



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108136010 A

(43)申请公布日 2018.06.08

(21)申请号 201680056788.5

(22)申请日 2016.10.06

(30)优先权数据

62/239,020 2015.10.08 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.03.29

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2016/055750 2016.10.06

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/062619 EN 2017.04.13

(71)申请人 宏观基因有限公司

地址 美国马里兰州

(72)发明人 J·瓦塞利 J·M·威金顿

E·波维尼 S·凯尼格

(74)专利代理机构 北京市铸成律师事务所

11313

代理人 郝名悦 王建秀

(51)Int.Cl.

A61K 39/395(2006.01)

A61K 35/04(2006.01)

C07K 16/18(2006.01)

C07K 16/28(2006.01)

权利要求书3页 说明书52页

序列表46页

(54)发明名称

用于治疗癌症的联合疗法

(57)摘要

本发明涉及联合疗法,所述联合疗法包括将特异性结合人B7-H3的第一分子和特异性结合人PD-1的第二分子施用至受试者,以治疗癌症和/或炎症。本发明也涉及药物组合物,其包括特异性结合人B7-H3的第一分子和特异性结合人PD-1的第二分子,所述药物组合物能够介导,更优选地能够增强,针对与任何各种人癌症相关的癌细胞的免疫系统的激活。本发明也涉及这类药物组合物治疗接受受试者中癌症和其他疾病的用途。

1. 一种治疗癌症的方法,所述方法包括向需要其的受试者施用:
 - (a) 特异性结合B7-H3的分子,和
 - (b) 特异性结合PD-1的分子。
2. 如权利要求1所述的方法,其中所述特异性结合B7-H3的分子是抗B7-H3抗体或其抗原-结合片段,并且所述特异性结合PD-1的分子是抗PD-1抗体或其抗原-结合片段。
3. 如权利要求2所述的方法,其中所述抗B7-H3抗体或其抗原-结合片段:
 - (a) 与BRCA84D、BRCA69D、PRCA157竞争B7-H3结合或与选自表5的抗B7-H3抗体竞争B7-H3结合;或
 - (b) 具有BRCA84D、hBRCA84D (1.1)、hBRCA84D (2.2)、hBRCA84D-2、hBRCA69D (1.1)、hBRCA (2.2)的三个重链CDR和三个轻链CDR,或具有选自表5的抗B7-H3抗体的三个重链CDR和三个轻链CDR;或
 - (c) 具有BRCA84D、hBRCA84D (1.1)、hBRCA84D (2.2)、hBRCA84D-2、hBRCA69D (1.1)、hBRCA (2.2)的重链可变结构域和轻链可变结构域,或具有选自表5的抗B7-H3抗体的重链可变结构域和轻链可变结构域。
4. 如权利要求2-3中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体或其抗原-结合片段:
 - (a) 与尼伏鲁单抗、派姆单抗、匹地利珠单抗、PD-1 mAb 3、PD-1 mAb 5、PD-1 mAb 6、PD-1 mAb7、PD-1 mAb 8竞争PD-1结合,或与选自表6的抗PD-1抗体竞争PD-1结合;或
 - (b) 具有尼伏鲁单抗、派姆单抗、匹地利珠单抗、PD-1 mAb 3、PD-1 mAb 5、PD-1 mAb 6、PD-1 mAb7、PD-1 mAb 8的三个重链CDR和三个轻链CDR,或具有选自表6的抗PD-1抗体的三个重链CDR和三个轻链CDR;或
 - (c) 具有尼伏鲁单抗、派姆单抗、匹地利珠单抗、PD-1 mAb 3、PD-1 mAb 5、PD-1 mAb 6、PD-1 mAb7、PD-1 mAb 8的重链可变结构域和轻链可变结构域,或具有选自表6的抗PD-1抗体的重链可变结构域和轻链可变结构域。
5. 如权利要求2-4中任一项所述的方法,其中所述抗B7-H3抗体或其抗原-结合片段包括Fc结构域,并且所述抗PD-1抗体或其抗原-结合片段包括Fc结构域。
6. 如权利要求5所述的方法,其中所述抗B7-H3抗体或其抗原-结合片段包括在Fc结构域具有增强ADCC的至少一个修饰的变异的Fc结构域。
7. 如权利要求5或6所述的方法,其中所述抗PD-1抗体或其抗原-结合片段包括:
 - (a) 变异的Fc结构域,其在所述Fc结构域中具有降低或消除ADCC活性的至少一个修饰;或
 - (b) IgG4Fc结构域。
8. 如权利要求2-7中任一项所述的方法,其中所述抗B7-H3抗体是hBRCA84D-2并且所述抗PD-1抗体是尼伏鲁单抗、派姆单抗、匹地利珠单抗或PD-1 mAb 6-ISQ。
9. 如权利要求2-8中任一项所述的方法,其中所述抗B7-H3抗体以每周1-15mg/kg体重的剂量被施用,并且所述抗PD-1抗体以每两周或三周200mg的固定剂量或以1-10mg/kg体重的剂量被施用。
10. 如权利要求9所述的方法,其中所述抗B7-H3抗体以每周1mg/kg体重、3mg/kg体重、10mg/kg体重或15mg/kg体重的剂量被施用。
11. 如权利要求9或10所述的方法,其中所述抗B7-H3抗体以每周1mg/kg体重、3mg/kg体

重、10mg/kg体重或15mg/kg体重的剂量被施用,并且所述抗PD-1抗体以每两周或三周1mg/kg体重、2mg/kg体重、3mg/kg体重或10mg/kg体重的剂量被施用。

12. 如权利要求10或11所述的方法,其中所述抗B7-H3抗体以每周3mg/kg体重、10mg/kg体重或15mg/kg体重的剂量被施用,并且所述抗PD-1抗体以每三周2mg/kg体重的剂量被施用。

13. 如权利要求10或11所述的方法,其中所述抗B7-H3抗体以每周3mg/kg体重、10mg/kg体重或15mg/kg体重的剂量被施用,并且所述抗PD-1抗体以每两周3mg/kg体重的剂量被施用。

14. 如权利要求10或11所述的方法,其中所述抗B7-H3抗体以每周3mg/kg体重、10mg/kg体重或15mg/kg体重的剂量被施用,并且所述抗PD-1抗体以每两周10mg/kg体重的剂量被施用。

15. 如权利要求1-11中任一项所述的方法,其中每两周施用所述抗PD-1抗体。

16. 如权利要求1-11中任一项所述的方法,其中每三周施用所述抗PD-1抗体。

17. 如权利要求2-16中任一项所述的方法,其中所述抗B7-H3抗体和所述抗PD-1抗体通过IV输注被施用。

18. 如权利要求1-12、16和17中任一项所述的方法,其中每三周在48小时时期内施用所述抗B7-H3抗体和所述抗PD-1抗体。

19. 如权利要求2-11、13-15或17中任一项所述的方法,其中每两周在48小时时期内施用所述抗B7-H3抗体和所述抗PD-1抗体。

20. 如权利要求1至19中任一项所述的方法,其中所述癌症是表达B7-H3的癌症。

21. 如权利要求20所述的方法,其中所述表达B7-H3的癌症是其中表达B7-H3的头颈部的鳞状细胞癌(SCCHN)、膀胱癌、乳腺癌、结直肠癌、胃癌、恶性胶质瘤、肾癌、肺癌、黑素瘤、卵巢癌、胰腺癌、鼻咽癌、前列腺癌、肾细胞癌、小圆蓝细胞瘤、成神经细胞瘤或横纹肌肉瘤。

22. 如权利要求1至21中任一项所述的方法,其中所述治疗进一步包括施用第三治疗剂的步骤,其中所述第三治疗剂选自抗血管生成剂、抗肿瘤剂、化疗剂和细胞毒性剂。

23. 如权利要求2-22中任一项所述的方法,其中所述抗B7-H3抗体是hBRCA84D-2。

24. 如权利要求2-23中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体是派姆单抗。

25. 如权利要求2-23中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体是尼伏鲁单抗。

26. 如权利要求2-23中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体是匹地利珠单抗。

27. 如权利要求2-23中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体包括PD-1 mAb 3的VH结构域和VL结构域。

28. 如权利要求2-23中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体包括PD-1 mAb 5的VH结构域和VL结构域。

29. 如权利要求2-23中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体包括PD-1 mAb 6的VH结构域和VL结构域。

30. 如权利要求29所述的方法,其中所述抗PD-1抗体是mAb 6 ISQ。

31. 如权利要求2-23中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体包括PD-1 mAb 7的VH和VL。

32. 如权利要求2-23中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体包括PD-1 mAb 8的VH

结构域和VL结构域。

33. 如权利要求2-23中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体选自表6。

用于治疗癌症的联合疗法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求美国专利申请系列号62/239,020 (2015年10月8日提交;待决)的优先权,该申请通过引用以其整体并入本文。

[0003] 参考序列表

[0004] 根据37C.F.R.1.821以及下面的条款,本申请包括一个或多个序列表,其以计算机-可读介质公开(文件名:1301_129PCT_ST25.txt,2016年9月24日创建,并且大小为89,867字节),该文件通过引用以其整体并入本文。

发明领域

[0005] 本发明涉及联合疗法,所述联合疗法包括向受试者施用特异性结合人B7-H3的第一分子和特异性结合人PD-1的第二分子,用于治疗癌症和/或炎症。本发明也涉及药物组合物,其包括特异性结合人B7-H3的第一分子和特异性结合人PD-1的第二分子,所述药物组合物能够介导,更优选地能够增强,针对与任何各种人癌症相关的癌细胞的免疫系统的激活。本发明也涉及这类药物组合物治疗接受受试者中癌症和其他疾病的用途。

[0006] 发明背景

[0007] 肿瘤的生长和转移很大程度上取决于它们逃避宿主免疫监视和战胜宿主防御的能力。大部分肿瘤表达可被宿主免疫系统不同程度识别的抗原,但是在许多情况下,由于效应T细胞的无效激活而引起不充分的免疫应答(Khawli, L.A.等(2008) "Cytokine, Chemokine, and Co-Stimulatory Fusion Proteins for the Immunotherapy of Solid Tumors," *Exper. Pharmacol.* 181:291-328)。

[0008] A.B7超家族和B7-H3

[0009] B7家族成员是具有免疫球蛋白-V样和免疫球蛋白-C样结构域(例如, IgV-IgC)的免疫球蛋白超家族成员(Sharpe, A.H.等(2002) "The B7-CD28 Superfamily," *Nature Rev. Immunol.* 2:116-126)。B7-家族成员的IgV和IgC结构域各自由单外显子编码,另外的外显子编码前导序列、跨膜和细胞质结构域。细胞质结构域较短,长度范围是19至62个氨基酸残基并且可由多个外显子编码(Collins, M.等(2005) "The B7 Family Of Immune-Regulatory Ligands," *Genome Biol.* 6:223.1-223.7)。预测B7家族的成员在细胞表面形成连续的(back-to-back)、非共价同源二聚体,并且就B7-1 (CD80) 和B7-2 (CD86) 而言,已经发现了这类二聚体。B7-1 (CD80) 和B7-2 (CD86) 展示对于刺激性CD28受体和抑制性CTLA-4 (CD152) 受体的双特异性(Sharpe, A.H.等(2002) "The B7-CD28 Superfamily," *Nature Rev. Immunol.* 2:116-126)。

[0010] B7-H3是独特的,因为主要的人形式包含两个细胞外串联IgV-IgC结构域(即, IgV-IgC-IgV-IgC) (Collins, M.等(2005) "The B7 Family Of Immune-Regulatory Ligands," *Genome Biol.* 6:223.1-223.7)。尽管起初认为仅仅包括2个Ig结构域(IgV-IgC) (Chapoval, A.等(2001) "B7-H3: A Costimulatory Molecule For T Cell Activation and IFN- γ Production," *Nature Immunol.* 2:269-274; Sun, M.等(2002) "Characterization of Mouse

and Human B7-H3 Genes,” *J. Immunol.* 168:6294-6297), 但是已经鉴定了四免疫球蛋白细胞外结构域变体 (“4Ig-B7-H3”), 并且发现其是更常见的人形式的蛋白质 (Sharpe, A.H. 等 (2002) “The B7-CD28 Superfamily,” *Nature Rev. Immunol.* 2:116-126)。但是, 天然鼠科形式 (2Ig) 和人 4Ig 形式展示类似的功能 (Hofmeyer, K. 等 (2008) “The Contrasting Role Of B7-H3,” *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)* 105 (30):10277-10278)。4Ig-B7-H3 分子抑制天然杀伤细胞介导的癌细胞的裂解 (Castriconi, R. 等 “Identification Of 4Ig-B7-H3 As A Neuroblastoma-Associated Molecule That Exerts A Protective Role From An NK Cell-Mediated Lysis,” *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)* 101 (34):12640-12645)。已经发现人 B7-H3 (2Ig 形式) 通过结合激活 T 细胞上的假定受体而促进 T-细胞激活和 IFN- γ 产生 (Chapoval, A. 等 (2001) “B7-H3: A Costimulatory Molecule For T Cell Activation and IFN- γ Production,” *Nature Immunol.* 2:269-274; Xu, H. 等 (2009) “MicroRNA miR-29 Modulates Expression of Immunosuppressive Molecule B7-H3: Potential Implications for Immune Based Therapy of Human Solid Tumors,” *Cancer Res.* 69 (15):5275-6281)。当在肿瘤细胞上表达时, B7-H4 和 B7-H1 都是免疫功能有效的抑制剂 (Flies, D.B. 等 (2007) “The New B7s: Playing a Pivotal Role in Tumor Immunity,” *J. Immunother.* 30 (3):251-260)。

[0011] B7-H3 的作用模式的复杂的, 因为蛋白质介导 T 细胞共刺激和共抑制二者 (Hofmeyer, K. 等 (2008) “The Contrasting Role Of B7-H3,” *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)* 105 (30):10277-10278; Martin-Orozco, N. 等 (2007) “Inhibitory Costimulation And Anti-Tumor Immunity,” *Semin. Cancer Biol.* 17 (4):288-298; Subudhi, S.K. 等 (2005) “The Balance Of Immune Responses: Costimulation Versus Coinhibition,” *J. Mol. Med.* 83:193-202)。B7-H3 结合 (TREM) 样转录体 2 (TLT-2) 和共刺激 T 细胞激活, 而且也结合仍未确定的受体 (一种或多种), 以介导 T 细胞的共抑制。另外, 通过与未知受体 (一种或多种) 的相互作用, B7-H3 是天然杀伤细胞和成骨细胞的抑制剂 (Hofmeyer, K. 等 (2008) “The Contrasting Role Of B7-H3,” *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)* 105 (30):10277-10278)。可通过与主要信号传导途径的成员的相互作用进行抑制, 通过所述传导途径, T 细胞受体 (TCR) 调节基因转录 (例如, NFAT、NF- κ B 或 AP-1 因子)。

[0012] B7-H3 共刺激 CD4⁺ 和 CD8⁺ T-细胞增殖。B7-H3 也刺激 IFN- γ 产生以及 CD8⁺ 裂解活性 (Chapoval, A. 等 (2001) “B7-H3: A Costimulatory Molecule For T Cell Activation and IFN- γ Production,” *Nature Immunol.* 2:269-274; Sharpe, A.H. 等 (2002) “The B7-CD28 Superfamily,” *Nature Rev. Immunol.* 2:116-126)。但是, 蛋白质也可能通过 NFAT (激活 T 细胞的核因子)、NF- κ B (核因子 κ B) 以及 AP-1 (活化因子蛋白-1) 因子起作用, 以抑制 T-细胞激活 (Yi, K.H. 等 (2009) “Fine Tuning The Immune Response Through B7-H3 And B7-H4,” *Immunol. Rev.* 229:145-151)。也认为 B7-H3 体内抑制 Th1、Th2 或 Th17 (Prasad, D.V. 等 (2004) “Murine B7-H3 Is A Negative Regulator Of T Cells,” *J. Immunol.* 173:2500-2506; Fukushima, A. 等 (2007) “B7-H3 Regulates The Development Of Experimental Allergic Conjunctivitis In Mice,” *Immunol. Lett.* 113:52-57; Yi, K.H. 等 (2009) “Fine Tuning The Immune Response Through B7-H3 And B7-H4,” *Immunol. Rev.* 229:145-151)。若干独立的研究已经显示, 人恶性肿瘤细胞展示显著增加的 B7-H3 蛋白质的表达, 并且该增加的表达

与增加的疾病严重程度相关(Zang,X.等(2007)“The B7Family And Cancer Therapy: Costimulation And Coinhibition,”*Clin.Cancer Res.*13:5271-5279),提示B7-H3被肿瘤用作免疫逃避途径(Hofmeyer,K.等(2008)“The Contrasting Role Of B7-H3,”*Proc.Natl.Acad.Sci. (U.S.A.)* 105(30):10277-10278)。

[0013] 阻断B7分子结合T-细胞受体(例如,CD28)的能力的分子抑制免疫系统,并且已经被建议作为自身免疫性疾病的疗法(Linsley,P.S.等(2009)“The Clinical Utility Of Inhibiting CD28-Mediated Co-Stimulation,”*Immunolog.Rev.*229:307-321)。用抗4Ig-B7-H3抗体治疗的表达4Ig-B7-H3的成神经细胞瘤细胞对NK细胞更敏感。但是,不清楚该活性是否可仅仅归因于针对4Ig-B7-H3形式的抗体,因为所有报道的针对4Ig-B7-H3而产生的抗体也结合两个Ig样形式的B7-H3(Steinberger,P.等(2004)“Molecular Characterization of Human 4Ig-B7-H3,a Member of the B7Family with Four Ig-Like Domains,”*J.Immunol.*172(4):2352-2359和Castriconi等(2004)“Identification Of 4Ig-B7-H3 As A Neuroblastoma-Associated Molecule That Exerts A Protective Role From An NK Cell-Mediated Lysis,”*Proc.Natl.Acad.Sci. (U.S.A.)* 101(34):12640-12645)。

[0014] B7-H3不在静息B或T细胞、单核细胞或树突细胞上表达,但是其在树突细胞上通过IFN- γ 被诱导和在单核细胞上通过GM-CSF被诱导(Sharpe,A.H.等(2002)“The B7-CD28Superfamily,”*Nature Rev.Immunol.*2:116-126)。还未充分表征结合B7-H3的受体(一种或多种)。早期的工作提示,一种这样的受体需要在激活之后在T细胞上被快速和瞬时上调(Loke,P.等(2004)“Emerging Mechanisms Of Immune Regulation:The Extended B7Family And Regulatory T Cells.”*Arthritis Res.Ther.*6:208-214)。最近,在髓样细胞上表达的(TREM)样转录体2(TLT-2或TREML2)受体(King,R.G.等(2006)“Trem-Like Transcript 2Is Expressed On Cells Of The Myeloid/Granuloid And B Lymphoid Lineage And Is Up-Regulated In Response To Inflammation,”*J.Immunol.*176:6012-6021;Klesney-Tait,J.等(2006)“The TREM Receptor Family And Signal Integration,”*Nat.Immunol.*7:1266-1273;Yi,K.H.等(2009)“Fine Tuning The Immune Response Through B7-H3And B7-H4,”*Immunol.Rev.*229:145-151)已经被证明能够结合B7-H3,从而尤其能够共刺激CD8+T细胞的激活(Zang,X.等(2003)“B7x:A Widely Expressed B7Family Member That Inhibits T Cell Activation,”*Proc.Natl.Acad.Sci. (U.S.A.)* 100:10388-10392;Hashiguchi,M.等(2008)“Triggering Receptor Expressed On Myeloid Cell-Like Transcript 2(TLT-2) Is A Counter-Receptor For B7-H3And Enhances T Cell Responses,”*Proc.Natl.Acad.Sci. (U.S.A.)* 105(30):10495-10500;Hofmeyer,K.等(2008)“The Contrasting Role Of B7-H3,”*Proc.Natl.Acad.Sci. (U.S.A.)* 105(30):10277-10278)。

[0015] 除了其在成神经细胞瘤细胞上的表达,人B7-H3在宽范围的癌症和培养的癌症类干细胞中过表达。尤其地,B7-H3在许多恶性赘生物上广泛地过表达,所述恶性赘生物包括:SCCHN,其中水平与远端转移的发展和降低的生存率呈正相关(Katayama,A.等(2011)“Expression of B7-H3in hypopharyngeal squamous cell carcinoma as a predictive indicator for tumor metastasis and prognosis,”*Int J Oncol*38:1219-26);膀胱癌

(Boorjian,S.A.,等(2008)“T Cell Coregulatory Molecule Expression in Urothelial Cell Carcinoma:Clinicopathologic Correlations and Association with Survival,” Clin Cancer Res14:4800-7);前列腺癌,其中B7-H3的表达与转移行为和差的结果相关(Chavin,G.等(2009)“Expression of immunosuppressive B7-H3ligand by hormone-treated prostate cancer tumors and metastases’,”Clin Cancer Res 15:2174-80; Zang,X.等(2007)“B7-H3and B7x are highly expressed in human prostate cancer and associated with disease spread and poor outcome,”Proc Natl Acad Sci U S A 104:19458-63);肾细胞癌,其中B7-H3在肿瘤脉管系统中广泛地表达(Crispen,P.L.等(2008)“Tumor cell and tumor vasculature expression of B7-H3predict survival in clear cell renal cell Carcinoma,”Clin Cancer Res 14:5150-7);卵巢癌(Zang,X.等(2010)“Tumor associated endothelial expression of B7-H3predicts survival in ovarian carcinomas,”Mod Pathol 2010May 21);结直肠癌(Sun,J.等(2010)“Clinical significance and regulation of the costimulatory molecule B7-H3in human colorectal carcinoma,”Cancer Immunol Immunother,3月24);胃癌(Wu,C.P.等(2006)“Relationship between costimulatory molecule B7-H3expression and gastric carcinoma histology and prognosis,”World J Gastroenterol 12:457-9);非小细胞肺癌,其中原发性肿瘤上的较高水平与较高可能性的转移疾病相关(Sun,Y.等(2006)“B7-H3and B7-H4expression in non-small-cell lung cancer,”Lung Cancer 53:143-51);恶性胶质瘤(Modak,S.等(2001)“Monoclonal antibody 8H9targets a novel cell surface antigen expressed by a wide spectrum of human solid tumors,”Cancer Res 61:4048-54);黑素瘤,其中较高的水平与较高的肿瘤阶段和更短的生存期相关(Tekle,C.等(2012)“B7-H3contributes to the metastatic capacity of melanoma cells by modulation of known metastasis-associated genes,”Int J Cancer130: 2282-90;Wang,L.等(2013)“B7-H3mediated tumor immunology:Friend or foe?,”Int J Cancer Sep 7);和儿童的某些小圆蓝细胞瘤(small round blue cell tumor),包括成神经细胞瘤和横纹肌肉瘤(Gregorio,A.等(2008)“Small round blue cell tumours: diagnostic and prognostic usefulness of the expression of B7-H3surface molecule,”Histopathology53:73-80)。

[0016] B.PD-1

[0017] 程序性死亡-1(“PD-1”)是广泛地负调节免疫应答的T-细胞调节剂的扩展的CD28/CTLA-4家族的约31kD I型膜蛋白成员(Ishida,Y.等(1992)“Induced Expression Of PD-1,A Novel Member Of The Immunoglobulin Gene Superfamily,Upon Programmed Cell Death,”EMBO J.11:3887-3895;美国专利申请公开号2007/0202100、2008/0311117、2009/00110667;美国专利号6,808,710、7,101,550、7,488,802、7,635,757、7,722,868;PCT公开号WO 01/14557)。

[0018] PD-1在激活的T-细胞、B-细胞和单核细胞上表达(Agata,Y.等(1996)“Expression Of The PD-1Antigen On The Surface Of Stimulated Mouse T And B Lymphocytes,”Int.Immunol.8(5):765-772;Yamazaki,T.等(2002)“Expression Of Programmed Death 1Ligands By Murine T-Cells And APC,”J.Immunol.169:5538-5545),并且以低水平在天

然杀伤细胞(NK) T-细胞中表达(Nishimura,H.等(2000)“Facilitation Of Beta Selection And Modification Of Positive Selection In The Thymus Of PD-1-Deficient Mice,”J.Exp.Med.191:891-898;Martin-Orozco,N.等(2007)“Inhibitory Costimulation And Anti-Tumor Immunity,”Semin.Cancer Biol.17(4):288-298)。

[0019] PD-1的细胞外区域由单免疫球蛋白(Ig)V结构域组成,所述单免疫球蛋白(Ig)V结构域与CTLA4中等同的结构域具有23%的同一性(Martin-Orozco,N.等(2007)“Inhibitory Costimulation And Anti-Tumor Immunity,”Semin.Cancer Biol.17(4):288-298)。细胞外IgV结构域之后是跨膜区和细胞内尾区。细胞内尾区包含位于基于免疫受体酪氨酸的抑制基序和基于免疫受体酪氨酸的转换基序中的两个磷酸化位点,这表明PD-1负调节TCR信号(Ishida,Y.等(1992)“Induced Expression Of PD-1,A Novel Member Of The Immunoglobulin Gene Superfamily,Upon Programmed Cell Death,”EMBO J.11:3887-3895;Blank,C.等(2006)“Contribution Of The PD-L1/PD-1Pathway To T-Cell Exhaustion:An Update On Implications For Chronic Infections And Tumor Evasion Cancer,”Immunol.Immunother.56(5):739-745)。

[0020] 通过结合PD-L1和PD-L2,PD-1介导其对免疫系统的抑制(Flies,D.B.等(2007)“The New B7s:Playing a Pivotal Role in Tumor Immunity,”J.Immunother.30(3):251-260;美国专利号6,803,192、7,794,710;美国专利申请公开号2005/0059051、2009/0055944、2009/0274666、2009/0313687;PCT公开号W0 01/39722、W0 02/086083)。

[0021] PD-L1和PD-L2在人和鼠科动物组织,比如心脏、胎盘、肌肉、胎肝、脾、淋巴结和胸腺以及鼠科动物肝、肺、肾、胰腺的胰岛细胞和小肠的表面上广泛表达(Martin-Orozco,N.等(2007)“Inhibitory Costimulation And Anti-Tumor Immunity,”Semin.Cancer Biol.17(4):288-298)。在人中,已经在人内皮细胞(Chen,Y.等(2005)“Expression of B7-H1in Inflammatory Renal Tubular Epithelial Cells,”Nephron.Exp.Nephrol.102:e81-e92;de Haij,S.等(2005)“Renal Tubular Epithelial Cells Modulate T-Cell Responses Via ICOS-L And B7-H1”Kidney Int.68:2091-2102;Mazanet,M.M.等(2002)“B7-H1Is Expressed By Human Endothelial Cells And Suppresses T-Cell Cytokine Synthesis,”J.Immunol.169:3581-3588)、心肌(Brown,J.A.等(2003)“Blockade Of Programmed Death-1Ligands On Dendritic Cells Enhances T-Cell Activation And Cytokine Production,”J.Immunol.170:1257-1266)、合胞滋养层(syncytiotrophoblasts)(Petroff,M.G.等(2002)“B7Family Molecules:Novel Immunomodulators At The Maternal-Fetal Interface,”Placenta 23:S95-S101)中发现了PD-L1蛋白质表达。该分子也由一些组织的驻留型巨噬细胞、已经经干扰素(IFN)- γ 或肿瘤坏死因子(TNF)- α 激活的巨噬细胞表达(Latchman,Y.等(2001)“PD-L2Is A Second Ligand For PD-1And Inhibits T-Cell Activation,”Nat.Immunol 2:261-268),并且在肿瘤中被表达(Dong,H.(2003)“B7-H1Pathway And Its Role In The Evasion Of Tumor Immunity,”J.Mol.Med.81:281-287)。

[0022] 已经发现PD-L1和PD-1之间的相互作用为T-和B-细胞提供了重要的负共刺激信号(Martin-Orozco,N.等(2007)“Inhibitory Costimulation And Anti-Tumor Immunity,”Semin.Cancer Biol.17(4):288-298),并且用作细胞死亡诱导者(Ishida,Y.等(1992)

“Induced Expression Of PD-1, A Novel Member Of The Immunoglobulin Gene Superfamily, Upon Programmed Cell Death,” *EMBO J.* 11:3887-3895; Subudhi, S.K. 等 (2005) “The Balance Of Immune Responses: Costimulation Versus Coinhibition,” *J. Molec. Med.* 83:193-202。更具体而言, 已经发现低浓度的PD-1受体和PD-L1配体之间的相互作用导致强烈抑制抗原特异性CD8+T-细胞增殖的抑制信号的传输; 在较高浓度, 与PD-1的相互作用不抑制T-细胞增殖, 但是显著减少多种细胞因子的产生 (Sharpe, A.H. 等 (2002) “The B7-CD28 Superfamily,” *Nature Rev. Immunol.* 2:116-126)。已经发现, 可溶性PD-L1-Fc融合蛋白抑制通过静息和先前激活的CD4和CD8T-细胞以及甚至来自脐带血液的幼稚T-细胞的T-细胞增殖和细胞因子产生 (Freeman, G.J. 等 (2000) “Engagement Of The PD-1 Immunoinhibitory Receptor By A Novel B7 Family Member Leads To Negative Regulation Of Lymphocyte Activation,” *J. Exp. Med.* 192:1-9; Latchman, Y. 等 (2001) “PD-L2 Is A Second Ligand For PD-1 And Inhibits T-Cell Activation,” *Nature Immunol.* 2:261-268; Carter, L. 等 (2002) “PD-1: PD-L Inhibitory Pathway Affects Both CD4(+) and CD8(+) T-cells And Is Overcome By IL-2,” *Eur. J. Immunol.* 32(3):634-643; Sharpe, A.H. 等 (2002) “The B7-CD28 Superfamily,” *Nature Rev. Immunol.* 2:116-126)。

[0023] PD-L1和PD-1在抑制T-细胞激活和增殖中的作用提示这些生物分子可用作治疗性靶标, 用于治疗炎症和癌症。因此, 已经建议了抗PD-1抗体治疗感染和肿瘤以及上调适应性免疫应答的用途 (见, 美国专利申请公开号2010/0040614、2010/0028330、2004/0241745、2008/0311117、2009/0217401; 美国专利号7,521,051、7,563,869、7,595,048; PCT公开号W0 2004/056875、W0 2008/083174)。Agata, T. 等 (1996) “Expression Of The PD-1 Antigen On The Surface Of Stimulated Mouse T And B Lymphocytes,” *Int. Immunol.* 8(5):765-772; 和 Berger, R. 等 (2008) “Phase I Safety And Pharmacokinetic Study Of CT-011, A Humanized Antibody Interacting With PD-1, In Patients With Advanced Hematologic Malignancies,” *Clin. Cancer Res.* 14(10):3044-3051 已经报道了能够特异性结合PD-1的抗体 (也见, 美国专利号8,008,449和8,552,154; 美国专利公开号2007/0166281、2012/0114648、2012/0114649、2013/0017199、2013/0230514和2014/0044738; 和 PCT专利公开号W0 2003/099196、W0 2004/004771、W0 2004/056875、W0 2004/072286、W0 2006/121168、W0 2007/005874、W0 2008/083174、W0 2009/014708、W0 2009/073533、W0 2012/135408、W0 2012/145549和W0 2013/014668)。

[0024] C. 表达B7-H3的癌症

[0025] B7-H3的过表达发生于大范围的癌症和培养的癌症类干细胞中。如上所述, B7-H3的过表达与增加的疾病复发和差的预后强烈相关。但是, B7-H3是抗B7-H3药物的潜在的靶标, 包括靶向受体的细胞外结构域的单克隆抗体。已经描述了特异性结合B7-H3的抗体和其他分子 (见, 美国专利号8,802,091、7,527,969、7,368,554、7,358,354和7,279,567; 美国专利申请公开号US 20090087416、US 20090022747、US 20090018315、US2008116219、US20080081346、US 20050202536、US20030103963、US20020168762; PCT公开号W0 2011/109400、W0 2008/116219、W0 2006/016276、W0 2004/093894、W0 04/001381、W0 2002/32375、W0 2002/10187和W0 2001/094413; EP 1292619B; Modak, S. 等 (March 1999) “Disialoganglioside GD2 And Antigen 8H9: Potential Targets For Antibody-Based

Immunotherapy Against Desmoplastic Small Round Cell Tumor (DSRCT) And Rhabdomyosarcoma (RMS),”Proceedings Of The American Association For Cancer Research Annual Meeting (美国癌症研究协会年会论文集), Vol.40:474 (9^{0th} Annual Meeting Of The American Association For Cancer Research (第九十届美国癌症研究协会年会); Philadelphia, Pennsylvania, US; 4月10-14, 1999; Modak, S.等 (March 2000) “Radioimmunotargeting To Human Rhabdomyosarcoma Using Monoclonal Antibody 8H9,”Proc.Am.Assoc.Cancer Res.41:724; Modak, S.等 (2001) “Monoclonal Antibody 8H9 Targets A Novel Cell Surface Antigen Expressed By A Wide Spectrum Of Human Solid Tumors,”Cancer Res.61 (10):4048-4054; Steinberger, P.等 (2004) “Molecular Characterization of Human 4Ig-B7-H3, a Member of the B7 Family with Four Ig-Like Domains,”J.Immunol.172 (4):2352-2359; Xu, H.等 (2009) “MicroRNA miR-29 Modulates Expression of Immuno-inhibitory Molecule B7-H3: Potential Implications for Immune Based Therapy of Human Solid Tumors,”Cancer Res.69 (15):5275-6281)。

[0026] 尽管这些进展,但是仍需要改善的疗法,用于治疗表达B7-H3的癌症并且利于或介导针对这类癌症的免疫应答。尽管适应性免疫系统可能是抵抗癌症和疾病的有效防御机制,但其通常受到肿瘤微环境中免疫抑制机制,比如共抑制分子的表达的阻碍。此外,在肿瘤环境(milieu)中由肿瘤细胞、免疫细胞和基质细胞表达的共抑制分子可明显减弱针对癌细胞的T-细胞应答。因此,进一步地需要新的联合和治疗方案,其特异性识别癌细胞表面上的靶标,并且可从而介导T-细胞激活、免疫应答的刺激和表达B7-H3的癌细胞的杀伤。本发明的目标是鉴定这类组合物和治疗方案。

发明内容

[0027] 本发明涉及包括向受试者施用特异性结合人B7-H3的第一分子(即,B7-H3-结合分子)和特异性结合人PD-1的第二分子(即,PD-1-结合分子)的联合疗法,用于治疗癌症和炎症。本发明也涉及药物组合物,其包括特异性结合人B7-H3的第一分子和特异性结合人PD-1的第二分子,所述药物组合物能够介导,更优选地能够增强,针对与各种人癌症相关的癌细胞的免疫系统的激活。本发明也涉及这类药物组合物治疗癌症和其他疾病的用途。

[0028] 详细地,本发明提供了治疗癌症的方法,其包括向需要其的受试者施用特异性结合B7-H3的分子和特异性结合PD-1的分子。

[0029] 本发明尤其涉及这类方法的实施方式,其中特异性结合B7-H3的分子是抗B7-H3抗体或其抗原-结合片段,并且特异性结合PD-1的分子是抗PD-1抗体或其抗原-结合片段。

[0030] 本发明尤其涉及这类方法的实施方式,其中抗B7-H3抗体或其抗原-结合片段:

[0031] (a) 与BRCA84D、BRCA69D、PRCA157或与选自表5的抗B7-H3抗体竞争B7-H3结合;或

[0032] (b) 具有BRCA84D、hBRCA84D (1.1)、hBRCA84D (2.2)、hBRCA84D-2、hBRCA69D (1.1)、hBRCA (2.2) 的三个重链CDR和三个轻链CDR,或具有选自表5的抗B7-H3的三个重链CDR和三个轻链CDR;或

[0033] (c) 具有BRCA84D、hBRCA84D (1.1)、hBRCA84D (2.2)、hBRCA84D-2、hBRCA69D (1.1)、hBRCA (2.2) 的重链可变结构域和轻链可变结构域,或具有选自表5的抗B7-H3的重链可变结

构域和轻链可变结构域。

[0034] 本发明尤其涉及这类方法的实施方式,其中抗PD-1抗体或其抗原-结合片段:

[0035] (a) 与尼伏鲁单抗(nivolumab)、派姆单抗(pembrolizumab)、匹地利珠单抗(pidilizumab)、PD-1mAb 3、PD-1mAb 5、PD-1mAb6、PD-1mAb7、PD-1mAb 8,或与选自表6的抗PD-1抗体竞争PD-1结合;或

[0036] (b) 具有尼伏鲁单抗、派姆单抗、匹地利珠单抗、PD-1mAb 3、PD-1mAb 5、PD-1mAb 6、PD-1mAb7、PD-1mAb 8的三个重链CDR和三个轻链CDR,或具有选自表6的抗PD-1抗体的三个重链CDR和三个轻链CDR;或

[0037] (c) 具有尼伏鲁单抗、派姆单抗、匹地利珠单抗、PD-1mAb 3、PD-1mAb 5、PD-1mAb 6、PD-1mAb7、PD-1mAb 8的重链可变结构域和轻链可变结构域,或具有选自表6的抗PD-1抗体的重链可变结构域和轻链可变结构域。

[0038] 本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中抗B7-H3抗体或其抗原-结合片段包括Fc结构域,和/或抗PD-1抗体或其抗原-结合片段包括Fc结构域。本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中抗B7-H3抗体或其抗原-结合片段包括变异的Fc结构域,其在Fc结构域具有一个、两个、三个、四个、五个或更多个增强ADCC的修饰。本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中增强ADCC的Fc结构域修饰包括L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L中的任何一个、任何两个、任何三个、任何四个或所有五个取代。本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中抗PD-1抗体或其抗原-结合片段包括:(a) 变异的Fc结构域,其在Fc结构域具有降低或消除ADCC活性的至少一个修饰;或(b) IgG4Fc结构域。本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中降低或消除ADCC的Fc结构域修饰包括优选地IgG1Fc结构域的L234A;L235A;或L234A和L235A的取代。

[0039] 本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中抗B7-H3抗体是hBRCA84D-2并且抗PD-1抗体是尼伏鲁单抗、派姆单抗、匹地利珠单抗或PD-1mAb 6-ISQ。本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中抗B7-H3抗体是hBRCA84D-2并且抗PD-1抗体或其抗原-结合片段包括尼伏鲁单抗、派姆单抗、匹地利珠单抗、PD-1mAb 3、PD-1mAb 5、PD-1mAb 6、PD-1mAb 7, PD-1mAb 8或选自表6的抗PD-1抗体的VH和VL。

[0040] 本发明另外涉及这类方法的实施方式,其中特异性结合B7-H3的分子(尤其是抗B7-H3抗体)以每周1-15mg/kg体重的剂量被施用和特异性结合PD-1的分子(尤其是抗PD-1抗体)以每三周200mg的固定剂量被施用。本发明也涉及这类方法的实施方式,其中特异性结合B7-H3的分子(尤其是抗B7-H3抗体)以每周1-15mg/kg体重的剂量被施用,并且特异性结合PD-1的分子(尤其是抗PD-1抗体)以每两周或三周1-10mg/kg体重的剂量被施用。本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中特异性结合B7-H3的分子(尤其是抗B7-H3抗体)以选自每周1mg/kg、3mg/kg、10mg/kg和15mg/kg体重的剂量被施用,并且特异性结合PD-1的分子(尤其是抗PD-1抗体)以每三周200mg的固定剂量被施用。本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中特异性结合B7-H3的分子(尤其是抗B7-H3抗体)以选自每周1mg/kg、3mg/kg、10mg/kg和15mg/kg体重的剂量被施用,并且特异性结合PD-1的分子(尤其是抗PD-1抗体)以选自每两周或三周1mg/kg、2mg/kg、3mg/kg和10mg/kg体重的剂量被施用。本发明尤其是涉及这类方法的实施方式,其中特异性结合B7-H3的分子(尤其是抗B7-H3抗体)以选自每周3mg/kg、10mg/kg和15mg/kg体重的剂量被施用,并且特异性结合PD-1的分子(尤其是抗PD-1

抗体)以每三周2mg/kg体重的剂量被施用。本发明尤其是涉及这类方法的实施方式,其中特异性结合B7-H3的分子(尤其是抗B7-H3抗体)以选自每周3mg/kg、10mg/kg和15mg/kg体重的剂量被施用,并且特异性结合PD-1的分子(尤其是抗PD-1抗体)以每两周3mg/kg体重的剂量被施用。本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中特异性结合B7-H3的分子(尤其是抗B7-H3抗体)和特异性结合PD-1的分子(尤其是抗PD-1抗体)通过IV输注而被施用。本发明也涉及这类方法的实施方式,其中每两周或三周在48-小时的时间内施用特异性结合B7-H3的分子(尤其是抗B7-H3抗体)和特异性结合PD-1的分子(尤其是抗PD-1抗体)。

[0041] 本发明尤其涉及这类方法的实施方式,其中癌症是其中表达B7-H3的癌症。本发明进一步涉及这类方法的实施方式,其中癌症是表达B7-H3的头颈部的鳞状细胞癌(SCCHN)、膀胱癌、乳腺癌、结直肠癌、胃癌、恶性胶质瘤、肾癌、肺癌、黑素瘤、卵巢癌、胰腺癌、鼻咽癌、前列腺癌、肾细胞癌、小圆蓝细胞瘤、成神经细胞瘤或横纹肌肉瘤。

[0042] 本发明另外涉及这类方法的实施方式,其进一步包括施用第三治疗剂的步骤,尤其其中第三治疗剂是抗血管生成剂、抗肿瘤剂、化疗剂,或细胞毒性剂。

[0043] 实施方式

[0044] 本发明涉及包括向受试者施用特异性结合人B7-H3的第一分子和特异性结合人PD-1的第二分子的联合疗法,用于治疗癌症和/或炎症。本发明也涉及药物组合物,其包括特异性结合人B7-H3的第一分子和特异性结合人PD-1的第二分子,所述药物组合物能够介导,更优选地能够增强,针对与任何各种人癌症相关的癌细胞的免疫系统的激活。本发明也涉及这类药物组合物治疗接受受试者中癌症和其他疾病的用途。

[0045] A. 抗体

[0046] 1. 抗体

[0047] “抗体”是能够通过位于免疫球蛋白分子的可变结构域中的至少一个表位识别位点免疫特异性结合靶标,比如碳水化合物、多核苷酸、脂质、多肽等(“抗原”)的免疫球蛋白分子。因此,当靶分子是“抗原”时,被抗体识别并且与抗体结合的抗原部分是“表位”。如本文所使用,术语“抗体”不仅仅包括完整的多克隆或单克隆抗体、骆驼源化(camelized)抗体、单链抗体和抗特应(抗Id)抗体(包括,例如,抗Id和针对本发明抗体的抗抗Id抗体),而且也包括其突变体,天然产生的变体,包括具有必要的免疫特异性的表位结合位点的融合蛋白、人源化抗体和嵌合抗体,以及包括具有必要的免疫特异性的抗原识别位点的免疫球蛋白分子的任何其他修饰构造。如本文所使用,抗体的“抗原-结合片段”是其氨基酸序列包括对该抗原特异性的抗体的至少一个表位-结合位点的免疫球蛋白。如本文所使用,术语包括片段(例如,Fab、Fab'、F(ab')₂Fv)、二硫化物连接的双特异性Fvs(sdFv)、胞内抗体和单链分子(例如,scFv)。尤其地,抗体包括免疫球蛋白分子和免疫球蛋白分子的免疫活性片段,即,包含表位-结合位点的分子。免疫球蛋白分子可以属于任何类型(例如,IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY)、类别(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或亚类。

[0048] 天然抗体(比如IgG抗体)包括与两条重链复合的两条轻链。每条轻链包含轻链可变(VL)结构域和恒定轻链(CL)结构域。每条重链包含重链可变(VH)结构域,三个重链恒定结构域(CH1、CH2和CH3)和铰链结构域,其位于CH1和CH2结构域之间。因此,天然存在的免疫球蛋白(例如,IgG)的基本结构单元是具有两条轻链和两条重链的四聚体,其通常作为约150,000Da的糖蛋白表达。每条多肽链的氨基末端部分包括其可变(“V”)结构域,其具有约

100至110或更多个氨基酸,并且主要负责抗原识别。每条多肽链的羧基末端部分限定链的恒定(“C”)结构域。因此,IgG分子的轻链的结构(在N-末端至C-末端方向上)是:VL-CL,并且IgG重链的结构(在N-末端至C-末端方向上)是:VH-CH1-铰链-CH2-CH3。

[0049] 完整的、未修饰的抗体(例如,IgG抗体)结合抗原的表位的能力取决于免疫球蛋白轻链和重链上可变结构域(即,分别为VL结构域和VH结构域)的存在。抗体轻链和抗体重链的相互作用,尤其地,其VL和VH结构域的相互作用形成抗体的表位-结合位点之一。IgG分子的可变结构域由以下组成:包含与表位接触的残基的互补决定区(CDR)和称为框架区段(FR)的非CDR区段,所述非CDR区段通常维持结构和确定CDR环的定位,以便允许这类接触(但是某些框架残基也可接触抗原)。因此,VL结构域具有如下结构(在N-末端至C-末端方向上):FR_{L1}-CDR_{L1}-FR_{L2}-CDR_{L2}-FR_{L3}-CDR_{L3}-FR_{L4},并且VH结构域具有如下结构(在N-末端至C-末端方向上):FR_{H1}-CDR_{H1}-FR_{H2}-CDR_{H2}-FR_{H3}-CDR_{H3}-FR_{H4}。作为(或可用作)抗体轻链的第一、第二和第三CDR的多肽在本文分别命名为CDR_{L1}结构域、CDR_{L2}结构域和CDR_{L3}结构域。类似地,作为(或可用作)抗体重链的第一、第二和第三CDR的多肽在本文分别命名为CDR_{H1}结构域、CDR_{H2}结构域和CDR_{H3}结构域。因此,术语CDR_{L1}结构域、CDR_{L2}结构域、CDR_{L3}结构域、CDR_{H1}结构域、CDR_{H2}结构域和CDR_{H3}结构域涉及这样的多肽:所述多肽在并入到蛋白质中时使得蛋白质能够结合特定表位,无论这类蛋白质是否是具有轻链和重链的抗体或单链结合分子(例如,scFv、BiTe等),或是另一类型的蛋白质。与这类抗体相对,scFv构建体包括包含在单多肽链中的抗体的VL和VH结构域,其中结构域被足够长度的柔性连接体分开,以使得两个结构域自组装成功能性表位-结合位点。在由于连接体长度不足(小于约12个氨基酸残基)而使得VL和VH结构域的自组装不可能时,两个scFv结构可彼此相互作用而形成二价分子,其中一条链的VL与另一条链的VH缔合(在下文中综述:Marvin等(2005)“Recombinant Approaches To IgG-Like Bispecific Antibodies,”*Acta Pharmacol.Sin.*26:649-658)。

[0050] 除了它们在诊断中的已知用途,抗体已经被证明可用作治疗剂。最近几十年已经看到对抗体的治疗潜能的兴趣的复兴,并且抗体已经成为一种主要类型的生物技术衍生的药物(Chan,C.E.等(2009)“The Use Of Antibodies In The Treatment Of Infectious Diseases,”*Singapore Med.J.*50(7):663-666)。将近200种基于抗体的药物已经被批准或正在开发中。

[0051] 术语“单克隆抗体”指同质型(homogeneous)抗体群体,其中单克隆抗体包括参与抗原的选择性结合的氨基酸(天然产生的和非天然产生的)。单克隆抗体是高度特异性的,直接针对单个表位(或抗原位点)。术语“单克隆抗体”不仅仅包括完整的单克隆抗体和全长单克隆抗体,而且也包括其片段(比如Fab、Fab’、F(ab’)2Fv)、单链(scFv)、其突变体、包括抗体部分的融合蛋白、人源化的单克隆抗体、嵌合单克隆抗体和包括具有结合表位的必要的免疫特异性和能力的抗原识别位点的免疫球蛋白分子的任何其他修饰构造。就抗体的来源或制备其的方式(例如,通过杂交瘤、噬菌体选择、重组表达、转基因动物等)而言,不旨在是限制性的。术语包括完整的免疫球蛋白以及上面根据“抗体”的定义描述的片段等。制备单克隆抗体的方法是本领域已知的。可采用的一种方法是Kohler,G.等(1975)“Continuous Cultures Of Fused Cells Secreting Antibody Of Predefined Specificity,”*Nature*256:495-497的方法或其改良。典型地,单克隆抗体在小鼠、大鼠或兔子中开发。通过用免疫原性量的细胞、细胞提取物或包含期望的表位的蛋白质制品免疫动物而产生抗体。

免疫原可以是但不限于原代细胞、培养的细胞系、癌细胞、蛋白质、肽、核酸或组织。用于免疫的细胞可被培养一段时间(例如,至少24小时),然后将它们用作免疫原。细胞它们本身或联合非变性佐剂,比如Ribi,可用作免疫原(见,例如,Jennings,V.M.(1995)“Review of Selected Adjuvants Used in Antibody Production,”ILAR J.37(3):119-125)。

[0052] 一般而言,在用作免疫原时,细胞应保持完整并且优选地有活性。相比于破裂的细胞,完整的细胞可允许抗原被免疫的动物更好地检测。变性或烈性佐剂,例如,弗氏佐剂的使用,可使细胞破裂,因此,其应用受阻。免疫原可以周期性间隔被多次施用,诸如两周一次或一周一次,或者可以以维持在动物(例如,在组织重组体中)中的生存力这样的方式被施用。可选地,对于期望的致病表位是免疫特异性的现有单克隆抗体和任意其他等价抗体可被测序,并通过本领域中已知的任意手段重组产生。在一个实施方式中,对这样的抗体测序,然后将多核苷酸序列克隆至载体中,用于表达或增殖。编码感兴趣的抗体的序列可在宿主细胞中保持在载体中,并且,可然后扩展和冷冻宿主细胞,用于将来的使用。这样的抗体的多核苷酸序列可用于遗传操作,以产生嵌合抗体、人源化抗体或犬源化(caninized)抗体,或以改善抗体的亲和力或其他特征。术语“人源化的”抗体指一般使用重组技术制备的嵌合分子,其具有源自来源于非人物种的免疫球蛋白的抗原-结合位点并且保留了基于人免疫球蛋白结构和/或序列的分子的免疫球蛋白结构。这类抗体的可变结构域的多核苷酸序列可用于遗传操作,以产生这类衍生物和改善这类抗体的亲和性或其他特征。人源化抗体的一般原则涉及保留抗体的抗原-结合部分的基本序列,同时用人抗体序列交换抗体的非人剩余部分。人源化单克隆抗体有四个一般步骤。这些是:(1) 确定开始抗体轻链和重链可变结构域的核苷酸和预测的氨基酸序列;(2) 设计人源化抗体或犬源化抗体,即,决定在人源化或犬源化过程中使用哪种抗体框架区域;(3) 实际人源化或犬源化方法/技术;和(4) 人源化抗体的转染和表达。见,例如,美国专利号4,816,567、5,807,715、5,866,692和6,331,415。

[0053] 这类抗体的表位-结合位点可包括融合至恒定结构域的完整可变结构域或仅仅包括移植在可变结构域中适当的框架区上的互补决定区(CDR)。抗原-结合位点可以是野生型的或通过一个或多个氨基酸取代而被修饰。这消除了人个体中作为免疫原的恒定区,但是保留了对外源可变区的免疫应答的可能性(LoBuglio,A.F.等(1989)“Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody In Man:Kinetics And Immune Response,”Proc.Natl.Acad.Sci.(U.S.A.)86:4220-4224)。另一方法不仅仅关注提供源自人的恒定区,而且也修饰可变区,以便重塑它们而尽可能地接近人形式。已知重链和轻链二者的可变区都包含三个互补决定区(CDR),其响应讨论的抗原而变化并且决定结合能力,其侧翼是四个框架区(FR),所述框架区在给定的物种中是相对保守的并且推测为CDR提供支架。当针对特定的抗原制备非人抗体时,可通过在待修饰的人抗体中存在的FR上移植源自非人抗体的CDR而“重塑”或“人源化”可变区。下面的文章已经报道了该方法用于各种抗体:Sato,K.等(1993)Cancer Res 53:851-856.Riechmann,L.等(1988)“Reshaping Human Antibodies for Therapy,”Nature332:323-327;Verhoeyen,M.等(1988)“Reshaping Human Antibodies:Grafting An Antilysozyme Activity,”Science 239:1534-1536;Kettleborough,C.A.等(1991)“Humanization Of A Mouse Monoclonal Antibody By CDR-Grafting:The Importance Of Framework Residues On Loop Conformation,”

Protein Engineering 4:773-3783;Maeda,H.等(1991)“Construction Of Reshaped Human Antibodies With HIV-Neutralizing Activity,”Human Antibodies Hybridoma 2:124-134;Gorman,S.D.等(1991)“Reshaping A Therapeutic CD4Antibody,”Proc.Natl.Acad.Sci. (U.S.A.) 88:4181-4185;Tempest,P.R.等(1991)“Reshaping A Human Monoclonal Antibody To Inhibit Human Respiratory Syncytial Virus Infection in vivo,”Bio/Technology9:266-271;Co,M.S.等(1991)“Humanized Antibodies For Antiviral Therapy,”Proc.Natl.Acad.Sci. (U.S.A.) 88:2869-2873;Carter,P.等(1992)“Humanization Of An Anti-p185her2Antibody For Human Cancer Therapy,”Proc.Natl.Acad.Sci. (U.S.A.) 89:4285-4289;和Co,M.S.等(1992)“Chimeric And Humanized Antibodies With Specificity For The CD33Antigen,”J.Immunol.148:1149-1154。在一些实施方式中,人源化抗体保留所有的CDR序列(例如,包含所有六个来自小鼠抗体的CDR的人源化小鼠抗体)。在其他实施方式中,人源化抗体具有序列相对于初始抗体不同的一个或多个CDR(一个、两个、三个、四个、五个或六个)。

[0054] 已经描述了包括源自非人免疫球蛋白的抗原-结合位点的许多“人源化”抗体分子,包括具有啮齿动物或修饰的啮齿动物V区域和它们与人恒定结构域融合的缔合的互补决定区(CDR)的嵌合抗体(见,例如,Winter等(1991)“Man-made Antibodies,”Nature349:293-299;Lobuglio等(1989)“Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody In Man: Kinetics And Immune Response,”Proc.Natl.Acad.Sci. (U.S.A.) 86:4220-4224(1989); Shaw等(1987)“Characterization Of A Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody (17-1A)To A Colon Cancer Tumor-Associated Antigen,”J.Immunol.138:4534-4538;和Brown等(1987)“Tumor-Specific Genetically Engineered Murine/Human Chimeric Monoclonal Antibody,”Cancer Res.47:3577-3583)。其他参考文献描述了移植至人支架框架区(FR)上然后与适当的人抗体恒定结构域融合的啮齿动物CDR(见,例如,Riechmann,L.等(1988)“Reshaping Human Antibodies for Therapy,”Nature 332:323-327;Verhoeyen,M.等(1988)“Reshaping Human Antibodies:Grafting An Antilysozyme Activity,”Science 239:1534-1536;和Jones等(1986)“Replacing The Complementarity-Determining Regions In A Human Antibody With Those From A Mouse,”Nature 321:522-525)。另一参考文献描述了由重组修饰(veneered)的啮齿动物框架区支撑的啮齿动物CDR。见,例如,欧洲专利公开号519,596。这些“人源化”分子被设计,以使对啮齿动物抗人抗体分子的不利免疫应答最小化,所述不利免疫应答限制了这些部分在人接受者中治疗应用的持续时间和效力。也可使用人源化抗体的其他方法,其公开在以下文献中::Daugherty等(1991)“Polymerase Chain Reaction Facilitates The Cloning, CDR-Grafting,And Rapid Expression Of A Murine Monoclonal Antibody Directed Against The CD18Component Of Leukocyte Integrins,”Nucl.Acids Res.19:2471-2476 和美国专利号6,180,377、6,054,297、5,997,867和5,866,692。

[0055] 2. 双特异性抗体

[0056] 天然抗体仅仅能够结合一个表位种类(即,它们是“单特异性的”),但是它们可能结合该种类的多个拷贝(即,它们可展示二价或多价)。可通过产生可同时结合两个分开的和不同的抗原(或相同抗原的不同表位)的基于多特异性抗体的分子和/或通过产生对于相

同的表位和/或抗原具有更高价(即,大于两个结合位点)的基于抗体的分子而增强抗体的功能。

[0057] 已经开发了各种重组双特异性和三特异性抗体形式(见,例如,美国专利号8,277,806、6,994,853、6,551,592和6,171,586;美国专利公开号2010-0291112和2008-0057054;和PCT公开号W0 2013/070565、W0 2012/156430、W0 2012/009544、W0 2009/132876、W0 2009/018386、W0 2008/003116、W0 2008/003103、W0 2007/146968、W0 2006/072152、W0 2002/020039、W0 2000/018806、W0 1999/042597、W0 1998/006749和W0 1998/003670),其大部分使用连接体肽,以使抗体核心(IgA、IgD、IgE、IgG或IgM)与另外的表位-结合位点(例如,scFv、VL、VH等)融合,或在抗体核心中融合,或使多个表位-结合位点(例如两个Fab片段或scFv)彼此融合。可选形式使用连接体肽,以将表位-结合位点(例如,scFv、VL、VH等)融合至二聚化结构域,比如CH2-CH3结构域或可选的多肽(W0 2005/070966、W0 2006/107786A W0 2006/107617A、W0 2007/046893)。PCT公开号W0 2013/174873、W0 2011/133886和W0 2010/136172教导了三特异性抗体,其中CL和CH1结构域从它们各自的天然位置被转换,并且VL和VH结构域已经被多样化(W0 2008/027236、W0 2010/108127),以允许它们结合大于一种抗原。PCT公开号W0 2013/163427和W0 2013/119903公开了修饰CH2结构域,以包含包括结合结构域的融合蛋白加合物。PCT公开号W0 2010/028797、W02010028796和W0 2010/028795公开了重组抗体,其Fc结构域已经被另外的VL和VH结构域取代,以便形成三价结合分子。PCT公开号W0 2013/006544公开了多价Fab分子,其作为单多肽链被合成,并且然后进行蛋白水解,而产生异源二聚化结构。PCT公开号W0 2014/022540、W0 2013/003652、W0 2012/162583、W0 2012/156430、W0 2011/086091、W0 2007/075270、W0 1998/002463、W0 1992/022583和W0 1991/003493公开了添加另外的结合结构域或官能团至抗体或抗体部分(例如,添加另外的VL和VH结构域至抗体的轻链和重链,或添加异源融合蛋白或使多个Fab结构域彼此链接)。美国专利号7,695,936和专利公开2007/0196363涉及由两个抗体的重链形成的双特异性抗体,一个抗体具有被工程化至其重链的凸起和第二个抗体具有被工程化至其重链的互补的腔。相对于包含相同抗体的两条重链的单特异性的同种抗体,这类互补的“杵(knob)”和“臼(hole)”的存在被教导优选形成双特异性异种抗体(其具有每个这类抗体的一个重链),。

[0058] 3. 优选的Fc结构域

[0059] 两条重链的CH2和CH3结构域相互作用而形成Fc结构域,其是被细胞Fc受体(Fc γ R)识别的结构域。如本文所使用,术语“Fc结构域”用于限定IgG重链的C-末端区域。示例性人IgG1的CH2-CH3结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:1):

231 240 250 260 270
280
APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
290 300 310 320
330
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
340 350 360 370
[0060] 380
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
390 400 410 420
430
WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
440 447
ALHNHYTQKS LSLSPGX

[0061] 根据如Kabat中阐释的EU索引编号,其中X是赖氨酸(K)或不存在。

[0062] 示例性人IgG2的CH2-CH3结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:2):

231 240 250 260 270
280
APPVA-GPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVQFNWYVD
290 300 310 320 330
GVEVHNAKTK PREEQFNSTF RVVSVLTVVH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPA
340 350 360 370 380
[0063] PIEKTISKTK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDISVE
390 400 410 420 430
WESNGQPENN YKTTTPMLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
440 447
ALHNHYTQKS LSLSPGX

[0064] 根据如Kabat中阐释的EU索引编号,其中,X是赖氨酸(K)或不存在。

[0065] 示例性人IgG3的CH2-CH3结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:3):

231 240 250 260 270 280
APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVQFKWYVD
290 300 310 320 330
[0066] GVEVHNAKTK PREEQYNSTF RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
340 350 360 370 380
PIEKTISKTK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
390 400 410 420 430
[0067] WESSGQPENN YNTTPMLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NIFSCSVMHE
440 447
ALHNRFTQKS LSLSPGX

[0068] 根据如Kabat中阐释的EU索引编号,其中,X是赖氨酸(K)或不存在。

[0069] 示例性人IgG4的CH2-CH3结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:4):

	231	240	250	260	270
	280				
	APEFLGGPSV	FLFPPKPKDT	LMISRTPEVT	CVVVDVSQED	PEVQFNWYVD
	290	300	310	320	330
	GVEVHNAKTK	PREEQFNSTY	RVVSVLTVLH	QDWLNGKEYK	CKVSNKGLPS
[0070]	340	350	360	370	380
	SIEKTISKAK	GQPREPQVYT	LPFSQEEMTK	NQVSLTCLVK	GFYPSDIAVE
	390	400	410	420	430
	WESNGQPENN	YKTPPVLDL	DGSFFLYSRL	TVDKSRWQEG	NVFSCSVMHE
	440	447			
	ALHNHYTQKS	LSSLGX			

[0071] 根据如Kabat中阐释的EU索引编号,其中,X是赖氨酸(K)或不存在。

[0072] 遍及本说明书,IgG重链的恒定区中残基的编号是如Kabat等,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第五版,Public Health Service,NH1,MD(1991)中EU索引的编号,其通过引用明确并入本文。“如Kabat中的EU索引”指人IgG1EU抗体的编号。来自免疫球蛋白的成熟的重链和轻链的可变区的氨基酸根据链中氨基酸的位置被命名。Kabat描述了抗体的许多氨基酸序列,鉴定了每个亚组的氨基酸共有序列,并且为每个氨基酸赋予了残基编号。通过参考保守氨基酸比对所讨论的抗体与Kabat中的共有序列之一,Kabat的编号方案可扩展至未包括在其纲要中的抗体。用于赋予残基编号的该方法已经成为本领域的标准并且容易鉴定在不同抗体,包括嵌合或人源化的变体中相同位置处的氨基酸。例如,在人抗体轻链50位的氨基酸占据与在小鼠抗体轻链的50位氨基酸等同的位置。

[0073] 尽管边界可能稍微不同,根据Kabat的EU编号系统,人IgG Fc结构域的CH2结构域通常从人IgG的氨基酸231延伸至氨基酸341。根据Kabat的EU编号系统,人IgG的CH3结构域通常从氨基酸342延伸至447。“铰链区”或“铰链结构域”通常定义为从人IgG1的Glu216延伸至Pro230。

[0074] 在抗体恒定区内的许多不同位置(例如,Fc位置,包括但不限于270、272、312、315、356和358位,如在Kabat阐释的EU索引编号)已经观察到了多态性,并且因此在呈现的序列和现有技术的序列之间可存在稍微不同。已经表征了多态形式的人免疫球蛋白。目前,18种Gm同种异型(allotype)是已知的:G1m(1、2、3、17)或G1m(a、x、f、z)、G2m(23)或G2m(n)、G3m(5、6、10、11、13、14、15、16、21、24、26、27、28)或G3m(b1、c3、b3、b0、b3、b4、s、t、g1、c5、u、v、g5)(Lefranc,等,The human IgG subclasses:molecular analysis of structure, function and regulation.Pergamon,Oxford,pp.43-78(1990);Lefranc,G.等,1979,Hum.Genet.:50,199-211)。特别考虑用于本发明方法的抗体可并入任何免疫球蛋白基因的任何同种异型、异同种异型(isoallotype)或单倍型(haplotype),并且不限于本文提供的序列的同种异型、异同种异型或单倍型。此外,在一些表达体系中,CH3结构域的C-末端氨基酸残基(上面粗体显示的)可在翻译后去除。因此,CH3结构域的C-末端残基是本发明提供的B7-H3结合分子和PD-1结合分子中的任选的氨基酸残基。本发明具体考虑缺少CH3结构域的C-末端残基的这类结合分子。本发明也具体考虑包括CH3结构域的C-末端赖氨酸残基的这类结合分子。

[0075] 当存在时,CH1结构域和/或铰链区可以是任何同种型(例如,IgG1、IgG2、IgG3或

IgG4),但是优选地是与期望的Fc结构域相同的同种型。

[0076] 示例性人IgG1CH1结构域的氨基酸序列是 (SEQ ID NO:8):

ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS

[0077] WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT

YICNVNHNKPS NTKVDKRV

[0078] 示例性人IgG2CH1结构域的氨基酸序列是 (SEQ ID NO:60):

ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS

[0079] WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT

YTCNVNHNKPS NTKVDKTV

[0080] 示例性人IgG4CH1结构域的氨基酸序列是 (SEQ ID NO:61):

ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS

[0081] WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT

YTCNVNHNKPS NTKVDKRV

[0082] IgG4CH1结构域和稳定化的铰链的氨基酸序列 (SEQ ID NO:16) 显示在下方。

ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS

[0083] WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT

YTCNVNHNKPS NTKVDKRVES KYGPPCPPCP

[0084] 示例性人IgG1铰链区的氨基酸序列是 (SEQ ID NO:10):EPKSCDKTHTCPPCP

[0085] 示例性人IgG2铰链区的氨基酸序列是 (SEQ ID NO:62):

[0086] ERKCCVECPPERKCCVECP

[0087] 示例性人IgG4铰链区的氨基酸序列是 (SEQ ID NO:11):ESKYGPPCPSCP

[0088] 在它们与Fc结构域连接之后,通过Fc γ 受体 (Fc γ Rs) 转导激活和抑制信号。这些完全相反的功能源自不同受体同等型 (isoform) 之间的结构差异。受体的胞质信号传导结构域中的两个不同的结构域——称为基于免疫受体酪氨酸的激活基序 (ITAMs) 或基于免疫受体酪氨酸的抑制基序 (ITIMs) ——是造成不同应答的原因。募集不同胞质酶到这些结构中控制了Fc γ R-介导的细胞应答的结果。含有ITAM的Fc γ R复合物包括Fc γ RI、Fc γ RIIA、Fc γ RIIIA,然而,含ITIM的复合物仅包括Fc γ RIIB。人嗜中性粒细胞表达Fc γ RIIA基因。通过免疫复合物或特异性抗体交联的Fc γ RIIA聚类用于使ITAM与促进ITAM磷酸化的受体相关的激酶聚集。ITAM磷酸化充当Syk激酶的停泊位点,Syk激酶的激活导致下游底物 (例如,PI3K) 的激活。细胞激活导致促炎性介质的释放。Fc γ RIIB基因在B淋巴细胞上表达;其细胞外结构域与Fc γ RIIA是96%一致的,并且以不能区分的方式结合IgG复合物。ITIM在Fc γ RIIB的胞质结构域中的存在限定了Fc γ R的这种抑制性亚类。最近,确定了这种抑制的分子基础。当与激活Fc γ R共连接时,Fc γ RIIB中的ITIM变成磷酸化的,并且吸引肌醇聚磷酸盐

5'-磷酸酶 (SHIP) 的SH2结构域,肌醇聚磷酸盐5'-磷酸酶 (SHIP) 水解由于含ITAM的Fc γ R介导的酪氨酸激酶激活而释放的磷酸肌醇信使,从而防止细胞内Ca⁺⁺的流入。因此,Fc γ RIIB的交联抑制对Fc γ R连接的激活应答并抑制细胞应答。B-细胞激活、B-细胞增殖和抗体分泌因此被中止。另外,与新生Fc受体 (FcRn) 的相互作用介导了IgG分子从内体至细胞表面的再循环并且释放至血液中。

[0089] Fc结构域的修饰通常导致改变的表型,例如改变的血清半衰期、改变的稳定性、改变的对细胞酶的敏感性或改变的效应子功能。针对效应子功能,可期望修饰用于本发明方法的B7-H3-结合分子和/或PD-1-结合分子(例如,抗B7-H3和抗PD-1抗体)的Fc结构域,以便增强抗体治疗例如癌症的效力。在某些情况下,例如在抗体的作用机制涉及阻断或对抗,但是不杀死携带靶抗原的细胞的情况下,期望减少或消除效应子功能。当被引导至非期望的细胞,比如其中Fc γ Rs以低水平表达的肿瘤和外源细胞时,,例如,具有低水平Fc γ RIIB的肿瘤特异性B细胞(例如,非霍奇金淋巴瘤、CLL和伯基特淋巴瘤),通常期望增加效应子功能。

[0090] 用于本发明方法的B7-H3-结合分子和/或PD-1-结合分子(例如,抗B7-H3和抗PD-1抗体)的Fc结构域可以是完整的Fc结构域(例如,完整的IgG Fc结构域)或仅仅是完整Fc结构域的片段。因此,用于本发明方法的、包含这类结构域的分子的Fc结构域可包括完整的Fc结构域的一些或所有的CH2结构域和/或一些或所有的CH3结构域,或可包括变异的CH2和/或变异的CH3序列(其可包括,例如,相对于完整的Fc结构域的CH2或CH3结构域的一个或多个插入和/或一个或多个缺失)。这类Fc结构域可包括非Fc多肽部分,或可包括非天然产生的完整的Fc结构域的部分,或可包括非天然产生的取向的CH2和/或CH3结构域(比如,例如,两个CH2结构域或两个CH3结构域,或在N-末端至C-末端方向上,与CH2结构域连接的CH3结构域等)。尽管B7-H3-结合分子和/或PD-1-结合分子的Fc结构域可具有结合一个或多个Fc受体(例如,Fc γ R(一个或多个))的能力,更优选地,这类Fc结构域将导致与Fc γ RIA (CD64)、Fc γ RIIA (CD32A)、Fc γ RIIB (CD32B)、Fc γ RIIIA (CD16a) 或Fc γ RIIIB (CD16b) 改变的结合(相对于野生型Fc结构域展示的结合)或基本上消除这类Fc结构域与一个或多个Fc γ R(例如,抑制性受体)结合的能力。

[0091] 在某些实施方式中,用于本发明方法的分子可包括变异的Fc结构域,其具有对于激活性和/或抑制性Fc γ 受体改变的亲和力。在一个实施方式中,分子包括变异的Fc结构域,相对于具有野生型Fc结构域的可比较分子,其具有对于Fc γ RIIB增加的亲和力和对于Fc γ RIIIA和/或Fc γ RIIA降低的亲和力。在另一实施方式中,用于本发明方法的分子包括变异的Fc结构域,其相对于具有野生型Fc结构域的比较分子具有对于Fc γ RIIB降低的亲和性和对于Fc γ RIIIA和/或Fc γ RIIA增加的亲和性。在仍另一实施方式中,用于本发明方法的分子包括变异的Fc结构域,其相对于具有野生型Fc结构域的可比较分子具有对于Fc γ RIIB降低的亲和力和对于Fc γ RIIIA和/或Fc γ RIIA降低的亲和力。在仍另一实施方式中,用于本发明方法的分子包括变异的Fc结构域,其相对于具有野生型Fc结构域的可比较分子具有对于Fc γ RIIB不变的亲和力和对于Fc γ RIIIA和/或Fc γ RIIA降低的(或增加的)亲和力。

[0092] 在某些实施方式中,用于本发明方法的分子包括变异的Fc结构域,其具有对于Fc γ RIIIA和/或Fc γ RIIA改变的亲和力,以便免疫球蛋白具有增强的效应子功能。效应细胞

功能的非限制性例子包括抗体依赖性细胞介导的细胞毒性、抗体依赖性吞噬、吞噬、调理作用、调理吞噬、细胞结合、玫瑰花结 (rosetting)、C1q结合和补体依赖性细胞介导的细胞毒性。

[0093] 变异的Fc结构域是本领域熟知的,并且任何已知的变异的Fc结构域可用于本发明,以赋予或修饰包括Fc结构域(或其部分)的分子展示的效应子功能,如在例如NK依赖性或巨噬细胞依赖性试验中功能测试的。例如,鉴定为改变效应子功能的Fc结构域变体公开在PCT公开号W0 04/063351、W0 06/088494、W0 07/024249、W0 06/113665、W0 07/021841、W0 07/106707;和W0 2008/140603中,并且其中公开的任何适当的变体可用在本发明的分子中。

[0094] 表4列举了示例性单、双、三、四和五Fc结构域突变。

[0095]

表 4			
优选的激活性 Fc 结构域的变异			
单位点变异			
F243L	R292G	D270E	R292P
Y300L	P396L		
双位点变异			
F243L 和 R292P	F243L 和 Y300L	F243L 和 P396L	R292P 和 Y300L
D270E 和 P396L	R292P 和 V305I	P396L 和 Q419H	P247L 和 N421K
R292P 和 P396L	Y300L 和 P396L	R255L 和 P396L	R292P 和 P305I
K392T 和 P396L			
三位点变异			
F243L、P247L 和 N421K		P247L、D270E 和 N421K	

[0096]

表 4	
优选的激活性 Fc 结构域的变异	
F243L、R292P 和 Y300L	R255L、D270E 和 P396L
F243L、R292P 和 V305I	D270E、G316D 和 R416G
F243L、R292P 和 P396L	D270E、K392T 和 P396L
F243L、Y300L 和 P396L	D270E、P396L 和 Q419H
V284M、R292L 和 K370N	R292P、Y300L 和 P396L
四位点变异	
L234F、F243L、R292P 和 Y300L	F243L、P247L、D270E 和 N421K
L234F、F243L、R292P 和 Y300L	F243L、R255L、D270E 和 P396L
L235I、F243L、R292P 和 Y300L	F243L、D270E、G316D 和 R416G
L235Q、F243L、R292P 和 Y300L	F243L、D270E、K392T 和 P396L
P247L、D270E、Y300L 和 N421K	F243L、R292P、Y300L 和 P396L
R255L、D270E、R292G 和 P396L	F243L、R292P、V305I 和 P396L
R255L、D270E、Y300L 和 P396L	F243L、D270E、P396L 和 Q419H
D270E、G316D、P396L 和 R416G	
五位点变异	
L235V、F243L、R292P、Y300L 和 P396L	F243L、R292P、V305I、Y300L 和 P396L
L235P、F243L、R292P、Y300L 和 P396L	

[0097] 尤其优选的变体包括一个或多个修饰,所送修改选自组A-AI:

[0098]

A	228E、228K、228Y 或 228G;
B	230A、230E、230Y 或 230G;
C	231E、231K、231Y、231P 或 231G;
D	232E、232K、232Y、232G;
E	233D;
F	234I 或 234F;
G	235D、235Q、235P、235I 或 235V;
H	239D、239E、239N 或 239Q;
I	240A、240I、240M 或 240T;
J	243R、243、243Y、243L、243Q、243W、243H 或 243I;
K	244H;
L	245A;
M	247G、247V 或 247L;
N	262A、262E、262I、262T、262E 或 262F;
O	263A、263I、263M 或 263T;
P	264F、264E、264R、264I、264A、264T 或 264W;
Q	265F、265Y、265H、265I、265L、265T、265V、265N 或 265Q;
R	266A、266I、266M 或 266T;
S	271D、271E、271N、271Q、271K、271R、271S、271T、 271H、271A、271V、271L、271I、271F、271M、271Y、271W 或 271G;
T	273I;

[0099]

[0100]

U	275L 或 275W;
V	281D、281K、281Y 或 281P;
W	284E、284N、284T、284L、284Y or 284M;
X	291D、291E、291Q、291T、291H、291I 或 291G;
Y	299A、299D、299E、299F、299G、299H、299I、299K、 299L、299M、299N、299P、299Q、299R、299S、299V、299W 或 299Y;
Z	302I;
AA	304D、304N、304T、304H 或 304L
AB	305I;
AC	313F;
AD	323I;
AE	325A、325D、325E、325G、325H、325I、325L、325K、 325R、325S、325F、325M、325T、325V、325Y、325W 或 325P;
AF	328D、328Q、328K、328R、328S、328T、328V、328I、 328Y、328W、328P、328G、328A、328E、328F、328H、328M 或 328N;
AG	330L、330Y、330I 或 330V;
AH	332A、332D、332E、332H、332N、332Q、332T、332K、 332R、332S、332V、332L、332F、332M、332W、332P、332G 或 332Y; 和

[0101]

AI	336E、336K 或 336Y
----	------------------

[0102] 仍更尤其优选的变体包括选自组1-105中的一个或多个修饰:

[0103]

组	变体	组	变体
1	A330L / I332E	54	S239D / D265L / N297D / I332E
2	D265F / N297E / I332E	55	S239D / D265T / N297D / I332E
3	D265Y / N297D / I332E	56	S239D / D265V / N297D / I332E
4	D265Y / N297D / T299L / I332E	57	S239D / D265Y / N297D / I332E
5	F241E / F243Q / V262T / V264F	58	S239D / I332D
6	F241E / F243Q / V262T / V264E / I332E	59	S239D / I332E
7	F241E / F243R / V262E / V264R	60	S239D / I332E / A330I
8	F241E / F243R / V262E / V264R / I332E	61	S239D / I332N
9	F241E / F243Y / V262T / V264R	62	S239D / I332Q
10	F241E / F243Y / V262T / V264R / I332E	63	S239D / N297D / I332E
11	F241L / F243L / V262I / V264I	64	S239D / N297D / I332E / A330Y
12	F241L / V262I	65	S239D / N297D / I332E / A330Y / F241S / F243H / V262T / V264T
13	F241R / F243Q / V262T / V264R	66	S239D / N297D / I332E / K326E
14	F241R / F243Q / V262T / V264R / I332E	67	S239D / N297D / I332E / L235D
15	F241W / F243W / V262A / V264A	68	S239D / S298A / I332E
16	F241Y / F243Y / V262T / V264T	69	S239D / V264I / A330L / I332E
17	F241Y / F243Y / V262T / V264T / N297D / I332E	70	S239D / V264I / I332E
18	F243L / V262I / V264W	71	S239D / V264I / S298A / I332E
19	P243L / V264I	72	S239E / D265N

[0104]

组	变体	组	变体
20	L328D / I332E	73	S239E / D265Q
21	L328E / I332E	74	S239E / I332D
22	L328H / I332E	75	S239E / I332E
23	L328I / I332E	76	S239E / I332N
24	L328M / I332E	77	S239E / I332Q
25	L328N / I332E	78	S239E / N297D / I332E
26	L328Q / I332E	79	S239E / V264I / A330Y / I332 E
27	L328T / I332E	80	S239E / V264I / I332 E
28	L328V / I332E	81	S239E / V264I / S298A / A330Y / I332E
29	N297D / A330Y / I332E	82	S239N / A330L / I332E
30	N297D / I332E	83	S239N / A330Y / I332E
31	N297D / I332E / S239D / A330L	84	S239N / I332D
32	N297D / S298A / A330Y / I 332E	85	S239N / I332E
33	N297D / T299L / I332E	86	S239N / I332N
34	N297D / T299F / I332E / N297D / T299H / I332E	87	S239N / I332Q
35	N297D / T299I / I332E	88	S239N / S298A / I332E
36	N297D / T299L / I332E	89	S239Q / I332D
37	N297D / T299V / I332E	90	S239Q / I332E
38	N297E / I332E	91	S239Q / I332N
39	N297S / I332E	92	S239Q / I332Q
40	P230A / E233D / I332E	93	S239Q / V264I / I332E
41	P244H / P245A / P247V	94	S298A / I332E
42	S239D / A330L / I332E	95	V264E / N297D / I332E
43	S239D / A330Y / I332E	96	V264I / A330L / I332E
44	S239D / A330Y / I332E / K326E	97	V264I / A330Y / I332E
45	S239D / A330Y / I332E / K326T	98	V264I / I332E
46	S239D / A330Y / I332E / L234I	99	V264I / S298A / I332E
47	S239D / A330Y / I332E / L235D	100	Y296D / N297D / I332E
48	S239D / A330Y / I332E / V240I	101	Y296E / N297D / I332 E
49	S239D / A330Y / I332E / V264T	102	Y296H / N297D / I332E

[0105]

组	变体	组	变体
50	S239D / A330Y / I332E / V266I	103	Y296N / N297D / I332E
51	S239D / D265F / N297D / I332E	104	Y296Q / N297I / I332E
52	S239D / D265H / N297D / I332E	105	Y296T / N297D / I332E
53	S239D / D265I / N297D / I332E		

[0106] 在尤其优选的实施方式中,本发明包括B7-H3-结合分子,其包括变异的Fc结构域,其中变体赋予或具有增加的ADCC活性和/或的与Fc γ RI IIA (CD16A) 增加的结合,并且也可具有与Fc γ RI IB (CD32B) 降低的结合。具有与CD16A增加的结合并且可另外具有与CD32B降低的结合的人IgG1Fc结构域的示例性变体包含L235V、F243L、R292P、Y300L、V305I或P296L取代。优选的B7-H3-结合分子包括变异的IgG1Fc结构域,其包括下述任何1、2、3、4、5或6个取代:L235V、F243L、R292P、Y300L、V305I和P396L。这些氨基酸取代可以以任何组合出现在人IgG1Fc结构域中。

[0107] 在一个实施方式中,B7-H3-结合分子将包括在Fc结构域中具有至少一个修饰的变异的Fc结构域。在某些实施方式中,变异的Fc结构域包括选自下述的至少一个取代:L235V、F243L、R292P、Y300L、V305I和P396L。

[0108] 在具体的实施方式中,变异的Fc结构域包括:

[0109] (A) 至少一个取代选自F243L、R292P、Y300L、V305I和P396L;

[0110] (B) 至少两个取代选自:

[0111] F243L和P396L;

[0112] F243L和R292P;和

[0113] R292P和V305I;

[0114] (C) 至少三取代选自:

[0115] F243L、R292P和Y300L;

[0116] F243L、R292P和V305I;

[0117] F243L、R292P和P396L;和

[0118] R292P、V305I和P396L;

[0119] (D) 至少四取代选自:

[0120] F243L、R292P、Y300L和P396L;和

[0121] F243L、R292P、V305I和P396L;或

[0122] (E) 至少五个取代选自:

[0123] F243L、R292P、Y300L、V305I和P396L;和

[0124] L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L。

[0125] 在另一具体的实施方式中,变异的Fc结构域包括下述取代:

[0126] (A) F243L、R292P和Y300L;

[0127] (B) L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L;或

[0128] (C) F243L、R292P、Y300L、V305I和P396L。

[0129] 在某些实施方式中,PD-1-结合分子包括变异的Fc结构域,其中相对于野生型Fc结构域(SEQ ID NO:1))展示的结合,变体赋予或具有降低的(或基本上没有)对Fc γ RIIIA(CD16a)的结合。

[0130] 具有降低的对Fc γ Rs的结合的人IgG1Fc结构域的示例性变体包含L234A、L235A、D265A、N297A或N297Q取代。优选的PD-1-结合分子包括变异的IgG1Fc结构域,其包括任何1、2、3、4或所有5个下述取代:L234A、L235A、D265A、N297A和N297Q。这些氨基酸取代可以以任何组合中出现在人IgG1Fc结构域中。

[0131] 在一个实施方式中,PD-1-结合分子将包括变异的Fc结构域,其在Fc结构域中具有至少一个修饰。在某些实施方式中,变异的Fc结构域包括选自下述的至少一个取代:L234A、L235A、D265A和N297Q。因为L234A、L235A、D265A、N297A和N297Q取代消除效应子功能,所以在期望效应子功能的情况下,优选地不采用这些取代。

[0132] 在具体的实施方式中,变异的Fc结构域包括下述取代:

[0133] L234A、L235A;

[0134] D265A;

[0135] N297A;或

[0136] N297Q。

[0137] 用于本发明方法的PD-1结合分子的CH2和CH3结构域的优选IgG1序列具有L234A/L235A取代(SEQ ID NO:5):

[0138] APEAAGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED
PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH
QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT
LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN
YKTTTPFVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSPGX

[0139] 其中,X是赖氨酸(K)或不存在。

[0140] 在尤其优选的实施方式中,用于本发明方法的包含Fc结构域的PD-1结合分子的CH2-CH3结构域可以是固有地展示对Fc γ RIIIA(CD16a)降低的(或基本上没有)结合和/或降低的效应子功能(相对于野生型IgG1Fc结构域(SEQ ID NO:1)展示的结合)的CH2-CH3结构域。例如,用于本发明方法的包含Fc结构域的PD-1-结合分子的CH2-CH3结构域可以是IgG2Fc结构域或IgG4Fc结构域。

[0141] 在优选的实施方式中,用于本发明方法的PD-1-结合分子包括IgG4Fc结构域。在使用IgG4Fc结构域的情况下,本发明也包括引入稳定化的铰链突变,比如S228P(例如,ESKYGP^{PC}PCP(SEQ ID NO:12)),如在Kabat中阐释的EU索引编号(Lu等,(2008)“The Effect Of A Point Mutation On The Stability Of IgG4s Monitored By Analytical Ultracentrifugation,”J.Pharm.Sci.97:960-969),以降低链交换的发生率。本领域已知的其他稳定化突变可被引入到IgG4Fc结构域中(Peters,P等,(2012)“Engineering an Improved IgG4Molecule with Reduced Disulfide Bond Heterogeneity and Increased

Fab Domain Thermal Stability,” J. Biol. Chem., 287:24525-24533; PCT 专利公开号 W0 2008/145142)。另外,如上所述,当存在时,CH1 结构域和/或铰链优选地与期望的 Fc 结构域属于相同的同种型。因此,在这样的实施方式中,PD-1-结合分子(例如抗体)包括 IgG4CH1 (见,例如,SEQ ID NO:9)、稳定化的 IgG4 铰链(见,例如,SEQ ID NO:12)和 IgG4CH2-CH3 结构域(见,例如,SEQ ID NO:4)。

[0142] 可通过增加 Fc 结构域对 FcRn 的结合亲和力而延长包括 Fc 结构域的蛋白质的血清半衰期。如本文使用的术语“半衰期”意思是分子的药物代谢动力学性质,是对在其施用之后分子的平均生存时间的衡量。半衰期可表示为从受试者的身体(例如,人患者或其他哺乳动物)或其特定区室消除百分之五十(50%)的已知量的分子需要的时间,例如,如在血清中测量的,即,循环半衰期,或在其他组织中测量的。一般而言,施用的分子的半衰期的增加导致分子在循环中的平均停留时间(MRT)的增加。

[0143] 在一些实施方式中,用于本发明方法的 B7-H3-结合分子和/或 PD-1-结合分子包括变异的 Fc 结构域,其中变异的 Fc 结构域相对于野生型 Fc 结构域包括至少一个氨基酸修饰,使得分子具有延长的半衰期(相对于野生型 Fc 结构域的半衰期而言)。

[0144] 在一些实施方式中,用于本发明方法的 B7-H3-结合分子和/或 PD-1-结合分子包括变异的 Fc 结构域,其中变异的 Fc 结构域在选自下述的一个或多个位置处包括延长半衰期的氨基酸取代:238、250、252、254、256、257、256、265、272、286、288、303、305、307、308、309、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424、428、433、434、435 和 436。能够延长包含 Fc 结构域的分子的半衰期的许多具体突变是本领域已知的,其包括,例如 M252Y、S254T、T256E 和其组合。例如,见下述文献中描述的突变:美国专利号 6,277,375、7,083,784、7,217,797、8,088,376;美国公开号 2002/0147311、2007/0148164;和国际公开号 W0 98/23289、W02009/058492;和 W0 2010/033279,其通过引用以它们整体并入本文。具有延长半衰期的包含 Fc 结构域的分子也包括在两个或更多个 Fc 结构域残基处具有取代的那些:250、252、254、256、257、288、307、308、309、311、378、428、433、434、435 和 436。尤其地,两个或更多个取代选自:T250Q、M252Y、S254T、T256E、K288D、T307Q、V308P、A378V、M428L、N434A、H435K、Y436I。

[0145] 在具体的实施方式中,变异的 Fc 结构域包括下述取代:

[0146] M252Y、S254T 和 T256E;

[0147] M252Y 和 S254T;

[0148] M252Y 和 T256E;

[0149] T250Q 和 M428L;

[0150] T307Q 和 N434A;

[0151] A378V 和 N434A;

[0152] N434A 和 Y436I;

[0153] V308P 和 N434A;或

[0154] K288D 和 H435K。

[0155] 本发明进一步包括的变异的 Fc 结构域,其包括:

[0156] (A) 改变效应子功能和/或 Fc γ R 的一个或多个突变;和

[0157] (B) 延长血清半衰期的一个或多个突变。

[0158] 用于本发明方法的B7-H3-结合分子和/或PD-1-结合分子的两条包含Fc结构域的相互作用的多肽链的CH2-CH3结构域的两个CH2和/或两个CH3结构域不需要序列一致,并且有利地被修饰而有助于两条多肽链之间的复合(见,例如:W0 98/50431、W02007/110205、W02011/143545、W0 2012/058768、W0 2013/06867)。例如,氨基酸取代(优选以包括形成“杵”的大侧基的氨基酸例如色氨酸取代)可被引入CH2或CH3结构域中,以便空间干扰将防止与类似的突变结构域的相互作用并将迫使突变的结构域与其中互补或适应性突变已经被工程化的结构域——即“臼”(例如,用甘氨酸取代)——配对。这样的突变组可被工程化至本发明包含Fc结构域的B7-H3-结合分子和/或PD-1-结合分子的任何多肽中。蛋白质工程化以相对于同源二聚化利于异源二聚化的方法是本领域熟知的,尤其对于免疫球蛋白样分子的工程化而言,其包括在本文中(见例如,Ridgway等(1996)“‘Knobs-Into-Holes’ Engineering Of Antibody CH3 Domains For Heavy Chain Heterodimerization,” Protein Engr.9:617-621;Atwell等(1997)“Stable Heterodimers From Remodeling The Domain Interface Of A Homodimer Using A Phage Display Library,” J.Mol.Biol.270:26-35;和Xie等(2005)“A New Format Of Bi-specific Antibody: Highly Efficient Heterodimerization, Expression And Tumor Cell Lysis,” J.Immunol.Methods 296:95-101;其每一篇通过引用以其整体并入本文)。优选地“杵”被工程化至一条多肽链的CH2-CH3结构域中,并且“臼”被工程化至另一包含CH2-CH3的多肽链的CH2-CH3结构域中。因此,“杵”有助于防止第一多肽链经其CH2和/或CH3结构域而同源二聚化。CH2-CH3“具有臼的”多肽链将与CH2-CH3“具有杵的”多肽链异源二聚化,并且也与其本身同源二聚化。通过修饰天然IgG Fc结构域而包含修饰T366W产生优选的杵。通过修饰天然IgG Fc结构域而包含修饰T366S、L368A和Y407V产生优选的臼。为了有助于从优选的异源二聚体分子纯化“具有臼的”多肽链同源二聚体,“具有臼的”Fc结构域的CH2和CH3结构域的蛋白质A结合位点优选地通过在435位的氨基酸取代(H435R)而被突变。因此,“具有臼的”Fc结构域同源二聚体不结合蛋白质A,而用于本发明方法的包含Fc结构域的B7-H3-结合分子和/或PD-1-结合分子将保持其经第一多肽链上的蛋白质A结合位点而结合蛋白质A的能力。

[0159] 包含Fc结构域的B7-H3-结合分子和/或PD-1结合分子的优选的“具有杵的”序列具有序列(SEQ ID NO:6):

APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED

PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH

QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT

[0160]

LPPSREEMTK NQVSLWCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN

YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE

ALHNHYTQKS LSLSPGX

[0161] 其中,X是赖氨酸(K)或不存在。

[0162] 用于包含Fc结构域的B7-H3-结合分子和/或PD-1结合分子的优选的“具有臼的”序

列具有序列 (SEQ ID NO:7) :

```

[0163]  APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED
          PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH
          QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT
          LPPSREEMTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN
[0164]  YKTTTPVLDS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
          ALHNRYTQKS LSLSPGX
```

[0165] 其中,X是赖氨酸(K)或不存在。

[0166] 本发明也包括这类CH₂-CH₃结构域,其包括另外的取代,其修饰如上面提供的Fc结构域的效应子功能和/或F γ R结合活性。本发明也包括这类CH₂-CH₃结构域,其进一步包括一个或多个延长半衰期的氨基酸取代。尤其地,本发明包括这类具有白的和这类具有杵的CH₂-CH₃结构域,其进一步包括M252Y/S254T/T256E取代。

[0167] B.B7-H3-结合分子

[0168] 本发明包括的特异性结合B7-H3的分子包括抗B7-H3抗体,其能够结合人B7-H3的连续的或不连续的(例如,构象)部分(表位),以及包括这类抗体的表位-结合位点的分子。在本发明的方法和组合物中使用的B7-H3-结合分子优选地也展示结合一个或多个非人物种,尤其是鼠科动物、啮齿动物、犬科动物和灵长类物种的B7-H3分子的能力。对于B7-H3特异性的抗体是已知的(见,例如,美国专利号7,527,969、7,666,424、7,718,774、7,737,258、7,740,845、8,148,154、8,216,570、8,414,892、8,501,471、8,779,098、8,802,091、9,062,110;美国专利公开号2013/0078234、2010/0143245;和PCT专利公开W0 2004/001381、W0 2008/066691、W0 2008/116219、W0 2011/109400、W0 2012/147713,和表5)。另外期望的抗体可通过分离使用表达B7-H3的细胞;B7-H3或其肽片段引起的分泌抗体的杂交瘤而被制备。

[0169] 人B7-H3以“2Ig”形式和“4Ig”形式存在。人B7-H3的“2Ig”形式的氨基酸序列(包括29个氨基酸残基信号序列,加下划线显示)是(SEQ ID NO:17) :

MLRRRGSPGM GVHVGAALGA LWFCLTGALE VQVPEDPVVA
 LVGTDATLCC SFSPEPGFSL AQLNLIWQLT DTKQLVHSFA
 EGQDQGSAYA NRTALFPDLL AQGNASLRLQ RVRVADEGSF
 TCFVSIRDFG SAAVSLQVAA PYSKPSMTLE PNKDLRPGDT
 [0170] VTITCSSYRG YPEAEVFWQD GQGVPLTGNV TTSQMANEQG
 LFDVHSVLRV VLGANGTYSC LVRNPVLQQD AHGSVTITGQ
 PMTFPPEALW VTVGLSVCLI ALLVALAFVC WRKIKQSCEE
 ENAGAEDQDG EGEGSKTALQ PLKHSDSKED DGQEIA
 [0171] 人B7-H3的“2Ig”形式的氨基酸序列 (SEQ ID NO:17) 完全包括在人B7-H3的“4Ig”形式中 (SEQ ID NO:18, 29个氨基酸残基信号序列, 加下划线显示):
MLRRRGSPGM GVHVGAALGA LWFCLTGALE VQVPEDPVVA
 LVGTDATLCC SFSPEPGFSL AQLNLIWQLT DTKQLVHSFA
 EGQDQGSAYA NRTALFPDLL AQGNASLRLQ RVRVADEGSF
 TCFVSIRDFG SAAVSLQVAA PYSKPSMTLE PNKDLRPGDT
 VTITCSSYQG YPEAEVFWQD GQGVPLTGNV TTSQMANEQG
 LFDVHSILRV VLGANGTYSC LVRNPVLQQD AHSSVTITPQ
 [0172] RSPTGAVEVQ VPEDPVVALV GTDATLRCSF SPEPGFSLAQ
 LNLIWQLTDT KQLVHSFTEG RDQGSAYANR TALFPDLLAQ
 GNASLRLQRV RVADEGSFTC FVSIRDEGSA AVSLQVAAPY
 SKPSMTLEPN KDLRPGDTVT ITCSSYRGYP EAEVFWQDQG
 GVPLTGNVTT SQMANEQGLF DVHSVLRVVL GANGTYSCLV
 RNPVLQQDAH GSVTITGQPM TFPPEALWVT VGLSVCLIAL
 LVALAFVCWR KIKQSCEEEN AGAEDQDGEG EGSKTALQPL
 [0173] KHSDSKEDDG QEIA

[0174] 优选的抗B7-H3-结合分子具有抗人B7-H3单克隆抗体“BRCA84D”、“BRCA69D”、“PRCA1”或表5中提供的任何抗B7-H3抗体的VL和/或VH结构域；并且更优选地具有这类抗B7-H3单克隆抗体的VL区域的1、2或所有3个CDRL和/或VH结构域的1、2或所有3个CDRH。尤其优选的是B7-H3-结合分子，其具有人源化的VH和/或VL结构域。这类优选的B7-H3-结合分子包括具有变异的Fc结构域的抗体、双特异性(或多特异性)抗体、嵌合抗体或人源化抗体等

[0175] 1. BRCA84D

[0176] BRCA84D的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:19)显示在下方(CDRL残基加下划线显示)。

DIAMTQSQKF MSTSVGDRVS VTCKASQNVDTNVAWYQQKP GQSPKALIYS
[0177] ASYRYSGVDPD RFTGSGSGTD FTLTINNVQS EDLAEYFCQQ YNNYPFTFGS
GTKLEIK

[0178] BRCA84D的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:20)显示在下方(CDRH残基加下划线显示)。

DVQLVESGGG LVQPFGSRKL SCAASGFTFS SFGMHWVRQA PEKGLEWVAY
[0179] ISSDSSAIYY ADTVKGRFTI SRDNPKNLTF LQMTSLRSED TAMYYCGRGR
ENIYYGSRLD YWGQGTTLTV SS

[0180] a. hBRCA84D

[0181] 下面提供了本文命名为“hBRCA84D VL1”、“hBRCA84D VL2”、“hBRCA84D VL3”、“hBRCA84D VL4”、“hBRCA84D VL5”、“hBRCA84D VL6”的BRCA84D的六个示例性人源化VL结构域，和本文命名为“hBRCA84D VH1”、“hBRCA84D VH2”、“hBRCA84D VH3”和“hBRCA84D VH4”的BRCA84D的四个示例性人源化的VH结构域。任何人源化VL结构域可与任何人源化的VH结构域配对，以产生B7-H3结合结构域。因此，包括与人源化的VH结构域配对的人源化VL结构域之一的任何抗体通常称为“hBRCA84D”，并且人源化VH/VL结构域的具体组合通过参考具体的VH/VL结构域而被提及，例如包括hBRCA84D VH1和hBRCA84D VL2的人源化抗体具体称为“hBRCA84D(1.2)”。

[0182] hBRCA84D VL1的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:21)显示在下方(CDRL残基加下划线显示)。

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCKASQNVDTNVAWYQQKP GKAPKLLIYS
[0183] ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNNYPFTFGQ
GTKLEIK

[0184] hBRCA84D VL2的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:22)显示在下方(CDRL残基加下划线显示)。

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCKASQNVDTNVAWYQQKP GKAPKALIYS
[0185] ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNNYPFTFGQ
GTKLEIK

[0186] hBRCA84D VL3的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:23)显示在下方(CDRL残基加下划线显示)。

DIQLTQSPSF LSASVGDRVS VTCKASQNVDTNVAWYQQKP GKAPKLLIYS
[0187] ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNNYPFTFGQ
GTKLEIK

[0188] hBRCA84D VL4的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:24)显示在下方(CDR_L残基加下划线显示)。

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCKASQNVDTNVAWYQOKP GQAPKLLIYS
[0189] ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQ YNNYPFTFGG
GTKLEIK

[0190] hBRCA84D VL5的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:25)显示在下方(CDR_L残基加下划线显示)。

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCKASQNVDTNVAWYQOKP GQAPKALIYS
[0191] ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQ YNNYPFTFGG
GTKLEIK

[0192] hBRCA84D VL6的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:26)显示在下方(CDR_L残基加下划线显示)。

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCKASQNVDTNVAWYQOKP GKAPKLLIYS
[0193] ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFAEYYCQQ YNNYPFTFGG
GTKLEIK

[0194] hBRCA84D VH1的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:27)显示在下方(CDR_H残基加下划线显示)。

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SFGMHWVRQA PGKGLEWVAY
[0195] ISSDSSAIYY ADTVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRDED TAVYYCARGR
ENIYYGSRLD YWGQGTTVTV SS

[0196] hBRCA84D VH2的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:28)显示在下方(CDR_H残基加下划线显示)。

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SFGMHWVRQA PGKGLEWVAY
[0197] ISSDSSAIYY ADTVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRDED TAVYYCGRGR
ENIYYGSRLD YWGQGTTVTV SS

[0198] hBRCA84D VH3的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:29)显示在下方(CDR_H残基加下划线显示)。

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SFGMHWVRQA PGKGLEWVAY
[0199] ISSDSSAIYY ADTVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRDED TAVYYCGRGR
ENIYYGSRLD YWGQGTTVTV SS

[0200] hBRCA84D VH4的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:30)显示在下方(CDR_H残基加下划线显示)。

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SFGMHWVRQA PGKGLEWVAY
[0201] ISSDSSAIYY ADTVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRSED TAVYYCARGR
ENIYYGSRLD YWGQGTTVTV SS

[0202] 2.BRCA69D

[0203] BRCA69D的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:31)显示在下方(CDR_L残基加下划线显示)。

DIQMTQTSS LSASLGDRVT ISCRASQDIS NYLNWYQOKP DGTVKLLIYY
[0204] TSRLHSGVPS RFSGSGSGTD YSLTIDNLEQ EDIATYFCQQ GNTLPPTFGG
GTKLEIK

[0205] BRCA69D的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:32)显示在下方(CDR_H残基加下划线显示)。

QVQLQQSGAE LARPGASVKL SCKASGYTFT SYWMQWVKQR PGQGLEWIGT
[0206] IYPGDGDTRY TQKFKGKATL TADKSSSTAY MQLSSLASED SAVYYCARRG
IPRLWYFDVW GAGTTVTVSS

[0207] a.hBRCA69D

[0208] 下面提供了本文命名为“hBRCA69D VL1”和“hBRCA69D VL2”的BRCA69D的两个示例性人源化VL结构域以及本文命名为“hBRCA69D VH1”和“hBRCA69D VH2”的BRCA69D的两个示例性人源化的VH结构域。注意,hBRCA69D VL2包括CDRL1和CDRL2中的氨基酸取代,并且hBRCA69D VH2包括CDRL2中的氨基酸取代。任何人源化VL结构域可与任何人源化的VH结构域配对,以产生B7-H3结合结构域。因此,包括与人源化VH结构域配对的人源化VL结构域之一的任何抗体通常称为“hBRCA69D”并且人源化VH/VL结构域的特定组合通过参考特定VH/VL结构域而被提及,例如包括hBRCA69D VH1和hBRCA69D VL2的人源化抗体具体称为“hBRCA69D(1.2)”。

[0209] hBRCA69D VL1的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:33)显示在下方(CDRL残基加下划线显示)。

DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCRASQDISNYLNWYQQKP GKAPKLLIYY
[0210] TSRLHSGVPS RPSGSGSGTD FTLTISSLQP EDIATYYCQQ GNTLPPTFGG
GTKLEIK

[0211] hBRCA69D VL2的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:34)显示在下方(CDRL残基加下划线显示)。

DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCRASQDIS SYLNWYQQKP GKAPKLLIYY
[0212] TSRLQSGVPS RPSGSGSGTD FTLTISSLQP EDIATYYCQQ GNTLPPTFGG
GTKLEIK

[0213] hBRCA69D VH1的VH结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:35)(CDR_H残基加下划线显示):

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYWMQWVRQA PGQGLEWMGT
[0214] IYPGDGDTRY TQKFKGRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG
IPRLWYFDVW GQGTTVTVSS

[0215] hBRCA69D VH2的VH结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:36)(CDR_H残基加下划线显示):

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYWMQWVRQA PGQGLEWMGT
[0216] IYPGGGDTRY TQKFGGRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG
IPRLWYFDVW GQGTTVTVSS

[0217] 3.PRCA157

[0218] PRCA157的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:37)显示在下方(CDR_H残基加下划线显示)。

DIQMTQSPAS LSVSVGETVT ITCRASESIY SYLAWYQQKQ GKSPQLLVYN
[0219] TKTLPEGVPS RPSGSGSGTQ FSLKINSLOP EDFGRYYCQH HYGTPPWTFG
GGTNLEIK

[0220] PRCA157的VH结构域的氨基酸序列 (SEQ ID NO:38) 显示在下方 (CDR_H残基加下划线显示)。

EVQQVESGGD LVKPGGSLKL SCAASGFTFS SYGMSWVRQT PDKRLEWVAT
 [0221] INSGGSNTYY PDSLKGRFTI SRDNAKNTLY LQMRSLKSED TAMYYCARHD
GGAMDYWGQG TSVTVSS

[0222] 4. 另外的抗B7-H3抗体

[0223] 可用于本发明的方法和组合物的另外的抗B7-H3抗体提供在表5中。

[0224]

表 5: 抗 B7-H3 抗体	
B7-H3 抗体	参考文献
LUCA1、BLA8、PA20 和 SKN2	美国专利号 7,527,969、8,779,098 和 PCT 专利公开 WO 2004/001381
M30、cM30、M30-H1-L1、M30-H1-L2、M30-H1-L3、M30-H1-L4、M30-H1-L5、M30-H1-L6、M30-H1-L7、M30-H4-L1、M30-H4-L2、M30-H4-L3 和 M30-H4-L4	美国专利公开 2013/0078234 和 PCT 专利公开 WO 2012/147713
8H9	美国专利号 7,666,424、7,737,258、

[0225]

	7,740,845、8,148,154、8,414,892、8,501,471、9,062,110、美国专利公开 2010/0143245 和 PCT 专利公开 WO 2008/116219
--	---

[0226] 5. 示例性抗B7-H3抗体

[0227] 在某些实施方式中,用于本发明的方法和组合物的B7-H3抗体包括上面提供的任何抗体的VL和VH结构域(例如,hBRCA84D、hBRCA69D、PRCA157或表5中任何抗B7-H3抗体的VL和VH结构域)、κCL结构域,以及(相对于野生型Fc结构域)具有增强的ADCC的变异的IgG1Fc结构域。在一个实施方式中,CH2-CH3结构域包括L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L取代(其中编号是根据如Kabat中的EU索引)。这类抗体将优选包括IgG1CH1结构域和铰链结构域。

[0228] κCL结构域的氨基酸序列 (SEQ ID NO:13) 显示在下方。

RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG
 [0229] NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK
 SFNRGEC

[0230] IgG1CH1结构域和铰链的氨基酸序列 (SEQ ID NO:14) 显示在下方。

ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
 [0231] HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHNKPS NTKVDKRVEP
 KSCDKTHTCP PCP

[0232] 包括L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L取代的IgG1CH2-CH3结构域的氨基酸序列 (SEQ ID NO:15) 显示在下方。

APELVGGPSV FLLPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PFEEQYNSTL RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
[0233] PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPLVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSPGK

[0234] 命名为“hBRCA84D-2”的示例性抗B7-H3抗体包括：具有BRCA84D VL2的VL结构域 (SEQ ID NO:22) 和κCL (SEQ ID NO:13) 的轻链和具有BRCA84D VH2的VH结构域 (SEQ ID NO:28)、IgG1CH1结构域和铰链 (SEQ ID NO:14) 的重链、和包括L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L取代 (SEQ ID NO:15) 的变异的IgG CH2-CH3结构域。

[0235] hBRCA84D-2的完整轻链的氨基酸序列 (SEQ ID NO:39) 显示在下方。

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCKASQNVN TNVAWYQQKP GKAPKALIYS
ASYRYSQVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNNYPFTFGQ
[0236] GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV
DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG
LSSPVTKSFN RGEK

[0237] hBRCA84D-2的完整重链的氨基酸序列 (SEQ ID NO:40) 显示在下方。

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SFGMHWRQA PGKGLEWVAY
ISSDSSAIYY ADTVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRDED TAVYYCGRGR
ENIYYGSRLD YWGQGTITVTV SSASTKGPSV FPLAPSSKST SGGTAALGCL
VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTPVSSSLGT
[0238] QTYICNVNHK PSNTKVDKRV EPKSCDKTHT CPPCPAPELV GGPSVFLPP
KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPPEEQ
YNSTLRVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE
PQVYTLPPSR EEMTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTP
LVLDSDGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP
GK

[0239] C.PD-1-结合分子

[0240] 本发明包括的特异性结合PD-1的分子包括能够结合人PD-1的连续的或不连续的 (例如, 构象) 部分 (表位) 的抗PD-1抗体, 和包括这类抗体的表位-结合位点的分子。本发明的方法和组合物中使用的PD-1-结合分子 (例如, 抗体) 将优选地也展示结合一个或多个非人物种, 尤其是鼠科动物、啮齿动物、犬科动物和灵长类物种的PD-1分子的能力。特异性针对PD-1的抗体是已知的 (见, 例如, 美国专利专利申请号62/198,867; 美国专利号5,952,136、7,488,802、7,521,051、8,008,449、8,088,905、8,354,509、8,552,154、8,779,105、8,900,587、9,084,776; PCT专利公开W0 2004/056875、W0 2006/121168、W0 2008/156712、W0 2012/135408、W0 2012/145493、W0 2013/014668、W0 2014/179664、W0 2014/194302和W0 2015/112800; 和表6)。可通过分离使用PD-1或其肽片段引起的分泌抗体的杂交瘤而制备另外期望的抗体。

[0241] 人PD-1 (包括20个氨基酸残基信号序列 (加下划线显示) 和268个氨基酸残基的成熟蛋白质) 具有氨基酸序列 (SEQ ID NO:41):

[0242] MQIPQAPWPFV VWAFLQLGWR PGWFLDSPDR PWNPTTFSPA LLVVTEGDNA
TETCSFSNTS ESFVLNWYRM SPSNQTDKLA AFPEDRSQPG QDCRFRTVL
PNGRDFHMSV VRARRNDSGT YLCGAISLAP KAQIKESLRA ELRVTERRAE
VPTAHFSPSP RPAGQFQTLV VGVVGGLLGS LVLLVWVLAV ICSRAARGTI
GARRTGQPLK EDPSAVPVFS VDYGELDFQW REKTPEPPVP CVPEQTEYAT
IVFPSGMGTS SPARRGSADG PRSAQPLRPE DGHCSWPL

[0243] 用于本发明的方法和组合物的优选的抗PD-1-结合分子(例如,抗体)具有下述抗体的VL和/或VH结构域:抗人PD-1单克隆抗体“PD-1mAb 1”(尼伏鲁单抗,CAS登记号:946414-94-4,也称为5C4、BMS-936558、ON0-4538、MDX-1106,并且作为**OPDIVO®**由Bristol-Myers Squibb售卖);“PD-1mAb 2”(派姆单抗,(之前称为兰罗利珠单抗(lambrolizumab)),CAS登记号:1374853-91-4,也称为MK-3475、SCH-900475并且作为**KEYTRUDA®**由Merck售卖);“PD-1mAb 3”(EH12.2H7;Dana Farber),“PD-1mAb 4”(匹地利珠单抗,CAS登记号:1036730-42-3也称为CT-011,CureTech),或表6中的任何抗PD-1抗体;并且更优选地具有这类抗PD-1单克隆抗体的VL区域的1、2或所有3个CDRL和/或VH结构域的1、2或所有3个CDRH。最近已经鉴定了可用于本发明的方法和组合物的、具有独特的结合特征的另外的抗PD-1抗体(见,美国专利专利申请号62/198,867)。尤其地,优选的是PD-1-结合分子,其具有下述抗体的人源化的VH和/或VL结构域:抗PD-1抗体“PD-1mAb 5”(hPD-1mAb 2,MacroGenics);“PD-1mAb 6”(hPD-1mAb 7,MacroGenics);“PD-1mAb 7”(hPD-1mAb 9,MacroGenics);或“PD-1mAb 8”(hPD-1mAb 15,MacroGenics);和更优选地具有这类人源化的抗PD-1单克隆抗体的VL区域的1、2或所有3个CDRL和/或VH结构域的1、2或所有3个CDRH。这类优选的抗PD-1-结合分子包括具有变异的Fc结构域的抗体、双特异性(或多特异性)抗体、嵌合抗体或人源化抗体等

[0244] 1.PD-1mAb 1

[0245] PD-1mAb 1的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:42)显示在下方(CDR_H残基加下划线显示)。

[0246] QVQLVESGGG VVQPGRSRLR DCKASGITFS NSGMHWVRQA PGKGLEWVAV
IWYDGSKRYY ADSVKGRETI SRDNSKNTLF LQMNSLRAED TAVYYCATND
DYWGQGTLVT VSS

[0247] PD-1mAb 1的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:43)显示在下方(CDR_L残基加下划线显示)。

[0248] EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SYLAWYQQKP GQAPRLLIYD
ASNRATGIPA RFSGSGSGTD FTLTISSLEP EDFAVYYCQQ SSNWPRTFGQ
GTKVEIK

[0249] 2.PD-1mAb 2

[0250] PD-1mAb 2的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:44)显示在下方(CDR_H残基加下划线显示)。

[0251] QVQLVQSGVE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NYMYWVRQA PGQGLEWMGG
INPSNGGTNF NEKFKNRVTL TTDSTTTAY MELKSLQFDD TAVYYCARRD
YRFDMGFDYW GQGTTVTVSS

[0252] PD-1mAb 2的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:45)显示在下方(CDR_L残基加下

划线显示)。

[0253] EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASKGVS TSGYSYLHWY QOKPGQAPRL
LIYLASYLES GVPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY YCQHSRDLPL
TEGGGTKVEI K

[0254] 3.PD-1mAb 3

[0255] PD-1mAb 3的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:46)显示在下方(CDR_H残基加下划线显示)。

[0256] QVQLQQSGAE LAKPGASVQM SCKASGYSFT SSWIHWVKQR PGQGLEWIGY
IYPSTGFTEY NQKFKDKATL TADKSSSTAY MQLSSLTSED SAVYYCARRWR
DSSGYHAMDY WGQGTSTVTVSS

[0257] PD-1mAb 3的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:47)显示在下方(CDR_L残基加下划线显示)。

[0258] DIVLTQSPAS LTVSLGQRAT ISCRASQSVS TSGYSYMHWY QOKPGQPPKL
LIKFGSNLES GIPARFSGSG SGTDFTLNIH PVEEDTATY YCQHSWEIPY
TEGGGTKLEI K

[0259] 4.PD-1mAb 4

[0260] PD-1mAb 4的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:48)显示在下方(CDR_H残基加下划线显示)。

[0261] QVQLVQSGSE LKKPGASVKI SCKASGYTFT NYGMNWVRQA PGQGLQWMGW
INTDSGESTY AEEFKGRFV SLDTSVNTAY LQITSLTAED TGMVFCVRVG
YDALDYWGQG TLVTVSS

[0262] PD-1mAb 4的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:49)显示在下方(CDR_L残基加下划线显示)。

[0263] EIVLTQSPSS LSASVGDRVIT ITCSARSSVS YMHWFQOKPG KAPKLWIYRT
SNLASGVPSR FSGSGSGTSY CLTINSLOPE DFATYYCQQR SSFPLTFGGG
TKLEIK

[0264] 5.PD-1mAb5

[0265] PD-1mAb 5的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:50)显示在下方(CDR_H残基加下划线显示)。

[0266] EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFVFS SFGMHWVRQA PGKGLEWVAY
ISSGMSISY ADTVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMNSLRTEG TALYYCASLS
DYFDYWGQGT TVTVSS

[0267] PD-1mAb 5的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:51)显示在下方(CDR_L残基加下划线显示)。

[0268] DVVMTQSPLS LPVTLGQPAS ISCRSSQSLV HSTGNTYLHW YLQKPGQSPQ
LLIYRVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCSQTTHVP
WTFGQGTKLE IK

[0269] 6.PD-1mAb 6

[0270] PD-1mAb 6的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:52)显示在下方(CDR_H残基加下划线显示)。

[0271] QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSFT SYWMNWVRQA PGQGLEWKGV
IHPDSETWL DQFKDRVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAREH
YGTSPFAYWG QGTLVTVSS

[0272] 其中X是I或A。

[0273] PD-1mAb 6的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:53)显示在下方(CDR_L残基加下划线显示)。

[0274] EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRAX₁ESVD NYGMSEFMNWF QOKPGQPPKL
 LIHAASNX₂GS GVPSRFGSGG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY FCQQSKEVPY
TFGGGTKVEI K

[0275] 其中:X₁是N或S和X₂是Q或R;或X₁是N和X₂是Q;或X₁是S和X₂是Q;或X₁是S和X₂是R。

[0276] 在具体的实施方式中,PD-1mAb 6包括:

[0277] (a) SEQ ID NO:52,其中X是I;和SEQ ID NO:53,其中X₁是N和X₂是Q;或

[0278] (b) SEQ ID NO:52,其中X是I;和SEQ ID NO:53,其中X₁是S和X₂是Q。

[0279] 7.PD-1mAb 7

[0280] PD-1mAb 7的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:54)显示在下方(CDR_H残基加下划线显示)。

[0281] EVQLVESGGG LX₁RPGGSLKL SCAASGFTFS SYLVX₂WVRQA
 PGKGLEWX₃AT ISGGGGNTYY SDSVKGRFTI SRDNAKNSLY
 LQMNSX₄RAED TATYYCARYG FDGAWFAYWG QGTLVTVSS

[0282] 其中X₁是V或A;X₂是S或G;X₃是V或T;X₄是L或A;X₁是V,X₂是S,X₃是V,和X₄是L;或X₁是A,X₂是G,X₃是T,和X₄是A。

[0283] PD-1mAb 7的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:55)显示在下方(CDR_L残基加下划线显示)。

[0284] DIQMTQSPFS LSASVGDRVT ITCRASENIY X₁YLAWYQQKF
 GKAPKLLIYX₂ AKTLAAGVPS RFGSGSGGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH
HYAVPWFFGQ
 GTKLEIK

[0285] 其中:X₁是S或N和X₂是N或D;或X₁是S和X₂是N;或X₁是N和X₂是D。

[0286] 在具体的实施方式中,PD-1mAb 7包括:

[0287] (a) SEQ ID NO:54,其中X₁是V,X₂是S,X₃是V,和X₄是L;和SEQ ID NO:55,其中X₁是S和X₂是N;或

[0288] (b) SEQ ID NO:54,其中X₁是A,X₂是G,X₃是T,和X₄是A;和SEQ ID NO:55,其中X₁是N和X₂是D。

[0289] 8.PD-1mAb 8

[0290] PD-1mAb 8的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:56)显示在下方(CDR_H残基加下划线显示)。

[0291] EVQLVESGGG LVRPGGSLRL SCAASGFTFS SYLISWVRQA PGKGLEWVAA
ISGGGADTYY ADSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TATYYCARRG
TYAMDYWGQG TLVTVSS

[0292] PD-1mAb 8的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:57)显示在下方(CDR_L残基加下

划线显示)。

[0293] DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASENIY NYLAWYQQKP GKAPKLLIYD
AKTLAAGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH HYAVPWTFGO
GTKLEIK

[0294] 9. 另外的抗PD-1抗体

[0295] 可在本发明的方法和组合物中使用的另外的抗PD-1抗体提供在表6中。

[0296]

表 6: 另外抗 PD-1 抗体

[0297]

PD-1 抗体	参考文献
PD1-17、PD1-28、PD1-33、PD1-35 和 PD1-F2	美国专利号 7,488,802、 7,521,051 8,088,905；和 PCT 专利公开 WO 2004/056875
17D8、2D3、4H1、5C4、4A11、7D3 和 5F4	美国专利号 8,008,449、 8,779,105、9,084,776、和 PCT 专利公开 WO 2006/121168
hPD-1.08A、hPD-1.09A、109A、K09A、 409A、h409A11、h409A16、h409A17、 密码子优化的 109A 和密码子优化的 409A	美国专利号 8,354,509、 8,900,587、5,952,136、和 PCT 专利公开 WO 2008/156712
1E3、1E8 和 1H3	美国专利公开 2014/0044738、 和 PCT 专利公开 WO 2012/145493
9A2、10B11、6E9、APE1922、 APE1923、APE1924、APE1950、 APE1963 和 APE2058	PCT 专利公开 WO 2014/179664

[0298]

表 6: 另外抗 PD-1 抗体	
PD-1 抗体	参考文献
GA1、GA2、GB1、GB6、GH1、A2、C7、H7、SH-A4、SH-A9、RG1H10、RG1H11、RG2H7、RG2H10、RG3E12、RG4A6、RG5D9、RG1H10-H2A-22-1S、RG1H10-H2A-27-2S、RG1H10-3C、RG1H10-16C、RG1H10-17C、RG1H10-19C、RG1H10-21C、和 RG1H10-23C2	美国专利公开 2014/0356363、和 PCT 专利公开 WO 2014/194302
H1M7789N、H1M7799N、H1M7800N、H2M7780N、H2M7788N、H2M7790N、H2M7791N、H2M7794N、H2M7795N、H2M7796N、H2M7798N、H4H9019P、H4xH9034P2、H4xH9035P2、H4xH9037P2、H4xH9045P2、H4xH9048P2、H4H9057P2、H4H9068P2、H4xH9119P2、H4xH9120P2、H4Xh9128p2、H4Xh9135p2、H4Xh9145p2、H4Xh8992p、H4Xh8999p、和 H4Xh9008p	美国专利公开 2015/0203579、和 PCT 专利公开 WO 2015/112800

[0299]

表 6: 另外抗 PD-1 抗体	
PD-1 抗体	参考文献
PD-1 mAb 1、PD-1 mAb 2、hPD-1 mAb 2、PD-1 mAb 3、PD-1 mAb 4、PD-1 mAb 5、PD-1 mAb 6、PD-1 mAb 7、hPD-1 mAb 7、PD-1 mAb 8、PD-1 mAb 9、hPD-1 mAb 9、PD-1 mAb 10、PD-1 mAb 11、PD-1 mAb 12、PD-1 mAb 13、PD-1 mAb 14、PD-1 mAb 15 和 hPD-1 mAb 15	美国专利专利申请号 62/198,867

[0300] 10. 示例性PD-1抗体

[0301] 在某些实施方式中,可用于本发明的方法和组合物的PD-1抗体包括上面提供的任何抗体(例如,PD-1mAb 1、PD-1mAb 2、PD-1mAb 3、PD-1mAb 4、PD-1mAb 5、PD-1mAb 6、PD-1mAb 7、PD-1mAb 8或表6中的任何抗PD-1抗体)的VL和VH结构域、κCL结构域和IgG4Fc结构域,任选地缺少C-末端赖氨酸残基。这类抗体将优选地包括IgG4CH1结构域和铰链结构域,并且更优选地包括稳定化的IgG4铰链,其包括S228P取代(其中编号是根据Kabat中的EU索引)。

[0302] κCL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:13)已经提供在上方。

[0303] IgG4CH1结构域和稳定化的铰链的氨基酸序列(SEQ ID NO:16)已经提供在上方。

[0304] IgG4CH2-CH3结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:4)已经提供在上方。

[0305] 命名为“PD-1mAb 6-ISQ”的示例性抗PD-1抗体包括:具有PD-1mAb 6的VL结构域(SEQ ID NO:53),其中X₁是S和X₂是Q,和κCL(SEQ ID NO:13)的轻链;和重链,其具有PD-1mAb 6的VH结构域(SEQ ID NO:52),其中X₁是I、IgG4CH1结构域、稳定化的IgG 4铰链(SEQ ID NO:16)和IgG4CH2-CH3结构域(SEQ ID NO:4)。

[0306] PD-1mAb 6-ISQ的完整轻链的氨基酸序列(SEQ ID NO:58)显示在下方。

```
EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASESVD NYGMSFMNWF QOKPGQPPKL
LIHAASNQGS GVPSRFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY FCQQSKEVPY
TFGGGGTKVEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV
QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLT STLTLKADY EKHKVYACEV
THQGLSSPVT KSFNRGEC
```

[0307] PD-1mAb 6-ISQ的完整重链的氨基酸序列(SEQ ID NO:59)显示在下方。

QVOLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSFT SYWMNWVRQA FGOGLEWIGV
 IHPSDSETWL DQKFKDRVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAREH
 YGTSPFAYWG QGTLVTVSSA STKGFSVFPL APCSRSTSES TAALGCLVKD
 YFPEFVTVSW NSGALTSGVH TFFAVLQSSG LYSLSVVTIV PSSSLGTKTY
 [0309] TCNVDHKPSN TKVDKRVESK YGPPCPFPCA PEFLGGPSVF LFPPKPKDTL
 MISRTPEVTC VVVDVSQEDP EVQFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQFNSTYR
 VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNGKLPSS IEKTISKAKG QPREPQVYTL
 PPSQEEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTTPVLDSD
 GSFFLYSRLT VDKSRWQEGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSLG

[0310] 另一示例性抗PD-1抗体是PD-1mAb 1(尼伏鲁单抗),其是人抗体,包括:具有VL结构域(SEQ ID NO:43)和κCL结构域(见例如,SEQ ID NO:13)的轻链;和具有VH结构域(SEQ ID NO:42)、IgG4CH1结构域(见例如,SEQ ID NO:9)、稳定化的IgG4铰链(见例如,SEQ ID NO:12)和IgG4CH2-CH3结构域(见例如,SEQ ID NO:4)的重链。

[0311] 另一示例性抗PD-1抗体是PD-1mAb 2(派姆单抗),其是人源化抗体,包括:具有VL结构域(SEQ ID NO:45)和κCL结构域(见例如,SEQ ID NO:13)的轻链;和具有VH结构域(SEQ ID NO:44)、IgG4CH1结构域(见例如,SEQ ID NO:9)、稳定化的IgG4铰链(见例如,SEQ ID NO:12)和IgG4CH2-CH3结构域(见例如,SEQ ID NO:4)的重链。

[0312] D.产生方法

[0313] 本发明包括的B7-H3-结合分子和PD-1-结合分子可通过本领域已知的方法产生,例如,经合成或重组产生(见,例如,Kelley,R.F.等(1990),在以下中:Genetic Engineering Principles and Methods,Setlow,J.K.Ed.,Plenum Press,N.Y.,vol.12,pp 1-19;Stewart,J.M等(1984)Solid Phase Peptide Synthesis,Pierce Chemical Co.,Rockford,IL;也见美国专利号4,105,603、3,972,859、3,842,067和3,862,925;Merrifield,B.(1986)“Solid Phase Synthesis,”Science232(4748):341-347;Houghten,R.A.(1985)“General Method For The Rapid Solid-Phase Synthesis Of Large Numbers Of Peptides:Specificity Of Antigen-Antibody Interaction At The Level Of Individual Amino Acids,”Proc.Natl.Acad.Sci.(U.S.A.)82(15):5131-5135;Ganesan,A.(2006)“Solid-Phase Synthesis In The Twenty-First Century,”Mini Rev.Med.Chem.6(1):3-10)。

[0314] 可选地,可通过使用商业上可得的小鼠获得具有期望的抗B7-H3抗体和/或抗PD-1抗体的一个或多个CDR的适当的B7-H3-结合分子和/或PD-1-结合分子,所述小鼠已经被工程化以表达特定的人免疫球蛋白蛋白质。被设计以产生更期望的(例如,全人抗体)或更有力的免疫应答的转基因动物也可用于产生人源化的或人抗体。这类技术的例子是XENOMOUSE™(Abgenix,Inc.,Fremont,CA)和HuMAb-MOUSE®和TC MOUSE™(都来自Medarex,Inc.,Princeton,NJ)。

[0315] 在进一步可选的方法中,这类结合分子可经重组制备并使用本领域已知的任何方法被表达。可通过如下方法经重组制备抗体:首先分离从宿主动物制备的抗体、获得基因序列和使用基因序列在宿主细胞(例如,CHO细胞)中重组表达抗体。可采用的另一方法是在植物(例如,烟草)或转基因奶中表达抗体序列。已经公开了用于在植物或奶中重组表达抗体的合适的方法(见,例如,Peeters等(2001)“Production Of Antibodies And Antibody

Fragments In Plants,”Vaccine 19:2756;Lonberg,N.等(1995) “Human Antibodies From Transgenic Mice,”Int.Rev.Immunol 13:65-93;和Pollock等(1999) “Transgenic Milk As A Method For The Production Of Recombinant Antibodies,”J.Immunol Methods 231:147-157)。用于制备抗体衍生物,例如,人源化抗体、双特异性抗体、单链等的适当的方法是本领域已知的。在另一可选方案中,可通过噬菌体展示技术重组制备抗体(见,例如,美国专利号5,565,332、5,580,717、5,733,743、6,265,150;和Winter,G.等(1994) “Making Antibodies By Phage Display Technology,”Annu.Rev.Immunol.12.433-455)。

[0316] 可将包含编码感兴趣多肽的多核苷酸的载体通过任何许多适当的方式引入到宿主细胞中,所述适当的方式包括电穿孔;采用氯化钙、氯化铷、磷酸钙、DEAE-葡聚糖或其他物质的转染;微弹轰击(microprojectile bombardment);脂转染;和感染(例如,在载体是感染剂诸如牛痘病毒的情况下)。引入载体或多核苷酸的选择通常取决于宿主细胞的特征。

[0317] 能够过表达异源DNA的任何宿主细胞均可被使用,用于分离编码感兴趣的抗体、多肽或蛋白质的基因的目的。合适的哺乳动物宿主细胞的非的限制性实例包括但不限于COS、HeLa和CHO细胞。优选地,相比于宿主细胞中相应的感兴趣的内源抗体或蛋白质(如果存在),宿主细胞以约5-倍,更优选10-倍,甚至更优选20-倍的水平表达cDNA。针对免疫特异性结合cDNA表达的靶(例如,B7-H3或PD-1)筛选宿主细胞,可使用免疫试验或FACS实现。可鉴定过表达感兴趣的抗体或蛋白质的细胞。

[0318] 本发明包括这样的多肽,所述多肽包括本文提供的抗B7-H3抗体和/或抗PD-1-抗体的氨基酸序列(优选地表位结合结构域)。可通过本领域已知的程序制备本发明的多肽。可通过抗体的蛋白水解或其他降解、如上述的重组方法(即,单个或融合多肽)或化学合成来产生多肽。抗体的多肽,尤其地,上至约50个氨基酸的较短的多肽,通过化学合成被常规制备。

[0319] 本发明包括任何这类B7-H3-结合分子和/或PD-1-结合分子的多肽的修饰,所述修饰不明显影响这类分子以及具有增强的或降低活性的变体的特性。多肽的修饰在本领域中是常规操作,因而不需要在本文详细描述。修饰的多肽的实例包括这样的多肽:其具有氨基酸残基的保守取代、未明显有害改变功能活性的氨基酸的一个或多个缺失或添加,或使用化学类似物。可彼此保守取代的氨基酸残基包括但不限于:甘氨酸/丙氨酸;丝氨酸/苏氨酸;缬氨酸/异亮氨酸/亮氨酸;天冬酰胺/谷氨酰胺;天冬氨酸/谷氨酸;赖氨酸/精氨酸;和苯基丙氨酸/酪氨酸。这些多肽还包括糖基化和非糖基化多肽以及具有其它翻译后修饰的多肽,所述其它翻译后修饰,诸如例如,用不同糖进行糖基化、乙酰化和磷酸化。优选地,氨基酸取代应该是保守的,即,取代的氨基酸会具有与原始氨基酸类似的化学性质。这样的保守取代在本领域中是已知的,并且已经在上文提供实例。氨基酸修饰范围可从改变或修饰一个或多个氨基酸到区域诸如可变结构域的完全重新设计(redesign)。可变结构域中的变化可改变结合亲和力和/或免疫特异性。修饰的其它方法包括利用本领域中已知的偶合技术,包括但不限于酶促手段、氧化取代和螯合。修饰可用于例如,连接标签用于免疫分析,诸如连接放射性部分用于放射免疫分析。修饰的多肽利用本领域中确定的方法制备,并且可利用本领域中已知的标准测定来筛选。

[0320] 本发明包括这样的融合蛋白,所述融合蛋白包括本发明的一种或多种抗体。在一个实施方式中,提供融合多肽,其包括轻链、重链或轻链以及重链二者。在另一实施方式中,

融合多肽包含异源免疫球蛋白恒定区。在另一实施方式中,融合多肽包含本文提供的或由公开保藏的杂交瘤产生的抗体的VL结构域和VH结构域。为了本发明的目的,抗体融合蛋白包含免疫特异性结合B7-H3和/或PD-1的一个或多个表位-结合位点,和免疫特异性结合在天然分子中其未连接的另外的氨基酸序列的一个或多个多肽结构域,所述另外的氨基酸序列,例如,异源序列或来自另一区域的同源序列。

[0321] E. 药物组合物

[0322] 本发明包括组合物,其包括B7-H3-结合分子、PD-1-结合分子或这类分子的组合。本发明的组合物包括原料药组合物(bulk drug composition),其可用于制备药学组合物(例如,不纯或非无菌组合物)和可用于制备单位剂型的药学组合物(即,适于施用给受试者或患者的组合物)。这类组合物包括B7-H3-结合分子、PD-1-结合分子或这类分子的组合以及药学上可接受的载体。优选地,本发明的组合物包括B7-H3-结合分子、PD-1-结合分子或这类分子的组合、以及药学上可接受的载体。在优选的方面中,这类组合物基本上是纯化的(即,基本上不含限制其作用或产生非期望的副作用的物质)。

[0323] 在施用大于一种治疗剂时,所述剂可以一起被配制在相同的制剂中或被可配制成单独的组合物。因此,在一些实施方式中,B7-H3-结合分子和PD-1-结合分子在相同的药物组合物中被配制在一起。在可选的实施方式中,分子被配制在分开的药物组合物中。

[0324] B7-H3-结合分子、PD-1-结合分子或这类分子的组合的各种制剂可用于施用。除了药理学活性剂(一种或多种),本发明的组合物可包含适当的药学上可接受的载体,其包括赋形剂和助剂,所述药学上可接受的载体是本领域熟知的并且是相对惰性物质,有利于施用药理学上有效的物质或利于将活性化合物加工成可在药学上用于递送至作用位点的制剂。例如,赋形剂可赋予形状或稠度,或用作稀释剂。适当的赋形剂包括但不限于稳定剂、湿润剂和乳化剂、用于改变渗透性的盐、封装剂、缓冲液和皮肤渗透增强剂。

[0325] 在具体的实施方式中,术语“药学上可接受的”表示获得联邦政府或州政府管理机构的许可或列于美国药典(U.S. Pharmacopeia)或其他通常获得认可的药典中,供用于动物,特别是用于人类。术语“载体”指与治疗剂一起施用的稀释剂、佐剂(例如弗氏佐剂(完全和不完全)、赋形剂或媒介。这类药学载体可以是无菌液体,如水和油,包括石油、动物油、植物油或合成来源的油,如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。当静脉内施用药物组合物时,优选水性载体,比如生理盐水溶液、水性右旋糖和甘油溶液。合适的药用赋形剂包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、脱脂乳粉(dried skim milk)、甘油、丙烯、乙二醇、水、乙醇等。若需要,组合物也可以含有小量湿润剂或乳化剂或pH缓冲剂。这些组合物可以采用溶液、悬液、乳液、片剂、丸剂、胶囊、粉剂、缓释制剂等形式。

[0326] 一般而言,本发明组合物的成分被单独提供或以单位剂型混合在一起,例如作为标明活性剂的量的密封容器中的冻干粉或无水浓缩物,所述密封容器如安瓿或小袋(sachette)。当通过输注施用组合物时,其可以用含有无菌的药学级水或盐水的输注瓶分配。如果通过注射施用所述组合物,则可以提供一安瓿注射用无菌水或盐水,以便可以在施用前混合所述成分。

[0327] 可以将本发明的组合物配制为中性或盐形式。药学上可接受的盐包括但不限于用阴离子形成的盐以及用阳离子形成的盐,所述阴离子例如来源于盐酸、磷酸、乙酸、草酸、酒

石酸等的阴离子,并且所述阳离子例如来自氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化铵、氢氧化钙、氢氧化铁、异丙胺、三乙胺、2-乙基氨基乙醇、组氨酸、普鲁卡因等的阳离子。

[0328] 优选地,治疗剂(即,B7-H3-结合分子、PD-1-结合分子或这类分子的组合)在指示分子的量的密封容器,比如安瓿或袋中作为干燥无菌冷冻粉末被提供。在一个实施方式中,治疗剂作为冻干无菌粉或无水浓缩物提供于密封容器中,并且可以用例如水或盐水重构至适当浓度,用于施用于受试者。在可选的实施方式中,治疗剂在指示治疗剂的量和浓度的密封容器中以液体形式被提供。

[0329] 冷冻干燥治疗剂(即,B7-H3-结合分子、PD-1-结合分子或这类分子的组合)应在初始容器中储存在2℃和8℃之间并且剂应在重构之后12小时内、优选地6小时内、5小时内、3小时内或1小时内被施用。在可选的实施方式中,治疗剂在指示分子(一种或多种)、融合蛋白或缀合分子的量和浓度的密封容器中以液体形式被提供。优选地,这类治疗剂当以液体形式时提供时,被提供在密封容器中。

[0330] 本发明也提供了包括一个或多个容器的药学包装或试剂盒,所述容器包含B7-H3-结合分子、PD-1-结合分子或这类分子的组合,单独地或与其他试剂一起,优选地与药学上可接受的载体一起。另外,用于治疗疾病的一种或多种其他预防剂或治疗剂也可包括在药物包装或试剂盒中。本发明也提供了这样的药物包装或试剂盒,其包括一个或多个容器,所述容器填充本发明药物组合物的一种或多种成分。任选地与这类容器(一个或多个)关联的可以是管理药物或生物产品的制造、使用或销售的政府机构规定的形式的布告(notice),所述布告反映了管理机构许可用于人类施用的制造、使用或销售。

[0331] 试剂盒可包括B7-H3-结合分子、PD-1-结合分子或这类分子的组合。试剂盒可在一个或多个容器中进一步包括可用于治疗癌症的一种或多种其他预防剂和/或治疗剂;和/或试剂盒可进一步包括结合一种或多种癌症抗原的一种或多种细胞毒性抗体。在某些实施方式中,其他预防剂或治疗剂是化疗剂。在其他实施方式中,预防剂或治疗剂是生物或激素治疗剂。

[0332] F. 使用方法

[0333] 如上所讨论,特异性结合B7-H3的分子和特异性结合PD-1的分子在患有癌症或其他疾病的受试者中可用于治疗性目的。所以,本发明提供了治疗癌症的方法,包括向需要其的受试者施用B7-H3-结合分子和PD-1-结合分子。尤其地,本发明包括这样的方法,其中B7-H3-结合分子包括本文提供的抗B7-H3抗体的表位-结合位点,并且其中PD-1-结合分子包括本文提供的抗PD-1抗体的表位-结合位点。在一个实施方式中,B7-H3-结合分子是抗体。在一个实施方式中,PD-1-结合分子是抗体。在进一步的实施方式中,B7-H3-结合分子和PD-1-结合分子是抗体。

[0334] 在一个实施方式中,同时施用B7-H3-结合分子和PD-1-结合分子。如本文所使用,这类“同时”施用旨在表示:

[0335] (A) 施用包含B7-H3-结合分子和PD-1-结合分子的单药物组合物。这类分子可以是相同的分子(例如,双特异性抗体),或可以是不同的(例如,抗B7-H3抗体或其抗原-结合片段,和抗PD-1-抗体或其抗原-结合片段);或

[0336] (B) 分开施用两种或更多种药物组合物,其中一种组合物包含特异性结合B7-H3的分子和另一种组合物包含特异性结合PD-1的分子,其中组合物在48-小时时间内施用。

[0337] 在第二个实施方式中,采用两种不同的分子,并且“按顺序”施用分子(例如,施用抗B7-H3抗体,然后稍后提供抗PD-1抗体,或反之亦然)。在这样的顺序施用中,在施用第一施用的组合物之后至少48小时或更长时间施用第二施用的组合物。

[0338] 提供疗法或“治疗”指有益的或期望的结果的任何指标:包括但不限于临床结果,比如肿瘤尺寸的缩小(在癌症背景下,例如,乳腺、胃癌或前列腺癌的肿瘤)、癌细胞生长的迟缓、转移发展的延迟、由于疾病导致的症状的减少、遭受疾病的患者的生活质量的提高、治疗疾病需要的其他药物治疗的剂量的减少、另一药物的效果的提高,比如经靶向和/或内化、疾病的进展的延迟和/或个体的生存的延长。

[0339] 治疗的受试者包括动物,最优选哺乳动物物种,比如非灵长类动物(例如,牛、马、猫科动物、犬科动物、啮齿动物等)或灵长类(例如,猴子,比如,食蟹猴、人等)。在优选的实施方式中,受试者是人。

[0340] 可通过本发明的各种实施方式治疗的示例性疾病包括但不限于增殖性疾病、细胞增殖性疾病和癌症(尤其是表达B7-H3的癌症)。在各种实施方式中,本发明包括用于治疗、预防或管理受试者中疾病或病症的方法和组合物,包括向受试者施用治疗有效量的特异性结合B7-H3的分子和特异性结合PD-1的分子。例如,B7-H3-结合分子和PD-1-结合分子尤其可用于预防、抑制、减缓原发性肿瘤的生长或复原(regression),和癌细胞的转移。尽管不意图受具体作用机制的限制,但是这类结合分子可介导针对癌细胞的效应子功能、促进免疫系统针对癌细胞的激活、交联细胞表面抗原和/或癌细胞上的受体和增强细胞凋亡或负生长调节信号传导,或其组合,导致肿瘤清除和/或肿瘤减小。

[0341] 如本文所使用,在一个实施方式中,药物组合物的“有效量”是足以实现有益的或期望的结果的量,包括,但不限于,临床结果比如减轻由于疾病导致的症状,减弱感染的症状(例如,病毒量、发热、疼痛、脓毒症等)或癌症的症状(例如,癌细胞的增殖、肿瘤存在、肿瘤转移等),从而提高遭受疾病的患者的生活质量、减少治疗疾病需要的其他药物治疗的剂量、提高另一药物的效果,比如经靶向和/或内化、延迟疾病的进展和/或延长个体的生存。当应用于单独施用的单活性成分时,术语指单独该成分。当应用于组合时,术语指产生疗效的活性成分的组合物,无论是否是组合施用、连续施用或同时施用。下面讨论具体的剂量。

[0342] 在一个实施方式中,B7-H3-结合分子(例如,抗体)和PD-1-结合分子(例如,抗体)可用于治疗与B7-H3的表达相关的任何疾病或病况或特征在于B7-H3的表达的任何疾病或病况。因此,不受限制地,本发明的方法和组合物可用于针对癌症的免疫疗法,所述癌症包括特征在于癌细胞的存在癌症,所述癌细胞包括但不限于下述的细胞:急性髓细胞样白血病、肾上腺肿瘤、AIDS相关的癌症、软组织腺泡状肉瘤、星形细胞瘤、膀胱癌、骨癌、脑和脊髓癌症、转移性脑瘤、乳腺癌、颈动脉体瘤、宫颈癌、软骨肉瘤、脊索瘤、嫌色细胞肾细胞癌、透明细胞癌、结肠癌、结直肠癌、皮肤良性纤维组织细胞瘤、促结缔组织增生小圆细胞瘤、室管膜细胞瘤、尤文氏瘤、骨外粘液样软骨肉瘤、不完全性骨纤维生成、骨的纤维发育异常、胆囊癌或胆管癌、胃癌、妊娠滋养层疾病、生殖细胞瘤、头颈癌、肝细胞癌、恶性胶质瘤、胰岛细胞肿瘤、卡波西氏肉瘤、肾癌、白血病、脂肪瘤/良性脂肪瘤、脂肪肉瘤/恶性的脂肪瘤、肝癌、淋巴瘤、肺癌、成神经管细胞瘤、黑素瘤、脑膜瘤、恶性间皮瘤、多发性内分泌瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常综合征、成神经细胞瘤、神经内分泌肿瘤、非小细胞肺癌、卵巢癌、胰腺癌、

鼻咽癌、甲状腺乳头状癌、甲状旁腺瘤、儿科癌症、周围神经鞘瘤、嗜铬细胞瘤、垂体瘤、前列腺癌、眼色素层后黑素瘤、罕见血液学疾病、肾细胞癌、肾转移性癌症、横纹肌样瘤、横纹肌肉瘤、肉瘤、皮肤癌、软组织肉瘤、鳞状细胞癌、胃癌、滑膜肉瘤、睾丸癌症、胸腺癌、胸腺瘤、甲状腺转移性癌症和子宫癌。这类免疫疗法可,例如,足够减少癌细胞中的细胞分裂、延迟转移的发展(例如,发作和程度)和/或促进免疫系统对癌细胞的活性。

[0343] 尤其地,B7-H3-结合分子和PD-1-结合分子的组合尤其可用于治疗头颈的鳞状细胞癌(SCCHN)、膀胱癌、乳腺癌、结直肠癌、胃癌、恶性胶质瘤、肾癌、肺癌,包括非小细胞肺癌(NSCLC)、黑素瘤、卵巢癌、胰腺癌、鼻咽癌、前列腺癌、肾细胞癌和儿童的小圆蓝细胞肿瘤,包括成神经细胞瘤和横纹肌肉瘤,其每种高度表达B7-H3。

[0344] 应理解,以在生理学(例如,体内)条件下促进结合的浓度施用B7-H3-结合分子和PD-1-结合分子。可与增强或引导个体的自身免疫应答的另外的剂,比如增强ADCC或刺激T-细胞的剂,一起施用B7-H3-结合分子和PD-1-结合分子(例如,抗B7-H3和抗PD-1抗体)。

[0345] 在仍另一实施方式中,B7-H3-结合分子和/或PD-1-结合分子可与放射性分子、毒素(例如,加利车霉素)、化疗分子、脂质体或包含化疗化合物的其他小泡缀合或结合,并且被施用于需要这种治疗的个体,以使这些化合物靶向包含被B7-H3-结合分子识别的抗原的癌症细胞,因此消除癌症或患病的细胞。不限于任何具体的理论,B7-H3-结合分子(例如,抗B7-H3抗体)通过在其表面携带B7-H3的细胞被内化,因此将缀合部分递送至细胞,以诱导治疗作用,并且PD-1-结合分子促进免疫系统的激活。

[0346] 在仍另一实施方式中,B7-H3-结合分子和PD-1-结合分子(例如,抗B7-H3和抗PD-1抗体)可在外科去除肿瘤时用作辅助疗法,以便延迟、抑制或预防转移的发展。也可在外科手术之前施用分子(新辅助疗法),以便减小肿瘤的尺寸,因此确保外科手术能够进行或简化外科手术、在外科手术期间节约组织和/或减少任何产生的缺陷。

[0347] 具有对Fc γ RIIIA和/或Fc γ RIIA增加的亲和力,和任选地对Fc γ RIIB降低的亲和力的Fc结构域的分子可在Fc γ R结合时导致增强的激活应答,因此对于治疗和/或预防癌症具有增强的治疗效力。因此,包括变异的Fc结构域的B7-H3-结合分子尤其可用于治疗和/或预防其中期望Fc γ R介导的效应细胞功能(例如,ADCC)的疾病或病症(例如,癌症)。例如,具有增强的Fc γ RIII结合的B7-H3-结合分子可结合细胞-表面抗原和免疫效应细胞(例如,NK细胞)上的Fc γ RIIIA,刺激针对细胞的效应子功能(例如,ADCC、CDC、吞噬、调理作用等)。在一些实施方式中,本文提供的B7-H3-结合分子尤其适于治疗癌症。标准单克隆抗体疗法的效力取决于受试者的Fc γ R多态性。Cartron,G.等(2002)“Therapeutic Activity Of Humanized Anti-CD20 Monoclonal Antibody And Polymorphism In IgG Fc Receptor Fc γ RIIIa Gene,”Blood 99:754-758;Weng,W.K.等(2003)“Two Immunoglobulin G Fragment C Receptor Polymorphisms Independently Predict Response To Rituximab In Patients With Follicular Lymphoma,”J Clin Oncol.21(21):3940-3947。这些受体表达在效应细胞的表面上,并且介导ADCC。高亲和力等位基因改善了效应细胞介导ADCC的能力。尤其地,本文提供的B7-H3-结合分子包括展示对于效应细胞上的Fc γ RIIIA增强的亲和力(相对于野生型Fc结构域)的变异的Fc结构域,该B7-H3-结合分子是用于患者的更好的免疫疗法试剂,无论它们的Fc γ R多态性如何。

[0348] G.施用和剂量

[0349] 通过向受试者施用有效量的B7-H3-结合分子和PD-1-结合分子的组合或包括其的药物组合物,这类组合可被提供用于治疗、预防和改善与癌症或其他疾病或病症相关的一个或多个症状。在下面的任何实施方式中,癌症优选地是表达B7-H3的癌症。

[0350] 如本文所使用,术语“组合(联合,combination)”指使用大于一种治疗剂(例如,B7-H3-结合分子和PD-1-结合分子)。术语“组合”的使用不限制将治疗剂施用至患疾病的受试者的顺序,也不意味着在精确的同一时间施用剂,而是其意思是按顺序和在一定的时间隔内向受试者施用剂,以便剂可用于提供比它们以其他方式施用时增加的益处。例如,每种治疗剂(例如,(即,B7-H3-结合分子和PD-1-结合分子)可同时或以任何顺序相继施用和/或在不同的时间点施用,以便提供期望的治疗效果或预防效果。此外,每种试剂不需要在整个治疗疗程中施用。例如,两种剂可都被施用一段时间,之后中止一种剂。可分别施用每种治疗剂,以任何适当的形式和通过任何适当的途径,例如,一种通过口服途径和一种通过肠胃外被施用。

[0351] 用于提供B7-H3-结合分子和PD-1-结合分子的组合的各种递送系统和施用路径是可用的。可用于施用B7-H3-结合分子和PD-1-结合分子的递送系统包括但不限于封装在脂质体中、微粒、微胶囊、能够表达抗体或融合蛋白的重组细胞、受体-介导内吞作用(见,例如,Wu等(1987)“Receptor-Mediated In Vitro Gene Transformation By A Soluble DNA Carrier System,”J.Biol.Chem.262:4429-4432),构建核酸作为逆转录病毒或其他载体的一部分等。施用B7-H3-结合分子和PD-1-结合分子的方法包括但不限于肠胃外施用(例如皮内、肌肉、腹腔内、静脉内以及皮下)、硬膜外以及粘膜(例如鼻内和口腔途径)。在具体实施方式中,分子经肌肉、静脉内或皮下施用。组合物可以通过任何方便途径施用,例如通过输注或弹丸注射、通过上皮或黏膜皮肤被覆(lining)(例如口腔粘膜、直肠和肠粘膜等)吸收,并且可以与其他生物活性剂一起施用。给药可以是全身的或局部的。另外,也可以应用肺给药,例如通过使用吸入器或喷雾器,并且与雾化剂一起配制。见,例如,美国专利号6,019,968、5,985,320、5,985,309、5,934,272、5,874,064、5,855,913、5,290,540和4,880,078;和PCT公开号W0 92/19244、W0 97/32572、W0 97/44013、W0 98/31346;和W0 99/66903,其每一篇通过引用以其整体并入本文。

[0352] 用治疗或预防有效量的B7-H3-结合分子和/或PD-1-结合分子治疗受试者可包括单治疗或,优选地,可包括一系列治疗。例如,受试者可用B7-H3-结合分子和/或PD-1-结合分子治疗,每周一次、每周两次、每两周一次、每三周一次、每四周一次、每六周一次、每两个月一次,持续约2至约52周。应该理解,在具体治疗的期间,用于治疗的分子的有效剂量可增加或减少。如本文提供,B7-H3-结合分子和PD-1-结合分子不需要同时施用或以相同的间隔施用或持续相同的治疗次数。

[0353] 优选地,使用包括一个或多个剂量的治疗方案施用B7-H3-结合分子和PD-1-结合分子,其中在1周、2周、3周、4周、6周、8周或大于8周内施用治疗方案。在某些实施方式中,治疗方案包括间歇地施用有效量的这类分子的剂量(例如,在第一周和第四周施用分子的剂量并且在第二周或第三周不施用分子的剂量)。典型地,有1、2、3、4、5或大于5个治疗疗程。每个疗程可以是相同的方案或不同的方案。

[0354] 施用至患者的B7-H3-结合分子、PD-1-结合分子或这类分子的组合的剂量通常是至少约1.0mg/kg体重、至少约3mg/kg体重、至少约5mg/kg体重、至少约10mg/kg体重、至少约

15mg/kg体重或至少约20mg/kg。对于本发明包括的抗体,施用至患者的剂量通常是1.0mg/kg至20mg/kg患者的体重。优选地,施用至患者的剂量在1.0mg/kg和20mg/kg、1.0mg/kg和10mg/kg、1.0mg/kg和5mg/kg、2.0mg/kg和20mg/kg或5mg/kg和20mg/kg患者的体重之间。在一个实施方式中,施用至患者的剂量在1mg/kg和15mg/kg体重之间。在另一实施方式中,施用至患者的剂量是1mg/kg、2mg/kg、3mg/kg、4mg/kg、5mg/kg、6mg/kg、7mg/kg、8mg/kg、9mg/kg、10mg/kg、11mg/kg、12mg/kg、13mg/kg、14mg/kg或15mg/kg、16mg/kg、17mg/kg、18mg/kg、19mg/kg或20mg/kg体重。在基线处,基于患者的体重施用计算的剂量。体重由基线或确定的稳定状态(plateau)重量的显著($\geq 10\%$)改变将提示重新计算施用的剂量。

[0355] 可选地,将固定剂量的B7-H3-结合分子、PD-1-结合分子或这类分子的组合施用至患者,无论体重如何。对于本发明包括的抗体,施用至患者的固定剂量通常在50mg至500mg之间。优选地,施用至患者的固定剂量在50mg和300mg、100mg和300mg或100mg和200mg之间。在一个实施方式中,施用至患者的固定剂量是100mg、200mg或300mg。

[0356] 在各种实施方式中,可在施用第二(或随后)治疗剂(例如,抗B7-H3抗体或抗PD-1抗体)至患疾病的受试者之前(例如,5分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、8周或12周之前)、同时或之后(例如,5分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、8周或12周之后)施用第一治疗剂(例如,抗B7-H3抗体或抗PD-1抗体)。在优选的实施方式中,在相同患者随访期间施用两种或更多种剂。

[0357] 如本文提供的,可以不同的剂量、不同的浓度、不同时间和/或以不同的方案施用B7-H3-结合分子和PD-1-结合分子。

[0358] 如上所讨论,尽管可采用各种给药方案和施用路径,以便向需要其的接受受试者提供特异性结合B7-H3的分子和特异性结合PD-1的分子的组合。根据本发明,某些组合、给药方案和施用路径对于这类治疗是尤其优选的。在这类给药和施用中,抗B7-H3抗体(例如,hBRCA84D-2),单独地和与抗PD-1抗体(例如,派姆单抗)组合,是尤其优选的。

[0359] 在某些实施方式中,每周施用抗B7-H3抗体的剂量,其联合每两周或三周施用的抗PD-1抗体的剂量(其中这类联合治疗方案的每个施用在本文称为“循环”)。在一个实施方式中,每周施用1至15mg/kg患者体重,优选地1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15mg/kg体重的抗B7-H3抗体。在一个实施方式中,每两周或三周一次施用1至10mg/kg患者体重,优选地1、2、3、4、5、6、7、8、9或10mg/kg体重的抗PD-1抗体,或100、200或300mg固定剂量的抗PD-1抗体,直到观察到疾病或难处理毒性的缓解。

[0360] 在尤其优选的实施方式中,每周通过IV输注将抗B7-H3抗体施用至受试者并且每两周或三周通过IV输注将抗PD-1抗体施用至受试者,持续至少1个月或更长时间、至少3个月或更长时间或至少6个月或更长时间或至少12个月或更长时间。尤其优选治疗持续时间是至少6个月或更长时间,或至少12个月或更长时间,或直到观察到疾病或难处理毒性的缓解。在这类每两周或三周一的IV施用中,抗B7-H3抗体和抗PD-1抗体可一起施用或顺序施用。在尤其优选的实施方式中,以不大于48小时间隔,通过IV输注将抗B7-H3抗体和抗PD-1抗体顺序施用至受试者。在这类顺序施用中,抗B7-H3抗体可在施用抗PD-1抗体之前或之后施用。

[0361] 尤其优选地,为受试者提供多个剂量的抗B7-H3抗体和抗PD-1抗体的联合治疗。治疗方案可因此包括1个循环、至少2个循环或大于2个循环、至少3个循环或大于3个循环、至少4个循环或大于4个循环、至少5个循环或大于5个循环或至少6个循环或大于6个循环。每个这样的循环中的每种抗体的剂量可以相同或可与之前施用的剂量不同。在每种这样的循环中,每种抗体的剂量可以相同或可与之前的施用剂量不同。

[0362] 优选地,不以IV推注或IV团注施用抗体,但是这样的施用通过IV输注实现。因此,抗体优选地被稀释至包括适当的稀释剂,例如,0.9%氯化钠的输注袋中。因为可能发生输注或过敏反应,所以推荐用于预防这类输注反应的术前用药并且应在抗体施用期间观察防范过敏。尤其优选地,在30分钟和24小时之间的时期内向受试者施用IV输注。在某些实施方式中,如果受试者不展示不利的输注反应的征兆或症状,IV输注优选地在30-180分钟或30-120分钟或30-90分钟内或60分钟或更短的时间段内递送。

[0363] 因此,提供了优选的治疗癌症的方法,该方法包括向需要其的受试者施用抗B7-H3抗体和抗PD-1抗体的组合,其中抗B7-H3抗体以每周1至15mg/kg体重的剂量被施用并且抗PD-1抗体以每三周200mg的固定剂量被施用。在一个实施方式中,抗B7-H3抗体以1、3、10或15mg/kg体重的剂量被施用。在进一步的实施方式中,抗B7-H3抗体以每周1mg/kg的剂量被施用和抗PD-1抗体以每三周200mg的固定剂量被施用。在进一步的实施方式中,抗B7-H3抗体以每周3mg/kg体重的剂量被施用和抗PD-1抗体以每三周200mg的固定剂量被施用。在进一步的实施方式中,抗B7-H3抗体以每周10mg/kg体重的剂量被施用和抗PD-1抗体以每三周200mg的固定剂量被施用。在进一步的实施方式中,抗B7-H3抗体以每周15mg/kg体重的剂量被施用和抗PD-1抗体以每三周200mg的固定剂量被施用。在任何上述实施方式中,通过IV输注施用抗B7-H3抗体和抗PD-1抗体,并且当在同一周施用,二者可在48小时内,优选地24小时内施用。

[0364] 提供了治疗癌症的另一优选的方法,该方法包括向需要其的受试者施用抗B7-H3抗体和抗PD-1抗体的组合,其中抗B7-H3抗体的剂量是每周1至15mg/kg体重,并且抗PD-1抗体的剂量是每两周或三周1至10mg/kg体重。在一个实施方式中,抗B7-H3抗体的剂量是1、3、10或15mg/kg体重。在进一步的实施方式中,抗PD-1抗体的剂量是1、2、3或10mg/kg体重。在进一步的实施方式中,抗B7-H3抗体的剂量是1mg/kg体重并且抗PD-1抗体的剂量是1mg/kg体重。在进一步的实施方式中,抗B7-H3抗体的剂量是1mg/kg并且抗PD-1抗体的剂量是2mg/kg体重。在进一步的实施方式中,抗B7-H3抗体的剂量是1mg/kg体重并且抗PD-1抗体的剂量是3mg/kg体重。在进一步的实施方式中,抗B7-H3抗体的剂量是1mg/kg并且抗PD-1抗体的剂量是10mg/kg体重。在进一步的实施方式中,抗B7-H3抗体的剂量是3mg/kg体重并且抗PD-1抗体的剂量是1mg/kg体重。在进一步的实施方式中,抗B7-H3抗体的剂量是3mg/kg体重并且抗PD-1抗体的剂量是2mg/kg体重。在进一步的实施方式中,抗B7-H3抗体的剂量是3mg/kg体重并且抗PD-1抗体的剂量是3mg/kg体重。在进一步的实施方式中,抗B7-H3抗体的剂量是3mg/kg体重并且抗PD-1抗体的剂量是10mg/kg体重。在进一步的实施方式中,抗B7-H3抗体的剂量是10mg/kg体重并且抗PD-1抗体的剂量是1mg/kg体重。在进一步的实施方式中,抗B7-H3抗体的剂量是10mg/kg体重并且抗PD-1抗体的剂量是2mg/kg体重。在进一步的实施方式中,抗B7-H3抗体的剂量是10mg/kg体重并且抗PD-1抗体的剂量是3mg/kg体重。在进一步的实施方式中,抗B7-H3抗体的剂量是10mg/kg体重并且抗PD-1抗体的剂量是10mg/kg体重。

在进一步的实施方式中,抗B7-H3抗体的剂量是15mg/kg体重并且抗PD-1抗体的剂量是1mg/kg体重。在进一步的实施方式中,抗B7-H3抗体的剂量是15mg/kg体重并且抗PD-1抗体的剂量是2mg/kg体重。在进一步的实施方式中,抗B7-H3抗体的剂量是15mg/kg体重并且抗PD-1抗体的剂量是3mg/kg体重。在进一步的实施方式中,抗B7-H3抗体的剂量是15mg/kg体重并且抗PD-1抗体的剂量是10mg/kg体重。在任何上述实施方式中,通过IV输注施用抗B7-H3抗体和抗PD-1抗体,并且每两周或三周一次,可在48小时、优选地24小时时间内施用。

[0365] 在任何上述实施方式中,抗B7-H3抗体包括hBRCA84D、hBRCA69D、PRCA157的CDRL1、CDRL2、CDRL3、CDRH1、CDRH2和CDRH3结构域或表5中提供的任何抗B7-H3抗体的CDRL1、CDRL2、CDRL3、CDRH1、CDRH2和CDRH3结构域,并且抗PD-1抗体包括PD-1mAb 1、PD-1mAb 2、PD-1mAb 3、PD-1mAb 4、PD-1mAb 5、PD-1mAb 6、PD-1mAb 7、PD-1mAb 8的CDRL1、CDRL2、CDRL3、CDRH1、CDRH2和CDRH3结构域,或表6中提供的任何抗PD-1抗体的CDRL1、CDRL2、CDRL3、CDRH1、CDRH2和CDRH3结构域。在任何上述实施方式中,抗B7-H3抗体是hBRCA84D-2并且抗PD-1抗体选自表6中提供的抗体。在优选的实施方式中,抗B7-H3抗体是hBRCA84D-2并且抗PD-1抗体是派姆单抗。在另一优选的实施方式中,抗B7-H3抗体是hBRCA84D-2并且抗PD-1抗体是尼伏鲁单抗。在另一优选的实施方式中,抗B7-H3抗体是hBRCA84D-2并且抗PD-1抗体是匹地利珠单抗。在另一优选的实施方式中,抗B7-H3抗体是hBRCA84D-2并且抗PD-1抗体是PD-1mAb 6-ISQ。

[0366] 在任何上述实施方式中,将治疗剂优选地循环施用至受试者。循环疗法可减少发展对一种或多种疗法的抗性,避免或减少一种疗法的副作用,和/或改善治疗的效力。示例性循环是约每周一次,约每10天一次,约每两周一次,和约每三周一次。每个循环可包括至少1周的休息、至少2周的休息、至少3周的休息等。施用的循环的数量是约1至约12个循环,更通常约2至约10个循环,和更通常约2至约8个循环。

[0367] 如在上面任何实施方式中提供的用于治疗剂施用的优选的剂量方案,包括在初始循环和一个或多个随后的循环中,向接受受试者施用抗B7-H3抗体和抗PD-1抗体的这类组合。在上面提供的任何实施方式中,在同一循环方案中施用抗B7-H3抗体和抗PD-1抗体。在这类实施方式中,每个循环包括两周或三周,其中以每周施用向受试者提供抗B7-H3抗体,并且在每个2周或3周周期的第一周向受试者提供抗PD-1抗体。可选地,以不同的循环方案施用抗B7-H3抗体和抗PD-1抗体。在这类实施方式中,用于抗PD-1抗体的每个循环包括两周或三周,其中在每个2周或3周周期的第一周向受试者提供抗PD-1抗体。在这类实施方式中,用于抗B7-H3抗体的初始循环优选地包括8周,其中,在这样的8周初始周期的前四周,以每周施用向受试者提供抗B7-H3抗体,随后在这样的8周初始周期的5-8周的时间,不向受试者施用。每个随后循环优选地包括4周时间段,其中在这样的4周随后周期的前三周,以每周施用向受试者提供抗B7-H3抗体,随后在这样的4周随后周期的第4周时间段,不向受试者施用。因此,例如,在1、2、3、4、9、10、11、13、14、15周等等中,受试者每周将接收B7-H3抗体,其中第1-8周是初始剂量方案循环,第9-12周是第一随后的循环,第13-16周是第二随后的循环等。

[0368] 联合疗法

[0369] 本发明进一步包括向受试者施用特异性结合B7-H3的分子和特异性结合PD-1的分子的组合,其进一步与本领域技术人员已知的用于治疗或预防癌症、自身免疫性疾病、炎症或感染疾病的其他疗法组合,所述其他疗法包括但不限于当前的标准和实验化学疗法、激

素疗法、生物疗法、免疫疗法、放射疗法或外科手术。在一些实施方式中,B7-H3-结合分子和PD-1-结合分子(例如,抗B7-H3抗体和抗PD-1抗体)的组合联合治疗或预防有效量的一种或多种另外的治疗剂被施用,本领域技术人员已知所述另外的治疗剂用于治疗 and/或预防癌症(尤其是表达B7-H3的癌症)。

[0370] 在用于治疗细胞增殖性疾病的实施方式中,B7-H3-结合分子和/或PD-1-结合分子(例如,抗B7-H3抗体、抗PD-1抗体)与另一治疗剂缀合,或进一步联合另一治疗剂施用,所述另一治疗剂比如,但不限于烷基化剂(例如,氮芥或顺铂)、血管生成抑制剂、蒽环类抗生素(例如,柔红霉素/道诺霉素或多柔比星)、抗生素(例如,放线菌素D、博来霉素或安曲霉素)、抗体(例如,抗VEGF抗体比如贝伐单抗(由Genentech, Inc. 以 **AVASTIN®** 出售)、抗EGFR抗体比如帕尼单抗(由Amgen, Inc. 以 **VECTIBIX™** 出售)或抗整联蛋白抗体,比如那他珠单抗(由Biogen Idec and Elan Pharmaceuticals, Inc. 以 **TYSABRI®** 出售))、抗代谢物(例如,氨甲喋呤或5-氟尿嘧啶)、抗有丝分裂剂(例如,长春新碱或紫杉醇)、细胞毒素(例如,细胞抑制剂或杀细胞剂)、激素治疗剂(例如,选择性雌激素受体调节剂(例如,他莫昔芬或雷洛昔芬)、芳香酶抑制剂、促黄体激素-释放激素类似物、促孕剂、肾上腺皮质固醇、雌激素、雄激素、抗雌激素试剂、雄激素受体阻断剂、5- α 还原酶抑制剂、肾上腺产生抑制剂等)、基质金属蛋白酶抑制剂、放射性元素(例如, α -发射体、 γ -发射体等)或任何其他化疗剂。

[0371] 适当的血管生成抑制剂的非限制性例子包括ABT-627、血管生长抑制素(血纤维蛋白溶酶原片段);抗血管生成RNA构成酶(angiozyme);抗血管生成抗凝血酶III;Bay 12-9566;氟草胺;贝伐单抗;BMS-275291;双膦酸盐;软骨衍生的抑制剂(CDI);CAI;CD59补体片段;CEP-7055;Col 3;考布他汀A-4;内皮抑制素(胶原蛋白XVIII片段);法呢基转移酶抑制剂(FTI);纤连蛋白片段;gro- β ;卤夫酮;肝素酶;肝素多聚己糖片段;HMV833;人绒毛膜促性腺素(hCG);IM-862;干扰素 $\alpha/\beta/\gamma$;干扰素可诱导的蛋白质(IP-10);白介素-12;绞链区5(kringle 5)(血纤维蛋白溶酶原片段);马立马司他;金属蛋白酶抑制剂(TIMPS);2-甲氧雌二醇;MMI 270(CGS 27023A);MoAb IMC-1C11;新伐司他;NM-3;panzem;PI-88;胎盘核糖核酸酶抑制剂;血纤维蛋白溶酶原激活抑制剂;血小板因子-4(PF4);普马司他;催乳素16kDa片段;增殖蛋白相关的蛋白质(PRP);PTK 787/ZK222594;类视黄醇;索利司他;角鲨胺;SS 3304;SU 5416;SU6668;SU11248;四氢皮质醇-S;四硫钼酸盐;沙利度胺;血小板反应蛋白-1(TSP-1);TNP-470;转化生长因子 β (TGF- β);血管抑制素(vasculostatin);血管形成抑制素(钙网蛋白片段);ZD6126和ZD 6474。

[0372] 用于治疗细胞增生性病症的另外的抗体的非限制性例子包括针对下述的抗体:17-1A、 $\alpha v \beta_3$ 、AFP、CD3、CD18、CD20、CD22、CD33、CD44、CD52、CEA、CTLA-4、DNA相关的蛋白质、EGF受体、Ep-CAM、GD2-神经节苷脂、gp IIIb/IIIa、gp72、HLA-DR 10 β 、HLA-DR抗原、IgE、神经节苷脂GD3、MUC-1、nuC242、PEM抗原、SK-1抗原、肿瘤抗原CA125、肿瘤抗原MUC1、VEGF和VEGF-受体。

实施例

[0373] 现在已经大体上描述了本发明,通过参考下述实施例,本发明将被更容易理解,通过示例的方式提供实施例而不旨在限制本发明,除非另外指出。

[0374] 实施例1

[0375] 抗B7-H3抗体和抗PD-1抗体的组合的剂量递增研究

[0376] 尽管下面的剂量递增研究方案详细描述了示例性抗B7-H3抗体“hBRCA84D-2”联合抗PD-1抗体“派姆单抗”的使用,但是应理解,鉴于本文的教导,可使用本文提供的任何抗B7-H3抗体和抗PD-1抗体设计类似的组合方案。

[0377] 进行剂量递增研究,以确定每周施用的递增剂量的hBRCA84D-2联合每三周施用的2mg/kg剂量的派姆单抗的最大耐受剂量(MTD)或最大施用剂量(MAD)(如果没有定义MTD)。这随后可以是组扩展阶段(cohort expansion phase),以进一步定义与在剂量递增研究中确定的hBRCA84D-2剂量的组合的安全性和初始效力。每周施用hBRCA84D-2,并且每3周一次施用派姆单抗。每3周一次,在同一天施用剂,其中先施用派姆单抗,随后施用hBRCA84D-2。但是,在组合剂量超过2,500mg的情况下,应在连续的天数施用抗体。当在连续的天数施用抗体时,可在第一天施用派姆单抗,并且可在接下来的日历日施用hBRCA84D-2。疗法的每个循环限定为3周,其中在第1、8和15天给予hBRCA84D-2,并且在第1天给予派姆单抗。可在研究期间进行肿瘤评估,优选地,在前两个循环结束时,并且在治疗的每个随后三个循环结束时(即,在6周之后[循环2结束时]和在15周、24周、33周等之后[循环5、8、11结束时等])。

[0378] 可以在组患者中,以三个相继递增的剂量,3mg/kg体重、10mg/kg和15mg/kg体重,联合2mg/kg派姆单抗评估hBRCA84D-2。如果确定在第一剂量组中超过了MTD,则可联合2mg/kg派姆单抗使用剂量递减组来评估较低剂量的hBRCA84D-2(1mg/kg)。

[0379] 对于组扩展阶段,招募另外的患者,其将以从研究的剂量递增阶段确定的MTD(或MAD)接收hBRCA84D-2联合2mg/kg的派姆单抗。

[0380] 在前两个3-周循环结束时,仍是临床上稳定化的并且不经历迫使永远终止研究药物的不可接受的毒性的患者将有资格接收通过hBRCA84D-2和派姆单抗的另外的治疗。仍是临床上稳定的、保持对稳定疾病的应答状态或更好并且不经历迫使永远终止研究药物的不可接受的毒性的患者,患者可接收hBRAC84D-2和派姆单抗的另外的治疗循环。这类另外的治疗可持续约一年,以便患者可接收51个剂量的hBRCA84D-2和17个剂量的派姆单抗。

[0381] 本说明书提到的所有出版物和专利通过参考并入本文,达到如同具体和单独指出每个单个出版物或专利申请通过参考以其整体并入的相同程度。尽管已经结合其具体实施方式描述了本发明,但是应当理解,其能够被进一步修改,并且本申请旨在覆盖大体上根据本发明原理并且包括与本公开的偏离的本发明的任何变型、用途或改变,只要在本发明所属领域的已知或习惯实践内并且如可应用至本文之前所阐释的本质特征。

序列表

<110> 宏观基因有限公司

Vasselli, Jim

Wigginton, Jon Marc

Bonvini, Ezio

Koenig, Scott

<120> 用于治疗癌症的组合疗法

<130> 1301.0129PCT

<150> US 62/239,020

<151> 2015-10-08

<160> 62

<170> PatentIn 版本3.5

<210> 1

<211> 217

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (217)

<223> 示例性人IgG1的CH2-CH3结构域

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (217) .. (217)

<223> X是赖氨酸(K)或不存在

<400> 1

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100	105	110
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr	Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met	
115	120	125
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr	Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro	
130	135	140
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser	Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn	
145	150	155
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu	Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu	
165	170	175
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys	Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val	
180	185	190
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu	Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln	
195	200	205
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly	Xaa	
210	215	

<210> 2

<211> 216

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (216)

<223> 示例性人IgG2的CH2-CH3结构域

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (216) .. (216)

<223> X是赖氨酸(K)或不存在

<400> 2

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

<210> 3
 <211> 217
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (217)
 <223> 示例性人IgG3的CH2-CH3结构域
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (217) .. (217)
 <223> X是赖氨酸(K) 或不存在
 <400> 3

Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys
1				5					10					15	
Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val
			20					25						30	
Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr
		35					40					45			
Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu

50	55	60
Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His		
65	70	75
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys		
85	90	95
Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln		
100	105	110
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met		
115	120	125
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro		
130	135	140
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn		
145	150	155
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu		
165	170	175
Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val		
180	185	190
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln		
195	200	205
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Xaa		
210	215	
<210> 5		
<211> 217		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 具有L234A/L235A取代的优选的IgG1 CH2和CH3结构域		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		
<222> (217) .. (217)		
<223> X是赖氨酸(K)或不存在		
<400> 5		
Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys		
1	5	10
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val		
20	25	30
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr		
35	40	45
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu		

50	55	60
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His		
65	70	75
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys		
85	90	95
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln		
100	105	110
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met		
115	120	125
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro		
130	135	140
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn		
145	150	155
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu		
165	170	175
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val		
180	185	190
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln		
195	200	205
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa		
210	215	
<210> 6		
<211> 217		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 优选的“具有杵的” CH2和CH3结构域		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		
<222> (217) .. (217)		
<223> X是赖氨酸(K)或不存在		
<400> 6		
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys		
1	5	10
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val		
20	25	30
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr		
35	40	45
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu		

50	55	60
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His		
65	70	75
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys		
85	90	95
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln		
100	105	110
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met		
115	120	125
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro		
130	135	140
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn		
145	150	155
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu		
165	170	175
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val		
180	185	190
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln		
195	200	205
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa		
210	215	
<210> 7		
<211> 217		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 优选的“具有白的” CH2和CH3结构域		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		
<222> (217) .. (217)		
<223> X是赖氨酸(K) 或不存在		
<400> 7		
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys		
1	5	10
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val		
20	25	30
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr		
35	40	45
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu		

50	55	60
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His		
65	70	75
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys		
85	90	95
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln		
100	105	110
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met		
115	120	125
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro		
130	135	140
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn		
145	150	155
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu		
165	170	175
Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val		
180	185	190
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln		
195	200	205
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa		
210	215	
<210> 8		
<211> 98		
<212> PRT		
<213> 智人		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		
<222> (1) .. (98)		
<223> 示例性人IgG1 CH1结构域		
<400> 8		
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys		
1	5	10
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr		
20	25	30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser		
35	40	45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser		
50	55	60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr		

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

65 70 75 80
85 90 95

Arg Val

<210> 9

<211> 98

<212> PRT

〈213〉 智人

 $\langle 220 \rangle$

<221> MISC FEATURE

 $\langle 222 \rangle \quad (1) \dots (98)$

〈223〉 示例性人IgG4 CH1结构域

<400> 9

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val

 $\langle 210 \rangle$ 10

<211> 15

<212> PRT

〈213〉 智人

 $\langle 220 \rangle$

<221> MISC FEATURE

 $\langle 222 \rangle \quad (1) \dots (15)$

〈223〉 示例性人IgG1铰链区

 $\langle 400 \rangle$ 10

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10 15

 $\langle 210 \rangle$ 11

⟨211⟩ 12

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (12)

<223> 示例性人IgG4铰链区

<400> 11

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro

1 5 10

<210> 12

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 在10位包含S228P稳定化铰链突变的IgG4 Fc结构域

<400> 12

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10

<210> 13

<211> 107

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (107)

<223> 人κ CL结构域

<400> 13

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu

65 70 75 80

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

85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 14

<211> 113

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (113)

<223> 人IgG1 CH1结构域和铰链

<400> 14

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

Pro

<210> 15

<211> 217

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 包含L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L取代的IgG1 CH2-CH3结构域

<400> 15

Ala	Pro	Glu	Leu	Val	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Leu	Pro	Pro	Lys
1				5						10					15
Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val
			20							25					30
Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr
			35							40					45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Pro Glu Glu		
50	55	60
Gln Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His		
65	70	75 80
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys		
85	90	95
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln		
100	105	110
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met		
115	120	125
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro		
130	135	140
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn		
145	150	155 160
Tyr Lys Thr Thr Pro Leu Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu		
165	170	175
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val		
180	185	190
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln		
195	200	205
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
210	215	

<210> 16

<211> 110

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IgG4 CH1结构域和稳定化的铰链结构域

<400> 16

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg		
1	5	10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr		
20	25	30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser		
35	40	45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser		
50	55	60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr		
65	70	75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
 100 105 110
 <210> 17
 <211> 316
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (316)
 <223> "2Ig"形式的人B7-H3, 包括29个氨基酸残基信号序列
 <220>
 <221> 信号
 <222> (1) .. (29)
 <223> 信号序列
 <400> 17
 Met Leu Arg Arg Arg Gly Ser Pro Gly Met Gly Val His Val Gly Ala
 1 5 10 15
 Ala Leu Gly Ala Leu Trp Phe Cys Leu Thr Gly Ala Leu Glu Val Gln
 20 25 30
 Val Pro Glu Asp Pro Val Val Ala Leu Val Gly Thr Asp Ala Thr Leu
 35 40 45
 Cys Cys Ser Phe Ser Pro Glu Pro Gly Phe Ser Leu Ala Gln Leu Asn
 50 55 60
 Leu Ile Trp Gln Leu Thr Asp Thr Lys Gln Leu Val His Ser Phe Ala
 65 70 75 80
 Glu Gly Gln Asp Gln Gly Ser Ala Tyr Ala Asn Arg Thr Ala Leu Phe
 85 90 95
 Pro Asp Leu Leu Ala Gln Gly Asn Ala Ser Leu Arg Leu Gln Arg Val
 100 105 110
 Arg Val Ala Asp Glu Gly Ser Phe Thr Cys Phe Val Ser Ile Arg Asp
 115 120 125
 Phe Gly Ser Ala Ala Val Ser Leu Gln Val Ala Ala Pro Tyr Ser Lys
 130 135 140
 Pro Ser Met Thr Leu Glu Pro Asn Lys Asp Leu Arg Pro Gly Asp Thr
 145 150 155 160
 Val Thr Ile Thr Cys Ser Ser Tyr Arg Gly Tyr Pro Glu Ala Glu Val
 165 170 175

Phe Trp Gln Asp Gly Gln Gly Val Pro Leu Thr Gly Asn Val Thr Thr
 180 185 190
 Ser Gln Met Ala Asn Glu Gln Gly Leu Phe Asp Val His Ser Val Leu
 195 200 205
 Arg Val Val Leu Gly Ala Asn Gly Thr Tyr Ser Cys Leu Val Arg Asn
 210 215 220
 Pro Val Leu Gln Gln Asp Ala His Gly Ser Val Thr Ile Thr Gly Gln
 225 230 235 240
 Pro Met Thr Phe Pro Pro Glu Ala Leu Trp Val Thr Val Gly Leu Ser
 245 250 255
 Val Cys Leu Ile Ala Leu Leu Val Ala Leu Ala Phe Val Cys Trp Arg
 260 265 270
 Lys Ile Lys Gln Ser Cys Glu Glu Glu Asn Ala Gly Ala Glu Asp Gln
 275 280 285
 Asp Gly Glu Gly Glu Gly Ser Lys Thr Ala Leu Gln Pro Leu Lys His
 290 295 300
 Ser Asp Ser Lys Glu Asp Asp Gly Gln Glu Ile Ala
 305 310 315

<210> 18

<211> 534

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (534)

<223> “4Ig”形式的人B7-H3，包括29个氨基酸残基信号序列

<220>

<221> 信号

<222> (1) .. (29)

<223> 信号 序列

<400> 18

Met Leu Arg Arg Arg Gly Ser Pro Gly Met Gly Val His Val Gly Ala
 1 5 10 15
 Ala Leu Gly Ala Leu Trp Phe Cys Leu Thr Gly Ala Leu Glu Val Gln
 20 25 30
 Val Pro Glu Asp Pro Val Val Ala Leu Val Gly Thr Asp Ala Thr Leu
 35 40 45
 Cys Cys Ser Phe Ser Pro Glu Pro Gly Phe Ser Leu Ala Gln Leu Asn
 50 55 60

Leu	Ile	Trp	Gln	Leu	Thr	Asp	Thr	Lys	Gln	Leu	Val	His	Ser	Phe	Ala
65					70					75					80
Glu	Gly	Gln	Asp	Gln	Gly	Ser	Ala	Tyr	Ala	Asn	Arg	Thr	Ala	Leu	Phe
			85						90					95	
Pro	Asp	Leu	Leu	Ala	Gln	Gly	Asn	Ala	Ser	Leu	Arg	Leu	Gln	Arg	Val
			100					105					110		
Arg	Val	Ala	Asp	Glu	Gly	Ser	Phe	Thr	Cys	Phe	Val	Ser	Ile	Arg	Asp
		115					120					125			
Phe	Gly	Ser	Ala	Ala	Val	Ser	Leu	Gln	Val	Ala	Ala	Pro	Tyr	Ser	Lys
	130						135					140			
Pro	Ser	Met	Thr	Leu	Glu	Pro	Asn	Lys	Asp	Leu	Arg	Pro	Gly	Asp	Thr
145					150					155					160
Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Ser	Ser	Tyr	Gln	Gly	Tyr	Pro	Glu	Ala	Glu	Val
				165					170					175	
Phe	Trp	Gln	Asp	Gly	Gln	Gly	Val	Pro	Leu	Thr	Gly	Asn	Val	Thr	Thr
			180					185					190		
Ser	Gln	Met	Ala	Asn	Glu	Gln	Gly	Leu	Phe	Asp	Val	His	Ser	Ile	Leu
		195					200					205			
Arg	Val	Val	Leu	Gly	Ala	Asn	Gly	Thr	Tyr	Ser	Cys	Leu	Val	Arg	Asn
	210					215					220				
Pro	Val	Leu	Gln	Gln	Asp	Ala	His	Ser	Ser	Val	Thr	Ile	Thr	Pro	Gln
225				230						235					240
Arg	Ser	Pro	Thr	Gly	Ala	Val	Glu	Val	Gln	Val	Pro	Glu	Asp	Pro	Val
				245					250					255	
Val	Ala	Leu	Val	Gly	Thr	Asp	Ala	Thr	Leu	Arg	Cys	Ser	Phe	Ser	Pro
		260					265						270		
Glu	Pro	Gly	Phe	Ser	Leu	Ala	Gln	Leu	Asn	Leu	Ile	Trp	Gln	Leu	Thr
		275					280					285			
Asp	Thr	Lys	Gln	Leu	Val	His	Ser	Phe	Thr	Glu	Gly	Arg	Asp	Gln	Gly
	290					295					300				
Ser	Ala	Tyr	Ala	Asn	Arg	Thr	Ala	Leu	Phe	Pro	Asp	Leu	Leu	Ala	Gln
305				310						315					320
Gly	Asn	Ala	Ser	Leu	Arg	Leu	Gln	Arg	Val	Arg	Val	Ala	Asp	Glu	Gly
				325					330					335	
Ser	Phe	Thr	Cys	Phe	Val	Ser	Ile	Arg	Asp	Phe	Gly	Ser	Ala	Ala	Val
		340					345						350		
Ser	Leu	Gln	Val	Ala	Ala	Pro	Tyr	Ser	Lys	Pro	Ser	Met	Thr	Leu	Glu
		355					360					365			
Pro	Asn	Lys	Asp	Leu	Arg	Pro	Gly	Asp	Thr	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Ser

370	375	380
Ser Tyr Arg Gly Tyr Pro Glu Ala Glu Val Phe Trp Gln Asp Gly Gln		
385	390	395
Gly Val Pro Leu Thr Gly Asn Val Thr Thr Ser Gln Met Ala Asn Glu		400
405	410	415
Gln Gly Leu Phe Asp Val His Ser Val Leu Arg Val Val Leu Gly Ala		
420	425	430
Asn Gly Thr Tyr Ser Cys Leu Val Arg Asn Pro Val Leu Gln Gln Asp		
435	440	445
Ala His Gly Ser Val Thr Ile Thr Gly Gln Pro Met Thr Phe Pro Pro		
450	455	460
Glu Ala Leu Trp Val Thr Val Gly Leu Ser Val Cys Leu Ile Ala Leu		
465	470	475
Leu Val Ala Leu Ala Phe Val Cys Trp Arg Lys Ile Lys Gln Ser Cys		480
485	490	495
Glu Glu Glu Asn Ala Gly Ala Glu Asp Gln Asp Gly Glu Gly Glu Gly		
500	505	510
Ser Lys Thr Ala Leu Gln Pro Leu Lys His Ser Asp Ser Lys Glu Asp		
515	520	525
Asp Gly Gln Glu Ile Ala		
530		
<210> 19		
<211> 107		
<212> PRT		
<213> 小家鼠		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		
<222> (1) .. (107)		
<223> 抗人B7-H3抗体BRCA84D的VL结构域		
<400> 19		
Asp Ile Ala Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly		
1	5	10
Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn		15
20	25	30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile		
35	40	45
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly		
50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Asn Val Gln Ser		

65	70	75	80
Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Phe			
	85	90	95
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys			
100	105		

<210> 20

<211> 122

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (122)

<223> 抗人B7-H3抗体BRCA84D的VH结构域

<400> 20

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
1	5	10	15
Ser Arg Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe			
	20	25	30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val			
	35	40	45
Ala Tyr Ile Ser Ser Asp Ser Ser Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val			
50	55	60	
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Pro Lys Asn Thr Leu Phe			
65	70	75	80
Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Gly Arg Gly Arg Glu Asn Ile Tyr Tyr Gly Ser Arg Leu Asp Tyr Trp			
	100	105	110
Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser			
115	120		

<210> 21

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人B7-H3抗体hBRCA84D VL1的VL结构域

<400> 21

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

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

<210> 22

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人B7-H3抗体hBRCA84D VL2的VL结构域

<400> 22

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

<210> 23

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人B7-H3抗体hBRCA84D VL3的VL结构域

<400> 23

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

<210> 24

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人B7-H3抗体hBRCA84D VL4的VL结构域

<400> 24

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

<210> 25

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人B7-H3抗体hBRCA84D VL5的VL结构域

<400> 25

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

<210> 26

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人B7-H3抗体hBRCA84D VL6的VL结构域

<400> 26

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

<210> 27

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人B7-H3抗体hBRCA84D VH1的VH结构域

<400> 27

```

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1           5           10           15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
           20           25           30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
           35           40           45
Ala Tyr Ile Ser Ser Asp Ser Ser Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val
           50           55           60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65           70           75           80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
           85           90           95
Ala Arg Gly Arg Glu Asn Ile Tyr Tyr Gly Ser Arg Leu Asp Tyr Trp
           100          105          110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
           115          120

```

<210> 28

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人B7-H3抗体hBRCA84D VH2的VH结构域

<400> 28

```

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1           5           10           15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
           20           25           30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
           35           40           45
Ala Tyr Ile Ser Ser Asp Ser Ser Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val
           50           55           60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

```

65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser	Leu Arg Asp Glu	Asp Thr Ala Val Tyr	Tyr Cys
	85	90	95
Gly Arg Gly Arg Glu	Asn Ile Tyr Tyr	Gly Ser Arg Leu	Asp Tyr Trp
	100	105	110
Gly Gln Gly Thr Thr	Val Thr Val Ser	Ser	
	115	120	

<210> 29

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人B7-H3抗体hBRCA84D VH3的VH结构域

<400> 29

Glu Val Gln Leu Val	Glu Ser Gly Gly	Gly Leu Val Gln	Pro Gly Gly
1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser	Cys Ala Ala Ser	Gly Phe Thr Phe	Ser Ser Phe
	20	25	30
Gly Met His Trp Val	Arg Gln Ala Pro	Gly Lys Gly Leu	Glu Trp Val
	35	40	45
Ala Tyr Ile Ser Ser	Asp Ser Ser Ala	Ile Tyr Tyr Ala	Asp Thr Val
	50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr	Ile Ser Arg Asp	Asn Ala Lys Asn	Ser Leu Tyr
65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser	Leu Arg Asp Glu	Asp Thr Ala Met	Tyr Tyr Cys
	85	90	95
Gly Arg Gly Arg Glu	Asn Ile Tyr Tyr	Gly Ser Arg Leu	Asp Tyr Trp
	100	105	110
Gly Gln Gly Thr Thr	Val Thr Val Ser	Ser	
	115	120	

<210> 30

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人B7-H3抗体hBRCA84D VH4的VH结构域

<400> 30

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Tyr Ile Ser Ser Asp Ser Ser Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Arg Glu Asn Ile Tyr Tyr Gly Ser Arg Leu Asp Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 31

<211> 107

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (107)

<223> 抗人B7-H3抗体BRCA69D的VL结构域

<400> 31

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

<210> 32

<211> 120

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (120)

<223> 抗人B7-H3抗体BRCA69D的VH结构域

<400> 32

Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Ala	Arg	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Leu	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Tyr
			20					25					30		
Trp	Met	Gln	Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile
		35					40					45			
Gly	Thr	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asp	Gly	Asp	Thr	Arg	Tyr	Thr	Gln	Lys	Phe
	50					55				60					
Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Ser	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70				75					80	
Met	Gln	Leu	Ser	Ser	Leu	Ala	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90				95		
Ala	Arg	Arg	Gly	Ile	Pro	Arg	Leu	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val	Trp	Gly	Ala
			100					105					110		
Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
			115				120								

<210> 33

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人B7-H3抗体hBRCA69D VL1的VL结构域

<400> 33

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5					10					15	
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Asp	Ile	Ser	Asn	Tyr
			20					25					30		
Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
		35					40					45			
Tyr	Tyr	Thr	Ser	Arg	Leu	His	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
	50					55				60					
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro

65	70	75	80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Pro			
	85	90	95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys			
100	105		

<210> 34

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人B7-H3抗体hBRCA69D VL2的VL结构域

<400> 34

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

<210> 35

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人B7-H3抗体hBRCA69D VH1的VH结构域

<400> 35

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala			
1	5	10	15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr			
20	25	30	
Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met			
35	40	45	

Gly Thr Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg Gly Ile Pro Arg Leu Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 36

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人B7-H3抗体hBRCA69D VH2的VH结构域

<400> 36

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Thr Ile Tyr Pro Gly Gly Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg Gly Ile Pro Arg Leu Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 37

<211> 108

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (108)

<223> 抗人B7-H3抗体PRCA157的VL结构域

<400> 37

```

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

```

<210> 38

<211> 117

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (117)

<223> 抗人B7-H3抗体PRCA157的VH结构域

<400> 38

```

Glu Val Gln Gln Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys Pro Gly Gly
1             5             10             15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
             20             25             30
Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Asp Lys Arg Leu Glu Trp Val
             35             40             45
Ala Thr Ile Asn Ser Gly Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Leu
             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 Arg Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
             85             90             95
Ala Arg His Asp Gly Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser

```

100	105	110
Val Thr Val Ser Ser		
115		
<210> 39		
<211> 214		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 人源化抗人B7-H3抗体hBRCA84D-2的完整轻链的氨基酸序列		
<400> 39		
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly		
1 5 10 15		
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn		
20 25 30		
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ala Leu Ile		
35 40 45		
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
50 55 60		
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
65 70 75 80		
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Phe		
85 90 95		
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala		
100 105 110		
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly		
115 120 125		
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala		
130 135 140		
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln		
145 150 155 160		
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser		
165 170 175		
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr		
180 185 190		
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser		
195 200 205		
Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
210		
<210> 40		

452 $\langle 211 \rangle$

<212> PRT

〈213〉 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

〈223〉 人源化抗人B7-H3抗体hBRCA84D-2的完整重链的氨基酸序列

 $\langle 400 \rangle$ 40

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1			5					10						15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Phe
			20					25					30		
Gly	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
			35				40					45			
Ala	Tyr	Ile	Ser	Ser	Asp	Ser	Ser	Ala	Ile	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Thr	Val
			50				55				60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr
65						70				75					80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Asp	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
						85				90				95	
Gly	Arg	Gly	Arg	Glu	Asn	Ile	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Arg	Leu	Asp	Tyr	Trp
			100					105					110		
Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro
			115				120					125			
Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr
			130				135				140				
Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr
145						150				155					160
Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro
						165				170				175	
Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr
			180					185				190			
Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn
			195					200				205			
His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser
			210				215				220				
Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Val
225						230				235					240
Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Leu	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu
						245				250				255	
Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser

260	265	270
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu		
275	280	285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Pro Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr		
290	295	300
Leu Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn		
305	310	315
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro		
325	330	335
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln		
340	345	350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val		
355	360	365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val		
370	375	380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro		
385	390	395
Leu Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr		
405	410	415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val		
420	425	430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu		
435	440	445
Ser Pro Gly Lys		
450		
<210> 41		
<211> 288		
<212> PRT		
<213> 智人		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		
<222> (1) .. (288)		
<223> 人PD-1, 包括20个氨基酸残基信号序列		
<220>		
<221> 信号		
<222> (1) .. (20)		
<223> 信号 序列		
<400> 41		
Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln		

1	5	10	15
Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp			
20	25	30	
Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp			
35	40	45	
Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val			
50	55	60	
Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala			
65	70	75	80
Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg			
85	90	95	
Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg			
100	105	110	
Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu			
115	120	125	
Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val			
130	135	140	
Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro			
145	150	155	160
Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Thr Leu Val Val Gly Val Val Gly Gly			
165	170	175	
Leu Leu Gly Ser Leu Val Leu Leu Val Trp Val Leu Ala Val Ile Cys			
180	185	190	
Ser Arg Ala Ala Arg Gly Thr Ile Gly Ala Arg Arg Thr Gly Gln Pro			
195	200	205	
Leu Lys Glu Asp Pro Ser Ala Val Pro Val Phe Ser Val Asp Tyr Gly			
210	215	220	
Glu Leu Asp Phe Gln Trp Arg Glu Lys Thr Pro Glu Pro Pro Val Pro			
225	230	235	240
Cys Val Pro Glu Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser Gly			
245	250	255	
Met Gly Thr Ser Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro Arg			
260	265	270	
Ser Ala Gln Pro Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu			
275	280	285	

<210> 42

<211> 113

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (113)

<223> 抗人PD-1抗体PD-1 mAb 1的VH结构域

<400> 42

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

Ser

<210> 43

<211> 107

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (107)

<223> 抗人PD-1抗体PD-1 mAb 1的VL结构域

<400> 43

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg
85 90 95

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

<210> 44

<211> 120

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (120)

<223> 抗人PD-1抗体PD-1 mAb 2的VH结构域

<400> 44

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 45

<211> 111

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (111)

<223> 抗人PD-1抗体PD-1 mAb 2的VL结构域

<400> 45

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

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

<210> 46

<211> 121

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (121)

<223> 抗人PD-1抗体PD-1 mAb 3的VH结构域

<400> 46

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Lys Pro Gly Ala			
1	5	10	15
Ser Val Gln Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Ser			
20	25	30	
Trp Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile			
35	40	45	
Gly Tyr Ile Tyr Pro Ser Thr Gly Phe Thr Glu Tyr Asn Gln Lys Phe			
50	55	60	
Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr			
65	70	75	80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg Trp Arg Asp Ser Ser Gly Tyr His Ala Met Asp Tyr Trp Gly			
100	105	110	
Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser			
115	120		

<210> 47

<211> 111

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (111)

<223> 抗人PD-1抗体PD-1 mAb 3的VL结构域

<400> 47

```

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

```

<210> 48

<211> 117

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (117)

<223> 抗人PD-1抗体PD-1 mAb 4的VH结构域

<400> 48

```

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1           5           10           15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
           20           25           30
Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Gln Trp Met
           35           40           45
Gly Trp Ile Asn Thr Asp Ser Gly Glu Ser Thr Tyr Ala Glu Glu Phe
           50           55           60

```

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Ile Thr Ser Leu Thr Ala Glu Asp Thr Gly Met Tyr Phe Cys
85 90 95
Val Arg Val Gly Tyr Asp Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 49

<211> 106

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (106)

<223> 抗人PD-1抗体PD-1 mAb 4的VL结构域

<400> 49

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

<210> 50

<211> 116

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (116)

<223> 抗人PD-1抗体PD-1 mAb 5的VH结构域

<400> 50

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Val Phe Ser Ser Phe
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Met Ser Ile Ser Tyr Ala Asp Thr 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 Arg Thr Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ser Leu Ser Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

<210> 51

<211> 112

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (112)

<223> 抗人PD-1抗体PD-1 mAb 5的VL结构域

<400> 51

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

100	105	110
<210> 52		
<211> 119		
<212> PRT		
<213> 小家鼠		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		
<222> (1) .. (119)		
<223> 抗人PD-1抗体PD-1 mAb 6的VH结构域		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		
<222> (48) .. (48)		
<223> X是异亮氨酸(I)或丙氨酸(A)		
<400> 52		
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
1 5 10 15		
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr		
20 25 30		
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Xaa		
35 40 45		
Gly Val Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Trp Leu Asp Gln Lys Phe		
50 55 60		
Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr		
65 70 75 80		
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85 90 95		
Ala Arg Glu His Tyr Gly Thr Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly		
100 105 110		
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
115		
<210> 53		
<211> 111		
<212> PRT		
<213> 小家鼠		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		
<222> (1) .. (111)		
<223> 抗人PD-1抗体PD-1 mAb 6的VL结构域		
<220>		

<221> MISC_FEATURE

<222> (26) .. (26)

<223> 在26位的X是天冬酰胺 (N) 或丝氨酸 (S)

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (58) .. (58)

<223> 在58位的X是谷氨酰胺 (Q) 或精氨酸 (R)

<400> 53

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

<210> 54

<211> 119

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (119)

<223> 抗人PD-1抗体PD-1 mAb 7的VH结构域

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (12) .. (12)

<223> 在12位的X是缬氨酸 (V) 或丙氨酸 (A)

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (35) .. (35)

<223> 在35位的X是丝氨酸 (S) 或甘氨酸 (G)

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (48) .. (48)

<223> 在48位的X是缬氨酸(V)或苏氨酸(T)

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (86) .. (86)

<223> 在86位的X是亮氨酸(L)或丙氨酸(A)

<400> 54

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

<210> 55

<211> 107

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (107)

<223> 抗人PD-1抗体PD-1 mAb 7的VL结构域

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (31) .. (31)

<223> 在31位的X是丝氨酸(S)或天冬酰胺(N)

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (50) .. (50)

<223> 在50位的X是N或D

<400> 55

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

<210> 56

<211> 117

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (117)

<223> 抗人PD-1抗体PD-1 mAb 8的VH结构域

<400> 56

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

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 57

<211> 107

<212> PRT

<213> 小家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (107)

<223> 抗人PD-1抗体PD-1 mAb 8的VL结构域

<400> 57

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Asn Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Ala Val Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 58

<211> 218

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 示例性抗人PD-1抗体“PD-1 mAb 6-ISQ”的完整轻链

<400> 58

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr

20 25 30

Gly Met Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

Lys Leu Leu Ile His Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ser

50	55	60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser		
65	70	75
Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Lys		
85	90	95
Glu Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg		
100	105	110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln		
115	120	125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr		
130	135	140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser		
145	150	155
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr		
165	170	175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys		
180	185	190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro		
195	200	205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
210	215	

<210> 59

<211> 445

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 示例性抗人PD-1抗体“PD-1 mAb 6-ISQ”的完整重链

<400> 59

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
1	5	10
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr		
20	25	30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile		
35	40	45
Gly Val Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Trp Leu Asp Gln Lys Phe		
50	55	60
Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr		
65	70	75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		

				85					90					95			
Ala	Arg	Glu	His	Tyr	Gly	Thr	Ser	Pro	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly		
				100					105					110			
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe		
				115					120					125			
Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu		
				130					135					140			
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp		
145					150				155					160			
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu		
				165					170					175			
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser		
				180					185					190			
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro		
				195					200					205			
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro		
				210					215					220			
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe		
225					230				235					240			
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro		
				245					250					255			
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val		
				260					265					270			
Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr		
				275					280					285			
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val		
				290					295					300			
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys		
305					310				315					320			
Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser		
				325					330					335			
Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro		
				340					345					350			
Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val		
				355					360					365			
Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly		
				370					375					380			
Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp		
385					390				395					400			

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
 435 440 445

<210> 60

<211> 98

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (98)

<223> 示例性人IgG2 CH1结构域

<400> 60

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

Thr Val

<210> 61

<211> 98

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (98)

<223> 示例性人IgG4 CH1结构域

<400> 61

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15

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

Arg Val

<210> 62

<211> 22

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (22)

<223> 示例性人IgG2铰链区

<400> 62

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Glu Arg Lys Cys Cys Val
1 5 10 15

Glu Cys Pro Pro Cys Pro
20