



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 (11)證書號數：TW I856979 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 10 月 01 日

(21)申請案號：108136331 (22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 10 月 08 日

(51)Int. Cl. : C07K16/28 (2006.01) C12N5/0783 (2010.01)
A61P31/12 (2006.01)

(30)優先權：2018/10/09 世界智慧財產權組織 PCT/US18/55084
2019/04/09 美國 62/831,572
2019/04/09 美國 62/831,608
2019/09/11 歐洲專利局 19306097.7

(71)申請人：法商賽諾菲公司 (法國) SANOFI (FR)
法國

(72)發明人：吳 嵐 WU, LAN (US)；徐 玲 XU, LING (US)；宋 艾德華 SEUNG, EDWARD (US)；魏 蓉 WEI, RONNIE (US)；納貝爾 蓋瑞 NABEL, GARY (US)；楊 志勇 YANG, ZHI-YONG (US)；達布道比 塔瑞克 DABDOUBI, TARIK (FR)；卡梅倫 畢翠絲 CAMERON, BEATRICE (FR)；萊莫伊內 桑卓妮 LEMOINE, CENDRINE (FR)；普拉德斯 凱瑟琳 PRADES, CATHERINE (FR)

(74)代理人：陳彥希；何愛文

(56)參考文獻：
TW 201803899A WO 2017074878A1

審查人員：王顥棟

申請專利範圍項數：41 項 圖式數：13 共 262 頁

(54)名稱
三特异性抗 CD 38、抗 CD 28 和抗 CD 3 結合蛋白和用於治療病毒感染的使用方法

(57)摘要

本公開文本提供使用三特异性結合蛋白治療病毒感染的方法，所述三特异性結合蛋白包含形成特異性地結合 CD38 多肽(例如，人和/或食蟹猴 CD38 多肽)、CD28 多肽和 CD3 多肽的三個抗原結合位點的四條多肽鏈。

The disclosure provides methods of treating viral infection using trispecific binding proteins comprising four polypeptide chains that form three antigen binding sites that specifically bind a CD38 polypeptide (e.g., human and/or cynomolgus monkey CD38 polypeptides), a CD28 polypeptide, and a CD3 polypeptide.

指定代表圖：

I856979

【發明摘要】

【中文發明名稱】

三特異性抗CD38、抗CD28和抗CD3結合蛋白和用於治療病毒感染的
使用方法

【英文發明名稱】

TRISPECIFIC ANTI-CD38, ANTI-CD28, AND ANTI-CD3 BINDING
PROTEINS AND METHODS OF USE FOR TREATING VIRAL INFECTION

【中文】

本公開文本提供使用三特異性結合蛋白治療病毒感染的方法，所述三特異性結合蛋白包含形成特異性地結合CD38多肽（例如，人和/或食蟹猴CD38多肽）、CD28多肽和CD3多肽的三個抗原結合位點的四條多肽鏈。

【英文】

The disclosure provides methods of treating viral infection using trispecific binding proteins comprising four polypeptide chains that form three antigen binding sites that specifically bind a CD38 polypeptide (*e.g.*, human and/or cynomolgus monkey CD38 polypeptides), a CD28 polypeptide, and a CD3 polypeptide.

【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

三特異性抗CD38、抗CD28和抗CD3結合蛋白和用於治療病毒感染的
使用方法

【英文發明名稱】

TRISPECIFIC ANTI-CD38, ANTI-CD28, AND ANTI-CD3 BINDING
PROTEINS AND METHODS OF USE FOR TREATING VIRAL INFECTION

【相關申請案的交叉引用】

【0001】 本申請主張下述申請案的優先權利益：2018年10月9日提交的國際申請號 PCT/US2018/055084；2019年4月9日提交的美國臨時申請序列號 62/831,572；2019年4月9日提交的美國臨時申請序列號 62/831,608；和2019年9月11日提交的歐洲申請號 19306097.7；所有上述申請都是通過引用以其整體併入本文。

【ASCII文本文件序列列表的提交】

【0002】 將以下提交的 ASCII 文本文件的內容通過引用以其整體併入本文：計算機可讀形式（CRF）的序列列表（文件名：183952032140SEQLIST.TXT，記錄日期：2019年10月2日，大小：144 KB）。

【技術領域】

【0003】 本公開文本涉及使用三特異性結合蛋白擴增記憶 T 細胞（例如，病毒特異性記憶 T 細胞）和/或治療慢性病毒感染的方法，所述三特異性結合蛋白包含形成特異性結合 CD38 多肽（例如，人和/或食蟹猴 CD38 多肽）、CD28 多肽和 CD3 多肽的三個抗原結合位點的四條多肽鏈。

【先前技術】

【0004】 作為人類適應性免疫的一部分，T 細胞免疫在控制病毒感

染、消除感染細胞方面具有關鍵作用，這導致病毒感染的清除。在如疱疹病毒感染（HSV、CMV、EBV 等）、HIV 和 HBV 的慢性感染性疾病中，病毒通過包括免疫抑制、T 細胞耗竭和潛伏期建立在內的多種機制在人體內建立其持久性。然而，病毒感染通常誘導包括抗原特異性 CD8 T 細胞的病毒抗原特異性免疫，所述抗原特異性 CD8 T 細胞可以容易地識別感染細胞，用於通過細胞因子釋放或細胞毒性 T 細胞（CTL）介導的殺傷過程來進行控制或殺傷。

【0005】 因此，在體內和/或體外的病毒抗原特異性 T 細胞激活和/或擴增可以提供針對慢性病毒感染的治療策略。

【發明內容】

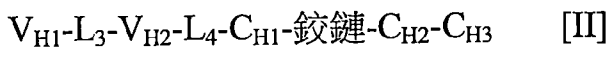
【0006】 本文提供了抗 CD38/CD28xCD3 三特異性抗體，開發並評價了其在激活 T 細胞以及隨後增生和/或擴增抗原特異性 T 細胞方面的潛力。這些三特異性 Ab 可以有效地在體外擴增 CD4 和 CD8 效應和記憶群體，所述群體包括抗原特異性 CD8 T 中樞記憶細胞和效應記憶細胞。具體地，證明了 CMV、EBV、HIV-1、流感特異性 CD8 中樞記憶細胞和效應記憶細胞的體外擴增。本文所述的抗 CD38/CD28xCD3 三特異性抗體通過接合 CD3/CD28/CD38，從而提供刺激並擴增 T 細胞的信號傳導途徑來展現新穎特性，這可以提供治療慢性感染性疾病（如 HSV、CMV、EBV、HIV-1 和 HBV 感染）的有效策略。

【0007】 為了滿足這些和其他需求，本文提供了結合 CD38 多肽（例如，人和食蟹猴 CD38 多肽）、CD28 多肽和 CD3 多肽的結合蛋白。

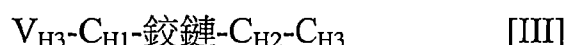
【0008】 在一些實施例中，本文提供了擴增病毒特異性記憶 T 細胞的方法，其包括使病毒特異性記憶 T 細胞與結合蛋白接觸，其中所述結合蛋白包含形成所述三個抗原結合位點的四條多肽鏈，其中第一多肽鏈包含由下式表示的結構：



並且第二多肽鏈包含由下式表示的結構：



並且第三多肽鏈包含由下式表示的結構：



並且第四多肽鏈包含由下式表示的結構：



其中：

V_{L1} 是第一免疫球蛋白輕鏈可變結構域；

V_{L2} 是第二免疫球蛋白輕鏈可變結構域；

V_{L3} 是第三免疫球蛋白輕鏈可變結構域；

V_{H1} 是第一免疫球蛋白重鏈可變結構域；

V_{H2} 是第二免疫球蛋白重鏈可變結構域；

V_{H3} 是第三免疫球蛋白重鏈可變結構域；

C_L 是免疫球蛋白輕鏈恒定結構域；

C_{H1} 是免疫球蛋白 C_{H1} 重鏈恒定結構域；

C_{H2} 是免疫球蛋白 C_{H2} 重鏈恒定結構域；

C_{H3} 是免疫球蛋白 C_{H3} 重鏈恒定結構域；

鉸鏈是連接所述 C_{H1} 與 C_{H2} 結構域的免疫球蛋白鉸鏈區；並且

L_1 、 L_2 、 L_3 和 L_4 是胺基酸連接子；

其中式I的多肽和式II的多肽形成交叉輕鏈-重鏈對；並且

其中 V_{H1} 和 V_{L1} 形成結合CD28多肽的第一抗原結合位點，

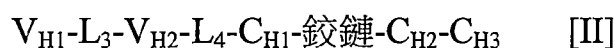
其中 V_{H2} 和 V_{L2} 形成結合CD3多肽的第二抗原結合位點，並且

其中 V_{H3} 和 V_{L3} 形成結合CD38多肽的第三抗原結合位點。

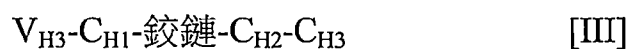
【0009】 在一些實施例中，本文提供了包含形成所述三個抗原結合位點的四條多肽鏈的結合蛋白，其中第一多肽鏈包含由下式表示的結構：



並且第二多肽鏈包含由下式表示的結構：



並且第三多肽鏈包含由下式表示的結構：



並且第四多肽鏈包含由下式表示的結構：

$V_{L3}-C_L$

[IV]

其中：

V_{L1} 是第一免疫球蛋白輕鏈可變結構域；

V_{L2} 是第二免疫球蛋白輕鏈可變結構域；

V_{L3} 是第三免疫球蛋白輕鏈可變結構域；

V_{H1} 是第一免疫球蛋白重鏈可變結構域；

V_{H2} 是第二免疫球蛋白重鏈可變結構域；

V_{H3} 是第三免疫球蛋白重鏈可變結構域；

C_L 是免疫球蛋白輕鏈恒定結構域；

C_{H1} 是免疫球蛋白 C_{H1} 重鏈恒定結構域；

C_{H2} 是免疫球蛋白 C_{H2} 重鏈恒定結構域；

C_{H3} 是免疫球蛋白 C_{H3} 重鏈恒定結構域；

鉸鏈是連接所述 C_{H1} 與 C_{H2} 結構域的免疫球蛋白鉸鏈區；並且

L_1 、 L_2 、 L_3 和 L_4 是胺基酸連接子；

其中式I的多肽和式II的多肽形成交叉輕鏈-重鏈對；並且

其中 V_{H1} 和 V_{L1} 形成結合CD28多肽的第一抗原結合位點，其中 V_{H2} 和 V_{L2} 形成結合CD3多肽的第二抗原結合位點，並且其中 V_{H3} 和 V_{L3} 形成結合CD38多肽的第三抗原結合位點，從而使所述結合蛋白用於擴增病毒特異性記憶T細胞。

【0010】 在一些實施例中，在體外或離體使所述病毒特異性記憶T細胞與所述結合蛋白接觸。在一些實施例中，使所述病毒特異性記憶T細胞與所述結合蛋白接觸引起病毒特異性記憶T細胞的激活和/或增生。

【0011】 在一些實施例中，本文提供了擴增T細胞的方法，其包括在體外或離體使T細胞與結合蛋白接觸，其中所述結合蛋白包含形成三個抗原結合位點的四條多肽鏈，其中第一多肽鏈包含由下式表示的結構：

$V_{L2}-L_1-V_{L1}-L_2-C_L$ [I]

並且第二多肽鏈包含由下式表示的結構：

$V_{H1}-L_3-V_{H2}-L_4-C_{H1}$ -鉸鏈- $C_{H2}-C_{H3}$ [II]

並且第三多肽鏈包含由下式表示的結構：

$$V_{H3}-C_{H1}-\text{鉸鏈}-C_{H2}-C_{H3} \quad [III]$$

並且第四多肽鏈包含由下式表示的結構：

$$V_{L3}-C_L \quad [IV]$$

其中：

- V_{L1} 是第一免疫球蛋白輕鏈可變結構域；
- V_{L2} 是第二免疫球蛋白輕鏈可變結構域；
- V_{L3} 是第三免疫球蛋白輕鏈可變結構域；
- V_{H1} 是第一免疫球蛋白重鏈可變結構域；
- V_{H2} 是第二免疫球蛋白重鏈可變結構域；
- V_{H3} 是第三免疫球蛋白重鏈可變結構域；
- C_L 是免疫球蛋白輕鏈恒定結構域；
- C_{H1} 是免疫球蛋白 C_{H1} 重鏈恒定結構域；
- C_{H2} 是免疫球蛋白 C_{H2} 重鏈恒定結構域；
- C_{H3} 是免疫球蛋白 C_{H3} 重鏈恒定結構域；
- 鉸鏈是連接所述 C_{H1} 與 C_{H2} 結構域的免疫球蛋白鉸鏈區；並且
- L_1 、 L_2 、 L_3 和 L_4 是胺基酸連接子；

其中式I的多肽和式II的多肽形成交叉輕鏈-重鏈對；並且
其中 V_{H1} 和 V_{L1} 形成結合CD28多肽的第一抗原結合位點，
其中 V_{H2} 和 V_{L2} 形成結合CD3多肽的第二抗原結合位點，並且
其中 V_{H3} 和 V_{L3} 形成結合CD38多肽的第三抗原結合位點。

【0012】 在一些實施例中，本文提供了包含形成所述三個抗原結合位點的四條多肽鏈的結合蛋白，其中第一多肽鏈包含由下式表示的結構：

$$V_{L2}-L_1-V_{L1}-L_2-C_L \quad [I]$$

並且第二多肽鏈包含由下式表示的結構：

$$V_{H1}-L_3-V_{H2}-L_4-C_{H1}-\text{鉸鏈}-C_{H2}-C_{H3} \quad [II]$$

並且第三多肽鏈包含由下式表示的結構：

$$V_{H3}-C_{H1}-\text{鉸鏈}-C_{H2}-C_{H3} \quad [III]$$

並且第四多肽鏈包含由下式表示的結構：

$$V_{L3}-C_L \quad [IV]$$

其中：

- V_{L1}是第一免疫球蛋白輕鏈可變結構域；
- V_{L2}是第二免疫球蛋白輕鏈可變結構域；
- V_{L3}是第三免疫球蛋白輕鏈可變結構域；
- V_{H1}是第一免疫球蛋白重鏈可變結構域；
- V_{H2}是第二免疫球蛋白重鏈可變結構域；
- V_{H3}是第三免疫球蛋白重鏈可變結構域；
- C_L是免疫球蛋白輕鏈恒定結構域；
- C_{H1}是免疫球蛋白C_{H1}重鏈恒定結構域；
- C_{H2}是免疫球蛋白C_{H2}重鏈恒定結構域；
- C_{H3}是免疫球蛋白C_{H3}重鏈恒定結構域；
- 鉸鏈是連接所述C_{H1}與C_{H2}結構域的免疫球蛋白鉸鏈區；並且
- L₁、L₂、L₃和L₄是胺基酸連接子；

其中式I的多肽和式II的多肽形成交叉輕鏈-重鏈對；並且
其中V_{H1}和V_{L1}形成結合CD28多肽的第一抗原結合位點，
其中V_{H2}和V_{L2}形成結合CD3多肽的第二抗原結合位點，並且
其中V_{H3}和V_{L3}形成結合CD38多肽的第三抗原結合位點，從而使所述結合蛋白用於擴增T細胞的方法。

【0013】 在一些實施例中，所述 T 細胞是記憶 T 細胞或效應 T 細胞。
在一些實施例中，所述 T 細胞在其細胞表面上表現嵌合抗原受體（CAR）或包含編碼 CAR 的多核苷酸。

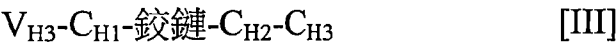
【0014】 在一些實施例中，本文提供了治療慢性病毒感染的方法，其包括向有需要的個體投予有效量的結合蛋白，其中所述結合蛋白包含形成所述三個抗原結合位點的四條多肽鏈，其中第一多肽鏈包含由下式表示的結構：

$$V_{L2}-L_1-V_{L1}-L_2-C_L \qquad [I]$$

並且第二多肽鏈包含由下式表示的結構：

$$V_{H1}-L_3-V_{H2}-L_4-C_{H1}-\text{鉸鏈}-C_{H2}-C_{H3} \qquad [II]$$

並且第三多肽鏈包含由下式表示的結構：



並且第四多肽鏈包含由下式表示的結構：



其中：

- V_{L1} 是第一免疫球蛋白輕鏈可變結構域；
- V_{L2} 是第二免疫球蛋白輕鏈可變結構域；
- V_{L3} 是第三免疫球蛋白輕鏈可變結構域；
- V_{H1} 是第一免疫球蛋白重鏈可變結構域；
- V_{H2} 是第二免疫球蛋白重鏈可變結構域；
- V_{H3} 是第三免疫球蛋白重鏈可變結構域；
- C_L 是免疫球蛋白輕鏈恒定結構域；
- C_{H1} 是免疫球蛋白 C_{H1} 重鏈恒定結構域；
- C_{H2} 是免疫球蛋白 C_{H2} 重鏈恒定結構域；
- C_{H3} 是免疫球蛋白 C_{H3} 重鏈恒定結構域；
- 鉸鏈是連接所述 C_{H1} 與 C_{H2} 結構域的免疫球蛋白鉸鏈區；並且
- L_1 、 L_2 、 L_3 和 L_4 是胺基酸連接子；

其中式I的多肽和式II的多肽形成交叉輕鏈-重鏈對；並且

其中 V_{H1} 和 V_{L1} 形成結合CD28多肽的第一抗原結合位點，

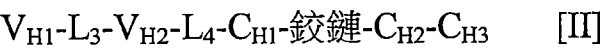
其中 V_{H2} 和 V_{L2} 形成結合CD3多肽的第二抗原結合位點，並且

其中 V_{H3} 和 V_{L3} 形成結合CD38多肽的第三抗原結合位點。

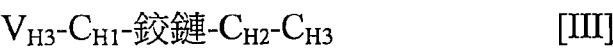
【0015】 在一些實施例中，本文提供了包含形成所述三個抗原結合位點的四條多肽鏈的結合蛋白，其中第一多肽鏈包含由下式表示的結構：



並且第二多肽鏈包含由下式表示的結構：



並且第三多肽鏈包含由下式表示的結構：



並且第四多肽鏈包含由下式表示的結構：



其中：

- V_{L1}是第一免疫球蛋白輕鏈可變結構域；
- V_{L2}是第二免疫球蛋白輕鏈可變結構域；
- V_{L3}是第三免疫球蛋白輕鏈可變結構域；
- V_{H1}是第一免疫球蛋白重鏈可變結構域；
- V_{H2}是第二免疫球蛋白重鏈可變結構域；
- V_{H3}是第三免疫球蛋白重鏈可變結構域；
- C_L是免疫球蛋白輕鏈恒定結構域；
- C_{H1}是免疫球蛋白C_{H1}重鏈恒定結構域；
- C_{H2}是免疫球蛋白C_{H2}重鏈恒定結構域；
- C_{H3}是免疫球蛋白C_{H3}重鏈恒定結構域；
- 鉸鏈是連接所述C_{H1}與C_{H2}結構域的免疫球蛋白鉸鏈區；並且
- L₁、L₂、L₃和L₄是胺基酸連接子；

其中式I的多肽和式II的多肽形成交叉輕鏈-重鏈對；並且其中V_{H1}和V_{L1}形成結合CD28多肽的第一抗原結合位點，其中V_{H2}和V_{L2}形成結合CD3多肽的第二抗原結合位點，並且其中V_{H3}和V_{L3}形成結合CD38多肽的第三抗原結合位點，從而使所述結合蛋白用於治療慢性病毒感染的方法，其中所述方法包括向有需要的個體投予有效量的所述結合蛋白。在一些實施例中，本文提供了用於治療慢性病毒感染的方法的結合蛋白，其中所述方法包括向有需要的個體投予有效量的所述結合蛋白，其中所述結合蛋白包含形成所述三個抗原結合位點的四條多肽鏈，其中所述結合蛋白的第一多肽鏈包含由下式表示的結構：

V_{L2}-L₁-V_{L1}-L₂-C_L [I]

並且所述結合蛋白的第二多肽鏈包含由下式表示的結構：

V_{H1}-L₃-V_{H2}-L₄-C_{H1}-鉸鏈-C_{H2}-C_{H3} [II]

並且所述結合蛋白的第三多肽鏈包含由下式表示的結構：

V_{H3}-C_{H1}-鉸鏈-C_{H2}-C_{H3} [III]

並且所述結合蛋白的第四多肽鏈包含由下式表示的結構：

V_{L3}-C_L [IV]

其中：

V_{L1}是第一免疫球蛋白輕鏈可變結構域；

V_{L2}是第二免疫球蛋白輕鏈可變結構域；

V_{L3}是第三免疫球蛋白輕鏈可變結構域；

V_{H1}是第一免疫球蛋白重鏈可變結構域；

V_{H2}是第二免疫球蛋白重鏈可變結構域；

V_{H3}是第三免疫球蛋白重鏈可變結構域；

C_L是免疫球蛋白輕鏈恒定結構域；

C_{H1}是免疫球蛋白C_{H1}重鏈恒定結構域；

C_{H2}是免疫球蛋白C_{H2}重鏈恒定結構域；

C_{H3}是免疫球蛋白C_{H3}重鏈恒定結構域；

鉸鏈是連接所述C_{H1}與C_{H2}結構域的免疫球蛋白鉸鏈區；並且

L₁、L₂、L₃和L₄是胺基酸連接子；

其中式I的多肽和式II的多肽形成交叉輕鏈-重鏈對；並且

其中V_{H1}和V_{L1}形成結合CD28多肽的第一抗原結合位點，

其中V_{H2}和V_{L2}形成結合CD3多肽的第二抗原結合位點，並且

其中V_{H3}和V_{L3}形成結合CD38多肽的第三抗原結合位點。

【0016】 在一些實施例中，所述個體是人。在一些實施例中，將所述結合蛋白以包含所述結合蛋白和醫藥上可接受的載劑的藥物配製品的形式投予至所述個體。在一些實施例中，所述結合蛋白的投予導致所述個體體內病毒特異性記憶 T 細胞的激活和/或增生。

【0017】 在可以與本文所述的任何其他實施例組合的一些實施例中，所述記憶 T 細胞是 CD8⁺或 CD4⁺記憶 T 細胞。在一些實施例中，所述記憶 T 細胞是中樞記憶 T 細胞（T_{CM}）或效應記憶 T 細胞（T_{EM}）。

【0018】 在可以與本文所述的任何其他實施例組合的一些實施例中，所述 CD28 多肽是人 CD28 多肽，其中所述 CD3 多肽是人 CD3 多肽，並且其中所述 CD38 多肽是人 CD38 多肽。

【0019】 在可以與本文所述的任何其他實施例組合的一些實施例中，所述 V_{H3} 結構域包含：含有 GYTFTSFN（SEQ ID NO: 31）的胺基酸序

列的 CDR-H1 序列、含有 IYPGNGGT (SEQ ID NO: 32) 的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 ARTGGLRRAYFTY (SEQ ID NO: 33) 的胺基酸序列的 CDR-H3 序列；並且所述 V_{L3} 結構域包含：含有 ESVDSYGNGF (SEQ ID NO: 34) 的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 LAS (SEQ ID NO: 35) 的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 QQNKEDPWT (SEQ ID NO: 36) 的胺基酸序列的 CDR-L3 序列。在一些實施例中，所述 V_{H3} 結構域包含：含有 GYTFTSYA (SEQ ID NO: 37) 的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含有 IYPGQGGT (SEQ ID NO: 38) 的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 ARTGGLRRAYFTY (SEQ ID NO: 33) 的胺基酸序列的 CDR-H3 序列；並且所述 V_{L3} 結構域包含：含有 QSVSSYGQGF (SEQ ID NO: 39) 的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 GAS (SEQ ID NO: 40) 的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 QQNKEDPWT (SEQ ID NO: 36) 的胺基酸序列的 CDR-L3 序列。在一些實施例中，所述 V_{H3} 結構域包含：含有 GFTFSSYG (SEQ ID NO: 41) 的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含有 IWYDGSNK (SEQ ID NO: 42) 的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 ARMFRGAFDY (SEQ ID NO: 43) 的胺基酸序列的 CDR-H3 序列；並且所述 V_{L3} 結構域包含：含有 QGIRND (SEQ ID NO: 44) 的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 AAS (SEQ ID NO: 45) 的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 LQDYIYYPT (SEQ ID NO: 46) 的胺基酸序列的 CDR-L3 序列。在一些實施例中，所述 V_{H3} 結構域包含

QVQLQQSGAELVRSGASVKMSCKASGYTFTSFNMHWVKETPGQGLEW
IGYIYPGNGGTNYNQKFKGKATLTADTSSSTAYMQISLTSSEDAVYFCA
RTGGLRRAYFTYWGQGTLVTVS (SEQ ID NO: 5) 的胺基酸序列，並且所述 V_{L3} 結構域包含

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGNGFMHWYQQKPGQPPK
LLIYLASNLESGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVEADDAATYYCQQNKEDP
WTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 6) 的胺基酸序列。在一些實施例中，所述 V_{H3} 結構域包含

QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCKASGYTFTSYAMHWVKEAPGQRLEW
IGYIYPGQGGTNYNQKFQGRATLTADTSASTAYMELSSLRSEDTAVYFC

ARTGGLRRAYFTYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 13) 的胺基酸序列，並且所述 V_{L3} 結構域包含

DIVLTQSPATLSLSPGERATISCRASQSVSSYGQGMHWYQQKPGQPPRL
LIYGASSRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISPLEDFAVYYCQQNKEDPWT
FGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 14) 的胺基酸序列。在一些實施例中，所述 V_{H3} 結構域包含

QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCKASGYTFTSFNMHWVKEAPGQRLEW
IGYIYPGNGGTNYNQKFQGRATLTADTSASTAYMELSSLRSEDNAVYFC
ARTGGLRRAYFTYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 17) 的胺基酸序列，並且所述 V_{L3} 結構域包含

DIVLTQSPATLSLSPGERATISCRASESVDSYGNGFMHWYQQKPGQPPRL
LIYLASSRAT

GIPARFSGSGSGTDFTLTISPLEDFAVYYCQQNKEDPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 18) 的胺基酸序列。在一些實施例中，所述 V_{H3} 結構域包含

QVQLVQSGAEVVKSGASVKVSCKASGYTFTSFNMHWVKEAPGQGLEW
IGYIYPGNGGTNYNQKFQGRATLTADTSASTAYMEISSLRSEDNAVYFC
ARTGGLRRAYFTYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 21) 的胺基酸序列，並且所述 V_{L3} 結構域包含

DIVLTQSPATLSLSPGERATISCRASESVDSYGNGFMHWYQQKPGQPPRL
LIYLASSRAT

GIPARFSGSGSGTDFTLTISPLEDFAVYYCQQNKEDPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 18) 的胺基酸序列。在一些實施例中，所述 V_{H3} 結構域包含

QVQLVQSGAEVVKPGASVKMSCKASGYTFTSFNMHWVKEAPGQRLEW
IGYIYPGNGGTNYNQKFQGRATLTADTSASTAYMEISSLRSEDNAVYFC
ARTGGLRRAYFTYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 23) 的胺基酸序列，並且所述 V_{L3} 結構域包含

DIVLTQSPATLSLSPGERATISCRASESVDSYGNGFMHWYQQKPGQPPRL

LIYLASSRAT

GIPARFSGSGSGTDFTLTISPLEPEDFAVYYCQQNKEDPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 18) 的胺基酸序列。在一些實施例中，所述 V_{H3} 結構域包含

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEW
VAVIWYDGSNKYYADSVKGRFTISGDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY
CARMFRGAFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 9) 的胺基酸序列，並且
所述 V_{L3} 結構域包含

AIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKLLIY
AASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISGLQPEDSATYYCLQDYIYYPTFGQ
GTKVEIK (SEQ ID NO: 10) 的胺基酸序列。

【0020】 在可以與本文所述的任何其他實施例組合的一些實施例中，所述 V_{H1} 結構域包含：含有 GYTFTSY (SEQ ID NO: 108) 的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含有 IYPGNVNT (SEQ ID NO: 109) 的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 TRSHYGLDWNFDV (SEQ ID NO: 110) 的胺基酸序列的 CDR-H3 序列，並且所述 V_{L1} 結構域包含：含有 QNIYVW (SEQ ID NO: 111) 的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 KAS (SEQ ID NO: 112) 的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 QQGQTYPY (SEQ ID NO: 113) 的胺基酸序列的 CDR-L3 序列。在一些實施例中，所述 V_{H1} 結構域包含：含有 GFSLSDYG (SEQ ID NO: 114) 的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含有 IWAGGGT (SEQ ID NO: 115) 的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 ARDKGYSYYYSMDY (SEQ ID NO: 116) 的胺基酸序列的 CDR-H3 序列，並且所述 V_{L1} 結構域包含：含有 ESVEYYVTSL (SEQ ID NO: 117) 的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 AAS (SEQ ID NO: 118) 的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 QQSRKVPYT (SEQ ID NO: 119) 的胺基酸序列的 CDR-L3 序列。在一些實施例中，所述 V_{H1} 結構域包含

QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCKASGYTFTSYIHWVRQAPGQGLEWI
GSIYPGNVNTNYAQKFQGRATLTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCT
RSHYGLDWNFDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 49) 的胺基酸序列，並

且所述 V_{L1} 結構域包含

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQNIYVWLNWYQQKPGKAPKLLIY
KASNLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDIATYYCQQGQTPYTFG
QGTKLEIK (SEQ ID NO: 50) 的胺基酸序列。在一些實施例中，所述 V_{H1}
結構域包含

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGFSLSDYGVHWVRQPPGKGLEWL
GVIWAGGGTNYNPSLKSRTISKDTSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCA
RDKGYSYYYSMDYWGQGTTVTVS (SEQ ID NO: 51) 的胺基酸序列，並
且所述 V_{L1} 結構域包含

DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVEYYVTSLMQWYQQKPGQPPK
LLIFAASNVESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDVANYYCQQSRKVP
YTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 52) 的胺基酸序列。

【0021】 在可以與本文所述的任何其他實施例組合的一些實施例
中，所述 V_{H2} 結構域包含：含有 GFTFTKAW (SEQ ID NO: 120) 的胺基酸
序列的 CDR-H1 序列、含有 IKDKSNSYAT (SEQ ID NO: 121) 的胺基酸序
列的 CDR-H2 序列和含有 RGVYYALSPFDY (SEQ ID NO: 122) 的胺基酸
序列的 CDR-H3 序列，並且所述 V_{L2} 結構域包含：含有 QSLVHNNANTY
(SEQ ID NO: 123) 的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 KVS (SEQ ID NO:
124) 的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 GQGTQYPFT (SEQ ID NO: 125)
的胺基酸序列的 CDR-L3 序列。在一些實施例中，所述 V_{H2} 結構域包含：含
有 GFTFTKAW (SEQ ID NO: 126) 的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含有
IKDKSNSYAT (SEQ ID NO: 127) 的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有
GVYYALSPFDY (SEQ ID NO: 128) 的胺基酸序列的 CDR-H3 序列，並且
所述 V_{L2} 結構域包含：含有 QSLVHNNGNTY (SEQ ID NO: 129) 的胺基酸
序列的 CDR-L1 序列、含有 KVS (SEQ ID NO: 130) 的胺基酸序列的 CDR-L2
序列和含有 GQGTQYPFT (SEQ ID NO: 131) 的胺基酸序列的 CDR-L3 序
列。在一些實施例中，所述 V_{H2} 結構域包含

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFTKAWMHWRQAPGKQLEW
VAQIKDKSNSYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAV

YYCRGVYYALSPFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 53) 的胺基酸序列，並且所述 V_{L2} 結構域包含

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLVHNNANTYLSWYLQKPGQSPQSLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCGQGTQYPFTFGSGTKVEIK (SEQ ID NO: 54) 的胺基酸序列。在一些實施例中，所述 V_{H2} 結構域包含

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFTKAWMHWRQAPGKGLEWVAQIKDKSNSYATYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCRGVYYALSPFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 84) 的胺基酸序列，並且所述 V_{L2} 結構域包含

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLVHNNNGNTYLSWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCGQGTQYPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 85) 的胺基酸序列。

【0022】 在可以與本文所述的任何其他實施例組合的一些實施例中， L_1 、 L_2 、 L_3 或 L_4 中的至少一個獨立地為 0 個胺基酸的長度。在一些實施例中， L_1 、 L_2 、 L_3 和 L_4 各自獨立地為零個胺基酸的長度或包含選自以下項的序列：GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 55)、GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 56)、S、RT、TKGPS (SEQ ID NO: 57)、GQPKAAP (SEQ ID NO: 58) 和 GGS GSSGSGG (SEQ ID NO: 59)。在一些實施例中， L_1 、 L_2 、 L_3 和 L_4 各自獨立地包含選自以下項的序列：GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 55)、GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 56)、S、RT、TKGPS (SEQ ID NO: 57)、GQPKAAP (SEQ ID NO: 58) 和 GGS GSSGSGG (SEQ ID NO: 59)。在一些實施例中， L_1 包含序列 GQPKAAP (SEQ ID NO: 58)， L_2 包含序列 TKGPS (SEQ ID NO: 57)， L_3 包含序列 S，並且 L_4 包含序列 RT。

【0023】 在可以與本文所述的任何其他實施例組合的一些實施例中，所述第二和所述第三多肽鏈的鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域是人 IgG4 鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域，並且其中所述鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域各自包含根據 EU 索引在對應於人 IgG4 的位置 234 和 235 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 F234A 和 L235A。在一些實施例中，所述第二和所述第三多肽鏈

的鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域是人 IgG4 鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域，並且其中所述鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域各自包含根據 EU 索引在對應於人 IgG4 的位置 233-236 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 E233P、F234V、L235A 和在 236 處的缺失。在一些實施例中，所述第二和所述第三多肽鏈的鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域是人 IgG4 鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域，並且其中所述鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域各自包含根據 EU 索引在對應於人 IgG4 的位置 228 和 409 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 S228P 和 R409K。在一些實施例中，所述第二和所述第三多肽鏈的鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域是人 IgG1 鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域，並且其中所述鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域各自包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 的位置 234、235 和 329 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 L234A、L235A 和 P329A。在一些實施例中，所述第二和所述第三多肽鏈的鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域是人 IgG1 鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域，並且其中所述鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域各自包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 的位置 298、299 和 300 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 S298N、T299A 和 Y300S。在一些實施例中，所述第二多肽鏈的鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 或 IgG4 的位置 349、366、368 和 407 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 Y349C、T366S、L368A 和 Y407V；並且其中所述第三多肽鏈的鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 或 IgG4 的位置 354 和 366 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 S354C 和 T366W。在一些實施例中，所述第二多肽鏈的鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 或 IgG4 的位置 354 和 366 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 S354C 和 T366W；並且其中所述第三多肽鏈的鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 或 IgG4 的位置 349、366、368 和 407 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 Y349C、T366S、L368A 和 Y407V。

【0024】 在某些實施例中，所述第一多肽鏈包含 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列，所述第二多肽鏈包含 SEQ ID NO: 60 的胺基酸序列，所述第三多肽鏈包含 SEQ ID NO: 62 的胺基酸序列，並且所述第四多肽鏈包含 SEQ ID NO: 63 的胺基酸序列。在某些實施例中，所述第一多肽鏈包含 SEQ ID NO:

61 的胺基酸序列，所述第二多肽鏈包含 SEQ ID NO: 64 的胺基酸序列，所述第三多肽鏈包含 SEQ ID NO: 65 的胺基酸序列，並且所述第四多肽鏈包含 SEQ ID NO: 63 的胺基酸序列。在某些實施例中，所述第一多肽鏈包含 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列，所述第二多肽鏈包含 SEQ ID NO: 66 的胺基酸序列，所述第三多肽鏈包含 SEQ ID NO: 67 的胺基酸序列，並且所述第四多肽鏈包含 SEQ ID NO: 63 的胺基酸序列。在某些實施例中，所述第一多肽鏈包含 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列，所述第二多肽鏈包含 SEQ ID NO: 60 的胺基酸序列，所述第三多肽鏈包含 SEQ ID NO: 68 的胺基酸序列，並且所述第四多肽鏈包含 SEQ ID NO: 69 的胺基酸序列。在某些實施例中，所述第一多肽鏈包含 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列，所述第二多肽鏈包含 SEQ ID NO: 64 的胺基酸序列，所述第三多肽鏈包含 SEQ ID NO: 70 的胺基酸序列，並且所述第四多肽鏈包含 SEQ ID NO: 69 的胺基酸序列。在某些實施例中，所述第一多肽鏈包含 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列，所述第二多肽鏈包含 SEQ ID NO: 66 的胺基酸序列，所述第三多肽鏈包含 SEQ ID NO: 71 的胺基酸序列，並且所述第四多肽鏈包含 SEQ ID NO: 69 的胺基酸序列。

【0025】 在可以與本文所述的任何其他實施例組合的一些實施例中，所述病毒是人類免疫缺陷病毒(HIV)、流感病毒、巨細胞病毒(CMV)、乙型肝炎病毒(HBV)、人乳頭瘤病毒(HPV)、愛滋斯坦-巴爾病毒(Epstein-barr virus)(EBV)、人泡沫病毒(HFV)、單純疱疹病毒 1(HSV-1)或單純疱疹病毒 2(HSV-2)。

【0026】 應當理解，可以將本文描述的各個實施例的一個、一些或所有特性進行組合以形成本發明的其他實施例。本發明的這些和其他態樣對於業內熟習此項技術者將變得清楚。本發明的這些和其他實施例由隨後的具體實施方式進行進一步描述。

【圖式簡單說明】

【0027】 圖 1 提供了包含四條多肽鏈的三特异性結合蛋白的示意圖，所述四條多肽鏈形成結合以下三種靶蛋白的三個抗原結合位點：CD28、CD3 和 CD38。第一對多肽擁有具有交叉取向的雙重可變結構域(VH1-VH2

和 VL2-VL1)，所述雙重可變結構域形成識別 CD3 和 CD28 的兩個抗原結合位點，並且第二對多肽擁有單一可變結構域（VH3 和 VL3），所述單一可變結構域形成識別 CD38 的單一抗原結合位點。圖 1 中所示的三特异性結合蛋白使用具有「杵臼結構（knob-into-hole）」突變的 IgG4 恒定區，其中杵位於具有單一可變結構域的第二對多肽上。

【0028】 圖 2 概述了如通過 SPR 所測量的所指示三特异性結合蛋白針對其同源抗原（人 CD3、CD28 和 CD38）的結合親和力。

【0029】 圖 3 概述了如通過 SPR 或流式細胞術（FACS）所測量的所指示的抗 CD38x 抗 CD28x 抗 CD3 三特异性結合蛋白對人 CD38 的結合親和力。

【0030】 圖 4A 至圖 4D 顯示了對響應於 CD38^{VH1}/CD3^{mid}xCD28^{sup} 三特异性抗體的體外 T 細胞亞群擴增的表徵。通過在不存在外源細胞因子的情況下用 350 ng/孔的 CD38 三特异性 Ab 塗覆井孔(coating well)來對 T 細胞亞群擴增進行評價。在所指示的時間點測量 T 細胞群。使用具有三個突變的抗原結合結構域之三特异性 Ab 作為陰性對照。使用流式細胞術確定中樞（T_{cm}）和效應記憶（T_{em}）CD4 T 細胞（圖 4A）、T 輔助細胞（Th1、Th17、Th2）（圖 4B）、中樞（T_{cm}）和效應記憶（T_{em}）CD8 T 細胞（圖 4C）以及巨細胞病毒（CMV）pp65 特异性 CD8 細胞（圖 4D），如實例 3 中所述。通過對來自用 CD38 三特异性或三重陰性對照抗體處理的 HLA-A2 CMV+ 供體的外周血單核細胞（PBMC）的五聚體染色進行對 CMV 特异性 pp65 效應細胞的分析。

【0031】 圖 5A 至圖 5B 顯示了對從 CMV 感染的供體 B 收集的 PBMC 中響應於 CD38^{VH1}/CD28^{sup} x CD3^{mid} 三特异性抗體的體外 T 細胞亞群擴增的表徵。在所指示的時間點測量 T 細胞群。使用三重突變體三特异性抗體作為陰性對照。使用流式細胞術對 CMV 特异性記憶 CD8+ T 細胞（圖 5A）以及 CMV 特异性中樞記憶（T_{cm}）和效應記憶（T_{em}）CD8+ T 細胞（圖 5B）進行定量。CD38^{VH1}/CD28^{sup} x CD3^{mid} 三特异性抗體激活 T 細胞並促進 CMV 特异性記憶 CD8+ T 細胞的增生。

【0032】 圖 6A 至圖 6B 顯示了對從 CMV 感染的供體 C 收集的 PBMC 中響應於 CD38_{VHI}/CD28^{sup} x CD3^{mid} 三特异性抗體的體外 T 細胞亞群擴增的表徵。在所指示的時間點測量 T 細胞群。使用三重突變體三特异性抗體作為陰性對照。使用流式細胞術對 CMV 特异性記憶 CD8⁺ T 細胞（圖 6A）以及 CMV 特异性中樞記憶（T_{cm}）和效應記憶（T_{em}）CD8⁺ T 細胞（圖 6B）進行定量。CD38_{VHI}/CD28^{sup} x CD3^{mid} 三特异性抗體激活 T 細胞並促進 CMV 特异性記憶 CD8⁺ T 細胞的增生。

【0033】 圖 7A 至圖 7B 顯示了對從愛滋斯坦-巴爾病毒（EBV）感染的供體 A 收集的 PBMC 中響應於 CD38_{VHI}/CD28^{sup} x CD3^{mid} 三特异性抗體的體外 T 細胞亞群擴增的表徵。在所指示的時間點測量 T 細胞群。使用三重突變體三特异性抗體作為陰性對照。使用流式細胞術對 EBV 特异性記憶 CD8⁺ T 細胞（圖 7A）以及 EBV 特异性中樞記憶（T_{cm}）和效應記憶（T_{em}）CD8⁺ T 細胞（圖 7B）進行定量。CD38_{VHI}/CD28^{sup} x CD3^{mid} 三特异性抗體激活 T 細胞並促進 EBV 特异性記憶 CD8⁺ T 細胞的增生。

【0034】 圖 8A 至圖 8B 顯示了對從 EBV 感染的供體 B 收集的 PBMC 中響應於 CD38_{VHI}/CD28^{sup} x CD3^{mid} 三特异性抗體的體外 T 細胞亞群擴增的表徵。在所指示的時間點測量 T 細胞群。使用三重突變體三特异性抗體作為陰性對照。使用流式細胞術對 EBV 特异性記憶 CD8⁺ T 細胞（圖 8A）以及 EBV 特异性中樞記憶（T_{cm}）和效應記憶（T_{em}）CD8⁺ T 細胞（圖 8B）進行定量。CD38_{VHI}/CD28^{sup} x CD3^{mid} 三特异性抗體激活 T 細胞並促進 EBV 特异性記憶 CD8⁺ T 細胞的增生。

【0035】 圖 9 顯示了在基線時（第 0 天；在與三特异性抗體一起孵育之前）針對 HIV Gag 特异性 CD8⁺ T 細胞（與 PE 綴合的 A*02:01-SLYNTVATL（HIV-1 gag p17 76-84）五聚體，ProImmune）測定的來自所指示的人類免疫缺陷病毒（HIV）陽性供體（底部圖和頂部右側圖）的 PBMC 的流式細胞術譜。使用來自 HIV 陰性供體的 PBMC 作為陰性對照（頂部左側圖）。提供了 Gag 特异性 CD8⁺ T 細胞群的百分比並顯示為插入框。在基線時，來自 HIV 陽性供體的 PBMC 含有 HIV Gag 特异性 CD8⁺ T 細胞。圖 9 中的供體 A-C 與圖 10A 至圖 12B 中所示的供體 D-F 相同。

【0036】 圖 10A 至圖 10B 顯示了對從 HIV 陽性供體 D 收集的 PBMC 中響應於 CD38_{VH1}/CD28sup x CD3mid 三特异性抗體的體外 T 細胞亞群擴增的表徵。在所指示的時間點測量 T 細胞群。使用三重突變體三特异性抗體作為陰性對照。使用流式細胞術對 HIV 特异性記憶 CD8+ T 細胞（圖 10A）以及 HIV 特异性中樞記憶（T_{cm}）和效應記憶（T_{em}）CD8+ T 細胞（圖 10B）進行定量。CD38_{VH1}/CD28sup x CD3mid 三特异性抗體激活 T 細胞並促進效應記憶（T_{em}）CD8+ T 細胞的增生。

【0037】 圖 11A 至圖 11B 顯示了對從 HIV 陽性供體 E 收集的 PBMC 中響應於 CD38_{VH1}/CD28sup x CD3mid 三特异性抗體的體外 T 細胞亞群擴增的表徵。在所指示的時間點測量 T 細胞群。使用三重突變體三特异性抗體作為陰性對照。使用流式細胞術對 HIV 特异性記憶 CD8+ T 細胞（圖 11A）以及 HIV 特异性中樞記憶（T_{cm}）和效應記憶（T_{em}）CD8+ T 細胞（圖 11B）進行定量。CD38_{VH1}/CD28sup x CD3mid 三特异性抗體激活 T 細胞並促進效應記憶（T_{em}）CD8+ T 細胞的增生。

【0038】 圖 12A 至圖 12B 顯示了對從 HIV 陽性供體 F 收集的 PBMC 中響應於 CD38_{VH1}/CD28sup x CD3mid 三特异性抗體的體外 T 細胞亞群擴增的表徵。在所指示的時間點測量 T 細胞群。使用三重突變體三特异性抗體作為陰性對照。使用流式細胞術對 HIV 特异性記憶 CD8+ T 細胞（圖 12A）以及 HIV 特异性中樞記憶（T_{cm}）和效應記憶（T_{em}）CD8+ T 細胞（圖 12B）進行定量。CD38_{VH1}/CD28sup x CD3mid 三特异性抗體激活 T 細胞並促進效應記憶（T_{em}）CD8+ T 細胞的增生。

【0039】 圖 13A 至圖 13B 顯示了對從流感感染的供體 A 收集的 PBMC 中響應於 CD38_{VH1}/CD28sup x CD3mid 三特异性抗體的體外 T 細胞亞群擴增的表徵。在所指示的時間點測量 T 細胞群。使用三重突變體三特异性抗體作為陰性對照。使用流式細胞術對流感（流行性感冒（Flu））特异性記憶 CD8+ T 細胞（圖 13A）以及流行性感冒特异性中樞記憶（T_{cm}）和效應記憶（T_{em}）CD8+ T 細胞（圖 13B）進行定量。CD38_{VH1}/CD28sup x CD3mid 三特异性抗體激活 T 細胞並促進 T_{cm} CD8+ T 細胞（例如，參見第 7 天、第 11 天）和 T_{em} CD8+ T 細胞（例如，參見第 7 天）的增生。

【實施方式】

【0040】 本公開文本提供了包含四條多肽鏈的三特異性結合蛋白，所述四條多肽鏈形成特異性結合 CD38 多肽（例如，人和食蟹猴 CD38 多肽）、CD28 多肽和 CD3 多肽的三個抗原結合位點，所述三特異性結合蛋白可以用於例如擴增記憶 T 細胞（例如，病毒特異性記憶 T 細胞）和/或治療慢性病毒感染。

I. 通用定義

【0041】 除非另有說明，否則如根據本公開文本所用，以下術語應理解為具有以下含義。除非上下文另有要求，否則單數術語應包括複數，並且複數術語應包括單數。除非上下文另有明確說明，否則如在本說明書及所附申請專利範圍中所使用的，單數形式「一種/一個（a）」、「一種/一個（an）」和「所述」包括複數指示物。因此，例如，提及「一種分子」任選地包括兩種或更多種這樣的分子的組合等。

【0042】 應理解的是，本文所述的本公開文本的態樣和實施例包括「包含（comprising）」多個態樣和實施例，「由.....組成（consisting）」以及「基本上由.....組成（consisting essentially of）」。

【0043】 如本文所用術語「多核苷酸」是指長度為至少 10 個核苷酸的單鏈或雙鏈核酸聚合物。在某些實施例中，構成多核苷酸的核苷酸可以是核糖核苷酸或脫氧核糖核苷酸或者任一類型的核苷酸的修飾形式。此類修飾包括鹼基修飾，如溴尿苷（bromuridine）；核糖修飾，如阿糖胞苷（arabinoside）和 2',3'-二脫氧核糖；和核苷酸間連接修飾，如硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、硒代磷酸酯（phosphoroselenoate）、二硒代磷酸酯、胺基硫代磷酸酯（phosphoroanilothioate）、phosphoraniladate 和胺基磷酸酯（phosphoroamidate）。術語「多核苷酸」具體地包括單鏈和雙鏈形式的 DNA。

【0044】 「分離的多核苷酸」是基因組、cDNA 或合成來源的多核苷酸或其某種組合的多核苷酸，所述分離的多核苷酸：(1) 不與在自然界中發

現其所在的多核苷酸的全部或一部分結合，(2) 與在自然界中其並不連接的多核苷酸連接，或 (3) 在自然界中不作為更大序列的一部分存在。

【0045】 「分離的多肽」是如下多肽，其：(1) 不含通常與其一起被發現的至少一些其他多肽，(2) 基本上不含來自相同來源（例如，來自相同物種）的其他多肽，(3) 由來自不同物種的細胞表現，(4) 已經從至少約 50% 的在自然界中與所述分離的多肽結合的多核苷酸、脂質、碳水化合物或其他物質分離，(5) 不與在自然界中與所述「分離的多肽」結合的多肽的部分（通過共價或非共價相互作用）結合，(6) 與在自然界中不與所述分離的多肽結合的多肽可操作地（通過共價或非共價相互作用）結合，或 (7) 在自然界中不存在。這種分離的多肽可以由基因組 DNA、cDNA、mRNA 或具有合成來源的其他 RNA 或其任何組合來編碼。較佳地，分離的多肽基本上不含在其自然環境中發現的會干擾其應用（治療、診斷、預防、研究或其他應用）的多肽或其他污染物。

【0046】 天然存在的抗體通常包含四聚體。每種這樣的四聚體通常由兩個相同的多肽鏈對構成，每一對具有一條全長「輕」鏈（通常具有約 25 kDa 的分子量）和一條全長「重」鏈（通常具有約 50-70 kDa 的分子量）。如本文所用術語「重鏈」和「輕鏈」是指具有足以賦予對靶抗原的特異性的可變結構域序列的任何免疫球蛋白多肽。每條輕鏈和重鏈的胺基末端部分通常包括約 100 至 110 或更多個胺基酸的可變結構域，所述可變結構域通常負責抗原識別。每條鏈的羧基末端部分通常定義負責效應子功能的恒定結構域。因此，在天然存在的抗體中，全長重鏈免疫球蛋白多肽包括一個可變結構域（ V_H ）和三個恒定結構域（ C_{H1} 、 C_{H2} 和 C_{H3} ），其中所述 V_H 結構域位於多肽的胺基末端並且 C_{H3} 結構域位於羧基末端，並且全長輕鏈免疫球蛋白多肽包括一個可變結構域（ V_L ）和一個恒定結構域（ C_L ），其中所述 V_L 結構域位於多肽的胺基末端並且所述 C_L 結構域位於羧基末端。

【0047】 通常將人輕鏈分類為 κ 和 λ 輕鏈，並且通常將人重鏈分類為 μ 、 δ 、 γ 、 α 或 ϵ ，並將抗體的同種型分別定義為 IgM、IgD、IgG、IgA 和 IgE。IgG 具有幾個亞類，包括但不限於 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4。IgM 具有多個亞類，包括但不限於 IgM1 和 IgM2。將 IgA 類似地細分為多個亞類，包

括但不限於 IgA1 和 IgA2。在全長輕鏈和重鏈內，可變結構域和恒定結構域通常通過約 12 個或更多個胺基酸的「J」區接合，並且重鏈還包括約 10 個或更多個胺基酸的「D」區。參見例如，*Fundamental Immunology* (Paul, W., 編輯, Raven Press, 第 2 版, 1989)，所述文獻是出於所有目的通過引用以其整體併入。每個輕/重鏈對的可變區通常形成抗原結合位點。天然存在的抗體的可變結構域通常展現通過三個高變區（也稱為互補決定區或 CDR）接合的相對保守的框架區 (FR) 的相同總體結構。來自每一對的兩條鏈的 CDR 通常通過框架區對齊，這可以使得能夠結合至特異性表位。從胺基末端到羧基末端，輕鏈和重鏈可變結構域二者通常均包含結構域 FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3 和 FR4。

【0048】術語「CDR 組」是指一組存在於能夠結合抗原的單一可變區中的三個 CDR。這些 CDR 的確切邊界已經根據不同系統以不同方式加以定義。Kabat 所述的系統 (Kabat 等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (美國國立衛生研究院 (National Institutes of Health), 貝塞斯達 (Bethesda), 馬里蘭州) (1987) 和 (1991)) 不僅提供適用於抗體的任何可變區的明確殘基編號系統，還提供定義三個 CDR 的準確殘基邊界。這些 CDR 可以被稱為 Kabat CDR。Chothia 和同事 (Chothia 和 Lesk, 1987, *J. Mol. Biol.* 196: 901-17; Chothia 等人, 1989, *Nature* 342: 877-83) 發現，雖然在胺基酸序列水平上具有顯著多樣性，但是 Kabat CDR 內的某些子部分採用幾乎相同的肽骨架構象。這些子部分被命名為 L1、L2 和 L3 或 H1、H2 和 H3，其中「L」和「H」分別指定輕鏈和重鏈區域。這些區域可以被稱為 Chothia CDR，它們具有與 Kabat CDR 重疊的邊界。與 Kabat CDR 重疊的定義 CDR 的其他邊界已經描述於以下文獻中：Padlan, 1995, *FASEB J.* 9: 133-39; MacCallum, 1996, *J. Mol. Biol.* 262(5): 732-45; 和 Lefranc, 2003, *Dev. Comp. Immunol.* 27: 55-77。仍有其他 CDR 邊界定義可能不嚴格遵循本文中的一個系統，但仍然會與 Kabat CDR 重疊，不過鑒於特定殘基或殘基組或甚至整個 CDR 不顯著影響抗原結合的預測或實驗發現，所述其他 CDR 邊界可能會被縮短或延長。本文所用方法可以利用根據這些系統中的任一個系統定義的 CDR，但是某些實施例使用 Kabat 或 Chothia 定義的 CDR。使用胺基

酸序列鑒定所預測的 CDR 是業內所熟知的，如在以下文獻中：Martin, A.C. 「Protein sequence and structure analysis of antibody variable domains,」 *In Antibody Engineering*, 第 2 卷. Kontermann R., Dübel S., 編輯 Springer-Verlag, 柏林, 第 33-51 頁 (2010)。還可以通過其他常規方法（例如，通過與其他重鏈和輕鏈可變區的已知胺基酸序列進行比較以確定具有序列超變性的區域）來檢查重鏈和/或輕鏈可變結構域的胺基酸序列以鑒定 CDR 的序列。可以通過目測，或通過採用比對程序（如 CLUSTAL 程序套件中的一種）來比對已編號的序列，如以下文獻中所述：Thompson, 1994, *Nucleic Acids Res.* 22: 4673-80。便捷地使用分子模型來正確描繪框架和 CDR 區域，並由此校正基於序列的比對。

【0049】 在一些實施例中，免疫球蛋白輕鏈或重鏈中的 CDR/FR 定義應基於 IMGT 定義（Lefranc 等人 *Dev. Comp. Immunol.*, 2003, 27(1):55-77；www.imgt.org）來確定。

【0050】 如本文所用術語「Fc」是指包含得自抗體消化或通過其他手段產生的非抗原結合片段的序列的分子，所述分子呈單體或多聚體形式，並且所述「Fc」可以含有鉸鏈區。天然 Fc 的原始免疫球蛋白來源較佳地是人來源的，並且可以是任何免疫球蛋白。Fc 分子由可通過共價（即，二硫鍵）和非共價結合連接成二聚體或多聚體形式的單體多肽組成。取決於類別（例如，IgG、IgA 和 IgE）或亞類（例如，IgG1、IgG2、IgG3、IgA1、IgGA2 和 IgG4），天然 Fc 分子的單體亞基之間分子間二硫鍵的數目在 1 至 4 範圍內。Fc 的一個例子是得自 IgG 的木瓜蛋白酶消化的二硫鍵合的二聚體。如本文所用術語「天然 Fc」是單體、二聚體和多聚體形式通用的。

【0051】 F(ab)片段通常包括一條輕鏈以及一條重鏈的 V_H和 C_{H1}結構域，其中 F(ab)片段的 V_H-C_{H1}重鏈部分無法與另一個重鏈多肽形成二硫鍵。如本文所用，F(ab)片段也可以包括含有被胺基酸連接子隔開的兩個可變結構域的一條輕鏈，以及含有被胺基酸連接子隔開的兩個可變結構域和 C_{H1}結構域的一條重鏈。

【0052】 F(ab')₂片段通常包括一條輕鏈和含有更多恒定區的一條重鏈的一部分（在 C_{H1} 與 C_{H2} 結構域之間），使得可以在兩條重鏈之間形成鏈間二硫鍵以形成 F(ab')₂ 分子。

【0053】 如本文所用術語「結合蛋白」是指非天然存在的（或重組的或工程化的）分子，所述分子與至少一種靶抗原（例如，本公開文本的 CD38 多肽）特異性地結合。

【0054】 「重組」分子是已經通過重組手段製備、表現、產生或分離的分子。

【0055】 本公開文本的一個實施例提供了對介於一種與三種之間的靶抗原具有生物和免疫特異性的結合蛋白。本公開文本的另一個實施例提供了包含核苷酸序列的核酸分子，所述核苷酸序列編碼形成此類結合蛋白的多肽鏈。本公開文本的另一個實施例提供了包含核酸分子的表現載體，所述核酸分子包含編碼形成此類結合蛋白的多肽鏈的核苷酸序列。本公開文本的又另一個實施例提供了表現此類結合蛋白（即，包含編碼形成此類結合蛋白的多肽鏈的核酸分子或載體）的宿主細胞。

【0056】 如本文所用術語「可交換性」(swapability)是指在結合蛋白形式內並且在保持折疊和最終結合親和力的情況下可變結構域的互換性。

「完全可交換性」是指在維持結合蛋白的完全功能性（如通過結合親和力的保持所證實）的同時，交換式 I 的多肽鏈或式 II 的多肽鏈中的 V_{H1} 和 V_{H2} 結構域二者的順序，並且由此交換 V_{L1} 和 V_{L2} 結構域的順序（即，顛倒所述順序）的能力。另外，應注意，名稱 V_H 和 V_L 僅是指結構域在呈最終形式的特定蛋白質鏈上的位置。例如，V_{H1} 和 V_{H2} 可以衍生自親代抗體中的 V_{L1} 和 V_{L2} 結構域並被置入結合蛋白中的 V_{H1} 和 V_{H2} 位置中。同樣，V_{L1} 和 V_{L2} 可以衍生自親代抗體中的 V_{H1} 和 V_{H2} 結構域並被置於結合蛋白中的 V_{H1} 和 V_{H2} 位置中。因此，V_H 和 V_L 名稱是指目前的位置而不是在親代抗體中的原始位置。V_H 和 V_L 結構域因此是「可交換的」。

【0057】 如本文所用術語「抗原」或「靶抗原」或「抗原靶標」是指分子或分子的一部分，所述分子或分子的一部分能夠被結合蛋白結合，並且另外能夠被用於動物中以產生能夠與該抗原的表位結合的抗體。靶抗原

可具有一個或多個表位。關於由結合蛋白識別的每種靶抗原，所述結合蛋白能夠與識別所述靶抗原的完整抗體競爭。

【0058】 「CD38」是分化簇 38 多肽，並且是在許多免疫細胞的表面上發現的糖蛋白。在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白結合一種或多種 CD38 多肽的細胞外結構域。示例性 CD38 細胞外結構域多肽序列包括但不限於人 CD38 的細胞外結構域（例如，如由 SEQ ID NO: 1 表示）和食蟹猴 CD38 的細胞外結構域（例如，如由 SEQ ID NO: 30 表示）。

【0059】 術語「T 細胞銜接器（engager）」是指針對宿主的免疫系統（更具體地針對 T 細胞的細胞毒活性）以及針對腫瘤靶蛋白的結合蛋白。

【0060】 術語「單特異性結合蛋白」是指與一種抗原靶標特異性地結合的結合蛋白。

【0061】 術語「單價結合蛋白」是指具有一個抗原結合位點的結合蛋白。

【0062】 術語「雙特異性結合蛋白」是指與兩種不同抗原靶標特異性地結合的結合蛋白。在一些實施例中，雙特異性結合蛋白與兩種不同抗原結合。在一些實施例中，雙特異性結合蛋白與相同抗原上的兩種不同表位結合。

【0063】 術語「二價結合蛋白」是指具有兩個結合位點的結合蛋白。

【0064】 術語「三特異性結合蛋白」是指與三種不同抗原靶標特異性地結合的結合蛋白。在一些實施例中，三特異性結合蛋白與三種不同抗原結合。在一些實施例中，三特異性結合蛋白與相同抗原上的一種、兩種或三種不同表位結合。

【0065】 術語「三價結合蛋白」是指具有三個結合位點的結合蛋白。在特定實施例中，三價結合蛋白可以與一種抗原靶標結合。在其他實施例中，三價結合蛋白可以與兩種抗原靶標結合。在其他實施例中，三價結合蛋白可以與三種抗原靶標結合。

【0066】 「分離的」結合蛋白是已經鑒定並且從其天然環境的組分分離和/或回收的結合蛋白。其天然環境的污染物組分是會干擾結合蛋白的診斷或治療應用的物質，並且可能包括酶、激素和其他蛋白質的或非蛋白質

的溶質。在一些實施例中，將結合蛋白純化至：(1) 如通過勞裡法 (Lowry method) 所確定的抗體重量大於 95%，並且最佳重量大於 99%，(2) 足以獲得通過使用旋杯式序列分析儀所測的至少 15 個殘基的 N 末端或內部胺基酸序列的程度，或 (3) 通過在還原或非還原條件下的 SDS-PAGE 使用考馬斯藍或較佳銀染色，達到同質。分離的結合蛋白包括重組細胞內的原位結合蛋白，因為結合蛋白的天然環境中的至少一種組分將不存在。

【0067】 如本文所用術語「基本上純的」或「基本上純化的」是指作為存在的主要種類（即，以摩爾計，其比組合物中的任何其他單獨種類更豐富）的化合物或種類。在一些實施例中，基本上純化的級分是如下組合物，在所述組合物中所述種類占存在的所有大分子種類的至少約 50%（以摩爾計）。在其他實施例中，基本上純的組合物將包含組合物中存在的大於約 80%、85%、90%、95% 或 99% 的所有大分子種類。在仍其他實施例中，將所述種類純化至基本同質（通過常規偵檢方法不能偵檢到組合物中的污染物種類），其中所述組合物基本上由單一大分子種類組成。

【0068】 術語「表位」包括能夠與免疫球蛋白或 T 細胞受體特異性地結合的任何決定簇、較佳多肽決定簇。在某些實施例中，表位決定簇包括分子的化學活性表面基團 (grouping)，如胺基酸、糖側鏈、磷醯基或磺醯基，並且在某些實施例中，可以具有特定的三維結構特徵和/或特定的電荷特徵。表位是抗原中被抗體或結合蛋白結合的區域。在某些實施例中，當結合蛋白在蛋白質和/或大分子的複雜混合物中優先識別其靶抗原時，稱結合蛋白特異性地結合抗原。在一些實施例中，當平衡解離常數 $\leq 10^{-8}$ M 時、更佳地在平衡解離常數 $\leq 10^{-9}$ M 時並且最佳地在解離常數 $\leq 10^{-10}$ M 時，稱結合蛋白特異性地結合抗原。

【0069】 結合蛋白的解離常數 (K_D) 可以例如通過表面等離子體共振來確定。通常，表面等離子體共振分析通過表面等離子體共振 (SPR) 使用 BIAcore 系統 (Pharmacia Biosensor；皮斯卡塔韋 (Piscataway)，新澤西州) 測量配體 (生物感測器基質上的靶抗原) 與分析物 (溶液中的結合蛋白) 之間的實時結合相互作用。表面等離子體分析也可以通過固定分析物

(生物感測器基質上的結合蛋白)並呈遞配體(靶抗原)來進行。如本文所用術語「 K_D 」是指特定結合蛋白與靶抗原之間的相互作用的解離常數。

【0070】 如本文所用的關於結合蛋白的術語「與.....結合」是指結合蛋白或其抗原結合片段以至少約 $1 \times 10^{-6} M$ 、 $1 \times 10^{-7} M$ 、 $1 \times 10^{-8} M$ 、 $1 \times 10^{-9} M$ 、 $1 \times 10^{-10} M$ 、 $1 \times 10^{-11} M$ 、 $1 \times 10^{-12} M$ 或更大的 K_d 與含有表位的抗原結合的能力，和/或以比所述結合蛋白或其抗原結合片段對非特異性抗原的親和力大至少兩倍的親和力與表位結合的能力。在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白與兩種或更多種抗原(例如，人和食蟹猴 CD38 多肽)結合。

【0071】 在一些實施例中，本公開文本的抗原結合結構域和/或結合蛋白與人和食蟹猴 CD38 多肽(例如，CD38 細胞外結構域，如 SEQ ID NO: 1 (人 CD38 亞型 A)、SEQ ID NO: 105 (人 CD38 亞型 E) 和 SEQ ID NO: 30 (食蟹猴 CD38))「交叉反應」。在對以下兩種抗原的 EC_{50} 在類似範圍內時，與抗原 1 (Ag1) 結合的結合蛋白可與抗原 2 (Ag2)「交叉反應」。在本申請中，當 Ag2 的親和力與 Ag1 的親和力的比率等於或小於 10 (例如 5、2、1 或 0.5) 時，與 Ag1 結合的結合蛋白可與 Ag2 交叉反應，兩種抗原的親和力是用相同方法測量的。

【0072】 在對兩種抗原的親和力極為不同時，與 Ag1 結合的結合蛋白與 Ag2「不顯著地交叉反應」。如果結合反應過低，對 Ag2 的親和力可能無法測量。在本申請中，當在相同實驗環境中和在相同抗體濃度下，結合蛋白與 Ag2 的結合反應小於相同結合蛋白與 Ag1 的結合反應的 5% 時，與 Ag1 結合的結合蛋白與 Ag2 不顯著地交叉反應。在實踐中，所用結合蛋白濃度可以是 EC_{50} 或達到用 Ag1 獲得的飽和平穩狀態所需的濃度。

【0073】 如本文所用術語「連接子」是指在免疫球蛋白結構域之間插入的一個或多個胺基酸殘基，它們為輕鏈和重鏈的結構域提供足夠的移動性，以折疊成在雙重可變區免疫球蛋白上的交叉。在序列水平上，連接子分別是在可變結構域之間或可變結構域與恒定結構域之間的過渡處插入。因為免疫球蛋白結構域的大致大小已經被充分理解，所以可以鑒定結構域之間的過渡。結構域過渡的準確位置可以通過定位沒有形成(如通過實驗數據所顯示或者如通過建模或二級結構預測的技術可以假定的)二級結構

元件（如 β 片層或 α 螺旋）的肽延伸段來確定。本文所述連接子被稱為 L_1 ，其位於 V_{L2} 結構域的 C 末端與 V_{L1} 結構域的 N 末端之間的輕鏈上；以及 L_2 ，其位於 V_{L1} 結構域的 C 末端與 C_L 結構域的 N 末端之間的輕鏈上。重鏈連接子被稱為 L_3 ，其位於 V_{H1} 結構域的 C 末端與 V_{H2} 結構域的 N 末端之間；以及 L_4 ，其位於 V_{H2} 結構域的 C 末端與 C_{H1} 結構域的 N 末端之間。

【0074】 如本文所用術語「載體」是指用於將編碼信息轉移至宿主細胞的任何分子（例如，核酸、質體或病毒）。術語「載體」包括能夠運輸已經與其連接的另一個核酸的核酸分子。一種類型的載體是「質體」，它是指可以將另外的 DNA 區段插入其中的環狀雙鏈 DNA 分子。另一種類型的載體是病毒載體，其中可以將另外的 DNA 區段插入病毒基因組中。某些載體能夠在引入它們的宿主細胞中自主複製（例如，具有細菌複製起點的細菌載體和附加型哺乳動物載體）。其他載體（例如，非附加型哺乳動物載體）可以在被引入宿主細胞中之後整合至宿主細胞的基因組中，並由此與宿主基因組一起複製。另外，某些載體能夠指導與其可操作連接的基因的表現。此類載體在本文中被稱為「重組表現載體」（或者簡單地，「表現載體」）。一般來說，用於重組 DNA 技術中的表現載體通常呈質體形式。術語「質體」和「載體」在本文中可以用互換使用，因為質體是最常用的載體形式。然而，本公開文本意圖包括發揮同等功能的其他形式的表現載體，如病毒載體（例如，複製缺陷性逆轉錄病毒、腺病毒和腺相關病毒）。

【0075】 如本文所用短語「重組宿主細胞」（或「宿主細胞」）是指已經將重組表現載體引入其中的細胞。重組宿主細胞或宿主細胞意圖不僅是指特定的個體細胞，而且是指這種細胞的子代。因為後代中可能由於突變或環境影響而發生某些修飾，所以這種子代可能實際上與親代細胞不同，但是此類細胞仍包括在如本文所用術語「宿主細胞」的範圍內。眾多種宿主細胞表現系統可以用於表現結合蛋白，所述表現系統包括細菌、酵母、杆狀病毒和哺乳動物表現系統（以及噬菌體展示表現系統）。合適的細菌表現載體的例子是 pUC19。為了重組表現結合蛋白，用攜帶編碼結合蛋白多肽鏈的 DNA 片段的一種或多種重組表現載體轉化或轉染宿主細胞，

使得在所述宿主細胞中表現所述多肽鏈並且較佳地分泌到培養所述宿主細胞的培養基中，從而可以從所述培養基回收所述結合蛋白。

【0076】 如本文所用術語「轉化」是指細胞的遺傳特徵的變化，並且當細胞被修飾而含有新 DNA 時，所述細胞已經被轉化。例如，如果細胞從其天然狀態進行遺傳修飾，則所述細胞被轉化。在轉化後，轉化 DNA 可以通過物理整合至細胞的染色體中與細胞的 DNA 重組，或者可以在不被複製的情況下短暫維持為附加型元件，或者可以作為質體獨立複製。當 DNA 隨著細胞分裂進行複製時，認為細胞已經被穩定轉化。如本文所用術語「轉染」是指細胞攝取外來或外源 DNA，並且當已經將外源 DNA 引入細胞膜內時，細胞已經被「轉染」。多種轉染技術是業內熟知的。此類技術可以用於將一種或多種外源 DNA 分子引入合適的宿主細胞中。

【0077】 如本文所用並應用於對象的術語「天然存在的」是指以下事實：所述對象可以在自然界中發現並且尚未被人操縱。例如，可以從自然界中的來源分離並且尚未被人有意修飾的存在於生物體（包括病毒）中的多核苷酸或多肽是天然存在的。類似地，如本文所用的「非天然存在的」是指在自然界中沒有發現或者已經被人進行結構修飾或合成的對象。

【0078】 如本文所用，二十種常規胺基酸和它們的縮寫遵循常規用法。二十種常規胺基酸的立體異構物（例如，d-胺基酸）；非天然胺基酸和類似物（如 α -, α -二取代胺基酸、N-烷基胺基酸、乳酸和其他非常規胺基酸）也可以是結合蛋白多肽鏈的合適組分。非常規胺基酸的例子包括：4-羥脯胺酸、 γ -羧基麩胺酸、 ϵ -N,N,N-三甲基離胺酸、 ϵ -N-乙醯基離胺酸、O-磷酸絲胺酸、N-乙醯基絲胺酸、N-甲醯基甲硫胺酸、3-甲基組胺酸、5-羥離胺酸、 σ -N-甲基精胺酸以及其他類似胺基酸和亞胺基酸（例如，4-羥脯胺酸）。在本文所用的多肽表示法中，根據標準用法和慣例，左手方向是胺基末端方向並且右手方向是羧基末端方向。

【0079】 可以基於常見側鏈特性將天然存在的殘基分為多個類別：

- (1) 疏水性的：Met、Ala、Val、Leu、Ile、Phe、Trp、Tyr、Pro；
- (2) 極性親水性的：Arg、Asn、Asp、Gln、Glu、His、Lys、Ser、Thr；
- (3) 脂肪族的：Ala、Gly、Ile、Leu、Val、Pro；

(4) 脂肪族疏水性的：Ala、Ile、Leu、Val、Pro；

(5) 中性親水性的：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；

(6) 酸性的：Asp、Glu；

(7) 鹼性的：His、Lys、Arg；

(8) 影響鏈取向的殘基：Gly、Pro；

(9) 芳香族的：His、Trp、Tyr、Phe；和

(10) 芳香族疏水性的：Phe、Trp、Tyr。

【0080】 保守胺基酸取代可以涉及這些類別中一個類別的成員與同一類別中另一個成員的交換。非保守取代可以涉及這些類別中一個類別的成員與另一個類別的成員的交換。

【0081】 熟習此項技術者將能夠使用熟知的技術確定結合蛋白多肽鏈的合適變異體。例如，業內熟習此項技術者可以通過靶向被認為對活性不重要的區域來鑒定多肽鏈中可以在不破壞活性的情況下改變的合適區域。可替代地，業內熟習此項技術者可以鑒定分子中在相似多肽之間保守的殘基和部分。另外，甚至也可以使可能對生物活性或對結構重要的區域在不破壞生物活性的情況下或在不對多肽結構造成不良影響的情況下經歷保守胺基酸取代。

【0082】 如本文所用術語「患者」包括人和動物個體（例如，哺乳動物，如狗、豬、馬、貓、牛等）。

【0083】 如本文所用術語「治療」（treatment 或 treat）是指治療性治療和預防性的或預防的措施二者。需要治療的那些包括患有障礙的那些以及易患障礙的那些或要預防障礙的那些。在特定實施例中，結合蛋白可以用於治療患有慢性病毒感染的人，或改善人類個體的慢性病毒感染。

【0084】 如本文所用術語「醫藥組合物」或「治療組合物」是指在適當投予至患者時能夠誘導所需治療效果的化合物或組合物。

【0085】 如本文所用術語「醫藥上可接受的載劑」或「生理上可接受的載劑」是指適於實現或增強結合蛋白的遞送的一種或多種配製材料。

【0086】 術語「有效量」和「治療有效量」在關於包含一種或多種結合蛋白的醫藥組合物使用時是指足以產生所需治療結果的量或劑量。更具

體地，治療有效量是足以將與所治療病症相關的一種或多種臨床上定義的病理過程抑制一定時間段的結合蛋白的量。有效量可以根據所用的特定結合蛋白而變化，並且還取決於與所治療患者和障礙的嚴重程度相關的多種因素和狀況。例如，如果要在體內投予結合蛋白，則諸如患者的年齡、體重和健康狀況以及在臨床前動物工作中獲得的劑量反應曲線和毒性數據等因素將屬於所考慮的那些因素。給定的醫藥組合物的有效量或治療有效量的確定是業內熟習此項技術者熟練掌握的。

【0087】 本公開文本的一個實施例提供包含醫藥上可接受的載劑和治療有效量的結合蛋白的醫藥組合物。

三特異性結合蛋白

【0088】 本公開文本的某些態樣涉及三特異性結合蛋白（例如，其結合 CD38、CD28 和 CD3 多肽）。本文所述的任何抗原結合蛋白的任何 CDR 或可變結構域可以用於本公開文本的三特異性結合蛋白中。

【0089】 在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白是包含四條多肽鏈的三特異性結合蛋白，所述四條多肽鏈形成結合一種或多種（例如，三種）不同抗原標靶或靶蛋白的三個抗原結合位點。在一些實施例中，第一多肽鏈包含由下式表示的結構：

$$V_{L2}-L_1-V_{L1}-L_2-C_L \quad [I]$$

並且第二多肽鏈包含由下式表示的結構：

$$V_{H1}-L_3-V_{H2}-L_4-C_{H1}-\text{鉸鏈}-C_{H2}-C_{H3} \quad [II]$$

並且第三多肽鏈包含由下式表示的結構：

$$V_{H3}-C_{H1}-\text{鉸鏈}-C_{H2}-C_{H3} \quad [III]$$

並且第四多肽鏈包含由下式表示的結構：

$$V_{L3}-C_L \quad [IV]$$

其中：

- V_{L1}是第一免疫球蛋白輕鏈可變結構域；
- V_{L2}是第二免疫球蛋白輕鏈可變結構域；
- V_{L3}是第三免疫球蛋白輕鏈可變結構域；

V_{H1} 是第一免疫球蛋白重鏈可變結構域；

V_{H2} 是第二免疫球蛋白重鏈可變結構域；

V_{H3} 是第三免疫球蛋白重鏈可變結構域；

C_L 是免疫球蛋白輕鏈恒定結構域；

C_{H1} 是免疫球蛋白 C_{H1} 重鏈恒定結構域；

C_{H2} 是免疫球蛋白 C_{H2} 重鏈恒定結構域；

C_{H3} 是免疫球蛋白 C_{H3} 重鏈恒定結構域；

鉸鏈是連接所述 C_{H1} 與 C_{H2} 結構域的免疫球蛋白鉸鏈區；並且

L_1 、 L_2 、 L_3 和 L_4 是胺基酸連接子；

其中式I的多肽和式II的多肽形成交叉輕鏈-重鏈對。在一些實施例中，第一多肽鏈和第二多肽鏈具有形成兩個不同抗原結合位點的交叉取向。

【0090】 在一些實施例中， V_{H1} 和 V_{L1} 形成結合CD28多肽的第一抗原結合位點，其中 V_{H2} 和 V_{L2} 形成結合CD3多肽的第二抗原結合位點，並且其中 V_{H3} 和 V_{L3} 形成結合CD38多肽的第三抗原結合位點。在一些實施例中，CD28多肽是人CD28多肽。在一些實施例中，CD3多肽是人CD3多肽。在一些實施例中，CD38多肽是人CD38多肽。在一些實施例中，三特异性結合蛋白包含下文所述的一個或多個抗原結合位點。

【0091】 本公開文本的結合蛋白可以使用從任何人抗體或非人抗體（包括例如，人抗體、鼠抗體或人源化抗體）獲得或衍生的結構域或序列來製備。在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白是抗體。在一些實施例中，抗體是單克隆抗體。在一些實施例中，抗體是嵌合抗體、人源化抗體或人抗體。

抗CD38結合位點

【0092】 本公開文本的某些態樣涉及包含結合CD38多肽（例如，人和食蟹猴CD38多肽）的抗原結合位點的結合蛋白。

【0093】 在一些實施例中，結合蛋白或其抗原結合片段與人CD38（例如，人CD38亞型A和/或亞型E多肽）和食蟹猴CD38交叉反應。在一些實施例中，結合蛋白誘導CD38+細胞的細胞凋亡。在一些實施例中，結合

蛋白將 T 細胞募集至 CD38+細胞並任選地（例如，通過 TCR 刺激和/或共刺激）激活 T 細胞。

【0094】 在一些實施例中，結合 CD38 的結合位點包含：抗體重鏈可變（VH）結構域，其包含含有 GYTFTSFN（SEQ ID NO: 31）或 GYTFTSYA（SEQ ID NO: 37）的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含有 IYPGNGGT（SEQ ID NO: 32）或 IYPGQGGT（SEQ ID NO: 38）的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 ARTGGLRRAYFTY（SEQ ID NO: 33）的胺基酸序列的 CDR-H3 序列；和/或抗體輕鏈可變（VL）結構域，其包含含有 ESVDSYGNGF（SEQ ID NO: 34）或 QSVSSYGQGF（SEQ ID NO: 39）的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 LAS（SEQ ID NO: 35）或 GAS（SEQ ID NO: 40）的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 QQNKEDPWT（SEQ ID NO: 36）的胺基酸序列的 CDR-L3 序列。在一些實施例中，結合 CD38 的結合位點包含：抗體重鏈可變（VH）結構域，其包含含有 GYTFTSFN（SEQ ID NO: 31）或 GYTFTSYA（SEQ ID NO: 37）的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含有 IYPGNGGT（SEQ ID NO: 32）或 IYPGQGGT（SEQ ID NO: 38）的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 ARTGGLRRAYFTY（SEQ ID NO: 33）的胺基酸序列的 CDR-H3 序列；和/或抗體輕鏈可變（VL）結構域，其包含含有 ESVDSYGNGF（SEQ ID NO: 34）或 QSVSSYGQG（SEQ ID NO: 132）的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 LAS（SEQ ID NO: 35）或 GAS（SEQ ID NO: 40）的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 QQNKEDPWT（SEQ ID NO: 36）的胺基酸序列的 CDR-L3 序列。在一些實施例中，結合蛋白包含來自以下項的抗體 VH 和/或 VL 結構域序列的 1、2、3、4、5 或 6 個 CDR：抗 CD38_C2-CD38-1、抗 CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1、抗 CD38_C2-CD38-1_VH3-VL3、抗 CD38_C2-CD38-1_VH5-VL3、抗 CD38_C2-CD38-1_VH6-VL3、CD38_{HHY1370}（在本文中也可以稱為抗 CD38₁₃₇₀）、抗 CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1xCD28supxCD3mid IgG4 FALA、抗 CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1xCD28supxCD3mid IgG1LALA P329A、抗 CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1xCD28supxCD3mid IgG1 NNSA、CD38_{HHY1370}xCD28supxCD3mid IgG4 FALA、CD38_{HHY1370}xCD28supxCD3mid

IgG1LALA P329A 或 CD38_{HHY1370}xCD28^{sup}xCD3mid IgG1 NNSA，如表 G、H 或 I 中所示。

【0095】 在一些實施例中，結合 CD38 的結合位點包含：抗體重鏈可變 (VH) 結構域，其包含含有 GYTFTSFN (SEQ ID NO: 31) 或 GYTFTSYA (SEQ ID NO: 37) 的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含有 IYPGNGGT (SEQ ID NO: 32) 或 IYPGQGGT (SEQ ID NO: 38) 的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 ARTGGLRRAYFTY (SEQ ID NO: 33) 的胺基酸序列的 CDR-H3 序列；和抗體輕鏈可變 (VL) 結構域，其包含含有 ESVDSYGNGF (SEQ ID NO: 34) 或 QSVSSYGQGF (SEQ ID NO: 39) 的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 LAS (SEQ ID NO: 35) 或 GAS (SEQ ID NO: 40) 的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 QQNKEDPWT (SEQ ID NO: 36) 的胺基酸序列的 CDR-L3 序列。

【0096】 在一些實施例中，結合 CD38 的結合位點包含：抗體重鏈可變 (VH) 結構域，其包含含有 GYTFTSFN (SEQ ID NO: 31) 的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含有 IYPGNGGT (SEQ ID NO: 32) 的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 ARTGGLRRAYFTY (SEQ ID NO: 33) 的胺基酸序列的 CDR-H3 序列；和/或抗體輕鏈可變 (VL) 結構域，其包含含有 ESVDSYGNGF (SEQ ID NO: 34) 的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 LAS (SEQ ID NO: 35) 的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 QQNKEDPWT (SEQ ID NO: 36) 的胺基酸序列的 CDR-L3 序列。在一些實施例中，結合 CD38 的結合位點包含：抗體重鏈可變 (VH) 結構域，其包含含有 GYTFTSFN (SEQ ID NO: 31) 的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含有 IYPGNGGT (SEQ ID NO: 32) 的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 ARTGGLRRAYFTY (SEQ ID NO: 33) 的胺基酸序列的 CDR-H3 序列；和抗體輕鏈可變 (VL) 結構域，其包含含有 ESVDSYGNGF (SEQ ID NO: 34) 的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 LAS (SEQ ID NO: 35) 的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 QQNKEDPWT (SEQ ID NO: 36) 的胺基酸序列的 CDR-L3 序列。在其他實施例中，結合 CD38 的結合位點包含：抗體重鏈可變 (VH) 結構域，其包含含有 GYTFTSYA (SEQ ID NO: 37) 的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含

有 IYPGQGGT (SEQ ID NO: 38) 的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 ARTGGLRRAYFTY (SEQ ID NO: 33) 的胺基酸序列的 CDR-H3 序列；和/或抗體輕鏈可變(VL)結構域，其包含含有 QSVSSYGQGF (SEQ ID NO: 39) 的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 GAS (SEQ ID NO: 40) 的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 QQNKEDPWT (SEQ ID NO: 36) 的胺基酸序列的 CDR-L3 序列。在一些實施例中，結合 CD38 的結合位點包含：抗體重鏈可變(VH)結構域，其包含含有 GYTFTSYA (SEQ ID NO: 37) 的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含有 IYPGQGGT (SEQ ID NO: 38) 的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 ARTGGLRRAYFTY (SEQ ID NO: 33) 的胺基酸序列的 CDR-H3 序列；和抗體輕鏈可變(VL)結構域，其包含含有 QSVSSYGQGF (SEQ ID NO: 39) 的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 GAS (SEQ ID NO: 40) 的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 QQNKEDPWT (SEQ ID NO: 36) 的胺基酸序列的 CDR-L3 序列。

【0097】 在一些實施例中，VH 結構域從 N 末端至 C 末端包含序列 FR1—CDR-H1—FR2—CDR-H2—FR3—CDR-H3—FR4；其中 FR1 包含序列 QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCAS (SEQ ID NO: 86)、QVQLVQSGAEVVKSGASVKVSCAS (SEQ ID NO: 87) 或 QVQLVQSGAEVVKPGASVKMSCKAS (SEQ ID NO: 88)；其中 FR2 包含序列 MHWVKEAPGQRLEWIGY (SEQ ID NO: 90) 或 MHWVKEAPGQGLEWIGY (SEQ ID NO: 91)；其中 FR3 包含序列 NYNQKFQGRATLTADTSASTAYMELSSLRSEDNAVYFC (SEQ ID NO: 93) 或 NYNQKFQGRATLTADTSASTAYMEISSLRSEDNAVYFC (SEQ ID NO: 94)；並且其中 FR4 包含序列 WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 96)。在一些實施例中，VL 結構域從 N 末端至 C 末端包含序列 FR1—CDR-L1—FR2—CDR-L2—FR3—CDR-L3—FR4；其中 FR1 包含序列 DIVLTQSPATLSLSPGERATISCRAS (SEQ ID NO: 97)；其中 FR2 包含序列 MHWYQQKPGQPRLLIY (SEQ ID NO: 99)；其中 FR3 包含序列 SRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISPLEDFAVYYC (SEQ ID NO: 101)；並且其中 FR4 包含序列 FGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 103)。

【0098】 在一些實施例中，VH 結構域包含與 SEQ ID NO: 5 的胺基酸序列至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%或 100%相同的胺基酸序列；並且/或者 VL 結構域包含與 SEQ ID NO: 6 的胺基酸序列至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%或 100%相同的胺基酸序列。在一些實施例中，VH 結構域包含與 SEQ ID NO: 17 的胺基酸序列至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%或 100%相同的胺基酸序列；並且/或者 VL 結構域包含與 SEQ ID NO: 18 的胺基酸序列至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%或 100%相同的胺基酸序列。在一些實施例中，VH 結構域包含與 SEQ ID NO: 21 的胺基酸序列至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%或 100%相同的胺基酸序列；並且/或者 VL 結構域包含與 SEQ ID NO: 18 的胺基酸序列至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%或 100%相同的胺基酸序列。在一些實施例中，VH 結構域包含與 SEQ ID NO: 23 的胺基酸序列至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%或 100%相同的胺基酸序列；並且/或者 VL 結構域包含與 SEQ ID NO: 18 的胺基酸序列至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%或 100%相同的胺基酸序列。在一些實施例中，VH 結構域包含與 SEQ ID NO: 13 的胺基酸序列至少

85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%或 100%相同的胺基酸序列；並且/或者 VL 結構域包含與 SEQ ID NO: 14 的胺基酸序列至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%或 100%相同的胺基酸序列。

【0099】 在一些實施例中，VH 結構域包含與 SEQ ID NO: 5 的胺基酸序列至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%或 100%相同的胺基酸序列；並且 VL 結構域包含與 SEQ ID NO: 6 的胺基酸序列至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%或 100%相同的胺基酸序列。在一些實施例中，VH 結構域包含與 SEQ ID NO: 17 的胺基酸序列至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%或 100%相同的胺基酸序列；並且 VL 結構域包含與 SEQ ID NO: 18 的胺基酸序列至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%或 100%相同的胺基酸序列。在一些實施例中，VH 結構域包含與 SEQ ID NO: 21 的胺基酸序列至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%或 100%相同的胺基酸序列；並且 VL 結構域包含與 SEQ ID NO: 18 的胺基酸序列至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%或 100%相同的胺基酸序列。在一些實施例中，VH 結構域包含與 SEQ ID NO: 23 的胺基酸序列至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少

93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99% 或 100% 相同的胺基酸序列；並且 VL 結構域包含與 SEQ ID NO: 18 的胺基酸序列至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99% 或 100% 相同的胺基酸序列。在一些實施例中，VH 結構域包含與 SEQ ID NO: 13 的胺基酸序列至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99% 或 100% 相同的胺基酸序列；並且 VL 結構域包含與 SEQ ID NO: 14 的胺基酸序列至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99% 或 100% 相同的胺基酸序列。

【0100】 在一些實施例中，VH 結構域包含 SEQ ID NO: 5 的胺基酸序列；並且 VL 結構域包含 SEQ ID NO: 6 的胺基酸序列。在一些實施例中，VH 結構域包含 SEQ ID NO: 17 的胺基酸序列；並且 VL 結構域包含 SEQ ID NO: 18 的胺基酸序列。在一些實施例中，VH 結構域包含 SEQ ID NO: 21 的胺基酸序列；並且 VL 結構域包含 SEQ ID NO: 18 的胺基酸序列。在一些實施例中，VH 結構域包含 SEQ ID NO: 23 的胺基酸序列；並且 VL 結構域包含 SEQ ID NO: 18 的胺基酸序列。在一些實施例中，VH 結構域包含 SEQ ID NO: 13 的胺基酸序列；並且 VL 結構域包含 SEQ ID NO: 14 的胺基酸序列。

【0101】 在一些實施例中，結合 CD38 的結合位點包含：含有 SEQ ID NO: 7 的胺基酸序列的抗體重鏈和/或含有 SEQ ID NO: 8 的胺基酸序列的抗體輕鏈。在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含：含有 SEQ ID NO: 19 的胺基酸序列的抗體重鏈和/或含有 SEQ ID NO: 20 的胺基酸序列的抗體輕鏈。在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含：含有 SEQ ID NO: 22 的胺基酸序列的抗體重鏈和/或含有 SEQ ID NO: 20 的胺基酸序列的抗體輕鏈。在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含：含有 SEQ ID NO: 24 的胺基酸序列的抗體重鏈和/或含有 SEQ ID NO: 20 的胺基酸序列的抗體輕鏈。在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含：含有 SEQ ID NO: 15

的胺基酸序列的抗體重鏈和/或含有 SEQ ID NO: 16 的胺基酸序列的抗體輕鏈。

【0102】 在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含：含有 SEQ ID NO: 7 的胺基酸序列的抗體重鏈和含有 SEQ ID NO: 8 的胺基酸序列的抗體輕鏈。在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含：含有 SEQ ID NO: 19 的胺基酸序列的抗體重鏈和含有 SEQ ID NO: 20 的胺基酸序列的抗體輕鏈。在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含：含有 SEQ ID NO: 22 的胺基酸序列的抗體重鏈和含有 SEQ ID NO: 20 的胺基酸序列的抗體輕鏈。在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含：含有 SEQ ID NO: 24 的胺基酸序列的抗體重鏈和含有 SEQ ID NO: 20 的胺基酸序列的抗體輕鏈。在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含：含有 SEQ ID NO: 15 的胺基酸序列的抗體重鏈和含有 SEQ ID NO: 16 的胺基酸序列的抗體輕鏈。

【0103】 在一些實施例中，結合 CD38 的結合位點包含：抗體重鏈可變（VH）結構域，其包含含有 GFTFSSYG（SEQ ID NO: 41）的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含有 IWYDGSNK（SEQ ID NO: 42）的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 ARMFRGAFDY（SEQ ID NO: 43）的胺基酸序列的 CDR-H3 序列；和/或抗體輕鏈可變（VL）結構域，其包含含有 QGIRND（SEQ ID NO: 44）的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 AAS（SEQ ID NO: 45）的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 LQDYIYYPT（SEQ ID NO: 46）的胺基酸序列的 CDR-L3 序列。在一些實施例中，結合 CD38 的結合位點包含：抗體重鏈可變（VH）結構域，其包含含有 GFTFSSYG（SEQ ID NO: 41）的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含有 IWYDGSNK（SEQ ID NO: 42）的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 ARMFRGAFDY（SEQ ID NO: 43）的胺基酸序列的 CDR-H3 序列；和抗體輕鏈可變（VL）結構域，其包含含有 QGIRND（SEQ ID NO: 44）的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 AAS（SEQ ID NO: 45）的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 LQDYIYYPT（SEQ ID NO: 46）的胺基酸序列的 CDR-L3 序列。

【0104】 在一些實施例中，VH 結構域從 N 末端至 C 末端包含序列 FR1—CDR-H1—FR2—CDR-H2—FR3—CDR-H3—FR4；其中 FR1 包含序

列 QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS (SEQ ID NO: 89) ; 其中 FR2 包含序列 MHWVRQAPGKGLEWVAV (SEQ ID NO: 92) ; 其中 FR3 包含序列 YYADSVKGRFTISGDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO: 95) ; 並且其中 FR4 包含序列 WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 96) 。 在一些實施例中, VL 結構域從 N 末端至 C 末端包含序列 FR1—CDR-L1—FR2—CDR-L2—FR3—CDR-L3—FR4 ; 其中 FR1 包含序列 AIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS (SEQ ID NO: 98) ; 其中 FR2 包含序列 GWYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 100) ; 其中 FR3 包含序列 SLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISGLQPEDSATYYC (SEQ ID NO: 102) ; 並且其中 FR4 包含序列 WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 104) 。

【0105】 在一些實施例中, VH 結構域包含與 SEQ ID NO: 9 的胺基酸序列至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99% 或 100% 相同的胺基酸序列 ; 並且/或者 VL 結構域包含與 SEQ ID NO: 10 的胺基酸序列至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99% 或 100% 相同的胺基酸序列。

【0106】 在一些實施例中, VH 結構域包含與 SEQ ID NO: 9 的胺基酸序列至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99% 或 100% 相同的胺基酸序列 ; 並且 VL 結構域包含與 SEQ ID NO: 10 的胺基酸序列至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99% 或 100% 相同的胺基酸序列。 在一些實施例中, VH 結構域包含 SEQ ID NO: 9 的胺基酸序列 ; 並且 VL 結構域包含 SEQ ID NO: 10 的胺基酸序列。

【0107】 在一些實施例中, 本公開文本的結合蛋白包含 : 含有 SEQ ID NO: 11 的胺基酸序列的抗體重鏈或含有 SEQ ID NO: 12 的胺基酸序列的抗

體輕鏈。在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含：含有 SEQ ID NO: 11 的胺基酸序列的抗體重鏈和含有 SEQ ID NO: 12 的胺基酸序列的抗體輕鏈。

抗 CD28 結合位點

【0108】 本公開文本的某些態樣涉及包含結合 CD28 多肽（例如，人 CD28 多肽）的抗原結合位點的結合蛋白。

【0109】 在一些實施例中，結合 CD28 的結合位點包含：抗體重鏈可變（VH）結構域，其包含含有 GYTFTSY（SEQ ID NO: 108）的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含有 IYPGNVT（SEQ ID NO: 109）的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 TRSHYGLDWNFDV（SEQ ID NO: 110）的胺基酸序列的 CDR-H3 序列；和/或抗體輕鏈可變（VL）結構域，其包含含有 QNIYVW（SEQ ID NO: 111）的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 KAS（SEQ ID NO: 112）的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 QQGQTYPY（SEQ ID NO: 113）的胺基酸序列的 CDR-L3 序列。在一些實施例中，結合 CD28 的結合位點包含：抗體重鏈可變（VH）結構域，其包含含有 GYTFTSY（SEQ ID NO: 108）的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含有 IYPGNVT（SEQ ID NO: 109）的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 TRSHYGLDWNFDV（SEQ ID NO: 110）的胺基酸序列的 CDR-H3 序列；和抗體輕鏈可變（VL）結構域，其包含含有 QNIYVW（SEQ ID NO: 111）的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 KAS（SEQ ID NO: 112）的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 QQGQTYPY（SEQ ID NO: 113）的胺基酸序列的 CDR-L3 序列。

【0110】 在一些實施例中，結合 CD28 的結合位點包含：抗體重鏈可變（VH）結構域，其包含含有 GFSLSYDG（SEQ ID NO: 114）的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含有 IWAGGGT（SEQ ID NO: 115）的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 ARDKGYSSYYSMY（SEQ ID NO: 116）的胺基酸序列的 CDR-H3 序列；和/或抗體輕鏈可變（VL）結構域，其包含含有 ESVEYYVTS（SEQ ID NO: 117）的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 AAS（SEQ ID NO: 118）的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 QQSRKVPYT（SEQ ID NO: 119）的胺基酸序列的 CDR-L3 序列。在一些實施例中，結合

CD28 的結合位點包含：抗體重鏈可變(VH)結構域，其包含含有 GFSLSDYG (SEQ ID NO: 114) 的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含有 IWAGGGT (SEQ ID NO: 115) 的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 ARDKGYSSYYSDY (SEQ ID NO: 116) 的胺基酸序列的 CDR-H3 序列；和抗體輕鏈可變(VL)結構域，其包含含有 ESVEYYVTSL (SEQ ID NO: 117) 的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 AAS (SEQ ID NO: 118) 的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 QQSRKVPYT (SEQ ID NO: 119) 的胺基酸序列的 CDR-L3 序列。

抗 CD3 結合位點

【0111】 本公開文本的某些態樣涉及包含結合 CD3 多肽（例如，人 CD3 多肽）的抗原結合位點的結合蛋白。

【0112】 在一些實施例中，結合 CD3 的結合位點包含：抗體重鏈可變(VH)結構域，其包含含有 GFTFTKAW (SEQ ID NO: 120) 的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含有 IKDKSNSYAT (SEQ ID NO: 121) 的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 RGVYYALSPFDY (SEQ ID NO: 122) 的胺基酸序列的 CDR-H3 序列；和/或抗體輕鏈可變(VL)結構域，其包含含有 QSLVHNNANTY (SEQ ID NO: 123) 的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 KVS (SEQ ID NO: 124) 的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 GQGTQYPFT (SEQ ID NO: 125) 的胺基酸序列的 CDR-L3 序列。在一些實施例中，結合 CD3 的結合位點包含：抗體重鏈可變(VH)結構域，其包含含有 GFTFTKAW (SEQ ID NO: 120) 的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含有 IKDKSNSYAT (SEQ ID NO: 121) 的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 RGVYYALSPFDY (SEQ ID NO: 122) 的胺基酸序列的 CDR-H3 序列；和抗體輕鏈可變(VL)結構域，其包含含有 QSLVHNNANTY (SEQ ID NO: 123) 的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 KVS (SEQ ID NO: 124) 的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 GQGTQYPFT (SEQ ID NO: 125) 的胺基酸序列的 CDR-L3 序列。

【0113】 在一些實施例中，結合 CD3 的結合位點包含：抗體重鏈可變(VH)結構域，其包含含有 GFTFTKAW (SEQ ID NO: 126) 的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含有 IKDKSNSYAT (SEQ ID NO: 127) 的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 GVYYALSPFDY (SEQ ID NO: 128) 的胺基酸序

列的 CDR-H3 序列；和/或抗體輕鏈可變（VL）結構域，其包含含有 QSLVHNNGNTY（SEQ ID NO: 129）的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 KVS（SEQ ID NO: 130）的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 GQGTQYPFT（SEQ ID NO: 131）的胺基酸序列的 CDR-L3 序列。

【0114】 在本公開文本的任何三特異性結合蛋白的一些實施例中，一個抗原結合結構域與 CD3 多肽（例如，人 CD3）結合並且一個抗原結合結構域與 CD28 多肽（例如，人 CD28）結合。在一些實施例中，V_{H1} 結構域包含如表 H 中所示的來自 SEQ ID NO: 49 或 51 的三個 CDR，並且 V_{L1} 結構域包含如表 H 中所示的來自 SEQ ID NO: 50 或 52 的三個 CDR。在一些實施例中，V_{H2} 結構域包含如表 H 中所示的來自 SEQ ID NO: 49 或 51 的三個 CDR，並且 V_{L2} 結構域包含如表 H 中所示的來自 SEQ ID NO: 50 或 52 的三個 CDR。在一些實施例中，V_{H1} 結構域包含如表 H 中所示的來自 SEQ ID NO: 53 或 84 的三個 CDR，並且 V_{L1} 結構域包含如表 H 中所示的來自 SEQ ID NO: 54 或 85 的三個 CDR。在一些實施例中，V_{H2} 結構域包含如表 H 中所示的來自 SEQ ID NO: 53 或 84 的三個 CDR，並且 V_{L2} 結構域包含如表 H 中所示的來自 SEQ ID NO: 54 或 85 的三個 CDR。

【0115】 在一些實施例中，V_{H1} 結構域包含 SEQ ID NO: 49 的胺基酸序列，V_{L1} 結構域包含 SEQ ID NO: 50 的胺基酸序列，V_{H2} 結構域包含 SEQ ID NO: 53 的胺基酸序列，並且 V_{L2} 結構域包含 SEQ ID NO: 54 的胺基酸序列。在一些實施例中，V_{H2} 結構域包含 SEQ ID NO: 49 的胺基酸序列，V_{L2} 結構域包含 SEQ ID NO: 50 的胺基酸序列，V_{H1} 結構域包含 SEQ ID NO: 53 的胺基酸序列，並且 V_{L1} 結構域包含 SEQ ID NO: 54 的胺基酸序列。在一些實施例中，V_{H1} 結構域包含 SEQ ID NO: 51 的胺基酸序列，V_{L1} 結構域包含 SEQ ID NO: 52 的胺基酸序列，V_{H2} 結構域包含 SEQ ID NO: 53 的胺基酸序列，並且 V_{L2} 結構域包含 SEQ ID NO: 54 的胺基酸序列。在一些實施例中，V_{H2} 結構域包含 SEQ ID NO: 51 的胺基酸序列，V_{L2} 結構域包含 SEQ ID NO: 52 的胺基酸序列，V_{H1} 結構域包含 SEQ ID NO: 53 的胺基酸序列，並且 V_{L1} 結構域包含 SEQ ID NO: 54 的胺基酸序列。

【0116】 在一些實施例中， V_{H1} 結構域包含 SEQ ID NO: 49 的胺基酸序列， V_{L1} 結構域包含 SEQ ID NO: 50 的胺基酸序列， V_{H2} 結構域包含 SEQ ID NO: 53 的胺基酸序列， V_{L2} 結構域包含 SEQ ID NO: 54 的胺基酸序列， V_{H3} 結構域包含 SEQ ID NO: 13 的胺基酸序列，並且 V_{L3} 結構域包含 SEQ ID NO: 14 的胺基酸序列。在一些實施例中， V_{H1} 結構域包含 SEQ ID NO: 49 的胺基酸序列， V_{L1} 結構域包含 SEQ ID NO: 50 的胺基酸序列， V_{H2} 結構域包含 SEQ ID NO: 53 的胺基酸序列， V_{L2} 結構域包含 SEQ ID NO: 54 的胺基酸序列， V_{H3} 結構域包含 SEQ ID NO: 9 的胺基酸序列，並且 V_{L3} 結構域包含 SEQ ID NO: 10 的胺基酸序列。

【0117】 在某些實施例中，第一多肽鏈包含與 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列至少 95% 相同的多肽序列，第二多肽鏈包含與 SEQ ID NO: 60 的胺基酸序列至少 95% 相同的多肽序列，第三多肽鏈包含與 SEQ ID NO: 62 的胺基酸序列至少 95% 相同的多肽序列，並且第四多肽鏈包含與 SEQ ID NO: 63 的胺基酸序列至少 95% 相同的多肽序列。在某些實施例中，第一多肽鏈包含與 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列至少 95% 相同的多肽序列，第二多肽鏈包含與 SEQ ID NO: 64 的胺基酸序列至少 95% 相同的多肽序列，第三多肽鏈包含與 SEQ ID NO: 65 的胺基酸序列至少 95% 相同的多肽序列，並且第四多肽鏈包含與 SEQ ID NO: 63 的胺基酸序列至少 95% 相同的多肽序列。在某些實施例中，第一多肽鏈包含與 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列至少 95% 相同的多肽序列，第二多肽鏈包含與 SEQ ID NO: 66 的胺基酸序列至少 95% 相同的多肽序列，第三多肽鏈包含與 SEQ ID NO: 67 的胺基酸序列至少 95% 相同的多肽序列，並且第四多肽鏈包含與 SEQ ID NO: 63 的胺基酸序列至少 95% 相同的多肽序列。在某些實施例中，第一多肽鏈包含與 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列至少 95% 相同的多肽序列，第二多肽鏈包含與 SEQ ID NO: 60 的胺基酸序列至少 95% 相同的多肽序列，第三多肽鏈包含與 SEQ ID NO: 68 的胺基酸序列至少 95% 相同的多肽序列，並且第四多肽鏈包含與 SEQ ID NO: 69 的胺基酸序列至少 95% 相同的多肽序列。在某些實施例中，第一多肽鏈包含與 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列至少 95% 相同的多肽序列，第二多肽鏈包含與 SEQ ID NO: 64 的胺基酸序列至少 95% 相同的多肽序列，第

三多肽鏈包含與 SEQ ID NO: 70 的胺基酸序列至少 95% 相同的多肽序列，並且第四多肽鏈包含與 SEQ ID NO: 69 的胺基酸序列至少 95% 相同的多肽序列。在某些實施例中，第一多肽鏈包含與 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列至少 95% 相同的多肽序列，第二多肽鏈包含與 SEQ ID NO: 66 的胺基酸序列至少 95% 相同的多肽序列，第三多肽鏈包含與 SEQ ID NO: 71 的胺基酸序列至少 95% 相同的多肽序列，並且第四多肽鏈包含與 SEQ ID NO: 69 的胺基酸序列至少 95% 相同的多肽序列。

【0118】 在某些實施例中，所述第一多肽鏈包含 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列，所述第二多肽鏈包含 SEQ ID NO: 60 的胺基酸序列，所述第三多肽鏈包含 SEQ ID NO: 62 的胺基酸序列，並且所述第四多肽鏈包含 SEQ ID NO: 63 的胺基酸序列。在某些實施例中，所述第一多肽鏈包含 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列，所述第二多肽鏈包含 SEQ ID NO: 64 的胺基酸序列，所述第三多肽鏈包含 SEQ ID NO: 65 的胺基酸序列，並且所述第四多肽鏈包含 SEQ ID NO: 63 的胺基酸序列。在某些實施例中，所述第一多肽鏈包含 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列，所述第二多肽鏈包含 SEQ ID NO: 66 的胺基酸序列，所述第三多肽鏈包含 SEQ ID NO: 67 的胺基酸序列，並且所述第四多肽鏈包含 SEQ ID NO: 63 的胺基酸序列。在某些實施例中，所述第一多肽鏈包含 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列，所述第二多肽鏈包含 SEQ ID NO: 60 的胺基酸序列，所述第三多肽鏈包含 SEQ ID NO: 68 的胺基酸序列，並且所述第四多肽鏈包含 SEQ ID NO: 69 的胺基酸序列。在某些實施例中，所述第一多肽鏈包含 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列，所述第二多肽鏈包含 SEQ ID NO: 64 的胺基酸序列，所述第三多肽鏈包含 SEQ ID NO: 70 的胺基酸序列，並且所述第四多肽鏈包含 SEQ ID NO: 69 的胺基酸序列。在某些實施例中，所述第一多肽鏈包含 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列，所述第二多肽鏈包含 SEQ ID NO: 66 的胺基酸序列，所述第三多肽鏈包含 SEQ ID NO: 71 的胺基酸序列，並且所述第四多肽鏈包含 SEQ ID NO: 69 的胺基酸序列。

【0119】 在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含表 G 中所示的抗體序列的 1、2、3、4、5 或 6 個 CDR 序列。在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含表 H 中所示的抗體序列的 1、2、3、4、5 或 6 個 CDR

序列、VH 結構域序列和/或 VL 結構域序列。在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含表 I 中所示的抗體序列的 1、2、3、4、5 或 6 個 CDR 序列、VH 結構域序列和/或 VL 結構域序列。在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含表 I 中所示的 1、2、3 或 4 個多肽序列。

【0120】 表 G. 抗 CD38 結合蛋白的 CDR 序列。

Ab	CDR_H1	CDR_H2	CDR_H3	CDR_L1	CDR_L2	CDR_L3
抗 CD38_C2 -CD38-1	GYTFTSFN (SEQ ID NO: 31)	IYPGNNGGT (SEQ ID NO: 32)	ARTGGLR RAYFTY (SEQ ID NO: 33)	ESVDSYG NGF (SEQ ID NO: 34)	LAS (SEQ ID NO: 35)	QQNKEDP WT (SEQ ID NO: 36)
抗 CD38_C2 -CD38-1_ VH1-VL1	GYTFTSYA (SEQ ID NO: 37)	IYPGQGGT (SEQ ID NO: 38)	ARTGGLR RAYFTY (SEQ ID NO: 33)	QSVSSYG QGF (SEQ ID NO: 39)	GAS (SEQ ID NO: 40)	QQNKEDP WT (SEQ ID NO: 36)
抗 CD38_C2 -CD38-1_ VH3-VL3	GYTFTSFN (SEQ ID NO: 31)	IYPGNNGGT (SEQ ID NO: 32)	ARTGGLR RAYFTY (SEQ ID NO: 33)	ESVDSYG NGF (SEQ ID NO: 34)	LAS (SEQ ID NO: 35)	QQNKEDP WT (SEQ ID NO: 36)
抗 CD38_C2 -CD38-1_ VH5-VL3	GYTFTSFN (SEQ ID NO: 31)	IYPGNNGGT (SEQ ID NO: 32)	ARTGGLR RAYFTY (SEQ ID NO: 33)	ESVDSYG NGF (SEQ ID NO: 34)	LAS (SEQ ID NO: 35)	QQNKEDP WT (SEQ ID NO: 36)
抗 CD38_C2	GYTFTSFN (SEQ ID	IYPGNNGGT (SEQ ID	ARTGGLR RAYFTY	ESVDSYG NGF (SEQ ID	LAS (SEQ ID	QQNKEDP WT

-CD38-1_ VH6-VL3	NO: 31)	NO: 32)	(SEQ ID NO: 33)	(SEQ ID NO: 34)	NO: 35)	(SEQ ID NO: 36)
CD38 _{HHY1} 370	GFTTFSSYG (SEQ ID NO: 41)	IWYDGSNK (SEQ ID NO: 42)	ARMFRG AFDY (SEQ ID NO: 43)	QGIRND (SEQ ID NO: 44)	AAS (SEQ ID NO: 45)	LQDYIYY PT(SEQ ID NO: 46)

【0121】 表 H. 抗 CD38 和其他結合蛋白的可變結構域序列。

Ab	VH (蛋白質)	VL (蛋白質)
抗 CD38_C2- CD38-1	QVQLQQSGAELVRSGASVKMSCK AS <u>GYTFTSF</u> NMHWVKETPGQGLE WIGY <u>IYPGN</u> GGTNYNQKFKGKAT LTADTSSSTAYMQISLTSEDSAV YFC <u>ARTGGLRRAYFTY</u> WGQGT VTVSS (SEQ ID NO:5)	DIVLTQSPASLAVSLGQRATIS CRASE <u>SVD</u> SYGN <u>GFM</u> HWYQQ KPGQPPKLLIY <u>LASN</u> LESGVPA RFSGSGSRTDFTLTIDPVEADD AATYYC <u>QONKEDPWTF</u> GGGT KLEIK (SEQ ID NO:6)
抗 CD38_C2- CD38-1_ VH1-VL1	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCK AS <u>GYTFTSY</u> AMHWVKEAPGQRL EWIGY <u>IYPGQ</u> GGTNYNQKFQGRA TLTADTSASTAYMELSSLRSEDTA VYFC <u>ARTGGLRRAYFTY</u> WGQGT LVTVSS (SEQ ID NO:13)	DIVLTQSPATLSLSPGERATISC RAS <u>QSVSSYGQ</u> GFMHWYQQK PGQPPRLLIY <u>GASS</u> RAT GIPARFSGSGSGTDFTLTISP PEDFAVYYC <u>QONKEDPWTF</u> G GGTKLEIK (SEQ ID NO:14)
抗 CD38_C2-	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCK AS <u>GYTFTSF</u> NMHWVKEAPGQRL	DIVLTQSPATLSLSPGERATISC RASE <u>SVD</u> SYGN <u>GFM</u> HWYQQK

Ab	VH (蛋白質)	VL (蛋白質)
CD38-1_ VH3-VL3	WIGYI <u>YPGNGGT</u> NYNQKFQGRAT LTADTSASTAYMELSSLRSED TAVYFC <u>ARTGGLRRAYFTY</u> WGQGT LVTVSS (SEQ ID NO:17)	PGQPPRLLIY <u>LASS</u> RAT GIPARFSGSGSGTDFTLTISPLE PEDFAVYYC <u>QONKEDPWTF</u> G GGTKLEIK (SEQ ID NO:18)
抗 CD38_C2- CD38-1_ VH5-VL3	QVQLVQSGAEVVKSGASVKV SCKASGYT <u>FTSF</u> NMHWVKEAPGQGL EWIGYI <u>YPGNGGT</u> NYNQKFQGRA TLTADTSASTAYMEISSLRSE DTAVYFC <u>ARTGGLRRAYFTY</u> WGQGT LVTVSS (SEQ ID NO:21)	DIVLTQSPATLSLSPGERATIS CRA <u>SEVDSYGN</u> GFMHWYQK KPGQPPRLLIY <u>LASS</u> RAT GIPARFSGSGSGTDFTLTISPLE PEDFAVYYC <u>QONKEDPWTF</u> G GGTKLEIK (SEQ ID NO:18)
抗 CD38_C2- CD38-1_ VH6-VL3	QVQLVQSGAEVVKPGASVKMS CKASGYT <u>FTSF</u> NMHWVKEAPGQRL EWIGYI <u>YPGNGGT</u> NYNQKFQGRAT LTADTSASTAYMEISSLRSE DTAVYFC <u>ARTGGLRRAYFTY</u> WGQGT LVTVSS (SEQ ID NO:23)	DIVLTQSPATLSLSPGERATIS CRA <u>SEVDSYGN</u> GFMHWYQK KPGQPPRLLIY <u>LASS</u> RAT GIPARFSGSGSGTDFTLTISPLE PEDFAVYYC <u>QONKEDPWTF</u> G GGTKLEIK (SEQ ID NO:18)
CD38 _{HHY1} 370	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLS CAASG <u>FTFSSY</u> GMHWVRQAPGKGL EWVAVI <u>WYDGSN</u> KYYADSVKGR FTISGDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYC <u>ARMFRGAFDY</u> WGQGT LVTVSS (SEQ ID NO:9)	AIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRAS <u>QGIRND</u> LGWYQKPGK APKLLIYA <u>AAS</u> LQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISGLQPEDSATY Y <u>CLQDYIYYPT</u> FGQG TKVEIK (SEQ ID NO:10)

Ab	VH (蛋白質)	VL (蛋白質)
抗 CD38_SB 19	QVQLVQSGAEVAKPGTSVKLSCK ASGYTFTDYWMQWVKQRPQGGL EWIGTIYPGDGDTGYAQKFQGKA TLTADKSSKTVYMHLSLASEDSA VYYCARGDYYGSNSLDYWGQGT SVTVSS (SEQ ID NO:47)	DIVMTQSHLSMSTSLGDPVSIT CKASQDVSTVVAWYQQKPGQ SPRRLIYSASYRYIGVPDRFTGS GAGTDFTFTISSVQAEDLAVY YCQQHYSPPYTFGGGGTKLEIK (SEQ ID NO:48)
抗CD28 ^{sup}	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCK ASGYTFTSY Y IHWVRQAPGGGLE WIGSI Y PGNVNTNYAQKFQGRAT LTVDTISISTAYMELSRLRSDDTAV YYC TRSHYGLDWNFDV WGKGT VTVSS (SEQ ID NO:49)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT CQAS Q <u>NIYVW</u> LNWYQQKPGK APKLLIY K ASNLHTGVPSRFSG SGSGTDFLTISLQPEDIATYY C Q <u>Q</u> Q <u>G</u> T <u>Y</u> P <u>Y</u> T FGQGGTKLEIK (SEQ ID NO:50)
抗CD28 ^{cvn}	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTV S G <u>F</u> S <u>L</u> S <u>D</u> <u>Y</u> G VHWVRQPPGKGLE WLGVI W <u>A</u> G <u>G</u> <u>G</u> <u>T</u> NYNPSLKS R KTI SKDTSKNQVSLKLSSVTAADTAV YYC A <u>R</u> D<u>K</u><u>G</u><u>Y</u><u>S</u><u>Y</u><u>Y</u><u>S</u><u>M</u><u>D</u><u>Y</u>WGQG TTVTVSS (SEQ ID NO:51)	DIVLTQSPASLAVSPGQRATIT CRASE S <u>V</u> E <u>Y</u> <u>Y</u> <u>V</u> <u>T</u> <u>S</u> <u>L</u> <u>M</u> <u>Q</u> <u>W</u> <u>Y</u> <u>Q</u> <u>Q</u> KPGQPPKLLIFA A <u>S</u> <u>N</u> <u>V</u> <u>E</u> <u>S</u> <u>G</u> <u>V</u> <u>P</u> <u>A</u> RFSGSGSGTDFLTINPVEAND VANYYC Q <u>Q</u> S <u>R</u> <u>K</u> <u>V</u> <u>P</u> <u>Y</u> <u>T</u> FGQGT KLEIK (SEQ ID NO:52)
抗CD3 _{mid}	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCA ASGFTFT K <u>A</u> <u>W</u> MHWVRQAPGKQL EWVAQ I <u>K</u> D<u>K</u><u>S</u><u>N</u><u>S</u><u>Y</u><u>A</u><u>T</u>YYADSVK GRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAE	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISC KSS Q <u>S</u> <u>L</u> <u>V</u> <u>H</u> <u>N</u> <u>N</u> <u>A</u> <u>N</u> <u>T</u> <u>Y</u> <u>L</u> <u>S</u> <u>W</u> <u>Y</u> <u>L</u> <u>Q</u> KPGQSPQSLIY K <u>V</u> <u>S</u> <u>N</u> <u>R</u> <u>F</u> <u>S</u> <u>G</u> <u>V</u> <u>P</u> <u>D</u> RFSGSGSGTDFTLKISRVEAED

Ab	VH (蛋白質)	VL (蛋白質)
	DTAVYYC <u>RGVYYALSPFDYWGQ</u> GTLVTVSS (SEQ ID NO:53)	VGVYYC <u>GQGTQYPFT</u> FGSGT KVEIK (SEQ ID NO:54)
抗CD3 _{low}	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCA <u>ASGFTFTKAW</u> MHWVRQAPGKGL EWVA <u>QIKDKSNSYAT</u> YYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYC <u>RGVYYALSPFDYWGQ</u> GTLVTVSS (SEQ ID NO: 84)	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISC <u>KSSQSLVHN</u> NGNTYLSWYLQ KPGQSPQLLIY <u>KVS</u> NRFSGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRVEAED VGVYYC <u>GQGTQYPFT</u> FGGGT KVEIK (SEQ ID NO: 85)

注意：在上文胺基酸序列中，CDR序列為粗體並加下劃線。

【0122】 表 I. 結合蛋白的全長序列。

抗CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1x CD28supxCD3mid IgG4 FALA		
CD28supxCD3mid IgG4 (白) FALA重鏈1 (例如，本公開文本的三 特異性結合蛋白的第二 多肽鏈)	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSC KASGYTF TSYYIHWVRQAPGQGLEWIGSIYPGNVNTN YAQKFQGRATLTVDTSISTAYMELSLRLSD DTAVYYCTRSHYGLDWNFDVWGKGTTVT VSSSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASG FTFTKAWMHWVRQAPGKQLEWVAQIKDK SNSYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCRGVYYALSPFDYWG QGTLVTVSSRTASTKGPSVFPLAPCSRSTSE STAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTY	SEQ ID NO: 60

	TCNVDDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPA PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVCT LPPSQEEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSLG	
CD28^{sup}xCD3^{mid}輕鏈1 (例如，本公開文本的三 特異性結合蛋白的第一 多肽鏈)	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLVH NNANTYLSWYLQKPGQSPQSLIKVSNRFS GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVY YCGQGTQYPFTFGSGTKVEIKGQPKAAPDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQNIYVW LNWYQQKPGKAPKLLIYKASNLHTGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDIATYYCQQGQT YPYTFGQGTKLEIKTKGPSRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	SEQ ID NO: 61
抗 CD38 C2-CD38-1 VH1-	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCKASGYTF TSYAMHWVKEAPGQRLEWIGYIYPGQGGT	SEQ ID NO: 62

VL1 IgG4 (杵) FALA重鏈2 (例如，本公開文本的三 特異性結合蛋白的第三 多肽鏈)	NYNQKFQGRATLTADTSASTAYMELSSLRS EDTAVYFCARTGGLRRAYFTYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKP SNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKG LPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCQEEM TKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRW QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG	
抗 CD38_C2-CD38-1_VH1- VL1輕鏈2 (例如，本公開文本的三 特異性結合蛋白的第四 多肽鏈)	DIVLTQSPATLSLSPGERATISCRASQSVSSY GQGFMHWYQQKPGQPPRLLIYGASSRATGI PARFSGSGSGTDFTLTISPLEDFAVYYCQ QNKEDPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	SEQ ID NO: 63
抗CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1xCD28supxCD3mid IgG1LALA P329A		
CD28supxCD3mid IgG1	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCKASGYTF	SEQ ID

(白) LALA P329A重鏈 1 (例如，本公開文本的三 特異性結合蛋白的第二 多肽鏈)	TSYYIHWVRQAPGQGLEWIGSIYPGNVNTN YAQKFQGRATLTVDTISISTAYMELSRLRSD DTAVYYCTRSHYGLDWNFDVWGKGTTVT VSSSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASG FTFTKAWMHWVRQAPGKQLEWVAQIKDK SNSYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCRGVYYALSPFDYWG QGTLVTVSSRTASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPRE PQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFF LVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	NO: 64
CD28supxCD3mid輕鏈1 (例如，本公開文本的三 特異性結合蛋白的第一 多肽鏈)	參見上文。	SEQ ID NO: 61

抗 CD38_C2-CD38-1_VH1- VL1 IgG1 (杵) LALA P329A重鏈2 (例如，本公開文本的三 特異性結合蛋白的第三 多肽鏈)	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCKASGYTF TSYAMHWVKEAPGQRLEWIGYIYPGQGGT NYNQKFQGRATLTADTSASTAYMELSSLRS EDTAVYFCARTGGLRRAYFTYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRD ELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PG	SEQ ID NO: 65
抗 CD38_C2-CD38-1_VH1- VL1輕鏈2 (例如，本公開文本的三 特異性結合蛋白的第四 多肽鏈)	參見上文。	SEQ ID NO: 63
抗CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1xCD28supxCD3mid IgG1 NNSA		

CD28supxCD3mid IgG1 (白) NNSA重鏈1 (例如，本公開文本的三 特異性結合蛋白的第二 多肽鏈)	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCKASGYTF TSYYIHWVRQAPGQGLEWIGSIYPGNVNTN YAQKFQGRATLTVDTSISTAYMELSRLRSD DTAVYYCTRSHYGLDWNFDVWGKGTTVT VSSSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASG FTFTKAWMHWRQAPGKQLEWVAQIKDK SNSYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCRGVYYALSPFDYWG QGTLTVSSRTASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNNASRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLVS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 66
CD28supxCD3mid輕鏈1 (例如，本公開文本的三 特異性結合蛋白的第一	參見上文。	SEQ ID NO: 61

多肽鏈)		
抗 CD38_C2-CD38-1_VH1- VL1 IgG1 (杵) NNSA重 鏈2 (例如, 本公開文本的三 特異性結合蛋白的第三 多肽鏈)	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCKASGYTF TSYAMHWVKEAPGQRLEWIGYIYPGQGGT NYNQKFQGRATLTADTSASTAYMELSSLRS EDTAVYFCARTGGLRRAYFTYWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NNASRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPG	SEQ ID NO: 67
CD38VH1輕鏈2 (例如, 本公開文本的三 特異性結合蛋白的第四 多肽鏈)	參見上文。	SEQ ID NO: 63
CD38 _{HHY1370} XCD28supxCD3mid IgG4 FALA		
CD28supxCD3mid IgG4	參見上文。	SEQ ID

(白) FALA重鏈1 (例如，本公開文本的三 特異性結合蛋白的第二 多肽鏈)		NO: 60
CD28^{sup}xCD3^{mid}輕鏈1 (例如，本公開文本的三 特異性結合蛋白的第一 多肽鏈)	參見上文。	SEQ ID NO: 61
CD38^{HHY1370} IgG4 (杵) FALA重鏈2 (例如，本公開文本的三 特異性結合蛋白的第三 多肽鏈)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS SYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNK YYADSVKGRFTISGDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARMFRGAFDYWGQGLTVTVSS ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNT KVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPCQEEMTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG	SEQ ID NO: 68

CD38_{HHY1370}輕鏈2 (例如，本公開文本的三 特異性結合蛋白的第四 多肽鏈)	AIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRN DLGWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISGLQPEDSATYYCLQDY IYYPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNFPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C	SEQ ID NO: 69
CD38_{HHY1370} xCD28supxCD3mid IgG1LALA P329A		
CD28supxCD3mid IgG1 (白) LALA P329A重鏈 1 (例如，本公開文本的三 特異性結合蛋白的第二 多肽鏈)	參見上文。	SEQ ID NO: 64
CD28supxCD3mid輕鏈1 (例如，本公開文本的三 特異性結合蛋白的第一 多肽鏈)	參見上文。	SEQ ID NO: 61
CD38_{HHY1370} IgG1 (杵) LALA P329A重鏈2 (例如，本公開文本的三 特異性結合蛋白的第三	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS SYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNK YYADSVKGRFTISGDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARMFRGAFDYWGQGLTVTVSS	SEQ ID NO: 70

多肽鏈)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDE LTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP G	
CD38 ^{HHY1370} 輕鏈2 (例如，本公開文本的三 特異性結合蛋白的第四 多肽鏈)	參見上文。	SEQ ID NO: 69
CD38 ^{HHY1370} xCD28supxCD3mid IgG1 NNSA		
CD28supxCD3mid IgG1 (白) NNSA重鏈1 (例如，本公開文本的三 特異性結合蛋白的第二 多肽鏈)	參見上文。	SEQ ID NO: 66
CD28supxCD3mid輕鏈1	參見上文。	SEQ ID

(例如，本公開文本的三 特異性結合蛋白的第一 多肽鏈)		NO: 61
CD38_{HHY1370} IgG1 (杵) NNSA重鏈2 (例如，本公開文本的三 特異性結合蛋白的第三 多肽鏈)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS SYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNK YYADSVKGRFTISGDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARMFRGAFDYWGQGTLLTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN NASRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRD ELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PG	SEQ ID NO: 71
CD38_{HHY1370}輕鏈2 (例如，本公開文本的三 特異性結合蛋白的第四 多肽鏈)	參見上文。	SEQ ID NO: 69

抗CD38_C2-CD38-1單價抗體		
抗CD38_C2-CD38-1重鏈	QVQLQQSGAELVRSGASVKMSCKASGYTF TSFNMHWVKETPGQGLEWIGYIYPGNGGT NYNQKFKGKATLTADTSSSTAYMQISSLTS EDSAVYFCARTGGLRRAYFTYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLA GPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSGSEFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP G	SEQ ID NO: 7
抗CD38_C2-CD38-1輕鏈	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDS YGNGFMHWYQQKPGQPPLLIYLASNLES GVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVEADDAATY YCQQNKEDPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLS	SEQ ID NO: 8

	TLTLISKADYEHKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC	
抗CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1單價抗體		
抗 CD38_C2-CD38-1_VH1- VL1重鏈	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCKASGYTF TSYAMHWVKEAPGQRLEWIGYIYPGQGGT NYNQKFQGRATLTADTSASTAYMELSSLRS EDTAVYFCARTGGLRRAYFTYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLA GPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSGSEFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP G	SEQ ID NO: 15
抗 CD38_C2-CD38-1_VH1- VL1輕鏈	DIVLTQSPATLSLSPGERATISCRASQSVSSY GQGFMHWYQQKPGQPPRLLIYGASSRAT GIPARFSGSGSGTDFTLTISPLEDFAVYYC QQNKEDPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVF	SEQ ID NO: 16

	IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC	
抗CD38_C2-CD38-1_VH3-VL3單價抗體		
抗 CD38_C2-CD38-1_VH3- VL3重鏈	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCKASGYTF TSFNMHWVKEAPGQRLEWIGYIYPGNGGT NYNQKFQGRATLTADTSASTAYMELSSLRS EDTAVYFCARTGGLRRAYFTYWGQGTLLV VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLA GPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPLPEEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP G	SEQ ID NO: 19
抗 CD38_C2-CD38-1_VH3-	DIVLTQSPATLSLSPGERATISCRASESVDSY GNGFMHWYQQKPGQPPRLLIYLASSRAT	SEQ ID NO: 20

VL3輕鏈	GIPARFSGSGSGTDFTLTISPLEDFAVYYC QQNKEDPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSS TLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC	
抗CD38_C2-CD38-1_VH5-VL3單價抗體		
抗 CD38_C2-CD38-1_VH5- VL3重鏈	QVQLVQSGAEVVKSGASVKVSCKASGYTF TSFNMHWVKEAPGQGLEWIGYIYPGNGGT NYNQKFQGRATLTADTSASTAYMEISSLRS EDTAVYFCARTGGLRRAYFTYWGQGTLLV VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLA GPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP G	SEQ ID NO: 22

抗 CD38_C2-CD38-1_VH5- VL3輕鏈	DIVLTQSPATLSLSPGERATISCRASESVDSY GNGFMHWYQQKPGQPPRLLIYLASSRAT GIPARFSGSGSGTDFTLTISPLEDFAVYYC QQNKEDPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLS TLTSLKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC	SEQ ID NO: 20
抗CD38_C2-CD38-1_VH6-VL3單價抗體		
抗 CD38_C2-CD38-1_VH6- VL3重鏈	QVQLVQSGAEVVKPGASVKMSCKASGYTF TSFNMHWVKEAPGQRLEWIGYIYPGNGGT NYNQKFQGRATLTADTSASTAYMEISSLRS EDTAVYFCARTGGLRRAYFTYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLA GPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVQLHQLDNLNGKEYKCKVSN KALPLPEEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR	SEQ ID NO: 24

	WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP G	
抗 CD38_C2-CD38-1_VH6- VL3輕鏈	DIVLTQSPATLSLSPGERATISCRASESVDSY GNGFMHWYQQKPGQPPRLLIYLASSRAT GIPARFSGSGSGTDFTLTISPLEDFAVYYC QQNKEDPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSS TLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC	SEQ ID NO: 20
CD38 _{HHY1370} 單價抗體		
CD38 _{HHY1370} 重鏈	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS SYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKN YYADSVKGRFTISGDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARMFRGAFDYWGQGLTVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVHLQDNLNKEYCKVSNK ALPLPEEKTKAKAGQPREPQVYTLPPSRDE	SEQ ID NO: 11

	LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
CD38 ^{HHY1370} 輕鏈	AIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRN DLGWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISGLQPEDSATYYCLQD YIYYPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	SEQ ID NO: 12
抗CD38_SB19單價抗體		
抗CD38_SB19重鏈	QVQLVQSGAEVAKPGTSVKLSCKASGYTFT DYWMQWVKQRPGQGLEWIGTIYPGDGDT GYAQKFQGKATLTADKSSKTVYMHLSSLA SEDSAVYYCARGDYYGSNSLDYWGQGTSV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVVS	SEQ ID NO: 107

	NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	
抗CD38_SB19輕鏈	DIVMTQSHLSMSTSLGDPVSITCKASQDVST VVAWYQQKPGQSPRRLIYSASYRYIGVPDR FTGSGAGTDFTFTISSVQAEDLAVYYCQQH YSPPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	SEQ ID NO: 106

【0123】 表 J. 結合蛋白的全長多核苷酸序列。

抗CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1xCD28supxCD3mid IgG4 FALA		
CD28supxCD3mid IgG4 (白) FALA重鏈1 (例如，編碼本公開文本 的三特異性結合蛋白的第 二多肽鏈)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGA GGTCGTGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGG TGTCCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTT ACCAGCTACTACATCCACTGGGTGCGCCA GGCCCCCTGGACAGGGACTGGAATGGATC GGCAGCATCTACCCCGGCAACGTGAACA CCAACTACGCCCAGAAGTTCCAGGGCAG	SEQ ID NO: 72

	AGCCACCCTGACCGTGGACACCAGCATCA GCACCGCCTACATGGAAGTGAAGCGGCTG AGAAGCGACGACACCGCCGTGTACTACT GCACCCGGTCCCCTACGGCCTGGATTGG AACTTCGACGTGTGGGGCAAGGGCACCA CCGTGACAGTGTCTAGCAGCCAGGTGCAG CTGGTGGAATCTGGCGGCGGAGTGGTG AGCCTGGCAGAAGCCTGAGACTGAGCTG TGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCACCAAGG CCTGGATGCACTGGGTGCGCCAGGCCCT GGAAAGCAGCTGGAATGGGTGGCCCAGA TCAAGGACAAGAGCAACAGCTACGCCAC CTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGG TTCACCATCAGCCGGGACGACAGCAAGA ACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTG CGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTG TCGGGGCGTGTACTATGCCCTGAGCCCCT TCGATTACTGGGGCCAGGGAACCCTCGTG ACCGTGTCTAGTCGGACCGCCAGCACAAA GGGCCCATCGGTGTTCCCTCTGGCCCCTT GCAGCAGAAGCACCAGCGAATCTACAGC CGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACT TTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAAC	
--	---	--

	TCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCACAC CTTTCCAGCCGTGCTCCAGAGCAGCGGCC TGTA CTCTCTGAGCAGCGTCGTGACAGTG CCCAGCAGCAGCCTGGGCACCAAGACCT ACACCTGTAACGTGGACCACAAGCCCAG CAACACCAAGGTGGACAAGCGGGTGGA TCTAAGTACGGCCCTCCCTGCCCTCCTTG CCCAGCCCCTGAAGCTGCCGGCGGACCCT CCGTGTTCTGTGTTCCCCCAAAGCCCAAG GACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGA AGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCC AGGAAGATCCCGAGGTGCAGTTCAATTG GTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAAC GCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGT TCAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTG CTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAA CGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCC AACAAGGGCCTGCCCAGCTCCATCGAGA AAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCC CCGCGAGCCTCAAGTGTGTACCCTGCCCC CTAGCCAGGAAGAGATGACCAAGAACCA GGTGTCCCTGAGCTGTGCCGTGAAAGGCT TCTACCCCAGCGACATTGCCGTGGAATGG	
--	--	--

	GAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACACT ACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGC GACGGCTCATTCTTCCTGGTGTCCAAGCT GACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAA GGCAACGTGTTTCAGCTGCTCCGTGATGCA CGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAG AAGTCCCTGTCTCTGTCCCTGGGC	
CD28supxCD3mid輕鏈1 (例如，編碼本公開文本 的三特異性結合蛋白的第 一多肽鏈)	GACATCGTGATGACCCAGACCCCCCTGAG CCTGAGCGTGACACCTGGACAGCCTGCCA GCATCAGCTGCAAGAGCAGCCAGAGCCT GGTGCACAACAACGCCAACACCTACCTG AGCTGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGA GCCCCCAGTCCCTGATCTACAAGGTGTCC AACAGATTCAGCGGCGTGCCCGACAGATT CTCCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCA CCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAAGCCGA GGACGTGGGCGTGTACTATTGTGGCCAGG GCACCCAGTACCCCTTCACCTTTGGCAGC GGCACCAAGGTGGAAATCAAGGGCCAGC CCAAGGCCGCCCCCGACATCCAGATGACC CAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCCAGCGT GGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCAG GCCAGCCAGAACATCTACGTGTGGCTGAA	SEQ ID NO: 73

	CTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCC CCCAAGCTGCTGATCTACAAGGCCAGCAA CCTGCACACCGGCGTGCCCAGCAGATTTT CTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACC CTGACAATCAGCTCCCTGCAGCCCGAGGA CATTGCCACCTACTACTGCCAGCAGGGCC AGACCTACCCCTACACCTTTGGCCAGGGC ACCAAGCTGGAAATCAAGACCAAGGGCC CCAGCCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTG TTCATCTTCCCACCTAGCGACGAGCAGCT GAAGTCCGGCACAGCCTCTGTCGTGTGCC TGCTGAACAACTTCTACCCCCGCGAGGCC AAAGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCC TGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAAAGCGT GACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACC TACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACACTGAG CAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTG TACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCT GTCTAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACC GGGGCGAGTGT	
抗 CD38_C2-CD38-1_VH1- VL1 IgG4 (杵) FALA重	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGA AGTCGTGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGG TGTCCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTT	SEQ ID NO: 74

鏈2 (例如，編碼本公開文本 的三特異性結合蛋白的第 三多肽鏈)	ACCAGCTACGCCATGCACTGGGTCAAAG AGGCCCCTGGCCAGAGACTGGAATGGAT CGGCTACATCTACCCCGGCCAGGGCGGCA CCAACTACAACCAGAAGTTCCAGGGCAG AGCCACCCTGACCGCCGATACAAGCGCC AGCACCGCCTACATGGAAGTGAAGCAGCCT GCGGAGCGAGGATACCGCCGTGTACTTCT GTGCCAGAACAGGCGGCCTGAGGCGGGC CTACTTTACCTATTGGGGCCAGGGCACCC TCGTGACCGTGTCTAGCGCTAGCACAAAG GGCCCATCGGTGTTCCCTCTGGCCCCTTG CAGCAGAAGCACCGCGAATCTACAGCC GCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTT TCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAAGT CTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGACACACC TTTCCAGCCGTGCTCCAGAGCAGCGGCCT GTACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACAGTGC CCAGCAGCAGCCTGGGCACCAAGACCTA CACCTGTAACGTGGACCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGCGGGTGAAT CTAAGTACGGCCCTCCCTGCCCTCCTTGC CCAGCCCCTGAAGCTGCCGGCGGACCCTC CGTGTTCCCTGTTCCCCCAAAGCCCAAGG	
---	---	--

	ACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAA GTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCA GGAAGATCCCGAGGTGCAGTTCAATTGGT ACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGC CAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTTC AACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCT GACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAAC GGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCA ACAAGGGCCTGCCCAGCTCCATCGAGAA AACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCC CGCGAGCCTCAAGTGTATACCCTGCCCCC TTGCCAGGAAGAGATGACCAAGAACCAG GTGTCCCTGTGGTGTCTCGTGAAAGGCTT CTACCCCAGCGACATTGCCGTGGAATGGG AGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAATA CAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCG ACGGCTCATTCTTCCTGTACTCCAAGCTG ACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAAG GCAACGTGTTTCAGCTGCTCCGTGATGCAC GAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGA AGTCCCTGTCTCTGTCCCTGGGC	
--	--	--

抗	GACATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCAC	SEQ ID
CD38_C2-CD38-1_VH1-	CCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAGAGAGCCA	NO: 75
VL1輕鏈2	CCATCAGCTGTAGAGCCAGCCAGAGCGT	
(例如，編碼本公開文本	GTCCAGCTACGGCCAGGGCTTCATGCACT	
的三特異性結合蛋白的第	GGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCC	
四多肽鏈)	CAGACTGCTGATCTATGGCGCCAGCAGCA	
	GAGCCACAGGCATCCCCGCCAGATTTTCT	
	GGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCT	
	GACAATCAGCCCCCTGGAACCCGAGGAC	
	TTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGAACAA	
	AGAGGACCCCTGGACCTTCGGCGGAGGC	
	ACCAAGCTGGAAATCAAGCGTACGGTGG	
	CCGCTCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCACCT	
	AGCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACAG	
	CCTCTGTCGTGTGCCTGCTGAACAACCTC	
	TACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGA	
	AGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGCAA	
	CAGCCAGGAAAGCGTGACCGAGCAGGAC	
	AGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCA	
	GCACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGATTAC	
	GAGAAGCACAAAGGTGTACGCCTGCGAAG	
	TGACCCACCAGGGCCTGTCTAGCCCCGTG	
	ACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGC	

抗CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1xCD28supxCD3mid IgG1LALA P329A		
CD28supxCD3mid IgG1	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGA	SEQ ID
(白) LALA P329A重鏈1	GGTCGTGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGG	NO: 76
(例如，編碼本公開文本	TGTCCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTT	
的三特異性結合蛋白的第	ACCAGCTACTACATCCACTGGGTGCGCCA	
二多肽鏈)	GGCCCCTGGACAGGGACTGGAATGGATC	
	GGCAGCATCTACCCCGGCAACGTGAACA	
	CCAACTACGCCCAGAAGTTCCAGGGCAG	
	AGCCACCCTGACCGTGGACACCAGCATCA	
	GCACCGCCTACATGGAAGTGGAGCCGGCTG	
	AGAAGCGACGACACCGCCGTGTACTACT	
	GCACCCGGTCCCACTACGGCCTGGATTGG	
	AACTTCGACGTGTGGGGCAAGGGCACCA	
	CCGTGACAGTGTCTAGCAGCCAGGTGCAG	
	CTGGTGGAATCTGGCGGCGGAGTGGTGC	
	AGCCTGGCAGAAGCCTGAGACTGAGCTG	
	TGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCACCAAGG	
	CCTGGATGCACTGGGTGCGCCAGGCCCT	
	GGAAAGCAGCTGGAATGGGTGGCCCAGA	
	TCAAGGACAAGAGCAACAGCTACGCCAC	
	CTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGG	
	TTCACCATCAGCCGGGACGACAGCAAGA	
	ACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTG	

	CGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTG TCGGGGCGTGTACTATGCCCTGAGCCCCT TCGATTACTGGGGCCAGGGAACCCCTCGTG ACCGTGTCTAGTCGGACCGCCAGCACAAA GGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCTA GCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGC CGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACT TTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAAT TCTGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACAC CTTTCCAGCTGTGCTGCAGTCCAGCGGCC TGTACAGCCTGAGCAGCGTCGTGACAGTG CCCAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTA CATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAAC CCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTG TCCCCCTTGTCTGCCCCCGAAGCCGCCG GAGGCCCTTCCGTGTTCTGTTCCCCCCA AAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCC GGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTG GATGTGTCCACGAGGACCCTGAAGTGA AGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAA GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCAAGAG AGGAACAGTACAACAGCACCTACCGGGT	
--	--	--

	GGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGG ACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTG CAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGGCCGCCC CCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAA GGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTGC ACACTGCCCCCAAGCAGGGACGAGCTGA CCAAGAACCAGGTGTCCCTGAGCTGTGCC GTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGC CGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGCCC GAGAACAACCTACAAGACCACCCCCCTGT GCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGG TGTCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGG TGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCTC CGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACT ACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCC GGC	
CD28supxCD3mid輕鏈1 (例如，編碼本公開文本 的三特异性結合蛋白的第 一多肽鏈)	參見上文。	SEQ ID NO: 73
抗 CD38_C2-CD38-1_VH1- VL1 IgG1 (杵) LALA	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGA AGTCGTGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGG TGTCCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTT	SEQ ID NO: 77

P329A重鏈2 (例如，編碼本公開文本 的三特異性結合蛋白的第 三多肽鏈)	ACCAGCTACGCCATGCACTGGGTCAAAG AGGCCCCTGGCCAGAGACTGGAATGGAT CGGCTACATCTACCCCGGCCAGGGCGGCA CCAACTACAACCAGAAGTTCCAGGGCAG AGCCACCCTGACCGCCGATACAAGCGCC AGCACCGCCTACATGGAACTGAGCAGCCT GCGGAGCGAGGATACCGCCGTGTACTTCT GTGCCAGAACAGGCGGCCTGAGGCGGGC CTACTTTACCTATTGGGGCCAGGGCACCC TCGTGACCGTGTCTAGCGCTAGCACAAAG GGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCTAG CAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCC GCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTT TCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAATT CTGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCC TTCCAGCTGTGCTGCAGTCCAGCGGCCT GTACAGCCTGAGCAGCGTCGTGACAGTGC CCAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTAC ATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCA ACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACC CAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGT CCCCCTTGTCTGCCCCCGAAGCCGCCGG AGGCCCTTCCGTGTTCCCTGTTCCCCCAA	
--	---	--

	AGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCG GACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGG ATGTGTCCACGAGGACCCTGAAGTGAA GTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAG TGCACAACGCCAAGACCAAGCCAAGAGA GGAACAGTACAACAGCACCTACCGGGTG GTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGA CTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGC AAGGTGTCCAACAAGGCCCTGGCCGCCCC CATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAG GGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACA CACTGCCCCCATGCAGGGACGAGCTGACC AAGAACCAGGTGTCCCTGTGGTGTCTGGT GAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCG TGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGA GAACA ACTACAAGACCACCCCCCTGTGC TGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTAC TCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGGTG GCAGCAGGGCAACGTGTT CAGCTGCTCCG TGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTAC ACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCCGG C	
--	--	--

抗 CD38_C2-CD38-1_VH1- VL1輕鏈2 (例如，編碼本公開文本 的三特異性結合蛋白的第 四多肽鏈)	參見上文。	SEQ ID NO: 75
抗CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1xCD28supxCD3mid IgG1 NNSA		
CD28supxCD3mid IgG1 (白) NNSA重鏈1 (例如，編碼本公開文本 的三特異性結合蛋白的第 二多肽鏈)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGA GGTCGTGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGG TGTCCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTT ACCAGCTACTACATCCACTGGGTGCGCCA GGCCCCTGGACAGGGACTGGAATGGATC GGCAGCATCTACCCCGGCAACGTGAACA CCAACTACGCCCAGAAGTTCCAGGGCAG AGCCACCCTGACCGTGGACACCAGCATCA GCACCGCCTACATGGAAGTGAAGCCGGCTG AGAAGCGACGACACCGCCGTGTACTACT GCACCCGGTCCCACTACGGCCTGGATTGG AACTTCGACGTGTGGGGCAAGGGCACCA CCGTGACAGTGTCTAGCAGCCAGGTGCAG CTGGTGGAATCTGGCGGCGGAGTGGTG AGCCTGGCAGAAGCCTGAGACTGAGCTG TGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCACCAAGG	SEQ ID NO: 78

	CCTGGATGCACTGGGTGCGCCAGGCCCT GGAAAGCAGCTGGAATGGGTGGCCAGA TCAAGGACAAGAGCAACAGCTACGCCAC CTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGG TTCACCATCAGCCGGGACGACAGCAAGA ACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTG CGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTG TCGGGGCGTGTACTATGCCCTGAGCCCCT TCGATTACTGGGGCCAGGGAACCCTCGTG ACCGTGTCTAGTCGGACCGCCAGCACAAA GGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCTA GCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGC CGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACT TTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAAT TCTGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACAC CTTCCAGCTGTGCTGCAGTCCAGCGGCC TGTACAGCCTGAGCAGCGTCGTGACAGTG CCCAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTA CATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAAC CCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTG TCCCCCTTGTCTGCCCCGAACTGCTGG GAGGCCCTTCCGTGTTCTGTTCCCCCA	
--	---	--

	AAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCC GGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTG GATGTGTCCACGAGGACCCTGAAGTGA AGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGA GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCAAGAG AGGAACAGTACAACAATGCCTCCCGGGT GGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGG ACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTG CAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCC CCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAA GGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTGC ACACTGCCCCCAAGCAGGGACGAGCTGA CCAAGAACCAGGTGTCCCTGAGCTGTGCC GTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGC CGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGCCC GAGAACAAC TACAAGACCACCCCCCTGT GCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGG TGTCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGG TGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCTC CGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACT ACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCC GGC	
--	---	--

CD28^{sup}xCD3^{mid}輕鏈1 (例如，編碼本公開文本 的三特異性結合蛋白的第 一多肽鏈)	參見上文。	SEQ ID NO: 73
抗 CD38_C2-CD38-1_VH1- VL1 IgG1 (杵) NNSA重 鏈2 (例如，編碼本公開文本 的三特異性結合蛋白的第 三多肽鏈)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGA AGTCGTGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGG TGTCCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTT ACCAGCTACGCCATGCACTGGGTCAAAG AGGCCCTGGCCAGAGACTGGAATGGAT CGGCTACATCTACCCCGGCCAGGGCGGCA CCAACTACAACCAGAAGTTCCAGGGCAG AGCCACCCTGACCGCCGATACAAGCGCC AGCACCGCCTACATGGAAGTGAAGCAGCCT GCGGAGCGAGGATACCGCCGTGTACTTCT GTGCCAGAACAGGCGGCCTGAGGCGGGC CTACTTTACCTATTGGGGCCAGGGCACCC TCGTGACCGTGTCTAGCGCTAGCACAAAG GGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCG GCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTT CCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAAGT CAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACAC CTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGAC	SEQ ID NO: 79

	TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTG CCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTA CATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCA ACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCC CAAATCTTGTGACAAAACACACATGCC CACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGG GGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCC AAA ACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGAC GTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGT TCAACTGGTATGTTGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGG AGCAGTACAACAATGCCTCCCGTGTGGTC AGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTG GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAG GTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCAT CGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGG CAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCT GCCCCCATGCCGGGATGAGCTGACCAAG AATCAAGTCAGCCTGTGGTGCCTGGTAAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGG AGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAA CAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGG	
--	---	--

	ACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACTCAA AACTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCA GCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACG CAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGT	
抗 CD38_C2-CD38-1_VH1- VL1輕鏈2 (例如，編碼本公開文本 的三特异性結合蛋白的第 四多肽鏈)	參見上文。	SEQ ID NO: 75
CD38 _{HHY1370} xCD28supxCD3mid IgG4 FALA		
CD28supxCD3mid IgG4 (白) FALA重鏈1 (例如，編碼本公開文本 的三特异性結合蛋白的第 二多肽鏈)	參見上文。	SEQ ID NO: 72
CD28supxCD3mid輕鏈1 (例如，編碼本公開文本 的三特异性結合蛋白的第 一多肽鏈)	參見上文。	SEQ ID NO: 73
CD38 _{HHY1370} IgG4 (杵) FALA重鏈2	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAG GCGTGGTGCAGCCTGGCAGGTCTCTGAGA	SEQ ID NO: 80

(例如，編碼本公開文本 的三特異性結合蛋白的第 三多肽鏈)	CTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTT CAGCAGCTACGGAATGCACTGGGTGCGC CAGGCCCCTGGCAAAGGACTGGAATGGG TGGCCGTGATTTGGTACGACGGCAGCAAC AAGTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCC GGTTCACCATCAGCGGCGACAACAGCAA GAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCC TGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTAC TGCGCCAGAATGTTCAGAGGCGCCTTCGA CTACTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCG TGTCTAGTGCGTCGACCAAGGGCCCATCG GTGTTCCCTCTGGCCCCTTGCAGCAGAAG CACCAGCGAATCTACAGCCGCCCTGGGCT GCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCC GTGACCGTGTCCTGGA ACTCTGGCGCTCT GACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCG TGCTCCAGAGCAGCGGCCTGTACTCTCTG AGCAGCGTCGTGACAGTGCCCAGCAGCA GCCTGGGCACCAAGACCTACACCTGTAAC GTGGACCACAAGCCCAGCAACACCAAGG TGGACAAGCGGGTGAATCTAAGTACGG CCCTCCCTGCCCTCCTTGCCCAGCCCCTG AAGCTGCCGGCGGACCCTCCGTGTTCTG	
--	--	--

	TTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGAT GATCAGCCGGACCCCGAAGTGACCTGC GTGGTGGTGGATGTGTCCCAGGAAGATCC CGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACG GCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAA GCCCAGAGAGGAACAGTTCAACAGCACC TACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCT GCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAG TACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGGCC TGCCCAGCTCCATCGAGAAAACCATCAGC AAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAGCCTC AAGTGTATACCCTGCCCCCTTGCCAGGAA GAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGT GGTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCAGC GACATTGCCGTGGAATGGGAGAGCAACG GCCAGCCCGAGAACAACACTACAAGACCAC CCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCAT TCTTCCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGAC AAGAGCCGGTGGCAGGAAGGCAACGTGT TCAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTG CACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTC TCTGTCCCTGGGC	
--	---	--

CD38_{HHY1370}輕鏈2 (例如，編碼本公開文本 的三特異性結合蛋白的第 四多肽鏈)	GCCATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCA GCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTG ACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGGGCAT CCGGAACGACCTGGGCTGGTATCAGCAG AAGCCTGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGAT CTACGCCGCTAGCTCTCTGCAGTCCGGCG TGCCCAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCC GGCACCGACTTCACCCTGACAATCTCTGG CCTGCAGCCCGAGGACAGCGCCACCTACT ACTGTCTGCAAGACTACATCTACTACCCC ACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAA TCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTG TTCATCTTCCACCTAGCGACGAGCAGCT GAAGTCCGGCACAGCCTCTGTCTGTGCC TGCTGAACAACCTTCTACCCCCGCGAGGCC AAAGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCC TGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAAAGCGT GACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACC TACAGCCTGAGCAGCACCTGACACTGAG CAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTG TACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCT GTCTAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACC GGGGCGAGTGT	SEQ ID NO: 81
---	---	------------------------------------

CD38 ^{HHV1370} XCD28 ^{sup} xCD3 ^{mid} IgG1LALA P329A		
CD28 ^{sup} xCD3 ^{mid} IgG1 (白) LALA P329A重鏈1 (例如，編碼本公開文本 的三特異性結合蛋白的第 二多肽鏈)	參見上文。	SEQ ID NO: 76
CD28 ^{sup} xCD3 ^{mid} 輕鏈1 (例如，編碼本公開文本 的三特異性結合蛋白的第 一多肽鏈)	參見上文。	SEQ ID NO: 73
CD38 ^{HHV1370} IgG1 (杵) LALA P329A重鏈2 (例如，編碼本公開文本 的三特異性結合蛋白的第 三多肽鏈)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAG GCGTGGTGCAGCCTGGCAGGTCTCTGAGA CTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTT CAGCAGCTACGGAATGCACTGGGTGCGC CAGGCCCCTGGCAAAGGACTGGAATGGG TGGCCGTGATTTGGTACGACGGCAGCAAC AAGTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCC GGTTCACCATCAGCGGCGACAACAGCAA GAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCC TGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTAC TGCGCCAGAATGTTCAGAGGCGCCTTCGA CTACTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCG TGTCTAGTGCGTGCGACCAAGGGCCCCAGC	SEQ ID NO: 82

	GTGTTCCCTCTGGCCCCTAGCAGCAAGAG CACATCTGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCT GCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCC GTGACCGTGTCTCTGGAATTCTGGCGCCCT GACCAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCTG TGCTGCAGTCCAGCGGCCTGTACAGCCTG AGCAGCGTCGTGACAGTGCCCAGCAGCTC TCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACG TGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGC GACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTC TGCCCCCGAAGCCGCCGGAGGCCCTTCCG TGTTCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGAC ACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAAGT GACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACG AGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTAC GTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCA AGACCAAGCCAAGAGAGGAACAGTACAA CAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGA CCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGC AAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACA AGGCCCTGGCCGCCCCCATCGAGAAAAC CATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGC	
--	---	--

	GAACCCCAGGTGTACACACTGCCCCCATG CAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTG TCCCTGTGGTGTCTGGTGAAAGGCTTCTA CCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGA GCAACGGCCAGCCCGAGAACAACACTACAA GACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACG GCTCATTCTTCCTGTACTCCAAGCTGACA GTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCA ACGTGTTCACTGCTCCGTGATGCACGAG GCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTC CCTGAGCCTGAGCCCCGGC	
CD38_{HHY1370}輕鏈2 (例如，編碼本公開文本 的三特異性結合蛋白的第 四多肽鏈)	參見上文。	SEQ ID NO: 81
CD38_{HHY1370}xCD28supxCD3mid IgG1 NNSA		
CD28supxCD3mid IgG1 (白) NNSA重鏈1 (例如，編碼本公開文本 的三特異性結合蛋白的第 二多肽鏈)	參見上文。	SEQ ID NO: 78
CD28supxCD3mid輕鏈1 (例如，編碼本公開文本	參見上文。	SEQ ID NO: 73

的三特異性結合蛋白的第一多肽鏈)		
CD38^{HHY1370} IgG1 (杵) NNSA重鏈2 (例如，編碼本公開文本 的三特異性結合蛋白的第三多肽鏈)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAG GCGTGGTGCAGCCTGGCAGGTCTCTGAGA CTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTT CAGCAGCTACGGAATGCACTGGGTGCGC CAGGCCCTGGCAAAGGACTGGAATGGG TGGCCGTGATTTGGTACGACGGCAGCAAC AAGTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCC GGTTCACCATCAGCGGCGACAACAGCAA GAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCC TGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTAC TGCGCCAGAATGTTCAGAGGCGCCTTCGA CTACTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCG TGTCTAGTGCGTCGACCAAGGGCCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAG CACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCT GCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCG GTGACGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCT GACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTC AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAG CTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACG	SEQ ID NO: 83

	TGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGT GACAAAACCTCACACATGCCCACCGTGCCC AGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCA GTCTTCCTCTTCCCCCAAACCCAAGGA CACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGG TCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAC GAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTA TGTTGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCA AGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAA CAATGCCTCCCGTGTGGTCAGCGTCCTCA CCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGC AAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACA AAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACC ATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAG AACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATGC CGGGATGAGCTGACCAAGAATCAAGTCA GCCTGTGGTGCCTGGTAAAAGGCTTCTAT CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGA GCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAA GACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACG GCTCCTTCTCCTCTACTCAAACTCACCG TGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAA	
--	---	--

	CGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGG CTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAG CCTCTCCCTGTCTCCGGGT	
CD38_{HHY1370}輕鏈2 (例如，編碼本公開文本 的三特异性結合蛋白的第 四多肽鏈)	參見上文。	SEQ ID NO: 81

CD38 多肽

【0124】 在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含結合人 CD38 多肽的細胞外結構域和食蟹猴 CD38 多肽的細胞外結構域的抗原結合位點。用於確定抗原結合位點是否結合抗原的示例性測定描述于本文中並且是業內已知的。在一些實施例中，結合是通過 ELISA 測定來確定的，例如，如下文所述。在一些實施例中，結合是通過 SPR 測定來確定的，例如，如下文所述。在一些實施例中，結合是通過流式細胞術測定使用在其細胞表面上表現 CD38 多肽的細胞來確定的，例如，如下文所述。

【0125】 在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白結合包含 SEQ ID NO: 1 和/或 30 的胺基酸序列的純化的多肽或其片段（例如，如通過 ELISA 或 SPR 所測量）。在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白結合當在細胞表面上表現時包含 SEQ ID NO: 1 和/或 30 的胺基酸序列的多肽（例如，如通過流式細胞術所測量）。

【0126】 在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白與 CD38 亞型 A 多肽（例如，包含 SEQ ID NO: 1 的胺基酸序列）結合。在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白與 CD38 亞型 E 多肽（例如，包含 SEQ ID NO: 105 的胺基酸序列並且不包含 SEQ ID NO: 1 的完整胺基酸序列，由 SEQ ID NO: 105 的胺基酸序列組成，或者基本上由 SEQ ID NO: 105 的胺基酸序列組成）結合。在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白與 CD38 亞型 A 多肽（例

如，包含 SEQ ID NO: 1 的胺基酸序列) 和 CD38 亞型 E 多肽 (例如，包含 SEQ ID NO: 105 的胺基酸序列並且不包含 SEQ ID NO: 1 的完整胺基酸序列，由 SEQ ID NO: 105 的胺基酸序列組成，或者基本上由 SEQ ID NO: 105 的胺基酸序列組成) 結合。不希望受理論束縛，認為與 CD38 亞型 E 多肽結合可以例如，在使本公開文本的結合蛋白靶向表現 CD38 亞型 E 多肽的一種或多種細胞方面是有利的。

人 CD38 亞型 A 細胞外結構域多肽序列

【0127】 RWRQQWSGPGTTKRFPETVLARCVKYTEIHPEMRHVD
CQSVWDAFKGAFISKHPCNITEEDYQPLMKLGTQTVPCNKILLWSRIKD
LAHQFTQVQRDMFTLEDTLGLYLADDLTWCGEFNTSKINYQSCPDWRK
DCSNNPVSVFWKTVSRRFAEAACDVVHVMLNGSRSKIFDKNSTFGSVE
VHNLQPEKVQTTLEAWVIHGGREDSRDLCQDPTIKELESIISKRNIFSCK
NIYRPDKFLQCVKNPEDSSCTSEI (SEQ ID NO:1)

人 CD38 亞型 E 多肽序列

【0128】 RWRQQWSGPGTTKRFPETVLARCVKYTEIHPEMRHVD
CQSVWDAFKGAFISKHPCNITEEDYQPLMKLGTQTVPCNKILLWSRIKD
LAHQFTQVQRDMFTLEDTLGLYLADDLTWCGEFNTSKINYQSCPDWRK
DCSNNPVSVFWKTVSRRHFWECGSP (SEQ ID NO:105)

【0129】 在一些實施例中，人 CD38 多肽的細胞外結構域包含 SEQ ID NO: 1 的胺基酸序列。在一些實施例中，食蟹猴 CD38 多肽的細胞外結構域包含 SEQ ID NO: 30 的胺基酸序列。

食蟹猴 CD38 多肽序列

【0130】 RWRQQWSGSGTTSRFPETVLARCVKYTEVHPEMRHVD
CQSVWDAFKGAFISKYPCNITEEDYQPLVKLGTQTVPCNKTLWSRIKD
LAHQFTQVQRDMFTLEDMLLGLYLADDLTWCGEFNTFEINYQSCPDWRK

DCSNNPVSVFWKTVSRRFAETACGVVHVMLNGSRSKIFDKNSTFGSVE
VHNLQPEKVQALEAWVIHGGREDSDLCQDPTIKELESIIISKRNIRFFCK
NIYRPDKFLQCVKNPEDSSCLSGI (SEQ ID NO:30)

連接子

【0131】 在一些實施例中，連接子 L_1 、 L_2 、 L_3 和 L_4 在無胺基酸（長度 = 0）至約 100 個胺基酸的長度的範圍內，或小於 100、50、40、30、20 或 15 個胺基酸或更小。連接子還可以是 10、9、8、7、6、5、4、3、2 或 1 個胺基酸的長度。一種結合蛋白中的 L_1 、 L_2 、 L_3 和 L_4 可以都具有相同胺基酸序列或者可以都具有不同胺基酸序列。

【0132】 合適的連接子的例子包括單個甘胺酸（Gly）殘基；二甘胺酸肽（Gly-Gly）；三肽（Gly-Gly-Gly）；具有四個甘胺酸殘基的肽；具有五個甘胺酸殘基的肽；具有六個甘胺酸殘基的肽；具有七個甘胺酸殘基的肽；和具有八個甘胺酸殘基的肽。可以使用胺基酸殘基的其他組合，如肽 GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 55)、肽 GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 56)、肽 TKGPS (SEQ ID NO: 57)、肽 GQPKAAP (SEQ ID NO: 58) 和肽 GGS GSS GSGG (SEQ ID NO: 59)。上文列出的例子不意圖以任何方式限制本公開文本的範圍，並且已經顯示包含選自以下項的隨機選擇的胺基酸的連接子在結合蛋白中是合適的：纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、離胺酸、精胺酸、組胺酸、天門冬胺酸、麩胺酸、天門冬醯胺酸、麩醯胺酸、甘胺酸和脯胺酸。對於連接子序列的其他描述，參見例如，WO 2012135345 和國際申請號 PCT/US2017/027488。

【0133】 連接子中胺基酸殘基的身份和序列可以根據連接子中需要實現的二級結構元件的類型而變化。例如，甘胺酸、絲胺酸和丙胺酸對於具有最大柔性的連接子是最佳的。如果需要剛性更強且延長的連接子，則可使用甘胺酸、脯胺酸、蘇胺酸和絲胺酸的一些組合。根據所需的特性，必要時可以將任何胺基酸殘基與其他胺基酸殘基的組合視為連接子，以構建較大肽連接子。

【0134】 在一些實施例中， L_1 、 L_2 、 L_3 或 L_4 中至少一個獨立地為0個胺基酸的長度。在一些實施例中， L_1 、 L_2 、 L_3 或 L_4 各自獨立地為至少一個胺基酸的長度。在一些實施例中， L_1 的長度是 L_3 的長度的至少兩倍。在一些實施例中， L_2 的長度是 L_4 的長度的至少兩倍。在一些實施例中， L_1 的長度是 L_3 的長度的至少兩倍，並且 L_2 的長度是 L_4 的長度的至少兩倍。在一些實施例中， L_1 為3至12個胺基酸殘基的長度， L_2 為3至14個胺基酸殘基的長度， L_3 為1至8個胺基酸殘基的長度，並且 L_4 為1至3個胺基酸殘基的長度。在一些實施例中， L_1 為5至10個胺基酸殘基的長度， L_2 為5至8個胺基酸殘基的長度， L_3 為1至5個胺基酸殘基的長度，並且 L_4 為1至2個胺基酸殘基的長度。在一些實施例中， L_1 為7個胺基酸殘基的長度， L_2 為5個胺基酸殘基的長度， L_3 為1個胺基酸殘基的長度，並且 L_4 為2個胺基酸殘基的長度。在一些實施例中， L_1 為10個胺基酸殘基的長度， L_2 為10個胺基酸殘基的長度， L_3 為0個胺基酸殘基的長度，並且 L_4 為0個胺基酸殘基的長度。在一些實施例中， L_1 、 L_2 、 L_3 和 L_4 各自具有0至15個胺基酸（例如，0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15個胺基酸）的獨立選擇的長度，其中至少兩種連接子具有1至15個胺基酸（例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15個胺基酸）的長度。在一些實施例中， L_1 、 L_2 、 L_3 和 L_4 各自為0個胺基酸的長度。

【0135】 在一些實施例中， L_1 、 L_2 、 L_3 和/或 L_4 在抗體可變結構域與抗體恒定結構域之間的接合處包含衍生自天然存在的序列的序列（例如，如WO 2012/135345中所述）。例如，在一些實施例中，連接子包含在內源 V_H 與 C_{H1} 結構域之間或在內源 V_L 與 C_L 結構域（例如， κ 或 λ ）之間的過渡處發現的序列。在一些實施例中，連接子包含在內源人 V_H 與 C_{H1} 結構域之間或在內源人 V_L 與 C_L 結構域（例如，人 κ 或 λ ）之間的過渡處發現的序列。

【0136】 在一些實施例中， L_1 、 L_2 、 L_3 和 L_4 各自獨立地為零個胺基酸的長度，或者包含選自以下項的序列：GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 55)、GGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 56)、S、RT、TKGPS (SEQ ID NO: 57)、GQPKAAP (SEQ ID NO: 58) 和 GGS GSS GSGG (SEQ ID NO: 59)。在一些實施例中， L_1 、 L_2 、 L_3 和 L_4 各自獨立地包含選自以下項的序列：

GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 55)、GGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 56)、S、RT、TKGPS (SEQ ID NO: 57)、GQPKAAP (SEQ ID NO: 58) 和 GGS GSSGSGG (SEQ ID NO: 59)。

【0137】 在一些實施例中， L_1 包含序列 GQPKAAP (SEQ ID NO: 58)， L_2 包含序列 TKGPS (SEQ ID NO: 57)， L_3 包含序列 S，並且 L_4 包含序列 RT。在一些實施例中， L_1 包含序列 GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 55)， L_2 包含序列 GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 55)， L_3 為 0 個胺基酸的長度，並且 L_4 為 0 個胺基酸的長度。在一些實施例中， L_1 包含序列 GGS GSSGSGG (SEQ ID NO: 59)， L_2 包含序列 GGS GSSGSGG (SEQ ID NO: 59)， L_3 為 0 個胺基酸的長度，並且 L_4 為 0 個胺基酸的長度。在一些實施例中， L_1 包含序列 GGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 56)， L_2 為 0 個胺基酸的長度， L_3 包含序列 GGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 56)，並且 L_4 為 0 個胺基酸的長度。

Fc 區域和恒定結構域

【0138】 在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含全長抗體重鏈或含有 Fc 區域的多肽鏈。在一些實施例中，Fc 區域是人 Fc 區域，例如，人 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 Fc 區域。在一些實施例中，Fc 區域包括抗體鉸鏈、 C_{H1} 、 C_{H2} 、 C_{H3} 以及任選的 C_{H4} 結構域。在一些實施例中，Fc 區域是人 IgG1 Fc 區域。在一些實施例中，Fc 區域是人 IgG4 Fc 區域。在一些實施例中，Fc 區域包括下文所述的一種或多種突變。

【0139】 在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包括一個或兩個 Fc 變異體。如本文所用術語「Fc 變異體」是指從天然 Fc 修飾但仍包含補救受體 FcRn (新生兒 Fc 受體) 的結合位點的分子或序列。示例性 Fc 變異體及其與補救受體的相互作用是業內已知的。因此，術語「Fc 變異體」可以包含從非人天然 Fc 人源化的分子或序列。此外，天然 Fc 包含如下區域，所述區域可以被去除，因為其提供本發明的抗體樣結合蛋白不需要的結構特徵或生物活性。因此，術語「Fc 變異體」包含缺少一個或多個天然 Fc 位點或殘基或其中一個或多個 Fc 位點或殘基已經被修飾的分子或序列，所述

位點或殘基影響或涉及：(1) 二硫鍵形成，(2) 與所選宿主細胞的不相容性，(3) 在所選宿主細胞中表現後的 N 末端異質性，(4) 糖基化，(5) 與補體的相互作用，(6) 與除了補救受體以外的 Fc 受體的結合，或 (7) 抗體依賴性細胞毒性 (ADCC)。

【0140】 在一些實施例中，Fc 區域包含一個或多個突變，所述突變降低或消除 Fc 區域的 Fc 受體結合和/或效應子功能（例如，Fc 受體介導的抗體依賴性細胞吞噬作用 (ADCP)、補體依賴性細胞毒性 (CDC) 和/或抗體依賴性細胞毒性 (ADCC)）。

【0141】 在一些實施例中，Fc 區域是人 IgG1 Fc 區域，其包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 的位置 234、235 和/或 329 的位置處的一個或多個胺基酸取代。在一些實施例中，胺基酸取代是 L234A、L235A 和/或 P329A。在一些實施例中，Fc 區域是人 IgG1 Fc 區域，其包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 的位置 298、299 和/或 300 的位置處的胺基酸取代。在一些實施例中，胺基酸取代是 S298N、T299A 和/或 Y300S。

【0142】 在一些實施例中，Fc 區域是人 IgG4 Fc 區域，其包含降低或消除 FcγI 和/或 FcγII 結合的一個或多個突變。在一些實施例中，Fc 區域是人 IgG4 Fc 區域，其包含降低或消除 FcγI 和/或 FcγII 結合但不影響 FcRn 結合的一個或多個突變。在一些實施例中，Fc 區域是人 IgG4 Fc 區域，其包含根據 EU 索引在對應於人 IgG4 的位置 228 和/或 409 的位置處的胺基酸取代。在一些實施例中，胺基酸取代是 S228P 和/或 R409K。在一些實施例中，Fc 區域是人 IgG4 Fc 區域，其包含根據 EU 索引在對應於人 IgG4 的位置 234 和/或 235 的位置處的胺基酸取代。在一些實施例中，胺基酸取代是 F234A 和/或 L235A。在一些實施例中，Fc 區域是人 IgG4 Fc 區域，其包含根據 EU 索引在對應於人 IgG4 的位置 228、234、235 和/或 409 的位置處的胺基酸取代。在一些實施例中，胺基酸取代是 S228P、F234A、L235A 和/或 R409K。在一些實施例中，Fc 區域是人 IgG4 Fc 區域，其包含根據 EU 索引在對應於人 IgG4 的位置 233-236 的位置處的胺基酸取代。在一些實施例中，胺基酸取代是 E233P、F234V、L235A 和在 236 處的缺失。在一些實施例中，Fc 區域是人 IgG4 Fc 區域，其包含根據 EU 索引在對應於人 IgG4 的位置 228、

233-236 和/或 409 的取代處的胺基酸突變。在一些實施例中，胺基酸突變是 S228P；E233P、F234V、L235A 和在 236 處的缺失；和/或 R409K。

【0143】 在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含一個或多個突變以例如通過調節對純化試劑的親和力來改善純化。例如，已知如果異二聚體形式的兩個 Fc 區域中的一個含有降低或消除與蛋白 A 的結合的一個或多個突變，則可以將異二聚體結合蛋白從其同二聚體形式選擇性純化出來，因為與任一同二聚體形式相比，異二聚體形式將具有對基於蛋白 A 的純化的中間親和力並且可以例如通過使用不同 pH 從蛋白 A 選擇性地洗脫（參見例如，Smith, E.J. 等人(2015) *Sci. Rep.* 5:17943）。在一些實施例中，突變包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 或 IgG4 的位置 435 和 436 的位置處的取代，其中所述胺基酸取代是 H435R 和 Y436F。在一些實施例中，結合蛋白包含第二多肽鏈，所述第二多肽鏈進一步包含與 C_{H1} 連接的第一 Fc 區域，所述第一 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 C_{H2} 和 C_{H3} 免疫球蛋白重鏈恒定結構域；和第三多肽鏈，所述第三多肽鏈進一步包含與 C_{H1} 連接的第二 Fc 區域，所述第二 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 C_{H2} 和 C_{H3} 免疫球蛋白重鏈恒定結構域；並且其中第一和第二 Fc 區域中僅一個包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 或 IgG4 的位置 435 和 436 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 H435R 和 Y436F。在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含杵和臼突變以及用於改善純化的一個或多個突變。在一些實施例中，第一和/或第二 Fc 區域是人 IgG1 Fc 區域。在一些實施例中，第一和/或第二 Fc 區域是人 IgG4 Fc 區域。

【0144】 在一些實施例中，一個或兩個 Fc 區域是人 IgG4 Fc 區域，所述人 IgG4 Fc 區域包含根據 EU 索引在對應於人 IgG4 的位置 233-236 的位置處的胺基酸取代。在一些實施例中，胺基酸取代是 E233P、F234V、L235A 和在 236 處的缺失。在一些實施例中，Fc 區域是人 IgG4 Fc 區域，其包含根據 EU 索引在對應於人 IgG4 的位置 228、233-236 和/或 409 的取代處的胺基酸突變。在一些實施例中，胺基酸突變是 S228P；E233P、F234V、L235A 和在 236 處的缺失；和/或 R409K。在一些實施例中，一個或兩個 Fc 區域是人 IgG1 Fc 區域，所述人 IgG1 Fc 區域包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1

的位置 234、235 和/或 329 的位置處的一個或多個胺基酸取代。在一些實施例中，胺基酸取代是 L234A、L235A 和/或 P329A。在一些實施例中，Fc 區域是人 IgG1 Fc 區域，其包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 的位置 298、299 和/或 300 的位置處的胺基酸取代。在一些實施例中，胺基酸取代是 S298N、T299A 和/或 Y300S。

【0145】 為了提高一些結合蛋白（例如，雙特異性或三特異性結合蛋白）的產量，可以通過「杵臼結構」技術改變 C_{H3} 結構域，所述杵臼結構技術通過幾個例子詳細描述於例如以下文獻中：國際公開號 WO 96/027011；Ridgway 等人, 1996, *Protein Eng.* 9: 617-21；和 Merchant 等人, 1998, *Nat. Biotechnol.* 16: 677-81。具體地，改變兩個 C_{H3} 結構域的相互作用表面以增加含有這兩個 C_{H3} 結構域的兩條重鏈的異二聚化。（兩條重鏈的）兩個 C_{H3} 結構域中的每一個可以是「杵」，而另一個是「臼」。二硫橋的引入進一步穩定異二聚體（Merchant 等人, 1998；Atwell 等人, 1997, *J. Mol. Biol.* 270: 26-35）並增加產量。在特定實施例中，杵位於具有單一可變結構域的第二對多肽上。在其他實施例中，杵位於具有交叉取向的第一對多肽上。在又其他實施例中， C_{H3} 結構域不包括臼中的杵。

【0146】 在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白（例如，三特異性結合蛋白）包含第二多肽鏈上的「杵」突變和第三多肽鏈上的「臼」突變。在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含第三多肽鏈上的「杵」突變和第二多肽鏈上的「臼」突變。在一些實施例中，「杵」突變包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 或 IgG4 的位置 354 和/或 366 的位置處的一個或多個取代。在一些實施例中，胺基酸取代是 S354C、T366W、T366Y、S354C 和 T366W，或 S354C 和 T366Y。在一些實施例中，「杵」突變包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 或 IgG4 的位置 354 和 366 的位置處的取代。在一些實施例中，胺基酸取代是 S354C 和 T366W。在一些實施例中，「臼」突變包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 或 IgG4 的位置 407 以及任選的 349、366 和/或 368 的位置處的一個或多個取代。在一些實施例中，胺基酸取代是 Y407V 或 Y407T 以及任選的 Y349C、T366S 和/或 L368A。在一些實施例中，「臼」突變包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 或 IgG4 的位置 349、366、

368 和 407 的位置處的取代。在一些實施例中，胺基酸取代是 Y349C、T366S、L368A 和 Y407V。

【0147】 在一些實施例中，第二多肽鏈進一步包含與 CH1 連接的第一 Fc 區域，所述第一 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 CH2 和 CH3 免疫球蛋白重鏈恒定結構域，其中所述第一 Fc 區域包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 或 IgG4 的位置 366 以及任選的 354 的位置處的一個或多個胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 T366W 或 T366Y 以及任選的 S354C；並且其中所述第三多肽鏈進一步包含與 CH1 連接的第二 Fc 區域，所述第二 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 CH2 和 CH3 免疫球蛋白重鏈恒定結構域，其中所述第二 Fc 區域包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 或 IgG4 的位置 407 以及任選的 349、366 和/或 368 的位置處的一個或多個胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 Y407V 或 Y407T 以及任選的 Y349C、T366S 和/或 L368A。

【0148】 在一些實施例中，第二多肽鏈進一步包含與 CH1 連接的第一 Fc 區域，所述第一 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 CH2 和 CH3 免疫球蛋白重鏈恒定結構域，其中所述第一 Fc 區域包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 或 IgG4 的位置 407 以及任選的 349、366 和/或 368 的位置處的一個或多個胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 Y407V 或 Y407T 以及任選的 Y349C、T366S 和/或 L368A；並且其中所述第三多肽鏈進一步包含與 CH1 連接的第二 Fc 區域，所述第二 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 CH2 和 CH3 免疫球蛋白重鏈恒定結構域，其中所述第二 Fc 區域包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 或 IgG4 的位置 366 以及任選的 354 的位置處的一個或多個胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 T366W 或 T366Y 以及任選的 S354C。

【0149】 在一些實施例中，第二多肽鏈進一步包含與 CH1 連接的第一 Fc 區域，所述第一 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 CH2 和 CH3 免疫球蛋白重鏈恒定結構域，其中所述第一 Fc 區域包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 或 IgG4 的位置 366 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 T366W；並且其中所述第三多肽鏈進一步包含與 CH1 連接的第二 Fc 區域，所述第二 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 CH2 和 CH3 免疫球蛋白重鏈恒定結構域，其中所述第二 Fc 區域包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1

或 IgG4 的位置 366、368 和/或 407 的位置處的一個或多個胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 T366S、L368A 和/或 Y407V。

【0150】 在一些實施例中，第二多肽鏈進一步包含與 CH1 連接的第一 Fc 區域，所述第一 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 CH2 和 CH3 免疫球蛋白重鏈恒定結構域，其中所述第一 Fc 區域包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 或 IgG4 位置 366、368 和/或 407 的位置處的一個或多個胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 T366S、L368A 和/或 Y407V；並且其中所述第三多肽鏈進一步包含與 CH1 連接的第二 Fc 區域，所述第二 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 CH2 和 CH3 免疫球蛋白重鏈恒定結構域，其中所述第二 Fc 區域包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 或 IgG4 的位置 366 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 T366W。

【0151】 在一些實施例中，第二多肽鏈進一步包含與 CH1 連接的第一 Fc 區域，所述第一 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 CH2 和 CH3 免疫球蛋白重鏈恒定結構域，其中所述第一 Fc 區域包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 或 IgG4 的位置 354 和 366 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 S354C 和 T366W；並且其中所述第三多肽鏈進一步包含與 CH1 連接的第二 Fc 區域，所述第二 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 CH2 和 CH3 免疫球蛋白重鏈恒定結構域，其中所述第二 Fc 區域包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 或 IgG4 的位置 349、366、368 和 407 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 Y349C、T366S、L368A 和 Y407V。在一些實施例中，第二多肽鏈進一步包含與 CH1 連接的第一 Fc 區域，所述第一 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 CH2 和 CH3 免疫球蛋白重鏈恒定結構域，其中所述第一 Fc 區域包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 或 IgG4 的位置 349、366、368 和 407 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 Y349C、T366S、L368A 和 Y407V；並且其中所述第三多肽鏈進一步包含與 CH1 連接的第二 Fc 區域，所述第二 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 CH2 和 CH3 免疫球蛋白重鏈恒定結構域，其中所述第二 Fc 區域包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 或 IgG4 的位置 354 和 366 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 S354C 和 T366W。在一些實施例中，第一和/或第二

Fc區域是人IgG1 Fc區域。在一些實施例中，第一和/或第二Fc區域是人IgG4 Fc區域。

【0152】 在一些實施例中，第二多肽鏈進一步包含與CH1連接的第一Fc區域，其中所述第一Fc區域是人IgG4 Fc區域，所述人IgG4 Fc區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及CH2和CH3免疫球蛋白重鏈恒定結構域，其中所述第一Fc區域包含根據EU索引在對應於人IgG4的位置228、354、366和409的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是S228P、S354C、T366W和R409K；並且其中所述第三多肽鏈進一步包含與CH1連接的第二Fc區域，其中所述第二Fc區域是人IgG4 Fc區域，所述人IgG4 Fc區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及CH2和CH3免疫球蛋白重鏈恒定結構域，其中所述第二Fc區域包含根據EU索引在對應於人IgG4的位置228、349、366、368、407和409的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是S228P、Y349C、T366S、L368A、Y407V和R409K。在一些實施例中，第二多肽鏈進一步包含與CH1連接的第一Fc區域，其中所述第一Fc區域是人IgG4 Fc區域，所述人IgG4 Fc區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及CH2和CH3免疫球蛋白重鏈恒定結構域，其中所述第一Fc區域包含根據EU索引在對應於人IgG4的位置228、349、366、368、407和409的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是S228P、Y349C、T366S、L368A、Y407V和R409K；並且其中所述第三多肽鏈進一步包含與CH1連接的第二Fc區域，其中所述第二Fc區域是人IgG4 Fc區域，所述人IgG4 Fc區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及CH2和CH3免疫球蛋白重鏈恒定結構域，其中所述第二Fc區域包含根據EU索引在對應於人IgG4的位置228、354、366和409的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是S228P、S354C、T366W和R409K。

【0153】 在一些實施例中，第二多肽鏈進一步包含與CH1連接的第一Fc區域，其中所述第一Fc區域是人IgG4 Fc區域，所述人IgG4 Fc區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及CH2和CH3免疫球蛋白重鏈恒定結構域，其中所述第一Fc區域包含根據EU索引在對應於人IgG4的位置234、235、354和366的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是F234A、L235A、S354C和T366W；並且其中所述第三多肽鏈進一步包含與CH1連接的第二

Fc 區域，其中所述第二 Fc 區域是人 IgG4 Fc 區域，所述人 IgG4 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 CH2 和 CH3 免疫球蛋白重鏈恒定結構域，其中所述第二 Fc 區域包含根據 EU 索引在對應於人 IgG4 的位置 234、235、349、366、368 和 407 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 F234A、L235A、Y349C、T366S、L368A 和 Y407V。在一些實施例中，第二多肽鏈進一步包含與 CH1 連接的第一 Fc 區域，其中所述第一 Fc 區域是人 IgG4 Fc 區域，所述人 IgG4 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 CH2 和 CH3 免疫球蛋白重鏈恒定結構域，其中所述第一 Fc 區域包含根據 EU 索引在對應於人 IgG4 的位置 234、235、349、366、368 和 407 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 F234A、L235A、Y349C、T366S、L368A 和 Y407V；並且其中所述第三多肽鏈進一步包含與 CH1 連接的第二 Fc 區域，其中所述第二 Fc 區域是人 IgG4 Fc 區域，所述人 IgG4 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 CH2 和 CH3 免疫球蛋白重鏈恒定結構域，其中所述第二 Fc 區域包含根據 EU 索引在對應於人 IgG4 的位置 234、235、354 和 366 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 F234A、L235A、S354C 和 T366W。

【0154】 在一些實施例中，第二多肽鏈進一步包含與 CH1 連接的第一 Fc 區域，其中所述第一 Fc 區域是人 IgG4 Fc 區域，所述人 IgG4 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 CH2 和 CH3 免疫球蛋白重鏈恒定結構域，其中所述第一 Fc 區域包含根據 EU 索引在對應於人 IgG4 的位置 228、234、235、354、366 和 409 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 S228P、F234A、L235A、S354C、T366W 和 R409K；並且其中所述第三多肽鏈進一步包含與 CH1 連接的第二 Fc 區域，其中所述第二 Fc 區域是人 IgG4 Fc 區域，所述人 IgG4 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 CH2 和 CH3 免疫球蛋白重鏈恒定結構域，其中所述第二 Fc 區域包含根據 EU 索引在對應於人 IgG4 的位置 228、234、235、349、366、368、407 和 409 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 S228P、F234A、L235A、Y349C、T366S、L368A、Y407V 和 R409K。在一些實施例中，第二多肽鏈進一步包含與 CH1 連接的第一 Fc 區域，其中所述第一 Fc 區域是人 IgG4 Fc 區域，所述人 IgG4 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 CH2 和 CH3 免疫球蛋白重鏈恒定結構

域，其中所述第一 Fc 區域包含根據 EU 索引在對應於人 IgG4 的位置 228、234、235、349、366、368、407 和 409 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 S228P、F234A、L235A、Y349C、T366S、L368A、Y407V 和 R409K；並且其中所述第三多肽鏈進一步包含與 CH1 連接的第二 Fc 區域，其中所述第二 Fc 區域是人 IgG4 Fc 區域，所述人 IgG4 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 CH2 和 CH3 免疫球蛋白重鏈恒定結構域，其中所述第二 Fc 區域包含根據 EU 索引在對應於人 IgG4 的位置 228、234、235、354、366 和 409 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 S228P、F234A、L235A、S354C、T366W 和 R409K。

【0155】 在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含一個或多個突變以提高血清半衰期（參見例如，Hinton, P.R.等人(2006) *J. Immunol.* 176(1):346-56）。在一些實施例中，突變包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 或 IgG4 的位置 428 和 434 的位置處的取代，其中所述胺基酸取代是 M428L 和 N434S。在一些實施例中，結合蛋白包含第二多肽鏈，所述第二多肽鏈進一步包含與 CH1 連接的第一 Fc 區域，所述第一 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 CH2 和 CH3 免疫球蛋白重鏈恒定結構域；和第三多肽鏈，所述第三多肽鏈進一步包含與 CH1 連接的第二 Fc 區域，所述第二 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 CH2 和 CH3 免疫球蛋白重鏈恒定結構域，其中所述第一和/或第二 Fc 區域包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 或 IgG4 的位置 428 和 434 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 M428L 和 N434S。在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含杵和白突變以及用於提高血清半衰期的一個或多個突變。在一些實施例中，第一和/或第二 Fc 區域是人 IgG1 Fc 區域。在一些實施例中，第一和/或第二 Fc 區域是人 IgG4 Fc 區域。

【0156】 在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含一個或多個突變以改善例如 IgG4 的鉸鏈區和/或二聚體界面的穩定性（參見例如，Spiess, C.等人(2013) *J. Biol. Chem.* 288:26583-26593）。在一些實施例中，突變包含根據 EU 索引在對應於人 IgG4 的位置 228 和 409 的位置處的取代，其中所述胺基酸取代是 S228P 和 R409K。在一些實施例中，結合蛋白包含第二多肽鏈，所述第二多肽鏈進一步包含與 CH1 連接的第一 Fc 區域，所述第一 Fc

區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 C_{H2} 和 C_{H3} 免疫球蛋白重鏈恒定結構域；和第三多肽鏈，所述第三多肽鏈進一步包含與 C_{H1} 連接的第二 Fc 區域，所述第二 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 C_{H2} 和 C_{H3} 免疫球蛋白重鏈恒定結構域；其中所述第一和第二 Fc 區域是人 IgG4 Fc 區域；並且其中所述第一和第二 Fc 區域各自包含根據 EU 索引在對應於人 IgG4 的位置 228 和 409 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 S228P 和 R409K。在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含杵和臼突變以及用於改善穩定性的一個或多個突變。在一些實施例中，第一和/或第二 Fc 區域是人 IgG4 Fc 區域。

【0157】 在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含一個或多個突變以例如通過調節對純化試劑的親和力來改善純化。例如，已知如果異二聚體形式的兩個 Fc 區域中的一個含有降低或消除與蛋白 A 的結合的一個或多個突變，則可以將異二聚體結合蛋白從其同二聚體形式選擇性地純化出來，因為與任一同二聚體形式相比，異二聚體形式將具有對基於蛋白 A 的純化的中間親和力並且可以例如通過使用不同 pH 從蛋白 A 選擇性地洗脫（參見例如，Smith, E.J. 等人(2015) *Sci. Rep.* 5:17943）。在一些實施例中，突變包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 或 IgG4 的位置 435 和 436 的位置處的取代，其中所述胺基酸取代是 H435R 和 Y436F。在一些實施例中，結合蛋白包含第二多肽鏈，所述第二多肽鏈進一步包含與 C_{H1} 連接的第一 Fc 區域，所述第一 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 C_{H2} 和 C_{H3} 免疫球蛋白重鏈恒定結構域；和第三多肽鏈，所述第三多肽鏈進一步包含與 C_{H1} 連接的第二 Fc 區域，所述第二 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 C_{H2} 和 C_{H3} 免疫球蛋白重鏈恒定結構域；並且其中第一和第二 Fc 區域中僅一個包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 或 IgG4 的位置 435 和 436 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 H435R 和 Y436F。在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含杵和臼突變以及用於改善純化的一個或多個突變。在一些實施例中，第一和/或第二 Fc 區域是人 IgG1 Fc 區域。在一些實施例中，第一和/或第二 Fc 區域是人 IgG4 Fc 區域。

【0158】 在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含一個或多個突變以提高血清半衰期（參見例如，Hinton, P.R. 等人(2006) *J. Immunol.*

176(1):346-56)。在一些實施例中，突變包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 或 IgG4 的位置 428 和 434 的位置處的取代，其中所述胺基酸取代是 M428L 和 N434S。在一些實施例中，結合蛋白包含第二多肽鏈，所述第二多肽鏈進一步包含與 CH1 連接的第一 Fc 區域，所述第一 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 CH2 和 CH3 免疫球蛋白重鏈恒定結構域；和第三多肽鏈，所述第三多肽鏈進一步包含與 CH1 連接的第二 Fc 區域，所述第二 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 CH2 和 CH3 免疫球蛋白重鏈恒定結構域，其中所述第一和/或第二 Fc 區域包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 或 IgG4 的位置 428 和 434 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 M428L 和 N434S。在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含杆和臼突變以及用於提高血清半衰期的一個或多個突變。在一些實施例中，第一和/或第二 Fc 區域是人 IgG1 Fc 區域。在一些實施例中，第一和/或第二 Fc 區域是人 IgG4 Fc 區域。

【0159】 在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含一個或多個突變以降低效應子功能，例如，Fc 受體介導的抗體依賴性細胞吞噬作用 (ADCP)、補體依賴性細胞毒性 (CDC) 和/或抗體依賴性細胞毒性 (ADCC)。在一些實施例中，第二多肽鏈進一步包含與 C_{H1} 連接的第一 Fc 區域，所述第一 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 C_{H2} 和 C_{H3} 免疫球蛋白重鏈恒定結構域；其中所述第三多肽鏈進一步包含與 C_{H1} 連接的第二 Fc 區域，所述第二 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 C_{H2} 和 C_{H3} 免疫球蛋白重鏈恒定結構域；其中所述第一和第二 Fc 區域是人 IgG1 Fc 區域；並且其中所述第一和第二 Fc 區域各自包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 的位置 234 和 235 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 L234A 和 L235A。在一些實施例中，第二和第三多肽鏈的 Fc 區域是人 IgG1 Fc 區域，並且其中所述 Fc 區域各自包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 的位置 234 和 235 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 L234A 和 L235A。在一些實施例中，第二多肽鏈進一步包含與 C_{H1} 連接的第一 Fc 區域，所述第一 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 C_{H2} 和 C_{H3} 免疫球蛋白重鏈恒定結構域；其中所述第三多肽鏈進一步包含與 C_{H1} 連接的第二 Fc 區域，所述第二 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 C_{H2} 和 C_{H3} 免疫球蛋白重鏈恒定結構域；

其中所述第一和第二 Fc 區域是人 IgG1 Fc 區域；並且其中所述第一和第二 Fc 區域各自包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 的位置 234、235 和 329 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 L234A、L235A 和 P329A。在一些實施例中，第二和第三多肽鏈的 Fc 區域是人 IgG1 Fc 區域，並且其中所述 Fc 區域各自包含根據 EU 索引在對應於人 IgG1 的位置 234、235 和 329 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 L234A、L235A 和 P329A。在一些實施例中，第二和第三多肽鏈的 Fc 區域是人 IgG4 Fc 區域，並且所述 Fc 區域各自包含根據 EU 索引在對應於人 IgG4 的位置 234 和 235 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 F234A 和 L235A。在一些實施例中，結合蛋白包含第二多肽鏈，所述第二多肽鏈進一步包含與 C_{H1} 連接的第一 Fc 區域，所述第一 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 C_{H2} 和 C_{H3} 免疫球蛋白重鏈恒定結構域；和第三多肽鏈，所述第三多肽鏈進一步包含與 C_{H1} 連接的第二 Fc 區域，所述第二 Fc 區域包含免疫球蛋白鉸鏈區以及 C_{H2} 和 C_{H3} 免疫球蛋白重鏈恒定結構域；並且其中所述第一和第二 Fc 區域各自包含根據 EU 索引在對應於人 IgG4 的位置 234 和 235 的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是 F234A 和 L235A。

【0160】 在一些實施例中，本公開文本的結合蛋白包含杵和白突變以及用於降低效應子功能的一個或多個突變。在一些實施例中，第一和/或第二 Fc 區域是人 IgG1 Fc 區域。在一些實施例中，第一和/或第二 Fc 區域是人 IgG4 Fc 區域。關於在位置 329 處的 Fc 突變的進一步描述，參見例如，Shields, R.L.等人(2001) *J. Biol. Chem.* 276:6591-6604 和 WO 1999051642。

【0161】 在一些實施例中，上述突變的類型可以以任何順序或組合來組合。例如，本公開文本的結合蛋白可以包含上述的兩個或更多個「杵」和「白」突變、用於提高血清半衰期的一個或多個突變、用於改善 IgG4 穩定性的一個或多個突變、用於改善純化的一個或多個突變和/或用於降低效應子功能的一個或多個突變。

核酸

【0162】 使用標準重組 DNA 方法構建編碼形成結合蛋白的多肽的多核苷酸，將這些多核苷酸併入重組表現載體中，並將此類載體引入宿主細胞中。參見例如，Sambrook 等人, 2001, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 第 3 版)。可以根據製造商的說明書來進行酶反應和純化技術，如本領域通常所實現的或如本文所述。除非提供具體定義，否則關於本文所述的分析化學、合成有機化學以及醫學和藥物化學使用的術語以及本文所述的分析化學、合成有機化學以及醫學和藥物化學的實驗室程序和技術是業內熟知且常用的那些。類似地，常規技術可以用於化學合成、化學分析、藥物製備、配製、遞送和患者的治療。

【0163】 本公開文本的其他態樣涉及分離的核酸分子，其包含編碼任何本文所述的結合蛋白的核苷酸序列。在一些實施例中，分離的核酸分子包含與 SEQ ID NO: 60-83 至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99% 或 100% 相同和/或顯示於表 J 中的序列。

【0164】 本公開文本的某些態樣涉及多核苷酸的套組。在一些實施例中，一個或多個多核苷酸是載體（例如，表現載體）。所述套組尤其可以用於產生一種或多種本文所述的結合蛋白，例如，本公開文本的三特异性結合蛋白。在一些實施例中，所述套組包含一種、兩種、三種或四種表 J 中所示的多核苷酸（例如，抗 CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1xCD28supxCD3mid IgG4 FALA、抗 CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1xCD28supxCD3mid IgG1 LALA P329A、抗 CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1xCD28supxCD3mid IgG1 NNSA、CD38_{HHY1370}xCD28supxCD3mid IgG4 FALA、CD38_{HHY1370}xCD28supxCD3mid IgG1 LALA P329A 或 CD38_{HHY1370}CD28supxCD3mid IgG1 NNSA）。在一些實施例中，多核苷酸的套組包含：含有 SEQ ID NO: 73 的序列的第一多核苷酸、含有 SEQ ID NO: 72 的序列的第二多核苷酸、含有 SEQ ID NO: 74 的序列的第三多核苷酸和含有 SEQ ID NO: 75 的序列的第四多核苷酸。在一些實

施例中，多核苷酸的套組包含：含有 SEQ ID NO: 73 的序列的第一多核苷酸、含有 SEQ ID NO: 76 的序列的第二多核苷酸、含有 SEQ ID NO: 77 的序列的第三多核苷酸和含有 SEQ ID NO: 75 的序列的第四多核苷酸。在一些實施例中，多核苷酸的套組包含：含有 SEQ ID NO: 73 的序列的第一多核苷酸、含有 SEQ ID NO: 78 的序列的第二多核苷酸、含有 SEQ ID NO: 79 的序列的第三多核苷酸和含有 SEQ ID NO: 75 的序列的第四多核苷酸。在一些實施例中，多核苷酸的套組包含：含有 SEQ ID NO: 73 的序列的第一多核苷酸、含有 SEQ ID NO: 72 的序列的第二多核苷酸、含有 SEQ ID NO: 80 的序列的第三多核苷酸和含有 SEQ ID NO: 81 的序列的第四多核苷酸。在一些實施例中，多核苷酸的套組包含：含有 SEQ ID NO: 73 的序列的第一多核苷酸、含有 SEQ ID NO: 76 的序列的第二多核苷酸、含有 SEQ ID NO: 82 的序列的第三多核苷酸和含有 SEQ ID NO: 81 的序列的第四多核苷酸。在一些實施例中，多核苷酸的套組包含：含有 SEQ ID NO: 73 的序列的第一多核苷酸、含有 SEQ ID NO: 78 的序列的第二多核苷酸、含有 SEQ ID NO: 83 的序列的第三多核苷酸和含有 SEQ ID NO: 81 的序列的第四多核苷酸。

【0165】 在一些實施例中，分離的核酸與異源啟動子可操作地連接，以指導編碼結合蛋白的核酸序列的轉錄。啟動子可以是指指導核酸的轉錄的核酸控制序列。在第一核酸序列被置於與第二核酸序列具有功能性關係的位置中時，第一核酸序列與第二核酸序列可操作地連接。例如，如果啟動子影響編碼序列的轉錄或表現，則所述啟動子與結合蛋白的編碼序列可操作地連接。啟動子的例子可以包括但不限於從病毒（如多瘤病毒、雞痘病毒、腺病毒（如腺病毒 2）、牛乳頭狀瘤病毒、禽肉瘤病毒、巨細胞病毒、逆轉錄病毒、乙型肝炎病毒、猿猴病毒 40（SV40）等）的基因組獲得的啟動子、異源真核啟動子（如肌動蛋白啟動子、免疫球蛋白啟動子、熱休克啟動子等）、CAG 啟動子（Niwa 等人, *Gene* 108(2):193-9, 1991）、磷酸甘油酸激酶（PGK）啟動子、四環素誘導型啟動子（Masui 等人, *Nucleic Acids Res.* 33:e43, 2005）、lac 系統、trp 系統、tac 系統、trc 系統、噬菌體 λ 的主要操縱子和啟動子區域、3-磷酸甘油酸激酶的啟動子、酵母酸性磷酸酶的啟動子和酵母 α 交配因子的啟動子。編碼本公開文本的結合蛋白的多核苷酸

可以處於以下啟動子的控制下：組成型啟動子、誘導型啟動子、或本文所述的任何其他合適的啟動子、或業內熟習此項技術者將易於識別的其他合適的啟動子。

【0166】 在一些實施例中，將分離的核酸併入載體中。在一些實施例中，載體是表現載體。表現載體可以包括與要表現的多核苷酸可操作地連接的一個或多個調控序列。術語「調控序列」包括啟動子、強化子和其他表現控制元件（例如，多腺苷酸化信號）。合適的強化子的例子可以包括但不限於來自哺乳動物基因的強化子序列（如球蛋白、彈性蛋白酶、白蛋白、 α -胎蛋白、胰島素等）、和來自真核細胞病毒的強化子序列（如複製起點的後側上的 SV40 強化子 (bp 100-270)、巨細胞病毒早期啟動子強化子、複製起點的後側上的多瘤強化子、腺病毒強化子等）。合適的載體的例子可以包括例如質體、粘粒、附加體、轉座子和病毒載體（例如，腺病毒、痘苗病毒、辛德畢斯病毒 (Sindbis-viral)、麻疹、疱疹病毒、慢病毒、逆轉錄病毒、腺相關病毒載體等）。表現載體可以用於轉染宿主細胞，例如細菌細胞、酵母細胞、昆蟲細胞和哺乳動物細胞。能夠在宿主體內表現並複製的生物功能病毒和質體 DNA 載體是業內已知的，並且可以用於轉染感興趣的任何細胞。

【0167】 本公開文本的其他態樣涉及載體系統，所述載體系統包括編碼任何本文所述結合蛋白的第一、第二、第三和第四多肽鏈的一種或多種載體。在一些實施例中，載體系統包括編碼結合蛋白的第一多肽鏈的第一載體、編碼結合蛋白的第二多肽鏈的第二載體、編碼結合蛋白的第三多肽鏈的第三載體和編碼結合蛋白的第四多肽鏈的第四載體。在一些實施例中，載體系統包括編碼結合蛋白的第一和第二多肽鏈的第一載體、和編碼結合蛋白的第三和第四多肽鏈的第二載體。在一些實施例中，載體系統包括編碼結合蛋白的第一和第三多肽鏈的第一載體、和編碼結合蛋白的第二和第四多肽鏈的第二載體。在一些實施例中，載體系統包括編碼結合蛋白的第一和第四多肽鏈的第一載體、和編碼結合蛋白的第二和第三多肽鏈的第二載體。在一些實施例中，載體系統包括編碼結合蛋白的第一、第二、

第三和第四多肽鏈的第一載體。載體系統的一種或多種載體可以是任何本文所述載體。在一些實施例中，所述一種或多種載體是表現載體。

分離的宿主細胞

【0168】 本公開文本的其他態樣涉及分離的宿主細胞，所述分離的宿主細胞包含本文所述的一種或多種分離的多核苷酸、多核苷酸套組、載體和/或載體系統。在一些實施例中，宿主細胞是細菌細胞（例如，大腸桿菌（*E. coli*）細胞）。在一些實施例中，宿主細胞是酵母細胞（例如，釀酒酵母（*S. cerevisiae*）細胞）。在一些實施例中，宿主細胞是昆蟲細胞。昆蟲宿主細胞的例子可以包括例如果蠅屬（*Drosophila*）細胞（例如，S2 細胞）、粉紋夜蛾（*Trichoplusia ni*）細胞（例如，High Five™細胞）和草地貪夜蛾（*Spodoptera frugiperda*）細胞（例如，Sf21 或 Sf9 細胞）。在一些實施例中，宿主細胞是哺乳動物細胞。哺乳動物宿主細胞的例子可以包括例如人胚腎細胞（例如，293 細胞或亞克隆用於在懸浮培養物中生長的 293 細胞）、Expi293™細胞、CHO 細胞、幼倉鼠腎細胞（例如，BHK，ATCC CCL 10）、小鼠支持細胞（例如，TM4 細胞）、猴腎細胞（例如，CV1 ATCC CCL 70）、非洲綠猴腎細胞（例如，VERO-76，ATCC CRL-1587）、人宮頸癌細胞（例如，HELA，ATCC CCL 2）、犬腎細胞（例如，MDCK，ATCC CCL 34）、布法羅（buffalo）大鼠肝細胞（例如，BRL 3A，ATCC CRL 1442）、人肺細胞（例如，W138，ATCC CCL 75）、人肝細胞（例如，Hep G2，HB 8065）、小鼠乳房腫瘤細胞（例如，MMT 060562，ATCC CCL51）、TRI 細胞、MRC 5 細胞、FS4 細胞、人肝細胞瘤系（例如，Hep G2）和骨髓瘤細胞（例如，NS0 和 Sp2/0 細胞）。

結合蛋白的方法和用途

【0169】 本公開文本的某些態樣涉及用於擴增病毒特異性記憶 T 細胞的方法。在一些實施例中，所述方法包括使病毒特異性記憶 T 細胞與本公開文本的結合蛋白接觸，所述結合蛋白是例如包含結合 CD28 多肽的第一抗原結合位點、結合 CD3 多肽的第二抗原結合位點和結合 CD38 多肽的第三抗原結合位點的三特異性結合蛋白。

【0170】 在一些實施例中，在體外或離體使所述病毒特異性記憶 T 細胞與所述結合蛋白接觸。

【0171】 在一些實施例中，使所述病毒特異性記憶 T 細胞與所述結合蛋白接觸引起病毒特異性記憶 T 細胞的激活和/或增生。

【0172】 本公開文本的其他態樣涉及擴增 T 細胞的方法。在一些實施例中，所述方法包括使 T 細胞與本公開文本的結合蛋白接觸，所述結合蛋白是例如包含結合 CD28 多肽的第一抗原結合位點、結合 CD3 多肽的第二抗原結合位點和結合 CD38 多肽的第三抗原結合位點的三特異性結合蛋白。

【0173】 在一些實施例中，所述 T 細胞是記憶 T 細胞或效應 T 細胞。

【0174】 在一些實施例中，所述 T 細胞在其細胞表面上表現嵌合抗原受體 (CAR) 或包含編碼 CAR 的多核苷酸。

【0175】 本公開文本的其他態樣涉及例如在有需要的個體中治療慢性病毒感染的方法。在一些實施例中，所述方法包括向有需要的個體投予有效量的本公開文本的結合蛋白，所述結合蛋白是例如包含結合 CD28 多肽的第一抗原結合位點、結合 CD3 多肽的第二抗原結合位點和結合 CD38 多肽的第三抗原結合位點的三特異性結合蛋白。

【0176】 在一些實施例中，所述個體是人。

【0177】 在一些實施例中，將所述結合蛋白以包含所述結合蛋白和醫藥上可接受的載劑的藥物配製品的形式投予至所述個體。

【0178】 在一些實施例中，所述結合蛋白的投予導致所述個體體內病毒特異性記憶 T 細胞的激活和/或增生。

【0179】 在任何上述方法中，記憶 T 細胞可以是 CD8⁺或 CD4⁺ 記憶 T 細胞。在任何上述方法中，記憶 T 細胞可以是中樞記憶 T 細胞 (T_{CM}) 或效應記憶 T 細胞 (T_{EM})。

【0180】 任何本文所述結合蛋白可以用於本公開文本的方法。

【0181】 在用於偵檢和定量一種或多種靶抗原的任何已知的測定方法，如競爭性結合測定、直接和間接夾心式測定、和免疫沈澱測定中可以

使用所述結合蛋白。結合蛋白將以適合於所用測定方法的親和力結合所述一種或多種靶抗原。

【0182】 在某些實施例中，對於診斷應用，可以用可偵檢部分標記結合蛋白。可偵檢部分可以是能夠直接或間接產生可偵檢信號的任何部分。例如，可偵檢部分可以是放射性同位素，如 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{125}I 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 或 ^{67}Ga ；熒光或化學發光化合物，如異硫氰酸熒光素、羅丹明或螢光素；或者酶，如鹼性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶或辣根過氧化物酶。

【0183】 結合蛋白也可以用於體內成像。可以將用可偵檢部分標記的結合蛋白投予至動物，較佳地投予至血流中，並測定宿主中經標記的抗體的存在和位置。可以用在動物中通過核磁共振、放射學或業內已知的其他偵檢手段可偵檢的任何部分標記結合蛋白。

【0184】 在某些實施例中，對於臨床或研究應用，可以將結合蛋白與細胞毒性劑綴合。與細胞毒性劑偶聯的多種抗體（即，抗體-藥物綴合物）已經用於將細胞毒性有效負載靶向特異性腫瘤細胞。將所述藥劑與抗體綴合的細胞毒性劑和連接子是業內已知的；參見例如，Parslow, A.C. 等人 (2016) *Biomedicines* 4:14；和 Kalim, M.等人 (2017) *Drug Des. Devel. Ther.* 11:2265-2276。

【0185】 本公開文本還涉及包含結合蛋白和可用於偵檢生物樣品中的靶抗原水平的其他試劑的套組。此類試劑可以包括可偵檢標記、封閉血清、陽性和陰性對照樣品以及偵檢試劑。在一些實施例中，套組包含組合物，所述組合物包含本文所述的任何結合蛋白、多核苷酸、載體、載體系統和/或宿主細胞。在一些實施例中，套組包含容器以及在所述容器上或與所述容器相連的標籤或包裝說明書。合適的容器包括例如瓶子、小瓶、注射器、IV 溶液袋等。所述容器可以由諸如玻璃或塑料的多種材料製成。容器容納有效治療、預防和/或診斷病症的組合物本身或與另一種組合物組合的所述組合物，並且可以具有無菌進入口（例如，容器可以是靜脈輸液袋或具有可由皮下注射針刺穿的塞子的小瓶）。在一些實施例中，標籤或包裝說明書指示，所述組合物用於預防、診斷和/或治療所選病症。可替代地或另外地，製品或套組可以進一步包含含有醫藥上可接受的緩衝液（如注

射用抑菌水（BWF1）、磷酸鹽緩衝鹽水、林格氏溶液（Ringer's solution）和葡萄糖溶液）的第二（或第三）容器。所述製品或套組可以進一步包括從商業和用戶角度所需的其他材料，包括其他緩衝液、稀釋劑、過濾器、針和注射器。

結合蛋白治療組合物及其投予

【0186】 包含結合蛋白的治療或醫藥組合物在本公開文本的範圍內。此類治療或醫藥組合物可以包含與選擇的適合於所述投予方式的藥學上或生理上可接受的配製劑混合的治療有效量的結合蛋白或結合蛋白-藥物綴合物。這些醫藥組合物可以用於本文所述的任何方法和用途（例如，離體、體外和/或體內）。

【0187】 可接受的配製材料較佳地在所用劑量和濃度下對接受者無毒。

【0188】 醫藥組合物可以含有用於修改、維持或保存例如組合物的pH、摩爾滲透壓濃度、粘度、澄清度、顏色、等滲性、氣味、無菌度、穩定性、溶解或釋放速率、吸附或滲透的配製材料。合適的配製材料包括但不限於胺基酸（如甘胺酸、麩醯胺酸、天門冬醯胺酸、精胺酸或離胺酸）、抗微生物劑、抗氧化劑（如抗壞血酸、亞硫酸鈉或亞硫酸氫鈉）、緩衝液（如硼酸鹽、碳酸氫鹽、Tris-HCl、檸檬酸鹽、磷酸鹽或其他有機酸）、膨脹劑（如甘露醇或甘胺酸）、螯合劑（如乙二胺四乙酸（EDTA））、絡合劑（如咖啡因、聚乙烯吡咯啶酮、 β -環糊精或 γ -環糊精）、填充劑、單糖、二糖和其他碳水化合物（如葡萄糖、甘露糖或糊精）、蛋白質（如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白）、著色劑、調味劑和稀釋劑、乳化劑、親水聚合物（如聚乙烯吡咯啶酮）、低分子量多肽、成鹽抗衡離子（如鈉）、防腐劑（如苯紮氯銨、苯甲酸、柳酸、硫柳汞、苯乙醇、對羥基苯甲酸甲酯、對羥基苯甲酸丙酯、氯己定、山梨酸或過氧化氫）、溶劑（如丙三醇、丙二醇或聚乙二醇）、糖醇（如甘露醇或山梨醇）、懸浮劑、表面活性劑或潤濕劑（如普朗尼克（pluronic）；PEG；脫水山梨糖醇酯；聚山梨酯（如聚山梨酯 20 或聚山梨酯 80）；triton；胺丁三醇；卵磷脂；膽固醇或泰洛沙

泊 (tyloxapal))、穩定性增強劑 (如蔗糖或山梨醇)、張力調節劑 (如鹼金屬鹵化物 (較佳地氯化鈉或氯化鉀) 或甘露醇山梨醇)、遞送媒劑、稀釋劑、賦形劑和/或藥物佐劑 (參見例如, Remington's Pharmaceutical Sciences (第 18 版, A.R. Gennaro, 編輯, Mack Publishing Company 1990) 和其後續版本, 所述文獻出於任何目的通過引用併入本文)。

【0189】 最佳醫藥組合物將由熟習此項技術者根據例如計劃的投予途徑、遞送形式和所需劑量來決定。此類組合物可以影響結合蛋白的物理狀態、穩定性、體內釋放速率和體內清除速率。

【0190】 醫藥組合物中的主要媒劑或載劑在性質上可以是水性或非水性的。例如, 適用於注射的媒劑或載劑可以是水、生理鹽水溶液或人工腦脊液, 可能補充有用於腸胃外投予的組合物中常用的其他材料。中性緩衝鹽水或與血清白蛋白混合的鹽水或其他示例性媒劑。其他示例性醫藥組合物包含約 pH 7.0-8.5 的 Tris 緩衝液或約 pH 4.0-5.5 的乙酸鹽緩衝液, 它們可以進一步包括山梨醇或合適的替代物。在本公開文本的一個實施例中, 結合蛋白組合物可以通過將具有所選純度的組合物與呈凍幹餅或水溶液形式的任選配製劑混合來製備用於儲存。此外, 可以使用適當賦形劑如蔗糖將結合蛋白配製為凍幹物。

【0191】 可以選擇本公開文本的醫藥組合物用於腸胃外遞送或皮下遞送。可替代地, 可以選擇組合物用於吸入或用於經消化道遞送, 如口服。此類醫藥上可接受的組合物的製備在本領域的技術範圍內。

【0192】 配製品組分是以投予部位可接受的濃度存在。例如, 使用緩衝液將組合物維持在生理 pH 或略低的 pH, 通常在約 5 至約 8 的 pH 範圍內。

【0193】 當考慮腸胃外投予時, 所用治療組合物可以呈無熱原的、腸胃外可接受的水溶液形式, 其包含在醫藥上可接受的媒劑中的所需結合蛋白。特別適用於腸胃外注射的媒劑是無菌蒸餾水, 其中將結合蛋白配製為適當保存的無菌等滲溶液。又另一種製備可以涉及用提供產物的控制或持續釋放的藥劑 (如可注射微球、生物蝕解性顆粒、聚合化合物 (如聚乳酸或聚乙醇酸)、珠粒或脂質體) 配製所需分子, 隨後可將所述分子通過積存注射來遞送。還可以使用透明質酸, 並且這可以具有促進在循環中的持

久的持續時間的作用。用於引入所需分子的其他合適的手段包括可植入的藥物遞送裝置。

【0194】 在一個實施例中，可以將醫藥組合物配製用於吸入。例如，可以將結合蛋白配製為乾粉用於吸入。也可以將結合蛋白吸入溶液用推進劑來配製用於氣溶膠遞送。在又另一個實施例中，可以將溶液霧化。

【0195】 還考慮到可以將某些配製品口服投予。在本公開文本的一個實施例中，可以將以這種方式投予的結合蛋白用或不用在固體劑型（如片劑和膠囊）的混配中通常使用的那些載劑來配製。例如，膠囊可以設計為在胃腸道中在生物利用度最大化且前系統性降解最小化時釋放配製品的活性部分。可以包括另外的試劑以有利於結合蛋白的吸收。還可以採用稀釋劑、調味劑、低熔點蠟、植物油、潤滑劑、懸浮劑、片劑崩解劑和粘合劑。

【0196】 另一種醫藥組合物可以包含在具有適合於製造片劑的無毒賦形劑的混合物中的有效量的結合蛋白。通過將片劑溶解于無菌水或另一種適當媒劑中，可以以單位劑量形式製備溶液。合適的賦形劑包括但不限於惰性稀釋劑，如碳酸鈣、碳酸鈉或碳酸氫鈉、乳糖或磷酸鈣；或者結合劑，如澱粉、明膠或阿拉伯膠；或者潤滑劑，如硬脂酸鎂、硬脂酸或滑石。

【0197】 本公開文本的另外的醫藥組合物對於業內熟習此項技術者將是明顯的，所述醫藥組合物包括在持續或控制遞送配製品中包含結合蛋白的配製品。用於配製多種其他持續或控制遞送手段的技術（如脂質體載劑、生物蝕解性微粒或多孔珠粒和積存注射）也是業內熟習此項技術者已知的。持續釋放製劑的另外的例子包括呈成型物品（例如薄膜）或微膠囊形式的半滲透性聚合物基質。持續釋放基質可以包括聚酯、水凝膠、聚丙交酯、L-麩胺酸與 γ 乙基-L-麩胺酸酯的共聚物、聚(2-羥乙基-甲基丙烯酸酯)、乙烯乙酸乙烯酯或聚-D(-)-3-羥丁酸。持續釋放組合物還可以包括脂質體，所述脂質體可以通過業內已知的幾種方法中的任何方法來製備。

【0198】 要用於體內投予的醫藥組合物通常必須是無菌的。這可以通過經無菌濾膜過濾來實現。在將組合物凍幹的情況下，可以在凍幹和重構之前或之後使用這種方法進行滅菌。用於腸胃外投予的組合物可以以凍幹形式或溶液形式儲存。此外，通常將腸胃外組合物置於具有無菌進入口的

容器中，所述容器例如具有可由皮下注射針刺穿的塞子的靜脈輸液袋或小瓶。

【0199】 一旦已經配製醫藥組合物，就可以將其作為溶液、懸浮液、凝膠、乳液、固體或作為脫水或凍幹粉末儲存在無菌小瓶中。可以將此類配製品以即用形式或以需要在投予前重構（例如，凍幹）的形式儲存。

【0200】 本公開文本還涵蓋用於產生單一劑量投予單位的套組。套組可以各自含有具有乾燥蛋白質的第一容器和具有水性配製品的第二容器二者。本公開文本的範圍內還包括含有單室和多室預填充注射器（例如，液體注射器和冷凍注射器（lyosyringe））的套組。

【0201】 在治療上採用的結合蛋白醫藥組合物的有效量將取決於例如治療背景和目標。業內熟習此項技術者將瞭解，治療的適當劑量水平將因此部分根據以下項而變化：所遞送的分子、結合蛋白所用於的適應證、投予途徑以及患者的體型（體重、體表或器官大小）和狀況（年齡和一般健康狀況）。因此，臨床醫師可以滴定劑量並改變投予途徑以獲得最佳治療效果。

【0202】 給藥頻率將取決於所用配製品中結合蛋白的藥代動力學參數。通常，臨床醫師將投予組合物直至達到實現所需效果的劑量為止。因此，可以將組合物作為單一劑量、作為隨時間的兩次或更多次劑量（它們可以含有或不含等量的所需分子）或作為連續輸注通過植入裝置或導管來投予。適當劑量的進一步改進是由業內熟習此項技術者以常規方式進行，並且在業內熟習此項技術者常規進行的任務範圍內。適當劑量可以通過使用適當的劑量-反應數據來確定。

【0203】 醫藥組合物的投予途徑與已知方法一致，例如，口服；通過靜脈內、腹膜內、大腦內（腦實質內）、腦室內、肌內、眼內、動脈內、門靜脈內或病灶內途徑注射；通過持續釋放系統；或者通過植入裝置。在需要時，可以將組合物通過推注注射投予，或通過輸注連續投予，或通過植入裝置投予。

【0204】 還可以將組合物通過已經使所需分子吸附或包封於其上的膜、海綿狀物或其他適當材料的植入局部地投予。在使用植入裝置的情況

下，可以將所述裝置植入任何合適的組織或器官中，並且所需分子的遞送可以通過擴散、定時釋放推注或連續投予來進行。

實例

【0205】 以下實例說明本公開文本的具體實施例，以及它們的各種用途。所述實例僅出於解釋性目的來陳述，並且不應被視為以任何方式限制本發明的範圍。

【0206】 在本文的實例和附圖中，以下術語可以互換使用，是指特異性抗 CD38 抗原結合結構域或抗體：

抗CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1或CD38_{VH1}

抗CD38_1370或CD38_{HHY1370}

抗CD38_SB19或艾薩妥昔單抗（isatuximab）

實例 1：抗 CD38 抗體誘導交叉反應性和細胞凋亡

【0207】 針對與人和食蟹猴 CD38 多肽的結合以及針對細胞凋亡的誘導來表徵人源化抗 CD38 變異體。

材料和方法

對可溶性 CD38 細胞外結構域的結合親和力

【0208】 使用 BIAcore 2000（BIAcore Inc.，烏普薩拉，新澤西州）評價抗 CD38 mAb 的結合特性。簡單來說，將 CM5 BIAcore 生物感測器芯片對接至儀器中並用 250 μ L 的 1:1 NHS/EDC 在室溫下激活。將小鼠抗人 Fc IgG1（GE Healthcare #BR-1008-39）（13.5 μ g/mL，在 0.05 M 乙酸鹽緩衝液中，pH 5）固定在流動池 1 中的激活芯片上。所述固定是以 5 μ L/min 的流速來實施。然後通過注射 55 μ L 乙醇胺鹽酸鹽（pH 8.5），然後用 50 mM NaOH、1M NaCl 洗滌五次來封閉芯片。為了測量抗 CD38 mAb 與人 CD38 蛋白或食蟹猴 CD38 蛋白的結合，將抗體以 2 μ g/mL 用於 BIAcore 運行緩衝液（HBS-EP）中。以 3 至 1000 nM 注射抗原（人 CD38-histag（ID2）或食蟹猴 CD38-histag（ID3））。在注射階段完成後，以相同流速在 BIAcore 運行

緩衝液中監測解離 360 秒。在注射之間使用 30 μ L 的 50 mM NaOH-1 M NaCl 使表面再生。使用 BIAsimulation 軟體分析單獨的感測圖。

對表現人 CD38 的前 B 細胞的結合親和力

【0209】 通過流式細胞術確定抗 CD38 抗體與在重組鼠前 B::300.19 細胞的表面上表現的 CD38 的結合。重組細胞株描述於以下文獻中：J. Deckket 等人 2014 Clin.Cancer Res 20:4574-4583。將表現 CD38 的鼠前 B::300.19 細胞以 40,000 個細胞/孔包被于 96 孔高結合板 (MSD L15XB-3) 上，並在 4°C 下添加 100 μ L/孔的抗 CD38 抗體持續 45 min，並用 PBS 1% BSA 洗滌三次。在 4°C 下添加 100 μ L/孔的與 Alexa488 (Jackson ImmunoResearch；# 109-545-098) 綴合的山羊抗人 IgG 持續 45 min，並用 PBS 1% BSA 洗滌三次。在細胞的離心和重懸後通過添加 200 μ L/孔 PBS 1% BSA 評價抗體結合，並使用 Guava® easyCyte™ 8HT 流式細胞術系統讀取。分別使用 BIOST@T-BINDING 和 BIOST@T-SPEED 軟體估計表觀 KD 和 EC50 值。

重組 CD38 蛋白

【0210】 使用衍生自亞型 A 的具有不同標記和點突變的各種重組 CD38 蛋白 (SEQ ID NO: 2、3、4 和 28)，以及涵蓋來自 R45-P203 的 CD38 細胞外結構域的 CD38 亞型 E 的標記的形式 (SEQ ID NO: 105)。所述蛋白質是通過在哺乳動物細胞中的瞬時表現來產生的。將編碼 DNA 序列克隆至哺乳動物表現質體中，在 CMV 強化子/啟動子和 SV40 多聚 A 信號下。使用 FreeStyle™ MAX 293 表現系統根據製造商的說明書用所述表現質體對 HEK293 細胞 (Invitrogen；#K9000-10) 進行瞬時轉染。

細胞凋亡誘導測定

【0211】 將細胞以 2×10^5 個細胞/mL 在含有 1.5 μ g/mL (10 nM) 所指示抗體的完全培養基 (RPMI-1640，10% FBS、2 mM L-麩醯胺酸) 中在 37°C 和 5% CO₂ 下孵育 20 小時。將細胞根據製造商說明書 (Life Technologies) 用 AnnexinV-FITC 染色。通過流式細胞術在 BD FACSAria™ 流式細胞儀上使用用於採集控制和數據分析的 BD FACSDiva 軟體 (二者均來自 BD Biosciences) 來分析樣品。

ELISA 測定

【0212】 用 PBS 中的 CD38 以 0.5 μ g/孔包被 96 孔板，並將 100 μ L/孔的抗體添加至板。將所述板在 37°C 下孵育 1 h 並用含有 0.05% Tween-20 的 PBS (PBS-T) 洗滌五次。然後，將 100 μ L 的 1:25,000 稀釋度的與辣根過氧化物酶 (Jackson Ref: 109-035-098) 綴合的抗人 IgG 添加至每個孔。在 37°C 下在黑暗中孵育 1 h 後，將板用 PBS-T 洗滌五次。通過添加 TMB-H₂O₂ 緩衝液將抗體結合可視化並在 450 nm 的波長下讀取。使用 BIOST@T-SPEED 軟體估計 EC50 值。

結果

【0213】 使用 ELISA 和表面等離子體共振 (SPR) 測定，使用 BIAcore 系統 (Pharmacia Biosensor；皮斯卡塔韋，新澤西州) 檢查所選抗人 CD38 抗體與可溶人 CD38 和食蟹猴 CD38 的結合特性。使用 ELISA 數據確定對於人源化抗 CD38 抗體抗 CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1、抗 CD38_C2-CD38-1_VH3-VL3、抗 CD38_C2-CD38-1_VH5-VL3、抗 CD38_C2-CD38-1_VH6-VL3 和人抗 CD38 抗體抗 CD38_1370 的抗體與人和食蟹猴 CD38 結合的 EC50。

【0214】 還使用 SPR 測定來評價人源化抗 CD38 變異體或人抗 CD38 mAb 與 CD38 的結合。使用 SPR 數據確定對於人源化抗 CD38 抗體抗 CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1、抗 CD38_C2-CD38-1_VH3-VL3、抗 CD38_C2-CD38-1_VH5-VL3、抗 CD38_C2-CD38-1_VH6-VL3 和人抗 CD38 抗體抗 CD38_1370 的抗體與人和食蟹猴 CD38 結合的 K_D 和 k_{off}。表 K 中概述的結合數據顯示，所有抗 CD38 mAb 都以相似的結合特徵與 CD38 結合。

【0215】 表 K. 如通過表面等離子體共振測定所確定的抗 CD38 mAb 對人 CD38 和食蟹猴 CD38 的可溶性細胞外結構域的結合親和力。

	hCD38-his (SEQ ID NO: 2)		cCD38-his (SEQ ID NO: 4)	
	Kd (s-1)	KD (M)	Kd (s-1)	KD (M)
抗CD38_C2-CD38-1	2.66E-04	3.36E-10	9.85E-05	3.90E-10
抗CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1	3.90E-04	3.32E-10	7.84E-04	3.44E-09

抗CD38_C2-CD38-1_VH3-VL3	2.83E-04	4.83E-10	1.29E-04	7.10E-10
抗CD38_C2-CD38-1_VH5-VL3	5.29E-04	8.22E-10	2.01E-04	1.14E-09
抗CD38_C2-CD38-1_VH6-VL3	3.33E-04	3.12E-10	1.25E-04	5.63E-10
抗CD38_1370	2.03E-04	1.44E-09	1.90E-04	1.38E-09

【0216】 使用上述基於 FACS 的結合測定評估人源化抗 CD38 變異體與表現 CD38 的細胞結合的能力。使用 FACS 數據確定對於人源化抗 CD38 抗體抗 CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1、抗 CD38_C2-CD38-1_VH3-VL3、抗 CD38_C2-CD38-1_VH5-VL3、抗 CD38_C2-CD38-1_VH6-VL3 和人抗 CD38 抗體抗 CD38_1370 的抗體與人和食蟹猴 CD38 結合的 EC50。表 L 中所示的結合數據顯示，所有人源化抗 CD38 變異體都展現相似的對細胞表面 CD38 的結合親和力。

【0217】 表 L. 抗 CD38 mAb 對表現 CD38 的鼠前 B::300.19 細胞的結合親和力。

	表觀KD FACS (M)	
	表現hCD38的細胞	表現cCD38的細胞
抗CD38_C2-CD38-1	2.80E-10	2.20E-10
抗CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1	3.30E-10	7.50E-10
抗CD38_C2-CD38-1_VH3-VL3	7.80E-10	1.31E-09
抗CD38_C2-CD38-1_VH5-VL3	5.50E-10	1.15E-09
抗CD38_C2-CD38-1_VH6-VL3	6.80E-10	1.07E-09
抗CD38_1370	2.07E-09	1.14E-09

【0218】 來自上文 ELISA、SPR 和 FACS 測定的結合數據以及 VH 和 VL 結構域與人 V 區域的序列同一性一起概述於表 L2 中。

【0219】 表 L2. 表徵所指示抗體與人 (Hu) 和食蟹猴 (Cyno) CD38 多肽的結合的 ELISA、SPR 和 FACS 測定的概述。

	INN 術語	ELISA		SPR		FACS		人V區域同一性	
		EC50 nM		KD nM		EC50 nM		性	
		Hu	食蟹猴	Hu	食蟹猴	Hu	食蟹猴	Hu	食蟹猴
抗 CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1	-zumAb	0.11	0.10	0.33	3.44	0.33	0.76	84.7%	87.1%
抗 CD38_C2-CD38-1_VH3-VL3	-zumAb	0.16	0.15	0.48	0.71	0.78	1.31	83.7%	83.9%
抗 CD38_C2-CD38-1_VH5-VL3	-zumAb	0.16	0.17	0.82	1.14	0.55	1.15	80.6%	83.9%
抗 CD38_C2-CD38-1_VH6-VL3	-zumAb	0.14	0.14	0.31	0.56	0.68	1.06	81.6%	83.9%
抗CD38_1370	-umAb	0.05	0.09	1.44	1.38	2.00	1.14	99.0%	95.8%

【0220】 還檢查了抗 CD38 抗體與人 CD38 亞型 A 和 E 二者結合的能力。對於評價與 CD38 亞型 A 和亞型 E 的結合，通過使用亞型 A 和亞型 E 蛋白（如上所述製備）作為捕獲抗原來進行酶聯免疫吸附測定（ELISA）。用 PBS 中的任一亞型以 0.5 μg/孔包被 96 孔板，並將 100 μL/孔的抗體添加至板。將所述板在 37°C 下孵育 1 h 並用含有 0.05% Tween-20 的 PBS (PBS-T) 洗滌五次。然後，將 100 μL 的 1 : 25,000 稀釋度的與辣根過氧化物酶 (Jackson Ref: 109-035-098) 綴合的抗人 IgG 添加至每個孔。在 37°C 下在黑暗中孵育

1 h 後，將板用 PBS-T 洗滌五次。通過添加 TMB-H₂O₂ 緩衝液將抗體結合可視化並在 450 nm 的波長下讀取。使用 BIOST@T-SPEED 軟體估計 EC₅₀ 值。

【0221】 確定各種抗體與 CD38 亞型 A (SEQ ID NO: 1) 和亞型 E (SEQ ID NO: 105) 的結合親和力，如表 L3 中所示。表 M 提供各種抗 CD38 抗體的結合特性的比較。

【0222】 表 L3. 如通過 ELISA 所確定的基於 EC₅₀ 的抗 CD38 抗體對 CD38 亞型 A 和 E 的結合親和力。

抗體	CD38亞型A EC50 (nM)	CD38亞型E EC50 (nM)
抗CD38_C2-CD38-1	0.11 (CV 9 %)	0.08 (CV 7%)
抗 CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1	0.14 (CV 13%)	0.10 (CV 12%)
抗CD38_1370	0.47 (CV 3.7%)	0.32 (CV 5%)
抗CD38_SB19	0.10 (CV 7.1%)	無結合

【0223】 表 M. 各種抗 CD38 抗體的結合特徵。

抗CD38	H11 (聖 克魯茲)	達雷木 單抗	抗 CD38_SB19	抗 CD38_C2-CD38-1	抗 CD38_1370
與 huCD38 亞型 A 的 結合	+	+	+	+	+
與 huCD38 亞型E的結 合	+	-	-	+	+

與食蟹猴 CD38的結 合	+	-	-	+	+
---------------------	---	---	---	---	---

【0224】總之，只有抗 CD38_C2-CD38-1 以亞納摩爾親和力與人和食蟹猴 CD38 二者結合並與 CD38 亞型 A 和 E 結合。

實例 2：三特異性抗 CD38 結合蛋白的產生

【0225】接著，分析在圖 1 中所描繪的三特異性形式中，實例 1 中所述的所選抗 CD38 抗體的抗原結合結構域的結合特性。

材料和方法

三特異性結合蛋白的產生和純化

【0226】三特異性結合蛋白是通過根據製造商的方案使用 ExpiFectamine™ 293 轉染套組 (Thermo Fisher Scientific) 將 4 種表現質體瞬時轉染至 Expi293 細胞中來產生。簡單來說，將 25% (w/w) 的每種質體稀釋至 Opti-MEM 中，在室溫 (RT) 下與預稀釋的 ExpiFectamine 試劑混合 20-30 分鐘，並添加至 Expi293 細胞 (2.5 x 10⁶ 個細胞/ml) 中。通常使用用於確定質體最佳比率的轉染優化以產生具有良好產量和純度的三特異性結合蛋白。

【0227】在轉染後 4-5 天，從轉染的細胞收集上清液並使其通過 0.45 μm 過濾裝置 (Nalgene) 過濾。使用 3 步式程序純化上清液中的三特異性結合蛋白。第一，使用蛋白 A 親和純化，並使用「IgG 洗脫緩衝液」(Thermo Fisher Scientific) 洗脫所結合的 Ab。第二，將產物針對 PBS (pH 7.4) 透析過夜，其中 2 次更換 PBS 緩衝液。在下一步驟之前，通過 0.45 μm 過濾裝置 (Nalgene) 進行過濾來清除任何沈澱物。第三，使用尺寸排阻層析 (SEC) 純化 (Hiload 16/600 Superdex 200pg，或 Hiload 26/600 Superdex 200pg，GE Healthcare) 去除聚集體和製劑中的不同種類。在還原性和非還原性

SDS-PAGE 上分析所述級分以鑒定含有單體三特異性結合蛋白的級分，然後合併所述級分。可以將純化的抗體等分並在 -80°C 下長期儲存。

ELISA 測定

【0228】 使用 ELISA 或 SPR 方法分析純化的抗體的結合特性。對於 ELISA，在 4°C 下使用三特異性結合蛋白中每個結合位點的相應抗原，使用 PBS (pH 7.4) 中的 $2\text{ }\mu\text{g/ml}$ 的每種抗原包被 96 孔免疫板 (Nunc 439454, Thermo Fisher Scientific) 過夜。使用 PBS 中的 5% 脫脂乳+2% BSA 將所包被的板在 RT 下封閉 1 小時，然後用 PBS + 0.25% Tween 20 洗滌三次 (Aqua Max 400, Molecular Devices)。製備抗體 (三特異性和對照 Ab) 的連續稀釋液並將其添加至 ELISA 板 ($100\text{ }\mu\text{l}$ /孔，一式兩份) 上，在 RT 下孵育 1 小時，然後用 PBS + 0.25% Tween 20 洗滌 5 次。

【0229】 在洗滌後，將 HRP 綴合的二級抗人 Fab (1:5000, 目錄號 109-035-097, Jackson ImmunoResearch Inc) 添加至每個孔並在 RT 下孵育 30 分鐘。在用 PBS + 0.25% Tween 20 洗滌 5 次後，將 $100\text{ }\mu\text{l}$ 的 TMB Microwell 過氧化物酶受質 (KPL, 蓋瑟斯堡, 馬里蘭州, 美國) 添加至每個孔。通過添加 $50\text{ }\mu\text{l}$ $1\text{ M H}_2\text{SO}_4$ 終止反應，並使用 SpectraMax M5 (Molecular Devices) 測量 OD_{450} ，並使用 SoftMax Pro6.3 軟體 (Molecular Devices) 進行分析。將最終數據傳輸至 GraphPad Prism 軟體 (GraphPad Software, 加利福尼亞州, 美國)，並如所示繪圖。使用相同軟體計算 EC_{50} 。

【0230】 使用 ELISA 測定來確定抗 CD38xCD28xCD3 三特異性抗體或同種型對照抗體 (人 IgG4) 與人 CD3 (Cambridge Biologics LLC 目錄號 03-01-0051)、CD28 (Cambridge Biologics LLC 目錄號 03-01-0303) 和 CD38 (Cambridge Biologics LLC 目錄號 03-01-0369) 的結合。使用辣根過氧化物酶 (HRP) 綴合的抗 Fab 二級抗體 (Jackson ImmunoResearch Inc #109-035-097) 偵檢結合的抗體。

結果

【0231】 使用 SPR 在三特異性形式 (抗 CD38x 抗 CD28x 抗 CD3) 中測試抗 CD38 抗原結合結構域在其他抗原結合結構域與其同源配體結合時結合 CD38 的能力。對於三種抗原與每種三特異性 Ab 的順序結合，注射飽和

濃度 (> 10 KD) 的每種抗原 8 min，然後進行 5 min 解離。通過在 60 秒內以 30 μ l/min 注射 10 mM 甘胺酸鹽酸鹽 (pH 2.5) 來進行表面再生。將數據用 1 : 1 動力學結合模型擬合，並使用 Biacore S200 評價軟體 1.0 版進行分析。使用結合速率常數(k_{on})和解離速率常數(k_{off})計算平衡解離常數(K_D)。

【0232】 這種基於 SPR 的測定顯示，不管 CD3 和/或 CD28 抗原結合結構域是否也與它們的同源抗原結合，三特异性結合蛋白都能夠結合 CD38。如通過 SPR 測量的動力學參數提供於表 M2 中。

【0233】 表 M2. 三特异性抗 CD38x 抗 CD28x 抗 cd3 結合蛋白與 1、2 或 3 種同源抗原的結合。

在CD38結合之前的 結合蛋白狀態	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D (M)
無預結合	9.02E+05	1.42E-03	1.57E-09
預結合CD3	8.35E+05	1.24E-03	1.48E-09
預結合CD28	7.39E+05	1.32E-03	1.79E-09
預結合CD3，然後結 合CD28	8.18E+05	1.23E-03	1.50E-09
預結合CD28，然後結 合CD3	8.37E+05	1.23E-03	1.47E-09

【0234】 這些結果顯示，所有三種靶標都可以同時與三特异性結合蛋白結合。使三特异性結合蛋白與 CD28、CD3 或二者（以任何順序）預結合沒有改變與 CD38 的結合動力學或結合親和力。

接著，通過SPR評價CD38_{SB19}xCD28_{sup}xCD3_{mid}三特异性結合蛋白的每個抗原結合結構域在其他兩個抗原結合結構域處於或不處於飽和的情況下結合同源抗原的能力。表M3和表M4顯示這些測定的結果。

【0235】 表 M3. 在不存在其他靶標的情況下的靶標結合。

靶標	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D (M)
CD38	8.04E+05	1.41E-03	1.75E-09
CD28	1.16E+05	3.14E-04	2.71E-09
CD3	2.90E+04	6.73E-04	2.32E-08

【0236】 表 M4. 在其他靶標處於飽和的情況下的靶標結合。

靶標	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D (M)
CD38	5.93E+05	1.44E-03	2.42E-09
CD28	1.05E+05	3.96E-04	3.77E-09
CD3	1.27E+05	2.36E-03	1.86E-08

【0237】 如表 M3 和表 M4 中所示，通過與抗原預結合使兩個靶標飽和不影響第三靶標對 CD38 或 CD28 的動力學或結合親和力。在 CD3 結合的情況下，預結合的 CD38 和/或 CD28 導致較快的動力學（對 k_{on} 和 k_{off} 值的影響為約 4 倍）。

【0238】 在具有兩個抗 CD28 抗原結合結構域（超激動劑「sup」，和常規激動劑「cyn」）和兩個抗 CD3 抗原結合結構域（「mid」和「low」）的三特異性形式中測試抗 CD38 抗原結合結構域。提供這些抗原結合結構域的可變結構域序列如下：抗 CD28_{sup}：SEQ ID NO: 49（VH）和 SEQ ID NO: 50（VL）；抗 CD28_{cyn}：SEQ ID NO: 51（VH）和 SEQ ID NO: 52（VL）；抗 CD3_{mid}：SEQ ID NO: 53（VH）和 SEQ ID NO: 54（VL）；抗 CD3_{low}：SEQ ID NO: 84（VH）和 SEQ ID NO: 85（VL）。檢查三特異性結合蛋白的結合的 SPR 測定的結果顯示於圖 2 中。三個抗 CD38 結合結構域在三特異性結合蛋白形式中具有與在單特異性形式中大致相同的結合親和力。兩個 CD3 結合結構域在單特異性、雙特異性和三特異性形式中具有大約相同的結合親和力。如與在單特異性形式中相比，CD28 結合結構域在雙特異性或三特

異性形式中顯示略低（但仍是納摩爾的）結合親和力。與在其他兩個抗原結合結構域未與抗原結合時相比，在其他兩個抗原結合結構域飽和時，抗 CD38_{SB19} 和抗 CD28_{sup} 結合結構域具有類似的結合親和力。然而，在其他兩個抗原結合結構域飽和時，抗 CD3_{mid} 結合結構域顯示更快的動力學。這些結果顯示，抗 CD38、抗 CD28 和抗 CD3 結合結構域適用於三特異性結合蛋白形式。

【0239】 還將本文所產生的抗 CD38 抗原結合結構域與現有的抗 CD38_SB19 的抗 CD38 抗原結合結構域（分別地，VH 序列參見 SEQ ID NO: 47，並且 VL 序列參見 SEQ ID NO: 48）進行了比較。通過流式細胞術確定三特異性分子與在重組鼠前 B::300.19 細胞的表面上表現的 CD38 的結合，並且平行測定相應的抗 CD38 單價抗體。重組細胞株描述於以下文獻中：J. Deckket 等人 2014 Clin.Cancer Res 20:4574-4583。將表現 CD38 的鼠前 B::300.19 細胞以 40,000 個細胞/孔包被于 96 孔高結合板（MSD L15XB-3）上，並在 4°C 下添加 100 μ L/孔的三特異性分子持續 45 min，並用 PBS 1% BSA 洗滌三次。在 4°C 下添加 100 μ L/孔的與 Alexa488（Jackson ImmunoResearch；# 109-545-098）綴合的山羊抗人 IgG 持續 45 min，並用 PBS 1% BSA 洗滌三次。在細胞的離心和重懸後通過添加 200 μ l/孔 PBS 1% BSA 評價抗體結合，並使用 Guava® easyCyte™ 8HT 流式細胞術系統讀取。分別使用 BIOST@T-BINDING 和 BIOST@T-SPEED 軟體估計表觀 KD 和 EC50 值。

【0240】 如上所述使用流式細胞術來檢查抗 CD38_SB19 抗體或具有抗 CD38_SB19 抗 CD38 抗原結合結構域之三特異性結合蛋白與在其細胞表面上表現人或食蟹猴 CD38 多肽的鼠前 B 細胞的結合。具有抗 CD38_SB19 抗 CD38 抗原結合結構域的 CD38xCD28_{sup}xCD3_{mid} 三特異性結合蛋白以比抗 CD38_SB19 單特異性抗體（EC50 = 0.5 nM）低 8 倍的表觀親和力（EC50 = 4 nM）與表現人 CD38 的細胞結合。抗 CD38_SB19 單特異性抗體或具有抗 CD38_SB19 抗 CD38 抗原結合結構域之三特異性結合蛋白都不與表現食蟹猴 CD38 的細胞結合。

【0241】 還在三特異性形式中針對與表現人或食蟹猴 CD38 多肽的細胞的結合測試了人源化抗 CD38 抗體抗 CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1 的結合結構域。與抗 CD38_SB19 不同，具有抗 CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1 抗 CD38 抗原結合結構域的 CD38xCD28_{sup}xCD3_{mid} 和 CD38xCD28_{cvn}xCD3_{mid} 三特異性結合蛋白，以及抗 CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1 單特異性抗體能夠結合人和食蟹猴 CD38 多肽二者。具有抗 CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1 抗 CD38 抗原結合結構域的 CD38xCD28_{cvn}xCD3_{mid} 三特異性結合蛋白以比親代抗 CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1 抗體 (EC₅₀ = 0.5 nM) 低 9 倍的表觀親和力 (EC₅₀ = 4.4 nM) 與表現人 CD38 的細胞結合。具有抗 CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1 抗 CD38 抗原結合結構域的 CD38xCD28_{cvn}xCD3_{mid} 三特異性結合蛋白以比親代抗 CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1 抗體 (EC₅₀ = 1 nM) 低 7.5 倍的表觀親和力 (EC₅₀ = 7.5 nM) 與表現食蟹猴 CD38 的細胞結合。具有抗 CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1 抗 CD38 抗原結合結構域的 CD38xCD28_{sup}xCD3_{mid} 三特異性結合蛋白以比具有抗 CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1 抗 CD38 抗原結合結構域的 CD38xCD28_{cvn}xCD3_{mid} 三特異性結合蛋白 (EC₅₀ = 4.4 nM) 低 2.5 倍的表觀親和力 (EC₅₀ = 11 nM) 與表現人 CD38 的細胞結合。

【0242】 還針對與表現人或食蟹猴 CD38 多肽的細胞的結合將人源化抗 CD38 抗體抗 CD38_1370 的結合結構域與抗 CD38_1370 單特異性抗體進行了比較。儘管抗 CD38_1370 單特異性抗體在 nM 範圍內與表現人 (EC₅₀ = 11.2 nM) 或食蟹猴 (EC₅₀ = 6.6 nM) CD38 多肽的細胞結合，但具有抗 CD38_1370 抗 CD38 抗原結合結構域的 CD38xCD28_{sup}xCD3_{mid} 三特異性結合蛋白在沒有飽和的情況下與表現人或食蟹猴 CD38 多肽的細胞結合。

【0243】 總之，不論是通過 SPR 檢查與重組人 CD38 的結合或是通過流式細胞術檢查與在細胞表面上表現的人 CD38 的結合，發現 CD38_{SB19}xCD28_{sup}xCD3_{mid} 三特異性結合蛋白 (抗 CD38_SB19 抗 CD38 結合結構域) 與人 CD38 結合的親和力在相同範圍內 (圖 3)。類似地，CD38_{VH1}xCD28_{sup}xCD3_{mid/low} (抗 CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1 抗 CD38 結合

結構域)和 CD38_{VH1}×CD28_{cvn}×CD3_{mid/low}三特異性結合蛋白(抗 CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1 抗 CD38 結合結構域)與人 CD38 的結合的親和力在兩種測定中也在相同範圍內。對於 CD38_{HHY1370}×CD28_{sup}×CD3_{mid}(抗 CD38_1370 抗 CD38 結合結構域)，通過 SPR 確定結合人 CD38 的 K_D是 1 nM，而通過流式細胞術無法估計準確的 EC50 值(圖 3)。對具有各種抗 CD38 結合結構域的特異性結合蛋白的表觀 KD 值(通過 FACS 分析獲得)的概述提供於表 M5 中。

【0244】 表 M5. 對通過流式細胞術測定獲得的表觀 KD 值的概述。

	表觀KD FACS (M)	
	表現hCD38的細胞	表現cCD38的細胞
具有抗 CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1 抗CD38結合結構域的特異性結合蛋白	4.4 nM	7.5 nM
具有抗CD38_1370抗CD38 結合結構域的特異性結合 蛋白	未飽和	未飽和
具有抗CD38_SB19抗CD38 結合結構域的特異性結合 蛋白	4 nM	無結合
	表觀KD FACS (M)	
	表現hCD38的細胞	表現cCD38的細胞
抗	0.5 nM	1 nM

CD38_C2-CD38-1_VH1-VL1		
抗CD38_1370	11.2 nM	6.6 nM

【0245】 如所預期，缺少抗 CD38 結合結構域的 Δ CD38xCD28_{sup}xCD3_{mid} 三特異性結合蛋白未與表現人或食蟹猴 CD38 多肽的細胞結合。這指示，在這個測定中觀察到的結合是 CD38 抗原結合結構域所特有的。

實例 3：CD38/CD3xCD28 Ab 刺激中樞記憶 CD4 和 CD8、Th1 和抗原特異性反應

【0246】 為了確定 CD38/CD3xCD28 三特異性 Ab 是否可以增強細胞免疫功能，評價了體外擴增的 T 細胞的表型。

材料和方法

【0247】 從由 Research Blood Components, LLC（波士頓，馬薩諸塞州）收集的健康人供體的血液分離外周血單核細胞。如上文先前所述將 PBMC 添加至抗體包被的板（350 ng/孔）（ 5×10^5 個細胞/mL），並在 37°C 下孵育 3 天和 7 天。在特定時間點收集細胞並通過流式細胞術分析 T 細胞亞群：原初（CCR7+ CD45RO-）、Tcm（CCR7+ CD45RO+）、Tem（CCR7- CD45RO+）、Tregs（CD4+ Foxp3+ CD25hi）。還用莫能菌素（GolgiStop）（BD Biosciences，加利福尼亞州）將細胞處理至少 6 小時，之後進行流動染色以確定細胞內細胞因子表現：Th1（CD4+ IFN- γ +）、Th2（CD4+ IL-4+）和 Th17（CD4+ IL-17+）。使用限制於 PBMC 供體的 HLA（A*02:01/NLVPMVATV）（ProImmune，牛津，英國）的熒光綴合的五聚體偵檢 CMV pp65 特異性 CD8+ T 細胞。PBMC 是從 HemaCare（範奈斯，加利福尼亞州）從具有已知 CMV 陽性群體和 HLA 類型的供體獲得的。使用來自對限制 HLA 類型呈陰性的供體的 PMBC 作為陰性對照。根據製造商的方案進行染色。

結果

【0248】 將來自 CMV 感染的供體的人 PBMC 與三特異性 Ab 或具有三個突變的抗原結合位點的陰性對照三特異性抗體一起在不存在細胞因子的情況下孵育 7 天。對 CD4 亞群的分析揭示中樞記憶池中的最大增生，以及效應記憶細胞的較小增加（圖 4A）。對 CD4 亞群的分析也揭示 Th1 細胞與 Th2 或 Th17 細胞相比的最大增生（>6 倍）（圖 4B）。在 CD8 亞群中，截至第 7 天存在中樞記憶 CD8 亞群的 >150 倍的增加，以及效應記憶細胞的較小增加（圖 4C）。重要的是，與陰性對照相比，使用四聚體染色針對血清反應陽性 HLA-A2 供體中的 pp65 表位（Gratama JW, van Esser JW, 等人 *Blood* 98:1358-1364(2001)）的預先存在的對 CMV 的抗原特異性 CD8 反應在存在 CD38 三特異性的情況下增加 >44 倍（圖 4D）。

【0249】 總而言之，這些數據指示，CD38 三特異性 Ab 刺激可能增強體內抗腫瘤抗病毒免疫力的 Th1 功能和保護性 CD8 記憶 T 細胞反應。

實例 4：CD38/CD28xCD3 三特異性抗體促進 CMV 特異性免疫反應

【0250】 病毒抗原特異性 T 細胞的激活和/或增生可以提供針對病毒感染（如巨細胞病毒（CMV）感染）的治療策略。確定 CD38/CD28xCD3 三特異性抗體促進 CMV 特異性 T 細胞的激活和擴增的能力。

材料和方法

ELISA 測定

【0251】 通過 ELISA 測量 CD38/CD28xCD3 T 細胞銜接器與每種靶抗原的結合親和力。簡單來說，在 4°C 下使用每種抗原，使用 PBS（pH7.4）中的 200 ng/孔的每種抗原包被 96 孔免疫板（Thermo Fisher Scientific）過夜。使用 PBS 中的 5%脫脂乳+2% BSA 將所包被的板在 RT 下封閉 1 小時，然後用 PBS + 0.25% Tween 20 洗滌三次（Aqua Max 400，Molecular Devices）。製備抗體（三特異性和對照 Ab）的連續稀釋液並將其添加至 ELISA 板（100 µl/孔，一式兩份）上，在 RT 下孵育 1 小時，然後用 PBS + 0.25% Tween 20 洗滌 5 次。在洗滌後，將 HRP 綴合的二級抗人 Fab（1:5000，目錄號 109-035-097，Jackson ImmunoResearch Inc）添加至每個孔並在 RT 下孵育

30 分鐘。在用 PBS + 0.25% Tween 20 洗滌 5 次後，將 100 μ l 的 TMB Microwell 過氧化物酶受質（KPL，蓋瑟斯堡，馬里蘭州，美國）添加至每個孔。通過添加 50 μ l 1 M H₂SO₄ 終止反應，並使用 SpectraMax M5 (Molecular Devices) 測量 OD₄₅₀，並使用 SoftMax Pro6.3 軟體（Molecular Devices）進行分析。將最終數據傳輸至 GraphPad Prism 軟體（GraphPad Software，加利福尼亞州，美國），並繪圖。使用相同軟體計算 EC₅₀。

SPR 測定

【0252】 使用人 CD38-His 抗原（Cambridge Biologics，Cambridge，馬薩諸塞州）進行全面動力學分析。使用 SPR 技術在 BIACORE 3000（GE Healthcare）上對純化的抗體進行動力學表徵。使用捕獲測定，其利用所研究抗體的人 IgG1 特異性抗體捕獲和取向。對於含有 Fc 的蛋白質構建體的捕獲，使用人抗體捕獲套組（GE Healthcare）。對於 His 標記的抗原的捕獲，使用抗 His 抗體捕獲套組（GE Healthcare）。使用標準程序通過研究級 CM5 芯片（GE Life Sciences）上的伯胺基團（11000 RU）固定捕獲抗體。使用將導致通常 30 RU 的最大分析物結合信號的調節的 RU 值以 10 μ L/min 的流速捕獲所分析的抗體。針對三特異性抗體測量結合動力學。以 30 μ L/min 的流速使用 HBS EP（10 mM HEPES（pH 7.4）、150 mM NaCl、3 mM EDTA 和 0.005% 表面活性劑 P20）作為測定緩衝液。用相應捕獲套組的再生溶液使芯片表面再生。在 BIA 評價程序包 v4.1 中使用不具有所捕獲抗體的流動池作為參照和具有質量轉移的 1:1 朗繆爾（Langmuir）結合模型分析並計算動力學參數。

體外 T 細胞增生測量

【0253】 通過負向選擇使用磁性全 T 細胞分離套組（Miltenyi Biotec GmbH，德國）從人外周血單核細胞（PBMC）供體分離 T 細胞。通過製備無菌 PBS 中的抗體並分配 50 μ L 至每個孔中（350 ng/孔）將抗體包被于 96 孔細胞培養板上。然後將所述板在 37°C 下孵育至少 2 小時，然後用無菌 PBS 洗滌。將未接觸的 T 細胞添加至抗體包被的板（ 5×10^5 個細胞/mL）並在 37°C 下孵育多日。在第 4 天用新的細胞培養基將所述細胞傳代至新鮮的抗體包被板上。在使用 7 天孵育的某些實驗中，在不更換的情況下僅添加新

鮮培養基至新鮮的抗體包被板。在特定時間點收集細胞並使用 CountBright™計數珠粒來計算細胞數。

體外 T 細胞增生分析和 T 細胞亞群測定

【0254】 從由 Research Blood Components, LLC (波士頓, 馬薩諸塞州) 收集的健康人供體的血液分離外周血單核細胞。如上文先前所述將 PBMC 添加至抗體包被的板 (350 ng/孔) (5×10^5 個細胞/mL), 並在 37°C 下孵育 3 天和 7 天。在特定時間點收集細胞並通過流式細胞術分析 T 細胞亞群: 原初 (CCR7+ CD45RO-), T_{cm} (CCR7+ CD45RO+), T_{em} (CCR7- CD45RO+), T_{regs} (CD4+ Foxp3+ CD25hi)。還用莫能菌素 (GolgiStop) (BD Biosciences, 加利福尼亞州) 將細胞處理至少 6 小時, 之後進行流動染色以確定細胞內細胞因子表現: Th1 (CD4+ IFN- γ +), Th2 (CD4+ IL-4+) 和 Th17 (CD4+ IL-17+)。分別使用限制於 PBMC 供體的 HLA/病毒肽

(A*02:01/NLVPMVATV; SEQ ID NO: 26)、(A*02:01/GLCTLVAML; SEQ ID NO: 27)、(A*02:01/GILGFVFTL; SEQ ID NO: 28) 和

(A*02:01/SLYNTVATL; SEQ ID NO: 25) (ProImmune, 牛津, 英國) 的熒光綴合的五聚體偵檢 CMV pp65 特異性、EBV BMLF 特異性、甲型流感 MP 特異性和 HIV-1 Gag 特異性 CD8+ T 細胞。對於具有已知 CMV、EBV 或甲型流感的供體, PBMC 是從 HemaCare (Van Nuys, 加利福尼亞州) 獲得, 並且對於具有已知 HIV-1 陽性和 HLA 類型的供體, PBMC 是從 BioIVT (Westbury, 紐約州) 獲得。使用來自對限制 HLA 類型呈陰性的供體的 PMBC 作為陰性對照。根據製造商的方案進行染色。

CMV 特異性 T 細胞的定量

【0255】 如上所述, 從已知感染 CMV 的人供體的血液分離 PBMC 並將其添加至含有三特異性抗體或對照抗體的板。將所述板在 37°C 下孵育。在所指示的時間點收集細胞並如上所述對其進行分析。

結果

【0256】 在與從 CMV 感染的人供體 B (圖 5A 至圖 5B) 和 CMV 感染的人供體 C (圖 6A 至圖 6B) 分離的 PBMC 一起孵育長達 10 天后, CD38_{VH1}/CD28^{sup} x CD3 中三特異性抗體激活 T 細胞並促進 CMV 特異性記

憶 CD8+ T 細胞的增生。如圖 5A (CMV 供體 B) 和圖 6A (CMV 供體 C) 中所示，相對於三重突變體對照抗體，CD38_{VH1}/CD28^{sup} x CD3^{mid} 三特異性抗體導致 CMV 特異性記憶 CD8+ T 細胞 (細胞/ μ l) 增加。另外，相對於三重突變體對照抗體，CD38_{VH1}/CD28^{sup} x CD3^{mid} 三特異性抗體增加 CMV 特異性 CD8+ 效應記憶 (T_{em}) 和中樞記憶 (T_{cm}) 細胞的百分比 (CMV 供體 B，圖 5B；CMV 供體 C，圖 6B)。

【0257】總而言之，這些數據指示，CD38/CD28xCD3 三特異性抗體促進 CMV 特異性 T 細胞 (如 CMV 特異性 CD8+ T 細胞、CMV 特異性效應記憶 (T_{em}) CD8+ T 細胞和 CMV 特異性中樞記憶 (T_{cm}) CD8+ T 細胞) 的激活和擴增。

實例 5：CD38/CD28xCD3 三特異性抗體促進 EBV 特異性免疫反應

【0258】接著，確定 CD38/CD28xCD3 三特異性抗體促進愛潑斯坦-巴爾病毒 (EBV) 特異性 T 細胞的激活和擴增的能力。

材料和方法

EBV 特異性 T 細胞的定量

【0259】如上所述，從已知感染 EBV 的人供體的血液分離 PBMC 並將其添加至含有三特異性抗體或對照抗體的板。將所述板在 37°C 下孵育。在所指示的時間點收集細胞並如上所述對其進行分析。

結果

【0260】在與從 EBV 感染的人供體 A (圖 7A 至圖 7B) 和 EBV 感染的人供體 B (圖 8A 至圖 8B) 分離的 PBMC 一起孵育長達 11 天后，CD38_{VH1}/CD28^{sup} x CD3^{mid} 三特異性抗體激活 T 細胞並促進 EBV 特異性記憶 CD8+ T 細胞的增生。如圖 7A (EBV 供體 A) 和圖 8A (EBV 供體 B) 中所示，相對於三重突變體對照抗體，CD38_{VH1}/CD28^{sup} x CD3^{mid} 三特異性抗體導致 EBV 特異性記憶 CD8+ T 細胞 (細胞/ μ l) 增加。另外，相對於三重突變體對照抗體，CD38_{VH1}/CD28^{sup} x CD3^{mid} 三特異性抗體增加 EBV 特異性 CD8+ T_{em} 細胞和 T_{cm} 細胞的百分比 (EBV 供體 A，圖 7B；EBV 供體 B，圖 8B，例如，參見第 7 天)。

【0261】 總而言之，這些數據指示，CD38/CD28xCD3 三特異性抗體促進 EBV 特異性 T 細胞(如 EBV 特異性 CD8+ T 細胞、EBV 特異性效應記憶(T_{em}) CD8+ T 細胞和 EBV 特異性中樞記憶(T_{cm}) CD8+ T 細胞)的激活和擴增。

實例 6：CD38/CD28xCD3 三特異性抗體促進 HIV 特異性免疫反應

【0262】 接著，確定 CD38/CD28xCD3 三特異性抗體促進人類免疫缺陷病毒 (HIV) 特異性 T 細胞的激活和擴增的能力。

材料和方法

HIV 特異性 T 細胞的定量

【0263】 如上所述，從已知感染 HIV 的人供體的血液分離 PBMC 並將其添加至含有三特異性抗體或對照抗體的板。將所述板在 37°C 下孵育。在所指示的時間點收集細胞並如上所述對其進行分析。

結果

【0264】 在第 0 天（在與三特異性抗體一起孵育之前），來自 HIV 陽性供體的 PBMC 展現 HIV Gag 特異性 CD8 T 細胞（與 PE 綴合的 A*02:01-SLYNTVATL (HIV-1 gag p17 76-84) 五聚體，ProImmune）（圖 9）。例如，與來自 HIV 陰性供體的 PBMC 中 0.33% 的 Gag 特異性 CD8 T 細胞相比，三種 HIV 陽性 PBMC 供體具有 0.86%（HIV 供體 A）、0.95%（HIV 供體 B）和 2.27%（HIV 供體 C）的 Gag 特異性 CD8 T 細胞。

【0265】 將 PBMC 與 CD38_{VH1}/CD28_{sup} x CD3_{mid} 三特異性抗體一起孵育長達 10 天來激活 T 細胞並促進 HIV 特異性 T 細胞的增生。如圖 10A（HIV 供體 D）、圖 11A（HIV 供體 E）和圖 12A（HIV 供體 F）中所示，相對於三重突變體對照抗體，CD38_{VH1}/CD28_{sup} x CD3_{mid} 三特異性抗體導致 HIV 特異性記憶 CD8+ T 細胞（細胞/ μ l）增加。另外，相對於三重突變體對照抗體，CD38_{VH1}/CD28_{sup} x CD3_{mid} 三特異性抗體增加 HIV 特異性 CD8+ 效應記憶(T_{em})細胞的百分比（例如，參見第 7 天和第 10 天），並且還以較低程度增加 CD8+ 中樞記憶(T_{cm})細胞的百分比（HIV 供體 D，圖 10B；HIV 供體 E，圖 11B；HIV 供體 F，圖 12B）。

實例 7：CD38/CD28xCD3 三特異性抗體促進流感特異性免疫反應

【0266】 確定 CD38/CD28xCD3 三特異性抗體促進流感特異性 T 細胞的激活和擴增的能力。

材料和方法

流感特異性 T 細胞的定量

【0267】 如上所述，從已知感染甲型流感的人供體的血液分離 PBMC 並將其添加至含有三特異性抗體或對照抗體的板。將所述板在 37°C 下孵育。在所指示的時間點收集細胞並如上所述對其進行分析。

結果

【0268】 在與從已知感染流感的人供體(圖 13A 至圖 13B(流感供體 A))分離的 PBMC 一起孵育長達 11 天后，CD38_{VH1}/CD28^{sup} x CD3^{mid} 三特異性抗體激活 T 細胞並促進流感特異性記憶 CD8⁺ T 細胞的增生。如圖 13A 中所示，相對於三重突變體對照抗體，CD38_{VH1}/CD28^{sup} x CD3^{mid} 三特異性抗體導致流感特異性記憶 CD8⁺ T 細胞(細胞/ μ l)增加。另外，相對於三重突變體對照抗體，CD38_{VH1}/CD28^{sup} x CD3^{mid} 三特異性抗體增加流感(流行性感冒)特異性 CD8⁺ T_{em} 細胞(例如，參見第 7 天和第 11 天)和 T_{cm} 細胞(例如，參見第 7 天)的百分比(圖 13B)。

【0269】 總而言之，實例 1-7 中呈現的數據顯示三特異性抗 CD38/CD3/CD28 抗體刺激針對多種病毒的有效抗病毒免疫力。不希望受理論束縛，人們相信，CD38/CD3/CD28 三特異性抗體可以通過接合 T 細胞上的所有三種配體來激活並促進 T 細胞的增生。具體地，人們相信，CD38/CD3/CD28 三特異性抗體接合 T 細胞上的 CD3/CD28 啟動了 T 細胞激活、增生和分化為記憶 T 細胞。此外，不希望受理論束縛，人們相信，接合 CD28 提供有利的共刺激信號，所述共刺激信號增強免疫反應的持續時間和量級，並促進 T 細胞增生和存活。

【0270】 雖然本公開文本包括各個實施例，但是應理解業內熟習此項技術者將想到多種變化和修改。因此，所附的申請專利範圍意圖涵蓋在本公開文本的範圍內的所有此類等效變化。另外，本文使用的章節標題只是出於組織的目的，而不應解釋為限制所描述的主題。

【0271】 除非明確指示相反含義，否則本文所述的每個實施例可以與其他任何一個或多個實施例組合。具體地，除非明確指示相反含義，否則指示為較佳或有利的任何特徵或實施例可以與指示為較佳或有利的其他任何一個或多個特徵或一個或多個實施例組合。

【0272】 本申請中引用的所有參考文獻均以引用的方式明確地併入本文。

【符號說明】

【0273】 無

【序列表】

<110>法商賽諾菲公司 (Sanofi)

<120> 三特异性抗 CD38、抗 CD28 和抗 CD3 結合蛋白和用於治療病毒感染的使用方法

<130> 18395-20321.40

<140> TW108136331

<141> 2019-10-08

<150> EP 19306097.7

<151> 2019-09-11

<150> US 62/831,608

<151> 2019-04-09

<150> US 62/831,572

<151> 2019-04-09

<150> PCT/US2018/055084

<151> 2018-10-09

<160> 132

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 256

<212> PRT

<213> 智人

<400> 1

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

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

<210> 2
<211> 265
<212> PRT
<213> 智人

<400> 2																
Arg	Trp	Arg	Gln	Gln	Trp	Ser	Gly	Pro	Gly	Thr	Thr	Lys	Arg	Phe	Pro	
1				5					10					15		
Glu	Thr	Val	Leu	Ala	Arg	Cys	Val	Lys	Tyr	Thr	Glu	Ile	His	Pro	Glu	
			20					25				30				
Met	Arg	His	Val	Asp	Cys	Gln	Ser	Val	Trp	Asp	Ala	Phe	Lys	Gly	Ala	
	35						40				45					
Phe	Ile	Ser	Lys	His	Pro	Cys	Asn	Ile	Thr	Glu	Glu	Asp	Tyr	Gln	Pro	
	50					55					60					
Leu	Met	Lys	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Val	Pro	Cys	Asn	Lys	Ile	Leu	Leu	
65					70					75					80	
Trp	Ser	Arg	Ile	Lys	Asp	Leu	Ala	His	Gln	Phe	Thr	Gln	Val	Gln	Arg	
			85						90					95		

Asp	Met	Phe	Thr	Leu	Glu	Asp	Thr	Leu	Leu	Gly	Tyr	Leu	Ala	Asp	Asp
100				105				110							
Leu	Thr	Trp	Cys	Gly	Glu	Phe	Asn	Thr	Ser	Lys	Ile	Asn	Tyr	Gln	Ser
115				120				125							
Cys	Pro	Asp	Trp	Arg	Lys	Asp	Cys	Ser	Asn	Asn	Pro	Val	Ser	Val	Phe
130				135				140							
Trp	Lys	Thr	Val	Ser	Arg	Arg	Phe	Ala	Glu	Ala	Ala	Cys	Asp	Val	Val
145				150				155				160			
His	Val	Met	Leu	Asn	Gly	Ser	Arg	Ser	Lys	Ile	Phe	Asp	Lys	Asn	Ser
165				170				175							
Thr	Phe	Gly	Ser	Val	Glu	Val	His	Asn	Leu	Gln	Pro	Glu	Lys	Val	Gln
180				185				190							
Thr	Leu	Glu	Ala	Trp	Val	Ile	His	Gly	Gly	Arg	Glu	Asp	Ser	Arg	Asp
195				200				205							
Leu	Cys	Gln	Asp	Pro	Thr	Ile	Lys	Glu	Leu	Glu	Ser	Ile	Ile	Ser	Lys
210				215				220							
Arg	Asn	Ile	Gln	Phe	Ser	Cys	Lys	Asn	Ile	Tyr	Arg	Pro	Asp	Lys	Phe
225				230				235				240			
Leu	Gln	Cys	Val	Lys	Asn	Pro	Glu	Asp	Ser	Ser	Cys	Thr	Ser	Glu	Ile
245				250				255							
Ser	Ala	Ser	His	His	His	His	His	His	His						
260				265											

<210> 3
<400> 3
000

<210> 4
<211> 265
<212> PRT
<213> 食蟹猴

<400> 4
Arg Trp Arg Gln Gln Trp Ser Gly Ser Gly Thr Thr Ser Arg Phe Pro
1 5 10 15
Glu Thr Val Leu Ala Arg Cys Val Lys Tyr Thr Glu Val His Pro Glu
20 25 30
Met Arg His Val Asp Cys Gln Ser Val Trp Asp Ala Phe Lys Gly Ala
35 40 45
Phe Ile Ser Lys Tyr Pro Cys Asn Ile Thr Glu Glu Asp Tyr Gln Pro
50 55 60

Leu	Val	Lys	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Val	Pro	Cys	Asn	Lys	Thr	Leu	Leu
65					70					75					80
Trp	Ser	Arg	Ile	Lys	Asp	Leu	Ala	His	Gln	Phe	Thr	Gln	Val	Gln	Arg
				85					90					95	
Asp	Met	Phe	Thr	Leu	Glu	Asp	Met	Leu	Leu	Gly	Tyr	Leu	Ala	Asp	Asp
			100					105					110		
Leu	Thr	Trp	Cys	Gly	Glu	Phe	Asn	Thr	Phe	Glu	Ile	Asn	Tyr	Gln	Ser
		115					120					125			
Cys	Pro	Asp	Trp	Arg	Lys	Asp	Cys	Ser	Asn	Asn	Pro	Val	Ser	Val	Phe
	130					135					140				
Trp	Lys	Thr	Val	Ser	Arg	Arg	Phe	Ala	Glu	Thr	Ala	Cys	Gly	Val	Val
145				150					155						160
His	Val	Met	Leu	Asn	Gly	Ser	Arg	Ser	Lys	Ile	Phe	Asp	Lys	Asn	Ser
			165					170						175	
Thr	Phe	Gly	Ser	Val	Glu	Val	His	Asn	Leu	Gln	Pro	Glu	Lys	Val	Gln
		180					185						190		
Ala	Leu	Glu	Ala	Trp	Val	Ile	His	Gly	Gly	Arg	Glu	Asp	Ser	Arg	Asp
	195					200					205				
Leu	Cys	Gln	Asp	Pro	Thr	Ile	Lys	Glu	Leu	Glu	Ser	Ile	Ile	Ser	Lys
	210					215					220				
Arg	Asn	Ile	Arg	Phe	Phe	Cys	Lys	Asn	Ile	Tyr	Arg	Pro	Asp	Lys	Phe
225				230						235					240
Leu	Gln	Cys	Val	Lys	Asn	Pro	Glu	Asp	Ser	Ser	Cys	Leu	Ser	Gly	Ile
			245					250						255	
Ser	Ala	Ser	His	His	His	His	His	His							
		260						265							

<210> 5
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

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

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

<210> 6
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 6
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
20 25 30
Gly Asn Gly Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asp
65 70 75 80
Pro Val Glu Ala Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Lys
85 90 95
Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 7
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構建體

<400> 7

Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Val	Arg	Ser	Gly	Ala
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Met	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Phe
			20					25						30	
Asn	Met	His	Trp	Val	Lys	Glu	Thr	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile
		35					40					45			
Gly	Tyr	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asn	Gly	Gly	Thr	Asn	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe
	50					55					60				
Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Ala	Asp	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70					75					80
Met	Gln	Ile	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Thr	Gly	Gly	Leu	Arg	Arg	Ala	Tyr	Phe	Thr	Tyr	Trp	Gly	Gln
			100					105						110	
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val
		115					120					125			
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala
	130					135					140				
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser
145					150					155					160
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val
			165						170					175	
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro
		180						185					190		
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys
	195						200					205			
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp
	210					215					220				
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Ala	Gly
225					230					235					240
Pro	Asp	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile
			245						250					255	
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu
		260						265					270		
Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His
	275						280					285			
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg
	290					295					300				
Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys
305					310					315					320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Leu Pro Glu Glu
325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445
Gly

<210> 8
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 8
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
20 25 30
Gly Asn Gly Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asp
65 70 75 80
Pro Val Glu Ala Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Lys
85 90 95
Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu 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				160			
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> 9
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 9

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

<210> 10
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 10
Ala 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 Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser 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 Gly Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asp Tyr Ile Tyr Tyr Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 11
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 11
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
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 Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gly Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65					70					75					80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Met	Phe	Arg	Gly	Ala	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu
			100					105					110		
Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu
		115					120					125			
Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys
	130					135					140				
Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser
145					150				155						160
Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser
				165				170					175		
Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser
		180					185					190			
Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn
	195					200						205			
Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His
	210				215						220				
Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Ala	Gly	Pro	Asp	Val
225					230				235						240
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
				245				250					255		
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu
		260					265					270			
Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
	275					280						285			
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
	290				295						300				
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
305				310					315						320
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Leu	Pro	Glu	Glu	Lys	Thr	Ile
			325					330					335		
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
		340					345					350			
Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu
	355					360					365				
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
	370				375						380				
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser
385				390					395						400
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg
			405					410					415		

Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu
420				425				430							
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly		
435				440				445							

<210> 12
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 12

Ala	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	Gly	Ile	Arg	Asn	Asp
20				25				30							
Leu	Gly	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
35				40				45							
Tyr	Ala	Ala	Ser	Ser	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	Gly	Leu	Gln	Pro
65					70					75					80
Glu	Asp	Ser	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Leu	Gln	Asp	Tyr	Ile	Tyr	Tyr	Pro
85				90				95							
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	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> 13
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 13
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val 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
Ala Met His Trp Val Lys Glu Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Tyr Pro Gly Gln Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Thr Gly Gly Leu Arg Arg Ala Tyr Phe Thr Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 14
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 14
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Gln Gly Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35					40					45						
Arg	Leu	Leu	Ile	Tyr	Gly	Ala	Ser	Ser	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	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	
Pro	Leu	Glu	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Asn	Lys	
85					90					95						
Glu	Asp	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys		
100					105					110						

<210> 15
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 15															
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Val	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							
Ala	Met	His	Trp	Val	Lys	Glu	Ala	Pro	Gly	Gln	Arg	Leu	Glu	Trp	Ile
35				40				45							
Gly	Tyr	Ile	Tyr	Pro	Gly	Gln	Gly	Gly	Thr	Asn	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe
50				55				60							
Gln	Gly	Arg	Ala	Thr	Leu	Thr	Ala	Asp	Thr	Ser	Ala	Ser	Thr	Ala	Tyr
65				70				75				80			
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys
85				90				95							
Ala	Arg	Thr	Gly	Gly	Leu	Arg	Arg	Ala	Tyr	Phe	Thr	Tyr	Trp	Gly	Gln
100				105				110							
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val
115				120				125							
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala
130				135				140							
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser
145				150				155				160			
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val
165				170				175							
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro

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

- <210> 16
- <211> 218
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>

<223> 合成構建體

<400> 16

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Gln Gly Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile 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
Pro Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Lys
85 90 95
Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu 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
145 150 155 160
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> 17

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構建體

<400> 17

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

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

<210> 18
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 18

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

<210> 19

<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 19															
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Val	Lys	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Phe
			20					25					30		
Asn	Met	His	Trp	Val	Lys	Glu	Ala	Pro	Gly	Gln	Arg	Leu	Glu	Trp	Ile
		35					40					45			
Gly	Tyr	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asn	Gly	Gly	Thr	Asn	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe
	50					55				60					
Gln	Gly	Arg	Ala	Thr	Leu	Thr	Ala	Asp	Thr	Ser	Ala	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70					75				80	
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Thr	Gly	Gly	Leu	Arg	Arg	Ala	Tyr	Phe	Thr	Tyr	Trp	Gly	Gln
			100					105					110		
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val
		115					120					125			
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala
	130					135					140				
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser
145					150					155				160	
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val
			165						170					175	
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro
			180					185					190		
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys
		195					200					205			
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp
	210					215					220				
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Ala	Gly
225					230					235				240	
Pro	Asp	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile
			245						250					255	
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu
			260					265					270		
Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His

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

<210> 20
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 20															
Asp	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly
1				5				10				15			
Glu	Arg	Ala	Thr	Ile	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Glu	Ser	Val	Asp	Ser	Tyr
20								25				30			
Gly	Asn	Gly	Phe	Met	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Pro	Pro
35							40					45			
Arg	Leu	Leu	Ile	Tyr	Leu	Ala	Ser	Ser	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	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
Pro	Leu	Glu	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Asn	Lys
				85					90					95	
Glu	Asp	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	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					160
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> 21
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400>	21														
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Val	Lys	Ser	Gly	Ala
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Phe
			20					25					30		
Asn	Met	His	Trp	Val	Lys	Glu	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile
			35				40					45			
Gly	Tyr	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asn	Gly	Gly	Thr	Asn	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe
	50					55					60				
Gln	Gly	Arg	Ala	Thr	Leu	Thr	Ala	Asp	Thr	Ser	Ala	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70					75					80
Met	Glu	Ile	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Thr	Gly	Gly	Leu	Arg	Arg	Ala	Tyr	Phe	Thr	Tyr	Trp	Gly	Gln

100

105

110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 22

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構建體

<400> 22

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Ser Gly Ala

1

5

10

15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Phe

20

25

30

Asn Met His Trp Val Lys Glu Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35

40

45

Gly Tyr Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe

50

55

60

Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr

65

70

75

80

Met Glu Ile Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys

85

90

95

Ala Arg Thr Gly Gly Leu Arg Arg Ala Tyr Phe Thr Tyr Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115

120

125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

130

135

140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145

150

155

160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

165

170

175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180

185

190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195

200

205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210

215

220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Ala Gly

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

<210> 23
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400>	23														
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Val	Lys	Pro	Gly	Ala
1			5				10					15			
Ser	Val	Lys	Met	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Phe

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

<210> 24
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 24															
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Val	Lys	Pro	Gly	Ala
1				5				10				15			
Ser	Val	Lys	Met	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Phe
20				25				30							
Asn	Met	His	Trp	Val	Lys	Glu	Ala	Pro	Gly	Gln	Arg	Leu	Glu	Trp	Ile
35				40				45							
Gly	Tyr	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asn	Gly	Gly	Thr	Asn	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe
50				55				60							
Gln	Gly	Arg	Ala	Thr	Leu	Thr	Ala	Asp	Thr	Ser	Ala	Ser	Thr	Ala	Tyr
65				70				75				80			
Met	Glu	Ile	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys
85				90				95							
Ala	Arg	Thr	Gly	Gly	Leu	Arg	Arg	Ala	Tyr	Phe	Thr	Tyr	Trp	Gly	Gln
100				105				110							
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val
115				120				125							
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala
130				135				140							
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser

145					150					155					160
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val
				165					170					175	
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro
			180					185					190		
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys
		195					200					205			
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp
	210					215					220				
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Ala	Gly
225					230					235					240
Pro	Asp	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile
			245					250					255		
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu
		260					265					270			
Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His
	275						280					285			
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg
	290					295					300				
Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys
305				310				315							320
Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Leu	Pro	Glu	Glu
			325					330						335	
Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr
		340					345						350		
Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu
	355					360						365			
Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp
	370				375					380					
Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val
385				390					395						400
Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp
			405					410						415	
Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His
		420					425						430		
Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro
	435					440					445				
Gly															

<210> 25
<211> 9

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 25
Ser Leu Tyr Asn Thr Val Ala Thr Leu
1 5

<210> 26
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 26
Asn Leu Val Pro Met Val Ala Thr Val
1 5

<210> 27
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 27
Gly Leu Cys Thr Leu Val Ala Met Leu
1 5

<210> 28
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構建體

<400> 28
Gly Ile Leu Gly Phe Val Phe Thr Leu
1 5

<210> 29
<400> 29
000

<210> 30
<211> 256
<212> PRT
<213> 食蟹猴

<400> 30
Arg Trp Arg Gln Gln Trp Ser Gly Ser Gly Thr Thr Ser Arg Phe Pro
1 5 10 15
Glu Thr Val Leu Ala Arg Cys Val Lys Tyr Thr Glu Val His Pro Glu
20 25 30
Met Arg His Val Asp Cys Gln Ser Val Trp Asp Ala Phe Lys Gly Ala
35 40 45
Phe Ile Ser Lys Tyr Pro Cys Asn Ile Thr Glu Glu Asp Tyr Gln Pro
50 55 60
Leu Val Lys Leu Gly Thr Gln Thr Val Pro Cys Asn Lys Thr Leu Leu
65 70 75 80
Trp Ser Arg Ile Lys Asp Leu Ala His Gln Phe Thr Gln Val Gln Arg
85 90 95
Asp Met Phe Thr Leu Glu Asp Met Leu Leu Gly Tyr Leu Ala Asp Asp
100 105 110
Leu Thr Trp Cys Gly Glu Phe Asn Thr Phe Glu Ile Asn Tyr Gln Ser
115 120 125
Cys Pro Asp Trp Arg Lys Asp Cys Ser Asn Asn Pro Val Ser Val Phe
130 135 140
Trp Lys Thr Val Ser Arg Arg Phe Ala Glu Thr Ala Cys Gly Val Val
145 150 155 160
His Val Met Leu Asn Gly Ser Arg Ser Lys Ile Phe Asp Lys Asn Ser
165 170 175
Thr Phe Gly Ser Val Glu Val His Asn Leu Gln Pro Glu Lys Val Gln
180 185 190
Ala Leu Glu Ala Trp Val Ile His Gly Gly Arg Glu Asp Ser Arg Asp

195						200					205					
Leu	Cys	Gln	Asp	Pro	Thr	Ile	Lys	Glu	Leu	Glu	Ser	Ile	Ile	Ser	Lys	
210						215					220					
Arg	Asn	Ile	Arg	Phe	Phe	Cys	Lys	Asn	Ile	Tyr	Arg	Pro	Asp	Lys	Phe	
225						230					235					240
Leu	Gln	Cys	Val	Lys	Asn	Pro	Glu	Asp	Ser	Ser	Cys	Leu	Ser	Gly	Ile	
245						250					255					

<210> 31
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 31
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Phe Asn
1 5

<210> 32
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 32
Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Gly Thr
1 5

<210> 33
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 33
Ala Arg Thr Gly Gly Leu Arg Arg Ala Tyr Phe Thr Tyr
1 5 10

<210> 34
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 34
Glu Ser Val Asp Ser Tyr Gly Asn Gly Phe
1 5 10

<210> 35
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 35
Leu Ala Ser
1

<210> 36
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 36
Gln Gln Asn Lys Glu Asp Pro Trp Thr
1 5

<210> 37
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 37
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Ala
1 5

<210> 38
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 38
Ile Tyr Pro Gly Gln Gly Gly Thr
1 5

<210> 39
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 39
Gln Ser Val Ser Ser Tyr Gly Gln Gly Phe
1 5 10

<210> 40
<211> 3
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構建體

<400> 40

Gly Ala Ser
1

<210> 41

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構建體

<400> 41

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly
1 5

<210> 42

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構建體

<400> 42

Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
1 5

<210> 43

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構建體

<400> 43
Ala Arg Met Phe Arg Gly Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 44
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 44
Gln Gly Ile Arg Asn Asp
1 5

<210> 45
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 45
Ala Ala Ser
1

<210> 46
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 46
Leu Gln Asp Tyr Ile Tyr Tyr Pro Thr
1 5

<210> 47
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 47
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Ala Lys Pro Gly Thr
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp 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 Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Lys Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met His Leu Ser Ser Leu Ala Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asp Tyr Tyr Gly Ser Asn Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 48
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 48
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Leu Ser Met Ser Thr Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Pro Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Val
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile

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

<210> 49
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 49																
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Val	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								
Tyr	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	
35				40				45								
Gly	Ser	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asn	Val	Asn	Thr	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	
50				55				60								
Gln	Gly	Arg	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Thr	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr	
65				70				75				80				
Met	Glu	Leu	Ser	Arg	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
85				90				95								
Thr	Arg	Ser	His	Tyr	Gly	Leu	Asp	Trp	Asn	Phe	Asp	Val	Trp	Gly	Lys	
100				105				110								
Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser									
115				120												

<210> 50
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 50
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Val Trp
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr 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 Gln Thr Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 51
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 51
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asp Tyr
20 25 30
Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45
Gly Val Ile Trp Ala Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60
Ser Arg Lys Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Asp Lys Gly Tyr Ser Tyr Tyr Tyr Ser Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
115

<210> 52
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 52
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Pro Gly
1 5 10 15
Gln Arg Ala Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Glu Tyr Tyr
20 25 30
Val Thr Ser Leu Met Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Phe Ala Ala Ser Asn Val Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn
65 70 75 80
Pro Val Glu Ala Asn Asp Val Ala Asn Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg
85 90 95
Lys Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 53
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 53
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Lys Ala
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Leu Glu Trp Val

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

<210> 54
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 54																
Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser	Leu	Ser	Val	Thr	Pro	Gly	
1				5				10				15				
Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Val	His	Asn	
20					25					30						
Asn	Ala	Asn	Thr	Tyr	Leu	Ser	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	
35					40					45						
Pro	Gln	Ser	Leu	Ile	Tyr	Lys	Val	Ser	Asn	Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro	
50				55				60								
Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile	
65					70					75					80	
Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gly	Gln	Gly	
85					90					95						
Thr	Gln	Tyr	Pro	Phe	Thr	Phe	Gly	Ser	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	
100				105				110								

<210> 55
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 55
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 56
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 56
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 57
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 57
Thr Lys Gly Pro Ser
1 5

<210> 58
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 58

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro
1 5

<210> 59
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 59
Gly Gly Ser Gly Ser Ser Gly Ser Gly Gly
1 5 10

<210> 60
<211> 570
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 60
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val 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
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ser Ile Tyr Pro Gly Asn Val Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Ser His Tyr Gly Leu Asp Trp Asn Phe Asp Val Trp Gly Lys
100 105 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala

130						135						140				
Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Thr	Lys	Ala	Trp	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	
145						150					155					160
Ala	Pro	Gly	Lys	Gln	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Gln	Ile	Lys	Asp	Lys	Ser	
				165						170					175	
Asn	Ser	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	
			180						185				190			
Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	
		195					200					205				
Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Arg	Gly	Val	Tyr	Tyr	
	210					215					220					
Ala	Leu	Ser	Pro	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	
225					230					235						240
Ser	Ser	Arg	Thr	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	
				245					250					255		
Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	
		260					265					270				
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	
	275					280						285				
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	
	290					295				300						
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	
305					310					315					320	
Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	
				325					330					335		
Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	
		340						345					350			
Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	
	355					360						365				
Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	
	370					375					380					
Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	
385					390					395					400	
Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	
			405						410					415		
Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	
		420						425					430			
Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	
	435						440					445				
Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	
	450					455					460					
Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Cys	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	
465					470					475					480	

Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Lys	Gly	Phe
				485					490					495	
Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu
			500					505					510		
Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe
			515				520					525			
Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly
	530					535					540				
Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr
545					550					555					560
Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly						
				565					570						

<210> 61
<211> 338
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 61

Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser	Leu	Ser	Val	Thr	Pro	Gly
1				5					10					15	
Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Val	His	Asn
			20					25					30		
Asn	Ala	Asn	Thr	Tyr	Leu	Ser	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
		35					40					45			
Pro	Gln	Ser	Leu	Ile	Tyr	Lys	Val	Ser	Asn	Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro
	50					55					60				
Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile
65					70					75					80
Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gly	Gln	Gly
				85					90					95	
Thr	Gln	Tyr	Pro	Phe	Thr	Phe	Gly	Ser	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
			100					105					110		
Gly	Gln	Pro	Lys	Ala	Ala	Pro	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser
		115					120					125			
Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala
	130						135					140			
Ser	Gln	Asn	Ile	Tyr	Val	Trp	Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly
145					150					155					160

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly
165 170 175
Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
180 185 190
Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
195 200 205
Gln Gly Gln Thr Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu
210 215 220
Ile Lys Thr Lys Gly Pro Ser Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
225 230 235 240
Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val
245 250 255
Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp
260 265 270
Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr
275 280 285
Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr
290 295 300
Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val
305 310 315 320
Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly
325 330 335
Glu Cys

<210> 62
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 62
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val 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
Ala Met His Trp Val Lys Glu Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Tyr Pro Gly Gln Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Gln	Gly	Arg	Ala	Thr	Leu	Thr	Ala	Asp	Thr	Ser	Ala	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70					75					80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Thr	Gly	Gly	Leu	Arg	Arg	Ala	Tyr	Phe	Thr	Tyr	Trp	Gly	Gln
			100					105					110		
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val
		115					120					125			
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala
	130					135					140				
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser
145					150					155					160
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val
			165						170					175	
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro
		180						185					190		
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys
	195						200					205			
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro
	210					215						220			
Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val
225					230					235					240
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
			245						250					255	
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu
		260						265					270		
Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
	275						280					285			
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
	290					295						300			
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
305					310					315					320
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
			325						330					335	
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
		340						345					350		
Pro	Cys	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu
	355						360					365			
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
	370					375					380				
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser
385					390					395					400
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg

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

<210> 63
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 63																	
Asp	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly		
1				5					10					15			
Glu	Arg	Ala	Thr	Ile	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Ser	Tyr		
			20					25					30				
Gly	Gln	Gly	Phe	Met	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Pro	Pro		
		35					40					45					
Arg	Leu	Leu	Ile	Tyr	Gly	Ala	Ser	Ser	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	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			
Pro	Leu	Glu	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Asn	Lys		
			85						90					95			
Glu	Asp	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	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				160			
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> 64	
<211> 573	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成構建體	
<400> 64	
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val 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	
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile	
35 40 45	
Gly Ser Ile Tyr Pro Gly Asn Val Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe	
50 55 60	
Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr	
65 70 75 80	
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
85 90 95	
Thr Arg Ser His Tyr Gly Leu Asp Trp Asn Phe Asp Val Trp Gly Lys	
100 105 110	
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser	
115 120 125	
Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala	
130 135 140	
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Lys Ala Trp Met His Trp Val Arg Gln	
145 150 155 160	
Ala Pro Gly Lys Gln Leu Glu Trp Val Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser	
165 170 175	
Asn Ser Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr	
180 185 190	
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser	
195 200 205	
Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg Gly Val Tyr Tyr	
210 215 220	
Ala Leu Ser Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val	
225 230 235 240	
Ser Ser Arg Thr Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala	

				245				250				255			
Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu
				260				265				270			
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly
				275				280				285			
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser
				290				295				300			
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu
305				310				315				320			
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr
				325				330				335			
Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr
				340				345				350			
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
				355				360				365			
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
370				375				380							
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
385				390				395				400			
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
				405				410				415			
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
				420				425				430			
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
				435				440				445			
Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Ala	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
450				455				460							
Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Cys	Thr	Leu	Pro	Pro
465				470				475				480			
Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys	Ala	Val
				485				490				495			
Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly
				500				505				510			
Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp
515				520				525							
Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
530				535				540							
Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His
545				550				555				560			
Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly			
				565				570							

<210> 65
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 65															
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Val	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		
Ala	Met	His	Trp	Val	Lys	Glu	Ala	Pro	Gly	Gln	Arg	Leu	Glu	Trp	Ile
		35					40					45			
Gly	Tyr	Ile	Tyr	Pro	Gly	Gln	Gly	Gly	Thr	Asn	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe
	50					55					60				
Gln	Gly	Arg	Ala	Thr	Leu	Thr	Ala	Asp	Thr	Ser	Ala	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70					75					80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Thr	Gly	Gly	Leu	Arg	Arg	Ala	Tyr	Phe	Thr	Tyr	Trp	Gly	Gln
			100					105						110	
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val
		115					120					125			
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala
	130					135					140				
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser
145					150					155					160
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val
			165					170						175	
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro
			180					185					190		
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys
		195					200					205			
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp
	210					215					220				
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly
225					230					235					240
Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile
			245					250						255	
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu
			260					265					270		

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

<210> 66
<211> 573
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 66
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val 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
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ser Ile Tyr Pro Gly Asn Val Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln	Gly	Arg	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Thr	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70					75					80
Met	Glu	Leu	Ser	Arg	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Thr	Arg	Ser	His	Tyr	Gly	Leu	Asp	Trp	Asn	Phe	Asp	Val	Trp	Gly	Lys
			100					105					110		
Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser
		115					120					125			
Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Arg	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala
	130					135					140				
Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Thr	Lys	Ala	Trp	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln
145					150					155					160
Ala	Pro	Gly	Lys	Gln	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Gln	Ile	Lys	Asp	Lys	Ser
			165						170					175	
Asn	Ser	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr
			180					185					190		
Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser
		195					200					205			
Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Arg	Gly	Val	Tyr	Tyr
	210					215					220				
Ala	Leu	Ser	Pro	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val
225					230					235					240
Ser	Ser	Arg	Thr	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala
			245						250					255	
Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu
			260					265					270		
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly
		275					280					285			
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser
	290					295					300				
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu
305					310					315					320
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr
			325						330					335	
Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr
		340						345					350		
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
		355					360					365			
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
	370					375					380				
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
385					390					395					400
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr

				405				410				415			
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Asn	Ala	Ser	Arg	Val	Val	Ser	Val
				420				425				430			
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
				435				440				445			
Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
				450				455				460			
Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Cys	Thr	Leu	Pro	Pro
465				470				475				480			
Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys	Ala	Val
				485				490				495			
Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly
				500				505				510			
Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp
				515				520				525			
Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
				530				535				540			
Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His
545				550				555				560			
Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly			
				565				570							

<210> 67
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 67			
Gln	Val	Gln	Leu
Val	Gln	Ser	Gly
Ala	Glu	Val	Val
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	
Ala	Met	His	Trp
Val	Lys	Glu	Ala
Pro	Gly	Gln	Arg
Leu	Glu	Trp	Ile
35	40	45	
Gly	Tyr	Ile	Tyr
Pro	Gly	Gln	Gly
Gly	Thr	Asn	Tyr
Asn	Gln	Lys	Phe
50	55	60	
Gln	Gly	Arg	Ala
Thr	Leu	Thr	Ala
Asp	Thr	Ser	Ala
Ser	Ala	Ser	Thr
Ala	Tyr		
65	70	75	80
Met	Glu	Leu	Ser
Ser	Leu	Arg	Ser
Glu	Asp	Thr	Ala
Val	Tyr	Phe	Cys

				85				90				95			
Ala	Arg	Thr	Gly	Gly	Leu	Arg	Arg	Ala	Tyr	Phe	Thr	Tyr	Trp	Gly	Gln
				100				105				110			
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val
				115				120				125			
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala
				130				135				140			
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser
145				150				155				160			
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val
				165				170				175			
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro
				180				185				190			
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys
195				200				205				210			
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp
215				220				225				230			
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly
235				240				245				250			
Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile
				255				260				265			
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu
				270				275				280			
Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His
				285				290				295			
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Asn	Ala	Ser	Arg
				300				305				310			
Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys
315				320				325				330			
Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu
				335				340				345			
Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr
				350				355				360			
Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu
				365				370				375			
Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp
				380				385				390			
Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val
				395				400				405			
Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp
				410				415				420			
Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His
				425				430				435			

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435440445

Gly

<210> 68

<211> 443

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構建體

<400> 68

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

151015

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

202530

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

354045

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

505560

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gly Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65707580

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

859095

Ala Arg Met Phe Arg Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100105110

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

115120125

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys

130135140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

145150155160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser

165170175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser

180185190

Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn

195200205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro

210215220

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

<210> 69
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

Ala	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	Gly	Ile	Arg	Asn	Asp
			20					25					30		

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser 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 Gly Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asp Tyr Ile Tyr Tyr Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val 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> 70
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 70
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
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 Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Gly	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65					70					75					80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Met	Phe	Arg	Gly	Ala	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu
			100					105					110		
Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu
		115					120					125			
Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys
	130					135					140				
Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser
145					150					155					160
Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser
			165					170						175	
Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser
		180						185					190		
Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn
	195						200					205			
Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His
	210					215					220				
Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val
225					230					235					240
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
			245					250						255	
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu
		260						265					270		
Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
	275						280					285			
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
	290					295					300				
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
305				310						315					320
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Ala	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
			325					330						335	
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
		340						345					350		
Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu
	355						360					365			
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
	370					375					380				
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser
385				390						395					400
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg

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

<210> 71
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 71

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

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

<210> 72
<211> 1710
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 72
caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgag gtcgtgaaac ctggcgcctc tgtgaagggtg 60
tcctgcaagg ccagcggcta cacctttacc agctactaca tccactgggt gcgccaggcc 120
cctggacagg gactggaatg gatcggcagc atctaccccg gcaacgtgaa caccaactac 180

gcccagaagt tccagggcag agccaccctg accgtggaca ccagcatcag caccgcctac 240
atggaactga gccggctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgcac ccggtcccac 300
tacggcctgg attggaactt cgacgtgtgg ggcaagggca ccaccgtgac agtgtctagc 360
agccaggtgc agctggtgga atctggcggc ggagtgggtgc agcctggcag aagcctgaga 420
ctgagctgtg ccgccagcgg cttcaccttc accaaggcct ggatgcaactg ggtgcgccag 480
gcccctggaa agcagctgga atgggtggcc cagatcaagg acaagagcaa cagctacgcc 540
acctactacg ccgacagcgt gaagggccgg ttcaccatca gccgggacga cagcaagaac 600
accctgtacc tgcagatgaa cagcctgcgg gccgaggaca ccgccgtgta ctactgtcgg 660
ggcgtgtact atgccctgag ccccttcgat tactggggcc aggaaccct cgtgaccgtg 720
tctagtcgga ccgccagcac aaagggccca tcggtgttcc ctctggcccc ttgcagcaga 780
agcaccagcg aatctacagc cgccctgggc tgcctcgtga aggactactt tcccagagccc 840
gtgaccgtgt cctggaactc tggcgctctg acaagcggcg tgcacacctt tccagccgtg 900
ctccagagca gcggcctgta ctctctgagc agcgtcgtga cagtgccag cagcagcctg 960
ggcaccaaga cctacacctg taacgtggac cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 1020
cgggtggaat ctaagtacgg ccctccctgc cctccttgcc cagccccctga agctgccggc 1080
ggaccctccg tgttcctggt ccccccaaag cccaaggaca ccctgatgat cagccggacc 1140
cccgaagtga cctgcgtggt ggtggatgtg tcccaggaag atcccgaggt gcagttcaat 1200
tggtacgtgg acggcgtgga agtgcacaaac gccaaagacca agcccagaga ggaacagttc 1260
aacagcacct accgggtggt gtccgtgctg accgtgctgc accaggactg gctgaacggc 1320
aaagagtaca agtgcaaggt gtccaacaag ggccctgccca gctccatcga gaaaaccatc 1380
agcaaggcca agggccagcc ccgcgagcct caagtgtgta ccctgcccc tagccaggaa 1440
gagatgacca agaaccaggt gtccctgagc tgtgccgtga aaggcttcta ccccagcgac 1500
attgccgtgg aatgggagag caacggccag cccgagaaca actacaagac cccccccct 1560
gtgctggaca gcgacggctc attcttcctg gtgtccaagc tgaccgtgga caagagccgg 1620
tggcaggaag gcaacgtgtt cagctgctcc gtgatgcacg aggccctgca caaccactac 1680
accagaagt ccctgtctct gtccctgggc 1710

- <210> 73
- <211> 1014
- <212> DNA
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成構建體

<400> 73
gacatcgtga tgaccagac cccctgagc ctgagcgtga cacctggaca gcctgccagc 60
atcagctgca agagcagcca gagcctggtg cacaacaacg ccaacaccta cctgagctgg 120
tatctgcaga agcccggcca gagccccag tcctgatct acaaggtgtc caacagattc 180
agcggcgtgc ccgacagatt ctccggcagc ggctctggca ccgacttcac cctgaagatc 240
agccgggtgg aagccgagga cgtgggcgtg tactattgtg gccagggcac ccagtacccc 300
ttcacctttg gcagcggcac caaggtggaa atcaagggcc agccaaggc cgcccccgac 360
atccagatga cccagagccc cagcagcctg tctgccagcg tgggcgacag agtgaccatc 420

acctgtcagg ccagccagaa catctacgtg tggctgaact ggtatcagca gaagcccggc 480
aaggcccca agctgctgat ctacaaggcc agcaacctgc acaccggcgt gccagcaga 540
ttttctggca gcggtccgg caccgacttc accctgacaa tcagctccct gcagcccag 600
gacattgcc cctactactg ccagcagggc cagacctacc cctacacctt tggccagggc 660
accaagctgg aatcaagac caagggcccc agccgtacgg tggccgctcc cagcgtgttc 720
atcttccac ctagcgacga gcagctgaag tccggcacag cctctgtcgt gtgcctgctg 780
aacaacttct acccccgcga ggccaaagtg cagtggaagg tggacaacgc cctgcagagc 840
ggcaacagcc aggaaagcgt gaccgagcag gacagcaagg actccaccta cagcctgagc 900
agcaccctga cactgagcaa ggccgactac gagaagcaca aggtgtacgc ctgcgaagtg 960
accaccagg gcctgtctag ccccgtagacc aagagcttca accggggcga gtgt 1014

- <210> 74
- <211> 1338
- <212> DNA
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成構建體

<400> 74
caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtcgtgaaac ctggcgccctc cgtgaagggtg 60
tcctgcaagg ccagcggcta cacctttacc agctacgcca tgcactgggt caaagaggcc 120
cctggccaga gactggaatg gatcggctac atctaccccc gccagggcgg caccaactac 180
aaccagaagt tccagggcag agccaccctg accgccgata caagcgccag caccgcctac 240
atggaactga gcagcctgcg gagcgaggat accgccgtgt acttctgtgc cagaacaggc 300
ggcctgaggc gggcctactt tacctattgg ggccagggca ccctcgtgac cgtgtctagc 360
gctagcacia agggcccatc ggtgttccct ctggcccctt gcagcagaag caccagcgaa 420
tctacagccg ccctgggctg cctcgtgaag gactactttc ccgagccgt gaccgtgtcc 480
tggaactctg gcgctctgac aagcggcgtg cacacctttc cagccgtgct ccagagcagc 540
ggcctgtact ctctgagcag cgtcgtgaca gtgccagca gcagcctggg caccaagacc 600
tacacctgta acgtggacca caagcccagc aacaccaagg tggacaagcg ggtggaatct 660
aagtacggcc ctccctgcc tccttgcca gccctgaag ctgccggcg accctccgtg 720
ttcctgttcc ccccaaagcc caaggacacc ctgatgatca gccggacccc cgaagtgacc 780
tgcgtggtgg tggatgtgtc ccaggaagat cccgaggtgc agttcaattg gtacgtggac 840
ggcgtggaag tgcacaacgc caagaccaag cccagagagg aacagttcaa cagcacctac 900
cgggtggtgt ccgtgctgac cgtgctgcac caggactggc tgaacggcaa agagtacaag 960
tgcaagggtg ccaacaaggg cctgccagc tccatcgaga aaaccatcag caaggccaag 1020
ggccagcccc gcgagcctca agtgtatacc ctgccccctt gccaggaaga gatgaccaag 1080
aaccagggtg ccctgtggtg tctcgtgaaa ggcttctacc ccagcgacat tgccgtggaa 1140
tgggagagca acggccagcc cgagaacaac tacaagacca cccccctgt gctggacagc 1200
gacggctcat tcttcctgta ctccaagctg accgtggaca agagccggtg gcaggaaggc 1260
aacgtgttca gctgctccgt gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccagaagtcc 1320
ctgtctctgt ccctgggc 1338

<210> 75
<211> 654
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 75
gacatcgtgc tgacacagag ccctgccacc ctgtctctga gccctggcga gagagccacc 60
atcagctgta gagccagcca gagcgtgtcc agctacggcc agggcttcat gcactggtat 120
cagcagaagc ccggccagcc cccagactg ctgatctatg gcgccagcag cagagccaca 180
ggcatccccg ccagattttc tggctctggc agcggcaccg acttcaccct gacaatcagc 240
cccctggaac ccgaggactt cgccgtgtac tactgccagc agaacaaaga ggacccctgg 300
accttcggcg gaggcaccaa gctggaaatc aagcgtacgg tggccgctcc cagcgtgttc 360
atcttcccac ctagcgacga gcagctgaag tccggcacag cctctgtcgt gtgcctgctg 420
aacaacttct acccccgcga ggccaaggtg cagtgggaagg tggacaatgc cctgcagagc 480
ggcaacagcc aggaaagcgt gaccgagcag gacagcaagg actccaccta cagcctgagc 540
agcaccctga ccctgtccaa ggccgattac gagaagcaca aggtgtacgc ctgcgaagtg 600
acccaccagg gcctgtctag ccccgtagacc aagagcttca accgggggcga gtgc 654

<210> 76
<211> 1719
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 76
caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgag gtcgtgaaac ctggcgcctc tgtgaaggtg 60
tcctgcaagg ccagcggcta cacctttacc agctactaca tccactgggt gcgccaggcc 120
cctggacagg gactggaatg gatcggcagc atctaccccc gcaacgtgaa caccaactac 180
gcccagaagt tccagggcag agccaccctg accgtggaca ccagcatcag caccgcctac 240
atggaactga gccggctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgcac ccggtcccac 300
tacggcctgg attggaactt cgacgtgtgg ggcaagggca ccaccgtgac agtgtctagc 360
agccaggtgc agctgggtgga atctggcggc ggagtgggtgc agcctggcag aagcctgaga 420
ctgagctgtg ccgccagcgg cttcaccttc accaaggcct ggatgcactg ggtgcgccag 480
gcccctggaa agcagctgga atgggtggcc cagatcaagg acaagagcaa cagctacgcc 540
acctactacg ccgacagcgt gaagggccgg ttcaccatca gccgggacga cagcaagaac 600
accctgtacc tgcagatgaa cagcctgcgg gccgaggaca ccgccgtgta ctactgtcgg 660
ggcgtgtact atgccctgag ccccttcgat tactggggcc agggaaccct cgtgaccgtg 720

tctagtcgga ccgccagcac aaagggcccc agcgtgttcc ctctggcccc tagcagcaag 780
agcacatctg gcggaacagc cgccctgggc tgcctcgtga aggactactt tcccgagccc 840
gtgaccgtgt cctggaattc tggcgccctg accagcggcg tgcacacctt tccagctgtg 900
ctgcagtcca gcggcctgta cagcctgagc agcgtcgtga cagtgcccag cagctctctg 960
ggcaccaga cctacatctg caacgtgaac cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 1020
aaggtggaac ccaagagctg cgacaagacc cacacctgtc ccccttgtcc tgcccccgaa 1080
gccgccggag gcccttccgt gttcctgttc cccccaagc ccaaggacac cctgatgatc 1140
agccggaccc ccgaagtga ctgcgtggtg gtggatgtgt cccacgagga ccctgaagtg 1200
aagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa gtgcacaacg ccaagaccaa gccaagagag 1260
gaacagtaca acagcaccta ccgggtggtg tccgtgctga ccgtgctgca ccaggactgg 1320
ctgaacggca aagagtacaa gtgcaagggtg tccaacaagg ccctggccgc ccccatcgag 1380
aaaaccatca gcaaggccaa gggccagccc cgcgaaaccc aggtgtgcac actgccccca 1440
agcagggacg agctgaccaa gaaccagggtg tccctgagct gtgccgtgaa aggcttctac 1500
ccctccgata tcgccgtgga atgggagagc aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc 1560
acccccctg tgctggacag cgacggctca ttcttcctgg tgtccaagct gacagtggac 1620
aagtcccgtt ggcagcaggg caacgtgttc agctgctccg tgatgcacga ggccctgcac 1680
aaccactaca ccagaagtc cctgagcctg agccccggc 1719

- <210> 77
- <211> 1347
- <212> DNA
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成構建體

<400> 77
caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtcgtgaaac ctggcgcctc cgtgaagggtg 60
tcctgcaagg ccagcggcta cacctttacc agctacgcca tgcactgggt caaagaggcc 120
cctggccaga gactggaatg gatcggttac atctaccccg gccagggcgg caccaactac 180
aaccagaagt tccagggcag agccaccctg accgccgata caagcgccag caccgcctac 240
atggaactga gcagcctgcg gagcgaggat accgccgtgt acttctgtgc cagaacaggc 300
ggcctgaggc gggcctactt tacctattgg ggccagggca ccctcgtgac cgtgtctagc 360
gctagcacia agggccccag cgtgttccct ctggccccta gcagcaagag cacatctggc 420
ggaacagccg ccctgggctg cctcgtgaag gactactttc ccgagcccg gaccgtgtcc 480
tggaattctg gcgcctgac cagcggcgtg cacacctttc cagctgtgct gcagtccagc 540
ggcctgtaca gcctgagcag cgtcgtgaca gtgccagca gctctctggg caccagacc 600
tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa ggtggaaccc 660
aagagctgcg acaagaccca cacctgtccc ccttgtcctg cccccgaagc cgccggaggc 720
ccttccgtgt tcctgttccc ccaaagccc aaggacaccc tgatgatcag ccggaccccc 780
gaagtgacct gcgtggtggt ggatgtgtcc cagcaggacc ctgaagtga gttcaattgg 840
tacgtggacg gcgtggaagt gcacaacgcc aagaccaagc caagagagga acagtacaac 900
agcacctacc ggggtggtgtc cgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacggcaaa 960

gagtacaagt gcaaggtgtc caacaaggcc ctggccgccc ccatcgagaa aaccatcagc 1020
aaggccaagg gccagccccg cgaaccccag gtgtacacac tgcccccatg cagggacgag 1080
ctgaccaaga accaggtgtc cctgtggtgt ctggtgaaag gcttctaccc ctccgatatc 1140
gccgtggaat gggagagcaa cggccagccc gagaacaact acaagaccac cccccctgtg 1200
ctggacagcg acggctcatt cttcctgtac tccaagctga cagtggacaa gtcccgggtg 1260
cagcagggca acgtgttcag ctgctccgtg atgcacgagg ccctgcacaa ccactacacc 1320
cagaagtccc tgagcctgag ccccggc 1347

<210> 78
<211> 1719
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 78
caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgag gtcgtgaaac ctggcgccctc tgtgaaggtg 60
tcctgcaagg ccagcggcta cacctttacc agctactaca tccactgggt gcgccaggcc 120
cctggacagg gactggaatg gatcggcagc atctaccccg gcaacgtgaa caccaactac 180
gcccagaagt tccagggcag agccaccctg accgtggaca ccagcatcag caccgcctac 240
atggaactga gccggctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgcac ccggtccac 300
tacggcctgg attggaactt cgacgtgtgg ggcaagggca ccaccgtgac agtgtctagc 360
agccaggtgc agctggtgga atctggcggc ggagtgggtc agcctggcag aagcctgaga 420
ctgagctgtg ccgccagcgg cttcaccttc accaaggcct ggatgcactg ggtgcgccag 480
gcccctggaa agcagctgga atgggtggcc cagatcaagg acaagagcaa cagctacgcc 540
acctactacg ccgacagcgt gaagggccgg ttcaccatca gccgggacga cagcaagaac 600
accctgtacc tgcagatgaa cagcctgcgg gccgaggaca ccgccgtgta ctactgtcgg 660
ggcgtgtact atgccctgag ccccttcgat tactggggcc aggaaccct cgtgaccgtg 720
tctagtcgga ccgccagcac aaagggcccc agcgtgttcc ctctggcccc tagcagcaag 780
agcacatctg gcggaacagc cgccctgggc tgccctcgtga aggactactt tcccgagccc 840
gtgaccgtgt cctggaattc tggcgccctg accagcggcg tgcacacctt tccagctgtg 900
ctgcagtcca gcggcctgta cagcctgagc agcgtcgtga cagtgcccag cagctctctg 960
ggcaccacga cctacatctg caacgtgaac cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 1020
aaggtggaac ccaagagctg cgacaagacc cacacctgtc ccccttgtcc tgcccccgaa 1080
ctgctgggag gcccttccgt gttcctgttc cccccaagc ccaaggacac cctgatgatc 1140
agccggaccc ccgaagtgac ctgcgtggtg gtggatgtgt cccacgagga ccctgaagtg 1200
aagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa gtgcacaacg ccaagaccaa gccaagagag 1260
gaacagtaca acaatgcctc ccgggtggtg tccgtgctga ccgtgctgca ccaggactgg 1320
ctgaacggca aagagtacaa gtgcaaggtg tccaacaagg ccctgcctgc ccccatcgag 1380
aaaacatca gcaaggccaa gggccagccc cgcgaacccc aggtgtgcac actgccccca 1440
agcagggacg agctgaccaa gaaccaggtg tccctgagct gtgccgtgaa aggcttctac 1500
ccctccgata tcgccgtgga atgggagagc aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc 1560

acccccctg tgctggacag cgacggctca ttcttcctgg tgtccaagct gacagtggac 1620
aagtcccggt ggcagcaggg caacgtgttc agctgctccg tgatgcacga ggccctgcac 1680
aaccactaca ccagaagtc cctgagcctg agccccggc 1719

<210> 79
<211> 1347
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 79
caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtcgtgaaac ctggcgcctc cgtgaagggtg 60
tcctgcaagg ccagcggcta cacctttacc agctacgcca tgcactgggt caaagaggcc 120
cctggccaga gactggaatg gatcggctac atctaccccg gccagggcgg caccaactac 180
aaccagaagt tccagggcag agccaccctg accgccgata caagcgccag caccgcctac 240
atggaactga gcagcctgcg gagcgaggat accgccgtgt acttctgtgc cagaacaggc 300
ggcctgaggc gggcctactt tacctattgg ggccagggca ccctcgtgac cgtgtctagc 360
gctagcacia agggcccatc ggtcttcccc ctggcacccct cctccaagag cacctctggg 420
ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 480
tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 540
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg caccagacc 600
tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 660
aaatcttgtg acaaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga 720
ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccct 780
gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgagggtcaa gttcaactgg 840
tatgttgacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 900
aatgcctccc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 960
gagtacaagt gcaaggcttc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020
aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatg ccgggatgag 1080
ctgaccaaga atcaagtcag cctgtggtgc ctggtaaaag gcttctatcc cagcgacatc 1140
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1200
ctggactccg acggctcctt cttcctctac tcaaaaactca ccgtggacaa gagcagggtg 1260
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacia cactacacg 1320
cagaagagcc tctccctgtc tccgggt 1347

<210> 80
<211> 1329
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構建體

<400> 80

cagggtgcagc tgggtggaaag cggcggaggc gtgggtgcagc ctggcaggtc tctgagactg 60
agctgtgccg ccagcggctt cacccttcagc agctacggaa tgcactgggt gcgccaggcc 120
cctggcaaag gactggaatg ggtggccgtg atttggtacg acggcagcaa caagtactac 180
gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agcggcgaca acagcaagaa caccctgtac 240
ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc cagaatgttc 300
agaggcgcct tcgactactg gggccagggc aactcgtga cctgttctag tgcgtcgacc 360
aagggcccat cgggtgttccc tctggcccct tgcagcagaa gcaccagcga atctacagcc 420
gccctgggct gcctcgtgaa ggactacttt cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaactct 480
ggcgctctga caagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tccagagcag cggcctgtac 540
tctctgagca gcgtcgtgac agtgcccagc agcagcctgg gcaccaagac ctacacctgt 600
aacgtggacc acaagcccag caacaccaag gtggacaagc gggtggaatc taagtacggc 660
cctccctgcc ctcccttgccc agcccctgaa gctgccggcg gaccctccgt gttcctgttc 720
cccccaaagc ccaaggacac cctgatgatc agccggaccc ccgaagtgac ctgcgtgggtg 780
gtggatgtgt cccaggaaga tcccgaggtg cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa 840
gtgcacaacg ccaagaccaa gccagagag gaacagttca acagcaccta ccgggtgggtg 900
tccgtgctga ccgtgctgca ccaggactgg ctgaacggca aagagtacaa gtgcaagggtg 960
tccaacaagg gcctgcccag ctccatcgag aaaaccatca gcaaggccaa gggccagccc 1020
cgcgagcctc aagtgtatac cctgccccct tgccaggaag agatgaccaa gaaccagggtg 1080
tccctgtggt gtctcgtgaa aggcttctac cccagcgaca ttgccgtgga atgggagagc 1140
aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc acccccctg tgctggacag cgacggctca 1200
ttcttctgt actccaagct gaccgtggac aagagccgtt ggcaggaagg caacgtgttc 1260
agctgctccg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca ccagaagtc cctgtctctg 1320
tccctgggc 1329

<210> 81

<211> 642

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構建體

<400> 81

gccatccaga tgacctagag ccccagcagc ctgtctgcc a gcgtgggcca cagagtgacc 60
atcacctgta gagccagcca gggcatccgg aacgacctgg gctggtatca gcagaagcct 120
ggcaaggccc ccaagctgct gatctacgcc gctagctctc tgcagtccgg cgtgccccagc 180
agattttctg gcagcggctc cggcacccgac ttcaccctga caatctctgg cctgcagccc 240
gaggacagcg ccacctacta ctgtctgcaa gactacatct actaccacac cttcggccag 300
ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacggtg gccgctccca gcgtgttcat cttccacact 360
agcgacgagc agctgaagtc cggcacagcc tctgtcgtgt gcctgctgaa caacttctac 420

ccccgcgagg ccaaagtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag 480
gaaagcgtga ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgaca 540
ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaagtgac ccaccagggc 600
ctgtctagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gt 642

- <210> 82
- <211> 1338
- <212> DNA
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成構建體

<400> 82
caggtgcagc tgggtggaaag cggcggaggc gtggtgcagc ctggcaggtc tctgagactg 60
agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc agctacggaa tgcactgggt gcgccaggcc 120
cctggcaaag gactggaatg ggtggccgtg atttggtacg acggcagcaa caagtactac 180
gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agcggcgaca acagcaagaa caccctgtac 240
ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc cagaatgttc 300
agaggcgcct tcgactactg gggccagggc aactcgtga ccgtgtctag tgcgtcgacc 360
aagggcccca gcgtgttccc tctggccctt agcagcaaga gcacatctgg cggaacagcc 420
gccctgggct gcctcgtgaa ggactacttt cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaattct 480
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttt ccagctgtgc tgcagtccag cggcctgtac 540
agcctgagca gcgtcgtgac agtgcccagc agctctctgg gcacccagac ctacatctgc 600
aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggaacc caagagctgc 660
gacaagaccc acacctgtcc cccttgtcct gccccgaag ccgccggagg cccttccgtg 720
ttcctgttcc ccccaaagcc caaggacacc ctgatgatca gccggacccc cgaagtgacc 780
tgcggtggtg tggatgtgtc ccacgaggac cctgaagtga agttcaattg gtacgtggac 840
ggcgtggaag tgcacaacgc caagaccaag ccaagagagg aacagtacaa cagcacctac 900
cgggtggtgt ccgtgctgac cgtgctgcac caggactggc tgaacggcaa agagtacaag 960
tgcaaggtgt ccaacaaggc cctggccgcc cccatcgaga aaaccatcag caaggccaag 1020
ggccagcccc gcgaacccca ggtgtacaca ctgcccccat gcagggacga gctgaccaag 1080
aaccaggtgt ccctgtggtg tctggtgaaa ggcttctacc cctccgatat cgccgtggaa 1140
tgggagagca acggccagcc cgagaacaac tacaagacca cccccctgt gctggacagc 1200
gacggctcat tcttcctgta ctccaagctg acagtggaca agtcccgggtg gcagcagggc 1260
aacgtgttca gctgctccgt gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccagaagtcc 1320
ctgagcctga gccccggc 1338

- <210> 83
- <211> 1338
- <212> DNA
- <213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 83
caggtgcagc tgggtggaaag cggcggaggc gtgggtgcagc ctggcaggtc tctgagactg 60
agctgtgccg ccagcggctt caccttcagc agctacggaa tgcactgggt gcgccaggcc 120
cctggcaaag gactggaatg ggtggccgtg atttggtacg acggcagcaa caagtactac 180
gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agcggcgaca acagcaagaa caccctgtac 240
ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc cagaatgttc 300
agaggcgcct tcgactactg gggccagggc aactcgtga ccgtgtctag tgcgtcgacc 360
aagggcccat cggctcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420
gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca 480
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttg gcacccagac ctacatctgc 600
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt 660
gacaaaactc acacatgccc accgtgccc gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc 720
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 780
tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtatgttgac 840
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa caatgcctcc 900
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 960
tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat gccgggatga gctgaccaag 1080
aatcaagtca gcctgtggtg cctggtaaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1140
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccgt gctggactcc 1200
gacggctcct tcttcctcta ctcaaaactc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1260
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1320
ctctccctgt ctccgggt 1338

<210> 84
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 84
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Lys Ala
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

<210> 85
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 85

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

<210> 86
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構建體

<400> 86
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser
20 25

<210> 87

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構建體

<400> 87
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Ser Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser
20 25

<210> 88

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構建體

<400> 88
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser
20 25

<210> 89

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 89
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 90
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 90
Met His Trp Val Lys Glu Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10 15
Tyr

<210> 91
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 91
Met His Trp Val Lys Glu Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10 15
Tyr

<210> 92
<211> 17

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 92
Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
1 5 10 15
Val

<210> 93
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 93
Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr
1 5 10 15
Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
20 25 30
Thr Ala Val Tyr Phe Cys
35

<210> 94
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 94
Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr
1 5 10 15
Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu Ile Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
20 25 30

Thr Ala Val Tyr Phe Cys
35

<210> 95
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 95
Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gly Asp Asn
1 5 10 15
Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
20 25 30
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
35

<210> 96
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 96
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 97
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 97

<400> 100
Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 101
<211> 36
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 101
Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
1 5 10 15
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Pro Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala
20 25 30
Val Tyr Tyr Cys
35

<210> 102
<211> 36
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 102
Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
1 5 10 15
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Pro Glu Asp Ser Ala
20 25 30
Thr Tyr Tyr Cys
35

<210> 103
<211> 10
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構建體

<400> 103

Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys
1				5					10

<210> 104

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構建體

<400> 104

Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser
1				5					10	

<210> 105

<211> 159

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構建體

<400> 105

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

85					90					95					
Asp	Met	Phe	Thr	Leu	Glu	Asp	Thr	Leu	Leu	Gly	Tyr	Leu	Ala	Asp	Asp
100					105					110					
Leu	Thr	Trp	Cys	Gly	Glu	Phe	Asn	Thr	Ser	Lys	Ile	Asn	Tyr	Gln	Ser
115					120					125					
Cys	Pro	Asp	Trp	Arg	Lys	Asp	Cys	Ser	Asn	Asn	Pro	Val	Ser	Val	Phe
130					135					140					
Trp	Lys	Thr	Val	Ser	Arg	Arg	His	Phe	Trp	Glu	Cys	Gly	Ser	Pro	
145					150					155					

<210> 106
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 106															
Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	His	Leu	Ser	Met	Ser	Thr	Ser	Leu	Gly
1	5					10					15				
Asp	Pro	Val	Ser	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Asp	Val	Ser	Thr	Val
20					25					30					
Val	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Arg	Arg	Leu	Ile
35					40					45					
Tyr	Ser	Ala	Ser	Tyr	Arg	Tyr	Ile	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Thr	Gly
50					55					60					
Ser	Gly	Ala	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Phe	Thr	Ile	Ser	Ser	Val	Gln	Ala
65	70					75					80				
Glu	Asp	Leu	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	His	Tyr	Ser	Pro	Pro	Tyr
85					90					95					
Thr	Phe	Gly	Gly	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

180185190

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

195200205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 107

<211> 450

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構建體

<400> 107

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

151015

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

202530

Trp Met Gln Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

354045

Gly Thr Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe

505560

Gln Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Lys Thr Val Tyr

65707580

Met His Leu Ser Ser Leu Ala Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

859095

Ala Arg Gly Asp Tyr Tyr Gly Ser Asn Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln

100105110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115120125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

130135140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145150155160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

165170175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180185190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195200205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

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

<210> 108
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 108
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr

15

<210> 109
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 109
Ile Tyr Pro Gly Asn Val Asn Thr
15

<210> 110
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 110
Thr Arg Ser His Tyr Gly Leu Asp Trp Asn Phe Asp Val
1510

<210> 111
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 111
Gln Asn Ile Tyr Val Trp
15

<210> 112

<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 112
Lys Ala Ser
1

<210> 113
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 113
Gln Gln Gly Gln Thr Tyr Pro Tyr
1 5

<210> 114
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 114
Gly Phe Ser Leu Ser Asp Tyr Gly
1 5

<210> 115
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 115
Ile Trp Ala Gly Gly Gly Thr
1 5

<210> 116
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 116
Ala Arg Asp Lys Gly Tyr Ser Tyr Tyr Tyr Ser Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 117
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 117
Glu Ser Val Glu Tyr Tyr Val Thr Ser Leu
1 5 10

<210> 118
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 118

Ala Ala Ser
1

<210> 119
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 119
Gln Gln Ser Arg Lys Val Pro Tyr Thr
1 5

<210> 120
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 120
Gly Phe Thr Phe Thr Lys Ala Trp
1 5

<210> 121
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 121
Ile Lys Asp Lys Ser Asn Ser Tyr Ala Thr
1 5 10

<210> 122
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 122
Arg Gly Val Tyr Tyr Ala Leu Ser Pro Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 123
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 123
Gln Ser Leu Val His Asn Asn Ala Asn Thr Tyr
1 5 10

<210> 124
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 124
Lys Val Ser
1

<210> 125
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 125
Gly Gln Gly Thr Gln Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 126
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 126
Gly Phe Thr Phe Thr Lys Ala Trp
1 5

<210> 127
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 127
Ile Lys Asp Lys Ser Asn Ser Tyr Ala Thr
1 5 10

<210> 128
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 128
Gly Val Tyr Tyr Ala Leu Ser Pro Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 129
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 129
Gln Ser Leu Val His Asn Asn Gly Asn Thr Tyr
1 5 10

<210> 130
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 130
Lys Val Ser
1

<210> 131
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 131
Gly Gln Gly Thr Gln Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 132
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 132
Gln Ser Val Ser Ser Tyr Gly Gln Gly
1 5

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種在體外或離體擴增病毒特異性記憶T細胞的方法，所述方法包括使病毒特異性記憶T細胞在體外或離體與結合蛋白接觸，其中所述結合蛋白包含形成三個抗原結合位點的四條多肽鏈，其中第一多肽鏈包含由下式表示的結構：

$$V_{L2}-L_1-V_{L1}-L_2-C_L \qquad [I]$$

並且第二多肽鏈包含由下式表示的結構：

$$V_{H1}-L_3-V_{H2}-L_4-C_{H1}-\text{鉸鏈}-C_{H2}-C_{H3} \qquad [II]$$

並且第三多肽鏈包含由下式表示的結構：

$$V_{H3}-C_{H1}-\text{鉸鏈}-C_{H2}-C_{H3} \qquad [III]$$

並且第四多肽鏈包含由下式表示的結構：

$$V_{L3}-C_L \qquad [IV]$$

其中：

- V_{L1} 是第一免疫球蛋白輕鏈可變結構域；
 - V_{L2} 是第二免疫球蛋白輕鏈可變結構域；
 - V_{L3} 是第三免疫球蛋白輕鏈可變結構域；
 - V_{H1} 是第一免疫球蛋白重鏈可變結構域；
 - V_{H2} 是第二免疫球蛋白重鏈可變結構域；
 - V_{H3} 是第三免疫球蛋白重鏈可變結構域；
 - C_L 是免疫球蛋白輕鏈恒定結構域；
 - C_{H1} 是免疫球蛋白 C_{H1} 重鏈恒定結構域；
 - C_{H2} 是免疫球蛋白 C_{H2} 重鏈恒定結構域；
 - C_{H3} 是免疫球蛋白 C_{H3} 重鏈恒定結構域；
 - 鉸鏈是連接所述 C_{H1} 與 C_{H2} 結構域的免疫球蛋白鉸鏈區；並且
 - L_1 、 L_2 、 L_3 和 L_4 是胺基酸連接子；
- 其中式 I 的多肽和式 II 的多肽形成交叉輕鏈-重鏈對；
- 其中 V_{H1} 和 V_{L1} 形成結合 CD28 多肽的第一抗原結合位點，
- 其中 V_{H2} 和 V_{L2} 形成結合 CD3 多肽的第二抗原結合位點，並且

其中 V_{H3} 和 V_{L3} 形成結合 CD38 多肽的第三抗原結合位點；且所述 V_{H1} 結構域包含：含有 GYTFTSYY (SEQ ID NO: 108) 的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含有 IYPGNVNT (SEQ ID NO: 109) 的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 TRSHYGLDWNFDV (SEQ ID NO: 110) 的胺基酸序列的 CDR-H3 序列，並且所述 V_{L1} 結構域包含：含有 QNIYVW (SEQ ID NO: 111) 的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 KAS (SEQ ID NO: 112) 的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 QQGQTYPY (SEQ ID NO: 113) 的胺基酸序列的 CDR-L3 序列；所述 V_{H2} 結構域包含：含有 GFTFTKAW (SEQ ID NO: 120) 的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含有 IKDKSNSYAT (SEQ ID NO: 121) 的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 RGVYYALSPFDY (SEQ ID NO: 122) 的胺基酸序列的 CDR-H3 序列，並且所述 V_{L2} 結構域包含：含有 QSLVHNNANTY (SEQ ID NO: 123) 的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 KVS (SEQ ID NO: 124) 的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 GQGTQYPFT (SEQ ID NO: 125) 的胺基酸序列的 CDR-L3 序列；且所述 V_{H3} 結構域包含：含有 GYTFTSYA (SEQ ID NO: 37) 的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含有 IYPGQGGT (SEQ ID NO: 38) 的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 ARTGGLRRAYFTY (SEQ ID NO: 33) 的胺基酸序列的 CDR-H3 序列，並且所述 V_{L3} 結構域包含：含有 QSVSSYGQGF (SEQ ID NO: 39) 的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 GAS (SEQ ID NO: 40) 的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 QQNKEDPWT (SEQ ID NO: 36) 的胺基酸序列的 CDR-L3 序列。

【請求項2】 如請求項1的方法，其中使所述病毒特異性記憶T細胞與所述結合蛋白接觸引起病毒特異性記憶T細胞的激活和/或增生。

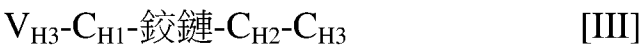
【請求項3】 一種擴增T細胞的方法，所述方法包括在體外或離體使T細胞與結合蛋白接觸，其中所述結合蛋白包含形成所述三個抗原結合位點的四條多肽鏈，其中第一多肽鏈包含由下式表示的結構：

$$V_{L2}-L_1-V_{L1}-L_2-C_L \qquad [I]$$

並且第二多肽鏈包含由下式表示的結構：



並且第三多肽鏈包含由下式表示的結構：



並且第四多肽鏈包含由下式表示的結構：



其中：

- V_{L1} 是第一免疫球蛋白輕鏈可變結構域；
- V_{L2} 是第二免疫球蛋白輕鏈可變結構域；
- V_{L3} 是第三免疫球蛋白輕鏈可變結構域；
- V_{H1} 是第一免疫球蛋白重鏈可變結構域；
- V_{H2} 是第二免疫球蛋白重鏈可變結構域；
- V_{H3} 是第三免疫球蛋白重鏈可變結構域；
- C_L 是免疫球蛋白輕鏈恒定結構域；
- C_{H1} 是免疫球蛋白 C_{H1} 重鏈恒定結構域；
- C_{H2} 是免疫球蛋白 C_{H2} 重鏈恒定結構域；
- C_{H3} 是免疫球蛋白 C_{H3} 重鏈恒定結構域；
- 鉸鏈是連接所述 C_{H1} 與 C_{H2} 結構域的免疫球蛋白鉸鏈區；並且
- L_1 、 L_2 、 L_3 和 L_4 是胺基酸連接子；

其中式 I 的多肽和式 II 的多肽形成交叉輕鏈-重鏈對；

其中 V_{H1} 和 V_{L1} 形成結合 CD28 多肽的第一抗原結合位點，其中 V_{H2} 和 V_{L2} 形成結合 CD3 多肽的第二抗原結合位點，並且其中 V_{H3} 和 V_{L3} 形成結合 CD38 多肽的第三抗原結合位點；且

所述 V_{H1} 結構域包含：含有 GYTFTSYY (SEQ ID NO: 108) 的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含有 IYPGNVNT (SEQ ID NO: 109) 的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 TRSHYGLDWNFDV (SEQ ID NO: 110) 的胺基酸序列的 CDR-H3 序列，並且所述 V_{L1} 結構域包含：含有 QNIYVW (SEQ ID NO: 111) 的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 KAS (SEQ ID NO: 112) 的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 QQGQTYPY (SEQ ID NO: 113) 的胺基酸序列的 CDR-L3 序列；所述 V_{H2} 結構域包

含：含有 GFTFTKAW (SEQ ID NO: 120) 的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含有 IKDKSNSYAT (SEQ ID NO: 121) 的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 RGVYYALSPFDY (SEQ ID NO: 122) 的胺基酸序列的 CDR-H3 序列，並且所述 V_{L2} 結構域包含：含有 QSLVHNNANTY (SEQ ID NO: 123) 的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 KVS (SEQ ID NO: 124) 的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 GQGTQYPFT (SEQ ID NO: 125) 的胺基酸序列的 CDR-L3 序列；且所述 V_{H3} 結構域包含：含有 GYTFTSYA (SEQ ID NO: 37) 的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含有 IYPGQGGT (SEQ ID NO: 38) 的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 ARTGGLRRAYFTY (SEQ ID NO: 33) 的胺基酸序列的 CDR-H3 序列，並且所述 V_{L3} 結構域包含：含有 QSVSSYGQGF (SEQ ID NO: 39) 的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 GAS (SEQ ID NO: 40) 的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 QQNKEDPWT (SEQ ID NO: 36) 的胺基酸序列的 CDR-L3 序列。

【請求項4】 如請求項3的方法，其中所述T細胞是記憶T細胞或效應T細胞。

【請求項5】 如請求項3或請求項4的方法，其中所述T細胞在其細胞表面上表現嵌合抗原受體 (CAR) 或包含編碼CAR的多核苷酸。

【請求項6】 一種結合蛋白用於製備治療慢性病毒感染的藥物之用途，其中所述結合蛋白包含形成所述三個抗原結合位點的四條多肽鏈，其中第一多肽鏈包含由下式表示的結構：

$$V_{L2}-L_1-V_{L1}-L_2-C_L \qquad [I]$$

並且第二多肽鏈包含由下式表示的結構：

$$V_{H1}-L_3-V_{H2}-L_4-C_{H1}-\text{鉸鏈}-C_{H2}-C_{H3} \qquad [II]$$

並且第三多肽鏈包含由下式表示的結構：

$$V_{H3}-C_{H1}-\text{鉸鏈}-C_{H2}-C_{H3} \qquad [III]$$

並且第四多肽鏈包含由下式表示的結構：

$$V_{L3}-C_L \qquad [IV]$$

其中：

V_{L1}是第一免疫球蛋白輕鏈可變結構域；
V_{L2}是第二免疫球蛋白輕鏈可變結構域；
V_{L3}是第三免疫球蛋白輕鏈可變結構域；
V_{H1}是第一免疫球蛋白重鏈可變結構域；
V_{H2}是第二免疫球蛋白重鏈可變結構域；
V_{H3}是第三免疫球蛋白重鏈可變結構域；
C_L是免疫球蛋白輕鏈恒定結構域；
C_{H1}是免疫球蛋白 C_{H1} 重鏈恒定結構域；
C_{H2}是免疫球蛋白 C_{H2} 重鏈恒定結構域；
C_{H3}是免疫球蛋白 C_{H3} 重鏈恒定結構域；
鉸鏈是連接所述 C_{H1} 與 C_{H2} 結構域的免疫球蛋白鉸鏈區；並且
L₁、L₂、L₃ 和 L₄ 是胺基酸連接子；
其中式 I 的多肽和式 II 的多肽形成交叉輕鏈-重鏈對；
其中 V_{H1} 和 V_{L1} 形成結合 CD28 多肽的第一抗原結合位點，
其中 V_{H2} 和 V_{L2} 形成結合 CD3 多肽的第二抗原結合位點，並且
其中 V_{H3} 和 V_{L3} 形成結合 CD38 多肽的第三抗原結合位點；且
所述 V_{H1} 結構域包含：含有 GYTFTSYY (SEQ ID NO: 108) 的胺基酸
序列的 CDR-H1 序列、含有 IYPGNVNT (SEQ ID NO: 109) 的胺基酸
序列的 CDR-H2 序列和含有 TRSHYGLDWNFDV (SEQ ID NO: 110)
的胺基酸序列的 CDR-H3 序列，並且所述 V_{L1} 結構域包含：含有
QNIYVW (SEQ ID NO: 111) 的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 KAS
(SEQ ID NO: 112) 的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 QQGQTYPY
(SEQ ID NO: 113) 的胺基酸序列的 CDR-L3 序列；所述 V_{H2} 結構域包
含：含有 GFTFTKAW (SEQ ID NO: 120) 的胺基酸序列的 CDR-H1 序
列、含有 IKDKSNSYAT (SEQ ID NO: 121) 的胺基酸序列的 CDR-H2
序列和含有 RGVYYALSPFDY (SEQ ID NO: 122) 的胺基酸序列的
CDR-H3 序列，並且所述 V_{L2} 結構域包含：含有 QSLVHNNANTY (SEQ
ID NO: 123) 的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 KVS (SEQ ID NO: 124)
的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 GQGTQYPFT (SEQ ID NO: 125)

的胺基酸序列的 CDR-L3 序列；且所述 V_{H3} 結構域包含：含有 GYTFTSYA (SEQ ID NO: 37) 的胺基酸序列的 CDR-H1 序列、含有 IYPGQGGT (SEQ ID NO: 38) 的胺基酸序列的 CDR-H2 序列和含有 ARTGGLRRAYFTY (SEQ ID NO: 33) 的胺基酸序列的 CDR-H3 序列，並且所述 V_{L3} 結構域包含：含有 QSVSSYGQGF (SEQ ID NO: 39) 的胺基酸序列的 CDR-L1 序列、含有 GAS (SEQ ID NO: 40) 的胺基酸序列的 CDR-L2 序列和含有 QQNKEDPWT (SEQ ID NO: 36) 的胺基酸序列的 CDR-L3 序列。

【請求項7】如請求項6的用途，其中所述個體是人。

【請求項8】如請求項6或請求項7的用途，其中所述藥物包含所述結合蛋白和醫藥上可接受的載劑。

【請求項9】如請求項1或請求項3的方法，其中所述T細胞是CD8+或CD4+記憶T細胞。

【請求項10】如請求項1或請求項3的方法，其中所述T細胞是中樞記憶T細胞 (T_{CM}) 或效應記憶T細胞 (T_{EM})。

【請求項11】如請求項1或請求項3的方法，其中所述CD28多肽是人CD28多肽，其中所述CD3多肽是人CD3多肽，並且其中所述CD38多肽是人CD38多肽。

【請求項12】如請求項1或請求項3的方法，其中：

所述 V_{H3} 結構域包含

QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCKASGYTFTSYAMHWVKEAPGQR
LEWIGYIYPGQGGTNYNQKFQGRATLTADTSASTAYMELSSLRSED
TAVYFCARTGGLRRAYFTYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 13) 的胺
基酸序列，並且所述 V_{L3} 結構域包含

DIVLTQSPATLSLSPGERATISCRASQSVSSYGQGFMHVYQQKPGQ
PPRLLIYGASSRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISPLEDFAVYYCQQ
NKEDPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 14) 的胺基酸序列。

【請求項13】如請求項6的用途，其中所述 V_{H3} 結構域包含SEQ ID NO: 13的胺基酸序列，且所述 V_{L3} 結構域包含SEQ ID NO: 14的胺基酸序列。

【請求項14】 如請求項1或請求項3的方法，其中：

所述 V_{H1} 結構域包含

QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCKASGYTFTSYIHWVRQAPGQGL
EWIGSIYPGNVNTNYAQKFQGRATLTVDTSISTAYMELSRLRSDDT
AVYYCTRSHYGLDWNFDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 49) 的胺
基酸序列，並且所述 V_{L1} 結構域包含

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQNIYVWLNWYQQKPGKAPKL
LIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDATYYCQQGQTY
PYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 50) 的胺基酸序列。

【請求項15】 如請求項6的用途，其中所述 V_{H1} 結構域包含SEQ ID NO: 49的胺基酸序列，且所述 V_{L1} 結構域包含SEQ ID NO: 50的胺基酸序列。

【請求項16】 如請求項1或請求項3的方法，其中：

所述 V_{H2} 結構域包含

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFTKAWMHWRQAPGKQ
LEWVAQIKDKSNSYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLR
AEDTAVYYCRGVYYALSPFDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 53)
的胺基酸序列，並且所述 V_{L2} 結構域包含

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLVHNNANTYLSWYLQKPG
QSPQSLIYKVSNRFSGVPRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC
GQGTQYPFTFGSGTKVEIK (SEQ ID NO: 54) 的胺基酸序列。

【請求項17】 如請求項6的用途，其中所述 V_{H2} 結構域包含SEQ ID NO: 53的胺基酸序列，且所述 V_{L2} 結構域包含SEQ ID NO: 54的胺基酸序列。

【請求項18】 如請求項1或請求項3的方法，其中 L_1 、 L_2 、 L_3 或 L_4 中的至少一個獨立地為0個胺基酸的長度。

【請求項19】 如請求項1或請求項3的方法，其中(a) L_1 、 L_2 、 L_3 和 L_4 各自獨立地為零個胺基酸的長度或包含選自以下組成群組的序列：
GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 55)、GGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 56)、S、RT、TKGPS (SEQ ID NO: 57)、GQPKAAP (SEQ ID NO: 58) 和GGSGSSGSGG (SEQ ID NO: 59)；或者(b) L_1 、 L_2 、 L_3 和 L_4 各自獨立地

包含選自以下組成群組的序列：GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 55)、GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 56)、S、RT、TKGPS (SEQ ID NO: 57)、GQPKAAP (SEQ ID NO: 58) 和GGSGSSGSGG (SEQ ID NO: 59)。

【請求項20】如請求項1或請求項3的方法，其中L₁包含序列GQPKAAP (SEQ ID NO: 58)，L₂包含序列TKGPS (SEQ ID NO: 57)，L₃包含序列S，並且L₄包含序列RT。

【請求項21】如請求項1或請求項3的方法，其中所述第二和所述第三多肽鏈的鉸鏈-C_{H2}-C_{H3}結構域是人IgG4鉸鏈-C_{H2}-C_{H3}結構域，並且其中所述鉸鏈-C_{H2}-C_{H3}結構域各自包含根據EU索引在對應於人IgG4的位置234和235的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是F234A和L235A。

【請求項22】如請求項1或請求項3的方法，其中所述第二和所述第三多肽鏈的鉸鏈-C_{H2}-C_{H3}結構域是人IgG4鉸鏈-C_{H2}-C_{H3}結構域，並且其中所述鉸鏈-C_{H2}-C_{H3}結構域各自包含根據EU索引在對應於人IgG4的位置233-236的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是E233P、F234V、L235A和在236處的缺失。

【請求項23】如請求項1或請求項3的方法，其中所述第二和所述第三多肽鏈的鉸鏈-C_{H2}-C_{H3}結構域是人IgG4鉸鏈-C_{H2}-C_{H3}結構域，並且其中所述鉸鏈-C_{H2}-C_{H3}結構域各自包含根據EU索引在對應於人IgG4的位置228和409的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是S228P和R409K。

【請求項24】如請求項1或請求項3的方法，其中所述第二和所述第三多肽鏈的鉸鏈-C_{H2}-C_{H3}結構域是人IgG1鉸鏈-C_{H2}-C_{H3}結構域，並且其中所述鉸鏈-C_{H2}-C_{H3}結構域各自包含根據EU索引在對應於人IgG1的位置234、235和329的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是L234A、L235A和P329A。

【請求項25】如請求項1或請求項3的方法，其中所述第二和所述第三多肽鏈的鉸鏈-C_{H2}-C_{H3}結構域是人IgG1鉸鏈-C_{H2}-C_{H3}結構域，並且其中所述鉸鏈-C_{H2}-C_{H3}結構域各自包含根據EU索引在對應於人IgG1的位置298、299和300的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是S298N、T299A和Y300S。

【請求項26】 如請求項1或請求項3的方法，其中所述第二多肽鏈的鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域包含根據EU索引在對應於人IgG1或IgG4的位置349、366、368和407的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是Y349C、T366S、L368A和Y407V；並且其中所述第三多肽鏈的鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域包含根據EU索引在對應於人IgG1或IgG4的位置354和366的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是S354C和T366W。

【請求項27】 如請求項1或請求項3的方法，其中所述第二多肽鏈的鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域包含根據EU索引在對應於人IgG1或IgG4的位置354和366的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是S354C和T366W；並且其中所述第三多肽鏈的鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域包含根據EU索引在對應於人IgG1或IgG4的位置349、366、368和407的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是Y349C、T366S、L368A和Y407V。

【請求項28】 如請求項1或請求項3的方法，其中：

(a) 所述第一多肽鏈包含 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列，所述第二多肽鏈包含 SEQ ID NO: 60 的胺基酸序列，所述第三多肽鏈包含 SEQ ID NO: 62 的胺基酸序列，並且所述第四多肽鏈包含 SEQ ID NO: 63 的胺基酸序列；

(b) 所述第一多肽鏈包含 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列，所述第二多肽鏈包含 SEQ ID NO: 64 的胺基酸序列，所述第三多肽鏈包含 SEQ ID NO: 65 的胺基酸序列，並且所述第四多肽鏈包含 SEQ ID NO: 63 的胺基酸序列；

(c) 所述第一多肽鏈包含 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列，所述第二多肽鏈包含 SEQ ID NO: 66 的胺基酸序列，所述第三多肽鏈包含 SEQ ID NO: 67 的胺基酸序列，並且所述第四多肽鏈包含 SEQ ID NO: 63 的胺基酸序列；

(d) 所述第一多肽鏈包含 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列，所述第二多肽鏈包含 SEQ ID NO: 60 的胺基酸序列，所述第三多肽鏈包含 SEQ ID NO: 68 的胺基酸序列，並且所述第四多肽鏈包含 SEQ ID NO: 69 的胺基酸序列；

(e) 所述第一多肽鏈包含 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列，所述第二多肽鏈包含 SEQ ID NO: 64 的胺基酸序列，所述第三多肽鏈包含 SEQ ID NO: 70 的胺基酸序列，並且所述第四多肽鏈包含 SEQ ID NO: 69 的胺基酸序列；或者

(f) 所述第一多肽鏈包含 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列，所述第二多肽鏈包含 SEQ ID NO: 66 的胺基酸序列，所述第三多肽鏈包含 SEQ ID NO: 71 的胺基酸序列，並且所述第四多肽鏈包含 SEQ ID NO: 69 的胺基酸序列。

【請求項29】 如請求項1或請求項3的方法，其中所述病毒是人類免疫缺陷病毒（HIV）、流感病毒、巨細胞病毒（CMV）、乙型肝炎病毒（HBV）、人乳頭瘤病毒（HPV）、愛滋斯坦-巴爾病毒（EBV）、人泡沫病毒（HFV）、單純疱疹病毒1（HSV-1）或單純疱疹病毒2（HSV-2）。

【請求項30】 如請求項6的用途，其中 L_1 、 L_2 、 L_3 或 L_4 中的至少一個獨立地為0個胺基酸的長度。

【請求項31】 如請求項6的用途，其中(a) L_1 、 L_2 、 L_3 和 L_4 各自獨立地為零個胺基酸的長度或包含選自以下組成群組的序列：GGGGSGGGGS（SEQ ID NO: 55）、GGGGSGGGGS（SEQ ID NO: 56）、S、RT、TKGPS（SEQ ID NO: 57）、GQPKAAP（SEQ ID NO: 58）和GGSGSSGSGG（SEQ ID NO: 59）；或者(b) L_1 、 L_2 、 L_3 和 L_4 各自獨立地包含選自以下組成群組的序列：GGGGSGGGGS（SEQ ID NO: 55）、GGGGSGGGGS（SEQ ID NO: 56）、S、RT、TKGPS（SEQ ID NO: 57）、GQPKAAP（SEQ ID NO: 58）和GGSGSSGSGG（SEQ ID NO: 59）。

【請求項32】 如請求項6的用途，其中 L_1 包含序列GQPKAAP（SEQ ID NO: 58）， L_2 包含序列TKGPS（SEQ ID NO: 57）， L_3 包含序列S，並且 L_4 包含序列RT。

【請求項33】 如請求項6的用途，其中所述第二和所述第三多肽鏈的鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域是人IgG4鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域，並且其中所述鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域各自包含根據EU索引在對應於人IgG4的位置234和235的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是F234A和L235A。

【請求項34】 如請求項6的用途，其中所述第二和所述第三多肽鏈的鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域是人IgG4鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域，並且其中所述鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域各自包含根據EU索引在對應於人IgG4的位置233-236的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是E233P、F234V、L235A和在236處的缺失。

【請求項35】 如請求項6的用途，其中所述第二和所述第三多肽鏈的鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域是人IgG4鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域，並且其中所述鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域各自包含根據EU索引在對應於人IgG4的位置228和409的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是S228P和R409K。

【請求項36】 如請求項6的用途，其中所述第二和所述第三多肽鏈的鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域是人IgG1鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域，並且其中所述鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域各自包含根據EU索引在對應於人IgG1的位置234、235和329的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是L234A、L235A和P329A。

【請求項37】 如請求項6的用途，其中所述第二和所述第三多肽鏈的鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域是人IgG1鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域，並且其中所述鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域各自包含根據EU索引在對應於人IgG1的位置298、299和300的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是S298N、T299A和Y300S。

【請求項38】 如請求項6的用途，其中所述第二多肽鏈的鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域包含根據EU索引在對應於人IgG1或IgG4的位置349、366、368和407的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是Y349C、T366S、L368A和Y407V；並且其中所述第三多肽鏈的鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域包含根據EU索引在對應於人IgG1或IgG4的位置354和366的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是S354C和T366W。

【請求項39】 如請求項6的用途，其中所述第二多肽鏈的鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域包含根據EU索引在對應於人IgG1或IgG4的位置354和366的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是S354C和T366W；並且其中所述第三多肽鏈的鉸鏈- C_{H2} - C_{H3} 結構域包含根據EU索引在對應於人IgG1或IgG4的位置349、366、368和407的位置處的胺基酸取代，其中所述胺基酸取代是Y349C、T366S、L368A和Y407V。

【請求項40】 如請求項6的用途，其中：

(a) 所述第一多肽鏈包含 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列，所述第二多肽鏈包含 SEQ ID NO: 60 的胺基酸序列，所述第三多肽鏈包含 SEQ ID NO: 62 的胺基酸序列，並且所述第四多肽鏈包含 SEQ ID NO: 63 的胺基酸序列；

(b) 所述第一多肽鏈包含 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列，所述第二多肽鏈包含 SEQ ID NO: 64 的胺基酸序列，所述第三多肽鏈包含 SEQ ID NO: 65 的胺基酸序列，並且所述第四多肽鏈包含 SEQ ID NO: 63 的胺基酸序列；

(c) 所述第一多肽鏈包含 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列，所述第二多肽鏈包含 SEQ ID NO: 66 的胺基酸序列，所述第三多肽鏈包含 SEQ ID NO: 67 的胺基酸序列，並且所述第四多肽鏈包含 SEQ ID NO: 63 的胺基酸序列；

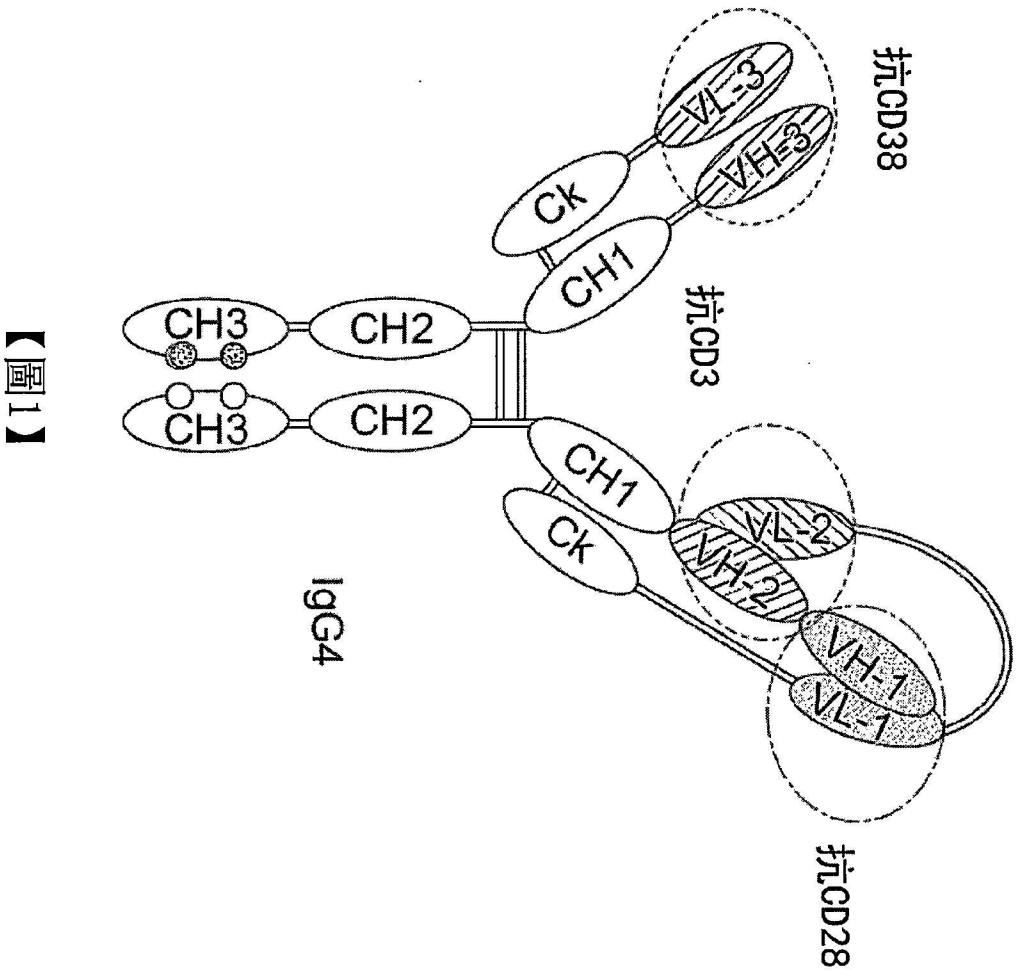
(d) 所述第一多肽鏈包含 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列，所述第二多肽鏈包含 SEQ ID NO: 60 的胺基酸序列，所述第三多肽鏈包含 SEQ ID NO: 68 的胺基酸序列，並且所述第四多肽鏈包含 SEQ ID NO: 69 的胺基酸序列；

(e) 所述第一多肽鏈包含 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列，所述第二多肽鏈包含 SEQ ID NO: 64 的胺基酸序列，所述第三多肽鏈包含 SEQ ID NO: 70 的胺基酸序列，並且所述第四多肽鏈包含 SEQ ID NO: 69 的胺基酸序列；或者

(f) 所述第一多肽鏈包含 SEQ ID NO: 61 的胺基酸序列，所述第二多肽鏈包含 SEQ ID NO: 66 的胺基酸序列，所述第三多肽鏈包含 SEQ ID NO: 71 的胺基酸序列，並且所述第四多肽鏈包含 SEQ ID NO: 69 的胺基酸序列。

【請求項41】 如請求項6的用途，其中所述病毒是人類免疫缺陷病毒（HIV）、流感病毒、巨細胞病毒（CMV）、乙型肝炎病毒（HBV）、人乳頭瘤病毒（HPV）、愛潑斯坦-巴爾病毒（EBV）、人泡沫病毒（HFV）、單純皰疹病毒1（HSV-1）或單純皰疹病毒2（HSV-2）。

【發明圖式】



【圖1】

WT TsAb對單獨靶標的親和力 (K_d上捨入至整數)

TsAb	CD38	CD28	CD3	親和力順序排序
CD38 _{SB19} CD28 _{sup} CD3 _{mid}	2 nM	3 nM	23 nM	• CD38結合: MsAb ≈ TsAbs
CD38 _{SB19} CD28 _{cvn} CD3 _{mid}	2 nM	17 nM	19 nM	
CD38 _{VH1} CD28 _{sup} CD3 _{mid/low}	4/6 nM	2/4 nM	21/76 nM	
CD38 _{VH1} CD28 _{cvn} CD3 _{mid/low}	4/6 nM	18/34 nM	23/59 nM	• CD28結合: MsAb > TsAb ≥ BsAbs
CD38 _{HHY1370} CD28 _{sup} CD3 _{mid}	1 nM	5 nM	48 nM	
CD38 _{HHY1370} CD28 _{cvn} CD3 _{mid}	1 nM	19 nM	44 nM	

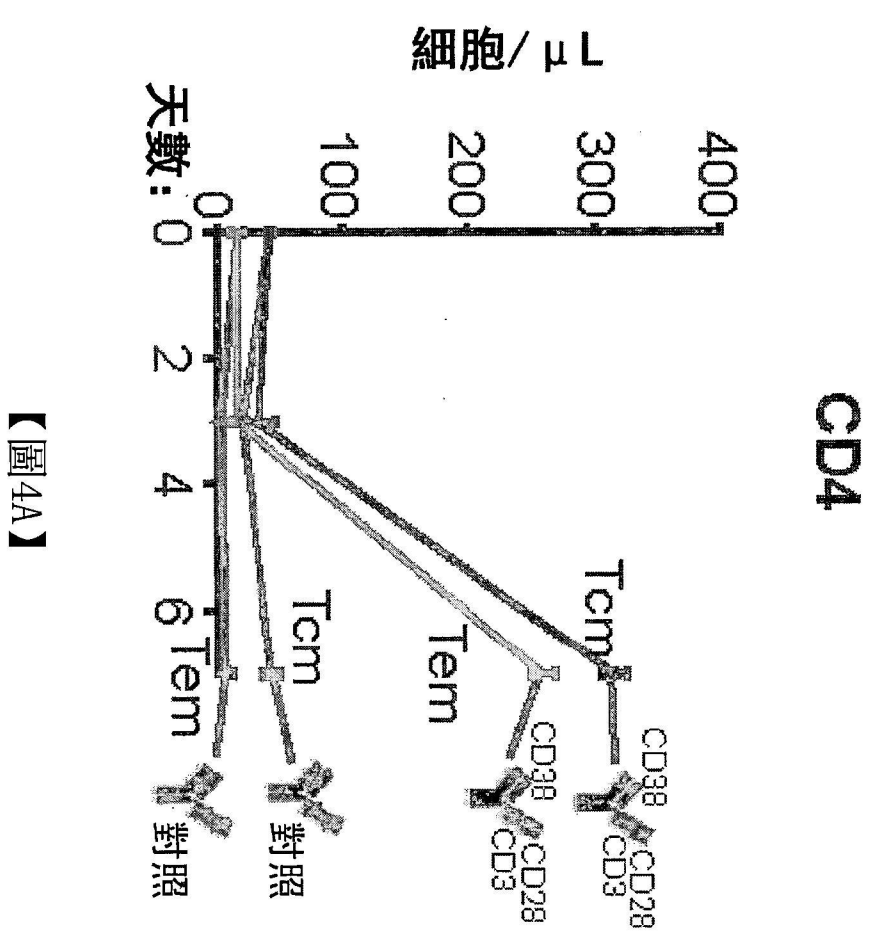
與CD38_{SB19}CD28_{sup}CD3_{mid}的多靶標結合的影響

TsAb的狀態	CD38	CD28	CD3	注釋
單一靶標	2 nM	3 nM	23 nM	在所有靶標存在時， CD3結合的快速動力學
所有靶標	2 nM	4 nM	19 nM	

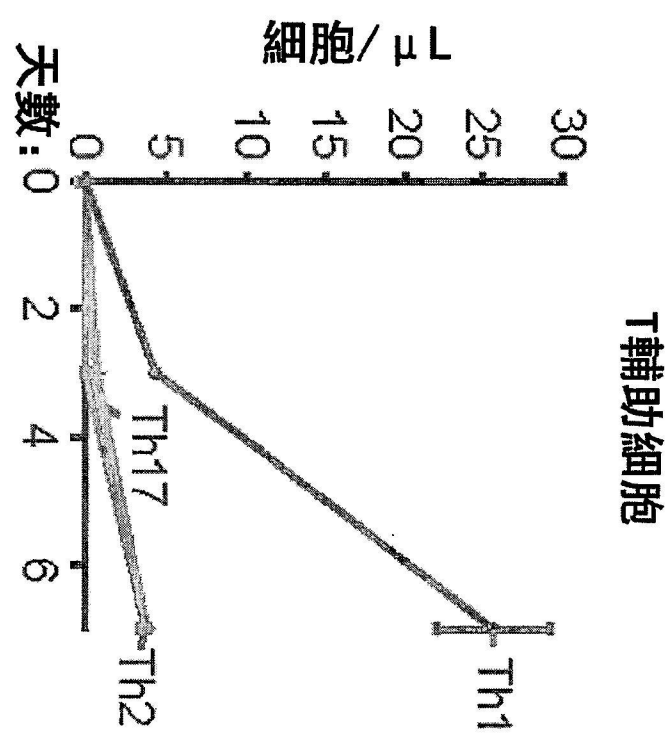
【圖2】

TsAb	¹ 通過SPR確定的針對 重組蛋白的KD值 (nM)	² 通過FACS確定的針對 重組細胞的表觀KD值 (nM)
CD38 _{SB19} CD28 _{sup} CD3 _{mid}	2	4
CD38 _{vH1} CD28 _{sup} CD3 _{mid/low}	4/6	11
CD38 _{vH1} CD28 _{cyn} CD3 _{mid/low}	4/6	4.4
CD38 _{HHY1370} CD28 _{sup} CD3 _{mid}	1	無法估計準確的EC50值 (未飽和)

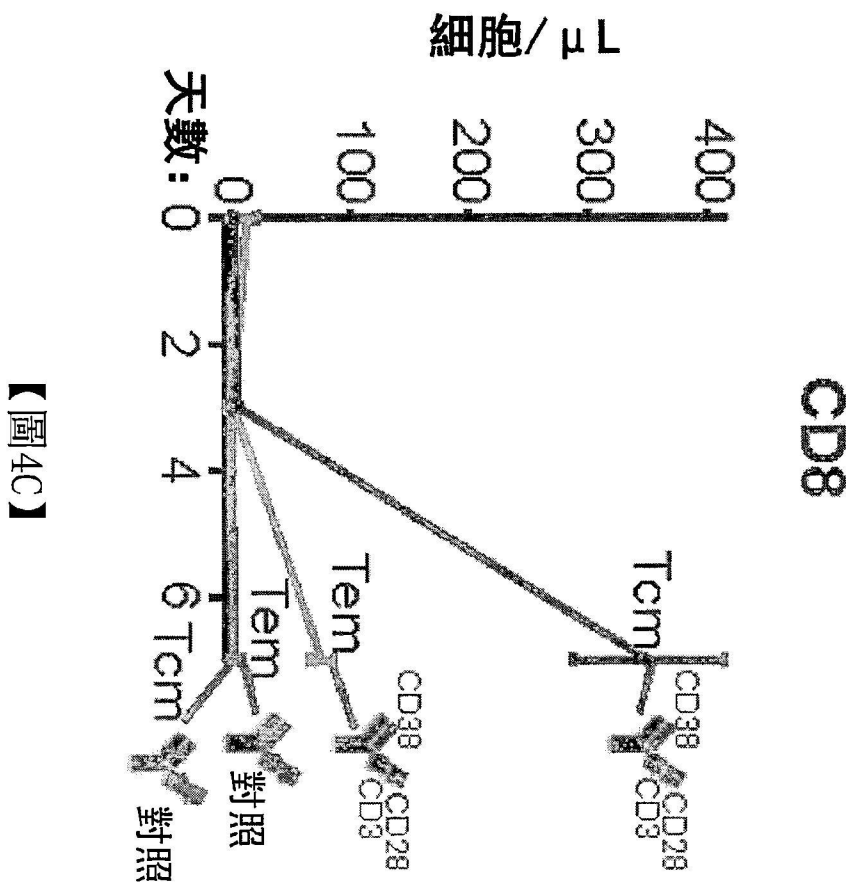
【圖3】



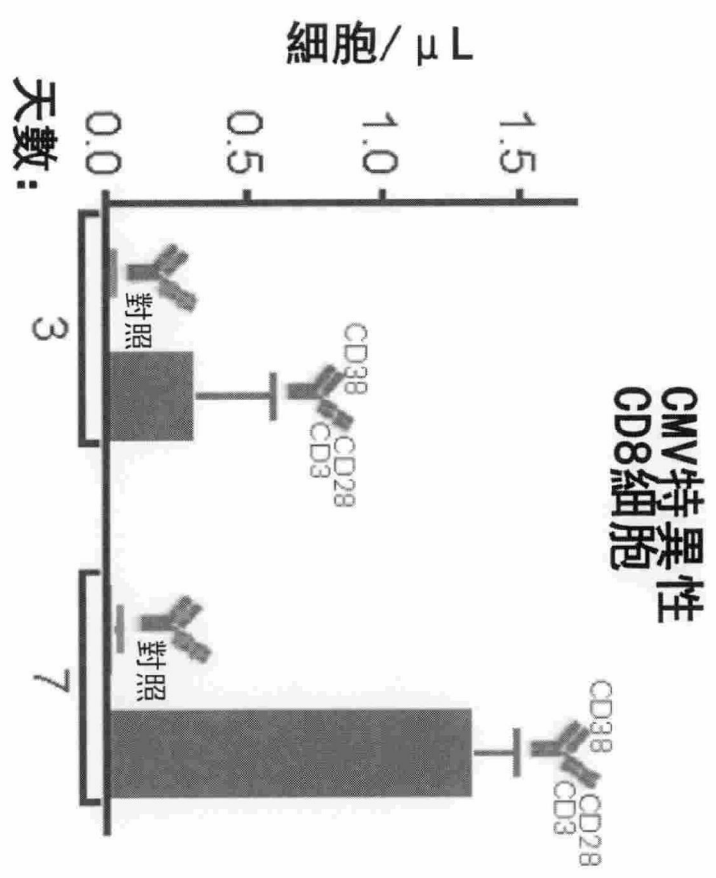
【圖 4A】



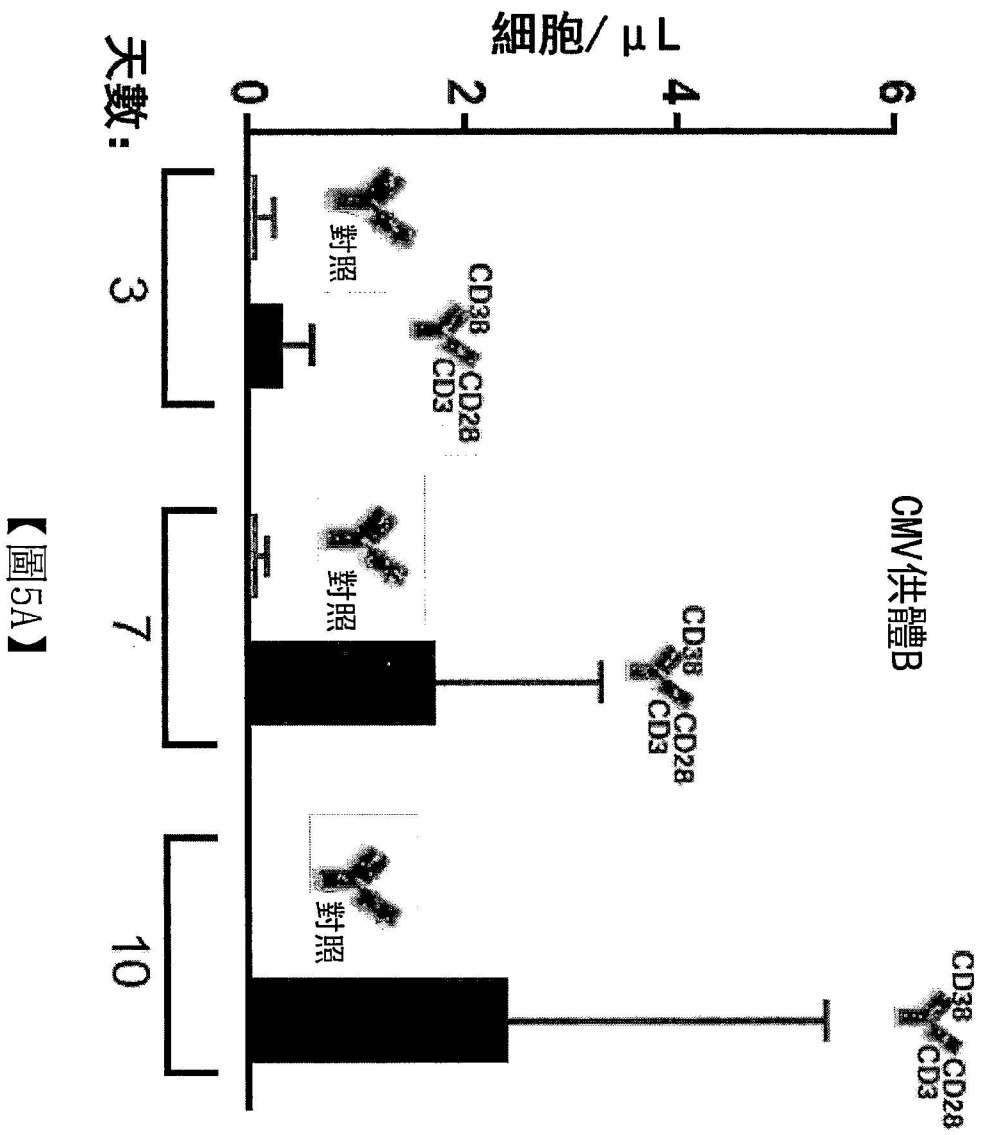
【圖4B】



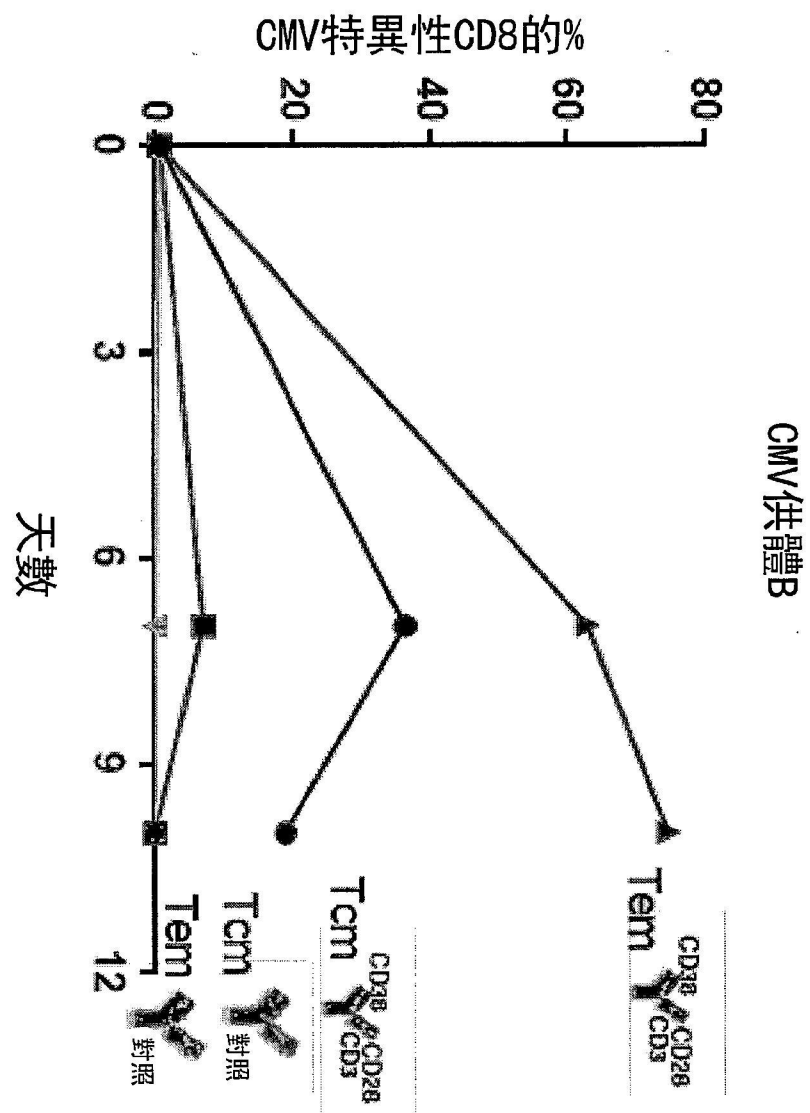
【圖4C】



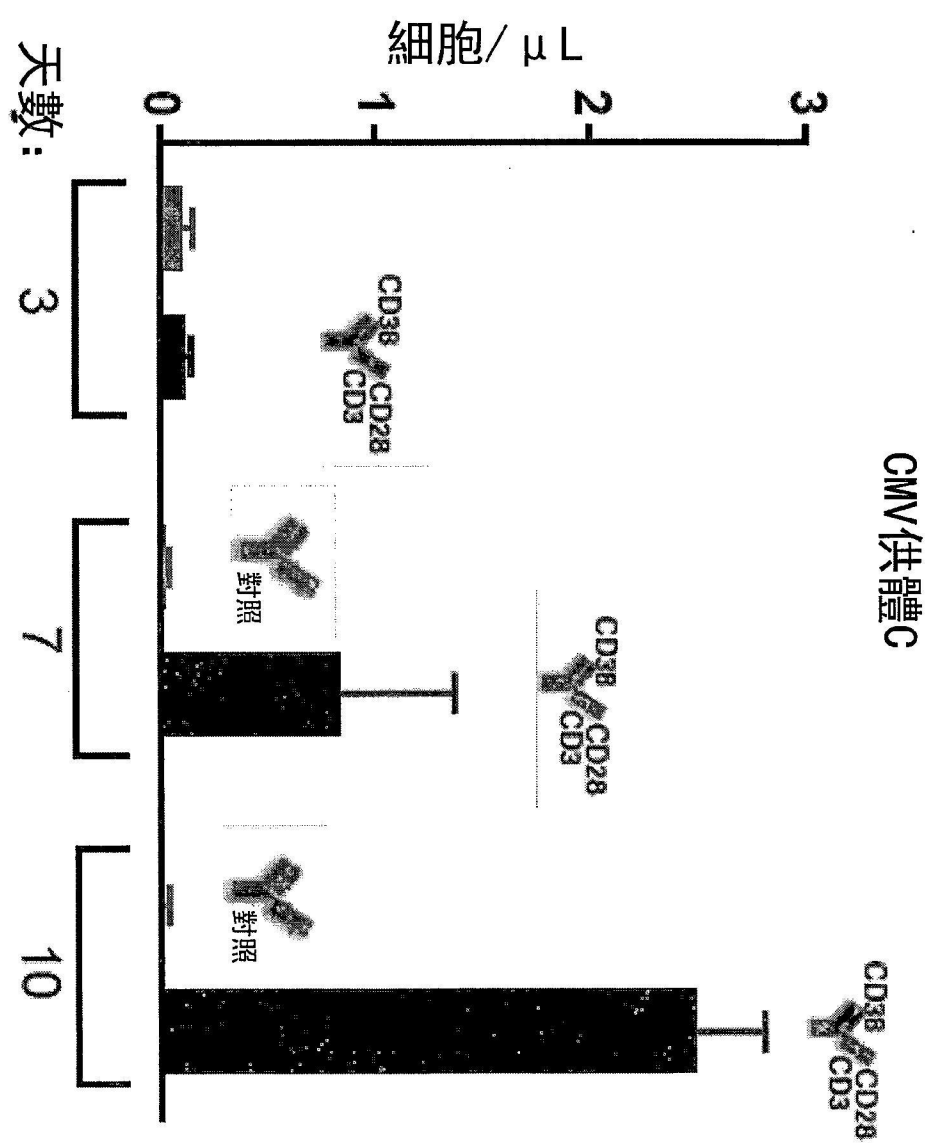
【圖4D】



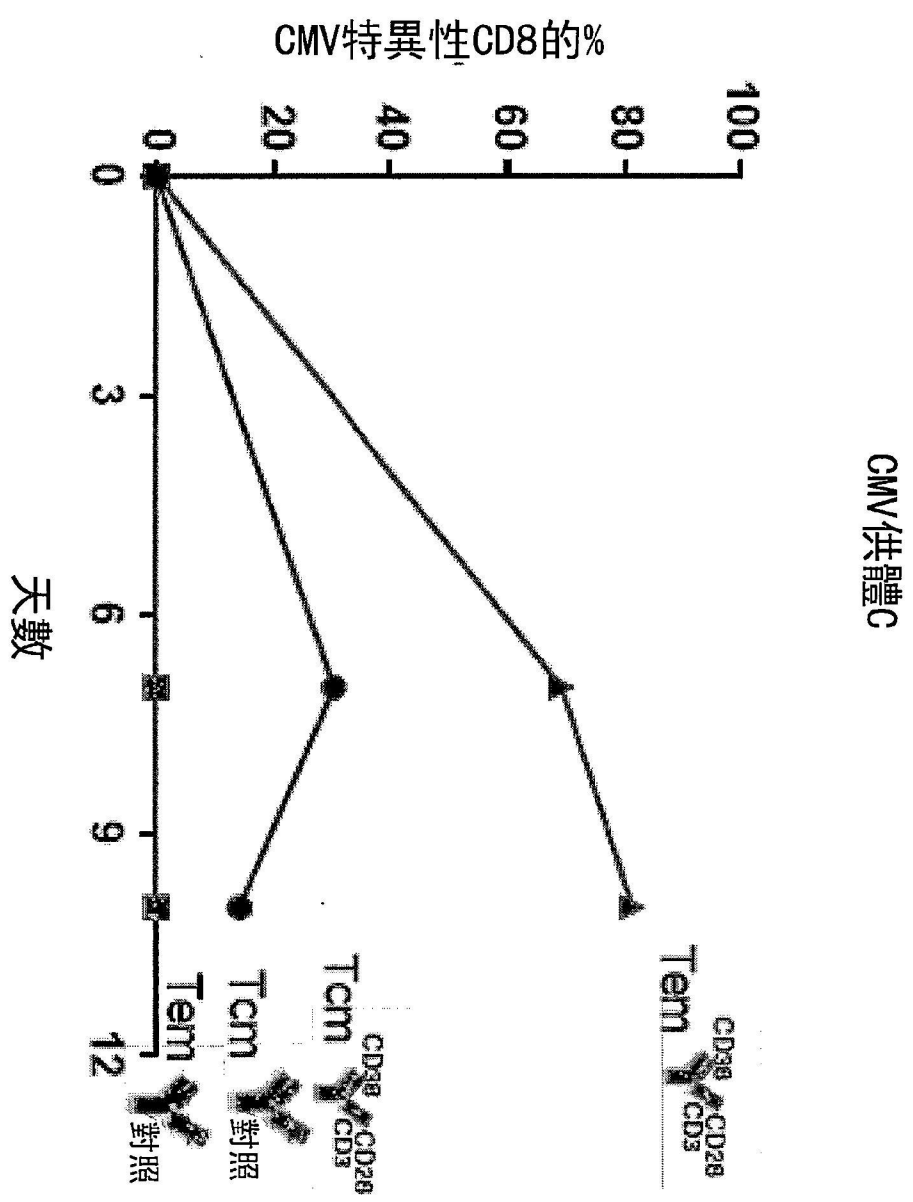
【圖5A】



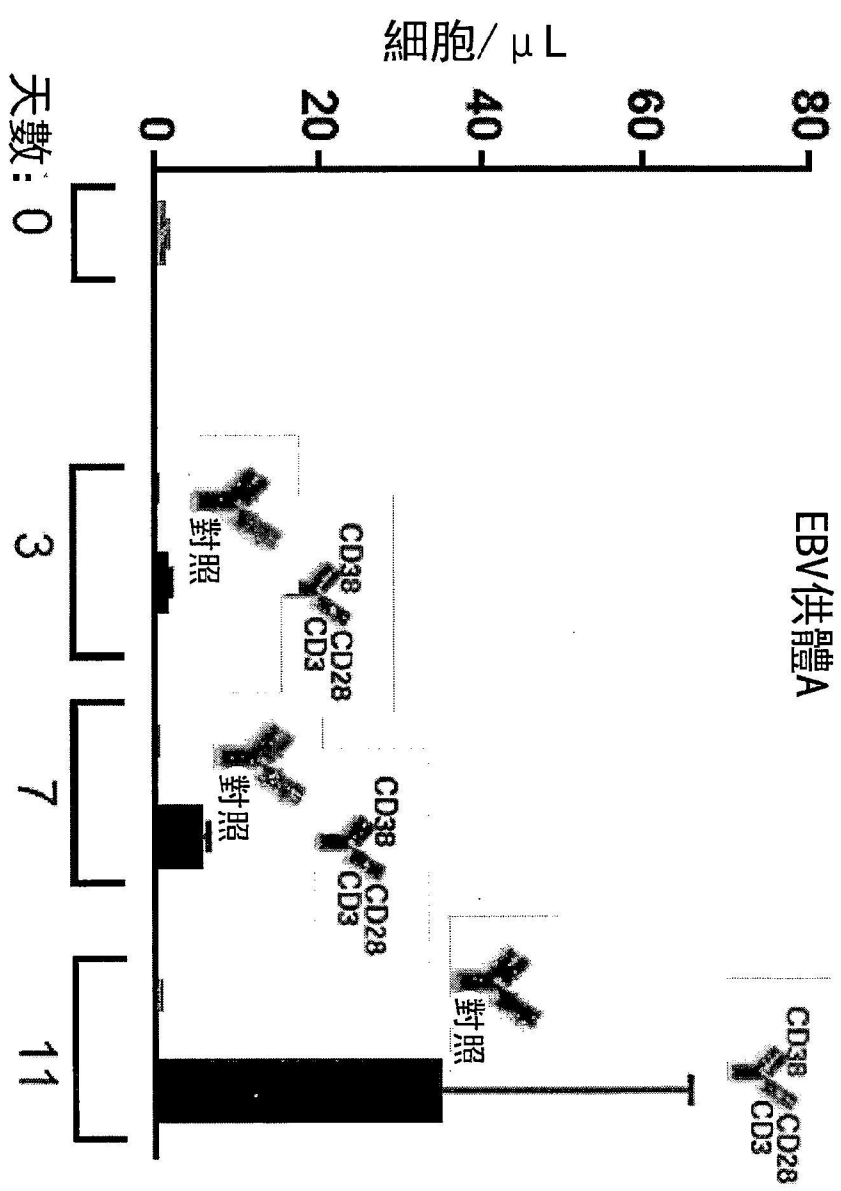
【圖5B】



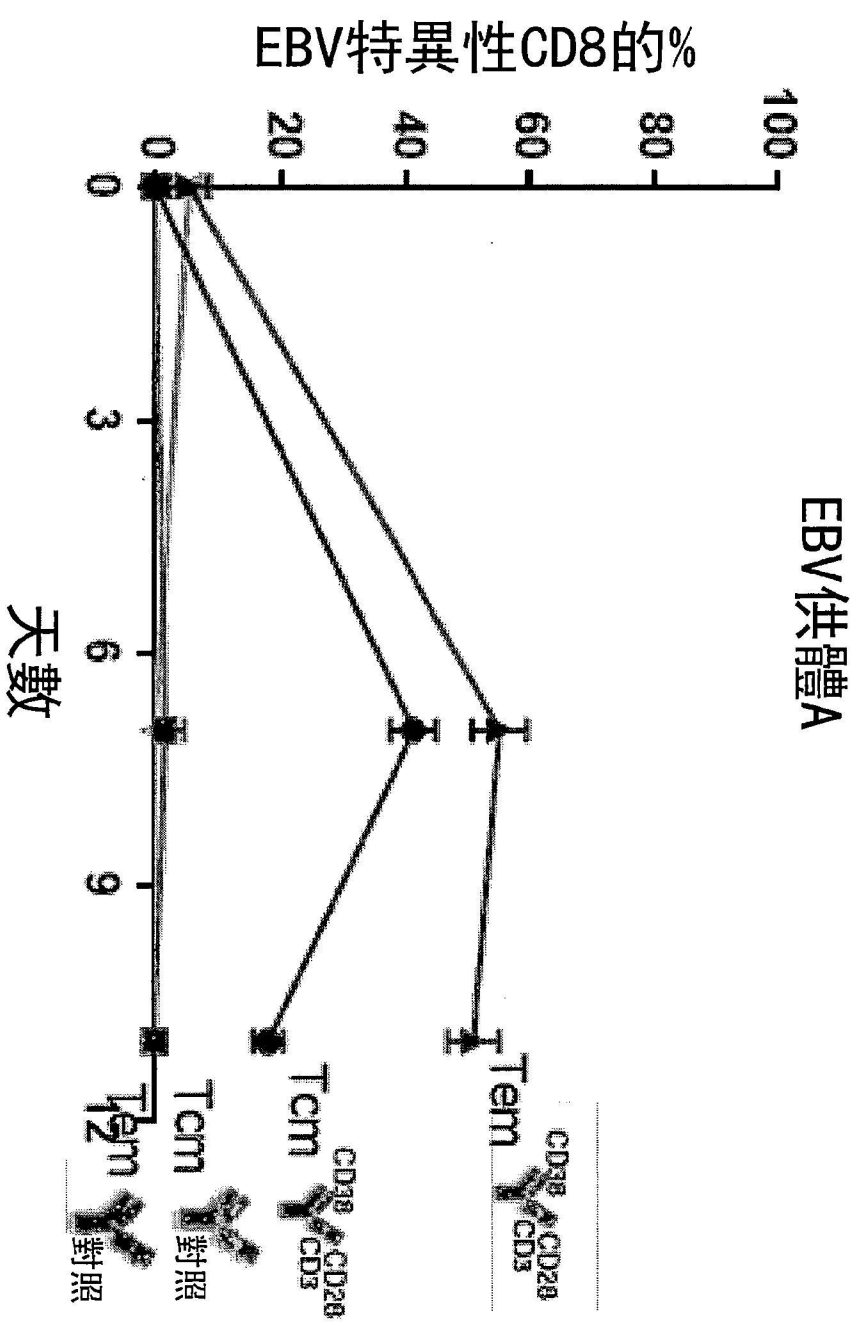
【圖 6A】



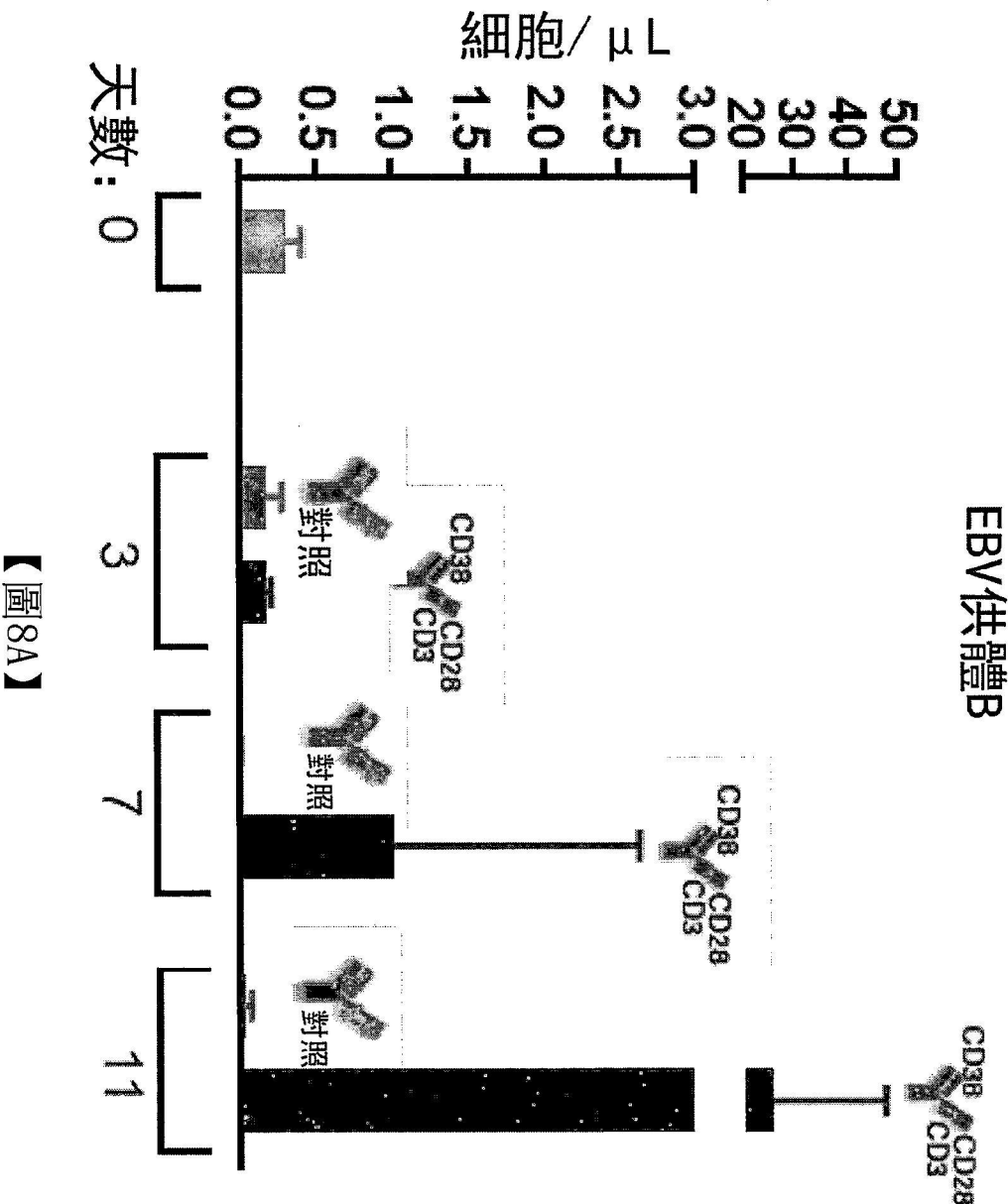
【圖6B】



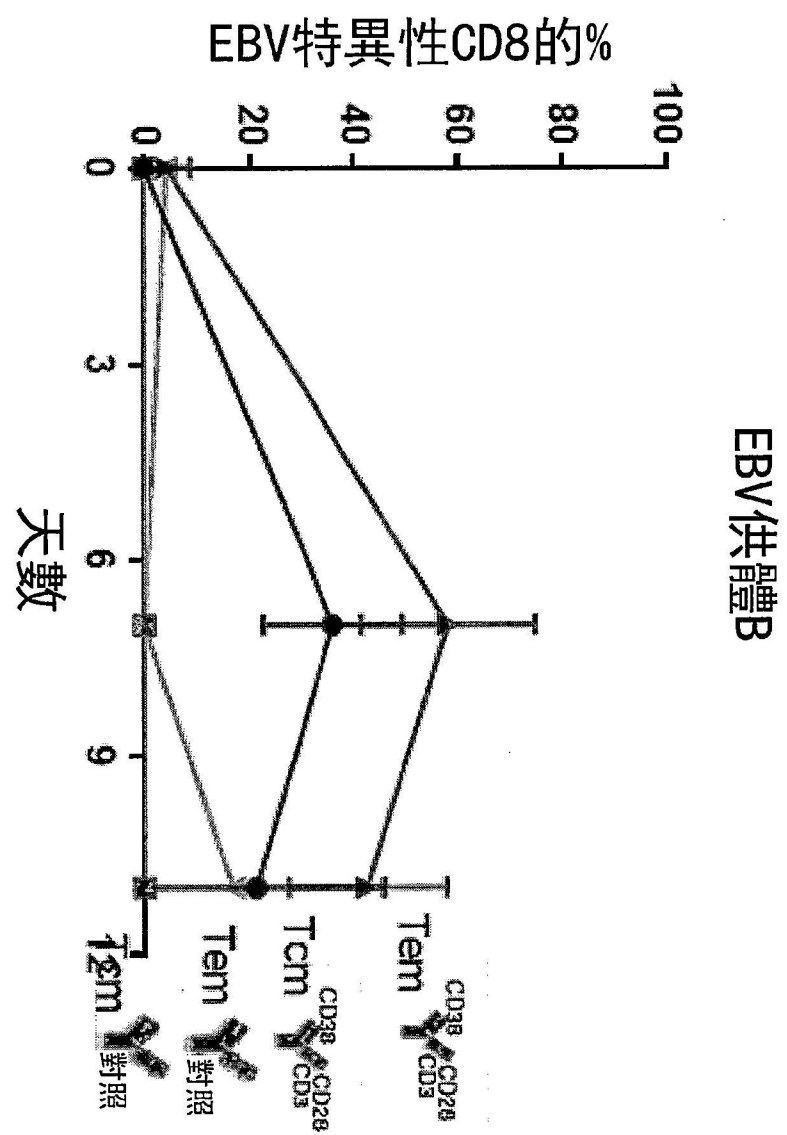
【圖7A】



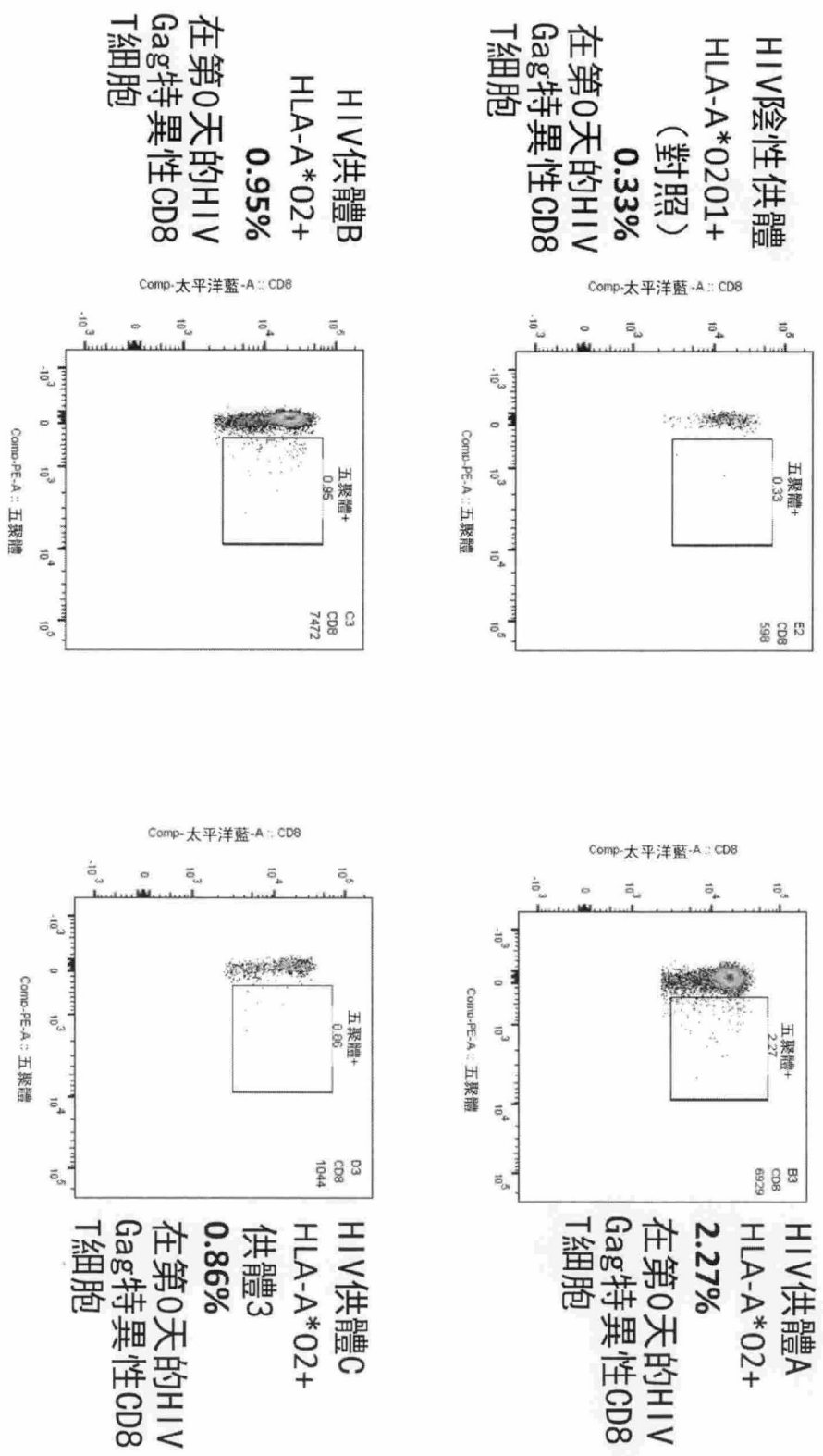
【圖7B】



【圖8A】

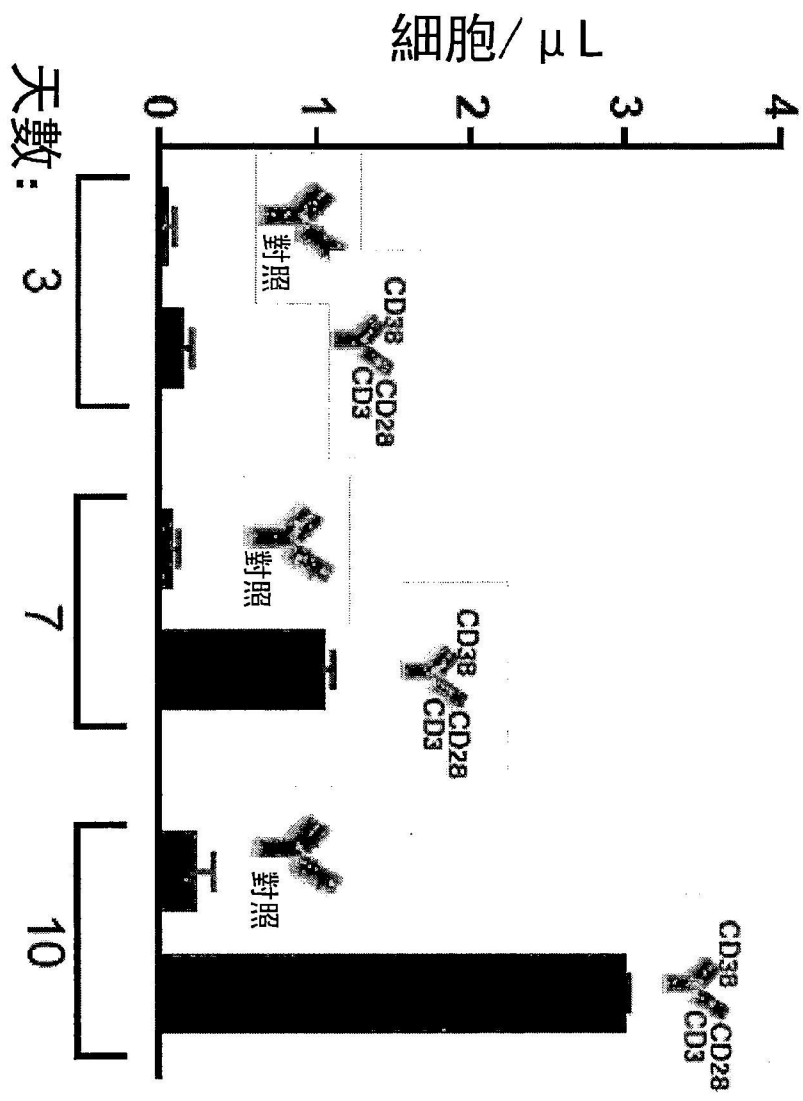


【圖8B】

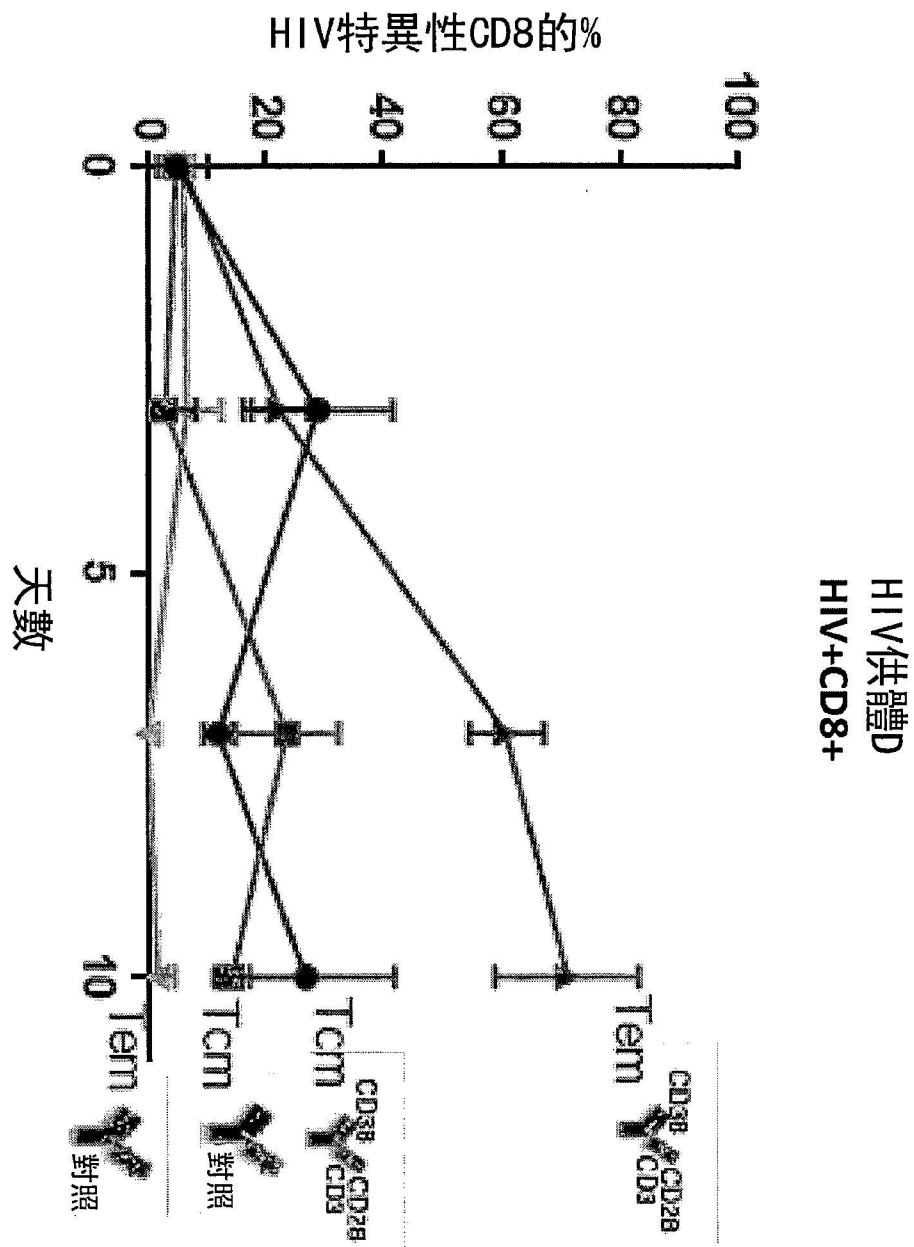


【圖9】

HIV/共體D

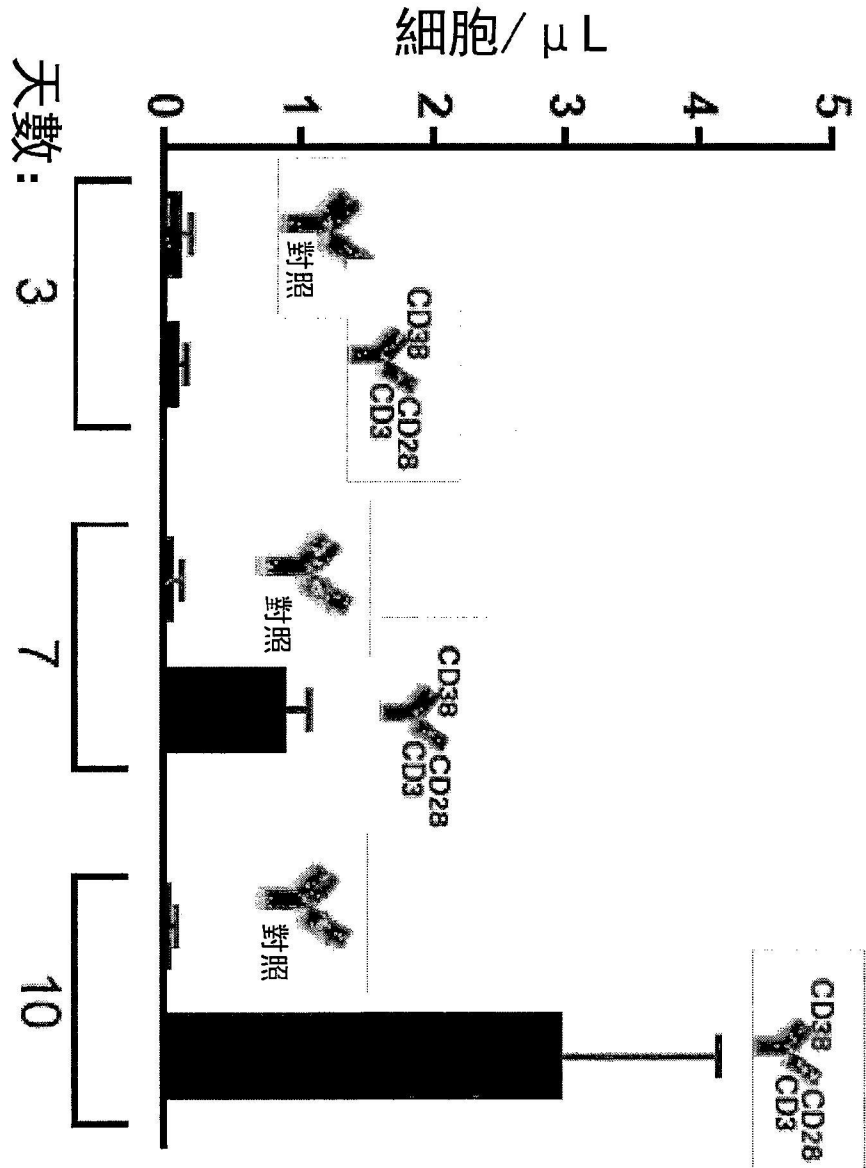


【圖10A】



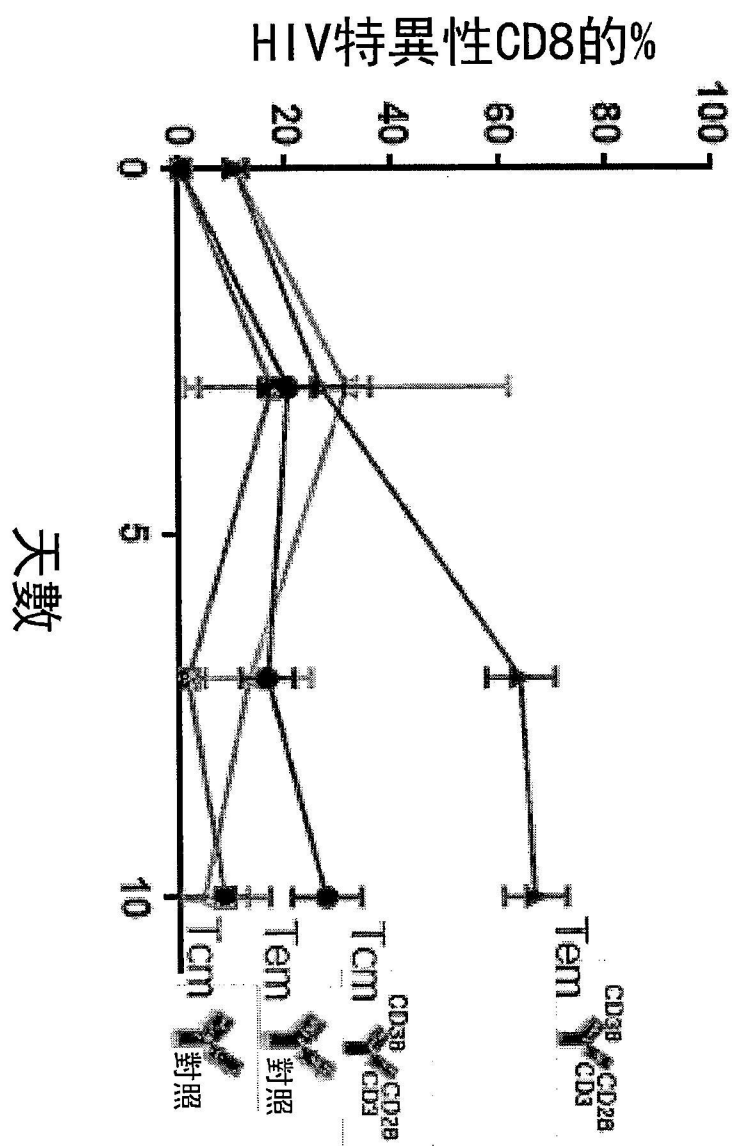
【圖10B】

HIV供體



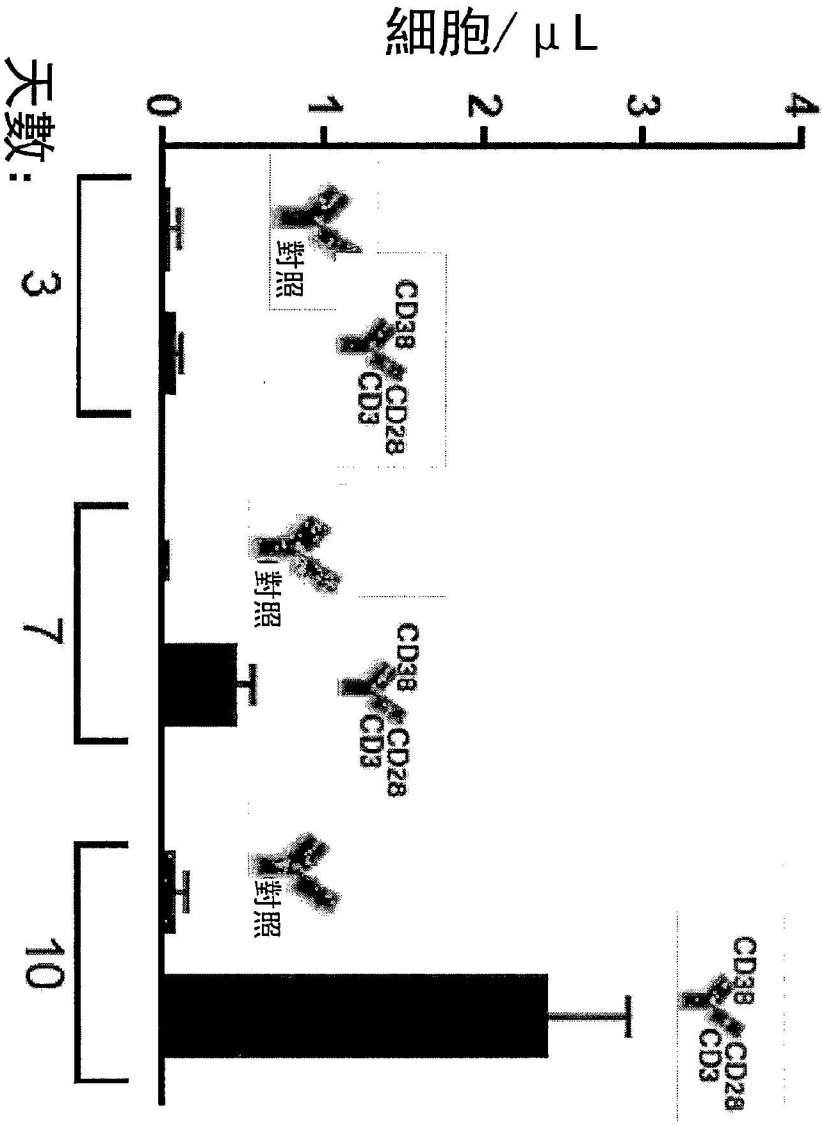
【圖11A】

HIV供體
HIV+CD8+

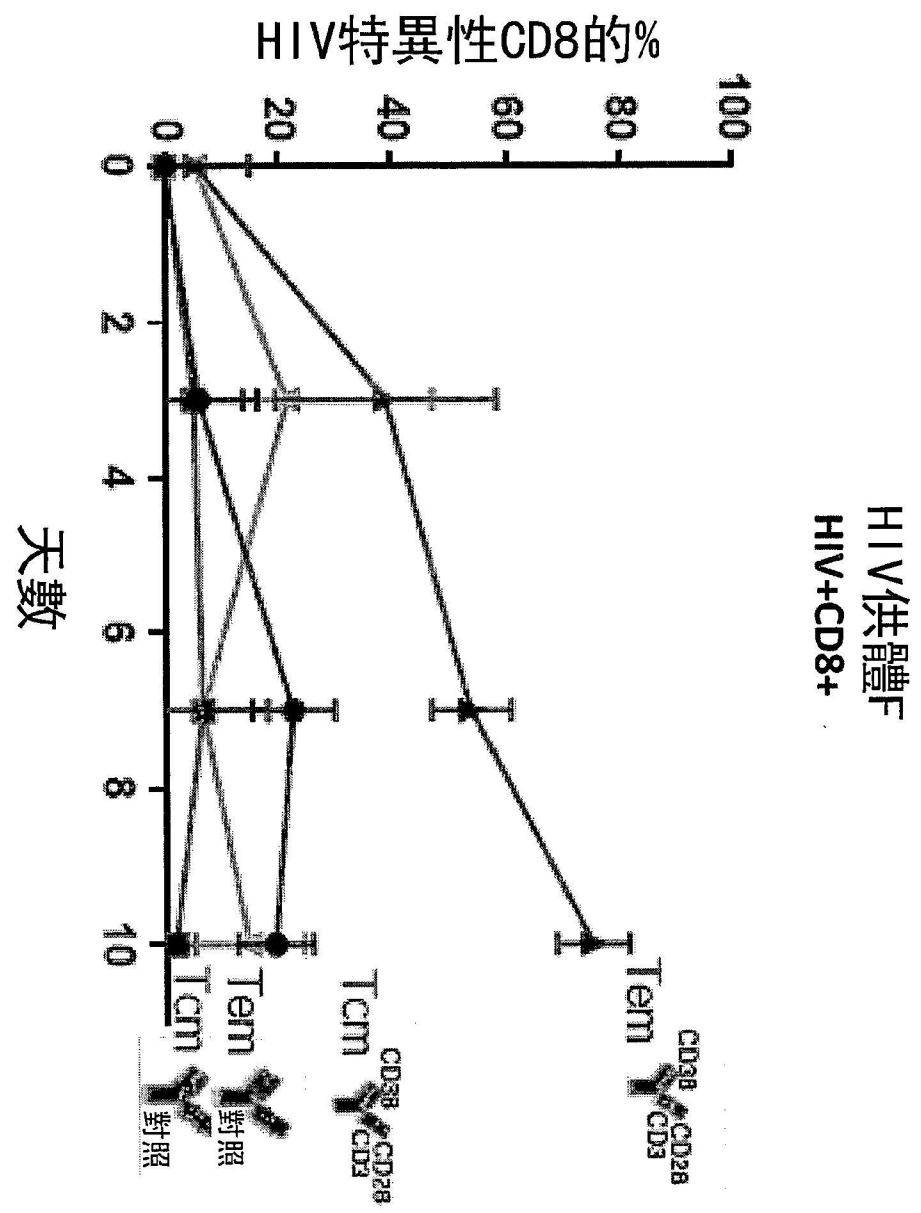


【圖11B】

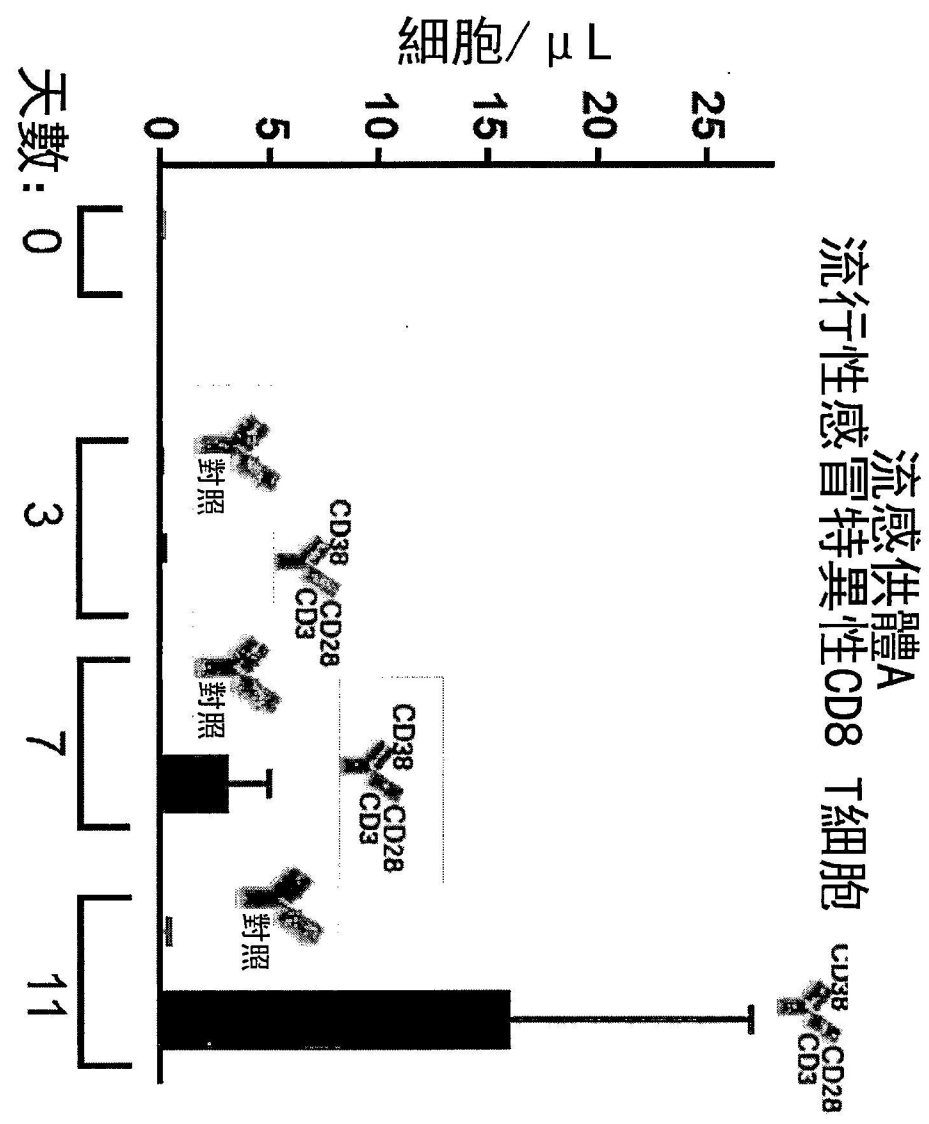
HIV供體F



【圖12A】

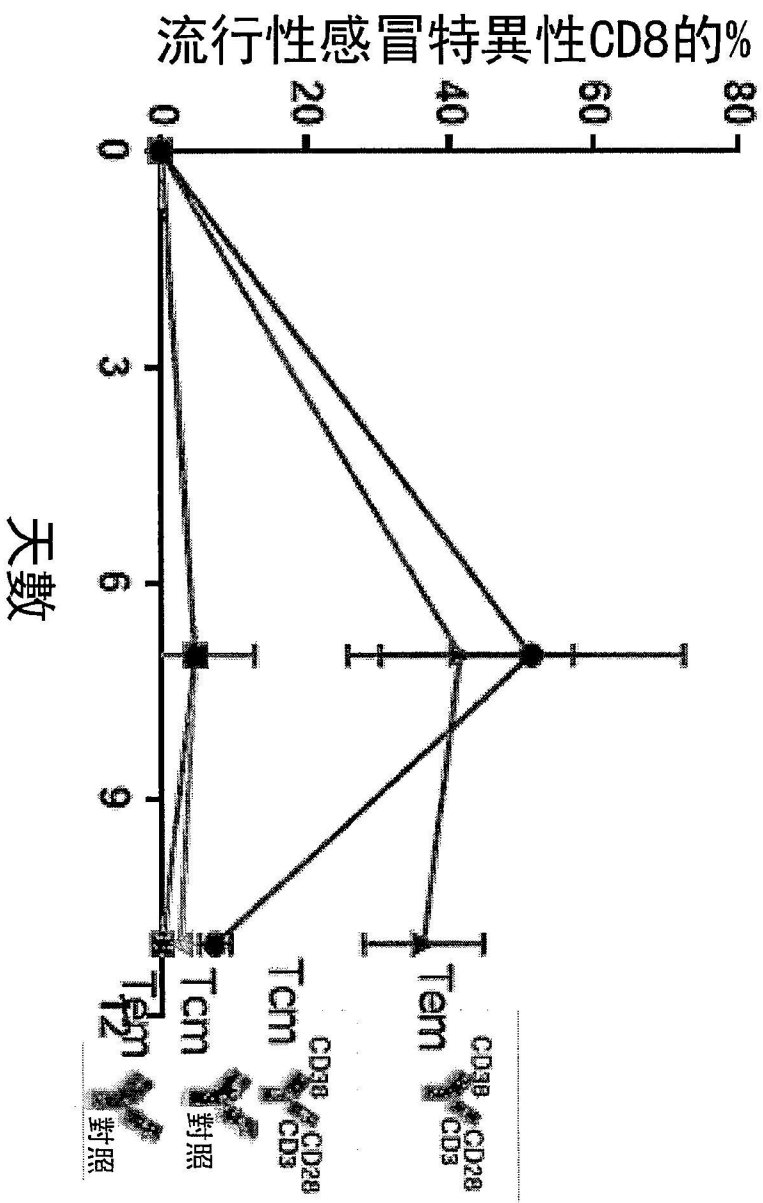


【圖12B】



【圖13A】

流感供體A



【圖13B】