vi)GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:183)的CDR1序列、SITWNGGSTS(SEQ ID NO:213)的CDR2序列和ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:246)的CDR3序列。

[0422] 在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含选自由以下项组成的组的单结构域抗体的CDR1序列、CDR2序列和CDR3序列：i)SYRMG(SEQ ID NO:1)的CDR1序列、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:30)的CDR2序列和GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:60)的CDR3序列；ii)GLTFSSY(SEQ ID NO:10)的CDR1序列、DWNGRGTYY(SEQ ID NO:40)或WNGRGTY(SEQ ID NO:260)的CDR2序列以及GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:71)或SIDLNWYGGMD(SEQ ID NO:272)的CDR3序列；iii)GLTFSSYR(SEQ ID NO:20)的CDR1序列、IDWNGRGTYY(SEQ ID NO:50)或IDWNGRGTYYR(SEQ ID NO:270)的CDR2序列以及CAAGSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:82)或AAGSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:283)的CDR3序列；iv)GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:154)的CDR1序列、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:184)的CDR2序列和GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:214)的CDR3序列；v)SSYRMG(SEQ ID NO:164)的CDR1序列、FVAAIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:194)的CDR2序列和AAGSIDLNWYGGMD(SEQ ID NO:225)的CDR3序列；和vi)GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:174)的CDR1序列、AIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:204)的CDR2序列和GSIDLNWYGGMDY(SEQ ID NO:236)的CDR3序列。

[0423] 在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含选自由以下项组成的组的单结构域抗体的CDR1序列、CDR2序列和CDR3序列：i)SYRMG(SEQ ID NO:1)的CDR1序列、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:30)的CDR2序列和TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:61)的CDR3序列；ii)GLTFSSY(SEQ ID NO:10)的CDR1序列、DWNGRGTYY(SEQ ID NO:40)或WNGRGTY(SEQ ID NO:260)的CDR2序列以及TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:72)或TVLTDPRVLNEYA(SEQ ID NO:273)的CDR3序列；iii)GLTFSSYR(SEQ ID NO:20)的CDR1序列、IDWNGRGTYY(SEQ ID NO:50)或IDWNGRGTYYR(SEQ ID NO:270)的CDR2序列以及CAATTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:83)或AATTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:284)的CDR3序列；iv)GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:154)的CDR1序列、AIDWNGRGTYYRYYADSVKG(SEQ ID NO:184)的CDR2序列和TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:215)的CDR3序列；v)SSYRMG(SEQ ID NO:164)的CDR1序列、FVAAIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:194)的CDR2序列和AATTVLTDPRVLNEYA(SEQ ID NO:226)的CDR3序列；和vi)GLTFSSYRMG(SEQ ID NO:174)的CDR1序列、AIDWNGRGTYYRY(SEQ ID NO:204)的CDR2序列和

TTVLTDPRVLNEYAT(SEQ ID NO:237)的CDR3序列。

[0424] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含选自由以下项组成的组的单结构域抗体的CDR1序列、CDR2序列和CDR3序列:i)INVMG(SEQ ID NO:2)的CDR1序列、RINGGGITHYAESVKG(SEQ ID NO:31)的CDR2序列和DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:62)的CDR3序列;ii)GSIFSIN(SEQ ID NO:11)的CDR1序列、NGGGI(SEQ ID NO:41)或GGG(SEQ ID NO:261)的CDR2序列以及DVFGSSGYVETY(SEQ IDNO:73)或VFGSSGYVET(SEQ ID NO:274)的CDR3序列;iii)GSIFSINV(SEQ ID NO:21)的CDR1序列、INGGGIT(SEQ ID NO:51)的CDR2序列和KADVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:84)的CDR3序列;iv)GSIFSINVMG(SEQ ID NO:155)的CDR1序列、RINGGGITHYAESVKG(SEQ ID NO:185)的CDR2序列和DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:216)的CDR3序列;v)SINVMG(SEQ ID NO:165)的CDR1序列、LVARINGGGITH(SEQ ID NO:195)的CDR2序列和KADVFGSSGYVET(SEQ ID NO:227)的CDR3序列;和vi)GSIFSINVMG(SEQ ID NO:175)的CDR1序列、RINGGGITH(SEQ ID NO:205)的CDR2序列和DVFGSSGYVETY(SEQ ID NO:238)的CDR3序列。

[0425] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含选自由以下项组成的组的单结构域抗体的CDR1序列、CDR2序列和CDR3序列:i)SNAMG(SEQ ID NO:3)的CDR1序列、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:32)的CDR2序列和PLTAR(SEQ ID NO:63)的CDR3序列;ii)GTSVSSN(SEQ ID NO:12)的CDR1序列、DRIAT(SEQ ID NO:42)或RIA(SEQ ID NO:262)的CDR2序列以及PLTAR(SEQ ID NO:74)或LTA(SEQ ID NO:275)的CDR3序列;iii)GTSVSSNA(SEQ ID NO:22)的CDR1序列、IDRIATT(SEQ ID NO:52)的CDR2序列和NHPLTAR(SEQ ID NO:85)的CDR3序列;iv)GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:156)的CDR1序列、FIDRIATTTIATSVKG(SEQ ID NO:186)的CDR2序列和PLTAR(SEQ ID NO:217)的CDR3序列;v)SSNAMG(SEQ ID NO:166)的CDR1序列、WVGFIDRIATTT(SEQ ID NO:196)的CDR2序列和NHPLTA(SEQ ID NO:228)的CDR3序列;和vi)GTSVSSNAMG(SEQ ID NO:176)的CDR1序列、FIDRIATTT(SEQ ID NO:206)的CDR2序列和PLTAR(SEQ ID NO:239)的CDR3序列。

[0426] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含选自由以下项组成的组的单结构域抗体的CDR1序列、CDR2序列和CDR3序列:i)SYAMG(SEQ ID NO:4)的CDR1序列、AITWNGGTTYYADSVKG(SEQ ID NO:33)的CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:64)的CDR3序列;ii)GRTFSSY(SEQ ID NO:13)的CDR1序列、TWNGGT(SEQ ID NO:43)或WNGG(SEQ ID NO:263)的CDR2序列以及DPFNQGY(SEQ ID NO:75)或PFNQG(SEQ ID NO:276)的CDR3序列;iii)GRTFSSYA(SEQ ID NO:23)的CDR1序列、ITWNGGTT(SEQ ID NO:53)的CDR2序列和AADPFNQGY(SEQ ID NO:86)的CDR3序列;iv)GRTFSSYAMG(SEQ ID NO:157)的CDR1序列、AITWNGGTTYYADSVKG(SEQ ID NO:187)的CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:218)的CDR3序列;v)SSYAMG(SEQ ID NO:167)的CDR1序列、FVAAITWNGGTTY(SEQ ID NO:197)的CDR2序列和AADPFNQG(SEQ ID NO:229)的CDR3序列;和vi)GRTFSSYAMG(SEQ ID NO:177)的CDR1序列、AITWNGGTTY(SEQ ID NO:207)的CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:240)的CDR3序列。

[0427] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含选自由以下项组成的组的单结构域抗体的CDR1序列、CDR2序列和CDR3序列:i)SDAMG(SEQ ID NO:5)的CDR1序列、FISGGGTTTYADSVKG(SEQ ID NO:34)的CDR2序列和PLTSR(SEQ ID NO:65)的CDR3序列;ii)GSSVSSD(SEQ ID NO:14)的CDR1序列、SGGGT(SEQ ID NO:44)或GGG(SEQ ID NO:264)的CDR2

序列以及PLTSR(SEQ ID NO:76)或LTS(SEQ ID NO:277)的CDR3序列;iii)GSSVSSDA(SEQ ID NO:24)的CDR1序列、ISGGGTT(SEQ ID NO:54)的CDR2序列和NHPLTSR(SEQ ID NO:87)的CDR3序列;iv)GSSVSSDAMG(SEQ ID NO:158)的CDR1序列、FISGGGTTTYADSVKG(SEQ ID NO:188)的CDR2序列和PLTSR(SEQ ID NO:219)的CDR3序列;v)SSDAMG(SEQ ID NO:168)的CDR1序列、WVAFISGGGTTT(SEQ ID NO:198)的CDR2序列和NHPLTS(SEQ ID NO:230)的CDR3序列;和vi)GSSVSSDAMG(SEQ ID NO:178)的CDR1序列、FISGGGTTT(SEQ ID NO:208)的CDR2序列和PLTSR(SEQ ID NO:241)的CDR3序列。

[0428] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含选自由以下项组成的组的单结构域抗体的CDR1序列、CDR2序列和CDR3序列:i)INVMG(SEQ ID NO:6)的CDR1序列、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:35)的CDR2序列和MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:66)的CDR3序列;ii)RSIGSIN(SEQ ID NO:15)的CDR1序列、TGGGS(SEQ ID NO:45)或GGG(SEQ ID NO:265)的CDR2序列以及MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:77)或VNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:278)的CDR3序列;iii)RSIGSINV(SEQ ID NO:25)的CDR1序列、ITGGGST(SEQ ID NO:55)的CDR2序列和ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:88)的CDR3序列;iv)RSIGSINVMG(SEQ ID NO:159)的CDR1序列、RITGGGSTHYAESVKG(SEQ ID NO:189)的CDR2序列和MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:220)的CDR3序列;v)SINVMG(SEQ ID NO:169)的CDR1序列、LVARITGGGSTH(SEQ ID NO:199)的CDR2序列和ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD(SEQ ID NO:231)的CDR3序列;和vi)RSIGSINVMG(SEQ ID NO:179)的CDR1序列、RITGGGSTH(SEQ ID NO:209)的CDR2序列和MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY(SEQ ID NO:242)的CDR3序列。

[0429] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含选自由以下项组成的组的单结构域抗体的CDR1序列、CDR2序列和CDR3序列:i)TYRMG(SEQ ID NO:7)的CDR1序列、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:36)的CDR2序列以及DQRGY(SEQ ID NO:67)或QRGY(SEQ ID NO:271)的CDR3序列;ii)GRTFSTY(SEQ ID NO:16)的CDR1序列、SWSGGS(SEQ ID NO:46)或WSGG(SEQ ID NO:266)的CDR2序列以及DQRGY(SEQ ID NO:78)或RG(SEQ ID NO:279)的CDR3序列;iii)GRTFSTYR(SEQ ID NO:26)的CDR1序列、ISWSGGST(SEQ ID NO:56)的CDR2序列和NDQRGY(SEQ ID NO:89)的CDR3序列;iv)GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:160)的CDR1序列、AISWSGGSTTYADPVKG(SEQ ID NO:190)的CDR2序列和QRGY(SEQ ID NO:221)的CDR3序列;v)STYRMG(SEQ ID NO:170)的CDR1序列、FVAAISWSGGSTT(SEQ ID NO:200)的CDR2序列和NDQRG(SEQ ID NO:232)的CDR3序列;和vi)GRTFSTYRMG(SEQ ID NO:180)的CDR1序列、AISWSGGSTT(SEQ ID NO:210)的CDR2序列和QRGY(SEQ ID NO:243)的CDR3序列。

[0430] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含选自由以下项组成的组的单结构域抗体的CDR1序列、CDR2序列和CDR3序列:i)RYAMG(SEQ ID NO:8)的CDR1序列、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:37)的CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:68)的CDR3序列;ii)GFTFTRY(SEQ ID NO:17)的CDR1序列、SWSGSS(SEQ ID NO:47)或WSGS(SEQ ID NO:267)的CDR2序列以及DPFNQGY(SEQ ID NO:79)或PFNQG(SEQ ID NO:280)的CDR3序列;iii)GFTFTRYA(SEQ ID NO:27)的CDR1序列、ISWSGSSA(SEQ ID NO:57)的CDR2序列和AADPFNQGY(SEQ ID NO:90)的CDR3序列;iv)GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:161)的CDR1序列、AISWSGSSAGYGDSVKG(SEQ ID NO:191)的CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:222)的CDR3序列;

v)TRYAMG(SEQ ID NO:171)的CDR1序列、FVAAISWSGSSAG(SEQ ID NO:201)的CDR2序列和AADPFNQG(SEQ ID NO:233)的CDR3序列;和vi)GFTFTRYAMG(SEQ ID NO:181)的CDR1序列、AISWSGSSAG(SEQ ID NO:211)的CDR2序列和DPFNQGY(SEQ ID NO:244)的CDR3序列。

[0431] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含选自由以下项组成的组的单结构域抗体的CDR1序列、CDR2序列和CDR3序列:i)FTTYRMG(SEQ ID NO:258)或TYRMG(SEQ ID NO:259)的CDR1序列、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:38)的CDR2序列和DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:69)的CDR3序列;ii)GRTFTTY(SEQ ID NO:18)的CDR1序列、RWSGGR(SEQ ID NO:48)或WSGG(SEQ ID NO:268)的CDR2序列以及DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:80)或LAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:281)的CDR3序列;iii)GRTFTTYR(SEQ ID NO:28)的CDR1序列、IRWSGGRT的CDR2序列(SEQ ID NO:58)和AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:91)的CDR3序列;iv)GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:162)的CDR1序列、AIRWSGGRTLYADSVKG(SEQ ID NO:192)的CDR2序列和DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:223)的CDR3序列;v)TTYRMG(SEQ ID NO:172)的CDR1序列、FVAAIRWSGGRTL(SEQ ID NO:202)的CDR2序列和AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD(SEQ ID NO:234)的CDR3序列;和vi)GRTFTTYRMG(SEQ ID NO:182)的CDR1序列、AIRWSGGRTL(SEQ ID NO:212)的CDR2序列和DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY(SEQ ID NO:245)的CDR3序列。

[0432] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含选自由以下项组成的组的单结构域抗体的CDR1序列、CDR2序列和CDR3序列:i)FNTYAMG(SEQ ID NO:9)的CDR1序列、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:39)的CDR2序列和ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:70)的CDR3序列;ii)GRTLSFNTY(SEQ ID NO:19)的CDR1序列、TWNGGS(SEQ ID NO:49)或WNGG(SEQ ID NO:269)的CDR2序列以及ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:81)或RYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:282)的CDR3序列;iii)GRTLSFNTYA(SEQ ID NO:29)的CDR1序列、ITWNGGST(SEQ ID NO:59)的CDR2序列和AAARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:92)的CDR3序列;iv)GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:163)的CDR1序列、SITWNGGSTSYADSVKG(SEQ ID NO:193)的CDR2序列和ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:224)的CDR3序列;v)SFNTYAMG(SEQ ID NO:173)的CDR1序列、FVASITWNGGSTS(SEQ ID NO:203)的CDR2序列和AAARYYVSGTYFPAN(SEQ ID NO:235)的CDR3序列;和vi)GRTLSFNTYAMG(SEQ ID NO:183)的CDR1序列、SITWNGGSTS(SEQ ID NO:213)的CDR2序列和ARYYVSGTYFPANY(SEQ ID NO:246)的CDR3序列。

[0433] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体具有来自VHH1的一个或多个CDR区。

[0434] 在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1,其具有如SEQ ID NO:93中所示的CDR1的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR2,其具有如SEQ ID NO:93中所示的CDR2的氨基酸序列。在其他实施方案中,单结构域抗体具有CDR3,其具有如SEQ ID NO:93中所示的CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1和CDR2,其具有如SEQ ID NO:93中所示的CDR1和CDR2的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1和CDR3,其具有如SEQ ID NO:93中所示的CDR1和CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR2和CDR3,其具有如SEQ ID NO:93中所示的CDR2和CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1、CDR2和CDR3,其具有如SEQ ID NO:93中所示的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列。CDR序列可根据众所周知的编号系统来确定。如上所述,CDR区是本领域技术人员众所周知的,并且已由众所周知的编号系统定义。来

自这些高变区或CDR中的每一者的残基在上表1中指出。在一些实施方案中,CDR根据Kabat编号。在一些实施方案中,CDR根据AbM编号。在其他实施方案中,CDR根据Chothia编号。在其他实施方案中,CDR根据Contact编号。在一些实施方案中,CDR根据IMGT编号。

[0435] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体具有来自VHH2的一个或多个CDR区。

[0436] 在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1,其具有如SEQ ID NO:94中所示的CDR1的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR2,其具有如SEQ ID NO:94中所示的CDR2的氨基酸序列。在其他实施方案中,单结构域抗体具有CDR3,其具有如SEQ ID NO:94中所示的CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1和CDR2,其具有如SEQ ID NO:94中所示的CDR1和CDR2的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1和CDR3,其具有如SEQ ID NO:94中所示的CDR1和CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR2和CDR3,其具有如SEQ ID NO:94中所示的CDR2和CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1、CDR2和CDR3,其具有如SEQ ID NO:94中所示的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列。CDR序列可根据众所周知的编号系统来确定。在一些实施方案中,CDR根据Kabat编号。在一些实施方案中,CDR根据AbM编号。在其他实施方案中,CDR根据Chothia编号。在其他实施方案中,CDR根据Contact编号。在一些实施方案中,CDR根据IMGT编号。

[0437] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体具有来自VHH3的一个或多个CDR区。

[0438] 在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1,其具有如SEQ ID NO:95中所示的CDR1的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR2,其具有如SEQ ID NO:95中所示的CDR2的氨基酸序列。在其他实施方案中,单结构域抗体具有CDR3,其具有如SEQ ID NO:95中所示的CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1和CDR2,其具有如SEQ ID NO:95中所示的CDR1和CDR2的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1和CDR3,其具有如SEQ ID NO:95中所示的CDR1和CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR2和CDR3,其具有如SEQ ID NO:95中所示的CDR2和CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1、CDR2和CDR3,其具有如SEQ ID NO:95中所示的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列。CDR序列可根据众所周知的编号系统来确定。在一些实施方案中,CDR根据Kabat编号。在一些实施方案中,CDR根据AbM编号。在其他实施方案中,CDR根据Chothia编号。在其他实施方案中,CDR根据Contact编号。在一些实施方案中,CDR根据IMGT编号。

[0439] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体具有来自VHH4的一个或多个CDR区。

[0440] 在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1,其具有如SEQ ID NO:96中所示的CDR1的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR2,其具有如SEQ ID NO:96中所示的CDR2的氨基酸序列。在其他实施方案中,单结构域抗体具有CDR3,其具有如SEQ ID NO:96中所示的CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1和CDR2,其具有如SEQ ID NO:96中所示的CDR1和CDR2的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1和CDR3,其具有如SEQ ID NO:96中所示的CDR1和CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR2和CDR3,其具有如SEQ ID NO:96中所示的CDR2和CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1、CDR2和CDR3,其具有如SEQ ID NO:96中所示的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列。CDR序列可根据众所周知的编号系统来确

定。在一些实施方案中,CDR根据Kabat编号。在一些实施方案中,CDR根据AbM编号。在其他实施方案中,CDR根据Chothia编号。在其他实施方案中,CDR根据Contact编号。在一些实施方案中,CDR根据IMGT编号。

[0441] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体具有来自VHH5的一个或多个CDR区。

[0442] 在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1,其具有如SEQ ID NO:97中所示的CDR1的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR2,其具有如SEQ ID NO:97中所示的CDR2的氨基酸序列。在其他实施方案中,单结构域抗体具有CDR3,其具有如SEQ ID NO:97中所示的CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1和CDR2,其具有如SEQ ID NO:97中所示的CDR1和CDR2的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1和CDR3,其具有如SEQ ID NO:97中所示的CDR1和CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR2和CDR3,其具有如SEQ ID NO:97中所示的CDR2和CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1、CDR2和CDR3,其具有如SEQ ID NO:97中所示的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列。CDR序列可根据众所周知的编号系统来确定。在一些实施方案中,CDR根据Kabat编号。在一些实施方案中,CDR根据AbM编号。在其他实施方案中,CDR根据Chothia编号。在其他实施方案中,CDR根据Contact编号。在一些实施方案中,CDR根据IMGT编号。

[0443] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体具有来自VHH6的一个或多个CDR区。

[0444] 在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1,其具有如SEQ ID NO:98中所示的CDR1的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR2,其具有如SEQ ID NO:98中所示的CDR2的氨基酸序列。在其他实施方案中,单结构域抗体具有CDR3,其具有如SEQ ID NO:98中所示的CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1和CDR2,其具有如SEQ ID NO:98中所示的CDR1和CDR2的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1和CDR3,其具有如SEQ ID NO:98中所示的CDR1和CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR2和CDR3,其具有如SEQ ID NO:98中所示的CDR2和CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1、CDR2和CDR3,其具有如SEQ ID NO:98中所示的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列。CDR序列可根据众所周知的编号系统来确定。在一些实施方案中,CDR根据Kabat编号。在一些实施方案中,CDR根据AbM编号。在其他实施方案中,CDR根据Chothia编号。在其他实施方案中,CDR根据Contact编号。在一些实施方案中,CDR根据IMGT编号。

[0445] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体具有来自VHH7的一个或多个CDR区。

[0446] 在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1,其具有如SEQ ID NO:99中所示的CDR1的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR2,其具有如SEQ ID NO:99中所示的CDR2的氨基酸序列。在其他实施方案中,单结构域抗体具有CDR3,其具有如SEQ ID NO:99中所示的CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1和CDR2,其具有如SEQ ID NO:99中所示的CDR1和CDR2的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1和CDR3,其具有如SEQ ID NO:99中所示的CDR1和CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR2和CDR3,其具有如SEQ ID NO:99中所示的CDR2和CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1、CDR2和CDR3,其具有如SEQ ID NO:99中所示的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列。CDR序列可根据众所周知的编号系统来确

定。在一些实施方案中,CDR根据Kabat编号。在一些实施方案中,CDR根据AbM编号。在其他实施方案中,CDR根据Chothia编号。在其他实施方案中,CDR根据Contact编号。在一些实施方案中,CDR根据IMGT编号。

[0447] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体具有来自VHH9的一个或多个CDR区。

[0448] 在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1,其具有如SEQ ID NO:100中所示的CDR1的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR2,其具有如SEQ ID NO:100中所示的CDR2的氨基酸序列。在其他实施方案中,单结构域抗体具有CDR3,其具有如SEQ ID NO:100中所示的CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1和CDR2,其具有如SEQ ID NO:100中所示的CDR1和CDR2的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1和CDR3,其具有如SEQ ID NO:100中所示的CDR1和CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR2和CDR3,其具有如SEQ ID NO:100中所示的CDR2和CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1、CDR2和CDR3,其具有如SEQ ID NO:100中所示的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列。CDR序列可根据众所周知的编号系统来确定。在一些实施方案中,CDR根据Kabat编号。在一些实施方案中,CDR根据AbM编号。在其他实施方案中,CDR根据Chothia编号。在其他实施方案中,CDR根据Contact编号。在一些实施方案中,CDR根据IMGT编号。

[0449] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体具有来自VHH 10的一个或多个CDR区。

[0450] 在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1,其具有如SEQ ID NO:101中所示的CDR1的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR2,其具有如SEQ ID NO:101中所示的CDR2的氨基酸序列。在其他实施方案中,单结构域抗体具有CDR3,其具有如SEQ ID NO:101中所示的CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1和CDR2,其具有如SEQ ID NO:101中所示的CDR1和CDR2的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1和CDR3,其具有如SEQ ID NO:101中所示的CDR1和CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR2和CDR3,其具有如SEQ ID NO:101中所示的CDR2和CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1、CDR2和CDR3,其具有如SEQ ID NO:101中所示的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列。CDR序列可根据众所周知的编号系统来确定。在一些实施方案中,CDR根据Kabat编号。在一些实施方案中,CDR根据AbM编号。在其他实施方案中,CDR根据Chothia编号。在其他实施方案中,CDR根据Contact编号。在一些实施方案中,CDR根据IMGT编号。

[0451] 在一些实施方案中,本文提供的与pIgR结合的单结构域抗体具有来自VHH11的一个或多个CDR区。

[0452] 在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1,其具有如SEQ ID NO:102中所示的CDR1的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR2,其具有如SEQ ID NO:102中所示的CDR2的氨基酸序列。在其他实施方案中,单结构域抗体具有CDR3,其具有如SEQ ID NO:102中所示的CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1和CDR2,其具有如SEQ ID NO:102中所示的CDR1和CDR2的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR1和CDR3,其具有如SEQ ID NO:102中所示的CDR1和CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中,单结构域抗体具有CDR2和CDR3,其具有如SEQ ID NO:102中所示的CDR2和CDR3的

氨基酸序列。在一些实施方案中，单结构域抗体具有CDR1、CDR2和CDR3，其具有如SEQ ID NO:102中所示的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列。CDR序列可根据众所周知的编号系统来确定。在一些实施方案中，CDR根据Kabat编号。在一些实施方案中，CDR根据AbM编号。在其他实施方案中，CDR根据Chothia编号。在其他实施方案中，CDR根据Contact编号。在一些实施方案中，CDR根据IMGT编号。

[0453] 在一些实施方案中，本文提供的与pIgR结合的单结构域抗体具有来自VHH12的一个或多个CDR区。

[0454] 在一些实施方案中，单结构域抗体具有CDR1，其具有如SEQ ID NO:103中所示的CDR1的氨基酸序列。在一些实施方案中，单结构域抗体具有CDR2，其具有如SEQ ID NO:103中所示的CDR2的氨基酸序列。在其他实施方案中，单结构域抗体具有CDR3，其具有如SEQ ID NO:103中所示的CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中，单结构域抗体具有CDR1和CDR2，其具有如SEQ ID NO:103中所示的CDR1和CDR2的氨基酸序列。在一些实施方案中，单结构域抗体具有CDR1和CDR3，其具有如SEQ ID NO:103中所示的CDR1和CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中，单结构域抗体具有CDR2和CDR3，其具有如SEQ ID NO:103中所示的CDR2和CDR3的氨基酸序列。在一些实施方案中，单结构域抗体具有CDR1、CDR2和CDR3，其具有如SEQ ID NO:103中所示的CDR1、CDR2和CDR3的氨基酸序列。CDR序列可根据众所周知的编号系统来确定。在一些实施方案中，CDR根据Kabat编号。在一些实施方案中，CDR根据AbM编号。在其他实施方案中，CDR根据Chothia编号。在其他实施方案中，CDR根据Contact编号。在一些实施方案中，CDR根据IMGT编号。

[0455] 在一些实施方案中，单结构域抗体还包含VHH1、VHH2、VHH3、VHH4、VHH5、VHH6、VHH7、VHH9、VHH10、VHH11和VHH12的一个或多个框架区。

[0456] 在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含来源于VHH结构域的框架，该VHH结构域包含QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYGGMDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:93)的序列。

[0457] 在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含来源于VHH结构域的框架，该VHH结构域包含EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYATWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:94)的序列。

[0458] 在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含来源于VHH结构域的框架，该VHH结构域包含QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:95)的序列。

[0459] 在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含来源于VHH结构域的框架，该VHH结构域包含EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIATTTIATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:96)的序列。

[0460] 在本文所描述的方面的各种实施方案中，单结构域抗体包含来源于VHH结构域的框架，该VHH结构域包含QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWNGG

TTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:97)的序列。

[0461] 在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含来源于VHH结构域的框架,该VHH结构域包含EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTTTYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:98)的序列。

[0462] 在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含来源于VHH结构域的框架,该VHH结构域包含EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:99)的序列。

[0463] 在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含来源于VHH结构域的框架,该VHH结构域包含QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGGSTTYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:100)的序列。

[0464] 在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含来源于VHH结构域的框架,该VHH结构域包含EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGSSAGYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:101)的序列。

[0465] 在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含来源于VHH结构域的框架,该VHH结构域包含EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRTLYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPAGYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:102)的序列。

[0466] 在本文所描述的方面的各种实施方案中,单结构域抗体包含来源于VHH结构域的框架,该VHH结构域包含QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASITWNGGSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPANYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:103)的序列。

[0467] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:93中所示的FR1的氨基酸序列的FRI。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:93中所示的FR2的氨基酸序列的FR2。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:93中所示的FR3的氨基酸序列的FR3。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:93中所示的FR4的氨基酸序列的FR4。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:93中所示的FR1和FR2的氨基酸序列的FR1和FR2。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:93中所示的FR1和FR3的氨基酸序列的FRI和FR3。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:93中所示的FR1和FR4的氨基酸序列的FR1和FR4。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:93中所示的FR2和FR3的氨基酸序列的FR2和FR3。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:93中所示的FR2和FR4的氨基酸序列的FR2和FR4。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:93中所示的FR3和FR24的氨基酸序列的FR3和FR4。在一些实施方案中,本文提供

的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:93中所示的FR1、FR2和FR3的氨基酸序列的FR1、FR2和FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:93中所示的FRI、FR2和FR4的氨基酸序列的FR1、FR2和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:93中所示的FR1、FR3和FR4的氨基酸序列的FR1、FR3和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:93中所示的FR2、FR3和FR4的氨基酸序列的FR2、FR3和FR4。在具体实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:93中所示的FR1、FR2、FR3和FR4的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和FR4。

[0468] 在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:94中所示的FR1的氨基酸序列的FR1。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:94中所示的FR2的氨基酸序列的FR2。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:94中所示的FR3的氨基酸序列的FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:94中所示的FR4的氨基酸序列的FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:94中所示的FR1和FR2的氨基酸序列的FR1和FR2。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:94中所示的FR1和FR3的氨基酸序列的FR1和FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:94中所示的FR1和FR4的氨基酸序列的FR1和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:94中所示的FR2和FR3的氨基酸序列的FR2和FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:94中所示的FR2和FR4的氨基酸序列的FR2和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:94中所示的FR3和FR24的氨基酸序列的FR3和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:94中所示的FR1、FR2和FR3的氨基酸序列的FR1、FR2和FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:94中所示的FR1、FR2和FR4的氨基酸序列的FR1、FR2和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:94中所示的FR1、FR3和FR4的氨基酸序列的FR1、FR3和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:94中所示的FR2、FR3和FR4的氨基酸序列的FR2、FR3和FR4。在具体实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:94中所示的FR1、FR2、FR3和FR4的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和FR4。

[0469] 在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:95中所示的FR1的氨基酸序列的FR1。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:95中所示的FR2的氨基酸序列的FR2。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:95中所示的FR3的氨基酸序列的FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:95中所示的FR4的氨基酸序列的FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:95中所示的FR1和FR2的氨基酸序列的FR1和FR2。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:95中所示的FR1和FR3的氨基酸序列的FR1和FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:95中所示的FR1和FR4的氨基酸序列的FR1和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:95中所示的FR2和FR3的氨基酸序列的FR2和FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:95中所示的FR2和FR4的氨基酸序列的FR2和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如

SEQ ID NO:95中所示的FR3和FR24的氨基酸序列的FR3和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:95中所示的FR1、FR2和FR3的氨基酸序列的FR1、FR2和FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:95中所示的FR1、FR2和FR4的氨基酸序列的FR1、FR2和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:95中所示的FR1、FR3和FR4的氨基酸序列的FR1、FR3和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:95中所示的FR2、FR3和FR4的氨基酸序列的FR2、FR3和FR4。在具体实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:95中所示的FR1、FR2、FR3和FR4的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和FR4。

[0470] 在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:96中所示的FR1的氨基酸序列的FR1。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:96中所示的FR2的氨基酸序列的FR2。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:96中所示的FR3的氨基酸序列的FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:96中所示的FR4的氨基酸序列的FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:96中所示的FR1和FR2的氨基酸序列的FR1和FR2。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:96中所示的FR1和FR3的氨基酸序列的FR1和FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:96中所示的FR1和FR4的氨基酸序列的FR1和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:96中所示的FR2和FR3的氨基酸序列的FR2和FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:96中所示的FR2和FR4的氨基酸序列的FR2和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:96中所示的FR3和FR24的氨基酸序列的FR3和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:96中所示的FR1、FR2和FR3的氨基酸序列的FR1、FR2和FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:96中所示的FR1、FR2和FR4的氨基酸序列的FR1、FR2和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:96中所示的FR1、FR3和FR4的氨基酸序列的FR1、FR3和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:96中所示的FR2、FR3和FR4的氨基酸序列的FR2、FR3和FR4。在具体实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:96中所示的FR1、FR2、FR3和FR4的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和FR4。

[0471] 在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:97中所示的FR1的氨基酸序列的FR1。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:97中所示的FR2的氨基酸序列的FR2。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:97中所示的FR3的氨基酸序列的FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:97中所示的FR4的氨基酸序列的FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:97中所示的FR1和FR2的氨基酸序列的FR1和FR2。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:97中所示的FR1和FR3的氨基酸序列的FR1和FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:97中所示的FR1和FR4的氨基酸序列的FR1和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:97中所示的FR2和FR3的氨基酸序列的FR2和FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:97中所示的FR2

和FR4的氨基酸序列的FR2和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:97中所示的FR3和FR24的氨基酸序列的FR3和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:97中所示的FRI、FR2和FR3的氨基酸序列的FR1、FR2和FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:97中所示的FR1、FR2和FR4的氨基酸序列的FR1、FR2和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:97中所示的FR1、FR3和FR4的氨基酸序列的FR1、FR3和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:97中所示的FR2、FR3和FR4的氨基酸序列的FR2、FR3和FR4。在具体实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:97中所示的FR1、FR2、FR3和FR4的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和FR4。

[0472] 在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:98中所示的FRI的氨基酸序列的FR1。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:98中所示的FR2的氨基酸序列的FR2。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:98中所示的FR3的氨基酸序列的FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:98中所示的FR4的氨基酸序列的FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:98中所示的FR1和FR2的氨基酸序列的FR1和FR2。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:98中所示的FR1和FR3的氨基酸序列的FR1和FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:98中所示的FR1和FR4的氨基酸序列的FR1和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:98中所示的FR2和FR3的氨基酸序列的FR2和FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:98中所示的FR2和FR4的氨基酸序列的FR2和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:98中所示的FR3和FR24的氨基酸序列的FR3和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:98中所示的FR1、FR2和FR3的氨基酸序列的FR1、FR2和FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:98中所示的FR1、FR2和FR4的氨基酸序列的FR1、FR2和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:98中所示的FRI、FR3和FR4的氨基酸序列的FR1、FR3和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:98中所示的FR2、FR3和FR4的氨基酸序列的FR2、FR3和FR4。在具体实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:98中所示的FR1、FR2、FR3和FR4的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和FR4。

[0473] 在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:99中所示的FR1的氨基酸序列的FR1。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:99中所示的FR2的氨基酸序列的FR2。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:99中所示的FR3的氨基酸序列的FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:99中所示的FR4的氨基酸序列的FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:99中所示的FR1和FR2的氨基酸序列的FR1和FR2。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:99中所示的FRI和FR3的氨基酸序列的FR1和FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:99中所示的FR1和FR4的氨基酸序列的FR1和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:99中所示的FR2和FR3的氨基酸序列的FR2和

FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:99中所示的FR2和FR4的氨基酸序列的FR2和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:99中所示的FR3和FR24的氨基酸序列的FR3和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:99中所示的FR1、FR2和FR3的氨基酸序列的FR1、FR2和FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:99中所示的FR1、FR2和FR4的氨基酸序列的FR1、FR2和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:99中所示的FR1、FR3和FR4的氨基酸序列的FR1、FR3和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:99中所示的FR2、FR3和FR4的氨基酸序列的FR2、FR3和FR4。在具体实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:99中所示的FR1、FR2、FR3和FR4的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和FR4。

[0474] 在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:100中所示的FR1的氨基酸序列的FR1。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:100中所示的FR2的氨基酸序列的FR2。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:100中所示的FR3的氨基酸序列的FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:100中所示的FR4的氨基酸序列的FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:100中所示的FR1和FR2的氨基酸序列的FR1和FR2。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:100中所示的FR1和FR3的氨基酸序列的FR1和FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:100中所示的FR1和FR4的氨基酸序列的FR1和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:100中所示的FR2和FR3的氨基酸序列的FR2和FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:100中所示的FR2和FR4的氨基酸序列的FR2和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:100中所示的FR3和FR24的氨基酸序列的FR3和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:100中所示的FR1、FR2和FR3的氨基酸序列的FR1、FR2和FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:100中所示的FR1、FR2和FR4的氨基酸序列的FR1、FR2和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:100中所示的FR1、FR3和FR4的氨基酸序列的FR1、FR3和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:100中所示的FR2、FR3和FR4的氨基酸序列的FR2、FR3和FR4。在具体实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:100中所示的FR1、FR2、FR3和FR4的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和FR4。

[0475] 在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:101中所示的FR1的氨基酸序列的FR1。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:101中所示的FR2的氨基酸序列的FR2。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:101中所示的FR3的氨基酸序列的FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:101中所示的FR4的氨基酸序列的FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:101中所示的FR1和FR2的氨基酸序列的FR1和FR2。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:101中所示的FR1和FR3的氨基酸序列的FR1和FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗

体包含具有如SEQ ID NO:101中所示的FR1和FR4的氨基酸序列的FR1和FR4。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:101中所示的FR2和FR3的氨基酸序列的FR2和FR3。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:101中所示的FR2和FR4的氨基酸序列的FR2和FR4。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:101中所示的FR3和FR24的氨基酸序列的FR3和FR4。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:101中所示的FR1、FR2和FR3的氨基酸序列的FR1、FR2和FR3。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:101中所示的FRI、FR2和FR4的氨基酸序列的FRI、FR2和FR4。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:101中所示的FR1、FR3和FR4的氨基酸序列的FR1、FR3和FR4。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:101中所示的FR2、FR3和FR4的氨基酸序列的FR2、FR3和FR4。在具体实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:101中所示的FR1、FR2、FR3和FR4的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和FR4。

[0476] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:102中所示的FR1的氨基酸序列的FR1。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:102中所示的FR2的氨基酸序列的FR2。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:102中所示的FR3的氨基酸序列的FR3。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:102中所示的FR4的氨基酸序列的FR4。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:102中所示的FRI和FR2的氨基酸序列的FR1和FR2。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:102中所示的FR1和FR3的氨基酸序列的FR1和FR3。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:102中所示的FR1和FR4的氨基酸序列的FR1和FR4。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:102中所示的FR2和FR3的氨基酸序列的FR2和FR3。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:102中所示的FR2和FR4的氨基酸序列的FR2和FR4。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:102中所示的FR3和FR24的氨基酸序列的FR3和FR4。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:102中所示的FR1、FR2和FR3的氨基酸序列的FR1、FR2和FR3。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:102中所示的FR1、FR2和FR4的氨基酸序列的FR1、FR2和FR4。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:102中所示的FR1、FR3和FR4的氨基酸序列的FR1、FR3和FR4。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:102中所示的FR2、FR3和FR4的氨基酸序列的FR2、FR3和FR4。在具体实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:102中所示的FRI、FR2、FR3和FR4的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和FR4。

[0477] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:103中所示的FR1的氨基酸序列的FR1。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:103中所示的FR2的氨基酸序列的FR2。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:103中所示的FR3的氨基酸序列的FR3。在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:103中所示的FR4的氨基酸序列的FR4。在一些实施

方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:103中所示的FR1和FR2的氨基酸序列的FR1和FR2。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:103中所示的FR1和FR3的氨基酸序列的FR1和FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:103中所示的FR1和FR4的氨基酸序列的FRI和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:103中所示的FR2和FR3的氨基酸序列的FR2和FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:103中所示的FR2和FR4的氨基酸序列的FR2和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:103中所示的FR3和FR24的氨基酸序列的FR3和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:103中所示的FR1、FR2和FR3的氨基酸序列的FR1、FR2和FR3。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:103中所示的FR1、FR2和FR4的氨基酸序列的FR1、FR2和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:103中所示的FR1、FR3和FR4的氨基酸序列的FR1、FR3和FR4。在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:103中所示的FR2、FR3和FR4的氨基酸序列的FR2、FR3和FR4。在具体实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含具有如SEQ ID NO:103中所示的FR1、FR2、FR3和FR4的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和FR4。

[0478] 在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体是人源化单结构域抗体。

[0479] 本文所述的框架区是基于CDR编号系统的边界确定的。换句话讲，如果CDR是通过例如Kabat、IMGT或Chothia来确定的，则构架区是可变区中CDR周围的氨基酸残基，从N-末端到C-末端的形式:FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。例如，FR1被定义为由例如Kabat编号系统、IMGT编号系统或Chothia编号系统定义的CDR1氨基酸残基的N-末端氨基酸残基，FR2被定义为由例如Kabat编号系统、IMGT编号系统或Chothia编号系统定义的CDR1和CDR2氨基酸残基之间的氨基酸残基，FR3被定义为由例如Kabat编号系统、IMGT编号系统或Chothia编号系统定义的CDR2和CDR3氨基酸残基之间的氨基酸残基，并且FR4被定义为由例如Kabat编号系统、IMGT编号系统或Chothia编号系统定义的CDR3氨基酸残基的C-末端氨基酸残基。

[0480] 在一些具体实施方案中，单结构域抗体包含

[0481] QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYGGMDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:93)的序列。

[0482] 在一些具体实施方案中，单结构域抗体包含

[0483] EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYATWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:94)的序列。

[0484] 在一些具体实施方案中，单结构域抗体包含

[0485] QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:95)的序列。

[0486] 在一些具体实施方案中，单结构域抗体包含

[0487] EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIATTTIATSVKGRFA

ITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:96)的序列。

[0488] 在一些具体实施方案中,单结构域抗体包含

[0489] QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWNGGTTYYADSVKGRF TISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:97)的序列。

[0490] 在一些具体实施方案中,单结构域抗体包含

[0491] EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTTTYADSVKGRFT ISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:98)的序列。

[0492] 在一些具体实施方案中,单结构域抗体包含

[0493] EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTHYAESVKGRFT ISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:99)的序列。

[0494] 在一些具体实施方案中,单结构域抗体包含

[0495] QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGGSTTYADPVKGRF TISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:100)的序列。

[0496] 在一些具体实施方案中,单结构域抗体包含

[0497] EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGSSAGYGDSVKGRF TISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:101)的序列。

[0498] 在一些具体实施方案中,单结构域抗体包含

[0499] EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRTLYADSVKGRF TISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPAGYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:102)的序列。

[0500] 在一些具体实施方案中,单结构域抗体包含

[0501] QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASITWNGGSTSYADSVKG RFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPANYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:103)的序列。

[0502] 在某些实施方案中,本文所述的抗体或其抗原结合片段包含相对于抗体VHH1、VHH2、VHH3、VHH4、VHH5、VHH6、VHH7、VHH9、VHH10、VHH11和VHH12中的任一种具有某些百分比同一性的氨基酸序列。

[0503] 两个序列(例如,氨基酸序列或核酸序列)之间的同一性百分比的测定可使用数学算法来完成。用于比较两个序列的数学算法的优选非限制性示例为Karlin和Altschul,1990,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.87:22642268的算法,如Karlin和Altschul,1993,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.90:58735877中所修改。此类算法并入Altschul等人,1990,J.Mol.Biol.215:403的NBLAST和XBLAST程序中。可用NBLAST核苷酸程序参数集进行BLAST核苷酸检索,例如,对于评分=100,字长=12,以获得与本文所述的核酸分子同源的核苷酸序列。可用XBLAST程序参数集进行BLAST蛋白质检索,例如,对于得分50,字长=3,以获得与本文所述的蛋白质分子同源的氨基酸序列。为了获得用于比较目的的空位比对,可如Altschul等人,1997,Nucleic Acids Res.25:33893402中所述利用空位BLAST。另选地,可使用PSI BLAST执行检测分子之间的距离关系(Id.)的迭代检索。当利用BLAST、空位BLAST和PSI Blast程序时,可使用相应程序(例如XBLAST和NBLAST)的默认参数(参见例如,万维

网上的国家生物技术信息中心(NCBi),ncbi.nlm.nih.gov)。用于比较序列的数学算法的另一优选非限制性示例为Myers和Miller,1988,CABIOS4:1117的算法。此类算法并入ALIGN程序(版本2.0)中,其是GCG序列比对软件包的一部分。当利用ALIGN程序比较氨基酸序列时,可使用PAM120权重残基表、空位长度罚分12、空位罚分4。

[0504] 两个序列之间的同一性百分比可使用与上述那些类似的技术来确定,允许或不允许空位。在计算百分比同一性时,通常仅计数精确匹配。

[0505] 在某些实施方案中,本文所述的单结构域抗体包含与SEQ ID NO:93的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的VHH结构域,其中该单结构域抗体与pIgR结合。

[0506] 在某些实施方案中,本文所述的单结构域抗体包含与SEQ ID NO:94的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的VHH结构域,其中该单结构域抗体与pIgR结合。

[0507] 在某些实施方案中,本文所述的单结构域抗体包含与SEQ ID NO:95的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的VHH结构域,其中该单结构域抗体与pIgR结合。

[0508] 在某些实施方案中,本文所述的单结构域抗体包含与SEQ ID NO:96的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的VHH结构域,其中该单结构域抗体与pIgR结合。

[0509] 在某些实施方案中,本文所述的单结构域抗体包含与SEQ ID NO:97的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的VHH结构域,其中该单结构域抗体与pIgR结合。

[0510] 在某些实施方案中,本文所述的单结构域抗体包含与SEQ ID NO:98的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的VHH结构域,其中该单结构域抗体与pIgR结合。

[0511] 在某些实施方案中,本文所述的单结构域抗体包含与SEQ ID NO:99的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的VHH结构域,其中该单结构域抗体与pIgR结合。

[0512] 在某些实施方案中,本文所述的单结构域抗体包含与SEQ ID NO:100的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的VHH结构域,其中该单结构域抗体与pIgR结合。

[0513] 在某些实施方案中,本文所述的单结构域抗体包含与SEQ ID NO:101的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的VHH结构域,其中该单结构域抗体与pIgR结合。

[0514] 在某些实施方案中,本文所述的单结构域抗体包含与SEQ ID NO:102的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的VHH结构域,其中该单结构域抗体与pIgR结合。

[0515] 在某些实施方案中,本文所述的单结构域抗体包含与SEQ ID NO:103的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的VHH结构域,其中该单结构域抗体与pIgR结合。

[0516] 在某些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含与SEQ ID NO:93的氨基酸序列具有至少80％、至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％序列同一性的框架，其中该单结构域抗体与pIgR结合。

[0517] 在某些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含与SEQ ID NO:94的氨基酸序列具有至少80％、至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％序列同一性的框架，其中该单结构域抗体与pIgR结合。

[0518] 在某些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含与SEQ ID NO:95的氨基酸序列具有至少80％、至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％序列同一性的框架，其中该单结构域抗体与pIgR结合。

[0519] 在某些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含与SEQ ID NO:96的氨基酸序列具有至少80％、至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％序列同一性的框架，其中该单结构域抗体与pIgR免疫特异性结合。

[0520] 在某些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含与SEQ ID NO:97的氨基酸序列具有至少80％、至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％序列同一性的框架，其中该单结构域抗体与pIgR结合。

[0521] 在某些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含与SEQ ID NO:98的氨基酸序列具有至少80％、至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％序列同一性的框架，其中该单结构域抗体与pIgR结合。

[0522] 在某些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含与SEQ ID NO:99的氨基酸序列具有至少80％、至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％序列同一性的框架，其中该单结构域抗体与pIgR结合。

[0523] 在某些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含与SEQ ID NO:100的氨基酸序列具有至少80％、至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％序列同一性的框架，其中该单结构域抗体与pIgR结合。

[0524] 在某些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含与SEQ ID NO:101的氨基酸序列具有至少80％、至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％序列同一性的框架，其中该单结构域抗体与pIgR结合。

[0525] 在某些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含与SEQ ID NO:102的氨基酸序列具有至少80％、至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％序列同一性的框架，其中该单结构域抗体与pIgR结合。

[0526] 在某些实施方案中，本文提供的单结构域抗体包含与SEQ ID NO:103的氨基酸序列具有至少80％、至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％序列同一性的框架，其中该单结构域抗体与pIgR结合。

[0527] 5.2.2.人源化单结构域抗体

[0528] 本文所述的单结构域抗体包括人源化单结构域抗体。人源化来自骆驼科物种的单结构域抗体的一般策略已有所描述(参见例如Vincke等人，J.Biol.Chem.，2009，284(5)：3273-3284)并且可用于产生如本文所公开的人源化VHH结构域。来自骆驼科物种的人源化单结构域抗体的设计可以包括VHH中的标记残基，诸如残基11、37、44、45和47(根据Kabat编号的残基)(Muyldermans，Reviews Mol Biotech 74:277-302(2001))。

[0529] 人源化抗体,如本文所公开的人源化单结构域抗体,也可使用本领域已知的多种技术来产生,包括但不限于CDR移植(欧洲专利EP 239,400;国际公开WO 91/09967;和美国专利5,225,539、5,530,101和5,585,089)、外饰或表面重建(欧洲专利EP 592,106和EP 519,596;Padlan,1991,Molecular Immunology 28(4/5):489-498;Studnicka等人,1994,Protein Engineering 7(6):805-814;和Roguska等人,1994,PNAS 91:969-973)、链改组(美国专利5,565,332)以及公开于以下文献中的技术:例如美国专利6,407,213,美国专利5,766,886,WO 9317105,Tan等人,J.Immunol.169:111925(2002),Caldas等人,Protein Eng.13(5):353-60(2000),Morea等人,Methods 20(3):267 79(2000),Baca et al.,J.Biol.Chem.272(16):10678-84(1997),Roguska等人,Protein Eng.9(10):895904(1996),Couto等人,Cancer Res.55(23增刊):5973s-5977s(1995),Couto等人,Cancer Res.55(8):1717-22(1995),Sandhu JS,Gene 150(2):409-10(1994),以及Pedersen等人,J.Mol.Biol.235(3):959-73(1994)。还参见美国专利公开US 2005/0042664 A1(2005年2月24日),这些文献中的每个以引用的方式全文并入本文。

[0530] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体可以是与pIgR(包括人pIgR)结合的人源化单结构域抗体。例如,本公开的人源化单链抗体可包含VHH1、VHH2、VHH3、VHH4、VHH5、VHH6、VHH7、VHH9、VHH10、VHH11和/或VHH12的一个或多个CDR。用于人源化非人抗体的各种方法是本领域已知的。例如,人源化抗体可具有从非人来源引入其中的一个或多个氨基酸残基。这些非人氨基酸残基通常称为"输入"残基,其通常取自"输入"可变结构域。人源化可例如按照Jones等人,1986,Nature 321:522-25;Riechmann等人,1988,Nature 332:323-27;和Verhoeyen等人,1988,Science 239:1534-36的方法,通过用高变区序列取代人抗体的对应序列进行。

[0531] 在一些情况下,人源化抗体通过CDR移植构建,其中亲本非人抗体的CDR的氨基酸序列移植到人抗体框架上。例如,Padlan等人确定CDR中仅约三分之一的残基实际接触抗原,并将其称为"特异性决定残基"或SDR(Padlan等人,1995,FASEB J.9:133-39)。在SDR移植技术中,仅SDR残基被移植到人抗体框架上(参见例如,Kashmiri等人,2005,Methods 36:25-34)。

[0532] 用于制备人源化抗体的人可变结构域的选择对于降低抗原性可能是重要的。例如,根据所谓的"最佳拟合"方法,针对已知人可变结构域序列的整个文库筛选非人抗体的可变结构域的序列。可选择与非人抗体的序列最接近的人序列作为人源化抗体的人框架(Sims等人,1993,J.Immunol.151:2296-308;和Chothia等人,1987,J.Mol.Biol.196:901-17)。另一种方法使用来源于轻链或重链的特定亚组的所有人抗体的共有序列的特定构架。相同的框架可用于几种不同的人源化抗体(Carter等人,1992,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89:4285-89;和Presta等人,1993,J.Immunol.151:2623-32)。在一些情况下,框架来源于最丰富的人亚类即V_L6亚组I(V_L6I)和V_H亚组III(V_HIII)的共有序列。在另一种方法中,人种系基因用作框架区的来源。

[0533] 在基于CDR的比较的另选范例中,称为超人源化,FR同源性是不相关的。该方法包括将非人序列与功能性人种系基因库进行比较。然后选择编码与鼠序列相同或密切相关的规范结构的那些基因。接着,在与非人抗体共享规范结构的基因中,选择在CDR内具有最高同源性的基因作为FR供体。最后,将非人CDR移植到这些FR上(参见例如,Tan等人,2002,

J.Immunol.169:1119-25)。

[0534] 通常还期望抗体被人源化,同时保留其对抗原的亲和力和其他有利的生物特性。为了实现这个目标,根据一种方法,通过使用亲本和人源化序列的三维模型分析亲本序列和各种概念上的人源化产物的过程来制备人源化抗体。三维免疫球蛋白模型通常是可用的并且是为本领域的技术人员所熟悉的。举例说明且显示所选候选免疫球蛋白序列的可能三维构象结构的计算机程序是可用的。这些包括例如WAM(whitelgen和Rees,2000,Protein Eng.13:819-24)、Modeller(Sali和Blundell,1993,J.Mol.Biol.234:779-815)和Swiss PDB Viewer(Guex和Peitsch,1997,Electrophoresis 18:2714-23)。这些展示的检测使得能分析在候选免疫球蛋白序列的功能发挥中残基的可能作用,例如分析影响候选免疫球蛋白与其抗原结合的能力的残基。以这种方式,可以从受体和输入序列中选择和组合FR残基,从而能实现所需抗体特征,诸如对靶抗原的增加的亲和力。通常,高变区残基直接且最实质地参与影响抗原结合。

[0535] 用于抗体人源化的另一种方法是基于称为人字符串含量(HSC)的抗体人源性的度量。该方法将小鼠序列与人种系基因的组库进行比较,并且差异被评分为HSC。然后通过使其HSC最大化而不是使用全局同一性测量来人源化靶序列,以生成多种不同人源化变体(Lazar等人,2007,Mol.Immunol.44:1986-98)。

[0536] 除了上述方法之外,可使用经验方法来生成和选择人源化抗体。这些方法包括基于产生人源化变体的大文库和使用富集技术或高通量筛选技术选择最佳克隆的那些方法。抗体变体可从噬菌体、核糖体和酵母展示文库以及通过细菌菌落筛选分离(参见例如,Hoogenboom,2005,Nat.Biotechnol.23:1105-16;Dufner等人,2006,Trends Biotechnol.24:523-29;Feldhaus等人,2003,Nat.Biotechnol.21:163-70;和Schlapschy等人,2004,Protein Eng.Des.Sel.17:847-60)。

[0537] 在FR文库方法中,在FR中的特定位置处引入残基变体的集合,随后筛选文库以选择最佳支持移植CDR的FR。待取代的残基可包括被鉴定为可能对CDR结构有贡献的"Vernier"残基中的一些或全部(参见例如,Foote和Winter,1992,J.Mol.Biol.224:487-99),或来自由Baca等人鉴定的更有限的靶残基组(1997,J.Biol.Chem.272:10678-84)。

[0538] 在FR改组中,将完整FR与非人CDR组合,而不是产生所选残基变体的组合文库(参见例如,Dall'Acqua等人,2005,Methods 36:43-60)。可使用一步FR改组方法。这种方法已被证明是有效的,因为所得抗体表现出改善的生物化学和物理化学特性,包括增强的表达、增加的亲和力和热稳定性(参见例如,Damschroder等人,2007,Mol.Immunol.44:3049-60)。

[0539] "人源改造"方法基于实验鉴定必需的最小特异性决定簇(MSD),并且基于将非人片段顺序替换到人FR文库中并评估结合。该方法通常导致表位保留和鉴定来自具有不同人V-片段CDR的多个亚类的抗体。

[0540] "人工程化"方法涉及通过对抗体的氨基酸序列进行特异性改变来改变非人抗体或抗体片段,以便产生在人中具有降低的免疫原性的修饰抗体,其仍然保留原始非人抗体的期望结合特性。通常,该技术涉及将非人抗体的氨基酸残基分类为"低风险"、"中风险"或"高风险"残基。使用总体风险/回报计算进行分类,该计算评估进行特定取代(例如,对于人中的免疫原性)的预测益处与取代将影响所得抗体折叠的风险。在非人抗体序列的给定位置(例如,低或中风险)处待取代的特定人氨基酸残基可通过将来自非人抗体的可变区的

氨基酸序列与特定或共有人抗体序列的对应区域进行比对来选择。根据比对，非人序列中低或中风险位置处的氨基酸残基可取代人抗体序列中的对应残基。用于制备人工程化蛋白的技术更详细地描述于Studnicka等人，1994，Protein Engineering 7:805-14;美国专利5,766,886;5,770,196;5,821,123;和5,869,619;以及PCT公开WO 93/11794。

[0541] 可使用例如Composite Human Antibody™技术(Antitope Ltd.,Cambridge，United Kingdom)生成复合人抗体。为了生成复合人抗体，可变区序列以避免T细胞表位的方式从多个人抗体可变区序列的片段设计，从而使所得抗体的免疫原性最小化。

[0542] 去免疫化抗体是其中T细胞表位已被去除的抗体。用于制备去免疫化抗体的方法已有描述。参见例如，Jones等人，Methods Mol Biol.2009;525:405-23，xiv和De Groot等人，Cell.Immunol.244:148-153(2006))。去免疫化抗体包含T细胞表位耗竭的可变区和人恒定区。简而言之，克隆抗体的可变区，并且随后通过在T细胞增殖测定中测试来源于抗体可变区的重叠肽来鉴定T细胞表位。通过计算机方法鉴定T细胞表位以鉴定与人MHC II类结合的肽。在可变区中引入突变以消除与人MHC II类的结合。然后利用突变的可变区生成去免疫化抗体。

[0543] 5.2.3.单结构域抗体变体

[0544] 在一些实施方案中，设想了本文所述的与pIgR结合的单结构域抗体的氨基酸序列修饰。例如，可能期望优化抗体的结合亲和力和/或其他生物特性，包括但不限于特异性、热稳定性、表达水平、效应子功能、糖基化、降低的免疫原性或溶解度。因此，除了本文所述的与pIgR结合的单结构域抗体之外，还设想可制备本文所述的与pIgR结合的单结构域抗体的变体。例如，可通过将适当的核苷酸变化引入编码DNA和/或通过合成期望的抗体或多肽来制备单结构域抗体变体。理解氨基酸变化的本领域技术人员可改变单结构域抗体的翻译后过程。

[0545] 在一些实施方案中，本文提供的单结构域抗体例如通过将任何类型的分子共价连接至单结构域抗体而被化学修饰。抗体衍生物可包括已例如通过糖基化、乙酰化、聚乙二醇化、磷酸化、酰胺化、通过已知保护/封闭基团的衍生化、蛋白水解切割、与细胞配体或其他蛋白质的连接、或与一个或多个免疫球蛋白结构域(例如，Fc或Fc的一部分)缀合进行化学修饰的抗体。许多化学修饰中的任一种可通过已知技术进行，包括但不限于特定的化学切割、乙酰化、配制、衣霉素的代谢合成等。另外，抗体可含有一个或多个非经典氨基酸。

[0546] 变体可以是编码单结构域抗体或多肽的一个或多个密码子的取代、缺失或插入，这导致氨基酸序列与原始抗体或多肽相比发生变化。氨基酸取代可以是用具有类似结构和/或化学特性的一个氨基酸替换另一个氨基酸的结果，诸如用丝氨酸替换亮氨酸，例如，保守氨基酸替换。本领域技术人员已知的标准技术可用于在编码本文提供的分子的核苷酸序列中引入突变，包括例如导致氨基酸取代的定点诱变和PCR介导的诱变。插入或缺失可任选地在约1至5个氨基酸的范围内。在某些实施方案中，取代、缺失或插入包括相对于原始分子少于25个氨基酸取代、少于20个氨基酸取代、少于15个氨基酸取代、少于10个氨基酸取代、少于5个氨基酸取代、少于4个氨基酸取代、少于3个氨基酸取代或少于2个氨基酸取代。在具体实施方案中，取代是在一个或多个预测的非必需氨基酸残基处进行的保守氨基酸取代。所允许的变体可通过系统地对序列中的氨基酸进行插入、缺失或取代并针对亲本抗体所表现出的活性测试所得变体来确定。

[0547] 氨基酸序列插入包括长度范围从一个残基到含有多个残基的多肽的氨基和/或羧基末端融合物,以及单个或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的示例包括具有N-末端甲硫氨酰残基的抗体。

[0548] 通过保守氨基酸取代生成的单结构域抗体包括在本公开中。在保守氨基酸取代中,氨基酸残基被具有带类似电荷的侧链的氨基酸残基替换。如上所述,本领域已经定义了具有带类似电荷的侧链的氨基酸残基家族。这些家族包括具有碱性侧链(例如,赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、酸性侧链(例如,天冬氨酸、谷氨酸)、不带电荷的极性侧链(例如,甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸)、非极性侧链(例如,丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸)、β-支链侧链(例如,苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和芳族侧链(例如,酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)的氨基酸。另选地,突变可沿编码序列的全部或部分诸如通过饱和诱变随机引入,并且可筛选所得突变体的生物活性以鉴定保留活性的突变体。诱变后,可表达编码的蛋白质并测定蛋白质的活性。可进行保守的(例如,在具有类似特性和/或侧链的氨基酸基团内)取代,以便保持或不显著改变特性。

[0549] 氨基酸可根据其侧链特性的相似性来分组(参见例如,Lehninger,Biochemistry 73-75(第2版1975)):(1)非极性:Ala(A)、Val(V)、Leu(L)、Ile(I)、Pro(P)、Phe(F)、Trp(W)、Met(M);(2)不带电荷极性:Gly(G)、Ser(S)、Thr(T)、Cys(C)、Tyr(Y)、Asn(N)、Gln(Q);(3)酸性:Asp(D)、Glu(E);和(4)碱性:Lys(K)、Arg(R)、His(H)。另选地,天然存在的残基可基于常见的侧链特性分成几组:(1)疏水性:正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile;(2)中性亲水:Cys、Ser、Thr、Asn、Gln;(3)酸性:Asp、Glu;(4)碱性:His、Lys、Arg;(5)影响链取向的残基:Gly、Pro;和(6)芳族:Trp、Tyr、Phe。

[0550] 例如,任何不参与维持单结构域抗体正确构象的半胱氨酸残基也可例如用另一氨基酸诸如丙氨酸或丝氨酸取代,以提高分子的氧化稳定性并防止异常交联。

[0551] 可使用本领域已知的方法进行变化,诸如寡核苷酸介导的(定点)诱变、丙氨酸扫描和PCR诱变。可对克隆的DNA进行定点诱变(参见例如,Carter,1986,Biochem J.237:1-7;和Zoller等人,1982,Nucl.Acids Res.10:6487-500)、盒诱变(参见例如,Wells等人,1985,Gene 34:315-23)或其他已知技术以产生单结构域抗体变体DNA。

[0552] 5.2.4.体外亲和力成熟

[0553] 在一些实施方案中,与亲本抗体相比具有改善的特性(诸如亲和力、稳定性或表达水平)的抗体变体可通过体外亲和力成熟来制备。与天然原型一样,体外亲和力成熟基于突变和选择的原理。抗体文库展示在生物体(例如,噬菌体、细菌、酵母或哺乳动物细胞)的表面上或与其编码mRNA或DNA缔合(例如,共价或非共价)。对所展示的抗体的亲和力选择允许分离携带编码抗体的遗传信息的生物体或复合物。使用展示方法诸如噬菌体展示进行的两轮或三轮突变和选择通常产生具有低纳摩尔范围内的亲和力的抗体片段。亲和力成熟的抗体可对靶抗原具有纳摩尔或甚至皮摩尔的亲和力。

[0554] 噬菌体展示是用于展示和选择抗体的普遍方法。抗体展示在Fd或M13噬菌体的表面上,作为与噬菌体外壳蛋白的融合物。选择涉及暴露于抗原以允许噬菌体展示的抗体结合其靶标,该过程被称为"淘选"。回收与抗原结合的噬菌体,并用于感染细菌以产生用于进一步轮次选择的噬菌体。综述参见例如,Hoogenboom,2002,Methods.Mol.Biol.178:1-37;

以及Bradbury和Marks,2004,J.Immunol.Methods 290:29-49。

[0555] 在酵母展示系统中(参见例如,Boder等人,1997,Nat.Biotech.15:553-57;和Chao等人,2006,Nat.Protocols 1:755-68),抗体可与酵母凝集素蛋白Aga2p的粘附亚基(其通过与Aga1p结合的二硫键附接到酵母细胞壁)融合。经由Aga2p展示蛋白质使蛋白质从细胞表面突出,从而使与酵母细胞壁上其他分子的潜在相互作用最小化。使用磁分离和流式细胞术筛选文库以选择具有改善的亲和力或稳定性的抗体。通过用生物素酰化抗原和与荧光团缀合的第二试剂诸如链霉亲和素标记酵母来测定与可溶性目的抗原的结合。抗体表面表达的变异可通过免疫荧光标记侧接单链抗体(例如,scFv)的血凝素或c-Myc表位标签来测量。已显示表达与所展示的蛋白质的稳定性相关,并且因此可选择稳定性和亲和力改善的抗体(参见例如,Shusta等人,1999,J.Mol.Biol.292:949-56)。酵母展示的另一个优点是,利用内质网伴侣和质控机制,将所展示的蛋白质在真核酵母细胞的内质网中折叠。一旦成熟完成,抗体亲和力就可方便地"滴定",同时在酵母表面上展示,从而消除了对每个克隆的表达和纯化的需要。酵母表面展示的理论限制是功能性文库的大小可能比其他展示方法的小;然而,最近的方法使用酵母细胞配合系统来产生大小估计为10^{14}的组合多样性(参见例如,美国专利公开2003/0186374;和Blaise等人,2004,Gene 342:211-18)。

[0556] 在核糖体展示中,生成抗体-核糖体-mRNA(ARM)复合物用于在无细胞系统中进行选择。编码特定抗体文库的DNA文库与缺乏终止密码子的间隔序列基因融合。当翻译时,该间隔序列仍附接到肽基tRNA并且占据核糖体通道,并且因此允许目的蛋白质从核糖体突出并折叠。所得的mRNA、核糖体和蛋白质的复合物可与表面结合的配体结合,从而允许通过与配体的亲和力捕获同时分离抗体及其编码mRNA。然后将核糖体结合的mRNA逆转录回cDNA,然后可进行诱变并用于下一轮选择(参见例如,Fukuda等人,2006,Nucleic Acids Res.34:e127)。在mRNA展示中,使用嘌呤霉素作为衔接分子在抗体与mRNA之间建立共价键(Wilson等人,2001,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 98:3750-55)。

[0557] 由于这些方法完全在体外进行,它们提供了两个优于其他选择技术的主要优点。首先,文库的多样性不受细菌细胞转化效率的限制,而仅测试管中存在的核糖体和不同mRNA分子的数目的限制。其次,在每个选择轮次后,可容易地引入随机突变,例如,通过非校正聚合酶,因为在任何多样化步骤后不必转化文库。

[0558] 在一些实施方案中,可使用哺乳动物展示系统。

[0559] 多样性也可以靶向方式或通过随机引入而引入抗体文库的CDR中。前一种方法包括通过高或低水平的诱变顺序靶向抗体的所有CDR或靶向体细胞超突变的分离热点(参见例如,Ho等人,2005,J.Biol.Chem.280:607-17)或基于实验基础或结构原因怀疑影响亲和力的残基。多样性也可通过替换天然多样的区域,经由DNA改组或类似技术引入(参见例如,Lu等人,2003,J.Biol.Chem.278:43496-507;美国专利5,565,332和6,989,250)。另选技术靶向延伸到框架区残基中的高变环(参见例如,Bond等人,2005,J.Mol.Biol.348:699-709)采用CDR中的环缺失和插入或使用基于杂交的多样化(参见例如,美国专利公开2004/0005709)。生成CDR多样性的附加的方法公开于例如美国专利7,985,840中。可用于生成抗体文库和/或抗体亲和力成熟的其他方法公开于例如美国专利8,685,897和8,603,930以及美国公开2014/0170705、2014/0094392、2012/0028301、2011/0183855和2009/0075378中,这些专利中的每个以引用方式并入本文。

[0560] 文库的筛选可通过本领域已知的各种技术来实现。例如,单结构域抗体可被固定化到固体支持物、柱、针或纤维素/聚(偏二氟乙烯)膜/其他过滤器上,在附连到吸附板或用于细胞分选的宿主细胞上表达,或缀合到生物素以用链霉亲和素包被的珠捕获或用于淘选展示文库的任何其他方法。

[0561] 关于体外亲和力成熟方法的综述,参见例如,Hoogenboom,2005,Nature Biotechnology23:1105-16;Quiroz和Sinclair,2010,Revista Ingeneria Biomedia4:39-51;及其中的参考文献。

[0562] 5.2.5.单结构域抗体的修饰

[0563] 单结构域抗体的共价修饰包括在本公开的范围内。共价修饰包括使单结构域抗体的靶向氨基酸残基与有机衍生化试剂反应,该有机衍生化试剂能够与单结构域抗体的所选择的侧链或N-或C-末端残基反应。其他修饰包括谷氨酰胺酰基和天冬酰胺酰基残基分别脱酰胺成对应的谷氨酰基和天冬氨酰基残基,脯氨酸和赖氨酸的羟基化,丝氨酰或苏氨酰残基的羟基磷酸化,赖氨酸、精氨酸和组氨酸侧链的α-氨基的甲基化(参见例如,Creighton,Proteins:Structure and Molecular Properties 79-86(1983)),N-末端胺的乙酰化,以及任何C-末端羧基的酰胺化。

[0564] 包括在本公开内容范围内的单结构域抗体的其他类型的共价修饰包括改变抗体或多肽的天然糖基化模式(参见例如,Beck等人,2008,Curr.Pharm.Biotechnol.9:482-501;和Walsh,2010,Drug Discov.Today 15:773-80),并以例如美国专利4,640,835、4,496,689、4,301,144、4,670,417、4,791,192或4,179,337中所述的方式将抗体连接到多种非蛋白质聚合物(例如,聚乙二醇(PEG)、聚丙二醇或聚氧化烯)中的一者。本公开的与pIgR结合的单结构域抗体也可与一个或多个免疫球蛋白恒定区或其部分(例如,Fc)基因融合或缀合,以延长半衰期和/或赋予已知的Fc介导的效应子功能。

[0565] 本公开的与pIgR结合的单链抗体还可被修饰以形成嵌合分子,该嵌合分子包含融合至另一异源多肽或氨基酸序列(例如,表位标签)的与pIgR结合的单链抗体(参见例如,Terpe,2003,Appl.Microbiol.Biotechnol.60:523-33)或IgG分子的Fc区(参见例如,Aruffo,Antibody Fusion Proteins 221-42(Chamow和Ashkenazi编辑,1999))。与pIgR结合的单链抗体也可用于生成pIgR结合嵌合抗原受体(CAR)。

[0566] 本文还提供了包含与本公开的pIgR结合的单链抗体和异源多肽的融合蛋白。在一些实施方案中,与抗体基因融合或化学缀合的异源多肽可用于将抗体靶向具有细胞表面表达的pIgR的细胞。

[0567] 本文还提供了与pIgR抗原结合的抗体面板。在具体实施方案中,抗体面板具有不同的缔合速率、不同的解离速率、对pIgR抗原的不同亲和力和/或对pIgR抗原的不同特异性。在一些实施方案中,该面板包括以下或由以下组成:约10、约25、约50、约75、约100、约125、约150、约175、约200、约250、约300、约350、约400、约450、约500、约550、约600、约650、约700、约750、约800、约850、约900、约950或约1000个抗体或更多。抗体面板可用于例如96孔或384孔板中,用于测定诸如ELISA。

[0568] 5.2.6.单结构域抗体的制备

[0569] 本文提供的单结构域抗体可通过培养用含有编码单结构域抗体的核酸的载体转化或转染的细胞来产生。可以使用标准重组技术获得编码本公开的抗体的多肽组分的多核

苷酸序列。可从抗体产生细胞诸如杂交瘤细胞或B细胞分离和测序期望的多核苷酸序列。另选地，可使用核苷酸合成仪或PCR技术合成多核苷酸。一旦获得，就将编码多肽的序列插入能够在宿主细胞中复制和表达异源多核苷酸的重组载体中。本领域中可用和已知的许多载体可用于本公开的目的。适当载体的选择将主要取决于待插入载体中的核酸的大小和待用载体转化的特定宿主细胞。适于表达本公开的抗体的宿主细胞包括原核生物诸如古细菌和真细菌，包括革兰氏阴性或革兰氏阳性生物体；真核微生物诸如丝状真菌或酵母；无脊椎动物细胞诸如昆虫或植物细胞；以及脊椎动物细胞，诸如哺乳动物宿主细胞系。用上述表达载体转化宿主细胞，并且在常规营养基中培养，该营养基被改良为适于诱导启动子、选择转化体或扩增编码所期望序列的基因。使用本领域已知的标准蛋白质纯化方法纯化由宿主细胞产生的抗体。

[0570] 包括载体构建、表达和纯化的抗体生产方法进一步描述于Plückthun等人，Antibody Engineering:Producing antibodies in Escherichia coli:From PCR to fermentation 203-52(McCafferty等人编辑，1996)；Kwong和Rader，E.coli Expression and Purification of Fab Antibody Fragments，发表于Current Protocols in Protein Science(2009)；Tachibana和Takekoshi，Production of Antibody Fab Fragments in Escherichia coli，发表于Antibody Expression and Production(Al-Rubeai编辑，2011)；以及Therapeutic Monoclonal Antibodies:From Bench to Clinic(An编辑，2009)。

[0571] 当然，设想可采用本领域众所周知的另选方法来制备抗pIgR抗体。例如，可使用固相技术通过直接肽合成来产生适当的氨基酸序列或其部分(参见例如，Stewart等人，Solid-Phase Peptide Synthesis(1969)；和Merrifield，1963，J.Am.Chem.Soc.85:2149-54)。体外蛋白质合成可使用手动技术或通过自动化进行。抗pIgR抗体的各种部分可单独化学合成并且使用化学或酶促方法组合以产生期望的抗pIgR抗体。另选地，抗体可从工程化以表达抗体的转基因动物的细胞或体液诸如乳汁中纯化，如例如美国专利5,545,807和5,827,690中所公开。

[0572] 具体地，单结构域抗体或其他pIgR结合物可通过以下方法生成：使用mpIgR和hpIgR胞外结构域(ECD)免疫美洲驼，进行单个B细胞分选，进行V-基因提取，克隆pIgR结合物，诸如VHH-Fc融合物，然后进行小规模表达和纯化。可进行与pIgR结合的单结构域抗体和其他分子的附加筛选，包括选择ELISA阳性、BLI阳性和K_D小于100nM中的一种或多种。这些选择标准可如图8(由mpIgR抗原生成的VHH)和图9(由hpIgR抗原生成的VHH)所示进行组合。另外，可测定单独的VHH结合物(和与pIgR结合的其他分子)与表达pIgR(例如，hpIgR)的MDCK细胞结合的能力。此类测定可使用FACS分析用表达hpIgR的MDCK细胞进行，并测量荧光标记的VHH分子的平均荧光强度(MFI)。此类实验的结果示于图10中。单层MDCK细胞上hpIgR的染色示于图11中。

[0573] 5.3.包含单结构域抗体的治疗性分子

[0574] 在一个方面，本文提供了包含本文提供的单结构域抗体(例如，VHH结构域)和治疗剂的治疗性分子。

[0575] 在各种实施方案中，本文提供的单结构域抗体可与任何试剂基因融合或化学缀合以递送这些试剂，例如基于蛋白质的实体。单结构域抗体可与试剂化学缀合或以其他方式

与试剂非共价缀合。

[0576] 本文提供的单结构域抗体用于递送可用于治疗受试者的试剂，诸如生物制剂(包括基于蛋白质的治疗剂，诸如肽和抗体)，以及基于核苷酸的治疗剂，诸如病毒基因治疗剂或RNA治疗剂。例如，该试剂可以是糖尿病药物，任选地选自由以下项组成的组：胰岛素、胰高血糖素样肽-1、胰岛素模拟肽和胰高血糖素样肽-1模拟肽。该试剂可以是肽或抗体(或其片段)，任选地选自由以下项组成的组：抗TNF-α抗体或其片段、抗IL23抗体或其片段、与IL23的受体结合的抗体或其片段、IL23受体抑制剂和免疫检查点抗体诸如抗PD-1抗体。该试剂还可以是疫苗，诸如用于预防选自由以下项组成的组的感染的疫苗：弧菌、霍乱、伤寒、轮状病毒、肺结核、HIV、流感、埃博拉病毒和仙台病毒。

[0577] 因此，本文提供了单结构域抗体(例如，VHH结构域)，其与异源蛋白质或多肽(或其片段，例如与约10、约20、约30、约40、约50、约60、约70、约80、约90、约100、约150、约200、约250、约300、约350、约400、约450或约500个氨基酸或超过500个氨基酸的多肽)重组融合或化学缀合(共价或非共价缀合)以生成融合蛋白，及其用途。具体地，本文提供了包含本文提供的单结构域抗体的抗原结合片段(例如，CDR1、CDR2和/或CDR3)和异源蛋白质、多肽或肽的融合蛋白。例如，与由特定细胞类型表达的细胞表面受体结合的抗体可与本文提供的修饰抗体融合或缀合。

[0578] 此外，本文提供的抗体可与标记物或"标签"序列(诸如肽)融合，以促进纯化。在具体实施方案中，标记物或标签氨基酸序列是六聚组氨酸肽，诸如在pQE载体中提供的标签(参见例如，QIAGEN，Inc.)等，其中许多是可商购获得的。例如，如Gentz等人，1989，Proc.Natl.Acad.Sci.USA86:821-24中所述，六聚组氨酸提供了便利的融合蛋白纯化。用于纯化的其他肽标签包括但不限于血凝素("HA")标签，其对应于来源于流感血凝素蛋白的表位(Wilson等人，1984，Cell 37:767-78)和"FLAG"标签。

[0579] 用于将部分(包括多肽)融合或缀合至抗体的方法是已知的(参见例如，Arnon等人，Monoclonal Antibodies for Immunotargeting of Drugs in Cancer Therapy，发表于Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy 243-56(Reisfeld等人编辑，1985)；Hellstrom等人，Antibodies for Drug Delivery，发表于Controlled Drug Delivery 623-53(Robinson等人编辑，第2版1987)；Thorpe，Antibody Carriers of Cytotoxic Agents in Cancer Therapy:A Review，发表于Monoclonal Antibodies:Biological and Clinical Applications 475-506(Pinchera等人编辑，1985)；Analysis，Results，and Future Prospective of the Therapeutic Use of Radiolabeled Antibody in Cancer Therapy，发表于Monoclonal Antibodies for Cancer Detection and Therapy303-16(Baldwin等人编辑，1985)；Thorpe等人，1982，Immunol.Rev.62:119-58；美国专利5,336,603；5,622,929；5,359,046；5,349,053；5,447,851；5,723,125；5,783,181；5,908,626；5,844,095；和5,112,946；EP 307,434；EP 367,166；EP 394,827；PCT公开WO 91/06570、WO 96/04388、WO 96/22024、WO 97/34631和WO 99/04813；Ashkenazi等人，1991，Proc.Natl.Acad.Sci.USA，88:10535-39；Traunecker等人，1988，Nature，331:84-86；Zheng等人，1995，J.Immunol.154:5590-600；和Vil等人，1992，Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89:11337-41)。

[0580] 融合蛋白可例如通过基因改组、基序改组、外显子改组和/或密码子改组(统称为"

DNA改组")的技术来生成。DNA改组可用于改变如本文所提供的单结构域抗体的活性,包括例如具有较高亲和力和较低解离速率的抗体(参见例如,美国专利5,605,793;5,811,238;5,830,721;5,834,252;和5,837,458;Patten等人,1997,Curr.Opinion Biotechnol.8:724-33;Harayama,1998,Trends Biotechnol.16(2):76-82;Hansson等人,1999,J.Mol.Biol.287:265-76;以及Lorenzo和Blasco,1998,Biotechniques 24(2):308-13)。可通过在重组之前通过易错PCR、随机核苷酸插入或其他方法进行随机诱变来改变抗体或编码的抗体。编码本文提供的抗体的多核苷酸可与一种或多种异源分子的一种或多种组分、基序、区段、部分、结构域、片段等重组。

[0581] 在一些实施方案中,本文提供的单结构域抗体(例如,VHH结构域)与第二抗体缀合以形成抗体异缀合物,如例如美国专利4,676,980中所述。

[0582] 如本文所提供的与pIgR结合的抗体也可附接到固体支持物上,这对于靶抗原的免疫测定或纯化特别有用。此类固体支持物包括但不限于玻璃、纤维素、聚丙烯酰胺、尼龙、聚苯乙烯、聚氯乙烯或聚丙烯。

[0583] 其他示例性试剂包括但不限于小分子、多核苷酸、放射性同位素、毒素、酶、抗凝剂、激素、细胞因子、抗炎分子、RNAi、mRNA、自复制RNA、抗生素或抗体-抗生素缀合物。在一个实施方案中,试剂是抗生素。示例性抗生素包括但不限于大环内酯抗生素、氟喹诺酮、四环素、阿莫西林、头孢曲松、青霉素G、利奈唑胺、莫西沙星和阿奇霉素。示例性放射性同位素包括但不限于来自^{18}F、^{99}Tc、^{111}In、^{123}I、^{201}Tl、^{133}Xe、^{11}C、^{13}N、^{15}O、^{18}F、^{62}Cu、^{64}Cu、^{124}I、^{76}Br、^{82}Rb、^{89}Zr和^{68}Ga。

[0584] 在其他实施方案中,本文提供的抗体与例如诊断分子缀合或重组融合。

[0585] 此类诊断和检测可例如通过将抗体偶联到可检测物质上来实现,该可检测物质包括但不限于各种酶,诸如但不限于辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、β-半乳糖苷酶或乙酰胆碱酯酶;辅基,诸如但不限于链霉亲和素/生物素或亲和素/生物素;荧光材料,诸如但不限于伞形酮、荧光素、异硫氰酸荧光素、罗丹明、二氯三嗪基氨基荧光素、丹磺酰氯或藻红蛋白;发光材料,诸如但不限于鲁米诺;生物发光材料,诸如但不限于荧光素酶、虫荧光素或水母发光蛋白;化学发光材料,诸如发出225Acγ、发出Auger、发出β、发出α或发出正电子的放射性同位素。示例性放射性同位素包括3H、11C、13C、15N、18F、19F、55Co、57Co、60Co、61Cu、62Cu、64Cu、67Cu、68Ga、72As、75Br、86Y、89Zr、90Sr、94mTc、99mTc、115In、1231、1241、125I、1311、211At、212Bi、213Bi、223Ra、226Ra、225Ac和227Ac。

[0586] 接头可以是促进缀合剂在细胞中释放的"可切割接头",但本文还设想了不可切割的接头。用于本公开的缀合物的接头包括但不限于设计用于逃避多药物转运蛋白介导的抗性的酸不稳定性接头(例如,腙接头)、含二硫化物接头、肽酶敏感性接头(例如,包含氨基酸例如缬氨酸和/或瓜氨酸诸如瓜氨酸-缬氨酸或苯丙氨酸-赖氨酸的肽接头)、光不稳定性接头、二甲基接头(参见例如,Chari等人,1992,Cancer Res.52:127-31;和美国专利5,208,020)、硫醚接头或亲水性接头(参见例如,Kovtun等人,2010,Cancer Res.70:2528-37)。

[0587] 抗体和试剂的缀合物可使用多种双功能性蛋白质偶联剂诸如BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、磺基-EMCS、磺基-GMBS、磺基-KMUS、磺基-MBS、磺基-SLAB、磺基-SMCC、磺基-SMPB和SVSB(琥珀酰亚胺基-(4-乙烯砜)苯甲酸酯)来制备。本公开还设想抗体和试剂的缀合物可使用如本领域公开的任何合适的方法

制备(参见例如,Bioconjugate Techniques(Hermanson编辑,第2版,2008))。

[0588] 抗体和试剂的常规缀合策略已基于随机缀合化学,涉及Lys残基的ε-氨基基团或Cys残基的硫醇基团,这导致异源缀合物。最近开发的技术允许与抗体的位点特异性缀合,从而导致均匀的加载并避免具有改变的抗原结合或药代动力学的缀合物亚群。这些包括在重链和轻链上的位置处包括半胱氨酸取代的"thiomab"工程,其提供反应性硫醇基团并且不破坏免疫球蛋白折叠和组装或改变抗原结合(参见例如,Junutula等人,2008,J.Immunol.Meth.332:41-52;和Junutula等人,2008,Nature Biotechnol.26:925-32)。在另一种方法中,通过重新编码终止密码子UGA从终止到硒代半胱氨酸插入,将硒代半胱氨酸共翻译插入抗体序列中,从而在存在其他天然氨基酸的情况下,在硒代半胱氨酸的亲核硒醇基团处允许位点特异性共价缀合(参见例如,Hofer等人,2008,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 105:12451-56;和Hofer等人,2009,Biochemistry 48(50):12047-57)。

[0589] 5.3.1.制备基因融合蛋白的方法

[0590] 在各种实施方案中,将单结构域抗体与试剂基因融合。基因融合可通过在单结构域抗体与试剂之间放置接头(例如,多肽)来实现。接头可以是包含选自由以下项组成的组的序列的柔性接头:EPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPK(SEQ ID NO:130)、(EAAAK)n(SEQ ID NO:147)、(GGGGS)n(SEQ ID NO:148)和(GGGS)n(SEQ ID NO:149),其中n是1至20的整数。

[0591] 在各种实施方案中,单结构域抗体与治疗性分子基因缀合,其中铰链区将单结构域抗体连接到治疗性分子。铰链区可以是包含选自由以下项组成的组的序列的柔性接头:EPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPK(SEQ ID NO:130)、(EAAAK)n(SEQ ID NO:147)、(GGGGS)n(SEQ ID NO:148)和(GGGS)n(SEQ ID NO:149),其中n是1至20的整数。在一些实施方案中,铰链区包含序列EPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPK(SEQ ID NO:130),或者包含与EPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPK(SEQ ID NO:130)具有至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,铰链区包含序列EPKSCDKTHTCPPCP(SEQ ID NO:150),或者包含与EPKSCDKTHTCPPCP(SEQ ID NO:150)具有至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,铰链区包含序列ERKCCVECPPCP(SEQ ID NO:151),或者包含与ERKCCVECPPCP(SEQ ID NO:151)具有至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,铰链区包含序列ELKTPLGDTTHTCPRCP(EPKSCDTPPPCPRCP)$_3$(SEQ ID NO:152),或者包含与ELKTPLGDTTHTCPRCP(EPKSCDTPPPCPRCP)$_3$(SEQ ID NO:152)具有至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,铰链区包含序列ESKYGPPCPSCP(SEQ ID NO:153),或者包含与ESKYGPPCPSCP(SEQ ID NO:153)具有至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的氨基酸序列。

[0592] 本文还提供了用于制备本文提供的各种融合蛋白的方法。在具体实施方案中,本文提供的融合蛋白是重组表达的。

[0593] 本文提供的融合蛋白的重组表达可能需要构建含有编码蛋白质或其片段的多核苷酸的表达载体。一旦获得编码本文提供的蛋白质或其片段的多核苷酸，就可使用本领域众所周知的技术通过重组DNA技术来产生用于产生该分子的载体。因此，本文描述了通过表达含有编码核苷酸序列的多核苷酸来制备蛋白质的方法。本领域技术人员众所周知的方法可用于构建含有编码序列和适当转录和翻译控制信号的表达载体。这些方法包括例如体外重组DNA技术、合成技术和体内遗传重组。还提供了可复制载体，其包含编码本文提供的融合蛋白的核苷酸序列或其片段或可操作地连接到启动子的CDR。

[0594] 可通过常规技术将表达载体转移到宿主细胞中，然后通过常规技术培养经转染的细胞以产生本文提供的融合蛋白。因此，本文还提供了含有编码本文提供的融合蛋白的多核苷酸或其片段的宿主细胞，该多核苷酸可操作地连接至异源启动子。

[0595] 可利用多种宿主表达载体系统来表达本文提供的融合蛋白(参见例如，美国专利5,807,715)。此类宿主表达系统代表了可产生并随后纯化目的编码序列的媒介物，而且也代表了在经适当的核苷酸编码序列转化或转染时可原位表达本文提供的融合蛋白的细胞。这些包括但不限于微生物，诸如用含有编码序列的重组噬菌体DNA、质粒DNA或粘粒DNA表达载体转化的细菌(例如，大肠杆菌(E.coli)和枯草芽孢杆菌(B.subtilis))；用含有编码序列的重组酵母表达载体转化的酵母(例如，毕赤酵母(Saccharomyces Pichia))；用含有编码序列的重组病毒表达载体(例如，杆状病毒)感染的昆虫细胞系统；用含有编码序列的重组病毒表达载体(例如，花椰菜花叶病毒、CaMV、烟草花叶病毒、TMV)感染或用重组质粒表达载体(例如，Ti质粒)转化的植物细胞系统；或携带含有来源于哺乳动物细胞基因组的启动子(例如，金属硫蛋白启动子)或来源于哺乳动物病毒的启动子(例如，腺病毒晚期启动子、牛痘病毒7.5K启动子)的重组表达构建体的哺乳动物细胞系统(例如，COS、CHO、BHK、293、NSO和3T3细胞)。细菌细胞，诸如大肠杆菌或真核细胞，尤其是对于整个重组抗体分子的表达，可用于重组融合蛋白的表达。例如，哺乳动物细胞(诸如中国仓鼠卵巢细胞(CHO))与载体(诸如来自人巨细胞病毒的主要中间早期基因启动子元件)结合是用于抗体或其变体的有效表达系统(Foecking等人，1986，Gene 45:101；和Cockett等人，1990，Bio/Technology 8:2)。在一些实施方案中，本文提供的融合蛋白在CHO细胞中产生。在具体实施方案中，编码本文提供的融合蛋白的核苷酸序列的表达由组成型启动子、诱导型启动子或组织特异性启动子调节。

[0596] 在细菌系统中，根据旨在用于表达融合蛋白的用途，可有利地选择许多表达载体。例如，当要产生大量此类融合蛋白时，为了生成融合蛋白的药物组合物，可能期望指导表达易于纯化的高水平融合蛋白产物的载体。此类载体包括但不限于大肠杆菌表达载体pUR278(Ruther等人，1983，EMBO 12:1791)，其中可将编码序列与lac Z编码区同框地单独连接到载体中，使得产生融合蛋白；pIN载体(Inouye&Inouye，1985，Nucleic Acids Res.13:3101-3109；Van Heeke&Schuster，1989，J.Biol.Chem.24:5503-5509)；等。pGEX载体还可用于表达外来多肽作为与谷胱甘肽5-转移酶(GST)的融合蛋白。通常，此类融合蛋白是可溶的并且可通过吸附和结合到基质谷胱甘肽琼脂糖珠，然后在游离谷胱甘肽存在下洗脱而容易地从裂解细胞中纯化。pGEX载体被设计成包括凝血酶或因子Xa蛋白酶切割位点，使得克隆的靶基因产物可从GST部分释放。

[0597] 在昆虫系统中，加州苜蓿夜蛾(Autographa californica)核型多角体病毒

(AcNPV)用作表达外来基因的载体。该病毒在秋粘虫(Spodoptera frugiperda)细胞中生长。可将编码序列单独地克隆到病毒的非必需区(例如多角体蛋白基因)中并且置于AcNPV启动子(例如,多角体蛋白启动子)的控制下。

[0598] 在哺乳动物宿主细胞中,可利用许多基于病毒的表达系统。在将腺病毒用作表达载体的情况下,可将目的编码序列连接到腺病毒转录/翻译控制复合物,例如晚期启动子和三联前导序列。然后,可通过体外或体内重组将该嵌合基因插入腺病毒基因组中。插入病毒基因组的非必需区(例如,E1或E3区)将得到活的并能够在感染的宿主中表达融合蛋白的重组病毒(例如,参见Logan&Shenk,1984,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 8 1:355-359)。对于所插入的编码序列的有效翻译也可能需要特定的起始信号。这些信号包括ATG起始密码子和相邻序列。此外,起始密码子必须与期望的编码序列的阅读框相同,以确保整个插入物的翻译。这些外源翻译控制信号和起始密码子可以是天然和合成两者的多种来源。表达效率可通过包含适当的转录增强子元件、转录终止子等来增强(参见例如,Bittner等人,1987,Methods in Enzymol.153:51-544)。

[0599] 此外,可选择调节所插入的序列的表达或以期望的特定方式修饰和加工基因产物的宿主细胞株。蛋白质产物的此类修饰(例如,糖基化)和加工(例如,切割)对于蛋白质的功能可能是重要的。不同的宿主细胞具有用于蛋白质和基因产物的翻译后加工和修饰的特征性和特异性机制。可选择适当的细胞系或宿主系统以确保对所表达的外来蛋白的正确修饰和加工。为此,可以使用具有用于基因产物的初级转录物的适当加工、糖基化和磷酸化的细胞机制的真核宿主细胞。此类哺乳动物宿主细胞包括但不限于CHO、VERY、BHK、Hela、COS、MDCK、293、3T3、W138、BT483、Hs578T、HTB2、BT20和T47D、NSO(不内源性地产生任何免疫球蛋白链的鼠骨髓瘤细胞系)、CRL7030和HsS78Bst细胞。

[0600] 对于重组蛋白的长期、高产率生产,可利用稳定表达。例如,可对稳定表达融合蛋白的细胞系进行工程化。不使用含有病毒复制起点的表达载体,而是用由适当表达控制元件(例如,启动子、增强子、序列、转录终止子、聚腺苷酸化位点等)控制的DNA和选择性标记物转化宿主细胞。外来DNA引入之后,可允许工程化细胞在富集培养基中生长1-2天,然后转换到选择培养基。重组质粒中的选择性标记物赋予选择抗性,并且允许细胞将质粒稳定整合到其染色体中并长成集落,继而可将其克隆和扩增成细胞系。该方法可有利地用于工程化表达融合蛋白的细胞系。此类工程化细胞系可特别用于筛选和评估与结合分子直接或间接相互作用的组合物。

[0601] 可使用许多选择系统,包括但不限于单纯疱疹病毒胸苷激酶(Wigler等人,1977,Cell 11:223)、次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶(Szybalska&Szybalski,1992,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 48:202)和腺嘌呤磷酸核糖转移酶(Lowy等人,1980,Cell 22:8-17)基因可分别用于tk-、hgprt-或aprt-细胞。此外,抗代谢物抗性可用作以下基因的选择基础:dh厅,其赋予对甲氨蝶呤的抗性(Wigler等人,1980,Natl.Acad.Sci.USA 77:357;O'Hare等人,1981,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 78:1527);gpt,其赋予对霉酚酸的抗性(Mulligan&Berg,1981,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 78:2072);neo,其赋予对氨基糖苷G-418的抗性(Wu和Wu,1991,Biotherapy 3:87-95;Tolstoshev,1993,Ann.Rev.Pharmacol.Toxicol.32:573-596;Mulligan,1993,Science 260:926-932;以及Morgan和Anderson,1993,Ann.Rev.Biochem.62:191-217;1993年5月,TIB TECH 11(5):

155-215);和hygro,其赋予对潮霉素的抗性(Santerre等人,1984,Gene 30:147)。重组DNA技术领域中通常已知的方法可常规地应用于选择期望的重组克隆,并且此类方法描述于例如Ausubel等人(编辑),Current Protocols in Molecular Biologv,John Wiley&Sons,NY(1993);Kriegler,Gene Transfer and Expression,A Laboratory Manual,Stockton Press,NY(1990);以及第12章和第13章,Dracopoli等人(编辑),Current Protocols in Human Genetics,John Wiley&Sons,NY(1994);Colberre-Garapin等人,1981,J.Mol.Biol.150:1,这些文献全文以引用方式并入本文。

[0602] 融合蛋白的表达水平可通过载体扩增来提高(综述参见Bebbington和Hentschel,The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning,第3卷(Academic Press,New York,1987))。当表达融合蛋白的载体系统中的标记物可扩增时,宿主细胞培养物中存在的抑制剂水平的增加将增加标记物基因的拷贝数。由于扩增区与融合蛋白基因缔合,因此融合蛋白的产生也将增加(Crouse等人,1983,Mol.Cell.Biol.3:257)。

[0603] 宿主细胞可用本文提供的多种表达载体共转染。载体可含有相同的选择性标记物,其使得能够相等地表达相应的编码多肽。另选地,可使用编码并能够表达多种多肽的单个载体。编码序列可包括cDNA或基因组DNA。

[0604] 一旦通过重组表达产生了本文提供的融合蛋白,其就可通过本领域已知的用于纯化多肽(例如,免疫球蛋白分子)的任何方法,例如通过色谱法(例如,离子交换、亲和(特别是通过蛋白A后对特定抗原的亲和)、尺寸柱色谱法和κ选择亲和色谱法)、离心、差异溶解度或通过用于纯化蛋白质的任何其他标准技术来纯化。此外,本文提供的融合蛋白分子可与本文所述或本领域以其他方式已知的异源多肽序列融合以促进纯化。

[0605] 5.4.多核苷酸

[0606] 在某些实施方案中,本公开提供了编码与pIgR结合的单结构域抗体的多核苷酸和包含本文所述的与pIgR结合的单结构域抗体的融合蛋白。本公开的多核苷酸可以是RNA形式或DNA形式。DNA包括cDNA、基因组DNA和合成DNA;并且可以是双链或单链的,并且如果是单链,可以是编码链或非编码(反义)链。在一些实施方案中,多核苷酸是cDNA的形式。在一些实施方案中,多核苷酸是合成的多核苷酸。

[0607] 在示例性实施方案中,本文提供的核酸分子包含编码具有以下序列的单结构域抗体的序列:

[0608] QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYGGMDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:93)、EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYATWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:94)、QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:95)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIATTTIATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:96)、QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWNGGTTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:97)、EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTTTYADSVKGRFTISRDNTKN

TVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:98)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVA SRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVN PIITAWGTIGVREIPDYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:99)、QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFST YRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGGSTTYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGT LVTVSS(SEQ ID NO:100)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISWS GSSAGYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO: 101)、EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRTLYADSVKGRFTIS RDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPAGYDYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:102)或 QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASITWNGGSTSYADSVKGRFTITRDN AKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPANYWGQGTQVTVSS(SEQ ID NO:103)。

[0609] 在示例性实施方案中,核酸分子包含以下序列:

[0610] CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGGGGGCTCTCTGAAACTCGCCTGTGC AGCACCTGGACTTACCTTCAGTTCGTATCGCATGGGCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGCAGGAGCGTGAGTTTGTA GCAGCTATTGATTGGAATGGTCGTGGCACATATTATCGATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATCCACCATTT CCAGAGACAACGCCAAGAACACGATGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGACACGGCCGTTTATTACTG TGCAGCAGGTTCGATCGACCTTAACTGGTACGGCGGCATGGACTACTGGGGCNANGGGACCCAGGTCACCGTCTCC TCA(SEQ ID NO:133)、GAGGTGCAGGTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGGGGGCTCTCTGAAA CTCGCCTGTGCAGCACCTGGACTTACCTTCAGTTCGTATCGCATGGGCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGCAGGAGC GTGAGTTTGTAGCAGCTATTGATTGGAATGGTCGTGGCACATATTATCGATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCG ATCCACCATTTCCAGAGACAACGCCAAGAACACGGTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGACACGGCC GTTTATTACTGTGCAGCTACTACGGTATTAACTGACCCTAGGGTTCTTAATGAGTATGCCACATGGGGCCAGGGGA CCCAGGTCACCGTCTCCTCA(SEQ ID NO:134)、CAGTTGCAGCTCGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGC CTGGGGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAAGCATCTTCAGTATCAATGTTATGGGCTGGTACCGCCA GGCTCCAGGGAAGCAGCGCGAGTTGGTCGCACGTATTAATGGAGGTGGCATTACACACTATGCAGAGTCCGTGAAG GGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACACGGTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGACA CAGCCGCATATTACTGTAAGGCAGATGTGTTCGGTAGTAGCGGGTACGTAGAAACCTACTGGGGCCAGGGGACCCA GGTCACCGTCTCCTCA(SEQ ID NO:135)、GAGGTGCAGGTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGGCTGG GGGCTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAACCTCCGTCAGTAGCAATGCCATGGGTTGGTACCGCCAGGCT CCAGGGAAGCAGCGCGAGTGGGTCGGATTTATTGATCGTATTGCTACCACGACGATTGCAACCTCCGTGAAGGGCC GATTCGCCATCACCAGAGACAACGCCAAGAACACGGTGTATCTCCAAATGAGCGGCCTGAAACCTGAGGACACAGC CGTCTATTACTGTAATCATCCATTGACCGCTCGGTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA(SEQ ID NO:136)、CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGGCTGGGGGCTCTCTGAGACTCTCCTGTGC AGCCTCTGGACGCACCTTCAGTAGCTATGCCATGGGCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGAGCGTGAGTTTGTA GCAGCTATTACCTGGAATGGTGGTACCACATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACA ACGCCAAGAACACGGTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGACACGGCCGTTTATTACTGTGCAGCAGA CCCATTCAACCAAGGCTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA(SEQ ID NO:137)、GAGGTGCA GCTCGTGGAGTCTGGAGGAGGCTTGGTGCAGGCTGGGGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAAGCTCC GTCAGTAGCGATGCCATGGGTTGGTACCGCCAGGCTCCAGGGAATCAGCGCGCGTGGGTCGCATTTATTTCTGGTG GTGGTACCACAACCTATGCAGACTCCGTTAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACACCAAGAACACGGTGTA

TCTCCACATGAACAGCCTGAAACCTGAAGACACAGCCGTCTATTACTGTAATCATCCATTGACGTCTCGGTGGGGC
CAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA(SEQ ID NO:138)、GAGGTGCAGGTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTG
GTGCAGGCTGGGGGGTCTCTGAGACTCGCCTGTGTAGCCTCTAGAAGCATCGGCAGTATCAATGTTATGGGCTGGT
ACCGCCAGGCTCCAGGGAAGCAGCGCGACTTGGTCGCACGTATTACTGGAGGTGGCAGTACACACTACGCAGAGTC
CGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACACGGTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGGAACCT
GAGGACACGGCCGTTTATTACTGTGCGTCAATGGTAAACCCTATCATTACGGCTTGGGGTACGATTGGTGTGCGCG
AGATTCCCGACTATGACTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA(SEQ ID NO:139)、GAGGTGC
AGGTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGGCTGGGGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAC
CTTCACCCGCTATGCCATGGGCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGAGCGATCGTTTGTAGCAGCTATTAGCTGG
AGTGGTAGTAGCGCAGGCTATGGAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACACGC
TGTATCTGCAAATGAACAGTCTAAAACCTGAGGACACGGCCGTTTATTACTGTGCAGCAGACCCATTCAACCAAGG
CTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA(SEQ ID NO:140)、GAGGTGCAGGTGGTGGAGTCTGG
GGGAGGATTGGTGCAGGCTGGGGGCTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGACGCACCTTCACTACCTATCGC
ATGGGCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGAGCGAGAGTTTGTAGCAGCTATTCGCTGGAGTGGTGGTCGCACAT
TGTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACACAGCGTATCTGCAAATGAA
CAACCTGAGACCTGAGGACACGGCCGTTTATTACTGTGCAGCAGATCTAGCCGAGTATAGTGGTACTTACTCCAGC
CCTGCGGACTCCCCCGCTGGGTATGACTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA(SEQ ID NO:
141)或CAGGTGCAGCTGGTCGAAACTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGGGGACTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAG
CCTCTGGACGCACCCTCAGCTTCAACACCTATGCCATGGGCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGAGCGTGAATT
TGTAGCCTCTATTACCTGGAATGGTGGAAGCACAAGCTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCACCAGA
GACAACGCCAAGAACACGGCTACTCTGCGAATGAATAGCCTGCAGCCCGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCAG
CAGCCCGATACTATGTGAGTGGTACTTACTTCCCCGCGAATTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA
(SEQ ID NO:142)。

[0611] 本发明还提供了包含本文所述的核酸分子的载体。在一个实施方案中,核酸分子可被掺入到重组表达载体中。本公开提供了包含本公开的任何核酸的重组表达载体。如本文所用,术语"重组表达载体"意味着下述经基因修饰的寡核苷酸或多核苷酸构建体:当该构建体包含编码mRNA、蛋白质、多肽或肽的核苷酸序列,并且载体在足以使所述mRNA、蛋白质、多肽或肽在细胞内表达的条件下与宿主细胞接触时,其允许宿主细胞表达所述mRNA、蛋白质、多肽或肽。本文所述的载体整体上不是天然存在的;然而,这些载体的部分可以是天然存在的。所述重组表达载体可以包含任何类型的核苷酸,包括但不限于DNA和RNA,其可以是单链或双链的、合成的或部分地从天然来源获得的,并且其可以包含天然的、非天然的或改变的核苷酸。所述重组表达载体可以包含天然存在的或非天然存在的核苷酸间键,或这两种类型的键。非天然存在的或改变的核苷酸或核苷酸间键不妨碍载体的转录或复制。

[0612] 在一个实施方案中,本公开的重组表达载体可以是任何合适的重组表达载体,并且可以用于转化或转染任何合适的宿主。合适的载体包括被设计用于增殖和扩增或用于表达或这两者的那些,诸如质粒和病毒。载体可以选自由以下项组成的组:pUC系列(Fermentas Life Sciences,Glen Burnie,Md.)、pBluescript系列(Stratagene,LaJolla,Calif.)、pET系列(Novagen,Madison,Wis.)、pGEX系列(Pharmacia Biotech,Uppsala,Sweden)和pEX系列(Clontech,Palo Alto,Calif.)。可以使用噬菌体载体,诸如λGT10、λ

GT11、λEMBL4和λNM1149、λZapII(Stratagene)。植物表达载体的示例包括pBI01、pBI01.2、pBI121、pBI101.3和pBIN19(Clontech)。动物表达载体的示例包括pEUK-C1、pMAM和pMAMneo(Clontech)。重组表达载体可以是病毒载体,例如逆转录病毒载体,例如γ逆转录病毒载体。

[0613] 在一个实施方案中,使用例如Sambrook等人(出处同上)和Ausubel等人(出处同上)中所述的标准重组DNA技术来制备重组表达载体。可以制备环状或线性的表达载体构建体,以包含在原核或真核宿主细胞中有功能的复制系统。复制系统可来源于例如ColE1、SV40、2μ质粒、λ、牛乳头状瘤病毒等。

[0614] 重组表达载体可以包含调控序列,诸如转录和翻译起始密码子和终止密码子,所述调控序列对于载体将被适当地引入其中的宿主类型(例如,细菌、植物、真菌或动物)具有特异性,并且考虑该载体是基于DNA的还是基于RNA的。

[0615] 重组表达载体可以包含一种或多种标记物基因,其允许选择转化的或转染的宿主。标记基因包括杀生物剂抗性(例如对抗生素、重金属等的抗性)、营养缺陷型宿主中提供原养型的互补作用等等。用于所述表达载体的合适标记物基因包括例如新霉素/G418抗性基因、组氨醇x抗性基因、组氨醇抗性基因、四环素抗性基因和氨苄青霉素抗性基因。

[0616] 重组表达载体可包含与本公开的核苷酸序列可操作地连接的天然或标准启动子。启动子(例如强启动子、弱启动子、组织特异性启动子、诱导型启动子和发育特异性启动子)的选择在普通技术人员的技能范围内。类似地,将核苷酸序列与启动子组合也在技术人员的技能范围内。启动子可以是非病毒启动子或病毒启动子,例如细胞巨化病毒(CMV)启动子、RSV启动子、SV40启动子,或在鼠干细胞病毒的长末端重复序列中发现的启动子。

[0617] 可将重组表达载体设计用于瞬时表达、用于稳定表达或用于两者。而且,可将重组表达载体制备用于组成型表达或用于诱导型表达。

[0618] 另外,可以将重组表达载体制备成包括自杀基因。如本文所用,术语"自杀基因"是指导致表达自杀基因的细胞死亡的基因。自杀基因可以是赋予表达该基因的细胞对试剂例如药物敏感并且在细胞与试剂接触或暴露于试剂时导致细胞死亡的基因。自杀基因是本领域已知的,包括例如单纯疱疹病毒(HSV)胸苷激酶(TK)基因、胞嘧啶脱氨酶、嘌呤核苷磷酸化酶和硝基还原酶。

[0619] 本公开还涉及本文所述的多核苷酸的变体,其中该变体编码例如本公开的与pIgR结合的单结构域抗体的片段、类似物和/或衍生物。在某些实施方案中,本公开提供了一种多核苷酸,其包括具有与编码本公开的与pIgR结合的单结构域抗体的多核苷酸至少约80%相同、至少约85%相同、至少约90%相同、至少约95%相同并且在一些实施方案中至少约96%、97%、98%或99%相同的核苷酸序列的多核苷酸。

[0620] 如本文所用,短语"具有与参考核苷酸序列至少例如95%"相同"的核苷酸序列的多核苷酸"旨在意指该多核苷酸的核苷酸序列与参考序列相同,不同的是该多核苷酸序列可包括参考核苷酸序列的每100个核苷酸至多五个点突变。换句话讲,为了获得具有与参考核苷酸序列至少95%相同的核苷酸序列的多核苷酸,参考序列中至多5%的核苷酸可缺失或被另一核苷酸取代,或者可将参考序列中总核苷酸的至多5%的核苷酸数目可插入参考序列中。参考序列的这些突变可发生在参考核苷酸序列的5′或3′末端位置或那些末端位置之间的任何位置,或者单独散布在参考序列的核苷酸中,或者散布在参考序列内的一个或

多个连续组中。

[0621] 多核苷酸变体可在编码区、非编码区或两者中含有改变。在一些实施方案中，多核苷酸变体含有产生沉默取代、添加或缺失但不改变所编码的多肽的特性或活性的改变。在一些实施方案中，多核苷酸变体包含沉默取代，其不导致多肽的氨基酸序列的改变(由于遗传密码的简并性)。多核苷酸变体可出于各种原因产生，例如，为了优化特定宿主的密码子表达(即，将人mRNA中的密码子改变为细菌宿主诸如大肠杆菌的优选密码子)。在一些实施方案中，多核苷酸变体在序列的非编码区或编码区中包含至少一个沉默突变。

[0622] 在一些实施方案中，产生多核苷酸变体以调节或改变所编码的多肽的表达(或表达水平)。在一些实施方案中，产生多核苷酸变体以增加所编码的多肽的表达。在一些实施方案中，产生多核苷酸变体以降低所编码的多肽的表达。在一些实施方案中，多核苷酸变体与亲本多核苷酸序列相比具有增加的所编码的多肽的表达。在一些实施方案中，多核苷酸变体与亲本多核苷酸序列相比具有降低的所编码的多肽的表达。

[0623] 在某些实施方案中，分离多核苷酸。在某些实施方案中，多核苷酸是基本上纯的。

[0624] 还提供了包含本文所述的核酸分子的宿主细胞。宿主细胞可以是含有异源核酸的任何细胞。异源核酸可以是载体(例如，表达载体)。例如，宿主细胞可以是来自任何生物体的细胞，该生物体以任何方式被选择、修饰、转化、生长、使用或操纵，用于通过细胞产生物质，例如通过细胞表达基因、DNA或RNA序列、蛋白质或酶。可确定适当的宿主。例如，可以基于载体骨架和期望的结果来选择宿主细胞。以举例的方式，可将质粒或粘粒引入原核生物宿主细胞中以复制几种类型的载体。细菌细胞诸如但不限于DH5α、JM109和KCB、SURE®感受态细胞和SOLOPACK Gold细胞，可用作载体复制和/或表达的宿主细胞。另外，细菌细胞诸如大肠杆菌LE392可用作噬菌体病毒的宿主细胞。可用作宿主细胞的真核细胞包括但不限于酵母(例如，YPH499、YPH500和YPH501)、昆虫和哺乳动物。用于复制和/或表达载体的哺乳动物真核宿主细胞的示例包括但不限于HeLa、NIH3T3、Jurkat、293、COS、Saos、PC12、SP2/0(美国典型培养物保藏中心(ATCC)，Manassas，VA，CRL-1581)、NS0(欧洲细胞培养物保藏中心(ECACC)，Salisbury，Wiltshire，UK，ECACC号85110503)、FO(ATCC CRL-1646)和Ag653(ATCC CRL-1580)鼠细胞系。一种示例性人骨髓瘤细胞系是U266(ATCC CRL-TIB-196)。其它可用的细胞系包括来源于中国仓鼠卵巢(CHO)细胞的那些细胞系，诸如CHO-K1SV(Lonza Biologics，Walkersville，MD)、CHO-K1(ATCC CRL-61)或DG44。

[0625] 5.5.药物组合物

[0626] 在一个方面，本公开还提供了包含本公开的单结构域抗体或治疗性分子的药物组合物。在一些实施方案中，药物组合物包含治疗有效量的本文提供的抗体或治疗性分子和药学上可接受的赋形剂。

[0627] 在具体实施方案中，术语"赋形剂"还可指稀释剂、佐剂(例如，弗氏佐剂(完全或不完全)或媒介物。药物赋形剂可以是无菌的液体，诸如水和油，包括那些来源于石油、动物、植物的油或合成的油，诸如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。水是示例性赋形剂。盐水溶液和右旋糖水溶液以及甘油溶液也可用作液体赋形剂。合适的药物赋形剂包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、大米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、脱脂奶粉、甘油、丙烯、二醇、水、乙醇等。如果需要，组合物还可含有少量润湿剂或乳化剂或pH缓冲剂。这些组合物可采用溶液、悬浮液、乳液、片剂、丸剂、胶囊、粉末、缓释制剂等

形式。合适的药物赋形剂的示例描述于Remington's Pharmaceutical Sciences(1990)Mack Publishing Co.,Easton,PA。此类组合物将含有预防性或治疗有效量的本文提供的抗体或治疗性分子,诸如纯化形式,以及合适量的赋形剂以便提供用于适当施用于患者的形式。制剂应与施用方式相适应。

[0628] 本文提供的单结构域抗体或治疗性分子可被配制成用于递送至靶细胞/组织的任何合适的形式,例如作为微胶囊或大乳液(Remington,出处同上;Park等人,2005,Molecules 10:146-61;Malik等人,2007,Curr.Drug.Deliv.4:141-51),作为持续释放制剂(Putney和Burke,1998,Nature Biotechnol.16:153-57),或在脂质体中(Maclean等人,1997,Int.J.Oncol.11:325-32;Kontermann,2006,Curr.Opin.Mol.Ther.8:39-45)。

[0629] 本文提供的单域抗体或治疗性分子还可被包埋在微胶囊中,该微胶囊例如通过凝聚技术或通过界面聚合制备,例如分别为羟甲基纤维素或明胶微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊,包埋在胶体药物递送系统(例如,脂质体、白蛋白微球、微乳液、纳米颗粒和纳米胶囊)中或包埋在大乳液中。此类技术公开于例如Remington,出处同上。

[0630] 各种组合物和递送系统是已知的并且可与本文提供的单结构域抗体或治疗性分子一起使用,包括但不限于包封在脂质体、微粒、微胶囊、能够表达本文提供的单结构域抗体或治疗性分子的重组细胞中、作为逆转录病毒或其他载体的一部分的核酸的构建等。

[0631] 在一些实施方案中,本文提供的抗体或治疗性分子被配制在适于较少侵入性或非侵入性施用的药物组合物中。在一个具体实施方案中,本文提供的抗体或治疗性分子被配制在适于口服施用的药物组合物中。在一个具体实施方案中,本文提供的抗体或治疗性分子被配制在适于经颊施用的药物组合物中。在一个具体实施方案中,本文提供的抗体或治疗性分子被配制在适于吸入施用的药物组合物中。在一个具体实施方案中,本文提供的抗体或治疗性分子被配制在适于经鼻施用的药物组合物中。非限制性的示例性剂型在以下部分中更详细地描述。

[0632] 5.5.1.口服剂型

[0633] 在某些实施方案中,本文提供的抗体或治疗性分子被配制在适于口服施用的药物组合物中。口服施用可呈现为离散剂型,诸如但不限于片剂(例如,咀嚼片)、囊片、胶囊和液体(例如,调味糖浆)。此类剂型含有预定量的活性成分,并且可通过本领域技术人员众所周知的药物方法制备。通常参见,Remington's Pharmaceutical Sciences,第18版,Mack Publishing,Easton PA(1990)。

[0634] 典型的口服剂型通过将活性成分与至少一种赋形剂根据常规药物混配技术混合成紧密混合物来制备的。赋形剂可采取多种形式,这取决于施用所需的制剂的形式。例如,适用于口服液体或气溶胶剂型的赋形剂包括但不限于水、二醇、油、醇、调味剂、防腐剂和着色剂。适用于固体口服剂型(例如,粉末、片剂、胶囊和囊片)的赋形剂的示例包括但不限于淀粉、糖、微晶纤维素、稀释剂、成粒剂、润滑剂、粘结剂和崩解剂。

[0635] 由于其在施用方面的方便性,片剂和胶囊剂代表了有利的口服剂量单位形式,在这种情况下采用固体赋形剂。如果需要,片剂可通过标准的水性或非水性技术进行包衣。此类剂型可通过任何药学方法制备。通常,药物组合物和剂型通过将活性成分与液体载体、细碎的固体载体或两者均匀且紧密地掺合,然后如果需要将产物成形为所需的外观来制备。

[0636] 例如,片剂可通过压缩或模制来制备。压缩片剂可通过在合适的机器中压缩自由

流动形式的活性成分诸如粉末或颗粒，任选地与赋形剂混合来制备。模制片剂可通过在合适的机器中模制用惰性液体稀释剂润湿的粉状化合物的混合物来制备。

[0637] 可用于本文提供的口服剂型的赋形剂的示例包括但不限于粘结剂、填充剂、崩解剂和润滑剂。适用于药物组合物和剂型的粘结剂包括但不限于玉米淀粉、马铃薯淀粉或其他淀粉、明胶、天然和合成树胶诸如阿拉伯胶、藻酸钠、藻酸、其他藻酸盐、粉状黄蓍胶、瓜尔胶、纤维素及其衍生物(例如，乙基纤维素、醋酸纤维素、羧甲基纤维素钙、羧甲基纤维素钠)、聚乙烯吡咯烷酮、甲基纤维素、预胶凝化淀粉、羟丙基甲基纤维素(例如，专利号2208、2906、2910)、微晶纤维素以及它们的混合物。

[0638] 微晶纤维素的合适形式包括但不限于以AVICEL-PH-101、AVICEL-PH-103、AVICEL RC-581、AVICEL-PH-105(购自FMC Corporation，American Viscose Division，Avicel Sales，Marcus Hook，PA)出售的材料，以及它们的混合物。一种具体的粘结剂是以AVICEL RC-581出售的微晶纤维素和羧甲基纤维素钠的混合物。合适的无水或低水分赋形剂或添加剂包括AVICEL-PH-103™和Starch 1500LM。

[0639] 适用于本文公开的药物组合物和剂型的填充剂的示例包括但不限于滑石、碳酸钙(例如，颗粒或粉末)、微晶纤维素、粉状纤维素、葡萄糖结合剂、高岭土、甘露醇、硅酸、山梨糖醇、淀粉、预胶凝化淀粉以及它们的混合物。本文提供的药物组合物中的粘结剂或填料通常以药物组合物或剂型的约50重量％至约99重量％存在。

[0640] 崩解剂用于组合物中以提供在暴露于水性环境时崩解的片剂。包含过多崩解剂的片剂可能在存放期间崩解，而包含过少崩解剂的那些可能不以所需速率或在所需条件下崩解。因此，应使用不会不利地改变活性成分的释放的既不太多也不太少的足量崩解剂来形成固体口服剂型。所用的崩解剂的量根据制剂的类型而变化，并且对于本领域的普通技术人员是容易识别的。典型的药物组合物包含约0.5重量％至约15重量％的崩解剂，优选地约1重量％至约5重量％的崩解剂。

[0641] 可用于药物组合物和剂型的崩解剂包括但不限于琼脂(agar-agar)、藻酸、碳酸钙、微晶纤维素、交联羧甲基纤维素钠、聚乙烯聚吡咯烷酮、波拉克林钾、羧甲淀粉钠、马铃薯或木薯淀粉、其他淀粉、预胶凝化淀粉、其他淀粉、粘土、其他褐藻胶、其他纤维素、树胶以及它们的混合物。

[0642] 可用于药物组合物和剂型的润滑剂包括但不限于硬脂酸钙、硬脂酸镁、矿物油、轻质矿物油、甘油、山梨糖醇、甘露醇、聚乙二醇、其他二醇、硬脂酸、月桂基硫酸钠、滑石粉、氢化植物油(例如花生油、棉籽油、向日葵油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油)、硬脂酸锌、油酸乙酯、月桂酸乙酯、琼脂以及它们的混合物。附加的润滑剂包括例如微细硅胶(AEROSIL200，由Baltimore，MD的W.R.Grace Co.制造)、合成二氧化硅的凝聚型气溶胶(由Plano，TX的Degussa Co.销售)、CAB-O-SIL(由Boston，MA的Cabot Co.出售的火成二氧化硅产物)以及它们的混合物。如果使用，润滑剂通常以小于其所掺入的药物组合物或剂型的约1重量％的量使用。

[0643] 5.5.2.局部和粘膜剂型

[0644] 本文提供的局部和粘膜剂型包括但不限于喷雾剂、气溶胶、溶液、乳液、悬浮液、滴眼剂或其他眼科制剂，或本领域技术人员已知的其他形式。参见例如，Remington's Pharmaceutical Sciences，第16版和第18版，Mack Publishing，Easton PA(1980&1990)；

以及Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms,第4版,Lea&Febiger,Philadelphia(1985)。在一些实施方案中,本文提供的粘膜剂型适于施用至受试者的口腔粘膜表面(颊)或鼻粘膜表面。

[0645] 可用于提供局部和粘膜剂型的合适的赋形剂(例如,载体和稀释剂)和其他材料是药学领域技术人员众所周知的,并且取决于给定的药物组合物或剂型将被施用的特定组织。考虑到这个事实,典型的赋形剂包括但不限于水、丙酮、乙醇、乙二醇、丙二醇、1,3-丁二醇、肉豆蔻酸异丙酯、棕榈酸异丙酯、矿物油以及它们的混合物,以形成无毒且药学上可接受的溶液、乳液或凝胶。如果需要,还可将保湿剂或湿润剂添加到药物组合物和剂型中。此类附加成分的示例是本领域众所周知的。参见例如,Remington's Pharmaceutical Sciences,第16版和第18版,Mack Publishing,Easton PA(1980&1990)。

[0646] 还可调节药物组合物或剂型的pH以改善一种或多种活性成分的递送。类似地,可调节溶剂载体的极性、其离子强度或张力以改善递送。也可将化合物诸如硬脂酸盐添加到药物组合物或剂型中,以有利地改变一种或多种活性成分的亲水性或亲脂性,以便改善递送。在这方面,硬脂酸盐可用作制剂的脂质媒介物,作为乳化剂或表面活性剂,以及作为递送增强剂或渗透增强剂。活性成分的不同盐、水合物或溶剂化物可用于进一步调节所得组合物的特性。

[0647] 5.5.3.延迟释放剂型

[0648] 在另一个实施方案中,药物组合物可作为受控释放或持续释放系统提供。在一个实施方案中,可使用泵来实现受控或持续释放(参见例如,Langer,出处同上;Sefton,1987,Crit.Ref.Biomed.Eng.14:201-40;Buchwald等人,1980,Surgery 88:507-16;和Saudek等人,1989,N.Engl.J.Med.321:569-74)。在另一个实施方案中,聚合材料可用于实现预防剂或治疗剂(例如,如本文所述的融合蛋白)或本文提供的组合物的受控或持续释放(参见例如,Medical Applications of Controlled Release(Langer和Wise编辑,1974);Controlled Drug Bioavailability,Drug Product Design and Performance(Smolen和Ball编辑,1984);Ranger和Peppas,1983,J.Macromol.Sci.Rev.Macromol.Chem.23:61-126;Levy等人,1985,Science 228:190-92;During等人,1989,Ann.Neurol.25:351-56;Howard等人,1989,J.Neurosurg.71:105-12;美国专利5,679,377;5,916,597;5,912,015;5,989,463;和5,128,326;PCT公开WO 99/15154和WO 99/20253)。用于持续释放制剂的聚合物的示例包括但不限于聚(甲基丙烯酸2-羟乙酯)、聚(甲基丙烯酸甲酯)、聚(丙烯酸)、聚(乙烯-共-乙酸乙烯酯)、聚(甲基丙烯酸)、聚乙交酯(PLG)、聚酸酐、聚(N-乙烯基吡咯烷酮)、聚(乙烯醇)、聚丙烯酰胺、聚(乙二醇)、聚丙交酯(PLA)、聚(丙交酯-共-乙交酯)(PLGA)和聚原酸酯。在一个实施方案中,用于持续释放制剂中的聚合物为惰性的,不含可浸出的杂质,储存稳定,无菌,并且可生物降解。

[0649] 在另一个实施方案中,可将受控或持续释放系统置于特定靶组织(例如,鼻通道或肺)附近,因此仅需要全身剂量的一部分(参见例如,Goodson,Medical Applications of Controlled Release,第2卷,115-38(1984))。受控释放系统例如通过Langer,1990,Science 249:1527-33论述。本领域技术人员已知的任何技术可用于产生包含一种或多种如本文所述的试剂的持续释放制剂(参见例如,美国专利4,526,938,PCT公开WO 91/05548和WO 96/20698,Ning等人,1996,Radiotherapy&Oncology 39:179-89;Song等人,1995,PDA

J.of Pharma.Sci.&Tech.50:372-97;Cleek等人,1997,Pro.Int'l.Symp.Control.Rel.Bioact.Mater.24:853-54;和Lam等人,1997,Proc.Int'l.Symp.Control Rel.Bioact.Mater.24:759-60)。

[0650] 5.6.方法和用途

[0651] 如本公开所证明的,本文提供的单结构域抗体(例如,VHH结构域)可用于将试剂从表达pIgR的细胞的顶端表面转运至该表达pIgR的细胞的基底外侧表面,并且可经由方法诸如口服递送、经颊递送、经鼻递送或吸入递送将试剂递送至例如受试者的体循环或固有层或胃肠道。在具体实施方案中,单结构域抗体是VHH1或具有与VHH1相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中,单结构域抗体是VHH2或具有与VHH2相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中,单结构域抗体是VHH3或具有与VHH3相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中,单结构域抗体是VHH4或具有与VHH4相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中,单结构域抗体是VHH5或具有与VHH5相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中,单结构域抗体是VHH6或具有与VHH6相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中,单结构域抗体是VHH7或具有与VHH7相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中,单结构域抗体是VHH9或具有与VHH9相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中,单结构域抗体是VHH10或具有与VHH10相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中,单结构域抗体是VHH11或具有与VHH11相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中,单结构域抗体是VHH12或具有与VHH12相同的CDR的VHH。

[0652] 因此,在一些实施方案中,本文提供了一种用于从表达pIgR的细胞的顶端表面递送至该表达pIgR的细胞的基底外侧表面的方法,该方法包括使表达pIgR的细胞与(i)与本文提供的pIgR结合的单结构域抗体或(ii)包含试剂和该单结构域抗体的治疗性分子接触。在具体实施方案中,单结构域抗体是VHH1或具有与VHH1相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中,单结构域抗体是VHH2或具有与VHH2相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中,单结构域抗体是VHH3或具有与VHH3相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中,单结构域抗体是VHH4或具有与VHH4相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中,单结构域抗体是VHH5或具有与VHH5相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中,单结构域抗体是VHH6或具有与VHH6相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中,单结构域抗体是VHH7或具有与VHH7相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中,单结构域抗体是VHH9或具有与VHH9相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中,单结构域抗体是VHH10或具有与VHH10相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中,单结构域抗体是VHH11或具有与VHH11相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中,单结构域抗体是VHH12或具有与VHH12相同的CDR的VHH。

[0653] 在一些实施方案中,本文提供了一种与本文提供的pIgR结合的单结构域抗体,其用于将试剂从表达pIgR的细胞的顶端表面递送至该表达pIgR的细胞的基底外侧表面,其中该试剂与该单结构域抗体缀合。在具体实施方案中,单结构域抗体是VHH1或具有与VHH1相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中,单结构域抗体是VHH2或具有与VHH2相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中,单结构域抗体是VHH3或具有与VHH3相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中,单结构域抗体是VHH4或具有与VHH4相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中,单结构域抗体是VHH5或具有与VHH5相同的CDR的VHH。在又另一个具体实

施方案中，单结构域抗体是VHH6或具有与VHH6相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH7或具有与VHH7相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH9或具有与VHH9相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH10或具有与VHH10相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH11或具有与VHH11相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH12或具有与VHH12相同的CDR的VHH。

[0654] 在一些实施方案中，本文提供了与本文提供的pIgR结合的单结构域抗体用于将试剂从表达pIgR的细胞的顶端表面递送至该表达pIgR的细胞的基底外侧表面的用途，其中该试剂与该单结构域抗体缀合。在具体实施方案中，单结构域抗体是VHH1或具有与VHH1相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH2或具有与VHH2相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH3或具有与VHH3相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH4或具有与VHH4相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH5或具有与VHH5相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH6或具有与VHH6相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH7或具有与VHH7相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH9或具有与VHH9相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH10或具有与VHH10相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH11或具有与VHH11相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH12或具有与VHH12相同的CDR的VHH。

[0655] 在其他实施方案中，本文提供了一种用于将治疗性分子转运至受试者的表达pIgR的细胞的基底外侧表面的方法，该方法包括向受试者施用包含试剂和VHH结构域的治疗性分子。在一些实施方案中，治疗性分子经由口服递送、经颊递送、经鼻递送或吸入递送而施用至受试者。在具体实施方案中，单结构域抗体是VHH1或具有与VHH1相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH2或具有与VHH2相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH3或具有与VHH3相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH4或具有与VHH4相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH5或具有与VHH5相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH6或具有与VHH6相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH7或具有与VHH7相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH9或具有与VHH9相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH10或具有与VHH10相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH11或具有与VHH11相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH12或具有与VHH12相同的CDR的VHH。

[0656] 在其他实施方案中，本文提供了一种单结构域抗体，其用于将治疗性分子转运至受试者的表达pIgR的细胞的基底外侧表面，其中该治疗性分子包含试剂和该单结构域抗体。在一些实施方案中，治疗性分子经由口服递送、经颊递送、经鼻递送或吸入递送而施用至受试者。在具体实施方案中，单结构域抗体是VHH1或具有与VHH1相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH2或具有与VHH2相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH3或具有与VHH3相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案

中，单结构域抗体是VHH4或具有与VHH4相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH5或具有与VHH5相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH6或具有与VHH6相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH7或具有与VHH7相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH9或具有与VHH9相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH10或具有与VHH10相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH11或具有与VHH11相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH12或具有与VHH12相同的CDR的VHH。

[0657] 在其他实施方案中，本文提供了单结构域抗体用于将治疗性分子转运至受试者的表达pIgR的细胞的基底外侧表面的用途，其中该治疗性分子包含试剂和该单结构域抗体。在一些实施方案中，治疗性分子经由口服递送、经颊递送、经鼻递送或吸入递送而施用至受试者。在具体实施方案中，单结构域抗体是VHH1或具有与VHH1相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH2或具有与VHH2相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH3或具有与VHH3相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH4或具有与VHH4相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH5或具有与VHH5相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH6或具有与VHH6相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH7或具有与VHH7相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH9或具有与VHH9相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH10或具有与VHH10相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH11或具有与VHH11相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH12或具有与VHH12相同的CDR的VHH。

[0658] 在其他实施方案中，本文提供了一种用于将治疗性分子转运至受试者的体循环的方法，该方法包括向受试者施用包含试剂和单结构域抗体的治疗性分子，其中该治疗性分子经由口服递送、经颊递送、经鼻递送或吸入递送而施用至受试者。在具体实施方案中，单结构域抗体是VHH1或具有与VHH1相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH2或具有与VHH2相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH3或具有与VHH3相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH4或具有与VHH4相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH5或具有与VHH5相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH6或具有与VHH6相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH7或具有与VHH7相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH9或具有与VHH9相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH10或具有与VHH10相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH11或具有与VHH11相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH12或具有与VHH12相同的CDR的VHH。

[0659] 在其他实施方案中，本文提供了一种单结构域抗体，其用于将治疗性分子转运至受试者的体循环，其中该治疗性分子包含该单结构域抗体和试剂，并且其中该治疗性分子经由口服递送、经颊递送、经鼻递送或吸入递送而施用至受试者。在具体实施方案中，单结构域抗体是VHH1或具有与VHH1相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中，单结构域抗体

是VHH2或具有与VHH2相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH3或具有与VHH3相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH4或具有与VHH4相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH5或具有与VHH5相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH6或具有与VHH6相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH7或具有与VHH7相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH9或具有与VHH9相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH10或具有与VHH10相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH11或具有与VHH11相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH12或具有与VHH12相同的CDR的VHH。

[0660] 在其他实施方案中，本文提供了VHH用于将治疗性分子转运至受试者的体循环的用途，其中该治疗性分子包含该单结构域抗体和试剂，并且其中该治疗性分子经由口服递送、经颊递送、经鼻递送或吸入递送而施用至受试者。

[0661] 在其他实施方案中，本文提供了一种用于将治疗性分子转运至受试者的固有层或胃肠道的方法，该方法包括向受试者施用包含试剂和单结构域抗体的治疗性分子，其中该治疗性分子经由口服递送、经颊递送、经鼻递送或吸入递送而施用至受试者。在具体实施方案中，单结构域抗体是VHH1或具有与VHH1相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH2或具有与VHH2相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH3或具有与VHH3相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH4或具有与VHH4相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH5或具有与VHH5相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH6或具有与VHH6相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH7或具有与VHH7相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH9或具有与VHH9相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH10或具有与VHH10相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH11或具有与VHH11相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH12或具有与VHH12相同的CDR的VHH。

[0662] 在其他实施方案中，本文提供了一种单结构域抗体，其用于将治疗性分子转运至受试者的固有层或胃肠道，其中该治疗性分子包含试剂和该单结构域抗体，并且其中该治疗性分子经由口服递送、经颊递送、经鼻递送或吸入递送而施用至受试者。在具体实施方案中，单结构域抗体是VHH1或具有与VHH1相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH2或具有与VHH2相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH3或具有与VHH3相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH4或具有与VHH4相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH5或具有与VHH5相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH6或具有与VHH6相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH7或具有与VHH7相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH9或具有与VHH9相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH10或具有与VHH10相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH11或具有与VHH11相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH12或具有与VHH12相同的CDR的VHH。

[0663] 在其他实施方案中，本文提供了单结构域抗体用于将治疗性分子转运至受试者的

固有层或胃肠道的用途，其中该治疗性分子包含试剂和该单结构域抗体，并且其中该治疗性分子经由口服递送、经颊递送、经鼻递送或吸入递送而施用至受试者。在具体实施方案中，单结构域抗体是VHH1或具有与VHH1相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH2或具有与VHH2相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH3或具有与VHH3相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH4或具有与VHH4相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH5或具有与VHH5相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH6或具有与VHH6相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH7或具有与VHH7相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH9或具有与VHH9相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH10或具有与VHH10相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH11或具有与VHH11相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH12或具有与VHH12相同的CDR的VHH。

[0664] 在本文提供的各种方法和用途的一些实施方案中，治疗剂从受试者中表达pIgR的细胞的顶端表面转运至表达pIgR的细胞的基底外侧表面。

[0665] 在一些实施方案中，单结构域抗体或包含试剂和该单结构域抗体的治疗性分子也能够从表达pIgR的细胞的基底外侧表面被转运至表达pIgR的细胞的顶端表面。

[0666] 在其他实施方案中，本文提供了一种治疗疾病或障碍的方法，该方法包括向受试者施用包含试剂和本文提供的单结构域抗体的治疗性分子，其中任选地该治疗性分子经由口服递送、经颊递送、经鼻递送或吸入递送而施用至受试者。在具体实施方案中，单结构域抗体是VHH1或具有与VHH1相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH2或具有与VHH2相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH3或具有与VHH3相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH4或具有与VHH4相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH5或具有与VHH5相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH6或具有与VHH6相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH7或具有与VHH7相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH9或具有与VHH9相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH10或具有与VHH10相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH11或具有与VHH11相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH12或具有与VHH12相同的CDR的VHH。

[0667] 在其他实施方案中，本文提供了一种包含试剂和本文提供的单结构域抗体的治疗性分子，其用于治疗受试者的疾病或障碍，其中任选地该治疗性分子经由口服递送、经颊递送、经鼻递送或吸入递送而施用至受试者。在具体实施方案中，单结构域抗体是VHH1或具有与VHH1相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH2或具有与VHH2相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH3或具有与VHH3相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH4或具有与VHH4相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH5或具有与VHH5相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH6或具有与VHH6相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH7或具有与VHH7相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH9或具有与VHH9相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单

结构域抗体是VHH10或具有与VHH10相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH11或具有与VHH11相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH12或具有与VHH12相同的CDR的VHH。

[0668] 在其他实施方案中，本文提供了包含试剂和本文提供的单结构域抗体的治疗性分子用于治疗受试者的疾病或障碍的用途，其中任选地该治疗性分子经由口服递送、经颊递送、经鼻递送或吸入递送而施用至受试者。在具体实施方案中，单结构域抗体是VHH1或具有与VHH1相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH2或具有与VHH2相同的CDR的VHH。在另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH3或具有与VHH3相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH4或具有与VHH4相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH5或具有与VHH5相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH6或具有与VHH6相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH7或具有与VHH7相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH9或具有与VHH9相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH10或具有与VHH10相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH11或具有与VHH11相同的CDR的VHH。在又另一个具体实施方案中，单结构域抗体是VHH12或具有与VHH12相同的CDR的VHH。

[0669] 在一些实施方案中，疾病或障碍是代谢疾病或障碍。在一些实施方案中，疾病或障碍是糖尿病。在一些实施方案中，疾病或障碍是癌症。在其他实施方案中，疾病或障碍是免疫疾病或障碍。在一些实施方案中，疾病或障碍是胃肠疾病。在一些实施方案中，疾病或障碍是胃肠炎症。在一些实施方案中，疾病或障碍是炎性肠病(IBD)。在一些实施方案中，疾病或障碍是克罗恩氏病(CD)。在一些实施方案中，疾病或障碍是溃疡性结肠炎(UC)。在一些实施方案中，疾病或障碍是强直性脊柱炎(AS)。在一些实施方案中，疾病或障碍是结肠炎。

[0670] 例如，本公开的单结构域抗体可与任何可用于治疗或改善肠道炎症、IBD、UC或AS症状的试剂缀合，该试剂包括促炎性细胞因子的抑制剂、Th17细胞活化和/或分化的抑制剂、抑制淋巴细胞运输或粘附的分子、先天性免疫系统的调节剂、巨噬细胞、树突细胞、调节性T细胞(Treg)或效应$CD8^+$或$CD4^+$T细胞的调节剂。此类示例性试剂包括TNF-α、IL-12、IL-6、IL-13、IL-17A、IL17A/F、IL-18、IL-21的抑制剂，TLR3或TLR4途径的调节剂，TNF-α抑制剂英夫利昔单抗、阿达木单抗、赛妥珠单抗(certolizumab)、戈利木单抗、依那西普(etanercept)以及它们的生物类似物，IL-23抑制剂优特克单抗(ustekinumab)、利散珠单抗(risankizumab)、布拉兹库单抗(brazikumab)和米立珠单抗(mirikizumab)，IL-23受体抑制剂，IL-17抑制剂苏金单抗(secukinumab)，IL-6抑制剂托珠单抗(tocilizumab)和PF-04236921，PDE4抑制剂阿普斯特(apermilast)，JAK抑制剂托西非尼(tocifinib)、芬戈替尼(filgotinib)、乌帕替尼(upadacitinib)或培非替尼(peficiting)，细胞粘附抑制剂诸如那他珠单抗(natalizumab)、维多珠单抗(vedolizumab)、艾托珠单抗(etrolizumab)、阿布里单抗(abrilumab)、PF-00547659、整联蛋白拮抗剂或鞘氨醇1磷酸受体调节剂，或增强IL-10产生的试剂。在一些实施方案中，试剂是IL-23受体的抑制剂。本文中靶向肠道炎症中的致病途径的试剂可以是已知分子、已知分子的变体或片段，或从头生成并使用已知方法和本文所述的那些方法与本公开的单结构域抗体基因融合或化学缀合。

[0671] 在一些实施方案中，本文提供的方法或用途是用于递送疫苗以预防感染，诸如弧

菌、霍乱、伤寒、轮状病毒、肺结核、HIV、流感、埃博拉病毒和仙台病毒。

[0672] 在本文提供的各种方法和用途的一些实施方案中，治疗性分子中的试剂包括肽。在本文提供的各种方法和用途的一些实施方案中，治疗性分子中的试剂包括抗体或其片段。在本文提供的各种方法和用途的一些实施方案中，治疗性分子中的试剂包括与小分子化合物(例如，抗体药物缀合物)缀合的肽。在本文提供的各种方法和用途的一些实施方案中，治疗性分子中的试剂包括核酸。在本文提供的各种方法和用途的一些实施方案中，治疗性分子中的试剂包括疫苗。

[0673] 可通过标准临床技术来确定将有效预防和/或治疗疾病或病症的预防剂或治疗剂(例如，抗体或治疗性分子)或本文提供的组合物的量。此外，可任选地采用体外测定来帮助确定最佳剂量范围。在制剂中待采用的精确剂量也将取决于施用途径以及疾病或病症的严重性，并且应该根据医生的判断和每个患者的情况来决定。

[0674] 有效剂量可通过来源于体外或动物模型测试系统的剂量响应曲线来推导。在某些实施方案中，向患者施用本文提供的抗体或治疗性分子的剂量的途径是口服递送、经颊递送、经鼻递送、吸入递送或它们的组合，但其他途径也可以是可接受的。每个剂量可以或可以不通过相同的施用途径施用。在一些实施方案中，本文提供的抗体或治疗性分子可经由多种施用途径与本文提供的其他剂量的相同或不同试剂同时或相继施用。

[0675] 为了简洁起见，本文使用某些缩写。一个示例是表示氨基酸残基的单字母缩写。氨基酸及其对应的三字母和单字母缩写如下：

[0676]	丙氨酸	Ala	(A)
[0677]	精氨酸	Arg	(R)
[0678]	天冬酰胺	Asn	(N)
[0679]	天冬氨酸	Asp	(D)
[0680]	半胱氨酸	Cys	(C)
[0681]	谷氨酸	Glu	(E)
[0682]	谷氨酰胺	Gln	(Q)
[0683]	甘氨酸	Gly	(G)
[0684]	组氨酸	His	(H)
[0685]	异亮氨酸	Ile	(I)
[0686]	亮氨酸	Leu	(L)
[0687]	赖氨酸	Lys	(K)
[0688]	甲硫氨酸	Met	(M)
[0689]	苯丙氨酸	Phe	(F)
[0690]	脯氨酸	Pro	(P)
[0691]	丝氨酸	Ser	(S)
[0692]	苏氨酸	Thr	(T)
[0693]	色氨酸	Trp	(W)
[0694]	酪氨酸	Tyr	(Y)
[0695]	缬氨酸	Val	(V)

[0696] 本文使用肯定语言来描述多个实施方案而总体上公开本公开。本公开还具体地包

括其中完全或部分排除特定主题诸如物质或材料、方法步骤和条件、方案、程序、测定或分析的实施方案。因此，即使本公开通常不是按照本公开不包括的内容来表达的，但本文仍然公开了未明确包括在本公开中的方面。

[0697] 已描述了本公开的多个实施方案。然而，应当理解，在不脱离本公开的精神和范围的情况下，可进行各种修改。因此，以下实施例旨在说明而非限制权利要求书中描述的公开内容的范围。

[0698] 6.实施例

[0699] 以下是对在研究中使用的各种方法和材料的描述，并且被提出以便为本领域普通技术人员提供如何制造和使用本公开的完整公开和描述，并且不旨在限制发明人认为其公开的范围，也不旨在表示执行以下实验并且是可以执行的所有实验。应当理解，不一定要执行以现在时态书写的示例性描述，而是可以执行这些描述以生成与本公开的教导相关联的数据等。已努力确保关于所使用的数字(例如量、百分比等)的准确性，但应考虑一些实验误差和偏差。

[0700] 6.1.实施例1:pIgR结合物的免疫、回收和筛选

[0701] 为了生成与pIgR结合的单结构域抗体面板，用重组人pIgR(hpIgR)和/或小鼠pIgR(mpIgR)免疫美洲驼约90天。从美洲驼分离全血和PBMC，并制备RNA。在第一链eDNA合成后，与(i)VH(重链可变区)、(ii)VHH前导序列基因和(iiiCH2基因退火的美洲驼特异性引物用于PCR扩增VH和VHH基因库。

[0702] 通过在凝胶上运行PCR片段并切除较小的带，将VHH库与VH库分离。再扩增VHH基因库并克隆到基于CMV的哺乳动物载体中。VHH-基因被格式化为Ig-融合。将文库转化到大肠杆菌中。以96孔形式挑取单个菌落，用于Sanger测序。从大约300个独特序列中，选择选定数量的VHH序列用于小量制备DNA，然后按比例放大用于未来的重组表达和筛选。从mo_pIgR_llama_Sort1活动选择39个克隆并从hu_pIgR_llama_Sort1活动选择35个克隆用于小量制备DNA。克隆选择基于序列唯一性(在CDR3上重加权)以及指示VHH或仅重链衍生序列的框架2特征。

[0703] 将对VHH和抗原结合呈阳性的B细胞分离并回收、克隆，并且使用已建立的方案对VHH可变结构域进行测序。在VHH-区测序后，表达73种VHH分子面板并纯化为与人IgG1单-Fc蛋白的融合物。人IgG1单Fc蛋白的序列如下：

[0704] SPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTKPPSREEMTKNQVSLSCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTVPVLDSDGSFRLASYLTVDKSRWQQGNVF
SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 146)

[0705] 通过酶联免疫吸附测定(ELISA)筛选该VHH面板与hpIgR和mpIgR胞外域的结合，结果产生40个阳性命中。

[0706] 生物层干涉测量法如下进行。ForteBioOctet RED384系统(Pall Corporation)用于测量VHH-单Fc分子与pIgR蛋白之间以及IgA与pIgR蛋白之间(在不存在和存在VHH-单Fc分子的情况下)的结合动力学。用Octet数据采集版本7.1.0.87(ForteBio)收集数据，并使用Octet数据分析版本7.1(ForteBio)进行分析。为了测定VHH-单Fc分子和HIS-标记的pIgR

蛋白之间的结合动力学，根据制造商的说明将VHH-单-Fc固定在胺反应生成-2(ARG2)生物传感器上，并将递增浓度的pIgR蛋白暴露于传感器固定的VHH。在一些情况下，将HIS标记的pIgR蛋白固定在抗HIS生物传感器上并暴露于递增浓度的VHH-单Fc分子。通过波长(nm)的偏移来测量缔合和解离速率。对于每种传感器固定的蛋白，使用至少三种不同的配体浓度，并且通过将数据拟合到1:1结合模型来获得K_D(平衡解离常数)。所有反应在25℃处在PBS中进行。结果示于图30A至图30B中。

[0707] 为了测量IgA与pIgR蛋白之间的结合动力学，根据制造商的说明将IgA固定在ARG2生物传感器上，并且将固定的IgA暴露于递增浓度的pIgR ECD。为了测试VHH对pIgR-IgA结合的作用，测量在VHH存在下pIgR ECD与IgA结合的K_D值。将固定在ARG2生物传感器上的IgA暴露于递增浓度的pIgR-VHH复合物，并且通过波长(nm)的偏移测量缔合和解离速率。对于每种传感器固定的IgA，使用至少三种不同的pIgR或pIgR-VHH浓度，并且通过将数据拟合到2:1结合模型来获得K_D(平衡解离常数)。所有反应在25℃处在PBS中进行。

[0708] 生物层干涉测量法显示，来自该面板的14种结合物与小鼠或人pIgR胞外域结合的K_D值＜100nM(5种抗mpIgR，6种抗hpIgR和3种交叉反应性)。

[0709] CHO细胞中VHH的表达和纯化如下进行。使用In-Fusion®HD克隆试剂盒将VHH的DNA构建体亚克隆到哺乳动物表达载体中。用合适的表达载体转染ExpiCHO™细胞。在6-7天后通过离心(4,000g,15min)收获上清液，通过0.45um过滤器，并且通过在ÄKTA表达系统上的MabSelect™SuRe™色谱法(均来自GE Healthcare)使用DPBS(Sigma)作为运行缓冲液和0.1m乙酸钠(pH3.5)作为洗脱缓冲液在4℃处进行纯化。将洗脱液立即用25％(v/v)2M Tris-HCl pH 7.0中和，透析至DPBS，通过0.22um过滤灭菌并储存在4℃。通过在Nanodrop ND-1000分光光度计(ThermoFisher Scientific)上280nm处的吸光度来确定浓度。结果示于图14中。

[0710] HEK293细胞中pIgR构建体的克隆、表达和纯化如下进行。从IDT获得编码期望hpIgR结构域序列的基因块，并使用In-Fusion®HD克隆试剂盒亚克隆到哺乳动物表达载体中。使用ExpiFectamine™293转染试剂盒，用pIgR结构域表达载体转染HEK Expi293™细胞。在6-7天后通过离心(4,000g，15分钟)收获上清液，通过0.45um过滤器，并且使用HisPur™Cobalt树脂(Thermo Scientific)通过固定金属离子色谱法进行纯化。使用缓冲液NPI-20(Teknova)作为运行缓冲液，并且使用含有300mM咪唑的缓冲液NPI-300(Teknova)作为洗脱缓冲液。按照制造商的说明，使用PD10脱盐柱(GE Health Care)将洗脱液与DPBS进行缓冲液交换，并将纯化的pIgR结构域储存在4℃。通过在Nanodrop ND-1000分光光度计(ThermoFisher Scientific)上280nm处的吸光度来确定浓度。

[0711] 分析型SEC如下进行。使用Agilent AdvanceBio尺寸排阻柱(300Å，2.7um，4.6×150mm)在Agilent 1200Infinity系统上通过分析型高压液相色谱法分析所有纯化的VHH-单Fc分子。用0.2M磷酸钠pH6.8平衡柱，并以0.5mg/mL的浓度和0.35mL/min的流速注入20ul样品。在这些设置下，在约4分钟的预期保留时间处检测单体VHH-单Fc洗脱液。在OpenLab Chemstation中进行数据分析以计算单体含量％。

[0712] SEC-MALS如下进行。通过与多角度光散射组合的尺寸排阻色谱法来测量纯化的VHH-单Fc分子的分子量。在与Wyatt uDAWN光散射/uTrEX仪器串联连接的Waters高压液相

色谱仪上进行实验。将Acquity UPLC蛋白BEH尺寸排阻柱(200Å,1.7μm,4.6×150mm)用1×DPBS pH7.4平衡,并以0.5mg/mL的浓度和0.3mL/min的流速注入10ul样品。使用Astra软件包(Wyatt)计算主要物质(单体VHH-Fc)的分子量。

[0713] 6.2.实施例2:hpIgR特异性结合物的生物物理表征

[0714] 选择来自实施例1的10种pIgR结合物(8种hpIgR特异性和2种人/小鼠交叉反应性)用于进一步的生物物理和功能测定。表达10种pIgR结合物,并使用蛋白-A亲和色谱法从CHO细胞纯化。与多角度光散射组合的尺寸排阻色谱法显示,10种VHH-单Fc结合物物(VHH2、VHH3、VHH4、VHH5、VHH6、VHH7、VHH9、VHH10、VHH11和VHH12)的分子量范围为41.3kDa至48.7kDa。

[0715] 使用自动化Prometheus仪器通过差示扫描荧光测定,特别是NanoDSF方法确定样品的热稳定性。通过将样品从384孔样品板加载到24孔毛细管中来进行测量。对每个样品进行重复运行。Prometheus NanoDSF用户界面(熔融扫描选项卡)用于设置运行的实验参数。典型IgG样品的热扫描范围为20℃至95℃,速率为1.0℃/分钟。在330nm和350nm的发射波长处进行固有色氨酸和酪氨酸荧光的双UV技术监测。将F350nm/F330nm比对温度作图以生成解折叠曲线。

[0716] 仪器的背反射光学器件也用于检测样品聚集体。此类光学器件发射波长不被蛋白质吸收的近紫外光。该光穿过样品并被反射到检测器。蛋白质聚集体散射该光,并且因此只有非散射光到达检测器。背反射光的减少是样品中聚集体的直接量度,并以mAU(衰减单位)对温度作图。Nano DSF用于测量在pH7.4的磷酸盐缓冲盐水中0.5mg/mL浓度的VHH结合物的热解折叠参数(Tm和Tagg)。

[0717] VHH-单Fc分子在CHO细胞中表达并使用蛋白-A亲和色谱法纯化。分别通过分析型尺寸排阻色谱法(A-SEC)和与多角度光散射组合的尺寸排阻色谱法(SEC-MALS)来验证纯化的蛋白质的同质性和分子量。A-SEC的结果示于图15中。SEC-MALS的结果示于图16中。

[0718] 通过差示扫描荧光测定(DSF)评估热稳定性,结果示于图17中。VHH分子的Tm报告如下。VHH-hpIgR胞外域相互作用的K_D值通过生物层干涉测量法测量。VHH分子与MDCK-hpIgR细胞结合的EC_{50}值通过流式细胞术测量。

[0719] 流式细胞术如下进行。为了测试VHH-单Fc分子是否识别细胞表面hpIgR,使用工程化以表达全长hpIgR的Madin-Darby犬肾(MDCK)细胞。将细胞在含有10%胎儿牛血清的达尔伯克氏改良伊格尔氏培养基中于37℃和5%CO_2下培养。将细胞分成相等的级分(≈70,000个细胞)并在4℃下与递增浓度的VHH-单Fc分子一起孵育30分钟。将细胞用冷PBS(pH7.4)洗涤两次,并在4℃下与荧光标记的抗Fc抗体(Alexa Fluor®647AffiniPure F(ab′)$_2$片段特异性山羊抗人IgG Fcγ片段)在染色缓冲液(2μg/ml Ab)中孵育30分钟。将细胞用冷染色缓冲液洗涤两次,重悬于运行缓冲液中并用iQue Screener(IntelliCyt Corporation)分析。通过来自活细胞群体的RL1(A647)几何平均值来评估结合,并通过在Prism(Graphpad)中拟合log VHH浓度与MFI来计算EC50。数据示于下表1中。

[0720] 表1.

[0721]

VHH	T_m(℃)	K_D(nM)	EC_{50}(nM)	mpIgR结合?
VHH2	64.1	21	6.3	是
VHH3	75.9	5	6.4	是

VHH4	61.5	22	32.9	否
VHH5	76.4	11	4.3	否
VHH6	69.3	27	11.5	否
VHH7	55.3	521	36.4	否
VHH9	70.3	4	1.5	否
VHH10	53.9	256	20.4	否
VHH11	69.2	19	1.5	否
VHH12	61.5	34	4.6	否

[0722] 在表1中，差示扫描荧光测定显示10种VHH分子的Tm值在53.9℃至76.4℃范围内。差示扫描荧光测定显示，五种有效VHH结合物的Tm值在61℃至70℃范围内。生物层干涉测量法显示，来自该面板的8种结合物与人pIgR胞外域结合的K_D值＜50nM，如表1所示。此外，流式细胞术显示，6种结合物与MDCK-hpIgR细胞结合的EC_{50}值＜10nM。

[0723] 6.3.实施例3:细胞结合和转胞吞测定

[0724] 转胞吞测定如下进行。Madin-Darby犬肾(MDCK)细胞，一种常用的上皮模型系统，用于研究VHH结合物是否可通过pIgR介导的转胞吞跨上皮转运。用人pIgR未转染或稳定转染的MDCK细胞用于研究转胞吞(参见Natvig,I.B.,Johansen,F.E.,Nordeng,T.W.,Haraldsen,G.&Brandtzaeg,P.Mechanism for enhanced external transfer of dimeric IgA over pentameric IgM:studies of diffusion,binding to the human polymeric Ig receptor,and epithelialtranscytosis.J.Immunol.159,4330-4340(1997))。通过共聚焦激光显微镜确认hpIgR在MDCK细胞中的表达和单层形成。将大约5.0×10^5个细胞接种在$1cm^2$、3.0μm胶原包被的PTFE过滤器(Transwell-COL 3494;Costar)上。将细胞在37℃和5%CO_2下在含有10％胎牛血清、50μg/ml庆大霉素和1mM L-谷氨酰胺的达尔伯克氏改良伊格尔氏培养基中孵育3天。将20μg测试VHH-单Fc分子添加到基底外侧腔室中，并将过滤器在37℃下于新鲜培养基中孵育24或48小时。将不与pIgR结合的VHH-单Fc(不相关VHH)与100nM(15μg/mL)人IgG(以控制非特异性转运和渗漏)一起用作对照。收获顶端培养基，并且通过标准滴定研究计算由pIgR转运的VHH单Fc的量。通过MSD检测IgG对顶端培养基的渗漏。转胞吞测定的结果示于图12A至图12B中。

[0725] 另外，使用生物素酰化的抗VHH抗体来捕获链霉亲和素板上的VHH-单Fc，并使用钌化的抗Fc抗体通过MSD平台检测VHH-单Fc。该测定的结果示于图12C中。六种VHH(2、4、6、9、11和12)显示相对于对照VHH，它们的顶端浓度增加＞10倍。

[0726] 6.4.实施例4:使用原代人肺组织模型的转胞吞测定

[0727] EpiAirway人肺组织模型也用于测试10种VHH分子从基底外侧到顶端上皮的转胞吞活性及其向粘膜腔的递送。EpiAirway模型在图18中描绘。EpiAirway模型是从原代人气管支气管细胞工程化的已建立的肺组织模型。组织模型从Mattek Corporation获得并根据制造商的说明进行维护。将20μg测试和对照VHH-单Fc分子添加到基底外侧腔室中的1ml EpiAirway培养基中，并在0小时、24小时和48小时从基底外侧腔室和顶端腔室收集100ul样品。EpiAirway TEER缓冲液用于从顶端腔室收集粘液。通过电化学发光方法定量存在于基底外侧培养基和顶端粘液中的VHH-单Fc的量。在该方法中，将链霉亲和素MSD板用生物素酰化的抗VHH抗体(2μg/ml的PBS溶液)在RT处以1000rpm包被1小时，用PBT洗涤3次，用封闭缓

冲液在RT处孵育1小时，用含有VHH-单Fc的培养基/粘液(在不同稀释度下)在RT处以1000rpm孵育2小时，用PBT洗涤3次，用钌化的抗人Fc抗体(2μg/ml的PBS溶液)在RT处以1000rpm孵育1小时，用PBT洗涤3次，并使用MSD成像仪在40ul读取缓冲液中进行读板。通过将ECLU值对VHH-单Fc标准曲线在Prism(Graphpad)中作图，计算在基底外侧腔室和顶端腔室中VHH-单Fc的量。数据示于图19中。图20中示出了其中IgG和IgA被胞转的类似实验。图20中的每个显微照片是图5中热图中的正方形中的一个的代表性图像。

[0728] 图22显示3D重建示出了至EpiAirway模型的顶端表面的hpIgR和VHH的定位。

[0729] 通过电化学发光定量处理后0小时、24小时和48小时存在于顶端粘液中的VHH的量。

[0730] 电化学发光测定如下进行。使用中尺度发现(MSD)平台进行表位作图和表位隐蔽研究。为了测试VHH-单Fc分子与纯化的pIgR蛋白构建体的结合，将链霉亲和素MSD板用生物素酰化的抗HIS抗体(2μg/ml的PBS溶液)在RT处以1000rpm包被1小时，用PBT(PBS+0.1％Tween-20)洗涤3次，用封闭缓冲液在RT处孵育1小时，用His标记的pIgR蛋白(10μg/ml的PBS溶液)在RT处以1000rpm孵育2小时，用PBT洗涤3次，用VHH-单Fc分子(100μg/ml的PBS溶液)在RT处以1000rpm孵育2小时，用PBT洗涤3次，用钌化的抗人-Fc抗体(2μμg/ml的PBS溶液)在RT处以1000rpm孵育1小时，用PBT洗涤3次，并使用MSD成像仪在40ul读取缓冲液中进行读板。将ECLU值绘制为热图。

[0731] 为了检查VHH是否识别pIgR上的掩埋表位，使用两种不同的检测抗体，即抗Fc抗体和抗VHH抗体，通过电化学发光测量VHH-单Fc分子与hpIgR-ECD蛋白结合的EC_{50}值。将pIgR ECD(10μμg/ml的PBS溶液)在高结合MSD板上在RT处以1000rpm包被2小时，用封闭缓冲液在RT处孵育1小时，用VHH-单Fc分子(在PBS中浓度递增)在RT处以1000rpm孵育2小时，用PBT洗涤3次，用钌化的第二抗体(2μμg/ml的PBS溶液)在RT处以1000rpm孵育1小时，用PBT洗涤3次，并使用MSD成像仪在40ul读取缓冲液中进行读板。通过在Prism(Graphpad)中拟合log VHH浓度对log ECLU来计算EC50。由于抗VHH检测导致的EC_{50}的增加(＞50倍)用作确定VHH是否识别pIgR上的掩埋表位的量度。

[0732] 在处理后48小时，将组织样品固定、透化并染色，以跨EpiAirway模型追踪hpIgR和VHH。数据示于图4中。五种VHH分子(VHH2、VHH6、VHH9、VHH11和VHH12)显示，相对于对照VHH分子它们的粘膜量增加大于20倍。对于最佳pIgR激动剂(VHH12)，每24小时将17.5％的基底外侧VHH输入分泌到粘液中。图23显示EpiAirway组织模型位于倾斜膜上，这对于图像分析不理想。图24示出了Opera Phenix成像和分析的策略，以克服利用EpiAirway组织模型的倾斜组织问题。

[0733] 转胞吞后，通过Opera Phenix共聚焦激光显微镜，使用间接免疫荧光跨EpiAirway组织模型追踪hpIgR和VHH的位置和量。使用间接免疫荧光来追踪处理后两天跨EpiAirway模型保留的pIgR和VHH-mon-Fc的量。将组织样品在PBS中冲洗，将组织用2ml 10％福尔马林在RT处固定20分钟，用2ml PBST(1％Triton-X100的PBS溶液)在RT处各洗涤三次持续10分钟(温和搅拌)，用稀释于PBTG(含10％山羊血清的PBST)中的第一抗体(500μl顶端，500μl基底外侧)在RT处孵育2小时(温和搅拌)，用2ml PBTG在RT处各洗涤两次持续10分钟(温和搅拌)，用稀释于PBTG中的第二抗体(100μl顶端，100μl基底外侧)在RT处孵育1小时(温和搅拌)，并用2ml PBTG在RT处各洗涤两次持续10分钟(温和搅拌)。第一抗体混合物含有均以5μ

g/ml存在的小鼠抗体和生物素酰化的抗IgA抗体。第二抗体混合物含有Alexa-Flour 488标记的抗小鼠抗体(1:100稀释)、Alexa-Flour 647标记的链霉亲和素(1:100稀释)和Hoechst(1:1000稀释)。使用Opera Phenix共聚焦激光显微镜以20X分辨率(30-40个平面,2um距离)对固定的、透化的和染色的组织成像。使用Harmony套件进行图像分析,针对膜自动荧光校正荧光读数,对细胞数量进行归一化并在Prism(Graphpad)中绘制为热图。

[0734] 数据示于图5中。成像研究证实了转胞吞结果,并显示hpIgR和VHH的共定位,尤其是更靠近顶端上皮。由于pIgR被蛋白水解切割并在转胞吞时释放到粘液中,因此组织保留的pIgR的量与VHH功能负相关。

[0735] 在EpiAirway模型中,IgA的存在不影响VHH9的转胞吞,然而IgA的存在对四种其他VHH结合物VHH2、VHH6、VHH11和VHH12具有负面作用。

[0736] 6.5.实施例5:结构域水平表位作图

[0737] 为了进行VHH的结构域水平表位作图,使用固定化金属离子亲和色谱法,从HEK293细胞表达并纯化了七种HIS标记的hpIgR构建体(D1、D2、D3、D5、D1-D2、D2-D3和D4-D5),每种构建体编码hpIgR ECD的一个或两个结构域。两个构建体D4和D3-D4显示出不良的表达和纯化,并且不用于表位作图测定。通过电化学发光方法测试VHH-mFc分子与固定化pIgR构建体的结合。结合测定的结果示出为图2中的热图。

[0738] pIgR结合物对掩埋表位的识别如下进行。使用两种不同的检测抗体,即抗Fc抗体和抗VHH抗体,通过电化学发光测量VHH-单Fc分子与hpIgR-ECD蛋白结合的EC_{50}。由于抗VHH检测导致的EC_{50}的增加(>50倍)用作确定VHH是否识别pIgR上的掩埋表位的量度。四种分子(VHH3、VHH4、VHH5和VHH6)识别pIgR上的掩埋表位,如图35所示。如图36A至图36B所示,VHH3识别hpIgR结构域-1界面上的复杂表位,并且具体地,尽管对于VHH2没有观察到EC_{50}的差异(对于两种检测抗体为4nM),但VHH3由于抗VHH检测而显示EC_{50}增加54倍。这些实验一起表明,VHH2和VHH3以不同方式识别结构域-1,这可归因于它们在功能上的差异。

[0739] 表位作图显示,VHH2、VHH6和VHH12分别结合hpIgR结构域1、2和5,而VHH9和VHH11结合hpIgR结构域4-5。为了测试VHH结合区是否识别hpIgR上的掩埋表位,使用两种不同检测抗体即抗Fc抗体和抗VHH抗体的电化学发光方法用于生成反映VHH-单Fc分子与hpIgR-ECD蛋白的结合的EC_{50}值。由于抗VHH检测导致的EC_{50}的增加(>50倍)用作确定VHH是否识别pIgR上的掩埋表位的量度。结果示于表2和图29中。

[0740] 表2.

[0741]

VHH #	抗 Fc EC_{50} (nM)	抗 VHH EC_{50} (nM)	EC_{50}的倍数变化	掩埋表位?
VHH2	4.2	4.0	1.0	否
VHH3	0.5	28.6	54	是
VHH4	1.1	206.0	180	是
VHH5	0.3	178.5	592	是
VHH6	3.9	4187.0	1063	是
VHH7	12.4	31.1	2.5	否
VHH9	0.4	0.8	1.8	否
VHH10	17.6	43.9	2.5	否

[0742]

VHH #	抗 Fc EC_{50} (nM)	抗 VHH EC_{50} (nM)	EC_{50}的倍数变化	掩埋表位?
VHH11	0.3	0.8	3.2	否
VHH12	0.5	0.2	0.4	否

[0743] 表2的结果表明,四种分子(VHH3、VHH4、VHH5和VHH6)识别pIgR上的掩埋表位。为了进行结构域水平表位作图,使用固定化金属离子亲和色谱法,从HEK293细胞成功地表达和纯化了七种HIS标记的pIgR胞外域构建体(D1、D2、D3、D5、D1-D2、D2-D3和D4-D5)。D1、D2、D3、D5、D1-D2、D2-D3和D4-D5的序列包含SEQ ID NO:216-222的那些序列。

[0744] VHH-单Fc分子与固定化pIgR构建体的结合汇总为图2中的热图。简而言之,VHH2和VHH3的表位主要包含在hpIgR结构域1(D1)中,并且VHH4和VHH6的表位主要包含在hpIgR结构域2(D2)中。如图32A所示,D1对于IgA与hpIgR结合是必需的。其他六种VHH分子的表位主要包含在hpIgR结构域4-5(D4-D5)内。另外,由Bonner等人,Mucosal Immunol.,2:74-84(2009)进行的溶液X射线散射研究表明,当与dIgA相互作用时,pIgR采取延伸的构象,其中结构域-1与一个Fcα亚基的Cα2结构域相互作用并且结构域-5与相对的Fcα亚基的同一侧上的Cα2亚基结合(图32B)。

[0745] 接下来,对八种展示出与hpIgR结合的KD值<100nM的VHH-单Fc分子进行竞争结合测定。首先,为了测试IgA对hpIgR-VHH结合的作用,通过生物层干涉测量法,测量在不存在和存在dIgA2的情况下全长hpIgR ECD与固定化VHH-单Fc分子结合的KD值(图3A)。总之,由于dIgA的存在,VHH显示出与hpIgR ECD结合的亲和力降低1.3至3.3倍。预结合的IgA对VHH与pIgR结合具有小的负面作用,这可能是由于结合的dIgA产生的空间位阻或hpIgR ECD的构象重排。其次,为了测试VHH对dIgA2与hpIgR结合的作用,在有和没有VHH-单Fc分子存在的情况下测量重组二聚IgA2构建体与hpIgR胞外域结合的K_D值。三种分子(VHH2、VHH3和VHH5)对IgA与pIgR的结合具有负面作用,而其他VHH分子对IgA与pIgR的结合显示出小的积极作用,如图3B所示。

[0746] 6.6.实施例6:VHH/IgA竞争研究(结合和转胞吞)

[0747] 比较了VHH2即上述转胞吞阳性结构域-1结合物与VHH3即转胞吞阴性结构域-1结

合物之间的结合差异。VHH3比VHH2结合更强。为了测试hpIgR结构域-1CDR对VHH2和VHH3结合的重要性，将人pIgR的每个结构域-1CDR与硬骨鱼pIgR的相应结构域-1CDR交换，以制备用于结合研究的三种新的CDR交换的hpIgR结构域-1构建体。(全长hpIgR ECD购自R&D Systems。)使用固定化金属离子亲和色谱法，从HEK293细胞表达并纯化了五种构建体(D1-D2、D1、D1_tCDR1、D1_tCDR2、D1_tCDR3)。三种hpIgR结构域-1CDR突变体(D1_tCDR1、D1_tCDR2、D1_tCDR3)在hpIgR结构域-1框架上含有相应的硬骨鱼CDR。将His标记的pIgR构建体固定在抗HIS生物传感器上，并且通过生物层干涉测量法测量VHH-单Fc分子与pIgR构建体的结合。数据示于表3和图33A至图33D中。

[0748] 表3.

[0749]

pIgR	VHH2 K_D(nM)	K_D的倍数变化	VHH3 K_D(nM)	K_D的倍数变化
hpIgR_ECD	22	1	10	1
hpIgR_D1-D2	23	1	13.3	1.3
hpIgR_D1	15.5	0.7	7.7	0.8
hpIgR_D1_tCDR1	21.3	1	77	7.7
hpIgR_D1_tCDR2	未结合	未结合	未结合	未结合
hpIgR_D1_tCDR3	14.9	0.7	7.5	0.8

[0750] 在表3中，两种VHH-单Fc分子(VHH2和VHH3)与六种HIS-标记的pIgR构建体结合的K_D值。VHH2和VHH3显示出对hpIgR结构域-1的CDR2和CDR3类似的结合特征，而对hpIgR结构域-1的CDR1具有不同的结合特征。VHH2和VHH3的特性汇总于图31中。图34的数据显示，VHH2和VHH3彼此竞争结合hpIgR。

[0751] 竞争结合测定显示，IgA对VHH分子与pIgR的结合具有负面作用，这可能是由于二聚IgA与VHH之间的大小差异产生的空间位阻。数据示于图28A至图28D中。鉴于hpIgR结构域-1对于IgA结合是必需的，则仅VHH2(结构域-1结合物)对IgA与hpIgR的结合具有负面作用，并显示出与IgA的直接竞争。

[0752] VHH2和VHH3显示出对hpIgR结构域-1的CDR2和CDR3类似的结合特征，而对hpIgR结构域-1的CDR1显示出不同的结合特征。这表明VHH2和VHH3与结构域-1上的部分表位重叠，并且因此彼此竞争结合hpIgR。此外，结合测定表明，VHH3相对于VHH2结合结构域-1上更隐藏的表位(表2)。有趣的是，VHH3处理的EpiAirway组织模型相对于VHH2或没有VHH在基底外侧上皮中保留了更多的pIgR(图5)。鉴于结构域-1在hpIgR的无活性至活性转变中起关键界面和作用，这些结果表明VHH3结合可将pIgR平衡向无活性构象偏移。如图25所示，五个Ig样胞外结构域排列成三角形，在配体结合结构域D1和D5之间具有界面。D1-D5界面在配体结合时断裂。图26示出了通过约束散射建模的pIgR:IgA复合物的结构。

[0753] 所测试的VHH分子的特性的汇总示于下表4中。

[0754] 表4.

[0755]

VHH	T_m (℃)	K_D (nM)	EC_{50} (nM)	mpIgR结合?	掩埋表位?	pIgR表位结构域	IgA直接竞争	转胞吞(倍数增加)
VHH2	64.1	21	6.3	是	否	1	是	34.2
VHH3	75.9	5	6.4	是	是	1	是	2.6
VHH4	61.5	22	32.9	否	是	2	否	12.6
VHH5	76.4	11	4.3	否	是	4-5	是	6.9
VHH6	69.3	27	11.5	否	是	2	否	30.7
VHH7	55.3	521	36.4	否	否	4-5	否	1.3
VHH9	70.3	4	1.5	否	否	4-5	否	22.4
VHH10	53.9	256	20.4	否	否	4-5	否	5.0
VHH11	69.2	19	1.5	否	否	4-5	否	32.0
VHH12	61.5	34	4.6	否	否	5	否	38.6

[0756] 上述实施例示出了通过生物物理和功能测定的结合hpIgR的VHH分子的生成、筛选和表征。VHH分子在人肺组织模型中显示出不同程度的亲和力、物种交叉反应性、生物物理特征、表位多样性、IgA竞争特征和转胞吞活性。

[0757] 6.7.实施例7:附加的转胞吞测定

[0758] 如实施例3所述表达hpIgR的MDCK细胞是相关的上皮模型系统,并且用于测定VHH-单Fc分子的正向和反向转胞吞活性。

[0759] 将表达hpIgR的MDCK细胞在含有10％FBS的DMEM中于37℃和5％CO_2处培养。为了制备此类细胞的单层(MDCK-hpIgR单层),将5×10^5个细胞接种在含有0.4μm聚酯膜过滤器的经纤连蛋白和胶原处理的Transwell™可渗透支持物(Costar)上。然后将细胞孵育3天,血清饥饿2小时并补充含有1％FBS的DMEM(测定培养基)。基底外侧腔室和顶部腔室分别含有1.5ml和0.5ml的测定培养基。

[0760] 为了测试VHH-单Fc分子跨MDCK-hpIgR单层的正向转胞吞活性,将20μg测试或对照VHH-单Fc分子添加到基底外侧腔室中,并在添加VHH-单Fc分子后的不同时间点(0、4、8、12、24、36和48小时)从基底外侧腔室和顶端腔室收集100μl培养基。

[0761] 为了测试VHH-单Fc分子跨MDCK-hpIgR单层的反向转胞吞活性,将20μg测试或对照VHH-单Fc分子添加到顶端腔室中,并在添加VHH-单Fc后的不同时间点(0、4、8、12、24、36和48小时)从基底外侧腔室和顶端腔室收集100μl培养基。

[0762] 通过电化学发光方法定量存在于基底外侧和顶端培养基中的VHH-单-Fc的量。将链霉亲和素MSD板用生物素酰化的抗VHH抗体(2μg/ml的PBS溶液)在RT处以1000rpm包被1小时,用PBT洗涤3次,用封闭缓冲液在RT处孵育1小时,用含有VHH-单Fc的培养基/粘液(在不同稀释度下)在RT处以1000rpm孵育1小时,用PBT洗涤3次,用钌化的抗人Fc抗体(2μg/ml的PBS溶液)在RT处以1000rpm孵育1小时,用PBT洗涤3次,并使用MSD成像仪在40μl读取缓冲液中进行读板。通过将ECLU值对VHH-单Fc标准曲线在Prism(Graphpad)中作图,计算在基底外侧腔室和顶端腔室中VHH的量。

[0763] 正向和反向转胞吞测定的结果示于图37A、图37B、图38A、图38B、图39A和图39B中。

[0764] 所测试的VHH分子的特性的汇总示于下表5中。

[0765] 表5.

[0766]

VHH	T_m (℃)	K_D (nM)	EC_{50} (nM)	mpIgR结合?	pIgR表位结构域	IgA直接竞争	正向转胞吞(倍数增加)	反向转胞吞(倍数增加)
VHH2	64.1	21	6.3	是	1	是	21.0	5.7
VHH3	75.9	5	6.4	是	1	是	1.0	1.0
VHH4	61.5	22	32.9	否	2	否	15.1	8.0
VHH5	76.4	11	4.3	否	4-5	是	8.9	2.1
VHH6	69.3	27	11.5	否	2	否	25.6	14.6
VHH7	55.3	521	36.4	否	4-5	否	1.9	3.3
VHH9	70.3	4	1.5	否	4-5	否	24.2	6.6
VHH10	53.9	256	20.4	否	4-5	否	1.3	3.4
VHH11	69.2	19	1.5	否	4-5	否	24.2	10.3
VHH12	61.5	34	4.6	否	5	否	29.5	11.7

[0767] 本文引用的所有专利、已公开的专利申请和参考文献的教导内容全文以引用方式并入。

[0768] 虽然已经具体示出和描述了示例的实施方案，但是本领域的技术人员应当理解，在不脱离所附权利要求书所涵盖的实施方案的范围的前提下，可以在其中进行形式和细节上的各种改变。

[0769] 根据前述内容，应当理解，尽管本文已出于说明的目的描述了具体实施方案，但可在不偏离本文提供的精神和范围的情况下进行各种修改。以上提及的所有参考文献均全文以引用方式并入本文。

[0770] 序列表

[0771] SEQ ID NO:1-VHH1和VHH2 CDR1(Kabat)

[0772] SYRMG

[0773] SEQ ID NO:2-VHH3 CDR1(Kabat)

[0774] INVMG

[0775] SEQ ID NO:3-VHH4 CDR1(Kabat)

[0776] SNAMG

[0777] SEQ ID NO:4-VHH5 CDR1(Kabat)

[0778] SYAMG

[0779] SEQ ID NO:5-VHH6 CDR1(Kabat)

[0780] SDAMG

[0781] SEQ ID NO:6-VHH7 CDR1(Kabat)

[0782] INVMG

[0783] SEQ ID NO:7-VHH9 CDR1(Kabat)

[0784] TYRMG

[0785] SEQ ID NO:8-VHH10 CDR1(Kabat)

[0786] RYAMG

[0787] SEQ ID NO:9-VHH12 CDR1(Kabat)

[0788] FNTYAMG

[0789] SEQ ID NO:10-VHH1和VHH2 CDR1(Chothia)

[0790] GLTFSSY

[0791] SEQ ID NO:11-VHH3 CDR1(Chothia)

[0792] GSIFSIN

[0793] SEQ ID NO:12-VHH4 CDR1(Chothia)

[0794] GTSVSSN

[0795] SEQ ID NO:13-VHH5 CDR1(Chothia)

[0796] GRTFSSY

[0797] SEQ ID NO:14-VHH6 CDR1(Chothia)

[0798] GSSVSSD

[0799] SEQ ID NO:15-VHH7 CDR1(Chothia)

[0800] RSIGSIN

[0801] SEQ ID NO:16-VHH9 CDR1 (Chothia)

[0802] GRTFSTY

[0803] SEQ ID NO:17-VHH10 CDR1(Chothia)

[0804] GFTFTRY

[0805] SEQ ID NO:18-VHH11 CDR1(Chothia)

[0806] GRTFTTY

[0807] SEQ ID NO:19-VHH12 CDR1(Chothia)

[0808] GRTLSFNTY

[0809] SEQ ID NO:20-VHH1和VHH2 CDR1(IMGT)

[0810] GLTFSSYR

[0811] SEQ ID NO:21-VHH3 CDR1(IMGT)

[0812] GSIFSINV

[0813] SEQ ID NO:22-VHH4 CDR1(IMGT)

[0814] GTSVSSNA

[0815] SEQ ID NO:23-VHH5 CDR1(IMGT)

[0816] GRTFSSYA

[0817] SEQ ID NO:24-VHH6 CDR1(IMGT)

[0818] GSSVSSDA

[0819] SEQ ID NO:25-VHH7 CDR1(IMGT)

[0820] RSIGSINV

[0821] SEQ ID NO:26-VHH9 CDR1(IMGT)

[0822] GRTFSTYR

[0823] SEQ ID NO:27-VHH10 CDR1(IMGT)

[0824] GFTFTRYA

[0825] SEQ ID NO:28-VHH11 CDR1(IMGT)

[0826] GRTFTTYR

[0827] SEQ ID NO:29-VHH12 CDR1(IMGT)

[0828] GRTLSFNTYA

[0829] SEQ ID NO:30-VHH1和VHH2 CDR2(Kabat)

[0830] AIDWNGRGTYYRYYADSVKG

[0831] SEQ ID NO:31-VHH3 CDR2(Kabat)

[0832] RINGGGITHYAESVKG

[0833] SEQ ID NO:32-VHH4 CDR2(Kabat)

[0834] FIDRIATTTIATSVKG

[0835] SEQ ID NO:33-VHH5 CDR2(Kabat)

[0836] AITWNGGTTYYADSVKG

[0837] SEQ ID NO:34-VHH6 CDR2(Kabat)

[0838] FISGGGTTTYADSVKG

[0839] SEQ ID NO:35-VHH7 CDR2(Kabat)

[0840] RITGGGSTHYAESVKG

[0841] SEQ ID NO:36-VHH9 CDR2(Kabat)

[0842] AISWSGGSTTYADPVKG

[0843] SEQ ID NO:37-VHH10 CDR2(Kabat)

[0844] AISWSGSSAGYGDSVKG

[0845] SEQ ID NO:38-VHH11CDR2(Kabat)

[0846] AIRWSGGRTLYADSVKG

[0847] SEQ ID NO:39-VHH12CDR2(Kabat)

[0848] SITWNGGSTSYADSVKG

[0849] SEQ ID NO:40-VHH1和VHH2 CDR2(Chothia)

[0850] DWNGRGTYY

[0851] SEQ ID NO:41-VHH3 CDR2(Chothia)

[0852] NGGGI

[0853] SEQ ID NO:42-VHH4 CDR2(Chothia)

[0854] DRIAT

[0855] SEQ ID NO:43-VHH5 CDR2(Chothia)

[0856] TWNGGT

[0857] SEQ ID NO:44-VHH6 CDR2(Chothia)

[0858] SGGGT

[0859] SEQ ID NO:45-VHH7 CDR2(Chothia)

[0860] TGGGS

[0861] SEQ ID NO:46-VHH9 CDR2(Chothia)

[0862] SWSGGS

[0863] SEQ ID NO:47-VHH10 CDR2(Chothia)

[0864] SWSGSS

[0865] SEQ ID NO:48-VHH11 CDR2(Chothia)

[0866] RWSGGR

[0867] SEQ ID NO:49-VHH12CDR2(Chothia)

[0868] TWNGGS

[0869] SEQ ID NO:50-VHH1和VHH2 CDR2(IMGT)

[0870] IDWNGRGTYY

[0871] SEQ ID NO:51-VHH3 CDR2(IMGT)

[0872] INGGGIT

[0873] SEQ ID NO:52-VHH4 CDR2(IMGT)

[0874] IDRIATT

[0875] SEQ ID NO:53-VHH5 CDR2(IMGT)

[0876] ITWNGGTT

[0877] SEQ ID NO:54-VHH6 CDR2(IMGT)

[0878] ISGGGTT

[0879] SEQ ID NO:55-VHH7 CDR2(IMGT)

[0880] ITGGGST

[0881] SEQ ID NO:56-VHH9 CDR2(IMGT)

[0882] ISWSGGST

[0883] SEQ ID NO:57-VHH10 CDR2(IMGT)

[0884] ISWSGSSA

[0885] SEQ ID NO:58-VHH11 CDR2(IMGT)

[0886] IRWSGGRT

[0887] SEQ ID NO:59-VHH12 CDR2(IMGT)

[0888] ITWNGGST

[0889] SEQ ID NO:60-VHH1 CDR3(Kabat)

[0890] GSIDLNWYGGMDY

[0891] SEQ ID NO:61-VHH2 CDR3(Kabat)

[0892] TTVLTDPRVLNEYAT

[0893] SEQ ID NO:62-VHH3 CDR3(Kabat)

[0894] DVFGSSGYVETY

[0895] SEQ ID NO:63-VHH4 CDR3(Kabat)

[0896] PLTAR

[0897] SEQ ID NO:64-VHH5 CDR3(Kabat)

[0898] DPFNQGY

[0899] SEQ ID NO:65-VHH6 CDR3(Kabat)

[0900] PLTSR

[0901] SEQ ID NO:66-VHH7 CDR3(Kabat)

[0902] MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY

[0903] SEQ ID NO:67-VHH9 CDR3(Kabat)

[0904] DQRGY

[0905] SEQ ID NO:68-VHH10 CDR3(Kabat)

[0906] DPFNQGY

[0907] SEQ ID NO:69-VHH11 CDR3(Kabat)

[0908] DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY

[0909] SEQ ID NO:70-VHH12 CDR3(Kabat)

[0910] ARYYVSGTYFPANY

[0911] SEQ ID NO:71-VHH1 CDR3(Chothia)

[0912] GSIDLNWYGGMDY

[0913] SEQ ID NO:72-VHH2 CDR3(Chothia)

[0914] TTVLTDPRVLNEYAT

[0915] SEQ ID NO:73-VHH3 CDR3(Chothia)

[0916] DVFGSSGYVETY

[0917] SEQ ID NO:74-VHH4 CDR3(Chothia)

[0918] PLTAR

[0919] SEQ ID NO:75-VHH5 CDR3(Chothia)

[0920] DPFNQGY

[0921] SEQ ID NO:76-VHH6 CDR3(Chothia)

[0922] PLTSR

[0923] SEQ ID NO:77-VHH7 CDR3(Chothia)

[0924] MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY

[0925] SEQ ID NO:78-VHH9 CDR3(Chothia)

[0926] DQRGY

[0927] SEQ ID NO:79-VHH10 CDR3(Chothia)

[0928] DPFNQGY

[0929] SEQ ID NO:80-VHH11 CDR3(Chothia)

[0930] DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY

[0931] SEQ ID NO:81-VHH12 CDR3(Chothia)

[0932] ARYYVSGTYFPANY

[0933] SEQ ID NO:82-VHH1 CDR3(IMGT)

[0934] CAAGSIDLNWYGGMDY

[0935] SEQ ID NO:83-VHH2 CDR3(IMGT)

[0936] CAATTVLTDPRVLNEYAT

[0937] SEQ ID NO:84-VHH3 CDR3(IMGT)

[0938] KADVFGSSGYVETY

[0939] SEQ ID NO:85-VHH4 CDR3(IMGT)

[0940] NHPLTAR

[0941] SEQ ID NO:86-VHH5 CDR3(IMGT)

[0942] AADPFNQGY

[0943] SEQ ID NO:87-VHH6 CDR3(IMGT)

[0944] NHPLTSR

[0945] SEQ ID NO:88-VHH7 CDR3(IMGT)

[0946] ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY

[0947] SEQ ID NO:89-VHH9 CDR3(IMGT)

[0948] NDQRGY

[0949] SEQ ID NO:90-VHH10 CDR3(IMGT)

[0950] AADPFNQGY

[0951] SEQ ID NO:91-VHH11 CDR3(IMGT)

[0952] AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY

[0953] SEQ ID NO:92-VHH12 CDR3(IMGT)

[0954] AAARYYVSGTYFPANY

[0955] SEQ ID NO:93-VHH1-VH氨基酸序列

QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQER

[0956] EFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPED

TAVYYCAAGSIDLNWYGGMDYWGQGTQVTVSS

[0957] SEQ ID NO:94-VHH2-VH氨基酸序列

EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQER

[0958] EFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPED

TAVYYCAATTVLTDPRVLNEYATWGQGTQVTVSS

[0959] SEQ ID NO:95-VHH3-VH氨基酸序列

QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRE

[0960] LVARINGGGITHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYC

KADVFGSSGYVETYWGQGTQVTVSS

[0961] SEQ ID NO:96-VHH4-VH氨基酸序列

EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQ

[0962] REWVGFIDRIATTTIATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYY

CNHPLTARWGQGTQVTVSS

[0963] SEQ ID NO:97-VHH5-VH氨基酸序列

QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKER

[0964] EFVAAITWNGGTTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVY

YCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS

[0965] SEQ ID NO:98-VHH6-VH氨基酸序列

EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQR

[0966] AWVAFISGGGTTTYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYY

CNHPLTSRWGQGTQVTVSS

[0967] SEQ ID NO:99-VHH7-VH氨基酸序列

EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQR

[0968] DLVARITGGGSTHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYY CASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDYWGQGTQVTVSS

[0969] SEQ ID NO:100-VHH9-VH氨基酸序列

QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKER

[0970] SFVAAISWSGGSTTYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVY YCNDQRGYWGQGTLVTVSS

[0971] SEQ ID NO:101-VHH10-VH氨基酸序列

EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKER

[0972] SFVAAISWSGSSAGYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVY YCAADPFNQGYWGQGTQVTVSS

[0973] SEQ ID NO:102-VHH11-VH氨基酸序列

EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKER

[0974] EFVAAIRWSGGRTLYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVY YCAADLAEYSGTYSSPADSPAGYDYWGQGTQVTVSS

[0975] SEQ ID NO:103-VHH12-VH氨基酸序列

QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGK

[0976] EREFVASITWNGGSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTA VYYCAAARYYVSGTYFPANYWGQGTQVTVSS

[0977] SEQ ID NO:104-VHH1-接头-单Fc蛋白

QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQER

EFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPED

TAVYYCAAGSIDLNWYGGMDYWGQGTQVTVSSEPKTPKPQPQPQLQPQ

PNPTTESKSPKSPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE

[0978] DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG

KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTKPPSREEMTKNQVSLS

CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTVPVLDSDGSFRLASYLTVDKS

RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0979] SEQ ID NO:105-VHH2-接头-单Fc蛋白

[0980] EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQER
EFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPED
TAVYYCAATTVLTDPRVLNEYATWGQGTQVTVSSEPKTPKPQPQPQLQP
QPNPTTESKSPKSPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTKPPSREEMTKNQVS
LSCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTVPVLDSDGSFRLASYLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0981] SEQ ID NO:106-VHH3-接头-单Fc蛋白

[0982] QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRE
LVARINGGGITHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYC
KADVFGSSGYVETYWGQGTQVTVSSEPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKS
PKSPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV

[0983] SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTKPPSREEMTKNQVSLSCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTVPVLDSDGSFRLASYLTVDKSRWQQGNVF
SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0984] SEQ ID NO:107-VHH4-接头-单Fc蛋白

[0985] EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQ
REWVGFIDRIATTTIATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYY
CXHPXTARWGQGTQVTVSSEPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPKSPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV
EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
PIEKTISKAKGQPREPQVYTKPPSREEMTKNQVSLSCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTVPVLDSDGSFRLASYLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE
ALHNHYTQKSLSLSPGK

[0986] SEQ ID NO:108-VHH5-接头-单Fc蛋白

[0987] QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKER
EFVAAITWNGGTTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVY
YCAADPFNQGYWGQGTQVTVSSEPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPKS
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTKPPSREEMTKNQVSLSCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTVPVLDSDGSFRLASYLTVDKSRWQQGNVFSC
SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0988] SEQ ID NO:109-VHH6-接头-单Fc蛋白

[0989] EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQR AWVAFISGGGTTTYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYY CNHPLTSRWGQGTQVTVSSEPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPKSPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTKPPSREEMTKNQVSLSCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTVPVLDSDGSFRLASYLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK

[0990] SEQ ID NO:110-VHH7-接头-单Fc蛋白

[0991] EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQR DLVARITGGGSTHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYY CASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDYWGQGTQVTVSSEPKTPKPQPQPQLQ PQPNPTTESKSPKSPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTKPPSREEMTKNQVS LSCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTVPVLDSDGSFRLASYLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0992] SEQ ID NO:111-VHH9-接头-单Fc蛋白

[0993] QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKER SFVAAISWSGGSTTYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVY YCNDQRGYWGQGTLVTVSSEPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPKSPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTKPPSREEMTKNQVSLSCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTVPVLDSDGSFRLASYLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK

[0994] SEQ ID NO:112-VHH10-接头-单Fc蛋白

[0995] EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKER SFVAAISWSGSSAGYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVY YCAADPFNQGYWGQGTQVTVSSEPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPKS PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTKPPSREEMTKNQVSLSCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTVPVLDSDGSFRLASYLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0996] SEQ ID NO:113-VHH1 1-接头-单Fc蛋白

EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKER

[0997] EFVAAIRWSGGRTLYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVY

YCAADLAEYSGTYSSPADSPAGYDYWGQGTQVTVSSEPKTPKPQPQPQL

QPQPNPTTESKSPKSPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD

VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD

[0998] WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTKPPSREEMTKN

QVSLSCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTVPVLDSDGSFRLASYLT

VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0999] SEQ ID NO:114-VHH12-接头-单Fc蛋白

QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGK

[1000] EREFVASITWNGGSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTA

VYYCAAARYYVSGTYFPANYWGQGTQVTVSSEPKTPKPQPQPQLQPQP

NPTTESKSPKSPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE

DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG

KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTKPPSREEMTKNQVSLS

CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTVPVLDSDGSFRLASYLTVDKS

RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[1001] SEQ ID NO:115-IgA重链

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKSSGGTSNNYAISWVRQAPGQGL

DWMGGISPIFGSTAYAQKFQGRVTISADIFSNTAYMELNSLTSEDTAVYF

CARHGNYYYYSGMDVWGQGTTVTVSSASPTSPKVFPLSLDSTPQDGNV

VVACLVQGFFPQEPLSVTWSESGQNVTARNFPPSQDASGDLYTTSSQLTL

[1002] PATQCPDGKSVTCHVKHYTNPSQDVTVPCPVPPPPPCCHPRLSLHRPALE

DLLLGSEANLTCTLTGLRDASGATFTWTPSSGKSAVQGPPERDLCGCYSV

SSVLPGCAQPWNHGETFTCTAAHPELKTPLTANITKSGNTFRPEVHLLPPP

SEELALNELVTLTCLARGFSPKDVLVRWLQGSQELPREKYLTWASRQEPS

QGTTTFAVTSILRVAAEDWKKGDTFSCMVGHEALPLAFTQKTIDRLAGK

PTHVNVSVVMAEVDGTCY

[1003] SEQ ID NO:116-IgA轻链

QSALTQPPAVSGTPGQRVTISCSGSDSNIGRRSVNWYQQFPGTAPKL

LIYSNDQRPSVVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEAEYYCAAWDDSLK

[1004] GAVFGGGTQLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGA

VTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYS

CQVTHEGSTVEKTVAPTECS

[1005] SEQ ID NO:117-IgA J链

SRDSSASASRVAGITAQEDERIVLVDNKCKCARITSRIIRSSEDPNEDI

[1006] VERNIRIIVPLNNRENISDPTSPLRTRFVYHLSDLCKKCDPTEVELDNQIVT ATQSNICDEDSATETCYTYDRNKCYTAVVPLVYGGETKMVETALTPDAC YPD

[1007] SEQ ID NO:118-人pIgR胞外结构域(ECD)

KSPIFGPEEVNSVEGNSVSITCYYPPTSVNRHTRKYWCRQGARGGCI TLISSEGYVSSKYAGRANLTNFPENGTFVVNIAQLSQDDSGRYKCGLGIN SRGLSFDVSLEVSQGPGLLNDTKVYTVDLGRTVTINCPFKTENAQKRKSL YKQIGLYPVLVIDSSGYVNPNYTGRIRLDIQGTGQLLFSVVINQLRLSDAG QYLCQAGDDSNSNKKNADLQVLKPEPELVYEDLRGSVTFHCALGPEVA NVAKFLCRQSSGENCDVVVNTLGKRAPAFEGRILLNPQDKDGSFSVVITG

[1008] LRKEDAGRYLCGAHSDGQLQEGSPIQAWQLFVNEESTIPRSPTVVKGVA GSSVAVLCPYNRKESKSIKYWCLWEGAQNGRCPLLVDSEGWVKAQYEG RLSLLEEPGNGTFTVILNQLTSRDAGFYWCLTNGDTLWRTTVEIKIIEGEP NLKVPGNVTAVLGETLKVPCHFPCKFSSYEKYWCKWNNTGCQALPSQD EGPSKAFVNCDENSRLVSLTLNLVTRADEGWYWCGVKQGHFYGETAAV YVAVEERKAAGSRDVSLAKADAAPDEKVLDSGFREIENKAIQDPRLFAE EKAVADTRDQADGSRASVDSGSSEEQGGSSRHHHHHH

[1009] SEQ ID NO:119-人pIgR胞外结构域1(D1)

KSPIFGPEEVNSVEGNSVSITCYYPPTSVNRHTRKYWCRQGARGGCI

[1010] TLISSEGYVSSKYAGRANLTNFPENGTFVVNIAQLSQDDSGRYKCGLGIN SRGLSFDVSLEVGSHHHHHH

[1011] SEQ ID NO:120-人pIgR胞外结构域2(D2)

SQGPGLLNDTKVYTVDLGRTVTINCPFKTENAQKRKSLYKQIGLYP

[1012] VLVIDSSGYVNPNYTGRIRLDIQGTGQLLFSVVINQLRLSDAGQYLCQAG DDSNSNKKNADLQVLKPEPGSHHHHHH

[1013] SEQ ID NO:121-人pIgR胞外结构域3(D3)

KPEPELVYEDLRGSVTFHCALGPEVANVAKFLCRQSSGENCDVVVN

[1014] TLGKRAPAFEGRILLNPQDKDGSFSVVITGLRKEDAGRYLCGAHSDGQLQ EGSPIQAWQLFVNEESTGSHHHHHH

[1015] SEQ ID NO:122-人pIgR胞外结构域5(D5)

GEPNLKVPGNVTAVLGETLKVPCHFPCKFSSYEKYWCKWNNTGCQ

[1016] ALPSQDEGPSKAFVNCDENSRLVSLTLNLVTRADEGWYWCGVKQGHFY GETAAVYVAVEERGSHHHHHH

[1017] SEQ ID NO:123-人pIgR胞外结构域1-结构域2(D1-D2)

KSPIFGPEEVNSVEGNSVSITCYYPPTSVNRHTRKYWCRQGARGGCI
TLISSEGYVSSKYAGRANLTNFPENGTFVVNIAQLSQDDSGRYKCGLGIN

[1018] SRGLSFDVSLEVSQGPGLLNDTKVYTVDLGRTVTINCPFKTENAQKRKSL
YKQIGLYPVLVIDSSGYVNPNYTGRIRLDIQGTGQLLFSVVINQLRLSDAG
QYLCQAGDDSNSNKKNADLQVLKPGSHHHHHH

[1019] SEQ ID NO:124-人pIgR胞外结构域2-结构域3(D2-D3)

SQGPGLLNDTKVYTVDLGRTVTINCPFKTENAQKRKSLYKQIGLYP
VLVIDSSGYVNPNYTGRIRLDIQGTGQLLFSVVINQLRLSDAGQYLCQAG

[1020] DDSNSNKKNADLQVLKPEPELVYEDLRGSVTFHCALGPEVANVAKFLCR
QSSGENCDVVVNTLGKRAPAFEGRILLNPQDKDGSFSVVITGLRKEDAGR
YLCGAHSDGQLQEGSPIQAWQLFVNGSHHHHHH

[1021] SEQ ID NO:125-人pIgR胞外结构域4-结构域5(D4-D5)

STIPRSPTVVKGVAGSSVAVLCPYNRKESKSIKYWCLWEGAQNGRC
PLLVDSEGWVKAQYEGRLSLLEEPGNGTFTVILNQLTSRDAGFYWCLTN

[1022] GDTLWRTTVEIKIIEGEPNLKVPGNVTAVLGETLKVPCHFPCKFSSYEKY
WCKWNNTGCQALPSQDEGPSKAFVNCDENSRLVSLTLNLVTRADEGWY
WCGVKQGHFYGETAAVYVAVEERGSHHHHHH

[1023] SEQ ID NO:126-D1的pIgR CDR1

[1024] GPQYASY

[1025] SEQ ID NO:127-D1的pIgR CDR2

[1026] DAP

[1027] SEQ ID NO:128-D1的pIgR CDR3

[1028] VGGVWSAD

[1029] SEQ ID NO:129-小鼠pIgR胞外结构域(ECD)

[1030] KSPIFGPQEVSSIEGDSVSITCYYPDTSVNRHTRKYWCRQGASGMCT
TLISSNGYLSKEYSGRANLINFPENNTFVINIEQLTQDDTGSYKCGLGTSN

RGLSFDVSLEVSQVPELPSDTHVYTKDIGRNVTIECPFKRENAPSKKSLCK
KTNQSCELVIDSTEKVNPSYIGRAKLFMKGTDLTVFYVNISHLTHNDAGL
YICQAGEGPSADKKNVDLQVLAPEPELLYKDLRSSVTFECDLGREVANE
AKYLCRMNKETCDVIINTLGKRDPDFEGRILITPKDDNGRFSVLITGLRKE
DAGHYQCGAHSSGLPQEGWPIQTWQLFVNEESTIPNRRSVVKGVTGGSV

[1031] AIACPYNPKESSSLKYWCRWEGDGNGHCPVLVGTQAQVQEEYEGRLAL
FDQPGNGTYTVILNQLTTEDAGFYWCLTNGDSRWRTTIELQVAEATREP
NLEVTPQNATAVLGETFTVSCHYPCKFYSQEKYWCKWSNKGCHILPSHD
EGARQSSVSCDQSSQLVSMTLNPVSKEDEGWYWCGVKQGQTYGETTAI
YIAVEERTRGSSHVNPTDANARAKVALEEEVVDSSISEKENKAIPNPGPFA
NEREIQNVGDQAQENRASGDAGSADGQSRSSSSKHHHHHH

[1032] SEQ ID NO:130-铰链区(AA)

[1033] EPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPK

[1034] SEQ ID NO:131-铰链区(DNA)

[1035] GAACCCAAGACACCAAAACCACAACCACAACCACAACTACAACC
ACAACCCAATCCTACAACAGAATCCAAGAGCCCCAAAA

[1036] SEQ ID NO:132-人IgG1单Fc DNA序列

[1037] AGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTC
CCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTC
ACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTT
CAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGC
CGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTC
ACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAA
GGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCA
AAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCAAGCCCCCA
TCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGAGCTGCCTGGT
CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATG
GGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGGTGCCCGTGCTGGACTCC
GACGGCTCCTTCAGACTCGCAAGCTATCTCACCGTGGACAAGAGCAG
ATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCT
GCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

[1038] SEQ ID NO:146-人IgG1单Fc AA序列

SPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV

[1039] SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTKPPSREEMTKNQVSLSCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTVPVLDSDGSFRLASYLTVDKSRWQQGNVF
SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[1040] SEQ ID NO:133-编码VHH1的DNA序列

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGG
GGGCTCTCTGAAACTCGCCTGTGCAGCACCTGGACTTACCTTCAGTTC
GTATCGCATGGGCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGCAGGAGCGTGAGT
TTGTAGCAGCTATTGATTGGAATGGTCGTGGCACATATTATCGATACT

[1041] ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATCCACCATTTCCAGAGACAACGCC
AAGAACACGATGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGACAC
GGCCGTTTATTACTGTGCAGCAGGTTCGATCGACCTTAACTGGTACGG
CGGCATGGACTACTGGGGCNANGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA

[1042] SEQ ID NO:134-编码VHH2的DNA序列

GAGGTGCAGGTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGG
GGGCTCTCTGAAACTCGCCTGTGCAGCACCTGGACTTACCTTCAGTTC
GTATCGCATGGGCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGCAGGAGCGTGAGT
TTGTAGCAGCTATTGATTGGAATGGTCGTGGCACATATTATCGATACT

[1043] ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATCCACCATTTCCAGAGACAACGCC
AAGAACACGGTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGACAC
GGCCGTTTATTACTGTGCAGCTACTACGGTATTAACTGACCCTAGGGT
TCTTAATGAGTATGCCACATGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTC
CTCA

[1044] SEQ ID NO:135-编码VHH3的DNA序列

CAGTTGCAGCTCGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGCCTGG
GGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAAGCATCTTCAGTAT

[1045] CAATGTTATGGGCTGGTACCGCCAGGCTCCAGGGAAGCAGCGCGAGT
TGGTCGCACGTATTAATGGAGGTGGCATTACACACTATGCAGAGTCCG
TGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACACGGTG
TATCTGCAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGACACAGCCGCATATTA

[1046] CTGTAAGGCAGATGTGTTCGGTAGTAGCGGGTACGTAGAAACCTACT
GGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA

[1047] SEQ ID NO:136-编码VHH4的DNA序列

[1048] GAGGTGCAGGTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGGCTGG
GGGCTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAACCTCCGTCAGTAG
CAATGCCATGGGTTGGTACCGCCAGGCTCCAGGGAAGCAGCGCGAGT
GGGTCGGATTTATTGATCGTATTGCTACCACGACGATTGCAACCTCCG
TGAAGGGCCGATTCGCCATCACCAGAGACAACGCCAAGAACACGGTG
TATCTCCAAATGAGCGGCCTGAAACCTGAGGACACAGCCGTCTATTAC
TGTAATCATCCATTGACCGCTCGGTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCAC
CGTCTCCTCA

[1049] SEQ ID NO:137-编码VHH5的DNA序列

[1050] CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGGCTGG
GGGCTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGACGCACCTTCAGTAG
CTATGCCATGGGCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGAGCGTGAGT
TTGTAGCAGCTATTACCTGGAATGGTGGTACCACATACTATGCAGACT
CCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACACG
GTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGACACGGCCGTTTA
TTACTGTGCAGCAGACCCATTCAACCAAGGCTACTGGGGCCAGGGGA
CCCAGGTCACCGTCTCCTCA

[1051] SEQ ID NO:138-编码VHH6的DNA序列

[1052] GAGGTGCAGCTCGTGGAGTCTGGAGGAGGCTTGGTGCAGGCTGG
GGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAAGCTCCGTCAGTAG
CGATGCCATGGGTTGGTACCGCCAGGCTCCAGGGAATCAGCGCGCGT
GGGTCGCATTTATTTCTGGTGGTGGTACCACAACCTATGCAGACTCCG
TTAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACACCAAGAACACGGTG
TATCTCCACATGAACAGCCTGAAACCTGAAGACACAGCCGTCTATTAC
TGTAATCATCCATTGACGTCTCGGTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACC
GTCTCCTCA

[1053] SEQ ID NO:139-编码VHH7的DNA序列

[1054] GAGGTGCAGGTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGG
GGGGTCTCTGAGACTCGCCTGTGTAGCCTCTAGAAGCATCGGCAGTAT
CAATGTTATGGGCTGGTACCGCCAGGCTCCAGGGAAGCAGCGCGACT
TGGTCGCACGTATTACTGGAGGTGGCAGTACACACTACGCAGAGTCC
GTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACACGGT
GTATCTGCAAATGAACAGCCTGGAACCTGAGGACACGGCCGTTTATT
ACTGTGCGTCAATGGTAAACCCTATCATTACGGCTTGGGGTACGATTG
GTGTGCGCGAGATTCCCGACTATGACTACTGGGGCCAGGGGACCCAG
GTCACCGTCTCCTCA

[1055] SEQ ID NO:140-编码VHH10的DNA序列

[1056] GAGGTGCAGGTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGGCTGG
GGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCACCCG
CTATGCCATGGGCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGAGCGATCGT
TTGTAGCAGCTATTAGCTGGAGTGGTAGTAGCGCAGGCTATGGAGAC
TCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACAC
GCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTAAAACCTGAGGACACGGCCGTTT
ATTACTGTGCAGCAGACCCATTCAACCAAGGCTACTGGGGCCAGGGG
ACCCAGGTCACCGTCTCCTCA

[1057] SEQ ID NO:141-编码VHH11的DNA序列

[1058] GAGGTGCAGGTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGG
GGGCTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGACGCACCTTCACTAC
CTATCGCATGGGCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGAGCGAGAGT
TTGTAGCAGCTATTCGCTGGAGTGGTGGTCGCACATTGTATGCAGACT
CCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACACA
GCGTATCTGCAAATGAACAACCTGAGACCTGAGGACACGGCCGTTTA
TTACTGTGCAGCAGATCTAGCCGAGTATAGTGGTACTTACTCCAGCCC
TGCGGACTCCCCCGCTGGGTATGACTACTGGGGCCAGGGGACCCAGG
TCACCGTCTCCTCA

[1059] SEQ ID NO:142-编码VHH12的DNA序列

[1060] CAGGTGCAGCTGGTCGAAACTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGG

[1061] GGACTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGACGCACCCTCAGCTT
CAACACCTATGCCATGGGCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGAGC
GTGAATTTGTAGCCTCTATTACCTGGAATGGTGGAAGCACAAGCTACG
CAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCACCAGAGACAACGCCAAG
AACACGGCTACTCTGCGAATGAATAGCCTGCAGCCCGACGACACGGC
CGTGTATTACTGTGCAGCAGCCCGATACTATGTGAGTGGTACTTACTT
CCCCGCGAATTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA

[1062] SEQ ID NO:143-人pIgR的示例性茎序列

[1063] EKAVADTRDQADGSRASVDSGSSEEQGGSSR

[1064] SEQ ID NO:144-小鼠pIgR的示例性茎序列

[1065] EREIQNVGDQAQENRASGDAGSADGQSRSSSSK

[1066] SEQ ID NO:145-小鼠pIgR的示例性茎序列

[1067] EREIQNVRDQAQENRASGDAGSADGQSRSSSSK

[1068] SEQ ID NO:147-示例性柔性接头1

[1069] (EAAAK)n,其中n是1至20的整数

[1070] SEQ ID NO:148-示例性柔性接头2

[1071] (GGGGS)n,其中n是1至20的整数

[1072] SEQ ID NO:149-示例性柔性接头3

[1073] (GGGS)n,其中n是1至20的整数

[1074] SEQ ID NO:150-示例性铰链区1

[1075] EPKSCDKTHTCPPCP

[1076] SEQ ID NO:151-示例性铰链区2

[1077] ERKCCVECPPCP

[1078] SEQ ID NO:152-示例性铰链区3

[1079] ELKTPLGDTTHTCPRCP(EPKSCDTPPPCPRCP)$_3$

[1080] SEQ ID NO:153-示例性铰链区4

[1081] ESKYGPPCPSCP

[1082] SEQ ID NO:154-VHH1和VHH2 CDR1(示例性)

[1083] GLTFSSYRMG

[1084] SEQ ID NO:155-VHH3 CDR1(示例性)

[1085] GSIFSINVMG

[1086] SEQ ID NO:156-VHH4 CDR1(示例性)

[1087] GTSVSSNAMG

[1088] SEQ ID NO:157-VHH5 CDR1(示例性)

[1089] GRTFSSYAMG

[1090] SEQ ID NO:158-VHH6 CDR1(示例性)

[1091] GSSVSSDAMG

[1092] SEQ ID NO:159-VHH7 CDR1(示例性)

[1093] RSIGSINVMG

[1094] SEQ ID NO:160-VHH9 CDR1(示例性)

[1095] GRTFSTYRMG

[1096] SEQ ID NO:161-VHH10 CDR1(示例性)

[1097] GFTFTRYAMG

[1098] SEQ ID NO:162-VHH11 CDR1(示例性)

[1099] GRTFTTYRMG

[1100] SEQ ID NO:163-VHH12 CDR1(示例性)

[1101] GRTLSFNTYAMG

[1102] SEQ ID NO:164-VHH1和VHH2 CDR1(Contact)

[1103] SSYRMG

[1104] SEQ ID NO:165-VHH3 CDR1(Contact)

[1105] SINVMG

[1106] SEQ ID NO:166-VHH4 CDR1(Contact)

[1107] SSNAMG

[1108] SEQ ID NO:167-VHH5 CDR1(Contact)

[1109] SSYAMG

[1110] SEQ ID NO:168-VHH6 CDR1(Contact)

[1111] SSDAMG

[1112] SEQ ID NO:169-VHH7 CDR1(Contact)

[1113] SINVMG

[1114] SEQ ID NO:170-VHH9 CDR1(Contact)

[1115] STYRMG

[1116] SEQ ID NO:171-VHH10 CDR1(Contact)

[1117] TRYAMG

[1118] SEQ ID NO:172-VHH11 CDR1(Contact)

[1119] TTYRMG

[1120] SEQ ID NO:173-VHH12 CDR1(Contact)

[1121] SFNTYAMG

[1122] SEQ ID NO:174-VHH1和VHH2 CDR1(AbM)

[1123] GLTFSSYRMG

[1124] SEQ ID NO:175-VHH3 CDR1(AbM)

[1125] GSIFSINVMG

[1126] SEQ ID NO:176-VHH4 CDR1(AbM)

[1127] GTSVSSNAMG

[1128] SEQ ID NO:177-VHH5 CDR1(AbM)

[1129] GRTFSSYAMG

[1130] SEQ ID NO:178-VHH6 CDR1(AbM)

[1131] GSSVSSDAMG

[1132] SEQ ID NO:179-VHH7 CDR1(AbM)

[1133] RSIGSINVMG

[1134] SEQ ID NO:180-VHH9 CDR1(AbM)

[1135] GRTFSTYRMG

[1136] SEQ ID NO:181-VHH10 CDR1(AbM)

[1137] GFTFTRYAMG

[1138] SEQ ID NO:182-VHH11 CDR1(AbM)

[1139] GRTFTTYRMG

[1140] SEQ ID NO:183-VHH12 CDR1(AbM)

[1141] GRTLSFNTYAMG

[1142] SEQ ID NO:184-VHH1和VHH2 CDR2(示例性)

[1143] AIDWNGRGTYYRYYADSVKG

[1144] SEQ ID NO:185-VHH3 CDR2(示例性)

[1145] RINGGGITHYAESVKG

[1146] SEQ ID NO:186-VHH4 CDR2(示例性)

[1147] FIDRIATTTIATSVKG

[1148] SEQ ID NO:187-VHH5 CDR2(示例性)

[1149] AITWNGGTTYYADSVKG

[1150] SEQ ID NO:188-VHH6 CDR2(示例性)

[1151] FISGGGTTTYADSVKG

[1152] SEQ ID NO:189-VHH7 CDR2(示例性)

[1153] RITGGGSTHYAESVKG

[1154] SEQ ID NO:190-VHH9 CDR2(示例性)

[1155] AISWSGGSTTYADPVKG

[1156] SEQ ID NO:191-VHH10 CDR2(示例性)

[1157] AISWSGSSAGYGDSVKG

[1158] SEQ ID NO:192-VHH11 CDR2(示例性)

[1159] AIRWSGGRTLYADSVKG

[1160] SEQ ID NO:193-VHH12 CDR2(示例性)

[1161] SITWNGGSTSYADSVKG

[1162] SEQ ID NO:194-VHH1和VHH2 CDR2(Contact)

[1163] FVAAIDWNGRGTYYRY

[1164] SEQ ID NO:195-VHH3 CDR2(Contact)

[1165] LVARINGGGITH

[1166] SEQ ID NO:196-VHH4 CDR2(Contact)

[1167] WVGFIDRIATTT

[1168] SEQ ID NO:197-VHH5 CDR2(Contact)

[1169] FVAAITWNGGTTY

[1170] SEQ ID NO:198-VHH6 CDR2(Contact)

[1171] WVAFISGGGTTT

[1172] SEQ ID NO:199-VHH7 CDR2(Contact)

[1173] LVARITGGGSTH

[1174] SEQ ID NO:200-VHH9 CDR2(Contact)

[1175] FVAAISWSGGSTT

[1176] SEQ ID NO:201-VHH10 CDR2(Contact)

[1177] FVAAISWSGSSAG

[1178] SEQ ID NO:202-VHH11CDR2(Contact)

[1179] FVAAIRWSGGRTL

[1180] SEQ ID NO:203-VHH12 CDR2(Contact)

[1181] FVASITWNGGSTS

[1182] SEQ ID NO:204-VHH1 and VHH2 CDR2(AbM)

[1183] AIDWNGRGTYYRY

[1184] SEQ ID NO:205-VHH3 CDR2(AbM)

[1185] RINGGGITH

[1186] SEQ ID NO:206-VHH4 CDR2(AbM)

[1187] FIDRIATTT

[1188] SEQ ID NO:207-VHH5 CDR2(AbM)

[1189] AITWNGGTTY

[1190] SEO ID NO:208-VHH6 CDR2(AbM)

[1191] FISGGGTTT

[1192] SEQ ID NO:209-VHH7 CDR2(AbM)

[1193] RITGGGSTH

[1194] SEQ ID NO:210-VHH9 CDR2(AbM)

[1195] AISWSGGSTT

[1196] SEQ ID NO:211-VHH10 CDR2(AbM)

[1197] AISWSGSSAG

[1198] SEQ ID NO:212-VHH11 CDR2(AbM)

[1199] AIRWSGGRTL

[1200] SEQ ID NO:213-VHH12CDR2(AbM)

[1201] SITWNGGSTS

[1202] SEQ ID NO:214-VHH1 CDR3(示例性)

[1203] GSIDLNWYGGMDY

[1204] SEQ ID NO:215-VHH2 CDR3(示例性)

[1205] TTVLTDPRVLNEYAT

[1206] SEQ ID NO:216-VHH3 CDR3(示例性)

[1207] DVFGSSGYVETY

[1208] SEQ ID NO:217-VHH4 CDR3(示例性)

[1209] PLTAR

[1210] SEQ ID NO:218-VHH5 CDR3(示例性)

[1211] DPFNQGY

[1212] SEQ ID NO:219-VHH6 CDR3(示例性)

[1213] PLTSR

[1214] SEQ ID NO:220-VHH7 CDR3(示例性)

[1215] MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY

[1216] SEQ ID NO:221-VHH9 CDR3(示例性)

[1217] QRGY

[1218] SEQ ID NO:222-VHH10 CDR3(示例性)

[1219] DPFNQGY

[1220] SEQ ID NO:223-VHH11CDR3(示例性)

[1221] DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY

[1222] SEQ ID NO:224-VHH12 CDR3(示例性)

[1223] ARYYVSGTYFPANY

[1224] SEQ ID NO:225-VHH1 CDR3(Contact)

[1225] AAGSIDLNWYGGMD

[1226] SEQ ID NO:226-VHH2 CDR3(Contact)

[1227] AATTVLTDPRVLNEYA

[1228] SEQ ID NO:227-VHH3 CDR3(Contact)

[1229] KADVFGSSGYVET

[1230] SEQ ID NO:228-VHH4 CDR3(Contact)

[1231] NHPLTA

[1232] SEQ ID NO:229-VHH5 CDR3(Contact)

[1233] AADPFNQG

[1234] SEQ ID NO:230-VHH6 CDR3(Contact)

[1235] NHPLTS

[1236] SEQ ID NO:231-VHH7 CDR3(Contact)

[1237] ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD

[1238] SEQ ID NO:232-VHH9 CDR3(Contact)

[1239] NDQRG

[1240] SEQ ID NO:233-VHH10 CDR3(Contact)

[1241] AADPFNQG

[1242] SEQ ID NO:234-VHH11 CDR3(Contact)

[1243] AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD

[1244] SEQ ID NO:235-VHH12 CDR3(Contact)

[1245] AAARYYVSGTYFPAN

[1246] SEQ ID NO:236-VHH1 CDR3(AbM)

[1247] GSIDLNWYGGMDY

[1248] SEQ ID NO:237-VHH2 CDR3(AbM)

[1249] TTVLTDPRVLNEYAT

[1250] SEQ ID NO:238-VHH3 CDR3(AbM)

[1251] DVFGSSGYVETY

[1252] SEQ ID NO:239-VHH4 CDR3(AbM)

[1253] PLTAR

[1254] SEQ ID NO:240-VHH5 CDR3(AbM)

[1255] DPFNQGY

[1256] SEQ ID NO:241-VHH6 CDR3(AbM)

[1257] PLTSR

[1258] SEQ ID NO:242-VHH7 CDR3(AbM)

[1259] MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY

[1260] SEQ ID NO:243-VHH9 CDR3(AbM)

[1261] QRGY

[1262] SEQ ID NO:244-VHH10 CDR3(AbM)

[1263] DPFNQGY

[1264] SEQ ID NO:245-VHH11 CDR3(AbM)

[1265] DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY

[1266] SEQ ID NO:246-VHH12 CDR3(AbM)

[1267] ARYYVSGTYFPANY

[1268] SEQ ID NO:247-hpIgR_073

EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQ

[1269] REWVGFIDRIATTTIATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYY CXHPXTARWGQGTQVTVSS

[1270] SEQ ID NO:248-hpIgR_201

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRPNSKYAMAWFRRAPGKER

[1271] EFQAAINWSGANTYYGDSVKGRFTISRDNAKNTVTLQMNNLNPEDTAV YYCAADNRAYTYHTFDYYQTDASYVYWGQGTQVTVSS

[1272] SEQ ID NO:249-mpIgR_349

QLQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSTSTMGWFRQAPGKERE

[1273] FVAAIQWSSASASTYYYYADSVKGRFTISRDNARNTVSLQMNSLKPEDT AVYYCANLVFRVGALKERDDYWGQGTQVTVSS

[1274] SEQ ID NO:250-hpIgR_D1

KSPIFGPEEVNSVEGNSVSITCYYPPTSVNRHTRKYWCRQGARGGCI

[1275] TLISSEGYVSSKYAGRANLTNFPENGTFVVNIAQLSQDDSGRYKCGLGIN SRGLSFDVSLEVS

[1276] SEQ ID NO:251-mpIgR_D1

KSPIFGPQEVSSIEGDSVSITCYYPDTSVNRHTRKYWCRQGASGMCT

[1277] TLISSNGYLSKEYSGRANLINFPENNTFVINIEQLTQDDTGSYKCGLGTSN RGLSFDVSLEVS

[1278] SEQ ID NO:252-共有序列

KSPIFGPX$_1$EVX$_2$SIEGX$_3$SVSITCYYPX$_4$TSVNRHTRKYWCRQGAX$_5$G

[1279] X$_6$CX$_7$TLISSX$_8$GYLSX$_9$X$_{10}$YAGRANLX$_{11}$NFPENX$_{12}$TFVINIX$_{13}$QLSQDDSG X$_{14}$YKCGLGX$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$RGLSFDVSLEVS

[1280] X$_1$为E或Q,X$_2$为N或S,X$_3$为N或D,X$_4$为P或D,X$_5$为R或S,X$_6$为G或M,X$_7$为I或T,X$_8$为E或N,X$_9$为S或K,X$_{10}$为K或E,X$_{11}$为T或I,X$_{12}$为G或N,X$_{13}$为A或E,X$_{14}$为R或S,X$_{15}$为I或T,X$_{16}$为N或S,X$_{17}$为S或N

[1281] SEQ ID NO:253-tpIgR_D1

RVTTVGDLAVLEGRSVMIPCHYGPQYASYVKYWCRGSVKDLCTSL

[1282] VRSDAPRGPAAAGEDKVVMFDDPVQQVFTVTMTELQKEDSGWYWCGV EVGGVWSADVTASLHINVIQG

[1283] SEQ ID NO:254-hpIgR_D1

KSPIFGPEEVNSVEGNSVSITCYYPPTSVNRHTRKYWCRQGARGGCI

[1284] TLISSEGYVSSKYAGRANLTNFPENGTFVVNIAQLSQDDSGRYKCGLGIN SRGLSFDVSLEV

[1285] SEQ ID NO:255-hD1_tCDR1

KSPIFGPEEVNSVEGNSVSITCYYGPQYASYRKYWCRQGARGGCITL

[1286] ISSEGYVSSKYAGRANLTNFPENGTFVVNIAQLSQDDSGRYKCGLGINSR GLSFDVSLEV

[1287] SEQ ID NO:256-hD1_tCDR2

KSPIFGPEEVNSVEGNSVSITCYYPPTSVNRHTRKYWCRQGARGGCI

[1288] TLISSDAPVSSKYAGRANLTNFPENGTFVVNIAQLSQDDSGRYKCGLGINS RGLSFDVSLEV

[1289] SEQ ID NO:257-hD1_tCDR3

KSPIFGPEEVNSVEGNSVSITCYYPPTSVNRHTRKYWCRQGARGGCI

[1290] TLISSEGYVSSKYAGRANLTNFPENGTFVVNIAQLSQDDSGRYKCGLGVG GVWSADLSFDVSLEV

[1291] SEQ ID NO:258-VHH9 CDR1(Kabat)

[1292] FTTYRMG

[1293] SEQ ID NO:259-VHH10 CDR1(Kabat)-另选形式

[1294] TYRMG

[1295] SEQ ID NO:260-VHH1和VHH2 CDR2(Chothia)-另选形式

[1296] WNGRGTY

[1297] SEQ ID NO:261-VHH3 CDR2(Chothia)-另选形式

[1298] GGG

[1299] SEQ ID NO:262-VHH4 CDR2(Chothia)-另选形式

[1300] RIA

[1301] SEQ ID NO:263-VHH5 CDR2(Chothia)-另选形式

[1302] WNGG

[1303] SEQ ID NO:264-VHH6 CDR2(Chothia)-另选形式

[1304] GGG

[1305] SEQ ID NO:265-VHH7 CDR2(Chothia)-另选形式

[1306] GGG

[1307] SEQ ID NO:266-VHH9 CDR2(Chothia)-另选形式

[1308] WSGG

[1309] SEQ ID NO:267-VHH10 CDR2(Chothia)-另选形式

[1310] WSGS

[1311] SEQ ID NO:268-VHH11 CDR2(Chothia)-另选形式

[1312] WSGG

[1313] SEQ ID NO:269-VHH12 CDR2(Chothia)-另选形式

[1314] WNGG

[1315] SEQ ID NO:270-VHH1和VHH2 CDR2(IMGT)-另选形式

[1316] IDWNGRGTYYR

[1317] SEQ ID NO:271-VHH9 CDR3(Kabat)-另选形式

[1318] QRGY

[1319] SEQ ID NO:272-VHH1 CDR3(Chothia)-另选形式

[1320] SIDLNWYGGMD

[1321] SEQ ID NO:273-VHH2 CDR3(Chothia)-另选形式

[1322] TVLTDPRVLNEYA

[1323] SEQ ID NO:274-VHH3 CDR3(Chothia)-另选形式

[1324] VFGSSGYVET

[1325] SEQ ID NO:275-VHH4 CDR3(Chothia)-另选形式

[1326] LTA

[1327] SEQ ID NO:276-VHH5 CDR3(Chothia)-另选形式

[1328] PFNQG

[1329] SEQ ID NO:277-VHH6 CDR3(Chothia)-另选形式

[1330] LTS

[1331] SEQ ID NO:278-VHH7 CDR3(Chothia)-另选形式

[1332] VNPIITAWGTIGVREIPDYD

[1333] SEQ ID NO:279-VHH9 CDR3(Chothia)-另选形式

[1334] RG

[1335] SEQ ID NO:280-VHH10 CDR3(Chothia)-另选形式

[1336] PFNQG

[1337] SEQ ID NO:281-VHH11 CDR3(Chothia)-另选形式

[1338] LAEYSGTYSSPADSPAGYD

[1339] SEQ ID NO:282-VHH12 CDR3(Chothia)-另选形式

[1340] RYYVSGTYFPAN

[1341] SEQ ID NO:283-VHH1 CDR3(IMGT)-另选形式

[1342] AAGSIDLNWYGGMDY

[1343] SEQ ID NO:284-VHH2 CDR3(IMGT)-另选形式

[1344] AATTVLTDPRVLNEYAT

序列表

[0001]

<110> JANSSEN BIOTECH, INC.

<120> 用于多向生物转运的材料和方法
<130> 14620-204-228
<140>
<141>
<150> 62/940,232
<151> 2019-11-25
<150> 62/940,228
<151> 2019-11-25
<150> 62/940,220
<151> 2019-11-25
<150> 62/940,208
<151> 2019-11-25
<150> 62/940,206
<151> 2019-11-25
<150> 62/940,200
<151> 2019-11-25
<150> 62/940,196
<151> 2019-11-25
<150> 62/882,387
<151> 2019-08-02
<150> 62/882,361
<151> 2019-08-02
<150> 62/882,346
<151> 2019-08-02
<150> 62/882,291
<151> 2019-08-02
<160> 284
<170> PatentIn 版本 3.5
<210> 1
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH1 和 VHH2 CDR1 (Kabat)
<400> 1
Ser Tyr Arg Met Gly
1 5
<210> 2

<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH3 CDR1 (Kabat)
<400> 2
Ile Asn Val Met Gly
1 5
<210> 3
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH4 CDR1 (Kabat)
<400> 3
Ser Asn Ala Met Gly
1 5
<210> 4
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH5 CDR1 (Kabat)
<400> 4
Ser Tyr Ala Met Gly
1 5
<210> 5
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH6 CDR1 (Kabat)

[0002]

[0003]

<400> 5
Ser Asp Ala Met Gly
1 5
<210> 6
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH7 CDR1 (Kabat)
<400> 6
Ile Asn Val Met Gly
1 5
<210> 7
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH9 CDR1 (Kabat)
<400> 7
Thr Tyr Arg Met Gly
1 5
<210> 8
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH10 CDR1 (Kabat)
<400> 8
Arg Tyr Ala Met Gly
1 5
<210> 9
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

[0004]

<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH12 CDR1 (Kabat)
<400> 9
Phe Asn Thr Tyr Ala Met Gly
1 5
<210> 10
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH1 和 VHH2 CDR1 (Chothia)
<400> 10
Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr
1 5
<210> 11
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH3 CDR1 (Chothia)
<400> 11
Gly Ser Ile Phe Ser Ile Asn
1 5
<210> 12
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH4 CDR1 (Chothia)
<400> 12
Gly Thr Ser Val Ser Ser Asn
1 5
<210> 13

[0005]

<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH5 CDR1 (Chothia)
<400> 13
Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
1 5
<210> 14
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH6 CDR1 (Chothia)
<400> 14
Gly Ser Ser Val Ser Ser Asp
1 5
<210> 15
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH7 CDR1 (Chothia)
<400> 15
Arg Ser Ile Gly Ser Ile Asn
1 5
<210> 16
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH9 CDR1 (Chothia)

<400> 16
Gly Arg Thr Phe Ser Thr Tyr
1 5
<210> 17
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH10 CDR1 (Chothia)
<400> 17
Gly Phe Thr Phe Thr Arg Tyr
1 5
<210> 18
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

[0006]

<220>
<223> VHH11 CDR1 (Chothia)
<400> 18
Gly Arg Thr Phe Thr Thr Tyr
1 5
<210> 19
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH12 CDR1 (Chothia)
<400> 19
Gly Arg Thr Leu Ser Phe Asn Thr Tyr
1 5
<210> 20
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

[0007]

<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH1 和 VHH2 CDR1 (IMGT)
<400> 20
Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr Arg
1 5
<210> 21
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH3 CDR1 (IMGT)
<400> 21
Gly Ser Ile Phe Ser Ile Asn Val
1 5
<210> 22
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH4 CDR1 (IMGT)
<400> 22
Gly Thr Ser Val Ser Ser Asn Ala
1 5
<210> 23
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH5 CDR1 (IMGT)
<400> 23
Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
1 5
<210> 24

[0008]

<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH6 CDR1 (IMGT)
<400> 24
Gly Ser Ser Val Ser Ser Asp Ala
1 5
<210> 25
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH7 CDR1 (IMGT)
<400> 25
Arg Ser Ile Gly Ser Ile Asn Val
1 5
<210> 26
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH9 CDR1 (IMGT)
<400> 26
Gly Arg Thr Phe Ser Thr Tyr Arg
1 5
<210> 27
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH10 CDR1 (IMGT)

<400> 27
Gly Phe Thr Phe Thr Arg Tyr Ala
1 5
<210> 28
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH11 CDR1 (IMGT)
<400> 28
Gly Arg Thr Phe Thr Thr Tyr Arg
1 5
<210> 29
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
[0009]
<220>
<223> VHH12 CDR1 (IMGT)
<400> 29
Gly Arg Thr Leu Ser Phe Asn Thr Tyr Ala
1 5 10
<210> 30
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH1 和 VHH2 CDR2 (Kabat)
<400> 30
Ala Ile Asp Trp Asn Gly Arg Gly Thr Tyr Tyr Arg Tyr Tyr Ala Asp
1 5 10 15
Ser Val Lys Gly
20
<210> 31
<211> 16
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH3 CDR2 (Kabat)
<400> 31
Arg Ile Asn Gly Gly Gly Ile Thr His Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly
1 5 10 15
<210> 32
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH4 CDR2 (Kabat)
<400> 32
Phe Ile Asp Arg Ile Ala Thr Thr Thr Ile Ala Thr Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

[0010]

<210> 33
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH5 CDR2 (Kabat)
<400> 33
Ala Ile Thr Trp Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 34
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH6 CDR2 (Kabat)

<400> 34
Phe Ile Ser Gly Gly Gly Thr Thr Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15
<210> 35
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH7 CDR2 (Kabat)
<400> 35
Arg Ile Thr Gly Gly Gly Ser Thr His Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly
1 5 10 15
<210> 36
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
[0011]
<220>
<223> VHH9 CDR2 (Kabat)
<400> 36
Ala Ile Ser Trp Ser Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Asp Pro Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 37
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH10 CDR2 (Kabat)
<400> 37
Ala Ile Ser Trp Ser Gly Ser Ser Ala Gly Tyr Gly Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 38

<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH11 CDR2 (Kabat)
<400> 38
Ala Ile Arg Trp Ser Gly Gly Arg Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 39
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH12 CDR2 (Kabat)
<400> 39
Ser Ile Thr Trp Asn Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

[0012]

<210> 40
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH1 和 VHH2 CDR2 (Chothia)
<400> 40
Asp Trp Asn Gly Arg Gly Thr Tyr Tyr
1 5
<210> 41
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

[0013]

<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH3 CDR2 (Chothia)
<400> 41
Asn Gly Gly Gly Ile
1 5
<210> 42
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH4 CDR2 (Chothia)
<400> 42
Asp Arg Ile Ala Thr
1 5
<210> 43
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH5 CDR2 (Chothia)
<400> 43
Thr Trp Asn Gly Gly Thr
1 5
<210> 44
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH6 CDR2 (Chothia)
<400> 44
Ser Gly Gly Gly Thr
1 5
<210> 45

[0014]

<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH7 CDR2 (Chothia)
<400> 45
Thr Gly Gly Gly Ser
1 5
<210> 46
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH9 CDR2 (Chothia)
<400> 46
Ser Trp Ser Gly Gly Ser
1 5
<210> 47
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH10 CDR2 (Chothia)
<400> 47
Ser Trp Ser Gly Ser Ser
1 5
<210> 48
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH11 CDR2 (Chothia)

<400> 48
Arg Trp Ser Gly Gly Arg
1 5
<210> 49
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH12 CDR2 (Chothia)
<400> 49
Thr Trp Asn Gly Gly Ser
1 5
<210> 50
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH1 和 VHH2 CDR2 (IMGT)
<400> 50
Ile Asp Trp Asn Gly Arg Gly Thr Tyr Tyr
1 5 10
<210> 51
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH3 CDR2 (IMGT)
<400> 51
Ile Asn Gly Gly Gly Ile Thr
1 5
<210> 52
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

[0015]

[0016]

<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH4 CDR2 (IMGT)
<400> 52
Ile Asp Arg Ile Ala Thr Thr
1 5
<210> 53
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH5 CDR2 (IMGT)
<400> 53
Ile Thr Trp Asn Gly Gly Thr Thr
1 5
<210> 54
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH6 CDR2 (IMGT)
<400> 54
Ile Ser Gly Gly Gly Thr Thr
1 5
<210> 55
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH7 CDR2 (IMGT)
<400> 55
Ile Thr Gly Gly Gly Ser Thr
1 5
<210> 56

[0017]

<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH9 CDR2 (IMGT)
<400> 56
Ile Ser Trp Ser Gly Gly Ser Thr
1 5
<210> 57
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH10 CDR2 (IMGT)
<400> 57
Ile Ser Trp Ser Gly Ser Ser Ala
1 5
<210> 58
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH11 CDR2 (IMGT)
<400> 58
Ile Arg Trp Ser Gly Gly Arg Thr
1 5
<210> 59
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH12 CDR2 (IMGT)

<400> 59
Ile Thr Trp Asn Gly Gly Ser Thr
1 5
<210> 60
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH1 CDR3 (Kabat)
<400> 60
Gly Ser Ile Asp Leu Asn Trp Tyr Gly Gly Met Asp Tyr
1 5 10
<210> 61
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽

[0018]

<220>
<223> VHH2 CDR3 (Kabat)
<400> 61
Thr Thr Val Leu Thr Asp Pro Arg Val Leu Asn Glu Tyr Ala Thr
1 5 10 15
<210> 62
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH3 CDR3 (Kabat)
<400> 62
Asp Val Phe Gly Ser Ser Gly Tyr Val Glu Thr Tyr
1 5 10
<210> 63
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH4 CDR3 (Kabat)
<400> 63
Pro Leu Thr Ala Arg
1 5
<210> 64
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH5 CDR3 (Kabat)
<400> 64
Asp Pro Phe Asn Gln Gly Tyr
1 5
<210> 65
<211> 5
<212> PRT
[0019] <213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH6 CDR3 (Kabat)
<400> 65
Pro Leu Thr Ser Arg
1 5
<210> 66
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH7 CDR3 (Kabat)
<400> 66
Met Val Asn Pro Ile Ile Thr Ala Trp Gly Thr Ile Gly Val Arg Glu
1 5 10 15
Ile Pro Asp Tyr Asp Tyr

20

<210> 67
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH9 CDR3 (Kabat)
<400> 67
Asp Gln Arg Gly Tyr
1 5
<210> 68
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH10 CDR3 (Kabat)

[0020]

<400> 68
Asp Pro Phe Asn Gln Gly Tyr
1 5
<210> 69
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH11 CDR3 (Kabat)
<400> 69
Asp Leu Ala Glu Tyr Ser Gly Thr Tyr Ser Ser Pro Ala Asp Ser Pro
1 5 10 15
Ala Gly Tyr Asp Tyr
20
<210> 70
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

[0021]

<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH12 CDR3 (Kabat)
<400> 70
Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Gly Thr Tyr Phe Pro Ala Asn Tyr
1 5 10
<210> 71
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH1 CDR3 (Chothia)
<400> 71
Gly Ser Ile Asp Leu Asn Trp Tyr Gly Gly Met Asp Tyr
1 5 10
<210> 72
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH2 CDR3 (Chothia)
<400> 72
Thr Thr Val Leu Thr Asp Pro Arg Val Leu Asn Glu Tyr Ala Thr
1 5 10 15
<210> 73
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH3 CDR3 (Chothia)
<400> 73
Asp Val Phe Gly Ser Ser Gly Tyr Val Glu Thr Tyr
1 5 10
<210> 74

[0022]

<210> 5
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH4 CDR3 (Chothia)
<400> 74
Pro Leu Thr Ala Arg
1 5
<210> 75
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH5 CDR3 (Chothia)
<400> 75
Asp Pro Phe Asn Gln Gly Tyr
1 5
<210> 76
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH6 CDR3 (Chothia)
<400> 76
Pro Leu Thr Ser Arg
1 5
<210> 77
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH7 CDR3 (Chothia)

<400> 77
Met Val Asn Pro Ile Ile Thr Ala Trp Gly Thr Ile Gly Val Arg Glu
1 5 10 15
Ile Pro Asp Tyr Asp Tyr
20
<210> 78
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH9 CDR3 (Chothia)
<400> 78
Asp Gln Arg Gly Tyr
1 5
<210> 79
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH10 CDR3 (Chothia)
<400> 79
Asp Pro Phe Asn Gln Gly Tyr
1 5
<210> 80
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH11 CDR3 (Chothia)
<400> 80
Asp Leu Ala Glu Tyr Ser Gly Thr Tyr Ser Ser Pro Ala Asp Ser Pro
1 5 10 15
Ala Gly Tyr Asp Tyr
20
<210> 81

[0023]

<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH12 CDR3 (Chothia)
<400> 81
Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Gly Thr Tyr Phe Pro Ala Asn Tyr
1 5 10
<210> 82
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH1 CDR3 (IMGT)
<400> 82

[0024]

Cys Ala Ala Gly Ser Ile Asp Leu Asn Trp Tyr Gly Gly Met Asp Tyr
1 5 10 15
<210> 83
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH2 CDR3 (IMGT)
<400> 83
Cys Ala Ala Thr Thr Val Leu Thr Asp Pro Arg Val Leu Asn Glu Tyr
1 5 10 15
Ala Thr

<210> 84
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽

<220>
<223> VHH3 CDR3 (IMGT)
<400> 84
Lys Ala Asp Val Phe Gly Ser Ser Gly Tyr Val Glu Thr Tyr
1 5 10
<210> 85
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH4 CDR3 (IMGT)
<400> 85
Asn His Pro Leu Thr Ala Arg
1 5
<210> 86
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
[0025]
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH5 CDR3 (IMGT)
<400> 86
Ala Ala Asp Pro Phe Asn Gln Gly Tyr
1 5
<210> 87
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH6 CDR3 (IMGT)
<400> 87
Asn His Pro Leu Thr Ser Arg
1 5
<210> 88
<211> 24
<212> PRT

[0026]

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH7 CDR3 (IMGT)
<400> 88
Ala Ser Met Val Asn Pro Ile Ile Thr Ala Trp Gly Thr Ile Gly Val
1 5 10 15
Arg Glu Ile Pro Asp Tyr Asp Tyr
20
<210> 89
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH9 CDR3 (IMGT)
<400> 89
Asn Asp Gln Arg Gly Tyr
1 5
<210> 90
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH10 CDR3 (IMGT)
<400> 90
Ala Ala Asp Pro Phe Asn Gln Gly Tyr
1 5
<210> 91
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH11 CDR3 (IMGT)

<400> 91
Ala Ala Asp Leu Ala Glu Tyr Ser Gly Thr Tyr Ser Ser Pro Ala Asp
1 5 10 15
Ser Pro Ala Gly Tyr Asp Tyr
20
<210> 92
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH12 CDR3 (IMGT)
<400> 92
Ala Ala Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Gly Thr Tyr Phe Pro Ala Asn Tyr
1 5 10 15
<210> 93
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列
[0027] <220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> VHH1 - VH 氨基酸序列
<400> 93
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ala Cys Ala Ala Pro Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Arg Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Gln Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asp Trp Asn Gly Arg Gly Thr Tyr Tyr Arg Tyr Tyr Ala
50 55 60
Asp Ser Val Lys Gly Arg Ser Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
65 70 75 80
Thr Met Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val
85 90 95
Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ser Ile Asp Leu Asn Trp Tyr Gly Gly Met
100 105 110
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 94

<211> 127
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> VHH2 - VH 氨基酸序列
<400> 94

Glu Val Gln Val Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ala Cys Ala Ala Pro Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Arg Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Gln Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asp Trp Asn Gly Arg Gly Thr Tyr Tyr Arg Tyr Tyr Ala
50 55 60
Asp Ser Val Lys Gly Arg Ser Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
65 70 75 80
Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val
85 90 95
Tyr Tyr Cys Ala Ala Thr Thr Val Leu Thr Asp Pro Arg Val Leu Asn
100 105 110
Glu Tyr Ala Thr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

[0028]

<210> 95
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> VHH3 - VH 氨基酸序列
<400> 95

Gln Leu Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Ser Ile Asn
20 25 30
Val Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
35 40 45
Ala Arg Ile Asn Gly Gly Gly Ile Thr His Tyr Ala Glu Ser Val Lys
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80
Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys Lys
85 90 95
Ala Asp Val Phe Gly Ser Ser Gly Tyr Val Glu Thr Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 96
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> VHH4 - VH 氨基酸序列
<400> 96
Glu Val Gln Val Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Thr Ser Val Ser Ser Asn
20 25 30
Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Trp Val
35 40 45
Gly Phe Ile Asp Arg Ile Ala Thr Thr Thr Ile Ala Thr Ser Val Lys
50 55 60
Gly Arg Phe Ala Ile Thr Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Ser Gly Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95
His Pro Leu Thr Ala Arg Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
100 105 110
Ser

[0029]

<210> 97
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> VHH5 - VH 氨基酸序列
<400> 97
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly

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

<210> 98
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽

[0030]

<220>
<223> VHH6 - VH氨基酸序列
<400> 98
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ser Ser Val Ser Ser Asp
20 25 30
Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Asn Gln Arg Ala Trp Val
35 40 45
Ala Phe Ile Ser Gly Gly Gly Thr Thr Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80
His Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95
His Pro Leu Thr Ser Arg Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
100 105 110
Ser

<210> 99
<211> 130
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> VHH7 - VH 氨基酸序列
<400> 99

[0031]

```
Glu Val Gln Val Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ala Cys Val Ala Ser Arg Ser Ile Gly Ser Ile Asn
            20                  25                  30
Val Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val
        35                  40                  45
Ala Arg Ile Thr Gly Gly Gly Ser Thr His Tyr Ala Glu Ser Val Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80
Gln Met Asn Ser Leu Glu Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95
Ser Met Val Asn Pro Ile Ile Thr Ala Trp Gly Thr Ile Gly Val Arg
            100                 105                 110
Glu Ile Pro Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
        115                 120                 125
Ser Ser
    130
```

<210> 100
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> VHH9 - VH 氨基酸序列
<400> 100

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Thr Tyr
            20                  25                  30
Arg Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Ser Phe Val
        35                  40                  45
Ala Ala Ile Ser Trp Ser Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Asp Pro Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
```

65 70 75 80
Leu Arg Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Asn Asp Gln Arg Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110
Ser

<210> 101
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> VHH10 - VH 氨基酸序列
<400> 101
Glu Val Gln Val Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Arg Tyr
20 25 30
Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Ser Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Ser Trp Ser Gly Ser Ser Ala Gly Tyr Gly Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Asp Pro Phe Asn Gln Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

[0032]

<210> 102
<211> 130
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> VHH11 - VH 氨基酸序列
<400> 102
Glu Val Gln Val Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Thr Thr Tyr
20 25 30
Arg Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Arg Trp Ser Gly Gly Arg Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Asp Leu Ala Glu Tyr Ser Gly Thr Tyr Ser Ser Pro Ala Asp
100 105 110
Ser Pro Ala Gly Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
115 120 125
Ser Ser
130

<210> 103
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

[0033]

<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> VHH12 - VH 氨基酸序列
<400> 103
Gln Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Leu Ser Phe Asn
20 25 30
Thr Tyr Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
35 40 45
Phe Val Ala Ser Ile Thr Trp Asn Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Asp
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Thr Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
65 70 75 80
Ala Thr Leu Arg Met Asn Ser Leu Gln Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Ala Ala Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Gly Thr Tyr Phe Pro Ala
100 105 110
Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 104

<211> 371
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> VHH1-接头-单 Fc 蛋白
<400> 104

[0034]

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1               5                  10                  15
Ser Leu Lys Leu Ala Cys Ala Ala Pro Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Arg Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Gln Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45
Ala Ala Ile Asp Trp Asn Gly Arg Gly Thr Tyr Tyr Arg Tyr Tyr Ala
    50                  55                  60
Asp Ser Val Lys Gly Arg Ser Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
65                  70                  75                  80
Thr Met Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val
                85                  90                  95
Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ser Ile Asp Leu Asn Trp Tyr Gly Gly Met
            100                 105                 110
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys
        115                 120                 125
Thr Pro Lys Pro Gln Pro Gln Pro Gln Leu Gln Pro Gln Pro Asn Pro
    130                 135                 140
Thr Thr Glu Ser Lys Ser Pro Lys Ser Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
145                 150                 155                 160
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
                165                 170                 175
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
            180                 185                 190
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
        195                 200                 205
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
    210                 215                 220
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
225                 230                 235                 240
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
                245                 250                 255
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
            260                 265                 270
Tyr Thr Lys Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
```

275 280 285
Leu Ser Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
290 295 300
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Val Pro
305 310 315 320
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Arg Leu Ala Ser Tyr Leu Thr Val
325 330 335
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
340 345 350
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
355 360 365
Pro Gly Lys
370

<210> 105
<211> 373
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> VHH2-接头-单 Fc 蛋白

[0035]

<400> 105
Glu Val Gln Val Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ala Cys Ala Ala Pro Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Arg Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Gln Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Asp Trp Asn Gly Arg Gly Thr Tyr Tyr Arg Tyr Tyr Ala
50 55 60
Asp Ser Val Lys Gly Arg Ser Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
65 70 75 80
Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val
85 90 95
Tyr Tyr Cys Ala Ala Thr Thr Val Leu Thr Asp Pro Arg Val Leu Asn
100 105 110
Glu Tyr Ala Thr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Glu
115 120 125
Pro Lys Thr Pro Lys Pro Gln Pro Gln Pro Gln Leu Gln Pro Gln Pro
130 135 140
Asn Pro Thr Thr Glu Ser Lys Ser Pro Lys Ser Pro Ala Pro Glu Leu
145 150 155 160
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr

[0036]

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

<210> 106
<211> 366
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> VHH3-接头-单 Fc 蛋白
<400> 106
Gln Leu Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Ser Ile Asn
20 25 30
Val Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
35 40 45
Ala Arg Ile Asn Gly Gly Gly Ile Thr His Tyr Ala Glu Ser Val Lys

50 55 60

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

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

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

Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Thr Pro Lys Pro Gln
115 120 125

Pro Gln Pro Gln Leu Gln Pro Gln Pro Asn Pro Thr Thr Glu Ser Lys
130 135 140

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

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
165 170 175

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
180 185 190

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
195 200 205

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

[0037] Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
225 230 235 240

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
245 250 255

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Lys Pro Pro
260 265 270

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Leu Val
275 280 285

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

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Val Pro Val Leu Asp Ser Asp
305 310 315 320

Gly Ser Phe Arg Leu Ala Ser Tyr Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
325 330 335

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
340 345 350

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
355 360 365

<210> 107
<211> 359
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> VHH4-接头-单 Fc 蛋白
<220>
<221> MOD_RES
<222> (96)..(96)
<223> 任何氨基酸
<220>
<221> MOD_RES
<222> (99)..(99)
<223> 任何氨基酸
<400> 107

[0038]

```
Glu Val Gln Val Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Thr Ser Val Ser Ser Asn
            20                  25                  30
Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Trp Val
        35                  40                  45
Gly Phe Ile Asp Arg Ile Ala Thr Thr Thr Ile Ala Thr Ser Val Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Ala Ile Thr Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80
Gln Met Ser Gly Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Xaa
                85                  90                  95
His Pro Xaa Thr Ala Arg Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
            100                 105                 110
Ser Glu Pro Lys Thr Pro Lys Pro Gln Pro Gln Pro Gln Leu Gln Pro
        115                 120                 125
Gln Pro Asn Pro Thr Thr Glu Ser Lys Ser Pro Lys Ser Pro Ala Pro
    130                 135                 140
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
145                 150                 155                 160
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
                165                 170                 175
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
            180                 185                 190
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
        195                 200                 205
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
    210                 215                 220
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
225                 230                 235                 240
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
```

245 250 255
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Lys Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
260 265 270
Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
275 280 285
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
290 295 300
Thr Thr Val Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Arg Leu Ala Ser
305 310 315 320
Tyr Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
325 330 335
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
340 345 350
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
355

<210> 108
<211> 362
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽

[0039]

<220>
<223> VHH5-接头-单 Fc 蛋白
<400> 108
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Thr Trp Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Asp Pro Phe Asn Gln Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Thr Pro Lys Pro Gln Pro Gln Pro Gln
115 120 125
Leu Gln Pro Gln Pro Asn Pro Thr Thr Glu Ser Lys Ser Pro Lys Ser
130 135 140
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

145 150 155 160
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
165 170 175
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
180 185 190
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
195 200 205
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
210 215 220
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
225 230 235 240
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
245 250 255
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Lys Pro Pro Ser Arg Glu Glu
260 265 270
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
275 280 285
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
290 295 300
Asn Tyr Lys Thr Thr Val Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Arg
305 310 315 320
[0040] Leu Ala Ser Tyr Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
325 330 335
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
340 345 350
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
355 360

<210> 109
<211> 359
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> VHH6-接头-单 Fc 蛋白
<400> 109
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ser Ser Val Ser Ser Asp
20 25 30
Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Asn Gln Arg Ala Trp Val
35 40 45
Ala Phe Ile Ser Gly Gly Gly Thr Thr Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

[0041]

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80
His Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95
His Pro Leu Thr Ser Arg Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
100 105 110
Ser Glu Pro Lys Thr Pro Lys Pro Gln Pro Gln Pro Gln Leu Gln Pro
115 120 125
Gln Pro Asn Pro Thr Thr Glu Ser Lys Ser Pro Lys Ser Pro Ala Pro
130 135 140
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
145 150 155 160
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
165 170 175
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
180 185 190
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
195 200 205
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
210 215 220
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
225 230 235 240
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
245 250 255
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Lys Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
260 265 270
Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
275 280 285
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
290 295 300
Thr Thr Val Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Arg Leu Ala Ser
305 310 315 320
Tyr Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
325 330 335
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
340 345 350
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
355

<210> 110
<211> 376
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> VHH7-接头-单 Fc 蛋白
<400> 110

[0042]

```
Glu Val Gln Val Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ala Cys Val Ala Ser Arg Ser Ile Gly Ser Ile Asn
            20                  25                  30
Val Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val
        35                  40                  45
Ala Arg Ile Thr Gly Gly Gly Ser Thr His Tyr Ala Glu Ser Val Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80
Gln Met Asn Ser Leu Glu Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95
Ser Met Val Asn Pro Ile Ile Thr Ala Trp Gly Thr Ile Gly Val Arg
            100                 105                 110
Glu Ile Pro Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
        115                 120                 125
Ser Ser Glu Pro Lys Thr Pro Lys Pro Gln Pro Gln Pro Gln Leu Gln
    130                 135                 140
Pro Gln Pro Asn Pro Thr Thr Glu Ser Lys Ser Pro Lys Ser Pro Ala
145                 150                 155                 160
Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
                165                 170                 175
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
            180                 185                 190
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
        195                 200                 205
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
    210                 215                 220
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
225                 230                 235                 240
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
                245                 250                 255
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
            260                 265                 270
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Lys Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
        275                 280                 285
Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
    290                 295                 300
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
```

305 310 315 320
Lys Thr Thr Val Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Arg Leu Ala
325 330 335
Ser Tyr Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
340 345 350
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
355 360 365
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
370 375

<210> 111
<211> 359
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> VHH9-接头-单 Fc 蛋白
<400> 111

[0043]

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

195 200 205

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
210 215 220

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
225 230 235 240

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
245 250 255

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Lys Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
260 265 270

Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
275 280 285

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
290 295 300

Thr Thr Val Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Arg Leu Ala Ser
305 310 315 320

Tyr Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
325 330 335

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
340 345 350

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
355

[0044]

<210> 112
<211> 362
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> VHH10-接头-单 Fc 蛋白
<400> 112

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

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

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

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

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

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

Ala Ala Asp Pro Phe Asn Gln Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val

[0045]

100 105 110
Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Thr Pro Lys Pro Gln Pro Gln Pro Gln
115 120 125
Leu Gln Pro Gln Pro Asn Pro Thr Thr Glu Ser Lys Ser Pro Lys Ser
130 135 140
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
145 150 155 160
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
165 170 175
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
180 185 190
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
195 200 205
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
210 215 220
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
225 230 235 240
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
245 250 255
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Lys Pro Pro Ser Arg Glu Glu
260 265 270
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
275 280 285
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
290 295 300
Asn Tyr Lys Thr Thr Val Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Arg
305 310 315 320
Leu Ala Ser Tyr Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
325 330 335
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
340 345 350
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
355 360

<210> 113
<211> 376
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> VHH11-接头-单 Fc 蛋白
<400> 113
Glu Val Gln Val Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly

[0046]

```
1               5                   10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Thr Thr Tyr
            20                  25                  30
Arg Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45
Ala Ala Ile Arg Trp Ser Gly Gly Arg Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Ala Asp Leu Ala Glu Tyr Ser Gly Thr Tyr Ser Ser Pro Ala Asp
            100                 105                 110
Ser Pro Ala Gly Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
        115                 120                 125
Ser Ser Glu Pro Lys Thr Pro Lys Pro Gln Pro Gln Pro Gln Leu Gln
    130                 135                 140
Pro Gln Pro Asn Pro Thr Thr Glu Ser Lys Ser Pro Lys Ser Pro Ala
145                 150                 155                 160
Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
                165                 170                 175
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
            180                 185                 190
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
        195                 200                 205
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
    210                 215                 220
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
225                 230                 235                 240
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
                245                 250                 255
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
            260                 265                 270
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Lys Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
        275                 280                 285
Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
    290                 295                 300
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
305                 310                 315                 320
Lys Thr Thr Val Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Arg Leu Ala
                325                 330                 335
Ser Tyr Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
            340                 345                 350
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
```

355 360 365

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
370 375

<210> 114
<211> 371
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> VHH12-接头-单 Fc 蛋白
<400> 114

[0047]

Gln Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Leu Ser Phe Asn
20 25 30
Thr Tyr Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
35 40 45
Phe Val Ala Ser Ile Thr Trp Asn Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Asp
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Thr Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
65 70 75 80
Ala Thr Leu Arg Met Asn Ser Leu Gln Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Ala Ala Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Gly Thr Tyr Phe Pro Ala
100 105 110
Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys
115 120 125
Thr Pro Lys Pro Gln Pro Gln Pro Gln Leu Gln Pro Gln Pro Asn Pro
130 135 140
Thr Thr Glu Ser Lys Ser Pro Lys Ser Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
145 150 155 160
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
165 170 175
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
180 185 190
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
195 200 205
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
210 215 220
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
225 230 235 240
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

245 250 255
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
260 265 270
Tyr Thr Lys Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
275 280 285
Leu Ser Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
290 295 300
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Val Pro
305 310 315 320
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Arg Leu Ala Ser Tyr Leu Thr Val
325 330 335
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
340 345 350
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
355 360 365
Pro Gly Lys
370

<210> 115
<211> 461
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

[0048]

<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> IgA 重链
<400> 115
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ser Ser Gly Gly Thr Ser Asn Asn Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Asp Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ser Pro Ile Phe Gly Ser Thr Ala Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ala Asp Ile Phe Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg His Gly Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Ser Gly Met Asp Val Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Pro Thr Ser Pro Lys
115 120 125
Val Phe Pro Leu Ser Leu Asp Ser Thr Pro Gln Asp Gly Asn Val Val

130 135 140

Val Ala Cys Leu Val Gln Gly Phe Phe Pro Gln Glu Pro Leu Ser Val
145 150 155 160
Thr Trp Ser Glu Ser Gly Gln Asn Val Thr Ala Arg Asn Phe Pro Pro
165 170 175
Ser Gln Asp Ala Ser Gly Asp Leu Tyr Thr Thr Ser Ser Gln Leu Thr
180 185 190
Leu Pro Ala Thr Gln Cys Pro Asp Gly Lys Ser Val Thr Cys His Val
195 200 205
Lys His Tyr Thr Asn Pro Ser Gln Asp Val Thr Val Pro Cys Pro Val
210 215 220
Pro Pro Pro Pro Pro Cys Cys His Pro Arg Leu Ser Leu His Arg Pro
225 230 235 240
Ala Leu Glu Asp Leu Leu Leu Gly Ser Glu Ala Asn Leu Thr Cys Thr
245 250 255
Leu Thr Gly Leu Arg Asp Ala Ser Gly Ala Thr Phe Thr Trp Thr Pro
260 265 270
Ser Ser Gly Lys Ser Ala Val Gln Gly Pro Pro Glu Arg Asp Leu Cys
275 280 285
Gly Cys Tyr Ser Val Ser Ser Val Leu Pro Gly Cys Ala Gln Pro Trp
290 295 300
[0049] Asn His Gly Glu Thr Phe Thr Cys Thr Ala Ala His Pro Glu Leu Lys
305 310 315 320
Thr Pro Leu Thr Ala Asn Ile Thr Lys Ser Gly Asn Thr Phe Arg Pro
325 330 335
Glu Val His Leu Leu Pro Pro Pro Ser Glu Glu Leu Ala Leu Asn Glu
340 345 350
Leu Val Thr Leu Thr Cys Leu Ala Arg Gly Phe Ser Pro Lys Asp Val
355 360 365
Leu Val Arg Trp Leu Gln Gly Ser Gln Glu Leu Pro Arg Glu Lys Tyr
370 375 380
Leu Thr Trp Ala Ser Arg Gln Glu Pro Ser Gln Gly Thr Thr Thr Phe
385 390 395 400
Ala Val Thr Ser Ile Leu Arg Val Ala Ala Glu Asp Trp Lys Lys Gly
405 410 415
Asp Thr Phe Ser Cys Met Val Gly His Glu Ala Leu Pro Leu Ala Phe
420 425 430
Thr Gln Lys Thr Ile Asp Arg Leu Ala Gly Lys Pro Thr His Val Asn
435 440 445
Val Ser Val Val Met Ala Glu Val Asp Gly Thr Cys Tyr
450 455 460

<210> 116
<211> 216
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> IgA 轻链
<400> 116

[0050]

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

<210> 117
<211> 153
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> IgA J 链

<400> 117

Ser Arg Asp Ser Ser Ala Ser Ala Ser Arg Val Ala Gly Ile Thr Ala
1 5 10 15
Gln Glu Asp Glu Arg Ile Val Leu Val Asp Asn Lys Cys Lys Cys Ala
20 25 30
Arg Ile Thr Ser Arg Ile Ile Arg Ser Ser Glu Asp Pro Asn Glu Asp
35 40 45
Ile Val Glu Arg Asn Ile Arg Ile Ile Val Pro Leu Asn Asn Arg Glu
50 55 60
Asn Ile Ser Asp Pro Thr Ser Pro Leu Arg Thr Arg Phe Val Tyr His
65 70 75 80
Leu Ser Asp Leu Cys Lys Lys Cys Asp Pro Thr Glu Val Glu Leu Asp
85 90 95
Asn Gln Ile Val Thr Ala Thr Gln Ser Asn Ile Cys Asp Glu Asp Ser
100 105 110
Ala Thr Glu Thr Cys Tyr Thr Tyr Asp Arg Asn Lys Cys Tyr Thr Ala
115 120 125
Val Val Pro Leu Val Tyr Gly Gly Glu Thr Lys Met Val Glu Thr Ala
130 135 140
Leu Thr Pro Asp Ala Cys Tyr Pro Asp
145 150

[0051]

<210> 118
<211> 626
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<220>
<223> 人 pIgR 胞外结构域(ECD)
<400> 118

Lys Ser Pro Ile Phe Gly Pro Glu Glu Val Asn Ser Val Glu Gly Asn
1 5 10 15
Ser Val Ser Ile Thr Cys Tyr Tyr Pro Pro Thr Ser Val Asn Arg His
20 25 30
Thr Arg Lys Tyr Trp Cys Arg Gln Gly Ala Arg Gly Gly Cys Ile Thr
35 40 45
Leu Ile Ser Ser Glu Gly Tyr Val Ser Ser Lys Tyr Ala Gly Arg Ala
50 55 60
Asn Leu Thr Asn Phe Pro Glu Asn Gly Thr Phe Val Val Asn Ile Ala
65 70 75 80
Gln Leu Ser Gln Asp Asp Ser Gly Arg Tyr Lys Cys Gly Leu Gly Ile
85 90 95
Asn Ser Arg Gly Leu Ser Phe Asp Val Ser Leu Glu Val Ser Gln Gly
100 105 110
Pro Gly Leu Leu Asn Asp Thr Lys Val Tyr Thr Val Asp Leu Gly Arg
115 120 125

[0052]

```
Thr Val Thr Ile Asn Cys Pro Phe Lys Thr Glu Asn Ala Gln Lys Arg
    130                 135                 140
Lys Ser Leu Tyr Lys Gln Ile Gly Leu Tyr Pro Val Leu Val Ile Asp
145                 150                 155                 160
Ser Ser Gly Tyr Val Asn Pro Asn Tyr Thr Gly Arg Ile Arg Leu Asp
                165                 170                 175
Ile Gln Gly Thr Gly Gln Leu Leu Phe Ser Val Val Ile Asn Gln Leu
            180                 185                 190
Arg Leu Ser Asp Ala Gly Gln Tyr Leu Cys Gln Ala Gly Asp Asp Ser
        195                 200                 205
Asn Ser Asn Lys Lys Asn Ala Asp Leu Gln Val Leu Lys Pro Glu Pro
    210                 215                 220
Glu Leu Val Tyr Glu Asp Leu Arg Gly Ser Val Thr Phe His Cys Ala
225                 230                 235                 240
Leu Gly Pro Glu Val Ala Asn Val Ala Lys Phe Leu Cys Arg Gln Ser
                245                 250                 255
Ser Gly Glu Asn Cys Asp Val Val Val Asn Thr Leu Gly Lys Arg Ala
            260                 265                 270
Pro Ala Phe Glu Gly Arg Ile Leu Leu Asn Pro Gln Asp Lys Asp Gly
        275                 280                 285
Ser Phe Ser Val Val Ile Thr Gly Leu Arg Lys Glu Asp Ala Gly Arg
    290                 295                 300
Tyr Leu Cys Gly Ala His Ser Asp Gly Gln Leu Gln Glu Gly Ser Pro
305                 310                 315                 320
Ile Gln Ala Trp Gln Leu Phe Val Asn Glu Glu Ser Thr Ile Pro Arg
                325                 330                 335
Ser Pro Thr Val Val Lys Gly Val Ala Gly Ser Ser Val Ala Val Leu
            340                 345                 350
Cys Pro Tyr Asn Arg Lys Glu Ser Lys Ser Ile Lys Tyr Trp Cys Leu
        355                 360                 365
Trp Glu Gly Ala Gln Asn Gly Arg Cys Pro Leu Leu Val Asp Ser Glu
    370                 375                 380
Gly Trp Val Lys Ala Gln Tyr Glu Gly Arg Leu Ser Leu Leu Glu Glu
385                 390                 395                 400
Pro Gly Asn Gly Thr Phe Thr Val Ile Leu Asn Gln Leu Thr Ser Arg
                405                 410                 415
Asp Ala Gly Phe Tyr Trp Cys Leu Thr Asn Gly Asp Thr Leu Trp Arg
            420                 425                 430
Thr Thr Val Glu Ile Lys Ile Ile Glu Gly Glu Pro Asn Leu Lys Val
        435                 440                 445
Pro Gly Asn Val Thr Ala Val Leu Gly Glu Thr Leu Lys Val Pro Cys
    450                 455                 460
His Phe Pro Cys Lys Phe Ser Ser Tyr Glu Lys Tyr Trp Cys Lys Trp
465                 470                 475                 480
```

Asn Asn Thr Gly Cys Gln Ala Leu Pro Ser Gln Asp Glu Gly Pro Ser
485 490 495
Lys Ala Phe Val Asn Cys Asp Glu Asn Ser Arg Leu Val Ser Leu Thr
500 505 510
Leu Asn Leu Val Thr Arg Ala Asp Glu Gly Trp Tyr Trp Cys Gly Val
515 520 525
Lys Gln Gly His Phe Tyr Gly Glu Thr Ala Ala Val Tyr Val Ala Val
530 535 540
Glu Glu Arg Lys Ala Ala Gly Ser Arg Asp Val Ser Leu Ala Lys Ala
545 550 555 560
Asp Ala Ala Pro Asp Glu Lys Val Leu Asp Ser Gly Phe Arg Glu Ile
565 570 575
Glu Asn Lys Ala Ile Gln Asp Pro Arg Leu Phe Ala Glu Glu Lys Ala
580 585 590
Val Ala Asp Thr Arg Asp Gln Ala Asp Gly Ser Arg Ala Ser Val Asp
595 600 605
Ser Gly Ser Ser Glu Glu Gln Gly Gly Ser Ser Arg His His His His
610 615 620
His His
625

<210> 119
<211> 117
[0053] <212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<220>
<223> 人 pIgR 胞外结构域 1 (D1)
<400> 119
Lys Ser Pro Ile Phe Gly Pro Glu Glu Val Asn Ser Val Glu Gly Asn
1 5 10 15
Ser Val Ser Ile Thr Cys Tyr Tyr Pro Pro Thr Ser Val Asn Arg His
20 25 30
Thr Arg Lys Tyr Trp Cys Arg Gln Gly Ala Arg Gly Gly Cys Ile Thr
35 40 45
Leu Ile Ser Ser Glu Gly Tyr Val Ser Ser Lys Tyr Ala Gly Arg Ala
50 55 60
Asn Leu Thr Asn Phe Pro Glu Asn Gly Thr Phe Val Val Asn Ile Ala
65 70 75 80
Gln Leu Ser Gln Asp Asp Ser Gly Arg Tyr Lys Cys Gly Leu Gly Ile
85 90 95
Asn Ser Arg Gly Leu Ser Phe Asp Val Ser Leu Glu Val Gly Ser His
100 105 110
His His His His His
115

<210> 120

<211> 123
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<220>
<223> 人 pIgR 胞外结构域 2 (D2)
<400> 120

```
Ser Gln Gly Pro Gly Leu Leu Asn Asp Thr Lys Val Tyr Thr Val Asp
1               5                  10                  15
Leu Gly Arg Thr Val Thr Ile Asn Cys Pro Phe Lys Thr Glu Asn Ala
            20                  25                  30
Gln Lys Arg Lys Ser Leu Tyr Lys Gln Ile Gly Leu Tyr Pro Val Leu
        35                  40                  45
Val Ile Asp Ser Ser Gly Tyr Val Asn Pro Asn Tyr Thr Gly Arg Ile
    50                  55                  60
Arg Leu Asp Ile Gln Gly Thr Gly Gln Leu Leu Phe Ser Val Val Ile
65                  70                  75                  80
Asn Gln Leu Arg Leu Ser Asp Ala Gly Gln Tyr Leu Cys Gln Ala Gly
                85                  90                  95
Asp Asp Ser Asn Ser Asn Lys Lys Asn Ala Asp Leu Gln Val Leu Lys
            100                 105                 110
Pro Glu Pro Gly Ser His His His His His His
        115                 120
```

[0054]

<210> 121
<211> 121
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<220>
<223> 人 pIgR 胞外结构域 3 (D3)
<400> 121

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

115 120

<210> 122
<211> 114
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens))
<220>
<223> 人 pIgR 胞外结构域 5 (D5)
<400> 122

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

[0055]

His His

<210> 123
<211> 230
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<220>
<223> 人 pIgR 胞外结构域 1-结构域 2 (D1-D2)
<400> 123

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

100 105 110
Pro Gly Leu Leu Asn Asp Thr Lys Val Tyr Thr Val Asp Leu Gly Arg
115 120 125
Thr Val Thr Ile Asn Cys Pro Phe Lys Thr Glu Asn Ala Gln Lys Arg
130 135 140
Lys Ser Leu Tyr Lys Gln Ile Gly Leu Tyr Pro Val Leu Val Ile Asp
145 150 155 160
Ser Ser Gly Tyr Val Asn Pro Asn Tyr Thr Gly Arg Ile Arg Leu Asp
165 170 175
Ile Gln Gly Thr Gly Gln Leu Leu Phe Ser Val Val Ile Asn Gln Leu
180 185 190
Arg Leu Ser Asp Ala Gly Gln Tyr Leu Cys Gln Ala Gly Asp Asp Ser
195 200 205
Asn Ser Asn Lys Lys Asn Ala Asp Leu Gln Val Leu Lys Pro Gly Ser
210 215 220
His His His His His His
225 230

<210> 124
<211> 228
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<220>

[0056]

<223> 人 pIgR 胞外结构域 2-结构域 3 (D2-D3)
<400> 124
Ser Gln Gly Pro Gly Leu Leu Asn Asp Thr Lys Val Tyr Thr Val Asp
1 5 10 15
Leu Gly Arg Thr Val Thr Ile Asn Cys Pro Phe Lys Thr Glu Asn Ala
20 25 30
Gln Lys Arg Lys Ser Leu Tyr Lys Gln Ile Gly Leu Tyr Pro Val Leu
35 40 45
Val Ile Asp Ser Ser Gly Tyr Val Asn Pro Asn Tyr Thr Gly Arg Ile
50 55 60
Arg Leu Asp Ile Gln Gly Thr Gly Gln Leu Leu Phe Ser Val Val Ile
65 70 75 80
Asn Gln Leu Arg Leu Ser Asp Ala Gly Gln Tyr Leu Cys Gln Ala Gly
85 90 95
Asp Asp Ser Asn Ser Asn Lys Lys Asn Ala Asp Leu Gln Val Leu Lys
100 105 110
Pro Glu Pro Glu Leu Val Tyr Glu Asp Leu Arg Gly Ser Val Thr Phe
115 120 125
His Cys Ala Leu Gly Pro Glu Val Ala Asn Val Ala Lys Phe Leu Cys
130 135 140
Arg Gln Ser Ser Gly Glu Asn Cys Asp Val Val Val Asn Thr Leu Gly
145 150 155 160

Lys Arg Ala Pro Ala Phe Glu Gly Arg Ile Leu Leu Asn Pro Gln Asp
165 170 175
Lys Asp Gly Ser Phe Ser Val Val Ile Thr Gly Leu Arg Lys Glu Asp
180 185 190
Ala Gly Arg Tyr Leu Cys Gly Ala His Ser Asp Gly Gln Leu Gln Glu
195 200 205
Gly Ser Pro Ile Gln Ala Trp Gln Leu Phe Val Asn Gly Ser His His
210 215 220
His His His His
225

<210> 125
<211> 224
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<220>
<223> 人 pIgR 胞外结构域 4-结构域 5 (D4-D5)
<400> 125

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

[0057]

210 215 220

<210> 126
<211> 7
<212> PRT
<213> 虹鳟
<220>
<223> teleost fish pIgR CDR1 of D1
<400> 126
Gly Pro Gln Tyr Ala Ser Tyr
1 5

<210> 127
<211> 3
<212> PRT
<213> 虹鳟
<220>
<223> D1 的硬骨鱼 pIgR CDR2
<400> 127
Asp Ala Pro
1

<210> 128
<211> 8
<212> PRT
[0058] <213> 虹鳟
<220>
<223> D1 的硬骨鱼 pIgR CDR3
<400> 128
Val Gly Gly Val Trp Ser Ala Asp
1 5

<210> 129
<211> 633
<212> PRT
<213> 小鼠属
<220>
<223> 小鼠 pIgR 胞外结构域（ECD）
<400> 129
Lys Ser Pro Ile Phe Gly Pro Gln Glu Val Ser Ser Ile Glu Gly Asp
1 5 10 15
Ser Val Ser Ile Thr Cys Tyr Tyr Pro Asp Thr Ser Val Asn Arg His
20 25 30
Thr Arg Lys Tyr Trp Cys Arg Gln Gly Ala Ser Gly Met Cys Thr Thr
35 40 45
Leu Ile Ser Ser Asn Gly Tyr Leu Ser Lys Glu Tyr Ser Gly Arg Ala
50 55 60
Asn Leu Ile Asn Phe Pro Glu Asn Asn Thr Phe Val Ile Asn Ile Glu

65 70 75 80
Gln Leu Thr Gln Asp Asp Thr Gly Ser Tyr Lys Cys Gly Leu Gly Thr
85 90 95
Ser Asn Arg Gly Leu Ser Phe Asp Val Ser Leu Glu Val Ser Gln Val
100 105 110
Pro Glu Leu Pro Ser Asp Thr His Val Tyr Thr Lys Asp Ile Gly Arg
115 120 125
Asn Val Thr Ile Glu Cys Pro Phe Lys Arg Glu Asn Ala Pro Ser Lys
130 135 140
Lys Ser Leu Cys Lys Lys Thr Asn Gln Ser Cys Glu Leu Val Ile Asp
145 150 155 160
Ser Thr Glu Lys Val Asn Pro Ser Tyr Ile Gly Arg Ala Lys Leu Phe
165 170 175
Met Lys Gly Thr Asp Leu Thr Val Phe Tyr Val Asn Ile Ser His Leu
180 185 190
Thr His Asn Asp Ala Gly Leu Tyr Ile Cys Gln Ala Gly Glu Gly Pro
195 200 205
Ser Ala Asp Lys Lys Asn Val Asp Leu Gln Val Leu Ala Pro Glu Pro
210 215 220
Glu Leu Leu Tyr Lys Asp Leu Arg Ser Ser Val Thr Phe Glu Cys Asp
225 230 235 240
[0059] Leu Gly Arg Glu Val Ala Asn Glu Ala Lys Tyr Leu Cys Arg Met Asn
245 250 255
Lys Glu Thr Cys Asp Val Ile Ile Asn Thr Leu Gly Lys Arg Asp Pro
260 265 270
Asp Phe Glu Gly Arg Ile Leu Ile Thr Pro Lys Asp Asp Asn Gly Arg
275 280 285
Phe Ser Val Leu Ile Thr Gly Leu Arg Lys Glu Asp Ala Gly His Tyr
290 295 300
Gln Cys Gly Ala His Ser Ser Gly Leu Pro Gln Glu Gly Trp Pro Ile
305 310 315 320
Gln Thr Trp Gln Leu Phe Val Asn Glu Glu Ser Thr Ile Pro Asn Arg
325 330 335
Arg Ser Val Val Lys Gly Val Thr Gly Gly Ser Val Ala Ile Ala Cys
340 345 350
Pro Tyr Asn Pro Lys Glu Ser Ser Ser Leu Lys Tyr Trp Cys Arg Trp
355 360 365
Glu Gly Asp Gly Asn Gly His Cys Pro Val Leu Val Gly Thr Gln Ala
370 375 380
Gln Val Gln Glu Glu Tyr Glu Gly Arg Leu Ala Leu Phe Asp Gln Pro
385 390 395 400
Gly Asn Gly Thr Tyr Thr Val Ile Leu Asn Gln Leu Thr Thr Glu Asp
405 410 415
Ala Gly Phe Tyr Trp Cys Leu Thr Asn Gly Asp Ser Arg Trp Arg Thr

[0060]

```
                420                 425                 430
Thr Ile Glu Leu Gln Val Ala Glu Ala Thr Arg Glu Pro Asn Leu Glu
        435                 440                 445
Val Thr Pro Gln Asn Ala Thr Ala Val Leu Gly Glu Thr Phe Thr Val
    450                 455                 460
Ser Cys His Tyr Pro Cys Lys Phe Tyr Ser Gln Glu Lys Tyr Trp Cys
465                 470                 475                 480
Lys Trp Ser Asn Lys Gly Cys His Ile Leu Pro Ser His Asp Glu Gly
                485                 490                 495
Ala Arg Gln Ser Ser Val Ser Cys Asp Gln Ser Ser Gln Leu Val Ser
            500                 505                 510
Met Thr Leu Asn Pro Val Ser Lys Glu Asp Glu Gly Trp Tyr Trp Cys
        515                 520                 525
Gly Val Lys Gln Gly Gln Thr Tyr Gly Glu Thr Thr Ala Ile Tyr Ile
    530                 535                 540
Ala Val Glu Glu Arg Thr Arg Gly Ser Ser His Val Asn Pro Thr Asp
545                 550                 555                 560
Ala Asn Ala Arg Ala Lys Val Ala Leu Glu Glu Glu Val Val Asp Ser
                565                 570                 575
Ser Ile Ser Glu Lys Glu Asn Lys Ala Ile Pro Asn Pro Gly Pro Phe
            580                 585                 590
Ala Asn Glu Arg Glu Ile Gln Asn Val Gly Asp Gln Ala Gln Glu Asn
        595                 600                 605
Arg Ala Ser Gly Asp Ala Gly Ser Ala Asp Gly Gln Ser Arg Ser Ser
    610                 615                 620
Ser Ser Lys His His His His His His
625                 630
<210> 130
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
      肽
<220>
<223> 铰链区（AA）
<400> 130
Glu Pro Lys Thr Pro Lys Pro Gln Pro Gln Pro Gln Leu Gln Pro Gln
1               5                   10                  15
Pro Asn Pro Thr Thr Glu Ser Lys Ser Pro Lys
            20                  25
<210> 131
<211> 82
<212> DNA
```

[0061]

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
寡核苷酸
<220>
<223> 铰链区（DNA）
<400> 131
gaacccaaga caccaaaacc acaaccacaa ccacaactac aaccacaacc caatcctaca 60
acagaatcca agagccccaa aa 82
<210> 132
<211> 657
<212> DNA
<213> 智人(Homo sapiens)
<220>
<223> 人 IgG1 单 Fc DNA 序列
<400> 132
agcccagcac ctgaactcct gggggggaccg tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag 60
gacaccctca tgatctcccg gacccctgag gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac 120
gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag 180
acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc 240
ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc 300
ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa gccaaagggc agccccgaga accacaggtg 360
tacaccaagc ccccatcccg ggaggagatg accaagaacc aggtcagcct gagctgcctg 420
gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag 480
aacaactaca agaccacggt gcccgtgctg gactccgacg gctccttcag actcgcaagc 540
tatctcaccg tggacaagag cagatggcag caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg 600
catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa 657
<210> 133
<211> 375
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多核苷酸
<220>
<223> 编码 VHH1 的 DNA 序列
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (349)..(349)
<223> a、c、t、g、未知或其它
<220>
<221> 修饰的碱基
<222> (351)..(351)
<223> a、c、t、g、未知或其它

<400> 133

caggtgcagc tggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctgggggctc tctgaaactc 60
gcctgtgcag cacctggact taccttcagt tcgtatcgca tgggctggtt ccgccaggct 120
ccagggcagg agcgtgagtt tgtagcagct attgattgga atggtcgtgg cacatattat 180
cgatactatg cagactccgt gaagggccga tccaccattt ccagagacaa cgccaagaac 240
acgatgtatc tgcaaatgaa cagcctgaaa cctgaggaca cggccgttta ttactgtgca 300
gcaggttcga tcgaccttaa ctggtacggc ggcatggact actggggcna ngggacccag 360
gtcaccgtct cctca 375

<210> 134
<211> 381
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多核苷酸
<220>
<223> 编码 VHH2 的 DNA 序列
<400> 134

gaggtgcagg tggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctgggggctc tctgaaactc 60
gcctgtgcag cacctggact taccttcagt tcgtatcgca tgggctggtt ccgccaggct 120
ccagggcagg agcgtgagtt tgtagcagct attgattgga atggtcgtgg cacatattat 180
cgatactatg cagactccgt gaagggccga tccaccattt ccagagacaa cgccaagaac 240
acggtgtatc tgcaaatgaa cagcctgaaa cctgaggaca cggccgttta ttactgtgca 300
gctactacgg tattaactga ccctagggtt cttaatgagt atgccacatg gggccagggg 360
acccaggtca ccgtctcctc a 381

[0062]

<210> 135
<211> 360
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多核苷酸
<220>
<223> 编码 VHH3 的 DNA 序列
<400> 135

cagttgcagc tcgtggagtc tgggggaggc ttggtgcagc ctggggggtc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggaag catcttcagt atcaatgtta tgggctggta ccgccaggct 120
ccagggaagc agcgcgagtt ggtcgcacgt attaatggag gtggcattac acactatgca 180
gagtccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaagaacac ggtgtatctg 240
caaatgaaca gcctgaaacc tgaggacaca gccgcatatt actgtaaggc agatgtgttc 300
ggtagtagcg ggtacgtaga aacctactgg ggccagggga cccaggtcac cgtctcctca 360

<210> 136
<211> 339
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多核苷酸
<220>
<223> 编码 VHH4 的 DNA 序列
<400> 136
gaggtgcagg tggtggagtc tgggggaggc ttggtgcagg ctgggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag tctctggaac ctccgtcagt agcaatgcca tgggttggta ccgccaggct 120
ccagggaagc agcgcgagtg ggtcggattt attgatcgta ttgctaccac gacgattgca 180
acctccgtga agggccgatt cgccatcacc agagacaacg ccaagaacac ggtgtatctc 240
caaatgagcg gcctgaaacc tgaggacaca gccgtctatt actgtaatca tccattgacc 300
gctcggtggg gccaggggac ccaggtcacc gtctcctca 339
<210> 137
<211> 348
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多核苷酸
<220>
<223> 编码 VHH5 的 DNA 序列

[0063]

<400> 137
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtgcagg ctgggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg caccttcagt agctatgcca tgggctggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg agcgtgagtt tgtagcagct attacctgga atggtggtac cacatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa cacggtgtat 240
ctgcaaatga acagcctgaa acctgaggac acggccgttt attactgtgc agcagaccca 300
ttcaaccaag gctactgggg ccaggggacc caggtcaccg tctcctca 348
<210> 138
<211> 339
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多核苷酸
<220>
<223> 编码 VHH6 的 DNA 序列
<400> 138
gaggtgcagc tcgtggagtc tggaggaggc ttggtgcagg ctgggggggtc tctgagactc 60
tcctgtgcag tctctggaag ctccgtcagt agcgatgcca tgggttggta ccgccaggct 120
ccagggaatc agcgcgcgtg ggtcgcattt atttctggtg gtggtaccac aacctatgca 180
gactccgtta agggccgatt caccatctcc agagacaaca ccaagaacac ggtgtatctc 240
cacatgaaca gcctgaaacc tgaagacaca gccgtctatt actgtaatca tccattgacg 300

tctcggtggg gccaggggac ccaggtcacc gtctcctca 339

<210> 139

<211> 390

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
多核苷酸

<220>

<223> 编码 VHH7 的 DNA 序列

<400> 139

gaggtgcagg tggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctgggggggtc tctgagactc 60
gcctgtgtag cctctagaag catcggcagt atcaatgtta tgggctggta ccgccaggct 120
ccagggaagc agcgcgactt ggtcgcacgt attactggag gtggcagtac acactacgca 180
gagtccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaagaacac ggtgtatctg 240
caaatgaaca gcctggaacc tgaggacacg gccgtttatt actgtgcgtc aatggtaaac 300
cctatcatta cggcttgggg tacgattggt gtgcgcgaga ttcccgacta tgactactgg 360
ggccagggga cccaggtcac cgtctcctca 390

<210> 140

<211> 348

<212> DNA

[0064]

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
多核苷酸

<220>

<223> 编码 VHH1 的 DNA 序列 0

<400> 140

gaggtgcagg tggtggagtc tgggggaggc ttggtgcagg ctgggggggtc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcacc cgctatgcca tgggctggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg agcgatcgtt tgtagcagct attagctgga gtggtagtag cgcaggctat 180
ggagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagtctaaa acctgaggac acggccgttt attactgtgc agcagaccca 300
ttcaaccaag gctactgggg ccaggggacc caggtcaccg tctcctca 348

<210> 141

<211> 390

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
多核苷酸

<220>

<223> 编码 VHH1 的 DNA 序列 1

<400> 141

[0065]

gaggtgcagg tggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctgggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg caccttcact acctatcgca tgggctggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg agcgagagtt tgtagcagct attcgctgga gtggtggtcg cacattgtat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa cacagcgtat 240
ctgcaaatga acaacctgag acctgaggac acggccgttt attactgtgc agcagatcta 300
gccgagtata gtggtactta ctccagccct gcggactccc ccgctgggta tgactactgg 360
ggccagggga cccaggtcac cgtctcctca 390

<210> 142
<211> 375
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多核苷酸
<220>
<223> 编码 VHH1 的 DNA 序列 2
<400> 142

caggtgcagc tggtcgaaac tgggggagga ttggtgcagg ctggggactc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg caccctcagc ttcaacacct atgccatggg ctggttccgc 120
caggctccag ggaaggagcg tgaatttgta gcctctatta cctggaatgg tggaagcaca 180
agctacgcag actccgtgaa gggccgattc accatcacca gagacaacgc caagaacacg 240
gctactctgc gaatgaatag cctgcagccc gacgacacgg ccgtgtatta ctgtgcagca 300
gcccgatact atgtgagtgg tacttacttc cccgcgaatt actggggcca ggggacccag 360
gtcaccgtct cctca 375

<210> 143
<211> 31
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<220>
<223> 人 pIgR 的示例性茎序列
<400> 143

Glu Lys Ala Val Ala Asp Thr Arg Asp Gln Ala Asp Gly Ser Arg Ala
1 5 10 15
Ser Val Asp Ser Gly Ser Ser Glu Glu Gln Gly Gly Ser Ser Arg
20 25 30

<210> 144
<211> 33
<212> PRT
<213> 小鼠属
<220>
<223> Exemplary stalk sequence of mouse pIgR
<400> 144

Glu Arg Glu Ile Gln Asn Val Gly Asp Gln Ala Gln Glu Asn Arg Ala
1 5 10 15

Ser Gly Asp Ala Gly Ser Ala Asp Gly Gln Ser Arg Ser Ser Ser Ser
20 25 30
Lys

<210> 145
<211> 33
<212> PRT
<213> 小鼠属
<220>
<223> Exemplary stalk sequence of mouse pIgR
<400> 145
Glu Arg Glu Ile Gln Asn Val Arg Asp Gln Ala Gln Glu Asn Arg Ala
1 5 10 15
Ser Gly Asp Ala Gly Ser Ala Asp Gly Gln Ser Arg Ser Ser Ser Ser
20 25 30
Lys

<210> 146
<211> 219
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<220>
[0066]
<223> 人 IgG1 单 Fc AA 序列
<400> 146
Ser Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
1 5 10 15
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
20 25 30
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
35 40 45
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
50 55 60
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
65 70 75 80
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
85 90 95
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
100 105 110
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Lys Pro Pro Ser Arg Glu
115 120 125
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Leu Val Lys Gly Phe
130 135 140
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
145 150 155 160

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Val Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
165 170 175
Arg Leu Ala Ser Tyr Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
180 185 190
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
195 200 205
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

<210> 147
<211> 100
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> 示例性柔性接头 1
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (1)..(100)
<223> 该序列可涵盖 1-20 个“Glu Ala Ala Ala Lys”
重复单元

[0067]

<400> 147
Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu
1 5 10 15
Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala
20 25 30
Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala
35 40 45
Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala
50 55 60
Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
65 70 75 80
Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu
85 90 95
Ala Ala Ala Lys
100

<210> 148
<211> 100
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽

<220>
<223> 示例性柔性接头 2
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (1)..(100)
<223> This sequence may encompass 1-20 "Gly Gly Gly Gly Ser"
重复单元
<400> 148
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
35 40 45
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
50 55 60
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
65 70 75 80
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
85 90 95
Gly Gly Gly Ser
100

[0068]

<210> 149
<211> 80
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> 示例性柔性接头 3
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (1)..(80)
<223> This sequence may encompass 1-20 "Gly Gly Gly Ser"
重复单元
<400> 149
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
20 25 30
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
35 40 45
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

50 55 60

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
65 70 75 80

<210> 150
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> 示例性铰链区 1
<400> 150
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10 15

<210> 151
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽

[0069]

<220>
<223> 示例性铰链区 2
<400> 151
Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 152
<211> 62
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> 示例性铰链区 3
<400> 152
Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Arg Cys
1 5 10 15
Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
20 25 30
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu
35 40 45
Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro

50 55 60

<210> 153
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> 示例性铰链区 4
<400> 153
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro
1 5 10
<210> 154
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH1 和 VHH 2 CDR1（示例性）
[0070]
<400> 154
Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr Arg Met Gly
1 5 10
<210> 155
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH3 CDR1（示例性）
<400> 155
Gly Ser Ile Phe Ser Ile Asn Val Met Gly
1 5 10
<210> 156
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽

<220>
<223> VHH4 CDR1（示例性）
<400> 156
Gly Thr Ser Val Ser Ser Asn Ala Met Gly
1 5 10
<210> 157
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH5 CDR1（示例性）
<400> 157
Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Gly
1 5 10
<210> 158
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
[0071]
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH6 CDR1（示例性）
<400> 158
Gly Ser Ser Val Ser Ser Asp Ala Met Gly
1 5 10
<210> 159
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH7 CDR1（示例性）
<400> 159
Arg Ser Ile Gly Ser Ile Asn Val Met Gly
1 5 10
<210> 160
<211> 10
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH9 CDR1（示例性）
<400> 160
Gly Arg Thr Phe Ser Thr Tyr Arg Met Gly
1 5 10
<210> 161
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH10 CDR1（示例性）
<400> 161
Gly Phe Thr Phe Thr Arg Tyr Ala Met Gly
1 5 10

[0072]

<210> 162
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH11 CDR1（示例性）
<400> 162
Gly Arg Thr Phe Thr Thr Tyr Arg Met Gly
1 5 10
<210> 163
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH12 CDR1（示例性）
<400> 163
Gly Arg Thr Leu Ser Phe Asn Thr Tyr Ala Met Gly

1 5 10

<210> 164
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH1 和 VHH 2 CDR1 (Contact)
<400> 164
Ser Ser Tyr Arg Met Gly
1 5

<210> 165
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH3 CDR1 (Contact)

[0073]

<400> 165
Ser Ile Asn Val Met Gly
1 5

<210> 166
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH4 CDR1 (Contact)
<400> 166
Ser Ser Asn Ala Met Gly
1 5

<210> 167
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

[0074]

<220>
<223> VHH5 CDR1 (Contact)
<400> 167
Ser Ser Tyr Ala Met Gly
1 5
<210> 168
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH6 CDR1 (Contact)
<400> 168
Ser Ser Asp Ala Met Gly
1 5
<210> 169
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH7 CDR1 (Contact)
<400> 169
Ser Ile Asn Val Met Gly
1 5
<210> 170
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH9 CDR1 (Contact)
<400> 170
Ser Thr Tyr Arg Met Gly
1 5
<210> 171
<211> 6
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH10 CDR1 (Contact)
<400> 171
Thr Arg Tyr Ala Met Gly
1 5
<210> 172
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH11 CDR1 (Contact)
<400> 172
Thr Thr Tyr Arg Met Gly
1 5

[0075]

<210> 173
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH12 CDR1 (Contact)
<400> 173
Ser Phe Asn Thr Tyr Ala Met Gly
1 5
<210> 174
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH1 和 VHH 2 CDR1 (AbM)
<400> 174
Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr Arg Met Gly

1 5 10

<210> 175

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<220>

<223> VHH3 CDR1 (AbM)

<400> 175

Gly Ser Ile Phe Ser Ile Asn Val Met Gly

1 5 10

<210> 176

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<220>

<223> VHH4 CDR1 (AbM)

[0076]

<400> 176

Gly Thr Ser Val Ser Ser Asn Ala Met Gly

1 5 10

<210> 177

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<220>

<223> VHH5 CDR1 (AbM)

<400> 177

Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Gly

1 5 10

<210> 178

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<220>
<223> VHH6 CDR1 (AbM)
<400> 178
Gly Ser Ser Val Ser Ser Asp Ala Met Gly
1 5 10
<210> 179
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH7 CDR1 (AbM)
<400> 179
Arg Ser Ile Gly Ser Ile Asn Val Met Gly
1 5 10
<210> 180
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

[0077]

<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH9 CDR1 (AbM)
<400> 180
Gly Arg Thr Phe Ser Thr Tyr Arg Met Gly
1 5 10
<210> 181
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH10 CDR1 (AbM)
<400> 181
Gly Phe Thr Phe Thr Arg Tyr Ala Met Gly
1 5 10
<210> 182
<211> 10
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH11 CDR1 (AbM)
<400> 182
Gly Arg Thr Phe Thr Thr Tyr Arg Met Gly
1 5 10
<210> 183
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH12 CDR1 (AbM)
<400> 183
Gly Arg Thr Leu Ser Phe Asn Thr Tyr Ala Met Gly
1 5 10

[0078]

<210> 184
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH1 和 VHH 2 CDR2（示例性）
<400> 184
Ala Ile Asp Trp Asn Gly Arg Gly Thr Tyr Tyr Arg Tyr Tyr Ala Asp
1 5 10 15
Ser Val Lys Gly
20
<210> 185
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH3 CDR2（示例性）

<400> 185
Arg Ile Asn Gly Gly Gly Ile Thr His Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly
1 5 10 15
<210> 186
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH4 CDR2（示例性）
<400> 186
Phe Ile Asp Arg Ile Ala Thr Thr Thr Ile Ala Thr Ser Val Lys Gly
1 5 10 15
<210> 187
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽

[0079]

<220>
<223> VHH5 CDR2（示例性）
<400> 187
Ala Ile Thr Trp Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 188
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH6 CDR2（示例性）
<400> 188
Phe Ile Ser Gly Gly Gly Thr Thr Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15
<210> 189
<211> 16
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH7 CDR2（示例性）
<400> 189
Arg Ile Thr Gly Gly Gly Ser Thr His Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly
1 5 10 15
<210> 190
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH9 CDR2（示例性）
<400> 190
Ala Ile Ser Trp Ser Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Asp Pro Val Lys
1 5 10 15
Gly

[0080]

<210> 191
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH10 CDR2（示例性）
<400> 191
Ala Ile Ser Trp Ser Gly Ser Ser Ala Gly Tyr Gly Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 192
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽

<220>
<223> VHH11 CDR2（示例性）
<400> 192
Ala Ile Arg Trp Ser Gly Gly Arg Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 193
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH12 CDR2（示例性）
<400> 193
Ser Ile Thr Trp Asn Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

[0081]

<210> 194
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH1 和 VHH2 CDR2 (Contact)
<400> 194
Phe Val Ala Ala Ile Asp Trp Asn Gly Arg Gly Thr Tyr Tyr Arg Tyr
1 5 10 15
<210> 195
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH3 CDR2 (Contact)
<400> 195
Leu Val Ala Arg Ile Asn Gly Gly Gly Ile Thr His

1 5 10

<210> 196

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<220>

<223> VHH4 CDR2 (Contact)

<400> 196

Trp Val Gly Phe Ile Asp Arg Ile Ala Thr Thr Thr

1 5 10

<210> 197

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<220>

<223> VHH5 CDR2 (Contact)

[0082]

<400> 197

Phe Val Ala Ala Ile Thr Trp Asn Gly Gly Thr Thr Tyr

1 5 10

<210> 198

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<220>

<223> VHH6 CDR2 (Contact)

<400> 198

Trp Val Ala Phe Ile Ser Gly Gly Gly Thr Thr Thr

1 5 10

<210> 199

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<220>
<223> VHH7 CDR2 (Contact)
<400> 199
Leu Val Ala Arg Ile Thr Gly Gly Gly Ser Thr His
1 5 10
<210> 200
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH9 CDR2 (Contact)
<400> 200
Phe Val Ala Ala Ile Ser Trp Ser Gly Gly Ser Thr Thr
1 5 10
<210> 201
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
[0083]
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH10 CDR2 (Contact)
<400> 201
Phe Val Ala Ala Ile Ser Trp Ser Gly Ser Ser Ala Gly
1 5 10
<210> 202
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH11 CDR2 (Contact)
<400> 202
Phe Val Ala Ala Ile Arg Trp Ser Gly Gly Arg Thr Leu
1 5 10
<210> 203
<211> 13
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH12 CDR2 (Contact)
<400> 203
Phe Val Ala Ser Ile Thr Trp Asn Gly Gly Ser Thr Ser
1 5 10
<210> 204
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH1 和 VHH 2CDR2 (AbM)
<400> 204
Ala Ile Asp Trp Asn Gly Arg Gly Thr Tyr Tyr Arg Tyr
1 5 10
[0084] <210> 205
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH3 CDR2 (AbM)
<400> 205
Arg Ile Asn Gly Gly Gly Ile Thr His
1 5
<210> 206
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH4 CDR2 (AbM)
<400> 206
Phe Ile Asp Arg Ile Ala Thr Thr Thr

1 5

<210> 207

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<220>

<223> VHH5 CDR2 (AbM)

<400> 207

Ala Ile Thr Trp Asn Gly Gly Thr Thr Tyr

1 5 10

<210> 208

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<220>

<223> VHH6 CDR2 (AbM)

[0085]

<400> 208

Phe Ile Ser Gly Gly Gly Thr Thr Thr

1 5

<210> 209

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<220>

<223> VHH7 CDR2 (AbM)

<400> 209

Arg Ile Thr Gly Gly Gly Ser Thr His

1 5

<210> 210

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<220>
<223> VHH9 CDR2 (AbM)
<400> 210
Ala Ile Ser Trp Ser Gly Gly Ser Thr Thr
1 5 10
<210> 211
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH10 CDR2 (AbM)
<400> 211
Ala Ile Ser Trp Ser Gly Ser Ser Ala Gly
1 5 10
<210> 212
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
[0086] <220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH11 CDR2 (AbM)
<400> 212
Ala Ile Arg Trp Ser Gly Gly Arg Thr Leu
1 5 10
<210> 213
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH12 CDR2 (AbM)
<400> 213
Ser Ile Thr Trp Asn Gly Gly Ser Thr Ser
1 5 10
<210> 214
<211> 13
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH1 CDR3（示例性）
<400> 214
Gly Ser Ile Asp Leu Asn Trp Tyr Gly Gly Met Asp Tyr
1 5 10
<210> 215
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH2 CDR3（示例性）
<400> 215
Thr Thr Val Leu Thr Asp Pro Arg Val Leu Asn Glu Tyr Ala Thr
1 5 10 15

[0087]

<210> 216
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH3 CDR3（示例性）
<400> 216
Asp Val Phe Gly Ser Ser Gly Tyr Val Glu Thr Tyr
1 5 10
<210> 217
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH4 CDR3（示例性）
<400> 217
Pro Leu Thr Ala Arg

1 5

<210> 218

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<220>

<223> VHH5 CDR3（示例性）

<400> 218

Asp Pro Phe Asn Gln Gly Tyr

1 5

<210> 219

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<220>

<223> VHH6 CDR3（示例性）

[0088]

<400> 219

Pro Leu Thr Ser Arg

1 5

<210> 220

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<220>

<223> VHH7 CDR3（示例性）

<400> 220

Met Val Asn Pro Ile Ile Thr Ala Trp Gly Thr Ile Gly Val Arg Glu

1 5 10 15

Ile Pro Asp Tyr Asp Tyr

20

<210> 221

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH9 CDR3（示例性）
<400> 221
Gln Arg Gly Tyr
1
<210> 222
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH10 CDR3（示例性）
<400> 222
Asp Pro Phe Asn Gln Gly Tyr
1 5
<210> 223
<211> 21
<212> PRT
[0089] <213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH11 CDR3（示例性）
<400> 223
Asp Leu Ala Glu Tyr Ser Gly Thr Tyr Ser Ser Pro Ala Asp Ser Pro
1 5 10 15
Ala Gly Tyr Asp Tyr
20
<210> 224
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH12 CDR3（示例性）
<400> 224
Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Gly Thr Tyr Phe Pro Ala Asn Tyr

1 5 10

<210> 225

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<220>

<223> VHH1 CDR3 (Contact)

<400> 225

Ala Ala Gly Ser Ile Asp Leu Asn Trp Tyr Gly Gly Met Asp

1 5 10

<210> 226

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<220>

<223> VHH2 CDR3 (Contact)

[0090]

<400> 226

Ala Ala Thr Thr Val Leu Thr Asp Pro Arg Val Leu Asn Glu Tyr Ala

1 5 10 15

<210> 227

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<220>

<223> VHH3 CDR3 (Contact)

<400> 227

Lys Ala Asp Val Phe Gly Ser Ser Gly Tyr Val Glu Thr

1 5 10

<210> 228

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

[0091]

<220>
<223> VHH4 CDR3 (Contact)
<400> 228
Asn His Pro Leu Thr Ala
1 5
<210> 229
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH5 CDR3 (Contact)
<400> 229
Ala Ala Asp Pro Phe Asn Gln Gly
1 5
<210> 230
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH6 CDR3 (Contact)
<400> 230
Asn His Pro Leu Thr Ser
1 5
<210> 231
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH7 CDR3 (Contact)
<400> 231
Ala Ser Met Val Asn Pro Ile Ile Thr Ala Trp Gly Thr Ile Gly Val
1 5 10 15
Arg Glu Ile Pro Asp Tyr Asp
20
<210> 232

[0092]

<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH9 CDR3 (Contact)
<400> 232
Asn Asp Gln Arg Gly
1 5
<210> 233
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH10 CDR3 (Contact)
<400> 233
Ala Ala Asp Pro Phe Asn Gln Gly
1 5
<210> 234
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH11 CDR3 (Contact)
<400> 234
Ala Ala Asp Leu Ala Glu Tyr Ser Gly Thr Tyr Ser Ser Pro Ala Asp
1 5 10 15
Ser Pro Ala Gly Tyr Asp
20
<210> 235
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽

<220>
<223> VHH12 CDR3 (Contact)
<400> 235
Ala Ala Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Gly Thr Tyr Phe Pro Ala Asn
1 5 10 15
<210> 236
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH1 CDR3 (AbM)
<400> 236
Gly Ser Ile Asp Leu Asn Trp Tyr Gly Gly Met Asp Tyr
1 5 10
<210> 237
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
[0093]
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH2 CDR3 (AbM)
<400> 237
Thr Thr Val Leu Thr Asp Pro Arg Val Leu Asn Glu Tyr Ala Thr
1 5 10 15
<210> 238
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH3 CDR3 (AbM)
<400> 238
Asp Val Phe Gly Ser Ser Gly Tyr Val Glu Thr Tyr
1 5 10
<210> 239
<211> 5
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH4 CDR3 (AbM)
<400> 239
Pro Leu Thr Ala Arg
1 5
<210> 240
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH5 CDR3 (AbM)
<400> 240
Asp Pro Phe Asn Gln Gly Tyr
1 5

[0094]

<210> 241
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH6 CDR3 (AbM)
<400> 241
Pro Leu Thr Ser Arg
1 5
<210> 242
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH7 CDR3 (AbM)
<400> 242
Met Val Asn Pro Ile Ile Thr Ala Trp Gly Thr Ile Gly Val Arg Glu

1 5 10 15
Ile Pro Asp Tyr Asp Tyr
20
<210> 243
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH9 CDR3 (AbM)
<400> 243
Gln Arg Gly Tyr
1
<210> 244
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH10 CDR3 (AbM)
<400> 244
Asp Pro Phe Asn Gln Gly Tyr
1 5
<210> 245
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH11 CDR3 (AbM)
<400> 245
Asp Leu Ala Glu Tyr Ser Gly Thr Tyr Ser Ser Pro Ala Asp Ser Pro
1 5 10 15
Ala Gly Tyr Asp Tyr
20
<210> 246
<211> 14
<212> PRT

[0095]

<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH12 CDR3 (AbM)
<400> 246
Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Gly Thr Tyr Phe Pro Ala Asn Tyr
1 5 10
<210> 247
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<220>
<223> hpIgR_073
<220>
<221> MOD_RES
<222> (96)..(96)
<223> 任何氨基酸
<220>
<221> MOD_RES
<222> (99)..(99)
[0096] <223> 任何氨基酸
<400> 247
Glu Val Gln Val Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Thr Ser Val Ser Ser Asn
20 25 30
Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Trp Val
35 40 45
Gly Phe Ile Asp Arg Ile Ala Thr Thr Thr Ile Ala Thr Ser Val Lys
50 55 60
Gly Arg Phe Ala Ile Thr Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Ser Gly Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Xaa
85 90 95
His Pro Xaa Thr Ala Arg Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
100 105 110
Ser

<210> 248
<211> 130
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<223> hpIgR_201
<400> 248
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Pro Asn Ser Lys Tyr
20 25 30
Ala Met Ala Trp Phe Arg Arg Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Gln
35 40 45
Ala Ala Ile Asn Trp Ser Gly Ala Asn Thr Tyr Tyr Gly Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Thr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Asn Leu Asn Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Asp Asn Arg Ala Tyr Thr Tyr His Thr Phe Asp Tyr Tyr Gln
100 105 110
Thr Asp Ala Ser Tyr Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
115 120 125
Ser Ser
130

[0097]

<210> 249
<211> 127
<212> PRT
<213> 小鼠属
<220>
<223> mpIgR_349
<400> 249
Gln Leu Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Thr Ser
20 25 30
Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Gln Trp Ser Ser Ala Ser Ala Ser Thr Tyr Tyr Tyr Tyr
50 55 60
Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg
65 70 75 80
Asn Thr Val Ser Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala
85 90 95
Val Tyr Tyr Cys Ala Asn Leu Val Phe Arg Val Gly Ala Leu Lys Glu
100 105 110
Arg Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 250
<211> 110
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<220>
<223> hpIgR_D1
<400> 250
Lys Ser Pro Ile Phe Gly Pro Glu Glu Val Asn Ser Val Glu Gly Asn
1 5 10 15
Ser Val Ser Ile Thr Cys Tyr Tyr Pro Pro Thr Ser Val Asn Arg His
20 25 30
Thr Arg Lys Tyr Trp Cys Arg Gln Gly Ala Arg Gly Gly Cys Ile Thr
35 40 45
Leu Ile Ser Ser Glu Gly Tyr Val Ser Ser Lys Tyr Ala Gly Arg Ala
50 55 60
Asn Leu Thr Asn Phe Pro Glu Asn Gly Thr Phe Val Val Asn Ile Ala
65 70 75 80
Gln Leu Ser Gln Asp Asp Ser Gly Arg Tyr Lys Cys Gly Leu Gly Ile
85 90 95
Asn Ser Arg Gly Leu Ser Phe Asp Val Ser Leu Glu Val Ser
100 105 110

[0098]

<210> 251
<211> 110
<212> PRT
<213> 小鼠属
<220>
<223> mpIgR_D1
<400> 251
Lys Ser Pro Ile Phe Gly Pro Gln Glu Val Ser Ser Ile Glu Gly Asp
1 5 10 15
Ser Val Ser Ile Thr Cys Tyr Tyr Pro Asp Thr Ser Val Asn Arg His
20 25 30
Thr Arg Lys Tyr Trp Cys Arg Gln Gly Ala Ser Gly Met Cys Thr Thr
35 40 45
Leu Ile Ser Ser Asn Gly Tyr Leu Ser Lys Glu Tyr Ser Gly Arg Ala
50 55 60
Asn Leu Ile Asn Phe Pro Glu Asn Asn Thr Phe Val Ile Asn Ile Glu
65 70 75 80
Gln Leu Thr Gln Asp Asp Thr Gly Ser Tyr Lys Cys Gly Leu Gly Thr
85 90 95
Ser Asn Arg Gly Leu Ser Phe Asp Val Ser Leu Glu Val Ser
100 105 110
<210> 252
<211> 110

[0099]

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<220>
<223> 共有序列
<220>
<221> MOD_RES
<222> (8)..(8)
<223> Glu 或 Gln
<220>
<221> MOD_RES
<222> (11)..(11)
<223> Asn 或 Ser
<220>
<221> MOD_RES
<222> (16)..(16)
<223> Asn 或 Asp
<220>
<221> MOD_RES
<222> (26)..(26)
<223> Pro 或 Asp
<220>
<221> MOD_RES
<222> (43)..(43)
<223> Arg 或 Ser
<220>
<221> MOD_RES
<222> (45)..(45)
<223> Gly 或 Met
<220>
<221> MOD_RES
<222> (47)..(47)
<223> Ile 或 Thr
<220>
<221> MOD_RES
<222> (53)..(53)
<223> Glu 或 Asn
<220>
<221> MOD_RES
<222> (58)..(58)
<223> Ser 或 Lys
<220>

[0100]

<220>
<221> MOD_RES
<222> (59)..(59)
<223> Lys 或 Glu
<220>
<221> MOD_RES
<222> (67)..(67)
<223> Thr 或 Ile
<220>
<221> MOD_RES
<222> (73)..(73)
<223> Gly 或 Asn
<220>
<221> MOD_RES
<222> (80)..(80)
<223> Ala 或 Glu
<220>
<221> MOD_RES
<222> (89)..(89)
<223> Arg 或 Ser
<220>
<221> MOD_RES
<222> (96)..(96)
<223> Ile 或 Thr
<220>
<221> MOD_RES
<222> (97)..(97)
<223> Asn 或 Ser
<220>
<221> MOD_RES
<222> (98)..(98)
<223> Ser 或 Asn
<400> 252

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

Xaa Xaa Arg Gly Leu Ser Phe Asp Val Ser Leu Glu Val Ser
100 105 110

<210> 253
<211> 113
<212> PRT
<213> 虹鳟
<220>
<223> tpIgR_D1
<400> 253

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

[0101]

<210> 254
<211> 109
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<220>
<223> hpIgR_D1
<400> 254

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

[0102]

Asn Ser Arg Gly Leu Ser Phe Asp Val Ser Leu Glu Val
100 105

<210> 255
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> hD1_tCDR1
<400> 255

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

<210> 256
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽
<220>
<223> hD1_tCDR2
<400> 256

Lys Ser Pro Ile Phe Gly Pro Glu Glu Val Asn Ser Val Glu Gly Asn
1 5 10 15
Ser Val Ser Ile Thr Cys Tyr Tyr Pro Pro Thr Ser Val Asn Arg His
20 25 30
Thr Arg Lys Tyr Trp Cys Arg Gln Gly Ala Arg Gly Gly Cys Ile Thr
35 40 45
Leu Ile Ser Ser Asp Ala Pro Val Ser Ser Lys Tyr Ala Gly Arg Ala
50 55 60

Asn Leu Thr Asn Phe Pro Glu Asn Gly Thr Phe Val Val Asn Ile Ala
65 70 75 80
Gln Leu Ser Gln Asp Asp Ser Gly Arg Tyr Lys Cys Gly Leu Gly Ile
85 90 95
Asn Ser Arg Gly Leu Ser Phe Asp Val Ser Leu Glu Val
100 105

<210> 257
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽
<220>
<223> hD1_tCDR3
<400> 257

[0103]

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

<210> 258
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽
<220>
<223> VHH11 CDR1 (Kabat)
<400> 258
Phe Thr Thr Tyr Arg Met Gly
1 5

<210> 259
<211> 5

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH11 CDR1 (Kabat) -替代形式
<400> 259
Thr Tyr Arg Met Gly
1 5
<210> 260
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH1 和 VHH2 CDR2 (Chothia) -替代形式
<400> 260
Trp Asn Gly Arg Gly Thr Tyr
1 5

[0104]

<210> 261
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH3 CDR2 (Chothia) -替代形式
<400> 261
Gly Gly Gly
1
<210> 262
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH4 CDR2 (Chothia) -替代形式
<400> 262

Arg Ile Ala

1

<210> 263

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
肽

<220>

<223> VHH5 CDR2 (Chothia) -替代形式

<400> 263

Trp Asn Gly Gly

1

<210> 264

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
肽

<220>

[0105]

<223> VHH6 CDR2 (Chothia) -替代形式

<400> 264

Gly Gly Gly

1

<210> 265

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成
肽

<220>

<223> VHH7 CDR2 (Chothia) -替代形式

<400> 265

Gly Gly Gly

1

<210> 266

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成

肽
<220>
<223> VHH9 CDR2 (Chothia) -替代形式
<400> 266
Trp Ser Gly Gly
1
<210> 267
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH10 CDR2 (Chothia) -替代形式
<400> 267
Trp Ser Gly Ser
1
<210> 268
<211> 4
<212> PRT
[0106] <213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH11 CDR2 (Chothia) -替代形式
<400> 268
Trp Ser Gly Gly
1
<210> 269
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH12 CDR2 (Chothia) -替代形式
<400> 269
Trp Asn Gly Gly
1
<210> 270
<211> 11

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH1 和 VHH2 CDR2 (IMGT) -替代形式
<400> 270
Ile Asp Trp Asn Gly Arg Gly Thr Tyr Tyr Arg
1 5 10
<210> 271
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH9 CDR3 (Kabat) -替代形式
<400> 271
Gln Arg Gly Tyr
1

[0107]

<210> 272
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH1 CDR3 (Chothia) -替代形式
<400> 272
Ser Ile Asp Leu Asn Trp Tyr Gly Gly Met Asp
1 5 10
<210> 273
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH2 CDR3 (Chothia) -替代形式
<400> 273

Thr Val Leu Thr Asp Pro Arg Val Leu Asn Glu Tyr Ala
1 5 10
<210> 274
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH3 CDR3 (Chothia) -替代形式
<400> 274
Val Phe Gly Ser Ser Gly Tyr Val Glu Thr
1 5 10
<210> 275
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
[0108]
<223> VHH4 CDR3 (Chothia) -替代形式
<400> 275
Leu Thr Ala
1
<210> 276
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH5 CDR3 (Chothia) -替代形式
<400> 276
Pro Phe Asn Gln Gly
1 5
<210> 277
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成

肽
<220>
<223> VHH6 CDR3 (Chothia) -替代形式
<400> 277
Leu Thr Ser
1
<210> 278
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH7 CDR3 (Chothia) -替代形式
<400> 278
Val Asn Pro Ile Ile Thr Ala Trp Gly Thr Ile Gly Val Arg Glu Ile
1 5 10 15
Pro Asp Tyr Asp
20
<210> 279
<211> 2
[0109]
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH9 CDR3 (Chothia) -替代形式
<400> 279
Arg Gly
1
<210> 280
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH10 CDR3 (Chothia) -替代形式
<400> 280
Pro Phe Asn Gln Gly
1 5

<210> 281
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH11 CDR3 (Chothia) -替代形式
<400> 281
Leu Ala Glu Tyr Ser Gly Thr Tyr Ser Ser Pro Ala Asp Ser Pro Ala
1 5 10 15
Gly Tyr Asp

<210> 282
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
[0110] <223> VHH12 CDR3 (Chothia) -替代形式
<400> 282
Arg Tyr Tyr Val Ser Gly Thr Tyr Phe Pro Ala Asn
1 5 10
<210> 283
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成
肽
<220>
<223> VHH1 CDR3 (IMGT) -替代形式
<400> 283
Ala Ala Gly Ser Ile Asp Leu Asn Trp Tyr Gly Gly Met Asp Tyr
1 5 10 15
<210> 284
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述：合成

肽

<220>

<223> VHH2 CDR3 (IMGT) -替代形式

[0111] <400> 284

Ala Ala Thr Thr Val Leu Thr Asp Pro Arg Val Leu Asn Glu Tyr Ala
1 5 10 15

Thr

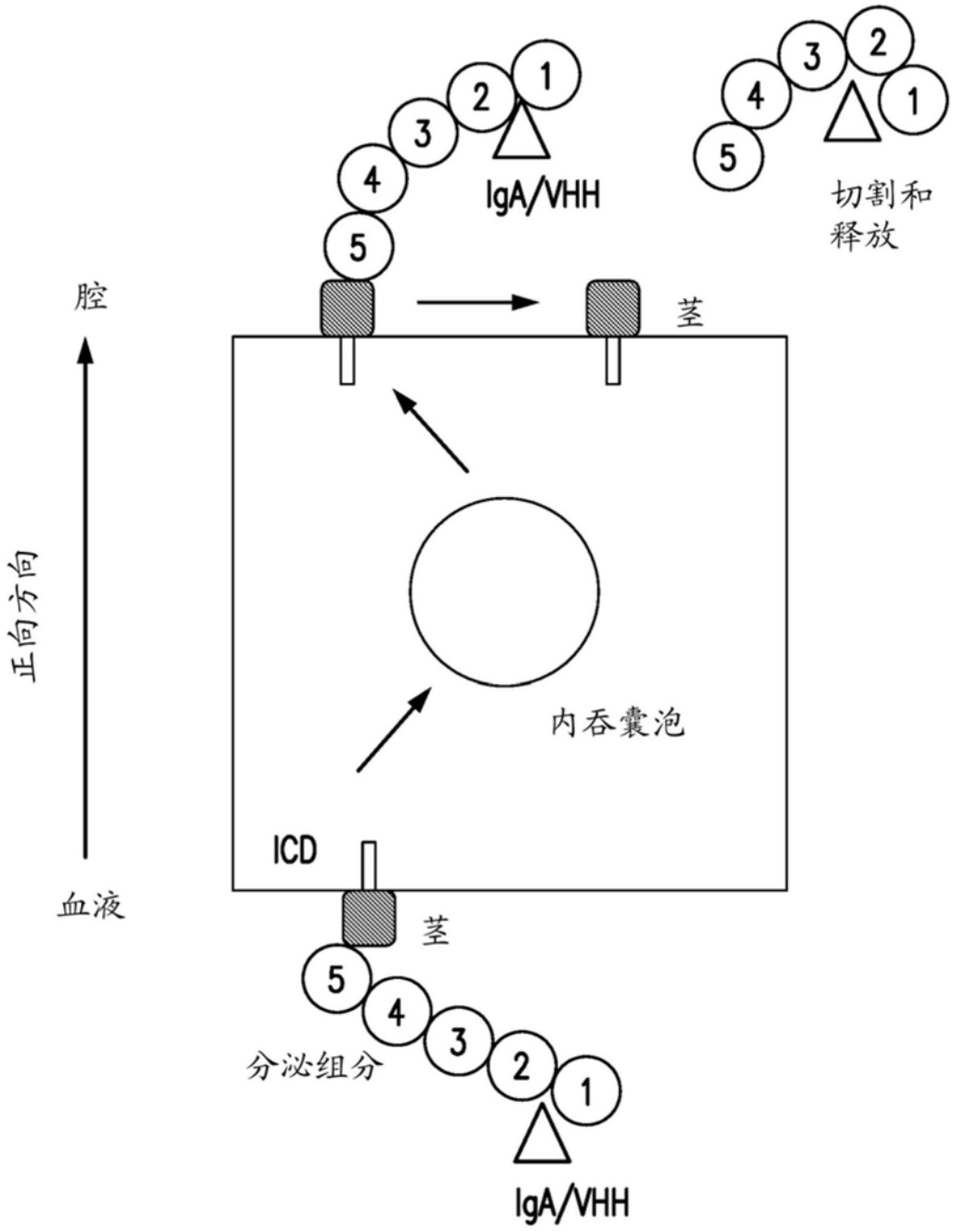


图1A

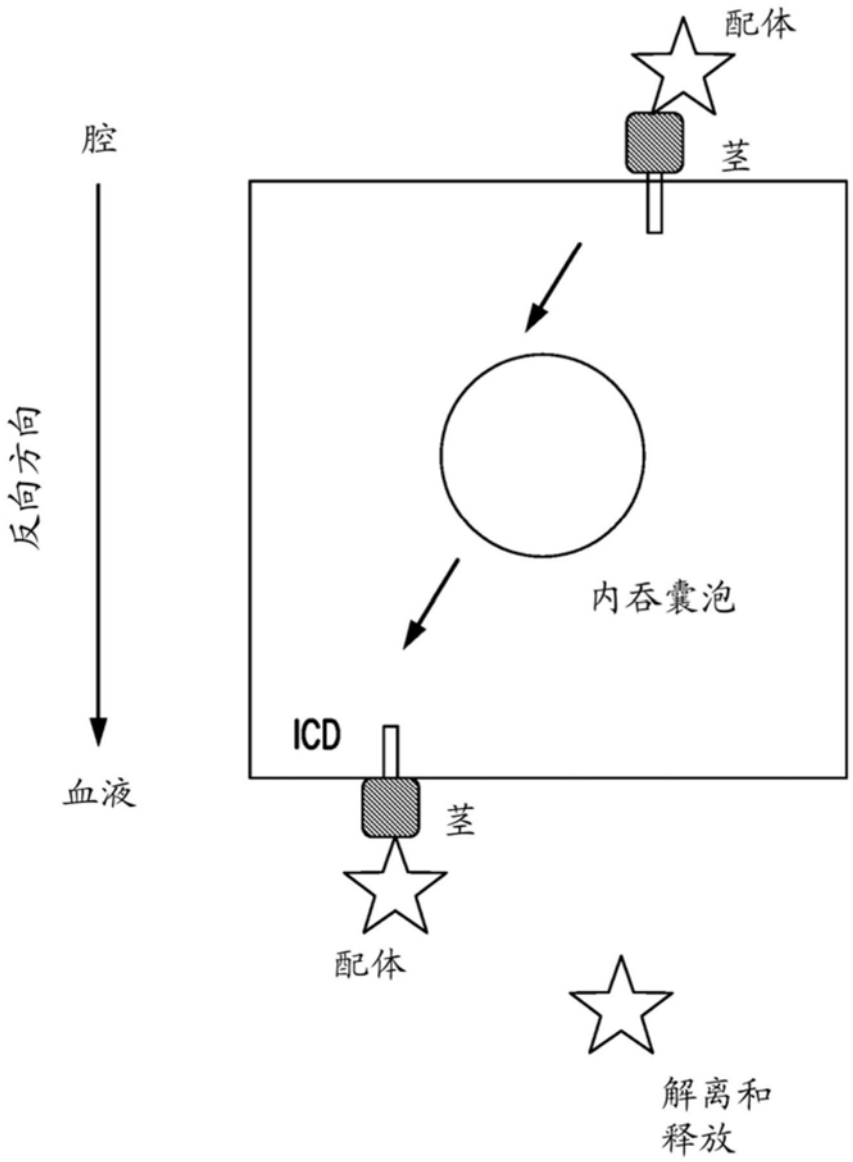


图1B

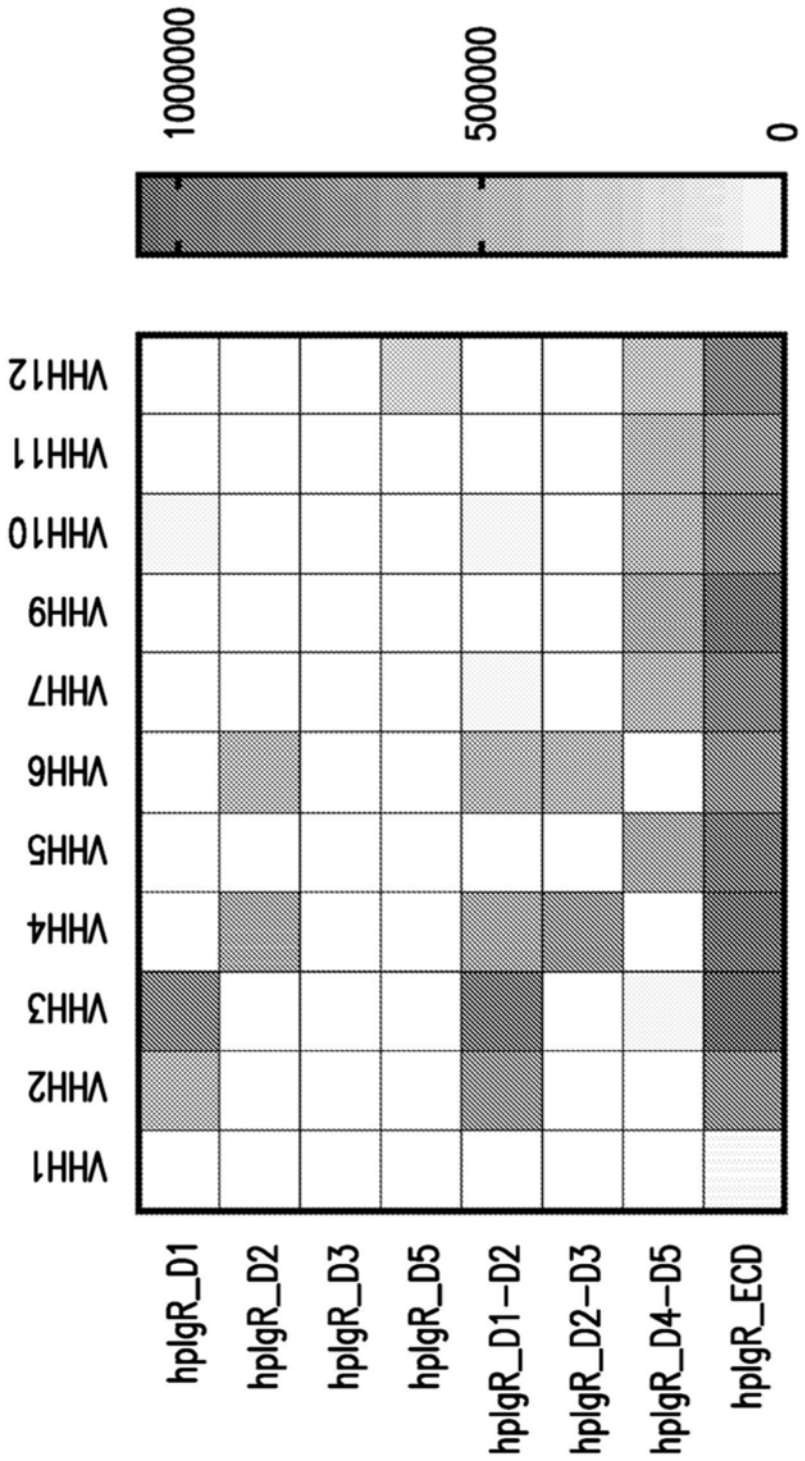

1000000
500000
0
VHH1
VHH2
VHH3
VHH4
VHH5
VHH6
VHH7
VHH9
VHH10
VHH11
VHH12
hplgR_D1
hplgR_D2
hplgR_D3
hplgR_D5
hplgR_D1-D2
hplgR_D2-D3
hplgR_D4-D5
hplgR_ECD

图2

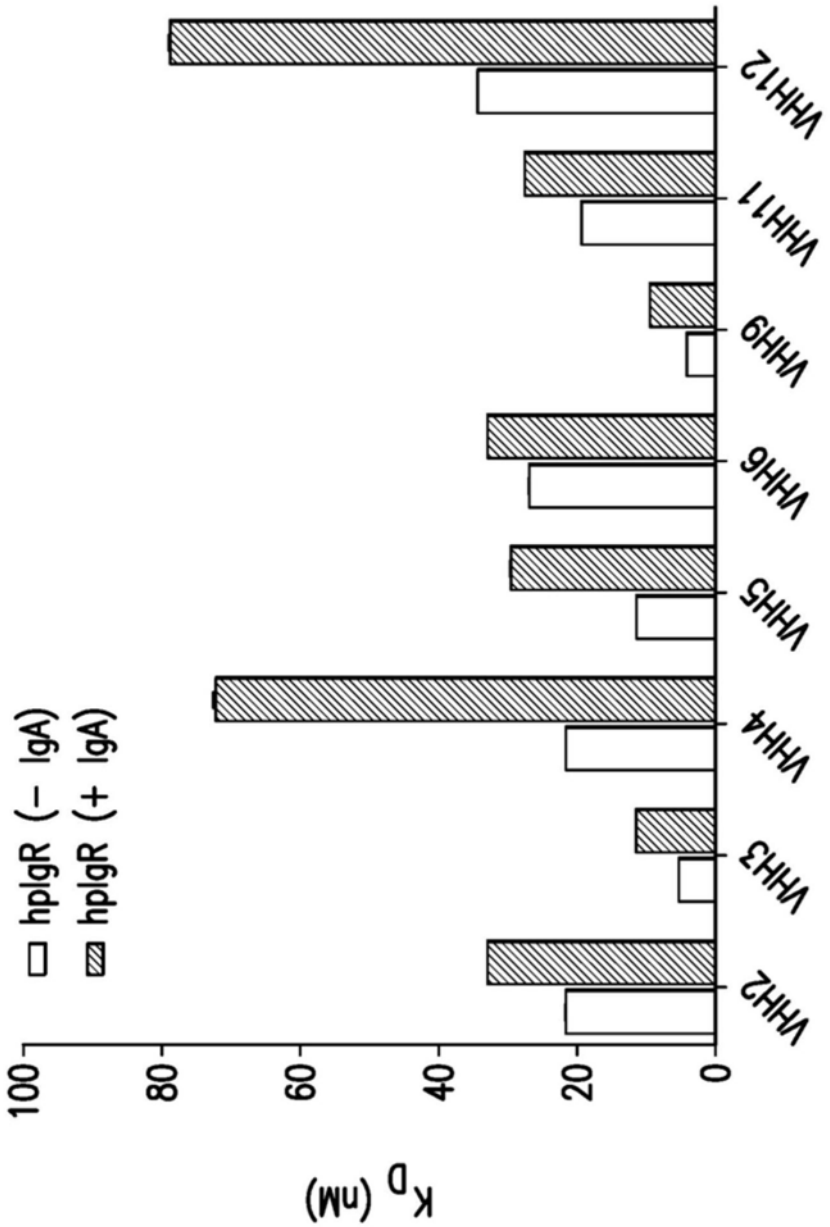

VHH12
VHH11
VHH9
VHH6
VHH5
VHH4
VHH3
VHH2
□ hplgR (− IgA)
▨ hplgR (+ IgA)
100
80
60
40
20
0
K_D (nM)

图3A

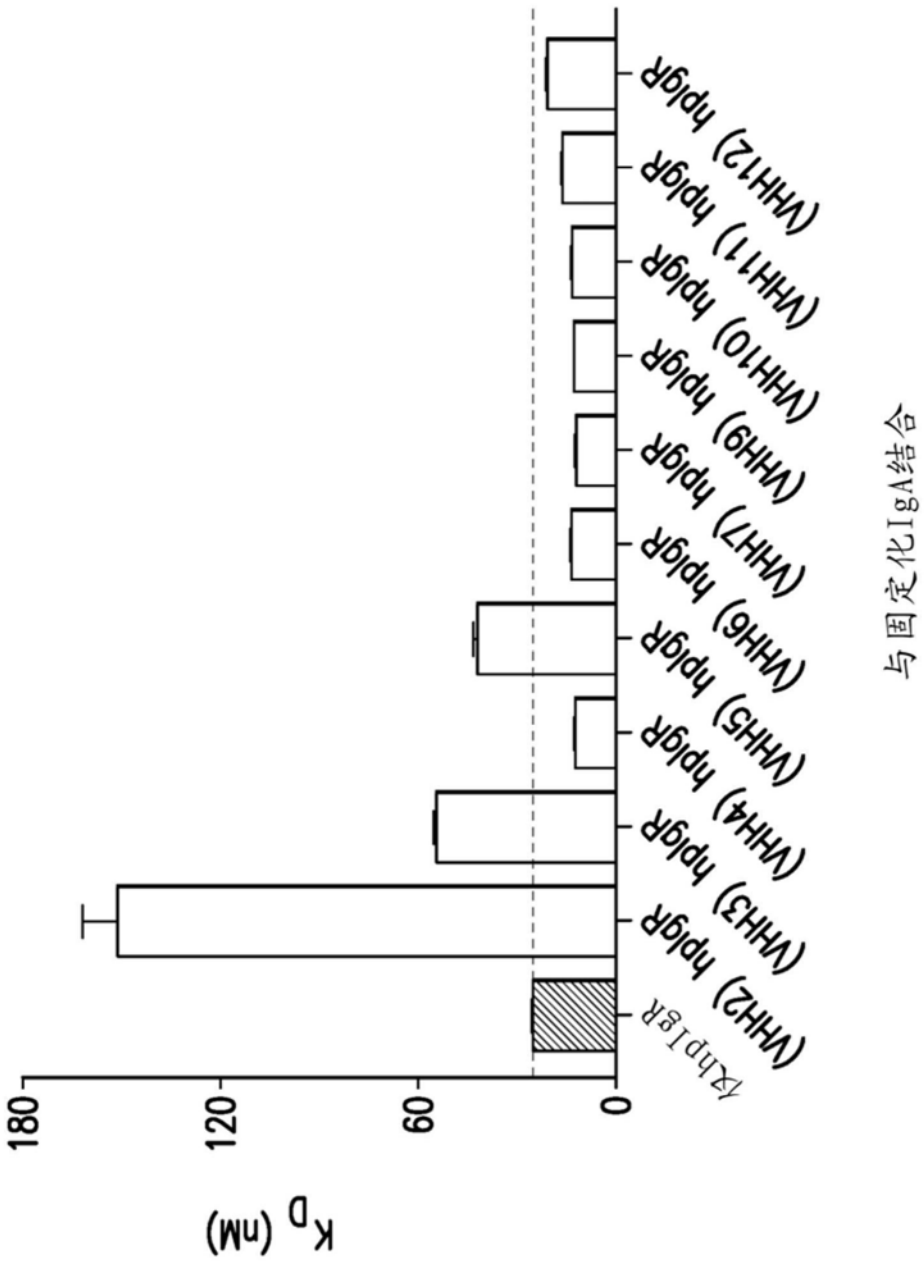

与固定化IgA结合
K_D (nM)
180
120
60
0
抗hpIgR
(VHH2)-hpIgR
(VHH3)-hpIgR
(VHH4)-hpIgR
(VHH5)-hpIgR
(VHH6)-hpIgR
(VHH7)-hpIgR
(VHH9)-hpIgR
(VHH10)-hpIgR
(VHH11)-hpIgR
(VHH12)-hpIgR

图3B

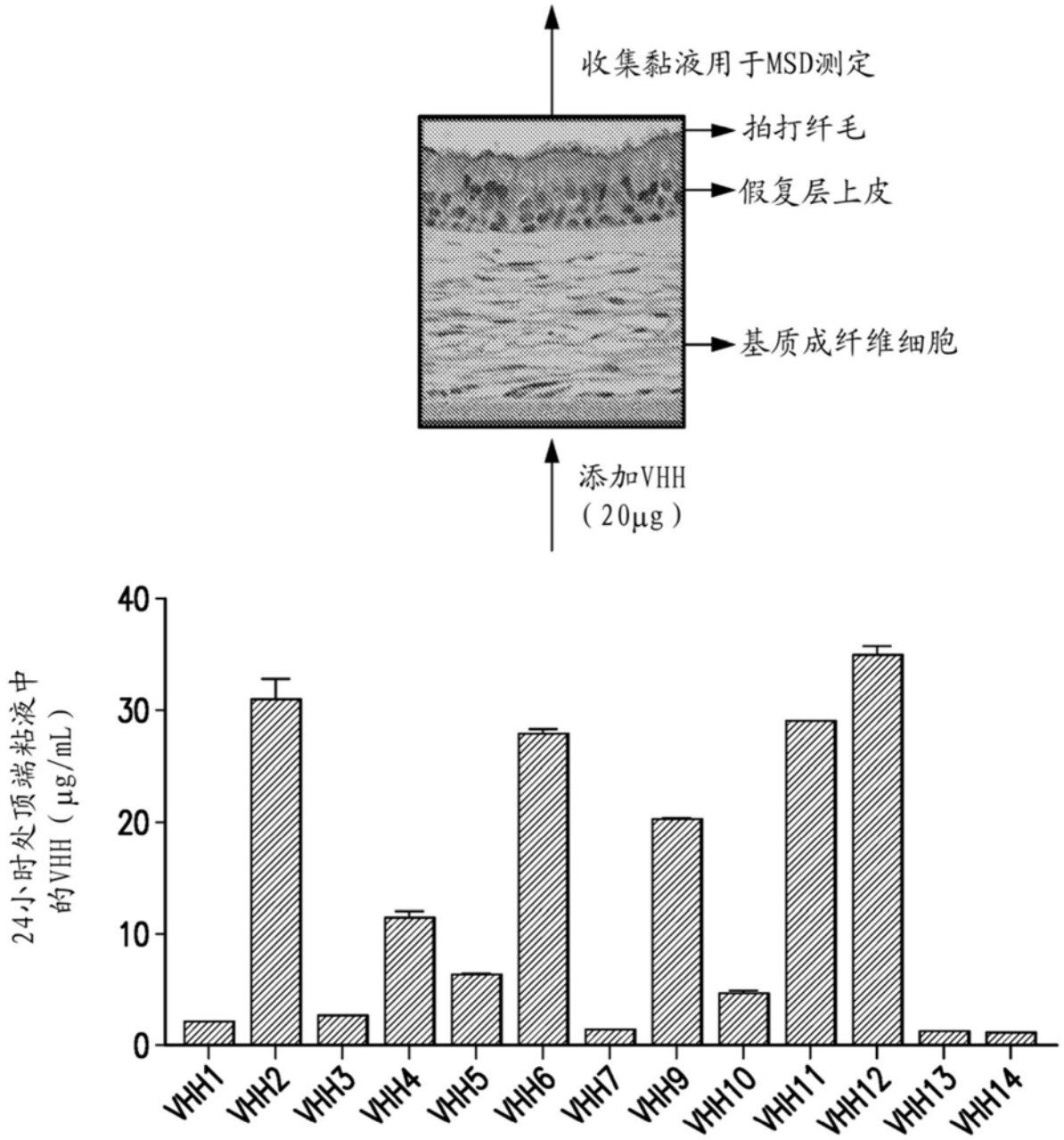

收集黏液用于MSD测定
拍打纤毛
假复层上皮
基质成纤维细胞
添加VHH
(20μg)
24小时处顶端粘液中的VHH(μg/mL)
40
30
20
10
0
VHH1
VHH2
VHH3
VHH4
VHH5
VHH6
VHH7
VHH9
VHH10
VHH11
VHH12
VHH13
VHH14

图4

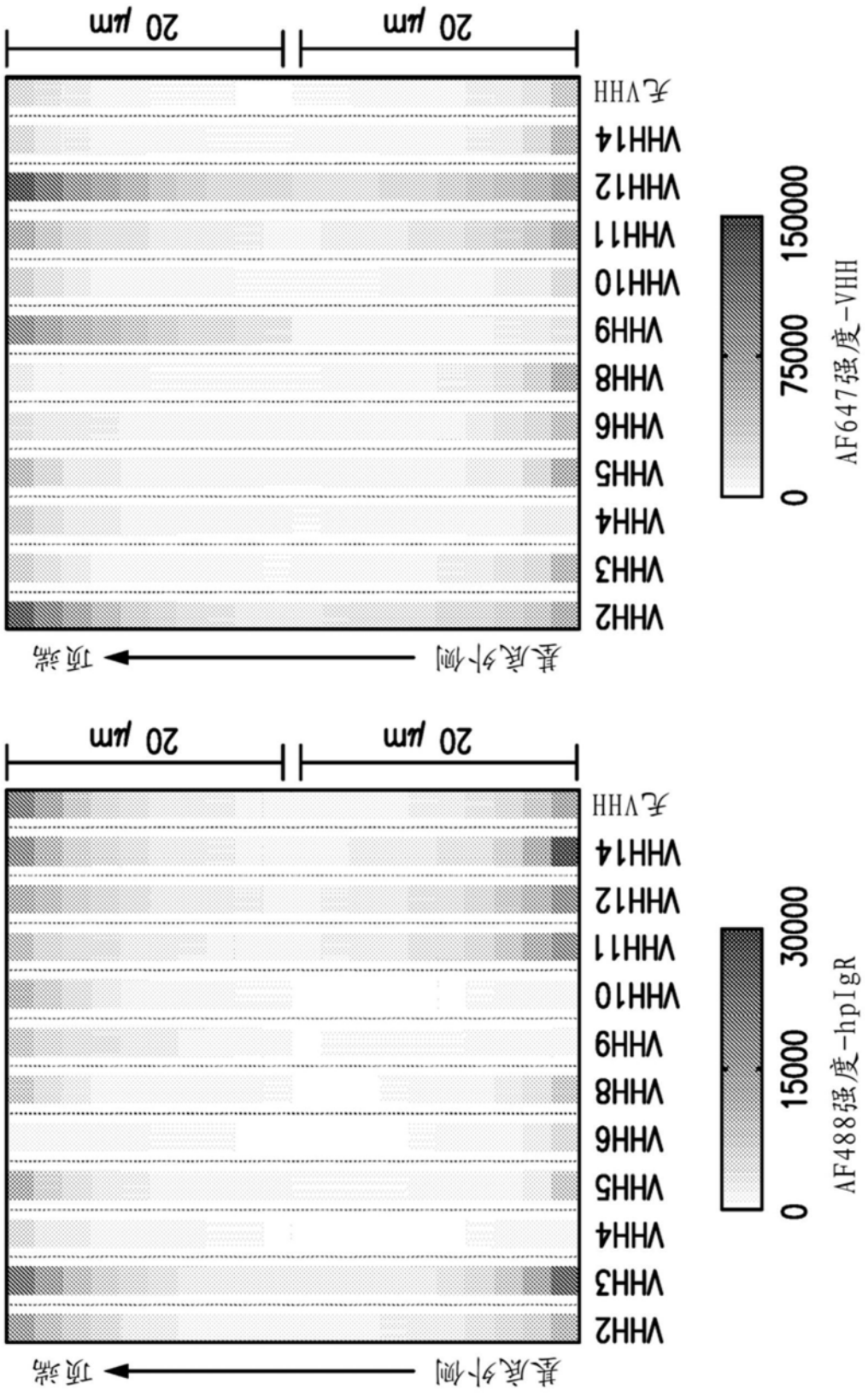

20 μm
20 μm
无VHH
VHH14
VHH12
VHH11
VHH10
VHH9
VHH8
VHH6
VHH5
VHH4
VHH3
VHH2
0
75000
150000
AF647强度-VHH
基底外侧
顶端
20 μm
20 μm
无VHH
VHH14
VHH12
VHH11
VHH10
VHH9
VHH8
VHH6
VHH5
VHH4
VHH3
VHH2
0
15000
30000
AF488强度-hpIgR
基底外侧
顶端

图5

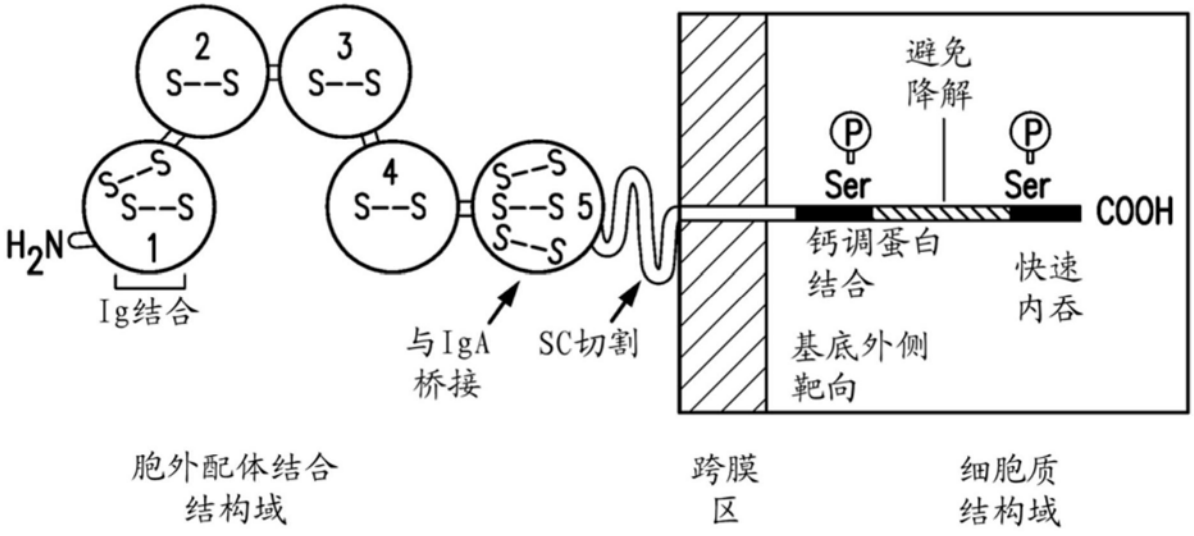

2
S--S
3
S--S
S--S
S--S
1
4
S--S
S--S
S--S
5
S--S
H2N
Ig结合
与IgA
桥接
SC切割
避免
降解
P
Ser
P
Ser
COOH
钙调蛋白
结合
快速
内吞
基底外侧
靶向
胞外配体结合
结构域
跨膜
区
细胞质
结构域

图6A

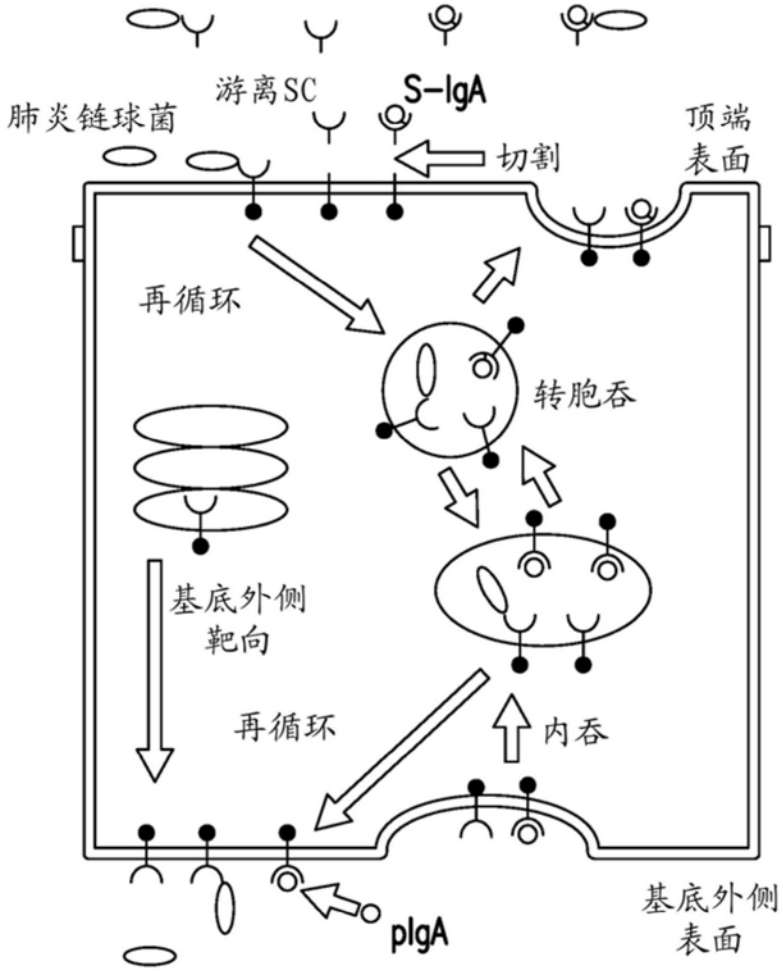

游离SC
S-IgA
肺炎链球菌
切割
顶端
表面
再循环
转胞吞
基底外侧
靶向
再循环
内吞
pIgA
基底外侧
表面

图6B

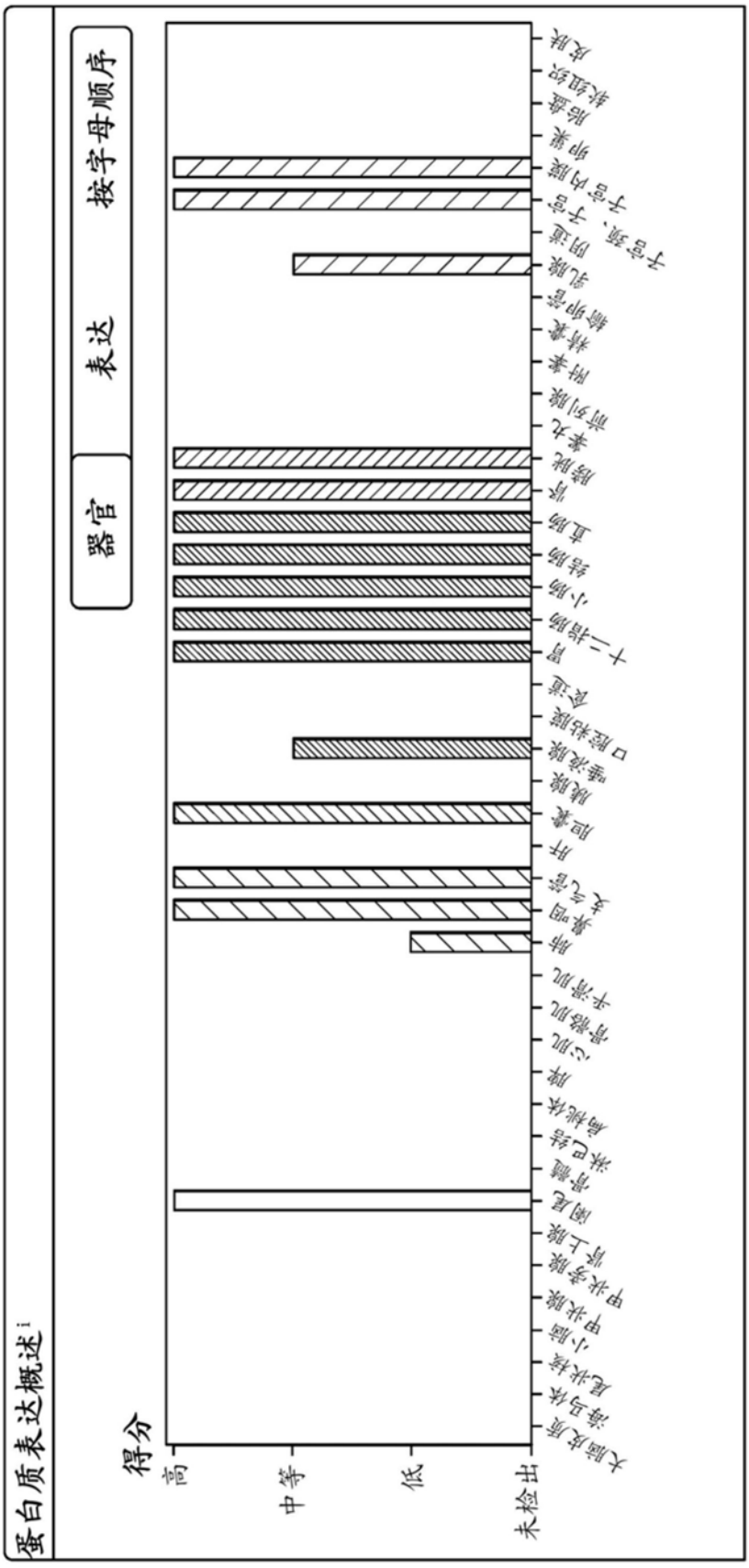
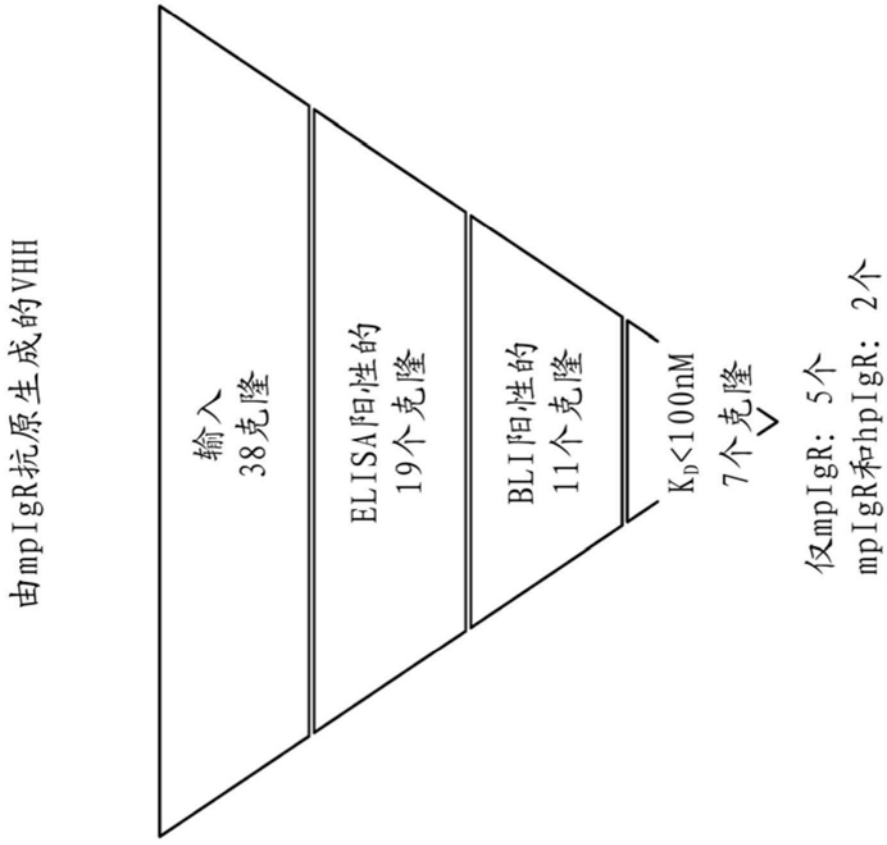

蛋白质表达概述 i
器官
表达
按字母顺序
得分
高
中等
低
未检出
大脑皮质
海马体
尾状核
小脑
甲状腺
甲状旁腺
肾上腺
阑尾
骨髓
淋巴结
扁桃体
脾
心肌
骨骼肌
平滑肌
肺
唾液腺
支气管
肝
胆囊
胰腺
唾液腺
口腔粘膜
食道
胃
十二指肠
小肠
结肠
直肠
肾
膀胱
睾丸
前列腺
附睾
精囊
输卵管
乳腺
阴道
子宫
子宫颈、子宫内膜
卵巢
胎盘
脐组织
皮肤

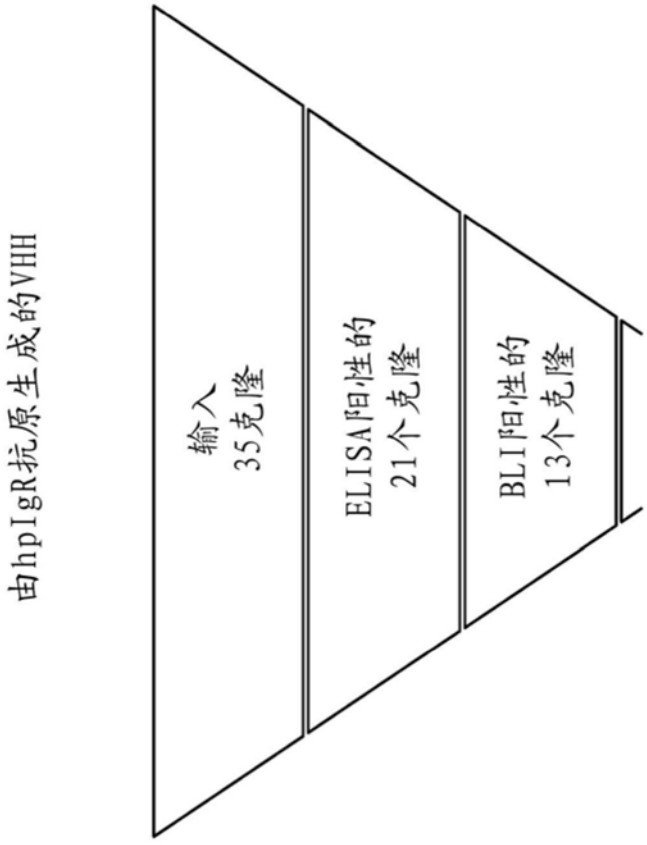
图7



K_D值（nM）

VHH#	mplgR	hplgR
072	13	75
089	2	–
140	7	–
167	58	–
220	1	–
338	1	22
428	70	–

图8



K_D值（nM）

VHH#	hplgR	mplgR
021	5	40
073	22	–
175	11	–
181	27	–
221	4	–
250	19	–
266	34	–

图9

VHH	EC_{50}(nM)
mplgr_072	298.8
mplgr_338	6.3
hplgR_021	6.4
hplgR_073	32.9
hplgR_175	4.3
hplgR_181	11.5
hplgR_198	36.4
hplgR_221	1.5
hplgR_225	20.4
hplgR_250	1.5
hplgR_266	4.6

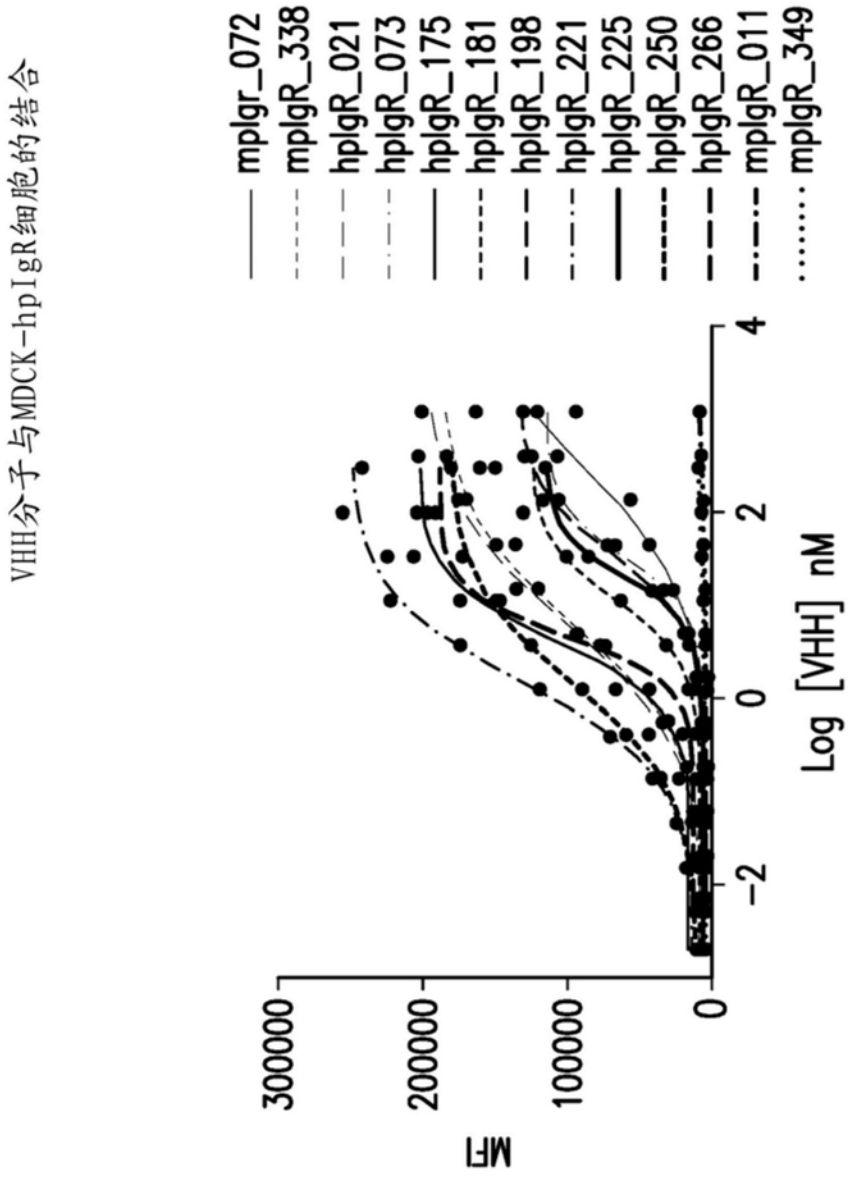


图10

MDCK-hpIgR细胞形成极化单层
染色显示hpIgR位于细胞单层的表面和内部
单层内hpIgR染色的分布不均匀
初始实验显示hpIgR受体密度为约6000/细胞
蓝色-Hoechst
绿色-抗PIGR
红色-抗Rab5
顶端
基底外侧

图11

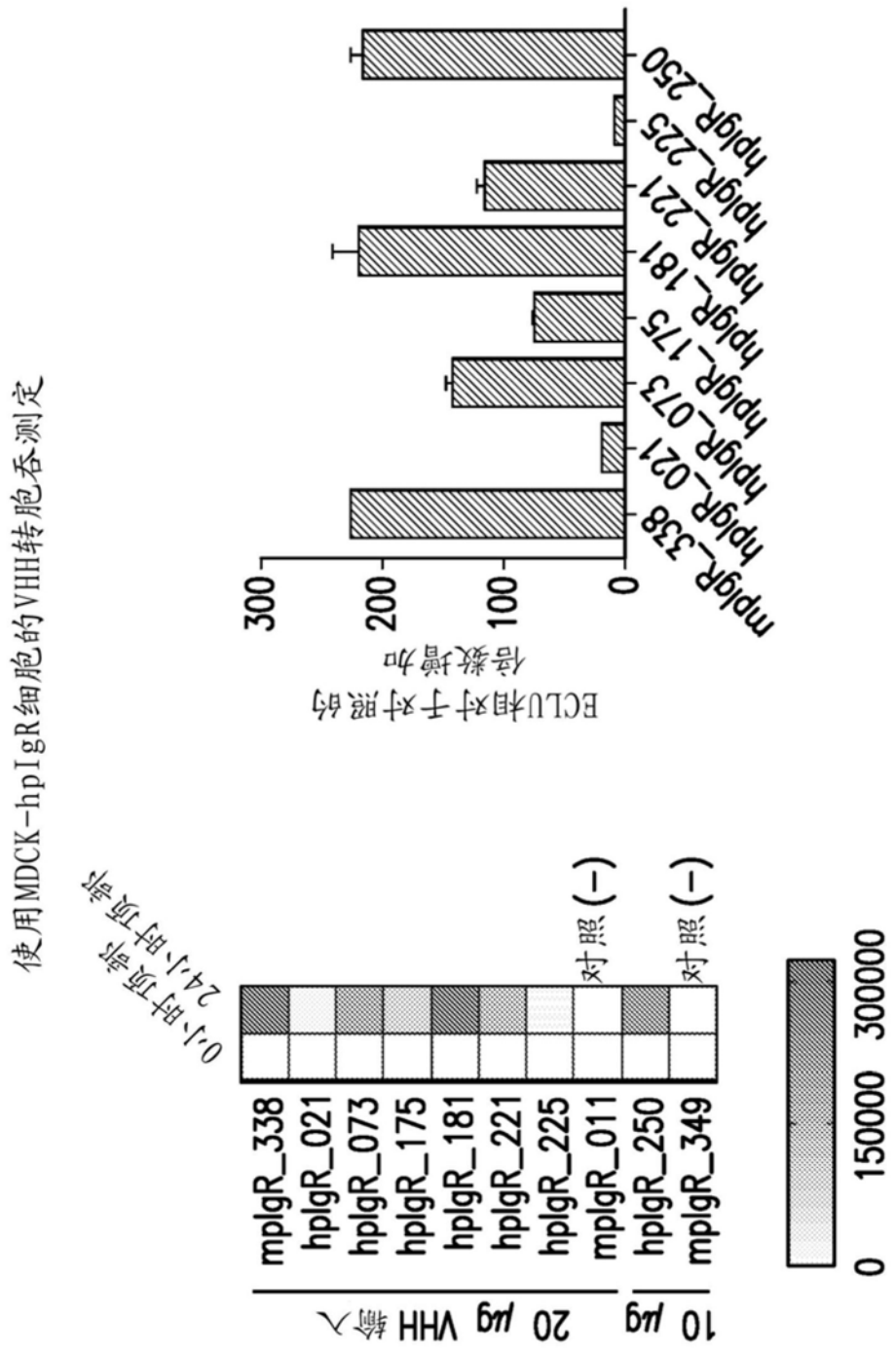

使用MDCK-hpIgR细胞的VHH转胞吞测定
0.1小时孔壁
24.1小时孔壁
0
150000
300000
10 μg
20 μg VHH 输入
对照 (-)
对照 (-)
mplgR_338
hplgR_021
hplgR_073
hplgR_175
hplgR_181
hplgR_221
hplgR_225
mplgR_011
hplgR_250
mplgR_349
ECLU相对于对照的倍数增加
300
200
100
0
mplgR_338
hplgR_021
hplgR_073
hplgR_175
hplgR_181
hplgR_221
hplgR_225
hplgR_250

图12A

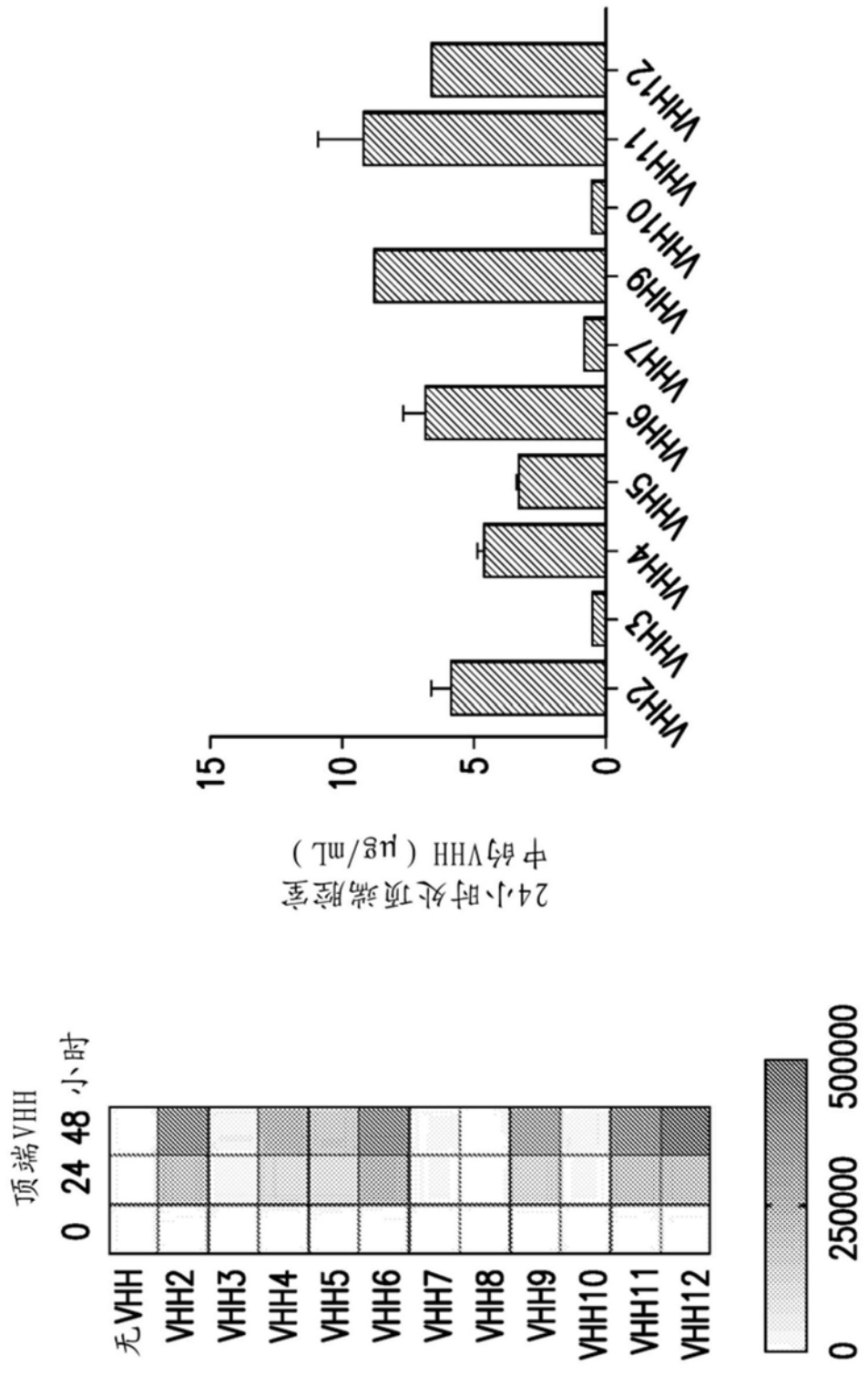

顶端VHH
0 24 48 小时
无VHH
VHH2
VHH3
VHH4
VHH5
VHH6
VHH7
VHH8
VHH9
VHH10
VHH11
VHH12
0 250000 500000
24小时处顶端腔室
中的VHH（μg/mL）
0 5 10 15
VHH2
VHH3
VHH4
VHH5
VHH6
VHH7
VHH9
VHH10
VHH11
VHH12

图12B

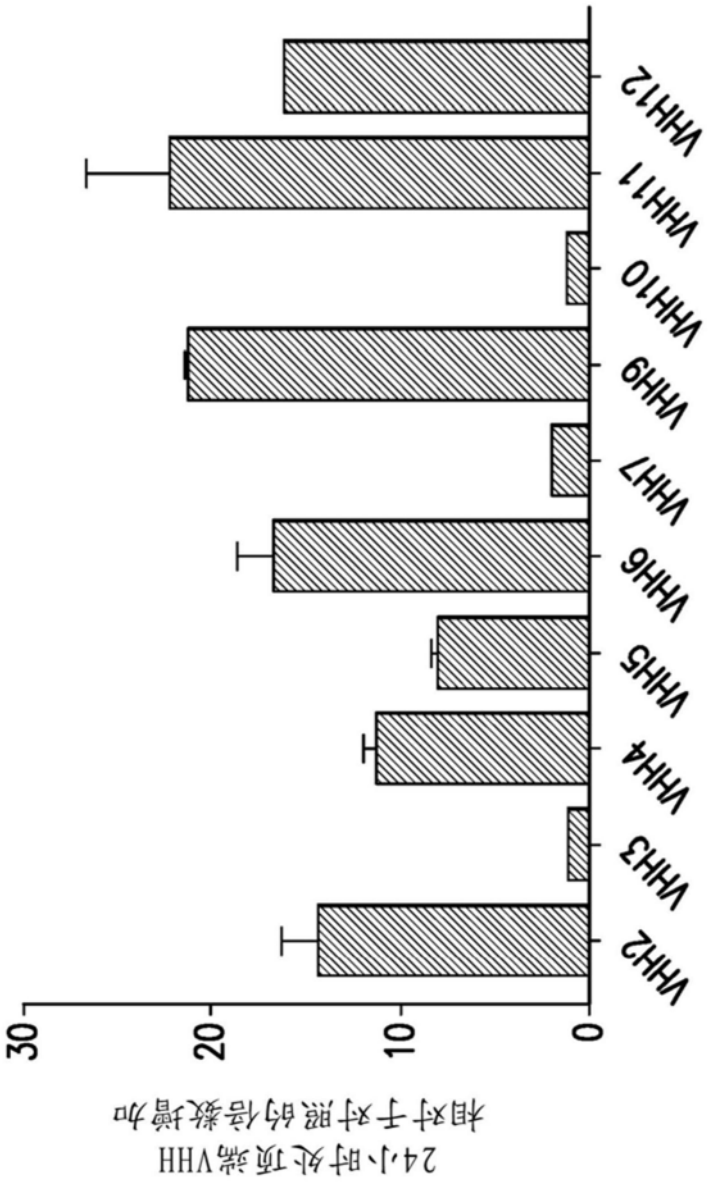

24小时处顶端VHH
相对于对照的倍数增加
0
10
20
30
VHH2
VHH3
VHH4
VHH5
VHH6
VHH7
VHH9
VHH10
VHH11
VHH12

图12C

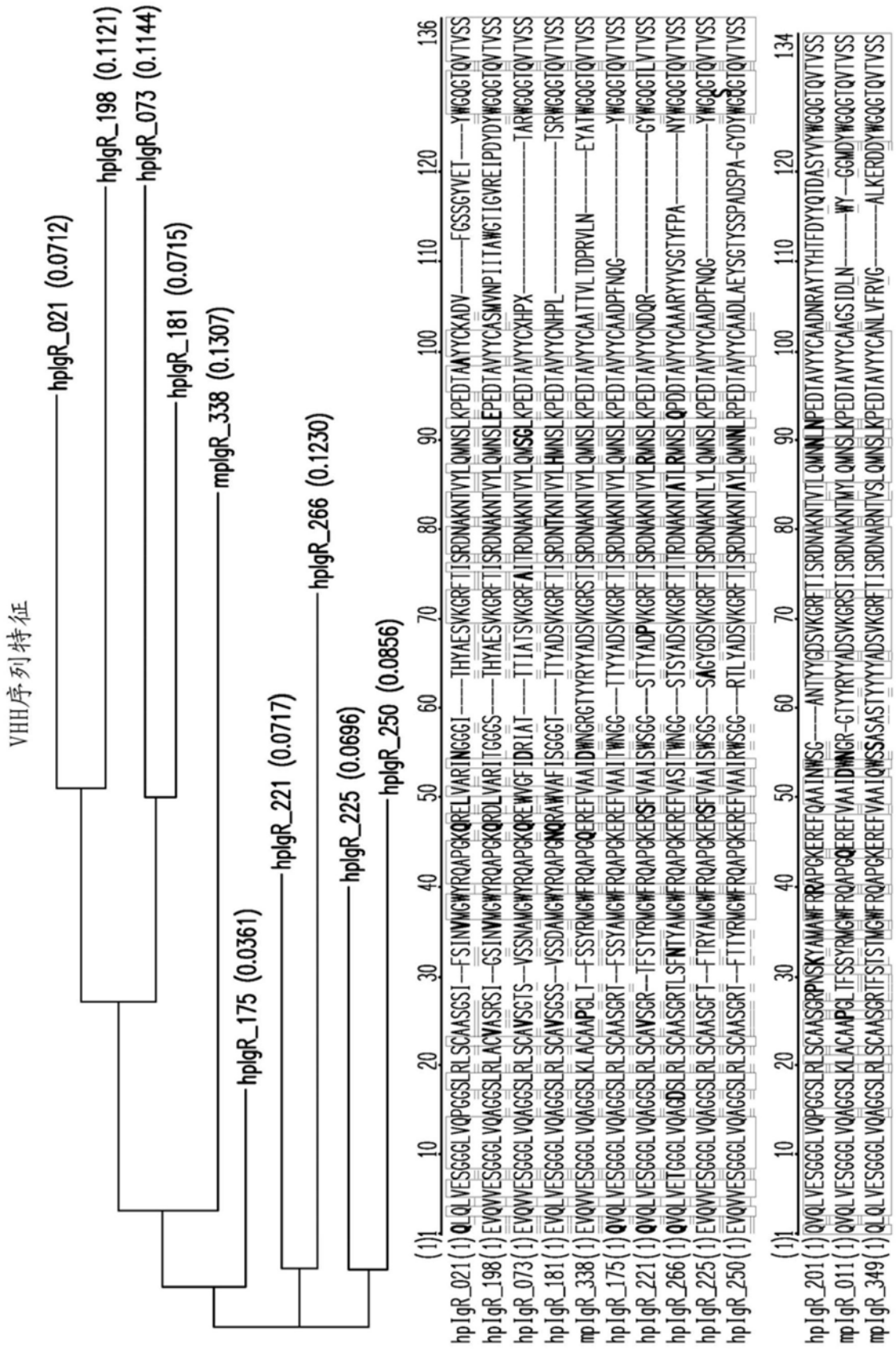
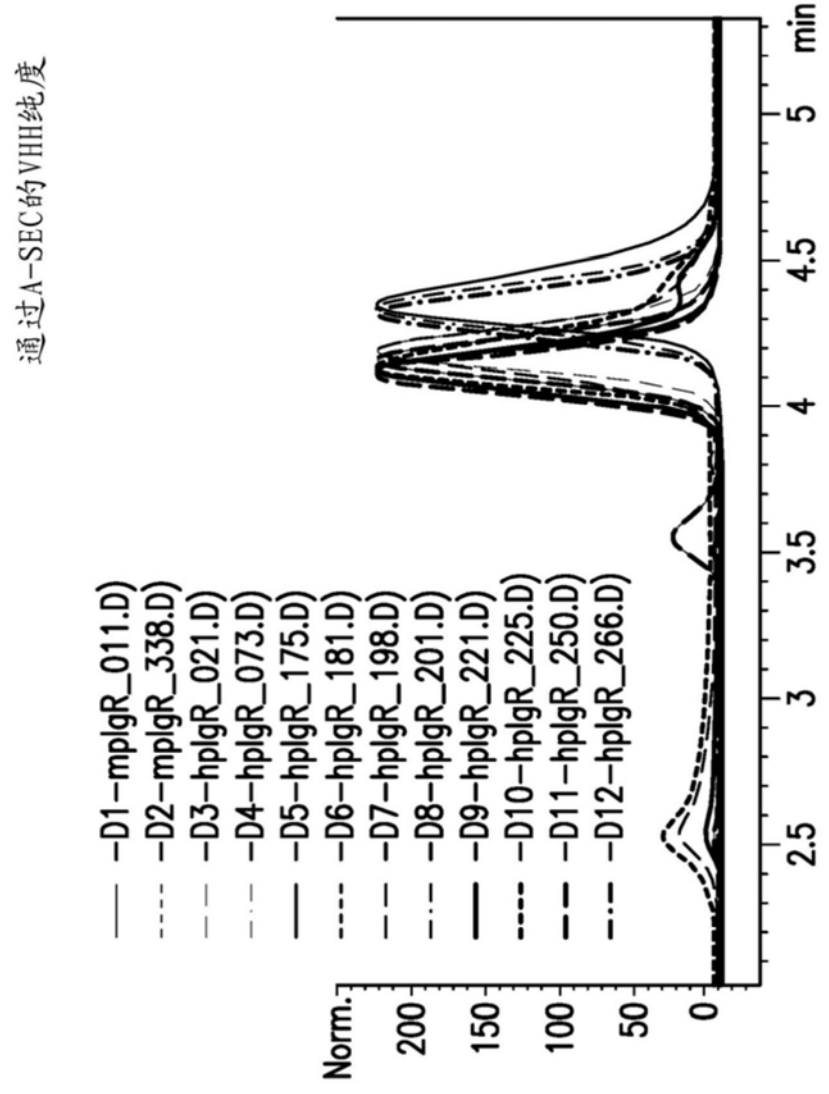

VHH序列特征
hplgR_021 (0.0712)
hplgR_198 (0.1121)
hplgR_073 (0.1144)
hplgR_181 (0.0715)
mplgR_338 (0.1307)
hplgR_175 (0.0361)
hplgR_221 (0.0717)
hplgR_266 (0.1230)
hplgR_225 (0.0696)
hplgR_250 (0.0856)

图13

纯化汇总

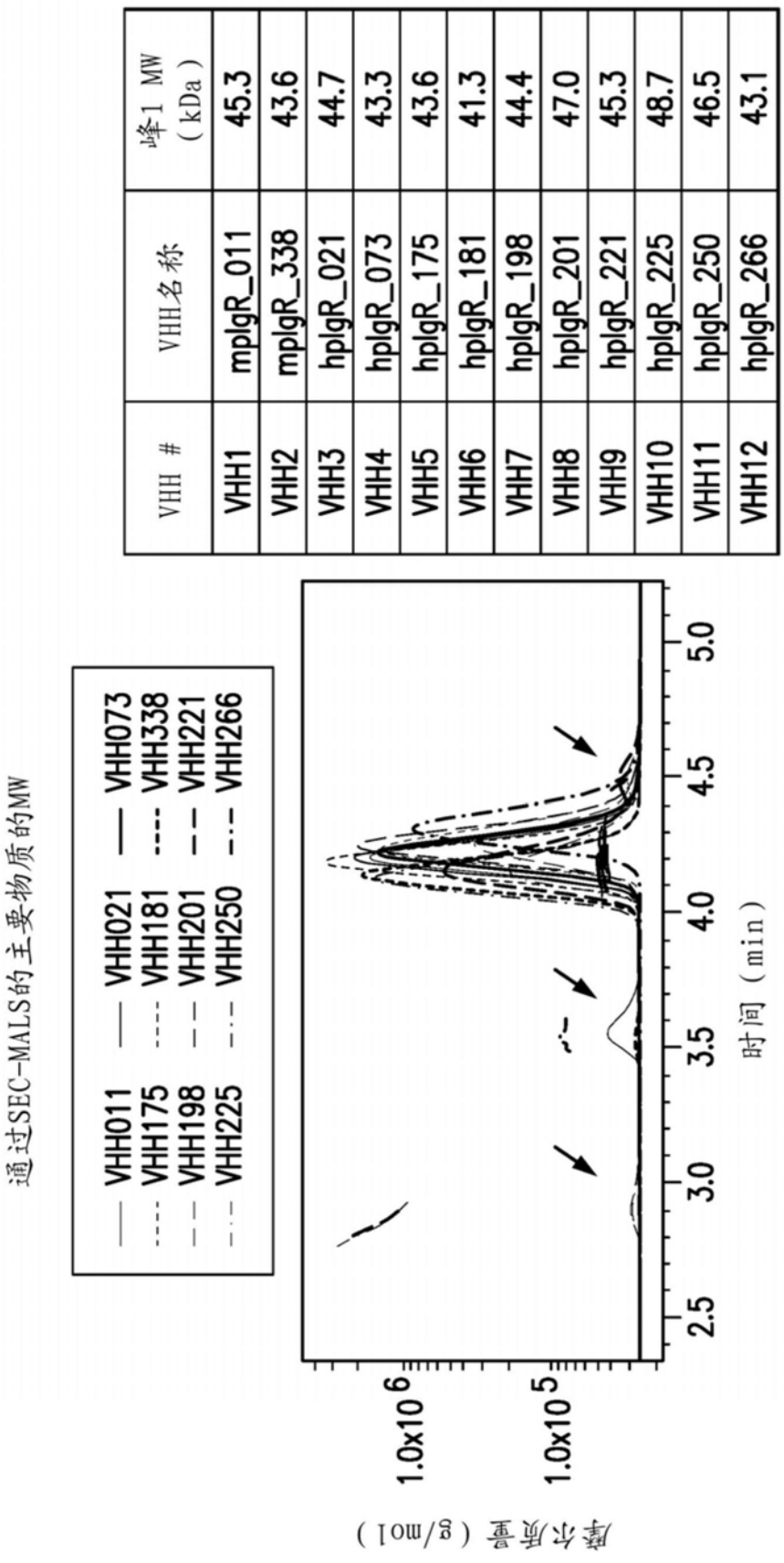
VHH #	VHH名称	CHO实验体积	纯化方法	浓度 mg/mL	产率 mg	缓冲液
VHH1	mplgR_011	35	MabSelect	2.5	8.4	PBS, pH 7.2
VHH2	mplgR_338	35	MabSelect	1.8	6.1	PBS, pH 7.2
VHH3	hplgR_021	35	MabSelect	2.5	8.5	PBS, pH 7.2
VHH4	hplgR_073	35	MabSelect	1.8	6.0	PBS, pH 7.2
VHH5	hplgR_175	35	MabSelect	2.3	7.8	PBS, pH 7.2
VHH6	hplgR_181	35	MabSelect	2.4	8.2	PBS, pH 7.2
VHH7	hplgR_198	35	MabSelect	0.9	3.0	PBS, pH 7.2
VHH8	hplgR_201	35	MabSelect	2.0	6.9	PBS, pH 7.2
VHH9	hplgR_221	35	MabSelect	1.5	5.0	PBS, pH 7.2
VHH10	hplgR_225	35	MabSelect	0.8	2.6	PBS, pH 7.2
VHH11	hplgR_250	35	MabSelect	1.6	5.4	PBS, pH 7.2
VHH12	hplgR_266	35	MabSelect	1.1	3.8	PBS, pH 7.2

图14



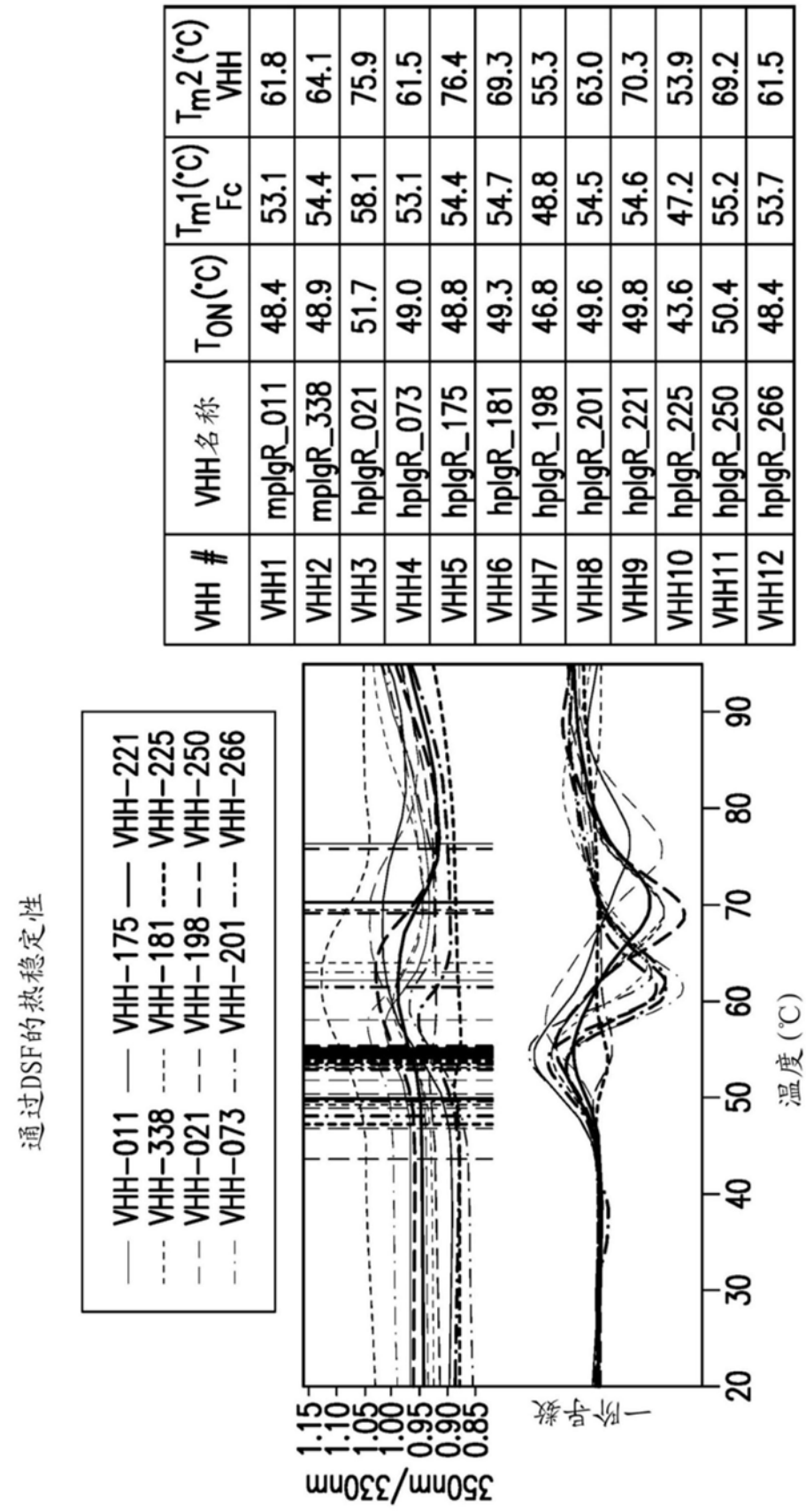
VHH #	VHH名称	单体%
VHH1	mplgR_011	86.2
VHH2	mplgR_338	96.5
VHH3	hplgR_021	95.5
VHH4	hplgR_073	98.8
VHH5	hplgR_175	98.7
VHH6	hplgR_181	99.3
VHH7	hplgR_198	84.7
VHH8	hplgR_201	99.2
VHH9	hplgR_221	89.1
VHH10	hplgR_225	80.2
VHH11	hplgR_250	99.6
VHH12	hplgR_266	99.2

图15



VHH #	VHH名称	峰1 MW（kDa）
VHH1	mplgR_011	45.3
VHH2	mplgR_338	43.6
VHH3	hplgR_021	44.7
VHH4	hplgR_073	43.3
VHH5	hplgR_175	43.6
VHH6	hplgR_181	41.3
VHH7	hplgR_198	44.4
VHH8	hplgR_201	47.0
VHH9	hplgR_221	45.3
VHH10	hplgR_225	48.7
VHH11	hplgR_250	46.5
VHH12	hplgR_266	43.1

图16



VHH #	VHH名称	T_{ON}(℃)	$T_{m}1$(℃) Fc	$T_{m}2$(℃) VHH
VHH1	mplgR_011	48.4	53.1	61.8
VHH2	mplgR_338	48.9	54.4	64.1
VHH3	hplgR_021	51.7	58.1	75.9
VHH4	hplgR_073	49.0	53.1	61.5
VHH5	hplgR_175	48.8	54.4	76.4
VHH6	hplgR_181	49.3	54.7	69.3
VHH7	hplgR_198	46.8	48.8	55.3
VHH8	hplgR_201	49.6	54.5	63.0
VHH9	hplgR_221	49.8	54.6	70.3
VHH10	hplgR_225	43.6	47.2	53.9
VHH11	hplgR_250	50.4	55.2	69.2
VHH12	hplgR_266	48.4	53.7	61.5

图17

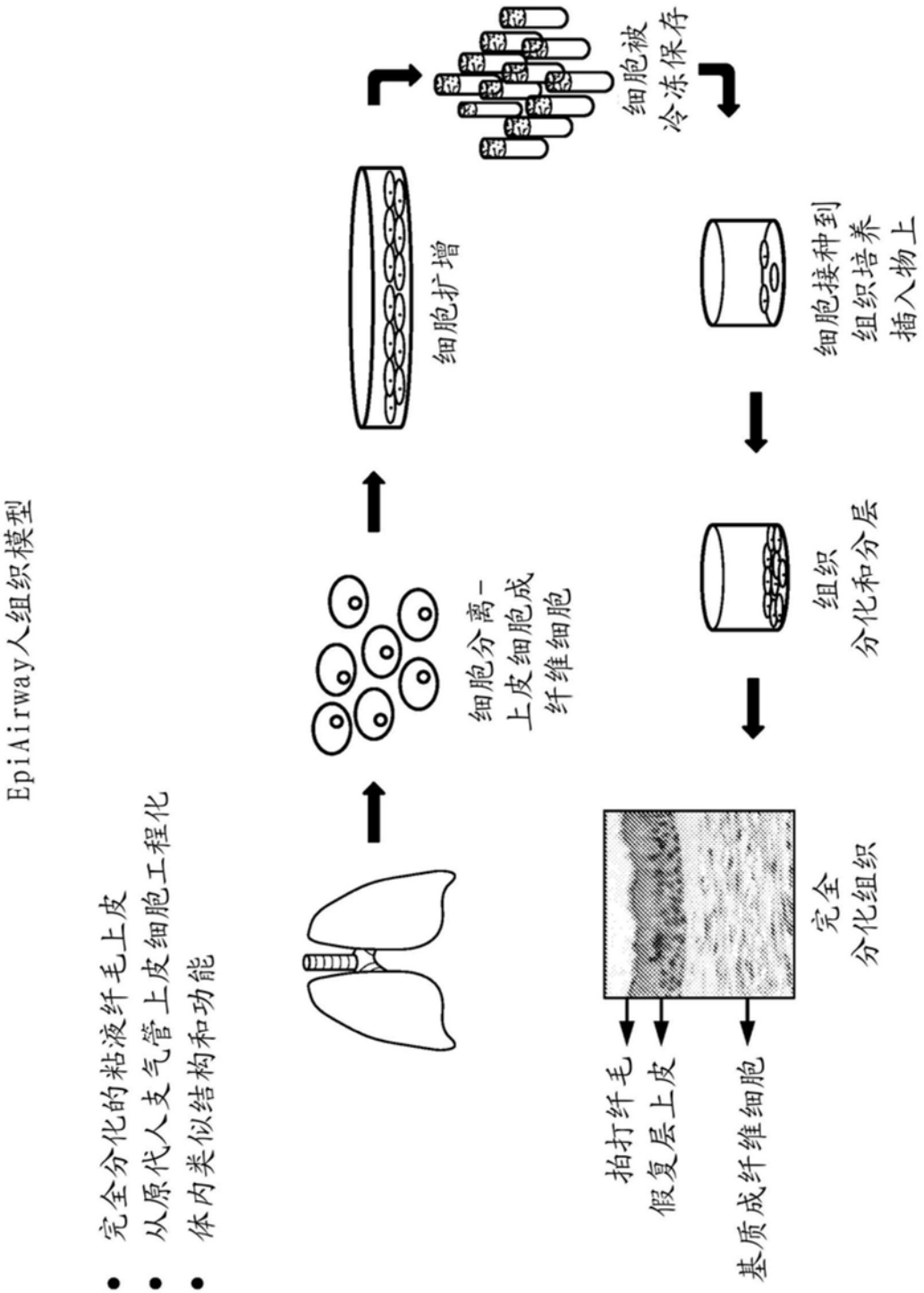

EpiAirway人组织模型
• 完全分化的粘液纤毛上皮
• 从原代人支气管上皮细胞工程化
• 体内类似结构和功能
细胞分离-
上皮细胞成
纤维细胞
细胞扩增
细胞被
冷冻保存
细胞接种到
组织培养
插入物上
组织
分化和分层
完全
分化组织
拍打纤毛
假复层上皮
基质成纤维细胞

图18

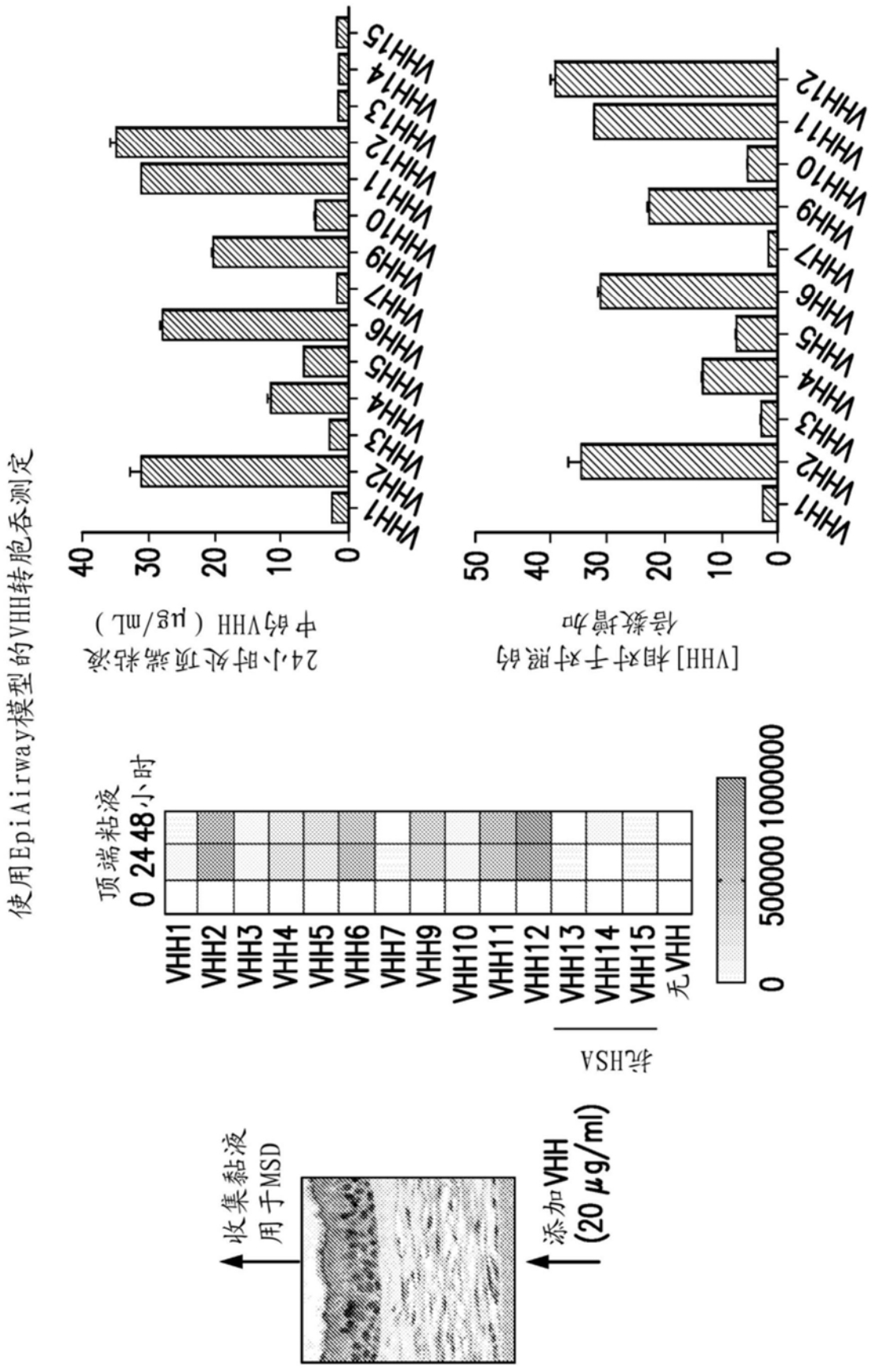

使用EpiAirway模型的VHH转胞吞测定
添加VHH (20 μg/ml)
收集黏液用于MSD
无VHH
VHH15
VHH14
VHH13
VHH12
VHH11
VHH10
VHH9
VHH7
VHH6
VHH5
VHH4
VHH3
VHH2
VHH1
顶端粘液 0 24 48小时
0 500000 1000000
[VHH]相对于对照的倍数增加
24小时外顶端粘液中的VHH (μg/mL)
0 10 20 30 40 50
VHH12
VHH11
VHH10
VHH9
VHH7
VHH6
VHH5
VHH4
VHH3
VHH2
VHH1
0 10 20 30 40
VHH15
VHH14
VHH13
VHH12
VHH11
VHH10
VHH9
VHH7
VHH6
VHH5
VHH4
VHH3
VHH2
VHH1

图19

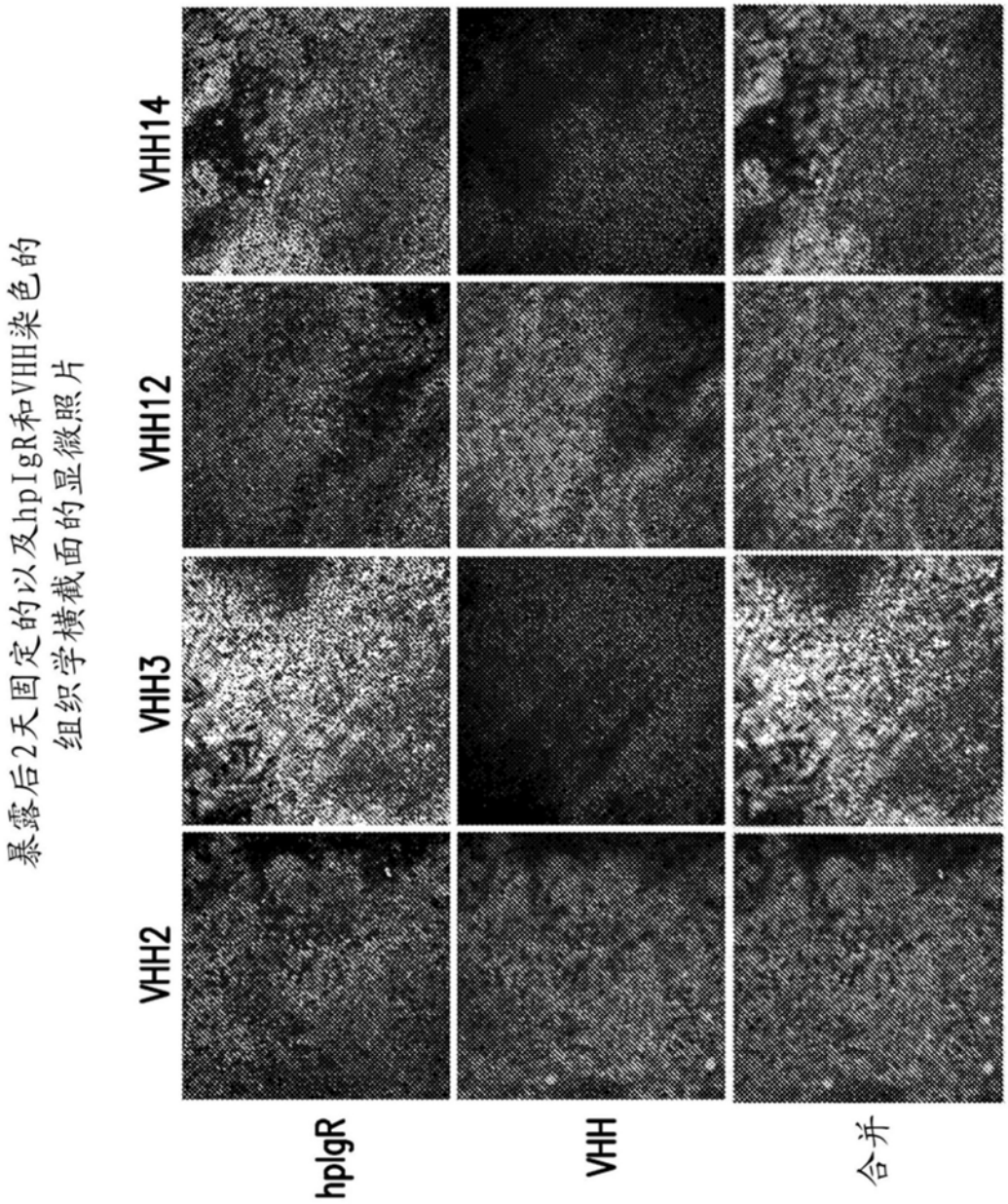

暴露后2天固定的以及hpIgR和VHH染色的
组织学横截面的显微照片
VHH2
VHH3
VHH12
VHH14
hpIgR
VHH
合并

图20

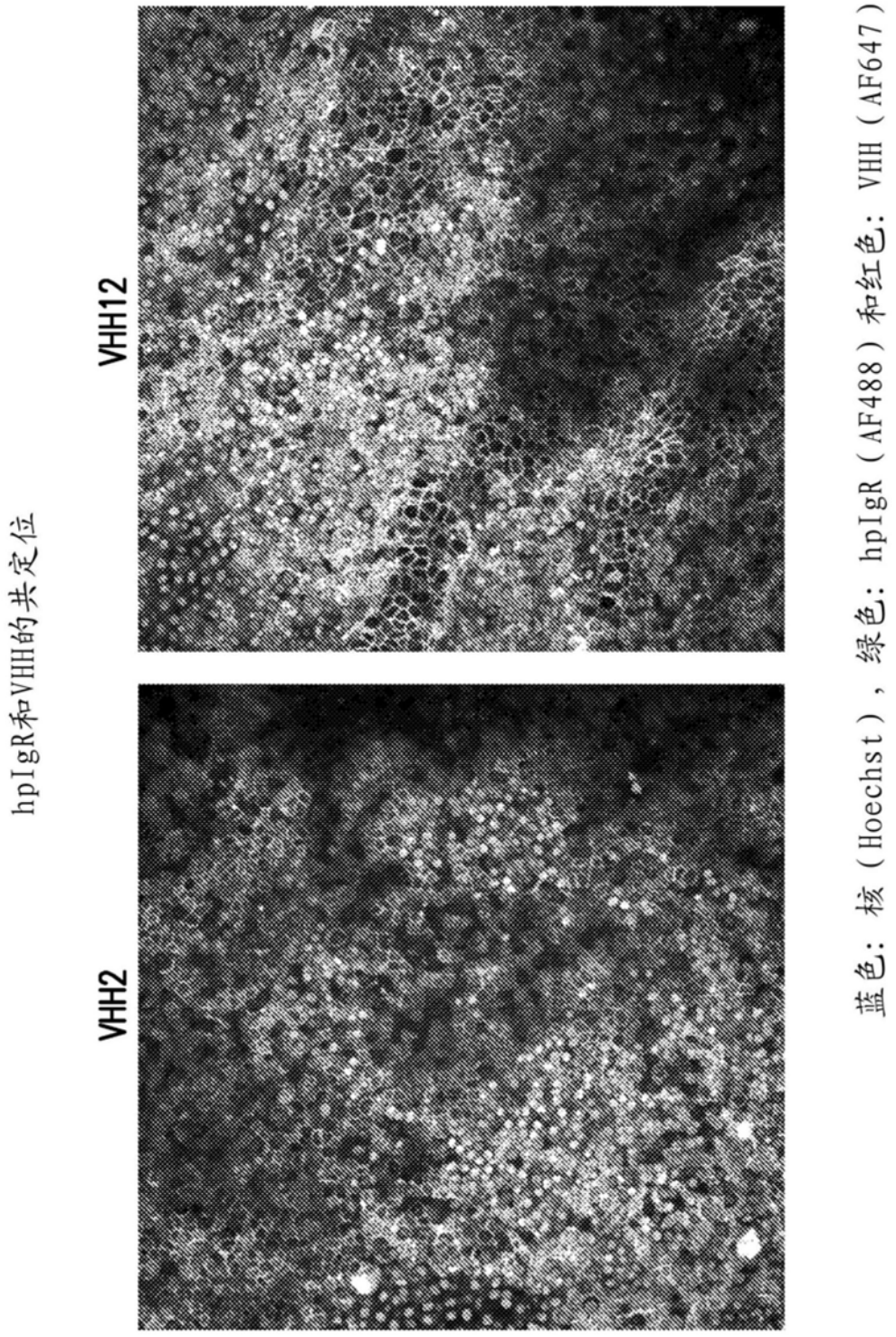
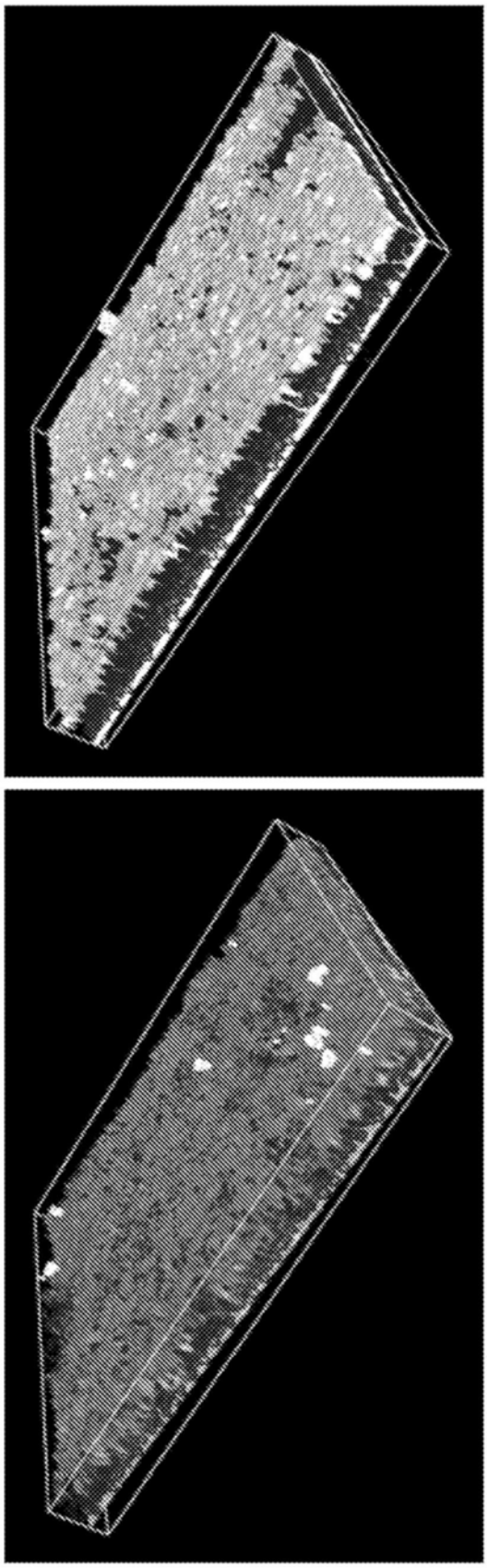

hpIgR和VHH的共定位
VHH2
VHH12
蓝色：核（Hoechst），绿色：hpIgR（AF488）和红色：VHH（AF647）

图21



3D重建示出了至EpiAirway模型的顶端表面的hpIgR和VHH的定位

图22

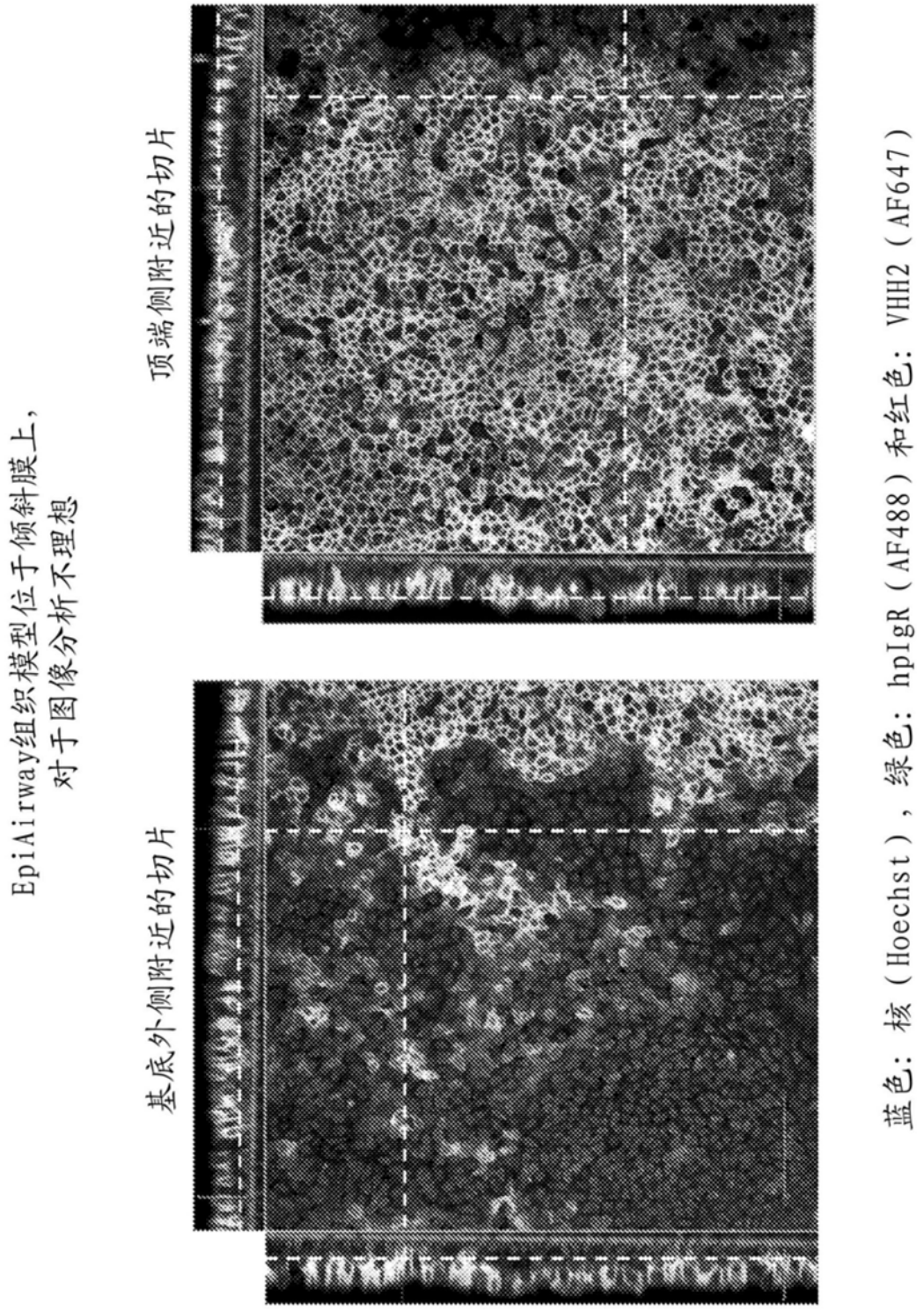

EpiAirway组织模型位于倾斜膜上，
对于图像分析不理想
基底外侧附近的切片
顶端侧附近的切片
蓝色：核（Hoechst），绿色：hpIgR（AF488）和红色：VHH2（AF647）

图23

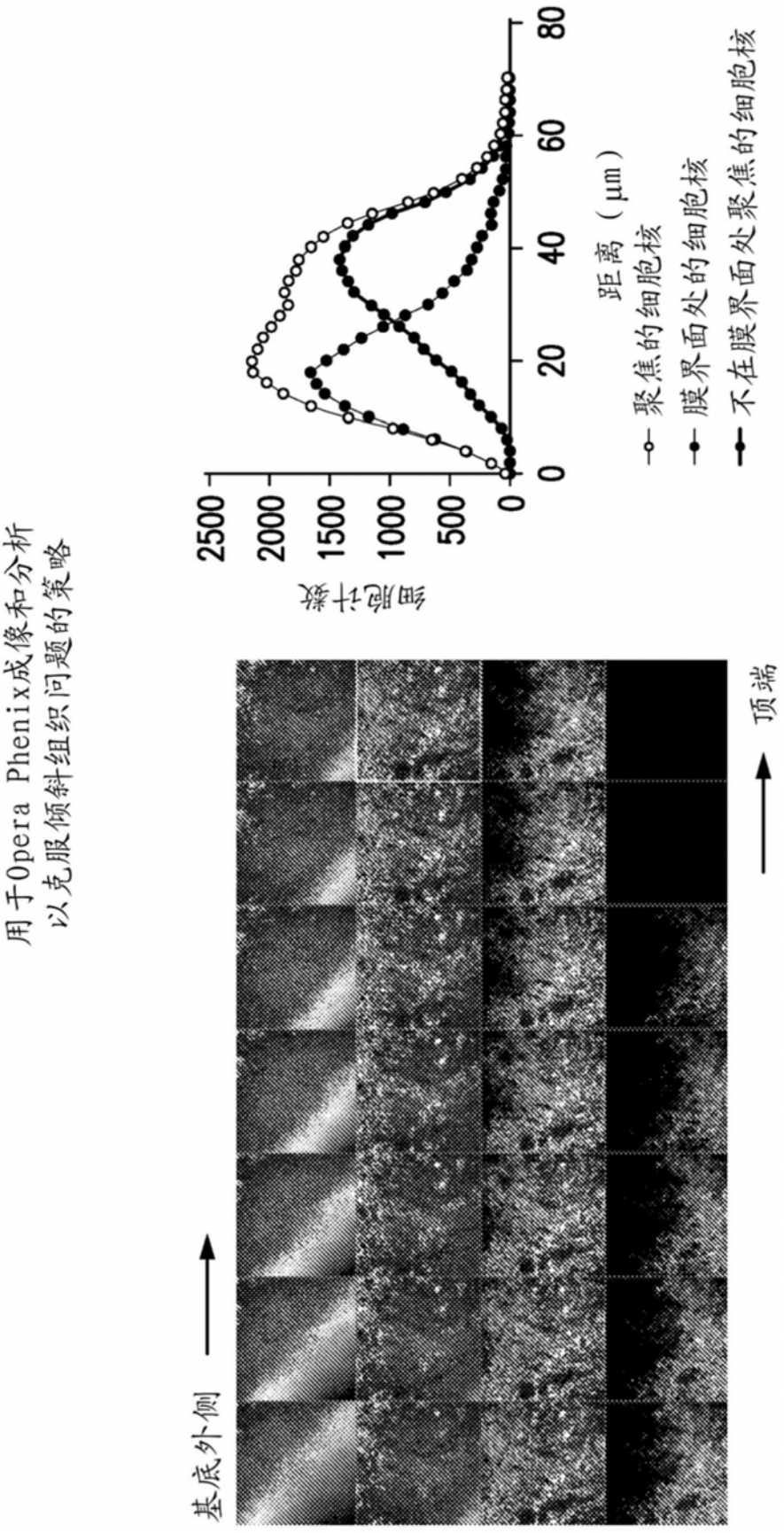

用于Opera Phenix成像和分析
以克服倾斜组织问题的策略
基底外侧
顶端
细胞计数
2500
2000
1500
1000
500
0
0
20
40
60
80
距离（μm）
聚焦的细胞核
膜界面处的细胞核
不在膜界面处聚焦的细胞核

图24

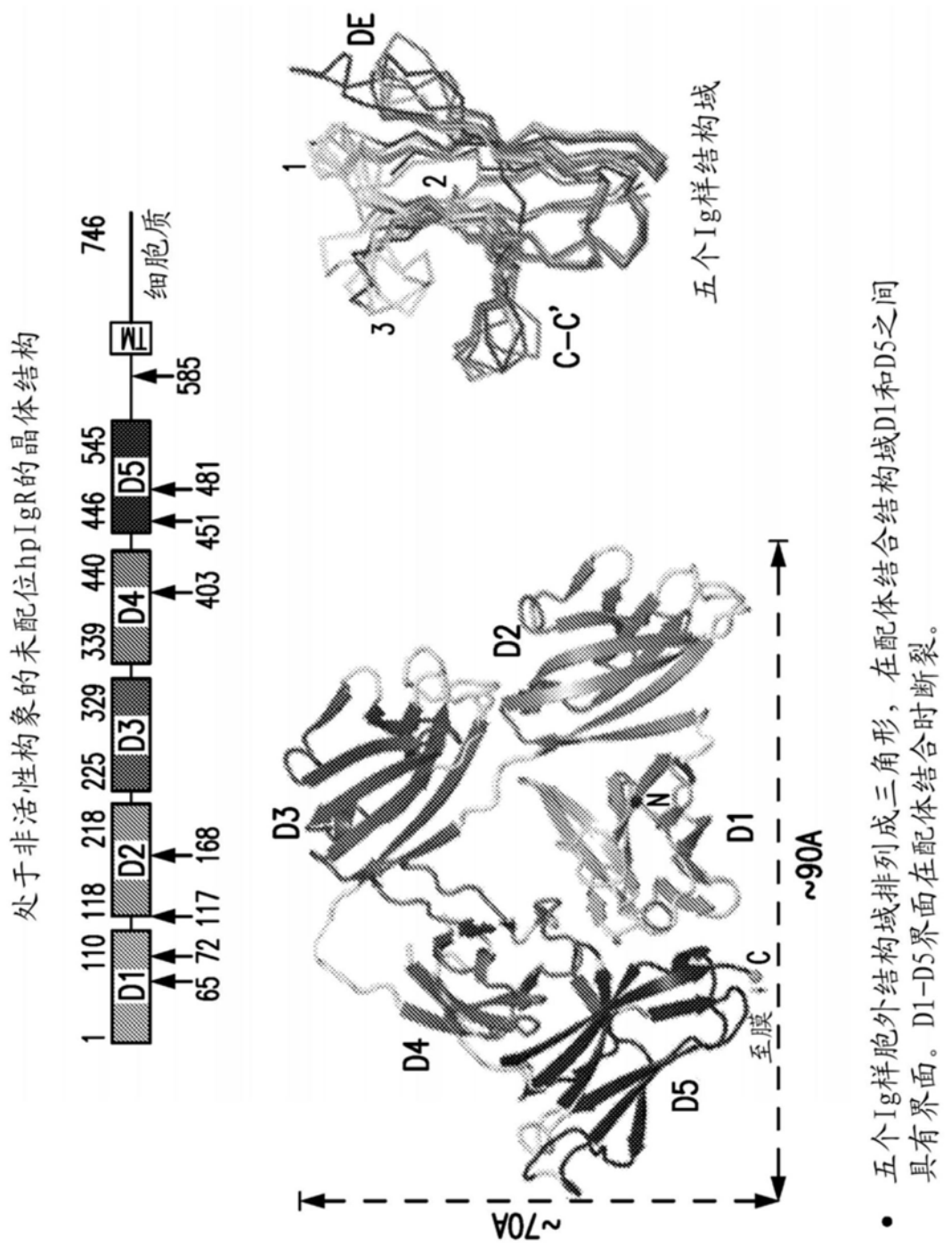

处于非活性构象的未配位hpIgR的晶体结构
1
110
118
218
225
329
339
440
446
545
746
D1
D2
D3
D4
D5
细胞质
65
72
117
168
403
451
481
585
五个Ig样结构域
DE
1
2
3
C-C'
D3
D2
D4
D1
D5
N
C
至膜
~70A
~90A
• 五个Ig样胞外结构域排列成三角形，在配体结合结构域D1和D5之间具有界面。D1-D5界面在配体结合时断裂。

图25

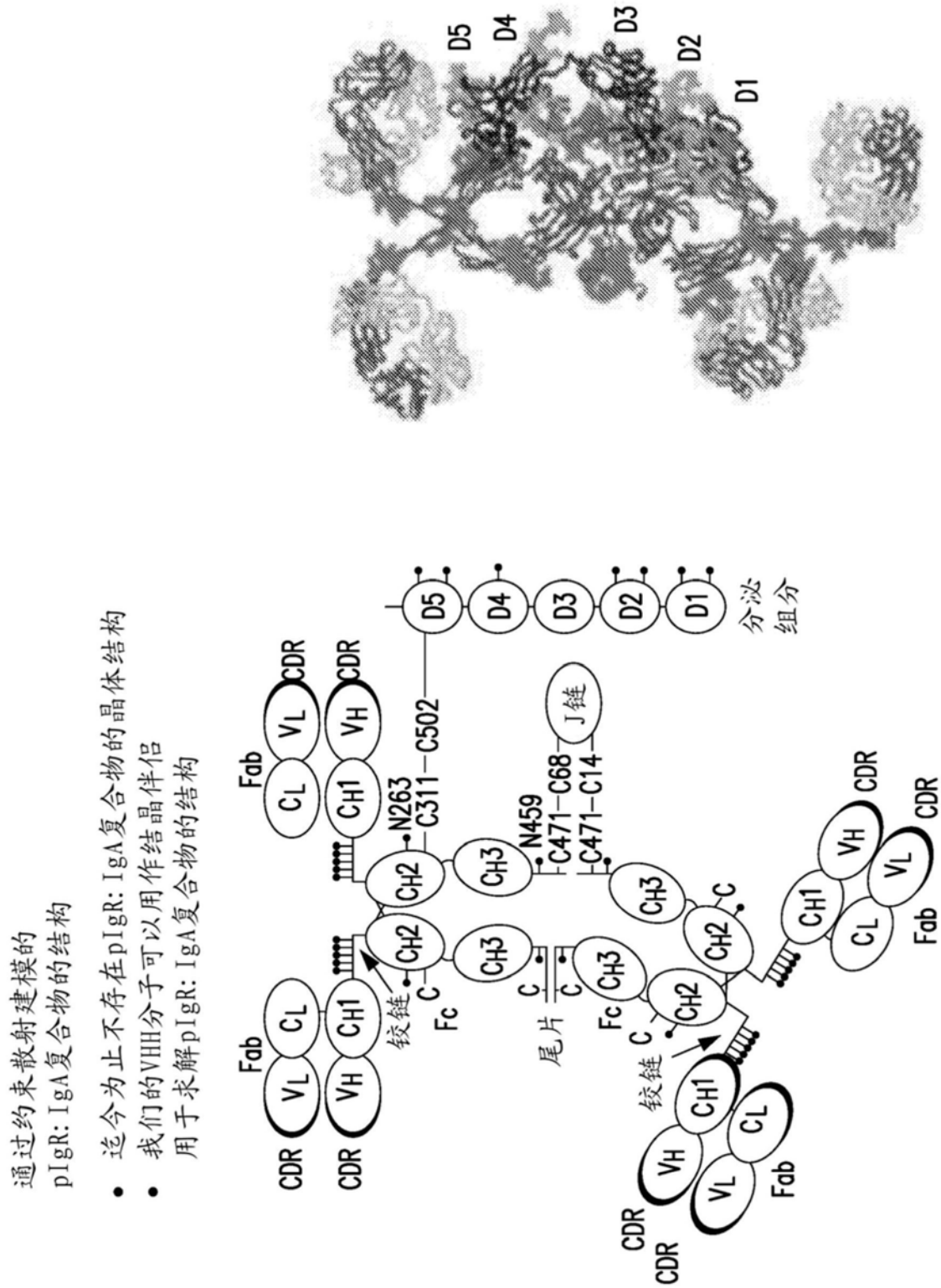

通过约束散射建模的
pIgR: IgA复合物的结构
• 迄今为止不存在pIgR: IgA复合物的晶体结构
• 我们的VHH分子可以用作结晶伴侣
用于求解pIgR: IgA复合物的结构
D5
D4
D3
D2
D1
Fab
CDR
VL
VH
CL
CH1
铰链
Fc
CH2
CH3
N263
C311–C502
N459
C471–C68
C471–C14
J链
尾片
分泌
组分

图26

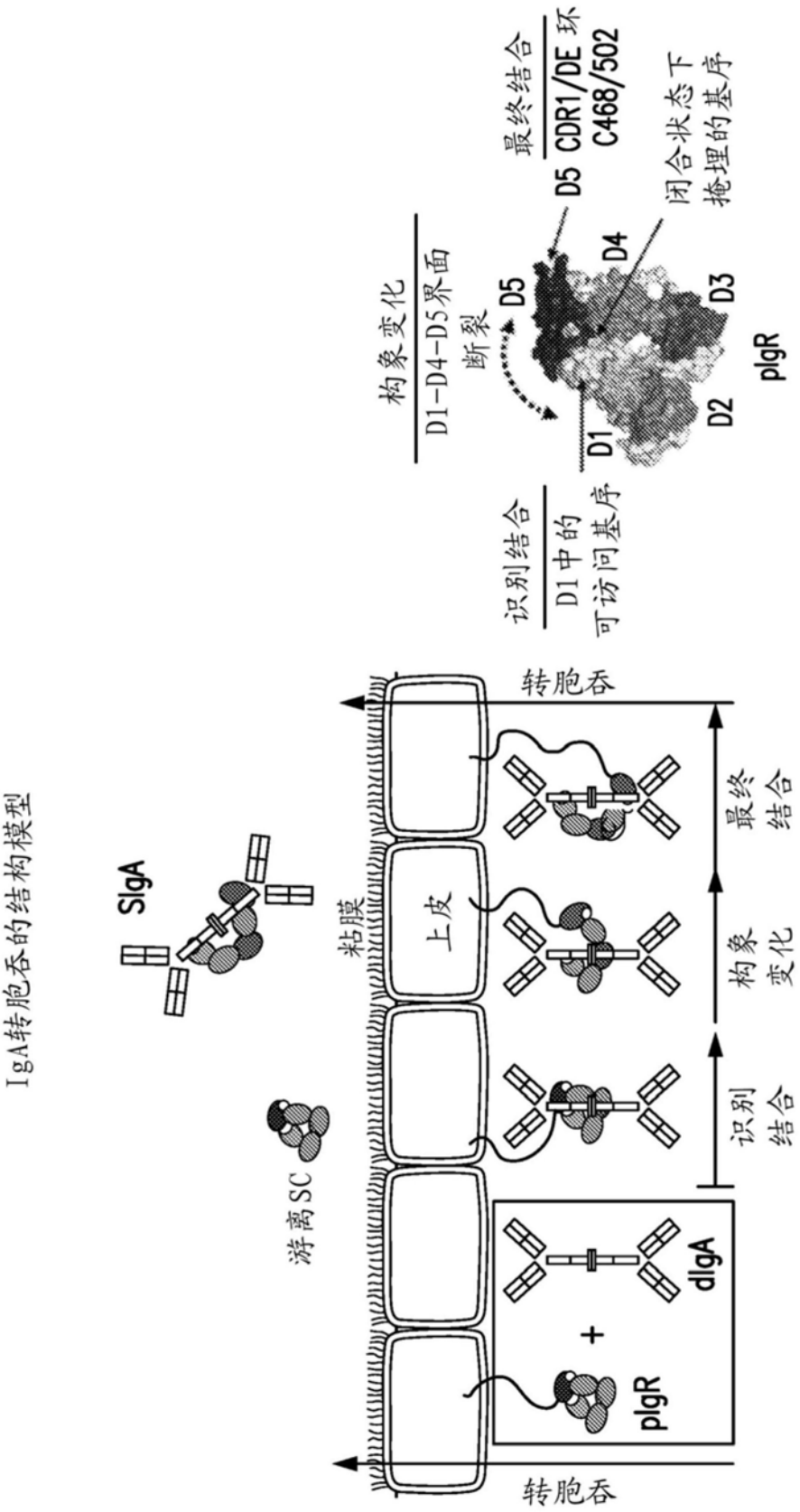

IgA转胞吞的结构模型
SIgA
游离SC
粘膜
上皮
转胞吞
识别结合
构象变化
最终结合
pIgR
dIgA
转胞吞
识别结合
D1中的
可访问基序
构象变化
D1-D4-D5界面
断裂
D5
D1
D4
D2
D3
pIgR
最终结合
D5 CDR1/DE 环
C468/502
闭合状态下
掩埋的基序

图27A

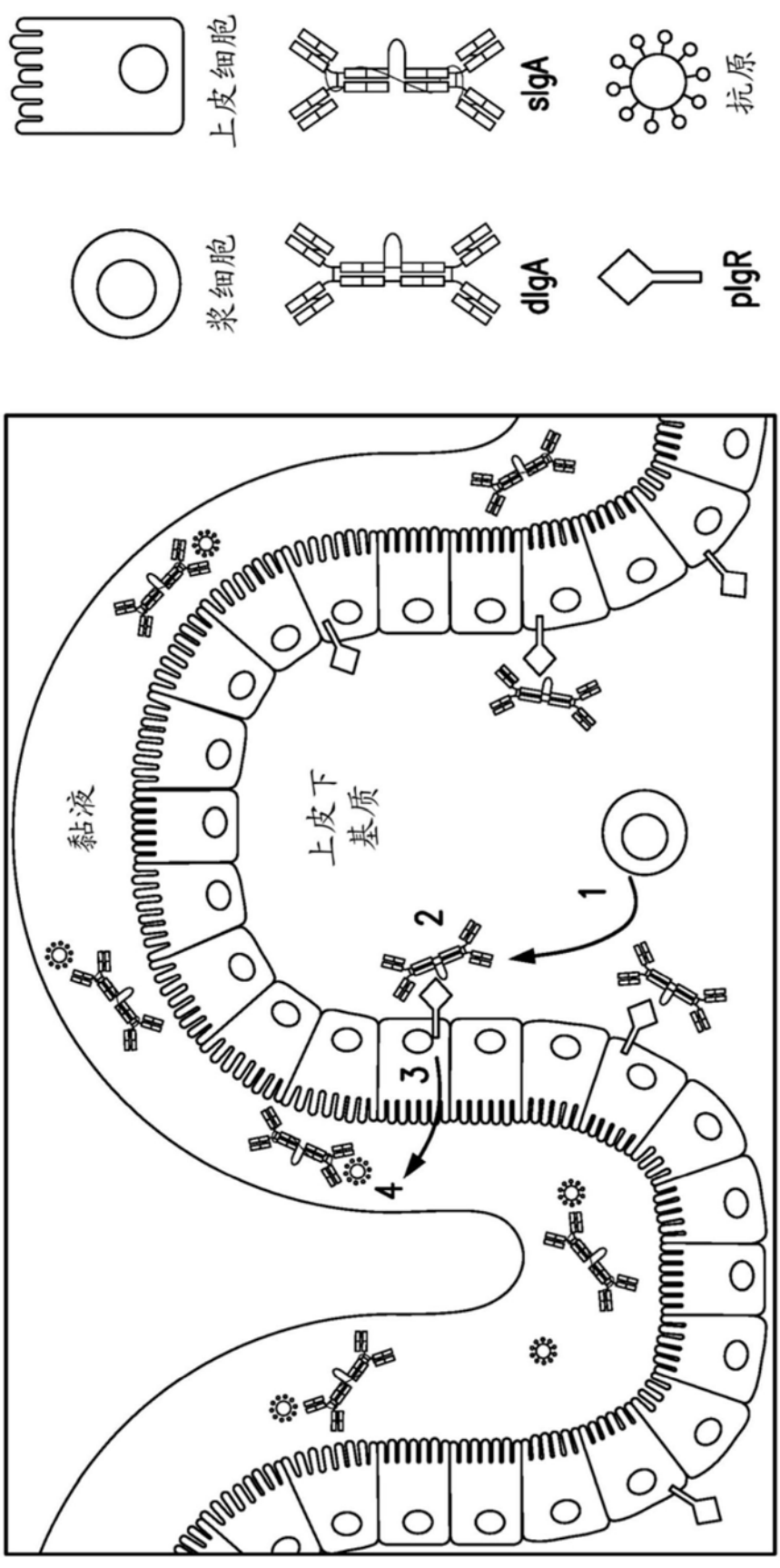


图27B

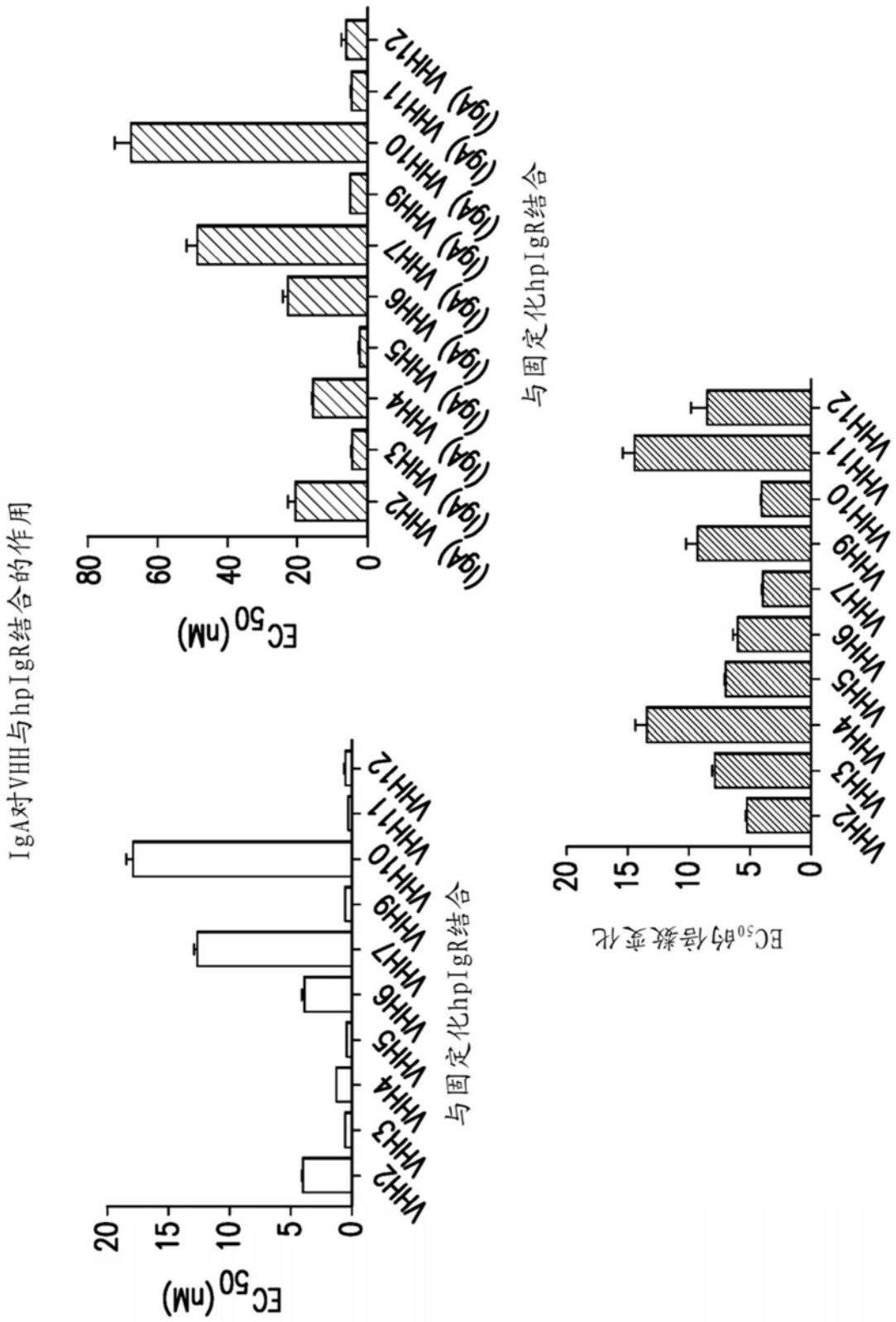

IgA对VHH与hpIgR结合的作用
EC50 (nM)
VHH2
VHH3
VHH4
VHH5
VHH6
VHH7
VHH9
VHH10
VHH11
VHH12
(IgA)
与固定化hpIgR结合
EC50的倍数变化

图28A

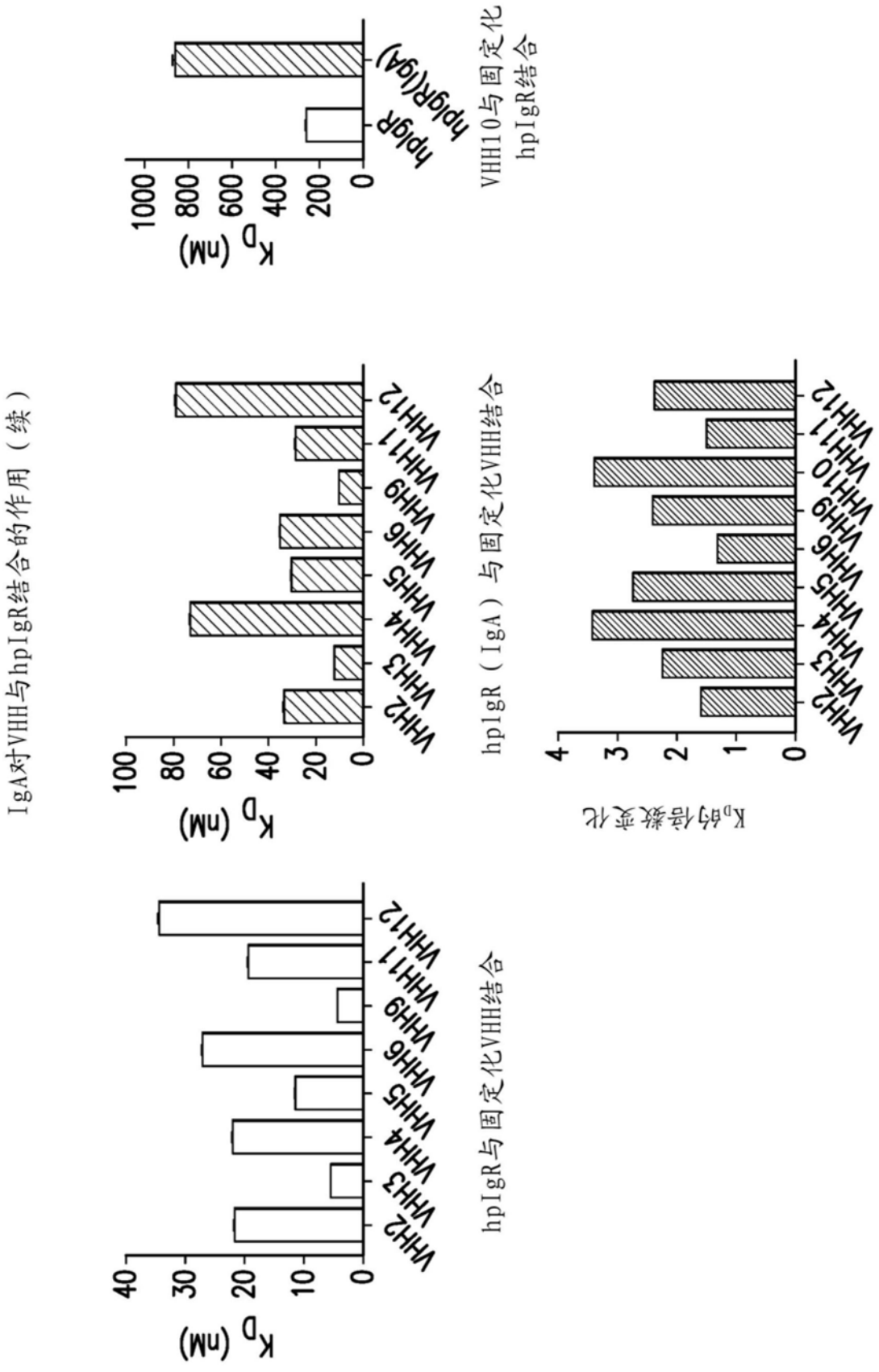

IgA对VHH与hpIgR结合的作用（续）
VHH10与固定化hpIgR结合
hpIgR(IgA)
hpIgR
K_D (nM)
1000
800
600
400
200
0
hpIgR（IgA）与固定化VHH结合
K_D的倍数变化
4
3
2
1
0
VHH2
VHH3
VHH4
VHH5
VHH6
VHH9
VHH10
VHH11
VHH12
100
80
60
40
20
hpIgR与固定化VHH结合
40
30
20
10

图28B

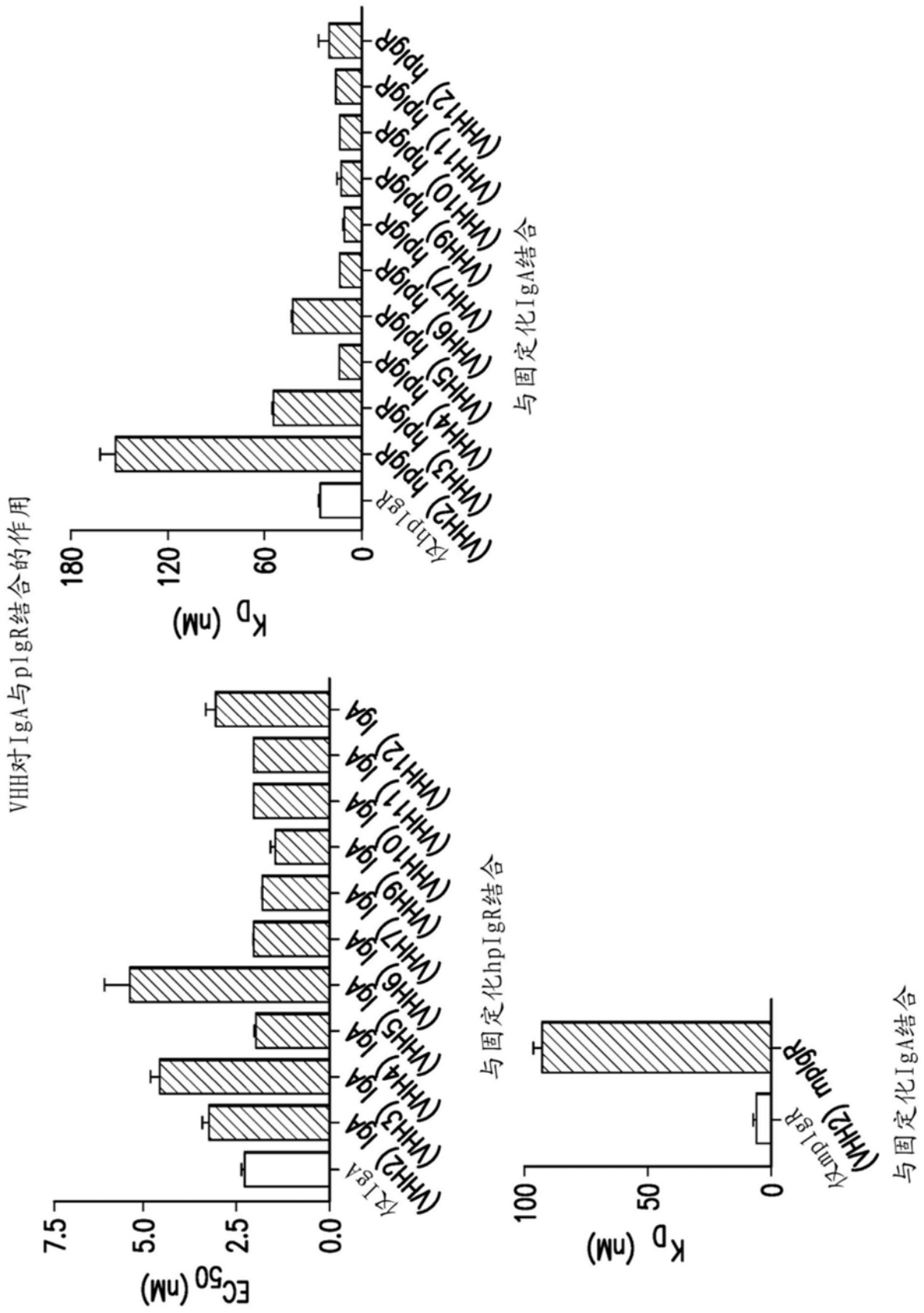

VHH对IgA与pIgR结合的作用
EC50 (nM)
7.5
5.0
2.5
0.0
hIgA
(VHH2)-hIgA
(VHH3)-hIgA
(VHH4)-hIgA
(VHH5)-hIgA
(VHH6)-hIgA
(VHH7)-hIgA
(VHH9)-hIgA
(VHH10)-hIgA
(VHH11)-hIgA
(VHH12)-hIgA
与固定化hpIgR结合
KD (nM)
180
120
60
0
hhpIgR
(VHH2)-hpIgR
(VHH3)-hpIgR
(VHH4)-hpIgR
(VHH5)-hpIgR
(VHH6)-hpIgR
(VHH7)-hpIgR
(VHH9)-hpIgR
(VHH10)-hpIgR
(VHH11)-hpIgR
(VHH12)-hpIgR
与固定化IgA结合
KD (nM)
100
50
0
hmpIgR
(VHH2)-mpIgR
与固定化IgA结合

图28C

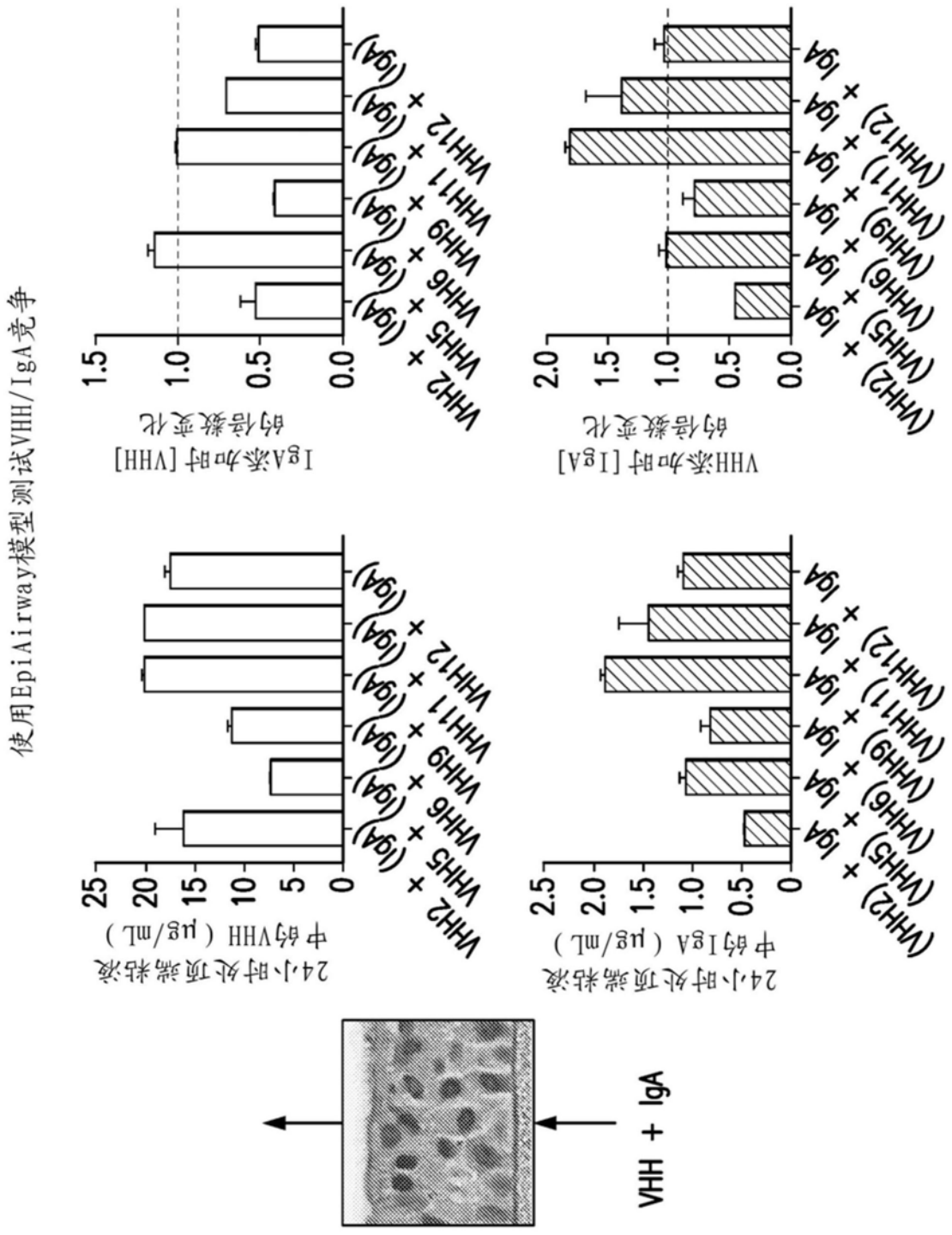

使用EpiAirway模型测试VHH/IgA竞争
24小时处顶端粘液中的VHH（μg/mL）
24小时处顶端粘液中的IgA（μg/mL）
VHH添加时[IgA]的倍数变化
IgA添加时[VHH]的倍数变化
VHH + IgA
(IgA) + VHH2
(IgA) + VHH5
(IgA) + VHH6
(IgA) + VHH9
(IgA) + VHH11
(IgA) + VHH12
IgA + (VHH2)
IgA + (VHH5)
IgA + (VHH6)
IgA + (VHH9)
IgA + (VHH11)
IgA + (VHH12)

图28D

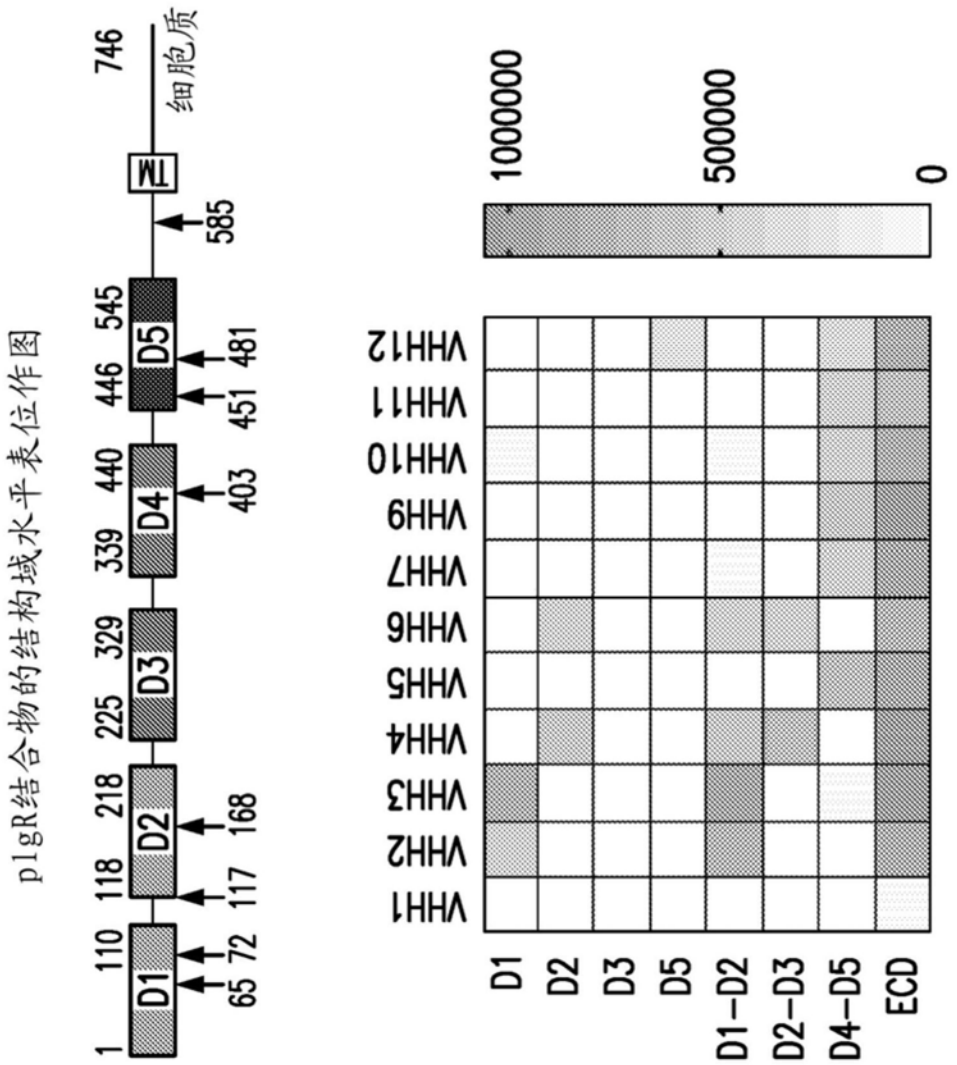

pIgR结合物的结构域水平表位作图
1
110
118
218
225
329
339
440
446
545
746
65
72
117
168
403
451
481
585
D1
D2
D3
D4
D5
TM
细胞质
1000000
500000
0
VHH1
VHH2
VHH3
VHH4
VHH5
VHH6
VHH7
VHH9
VHH10
VHH11
VHH12
D1
D2
D3
D5
D1-D2
D2-D3
D4-D5
ECD

图29

hpIgR结构域-2结合物的结合动力学

抗原	VHH	KD (M)	KD误差	kon (1/Ms)	kon误差	kdis (1/s)	kdis误差
hplgR ECD	4	7.60E-08	4.56E-10	1.44E+04	5.53E+01	1.10E-03	5.05E-06
hD2	4	8.38E-08	8.53E-10	1.91E+04	1.44E+02	1.60E-03	1.08E-05
hD1-D2	4	7.73E-08	8.70E-10	1.92E+04	1.56E+02	1.49E-03	1.16E-05
hD2-D3	4	8.61E-08	8.15E-10	1.40E+04	8.95E+01	1.20E-03	8.37E-06

抗原	VHH	KD (M)	KD误差	kon (1/Ms)	kon误差	kdis (1/s)	kdis误差
hplgR ECD	6	4.89E-08	2.02E-10	4.47E+04	1.51E+02	2.19E-03	5.16E-06
hD2	6	6.81E-08	4.41E-10	3.95E+04	2.19E+02	2.69E-03	8.94E-06
hD1-D2	6	6.32E-08	5.09E-10	4.00E+04	2.72E+02	2.53E-03	1.09E-05
hD2-D3	6	7.15E-08	4.90E-10	3.48E+04	2.01E+02	2.49E-03	9.17E-06

图30A

hpIgR D4-D5结合物的结合动力学

抗原	VHH	KD (M)	KD误差	kon (1/Ms)	kon误差	kdis (1/s)	kdis误差
hplgR ECD	5	1.00E-08	8.26E-11	1.45E+05	9.66E+02	1.45E-03	7.04E-06
hplgR ECD	9	1.96E-08	1.71E-10	7.93E+04	5.31E+02	1.56E-03	8.69E-06
hplgR ECD	10	2.56E-07	1.31E-08	2.00E+04	9.41E+02	5.13E-03	1.02E-04
hplgR ECD	11	2.79E-08	2.25E-10	1.13E+05	8.31E+02	3.14E-03	1.03E-05
hplgR ECD	12	4.33E-08	2.20E-10	3.83E+04	1.49E+02	1.66E-03	5.40E-06

抗原	VHH	KD (M)	KD误差	kon (1/Ms)	kon误差	kdis (1/s)	kdis误差
hD4 D5	5	1.16E-08	6.59E-11	1.11E+05	4.69E+02	1.28E-03	4.87E-06
hD4-D5	9	1.26E-08	1.06E-10	1.33E+05	9.31E+02	1.69E-03	7.80E-06
hD4-D5	10	1.15E-07	3.53E-09	1.63E+04	3.89E+02	1.88E-03	3.66E-05
hD4-D5	11	1.52E-08	1.78E-10	1.84E+05	2.00E+03	2.81E-03	1.23E-05
hD4-D5	12	7.31E-08	6.65E-10	3.85E+04	3.08E+02	2.81E-03	1.23E-05

图30B

VHH2和VHH3：有趣的plgR结构域-1结合物

VHH2

rhpIgR的K_D：21nM，MDCK-hpIgR的EC_{50}：6nM
小鼠和人plgR交叉反应性（与mpIgR更紧密结合）
转胞吞阳性（第二最佳克隆）
结合hpIgR结构域1

VHH3

rhpIgR的K_D：5nM，MDCK-hpIgR的EC_{50}：6nM（与VHH2相同）
小鼠和人plgR交叉反应性（与hpIgR更紧密结合）
转胞吞阴性
结合hpIgR结构域1

```
      (1)  1         10        20        30        40        50        60        70        80        90        100       110       127
VHH1  (1)  QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLN--WYGGMDYWGQGTQVTVSS
VHH2  (1)  EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLIDPRVLNEYATWGQGTQVTVSS
VHH3  (1)  QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARITNGG-----ITHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSS---GYVETYWGQGTQVTVSS
```

VHH1为VHH2的CDR3变体。其与mpIgR结合但不与hpIgR结合。
VHH1用作转胞吞测定中的阴性对照。

图31

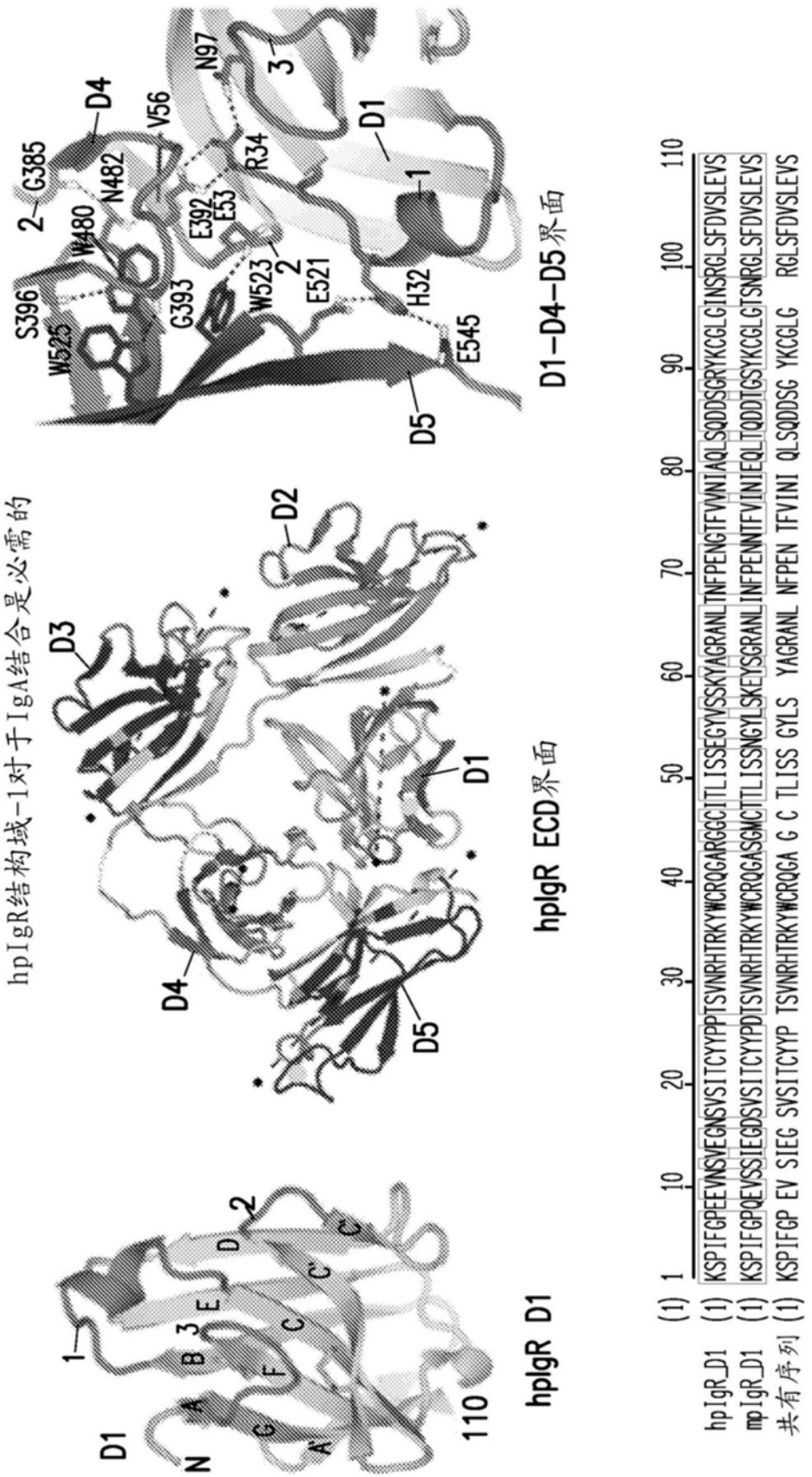

hpIgR结构域-1对于IgA结合是必需的
D1
N
A
B
3
E
D
2
1
G
F
C
C'
C"
A'
110
hpIgR D1
D3
D2
D4
D5
D1
hpIgR ECD界面
D4
V56
N97
G385
2
N482
W480
R34
E392
E53
3
D1
S396
W525
G393
W523
2
E521
1
H32
E545
D5
D1-D4-D5界面
(1) 1 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110
hpIgR_D1 (1) KSPIFGPEEVNSVEGNSVSITCYYPPTSVNRHTRKYWCRQGARGGCITLISSEGYVSSKYAGRANLTNFPENGTFVVNIAQLSQDDSGRYKCGLGINSRGLSFDVSLEVS
mpIgR_D1 (1) KSPIFGPQEVSSIEGDSVSITCYYPDTSVNRHTRKYWCRQGASGMCTTLISSNGYLSKEYSGRANLINFPENNTFVINIEQLTQDDTGSYKCGLGTSMRGLSFDVSLEVS
共有序列 (1) KSPIFGP EV SIEG SVSITCYYP TSVNRHTRKYWCRQGA G C TLISS GYLS YAGRANL NFPEN TFVINI QLSQDDSG YKCGLG RGLSFDVSLEVS

图32A

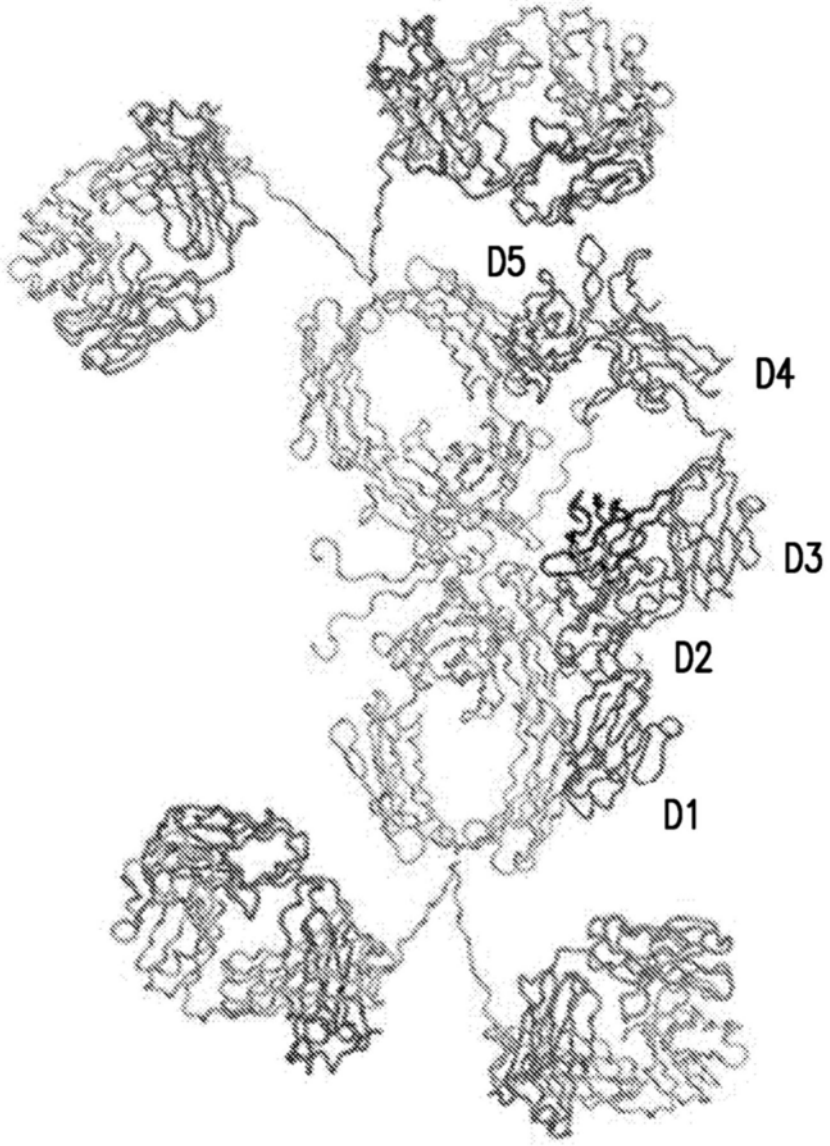


图32B

人：硬骨鱼pIgR结构域-1 CDR交换
用于表征VHH2和VHH3中的表位差异

- pIgR为最古老的可识别Fc受体，首先出现在硬骨鱼中

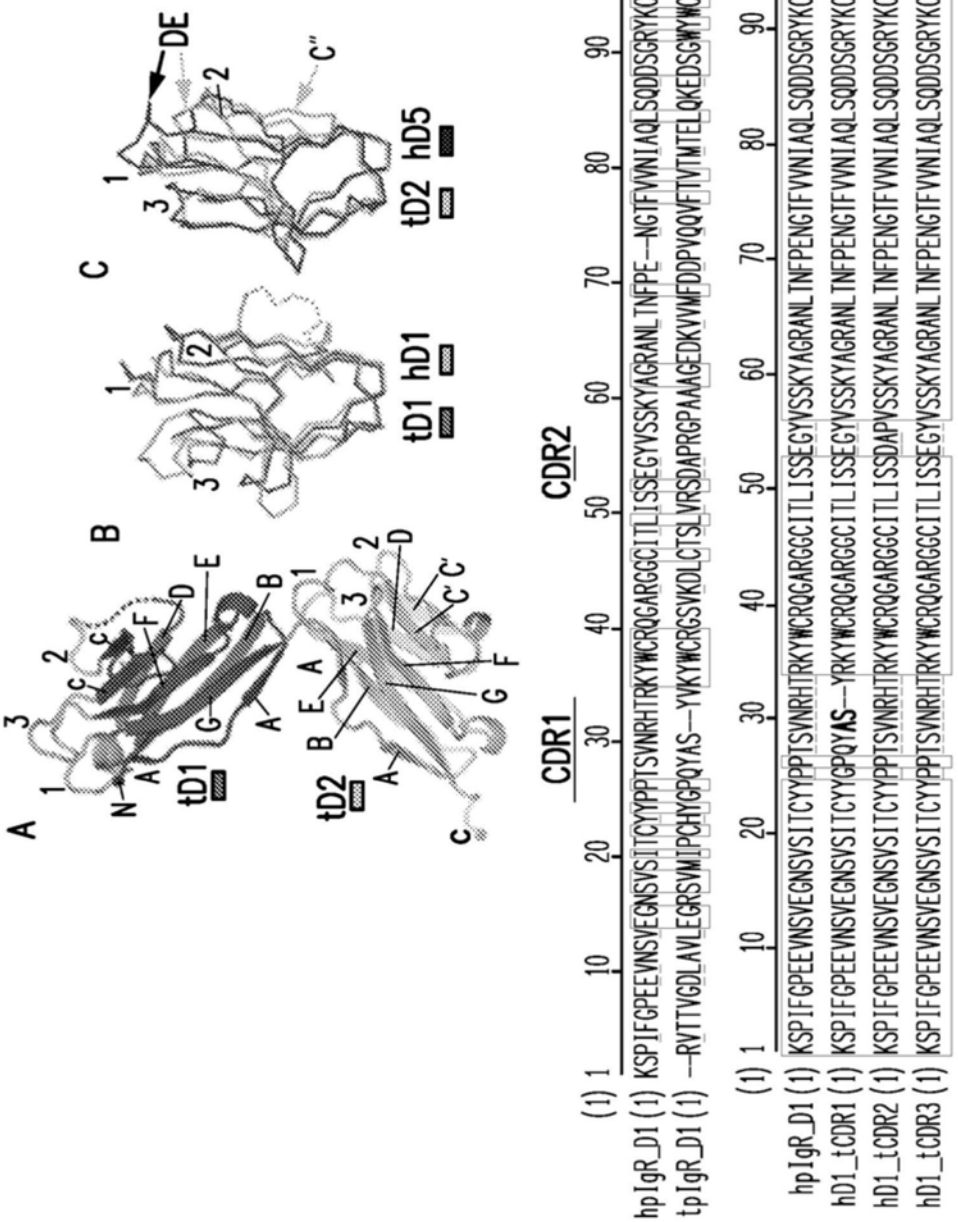


图33A

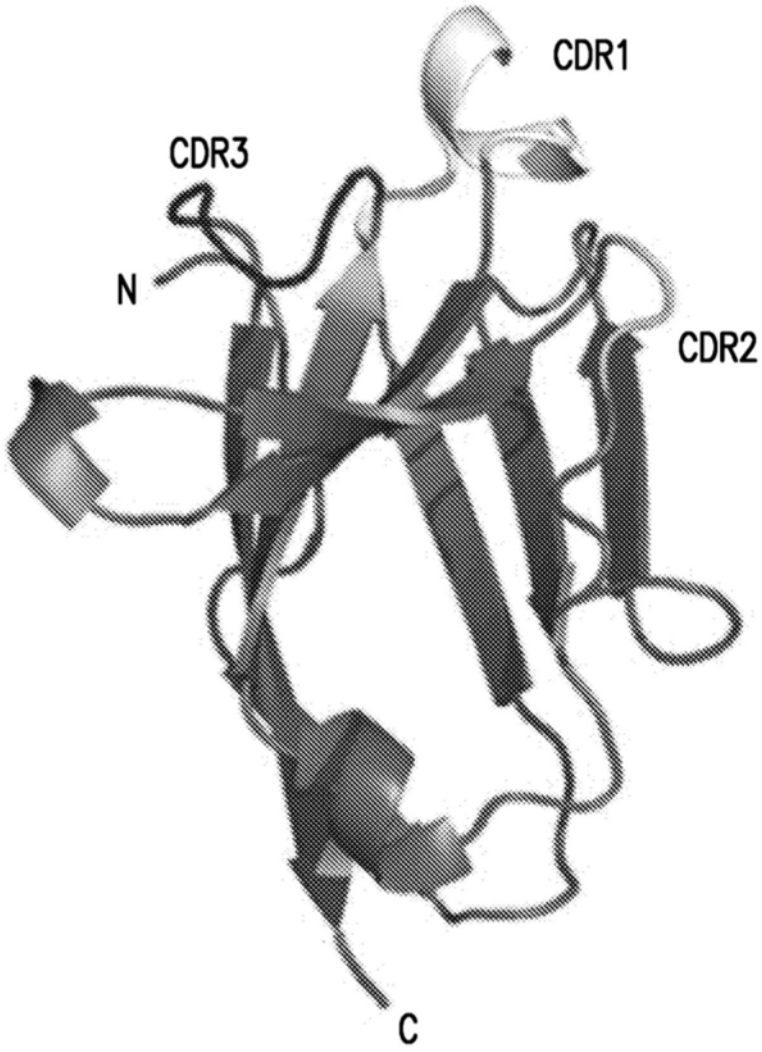


图33B

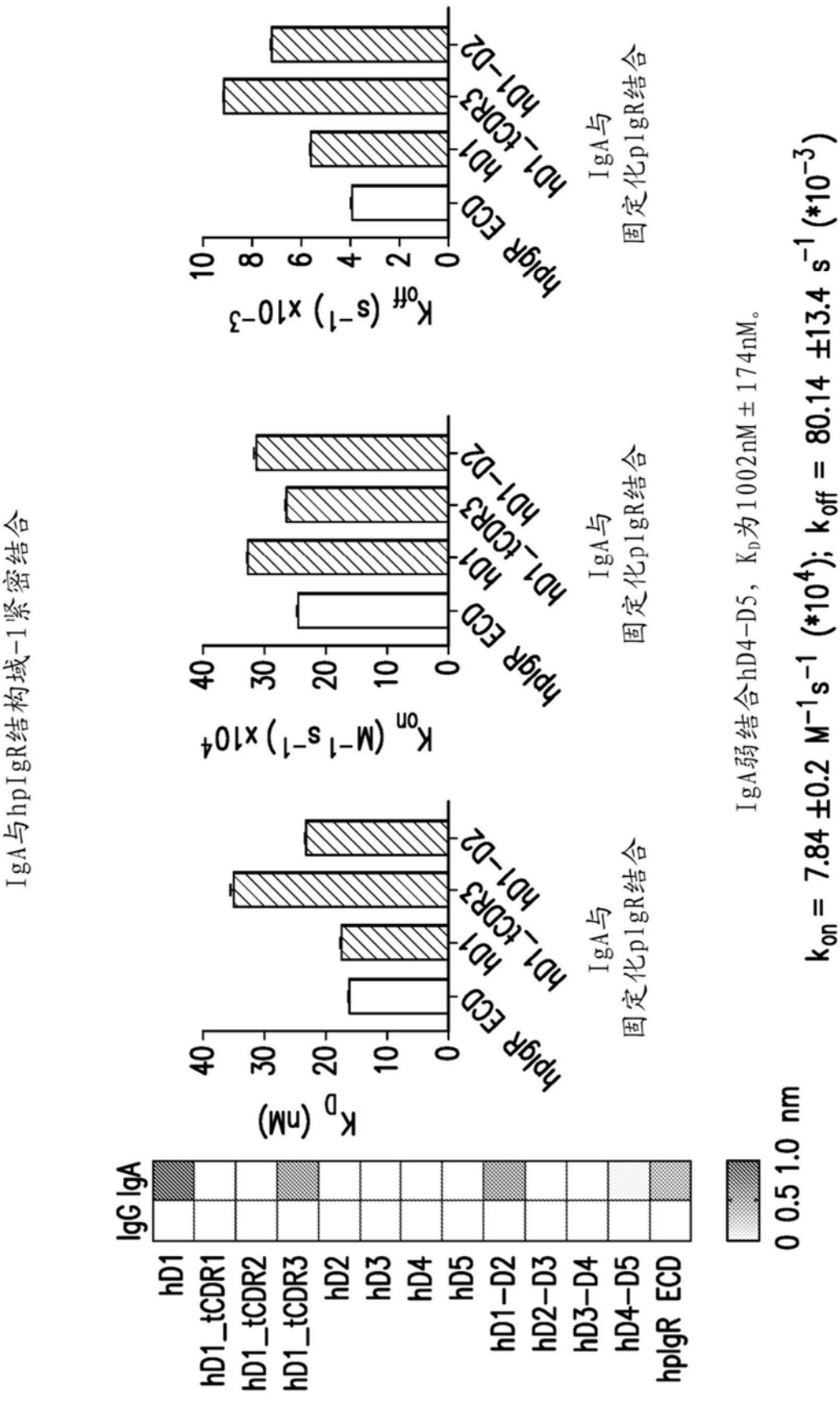

IgA与hpIgR结构域-1紧密结合
IgG IgA
hD1
hD1_tCDR1
hD1_tCDR2
hD1_tCDR3
hD2
hD3
hD4
hD5
hD1-D2
hD2-D3
hD3-D4
hD4-D5
hpIgR ECD
0 0.5 1.0 nm
K_D (nM)
K_{on} ($M^{-1}s^{-1}$) x10^4
K_{off} (s^{-1}) x10^{-3}
hpIgR ECD
hD1
hD1_tCDR3
hD1-D2
IgA与
固定化pIgR结合
IgA弱结合hD4-D5，K_D为1002nM ± 174nM。
k_{on} = 7.84 ±0.2 $M^{-1}s^{-1}$ (*10^4); k_{off} = 80.14 ±13.4 s^{-1} (*10^{-3})

图33C

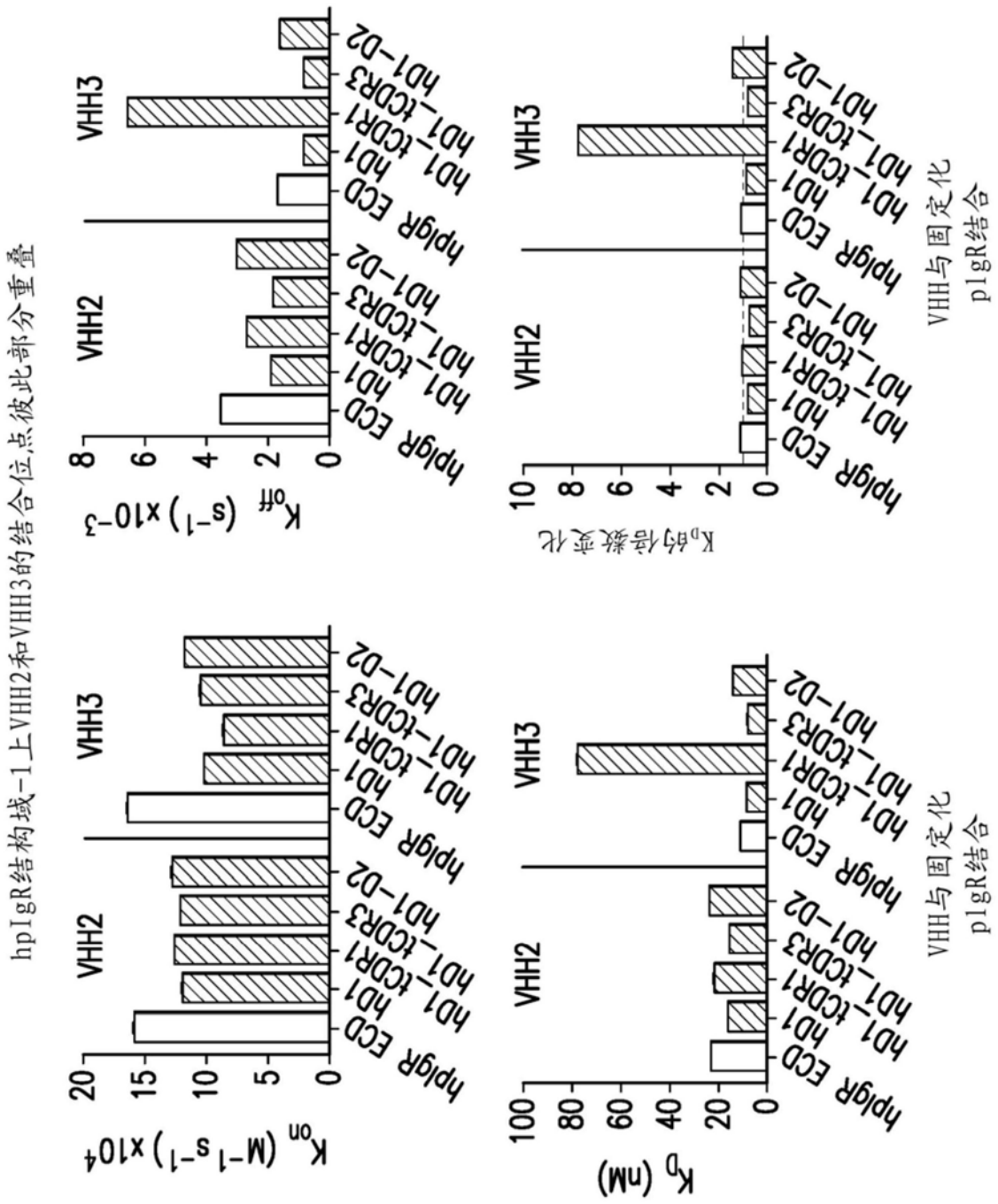

hplgR结构域-1上VHH2和VHH3的结合位点彼此部分重叠
VHH2
VHH3
hplgR ECD
hD1
hD1_tCDR1
hD1_tCDR3
hD1-D2
K_{on} ($M^{-1}s^{-1}$) x10^4
K_{off} (s^{-1}) x10^{-3}
K_D (nM)
K_D的倍数变化
VHH与固定化plgR结合

图33D

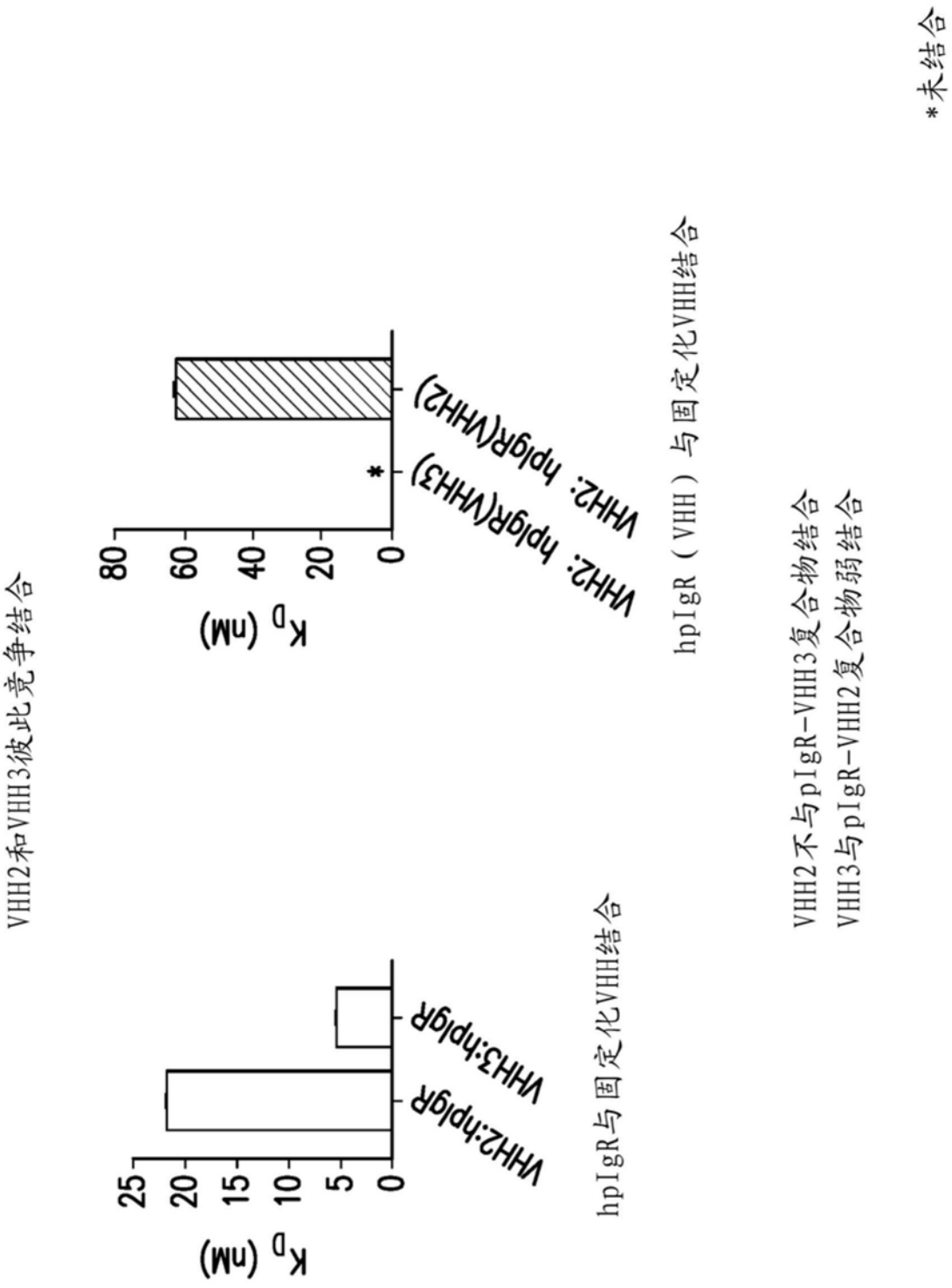
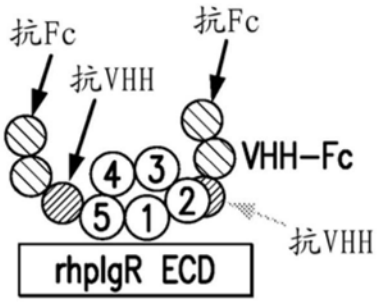
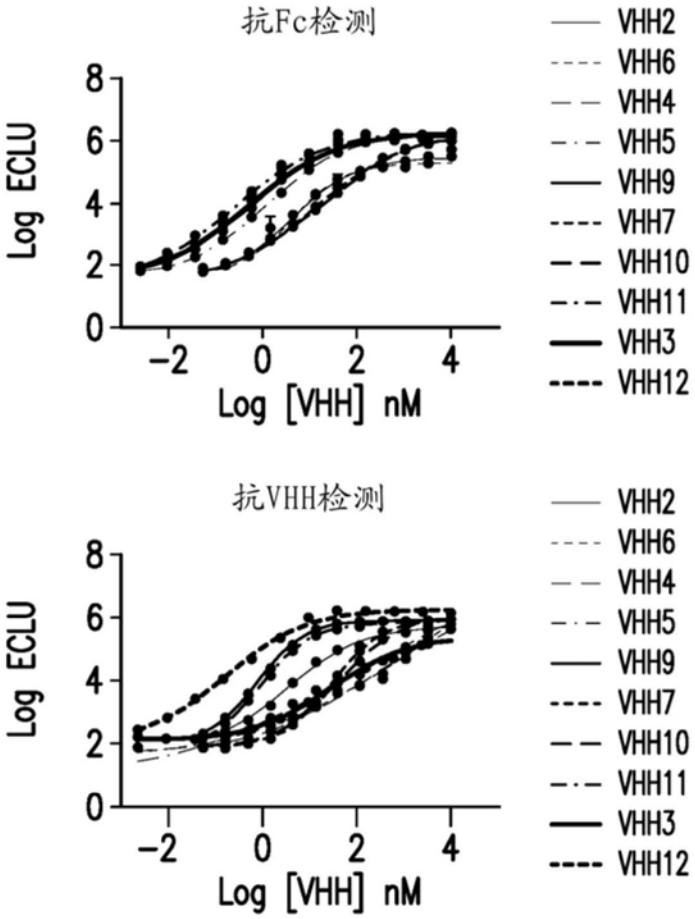

VHH2和VHH3彼此竞争结合
K_D (nM)
25
20
15
10
5
0
VHH2:hplgR
VHH3:hplgR
hpIgR与固定化VHH结合
VHH2不与pIgR-VHH3复合物结合
VHH3与pIgR-VHH2复合物弱结合
hpIgR（VHH）与固定化VHH结合
K_D (nM)
80
60
40
20
0
*
VHH2: hplgR(VHH3)
VHH2: hplgR(VHH2)
*未结合

图34

VHH3至VHH6识别hpIgR上的掩埋表位

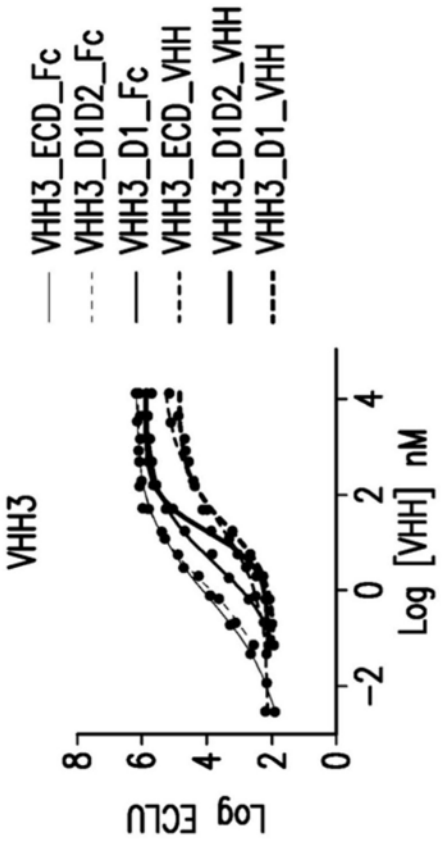




VHH #	抗Fc EC_{50}(nM)	抗VHH EC_{50}(nM)	倍数变化
VHH2	4.2	4.0	1.0
VHH3	0.5	28.6	54
VHH4	1.1	206.0	180
VHH5	0.3	178.5	592
VHH6	3.9	4187.0	1063
VHH7	12.4	31.1	2.5
VHH9	0.4	0.8	1.8
VHH10	17.6	43.9	2.5
VHH11	0.3	0.8	3.2
VHH12	0.5	0.2	0.4

图35

VHH3识别hpIgR结构域-1界面上的复杂表位



样品	抗Fc EC_{50}(nM)	抗Fc EC_{50}(nM)	倍数变化
VHH2_ECD	4.2	4.0	1.0
VHH2_D1D2	1.5	1.8	1.2
VHH2_D1	6.8	8.1	1.2

样品	抗Fc EC_{50}(nM)	抗Fc EC_{50}(nM)	倍数变化
VHH3_ECD	0.5	28.6	54.4
VHH3_D1D2	1.2	13.7	11.9
VHH3_D1	3.1	17.6	5.7

图36A

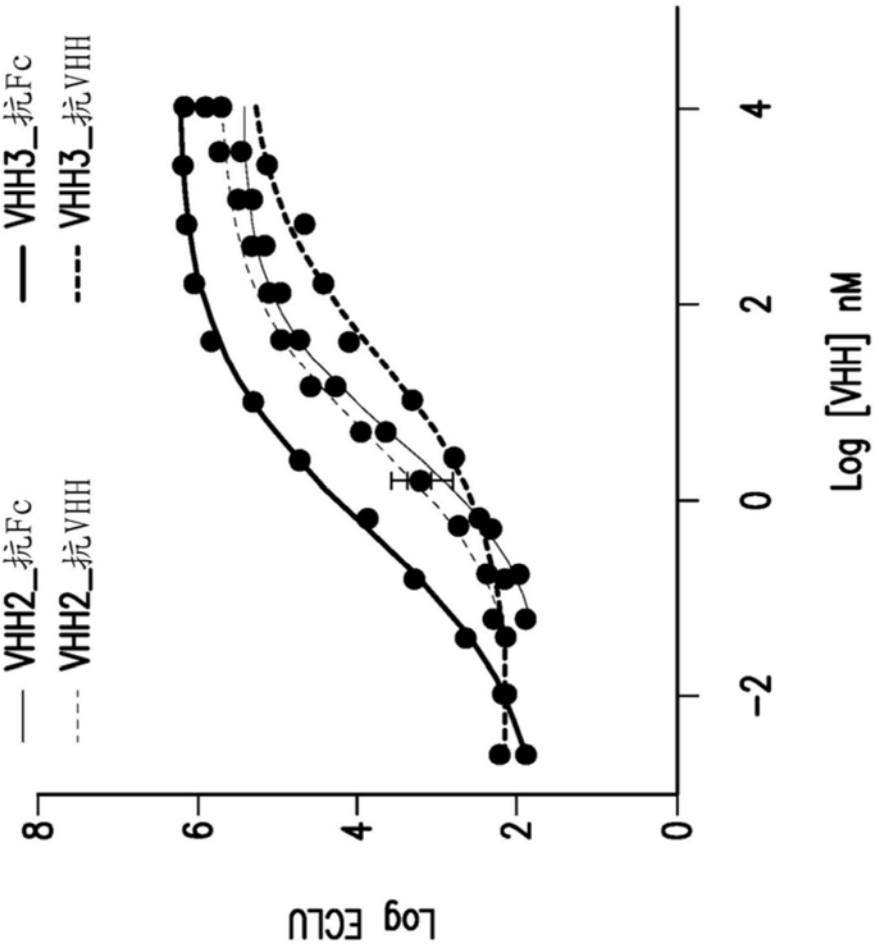

VHH3_抗Fc
VHH3_抗VHH
VHH2_抗Fc
VHH2_抗VHH
Log ECLU
Log [VHH] nM
8
6
4
2
0
-2
0
2
4

图36B

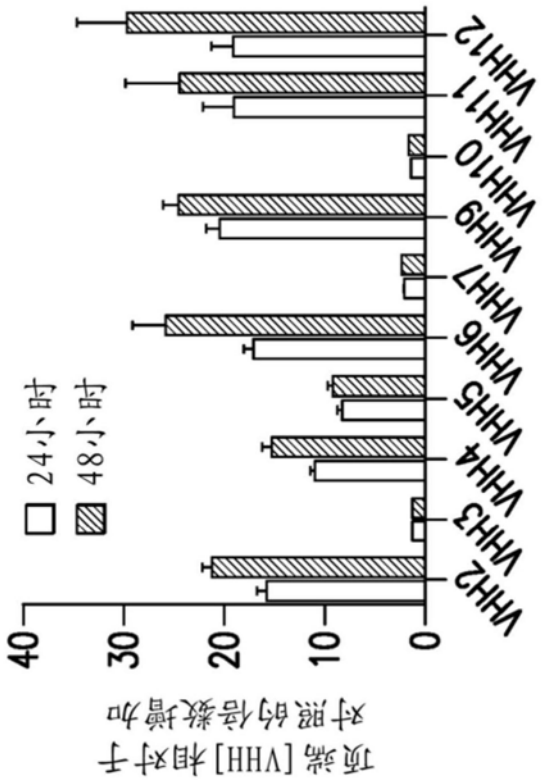

顶端 [VHH] 相对于
对照的倍数增加
0
10
20
30
40
24小时
48小时
VHH2
VHH3
VHH4
VHH5
VHH6
VHH7
VHH9
VHH10
VHH11
VHH12

图37A

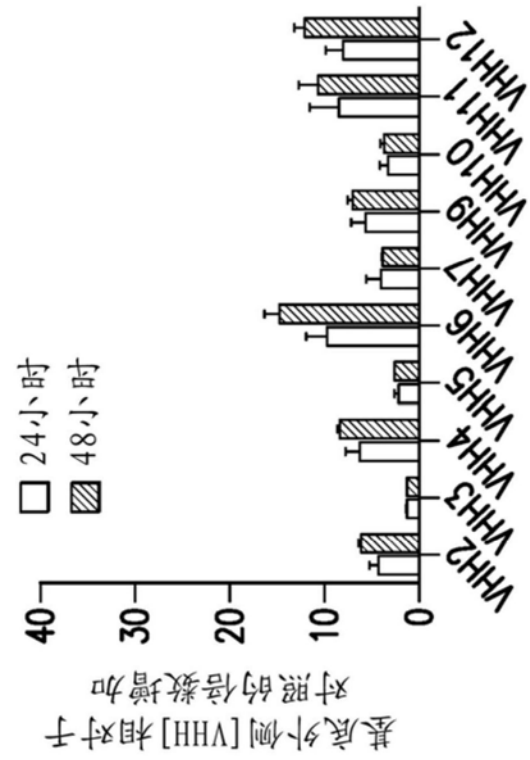

基底外侧 [VHH] 相对于
对照的倍数增加
0
10
20
30
40
24小时
48小时
VHH2
VHH3
VHH4
VHH5
VHH6
VHH7
VHH9
VHH10
VHH11
VHH12

图37B

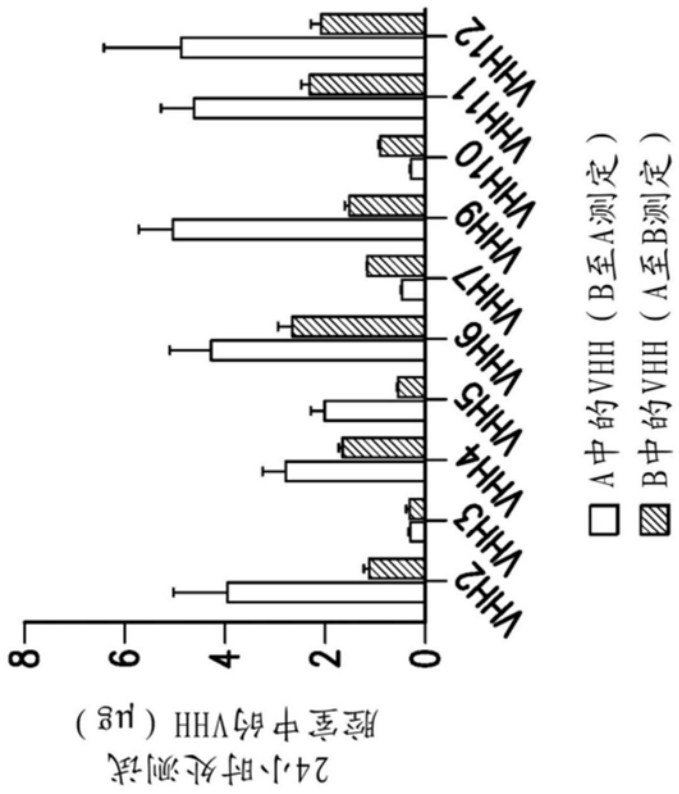

24小时处测试
腔室中的VHH（μg）
0
2
4
6
8
VHH2
VHH3
VHH4
VHH5
VHH6
VHH7
VHH9
VHH10
VHH11
VHH12
A中的VHH（B至A测定）
B中的VHH（A至B测定）

图38A

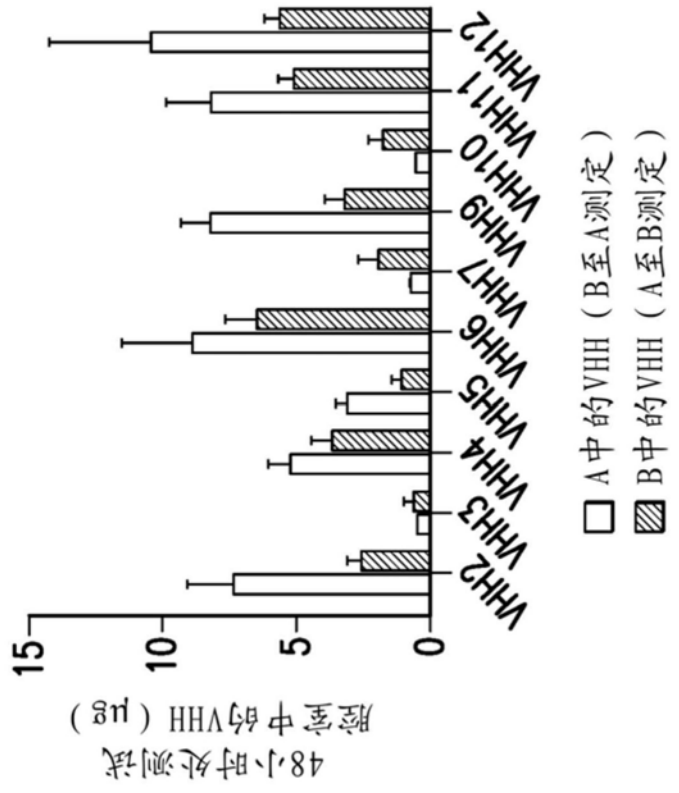

48小时处测试
腔室中的VHH（μg）
0
5
10
15
VHH2
VHH3
VHH4
VHH5
VHH6
VHH7
VHH9
VHH10
VHH11
VHH12
A中的VHH（B至A测定）
B中的VHH（A至B测定）

图38B

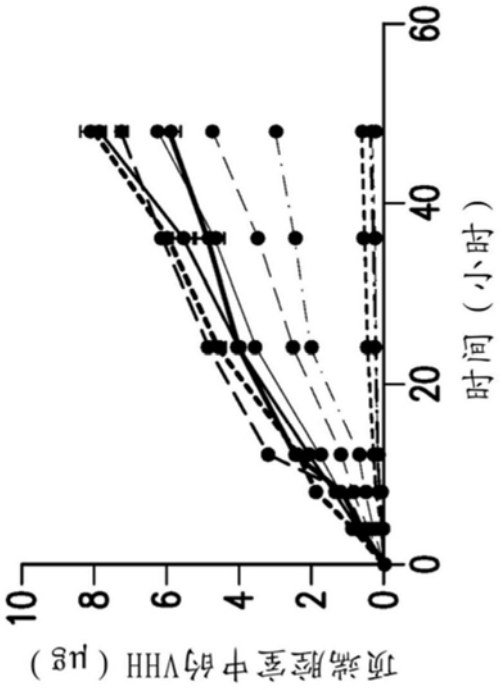


图39A

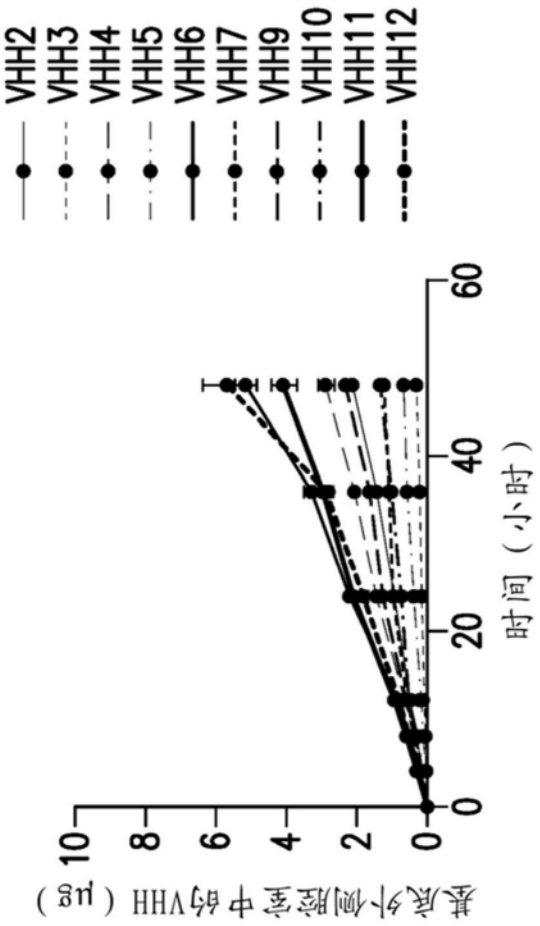

VHH2
VHH3
VHH4
VHH5
VHH6
VHH7
VHH9
VHH10
VHH11
VHH12
基底外侧腔室中的VHH（μg）
0
2
4
6
8
10
0
20
40
60
时间（小时）

图39B