



(12) 发明专利



(10) 授权公告号 CN 111194323 B

(45) 授权公告日 2024. 07. 09

(21) 申请号 201880065327.3

(22) 申请日 2018.10.09

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 111194323 A

(43) 申请公布日 2020.05.22

(30) 优先权数据
17195779.8 2017.10.10 EP
18150465.5 2018.01.05 EP
18167093.6 2018.04.12 EP
18180814.8 2018.06.29 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2020.04.07

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2018/077509 2018.10.09

(87) PCT国际申请的公布数据
W02019/072868 EN 2019.04.18

(73) 专利权人 努玛治疗有限公司
地址 瑞士瓦登韦尔

(72) 发明人 大卫·乌雷克 迪·贡德
塞巴斯蒂安·迈耶
马蒂亚斯·布洛克
克里斯蒂安·赫斯
亚历山大·西莫南
斯特凡·沃穆思

(74) 专利代理机构 北京品源专利代理有限公司
11332
专利代理师 刘明海 宁涛

(51) Int.Cl.
C07K 16/18 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

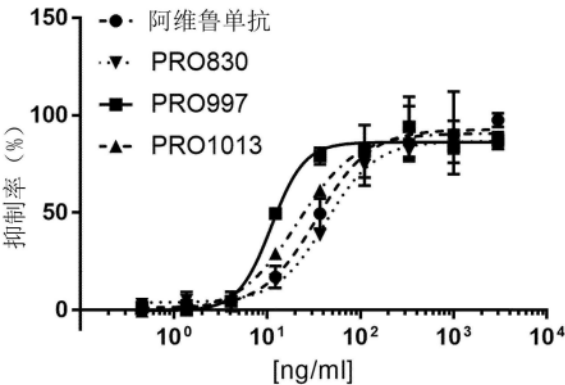
(56) 对比文件
W0 2017123650 A2, 2017.07.20
审查员 王康
权利要求书1页 说明书169页
序列表149页 附图35页

(54) 发明名称

多特异性抗体

(57) 摘要

本发明涉及多特异性抗体及其药物组合物和使用方法,所述多特异性抗体包含至少一个CD137结合结构域和至少一个PDL1结合结构域。本发明还涉及编码所述多特异性抗体的核酸、包含所述核酸的载体、包含所述核酸或所述载体的宿主细胞以及生产所述多特异性抗体的方法。



1. 一种多特异性抗体,其包含:
 - a) 一个CD137结合结构域,称为CD137-BD;和
 - b) 一个PDL1结合结构域,称为PDL1-BD,其中所述抗体还包含一个人血清白蛋白结合结构域,称为HSA-BD;
其中所述多特异性抗体为选自以下序列的多特异性抗体:SEQ ID NO:
229、230和231。
2. 一种药物组合物,其包含根据权利要求1所述的多特异性抗体和药学上可接受的载体。
3. 根据权利要求1所述的多特异性抗体或根据权利要求2所述的药物组合物在制备用于治疗肺癌或结肠癌的药物中的用途。
4. 一种在体外生产根据权利要求1所述的多特异性抗体的方法,所述方法包括以下步骤:培养宿主细胞,所述宿主细胞包含编码根据权利要求1所述的多特异性抗体或其结合域的核酸或载体。

多特异性抗体

技术领域

[0001] 本发明涉及多特异性抗体及其药物组合物和使用方法,所述多特异性抗体包含至少一个CD137结合结构域和至少一个PDL1结合结构域。本发明还涉及编码所述多特异性抗体的核酸、包含所述核酸的载体、包含所述核酸或所述载体的宿主细胞以及生产所述多特异性抗体的方法。

背景技术

[0002] 肿瘤坏死因子受体超家族(TNFRSF)是受体的蛋白质超家族,其特征不在于它们能够通过细胞外结构域中富含半胱氨酸的假重复序列(pseudorepeat)与肿瘤坏死因子(TNF)结合(Locksley等人,2001,Cell.104:487-501)。目前,已经鉴定出了27个TNF家族成员。TNFRSF成员及其配体主要在免疫细胞上表达,它们在T细胞介导的免疫应答中发挥免疫调节剂的作用。TNFRSF成员在增强树突状细胞的存活和T细胞的启动能力、效应T细胞的最佳生成、最佳抗体应答以及炎症反应的扩大中发挥作用。

[0003] CD137(4-1BB,TNF-受体超家族9,TNFRSF9)是TNFR超家族的表面糖蛋白。它是一种诱导型共刺激性T细胞受体。CD137表达是激活依赖性的,并且涵盖了广泛的免疫细胞子集,包括活化的NK和NKT细胞、调节性T细胞、树突细胞(DC)(包括滤泡DC)、刺激后的肥大细胞、分化髓样细胞、单核细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞(Wang等人,Immunol Rev.229(1):192-215(2009))和活化的B细胞(Zhang等人,J Immunol.184(2):787-795(2010))。另外,还在肿瘤脉管系统(Broil K等人,Am J Clin Pathol.115(4):543-549(2001);Seaman等人,Cancer Cell 11(6):539-554(2007))和动脉粥样硬化内皮细胞(Olafsson等人,Circulation 117(10):1292-1301(2008))上证明了CD137表达。

[0004] CD137-配体(CD137L,4-1BBL或tnfsf9),一种TNF家族的分子,是一种已知的CD137的细胞间天然配体(Alderson,M.R.等人,Eur.J.Immunol.24:2219-2227(1994);Pollok K.等人,Eur.J.Immunol.24:367-374(1994);Goodwin,R.G.等人,Eur.J.Immunol.23:2631-2641(1993))。CD137的配体形成同型三聚体,CD137信号传导从细胞表面的连接的分子发生,这些分子被三聚化的配体交联(Won,E.Y.等人,J.Biol.Chem.285:9202-9210(2010))。因此有人提出,CD137的高阶聚集是介导信号传导所必需的。CD137在其细胞质尾中与衔接子TRAF-2和TRAF-1缔合,导致共免疫沉淀,这在T细胞中CD137激活后有所增强(Saoulli,K.等人,J.Exp.Med.187:1849-1862(1998);Sabbagh,L.等人,J.Immunol.180:8093-8101(2008))。CD137招募TRAF-1和TRAF-2会导致NFkB和丝裂原活化蛋白(MAP)激酶级联反应(包括ERK、JNK和p38 MAP激酶)的下游活化。NFkB激活导致Bcl-2家族的促存活成员Bcl-1和Bcl-XL上调。促凋亡蛋白Bim以TRAF-1和ERK依赖性方式下调(Sabbagh等人,J Immunol.180(12):8093-8101(2008))。有人提出,CD137的主要作用是将两个或更多个TRAF-2分子彼此紧密地放置(Sanchez-Paulete,A.R.等人,Eur.J.Immunology 46(3):513-522(2016))。基于此,推测驱动CD137信号传导的主要因素是细胞质膜的微片(micropatch)中TRAF-2组装的CD137部分的相对密度(Sanchez-Paulete,A.R.等人,Eur.J.Immunology 46(3):513-522

(2016))。总体而言,多聚作用会促进CD137信号传导,有人提出,交联的CD137分子是CD137共刺激活性的关键因素。

[0005] CD137共同刺激T细胞以执行效应子功能,例如根除已建立的肿瘤、扩大原发性CD8+T细胞应答和增加抗原特异性CD8+T细胞的记忆库、诱导干扰素- γ (IFN- γ)合成。通过操纵CD137/CD137L功能可以将CD137刺激在CD8+T细胞功能和存活中的关键作用潜在地用于治疗肿瘤。实际上,小鼠体内功效研究表明,抗CD137抗体治疗会导致多种肿瘤模型的肿瘤消退。例如,已证明激动性抗小鼠CD137抗体会诱导针对P815肥大细胞瘤肿瘤和低免疫原性肿瘤模型Ag104的免疫应答(I. Melero等人, *Nat. Med.*, 3(6):682-5(1997))。在一些研究中已经报道了CD137激动剂mAb在单一疗法和组合疗法的预防性和治疗性环境中以及抗肿瘤保护性T细胞记忆应答中的功效(Lynch等人, *Immunol Rev.* 222:277-286(2008))。CD137激动剂还在多种自身免疫模型中抑制自身免疫反应(Vinay等人, *J Mol Med* 84(9):726-736(2006))。

[0006] 目前临床上的两种抗CD137抗体是urelumab(Bristol-Myers Squibb),其是一种完全人源化的IgG4 mAb,和utomilumab(PF-05082566, Pfizer),其是一种全人IgG2 mAb(Chester C.等人, *Cancer Immunol Immunother* Oct;65(10):1243-8(2016))。尽管利用激动CD137的治疗性抗体是非常有前途的治疗策略,但它还伴随着诸如抗CD137激动剂抗体的低功效、高毒性和不良反应等困难。

[0007] 已证明,CD137激动剂抗体可导致免疫系统和器官功能改变,增加毒性风险。据报道,在幼稚荷瘤小鼠中高剂量的CD137激动剂抗体可诱导T细胞向肝细胞浸润以及天冬氨酸转氨酶和丙氨酸转氨酶升高,这符合肝脏炎症(Niu L等人, *J Immunol* 178(7):4194-4213(2007); Dubrot J等人, *Int J Cancer* 128(1):105-118(2011))。针对CD137激动剂抗体的人类治疗用途的初步临床研究还证明了肝酶的升高和肝炎发病率的增加(Sznol M.等人, *J Clin Oncol* 26(11S):3007(2008); Ascierto PA等人, *Semin Oncol* 37(5):508-516(2010); Chester C.等人, *Cancer Immunol Immunother* Oct;65(10):1243-8(2016))。在先前治疗过的III/IV期黑色素瘤的Bristol-Myers Squibb(BMS) II期抗CD137研究(国家临床试验(NCT) 00612664)中,观察到了潜在的致命性肝炎。该研究及其他一些研究(NCT00803374、NCT00309023、NCT00461110、NCT00351325)因不良事件而终止(Chester C.等人, *Cancer Immunol Immunother* Oct;65(10):1243-8(2016))。此类不良事件很可能是由于T细胞的全身过度刺激所致。

[0008] 除上述之外,在没有外源聚集的情况下,二价CD137抗体在体外诱导信号传导的能力通常较弱。为了说明,抗CD137抗体utomilumab仅在与抗人F(ab')₂二抗交联或固定在组织培养塑料上时才能够激活CD137信号传导(Fisher等人, *Cancer Immunol Immunother* 61:1721-1733(2012))。对CD40(TNFRSF5) (TNFRSF的另一个成员)的啮齿类动物拮抗抗体的研究表明,可以通过与Fc γ 受体的相互作用部分地实现外源聚集(Li F, Ravetch JV, *Science* 333(6045):1030-10(2011); White AL等人, *J Immunol* 187(4):1754-1763(2011))。但是,与Fc γ 受体的相互作用可以通过效应子机制消耗表达CD137的细胞。当前靶向CD137的二价抗体具有以下局限性:a) 在不存在Fc γ -受体相互作用的情况下,其CD137刺激能力有限,b) 与Fc γ -受体的这种相互作用可诱导CD137表达细胞的消耗,这可能会影响活性,以及c) 它们的活性不局限于靶组织,从而引起全身性不良反应。

[0009] 为了获得另外的交联功能并达到特定水平的TNRSF(特别是CD137)激活,最近有人提出使用结合PDL1和TNRSF成员或叶酸受体 α (FR α)和TNRSF成员的多价和多特异性融合多肽,其中与PDL1或FR α 的结合能够提供另外的交联功能(WO 2017/123650)。Eckelman等人已经证明,如在INBRX-105(具有两个PDL1结合结构域、两个CD137结合结构域和一个Fc区的多特异性多价多肽)的情况下,在没有外源聚集事件的情况下,CD137的二价结合不足以有效地聚集和介导有效的CD137信号传导,其采用的是分离所述分子对报告T细胞系的作用的测定。相反,在PDL1阳性细胞的存在下与第二细胞表面抗原PDL1的结合使得CD137能够进一步聚集并产生有效的信号传导(WO 2017/123650)。

[0010] PDL1(CD274,B7-H1)是40kDa的I型跨膜蛋白。PDL1是PD-1的表面糖蛋白配体,PD-1是由活化的T细胞和B细胞表达的关键免疫检查点受体,并介导免疫抑制。PDL1与慢性感染、妊娠、同种异体移植、自身免疫性疾病和癌症期间的免疫系统反应的抑制有关。在抗原呈递细胞和人类癌细胞,例如头颈部鳞状细胞癌、黑色素瘤和脑瘤、甲状腺、胸腺、食道、肺、乳腺、胃肠道、结肠直肠、肝脏、胰腺、肾脏、肾上腺皮质、膀胱、尿路上皮、卵巢和皮肤上,都发现了PDL1(Katsuya Y等人,Lung Cancer.88(2):154-159(2015);Nakanishi J等人,Cancer Immunol Immunother.56(8):1173-1182(2007);Nomi T等人,Clin Cancer Res.13(7):2151-2157(2007);Fay AP等人,J Immunother Cancer.3:3(2015);Strome SE等人,Cancer Res.63(19):6501-6505(2003);Jacobs JF等人Neuro Oncol.11(4):394-402(2009);Wilmotte R等人Neuroreport.16(10):1081-1085(2005))。PDL1在正常组织中很少表达,但在肿瘤部位可诱导表达(Dong H等人,Nat Med.8(8):793-800(2002);Wang等人,Onco Targets Ther.9:5023-5039(2016))。PDL1通过与PD-1结合而下调T细胞活化和细胞因子分泌(Freeman等人,2000;Latchman等人,2001)。由PDL1激活的PD-1可能为肿瘤的发展和生长提供免疫耐受的环境。PDL1还通过与另一种受体B7.1(B7-1,CD80)相互作用来负调节T细胞功能。

[0011] PDL1/PD-1相互作用的抑制能够提供有效的抗肿瘤活性。许多破坏PD-1信号传导的抗体已进入临床开发阶段。这些抗体属于以下两个主要类别:靶向PD-1的抗体(nivolumab,Bristol-Myers Squibb;pembrolizumab,Merck,Whitehouse Station,NJ;pidilizumab,CureTech,Yavne,Israel)和靶向PDL1的抗体(MPDL3280A,Genentech,South San Francisco,CA;MEDI4736,MedImmune/AstraZeneca;BMS-936559,Bristol-Myers Squibb;MSB0010718C,EMD Serono,Rockland,MA)(参见Postow MA等人,J Clin Oncol.Jun 10;33(17):1974-82(2015))。靶向PDL1与靶向PD-1可能导致不同的生物学效应。PD-1抗体可防止PD-1与它的两个配体PDL1和PDL2相互作用。尽管PD-1与PDL2相互作用的影响仍然未知,但PDL1抗体不会阻止PD-1与PDL2相互作用。然而,PDL1抗体不仅会阻止PDL1与PD-1的相互作用,还会阻止与B7-1的相互作用(Butte MJ等人,Immunity 27:111-122,(2007)),这被认为会对T细胞产生负信号。阻断PDL1已显示出令人鼓舞的早期数据,目前正在测试四种临床抗PDL1 mAb:atezolizumab和MEDI4736(均为IgG1的Fc空变体)、MSB001078C(IgG1)和BMS-936559(IgG4)(Chester C.等人,Cancer Immunol Immunother Oct;65(10):1243-8(2016))。

[0012] 在ID-8卵巢腺癌模型中,抗PDL1和抗CD137抗体的组合提高了总体存活率并增强了T细胞效应子功能(Duraiswamy J,等人,Cancer Res 73:6900-6912(2013))。urelumab

(抗CD137)与nivolumab(抗PD-1)的组合在实体瘤和B细胞非霍奇金淋巴瘤中的测试正处于I/II期试验(NCT02253992),而PF-05082566(抗CD137)与pembrolizumab(抗PD-1)在实体瘤患者中的测试正处于Ib期试验(NCT02179918)(Chester C.,等人,Cancer Immunol Immunother Oct;65(10):1243-8(2016))。

[0013] 最近,已经在体外评估了结合PDL1和CD137的多价和多特异性融合多肽对T细胞活化和增殖的影响。使用实现未成熟DC和供体匹配的T细胞的自体体外共培养系统,已证明,与单特异性PDL1 sd-Ab-Fc融合蛋白、CD137 sdAb-Fc融合蛋白、两者的组合、抗PDL1抗体atezolizumab、抗CD137抗体utomilumab(PF-05082566)或抗PDL1抗体prembrolizumab及其组合相比,INBRX-105(一种具有两个PDL1结合结构域、两个CD137结合结构域和一个Fc区的多特异性多价多肽)在诱导IFN- γ 产生、诱导INF γ 或介导CD8⁺T细胞增殖和活化方面表现更优异(WO 2017/123650)。另外,WO 2016/149201公开了针对PDL1的某些抗体,并提出生成进一步包含T细胞结合抗体的双特异性抗体构建体,其中CD137包含在20多种潜在T细胞靶标的非排他性列表中。

[0014] 尽管对于患有癌症的患者有许多治疗选择,但是仍然需要有效和安全的治疗剂,并且需要以更有针对性的方式优先使用它们。免疫调节生物制剂由于其作用方式而为癌症的治疗提供了有前途的方法,但是,整体免疫刺激以及这种免疫调节对病理相关细胞和部位没有任何限制,会导致许多副作用和明显的毒性,这有可能导致患者的发病率和死亡率增加。因此,本发明的目的是提供一种药物,以改善对增生性疾病,特别是癌症的治疗。

发明内容

[0015] 本发明的目的是提供一种药物,以改善对增生性疾病特别是癌症的治疗。本发明满足对免疫肿瘤学的精确治疗剂的需求,仅靶向疾病共定位的T细胞以进行上调。

[0016] 一方面,本发明涉及一种多特异性抗体,其包含至少一个CD137结合结构域和至少一个PDL1结合结构域。本发明还涉及一种多特异性抗体,其包含至少一个CD137结合结构域、至少一个PDL1结合结构域和至少一个人血清白蛋白结构域。

[0017] 一方面,本发明涉及一种药物组合物,其包含本发明的多特异性抗体和药学上可接受的载体。

[0018] 另一方面,本发明提供了用作药物的本发明的多特异性抗体或本发明的药物组合物。

[0019] 另一方面,本发明提供了用于治疗有此需要的受试者的癌症的本发明的多特异性抗体或本发明的药物组合物。

[0020] 一方面,本发明提供了本发明的多特异性抗体或本发明的药物组合物在治疗有此需要的受试者的癌症的用途。

[0021] 一方面,本发明提供了本发明的多特异性抗体或本发明的药物组合物在制备用于治疗有此需要的受试者的癌症的药物中的用途。

[0022] 另一方面,本发明提供了一种治疗有此需要的受试者中的癌症的方法,该方法包括向该受试者施用治疗有效量的本发明的多特异性抗体或本发明的药物组合物。

[0023] 另一方面,本发明提供了一种核酸,其包含编码本发明的多特异性抗体的核苷酸序列。另一方面,本发明提供了包含所述核酸的载体。另一方面,本发明提供了包含所述核

酸或所述载体的宿主细胞。

[0024] 另一方面,本发明提供了生产本发明的多特异性抗体或其结合结构域或其片段的方法,该方法包括以下步骤:培养宿主细胞,所述宿主细胞包含编码本发明的多特异性抗体或其结合结构域或其片段的核酸或载体。

[0025] 分别单独地或组合地在以下各项中概述的本发明的方面、有利特征和优选实施方案进一步有助于解决本发明的目的:

[0026] 1.一种多特异性抗体,其包含:

[0027] a) 至少一个CD137结合结构域(CD137-BD);和

[0028] b) 至少一个PDL1结合结构域(PDL1-BD)。

[0029] 2.根据项目1所述的多特异性抗体,其中所述抗体对于CD137特异性是单价、二价或多价的,优选地是单价的。

[0030] 3.根据项目1或2所述的多特异性抗体,其中所述抗体对于PDL1特异性是单价、二价或多价的,优选地是单价的。

[0031] 4.根据项目1所述的多特异性抗体,其中所述抗体包含一个CD137-BD和一个PDL1-BD。

[0032] 5.根据项目1所述的多特异性抗体,其中所述抗体由一个CD137-BD和一个PDL1-BD组成。

[0033] 6.根据项目1至4中任一项所述的多特异性抗体,其中所述抗体是三特异性的。

[0034] 7.根据项目1至4中任一项所述的多特异性抗体,其中所述抗体还包含至少一个人血清白蛋白结合结构域,优选一个人血清白蛋白结合结构域。

[0035] 8.根据项目7所述的多特异性抗体,其中所述抗体包含一个CD137-BD、一个PDL1-BD和一个HSA-BD。

[0036] 9.根据前述项目中任一项所述的多特异性抗体,其中所述抗体不包含免疫球蛋白Fc区多肽。

[0037] 10.根据前述项目中任一项所述的多特异性抗体,其中所述结合结构域能够同时结合其各自的抗原或受体。

[0038] 11.根据前述项目中任一项所述的多特异性抗体,其中每个所述结合结构域,例如PDL1-BD、CD137-BD或HSA-BD,独立地选自由以下组成的组:Fab、Fv、scFv、dsFv、scAb、STAB、单结构域抗体(sdAb或dAb)、单结构域重链抗体和单结构域轻链抗体、VHH、VNAR、单结构域抗体(其基于鲨鱼的VNAR结构)和基于其他支架的结合结构域,所述基于其他支架的结合结构域包括但不限于基于锚蛋白的结构域、fynomer、avimer、anticalin、纤连蛋白和构建在抗体恒定区中的结合位点(例如f-star技术(F-star的Modular Antibody TechnologyTM))。

[0039] 12.根据前述项目中任一项所述的多特异性抗体,其中所述PDL1-BD和/或CD137-BD和/或HSA-BD独立地选自Fv和scFv。

[0040] 13.根据前述项目中任一项所述的多特异性抗体,其中所述CD137-BD可以在聚集后激动CD137。

[0041] 14.根据项目13所述的多特异性抗体,其中所述CD137-BD:

[0042] a) 与人CD137结合的解离常数(KD)小于50nM,特别是小于10nM,特别是小于5nM,特别是小于1nM,特别是小于500pM,更特别是小于100pM,更特别是小于50pM,特别是如通过

SPR所测量的,特别地,其中所述抗体是scFv(单价亲和力);

[0043] b) 与人CD137结合的 K_{off} 速率为 $10^{-3}s^{-1}$ 或更低,或 $10^{-4}s^{-1}$ 或更低,或 $10^{-5}s^{-1}$ 或更低,如通过SPR所测量的,特别地,其中所述抗体是scFv;

[0044] c) 与人CD137结合的 K_{on} 速率为至少 $10^4M^{-1}s^{-1}$ 或更高,至少 $10^5M^{-1}s^{-1}$ 或更高,至少 $10^6M^{-1}s^{-1}$ 或更高,如通过SPR所测量的,特别地,其中所述抗体是scFv;

[0045] d) 任选地,不与urelumab交叉竞争;

[0046] e) 任选地,不与utomilumab交叉竞争;和/或

[0047] f) 与食蟹猴(食蟹猴)CD137交叉反应;和/或

[0048] g) 当为scFv形式时,其解链温度(T_m) (通过差示扫描荧光法测定) 为至少 $50^{\circ}C$,优选至少 $55^{\circ}C$,更优选至少 $60^{\circ}C$,特别是其中将所述抗体或其抗原结合片段配制在pH 6.4、150mM NaCl的磷酸柠檬酸盐缓冲液中,特别是其中将所述抗体配制在pH 6.4、150mM NaCl的50mM磷酸柠檬酸盐缓冲液中;

[0049] h) 当为scFv形式时,当本发明的抗体的起始浓度为10mg/ml时,并且特别地,其中将所述抗体配制在pH 6.4的具有150mM NaCl的50mM柠檬酸磷酸缓冲液中,在 $4^{\circ}C$ 下储存至少2周,特别是至少4周后,所述抗体的单体含量损失小于7%,例如小于6%,小于5%,小于4%,小于3%,小于2%,优选小于1%;和/或

[0050] i) 当为scFv形式时,当本发明的抗体的起始浓度为10mg/ml时,并且特别地,其中将本发明的抗体配制在pH 6.4的具有150mM NaCl的50mM柠檬酸磷酸缓冲液中,在 $40^{\circ}C$ 下储存至少2周,特别是至少4周后,所述抗体的单体含量损失小于5%,例如小于4%,小于3%,小于2%,优选小于1%。

[0051] 15. 根据项目13或项目14所述的多特异性抗体,其中所述CD137-BD包含重链可变区,其包含CDR,所述CDR具有HCDR1的SEQ ID NO:1、HCDR2的SEQ ID NO:2和HCDR3的SEQ ID NO:3的序列,和轻链可变区,其包含CDR,所述CDR具有LCDR1的SEQ ID NO:18、LCDR2的SEQ ID NO:19和LCDR3的SEQ ID NO:20的序列。

[0052] 16. 根据项目15所述的多特异性抗体,其中所述CD137-BD包含重链可变区,其包含与选自SEQ ID NO:14、15、16和17组成的组的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含与选自SEQ ID NO:27、28、29和30组成的组的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列。

[0053] 17. 根据项目16所述的多特异性抗体,其中所述CD137-BD包含:重链可变区,其包含选自SEQ ID NO:14、15、16和17中任意之一的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含选自SEQ ID NO:27、28、29和30中任意之一的氨基酸序列。

[0054] 18. 根据项目16所述的多特异性抗体,其中所述CD137-BD包含(a) SEQ ID NO:14的VH序列和SEQ ID NO:27的VL序列;(b) SEQ ID NO:15的VH序列和SEQ ID NO:28的VL序列;(c) SEQ ID NO:16的VH序列和SEQ ID NO:29的VL序列;或(d) SEQ ID NO:17的VH序列和SEQ ID NO:30的VL序列。

[0055] 19. 根据项目15所述的多特异性抗体,其中所述CD137-BD重链可变区,其包含与SEQ ID NO:17的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含与SEQ ID NO:30的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列,其中所述重链可变区包含G51C突变(AHo编号),并且所述轻链可变区包含T141C突变(AHo编号)。

[0056] 20. 根据项目13或项目14所述的多特异性抗体,其中所述CD137-BD包含重链可变区,其包含CDR,所述CDR具有SEQ ID NO:59(HCDR1)、SEQ ID NO:60(HCDR2)和SEQ ID NO:61(HCDR3)的序列,和轻链可变区,其包含CDR,所述CDR具有SEQ ID NO:74(LCDR1)、SEQ ID NO:75(LCDR2)和SEQ ID NO:76(LCDR3)的序列。

[0057] 21. 根据项目20所述的多特异性抗体,其中所述CD137-BD包含重链可变区,其包含与选自SEQ ID NO:71、72和73组成的组的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含与选自SEQ ID NO:83、84和85组成的组的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列。

[0058] 22. 根据项目21所述的多特异性抗体,其中所述CD137-BD包含:重链可变区,其包含选自SEQ ID NO:71、72和73中任意之一的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含选自SEQ ID NO:83、84和85中任意之一的氨基酸序列。

[0059] 23. 根据项目21所述的多特异性抗体,其中所述CD137-BD包含(a)SEQ ID NO:71的VH序列和SEQ ID NO:83的VL序列;(b)SEQ ID NO:72的VH序列和SEQ ID NO:84的VL序列;或(c)SEQ ID NO:73的VH序列和SEQ ID NO:85的VL序列。

[0060] 24. 根据项目21所述的多特异性抗体,其中所述CD137-BD重链可变区,其包含与SEQ ID NO:73的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含与SEQ ID NO:85的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列,其中所述重链可变区包含G51C突变(AHo编号),并且所述轻链可变区包含T141C突变(AHo编号)。

[0061] 25. 根据前述项目中任一项所述的多特异性抗体,其中所述PDL1-BD是PDL1的阻断剂。

[0062] 26. 根据项目25所述的多特异性抗体,其中所述PDL1-BD:

[0063] a) 与人PDL1结合的解离常数(KD)小于50nM,特别是小于10nM,特别是小于5nM,特别是小于1nM,特别是小于500pM,更特别是小于100pM,优选小于10pM,更优选小于5pM,特别是如通过SPR所测量的,特别地,其中所述抗体是scFv(单价亲和力);

[0064] b) 与人PDL1结合的 K_{off} 速率为 $10^{-3}s^{-1}$ 或更低,或 $10^{-4}s^{-1}$ 或更低,或 $10^{-5}s^{-1}$ 或更低,如通过SPR所测量的,特别地,其中所述抗体是scFv;

[0065] c) 与人PDL1结合的 K_{on} 速率为至少 $10^3M^{-1}s^{-1}$ 或更高,至少 $10^4M^{-1}s^{-1}$ 或更高,至少 $10^5M^{-1}s^{-1}$ 或更高,至少 $10^6M^{-1}s^{-1}$ 或更高,如通过SPR所测量的,特别地,其中所述抗体是scFv;

[0066] d) 与食蟹猴PDL1交叉反应;和/或

[0067] e) 不与小鼠PDL1交叉反应;和/或

[0068] f) 当为scFv形式时,其解链温度(T_m) (通过差示扫描荧光法测定)为至少55℃,至少60℃,优选至少65℃,更优选至少70℃,特别是其中将所述抗体或其抗原结合片段配制在pH 6.4、150mM NaCl的磷酸柠檬酸盐缓冲液中,特别是其中将所述抗体配制在pH 6.4、150mM NaCl的50mM磷酸柠檬酸盐缓冲液中;

[0069] g) 当为scFv形式时,当本发明的抗体的起始浓度为10mg/ml时,在5个连续的冻融循环后,所述抗体的单体含量损失小于5%,优选小于3%,更优选小于1%,特别地,其中将所述抗体配制在pH 6.4的具有150mM NaCl的50mM柠檬酸磷酸缓冲液中;和/或

[0070] h) 当为scFv形式时,当本发明的抗体的起始浓度为10mg/ml时,并且特别地,其中将所述抗体配制在pH 6.4的具有150mM NaCl的50mM柠檬酸磷酸缓冲液中,在4℃下储存至

少2周,特别是至少4周后,所述抗体的单体含量损失小于15%,例如小于12%,小于10%,小于7%,小于5%,小于4%,小于3%,小于2%,优选小于1%。

[0071] 27. 根据项目25或项目26所述的多特异性抗体,其中所述PDL1-BD包含:

[0072] (a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:89的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:90的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列;

[0073] (e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列;和(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:107的氨基酸序列。

[0074] 28. 根据项目25或项目26所述的多特异性抗体,其中所述PDL1-BD包含:

[0075] (a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列;

[0076] (e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:136的氨基酸序列;和(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列。

[0077] 29. 根据项目25至28中任一项所述的多特异性抗体,其中所述PDL1-BD包含:重链可变区,其包含与选自由SEQ ID NO:102、103、104、132、133和134组成的组的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含与选自由SEQ ID NO:114、115、144和145组成的组的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列。

[0078] 30. 根据项目25至28中任一项所述的多特异性抗体,其中所述PDL1-BD包含:重链可变区,其包含选自SEQ ID NO:102、103、104、132、133和134中任意之一的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含选自SEQ ID NO:114、115、144和145中任意之一的氨基酸序列。

[0079] 31. 根据项目25至28中任一项所述的多特异性抗体,其中所述PDL1-BD包含:(a) SEQ ID NO:102的VH序列和SEQ ID NO:114的VL序列;(b) SEQ ID NO:103的VH序列和SEQ ID NO:114的VL序列;(c) SEQ ID NO:104的VH序列和SEQ ID NO:115的VL序列;(d) SEQ ID NO:132的VH序列和SEQ ID NO:144的VL序列;(e) SEQ ID NO:133的VH序列和SEQ ID NO:145的VL序列;或(f) SEQ ID NO:134的VH序列和SEQ ID NO:144的V序列。

[0080] 32. 根据项目27所述的多特异性抗体,其中所述PDL1-BD包含:(a) SEQ ID NO:102的VH序列和SEQ ID NO:114的VL序列;或(b) SEQ ID NO:104的VH序列和SEQ ID NO:115的VL序列。

[0081] 33. 根据项目28所述的多特异性抗体,其中所述PDL1-BD包含:(a) SEQ ID NO:133的VH序列和SEQ ID NO:145的VL序列;或(b) SEQ ID NO:134的VH序列和SEQ ID NO:144的VL序列。

[0082] 34. 根据前述项目中任一项所述的多特异性抗体,其中所述CD137-BD与人CD137结合的解离常数(KD)比所述PDL1-BD与人PDL1结合解离常数(KD)高至少5倍,优选至少10倍,例如至少50倍,至少100倍,至少200倍,至少300倍,至少400倍,更优选至少500倍,例如至少600倍,至少700倍,至少800倍,至少900倍,至少1,000倍。

[0083] 35. 根据权利要求34所述的多特异性抗体,其中所述CD137-BD与人CD137结合的解离常数(KD)在10nM至10pM之间,例如10nM至0.1nM之间,优选5nM至0.1nM之间,更优选5nM至1nM之间。

[0084] 36. 根据项目7至35中任一项所述的多特异性抗体,其中所述HSA-BD包含:(a)重链可变区CDR1,其包含选自SEQ ID NO:149和173中任意之一的氨基酸序列;(b)重链可变区CDR2,其包含选自SEQ ID NO:150和174中任意之一的氨基酸序列;(c)重链可变区CDR3,其包含选自SEQ ID NO:151和175中任意之一的氨基酸序列;(d)轻链可变区CDR1,其包含选自SEQ ID NO:162和186中任意之一的氨基酸序列;(e)轻链可变区CDR2,其包含选自SEQ ID NO:163和187中任意之一的氨基酸序列;和(f)轻链可变区CDR3,其包含选自SEQ ID NO:164和188中任意之一的氨基酸序列。

[0085] 37. 根据项目36所述的多特异性抗体,其中所述HSA-BD包含:重链可变区,其包含与选自自由SEQ ID NO:161和185组成的组的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含与选自自由SEQ ID NO:171和195组成的组的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列。

[0086] 38. 根据项目36所述的多特异性抗体,其中所述HSA-BD包含:重链可变区,其包含选自SEQ ID NO:161和185中任意之一的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含选自SEQ ID NO:171和195中任意之一的氨基酸序列。

[0087] 39. 根据项目36所述的多特异性抗体,其中所述HSA-BD包含:(a)SEQ ID NO:161的VH序列和SEQ ID NO:171的VL序列;或(b)SEQ ID NO:185的VH序列和SEQ ID NO:195的VL序列。

[0088] 40. 根据项目36所述的多特异性抗体,其中所述HSA-BD包含:(a)分别为SEQ ID NO:149、150和151的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:162、163和164的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列,和重链可变区,其包含与氨基酸序列SEQ ID NO:161至少90%相同的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含与氨基酸序列SEQ ID NO:171至少90%相同的氨基酸序列;或(a)分别为SEQ ID NO:173、174和175的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:186、187和188的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列,和重链可变区,其包含与氨基酸序列SEQ ID NO:185至少90%相同的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含与氨基酸序列SEQ ID NO:195至少90%相同的氨基酸序列。

[0089] 41. 根据项目1所述的多特异性抗体,其中所述抗体的形式选自由以下组成的组:单链双抗体(scDb)、串联scDb(Tandab)、线性二聚体scDb(LD-scDb)、环状二聚体scDb(CD-scDb)、双特异性T细胞接合子(BiTE;串联双-scFv)、串联三-scFv、三抗体(Fab-(scFv)₂)或双抗体(Fab-(scFv)₁)、Fab、Fab-Fv2、Morrison(IgG-CH₃-scFv融合体(Morrison L)或IgG-CL-scFv融合体(Morrison H))、三抗体、scDb-scFv、双特异性Fab2、双微抗体、四抗体、scFv-Fc-scFv融合体、scFv-HSA-scFv融合体、双双抗体、DVD-Ig、COVD、IgG-scFab、scFab-dsscFv、Fv2-Fc、IgG-scFv融合体例如bsAb(与轻链的C-末端连接的scFv)、Bs1Ab(与轻链的N-末端连接的scFv)、Bs2Ab(与重链的N-末端连接的scFv)、Bs3Ab(与重链的C-末端连接的scFv)、Ts1Ab(与重链和轻链的N-末端连接的scFv)、Ts2Ab(与重链的C-末端连接的dsscFv)、基于异二聚体Fc结构域的双特异性抗体例如Knob-into-Hole抗体(KiH);与异二聚体Fc结构域或任何其他异二聚体结构域的任意一条链的N-和/或C-末端融合的Fv、scFv、scDb、串联双-scFv、串联三-scFv、Fab-(scFv)₂、Fab-(scFv)₁、Fab、Fab-Fv2、COVD、MATCH和DuoBody。

[0090] 42. 根据项目1所述的多特异性抗体,其中所述抗体是scDb,其包含选自SEQ ID

N0:209、210、211、212、213、214和215中任意之一的氨基酸序列。

[0091] 43. 根据项目1所述的多特异性抗体,其中所述抗体是scDb-scFv,其包含选自SEQ ID N0:216、217、218、219、220、221、222、223、224、225、226、227、228、229、230和231中任意之一的氨基酸序列,优选地,其中所述抗体是包含SEQ ID N0:229或SEQ ID N0:231的氨基酸序列的scDb-scFv,更优选地,其中所述抗体是包含氨基酸序列SEQ ID N0:231的scDb-scFv。

[0092] 44. 一种药物组合物,其包含前述项目中任一项所述的多特异性抗体和药学上可接受的载体。

[0093] 45. 项目1至43中任一项所述的多特异性抗体,或项目44所述的药物组合物,其用作药物。

[0094] 46. 项目1至43中任一项所述的多特异性抗体,或项目44所述的药物组合物,其用于治疗有此需要的受试者的癌症。

[0095] 47. 项目1至43中任一项所述的多特异性抗体或项目44所述的药物组合物用于治疗有此需要的受试者的癌症的用途。

[0096] 48. 项目1至43中任一项所述的多特异性抗体或项目44所述的药物组合物在制备用于治疗有此需要的受试者的癌症的药物中的用途。

[0097] 49. 一种治疗有此需要的受试者中的癌症的方法所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的项目1至43中任一项所述的多特异性抗体或项目44所述的药物组合物。

[0098] 50. 项目45-46中任一项所述的多特异性抗体或项目47-48中任一项所述的用途或项目49所述的方法,其中所述癌症是PDL1阳性癌症,优选地,其中所述癌症与健康组织相比表达高水平的PDL1。

[0099] 51. 一种核酸,其编码项目1-43中任一项所述的多特异性抗体或其结合结构域或其片段。

[0100] 52. 一种载体,其包含项目51的核酸。

[0101] 53. 一种宿主细胞,其包含项目51所述的核酸或项目52所述的载体。

[0102] 54. 一种生产项目1至43中任一项所述的多特异性抗体的方法,所述方法包括以下步骤:培养包含项目51的核酸或项目52的载体的宿主细胞。

[0103] 55. 一种试剂盒,其包含项目1至43中任一项所述的多特异性抗体,或项目44所述的组合物。

附图说明

[0104] 图1通过例如全长二价IgG使T细胞共刺激性受体交联支持T细胞的整体刺激,导致剂量限制性毒性(A)。在没有靶向消除的细胞类型的情况下,本发明的稳定的双/三特异性单价分子不能交联(或通过延伸,激动)T细胞上的共刺激受体(B)。在存在靶向消除的细胞类型的情况下,本发明的稳定的双/三特异性单价分子交联(或通过延伸,激动)T细胞上的共刺激受体(C)。

[0105] 图2与PDL1和CD137同时结合会触发肿瘤反应性T细胞的选择性激活,并同时阻断PD-1信号传导。

[0106] 图3在NFAT-荧光素酶报告基因测定中,CDR集和框架选择对PDL1/PD-1相互作用的

中和的影响。与测定中获得的发光信号成比例的%抑制表示为分子浓度(单位为ng/ml)的函数。阿维鲁单抗(avelumab)用作参考。

[0107] 图4在NFAT-荧光素酶报告基因测定中,结构域优化对PDL1/PD-1相互作用的中和效力的影响。与测定中获得的发光信号成比例的%抑制表示为scFv浓度(单位为ng/ml)的函数。阿维鲁单抗用作参考。

[0108] 图5在报告基因分析中,在重组人血清白蛋白的存在下,scDb-scFv PR0963和PR01057 (A)、PR01186和PR01430 (B)、PR01431和PR01432 (C)、PR01473 (D)、PR01476 (E)、PR01479 (F)、PR01482 (G)、PR01480和PR01481 (H)对PDL1/PD-1相互作用的中和效力。与测定中获得的发光信号成比例的%抑制表示为scFv浓度(单位为ng/ml)的函数。阿维鲁单抗用作参考。

[0109] 图6在NFAT-荧光素酶报告基因测定中,二价分子的效力以及Morrison形式的LC或HC scFv融合体对PDL1/PD-1相互作用的中和效力的影响。与测定中获得的发光信号成比例的%抑制表示为分子浓度(单位为ng/ml)的函数。阿维鲁单抗用作参考。

[0110] 图7 PD-1/PDL1竞争ELISA。所有分子均有效地阻断PD-1与PDL1之间的相互作用,IC₅₀值与参考IgG阿维鲁单抗相似或更小。

[0111] 图8 B7.1/PDL1竞争ELISA。与阿维鲁单抗相似,所有分子均有效地阻断B7.1与PDL1之间的相互作用。

[0112] 图9在竞争ELISA中,CD137与CD137L的结合无抑制。在评估CD137L与CD137结合的竞争性ELISA中测量的吸光度分别以PR0885 (A)、PR0951 (B)、PR01359和PR01360 (C)的增加浓度的函数表示。抑制性抗体山羊抗人CD137用作参考。

[0113] 图10PR0885、PR0951、衍生自克隆38-27-A11的兔IgG和urelumab和utomilumab的表位鉴定结果的热图。结合水平标准化为理论R_{max},以分析物分子(列)与固定分子(行)的百分比(%)表示。无结合(深灰色)表示相同的表位,亮灰色表示次级分子(分析物)可以结合并具有与固定分子不同的另一个表位。

[0114] 图11PR0885的表位鉴定感应图谱。将PR0885固定在传感器芯片上,CD137在第一步被PR0885捕获(左侧),然后注射4种不同的抗体(右侧)。PR0951和竞争剂能够与捕获的CD137结合,而注射PR0885则没有任何结合。

[0115] 图12PR0951的表位鉴定感应图谱。将PR0951固定在传感器芯片上,CD137在第一步被PR0951捕获(左侧),然后注射4种不同的抗体(右侧)。PR0951和urelumab能够与捕获的CD137结合,而注射utomilumab和PR0951则没有显示进一步结合。

[0116] 图13在NFkB-荧光素酶报告基因测定中评估PR0885和PR0951对CD137的激活。在存在表达PDL1的细胞的情况下,PR0885和PR0951在Jurkat细胞中激活了CD137信号传导,而在测试CHO WT细胞时未观察到激活。urelumab激活CD137信号传导,而与PDL1表达无关。加入Jurkat报告细胞后6小时读取发光,并使用S形曲线4PL拟合(GraphPad Prism)拟合数据。

[0117] 图14NFkB-荧光素酶报告基因测定中对PDL1和CD137具有不同亲和力的scDb对CD137的激活。在存在表达PDL1的CHO细胞的情况下,所有scDb在Jurkat细胞中都激活了CD137信号传导,而在测试CHO WT细胞时未观察到激活。urelumab激活CD137信号传导,而与PDL1表达无关。加入Jurkat报告细胞后6小时读取发光,并使用S形曲线4PL拟合(GraphPad Prism)拟合数据。

[0118] 图15NFkB-荧光素酶报告基因测定中对PDL1和CD137具有不同亲和力的scDb对CD137的激活。在存在表达PDL1的HCC827细胞的情况下,所有scDb在Jurkat细胞中都激活了CD137信号传导。使用urelumab作为参考分子来评估CD137信号传导相对活化。随着对CD137和PDL1亲和力的增强,效力略有增加。随着对CD137亲和力的增加,高浓度下的信号降低(钟形曲线)更加明显,而对PDL1的亲和力的增加却对此效果无影响。加入Jurkat报告细胞后6小时读取发光,并使用S形曲线4PL拟合(GraphPad Prism)拟合数据。

[0119] 图16NFkB-荧光素酶报告基因测定中对PDL1和CD137具有不同亲和力的scDb对CD137的激活。在存在表达PDL1的HCC827细胞(将其用10ng/ml的IFN γ 刺激24小时)的情况下,STR移植的scDb在Jurkat细胞中激活了CD137信号传导。使用urelumab作为参考分子来评估CD137信号传导相对活化。随着对CD137和PDL1亲和力的增强,效力略有增加。随着对CD137亲和力的增加,高浓度下的信号降低(钟形曲线)更加明显,而对PDL1的亲和力的增加却对此效果无影响。加入Jurkat报告细胞后6小时读取发光,并使用S形曲线4PL拟合(GraphPad Prism)拟合数据。

[0120] 图17在NFkB-荧光素酶报告基因测定中,6小时后,血清半衰期延长的分子对CD137的激活。在存在表达PDL1的CHO细胞的情况下,长半衰期分子在Jurkat细胞中激活了CD137信号传导,而在测试CHO WT细胞时未观察到激活。urelumab激活CD137信号传导,而与PDL1表达无关。有趣的是,尽管对两个靶标的亲和力相似,但PR01057的最大信号却比PR01058高得多。而且,单价scDb-scFv PR01057显示出比相应的二价Morrison形式PR01060更强的激活作用。加入Jurkat报告细胞后6小时读取发光,并使用S形曲线4PL拟合(GraphPad Prism)拟合数据。

[0121] 图18在NFkB-荧光素酶报告基因测定中,24小时后,血清半衰期延长的分子对CD137的激活。在存在表达PDL1的CHO细胞的情况下,长半衰期分子在Jurkat细胞中激活了CD137信号传导,而在测试CHO WT细胞时未观察到激活。urelumab激活CD137信号传导,而与PDL1表达无关。有趣的是,尽管对两个靶标的亲和力相似,但PR01057的最大信号却比PR01058高得多,在24小时后甚至超过了scDb Pro885的活性。而且,单价scDb-scFv PR01057显示出比相应的二价Morrison形式PR01060强得多的激活作用。加入Jurkat报告细胞后24小时读取发光,并使用S形曲线4PL拟合(GraphPad Prism)拟合数据。

[0122] 图19(A) 24小时后,半衰期延长的分子对CD137的激活。在存在HCC827细胞(其未被刺激,或用10ng/ml的IFN γ 刺激24小时)的情况下,长半衰期分子在Jurkat细胞中激活了CD137信号传导。使用urelumab作为参考分子来评估CD137信号传导相对活化。单价scDb-scFv PR01057显示出比相应的二价Morrison形式PR01060更高的最大激活作用。加入Jurkat报告细胞后24小时读取发光,并使用S形曲线4PL拟合(GraphPad Prism)拟合数据。
(B) 在IFN γ (10ng/ml) 刺激6小时和24小时的HCC827存在下在CD137活性测定中对三特异性scDb-scFv分子PR01430、PR01431、PR01432、PR01473、PR01476、PR01479、PR01480、PR01481和PR01482进行了测试。在该实验中,使用PR0885作为参考分子来评估CD137信号传导相对活化。沿每个板取三特异性scDb-scFv分子PR01186,并将其活性与其他scDb-scFv分子进行比较。在添加Jurkat报告细胞后6h或24h读取发光,并使用S形曲线4PL拟合(GraphPad Prism)拟合仅具有增加的RLU值的被测分子的浓度。

[0123] 图20离体T细胞活化。示出了PR0885对PDL1和CD137的共刺激作用,导致IL-2的产

生明显高于背景IL-2水平。CHO-A2细胞是表达PDL1的转基因CHO细胞。

[0124] 图21离体T细胞活化测定。用10ng/ml SEA刺激PBMC,并用参考分子阿维鲁单抗、参考分子阿维鲁单抗和urelumab的混合物、或scFv PR0997、scDb PR0885或scDb-scFv PR01430、PR01479和PR01480的系列稀释液处理96小时。通过ELISA定量收获的上清液中的IL-2来评估T细胞的活化。用PR0885、PR0997、PR01430、PR01479和PR01480处理导致明显的IL-2分泌。PR0997显示出比阿维鲁单抗更高的效力。与阿维鲁单抗相比,PR0885的效应量(effect size)大大增加。与参考分子的混合物相比,用scDb-scFv处理导致明显的IL-2分泌。与其他scDb-scFv相比,PR01480的效应量(effect size)大大增加。使用S形曲线4PL拟合(GraphPad Prism)拟合数据。

[0125] 图22本公开的多特异性抗体的示例性形式的示意图:单链双抗体(scDb)(A)、scDb-scFv(B)、IgG-scFv分子(C和D)。

[0126] 图23离体T细胞活化测定。(A)-(D)用10ng/ml SEA(葡萄球菌肠毒素A)刺激PBMC,并用阿维鲁单抗、urelumab、阿维鲁单抗和urelumab的组合、scDb PR0885、和scDb-scFv PR01175或PR01186的系列稀释液处理96小时。通过ELISA定量收获的上清液中的IL-2来评估T细胞的活化。与阿维鲁单抗和urelumab的组合相比,PR01175和PR01186在PBMC中刺激IL-2产生的效力更高。使用S形曲线4PL拟合(GraphPad Prism)拟合数据。(E)-(I)用10ng/ml SEA刺激PBMC,并用scDb-scFv分子PR01430、PR01431、PR01476、PR01479、PR01482的系列稀释液处理96小时。使用三特异性scDb-scFv分子PR01186作为参考分子,以评估每块板上PBMC中的相对IL-2生产。与其他scDb-scFv分子相比,PR01430、PR01479和PR01482在PBMC中刺激IL-2产生的效力更高。使用S形4PL拟合(GraphPad Prism)仅对IL-2值增加的被测分子的浓度进行了拟合。(J)-(K)来自健康供体的PBMC在抗CD3抗体存在下孵育3天。向培养物中加入表达人PDL1的CHO细胞和阿维鲁单抗、urelumab、阿维鲁单抗/urelumab组合或抗PDL1xCD137 PR01186(scDb-scFv2)的系列稀释液。通过ELISA评估IFN γ 的分泌。PR01186比阿维鲁单抗或urelumab或两者的组合更有力地诱导IL-2(J)和IFN γ (K)的产生。在不存在抗CD3抗体的情况下,在所有测试浓度下,IL-2和IFN γ 的水平均与基础细胞因子的分泌相当,这表明需要TCR信号传导或CD3参与来产生有效的CD137信号传导。(L)在SEA PBMC分析中scDb-scFv分子PR01186以及抗人CD137和抗人PDL1 IgG的组合离体刺激T细胞。针对Urelumab标准化的测得的RLU表示为分子浓度(单位为ng/ml)的函数。(M)在SEA PBMC分析中scDb-scFv分子PR01186以及抗人CD137和抗人PDL1 IgG的组的离体T细胞最大IL-2分泌。计算并比较了测试分子在高浓度下(8000、1600、320ng/ml) IL-2水平的平均值。PR01186在统计学上显示出比IgG的组合明显更高的IL-2水平($p < 0.0001$)。通过1way ANOVA和Tukey的多重比较检验进行统计分析。

[0127] 图24使用免疫缺陷性NOG小鼠品系和同种异体人外周血单核细胞(hPBMC),与抗PDL1 (PR01137)和抗CD137 (PR01138或urelumab)治疗相比,多特异性抗体PR01057(scDb-scFv抗PDL1xCD137xHSA)和PR01060(Morrison形式抗PDL1xCD137)在人HCC827 NSCLC异种移植植物中的抗肿瘤活性。在第0、3、7和10天用多特异性抗体(PR01057和PR01060)、抗PDL1 (PR01037)、抗CD137 (PR01038或urelumab)或溶媒静脉注射处理小鼠。与0.1mg剂量的阿维鲁单抗相比的相对活性在方括号中表示为相对单位(r.U)。每周两次测量肿瘤体积,直到在第17和18天处死小鼠。将肿瘤体积相对于治疗开始时的肿瘤体积标准化(相对肿瘤体积)。

(A) 用来自两个供体的PBMC重建的小鼠的平均相对肿瘤体积(每组n=8只小鼠)。虚线表示治疗时间。(B) 用来自供体B的PBMC重建的小鼠的平均相对肿瘤体积(每组n=4只小鼠)。(C) 用来自两个供体的PBMC重建的小鼠的个体相对肿瘤体积。每个符号代表同一治疗组内的单个动物。(D) 用来自供体B的PBMC重建的小鼠的个体相对肿瘤体积。每个符号代表同一治疗组内的单个动物。

[0128] 图25hPBMC替代的NOG小鼠中的HCC827异种移植。与抗PDL1 (PR01137) 或抗CD137 (PR01138或urelumab) 治疗相比,用多特异性抗体PR01057 (scDb-scFv抗PDL1xCD137xHSA) 和PR01060 (Morrison形式抗PDL1xCD137) 处理后,HCC827攻击的NOG小鼠的体重。每周两次测量体重,直到在第17和18天处死小鼠。

[0129] 图26hPBMC替代的NOG小鼠中的HCC827异种移植。通过流式细胞术研究了分别用多特异性抗体PR01057 (scDb-scFv抗PDL1xCD137xHSA) 和PR01060 (Morrison形式抗PDL1xCD137) 和抗PDL1 (PR01137) 或抗CD137 (PR01138或urelumab) 抗体处理的HCC827攻击的NOG小鼠的肿瘤浸润淋巴细胞。(A) 人调节性T细胞(CD4⁺,FoxP3⁺) 的出现率显示为CD45⁺细胞的百分比。(B) 描述了肿瘤微环境(TME) 中人CD8⁺T细胞的出现率与人调节性T细胞(Treg) 的出现率之比。每个符号代表同一治疗组内的单个动物。

[0130] 图27hPBMC替代的NOG小鼠中的HCC827异种移植。通过流式细胞术研究了分别用多特异性抗体PR01057 (scDb-scFv抗PDL1xCD137xHSA) 和PR01060 (Morrison形式抗PDL1xCD137) 和抗PDL1 (PR01137) 或抗CD137 (PR01138或urelumab) 抗体治疗的HCC827攻击的NOG小鼠的肿瘤浸润淋巴细胞。(A) 人活化的CD4⁺T细胞(CD4⁺,PD-1⁺) 的出现率显示为CD45⁺细胞的百分比。(B) 人活化的CD8⁺T细胞(CD8⁺,PD-1⁺) 的出现率显示为CD45⁺细胞的百分比。每个符号代表同一治疗组内的单个动物。

[0131] 图28PDL1阻断和同时发生的CD137局部刺激在NOG小鼠中抗肿瘤功效的评估,其中该NOG小鼠植入了人脐带血来源的CD34⁺造血干细胞(UCB HSC)。比较了多特异性抗体PR01186 (scDb-scFv抗PDL1xCD137xHSA) 与用抗PDL1 IgG1 (PR01196或阿维鲁单抗) 和抗CD137 IgG4(urelumab) 治疗或抗PDL1 IgG1 (PR01196) 和抗CD137 IgG4 (PR01138) 的组合进行的治疗的抗肿瘤活性。在第0、5、10、15和20天(垂直虚线),用Palivizumab (0.1mg)、抗PDL1 IgG1 (0.1mg PR01196或0.1mg阿维鲁单抗)、抗CD137 IgG4 (0.1mg urelumab)、3个不同剂量水平的PR01186 (0.02mg、0.1mg和0.5mg) 或抗PDL1 IgG1 (PR01196) 和抗CD137 IgG4 (PR01138) 的组合(各0.1mg) 治疗小鼠。每周两次记录肿瘤生长和体重。

[0132] 图29对PDL1阻断和同时发生的CD137局部刺激在NOG小鼠中抗肿瘤功效的评估,其中该NOG小鼠植入了人脐带血来源的CD34⁺造血干细胞(UCB HSC)。比较了多特异性抗体PR01186 (scDb-scFv抗PDL1xCD137xHSA;所有剂量水平组合) 与用抗PDL1 IgG1 (PR01196和阿维鲁单抗组合) 和抗CD137 IgG4 (urelumab) 治疗或抗PDL1 IgG1 (PR01196) 和抗CD137 IgG4 (PR01138) 的组合进行的治疗的抗肿瘤活性。所有统计数据均使用GraphPad Prism版本6计算。使用单向ANOVA测试采用Bonferroni校正确定统计显著性。图表显示95%CI(置信区间) 的平均值。每周两次记录肿瘤生长和体重。

[0133] 图30在移植有人脐带血来源的CD34⁺造血干细胞(UCB HSC) 的NOG小鼠中的抗肿瘤功效的评估。比较了用多特异性抗体PR01186 (scDb-scFv抗PDL1xCD137xHSA) 进行治疗后与用抗PDL1 IgG1 (PR01196或阿维鲁单抗) 和抗CD137 IgG4 (urelumab) 治疗或抗PDL1 IgG1

(PR01196)和抗CD137 IgG4 (PR01138)的组合进行治疗后的体重和相对肿瘤体积。

[0134] 图31用多特异性抗体PR01186 (scDb-scFv抗PDL1xCD137xHSA) 或单独的抗PDL1 IgG1 (PR01196或阿维鲁单抗) 或抗CD137 IgG4 (urelumab) 或抗PDL1 IgG1 (PR01196) 与抗CD137 IgG4 (PR01138) 的组合进行治疗后,分析了移植有人脐带血来源的CD34+造血干细胞 (UCB HSC) 的HCC827攻击的NOG小鼠的肿瘤浸润淋巴细胞。抗PDL1xCD137治疗导致肿瘤中细胞毒性T细胞 (CD8+, GrB+) 的出现率更高,并且CD8+/CD4+和CD8+, GrB+/Treg比例增加。

[0135] 图32分析了移植有人脐带血来源的CD34+造血干细胞 (UCB HSC) 并经多特异性抗体PR01186 (scDb-scFv抗PDL1xCD137xHSA) 治疗的HCC827攻击的NOG小鼠的肿瘤浸润淋巴细胞。比较了用多特异性抗体PR01186 (scDb-scFv抗PDL1xCD137xHSA; 所有剂量水平组合) 进行治疗与用单独的抗PDL1 IgG1 (PR01196和阿维鲁单抗组合)、单独的抗CD137 IgG4 (urelumab) 或抗PDL1 IgG1 (PR01196) 和抗CD137 IgG4 (PR01138) 的组合进行治疗。所有统计数据均使用GraphPad Prism版本6计算。使用单向ANOVA测试采用Bonferroni校正确定统计显著性。图表显示95%CI (置信区间) 的平均值。抗PDL1xCD137治疗导致肿瘤中细胞毒性T细胞 (CD8+) 的出现率更高。

[0136] 图33使用人CD34+干细胞替代的NOG小鼠,在HCC827异种移植研究中,进行药代动力学分析以定量动物血清样品中的多特异性抗体PR01186 (scDb-scFv抗PDL1xCD137xHSA)。从校准曲线中插入稀释的血清样品中的PR01186 (scDb-scFv抗PDL1xCD137xHSA) 浓度。通过使用非隔室方法 (non-compartmental approach) 的PK求解器软件插件估算药代动力学参数。

具体实施方式

[0137] 尽管利用激动CD137的治疗性抗体是非常有前途的治疗策略,但它还伴随着诸如抗CD137激动剂抗体的低功效以及其高毒性和不良事件等困难。通过例如全长二价IgG使T细胞共刺激性受体交联 (如载urelumab的情况下) 支持T细胞的整体刺激,导致剂量限制性毒性 (图1A)。因此,在医学领域中需要新型抗CD137激动剂抗体,其能够有效地诱导CD137信号传导,而不会全身性地过度刺激T细胞,并因此与目前可用的抗体相比,具有更低的剂量限制毒性和不良反应发生率。

[0138] 本发明提供了一种多特异性抗体,其包含: (a) 至少一个CD137结合结构域 (CD137-BD), 和 (b) 至少一个PDL1结合结构域 (PDL1-BD)。本公开的多特异性抗体能够以靶向方式,例如在目标位点 (即在PDL1阳性肿瘤微环境中), 激动CD137信号传导。本发明的多特异性抗体能够介导 (例如激动) 有效的CD137信号传导,而无需通过抗人F(ab')₂二抗作为交联或固定在组织培养塑料上 (如PF-05082566的情况) (Fisher等人, Cancer Immunol Immunother 61:1721-1733 (2012)) 或者Fc γ -受体相互作用。因此,本发明的多特异性抗体由于其介导 (例如激动) 有效的CD137信号传导而无需与Fc γ 受体相互作用的能力,不会导致表达CD137的细胞的消耗。此外,令人惊讶地发现,即使对CD137为单价时,特别是当包含本发明的新型CD137结合结构域时,本发明的多特异性抗体也能够聚集和激动CD137,但是仅在存在PDL1阳性细胞的情况下,从而避免了CD137的全身激活。多特异性抗体的单价CD137结合和无Fc结构确保只有当抗体同时与靶细胞表面的PDL1结合时才会在效应细胞上产生CD137的激动作用。

[0139] 另外,令人惊讶地发现,包含(a)至少一个CD137结合结构域(CD137-BD)、(b)至少一个PDL1结合结构域(PDL1-BD)和(c)至少一个人血清白蛋白结合域(HSA-BD)的本公开的多特异性抗体表现出进一步的有益特性,例如(i)与未交联的二价抗体相比,CD137的聚集增强;(ii)抗体的半衰期增加,同时保留了阻断PDL1和激动CD137的能力,以及(iii)有益的动力学(例如更高水平的CD137活化)。此外,添加延长半衰期的抗HSA结构域不仅使给药方便,而且应该会促进分子向肿瘤微环境的递送。

[0140] 因此,本发明的多特异性抗体提供了优于常规组合物和疗法的独特治疗优势。

[0141] 除非另有定义,否则本文中使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常所理解的相同的含义。

[0142] 除非另有说明,否则术语“包括”和“包含”在本文中以开放式且非限制性的含义使用。关于这些后面的实施方案,术语“包含”因此包括范围较窄的术语“由……组成”。

[0143] 除非本文另外指出或与上下文明显矛盾,否则在描述本发明的背景下(特别是在以下权利要求的背景下),术语“一”和“一个”以及“该”和类似的引用应被解释为涵盖单数和复数。例如,术语“一个细胞”包括多个细胞,包括其混合物。当化合物、盐等使用复数形式时,这也被认为是指单一化合物、盐等。

[0144] 在第一方面,本发明涉及一种多特异性抗体,其包含:(a)至少一个CD137结合结构域(CD137-BD),和(b)至少一个PDL1结合结构域(PDL1-BD)。

[0145] 如本文所用,术语“抗体”等包括:完全抗体或其单链;及其任何抗原结合片段(即“抗原结合部分”)或单链;以及包含抗体CDR、VH区或VL区的分子(包括但不限于多特异性抗体)。天然存在的“完全抗体”是糖蛋白,其包含通过二硫键相互连接的至少两条重(H)链和两条轻(L)链。每条重链都由重链可变区(本文缩写为VH)和重链恒定区组成。重链恒定区由三个结构域CH1、CH2和CH3组成。每条轻链都由轻链可变区(在本文缩写为VL)和轻链恒定区组成。轻链恒定区由一个结构域CL组成。VH和VL区可以进一步细分为高变区,称为互补决定区(CDR),其间散布着更为保守的区,称为框架区(FR)。每个VH和VL都由三个CDR和四个FR组成,它们从氨基末端到羧基末端按以下顺序排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重链和轻链的可变区包含与抗原相互作用的结合结构域。抗体的恒定区可以介导免疫球蛋白与宿主组织或因子的结合,所述宿主组织或因子包括免疫系统的各种细胞(例如,效应细胞)和经典补系统的第一组分(C1q)。

[0146] 如本文所用,术语抗体的“结合结构域”、“其抗原结合片段”、“抗原结合部分”等是指完全抗体的一个或多个片段,其保留了与给定的抗原(例如CD137、PDL1、HSA)特异性结合的能力。抗体的抗原结合功能可以通过完整抗体的片段来执行。在一些实施方案中,本发明的多特异性抗体的结合结构域选自有以下组成的组:Fab片段,由VL、VH、CL和CH1结构域组成的单价片段;F(ab)2片段,包含两个在铰链区通过二硫键连接的Fab片段的二价片段;由VH和CH1结构域组成的Fd片段;由抗体的单臂的VL和VH结构域组成的Fv片段;单结构域抗体(dAb)片段(Ward等人,1989Nature 341:544-546),其由VH结构域组成;分离的互补决定区(CDR)、dsFv、scAb、STAB、单结构域抗体(sdAb或dAb)、单结构域重链抗体和单结构域轻链抗体、VHH、VNAR、单结构域抗体(其基于鲨鱼的VNAR结构)和基于替代支架的结合结构域,所述基于其他支架的结合结构域包括但不限于基于锚蛋白的结构域、fynomer、avimer、anticalin、纤连蛋白和构建在抗体恒定区中的结合位点(例如f-star技术(F-star的

Modular Antibody Technology™)。合适地,本发明的结合结构域是单链Fv片段(scFv)或单抗体可变结构域。在一个优选的实施方案中,本发明的结合结构域是单链Fv片段(scFv)。

[0147] 术语“互补决定区”(“CDR”)是具有边界的氨基酸序列,所述边界使用许多公知方案中的任何一种确定,包括以下描述的那些:Kabat等人(1991),“Sequences of Proteins of Immunological Interest,”5th Ed.Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(“Kabat”编号方案);Al-Lazikani等人,(1997)JMB 273,927-948(“Chothia”编号方案);ImmunoGenTics(IMG T)编号(Lefranc,M.-P.,The Immunologist,7,132-136(1999);Lefranc,M.-P.等人,Dev.Comp.Immunol.,27,55-77(2003)(“IMG T”编号方案),以及Honegger&Plückthun,J.Mol.Biol.309(2001)657-670(“AHO”编号方案)描述的编号方案。例如,对于经典形式,在Kabat下,重链可变结构域(VH)中的CDR氨基酸残基编号为31-35(HCDR1)、50-65(HCDR2)和95-102(HCDR3);轻链可变结构域(VL)中的CDR氨基酸残基编号为24-34(LCDR1)、50-56(LCDR2)和89-97(LCDR3)。在Chothia下,VH中的CDR氨基酸编号为26-32(HCDR1)、52-56(HCDR2)和95-102(HCDR3);VL中的氨基酸残基编号为24-34(LCDR1)、50-56(LCDR2)和89-97(LCDR3)。通过结合Kabat和Chothia的CDR定义,CDR由人VH中的氨基酸残基26-35(HCDR1)、50-65(HCDR2)和95-102(HCDR3)以及人VL中的氨基酸残基24-34(LCDR1)、50-56(LCDR2)和89-97(LCDR3)组成。在IMG T下,VH中的CDR氨基酸残基编号大约为26-35(HCDR1)、51-57(HCDR2)和93-102(HCDR3),VL中的CDR氨基酸残基编号大约为27-32(LCDR1)、50-52(LCDR2)和89-97(LCDR3)(根据“Kabat”编号)。在IMG T下,可以使用程序IMG T/DomainGap Align确定抗体的CDR。

[0148] 在本发明的背景下,除非另外特别指出,否则使用由Honegger&Plückthun(“AHO”)建议的编号系统(Honegger&Plückthun,J.Mol.Biol.309(2001)657-670)。此外,根据AHO编号方案,将以下残基定义为CDR:LCDR1(也称为CDR-L1):L24-L42;LCDR2(也称为CDR-L2):L58-L72;LCDR3(也称为CDR-L3):L107-L138;HCDR1(也称为CDR-H1):H27-H42;HCDR2(也称为CDR-H2):H57-H76;HCDR3(也称为CDR-H3):H108-H138。为了清楚起见,根据Honegger&Plückthun的编号系统考虑了在天然存在的抗体中,在不同VH和VL亚家族两者中,特别是在CDR中发现的长度多样性,并提供了序列中的缺口。因此,在给定的抗体可变结构域中,通常并非所有位置1至149都被氨基酸残基占据。

[0149] 如本文所用,术语“结合特异性”是指单个抗体与一种抗原决定簇反应而不与不同的抗原决定簇反应的能力。如本文所用,术语“与……特异性结合”或“特异于”是指可测量且可再现的相互作用,例如靶标与抗体之间的结合,其是在存在分子(包括生物分子)的异质群体的情况下,存在靶标的决定因素。例如,与一个靶标(可以是表位)特异性结合的抗体是与该靶标结合比其他靶标结合的亲和力更大、亲合力更大、更容易和/或持续时间更长的抗体。以其最一般的形式(并且当未提及定义的标准时),“特异性结合”是指抗体区分目标靶标和无关分子的能力,例如根据本领域已知的特异性测定方法所确定的。此类方法包括但不限于蛋白质印迹、ELISA、RIA、ECL、IRMA、SPR(表面等离子体共振)测试和肽扫描。例如,可以进行标准ELISA测定。可以通过标准显色(例如,具有辣根过氧化物的二抗和具有过氧化氢的四甲基联苯胺)进行评分。某些孔中的反应通过光密度(例如在450nm下)进行评分。典型背景(=阴性反应)可能约为0.10D;典型的阳性反应可能约为10D。这意味着阳性和阴性分数之间的比可以是10倍或更高。在另一个实例中,可以进行SPR测定,其中背景和信

号之间有至少10倍,优选至少100倍的差异表明特异性结合。通常,使用一组约三至五个不相关分子例如奶粉、转铁蛋白等,而非使用单一参照分子,来进行结合特异性的确定。

[0150] 合适地,本发明的抗体是分离的抗体。

[0151] 如本文所用,术语“分离的抗体”是指基本上不含具有不同抗原特异性的其他抗体的抗体(例如,特异性结合CD137和PDL1的分离的抗体基本上不含特异性结合除CD137和PDL1以外的抗原的抗体,例如特异性结合CD137、PDL1和人血清白蛋白的分离的抗体基本上不含特异性结合除CD137、PDL1和人血清白蛋白以外的抗原的抗体)。此外,分离的抗体可能基本不含其他细胞材料和/或化学物质。

[0152] 合适地,本发明的抗体是单克隆抗体。如本文所用,术语“单克隆抗体”或“单克隆抗体组合物”是指氨基酸序列基本相同或源自相同遗传来源的抗体。单克隆抗体组合物对一个具体表位显示结合特异性和亲和力,或对多个特定表位显示结合特异性和亲和力。

[0153] 本发明的抗体包括但不限于嵌合的、人的和人源化的。

[0154] 术语“嵌合抗体”(或其抗原结合片段)是一种抗体分子(或其抗原结合片段),其中(a)恒定区或其一部分被改变、替换或交换,以使抗原结合位点(可变区)与不同的或改变的类别、效应子功能和/或种类的恒定区相连,或与一个完全不同的分子相连,该分子赋予嵌合抗体新的特性,例如酶、毒素、激素、生长因子、药物等;或者(b)可变区或其一部分被改变、替换或交换为具有不同的或改变的抗原特异性的可变区。例如,可以通过将小鼠抗体的恒定区替换为人免疫球蛋白的恒定区来对其进行修饰。由于被人恒定区替换,因此与原始小鼠抗体相比,嵌合抗体可以保留其识别抗原的特异性,同时对人类的抗原性降低。

[0155] 如本文所用,术语“人抗体”(或其抗原结合片段)旨在包括具有可变区的抗体(及其抗原结合片段),其中框架区和CDR区均源自人源序列。此外,如果抗体包含恒定区,则恒定区也源自这种人序列,例如人种系序列或人种系序列的突变形式。本发明的人类抗体及其抗原结合片段可包含非由人类序列编码的氨基酸残基(例如,通过体外随机或位点特异性诱变或通过体内体细胞突变引入的突变)。人抗体的该定义特别排除了包含非人抗原结合残基的人源化抗体。可以使用本领域已知的各种技术来生产人抗体,包括噬菌体展示文库(Hoogenboom和Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381 (1991); Marks等人, *J. Mol. Biol.*, 222:581 (1991))。Cole等人, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p.77 (1985); Boemer等人, *J. Immunol.*, 147 (1):86-95 (1991) 中描述的方法也可用于制备人单克隆抗体。还参见van Dijk和van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.*, 5:368-74 (2001)。可以通过将抗原施用于转基因动物来制备人抗体,该转基因动物已经被修饰,以响应抗原攻击而产生此类抗体,但其内源基因座已被禁用,例如,免疫的xenomice (关于XENOMOUSE™技术,参见例如美国专利号6,075,181和6,150,584)。关于通过人B细胞杂交瘤技术产生的人抗体的信息,还参见例如Li等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006)。

[0156] 如本文所用,“人源化”抗体(或其抗原结合片段)是保留了非人抗体的反应性,同时对人类的免疫原性较低的抗体(或其抗原结合片段)。例如,这可以通过以下方法来实现:保留非人CDR区,并将抗体的其余部分替换为人类对应物(即恒定区和可变区的框架部分)。可以在人框架序列以及衍生自另一哺乳动物物种的种系的CDR序列内进行另外的框架区修饰。本发明的人源化抗体可包含非由人序列编码的氨基酸残基(例如,通过体外随机或位点特异性诱变或通过体内体细胞突变引入的突变,或保守取代以促进稳定性或制备)。参见,

例如,Morrison等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,81:6851-6855,1984;Morrison和Oi,Adv.Immunol.,44:65-92,1988;Verhoeyen等人,Science,239:1534-1536,1988;Padlan,Molec.Immun.,28:489-498,1991;和Padlan,Molec.Immun.,31:169-217,1994。人体工程技术的其他实例包括但不限于美国专利号5,766,886中公开的Xoma技术。

[0157] 如本文所用,术语“重组人源化抗体”包括通过重组方式制备、表达、产生或分离的所有人类抗体,例如从转化为表达人源化抗体的宿主细胞中分离的抗体,例如从转染瘤(transfectoma)中分离的抗体,以及通过涉及将人类免疫球蛋白基因的全部或部分剪接至其他DNA序列的任何其他方式而制备、表达、产生或分离的抗体。

[0158] 合适地,本发明的抗体或其抗原结合片段是人源化的。合适地,本发明的抗体是人源化的并且包含来源于兔的CDR。

[0159] 如本文所用,术语“多特异性抗体”是指与至少两个或更多个不同靶标(例如,CD137和PDL1)上的两个或更多个不同表位结合的抗体。术语“多特异性抗体”包括双特异性、三特异性、四特异性、五特异性和六特异性。如本文所用,术语“双特异性抗体”是指与至少两个不同靶标(例如CD137和PDL1)上的两个不同表位结合的抗体。如本文所用,术语“三特异性抗体”是指与至少三个不同靶标(例如CD137和PDL1)上的三个不同表位结合的抗体。

[0160] 术语“表位”是指能够与抗体特异性结合的蛋白质决定簇。表位通常由分子的化学活性表面基团(例如氨基酸或糖侧链)组成,通常具有特定的三维结构特征以及特定的电荷特征。“构象”表位和“线性”表位的区别在于,在存在变性溶剂的情况下,与前者的结合丧失,而与后者的结合不丧失。

[0161] 如本文所用,术语“构象表位”是指,当多肽链折叠形成天然蛋白时,在表面上聚集在一起的抗原氨基酸残基,并且由于Fab结合,它们会显示出显著降低的HD交换速率。构象表位包含但不限于功能性表位。

[0162] 术语“线性表位”是指一种表位,其中蛋白质和相互作用分子(例如抗体)之间的所有相互作用点均沿蛋白质的一级氨基酸序列线性发生(连续)。

[0163] 如本文所用,术语“识别”是指发现其构象表位并与之相互作用(例如结合)的抗体其抗原结合片段。

[0164] 合适地,本发明的多特异性抗体对于CD137特异性是单价、二价或多价的。在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体对于CD137特异性是二价的。在一个优选的实施方案中,本发明的多特异性抗体对于CD137特异性是一价的。

[0165] 合适地,本发明的多特异性抗体对于PDL1特异性是单价、二价或多价的。在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体对于PDL1特异性是二价的。在一个优选的实施方案中,本发明的多特异性抗体对于PDL1特异性是一价的。

[0166] 术语“多价抗体”是指具有不止一个价(valency)的单个结合分子,其中“价”被描述为与相同靶分子上的表位结合的抗原结合部分的数目。这样,单个结合分子可以结合靶分子上的一个以上结合位点。多价抗体的实例包括但不限于二价抗体、三价抗体、四价抗体、五价抗体等。

[0167] 如本文所用,术语“单价抗体”是指与靶分子(例如CD137)上的单个表位结合的抗体。此外,如本文所用,术语“结合结构域”或“单价结合结构域”是指与靶分子(例如CD137)上的单个表位结合的结合结构域。

[0168] 如本文所用,术语“二价抗体”是指与至少两个相同靶分子,例如CD137靶分子上的两个表位结合的抗体。

[0169] 近来,为了获得另外的交联功能并实现一定水平的CD137活化,提出了使用结合PDL1和CD137的多价和多特异性融合多肽。Eckelman等人已证明,虽然在INBRX-105(具有两个PDL1结合结构域、两个CD137结合结构域和一个Fc区的多特异性多价多肽)的情况下,CD137的二价结合不足以有效地聚集和介导有效的CD137信号传导,但是在存在PDL1阳性细胞的情况下,第二种细胞表面抗原PDL1的参与能够使CD137进一步聚集并产生有效信号(WO 2017/123650)。

[0170] 本发明的发明人现令人惊讶地发现,包含:(a) 仅一个CD137结合域(CD137-BD);和(b) 至少一个PDL1结合结构域(PDL1-BD)的多特异性抗体能够以靶向方式有效地激活CD137信号传导。在不存在被PDL1结合结构域识别的另一种细胞类型的情况下,本发明的稳定的多特异性(例如,双/三特异性)CD137分子单价不能激动T细胞上的CD137(图1B)。由于本发明的多特异性抗体的抗PDL1结构域与暴露于PDL1阳性细胞表面的PDL1分子结合,CD137的有效激活仅在存在PDL1阳性细胞的情况下发生(图1C和图2)。这导致本发明的多特异性抗体在特定位置的密度增加,因此增加CD137结合结构域的密度。CD137-BD因此可以有效地聚集和激动CD137。与PDL1和CD137同时结合会触发肿瘤反应性T细胞的选择性激活,同时阻断PD-1信号传导(图2)。由于PDL1在肿瘤细胞上的高度过表达,CD137信号传导仅在所述肿瘤细胞的存在下被局部激活,这导致全身毒性降低。因此,预期本发明的抗体与当前的治疗选择相比具有几种有益的作用。预测本发明的抗体具有(i) 较低的免疫相关不良反应率,和(ii) 较低的剂量限制性毒性率。

[0171] 在一个优选的实施方案中,本发明的多特异性抗体对于CD137特异性是一价的。重要的是,由于在缺乏聚集(这由PDL1-BD与其抗原的结合引起的)的情况下缺乏CD137的活化,本发明的CD137特异性多特异性抗体的单价不能系统性地诱导CD137信号传导。在一个实施方案中,本发明涉及一种多特异性抗体,其包含(a) 一个CD137-BD;和(b) 至少一个PDL1-BD,优选一个或两个PDL1-BD,更优选一个PDL1-BD。因此,本发明的多特异性抗体对于PDL1特异性是单价、二价或多价的,优选对于PDL1特异性是单价的。在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体包含一个CD137-BD和一个PDL1-BD。在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体由一个CD137-BD和一个PDL1-BD组成。

[0172] 术语“CD137”特别是指具有UniProt ID号Q07011的人CD137,在本文中以SEQ ID NO:197再现。合适地,本发明的CD137-BD靶向CD137,特别是人CD137,如UniProt ID号Q07011所示,其在本文中以SEQ ID NO:197再现。合适地,包含CD137-BD的本发明的多特异性抗体靶向人和食蟹猴(食蟹猕猴)CD137。优选地,包含CD137-BD的本发明的多特异性抗体不阻断CD137/CD137L相互作用。

[0173] 本发明的CD137-BD特异性结合CD137。合适地,本发明的多特异性抗体包含CD137-BD,其中所述CD137-BD特异性结合CD137。在一个具体的实施方案中,所述CD137-BD对人CD137具有结合特异性,并且不与人CD40结合和/或不与人OX40结合,特别是如通过SPR确定的。

[0174] 合适地,本发明的CD137-BD是CD137激动剂。“活化剂”或“活化抗体”或“激动剂”或“激动剂抗体”或“激动剂结合结构域”或“激活性结合结构域”是通过与其结合的抗原增强

或引发信号传导的一种。在本发明的背景下,术语“CD137激动剂”涵盖能够在它们聚集时能够激活CD137信号传导的本发明的CD137结合结构域,例如,其中至少两个所述CD137-BD的结合允许结合的CD137分子的多聚化及其活化。在一些实施方案中,激动剂抗体在不存在天然配体的情况下激活信号传导。

[0175] 在一些实施方案中,本发明的CD137-BD衍生自单克隆抗体或抗体片段。

[0176] 用于本发明的多特异性抗体的合适的CD137-BD是本公开中提供的新型结合结构域。本发明的新型CD137-BD包括但不限于如本文(包括实施例中)所述的分离的人源化单克隆抗体。此类CD137-BD的实例是抗体或其结合结构域,其序列列于表1中。实施例中提供了关于本文所述抗体和结合结构域的生成和表征的其他细节。本发明的新型CD137-BD特别适合于本发明的目的。包含至少一个所述CD137-BD(例如,对于CD137结合特异性是一价的)的本发明的多特异性抗体能够在存在PDL1阳性细胞的情况下激活CD137。

[0177] 合适地,CD137-BD与CD137特异性结合,并以下列参数中的一个或多个为特征:

[0178] (i) 与人CD137结合的解离常数(KD)小于50nM,特别是小于10nM,特别是小于5nM,特别是小于1nM,特别是小于500pM,更特别是小于100pM,更特别是小于50pM,特别地,其中所述抗体是scFv(单价亲和力);

[0179] (ii) 与人CD137结合的 K_{off} 速率为 10^{-3}s^{-1} 或更低,或 10^{-4}s^{-1} 或更低,或 10^{-5}s^{-1} 或更低,如通过SPR所测量的,特别地,其中所述抗体是scFv;

[0180] (iii) 与人CD137结合的 K_{on} 速率为至少 $10^4\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 或更高,至少 $10^5\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 或更高,至少 $10^6\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 或更高,如通过SPR所测量的,特别地,其中所述抗体是scFv;

[0181] (iv) 任选地,不与urelumab交叉竞争;

[0182] (v) 任选地,不与utomilumab交叉竞争;

[0183] (vi) 任选地,与食蟹猕猴(食蟹猴)CD137交叉反应;并且

[0184] (vii) 任选地,不抑制CD137与其配体CD137L之间的相互作用,特别是如通过竞争ELISA所测定的。

[0185] 术语“亲合力”是指抗体-抗原复合物的整体稳定性或强度的信息量度。它受三个主要因素控制:抗体表位亲和力;抗原和抗体的价态;以及相互作用部分的结构排列。最终,这些因素定义了抗体的特异性,即特定抗体与精确抗原表位结合的可能性。

[0186] 如本文所用,术语“亲和力”是指在单个抗原位点上抗体和抗原之间的相互作用的强度。在每个抗原性位点内,抗体“臂”的可变区通过弱的非共价力与抗原在许多位点相互作用;相互作用越大,亲和力越强。

[0187] “结合亲和力”通常是指分子的(例如,抗体的)单个结合位点与其结合伴侣(例如,抗原)之间的非共价相互作用的总和的强度。除非另有说明,否则如本文所用,“结合亲和力”或“与……结合”是指反映结合对的成员(例如抗体片段和抗原)之间的1:1相互作用的内在结合亲和力。分子X与其伴侣Y的亲和力通常可以用解离常数(KD)表示。亲和力可以通过本领域已知的常规方法来测量,包括本文所述的方法。低亲和力抗体通常会缓慢结合抗原并倾向于易于解离,而高亲和力抗体通常会更快地结合抗原并倾向于保持更长的结合时间。本领域已知测量结合亲和力的多种方法,其中任何一种方法均可用于本发明的目的。下面描述用于测量结合亲和力,即结合强度的具体说明性和示例性实施方案。

[0188] 本文所用的术语“ K_{assoc} ”、“ K_{a} ”或“ K_{on} ”是指特定抗体-抗原相互作用的缔合速率,而

本文所用的术语“ K_{dis} ”、“ K_d ”或“ K_{off} ”是指特定抗体-抗原相互作用的解离速率。在一个实施方案中,本文所用的术语“KD”是指解离常数,其由 K_d 与 K_a 之比(即 K_d/K_a)获得,并表示为摩尔浓度(M)。在一个实施方案中,根据本发明的“KD”或“KD值”或“ K_D ”或“ K_D 值”通过使用MASS-1SPR仪器(Sierra Sensors)使用表面等离子体共振测定法来测量。为了测量亲和力,使用标准的胺偶联方案将对兔IgG Fc区具有特异性的抗体(Bethyl Laboratories,货号A120-111A)固定在传感器芯片(SPR-2Affinity Sensor, High Capacity Amine, Sierra Sensors)上。B-细胞上清液中的兔单克隆抗体被固定的抗兔IgG抗体捕获。B细胞上清液中的IgG最低浓度要求足以捕获。捕获单克隆抗体后,将人CD137 ECD(Peprotech, 货号310-15-1MG),或者,在PDL1-BD的情况下,将人PDL1(Peprotech)以90nM的浓度注入流动池中3分钟,然后使蛋白质从传感器芯片上捕获的IgG中解离5分钟。每个注射循环后,两次注射10mM 甘氨酸-HCl使表面再生。使用MASS-1分析软件(Analyzer, Sierra Sensors)使用一对一Langmuir结合模型计算表观解离速率常数(k_d)和缔合速率常数(k_a)以及表观解离平衡常数(KD),并根据相对Chi2(将Chi2标准化为分析物的外推最大结合水平)监控拟合质量,其中相对Chi2是对曲线拟合质量的度量。Chi2的值越小,对一对一Langmuir结合模型的拟合越准确。如果配体结合的反应单位(RU)为抗体捕获的RU的至少2%,则认为结果有效。配体结合的RU少于2%的抗体捕获的RU的样品被认为CD137或PDL1与捕获的抗体没有特异性结合。平衡解离常数(KD)计算为比率 K_{off}/K_{on} 。参见,例如,Chen等人, J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999)。

[0189] 合适地,本发明的多特异性抗体对CD137的亲和力可以与CD137L对CD137的亲和力相当或更高。合适地,本发明的多特异性抗体对CD137的亲和力可以与urelumab对CD137的亲和力相当或更高。应当理解,CD137结合结构域的较高亲和力可能特别适合于本发明的多特异性抗体,其中所述抗体对于CD137是单价的。抗体或其结合片段的结合亲和力可以例如通过解离常数(KD)确定。较低的KD表示较强的亲和力,而较高的KD表示较弱的亲和力。

[0190] 因此,在合适的实施方案中,本发明的多特异性抗体或本发明的CD137-BD与人CD137结合的KD为5至50,000pM,5至40,000pM,5至30,000pM,5至20,000pM,5至10,000pM,5至9,000pM,5至8,000pM,5至7,000pM,5至6,000pM,5至5,000pM,5至2,500pM,5至1,000pM,5至750pM,5至500pM,5至250pM,5至100pM,5至75pM,5至50pM,5至30pM,特别是如通过SPR所测量的。在另一个实施方案中,本发明的多特异性抗体或本发明的CD137-BD与人CD137结合的KD在10nM至10pM之间,优选在10nM至0.1nM之间,例如在5nM至0.1nM之间,更优选在5nM至1nM之间,特别是如通过SPR所测量的。

[0191] 在合适的实施方案中,本发明的多特异性抗体或本发明的CD137-BD与人CD137结合的KD小于约50nM,小于约45nM,小于约40nM,小于约35nM,小于约30nM,小于约25nM,小于20nM,小于约15nM,小于约10nM,小于约9nM,小于约8nM,小于约7nM,小于约6nM,小于约5nM,小于约4nM,小于约3nM,小于2nM,小于1nM,小于0.5nM,小于0.25nM,或小于0.1nM,小于50pM,小于40pM,小于30pM,小于20pM,特别是如通过SPR测量的。合适地,本发明的多特异性抗体或本发明的CD137-BD与人CD137结合的KD小于10nM,特别是如通过SPR测量的。优选地,本发明的多特异性抗体或本发明的CD137-BD与人CD137结合的KD小于5nM,特别是如通过SPR测量的。合适地,本发明的多特异性抗体或本发明的CD137-BD与人CD137结合的KD小于1nM,特别是如通过SPR测量的。合适地,本发明的多特异性抗体或本发明的CD137-BD与人

CD137结合的KD小于50pM,特别是如通过SPR测量的。

[0192] 合适地,本发明的多特异性抗体或本发明的CD137-BD与人CD137结合的 K_{on} 率为至少 $10^3 M^{-1}s^{-1}$ 或更高、至少 $10^4 M^{-1}s^{-1}$ 或更高、至少 $5 \times 10^4 M^{-1}s^{-1}$ 或更高、至少 $10^5 M^{-1}s^{-1}$ 或更高、至少 $5 \times 10^5 M^{-1}s^{-1}$ 或更高、至少 $10^6 M^{-1}s^{-1}$ 或更高、至少 $5 \times 10^6 M^{-1}s^{-1}$ 或更高、至少 $10^7 M^{-1}s^{-1}$ 或更高、至少 $5 \times 10^7 M^{-1}s^{-1}$ 或更高,如通过表面等离子体共振 (SPR) 测量的。合适地,本发明的多特异性抗体或本发明的CD137-BD与人CD137结合的 K_{on} 率为至少 $10^4 M^{-1}s^{-1}$ 或更高,特别是至少 $10^4 M^{-1}s^{-1}$ 或更高,如通过SPR测量的,其中所述抗体是scFv (单价亲和力)。

[0193] 合适地,本发明的多特异性抗体或本发明的CD137-BD与人CD137结合的 K_{off} 率为 $10^{-3} s^{-1}$ 或更低、 $3 \times 10^{-3} s^{-1}$ 或更低、 $5 \times 10^{-3} s^{-1}$ 或更低、 $10^{-4} s^{-1}$ 或更低、 $5 \times 10^{-4} s^{-1}$ 或更低、 $10^{-5} s^{-1}$ 或更低、 $5 \times 10^{-5} s^{-1}$ 或更低、 $10^{-6} s^{-1}$ 或更低或 $10^{-7} s^{-1}$ 或更低,如通过表面等离子体共振 (SPR) 测量的。合适地,本发明的多特异性抗体或本发明的CD137-BD与人CD137结合的 K_{off} 率为 $10^{-4} s^{-1}$ 或更低,特别是 $10^{-5} s^{-1}$ 或更低,特别是如通过SPR测量的。

[0194] 合适地,本发明的多特异性抗体或本发明的CD137-BD与人CD137的结合为至少60%或更高,至少70%或更高,至少75%或更高,至少80%的更高,至少85%或更高,至少90%或更高,至少95%或更高,如用SPR进行测量,并标准化为针对urelumab的结合水平。

[0195] 在一个实施方案中,本发明的CD137-BD不交叉竞争与urelumab的结合。因此,本发明提供了CD137-BD,其结合与urelumab不同的表位。Urelumab,也称为BMS-663513,是来自Bristol-Myers Squibb的完全人源化的IgG4 mAb,并描述于WO 2004/010947、US 6,887,673和US 7,214,493,这些文献通过引用整体并入本申请。在一个实施方案中,本发明的CD137-BD交叉竞争与urelumab的结合。

[0196] 在一个实施方案中,本发明的CD137-BD不交叉竞争与utomilumab的结合。因此,本发明提供了CD137-BD,其结合与utomilumab不同的表位。utomilumab,也称为PF-05082566,是来自Pfizer的完全人源化的IgG2 mAb,并描述于WO 2012/032433和US 8,821,867,这些文献通过引用整体并入本申请。在另一个实施方案中,本发明的CD137-BD交叉竞争与utomilumab的结合。

[0197] 在另一个实施方案中,本发明的CD137-BD即不交叉竞争与urelumab的结合,又不交叉竞争与utomilumab的结合。因此,本发明提供了本发明的CD137-BD,其结合与urelumab和utomilumab不同的表位。

[0198] 术语“竞争”或“交叉竞争”和相关术语在本文中可互换使用,是指在标准竞争性结合测定中一种抗体或其他结合剂干扰其他抗体或结合剂与CD137的结合的能力。

[0199] 可以使用标准竞争结合测定法来确定一种抗体或其他结合剂能够干扰另一种抗体或结合分子与目标靶标 (例如CD137、PDL1) 的结合的能力或程度,并因此确定是否可以说是根据本发明的交叉竞争。合适的定量交叉竞争测定法使用基于FACS或基于AlphaScreen的方法来测量标记的 (例如His标记的、生物素化的或放射性标记的) 抗体或其片段与另一种抗体或其片段在它们与靶标结合方面的竞争。通常,交叉竞争抗体或其片段,例如,在交叉竞争测定中,将与靶标结合,使得在测定期间并且在存在第二抗体或其片段的情况下,所记录的本发明的免疫球蛋白单可变结构域或多肽的位移高达以给定量存在的待测试潜在交叉阻断抗体或其片段的最大理论位移 (例如,需要交叉阻断的冷 (例如未标记) 抗体或其片段置换) 的100% (例如,在基于FACS的竞争测定中)。优选地,交叉竞争抗体或其片段的记

录的位移在10%至100%之间,更优选在50%至100%之间。为了本发明的目的,使用了竞争ELISA,相应的方案在本公开的“实施例”部分中详细描述。在一个实施方案中,本发明的CD137-BD不抑制urelumab和/或utomilumab与CD137蛋白的结合,这表明本发明的CD137-BD不能分别与urelumab和/或utomilumab竞争与CD137的结合;根据非限制性理论,这样的CD137-BD或包含所述结构域的抗体可以结合CD137上分别与urelumab或utomilumab不同(例如,结构上不同或空间上偏远)的表位。在一个实施方案中,本发明的CD137-BD抑制urelumab或utomilumab与CD137蛋白的结合,这表明本发明的CD137-BD可以分别与urelumab或utomilumab竞争与CD137的结合;根据非限制性理论,这样的CD137-BD或包含所述结构域的抗体可以结合CD137上分别与urelumab或utomilumab相同或重叠(例如,结构上相似或空间上相近)的表位。

[0200] 本发明还提供了与表1中列出的CD137-BD结合相同表位的结合结构域。因此,可以基于它们在CD137结合测定中与本发明的其他抗体及其抗原结合片段交叉竞争(例如,以统计学上显著的方式竞争性地抑制其结合)的能力来鉴定其他结合结构域。

[0201] 测试结合结构域抑制本发明的CD137-BD与CD137蛋白的结合的能力证明,测试结合结构域可以与该CD137-BD竞争对CD137的结合;根据非限制性理论,这种结合结构域可以与其竞争的CD137-BD结合CD137上相同或相关的(例如,结构上相似或空间相近)表位。在某些实施方案中,与本发明的CD137-BD结合CD137上相同表位的结合结构域是人或人源化单克隆抗体。这样的人或人源化单克隆抗体可以如本文所述制备和分离。

[0202] 一旦确定了抗原上所需的表位,就可以例如使用本发明中描述的技术生成针对该表位的抗体。或者,在探索过程中,抗体的生成和表征可阐明有关所需表位的信息。从该信息,然后可以竞争性地筛选抗体以结合相同表位。实现此目的的一种方法是进行交叉竞争研究,以发现彼此竞争结合的抗体,例如,这些抗体竞争与抗原的结合。在WO 2003/48731中描述了基于抗体的交叉竞争来“结合”抗体的高通量方法。如本领域技术人员将理解的,实际上抗体可以特异性结合的任何物质都可以是表位。表位可以包含抗体结合的那些残基。

[0203] 可以使用本领域熟知的任何数量的表位作图技术来鉴定给定多肽包括表位的区域。参见,例如,Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol.66 (Glenn E. Morris, Ed., 1996) Humana Press, Totowa, New Jersey。例如,线性表位可以通过例如如下方法来确定:在固体支持物上同时合成大量肽,(这些肽对应于蛋白质分子的部分),并使这些肽与抗体反应,同时使肽仍附着于支持物。这样的技术在本领域中是已知的,并且描述于例如U.S. Patent No. 4,708,871; Geysen等人, (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:3998-4002; Geysen等人, (1985) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:78-182; Geysen等人, (1986) Mol. Immunol. 23:709-715。类似地,可以通过如下方法容易地鉴定构象表位:确定氨基酸CD137的空间构象,例如通过氢/氘交换、X射线晶体学和二维核磁共振。参见例如Epitope Mapping Protocols (同上)。也可以使用标准抗原性和亲水性图来鉴定蛋白质的抗原区域,例如使用例如可从Oxford Molecular Group获得的Omiga 1.0版软件程序计算的那些。该计算机程序采用Hopp/Woods方法, Hopp等人, (1981) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:3824-3828来确定抗原性图谱;采用Kyte-Doolittle技术, Kyte等人, (1982) J. Mol. Biol. 157:105-132来确定亲水性图。

[0204] 合适地, CD137-BD与CD137特异性结合, 并以下列参数中的一个或多个为特征:

[0205] a) 当为scFv形式时,其解链温度(T_m) (通过差示扫描荧光法(DSF)测定)为至少50℃,优选至少55℃,更优选至少60℃,特别是其中将所述抗体或其抗原结合片段配制在pH 6.4、150mM NaCl的磷酸柠檬酸盐缓冲液中,特别是pH 6.4、150mM NaCl的50mM磷酸柠檬酸盐缓冲液中;

[0206] b) 当为scFv形式时,当本发明的抗体的起始浓度为10mg/ml时,并且特别地,其中将本发明的抗体(例如所述抗体或其抗原结合片段)抗体配制在pH 6.4的具有150mM NaCl的50mM柠檬酸磷酸缓冲液中,在4℃下储存至少2周,特别是至少4周后,所述抗体的单体含量损失小于7%,例如小于6%,小于5%,小于4%,小于3%,小于2%,优选小于1%;和/或

[0207] c) 当为scFv形式时,当本发明的抗体的起始浓度为10mg/ml时,并且特别地,其中将本发明的抗体(例如所述抗体或其抗原结合片段)配制在pH 6.4的具有150mM NaCl的50mM柠檬酸磷酸缓冲液中,在40℃下储存至少两周,特别是至少4周后,所述抗体的单体含量损失小于5%,例如小于4%,小于3%,小于2%,优选小于1%。

[0208] DSF已在前面进行了描述(Egan等人,MAbs,9(1)(2017),68-84;Niesen等人,Nature Protocols,2(9)(2007)2212-2221)。scFv构建体的热解折叠的转变中点是通过差示扫描荧光法使用荧光染料**SYPRO®**Orange确定的(参见Wong&Raleigh,Protein Science 25(2016)1834-1840)。在pH 6.4的柠檬酸磷酸盐缓冲液中的样品以50μg/mL的最终蛋白质浓度制备,并且含有5x**SYPRO®**Orange的终浓度,总体积为100μl。将25微升制备的样品一式三份添加到白壁AB基因PCR板中。该分析在用作热循环仪的qPCR机中进行,并使用该软件的自定义染料校准程序检测荧光发射。将包含测试样品的PCR板以1℃的递增量进行从25℃到96℃的温度变化,在每次温度递增后,暂停30s。总测定时间为约两个小时。通过GraphPad Prism软件使用数学二阶导数方法计算曲线的拐点来计算 T_m 。报告的 T_m 是三个测量值的平均值。

[0209] 单体含量的损失由SE-HPLC色谱图的曲线下面积计算确定。SE-HPLC是一种基于固体固定相和液体流动相的分离技术,如USP第621章所述。该方法利用疏水固定相和水性流动相基于分子的大小和形状来分离分子。分子的分离发生在特定柱的空隙体积(V_0)和总渗透体积(V_T)之间。通过SE-HPLC测量Chromaster HPLC系统(Hitachi High-Technologies Corporation)上进行,该系统配备有自动样品注射和检测波长设定为280nm的UV检测器。该设备由软件EZChrom Elite(Agilent Technologies,Version 3.3.2SP2)控制,该软件还支持对所得色谱图进行分析。在注射前通过离心清除蛋白质样品,并在将自动进样器的温度保持在4-6℃。对于scFv样品的分析,使用Shodex KW403-4F柱(Showa Denko有限公司,#F6989202),标准缓冲盐水流动相(50mM磷酸钠pH 6.5,300mM氯化钠),推荐流速为0.35mL/min。每次注射的目标样品加载量为5μg。在280nm的波长下通过UV检测器检测样品,并通过合适的软件套件记录数据。在 V_0 至 V_T 的范围内分析所得色谱图,从而排除洗脱时间>10分钟的基质相关的峰。

[0210] 本发明提供了与CD137蛋白特异性结合的CD137-BD,所述结合结构域包含VH CDR,所述VH CDR具有表1所列的VH CDR中任意之一的氨基酸序列。特别地,本发明提供了与CD137蛋白特异性结合的CD137-BD,所述CD137-BD包含(或由以下组成)一个、两个、三个或更多个VH CDR,所述VH CDR具有表1所列的VL CDR中任意之一的氨基酸序列。

[0211] 本发明还提供了与CD137蛋白特异性结合的CD137-BD,所述CD137-BD包含VL CDR,

所述VL CDR具有表1所列的VL CDR中任意之一的氨基酸序列。特别地,本发明提供了与CD137蛋白特异性结合的CD137-BD,所述CD137-BD包含(或由其组成)一个、两个、三个或更多个VL CDR,所述VL CDR具有表1所列的VL CDR中任意之一的氨基酸序列。

[0212] 本发明的其他CD137-BD包括已突变、但仍在CDR区中与表1中描述的序列中描述的CDR区具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列。一方面,本发明的其他CD137-BD包括突变氨基酸序列,其中当与表1中描述的序列中描述的CDR区相比时,CDR区中已经突变的氨基酸不超过1、2、3、4或5个。

[0213] 在两个或更多个核酸或多肽序列的背景下,术语“相同”或“同一性”是指相同的两个或更多个序列或子序列。关于核酸、肽、多肽或抗体序列的“序列同一性百分比(%)”和“同源性”定义为在比对序列并在必要时引入缺口以实现最大百分比序列同一性后,并且不将任何保守取代视为序列同一性的一部分,候选序列中与特定核酸、肽或多肽序列中的核苷酸或氨基酸残基相同的核苷酸或氨基酸残基的百分比。用于确定氨基酸序列同一性百分比的比对可以通过本领域技术范围内的各种方式来实现,例如,使用公开的计算机软件,例如BLAST、BLAST-2或ALIGN软件。本领域技术人员可以确定用于测量比对的合适参数,包括在所比较的序列的全长上实现最大比对所需的任何算法。

[0214] 为了进行序列比较,通常将一个序列用作参考序列,将其与测试序列进行比较。当使用序列比较算法时,将测试序列和参考序列输入计算机,必要时指定子序列坐标,并指定序列算法程序参数。可以使用默认程序参数,也可以指定其他参数。然后,序列比较算法根据程序参数计算测试序列相对于参考序列的序列同一性百分比。

[0215] 适用于确定序列同一性和序列相似性百分比的算法的两个实例是BLAST和BLAST 2.0算法,这些算法分别在Altschul等人,Nuc.Acids Res.25:3389-3402,1977;和Altschul等人,J.Mol.Biol.215:403-410,1990中描述。可通过国家生物技术信息中心公开获得进行BLAST分析的软件。

[0216] 也可以使用E.Meyers和W.Miller(Comput.Appl.Biosci.,4:11-17,1988)的算法确定两个氨基酸序列之间的同一性百分比,该算法已被并入ALIGN程序(2.0版),其使用PAM120重量残留表,空位长度罚分为12,空位罚分为4。另外,可以使用Needleman和Wunsch(J.Mol.Biol.48:444-453,1970)算法确定两个氨基酸序列之间的同一性百分比,该算法已并入GCG软件包的GAP程序中(可www.gcg.com上找到),其使用Blossom 62矩阵或PAM250矩阵,间隙权重为16、14、12、10、8、6或4,长度权重为1、2、3、4、5或6。

[0217] 术语“氨基酸”是指天然存在的氨基酸和合成的氨基酸,以及以类似于天然存在的氨基酸的方式起作用的氨基酸类似物和氨基酸模拟物。天然存在的氨基酸是由遗传密码编码的氨基酸,以及后来被修饰的氨基酸,例如羟脯氨酸、 γ -羧基谷氨酸和O-磷酸丝氨酸。术语“多肽”和“蛋白质”在本文可互换使用,是指氨基酸残基的聚合物。该术语适用于氨基酸聚合物,其中一个或多个氨基酸残基是相应的天然存在的氨基酸的人工化学模拟物,也适用于天然存在的氨基酸聚合物和非天然存在的氨基酸聚合物。除非另有说明,否则特定的多肽序列也隐含涵盖其保守修饰的变体。

[0218] 合适地,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包含:(a)重链可变区CDR1(HCDR1),其包含选自SEQ ID NO:1、4、5、8、11、35、38、41和44中任意之一,优选SEQ ID NO:1的氨基酸序列,优选由其组成;(b)重链可变区CDR2(HCDR2),其包含选自SEQ ID NO:2、6、9、12、36、39、

42和45中任意之一,优选SEQ ID NO:2的氨基酸序列,优选由其组成;(c)重链可变区CDR3(HCDR3),其包含选自SEQ ID NO:3、7、10、13、37、40、43和46中任意之一,优选SEQ ID NO:3的氨基酸序列,优选由其组成;(d)轻链可变区CDR1(LCDR1),其包含选自SEQ ID NO:18、21、24、48、51和54中任意之一,优选SEQ ID NO:18的氨基酸序列,优选由其组成;(e)轻链可变区CDR2(LCDR2),其包含选自SEQ ID NO:19、22、25、49、52和55中任意之一,优选SEQ ID NO:19的氨基酸序列,优选由其组成;和(f)轻链可变区CDR3(LCDR3),其包含选自SEQ ID NO:20、23、26、50、53和56中任意之一,优选SEQ ID NO:20的氨基酸序列,优选由其组成。合适地,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包含:(a)重链可变区CDR1(HCDR1),其包含与SEQ ID NO:1、4、5、8、11、35、38、41和44中任意之一,优选SEQ ID NO:1具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(b)重链可变区CDR2(HCDR2),其与SEQ ID NO:2、6、9、12、36、39、42和45中任意之一,优选SEQ ID NO:2具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性;(b)重链可变区CDR3(HCDR3),其与SEQ ID NO:3、7、10、13、37、40、43和46中任意之一,优选SEQ ID NO:3具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性;(d)轻链可变区CDR1(LCDR1),其与SEQ ID NO:18、21、24、48、51和54中任意之一,优选SEQ ID NO:18具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性;(e)轻链可变区CDR2(LCDR2),其与SEQ ID NO:19、22、25、49、52和55中任意之一,优选SEQ ID NO:19具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性;和(f)轻链可变区CDR3(LCDR3),其与SEQ ID NO:20、23、26、50、53和56中任意之一,优选SEQ ID NO:20具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性。

[0219] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包含:(a)分别为SEQ ID NO:1、2和3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:18、19和20的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(b)分别为SEQ ID NO:4、6和7的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:21、22和23的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(c)分别为SEQ ID NO:5、6和7的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:21、22和23的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(d)分别为SEQ ID NO:8、9和10的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:18、19和20的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(e)分别为SEQ ID NO:11、12和13的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:24、25和26的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(f)分别为SEQ ID NO:35、36和37的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:48、49和50的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(g)分别为SEQ ID NO:38、39和40的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:51、52和53的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(h)分别为SEQ ID NO:41、42和43的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:48、49和50的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(i)分别为SEQ ID NO:44、45和46的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:54、55和56的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。在一个优选的实施方案中,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包括分别为SEQ ID NO:1、2和3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:18、19和20的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。

[0220] 合适地,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包含:(a)分别与SEQ ID NO:1、2和3具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:18、19和20具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或

99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列; (b) 分别与SEQ ID NO:4、6和7具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:21、22和23具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列; (c) 分别与SEQ ID NO:5、6和7具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:21、22和23具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列; (d) 分别与SEQ ID NO:8、9和10具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:18、19和20具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列; (e) 分别与SEQ ID NO:11、12和13具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:24、25和26具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列; (f) 分别与SEQ ID NO:35、36和37具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:48、49和50具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列; (g) 分别与SEQ ID NO:38、39和40具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:51、52和53具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列; (h) 分别与SEQ ID NO:41、42和43具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:48、49和50具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列; (i) 分别与SEQ ID NO:44、45和46具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:54、55和56具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。在一个优选的实施方案中,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包含分别与SEQ ID NO:1、2和3具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:18、19和20具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。合适地,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包含: (a) HCDR1,其包含与SEQ ID NO:1具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列; (b) HCDR2,其包含与SEQ ID NO:2具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列; (c) HCDR3,其包含与SEQ ID NO:3具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列; (d) LCDR1,其包含与SEQ ID NO:18具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列; (e) LCDR2,其包含与SEQ ID NO:19具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列;和(f) LCDR3,其包含与SEQ ID NO:20具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列。

[0221] 在另一个实施方案中,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包含: (a) HCDR1,其包含SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的氨基酸序列,优选由其组成; (b) HCDR2,其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列,优选由其组成; (c) HCDR3,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,优选由其组成; (d) LCDR1,其包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列,优选由其组成; (e) LCDR2,其包含SEQ ID

NO:22的氨基酸序列,优选由其组成;和(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列,优选由其组成。合适地,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包含:(a)HCDR1,其包含与SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(b)HCDR2,其包含与SEQ ID NO:6具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(c)HCDR3,其包含与SEQ ID NO:7具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(d)LCDR1,其包含与SEQ ID NO:21具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(e)LCDR2,其包含与SEQ ID NO:22具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;和(f)LCDR3,其包含与SEQ ID NO:23具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成。

[0222] 在另一个实施方案中,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包含:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列,优选由其组成;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列,优选由其组成;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列,优选由其组成;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列,优选由其组成;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列,优选由其组成;和(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列,优选由其组成。合适地,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包含:(a)HCDR1,其包含与SEQ ID NO:35具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(b)HCDR2,其包含与SEQ ID NO:36具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(c)HCDR3,其包含与SEQ ID NO:37具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(d)LCDR1,其包含与SEQ ID NO:48具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(e)LCDR2,其包含与SEQ ID NO:49具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;和(f)LCDR3,其包含与SEQ ID NO:50具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成。

[0223] 在另一个实施方案中,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包含:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列,优选由其组成;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列,优选由其组成;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列,优选由其组成;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列,优选由其组成;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列,优选由其组成;和(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列,优选由其组成。合适地,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包含:(a)HCDR1,其包含与SEQ ID NO:38具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(b)HCDR2,其包含与SEQ ID NO:39具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(c)HCDR3,其包含与SEQ ID NO:40具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(d)LCDR1,其包含与SEQ ID NO:51具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(e)LCDR2,其包含与SEQ ID NO:52具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;和(f)LCDR3,其

包含与SEQ ID NO:53具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成。

[0224] 在一个优选的实施方案中,本发明的多特异性抗体包含CD137-BD,其中所述CD137-BD包含:(a)重链可变区CDR1,其包含选自SEQ ID NO:59、62、65和68中任意之一,优选SEQ ID NO:59的氨基酸序列,优选由其组成;(b)重链可变区CDR2,其包含选自SEQ ID NO:60、63、66和69中任意之一,优选SEQ ID NO:60的氨基酸序列,优选由其组成;(c)重链可变区CDR3,其包含选自SEQ ID NO:61、64、67和70中任意之一,优选SEQ ID NO:61的氨基酸序列,优选由其组成;(d)轻链可变区CDR1,其包含选自SEQ ID NO:74、77和80中任意之一,优选SEQ ID NO:74的氨基酸序列,优选由其组成;(e)轻链可变区CDR2,其包含选自SEQ ID NO:75、78和81中任意之一,优选SEQ ID NO:75的氨基酸序列,优选由其组成;和(f)轻链可变区CDR3,其包含选自SEQ ID NO:76、79和82中任意之一,优选SEQ ID NO:76的氨基酸序列,优选由其组成。合适地,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包含:(a)重链可变区CDR1,其与SEQ ID NO:59、62、65和68中任意之一,优选SEQ ID NO:59具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性;(b)重链可变区CDR2,其与SEQ ID NO:60、63、66和69中任意之一,优选SEQ ID NO:60具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性;(c)重链可变区CDR3,其与SEQ ID NO:61、64、67和70中任意之一,优选SEQ ID NO:61具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性;(d)轻链可变区CDR1,其与SEQ ID NO:74、77和80中任意之一,优选SEQ ID NO:74具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性;(e)轻链可变区CDR2,其与SEQ ID NO:75、78和81中任意之一,优选SEQ ID NO:75具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性;和(f)轻链可变区CDR3,其与SEQ ID NO:76、79和82中任意之一,优选SEQ ID NO:76具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性。

[0225] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包含:(a)分别为SEQ ID NO:59、60和61的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:74、75和76的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(b)分别为SEQ ID NO:62、63和64的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:77、78和79的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(c)分别为SEQ ID NO:65、66和67的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:74、75和76的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(d)分别为SEQ ID NO:68、69和70的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:80、81和82的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。在一个优选的实施方案中,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包括分别为SEQ ID NO:59、60和61的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:74、75和76的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。

[0226] 合适地,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包含:(a)分别与SEQ ID NO:59、60和61具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:74、75和76具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(b)分别与SEQ ID NO:62、63和64具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:77、78和79具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(c)分别与SEQ ID NO:65、66和67具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:74、75

和76具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列；(d)分别与SEQ ID NO:68、69和70具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:80、81和82具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。在一个优选的实施方案中,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包含分别与SEQ ID NO:59、60和61具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:74、75和76具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。合适地,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包含:

(a) HCDR1,其包含与SEQ ID NO:59具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列；(b) HCDR2,其包含与SEQ ID NO:60具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列；(c) HCDR3,其包含与SEQ ID NO:61具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列；(d) LCDR1,其包含与SEQ ID NO:74具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列；(e) LCDR2,其包含与SEQ ID NO:75具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列；和(f) LCDR3,其包含与SEQ ID NO:76具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列。

[0227] 在另一个实施方案中,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包含VH结构域和VL结构域。在本发明的背景下,术语“VH”(可变重链)、“VL”(可变轻链)、“V κ ”和“V λ ”是指根据序列同一性和同源性分组的抗体重链和轻链序列的家族。确定序列同源性的方法,例如通过使用同源性搜索矩阵例如BLOSUM (Henikoff, S. & Henikoff, J. G., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89 (1992) 10915-10919), 以及根据同源性对序列进行分组的方法是本领域普通技术人员众所周知的。对于VH、V κ 和V λ ,可以鉴定出不同的亚家族,例如Knappik等人, J. Mol. Biol. 296 (2000) 57-86所示,其将VH1A、VH1B和VH2中的VH分组为VH6,将V κ 1中的V κ 分组为V κ 4,将V λ 1中的V λ 分组为V λ 3。在体内,抗体V κ 链、V λ 链和VH链分别是种系 κ 链V和J片段、种系 λ 链V和J片段以及重链V、D和J片段的随机重排的结果。给定的抗体可变链属于哪个亚家族由相应的V片段,特别是由框架区FR1至FR3确定。因此,在本申请中仅以特定的一组框架区HFR1至HFR3为特征的任何VH序列可以与任何HFR4序列结合,例如从重链种系J片段之一中取得的HFR4序列,或从重新排列的VH序列取得的HFR4序列。

[0228] 合适地,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包含VH4或VH3结构域框架序列,优选VH4结构域框架序列,更优选VH3结构域框架序列。

[0229] 属于VH3家族的VH的一个具体实例由SEQ ID NO:71表示。特别地,取自SEQ ID NO:71的框架区FR1至FR4属于VH3家族(表1,非粗体标记的区域)。合适地,本文所用的属于VH3家族的VH包含与SEQ ID NO:71的FR1至FR4具有至少85%,优选至少90%,更优选至少95%的序列同一性的FR1至FR4。

[0230] 属于VH4家族的VH的一个具体实例由SEQ ID NO:14表示。特别地,取自SEQ ID NO:14的框架区FR1至FR4属于VH4家族(表1,非粗体标记的区域)。合适地,本文所用的属于VH4家族的VH包含与SEQ ID NO:14的FR1至FR4具有至少85%,优选至少90%,更优选至少95%的序列同一性的FR1至FR4。

[0231] 合适地,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包含V κ 框架FR1、FR2和FR3,特别是V κ 1

或V κ 3框架,优选V κ 1框架FR1至3,以及框架FR4,所述框架FR4选自V κ FR4,特别是V κ 1 FR4、V κ 3 FR4和V λ FR4。合适的V κ 1框架FR1至3在SEQ ID NO:27或SEQ ID NO:83中列出(表1,FR区以非粗体标记)。合适的V κ 1框架FR1至3包含与对应于FR1至3并选自SEQ ID NO:27或SEQ ID NO:83(表1,FR区以非粗体标记)的氨基酸序列具有至少60、70、80、90%同一性的氨基酸序列。合适的V λ FR4如SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205所示。在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包含V λ FR4,所述V λ FR4包含与选自SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205中任意之一的氨基酸序列具有至少60、70、80、90%同一性的氨基酸序列。

[0232] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包含:

[0233] (i)

[0234] a.分别为SEQ ID NO:1、2和3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:18、19和20的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;或

[0235] b.分别为SEQ ID NO:35、36和37的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:48、49和50的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;或

[0236] c.分别为SEQ ID NO:59、60和61的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:74、75和76的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;

[0237] (ii)VH3或VH4结构域框架序列FR1至FR4;优选VH4结构域框架序列FR1至FR4;更优选VH3结构域框架序列FR1至FR4;和

[0238] (iii)VL结构域,其包含VL框架,所述VL框架包含V κ 框架FR1、FR2和FR3,特别是V κ 1或V κ 3 FR1至FR3,优选V κ 1 FR1至FR3,以及框架FR4,所述框架FR4选自V κ FR4,特别是V κ 1 FR4、V κ 3 FR4和V λ FR4,特别是包含与选自SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205中任意之一的氨基酸序列具有至少60、70、80、90%同一性的氨基酸序列的V λ FR4,更特别是包含选自SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205中任意之一的氨基酸序列的V λ FR4,优选包含氨基酸序列SEQ ID NO:199的V λ FR4。

[0239] 在一个优选的实施方案中,本发明的多特异性抗体的所述CD137-BD包括分别为SEQ ID NO:59、60和61的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:74、75和76的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。

[0240] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包含:

[0241] (i)

[0242] a.分别为SEQ ID NO:4、6和7的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:21、22和23的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;

[0243] b.分别为SEQ ID NO:5、6和7的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:21、22和23的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;或

[0244] c.分别为SEQ ID NO:38、39和40的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:51、52和53的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;

[0245] (ii)VH3或VH4结构域框架序列FR1至FR4;优选VH4结构域框架序列FR1至FR4;更优选VH3结构域框架序列FR1至FR4;和

[0246] (iii)VL结构域,其包含VL框架,所述VL框架包含V κ 框架FR1、FR2和FR3,特别是V κ 1或V κ 3 FR1至FR3,优选V κ 1 FR1至FR3,以及框架FR4,所述框架FR4选自V κ FR4,特别是V κ 1 FR4、V κ 3 FR4和V λ FR4,特别是包含与选自SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205中任意之一的

氨基酸序列具有至少60、70、80、90%同一性的氨基酸序列的V λ FR4,更特别是包含选自SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205中任意之一的氨基酸序列的V λ FR4,优选包含氨基酸序列SEQ ID NO:199的V λ FR4。

[0247] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包含VL,所述VL包含:

[0248] (i) CDR结构域CDR1、CDR2和CDR3;

[0249] (ii) 人V κ 框架区FR1至FR3,特别是人V κ 1框架区FR1至FR3;

[0250] (iii) FR4,其选自 (a) FR4的人V λ 种系序列,特别是选自下列的V λ 种系序列:SEQ ID NO:199至205,优选包含氨基酸序列SEQ ID NO:199的V λ FR4;和 (b) 基于V λ 的序列,与最接近的FR4的人V λ 种系序列相比,所述基于V λ 的序列具有一个或两个突变,特别是一个突变,所述最接近的FR4的人V λ 种系序列包含选自SEQ ID NO:62至SEQ ID NO:205中任意之一的氨基酸序列,优选包含氨基酸序列SEQ ID NO:199的V λ FR4。

[0251] 在一个优选的实施方案中,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包含:

[0252] (i)

[0253] a. 分别为SEQ ID NO:4、6和7的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:21、22和23的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;

[0254] b. 分别为SEQ ID NO:5、6和7的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:21、22和23的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;或

[0255] c. 分别为SEQ ID NO:38、39和40的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:51、52和53的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列

[0256] (ii) VH4结构域框架序列FR1至FR4;和

[0257] (iii) VL结构域,其包含VL框架,所述VL框架包含V κ 框架FR1、FR2和FR3,以及V λ FR4,所述V λ FR4包含与选自SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205中任意之一的氨基酸序列具有至少60、70、80、90%同一性的氨基酸序列,特别是如SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205,优选SEQ ID NO:199所示的V λ FR4。

[0258] 在另一个优选的实施方案中,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包含:

[0259] (i) 分别为SEQ ID NO:1、2和3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:18、19和20的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;

[0260] (ii) VH3结构域框架序列FR1至FR4;和

[0261] (iii) VL结构域,其包含VL框架,所述VL框架包含V κ 框架FR1、FR2和FR3,以及V λ FR4,所述V λ FR4包含与选自SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205中任意之一的氨基酸序列具有至少60、70、80、90%同一性的氨基酸序列,特别是如SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205,优选SEQ ID NO:199所示的V λ FR4。

[0262] 在一个优选的实施方案中,本发明的多特异性抗体的CD137-BD包含:

[0263] (i) 分别为SEQ ID NO:59、60和61的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:74、75和76的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;

[0264] (ii) VH3结构域框架序列FR1至FR4;和

[0265] (iii) VL结构域,其包含VL框架,所述VL框架包含V κ 框架FR1、FR2和FR3,以及V λ FR4,所述V λ FR4包含与选自SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205中任意之一的氨基酸序列具有至少60、70、80、90%同一性的氨基酸序列,特别是如SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205,优

选SEQ ID NO:199所示的Vλ FR4。

[0266] 合适地,本发明的CD137-BD包含表1中列出的VH结构域。合适地,本发明的CD137-BD包含表1中列出的VH氨基酸序列,其中框架序列(例如,不是CDR的序列)中已经突变(其中,作为各种非限制性实例,突变是添加、取代或缺失)的氨基酸不超过约10个。合适地,本发明的CD137-BD包含表1中列出的VH氨基酸序列,其中框架序列(例如,不是CDR的序列)中已经突变(其中,作为各种非限制性实例,突变是添加、取代或缺失)的氨基酸不超过约20个。本发明的其他CD137-BD包括已突变、但仍在VH区中与表1中描述的序列中描述的VH区具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列。

[0267] 合适地,本发明的CD137-BD包含表1中列出的VL结构域。合适地,本发明的CD137-BD包含表1中列出的VL氨基酸序列,其中框架序列(例如,不是CDR的序列)中已经突变(其中,作为各种非限制性实例,突变是添加、取代或缺失)的氨基酸不超过约10个。合适地,本发明的CD137-BD包含表1中列出的VL氨基酸序列,其中框架序列(例如,不是CDR的序列)中已经突变(其中,作为各种非限制性实例,突变是添加、取代或缺失)的氨基酸不超过约20个。本发明的其他CD137-BD包括已突变、但仍在VL区中与表1中描述的序列中描述的VL区具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列。

[0268] 合适地,本发明的CD137-BD包含重链可变区,其包含与选自由SEQ ID NO:14、15、16、17和47组成的组,优选SEQ ID NO:17的氨基酸序列至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%,优选至少90%相同的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含与选自由SEQ ID NO:27、28、29、30和57组成的组,优选SEQ ID NO:30的氨基酸序列至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%,优选至少90%相同的氨基酸序列。

[0269] 合适地,本发明的CD137-BD包含:重链可变区,其包含选自SEQ ID NO:14、15、16、17和47中任意之一,优选SEQ ID NO:17的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含选自SEQ ID NO:27、28、29、30和57中任意之一,优选SEQ ID NO:30的氨基酸序列。

[0270] 在另一个实施方案中,本发明的CD137-BD包含:(a) SEQ ID NO:14的VH序列和SEQ ID NO:27的VL序列;(b) SEQ ID NO:15的VH序列和SEQ ID NO:28的VL序列;(c) SEQ ID NO:16的VH序列和SEQ ID NO:29的VL序列;(d) SEQ ID NO:17的VH序列和SEQ ID NO:30的VL序列;或(e) SEQ ID NO:47的VH序列和SEQ ID NO:57的VL序列。在一个优选的实施方案中,本发明的CD137-BD包含SEQ ID NO:17的VH序列和SEQ ID NO:30的VL序列。

[0271] 在一个实施方案中,本发明的CD137-BD包含:

[0272] (a) 分别为SEQ ID NO:4、6和7的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:21、22和23的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与氨基酸序列SEQ ID NO:14至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与氨基酸序列SEQ ID NO:27至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列;

[0273] (b) 分别为SEQ ID NO:4、6和7的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:21、22和23的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与氨基酸序列SEQ ID NO:15至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与氨基酸序列SEQ ID NO:28至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列;

[0274] (c) 分别为SEQ ID NO:5、6和7的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:21、22和23的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与氨基酸序列SEQ ID NO:16至少60、70、80、90、

91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与氨基酸序列SEQ ID NO:29至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列;

[0275] (d) 分别为SEQ ID NO:4、6和7的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:21、22和23的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与氨基酸序列SEQ ID NO:17至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与氨基酸序列SEQ ID NO:30至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列,优选地,其中所述VH包含G51C突变(AHo编号),并且所述VL包含T141C突变(AHo编号);或

[0276] (e) 分别为SEQ ID NO:38、39和40的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:51、52和53的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与氨基酸序列SEQ ID NO:47至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与氨基酸序列SEQ ID NO:57至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列。

[0277] 在一个实施方案中,本发明的CD137-BD包含:

[0278] (a) 分别为SEQ ID NO:1、2和3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:18、19和20的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与氨基酸序列SEQ ID NO:14至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与氨基酸序列SEQ ID NO:27至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列;

[0279] (b) 分别为SEQ ID NO:1、2和3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:18、19和20的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与氨基酸序列SEQ ID NO:15至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与氨基酸序列SEQ ID NO:28至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列;

[0280] (c) 分别为SEQ ID NO:1、2和3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:18、19和20的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与氨基酸序列SEQ ID NO:16至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与氨基酸序列SEQ ID NO:29至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列;

[0281] (d) 分别为SEQ ID NO:1、2和3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:18、19和20的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与氨基酸序列SEQ ID NO:17至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与氨基酸序列SEQ ID NO:30至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列,优选地,其中所述VH包含G51C突变(AHo编号),并且所述VL包含T141C突变(AHo编号);或

[0282] (e) 分别为SEQ ID NO:35、36和37的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:48、49和50的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与氨基酸序列SEQ ID NO:47至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与氨基酸序列SEQ ID NO:57至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列。

[0283] 在一个优选的实施方案中,本发明的CD137-BD包含分别为SEQ ID NO:1、2和3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:18、19和20的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与氨基酸序列SEQ ID NO:17至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与氨基酸序列SEQ ID NO:30至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列,优选地,其中所述VH包含G51C突变(AHo编号),并且所述VL包含T141C突变(AHo编号)。合适地,本发明的所述CD137-BD被突变以在框架区内形成人工结构域间二硫

键,特别是其中半胱氨酸对取代了所述VH上的Gly 51(AHo编号)和所述VL上的Thr 141(AHo编号)。令人惊讶地发现,包含结构域间二硫键的这种CD137-BD具有显著提高的热稳定性。

[0284] 关于二硫桥(“SS桥”或“diS”)的术语“人工的”是指S-S桥不是由野生型抗体天然形成的,而是由亲本分子的工程突变体形成的,其中至少一种外来氨基酸对二硫键做出了贡献。人工二硫桥的定点工程改造明显不同于天然免疫球蛋白或模块化抗体中天然可得的那些,例如WO 2009/000006中描述的那些,因为人工二硫桥的桥墩的至少一个位点通常位于野生型抗体中Cys残基的位置之外,因此提供了框架区内的替代的或另外的二硫键。本发明的人工二硫桥(“结构域间桥”)可以在抗体结构域内进行工程改造,其将稳定 β -折叠结构或桥接结构域(“结构域间桥”)或结构域的链(“链间桥”),以限制本发明的多特异性抗体的结构并支持其与潜在结合伴侣的相互作用。

[0285] 在一个实施方案中,本发明的CD137-BD包含:

[0286] (a) SEQ ID NO:14的VH序列和SEQ ID NO:27的VL序列;

[0287] (b) SEQ ID NO:15的VH序列和SEQ ID NO:28的VL序列;

[0288] (c) SEQ ID NO:16的VH序列和SEQ ID NO:29的VL序列;

[0289] (d) SEQ ID NO:17的VH序列和SEQ ID NO:30的VL序列;或

[0290] (e) SEQ ID NO:47的VH序列和SEQ ID NO:57的VL序列。

[0291] 在一个实施方案中,本发明的CD137-BD包含:

[0292] (a) SEQ ID NO:14的VH序列和SEQ ID NO:27的VL序列;

[0293] (b) SEQ ID NO:15的VH序列和SEQ ID NO:28的VL序列;

[0294] (c) SEQ ID NO:16的VH序列和SEQ ID NO:29的VL序列;

[0295] (d) SEQ ID NO:17的VH序列和SEQ ID NO:30的VL序列;或

[0296] (e) SEQ ID NO:47的VH序列和SEQ ID NO:57的VL序列。

[0297] 在一个优选的实施方案中,本发明的CD137-BD包含SEQ ID NO:17的VH序列和SEQ ID NO:30的VL序列。

[0298] 在一个实施方案中,本发明的CD137-BD在表1中描述。在一个实施方案中,本发明的CD137-BD与选自由SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34或SEQ ID NO:58组成的组的氨基酸序列至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同。在一个实施方案中,本发明的CD137-BD如SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34或SEQ ID NO:58所示。在一个实施方案中,本发明的CD137-BD如SEQ ID NO:31或SEQ ID NO:33或SEQ ID NO:34所示。在一个优选的实施方案中,本发明的CD137-BD如SEQ ID NO:33所示。在一个更优选的实施方案中,本发明的CD137-BD如SEQ ID NO:34所示。

[0299] 在一个优选的实施方案中,本发明的CD137-BD包含重链可变区,其包含与选自由SEQ ID NO:71、72和73组成的组,优选SEQ ID NO:71,更优选SEQ ID NO:73的氨基酸序列至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%,优选至少90%相同的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含与选自由SEQ ID NO:83、84和85组成的组,优选SEQ ID NO:83,更优选SEQ ID NO:85的氨基酸序列至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%,优选至少90%相同的氨基酸序列。在一个具体的实施方案中,本发明的CD137-BD包含:重链可变区,其包含选自SEQ ID NO:71、72和73中任意之一,优选SEQ ID NO:71,更优选SEQ ID NO:73的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含选自SEQ ID NO:83、84和85中任意之一,优选SEQ ID

NO:83,更优选SEQ ID NO:85的氨基酸序列。

[0300] 在另一个实施方案中,本发明的CD137-BD包含:(a) SEQ ID NO:71的VH序列和SEQ ID NO:83的VL序列;(b) SEQ ID NO:72的VH序列和SEQ ID NO:84的VL序列;或(c) SEQ ID NO:73的VH序列和SEQ ID NO:85的VL序列。在一个优选的实施方案中,本发明的CD137-BD包含SEQ ID NO:71的VH序列和SEQ ID NO:83的VL序列。在一个更优选的实施方案中,本发明的CD137-BD包含SEQ ID NO:73的VH序列和SEQ ID NO:85的VL序列。

[0301] 在一个优选的实施方案中,本发明的CD137-BD包含:

[0302] (a) 分别为SEQ ID NO:59、60和61的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:74、75和76的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与氨基酸序列SEQ ID NO:71至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与氨基酸序列SEQ ID NO:83至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列,优选地,其中所述VH包含G51C突变(AHo编号),并且所述VL包含T141C突变(AHo编号);

[0303] (b) 分别为SEQ ID NO:59、60和61的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:74、75和76的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与氨基酸序列SEQ ID NO:72至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与氨基酸序列SEQ ID NO:84至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列;或

[0304] (c) 分别为SEQ ID NO:59、60和61的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:74、75和76的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与氨基酸序列SEQ ID NO:73至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与氨基酸序列SEQ ID NO:85至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列,优选地,其中所述VH包含G51C突变(AHo编号),并且所述VL包含T141C突变(AHo编号)。

[0305] 在一个优选的实施方案中,本发明的CD137-BD包含分别为SEQ ID NO:59、60和61的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:74、75和76的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与氨基酸序列SEQ ID NO:71至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与氨基酸序列SEQ ID NO:83至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列,优选地,其中所述VH包含G51C突变(AHo编号),并且所述VL包含T141C突变(AHo编号)。合适地,本发明的所述CD137-BD被突变以在框架区内形成人工结构域间二硫键,特别是其中半胱氨酸对取代了所述VH上的Gly 51(AHo编号)和所述VL上的Thr 141(AHo编号)。令人惊讶地发现,包含结构域间二硫键的这种CD137-BD具有显著增加的热稳定性。

[0306] 在一个优选的实施方案中,本发明的CD137-BD包含SEQ ID NO:71的VH序列和SEQ ID NO:83的VL序列。在一个更优选的实施方案中,本发明的CD137-BD包含SEQ ID NO:73的VH序列和SEQ ID NO:85的VL。

[0307] 在一个实施方案中,本发明的CD137-BD在表1中描述。在一个实施方案中,本发明的CD137-BD与选自由SEQ ID NO:86、87和88组成的组的氨基酸序列至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同。在一个实施方案中,本发明的CD137-BD如SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:87或SEQ ID NO:88所示。在一个优选的实施方案中,本发明的CD137-BD如SEQ ID NO:86所示。在一个更优选的实施方案中,本发明的CD137-BD如SEQ ID NO:88所示。

[0308] 本发明的其他CD137-BD包括其中氨基酸或编码氨基酸的核酸已经突变、但与表1中所述的序列具有至少60、70、80、90或95%同一性的那些抗体。在一个实施方案中,包括当

与表1中描述的序列中描述的可变区相比时,可变区中已经突变的氨基酸不超过1、2、3、4或5个,同时保留了基本上相同的治疗活性的氨基酸序列。如本文所用,术语“基本上相同的活性”是指由基本上相同的活性表示的活性是针对亲本CD137-BD(特别是表1中所描述的本发明的CD137-BD)确定的活性的至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%或甚至至少100%或至少110%,或至少120%,或至少130%,或至少140%,或至少150%,或至少160%,或至少170%,或至少180%,或至少190%,例如高达200%。

[0309] 鉴于这些结合结构域或抗体中的每一种都可以与CD137结合并且抗原结合特异性主要由CDR1、2和3区提供,因此可以将VH CDR1、2和3序列以及VL CDR1、2和3序列“混合并匹配”(即,可以将来自不同结合结构域或抗体的CDR混合并匹配,但是每种结合结构域或每种抗体必须包含VH CDR1、2和3以及VL CDR1、2和3)以产生本发明的其他的结合CD137的分子。可以使用本领域已知的结合测定法和实施例描述的结合测定法(例如ELISA)来测试这种“混合并匹配的”CD137-BD。当混合并匹配VH CDR序列时,应当将特定VH序列的CDR1、CDR2和/或CDR3序列替换为结构相似的CDR序列。同样,当混合并匹配VL CDR序列时,应当将特定VL序列的CDR1、CDR2和/或CDR3序列替换为结构相似的CDR序列。对于本领域普通技术人员而言显而易见的是,可以通过用来自本文所示的本发明的单克隆抗体或结合结构域的CDR序列的结构上相似的序列来突变一个或多个VH和/或VL CDR区序列来产生新的VH和VL序列。

[0310] 在又一个实施方案中,本发明提供了CD137-BD,其包含与表1中描述的序列同源的氨基酸序列,并且所述结合结构域与CD137结合,并保留了表1中描述的那些结合结构域的所需功能特性。

[0311] 例如,本发明提供了CD137-BD,其包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区包含与选自SEQ ID NO:14、15、16、17、47、71、72和73组成的组,优选SEQ ID NO:17,更优选SEQ ID NO:71的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列;轻链可变区包含与选自SEQ ID NO:27、28、29、30、57、83、84和85组成的组,优选SEQ ID NO:30,更优选SEQ ID NO:85的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列;其中结合结构域与人CD137蛋白特异性结合。

[0312] 在一个实施方案中,VH和/或VL氨基酸序列可以与表1所示的序列50%,60%,70%,80%,90%,95%,96%,97%,98%或99%相同。在一个实施方案中,除了在不超过约1、2、3、4或5个氨基酸位置上的氨基酸取代之外,VH和/或VL氨基酸序列可以是相同的。

[0313] 在一个实施方案中,本发明的CD137-BD具有重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含CDR1、CDR2和CDR3序列,所述轻链可变区包含CDR1、CDR2和CDR3序列,其中这些CDR序列中的一个或多个具有基于本文所述的CD137-BD或其保守修饰的指明的氨基酸序列,其中所述CD137-BD保留了本发明的CD137-BD的所需功能特性。

[0314] 术语“保守修饰的变体”或“保守变体”适用于氨基酸和核酸序列。关于特定的核酸序列,保守修饰的变体是指编码相同或基本上相同的氨基酸序列的那些核酸,或者当核酸不编码氨基酸序列时,是指基本上相同的序列。由于遗传密码的简并性,大量功能上相同的核酸编码任何给定的蛋白质。例如,密码子GCA、GCC、GCG和GCU都编码氨基酸丙氨酸。因此,在其中丙氨酸由一个密码子明确规定的每个位置上,可以将该密码子改变为所描述的相应密码子中任意之一,而不改变所编码的多肽。这样的核酸变异是“沉默变异”,其是保守修饰

的变异的一种。本文中编码多肽的每个核酸序列也描述了核酸的每个可能的沉默变异。本领域技术人员将认识到,可以修饰核酸中的每个密码子(除了AUG和TGG,AUG通常是蛋氨酸的唯一密码子,TGG通常是色氨酸的唯一密码子)以产生功能上相同的分子。因此,编码多肽的核酸的每个沉默变异都隐含在每个所述序列中。

[0315] 对于多肽序列,“保守修饰的变体”或“保守变体”包括对多肽序列的单个取代、缺失或添加,其导致氨基酸被化学上相似的氨基酸取代。提供功能上相似的氨基酸的保守取代代表是本领域众所周知的。这些保守修饰的变体是以下的补充并且不排除以下:本发明的多态变体、种间同系物和等位基因。以下八个组包含彼此保守取代的氨基酸:1) 丙氨酸(A), 甘氨酸(G);2) 天冬氨酸(D), 谷氨酸(E);3) 天冬酰胺(N), 谷氨酰胺(Q);4) 精氨酸(R), 赖氨酸(K);5) 异亮氨酸(I), 亮氨酸(L), 蛋氨酸(M), 缬氨酸(V);6) 苯丙氨酸(F), 酪氨酸(Y), 色氨酸(W);7) 丝氨酸(S), 苏氨酸(T);和8) 半胱氨酸(C), 蛋氨酸(M)(参见,例如Creighton, *Proteins*(1984))。在一个实施方案中,术语“保守序列修饰”用于指不显著影响或改变含有该氨基酸序列的抗体的结合特性的氨基酸修饰。

[0316] 因此,本发明提供了CD137-BD,其由包含CDR1、CDR2和CDR3序列的重链可变区和包含CDR1、CDR2和CDR3序列的轻链可变区组成,其中:重链可变区CDR1包含选自SEQ ID NO:1、4、5、8、11、35、38、41、44、59、62、65和68中任意之一,优选SEQ ID NO:1,更优选SEQ ID NO:59的氨基酸序列或其保守变体,优选由其组成;重链可变区CDR2包含选自SEQ ID NO:2、6、9、12、36、39、42、45、60、63、66和69中任意之一,优选SEQ ID NO:2,更优选SEQ ID NO:60的氨基酸序列或其保守变体,优选由其组成;重链可变区CDR3包含选自SEQ ID NO:3、7、10、13、37、40、43、46、61、64、67和70中任意之一,优选SEQ ID NO:3,更优选SEQ ID NO:61的氨基酸序列或其保守变体,优选由其组成;轻链可变区CDR1包含选自SEQ ID NO:18、21、24、48、51、54、74、77和80中任意之一,优选SEQ ID NO:18,更优选SEQ ID NO:74的氨基酸序列或其保守变体,优选由其组成;轻链可变区CDR2包含选自SEQ ID NO:19、22、25、49、52、55、75、78和81中任意之一,优选SEQ ID NO:19,更优选SEQ ID NO:75的氨基酸序列或其保守变体,优选由其组成;和轻链可变区CDR3包含选自SEQ ID NO:20、23、26、50、53、56、76、79和82中任意之一,优选SEQ ID NO:20,更优选SEQ ID NO:76的氨基酸序列或其保守变体,优选由其组成;其中所述CD137-BD能够在有或没有另外的交联的情况下激活CD137信号传导。

[0317] 在一个实施方案中,本发明的CD137-BD或包含所述CD137-BD的多特异性抗体被优化用于在哺乳动物细胞中表达,所述抗体具有重链可变区和轻链可变区,其中这些序列中的一个或多个具有基于本文所述的CD137-BD或其保守修饰的指明的氨基酸序列,并且其中CD137-BD或包含所述CD137-BD的多特异性抗体保留了本发明CD137-BD的所需功能特性。因此,本发明提供了优化用于在哺乳动物细胞中表达的CD137-BD或包含本发明所述CD137-BD的多特异性抗体,其包含重链可变区和轻链可变区,其中:重链可变区包含选自SEQ ID NO:14、15、16、17、47、71、72和73中任意之一,优选SEQ ID NO:17,更优选SEQ ID NO:71的氨基酸序列,和其保守修饰;和轻链可变区包含选自SEQ ID NO:27、28、29、30、57、83、84和85中任意之一,优选SEQ ID NO:30,更优选SEQ ID NO:83的氨基酸序列,和其保守修饰;其中所述CD137-BD能够在有或没有另外的交联的情况下激活CD137信号传导。

[0318] 如本文所用,术语“优化的”是指将核苷酸序列改变为使用在生产细胞或生物(通常是真核细胞,例如毕赤酵母属细胞、中国仓鼠卵巢细胞(CHO)或人类细胞)中优选的密码

子编码氨基酸。对优化的核苷酸序列进行工程改造,以完全或尽可能保留最初由起始核苷酸序列(也称为“亲本”序列)编码的氨基酸序列。已经对本文的优化序列进行了改造,使其具有在哺乳动物细胞中优选的密码子。然而,本文中还想设想了这些序列在其他真核细胞或原核细胞中的优化表达。由优化的核苷酸序列编码的氨基酸序列也称为被优化的。

[0319] 可变区修饰的另一种类型是使VH和/或VL CDR1、CDR2和/或CDR3区内的氨基酸残基突变,从而改善目标抗体的一种或多种结合特性(例如,亲和力),称为“亲和力成熟”。可以进行定点诱变或PCR介导的诱变以引入突变,并且可以如本文所述和实施例中提供的体外或体内测定中评估对抗体结合或其他目的功能的影响。可以引入保守修改(如上所述)。突变可以是氨基酸取代、添加或缺失。此外,CDR区中通常不超过1、2、3、4或5个残基被改变。

[0320] “亲和力成熟的”抗体或结合结构域是一种抗体,在其一个或多个可变结构域中具有一个或多个改变,与不具有那些改变的亲本抗体或结合结构域相比,这导致抗体或结合结构域对抗原的亲和力得到改善。在一个实施方案中,亲和力成熟的抗体或结合结构域对靶抗原具有纳摩尔或甚至皮摩尔的亲和力。亲和力成熟的抗体或结构域通过本领域已知的方案产生。例如,Marks等人,Bio/Technology 10:779-783(1992)描述了通过VH和VL结构域改组的亲和力成熟。高变区(HVR)和/或框架残基的随机诱变描述于例如:Barbas等人Proc Natl.Acad.Sci.USA 91:3809-3813(1994);Schier等人Gene 169:147-155(1995);Jackson等人,J.Immunol.154(7):3310-9(1995);和Hawkins等人,J.Mol.Biol.226:889-896(1992)。

[0321] 在一个实施方案中,本发明的“亲和力成熟的”CD137-BD包含:VH4,所述VH4包含I44V;F89V;Y105F突变,特别是包含根据SEQ ID NO:15的氨基酸序列;和VL,所述VL包含A51P突变,特别是包含根据SEQ ID NO:28的氨基酸序列。

[0322] 在另一个实施方案中,本发明的“亲和力成熟的”CD137-BD包含:VH4,所述VH4包含V25A;I44V;V82K;F89V;Y105F突变,特别是包含根据SEQ ID NO:16的氨基酸序列;和VL,所述VL包含I2L;A51P突变,特别是包含根据SEQ ID NO:29的氨基酸序列。

[0323] 本发明的CD137-BD可以通过如下方法制备:使用具有本文所示的一个或多个VH和/或VL序列的抗体或其结合结构域作为起始材料来工程改造修饰的结合结构域,该修饰的结合结构域可能具有与起始结合结构域不同的特性。可以通过修饰一个或两个可变区(即VH和/或VL)内,例如一个或多个CDR区内和/或一个或多个框架区内的一个或多个残基来工程化结合结构域。

[0324] 可以执行的一种类型的可变区工程化是CDR移植。抗体或其结合结构域主要通过位于六个重链和轻链互补决定区(CDR)中的氨基酸残基与靶抗原相互作用。因此,各个抗体或其结合结构域之间CDR中的氨基酸序列比CDR之外的序列更具多样性。由于CDR序列负责大多数抗体-抗原相互作用,因此可以通过构建表达载体来表达模仿特定天然存在抗体的特性的重组抗体或结合结构域,该表达载体包含来自该特定天然存在抗体的CDR序列,并且该CDR序列被移植到来自具有不同特性的不同抗体的框架序列上(参见,例如,Riechmann, L.等人,1998Nature 332:323-327;Jones,P.等人,1986Nature 321:522-525;Queen,C.等人,1989Proc.Natl.Acad.,U.S.A.86:10029-10033;美国专利号5,225,539(Winter),和美国专利号5,530,101;5,585,089;5,693,762和6,180,370(Queen等人))。

[0325] 这样的框架序列可以从公共DNA数据库或包括种系抗体基因序列或重排的抗体序

列的公开参考文献中获得。例如,人类重链和轻链可变区基因的种系DNA序列也可以在“VBase”人类种系序列数据库(可以在互联网上在www.mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase获得)以及Kabat,E.A.等人,1991Sequences of Proteins of Immunological Interest,Fifth Edition,U.S.Department of Health and Human Services,NIH Publication No.91-3242; Tomlinson,I.M.等人,1992J.fol.Biol.227:776-798;和Cox,J.P.L.等人,1994Eur.J Immunol.24:827-836中找到;各自的内容通过引用明确地并入本文。例如,人类重链和轻链可变区基因的种系DNA序列和重排抗体序列可以在“IMGT”数据库中找到(可以在网上在www.imgt.org获得;参见Lefranc,M.P.等人,1999Nucleic Acids Res.27:209-212;其各自的内容通过引用明确地并入本文)。

[0326] 用于本发明的CD137-BD的框架序列的实例是与本发明的选择的选CD137-BD所使用的框架序列在结构上相似的那些。可以将VH CDR1、2和3序列以及VL CDR1、2和3序列移植到框架区上,该框架区具有与框架序列所源自的种系免疫球蛋白基因中发现的序列相同的序列,或者可以将CDR序列移植到与种系序列相比包含一个或多个突变的框架区上。例如,已经发现,在某些情况下,使框架区内的残基突变以维持或增强抗体或其结合结构域的抗原结合能力是有益的(参见例如,美国专利号5,530,101;5,585,089;5,693,762和6,180,370(Queen等人))。

[0327] 合适地,本发明的CD137-BD选自由以下组成的组:Fab、Fv、scFv、dsFv、scAb、STAB、单结构域抗体(sdAb或dAb)、单结构域重链抗体和单结构域轻链抗体、VHH、VNAR、单结构域抗体(其基于鲨鱼的VNAR结构)和基于替代支架的结合结构域,所述基于替代支架的结合结构域包括但不限于基于锚蛋白的结构域、fynomer、avimer、anticalin、纤连蛋白和构建在抗体恒定区中的结合位点(例如f-star技术(F-star的Modular Antibody TechnologyTM))。

[0328] 合适地,本发明的CD137-BD是scFv抗体片段。“单链Fv”或“scFv”或“sFv”抗体片段包含抗体的VH和VL结构域,其中这些结构域存在于单个多肽链中。通常,Fv多肽进一步包含VH和VL结构域之间多肽接头,其使得sFv能够形成所需的靶标结合结构。“单链Fv”或“scFv”抗体片段包含抗体的VH和VL结构域,其中这些结构域存在于单个多肽链中。通常,scFv多肽进一步包含VH和VL结构域之间多肽接头,其使得scFv能够形成所需的抗原结合结构(参见,例如,Plückthun,The pharmacology of Monoclonal Antibodies,Vol.113,Rosenburg和Moore编辑,(Springer-Verlag,New York,1994),pp.269-315。

[0329] 在特定实施方案中,所述CD137-BD是scFv,其包含根据SEQ ID NO:206的接头。

[0330] 在另一个实施方案中,本发明的CD137-BD是如SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34和SEQ ID NO:58,优选SEQ ID NO:34所示的单链可变片段(scFv)。在一个实施方案中,本发明的CD137-BD是如SEQ ID NO:32所示的单链可变片段(scFv)。在另一个实施方案中,本发明的CD137-BD是如SEQ ID NO:33所示的单链可变片段(scFv)。在一个优选的实施方案中,本发明的CD137-BD是如SEQ ID NO:34所示的单链可变片段(scFv)。在另一个优选的实施方案中,本发明的CD137-BD是单链可变片段(scFv),如SEQ ID NO:86、87或88,优选SEQ ID NO:86,更优选SEQ ID NO:88所示。

[0331] 用于本发明的多特异性抗体的其他合适的CD137结合结构域包含或衍生自选自由以下组成的组的抗体:(i) urelumab(BMS-663513;完全人源化的IgG4 mAb;Bristol-Myers

Squibb;描述于WO 2004/010947、US 6,887,673和US 7,214,493,这些文献通过引用整体并入本申请);和(ii) utomilumab (PF-05082566;完全人源化的IgG2 mAb;Pfizer;描述于WO 2012/032433和US 8,821,867,这些文献通过引用整体并入本申请)。

[0332] 本发明的多特异性抗体包含至少一个PDL1结合结构域(PDL1-BD)。

[0333] 术语“PDL1”特别是指具有UniProt ID号Q9NZQ7的人PDL1,在本文中SEQ ID NO:198再现。合适地,本发明的PDL1-BD靶向PDL1,特别是人PDL1,如UniProt ID号Q9NZQ7所示,其在本文中SEQ ID NO:198再现。合适地,包含PDL1-BD的本发明的抗体或其抗原结合片段靶向人和食蟹猴(食蟹猕猴)PDL1,并且优选不与小鼠PDL1交叉反应。本发明的PDL1-BD与人PDL1蛋白特异性结合。

[0334] 本发明的PDL1-BD是PDL1抑制剂。术语“阻断剂”或“阻断抗体”或“抑制剂”或“抑制抗体”或“拮抗剂”或“拮抗剂抗体”或“阻断结合结构域”或“抑制结合结构域”是指抑制或降低与其结合的抗原的生物学活性的抗体或其结合结构域。在一些实施方案中,阻断抗体或阻断结合结构域或拮抗剂抗体或拮抗剂结合结构域基本上或完全抑制抗原的生物学活性。本发明的PDL1-BD靶向、降低、抑制PDL1与其结合伴侣的结合能力,从而干扰PDL1的功能。特别地,本发明的PDL1-BD阻断PDL1与其受体,特别是与PD-1的相互作用。在一些实施方案中,本发明的PDL1-BD阻断PDL1与其受体,特别是与PD-1和/或B7-1的相互作用。

[0335] 在一些实施方案中,PDL1-BD衍生自单克隆抗体或抗体片段。

[0336] 用于本发明的多特异性抗体的合适的PDL1-BD是本公开中提供的新型结合结构域。本发明的新型PDL1结合结构域包括但不限于如本文(包括实施例中)所述的分离的人源化单克隆抗体。此类PDL1-BD的实例是抗体或其结合结构域,其序列列于表2中。

[0337] 合适地,本发明的PDL1-BD与PDL1特异性结合,并以下列参数中的一个或多个为特征:

[0338] (i) 与人PDL1结合的解离常数(KD)小于10nM,特别是小于5nM,特别是小于1nM,特别是小于500pM,更特别是小于100pM,优选小于50pM,更优选小于10pM,更优选小于5pM,特别是如通过表面等离子体共振(SPR)所测量的,特别地,其中所述抗体是scFv(单价亲和力);

[0339] (ii) 与人PDL1结合的 K_{off} 速率为 $10^{-3}s^{-1}$ 或更低,或 $10^{-4}s^{-1}$ 或更低,或 $10^{-5}s^{-1}$ 或更低,如通过SPR所测量的,特别地,其中所述抗体是scFv;

[0340] (iii) 与人PDL1结合的 K_{on} 速率为至少 $10^3M^{-1}s^{-1}$ 或更高,至少 $10^4M^{-1}s^{-1}$ 或更高,至少 $10^5M^{-1}s^{-1}$ 或更高,至少 $10^6M^{-1}s^{-1}$ 或更高,如通过SPR所测量的,特别地,其中所述抗体是scFv;

[0341] (iv) 与食蟹猕猴(食蟹猴)PDL1交叉反应,特别是与食蟹猴PDL1结合的KD小于10nM,小于5nM,特别是小于1nM,特别是小于500pM,更特别是小于100pM,优选小于10pM,如通过表面等离子体共振所测量的;

[0342] (v) 不与小鼠PDL1交叉反应,特别是如通过SPR所测量的;和/或

[0343] (vi) 不与人PDL2结合,特别是如通过SPR所测量的。

[0344] 在一个实施方案中,本发明的PDL1-BD对PDL1(例如人PDL1)具有高亲和力。在合适的实施方案中,本发明的PDL1-BD与人PDL1结合的KD为1至50,000pM,1至40,000pM,1至30,000pM,1至20,000pM,1至10,000pM,1至5,000pM,1至2,500pM,1至1,000pM,1至750pM,1至500pM,1至250pM,1至100pM,特别是如通过表面等离子体共振(SPR)所测量的。在合适的实

施方案中,本发明的PDL1-BD与人PDL1结合的KD小于约50nM、小于约45nM、小于约40nM、小于约35nM、小于约30nM、小于约25nM、小于20nM、小于约15nM、小于约10nM、小于约9nM、小于约8nM、小于约7nM、小于约6nM、小于约5nM、小于约4nM、小于约3nM、小于2nM、小于1nM、小于0.5nM、小于0.25nM、小于100pM、小于10pM、或小于5pM,特别是如通过SPR测量的。合适地,本发明的PDL1-BD以小于1nM的KD与人PDL1结合。合适地,本发明的PDL1-BD以小于0.5nM的KD与人PDL1结合,特别是如通过SPR测量的。合适地,本发明的PDL1-BD以小于100pM的KD与人PDL1结合,特别是如通过SPR测量的。优选地,本发明的PDL1-BD以小于10pM的KD与人PDL1结合,特别是如通过SPR测量的。更优选地,本发明的PDL1-BD以小于5pM的KD与人PDL1结合,特别是如通过SPR测量的。

[0345] 合适地,本发明的PDL1-BD与人PDL1结合的 K_{on} 率为至少 $10^3 M^{-1}s^{-1}$ 或更高、至少 $10^4 M^{-1}s^{-1}$ 或更高、至少 $5 \times 10^4 M^{-1}s^{-1}$ 或更高、至少 $10^5 M^{-1}s^{-1}$ 或更高、至少 $5 \times 10^5 M^{-1}s^{-1}$ 或更高、至少 $10^6 M^{-1}s^{-1}$ 或更高、至少 $5 \times 10^6 M^{-1}s^{-1}$ 或更高、至少 $10^7 M^{-1}s^{-1}$ 或更高、至少 $5 \times 10^7 M^{-1}s^{-1}$ 或更高,如通过表面等离子体共振 (SPR) 测量的。优选地,本发明的PDL1-BD与人PDL1结合的 K_{on} 率为至少 $10^5 M^{-1}s^{-1}$ 或更高,特别是至少 $10^6 M^{-1}s^{-1}$ 或更高,如通过SPR测量的,其中所述抗体是scFv (单价亲和力)。

[0346] 合适地,本发明的PDL1-BD与人PDL1结合的 K_{off} 率为 $10^{-3} s^{-1}$ 或更低、 $3 \times 10^{-3} s^{-1}$ 或更低、 $5 \times 10^{-3} s^{-1}$ 或更低、 $10^{-4} s^{-1}$ 或更低、 $5 \times 10^{-4} s^{-1}$ 或更低、 $10^{-5} s^{-1}$ 或更低、 $5 \times 10^{-5} s^{-1}$ 或更低、 $10^{-6} s^{-1}$ 或更低或 $10^{-7} s^{-1}$ 或更低,如通过表面等离子体共振 (SPR) 测量的。优选地,本发明的PDL1-BD与人PDL1结合的 K_{off} 率为 $10^{-3} s^{-1}$ 或更低、 $10^{-4} s^{-1}$ 或更低、特别是 $10^{-5} s^{-1}$ 或更低,如通过SPR所测量的。

[0347] 合适地,本发明的PDL1-BD与PDL1特异性结合,并以下列参数中的一个或多个为特征:

[0348] (i) 当为scFv形式时,其解链温度(T_m) (通过差示扫描荧光法测定) 为至少 $55^\circ C$,至少 $60^\circ C$,优选至少 $65^\circ C$,更优选至少 $70^\circ C$,特别是其中将所述抗体或其抗原结合片段配制在pH 6.4、150mM NaCl的磷酸柠檬酸盐缓冲液中,特别是其中将所述抗体或其抗原结合片段配制在pH 6.4、150mM NaCl的50mM磷酸柠檬酸盐缓冲液中;

[0349] (ii) 当为scFv形式时,当本发明的抗体的起始浓度为10mg/ml时,在5个连续的冻融循环后,所述抗体的单体含量损失小于5%,优选小于3%,更优选小于1%,特别地,其中将所述抗体或其抗原结合片段配制在pH 6.4的具有150mM NaCl的50mM柠檬酸磷酸缓冲液中;和/或

[0350] (iii) 当为scFv形式时,当本发明的抗体的起始浓度为10mg/ml时,并且特别地,其中将本发明的抗体 (例如,所述抗体或其抗原结合片段) 配制在pH 6.4的具有150mM NaCl的50mM柠檬酸磷酸缓冲液中,在 $4^\circ C$ 下储存至少两周,特别是至少4周后,所述抗体的单体含量损失小于15%,例如小于12%,小于10%,小于7%,小于5%,小于4%,小于3%,小于2%,优选小于1%。

[0351] 合适地,本发明的PDL1-BD包含VH CDR,所述VH CDR具有表2中列出的VH CDR中任意之一的氨基酸序列。特别地,本发明的PDL1-BD包含一个、两个、三个或更多个VH CDR,所述VH CDR具有表2中列出的VH CDR中任意之一的氨基酸序列。

[0352] 合适地,本发明的PDL1-BD包含VL CDR,所述VL CDR具有表2中列出的VH CDR中任

意之一的氨基酸序列。特别地,本发明的PDL1-BD包含一个、两个、三个或更多个VL CDR,所述VH CDR具有表2中列出的VL CDR中任意之一的氨基酸序列。

[0353] 本发明的其他PDL1-BD包括已突变、但仍在CDR区中与表2中描述的序列中描述的CDR区具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列。本发明的其他PDL1-BD包括突变氨基酸序列,其中当与表2中描述的序列中描述的CDR区相比时,CDR区中已经突变的氨基酸不超过1、2、3、4或5个。

[0354] 本发明提供了PDL1-BD,其包含(a)重链可变区CDR1,其包含选自SEQ ID NO:89、92、93、96、99、119、122、123、126和129中任意之一,优选SEQ ID NO:89或119,更优选SEQ ID NO:89的氨基酸序列,优选由其组成;(b)重链可变区CDR2,其包含选自SEQ ID NO:90、94、97、100、120、124、127和130中任意之一,优选SEQ ID NO:90或120,更优选SEQ ID NO:90的氨基酸序列,优选由其组成;(c)重链可变区CDR3,其包含选自SEQ ID NO:91、95、98、101、121、125、128和131中任意之一,优选SEQ ID NO:91或121,更优选SEQ ID NO:91的氨基酸序列,优选由其组成;(d)轻链可变区CDR1,其包含选自SEQ ID NO:105、108、111、135、138和141中任意之一,优选SEQ ID NO:105或135,更优选SEQ ID NO:105的氨基酸序列,优选由其组成;(e)轻链可变区CDR2,其包含选自SEQ ID NO:106、109、112、136、139和142中任意之一,优选SEQ ID NO:106或136,更优选SEQ ID NO:106的氨基酸序列,优选由其组成;和(f)轻链可变区CDR3,其包含选自SEQ ID NO:107、110、113、137、140和143中任意之一,优选SEQ ID NO:107或137,更优选SEQ ID NO:107的氨基酸序列,优选由其组成。

[0355] 合适地,本发明的分离的抗体或其抗原结合片段包含:(a)重链可变区CDR1,其包含与SEQ ID NO:89、92、93、96、99、119、122、123、126和129中任意之一,优选SEQ ID NO:89或119,更优选SEQ ID NO:89具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(b)重链可变区CDR2,其包含与SEQ ID NO:90、94、97、100、120、124、127和130中任意之一,优选SEQ ID NO:90或120,更优选为SEQ ID NO:90具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(c)重链可变区CDR3,其包含与SEQ ID NO:91、95、98、101、121、125、128和131中任意之一,优选SEQ ID NO:91或121,更优选SEQ ID NO:91具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(d)轻链可变区CDR1,其包含与SEQ ID NO:105、108、111、135、138和141中任意之一,优选SEQ ID NO:105或135,更优选SEQ ID NO:105具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(e)轻链可变区CDR2,其包含与SEQ ID NO:106、109、112、136、139和142中任意之一,优选SEQ ID NO:106或136,更优选为SEQ ID NO:106具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;和(f)轻链可变区CDR3,其包含与SEQ ID NO:107、110、113、137、140和143中任意之一,优选SEQ ID NO:107或137,更优选为SEQ ID NO:107具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成。

[0356] 在一个实施方案中,本发明的PDL1-BD包含:(a)分别为SEQ ID NO:89、90和91的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:105、106和107的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(b)分别为SEQ ID NO:92、94和95的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:108、109和110的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(c)分别为SEQ ID NO:93、94和95的HCDR1、

HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:108、109和110的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(d) 分别为SEQ ID NO:96、97和98的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:105、106和107的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(e) 分别为SEQ ID NO:99、100和101的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:111、112和113的LCDR1、LCDR2和LCDR3;(f) 分别为SEQ ID NO:119、120和121的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:135、136和137的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(g) 分别为SEQ ID NO:122、124和125的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:138、139和140的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(h) 分别为SEQ ID NO:123、124和125的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:138、139和140的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(f) 分别为SEQ ID NO:126、127和128的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:135、136和137的LCDR1、LCDR2和LCDR3;(j) 分别为SEQ ID NO:129、130和131的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:141、142和143的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。在一个实施方案中,本发明的PDL1-BD包含分别为SEQ ID NO:89、90和91的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:105、106和107的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。在一个实施方案中,本发明的PDL1-BD包含分别为SEQ ID NO:119、120和121的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:135、136和137的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。

[0357] 合适地,本发明的PDL1-BD包含:(a) 分别与SEQ ID NO:89、90和91具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:105、106和107具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(b) 分别与SEQ ID NO:92、94和95具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:108、109和110具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(c) 分别与SEQ ID NO:93、94和95具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:108、109和110具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(d) 分别与SEQ ID NO:96、97和98具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:105、106和107具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(e) 分别与SEQ ID NO:99、100和101具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:111、112和113具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(f) 分别与SEQ ID NO:119、120和121具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:135、136和137具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(g) 分别与SEQ ID NO:122、124和125具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:138、139和140具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(h) 分别与SEQ ID NO:123、124和125具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:138、139和140具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、

96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列；(i) 分别与SEQ ID NO:126、127和128具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列，和分别与SEQ ID NO:135、136和137具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列；(j) 分别与SEQ ID NO:129、130和131具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列，和分别与SEQ ID NO:141、142和143具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。在一个实施方案中，本发明的PDL1-BD包含分别与SEQ ID NO:89、90和91具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列，和分别与SEQ ID NO:105、106和107具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。在另一个实施方案中，本发明的PDL1-BD包含分别与SEQ ID NO:119、120和121具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列，和分别与SEQ ID NO:135、136和137具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。

[0358] 合适地，本发明的PDL1-BD包含：(a) HCDR1，其包含SEQ ID NO:89的氨基酸序列，优选由其组成；(b) HCDR2，其包含SEQ ID NO:90的氨基酸序列，优选由其组成；(c) HCDR3，其包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列，优选由其组成；(d) LCDR1，其包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列，优选由其组成；(e) LCDR2，其包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列，优选由其组成；和(f) LCDR3，其包含SEQ ID NO:107的氨基酸序列，优选由其组成。合适地，本发明的PDL1-BD包含：(a) HCDR1，其包含与SEQ ID NO:89具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列，优选由其组成；(b) HCDR2，其包含与SEQ ID NO:90具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列，优选由其组成；(c) HCDR3，其包含与SEQ ID NO:91具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列，优选由其组成；(d) LCDR1，其包含与SEQ ID NO:105具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列，优选由其组成；(e) LCDR2，其包含与SEQ ID NO:106具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列，优选由其组成；和(f) LCDR3，其包含与SEQ ID NO:107具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列，优选由其组成。

[0359] 在另一个实施方案中，本发明的PDL1-BD包含：(a) HCDR1，其包含SEQ ID NO:92或SEQ ID NO:93的氨基酸序列，优选由其组成；(b) HCDR2，其包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列，优选由其组成；(c) HCDR3，其包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列，优选由其组成；(d) LCDR1，其包含SEQ ID NO:108的氨基酸序列，优选由其组成；(e) LCDR2，其包含SEQ ID NO:109的氨基酸序列，优选由其组成；和(f) LCDR3，其包含SEQ ID NO:110的氨基酸序列，优选由其组成。合适地，本发明的PDL1-BD包含：(a) HCDR1，其包含与SEQ ID NO:92或SEQ ID NO:93具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列，优选由其组成；(b) HCDR2，其包含与SEQ ID NO:94具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列，优选由其组成；(c) HCDR3，其包含与SEQ ID NO:95具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列，优选由其组成；(d) LCDR1，其包含与SEQ ID NO:108具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%

同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(e)LCDR2,其包含与SEQ ID NO:109具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;和(f)LCDR3,其包含与SEQ ID NO:110具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成。

[0360] 合适地,本发明的PDL1-BD包含:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列,优选由其组成;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列,优选由其组成;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列,优选由其组成;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列,优选由其组成;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:136的氨基酸序列,优选由其组成;和(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列,优选由其组成。合适地,本发明的PDL1-BD包含:(a)HCDR1,其包含与SEQ ID NO:119具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(b)HCDR2,其包含与SEQ ID NO:120具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(c)HCDR3,其包含与SEQ ID NO:121具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(d)LCDR1,其包含与SEQ ID NO:135具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(e)LCDR2,其包含与SEQ ID NO:136具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;和(f)LCDR3,其包含与SEQ ID NO:137具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成。

[0361] 在另一个实施方案中,本发明的PDL1-BD包含:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:122或SEQ ID NO:123的氨基酸序列,优选由其组成;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列,优选由其组成;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列,优选由其组成;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列,优选由其组成;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列,优选由其组成;和(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:140的氨基酸序列,优选由其组成。合适地,本发明的PDL1-BD包含:(a)HCDR1,其包含与SEQ ID NO:122或SEQ ID NO:123具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(b)HCDR2,其包含与SEQ ID NO:124具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(c)HCDR3,其包含与SEQ ID NO:125具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(d)LCDR1,其包含与SEQ ID NO:138具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(e)LCDR2,其包含与SEQ ID NO:139具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;和(f)LCDR3,其包含与SEQ ID NO:140具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成。

[0362] 在另一个实施方案中,本发明提供了特异性结合PDL1(例如人PDL1蛋白)的PDL1-BD,其中所述结合结构域包含VH结构域和VL结构域。

[0363] 合适地,本发明的PDL1-BD包含VH1A、VH1B、VH3或VH4。在一个实施方案中,本发明的PDL1-BD包含VH3结构域。在一个实施方案中,本发明的PDL1-BD包含VH4结构域。在一个实施方案中,本发明的PDL1-BD包含VH1A或VH1B结构域。

[0364] 属于VH1家族的VH的一个具体示例由SEQ ID NO:103表示。特别地,取自SEQ ID

NO:103的框架区FR1至FR4属于VH1家族(表1,非粗体标记的区域)。合适地,本文所用的属于VH1家族的VH包含与SEQ ID NO:103的FR1至FR4具有至少85%,优选至少90%,更优选至少95%的序列同一性的FR1至FR4。

[0365] 属于VH3家族的VH的一个具体示例由SEQ ID NO:104表示。特别地,取自SEQ ID NO:104的框架区FR1至FR4属于VH3家族(表2,非粗体标记的区域)。合适地,本文所用的属于VH3家族的VH包含与SEQ ID NO:104的FR1至FR4具有至少85%,优选至少90%,更优选至少95%的序列同一性的FR1至FR4。

[0366] 属于VH4家族的VH的一个具体示例由SEQ ID NO:102表示。特别地,取自SEQ ID NO:102的框架区FR1至FR4属于VH4家族(表2,非粗体标记的区域)。合适地,本文所用的属于VH4家族的VH包含与SEQ ID NO:102的FR1至FR4具有至少85%,优选至少90%,更优选至少95%的序列同一性的FR1至FR4。

[0367] 合适地,本发明的PDL1-BD包含: V_{κ} 框架FR1、FR2和FR3,特别是 $V_{\kappa 1}$ 或 $V_{\kappa 3}$ 框架,优选 $V_{\kappa 1}$ 框架FR1至3,以及框架FR4,所述框架FR4选自 V_{κ} FR4,特别是 $V_{\kappa 1}$ FR4、 $V_{\kappa 3}$ FR4和 V_{λ} FR4。合适的 $V_{\kappa 1}$ 框架FR1至3在SEQ ID NO:114中列出(表2,FR区以非粗体标记)。合适的 $V_{\kappa 1}$ 框架FR1至3包含与对应于FR1至3并选自SEQ ID NO:114(表2,FR区以非粗体标记)的氨基酸序列具有至少60、70、80、90%同一性的氨基酸序列。合适的 V_{λ} FR4如SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205所示。在一个实施方案中,本发明的PDL1-BD包含 V_{λ} FR4,所述 V_{λ} FR4包含与选自SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205中任意之一的氨基酸序列具有至少60、70、80、90%同一性的氨基酸序列。

[0368] 因此,在一个实施方案中,本发明的PDL1-BD包含:

[0369] (i) 以下的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3序列:

[0370] a. 分别为SEQ ID NO:92、94和95的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:108、109和110的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;

[0371] b. 分别为SEQ ID NO:122、124和125的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:138、139和140的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;或

[0372] c. 分别为SEQ ID NO:123、124和125的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:138、139和140的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;

[0373] (ii) VH3或VH4结构域,优选VH4结构域;和

[0374] (iii) VL结构域,其包含VL框架,所述VL框架包含 V_{κ} 框架FR1、FR2和FR3,特别是 $V_{\kappa 1}$ 或 $V_{\kappa 3}$ FR1至FR3,优选 $V_{\kappa 1}$ FR1至FR3,以及框架FR4,所述框架FR4选自 V_{κ} FR4,特别是 $V_{\kappa 1}$ FR4、 $V_{\kappa 3}$ FR4和 V_{λ} FR4,优选包含与选自SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205中任意之一的氨基酸序列具有至少60、70、80、90%同一性的氨基酸序列的 V_{λ} FR4,优选地, V_{λ} FR4如SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205所示,更优选地, V_{λ} FR4如SEQ ID NO:199所示。

[0375] 在另一个实施方案中,本发明的PDL1-BD包含:

[0376] (i) 分别为SEQ ID NO:93、94和95的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:108、109和110的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;

[0377] (ii) VH1A、VH1B、VH3或VH4结构域,优选VH1A或VH1B结构域;和

[0378] (iii) VL结构域,其包含VL框架,所述VL框架包含 V_{κ} 框架FR1、FR2和FR3,特别是 $V_{\kappa 1}$ 或 $V_{\kappa 3}$ FR1至FR3,优选 $V_{\kappa 1}$ FR1至FR3,以及框架FR4,所述框架FR4选自 V_{κ} FR4,特别是 $V_{\kappa 1}$

FR4、V κ 3 FR4和V λ FR4,优选包含与选自SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205中任意之一的氨基酸序列具有至少60、70、80、90%同一性的氨基酸序列的V λ FR4,优选包含选自SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205中任意之一的氨基酸序列的V λ FR4,更优选地,V λ FR4如SEQ ID NO:199所示。

[0379] 在一个具体的实施方案中,本发明的PDL1-BD包含:

[0380] (i) 分别为SEQ ID NO:119、120和121的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:135、136和137的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;

[0381] (ii) VH3或VH4结构域,优选VH4结构域;和

[0382] (iii) VL结构域,其包含VL框架,所述VL框架包含V κ 框架FR1、FR2和FR3,特别是V κ 1或V κ 3 FR1至FR3,优选V κ 1 FR1至FR3,以及框架FR4,所述框架FR4选自V κ FR4,特别是V κ 1 FR4、V κ 3 FR4和V λ FR4,优选包含与选自SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205中任意之一的氨基酸序列具有至少60、70、80、90%同一性的氨基酸序列的V λ FR4,优选包含选自SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205中任意之一的氨基酸序列的V λ FR4,更优选地,V λ FR4如SEQ ID NO:199所示。

[0383] 在一个优选的实施方案中,本发明的PDL1-BD包含:

[0384] (i) 分别为SEQ ID NO:89、90和91的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:105、106和107的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;

[0385] (ii) VH3或VH4结构域框架序列FR1至FR4;优选VH3结构域框架序列FR1至FR4;和

[0386] (iii) VL结构域,其包含VL框架,所述VL框架包含V κ 框架FR1、FR2和FR3,特别是V κ 1或V κ 3 FR1至FR3,优选V κ 1 FR1至FR3,以及框架FR4,所述框架FR4选自V κ FR4,特别是V κ 1 FR4、V κ 3 FR4和V λ FR4,优选包含与选自SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205中任意之一的氨基酸序列具有至少60、70、80、90%同一性的氨基酸序列的V λ FR4,优选地,V λ FR4如SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205所示,更优选地,V λ FR4如SEQ ID NO:199所示。

[0387] 在一个实施方案中,本发明的PDL1-BD包含VL,所述VL包含:

[0388] (i) CDR结构域CDR1、CDR2和CDR3;

[0389] (ii) 人V κ 框架区FR1至FR3,特别是人V κ 1框架区FR1至FR3;

[0390] (iii) FR4,其选自(a)FR4的人V λ 种系序列,特别是选自下列的V λ 种系序列:SEQ ID NO:199至205,优选地,V λ FR4如SEQ ID NO:199所示;和(b)基于V λ 的序列,与最接近的FR4的人V λ 种系序列相比,所述基于V λ 的序列具有一个或两个突变,特别是一个突变,所述最接近的FR4的人V λ 种系序列包含选自SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205中任意之一,优选SEQ ID NO:199的氨基酸序列。

[0391] 本发明的PDL1-BD包含表2中列出的VH结构域。合适地,本发明的PDL1-BD包含表2中列出的VH氨基酸序列,其中框架序列(例如,不是CDR的序列)中已经突变(其中,作为各种非限制性实例,突变是添加、取代或缺失)的氨基酸不超过约10个。合适地,本发明的PDL1-BD包含表2中列出的VH氨基酸序列,其中框架序列(例如,不是CDR的序列)中已经突变(其中,作为各种非限制性实例,突变是添加、取代或缺失)的氨基酸不超过约20个。本发明的其他PDL1-BD包括已突变、但仍在VH区中与表2中描述的序列中描述的VH区具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列。

[0392] 本发明的PDL1-BD包含表2中列出的VL结构域。合适地,本发明的PDL1-BD包含表2

中列出的VL氨基酸序列,其中框架序列(例如,不是CDR的序列)中已经突变(其中,作为各种非限制性实例,突变是添加、取代或缺失)的氨基酸不超过约10个。合适地,本发明的PDL1-BD包含表2中列出的VL氨基酸序列,其中框架序列(例如,不是CDR的序列)中已经突变(其中,作为各种非限制性实例,突变是添加、取代或缺失)的氨基酸不超过约20个。本发明的其他PDL1-BD包括已突变、但仍在VL区中与表2中描述的序列中描述的VL区具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列。

[0393] 合适地,本发明的PDL1-BD包含重链可变区,其包含与选自SEQ ID NO:102、103、104、132、133和134组成的组,优选SEQ ID NO:102或104,更优选SEQ ID NO:104的氨基酸序列至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%,优选至少90%相同的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含与选自SEQ ID NO:114、115、144和145组成的组,优选SEQ ID NO:114或115,更优选SEQ ID NO:115的氨基酸序列至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%,优选至少90%相同的氨基酸序列。

[0394] 在一个实施方案中,本发明的PDL1-BD包含:重链可变区,其包含选自SEQ ID NO:102、103、104、132、133和134中任意之一,优选SEQ ID NO:102或104,更优选SEQ ID NO:104的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含选自SEQ ID NO:114、115、144和145中任意之一,优选SEQ ID NO:114或115,更优选SEQ ID NO:115的氨基酸序列。

[0395] 在另一个实施方案中,本发明的PDL1-BD包含:(a) SEQ ID NO:102的VH序列和SEQ ID NO:114的VL序列;(b) SEQ ID NO:103的VH序列和SEQ ID NO:114的VL序列;(c) SEQ ID NO:104的VH序列和SEQ ID NO:115的VL序列;(d) SEQ ID NO:132的VH序列和SEQ ID NO:144的VL序列;(e) SEQ ID NO:133的VH序列和SEQ ID NO:145的VL序列;或(f) SEQ ID NO:134的VH序列和SEQ ID NO:144的V序列。在一个优选的实施方案中,本发明的PDL1-BD包含SEQ ID NO:102的VH序列和SEQ ID NO:114的VL序列。在一个更优选的实施方案中,本发明的PDL1-BD包含SEQ ID NO:104的VH序列和SEQ ID NO:115的VL序列。

[0396] 在一个实施方案中,本发明的PDL1-BD包含:

[0397] (a) 分别为SEQ ID NO:92、94和95的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:108、109和110的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与SEQ ID NO:102至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与SEQ ID NO:114至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列;

[0398] (b) 分别为SEQ ID NO:93、94和95的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:108、109和110的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与SEQ ID NO:103至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与SEQ ID NO:114至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列;

[0399] (c) 分别为SEQ ID NO:92、93和94的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:108、109和110的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与SEQ ID NO:104至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与SEQ ID NO:115至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列,优选地,其中所述VH包含G56A和Y105F突变(AH₀编号),并且所述VL包含S9A和A51P突变(AH₀编号);

[0400] (d) 分别为SEQ ID NO:122、124和125的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:138、139和140的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与SEQ ID NO:132至少60、70、80、90、91、

92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与SEQ ID NO:144至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列;

[0401] (e) 分别为SEQ ID NO:123、124和125的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:138、139和140的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与SEQ ID NO:133至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与SEQ ID NO:145至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列,优选地,其中所述VH包含V2S、V25A、I44V、G56A、V82K、F89V和Y105F突变(AHo编号),并且所述VL包含I2F、M4L和A51P突变(AHo编号);或

[0402] (f) 分别为SEQ ID NO:122、124和125的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:138、139和140的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与SEQ ID NO:134至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与SEQ ID NO:144至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列,优选地,其中所述VH包含V25A、I44V、G56A、V82K和F89V突变(AHo编号)。

[0403] 在一个实施方案中,本发明的PDL1-BD包含:

[0404] (a) 分别为SEQ ID NO:89、90和91的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:105、106和107的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与SEQ ID NO:102至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与SEQ ID NO:114至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列;

[0405] (b) 分别为SEQ ID NO:89、90和91的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:105、106和107的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与SEQ ID NO:103至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与SEQ ID NO:114至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列;

[0406] (c) 分别为SEQ ID NO:89、90和91的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:105、106和107的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与SEQ ID NO:104至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与SEQ ID NO:115至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列,优选地,其中所述VH包含G56A和Y105F突变(AHo编号),并且所述VL包含S9A和A51P突变(AHo编号);

[0407] (d) 分别为SEQ ID NO:119、120和121的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:135、136和137的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与SEQ ID NO:132至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与SEQ ID NO:144至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列;

[0408] (e) 分别为SEQ ID NO:119、120和121的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:1135、136和137的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与SEQ ID NO:133至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与SEQ ID NO:145至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列,优选地,其中所述VH包含V2S、V25A、I44V、G56A、V82K、F89V和Y105F突变(AHo编号),并且所述VL包含I2F、M4L和A51P突变(AHo编号);或

[0409] (f) 分别为SEQ ID NO:119、120和121的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:135、136和137的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与SEQ ID NO:134至少60、70、80、90、91、

92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与SEQ ID NO:144至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列,优选地,其中所述VH包含V25A、I44V、G56A、V82K和F89V突变(AHo编号)。

[0410] 在一个优选的实施方案中,本发明的PDL1-BD包含分别为SEQ ID NO:89、90和91的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:105、106和107的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与SEQ ID NO:104至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列;和与SEQ ID NO:115至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列,优选地,其中所述VH包含G56A和Y105F突变(AHo编号),并且所述VL包含S9A和A51P突变(AHo编号)。

[0411] 在一个实施方案中,与PDL1特异性结合的PDL1-BD是表2中描述的结合结构域。在一个实施方案中,与PDL1特异性结合的本发明的PDL1-BD如SEQ ID NO:116、SEQ ID NO:117、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:146、SEQ ID NO:147、或SEQ ID NO:148所示。在一个实施方案中,与PDL1特异性结合的本发明的PDL1-BD如SEQ ID NO:116或SEQ ID NO:117、或SEQ ID NO:118,优选SEQ ID NO:116,更优选SEQ ID NO:118所示。在一个实施方案中,与PDL1特异性结合的本发明的PDL1-BD如SEQ ID NO:146或SEQ ID NO:147或SEQ ID NO:148,优选SEQ ID NO:146,更优选SEQ ID NO:148所示。

[0412] 本发明的其他PDL1-BD包括其中氨基酸或编码氨基酸的核酸已经突变、但与表2中所述的序列具有至少60、70、80、90或95%同一性的那些抗体。在一个实施方案中,包括当与表2中描述的序列中描述的可变区相比时,可变区中已经突变的氨基酸不超过1、2、3、4或5个,同时保留了基本上相同的活性的氨基酸序列。如本文所用,术语“基本上相同的活性”是指由基本上相同的活性表示的活性是针对亲本PDL1-BD(特别是表2中所述的本发明的PDL1-BD)确定的活性的至少50%,至少60%,至少70%,至少80%,至少90%,至少95%,至少98%或甚至至少100%或至少110%,或至少120%,或至少130%,或至少140%,或至少150%,或至少160%,或至少170%,或至少180%,或至少190%,例如高达200%。

[0413] 考虑到这些结合结构域中的每一个都可以结合PDL1,并且抗原结合特异性主要由CDR1、2和3区提供,因此可以将VH CDR1、2和3序列以及VL CDR1、2和3序列“混合并匹配”。可以使用本领域已知的结合测定法和实施例中描述的结合测定法(例如ELISA)来测试这种“混合并匹配的”PDL1-BD。当混合并匹配VH CDR序列时,应当将特定VH序列的CDR1、CDR2和/或CDR3序列替换为结构相似的CDR序列。同样,当混合并匹配VL CDR序列时,应当将特定VL序列的CDR1、CDR2和/或CDR3序列替换为结构相似的CDR序列。

[0414] 在又一个实施方案中,本发明的PDL1-BD包含与表2中描述的序列同源的氨基酸序列,并且所述BD与PDL1结合,并保留了表2中描述的那些抗体的所需功能特性。

[0415] 例如,本发明提供了PDL1-BD,其包含重链可变区和轻链可变区,其中重链可变区包含与选自由SEQ ID NO:102、103、104、132、133和134组成的组,优选SEQ ID NO:102或104,更优选SEQ ID NO:104的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列;轻链可变区包含与选自由SEQ ID NO:114、115、144和145组成的组,优选SEQ ID NO:114或115,更优选SEQ ID NO:115的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列。

[0416] 在一个实施方案中,VH和/或VL氨基酸序列可以与表2所示的序列50%、60%、

70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%相同。在一个实施方案中,除了在不超过约1、2、3、4或5个氨基酸位置上的氨基酸取代之外,VH和/或VL氨基酸序列可以是相同的。

[0417] 在一个实施方案中,本发明提供了PDL1-BD,其包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含CDR1、CDR2和CDR3序列,所述轻链可变区包含CDR1、CDR2和CDR3序列,其中这些CDR序列中的一个或多个具有基于本文所述的PDL1-BD或其保守修饰的指明的氨基酸序列,并且其中所述PDL1-BD保留了本发明的PDL1-BD的所需功能特性。

[0418] 因此,本发明提供了PDL1-BD,其包含:包含CDR1、CDR2和CDR3序列的重链可变区和包含CDR1、CDR2和CDR3序列的轻链可变区,其中:重链可变区CDR1包含选自SEQ ID NO:89、92、93、96、99、119、122、123、126和129中任意之一,优选SEQ ID NO:89或119,更优选SEQ ID NO:89的氨基酸序列,或其保守变体;重链可变区CDR2包含选自SEQ ID NO:90、94、97、100、120、124、127和130中任意之一,优选SEQ ID NO:90或120,更优选SEQ ID NO:90的氨基酸序列,或其保守变体;重链可变区CDR3包含选自SEQ ID NO:91、95、98、101、121、125、128和131中任意之一,优选SEQ ID NO:91或121,更优选SEQ ID NO:91的氨基酸序列,或其保守变体;轻链可变区CDR1包含选自SEQ ID NO:105、108、111、135、138和141中任意之一,优选SEQ ID NO:105或135,更优选SEQ ID NO:105的氨基酸序列,或其保守变体;轻链可变区CDR2包含选自SEQ ID NO:106、109、112、136、139和14中任意之一,优选SEQ ID NO:106或136,更优选SEQ ID NO:106的氨基酸序列,或其保守变体;和轻链可变区CDR3包含选自SEQ ID NO:107、110、113、137、140和143中任意之一,优选SEQ ID NO:107或137,更优选SEQ ID NO:107的氨基酸序列,或其保守变体;其中所述PDL1-BD与PDL1特异性结合并且能够阻断PD-1/PDL1相互作用。

[0419] 在一个实施方案中,本发明的PDL1-BD被优化用于在哺乳动物细胞中表达,其具有重链可变区和轻链可变区,其中这些序列中的一个或多个具有基于本文所述的结合结构域或其保守修饰的指明的氨基酸序列,并且其中所述结合结构域保留了本发明的PDL1-BD的所需功能特性。因此,本发明提供了优化用于在哺乳动物细胞中表达的PDL1-BD,其包含重链可变区和轻链可变区,其中:重链可变区包含选自SEQ ID NO:102、103、104、132、133和134中任意之一,优选SEQ ID NO:102或104,更优选SEQ ID NO:104的氨基酸序列,和其保守修饰;和轻链可变区包含选自SEQ ID NO:114、115、144和145中任意之一,优选SEQ ID NO:114或115,更优选SEQ ID NO:115的氨基酸序列,和其保守修饰;其中所述PDL1-BD与PDL1特异性结合并且能够阻断PD-1/PDL1相互作用。

[0420] 在一个实施方案中,本发明的PDL1-BD包含:VH3,所述VH3包含G56A和Y105F突变,特别是包含根据SEQ ID NO:104的氨基酸序列;和优选的VL,所述VL包含S9A;A51P突变,特别是包含根据SEQ ID NO:115的氨基酸序列。

[0421] 在一个实施方案中,本发明的“亲和力成熟的”PDL1-BD包含:VH4,所述VH4包含V25A;I44V;G56A;V82K;F89V突变,特别是包含根据SEQ ID NO:134的氨基酸序列;和优选的VL,所述VL包含根据SEQ ID NO:144的氨基酸序列。在另一个实施方案中,本发明的“亲和力成熟的”PDL1-BD包含:VH4,所述VH4包含V2S;V25A;I44V;G56A;V82K;F89V;Y105F突变,特别是包含根据SEQ ID NO:133的氨基酸序列;和VL,所述VL包含I2F;M4L;A51P突变,特别是包含根据SEQ ID NO:145的氨基酸序列。

[0422] 本发明的PDL1-BD可以进一步通过如下方法制备:使用具有本文所示的一个或多

个VH和/或VL序列的抗体或结合结构域作为起始材料来工程化修饰的结合结构域,该修饰的结合结构域可能具有与起始抗体或结合结构域不同的特性。可以通过修饰一个或两个可变区(即VH和/或VL)内,例如一个或多个CDR区内和/或一个或多个框架区内的一个或多个残基来工程改造结合结构域。

[0423] 合适地,本发明的PDL1-BD选自由以下组成的组:Fab、Fv、scFv、dsFv、scAb、STAB和基于替代支架的结合结构域,包括但不限于基于锚蛋白的结构域、fynomer、avimer、anticalin、纤连蛋白和构建在抗体恒定区中的结合位点(例如f-star技术(F-star的Modular Antibody Technology™))。

[0424] 合适地,本发明的PDL1-BD是scFv抗体片段。在特定实施方案中,所述PDL1-BD是scFv,其包含根据SEQ ID NO:206的接头。

[0425] 在另一个实施方案中,本发明的PDL1-BD是如SEQ ID NO:116、SEQ ID NO:117、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:146、SEQ ID NO:147和SEQ ID NO:148所示的单链可变片段(scFv)。在一个实施方案中,本发明的PDL1-BD是如SEQ ID NO:116或SEQ ID NO:117或SEQ ID NO:118,优选SEQ ID NO:116或118,更优选SEQ ID NO:118所示的scFv。在一个实施方案中,本发明的PDL1-BD是如SEQ ID NO:146或SEQ ID NO:147或SEQ ID NO:148,优选SEQ ID NO:147或148,更优选SEQ ID NO:148所示的scFv。

[0426] 其他合适的PDL1-BD包含或衍生自选自由以下组成的组的抗体:(i)阿维鲁单抗(MSB0010718C;人IgG1抗PDL1单克隆抗体;Merck-Serono;描述于WO 2013/079174,其通过引用整体并入本申请);(ii)atezolizumab(MPDL3280A, RG7446;人IgG抗PDL1单克隆抗体;Hoffmann-La Roche);(iii)MDX-1105(BMS-936559;人IgG4抗PDL1单克隆抗体;Bristol-Myers Squibb;描述于WO 2007/005874,其通过引用整体并入本申请);(iv)durvalumab(MEDI4736;人源IgG1抗PDL1单克隆抗体;AstraZeneca;描述于WO 2011/066389和US 2013/034559,其通过引用整体并入本申请);(v)KN035(抗PDL1单克隆抗体;3D Medicines);(vi)LY3300054(抗PDL1单克隆抗体;Eli Lilly);和(vii)YW243.55.S70(描述于WO 2010/077634和美国专利号8,217,149,其通过引用整体并入本文)。

[0427] 发明人进一步令人惊讶地发现,在CD137-BD和PDL1-BD的亲合力(affinity)或亲合力(avidity)之间的某些比例下,最大活性的浓度窗口被扩大,预测这对治疗应用是有益的,并且使得在本发明的多特异性抗体或包含其的药物组合物的给药方面,具有更高的灵活性。因此,在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体包含至少一个CD137-BD和至少一个PDL1-BD,其中所述CD137-BD的亲合力比所述PDL1-BD的亲合力弱至少5.0倍,优选至少10倍,例如至少50倍,至少100倍,至少200倍,至少300倍,至少400倍,更优选至少500倍,例如至少600倍,至少700倍,至少800倍,至少900倍,至少1,000倍,特别是当通过SPR测量时。换句话说,本发明的多特异性抗体包含至少一个CD137-BD和至少一个PDL1-BD,其中所述CD137-BD与人CD137结合的解离常数(KD)比所述PDL1-BD与人PDL1结合解离常数(KD)高至少5.0,优选至少10倍,例如至少50倍,至少100倍,至少200倍,至少300倍,至少400倍,更优选至少500倍,例如至少600倍,至少700倍,至少800倍,至少900倍,至少1,000倍,特别是当通过SPR测量时。因此,合适地,本发明的多特异性抗体包含至少一个CD137-BD和至少一个PDL1-BD,其中所述CD137-BD与人CD137结合的解离常数(KD)比所述PDL1-BD与人PDL1结合解离常数(KD)高5至1,000倍,例如10至1000倍,优选50至1,000倍,更优选100至1,000倍,例

如200至1,000倍,300至1,000倍,400至1,000倍,500至1,000倍,600至1,000倍,700至1,000倍,800至1,000倍,900至1,000倍,特别是当通过SPR测量时。在另一个实施方案中,所述CD137-BD与人CD137结合的解离常数(KD)在10nM至10pM之间,优选10nM至0.1nM之间,例如5nM至0.1nM之间,更优选5nM至1nM之间,特别是其中所述PDL1-BD与人PDL1结合的解离常数(KD)在1nM至1pM之间,优选0.5nM至1pM之间,更优选100pM至1pM之间,特别是当通过SPR测量时。在另一个实施方案中,本发明的多特异性抗体包含至少一个CD137-BD和至少一个PDL1-BD,其中所述CD137-BD的亲合力比所述PDL1-BD的亲合力弱(低)至少5.0倍,优选至少10倍,例如至少50倍,至少100倍,至少200倍,至少300倍,至少400倍,更优选至少500倍,例如至少600倍,至少700倍,至少800倍,至少900倍,至少1,000倍。

[0428] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体包含至少一个CD137-BD和至少一个PDL1-BD,其中所述PDL1-BD的亲合力比所述CD137-BD的亲合力强至少5.0倍,优选至少10倍,例如至少50倍,至少100倍,至少200倍,至少300倍,至少400倍,更优选至少500倍,例如至少600倍,至少700倍,至少800倍,至少900倍,至少1,000倍,特别是当通过SPR测量时。在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体包含至少一个CD137-BD和至少一个PDL1-BD,其中所述PDL1-BD与人PDL1结合的解离常数(KD)比所述CD137-BD与人CD137结合解离常数(KD)低至少5.0,优选至少10倍,例如至少50倍,至少100倍,至少200倍,至少300倍,至少400倍,更优选至少500倍,例如至少600倍,至少700倍,至少800倍,至少900倍,至少1,000倍,特别是当通过SPR测量时。在另一个实施方案中,本发明的多特异性抗体包含至少一个CD137-BD和至少一PDL1-BD,其中所述PDL1-BD的亲合力比所述CD137-BD的亲合力强(高)至少5.0倍,优选至少10倍,例如至少50倍,至少100倍,至少200倍,至少300倍,至少400倍,更优选至少500倍,例如至少600倍,至少700倍,至少800倍,至少900倍,至少1,000倍,特别是当通过SPR测量时。

[0429] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体包含:(i)至少一个CD137-BD,其中所述CD137-BD包含与SEQ ID NO:31或34,优选SEQ ID NO:34的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列;和(ii)至少一个PDL1-BD,其中所述PDL1-BD包含与选自SEQ ID NO:116、117、118、146、147和148组成的列,优选SEQ ID NO:116或118,更优选SEQ ID NO:118的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列。在另一个实施方案中,本发明的多特异性抗体包含:(i)至少一个CD137-BD,其中所述CD137-BD包含SEQ ID NO:31或34,优选SEQ ID NO:34的氨基酸序列;和(ii)至少一个PDL1-BD,其中所述PDL1-BD包含选自SEQ ID NO:116、117、118、146、147和148组成的列,优选SEQ ID NO:116或118,更优选SEQ ID NO:118的氨基酸序列。在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体包含:(i)至少一个CD137-BD,其中所述CD137-BD是scFv,所述scFv包含与SEQ ID NO:31或34,优选SEQ ID NO:34的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列;和(ii)至少一个PDL1-BD,其中所述PDL1-BD是scFv,所述scFv包含与选自SEQ ID NO:116、117、118、146、147和148组成的列,优选SEQ ID NO:116或118,更优选SEQ ID NO:118的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列。在另一个实施方案中,本发明的多特异性抗体包含:(i)至少一个CD137-BD,其中所述CD137-BD是scFv,所述scFv包含SEQ ID NO:31或34,优选SEQ ID NO:34的氨基酸序列;和(ii)至少一个PDL1-BD,其中所述PDL1-BD是scFv,所述scFv包含选自SEQ ID NO:116、117、118、146、147和148组成的列,优选SEQ ID

N0:116或118,更优选SEQ ID N0:118的氨基酸序列。

[0430] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体包含:(i)至少一个CD137-BD,其中所述CD137-BD包含与SEQ ID N0:32的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列;和(ii)至少一个PDL1-BD,其中所述PDL1-BD包含与选自SEQ ID N0:116、117、118、146、147和148组成的列,优选SEQ ID N0:118的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列。在另一个实施方案中,本发明的多特异性抗体包含:(i)至少一个CD137-BD,其中所述CD137-BD包含SEQ ID N0:32的氨基酸序列;和(ii)至少一个PDL1-BD,其中所述PDL1-BD包含选自SEQ ID N0:116、117、118、146、147和148组成的列,优选SEQ ID N0:118的氨基酸序列。在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体包含:(i)至少一个CD137-BD,其中所述CD137-BD是Fv,所述Fv包含与SEQ ID N0:32的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列;和(ii)至少一个PDL1-BD,其中所述PDL1-BD是Fv,所述Fv包含与选自SEQ ID N0:116、117、118、146、147和148组成的列,优选SEQ ID N0:118的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列。在另一个实施方案中,本发明的多特异性抗体包含:(i)至少一个CD137-BD,其中所述CD137-BD是Fv,所述Fv包含SEQ ID N0:32的氨基酸序列;和(ii)至少一个PDL1-BD,其中所述PDL1-BD是Fv,所述Fv包含选自SEQ ID N0:116、117、118、146、147和148组成的列,优选SEQ ID N0:118的氨基酸序列。

[0431] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体包含:(i)至少一个CD137-BD,其中所述CD137-BD包含与SEQ ID N0:33的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列;和(ii)至少一个PDL1-BD,其中所述PDL1-BD包含与选自SEQ ID N0:116、117、118、146、147和148组成的列,优选SEQ ID N0:118的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列。在另一个实施方案中,本发明的多特异性抗体包含:(i)至少一个CD137-BD,其中所述CD137-BD包含SEQ ID N0:33的氨基酸序列;和(ii)至少一个PDL1-BD,其中所述PDL1-BD包含选自SEQ ID N0:116、117、118、146、147和148组成的列,优选SEQ ID N0:118的氨基酸序列。在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体包含:(i)至少一个CD137-BD,其中所述CD137-BD是Fv,所述Fv包含与SEQ ID N0:33的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列;和(ii)至少一个PDL1-BD,其中所述PDL1-BD是Fv,所述Fv包含与选自SEQ ID N0:116、117、118、146、147和148组成的列,优选SEQ ID N0:118的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列。在另一个实施方案中,本发明的多特异性抗体包含:(i)至少一个CD137-BD,其中所述CD137-BD是Fv,所述Fv包含SEQ ID N0:33的氨基酸序列;和(ii)至少一个PDL1-BD,其中所述PDL1-BD是Fv,所述Fv包含选自SEQ ID N0:116、117、118、146、147和148组成的列,优选SEQ ID N0:118的氨基酸序列。

[0432] 在一个优选的实施方案中,本发明的多特异性抗体包含:(i)至少一个CD137-BD,其中所述CD137-BD包含与SEQ ID N0:86或SEQ ID N0:87或SEQ ID N0:88,优选SEQ ID N0:86,更优选SEQ ID N0:88的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列;和(ii)至少一个PDL1-BD,其中所述PDL1-BD包含与选自SEQ ID N0:116、117、118、146、147和148组成的列,优选SEQ ID N0:118的氨基酸序列至少80%、至少90%或至少95%相同的氨基酸序列。在另一个实施方案中,本发明的多特异性抗体包含:(i)至少一个CD137-BD,其中所述CD137-BD包含与SEQ ID N0:86或SEQ ID N0:87或SEQ ID N0:88,优选SEQ ID N0:86,更优选SEQ ID N0:88的氨基酸序列;和(ii)至少一个PDL1-BD,其中所述PDL1-BD包含选

自由SEQ ID NO:116、117、118、146、147和148组成的列,优选SEQ ID NO:118的氨基酸序列。

[0433] 在一个优选的实施方案中,本发明的多特异性抗体包含:

[0434] (i) 至少一个CD137-BD,其中所述CD137-BD包含分别为SEQ ID NO:1、2和3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:18、19和20的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与氨基酸序列SEQ ID NO:17至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列,优选SEQ ID NO:17的VH序列;和与氨基酸序列SEQ ID NO:30至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列,优选SEQ ID NO:30的VL序列;和

[0435] (ii) 至少一个PDL1-BD,其中所述PDL1-BD包含:

[0436] (a) 分别为SEQ ID NO:89、90和91的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:105、106和107的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与氨基酸序列SEQ ID NO:102至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列,优选SEQ ID NO:102的VH序列;和与氨基酸序列SEQ ID NO:114至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列,优选SEQ ID NO:114的VL序列;或

[0437] (b) 分别为SEQ ID NO:89、90和91的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:105、106和107的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与氨基酸序列SEQ ID NO:104至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列,优选SEQ ID NO:104的VH序列;和与氨基酸序列SEQ ID NO:115至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列,优选SEQ ID NO:115的VL序列;或

[0438] (c) 分别为SEQ ID NO:119、120和121的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:135、136和137的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与氨基酸序列SEQ ID NO:133至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列,优选SEQ ID NO:133的VH序列;和与氨基酸序列SEQ ID NO:145至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列,优选SEQ ID NO:145的VL序列;或

[0439] (d) 分别为SEQ ID NO:119、120和121的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:135、136和137的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与氨基酸序列SEQ ID NO:134至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列,优选SEQ ID NO:134的VH序列;和与氨基酸序列SEQ ID NO:144至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列,优选SEQ ID NO:144的VL序列。

[0440] 在一个更优选的实施方案中,本发明的多特异性抗体包含:

[0441] (i) 至少一个CD137-BD,其中所述CD137-BD包含分别为SEQ ID NO:59、60和61的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:74、75和76的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与氨基酸序列SEQ ID NO:71至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列,优选SEQ ID NO:71的VH序列;和与氨基酸序列SEQ ID NO:83至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列,优选SEQ ID NO:83的VL序列;和

[0442] (ii) 至少一个PDL1-BD,其中所述PDL1-BD包含:

[0443] (a) 分别为SEQ ID NO:89、90和91的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:105、106和107的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与氨基酸序列SEQ ID NO:102至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列,优选SEQ ID NO:102的VH序列;和与氨基酸序列SEQ ID NO:114至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的

VL序列,优选SEQ ID NO:114的VL序列;或

[0444] (b) 分别为SEQ ID NO:89、90和91的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:105、106和107的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与氨基酸序列SEQ ID NO:104至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列,优选SEQ ID NO:104的VH序列;和与氨基酸序列SEQ ID NO:115至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列,优选SEQ ID NO:115的VL序列;或

[0445] (c) 分别为SEQ ID NO:119、120和121的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:135、136和137的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与氨基酸序列SEQ ID NO:133至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列,优选SEQ ID NO:133的VH序列;和与氨基酸序列SEQ ID NO:145至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列,优选SEQ ID NO:145的VL序列;或

[0446] (d) 分别为SEQ ID NO:119、120和121的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:135、136和137的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与氨基酸序列SEQ ID NO:134至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VH序列,优选SEQ ID NO:134的VH序列;和与氨基酸序列SEQ ID NO:144至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%相同的VL序列,优选SEQ ID NO:144的VL序列。

[0447] 合适地,本发明的多特异性抗体具有两种不同的特异性(PDL1和CD137)。合适地,本发明的多特异性抗体是双特异性抗体。本发明的多特异性抗体可以包含其他一个特异性(三特异性)或多个特异性(四特异性、五特异性或六特异性抗体)。在一个实施方案中,多特异性抗体是三特异性的。

[0448] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体包含免疫球蛋白Fc区多肽。本文中的术语“Fc区”用于定义免疫球蛋白重链的C-末端区,包括天然序列Fc区和变体Fc区。合适的天然序列Fc区包括人IgG1、IgG2(IgG2A、JgG2B)、IgG3和IgG4。“Fc受体”或“FcR”描述与抗体的Fc区结合的受体。优选的FcR是天然序列人FcR。此外,优选的FcR是结合IgG抗体的FcR(γ 受体),并且包括Fc γ RI、Fc γ RII和Fc γ RIII亚类的受体,包括等位基因变体和这些受体的剪接形式,Fc γ RII受体包括Fc γ RIIA(“活化性受体”)和Fc γ RIIB(“抑制性受体”),它们具有相似的氨基酸序列,主要区别在于其胞质结构域。激活性受体Fc γ RIIA在其胞质结构域中包含一个基于免疫受体酪氨酸的激活基序(ITAM)。抑制性受体Fc γ RIIB在其胞质结构域中包含一个基于免疫受体酪氨酸的抑制基序(ITIM)(参见M.Daeron,Annu.Rev.Immunol.5:203-234(1997))。Ravetch和Kinet,Annu.Rev.Immunol.9:457-92(1991);Capet等人,Immunomethods 4:25-34(1994);和de Haas等人,J.Lab.Clin.Med.126:330-41(1995)中对FcR进行了综述。本文中的术语“FcR”包括其他FcR,包括将来将要鉴定的FcR。术语“Fc受体”或“FcR”也包括新生儿受体FcRn,其负责将母体IgG转移至胎儿。Guyer等人,J.Immunol.117:587(1976)和Kim等人,J.Immunol.24:249(1994)。测量与FcRn的结合的方法是已知的,参见,例如,Ghetie和Ward,Immunol.Today 18:(12):592-8(1997);Ghetie等人,Nature Biotechnology 15(7):637-40(1997);Hinton等人,J.Biol.Chem.TJI(8):6213-6(2004);WO 2004/92219(Hinton等人)。可以例如在表达人FcRn的转基因小鼠或转染的人细胞系中,或在施用具有变体Fc区的多肽的灵长类动物中测定与FcRn的体内结合以及人FcRn高亲和力结合多肽的血清半衰期。WO 2004/42072(Presta)描述了改善或减少与FcR

结合的抗体变体。还参见,例如,Shields等人,J.Biol.Chem.9(2):6591-6604(2001)。

[0449] 在另一个实施方案中,本发明的抗体不包含免疫球蛋白Fc区多肽。

[0450] 为了在相同或更低分子量下,增加特异性/功能性的数量,使用包含抗体片段的抗体是有利的,例如Fv、Fab、Fab'和F(ab')₂片段以及其他抗体片段。这些较小的分子保留了完整抗体的抗原结合活性,并且与完整的免疫球蛋白分子相比,还表现出改善的组织渗透性和药代动力学特性。尽管相对于完整的免疫球蛋白,此类片段似乎显示出许多优势,但它们还受到血清清除率高的困扰,因为它们缺少在体内具有长半衰期的Fc结构域(Medasan等人,1997,J.Immunol.158:2211-2217)。具有较低分子量的分子能更有效地穿透靶标组织(例如实体癌),因此有希望在相同或较低剂量下改善功效。

[0451] 发明人惊奇地发现,向包含(a)至少一个CD137-BD和(b)至少一个PDL1-BD的本发明的多特异性抗体中添加人血清白蛋白结合结构域(HSA-BD)具有以下有益效果:

[0452] (i) 包含至少一个人血清白蛋白结构域的本发明的多特异性抗体的血清半衰期与IgG相当;

[0453] (ii) 向本发明的多特异性抗体中添加人血清白蛋白结合结构域与其他结合结构域的功能兼容,例如,PDL1-BD保留了其阻断活性,并且CD137-BD保留了其在聚集后激活CD137信号传导的能力;

[0454] (iii) 即使人血清白蛋白结合结构域增加了本发明的多特异性抗体激活CD137的EC₅₀,但是其出乎意料地改善了最大效应量,例如,CD137信号转导的最大活化明显更高。

[0455] 合适地,本发明的多特异性抗体可以包含对人血清白蛋白具有特异性的另一结合结构域。在一个实施方案中,多特异性抗体包含:(i)至少一个CD137-BD;(ii)至少一个PDL1-BD;和(iii)至少一个HSA-BD。合适地,本发明的多特异性抗体包含:(i)一个CD137-BD;(ii)至少一个PDL1-BD,优选一个PDL1-BD或两个PDL1-BD,更优选一个PDL1-BD;和(iii)至少一个HSA-BD,优选一个HSA-BD。

[0456] 术语“HSA”特别是指具有UniProt ID号P02768的人血清白蛋白。人血清白蛋白(HSA)是人血清中66.4kDa的丰富蛋白(占总蛋白的50%),由585个氨基酸组成(Sugio, Protein Eng, Vol.12,1999,439-446)。多功能HSA蛋白与其结构相关联,该结构允许结合并运输许多代谢物,例如脂肪酸、金属离子、胆红素和某些药物(Fanali, Molecular Aspects of Medicine, Vol.33,2012,209-290)。血清中的HSA浓度约为3.5-5g/dL。白蛋白结合抗体及其片段可用于例如延长与其缀合的药物或蛋白质的体内血清半衰期。

[0457] 在一些实施方案中,HSA-BD衍生自单克隆抗体或抗体片段。

[0458] 用于本发明的多特异性抗体的合适的HSA-BD是本公开中提供的结合结构域。本发明的HSA-BD包括但不限于序列在表3中列出的人源化单克隆抗体。

[0459] 本发明的HSA-BD特异性结合人血清白蛋白。本发明的HSA-BD包含VH CDR,所述VH CDR具有表3中列出的VH CDR中任意之一的氨基酸序列。特别地,本发明提供了HSA-BD,其包含一个、两个、三个或更多个VH CDR,所述VH CDR具有表3中列出的VH CDR中任意之一的氨基酸序列。

[0460] 本发明还提供了HSA-BD,其包含VL CDR,所述VL CDR具有表3中列出的VH CDR中任意之一的氨基酸序列。特别地,本发明提供了HSA-BD,其包含一个、两个、三个或更多个VL CDR,所述VH CDR具有表3中列出的VL CDR中任意之一的氨基酸序列。

[0461] 本发明的其他HSA-BD包括已突变、但仍在CDR区中与表3中描述的序列中描述的CDR区具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列。本发明的其他HSA-BD包括突变氨基酸序列,其中当与表3中描述的序列中描述的CDR区相比时,CDR区中已经突变的氨基酸不超过1、2、3、4或5个。

[0462] 本发明的HSA-BD包含:(a)重链可变区CDR1,其包含选自SEQ ID NO:149、152、155、158、173、176、179和182中任意之一,优选SEQ ID NO:149或173,更优选SEQ ID NO:149的氨基酸序列,优选由其组成;(b)重链可变区CDR2,其包含选自SEQ ID NO:150、153、156、159、174、177、180和183中任意之一,优选SEQ ID NO:150或174,更优选SEQ ID NO:150的氨基酸序列,优选由其组成;(c)重链可变区CDR3,其包含选自SEQ ID NO:151、154、157、160、175、178、181和184中任意之一,优选SEQ ID NO:151或175,更优选SEQ ID NO:151的氨基酸序列,优选由其组成;(d)轻链可变区CDR1,其包含选自SEQ ID NO:162、165、168、186、189和192中任意之一,优选SEQ ID NO:162或186,更优选SEQ ID NO:162的氨基酸序列,优选由其组成;(e)轻链可变区CDR2,其包含选自SEQ ID NO:163、166、169、187、190和193中任意之一,优选SEQ ID NO:163或187,更优选SEQ ID NO:163的氨基酸序列,优选由其组成;和(f)轻链可变区CDR3,其包含选自SEQ ID NO:164、167、170、188、191和194中任意之一,优选SEQ ID NO:164或188,更优选SEQ ID NO:164的氨基酸序列,优选由其组成。合适地,本发明的HSA-BD包含:(a)重链可变区CDR1,其包含与SEQ ID NO:149、152、155、158、173、176、179和182中任意之一,优选SEQ ID NO:149或173,更优选为SEQ ID NO:149具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(b)重链可变区CDR2,其包含与SEQ ID NO:150、153、156、159、174、177、180和183中任意之一,优选SEQ ID NO:150或174,更优选为SEQ ID NO:150具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(c)重链可变区CDR3,其包含与SEQ ID NO:151、154、157、160、175、178、181和184中任意之一,优选SEQ ID NO:151或175,更优选SEQ ID NO:151具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(d)轻链可变区CDR1,其包含与SEQ ID NO:162、165、168、186、189和192中任意之一,优选SEQ ID NO:162或186,更优选SEQ ID NO:162具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;(e)轻链可变区CDR2,其包含与SEQ ID NO:163、166、169、187、190和193中任意之一,优选SEQ ID NO:163或187,更优选为SEQ ID NO:163具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成;和(f)轻链可变区CDR3,其包含与SEQ ID NO:164、167、170、188、191和194中任意之一,优选SEQ ID NO:164或188,更优选为SEQ ID NO:164具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,优选由其组成。

[0463] 在一个实施方案中,本发明的HSA-BD包含:(a)分别为SEQ ID NO:149、150和151的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:162、163和164的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;(b)分别为SEQ ID NO:152、153和154的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:165、166和167的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;或(c)分别为SEQ ID NO:173、174和175的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:186、187和188的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;或(d)分别为SEQ ID NO:176、177和178的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:189、190和191的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。在一个优选的实施方案中,本发明的HSA-BD

包含分别为SEQ ID NO:149、150和151的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:162、163和164的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。合适地,本发明的HSA-BD包含:(a)分别与SEQ ID NO:149、150和151具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:162、163和164具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;或(b)分别与SEQ ID NO:152、153和154具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:165、166和167具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;或(c)分别与SEQ ID NO:173、174和175具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:186、187和188具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;或(c)分别与SEQ ID NO:176、177和178具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:189、190和191具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。在一个优选的实施方案中,本发明的HSA-BD包含:(a)分别与SEQ ID NO:149、150和151具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,和分别与SEQ ID NO:162、163和164具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。

[0464] 在另一个实施方案中,本发明提供了特异性结合人血清白蛋白的HSA-BD,其中所述结合结构域包含VH结构域和VL结构域。

[0465] 合适地,本发明的HSA-BD包含VH3或VH4。在一个实施方案中,本发明的HSA-BD包含VH3结构域框架序列。属于VH3家族的VH的一个具体示例由SEQ ID NO:161表示。特别地,取自SEQ ID NO:161的框架区FR1至FR4属于VH3家族(表3,非粗体标记的区域)。合适地,本文所用的属于VH3家族的VH包含与SEQ ID NO:161的FR1至FR4具有至少85%,优选至少90%,更优选至少95%的序列同一性的FR1至FR4。VH3序列的其他实例,以及VH4序列的其他实例可以在Knappik等人,J.Mol.Biol.296(2000)57-86中找到。合适地,本发明的HSA-BD包含: V_{κ} 框架FR1、FR2和FR3,特别是 $V_{\kappa 1}$ 或 $V_{\kappa 3}$ 框架,优选 $V_{\kappa 1}$ 框架FR1至3,以及框架FR4,所述框架FR4选自 V_{κ} FR4,特别是 $V_{\kappa 1}$ FR4、 $V_{\kappa 3}$ FR4和 V_{λ} FR4。合适的 $V_{\kappa 1}$ 框架FR1至3在SEQ ID NO:171中列出(表3,FR区以非粗体标记)。 $V_{\kappa 1}$ 序列的其他实例,以及 $V_{\kappa 2}$ 、 $V_{\kappa 3}$ 或 $V_{\kappa 4}$ 序列的其他实例可以在Knappik等人,J.Mol.Biol.296(2000)57-86中找到。合适的 $V_{\kappa 1}$ 框架FR1至3包含与对应于FR1至3并选自SEQ ID NO:171(表3,FR区以非粗体标记)的氨基酸序列具有至少60、70、80、90%同一性的氨基酸序列。合适的 V_{λ} FR4如SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205所示。在一个实施方案中,本发明的HSA-BD包含 V_{λ} FR4,所述 V_{λ} FR4包含与选自SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205中任意之一的氨基酸序列,优选与SEQ ID NO:199具有至少60、70、80、90%同一性的氨基酸序列。

[0466] 因此,在一个实施方案中,本发明的HSA-BD包含:

[0467] (i) 以下的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3序列:

[0468] (a) 分别为SEQ ID NO:152、153和154的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:165、166和167的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;或

[0469] (b) 分别为SEQ ID NO:176、177和178的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:189、190和191的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;

[0470] (ii) VH3或VH4结构域框架序列FR1至FR4;优选VH3结构域框架序列FR1至FR4;和

[0471] (iii) VL结构域,其包含VL框架,所述VL框架包含V κ 框架FR1、FR2和FR3,特别是V κ 1或V κ 3 FR1至FR3,优选V κ 1 FR1至FR3,以及框架FR4,所述框架FR4选自V κ FR4,特别是V κ 1 FR4、V κ 3 FR4和V λ FR4,优选地,所述V λ FR4包含与选自SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205中任意之一的氨基酸序列具有至少60、70、80、90%同一性的氨基酸序列的V λ FR4,优选地,V λ FR4如选自SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205中任意之一的氨基酸序列所示,更优选地,V λ FR4如SEQ ID NO:199所示。

[0472] 因此,在一个优选的实施方案中,本发明的HSA-BD包含:

[0473] (i) 分别为SEQ ID NO:149、150和151的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:162、163和164的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;

[0474] (ii) VH3或VH4结构域框架序列FR1至FR4;优选VH3结构域框架序列FR1至FR4;和

[0475] (iii) VL结构域,其包含VL框架,所述VL框架包含V κ 框架FR1、FR2和FR3,特别是V κ 1或V κ 3 FR1至FR3,优选V κ 1 FR1至FR3,以及框架FR4,所述框架FR4选自V κ FR4,特别是V κ 1 FR4、V κ 3 FR4和V λ FR4,优选地,所述V λ FR4包含与选自SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205中任意之一的氨基酸序列具有至少60、70、80、90%同一性的氨基酸序列的V λ FR4,优选地,V λ FR4如选自SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205中任意之一的氨基酸序列所示,更优选地,V λ FR4如SEQ ID NO:199所示。

[0476] 在一个实施方案中,本发明的HSA-BD包含VL,所述VL包含:

[0477] (iv) CDR结构域CDR1、CDR2和CDR3;

[0478] (v) 人V κ 框架区FR1至FR3,特别是人V κ 1框架区FR1至FR3;

[0479] (vi) FR4,其选自(a) FR4的人V λ 种系序列,特别是选自以下列表的V λ 种系序列:SEQ ID NO:199至205,优选SEQ ID NO:199;和(b) 基于V λ 的序列,与最接近的FR4的人V λ 种系序列相比,所述基于V λ 的序列具有一个或两个突变,特别是一个突变,所述最接近的FR4的人V λ 种系序列包含选自SEQ ID NO:199至SEQ ID NO:205中任意之一,优选SEQ ID NO:199的氨基酸序列。

[0480] 本发明的HSA-BD包含表3中列出的VH结构域。合适地,本发明的HSA-BD包含表3中列出的VH氨基酸序列,其中框架序列(例如,不是CDR的序列)中已经突变(其中,作为各种非限制性实例,突变是添加、取代或缺失)的氨基酸不超过约10个。合适地,本发明的HSA-BD包含表3中列出的VH氨基酸序列,其中框架序列(例如,不是CDR的序列)中已经突变(其中,作为各种非限制性实例,突变是添加、取代或缺失)的氨基酸不超过约20个。本发明的其他HSA-BD包括已突变、但仍在VH区中与表3中描述的序列中描述的VH区具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列。

[0481] 本发明的HSA-BD包含表3中列出的VL结构域。合适地,本发明的HSA-BD包含表3中列出的VL氨基酸序列,其中框架序列(例如,不是CDR的序列)中已经突变(其中,作为各种非限制性实例,突变是添加、取代或缺失)的氨基酸不超过约10个。合适地,本发明的HSA-BD包含表3中列出的VL氨基酸序列,其中框架序列(例如,不是CDR的序列)中已经突变(其中,作为各种非限制性实例,突变是添加、取代或缺失)的氨基酸不超过约20个。本发明的其他

HSA-BD包括已突变、但仍在VL区中与表3中描述的序列中描述的VL区具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列。

[0482] 合适地,本发明的HSA-BD包含重链可变区,其包含与选自由SEQ ID NO:161和185组成的组,优选SEQ ID NO:161的氨基酸序列至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%,优选至少90%相同的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含与选自由SEQ ID NO:171和195组成的组,优选SEQ ID NO:171的氨基酸序列至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%,优选至少90%相同的氨基酸序列。

[0483] 在一个实施方案中,本发明的HSA-BD包含:重链可变区,其包含选自SEQ ID NO:161和185中任意之一,优选SEQ ID NO:161的氨基酸序列;和轻链可变区,其包含选自SEQ ID NO:171和195中任意之一,优选SEQ ID NO:161的氨基酸序列。

[0484] 在另一个实施方案中,本发明的HSA-BD包含:(a) SEQ ID NO:161的VH序列和SEQ ID NO:171的VL序列;或(b) SEQ ID NO:185的VH序列和SEQ ID NO:195的VL序列。在一个优选的实施方案中,本发明的HSA-BD包含SEQ ID NO:161的VH序列和SEQ ID NO:171的VL序列。

[0485] 在一个实施方案中,本发明的HSA-BD包含:

[0486] (a) 分别为SEQ ID NO:152、153和154的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:165、166和167的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与SEQ ID NO:161具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的VH序列;和与SEQ ID NO:171具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的VL序列;或

[0487] (b) 分别为SEQ ID NO:176、177和178的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:189、190和191的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与SEQ ID NO:185具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的VH序列;和与SEQ ID NO:195具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的VL序列。

[0488] 在一个实施方案中,本发明的HSA-BD包含:

[0489] (a) 分别为SEQ ID NO:149、150和151的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:162、163和164的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与SEQ ID NO:161具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的VH序列;和与SEQ ID NO:171具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的VL序列;或

[0490] (b) 分别为SEQ ID NO:173、174和175的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:186、187和188的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;与SEQ ID NO:185具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的VH序列;和与SEQ ID NO:195具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的VL序列。

[0491] 合适地,本发明的HSA-BD选自由以下组成的组:Fab、Fv、scFv、dsFv、scAb、STAB和基于其他支架的结合结构域,所述基于其他支架的结合结构域包括但不限于基于锚蛋白的结构域、fynomer、avimer、anticalin、纤连蛋白和构建在抗体恒定区中的结合位点(例如f-star技术(F-star的Modular Antibody Technology™))。

[0492] 合适地,本发明的HSA-BD是scFv抗体片段。在一个实施方案中,本发明的HSA-BD如SEQ ID NO:172或SEQ ID NO:196,优选SEQ ID NO:172所示。

[0493] 用于本发明的多特异性抗体的其他合适的HSA-BD包含或衍生自选自由以下组成

的组的抗体：(i) 结合血清白蛋白的多肽（参见，例如，Smith等人，2001，Bioconjugate Chem.12:750-756；EP0486525；US6267964；WO 2004/001064；WO 2002/076489；和WO 2001/45746）；(ii)Holt等人，Protein Engineering,Design&Selection,vol 21,5,pp283-288, WO 2004/003019, WO 2008/096158, WO 2005/118642, WO 2006/0591056和WO 2011/006915中描述的抗血清白蛋白结合单个可变结构域；(iii)WO 2009/040562, WO 2010/035012和WO 2011/086091中描述的抗血清白蛋白抗体。

[0494] 本发明的多特异性抗体可以是任何合适的形式。

[0495] 合适地，多特异性抗体的结合结构域可操作地连接。本发明的多特异性抗体的结合结构域能够同时结合它们各自的抗原或受体。

[0496] 在一个实施方案中，本发明的多特异性抗体包含至少一个CD137-BD、至少一个PDL1-BD，其中：(i) 所述CD137-BD和所述PDL1-BD均可操作地彼此连接。在一个实施方案中，本发明的多特异性抗体包含至少一个CD137-BD、至少一个PDL1-BD、至少一个HSA-BD，其中：(i) 所述CD137-BD和所述PDL1-BD均与所述HSA-BD可操作地连接；或者(ii) 所述CD137-BD和所述HSA-BD均与所述PDL1-BD可操作地连接；或者(iii) 所述PDL1-BD和所述HSA-BD均与所述CD137-BD可操作地连接。在一个优选的实施方案中，本发明的多特异性抗体包含至少一个CD137-BD、至少一个PDL1-BD、至少一个HSA-BD，其中所述CD137-BD和所述HSA-BD均与所述PDL1-BD可操作地连接。

[0497] 如本文所用，术语“可操作地连接”是指两个分子（例如，多肽、结构域、结合结构域）连接，从而各自保留功能活性。无论两个分子是直接连接还是间接连接（例如，通过接头，通过部分，通过接头连接到部分），它们都可以是“可操作地连接”。术语“接头”是指任选地位于本发明的结合结构域或抗体片段之间的肽或其他部分。可以使用多种策略将分子共价连接在一起。这些包括但不限于蛋白质或蛋白质结构域的N-末端和C-末端之间的多肽连接，通过二硫键的连接，以及通过化学交联剂的连接。在该实施方案的一方面，接头是通过重组技术或肽合成产生的肽键。对于要连接两条多肽链的特定情况，选择合适的接头取决于各种参数，包括但不限于两条多肽链的性质（例如，它们是否天然寡聚）、要连接的N-末端和C-末端之间的距离（如果知道）和/或接头对蛋白水解和氧化的稳定性。此外，接头可以包含提供柔韧性的氨基酸残基。

[0498] 在本发明的上下文中，术语“多肽接头”是指连接两个结构域的通过肽键连接的由氨基酸残基链组成的接头，每个结构域与接头的一端连接。多肽接头的长度应足以连接两个分子，以使它们彼此之间具有正确的构象，从而保持所需的活性。在特定的实施方案中，多肽接头具有2至30个氨基酸残基（例如2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个氨基酸残基）的连续链。此外，选择包含在多肽接头中的氨基酸残基应表现出不会显著干扰多肽活性的特性。因此，整体上接头肽不应表现出与多肽活性不一致的电荷，或干扰内部折叠，或与一种或多种单体中的氨基酸残基形成键或其他相互作用，这将严重阻碍受体单体结构域的结合。在特定的实施方案中，多肽接头是非结构化的多肽。有用的接头包括甘氨酸-丝氨酸或GS接头。如本领域技术人员将理解的，“Gly-Ser”或“GS”接头是指串联的甘氨酸和丝氨酸的聚合物（包括例如(Gly-Ser)_n、(GS₂GS)_n、(GGGS)_n和(GGGS)_n其中n是至少一的整数）、甘氨酸-丙氨酸聚合物、丙氨酸-丝氨酸聚合物以及其他柔性接头，例如用于shaker钾离子通道的系链，以及多种其他柔性肽

接头。甘氨酸-丝氨酸聚合物是优选的,因为这两个氨基酸都是相对非结构化的,因此可以用作组分之间的中性系链。其次,丝氨酸是亲水的,因此能够溶解可能是球状甘氨酸链的物质。第三,已显示相似的链可有效连接重组蛋白(如单链抗体)的亚基。

[0499] 合适地,多特异性抗体是选自本领域已知的任何合适的多特异性(例如双特异性)形式的形式,包括但不限于基于以下的形式:单链双抗体(scDb)、串联scDb(Tandab)、线性二聚体scDb(LD-scDb)、环状二聚体scDb(CD-scDb)、双特异性T细胞接合子(BiTE;串联双-scFv)、串联三-scFv、三抗体(Fab-(scFv)2)或双抗体(Fab-(scFv)1)、Fab、Fab-Fv2、Morrison(IgG CH₃-scFv融合体(Morrison L)或IgG CL-scFv融合体(Morrison H))、三抗体、scDb-scFv、双特异性Fab2、双微抗体、四抗体、scFv-Fc-scFv融合体、scFv-HSA-scFv融合体、双双抗体、DVD-Ig、COVD、IgG-scFab、scFab-dsscFv、Fv2-Fc、IgG-scFv融合体例如bsAb(与轻链的C-末端连接的scFv)、Bs1Ab(与轻链的N-末端连接的scFv)、Bs2Ab(与重链的N-末端连接的scFv)、Bs3Ab(与重链的C-末端连接的scFv)、Ts1Ab(与重链和轻链的N-末端连接的scFv)、Ts2Ab(与重链的C-末端连接的dsscFv)、基于异二聚体Fc结构域的双特异性抗体例如Knob-into-Hole抗体(KiH)(通过KiH技术制备的双特异性IgG);与异二聚体Fc结构域或任何其他异二聚体结构域的任意一条链的N-和/或C-末端融合的Fv、scFv、scDb、串联双-scFv、串联三-scFv、Fab-(scFv)2、Fab-(scFv)1、Fab、Fab-Fv2、COVD、MATCH(描述于WO 2016/0202457;Egan T.等人,mAbs 9(2017)68-84)和Duobody(通过Duobody技术制备的双特异性IgG)(MAbs.2017Feb/Mar;9(2):182-212.doi:10.1080/19420862.2016.1268307)。特别适用于本文的是单链双抗体(scDb)或scDb-scFv。

[0500] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体的形式选自由scDb(双抗体)、scDb-scFv、三抗体和三抗体组成的组。特别适用于本文的是单链双抗体(scDb),特别是双特异性单体scDb。而且,特别适合用于本文的是scDb-scFv,特别是其中所述CD137-BD和所述PDL1-BD是scDb的形式,并且所述HSA-BD是与所述scDb可操作地连接的scFv。

[0501] 术语“双抗体”是指具有两个抗原结合位点的抗体片段,这些片段包含与同一条多肽链中的VL连接的VH(VH-VL)。通过使用接头,该接头太短以至于不允许同一条链上的两个结构域之间配对,这些结构域被迫与另一条链的互补结构域配对,以产生两个抗原结合位点。双抗体可以是二价或双特异性的。双抗体在例如EP404097、WO 93/01161、Hudson等人,Nat.Med.9:129-134(2003)和Hollinger等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448(1993)中更充分地描述。三抗体和四抗体也描述于Hudson等人,Nat.Med.9:129-134(2003)。

[0502] 双特异性scDb,特别是双特异性单体scDb,特别地包含两个可变重链结构域(VH)或其片段和两个可变轻链结构域(VL)或其片段,它们通过接头L1、L2和L3以下顺序连接VHA-L1-VLB-L2-VHB-L3-VLA、VHA-L1-VHB-L2-VLB-L3-VLA、VLA-L1-VLB-L2-VHB-L3-VHA、VLA-L1-VHB-L2-VLB-L3-VHA、VHB-L1-VLA-L2-VHA-L3-VLB、VHB-L1-VHA-L2-VLA-L3-VLB、VLB-L1-VLA-L2-VHA-L3-VHB或VLB-L1-VHA-L2-VLA-L3-VHB,其中VLA和VHA结构域共同形成第一抗原的抗原结合位点,VLB和VHB共同形成第二抗原的抗原结合位点。

[0503] 接头L1特别是2-10个氨基酸,更特别是3-7个氨基酸,最特别是5个氨基酸的肽,并且接头L3特别是1-10个氨基酸,更特别是2-7个氨基酸,最特别是5个氨基酸的肽。在特定实施方案中,接头L1和/或L3包含一个或两个单元的四个(4)甘氨酸氨基酸残基和一个(1)丝

氨酸氨基酸残基 (GGGGS)_n, 其中n=1或2, 优选n=1。在更具体的实施方案中, 接头L1和/或L3如SEQ ID NO:207或SEQ ID NO:2018, 优选SEQ ID NO:207所示。

[0504] 中间接头L2特别是10-40个氨基酸, 更特别地15-30个氨基酸, 最特别地20-25个氨基酸的肽。在特定实施方案中, 所述接头L2包含一个或多个单元的四个(4)甘氨酸氨基酸残基和一个(1)丝氨酸氨基酸残基 (GGGGS)_n, 其中n=1、2、3、4、5、6、7或8, 优选n=4。在更具体的实施方案中, 接头L2如SEQ ID NO:206所示。

[0505] 在一个实施方案中, 本发明的多特异性抗体是scDb。在一个具体的实施方案中, 本发明的多特异性抗体是scDb, 其包含与SEQ ID NO:209、210、211、212、213、214和215中任意之一具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列。在一个实施方案中, 本发明的多特异性抗体是scDb, 其包含选自SEQ ID NO:209、210、211、212、213、214和215中任意之一的氨基酸序列。在另一个实施方案中, 本发明的多特异性抗体是scDb, 其由选自SEQ ID NO:209、210、211、212、213、214和215中任意之一的氨基酸序列组成。

[0506] 在一个实施方案中, 本发明的多特异性抗体是scDb-scFv。术语“scDb-scFv”是指抗体形式, 其中单链Fv(scFv)片段通过柔性Gly-Ser接头与单链双抗体(scDb)融合。在一个实施方案中, 所述柔性Gly-Ser接头是2-40个氨基酸, 例如2-35、2-30、2-25、2-20、2-15、2-10个氨基酸, 特别是10个氨基酸氨基酸的肽。在特定实施方案中, 所述接头包含一个或多个单元的四个(4)甘氨酸氨基酸残基和一个(1)丝氨酸氨基酸残基 (GGGGS)_n, 其中n=1、2、3、4、5、6、7或8, 优选n=2。在更具体的实施方案中, 所述接头如SEQ ID NO:208所示。

[0507] 在一个具体的实施方案中, 本发明的多特异性抗体是scDb-scFv, 其包含与SEQ ID NO:216、217、218、219、220、221、222、223、224、225、226、227、228、229、230和231中任意之一具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列。合适地, 本发明的多特异性抗体是scDb-scFv, 其包含与SEQ ID NO:222中任意之一具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列。更合适地, 本发明的多特异性抗体是scDb-scFv, 其包含与SEQ ID NO:223或224具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列。

[0508] 合适地, 本发明的多特异性抗体是scDb-scFv, 其包含与SEQ ID NO:216具有至少60、70、80, 优选至少90, 例如91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列, 其中(a)所述多特异性抗体的CD137-BD包含分别为SEQ ID NO:4、6和7的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列, 以及分别为SEQ ID NO:21、22和23的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列, 和(b)所述多特异性抗体的PDL1-BD包含分别为SEQ ID NO:122、124和125的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列, 以及分别为SEQ ID NO:138、139和140的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列; 和(c)所述多特异性抗体的HSA-BD包含分别为SEQ ID NO:152、153和154的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列, 以及分别为SEQ ID NO:165、166和167的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。

[0509] 合适地, 本发明的多特异性抗体是scDb-scFv, 其包含与SEQ ID NO:217具有至少60、70、80, 优选至少90, 例如91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列, 其中(a)所述多特异性抗体的CD137-BD包含分别为SEQ ID NO:38、39和40的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列, 以及分别为SEQ ID NO:51、52和53的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列, 和(b)所述多特异性抗体的PDL1-BD包含分别为SEQ ID NO:122、124和125的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列, 以

及分别为SEQ ID NO:138、139和140的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;和(c)所述多特异性抗体的HSA-BD包含分别为SEQ ID NO:152、153和154的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:165、166和167的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。

[0510] 合适地,本发明的多特异性抗体是scDb-scFv,其包含与SEQ ID NO:218具有至少60、70、80,优选至少90,例如91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,其中(a)所述多特异性抗体的CD137-BD包含分别为SEQ ID NO:4、6和7的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:21、22和23的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列,和(b)所述多特异性抗体的PDL1-BD包含分别为SEQ ID NO:122、124和125的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:138、139和140的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;和(c)所述多特异性抗体的HSA-BD包含分别为SEQ ID NO:176、177和178的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:189、190和191的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。

[0511] 合适地,本发明的多特异性抗体是scDb-scFv,其包含与SEQ ID NO:219具有至少60、70、80,优选至少90,例如91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,其中(a)所述多特异性抗体的CD137-BD包含分别为SEQ ID NO:38、39和40的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:51、52和53的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列,和(b)所述多特异性抗体的PDL1-BD包含分别为SEQ ID NO:122、124和125的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:138、139和140的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;和(c)所述多特异性抗体的HSA-BD包含分别为SEQ ID NO:176、177和178的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:189、190和191的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。

[0512] 合适地,本发明的多特异性抗体是scDb-scFv,其包含与SEQ ID NO:220具有至少60、70、80,优选至少90,例如91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,其中(a)所述多特异性抗体的CD137-BD包含分别为SEQ ID NO:4、6和7的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:21、22和23的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;和(b)所述多特异性抗体的PDL1-BD包含分别为SEQ ID NO:92、94和95的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:108、109和110的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;和(c)所述多特异性抗体的HSA-BD包含分别为SEQ ID NO:152、153和154的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:165、166和167的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。

[0513] 合适地,本发明的多特异性抗体是scDb-scFv,其包含与SEQ ID NO:221具有至少60、70、80,优选至少90,例如91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,其中(a)所述多特异性抗体的CD137-BD包含分别为SEQ ID NO:4、6和7的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:21、22和23的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列,和(b)所述多特异性抗体的PDL1-BD包含分别为SEQ ID NO:92、94和95的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:108、109和110的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;和(c)所述多特异性抗体的HSA-BD包含分别为SEQ ID NO:176、177和178的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:189、190和191的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。

[0514] 在优选的实施方案中,本发明的多特异性抗体是scDb-scFv,其包含与SEQ ID NO:222或SEQ ID NO:223或SEQ ID NO:224,优选SEQ ID NO:222,更优选SEQ ID NO:223具有至少60、70、80,优选至少90,例如91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,其中(a)所述多特异性抗体的CD137-BD包含分别为SEQ ID NO:1、2和3的HCDR1、HCDR2和HCDR3

序列,以及分别为SEQ ID NO:18、19和20的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列,和(b)所述多特异性抗体的PDL1-BD包含分别为SEQ ID NO:89、90和91的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:105、106和107的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;和(c)所述多特异性抗体的HSA-BD包含分别为SEQ ID NO:149、150和151的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:162、163和164的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。

[0515] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体是scDb-scFv,其包含与SEQ ID NO:225或SEQ ID NO:226或SEQ ID NO:227或SEQ ID NO:228,优选SEQ ID NO:225或SEQ ID NO:228,更优选SEQ ID NO:225具有至少60、70、80,优选至少90,例如91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,其中(a)所述多特异性抗体的CD137-BD包含分别为SEQ ID NO:1、2和3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:18、19和20的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列,和(b)所述多特异性抗体的PDL1-BD包含分别为SEQ ID NO:119、120和121的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:135、136和137的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;和(c)所述多特异性抗体的HSA-BD包含分别为SEQ ID NO:149、150和151的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:162、163和164的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。

[0516] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体是scDb-scFv,其包含选自SEQ ID NO:216、217、218、219、220、221、222、223、224、225、226、227和228中任意之一,优选SEQ ID NO:222或223,更优选SEQ ID NO:223的氨基酸序列。在另一个实施方案中,本发明的多特异性抗体是scDb-scFv,其由以下组成:选自SEQ ID NO:216、217、218、219、220、221、222、223、224、225、226、227和228中任意之一,优选SEQ ID NO:222或223,更优选SEQ ID NO:223的氨基酸序列。

[0517] 在另一个实施方案中,本发明的多特异性抗体是scDb-scFv,其包含与SEQ ID NO:229或SEQ ID NO:230或SEQ ID NO:231,优选与SEQ ID NO:229或SEQ ID NO:231,更优选SEQ ID NO:229具有至少60、70、80,优选至少90,例如91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,其中(a)所述多特异性抗体的CD137-BD包含分别为SEQ ID NO:59、60和61的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:74、75和76的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列,和(b)所述多特异性抗体的PDL1-BD包含分别为SEQ ID NO:119、120和121的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:135、136和137的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;和(c)所述多特异性抗体的HSA-BD包含分别为SEQ ID NO:149、150和151的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:162、163和164的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。

[0518] 在一个优选的实施方案中,本发明的多特异性抗体是scDb-scFv,其包含与SEQ ID NO:229或SEQ ID NO:230或SEQ ID NO:231,优选与SEQ ID NO:229或SEQ ID NO:231,更优选SEQ ID NO:229具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列。在一个具体的实施方案中,本发明的多特异性抗体是scDb-scFv,其包含与SEQ ID NO:229或SEQ ID NO:230或SEQ ID NO:231,优选与SEQ ID NO:229或SEQ ID NO:231,更优选SEQ ID NO:229具有至少60、70、80,优选至少90,例如91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,其中(a)所述多特异性抗体的CD137-BD包含分别为SEQ ID NO:59、60和61的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:74、75和76的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列,和(b)所述多特异性抗体的PDL1-BD包含分别为SEQ ID NO:89、90和91的HCDR1、

HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:105、106和107的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;和(c)所述多特异性抗体的HSA-BD包含分别为SEQ ID NO:149、150和151的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:162、163和164的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。

[0519] 在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体是scDb-scFv,其包含选自SEQ ID NO:216、217、218、219、220、221、222、223、224、225、226、227、228、229、230和231中任意之一,优选SEQ ID NO:222或223,更优选SEQ ID NO:223的氨基酸序列。在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体是scDb-scFv,其由以下组成:选自SEQ ID NO:216、217、218、219、220、221、222、223、224、225、226、227、228、229、230和231中任意之一,优选SEQ ID NO:222或223,更优选SEQ ID NO:223的氨基酸序列。在一个优选的实施方案中,本发明的多特异性抗体是scDb-scFv,其包含选自SEQ ID NO:229、230和231中任意之一,优选SEQ ID NO:229或231,更优选SEQ ID NO:229的氨基酸序列。在一个更具体的实施方案中,本发明的多特异性抗体是scDb-scFv,其由以下组成:选自SEQ ID NO:229、230和231中任意之一,优选SEQ ID NO:229或231,更优选SEQ ID NO:229的氨基酸序列。

[0520] 在本发明的一个实施方案中,本发明的多特异性抗体是Morrison-L形式。

[0521] 在一个具体的实施方案中,本发明的多特异性抗体包含(i)Morrison-L轻链,其包含与SEQ ID NO:232中任意之一具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,和(ii)Morrison-L重链,其包含与SEQ ID NO:233中任意之一具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列。在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体包含(i)Morrison-L轻链,其包含SEQ ID NO:232的氨基酸,和(ii)Morrison-L重链,其包含SEQ ID NO:233的氨基酸序列。在另一个实施方案中,本发明的多特异性抗体由以下组成:(i)Morrison-L轻链,其包含SEQ ID NO:232的氨基酸,和(ii)Morrison-L重链,其包含SEQ ID NO:233的氨基酸序列。

[0522] 在另一个实施方案中,本发明的多特异性抗体包含(i)Morrison-L轻链,其包含与SEQ ID NO:236中任意之一具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,和(ii)Morrison-L重链,其包含与SEQ ID NO:237中任意之一具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列。在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体包含(i)Morrison-L轻链,其包含SEQ ID NO:236的氨基酸,和(ii)Morrison-L重链,其包含SEQ ID NO:237的氨基酸序列。在另一个实施方案中,本发明的多特异性抗体由以下组成:(i)Morrison-L轻链,其包含SEQ ID NO:236的氨基酸,和(ii)Morrison-L重链,其包含SEQ ID NO:237的氨基酸序列。

[0523] 在本发明的一个实施方案中,本发明的多特异性抗体是Morrison-H形式。

[0524] 在一个具体的实施方案中,本发明的多特异性抗体包含(i)Morrison-H轻链,其包含与SEQ ID NO:234中任意之一具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,和(ii)Morrison-H重链,其包含与SEQ ID NO:235中任意之一具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列。在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体包含(i)Morrison-H轻链,其包含SEQ ID NO:234的氨基酸,和(ii)Morrison-H重链,其包含SEQ ID NO:235的氨基酸序列。在另一个实施方案中,本发明的多特异性抗体由以下组成:(i)Morrison-L轻链,其包含SEQ ID NO:234的氨基酸,和(ii)Morrison-L重链,其包含SEQ ID NO:235的氨基酸序列。

[0525] 在另一个实施方案中,本发明的多特异性抗体包含(i)Morrison-H轻链,其包含与SEQ ID NO:238中任意之一具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列,和(ii)Morrison-H重链,其包含与SEQ ID NO:239中任意之一具有至少60、70、80、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%同一性的氨基酸序列。在一个实施方案中,本发明的多特异性抗体包含(i)Morrison-H轻链,其包含SEQ ID NO:238的氨基酸,和(ii)Morrison-H重链,其包含SEQ ID NO:239的氨基酸序列。在另一个实施方案中,本发明的多特异性抗体由以下组成:(i)Morrison-L轻链,其包含SEQ ID NO:238的氨基酸,和(ii)Morrison-L重链,其包含SEQ ID NO:239的氨基酸序列。

[0526] 在本发明的一个实施方案中,本发明的多特异性抗体是W0 2016/0202457;Egan T.等人,mAbs 9(2017)68-84中描述的MATCH形式。

[0527] 本发明的多特异性抗体可以使用本领域已知的任何方便的抗体制备方法来制备(关于双特异性构建体的生产,例如参见Fischer,N.&Leger,O.,Pathobiology 74(2007)3-14;关于双特异性双抗体和串联scFv的生产,例如参见Hornig,N.&Färber-Schwarz,A.,Methods Mol.Biol.907(2012)713-727和W0 99/57150)。用于制备本发明的双特异性构建体的合适方法的具体实例还包括Genmab技术(参见Labrijn等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 110(2013)5145-5150)和Merus技术(参见de Kruif等人,Biotechnol.Bioeng.106(2010)741-750)技术。用于生产包含功能性抗体Fc部分的双特异性抗体的方法在本领域中也是已知的(参见,例如,Zhu等人,Cancer Lett.86(1994)127-134);和Suresh等人,Methods Enzymol.121(1986)210-228)。

[0528] 这些方法通常涉及单克隆抗体的产生,例如通过将骨髓瘤细胞与小鼠的脾细胞融合,该小鼠已经用杂交瘤技术用所需抗原免疫(参见,例如,Yokoyama等人,Curr.Protoc.Immunol.Chapter 2,Unit 2.5,2006)或通过重组抗体工程技术(库克隆或噬菌体展示/酵母展示)(参见,例如,Chames&Baty,FEMS Microbiol.Letters 189(2000)1-8),以及使用已知的分子克隆技术,将两种或多种不同单克隆抗体的抗原结合结构域或者其片段或部分组合,以得到双特异性或多特异性构建体。

[0529] 可以使用本领域已知的方法通过将组成结合特异性缀合来制备本发明的多特异性分子。例如,可以单独生成双特异性分子的每种结合特异性,然后将其彼此缀合。当结合特异性是蛋白质或肽时,可以使用多种偶联剂或交联剂进行共价结合。交联剂的实例包括蛋白质A、碳二亚胺(carbodiimide)、N-琥珀酰亚胺基-5-乙酰基-硫代乙酸酯(SATA)、5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)(DTNB)、邻苯二甲酰亚胺(oPDM)、N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫代)丙酸酯(SPDP)和磺基琥珀酰亚胺基4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-羧酸酯(磺基-SMCC)(参见例如,Karpovsky等人,1984J.Exp.Med.160:1686;Liu,M A等人,1985Proc.Natl.Acad.Sci.USA 82:8648)。其他方法包括Paulus,1985Behring Ins.Mitt.No.78,118-132;Brennan等人,1985Science 229:81-83和Glennie等人,1987J.Immunol.139:2367-2375中描述的方法。缀合剂是SATA和磺基-SMCC,两者均可从Pierce Chemical有限公司(Rockford,111)获得。

[0530] 当结合特异性是抗体时,它们可以通过两条重链的C末端铰链区的巯基键缀合。在一个特别的实施方案中,在缀合之前,将铰链区修饰为包含奇数个巯基残基,例如一个。

[0531] 或者,可以在相同载体中编码两个或更多个结合特异性,并在相同宿主细胞中表

达和装配。当双特异性分子是mAb X mAb、mAb X Fab、Fab X F(ab')₂或配体X Fab融合蛋白时,此方法特别有用。本发明的多特异性抗体可以是包含一个单链抗体和结合决定簇的单链分子,或者可以是包含两个结合决定簇的单链多特异性抗体。多特异性抗体可以包含至少两个单链分子。制备多特异性抗体和分子的方法描述于例如美国专利号5,260,203;美国专利号5,455,030;美国专利号4,881,175;美国专利号5,132,405;美国专利号5,091,513;美国专利号5,476,786;美国专利号5,013,653;美国专利号5,258,498;和美国专利号5,482,858中。

[0532] 多特异性抗体与其特异性靶标的结合可以通过例如酶联免疫吸附测定(ELISA)、放射免疫测定(REA)、FACS分析、生物测定(例如生长抑制)或蛋白质印迹测定来确认。这些测定中的每一种通常通过采用对目标复合物具有特异性的标记试剂(例如抗体)来检测特定目标蛋白质-抗体复合物的存在。在

[0533] 另一方面,本发明提供了一种核酸,其编码本发明的多特异性抗体或其片段或其结合结构域。可以对此类核酸序列进行优化以在哺乳动物细胞中表达。

[0534] 术语“核酸”在本文中与术语“多核苷酸”互换使用,并且是指一种或多种单链或双链形式的脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸及其聚合物。该术语涵盖含有已知核苷酸类似物或修饰的骨架残基或连接(linkage)的核酸,它们是合成的、天然存在的和非天然存在的,具有与参考核酸相似的结合特性,并且以类似于参考核苷酸的方式代谢。此类类似物的实例包括但不限于硫代磷酸酯、氨基磷酸酯、甲基膦酸酯、手性甲基磷酸酯、2-0-甲基核糖核苷酸、肽-核酸(PNA)。除非另有说明,否则特定的核酸序列还隐含地涵盖其保守修饰的变体(例如简并密码子取代)和互补序列,以及明确指出的序列。具体而言,如下所述,简并密码子取代可以通过生成这样的序列来实现,即在所述序列中,一个或多个选定(或全部)密码子的第三位置被混合碱基和/或脱氧肌苷(deoxyinosine)残基取代(Batzer等人,Nucleic Acid Res.19:5081,1991;Ohtsuka等人,J.Biol.Chem.260:2605-2608,1985;和Rossolini等人,Mol.Cell.Probes 8:91-98,1994)。

[0535] 本发明提供了基本上纯化的核酸分子,其编码多肽,所述多肽包含上述多特异性抗体的区段或结构域。当从合适的表达载体表达时,由这些核酸分子编码的多肽能够表现出抗原结合能力或本发明的多特异性抗体的能力。

[0536] 本发明中还提供了多核苷酸,其编码表1至表3中列出的本发明的多特异性抗体的结合结构域的至少一个CDR区并且通常编码所有三个CDR区。由于密码子的简并性,将有多种核酸序列编码每种免疫球蛋白氨基酸序列。

[0537] 多核苷酸序列可以从头通过固相DNA合成或通过PCR诱变编码本发明的多特异性抗体或其片段或其结合结构域的现有序列(例如,以下实施例中描述的序列)来产生。核酸的直接化学合成可以通过本领域已知的方法来完成,例如Narang等人,1979,Meth.Enzymol.68:90的磷酸三酯法;Brown等人,Meth.Enzymol.68:109,1979的磷酸二酯法;Beaucage等人,Tetra.Lett.,22:1859,1981的二乙基亚磷酰胺法;和美国专利号4,458,066的固体支撑法。通过PCR将突变引入多核苷酸序列中可以通过例如如下文献中描述的方法来进行:PCRTechnology:Principles and Applications for DNA Amplification,H.A.Erlich(Ed.),Freeman Press,NY,N.Y.,1992;PCR Protocols:A Guide to Methods and Applications,Innis等人(Ed.),Academic Press,San Diego,Calif,1990;Mattila等

人, *Nucleic Acids Res.* 19:967, 1991; 和 Eckert 等人, *PCR Methods and Applications* 1: 17, 1991。

[0538] 本发明还提供了表达载体和宿主细胞, 用于生产本发明的多特异性抗体或其片段或其结合结构域。

[0539] 术语“载体”旨在指能够转运已与其连接的另一种多核苷酸的多核苷酸分子。载体的一种类型是“质粒”, 其是指环状双链DNA环, 其中可以连接其他DNA区段。载体的另一种类型是病毒载体, 其中可以将其他DNA区段连接到病毒基因组中。某些载体能够在它们导入的宿主细胞中自主复制(例如, 具有细菌复制起点的细菌载体和游离体(episomal)哺乳动物载体)。在导入宿主细胞后, 其他载体(例如非游离体哺乳动物载体)可以被整合到宿主细胞的基因组中, 从而与宿主基因组一起复制。

[0540] 此外, 某些载体能够指导与其可操作地连接的基因的表达。此类载体在本文中称为“重组表达载体”(或简称为“表达载体”)。通常, 在重组DNA技术中有用的表达载体通常是质粒的形式。在本说明书中, “质粒”和“载体”可以互换使用, 因为质粒是最常用的载体形式。然而, 本发明旨在包括具有等同功能的此类其他形式的表达载体, 例如病毒载体(例如复制缺陷型逆转录病毒、腺病毒和腺相关病毒)。在该具体背景下, 术语“可操作地连接”是指两个或更多个多核苷酸(例如, DNA)片段之间的功能关系。通常, 它是指转录调节序列与转录序列的功能关系。例如, 如果在合适的宿主细胞或其他表达系统中, 启动子或增强子序列刺激或调节编码序列的转录, 则它与该编码序列可操作地连接。通常, 与转录序列可操作地连接的启动子转录调控序列与转录序列在物理上是连续的, 即, 它们是顺式的。但是, 某些转录调控序列, 例如增强子, 不必在物理上连续或位于其增强转录的编码序列的附近。

[0541] 可以使用各种表达载体来表达编码多特异性抗体链或结合片段的多核苷酸。基于病毒的表达载体和非病毒表达载体均可用于在哺乳动物宿主细胞中生产抗体。非病毒载体和系统包括质粒、游离体载体(通常具有用于表达蛋白质或RNA的表达盒)和人工染色体(参见例如Harrington等人, *Nat Genet.* 15:345, 1997)。例如, 可用于在哺乳动物(例如人)细胞中表达CD137结合多核苷酸和多肽的非病毒载体包括pThioHis A、B和C、pcDNA3.1/His、pEBVHis A、B和C(Invitrogen, San Diego, Calif.)、MPS V载体和本领域已知的用于表达其他蛋白质的许多其他载体。有用的病毒载体包括基于逆转录病毒、腺病毒、腺相关病毒、疱疹病毒的载体, 基于SV40、乳头瘤病毒、HBP爱泼斯坦巴尔病毒(HBP Epstein Barr virus)、牛痘病毒载体和塞姆利基森林病毒(Semliki Forest virus, SFV)的载体。参见Brent等人, 同上; Smith, *Annu. Rev. Microbiol.* 49:807, 1995; 和 Rosenfeld 等人, *Cell* 68:143, 1992。

[0542] 表达载体的选择取决于要在其中表达载体的预期宿主细胞。通常, 表达载体包含与编码多特异性抗体链或片段的多核苷酸可操作地连接的启动子和其他调控序列(例如, 增强子)。在一个实施方案中, 采用诱导型启动子来防止插入序列在非诱导条件下的表达。诱导型启动子包括例如阿拉伯糖、lacZ、金属硫蛋白启动子或热激启动子。转化生物体的培养物可以在非诱导条件下扩增, 而不会使群体偏向于表达产物被宿主细胞更好地耐受的编码序列。除启动子外, 有效表达多特异性抗体链或片段还可能需或期望其他调控元件。这些元件通常包括ATG起始密码子和相邻的核糖体结合位点或其他序列。另外, 可以通过包含适合使用中的细胞系统的增强子来增强表达的效率(参见, 例如, Scharf 等人, *Results Probl. Cell Differ.* 20:125, 1994; 和 Bittner 等人, *Meth. Enzymol.*, 153:516, 1987)。例如,

可以使用SV40增强子或CMV增强子来增加在哺乳动物宿主细胞中的表达。

[0543] 表达载体还可以提供分泌信号序列位置,从而与由插入的本发明的多特异性抗体或其片段或其结合结构域序列所编码的多肽形成融合蛋白。更经常地,将插入的本发明的多特异性抗体或其片段或其结合结构域序列与信号序列连接,然后包含在载体中。用于接收编码多特异性抗体轻链和重链可变结构域的结合结构域的序列的载体有时也编码恒定区或其部分。这种载体允许可变区表达为与恒定区的融合蛋白,从而导致产生完整的抗体及其抗原结合片段。通常,这样的恒定区是人的。

[0544] 术语“重组宿主细胞”(或简称为“宿主细胞”)是指已将重组表达载体引入其中的细胞。应当理解,这些术语不仅旨在指特定的对象细胞,而且还指该细胞的后代。因为由于突变或环境影响,在后代中可能发生某些修饰,所以此类后代实际上可能与亲本细胞不同,但仍包括在本文所用的术语“宿主细胞”的范围内。

[0545] 用于携带和表达本发明的多特异性抗体或其片段或其结合结构域的宿主细胞可以是原核或真核的。大肠杆菌是一种可用于克隆和表达本发明的多核苷酸的原核宿主。其他适用的微生物宿主包括杆菌,例如枯草芽孢杆菌,以及其他肠杆菌科,例如沙门氏菌、沙雷氏菌和各种假单胞菌。在这些原核宿主中,还可以制备表达载体,其通常包含与宿主细胞相容的表达控制序列(例如,复制起点)。另外,将存在任意数量的各种众所周知的启动子,例如乳糖启动子系统、色氨酸(trp)启动子系统、 β -内酰胺酶启动子系统或噬菌体 λ 的启动子系统。启动子通常控制表达(任选地与操纵子序列一起),并具有核糖体结合位点序列等,用于启动和完成转录和翻译。其他微生物,例如酵母,也可以用于表达本发明的CD137结合多肽。还可以将昆虫细胞与杆状病毒载体结合使用。

[0546] 在一个实施方案中,使用哺乳动物宿主细胞来表达和生产本发明的多特异性抗体或其片段或其结合结构域。例如,它们可以是表达内源性免疫球蛋白基因的杂交瘤细胞系,也可以是具有外源性表达载体的哺乳动物细胞系。这些包括任何正常的终将死亡的(mortal)或者正常或异常的永生的动物或人类细胞。例如,已经开发了许多能够分泌完整免疫球蛋白的合适宿主细胞系,包括CHO细胞系、各种Cos细胞系、HeLa细胞、骨髓瘤细胞系、转化的B细胞和杂交瘤。哺乳动物组织细胞培养物表达多肽的用途在Winnacker, FROM GENES TO CLONES, VCH Publishers, N.Y., N.Y., 1987中大体地描述。用于哺乳动物宿主细胞的表达载体可以包括表达控制序列,例如复制起点、启动子和增强子(参见,例如,Queen等人, Immunol. Rev. 89: 49-68, 1986),和必要的加工信息位点,例如核糖体结合位点、RNA剪接位点、聚腺苷酸化位点和转录终止子序列。这些表达载体通常含有来源于哺乳动物基因或哺乳动物病毒的启动子。合适的启动子可以是组成型、细胞类型特异性、阶段特异性和/或可调节的或可调控的。有用的启动子包括但不限于金属硫蛋白启动子、组成型腺病毒主要晚期启动子、地塞米松诱导型MMTV启动子、SV40启动子、MRP pol III启动子、组成型MPS V启动子、四环素诱导型CMV启动子(例如人立即早期CMV启动子)、组成型CMV启动子和本领域已知的启动子-增强子组合。

[0547] 引入包含目的多核苷酸序列的表达载体的方法取决于细胞宿主的类型。例如,氯化钙转染通常用于原核细胞,而磷酸钙处理或电穿孔可用于其他细胞宿主。(大体上参见Sambrook等人,同上)。其他方法包括,例如电穿孔、磷酸钙处理、脂质体介导的转化、注射和显微注射、弹道法(ballistic method)、病毒体、免疫脂质体、聚阳离子核酸缀合物、裸DNA、

人工病毒体、与疱疹病毒结构蛋白VP22的融合体(Elliot和O'Hare, Cell 88:223, 1997)、试剂增强的DNA吸收和离体转导。为了长期、高产量地生产重组蛋白,通常需要稳定的表达。例如,可以使用本发明的表达载体制备稳定表达本发明的多特异性抗体或其片段或其结合结构域的细胞系,所述表达载体包含病毒复制起点或内源性表达元件和选择标记基因。引入载体后,可以使细胞在丰富的培养基中生长1-2天,然后将其转换为选择性培养基。选择标记的目的是赋予对选择的抗性,并且其存在允许成功表达引入序列的细胞在选择培养基中生长。有抗性的、稳定转染的细胞可以使用适合细胞类型的组织培养技术使增殖。因此,本发明提供了一种生产本发明的抗体或其抗原结合片段的方法,其中所述方法包括以下步骤:培养宿主细胞,所述宿主细胞包括编码本发明的抗体或其抗原结合片段的核酸或载体,由此表达本公开的所述抗体或其片段。

[0548] 一方面,本发明涉及一种生产本发明的多特异性抗体或其结合结构域或其片段的方法,该方法包括以下步骤:培养宿主细胞,所述宿主细胞表达编码本发明的多特异性抗体或其结合结构域或其片段的核酸。

[0549] 另一方面,本发明涉及一种药物组合物,其包含本发明的多特异性抗体和药学上可接受的载体。药学上可接受的载体增强或稳定组合物,或促进组合物的制备。药学上可接受的载体包括生理上相容的溶剂、分散介质、包衣、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。

[0550] 本发明的药物组合物可以通过本领域已知的多种方法来施用。施用途和/或方式取决于所需结果。施用可以是静脉内、肌肉内、腹膜内或皮下施用,或在靶部位附近施用。药学上可接受的载体应适合于静脉内、肌肉内、皮下、肠胃外、脊髓或表皮施用(例如通过注射或输注)。取决于施用途,活性化合物(即本发明的多特异性抗体)可以用一种材料包被,以保护该化合物免受酸和可能使该化合物失活的其他自然条件的影响。

[0551] 本发明的药物组合物可以根据本领域众所周知的和常规实践的方法制备。参见,例如,Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Mack Publishing Co., 20th ed., 2000; 和 Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978。药物组合物优选在GMP条件下制造。通常,在本发明的药物组合物中采用治疗有效剂量或有效剂量的本发明的多特异性抗体。通过本领域技术人员已知的常规方法将本发明的多特异性抗体配制成药学上可接受的剂型。调整剂量方案以提供最佳的所需反应(例如治疗反应)。例如,可以施用单次推注,可以随时施用数个分开的剂量,或者可以根据治疗情况的紧急程度按比例减少或增加剂量。以剂量单位形式配制肠胃外组合物以易于施用和剂量均匀是特别有利的。本文所用的剂量单位形式是指适合作为待治疗受试者的单位剂量的物理上离散的单位;每个单位包含经计算可与所需的药物载体一起产生所需的治疗效果的预定量的活性化合物。

[0552] 可以改变本发明的药物组合物中活性成分的实际剂量水平,以便获得活性成分的量,所述活性成分的量可以针对特定患者、组合物和施用方式有效地实现所需治疗反应,而对病人无毒。所选择的剂量水平取决于多种药代动力学因素,包括所使用的本发明的特定组合物或其酯、盐或酰胺的活性、施用途、施用时间、所使用的特定化合物的排泄速率、治疗的持续时间、与所使用的特定组合物组合使用的其他药物、化合物和/或材料、所治疗的患者的年龄、性别、体重、状况、一般健康状况和既往病史等因素。

[0553] 本发明的多特异性抗体通常多次施用。单剂之间的间隔可以是每周、每月或每年。间隔也可以是不规则的,如通过测量患者中本发明的多特异性抗体的血液水平所指示的。或者,本发明的多特异性抗体可以作为缓释制剂施用,在这种情况下,需要较少的频繁施用。剂量和频率取决于抗体在患者中的半衰期。通常,人源化抗体的半衰期比嵌合抗体和非人抗体的半衰期更长。施用的剂量和频率可以根据治疗是预防性的还是治疗性的而变化。在预防性应用中,在很长一段时间内以相对不频繁的间隔施用相对较低的剂量。一些患者终生持续接受治疗。在治疗应用中,有时需要以相对较短的间隔施用相对较高的剂量,直到疾病的进展减少或终止,并且优选直到患者显示出疾病症状的部分或完全缓解。此后,可以对患者施用预防方案。

[0554] 一方面,本发明涉及用作药物的本发明的多特异性抗体或本发明的药物组合物。在合适的实施方案中,本发明提供了多特异性抗体或药物组合物,其用于治疗有此需要的受试者的增生性疾病,特别是癌症。在另一方面,本发明提供了多特异性抗体或药物组合物,其用于生产用于治疗增生性疾病,特别是癌症的药物。

[0555] 另一方面,本发明涉及多特异性抗体或药物组合物用于治疗有此需要的受试者的增生性疾病,特别是癌症中的用途。

[0556] 另一方面,本发明涉及多特异性抗体或药物组合物在制备用于治疗有此需要的受试者的增生性疾病,特别是癌症的药物中的用途。

[0557] 另一方面,本发明涉及一种治疗受试者的方法,该方法包括向受试者施用治疗有效量的本发明的多特异性抗体。在合适的实施方案中,本发明涉及治疗受试者的增生性疾病,特别是癌症的方法,该方法包括向受试者施用治疗有效量的本发明的多特异性抗体。

[0558] 术语“受试者”包括人类和非人类动物。非人类动物包括所有脊椎动物,例如哺乳动物和非哺乳动物,例如非人类灵长类动物、绵羊、狗、牛、鸡、两栖动物和爬行动物。除非另有说明,否则术语“患者”或“受试者”在本文中可互换使用。

[0559] 如本文所用,术语“治疗(treatment)”、“治疗(treating)”、“治疗(treat)”、“治疗(treated)”等是指获得期望的药理和/或生理效果。就部分或完全治愈疾病和/或归因于该疾病的不良影响或延迟疾病进展而言,该作用可能是治疗性的。如本文所用,“治疗”涵盖对哺乳动物例如人类的疾病的任何治疗,并且包括:(a)抑制疾病,即阻止其发展;和(b)减轻疾病,即引起疾病消退。

[0560] 术语“治疗有效量”或“有效量”是指当施用于哺乳动物或其他受试者以治疗疾病时足以引起对疾病的这种治疗的剂的量。“治疗有效量”将根据剂、疾病及其严重程度以及被治疗受试者的年龄、体重等而变化。

[0561] 在一个实施方案中,增生性疾病是癌症。术语“癌症”是指以异常细胞的快速且不受控制的生长为特征的疾病。癌细胞可以局部扩散,也可以通过血液和淋巴系统扩散到身体的其他部位。术语“肿瘤”和“癌症”在本文可互换使用,例如,两个术语均涵盖实体和液体(例如扩散或循环的)肿瘤。如本文所用,术语“癌”或“肿瘤”包括恶变前以及恶性癌症和肿瘤。本文使用的术语“癌症”是指广泛的肿瘤,包括所有实体和血液恶性肿瘤。此类肿瘤的例子包括但不限于:良性或特别是恶性肿瘤、实体瘤、脑癌、肾癌、肝癌、肾上腺癌、膀胱癌、乳腺癌、腹部癌(例如胃肿瘤)、食道癌、卵巢癌、子宫颈癌、结肠癌、直肠癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌(例如非小细胞肺癌和小细胞肺癌)、阴道癌、甲状腺癌、黑素瘤(例如不可切除的或转

移性黑素瘤)、肾细胞癌、肉瘤、胶质母细胞瘤、多发性骨髓瘤或胃肠道癌尤其是结肠癌或结直肠腺瘤、头颈部肿瘤、子宫内膜癌、Cowden综合征、Lhermitte-Duclos病、Bannayan-Zonana综合征、前列腺增生、赘生物尤其是上皮特征的赘生物优选乳癌或鳞状细胞癌、慢性淋巴细胞性白血病、慢性骨髓性白血病(例如费城染色体阳性慢性骨髓性白血病)、急性淋巴细胞性白血病(例如费城染色体阳性急性淋巴细胞性白血病)、非霍奇金淋巴瘤、浆细胞骨髓瘤、霍奇金淋巴瘤、白血病及其任意组合。在一个优选的实施方案中,癌症是肺癌,优选非小细胞肺癌(NSCLC)。在另一个实施方案中,所述癌症是结直肠癌。

[0562] 本发明的多特异性抗体或本发明的组合物抑制实体瘤的生长,但也抑制液体瘤的生长。在另一个实施方案中,增生性疾病是实体瘤。术语“实体瘤”尤其是指乳腺癌、卵巢癌、结肠癌、直肠癌、前列腺癌、腹部癌(尤其是胃癌)、子宫颈癌、肺癌(例如非小细胞肺癌和小细胞肺癌)和头颈部肿瘤。此外,取决于肿瘤类型和所使用的特定组合,可以获得肿瘤体积的减小。本发明的多特异性抗体或本发明的组合物还适合于预防患有癌症的受试者中的肿瘤的转移扩散和微转移瘤(micrometastases)的生长或发展。

[0563] 在一个实施方案中,所述癌症是PDL1阳性的,优选地,其中与健康组织相比,所述癌症表达高水平的PDL1,特别是其中与健康组织中的PDL1表达(分别为mRNA或蛋白)相比,所述癌症表达PDL1(mRNA或蛋白质)的水平高至少2倍,至少3倍,至少4倍,至少5倍,至少6倍,至少7倍,至少8倍,至少9倍,至少10倍,至少15倍,至少20倍,至少30倍,至少40倍,至少50倍,至少60倍,至少70倍,至少80倍,至少90倍,至少100倍。在一些实施方案中,所述癌症是恶性的。在一些实施方案中,所述癌症是良性的。在一些实施方案中,所述癌症是原发性的。在一些实施方案中,所述癌症是继发性的。在一个实施方案中,所述癌症是肺癌,优选非小细胞肺癌(NSCLC)。在另一个实施方案中,所述癌症是结直肠癌。

[0564] 一方面,本发明涉及一种试剂盒,其包含本发明的多特异性抗体或本发明的药物组合物。试剂盒可以包括一个或多个其他元件,包括:使用说明;其他试剂,例如标记,治疗剂或可用于使抗体与标记或治疗剂螯合或以其他方式偶联的试剂,或放射防护组合物;用于制备用于施用的抗体分子的装置或其他材料;药学上可接受的载体;以及用于向受试者施用的装置或其他材料。在一个具体的实施方案中,试剂盒包含药学有效量的本发明的多特异性抗体。在另一个实施方案中,试剂盒包含药学有效量的冻干形式的本发明的多特异性抗体和稀释剂,以及任选地使用说明。所述试剂盒还可以包括用于重构的过滤针和用于注射的针。

[0565] 表1. 本发明的CD137结合结构域的实例(CDR残基以粗体和斜体字母显示)。

[0566]

SEQ ID 编号	Ab 区	序列
38-02-A04		
SEQ ID NO: 1	HCDR1 (H27-H42; AHo 编号)	GFSFSNSYWIC
SEQ ID NO: 2	HCDR2 (H57-H76; AHo 编号)	CTFVGSSDSTYYANWAKG
SEQ ID NO: 3	HCDR3 (H108-H138; AHo 编号)	RHPSDAVYGYANNL
SEQ ID NO: 4	HCDR1 (AHo 定义) (38-02-A04 sc01) (38-02-A04 sc05 IF)	VSGFSFSNSYW
SEQ ID NO: 5	HCDR1 (AHo 定义) (38-02-A04 sc06 全长) (38-02-A04 sc13)	ASGFSFSNSYW
SEQ ID NO: 6	HCDR2 (AHo 定义)	TFVGSSDSTYYANWAKGR
SEQ ID NO: 7	HCDR3 (AHo 定义)	HPSDAVYGYANN
SEQ ID NO: 8	HCDR1 (Kabat 定义)	NSYWIC

[0567]

SEQ ID NO: 9	HCDR2 (Kabat 定义)	CTFVGSSDSTYYANWAKG
SEQ ID NO: 10	HCDR3 (Kabat 定义)	HPSDAVYGYANNL
SEQ ID NO: 11	HCDR1 (Chothia 定义)	GFSFSNSY
SEQ ID NO: 12	HCDR2 (Chothia 定义)	VGSSD
SEQ ID NO: 13	HCDR3 (Chothia 定义)	PSDAVYGYANN
SEQ ID NO: 14	VH(VH4) (38-02-A04 sc01)	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCKV SGFSFSNSYWIC WIRQPPGKGLEW IG CTFVGSSDSTYYANWAK GRVTIS VDSSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY CARHPSDAVYGYANNL WGQGT LVSS
SEQ ID NO: 15	VH (VH4) (38-02-A04 sc05 IF) 突变 VH: I44V; F89V; Y105F.	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCKV SGFSFSNSYWIC WVRQPPGKGLE WIG CTFVGSSDSTYYANWAK GRVT ISVDSSKNQVSLKLSSVTAADTAV YFCARHPSDAVYGYANNL WGQGT LTVSS

[0568]

SEQ ID NO: 16	VH (VH4) (38-02-A04 sc06 全长) 突变 VH: V25A; I44V; V82K; F89V; Y105F	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCKA <i>SGFSFSNSYWIC</i> WVRQPPGKGLE WIG <i>CTFVGSSDSTYYANWAK</i> GRVT ISKDSSKNQVSLKLSSVTAADTAV YFCAR <i>HPSDAVYGYANNLWG</i> QGT LTVSS
SEQ ID NO: 17	VH (VH3) (38-02-A04 sc13) 突变 VH: G51C (AHo 编 号)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA <i>SGFSFSNSYWIC</i> WVRQAPGKCLE WIG <i>CTFVGSSDSTYYANWAK</i> GRFT ISRDNSKNTVYVLQMNSLRAEDTAV YYCAR <i>HPSDAVYGYANNLWG</i> QGT LTVSS
SEQ ID NO: 18	LCDR1 (L24-L42; AHo 编号) (Kabat 定义)	QASQSINNVLA
SEQ ID NO: 19	LCDR2 (L58-L72; AHo 编号) (Kabat 定义)	RASTLAS
SEQ ID NO: 20	LCDR3 (L107-L138; AHo 编号) (Kabat 定义)	QSSYGNYGD
SEQ ID NO: 21	LCDR1 (AHo 定义)	ASQSINNV
SEQ ID NO: 22	LCDR2 (AHo 定义)	RASTLASGVPSR
SEQ ID NO:	LCDR3	SYGNYG

[0569]

23	(AHo 定义)	
SEQ ID NO: 24	LCDR1 (Chothia 定义)	SQSINNV
SEQ ID NO: 25	LCDR2 (Chothia 定义)	RAS
SEQ ID NO: 26	LCDR3 (Chothia 定义)	SYGNYG
SEQ ID NO: 27	VL (Vk1-sk17) (38-02-A04 sc01)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC QA SQSINNVL AWYQQKPGKAPKLLIY RASTLAS GVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLPEDFATYYC QSSYGNYG DFG TGTKVTVLG
SEQ ID NO: 28	VL (Vk1-sk17) (38-02-A04 sc05 IF) 突变 VL: A51P	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC QA SQSINNVL AWYQQKPGKPPKLLIY RASTLAS GVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLPEDFATYYC QSSYGNYG DFG TGTKVTVLG
SEQ ID NO: 29	VL (Vk1-sk17) (38-02-A04 sc06 全长) 突变 VL: I2L; A51P	DLQMTQSPSSLSASVGDRVTITC Q ASQSINNVL AWYQQKPGKPPKLLI YRASTLAS GVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLPEDFATYYC QSSYGNYG DF GTGTKVTVLG
SEQ ID NO: 30	VL (Vk1-sk17)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC QA SQSINNVL AWYQQKPGKAPKLLIY

[0570]

	(38-02-A04 sc13) 突变 VL: T141C (AHo 编号)	RASTLAS GVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYC QSSYGNYG DFG CGTKVTVLG
SEQ ID NO: 31	scFv (VL-接头-VH) (38-02-A04 sc01)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC QA SQSINNVL AWYQQKPGKAPKLLIY RASTLAS GVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYC QSSYGNYG DFG TGTKVTVLGGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSET LSLTCKVSG FSFSNSYWIC WIRQPP GKGLEWIG CTFVGSSDSTYYANWA KGRVTISVDSSKNQFSLKLSSVTAA DTAVYYC ARHPSDAVYGYANNLW GQGTTLTVSS
SEQ ID NO: 32	scFv (VL-接头-VH) (38-02-A04 sc05 IF)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC QA SQSINNVL AWYQQKPGKPPKLLIY RASTLAS GVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYC QSSYGNYG DFG TGTKVTVLGGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSET LSLTCKVSG FSFSNSYWIC WVRQP PGKGLEWIG CTFVGSSDSTYYANW AKGRVTISVDSSKNQVSLKLSSVT AADTAVYFC ARHPSDAVYGYANN LWGQGTTLTVSS
SEQ ID NO: 33	scFv (VL- 接 头 -VH)(38-02-A04 sc06 全 长)	DLQMTQSPSSLSASVGDRVTITC Q ASQSINNVL AWYQQKPGKPPKLLI YRASTLAS GVPSRFSGSGSGTDFTL

[0571]

		TISLQPEDFATYYC QSSYGNYGDF GTGTKVTVLGGGGGSGGGGSGG GSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSE TSLTCKAS GFSFSNSYWICWVRQ PPGKLEWIG CTFVGSSDSTYYAN WAKGRVTISKDSSKNQVSLKLSSV TAADTAVYFCAR HPSDAVYGYANN LWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 34	scFv (VL-接头-VH) (38-02-A04 sc13)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITC QA SQSINNVL AWYQQKPGKAPKLLIY RASTLAS GVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYC QSSYGNYGDFG CGTKVTVLGGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAAS GFSFSNSYWICWVRQ APGKCLEWIG CTFVGSSDSTYYAN WAKGRFTISRDN SKNTVYLQMNS LRAEDTAVYYCAR HPSDAVYGYA NNLWGQGLTVTVSS
38-27-C05 sc01		
SEQ ID NO: 35	HCDR1 (H27-H42; AHo 编号)	GFSFNNDYDMC
SEQ ID NO: 36	HCDR2 (H57-H76; AHo 编号)	CIDTGDGSTYYASWAKG
SEQ ID NO: 37	HCDR3 (H108-H138; AHo 编号)	REAASSSGYGMGYFDL

[0572]

SEQ ID NO: 38	HCDR1 (AHo 定义)	VSGFSFNNDYD
SEQ ID NO: 39	HCDR2 (AHo 定义)	IDTGDGSTYYASWAKGR
SEQ ID NO: 40	HCDR3 (AHo 定义)	EAASSSGYGMGYFD
SEQ ID NO: 41	HCDR1 (Kabat 定义)	NDYDMC
SEQ ID NO: 42	HCDR2 (Kabat 定义)	CIDTGDGSTYYASWAKG
SEQ ID NO: 43	HCDR3 (Kabat 定义)	EAASSSGYGMGYFDL
SEQ ID NO: 44	HCDR1 (Chothia 定义)	GFSFNNDY
SEQ ID NO: 45	HCDR2 (Chothia 定义)	TGDG
SEQ ID NO: 46	HCDR3 (Chothia 定义)	AASSSGYGMGYFD

[0573]

SEQ ID NO: 47	VH (VH4)	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCKV <i>SGFSFNNDYDMC</i> WIRQPPGKGLE WIG <i>CIDTGDGSTYYASWAK</i> GRVTIS VDSSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY <i>CAREAASSSGYGMGYFDL</i> WGQGT LTVSS
SEQ ID NO: 48	LCDR1 (L24-L42; AHo 编号) (Kabat 定义)	QSSQSVYDNNWLA
SEQ ID NO: 49	LCDR2 (L58-L72; AHo 编号) (Kabat 定义)	RASNLAS
SEQ ID NO: 50	LCDR3 (L107-L138; AHo 编号) (Kabat 定义)	QGTYLSSNWWYWA
SEQ ID NO: 51	LCDR1 (AHo 定义)	SSQSVYDNNW
SEQ ID NO: 52	LCDR2 (AHo 定义)	RASNLASGVPSR
SEQ ID NO: 53	LCDR3 (AHo 定义)	TYLSSNWWYW
SEQ ID NO: 54	LCDR1 (Chothia 定义)	SQSVYDNNW
SEQ ID NO:	LCDR2	RAS

[0574]

55	(Chothia 定义)	
SEQ ID NO: 56	LCDR3 (Chothia 定义)	TYLSSNWYW
SEQ ID NO: 57	VL (Vk1-sk17)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTC QS SQSVYDNNWL AWYQQKPGKAPK LLIY RASNLA SGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYC QGTYLSS NWYWAF GTGTKVTVLG
SEQ ID NO: 58	scFv (VL-接头-VH)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTC QS SQSVYDNNWL AWYQQKPGKAPK LLIY RASNLA SGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYC QGTYLSS NWYWAF GTGTKVTVLGGGGGSG GGSGGGGGSGGGGSQVQLQESGP GLVKPSETLSLTCKVSG FSFNNDY DMCWIR QPPGKGLEWIG CIDTGD GSTYYASWAK GRVTISVDSSKNQFS LKLSSVTAADTAVYYC AREAASSS GYGMGYFDL WGQGTlTVTVSS
38-27-A11		
SEQ ID NO: 59	HCDR1 (H27-H42; AHo 编号)	GFSFSANYYP C
SEQ ID NO: 60	HCDR2 (H57-H76; AHo 编号)	CIYGGSSDITYDANWTK

[0575]

SEQ ID NO: 61	HCDR3 (H108-H138; AHo 编号)	RSAWYSGWGGDL
SEQ ID NO: 62	HCDR1 (AHo 定义)	ASGFSFSANY
SEQ ID NO: 63	HCDR2 (AHo 定义)	IYGGSSDITYDANWTKG
SEQ ID NO: 64	HCDR3 (AHo 定义)	SAWYSGWGGD
SEQ ID NO: 65	HCDR1 (Kabat 定义)	ANYYPE
SEQ ID NO: 66	HCDR2 (Kabat 定义)	CIYGGSSDITYDANWTK
SEQ ID NO: 67	HCDR3 (Kabat 定义)	SAWYSGWGGDL
SEQ ID NO: 68	HCDR1 (Chothia 定义)	GFSFSANY
SEQ ID NO: 69	HCDR2 (Chothia 定义)	GGSS
SEQ ID NO:	HCDR3	AWYSGWGGD

[0576]

70	(Chothia 定义)	
SEQ ID NO: 71	VH (VH3) (38-27-A11 sc02)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFSFSANYYP CWVRQAPGKGLE WIG CIYGGSSDITYDANWTK GRFTI SRDNSKNTVYQLQMNSLRAEDTAV YYCARS AWYSGWGGDL WGQGTL VTVSS
SEQ ID NO: 72	VH (VH3) (38-27-A11 sc03)	ESQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFSFSANYYP CWVRQAPGKGLE WIG CIYGGSSDITYDANWTK GRFTI SRDNSKNTVYQLQMNSLRAEDTAV YFCARS AWYSGWGGDL WGPGLTV TVSS
SEQ ID NO: 73	VH (VH3) (38-27-A11 sc07) (G51C)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFSFSANYYP CWVRQAPGKCLE WIG CIYGGSSDITYDANWTK GRFTI SRDNSKNTVYQLQMNSLRAEDTAV YYCARS AWYSGWGGDL WGQGTL VTVSS
SEQ ID NO: 74	LCDR1 (L24-L42; AHo 编号) (Kabat 定义)	QASQSSISNRLA
SEQ ID NO: 75	LCDR2 (L58-L72; AHo 编号) (Kabat 定义)	SASTLAS
SEQ ID NO: 76	LCDR3 (L107-L138; AHo 编号)	QSTYYGNDGNA

[0577]

	(Kabat 定义)	
SEQ ID NO: 77	LCDR1 (AHo 定义)	ASQISISNR
SEQ ID NO: 78	LCDR2 (AHo 定义)	SASTLASGVPSR
SEQ ID NO: 79	LCDR3 (AHo 定义)	TYYGNDGN
SEQ ID NO: 80	LCDR1 (Chothia 定义)	SQISISNR
SEQ ID NO: 81	LCDR2 (Chothia 定义)	SAS
SEQ ID NO: 82	LCDR3 (Chothia 定义)	TYYGNDGN
SEQ ID NO: 83	VL (Vk1-sk17) (38-27-A11 sc02)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTC QA SQISISNRL AWYQQKPGKAPKLLIY SASTLAS GVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYC QSTYYGNDGNA FGTGTKVTVLG
SEQ ID NO: 84	VL (Vk1-sk17) (38-27-A11 sc03)	DFQLTQSPSSLSASVGDRVITTC QA SQISISNRL AWYQQKPGKPPKLLIY SASTLAS GVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYC QSTYYGNDGNA

[0578]

		FGTGTKVTVLG
SEQ ID NO: 85	VL (Vk1-sk17) (38-27-A11 sc07) (T141C)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITC QA SQ SISNRL AWYQQKPGKAPKLLIY SASTLAS GVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQSTYYGNDGNA FGCGTKVTVLG
SEQ ID NO: 86	scFv (VL-接头-VH) (38-27-A11 sc02) (PRO1359)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITC QA SQ SISNRL AWYQQKPGKAPKLLIY SASTLAS GVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYC Q STYYGNDGNA FGTGTKVTVLGGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAAS GFSFS ANYYP PCWVR QAPGKGLEWIG CIYGGSSDITYDA NWTK GRFTISRDN SKNTVYLQMN SLRAEDTAVYY CARS AWY SGWGG DLWG QGT LVTVSS
SEQ ID NO: 87	scFv (VL-接头-VH) (38-27-A11 sc03) (PRO1360)	DFQLTQSPSSLSASVGDRVITITC QA SQ SISNRL AWYQQKPGK PPKLLIY SASTLAS GVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYC Q STYYGNDGNA FGTGTKVTVLGGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSESQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAAS GFSFS ANYYP PCWVR QAPGKGLEWIG CIYGGSSDITYDA NWTK GRFTISRDN SKNTVYLQMN SLRAEDTAVY FCARS AWY SGWGG DLWG PGT LVTVSS

[0579]

SEQ ID NO: 88	scFv (VL-接头-VH) (38-27-A11 sc07) (VL-T141C; VH-G51C) (PRO1704)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITC <i>QA</i> <i>SQ</i> <i>SISNRL</i> AWYQQKPGKAPKLLIY <i>SASTLAS</i> GVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYC <i>QSTYYGNDGNA</i> FGCGTKVTVLGGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAAS <i>GFSFS</i> <i>ANY</i> PCWVR QAPGKCLEWIG <i>CIYGGSSDITYDA</i> <i>NWTK</i> GRFTISRDN SKNTVYLQMN SLRAEDTAVYYCARS <i>AWYSGWGG</i> <i>DLWGQ</i> GLTVTVSS

[0580] 表2:本发明的PDL1结合结构域的实例(CDR残基以粗体和斜体字母显示)。

[0581]

SEQ ID 编号	Ab 区	序列
37-20-B03		
SEQ ID NO: 89	HCDR1 (H27-H42; AHo 编号)	GFSFNSDYWIY
SEQ ID NO: 90	HCDR2 (H57-H76; AHo 编号)	SIYGGSSGNTQYASWAQG
SEQ ID NO: 91	HCDR3 (H108-H138; AHo 编号)	RGYVDYGGATDL
SEQ ID NO: 92	HCDR1 (AHo 定义) (37-20-B03 sc01)	VSGFSFNSDYW
SEQ ID NO:	HCDR1	ASGFSFNSDYW

[0582]

93	(AHO 定义) (37-20-B03 sc02) (37-20-B03 sc09.1)	
SEQ ID NO: 94	HCDR2 (AHO 定义)	IYGGSSGNTQYASWAQGR
SEQ ID NO: 95	HCDR3 (AHO 定义)	GYVDYGGATD
SEQ ID NO: 96	HCDR1 (Kabat 定义)	SDYWIY
SEQ ID NO: 97	HCDR2 (Kabat 定义)	SIYGGSSGNTQYASWAQG
SEQ ID NO: 98	HCDR3 (Kabat 定义)	GYVDYGGATDL
SEQ ID NO: 99	HCDR1 (Chothia 定义)	GFSFNSDY
SEQ ID NO: 100	HCDR2 (Chothia 定义)	GGSSG
SEQ ID NO: 101	HCDR3 (Chothia 定义)	YVDYGGATD
SEQ ID NO: 102	VH (VH4) (37-20-B03 sc01)	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCKV <i>SGFSFNSDYWIY</i> WIRQPPGKGLEW <i>IGSIYGGSSGNTQYASWAQGR</i> VTIS

[0583]

		VDSSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY CARGYVDYGGATDLWGQGTLVTV SS
SEQ ID NO: 103	VH (VH1) (37-20-B03 sc02)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCK ASGFSFNSDYWIYWVRQAPGQGL EWMGSIYGGSSGNTQYASWAQGR VTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDTA VYYCARGYVDYGGATDLWGQGTL VTVSS
SEQ ID NO: 104	VH (VH3) (37-20-B03 sc09.1) 突变: G56A; Y105F	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFSFNSDYWIYWVRQAPGKGLE WIASIYGGSSGNTQYASWAQGRFTI SRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAV YFCARGYVDYGGATDLWGQGTLV TVSS
SEQ ID NO: 105	LCDR1 (L24-L42; AHo 编号) (Kabat 定义)	QASQSIGTYLA
SEQ ID NO: 106	LCDR2 (L58-L72; AHo 编号) (Kabat 定义)	RAFILAS
SEQ ID NO: 107	LCDR3 (L107-L138; AHo 编号) (Kabat 定义)	QSNFYSDSTTIGPNA
SEQ ID NO: 108	LCDR1 (AHo 定义)	ASQSIGTY
SEQ ID NO:	LCDR2	RAFILASGVPSR

[0584]

109	(AHo 定义)	
SEQ ID NO: 110	LCDR3 (AHo 定义)	NFYSDSTTIGPN
SEQ ID NO: 111	LCDR1 (Chothia 定义)	SQSIGTY
SEQ ID NO: 112	LCDR2 (Chothia 定义)	RAF
SEQ ID NO: 113	LCDR3 (Chothia 定义)	NFYSDSTTIGPN
SEQ ID NO: 114	VL (Vk1-sk17) (37-20-B03 sc01) (37-20-B03 sc02)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC QA SQSIGTYLAWYQQKPGKAPKLLIY RAFILASGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYC QSNFYSDSTTIG PNAFGTGTKVTVLG
SEQ ID NO: 115	VL (Vk1-sk17) (37-20-B03 sc09.1) 突变: S9A; A51P	DIQMTQSPASLSASVGDRVTITC QA SQSIGTYLAWYQQKPGKPPKLLIY RAFILASGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYC QSNFYSDSTTIG PNAFGTGTKVTVLG
SEQ ID NO: 116	scFv (VL-接头-VH) (37-20-B03 sc01) (PRO997)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC QA SQSIGTYLAWYQQKPGKAPKLLIY RAFILASGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYC QSNFYSDSTTIG PNAFGTGTKVTVLGGGGSGGGG SGGGSGGGGSQVQLQESGPGLV KPSETLSLTCKVSG FSFN SDYWIY WIRQPPGKGLEWIG SIYGGSSGNT QYASWAQGRVTISVDSSKNQFSLK

[0585]

		LSSVTAADTAVYYCARGYVDYGG ATDLWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 117	scFv (VL-接头-VH) (37-20-B03 sc02) (PRO1013)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCQA SQSIGTYLAWYQQKPGKAPKLLIY RAFILASGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQSNFYSDSTTIG PNAFGTGTKVTVLGGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVK KPGASVKVCKASGFSFNSDYWIY WVRQAPGQGLEWMGSIYGGSSG NTQYASWAQGRVTMTRDTSISTAY MELSSLRSED TAVYYCARGYVDYGG ATDLWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 118	scFv (VL-接头-VH) (37-20-B03 sc09.1)	DIQMTQSPASLSASVGDRVITITCQ ASQSIGTYLAWYQQKPGKPPKLLI YRAFILASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQSNFYSDSTT IGPNAFGTGTKVTVLGGGGGSGG GGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGG LVQPGGSLRLSCAASGFSFNSDY WIYWVRQAPGKGLEWIASIYGGSS SGNTQYASWAQGRFTISRDN SKN TVY LQMNSLRAEDTAVYFCARGY VDYGGATDLWGQGTLVTVSS
33-03-G02		
SEQ ID NO: 119	HCDR1 (H27-H42; AHo 编号)	GFSFSSGYDMC
SEQ ID NO:	HCDR2	CVVAGSVDITYYASWAKG

[0586]

120	(H57-H76; AHo 编号)	
SEQ ID NO:	HCDR3	RKDAYSDAFNL
121	(H108-H138; AHo 编号)	
SEQ ID NO:	HCDR1	VSGFSFSSGYD
122	(AHo 定义) (33-03-G02 sc01)	
SEQ ID NO:	HCDR1	ASGFSFSSGYD
123	(AHo 定义) (33-03-G02 sc03 全长) (33-03-G02 sc18)	
SEQ ID NO:	HCDR2	VVAGSVDITYYASWAKGR
124	(AHo 定义)	
SEQ ID NO:	HCDR3	KDAYSDAFN
125	(AHo 定义)	
SEQ ID NO:	HCDR1	SGYDMC
126	(Kabat 定义)	
SEQ ID NO:	HCDR2	CVVAGSVDITYYASWAKG
127	(Kabat 定义)	
SEQ ID NO:	HCDR3	KDAYSDAFNL
128	(Kabat 定义)	
SEQ ID NO:	HCDR1	GFSFSSGY
129	(Chothia 定义)	
SEQ ID NO:	HCDR2	AGSVD
130	(Chothia 定义)	
SEQ ID NO:	HCDR3	DAYSDAFN
131	(Chothia 定义)	
SEQ ID NO:	VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCKV
132	(VH4)	SGFSFSSGYDMC WIRQPPGKGLE

[0587]

	(33-03-G02 sc01)	WIGCVVAGSVDITYYASWAKGRVTI SVDSSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARKDAYSDAFNLWGQGTTLVTV SS
SEQ ID NO: 133	VH (VH4) (33-03-G02 sc03 全长) (突变: V2S; V25A; I44V; G56A; V82K; F89V; Y105F)	QSQLQESGPGLVKPSETLSLTCKAS GFSFSSGYDMC WVRQPPGKGLE WIA CVVAGSVDITYYASWAKGRVTI SKDSSKNQVSLKLSSVTAADTAVY FC ARKDAYSDAFNLWGQGTTLVTV SS
SEQ ID NO: 134	VH (VH4) (33-03-G02 sc18) 突 变 VH: V25A; I44; G56A; V82K; F89V (AHo 编号)	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCKA SGFSFSSGYDMC WVRQPPGKGLE WIA CVVAGSVDITYYASWAKGRVTI SKDSSKNQVSLKLSSVTAADTAVY YC ARKDAYSDAFNLWGQGTTLVTV SS
SEQ ID NO: 135	LCDR1 (L24-L42; AHo 编号) (Kabat 定义)	QASQSINDYLA
SEQ ID NO: 136	LCDR2 (L58-L72; AHo 编号) (Kabat 定义)	KASTLAS
SEQ ID NO: 137	LCDR3 (L107-L138; AHo 编号) (Kabat 定义)	QQGYITDIDNV
SEQ ID NO: 138	LCDR1 (AHo 定义)	AHo: ASQSINDY
SEQ ID NO:	LCDR2	AHo: KASTLASGVPSR

[0588]

139	(AHO 定义)	
SEQ ID NO: 140	LCDR3 (AHO 定义)	AHO: GYIITDIDN
SEQ ID NO: 141	LCDR1 (Chothia 定义)	SQSINDY
SEQ ID NO: 142	LCDR2 (Chothia 定义)	KAS
SEQ ID NO: 143	LCDR3 (Chothia 定义)	GYIITDIDN
SEQ ID NO: 144	VL (Vk1-sk17) (33-03-G02 sc01) (33-03-G02 sc18)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC QA SQSINDY LAWYQQKPGKAPKLLIY KASTLAS GVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLPEDFATYYC QQGYIITDIDN VFGTGTKVTVLG
SEQ ID NO: 145	VL (Vk1-sk17) (33-03-G02 sc03 全长) (突变 VL: I2F; M4L; A51P)	DFQLTQSPSSLSASVGDRVTITC QA SQSINDY LAWYQQKPGKSPKLLIY KASTLAS GVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLPEDFATYYC QQGYIITDIDN VFGTGTKVTVLG
SEQ ID NO: 146	scFv (VL-接头-VH) (33-03-G02 sc01) (PRO830)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC QA SQSINDY LAWYQQKPGKAPKLLIY KASTLAS GVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLPEDFATYYC QQGYIITDIDN VFGTGTKVTVLGGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKP SETLSLTCKVSG FSFSSGYDMCWI RQPPGKGLEWIG CVVAGSVDITYY ASWAKGRVTISVDSSKNQFSLKLSS

[0589]

		VTAADTAVYYC <i>ARKDAYSDAFNL</i> WGQGTLLVTVSS
SEQ ID NO: 147	scFv (VL-接头-VH) (33-03-G02 sc03 全长)	DFQLTQSPSSLSASVGDRVITITC <i>QA</i> <i>SQSINDYL</i> AWYQQKPGKSPKLLIY <i>KASTLAS</i> GVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLPEDFATYYC <i>QQGYIITDIDN</i> VFGTGTKVTVLGGGGGSGGGGSG GGGSGGGGGSQSQLQESGPGLVKPS ETLSLTCKAS <i>GFSFSSGYDMCWV</i> RQPPGKGLEWIA <i>CVVAGSVDITYY</i> <i>ASWAKGR</i> VTISKDSSKNQVSLKLS SVTAADTAVYFC <i>ARKDAYSDAFNL</i> WGQGTLLVTVSS
SEQ ID NO: 148	scFv (VL-接头-VH) (33-03-G02 sc18)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITC <i>QA</i> <i>SQSINDYL</i> AWYQQKPGKAPKLLIY <i>KASTLAS</i> GVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLPEDFATYYC <i>QQGYIITDIDN</i> VFGTGTKVTVLGGGGGSGGGGSG GGGSGGGGGSQVQLQESGPGLVKP SETLSLTCKAS <i>GFSFSSGYDMCWV</i> RQPPGKGLEWIA <i>CVVAGSVDITYY</i> <i>ASWAKGR</i> VTISKDSSKNQVSLKLS SVTAADTAVYYC <i>ARKDAYSDAFN</i> <i>L</i> WGQGTLLVTVSS

[0590] 表3. 本发明的人血清白蛋白结合结构域的实例 (CDR残基以粗体和斜体字母显示)。

[0591]

SEQ ID 编号	Ab 区	序列
19-01-H04 sc03		
SEQ ID NO: 149	HCDR1 (H27-H42; AHo 编号)	GFSLSNAMG
SEQ ID NO: 150	HCDR2 (H57-H76; AHo 编号)	IISVGGFTYYASWAKG
SEQ ID NO: 151	HCDR3 (H108-H138; AHo 编号)	RDRHGGDSSGAFYL
SEQ ID NO: 152	HCDR1 (AHo 定义)	ASGFSLSSNA
SEQ ID NO: 153	HCDR2 (AHo 定义)	ISVGGFTYYASWAKGR
SEQ ID NO: 154	HCDR3 (AHo 定义)	DRHGGDSSGAFY
SEQ ID NO: 155	HCDR1 (Kabat 定义)	SNAMG
SEQ ID NO: 156	HCDR2 (Kabat 定义)	IISVGGFTYYASWAKG
SEQ ID NO: 157	HCDR3 (Kabat 定义)	DRHGGDSSGAFYL
SEQ ID NO: 158	HCDR1 (Chothia 定义)	GFSLSSN
SEQ ID NO: 159	HCDR2 (Chothia 定义)	VGG
SEQ ID NO: 160	HCDR3 (Chothia 定义)	RDRHGGDSSGAFY
SEQ ID NO:	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA

[0592]

161		<i>SGFSLSSNAMGWVRQAPGKGLEY IGIISVGGFTYYASWAKGRFTISRD NSKNTVYVLQMNSLRAEDTATYFC ARDRHGGDSSGAFYLVGQGTLVT VSS</i>
SEQ ID NO: 162	LCDR1 (L24-L42; AHo 编号) (Kabat 定义)	QSSESVYSNNQLS
SEQ ID NO: 163	LCDR2 (L58-L72; AHo 编号) (Kabat 定义)	DASDLAS
SEQ ID NO: 164	LCDR3 (L107-L138; AHo 编号) (Kabat 定义)	AGGFSSSSDTA
SEQ ID NO: 165	LCDR1 (AHo 定义)	SSESVYSNNQ
SEQ ID NO: 166	LCDR2 (AHo 定义)	DASDLASGVPSR
SEQ ID NO: 167	LCDR3 (AHo 定义)	GFSSSSDT
SEQ ID NO: 168	LCDR1 Chothia 定义)	SESVYSNNQ
SEQ ID NO: 169	LCDR2 (Chothia 定义)	DAS
SEQ ID NO: 170	LCDR3 (Chothia 定义)	GFSSSSDT
SEQ ID NO: 171	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITC <i>QS</i> <i>SESVYSNNQL</i> SWYQQKPGQPPKL

[0593]

		LIY DASDL ASGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYC AGGFSSSS DTA FGGGTKLTVLG
SEQ ID NO: 172	scFv (VL-接头-VH)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITC QS SESVYSNNQL SWYQQKPGQPPKL LIY DASDL ASGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYC AGGFSSSS DTA FGGGTKLTVLGGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAAS GFSLS SNAMG WVRQAPGKGGLEYIG IISVGGFTYY ASWAK GRFTISRDN SKNTVYLQM NSLRAEDTATYFCARD RHGGDSS GAFYL WGQGTTLTVSS
23-13-A01 sc03		
SEQ ID NO: 173	HCDR1 (H27-H42; AHo 编号)	GFSFSSSYWIC
SEQ ID NO: 174	HCDR2 (H57-H76; AHo 编号)	CVFTGDGTTYASWAKG
SEQ ID NO: 175	HCDR3 (H108-H138; AHo 编号)	RPVSVYYYGMDL
SEQ ID NO: 176	HCDR1 (AHo 定义)	ASGFSFSSSYW
SEQ ID NO: 177	HCDR2 (AHo 定义)	VFTGDGTTYASWAKGR
SEQ ID NO: 178	HCDR3 (AHo 定义)	PVSVYYYGMD
SEQ ID NO:	HCDR1	SSYWIC

[0594]

179	(Kabat 定义)	
SEQ ID NO:	HCDR2	CVFTGDGTTYASWAKG
180	(Kabat 定义)	
SEQ ID NO:	HCDR3	PVSVYYYGMDL
181	(Kabat 定义)	
SEQ ID NO:	HCDR1	GFSFSSSYW
182	(Chothia 定义)	
SEQ ID NO:	HCDR2	TGDG
183	(Chothia 定义)	
SEQ ID NO:	HCDR3	VSVYYYGMD
184	(Chothia 定义)	
SEQ ID NO:	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFSFSSSYWICWVRQAPGKGLE WVGCVFTGDGTTYASWAKGRFTI SRDNSKNTVYQLQMNSLRAEDTAT YFCARPVSVYYYGMDLWGQGTLV TVSS
SEQ ID NO:	LCDR1	QASQIISRSA
186	(L24-L42; AHo 编号) (Kabat 定义)	
SEQ ID NO:	LCDR2	QASKLAS
187	(L58-L72; AHo 编号) (Kabat 定义)	
SEQ ID NO:	LCDR3	QCTYIDSNFGA
188	(L107-L138; AHo 编号) (Kabat 定义)	
SEQ ID NO:	LCDR1	ASQIISR
189	(AHo 定义)	

[0595]

SEQ ID NO: 190	LCDR2 (AHo 定义)	QASKLASGVPSR
SEQ ID NO: 191	LCDR3 (AHo 定义)	TYIDSNFG
SEQ ID NO: 192	LCDR1 (Chothia 定义)	SQIISR
SEQ ID NO: 193	LCDR2 (Chothia 定义)	QAS
SEQ ID NO: 194	LCDR3 (Chothia 定义)	TYIDSNFG
SEQ ID NO: 195	VL	DVVM TQSPSSLSASVGDRVTITC Q ASQIISR SAWYQQKPGQPPLLIY QASKLASGVPSR FSGSGSGTDFTLT ISLQPEDFATYYC QCTYIDSNFGA FGGGTKLTVLG
SEQ ID NO: 196	scFv (VL-接头-VH)	DVVM TQSPSSLSASVGDRVTITC Q ASQIISR SAWYQQKPGQPPLLIY QASKLASGVPSR FSGSGSGTDFTLT ISLQPEDFATYYC QCTYIDSNFGA FGGGTKLTVLGGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAAS GFSFSSSYWICWVR QAPGKGLEWVGC VFTGDGTTYA SWAKGRFTISRDNSKNTVYLQMNS LRAEDTATYFCAR PVSVYYYGMDL WGQGLTVTVSS

[0596] 表4. 与本发明有关的其他序列。

[0597]

SEQ ID 编号	Ab 区	序列
SEQ ID NO: 197	人 CD137	MGNSCYNIVATLLLVLNFERTSL QDPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPC PPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVF RTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLG AGCSMCEQDCKQGQELTKKGCK DCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSL DGKSVLVNGTKERDVVCGPSPAD LSPGASSVTPPAPAREPGHSPQIISF FLALTSTALLFLLFLLTLRFSVVKR GRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEED GCSCRFPEEEEGGCEL
SEQ ID NO: 198	人 PDL1	MRIFAVFIFMTYWHLLNAFTVTVP KDLYVVEYGSNM TIECKFPVEKQL DLAALIVYWEMEDKNIIQFVHGEE DLKVQHSSYRQRARLLKDQLSLG NAALQITDVKLQDAGVYRCMISY GGADYKRITVKVNAPYNKINQRIL VVD PVTSEHELTCAEGYPKAEVI WTSSDHQVLSGKTTTTNSKREEK LFNVTSTLRINTTTNEIFYCTFRRL DPEENHTAELVIPELPLAHPNERT HLVILGAILLCLGVALTFIFRLRKG RMMDVKKCGIQDTNSKKQSDTHL EET
SEQ ID NO: 199	基于 Vλ 种系的 FR4 (Sk17)	FGTGTKVTVLG
SEQ ID NO:	基于 Vλ 种系的 FR4	FGGGTKLTVLG

[0598]

200	(Sk12)	
SEQ ID NO: 201	基于 Vλ 种系的 FR4	FGGGTQLIILG
SEQ ID NO: 202	基于 Vλ 种系的 FR4	FGEGTELTVLG
SEQ ID NO: 203	基于 Vλ 种系的 FR4	FGSGTKVTVLG
SEQ ID NO: 204	基于 Vλ 种系的 FR4	FGGGTQLTVLG
SEQ ID NO: 205	基于 Vλ 种系的 FR4	FGGGTQLTALG
SEQ ID NO: 206	接头	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
SEQ ID NO: 207	接头	GGGGS
SEQ ID NO: 208	接头	GGGGSGGGGS

[0599] 表5.本发明的多特异性分子和IgG的实例。

[0600]

SEQ ID 编号	Ab 形式	序列
PRO885 (38-02-A04 sc01 scDb-i/33-03-G02 sc01 scDb-o)		
SEQ ID NO: 209	scDb	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQAS QSINDYLAWYQQKPGKAPKLLIYKA STLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGYIITDIDNVFGTG TKVTVLG GGGGGS QVQLQESGPGLV KPSETLSLTCKVSGFSFSNSYWICWI RQPPGKGLEWIGCTFVGSSDSTYYA

[0601]

		NWAKGRVTISVDSSKNQFSLKLSSVT AADTAVYYCARHPSDAVYGYANNL WGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGG GSGGGGSIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCQASQSINNVLAWYQQKPGKA PKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQSSYGN YGDFGTGKVTVLGGGGGSQVQLQE SGPGLVKPSSETLSLTCKVSGFSFSSGY DMCWIRQPPGKGLEWIGCVVAGSV DITYYASWAKGRVTISVDSSKNQFSL KLSSVTAADTAVYYCARKDAYSDAF NLWGQGTTLVTVSS
PRO951 (38-27-C05 sc02 scDb-i/33-03-G02 sc01 scDb-o)		
SEQ ID NO: 210	scDb	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS QSINDYLAWYQQKPGKAPKLLIYKA STLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQGYIITDIDNVFGTG TKVTVLGGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGFSFNNDYDMC WVRQAPGKGLEWIGCIDTGDGSTYY ASWAKGRFTISRDNKNTVYLQMNS LRAEDTAVYYCAREAASSSGYGMG YFDLWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCQSSQSVYDNNVLAWYQ QKPGKAPKLLIYRASNLASGVPSRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQG

[0602]

		TYLSSNWYWAFGTGTKVTVLGGGG GSQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCKV SGFSFSSGYDMCWIRQPPGKGLEWI GCVVAGSVDITYYASWAKGRVTISV DSSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA RKDAYSDAFNLWGQGTLVTVSS
PRO1123 (38-02-A04 sc05 IF scDb-i/33-03-G02 sc01 scDb-o)		
SEQ ID NO: 211	scDb	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQAS QSINDYLAWYQQKPGKAPKLLIYKA STLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGYIITDIDNVFGTG TKVTVLGGGGGSQVQLQESGPGLV KPSETLSLTCKVSGFSFSNSYWICWV RQPPGKGLEWIGCTFVGSSDSTYYA NWAKGRVTISVDSSKNQVSLKLSSVT AADTAVYFCARHPSDAVYGYANNL WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGG GSGGGGSIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCQASQSINNVLAWYQQKPGKP PKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQSSYGNV GDFGTGTKVTVLGGGGGSQVQLQE SGPGLVKPSETLSLTCKVSGFSFSSGY DMCWIRQPPGKGLEWIGCVVAGSV DITYYASWAKGRVTISVDSSKNQFSL KLSSVTAADTAVYYCARKDAYSDAF NLWGQGTLVTVSS
PRO1124 (38-02-A04 sc06 全长 scDb-i/33-03-G02 sc01 scDb-o)		

[0603]

SEQ ID NO: 212	scDb	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQAS QSINDYLAWYQQKPGKAPKLLIYKA STLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQGYIITDIDNVFGTG TKVTVLGGGGGSQVQLQESGPGLV KPSETLSLTCKASGFSFSNSYWICWV RQPPGKGLEWIGCTFVGSSDSTYYA NWAKGRVTISKDSSKNQVSLKLSSVT AADTAVYFCARHPSDAVYGYANNL WGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSLQMTQSPSSLSASVGDR VTITCQASQSINNVLAWYQQKPGKP PKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQSSYGN YGDFGTG TKVTVLGGGGGSQVQLQE SGPGLVKPSETLSLTCKVSGFSFSSGY DMCWIRQPPGKGLEWIGCVVAGSV DITYYASWAKGRVTISVDSSKNQFSL KLSSVTAADTAVYYCARKDAYSDAF NLWGQGTTLTVSS
PRO1125 (38-02-A04 sc01 scDb-i/33-03-G02 sc02 IF scDb-o)		
SEQ ID NO: 213	scDb	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQAS QSINDYLAWYQQKPGKSPKLLIYKA STLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQGYIITDIDNVFGTG TKVTVLGGGGGSQVQLQESGPGLV KPSETLSLTCKVSGFSFSNSYWICWI RQPPGKGLEWIGCTFVGSSDSTYYA

[0604]

		NWAKGRVTISVDSSKNQFSLKLSSVT AADTAVYYCARHPSDAVYGYANNL WGQGTTLVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSGGGSIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCQASQSINNVLAWYQQKPGKA PKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQSSYGN YGDFGTGKVTVLGGGGGSQVQLQE SGPGLVKPSSETLSLTCKVSGFSFSSGY DMCWVRQPPGKGLEWVACVAGSV DITYYASWAKGRVTISVDSSKNQFSL KLSSVTAADTAVYFCARKDAYSDAF NLWGQGTTLVTVSS
PRO1126 (38-02-A04 sc01 scDb-i/33-03-G02 sc03 全长 scDb-o)		
SEQ ID NO: 214	scDb	DFQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS QSINDYLAWYQQKPGKSPKLLIYKA STLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQGYITDIDNVFGTG TKVTVLGGGGGSQVQLQESGPGLV KPSETLSLTCKVSGFSFSNSYWICWI RQPPGKGLEWIGCTFVGSSDSTYYA NWAKGRVTISVDSSKNQFSLKLSSVT AADTAVYYCARHPSDAVYGYANNL WGQGTTLVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSGGGSIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCQASQSINNVLAWYQQKPGKA PKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQSSYGN

[0605]

		GDFGTGKVTVLGGGGGSQSQLQE SGPGLVKPSETLSLTCKASGFSFSSGY DMCWVRQPPGKGLEWIACVVAGSV DITYYASWAKGRVTISKDSSKNQVSL KLSSVTAADTAVYFCARKDAYSDAF NLWGQGTTLVTVSS
PRO1134 (38-02-A04 sc01 scDb-i/33-03-G02 sc07 GL VH3 scDb-o)		
SEQ ID NO: 215	scDb	DIQMTQSPSSLSASVGDVITTCQAS QSINDYLAWYQQKPGKSPKLLIYKA STLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGYIITDIDNVFGTG TKVTVLGGGGGSQVQLQESGPGLV KPSETLSLTCKVSGFSFSNSYWICWI RQPPGKGLEWIGCTFVGSSDSTYYA NWAKGRVTISVDSSKNQFSLKLSSVT AADTAVYYCARHPSDAVYGYANNL WGQGTTLVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSGGGG SIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCQASQSINNVLAWYQQKPGKA PKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQSSYGNV GDFGTGKVTVLGGGGGSEVQLVE SGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSSG YDMCWVRQAPGKGLEWVGCVVAG SVDITYYASWAKGRFTISRDNKNTV YLQMNSLRAEDTATYYCARKDAYSDAF NLWGPGTTLVTVSS
PRO963 (= PRO1051) (38-02-A04 sc01 scDb-i/33-03-G02 sc01		

[0606]

scDb-o/19-01-H04-sc03 scFv)		
SEQ ID NO: 216	scDb-scFv	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQAS QSINDYLAWYQQKPGKAPKLLIYKA STLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGYIITDIDNVFGTG TKVTVLGGGGGSQVQLQESGPGLV KPSETLSLTCKVSGFSFSNSYWICWI RQPPGKGLEWIGCTFVGSSDSTYYA NWAKGRVTISVDSSKNQFSLKLSSVT AADTAVYYCARHPSDAVYGYANNL WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSI QMTQSPSSLSASVGDR VTTCQASQSINNVLAWYQQKPGKA PKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQSSYGN YGDFGTGKTVLGGGGGSQVQLQE SGPGLVKPSETLSLTCKVSGFSFSSGY DMCWIRQPPGKGLEWIGCVVAGSV DITYYASWAKGRVTISVDSSKNQFSL KLSSVTAADTAVYYCARKDAYSDAF NLWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSI QMTQSPSSLSASVGDRVITTCQSS ES VYSNNQLSWYQQKPGQPPKLLIYDA SDLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCAGGFSSSSDTAFGGGT KLTVLGGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFSLSNAMGWVRQAPGKGLE

[0607]

		YIGIISVGGFTYYASWAKGRFTISRDN SKNTVYLMNSLRAEDTATYFCARD RHGGDSSGAFYLVWGQGLTVTVSS
PRO966 (= PRO1052) (38-27-C05 sc01 scDb-i/33-03-G02 sc01 scDb-o/19-01-H04-sc03 scFv)		
SEQ ID NO: 217	scDb-scFv	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQAS QSINDYLAWYQQKPGKAPKLLIYKA STLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQGYIITDIDNVFGTG TKVTVLGGGGGSQVQLQESGPGLV KPSETLSLTCKVSGFSFNNDYDMCW IRQPPGKGLEWIGCIDTGDGSTYYAS WAKGRVTISVDSSKNQFSLKLSSVTA ADTAVYYCAREAASSSGYGMGYFDL WGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCQSSQSVYDNNWLAWYQQKP GKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSG SGTDFTLTISLQPEDFATYYCQGTYL SSNWYWAFGTGTKVTVLGGGGGSQ VQLQESGPGLVKPSETLSLTCKVSGF SFSSGYDMCWIRQPPGKGLEWIGCV VAGSVDITYYASWAKGRVTISVDSSK NQFSLKLSSVTAADTAVYYCARKDA YSDAFNLWGQGLTVTVSSGGGGSG GGGSIQMTQSPSSLSASVGDRVITTC QSSESVYSNNQLSWYQQKPGQPPKL LIYDASDLASGVPSRFSGSGSGTDFT

[0608]

		LTISSLQPEDFATYYCAGGFSSSSDTA FGGGTKLTVLGGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFSLSNAMGWVRQAP GKGLYIGIISVGGFTYYASWAKGRF TISRDNSKNTVYLMNSLRAEDTAT YFCARDRHGGDSSGAFYLVWGQGT LTVSS
PRO1057 (38-02-A04 sc01 scDb-i/33-03-G02 sc01 scDb-o/23-12-A01-sc03, sk17sh4)		
SEQ ID NO: 218	scDb-scFv	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQAS QSINDYLAWYQQKPGKAPKLLIYKA STLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGYITDIDNVFGTG TKVTVLGGGGGSQVQLQESGPGLV KPSETLSLTCKVSGFSFSNSYWICWI RQPPGKGLEWIGCTFVGSSDSTYYA NWAKGRVTISVDSSKNQFSLKLSSVT AADTAVYYCARHPSDAVYGYANNL WGQGTLLTVSSGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCQASQSINNVLAWYQQKPGKA PKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQSSYGN YGDFGTGTKVTVLGGGGGSQVQLQE SGPGLVKPSETLSLTCKVSGFSFSSGY DMCWIRQPPGKGLEWIGCVVAGSV DITYYASWAKGRVTISVDSSKNQFSL

[0609]

		KLSSVTAADTAVYYCARKDAYSDAF NLWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGGSV VMTQSPSSLSASVGDRVITTCQASQII SSRSAWYQQKPGQPPKLLIYQASKL ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQCTYIDSNFGAFGGGTKLT VLGGGGSGGGSGGGSGGGGS EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFSFSSSYWICWVRQAPGKGLEWVG CVFTGDGTTYASWAKGRFTISRDN SKNTVYLMNSLRAEDTATYFCARP VSVYYYGMDLWGQGTTLVTVSS
PRO1058 (38-27-C05 sc01 scDb-i/33-03-G02 sc01 scDb-o/23-13-A01-sc03, sk17sh4)		
SEQ ID NO: 219	scDb-scFv	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQAS QSINDYLAWYQQKPGKAPKLLIYKA STLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGYIITDIDNVFGTG TKVTVLGGGGGSQVQLQESGPGLV KPSETLSLTCKVSGFSFNNDYDMCW IRQPPGKGLEWIGCIDTGDGSTYYAS WAKGRVTISVDSSKNQFSLKLSSVTA ADTAVYYCAREAASSSGYGMGYFDL WGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGG GGSGGGGSIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCQSSQSVYDNNWLAWYQQKP GKAPKLLIYRASNLASGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQGTYL

[0610]

		SSNWYWAFGTGTKVTVLGGGGGSQ VQLQESGPGLVKPSETLSLTCKVSGF SFSSGYDMCWIRQPPGKGLEWIGCV VAGSVDITYYASWAKGRVTISVDSSK NQFSLKLSSVTAADTAVYYCARKDA YSDAFNLWGQGTLVTVSSGGGGSG GGGSVVMTQSPSSLASVGDRVITIT CQASQIISRS AWYQQKPGQPPKLLI YQASKLASGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQCTYIDSNFGAFG GGTKLTVLGGGGGSGGGGSGGGG SGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASGFSFSSSYWICWVRQAPGK GLEWVGCVFTGDGTTYASWAKGR FTISRDN SKNTVY LQMNSLRAEDTAT YFCARPVSVYYYGMDLWGQGT LVT VSS
PRO1175 (37-20-B03-sc01-o/38-02-A04 sc01-i/19-01-H04sc03 scFv)		
SEQ ID NO: 220	scDb-scFv	DIQMTQSPSSLASVGDRVITITCQAS QSIGTYLAWYQQKPGKAPKLLIYRA FILASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQ PEDFATYYCQSNFYSDSTTIGPNAFG TGTKVTVLGGGGGSQVQLQESGPG LVKPSETLSLTCKVSGFSFSNSYWIC WIRQPPGKGLEWIGCTFVGSSDSTYY ANWAKGRVTISVDSSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCARHPSDAVYGYAN NLWGQGT LVT VSSGGGGSGGGGSG

		GGGSGGGGSIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCQASQSINNVLAWYQQKPGK APKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQSSYGN GDFGTGTKVTVLGGGGGSQVQLQE SGPGLVKPSETLSLTCKVSGFSFNSD YWIYWIRQPPGKGLEWIGSIYGGSSG NTQYASWAQGRVTISVDSSKNQFSL KLSSVTAADTAVYYCARGYVDYGG ATDLWGQGTTLTVSSGGGGSGGGG SIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSE SVYSNNQLSWYQQKPGQPPKLLIYD ASDLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCAGGFSSSSDTAFGGG TKLTVLGGGGGSGGGGSGGGGSG GGGSEVQLVESGGGLVQPGSLRLS CAASGFSLSNNAMGWVRQAPGKGL EYIGIISVGGFTYYASWAKGRFTISR NSKNTVYLMNSLRAEDTATYFCAR DRHGGDSSGAFYLVWGQGTTLTVSS
PRO1186 (38-02-A04 sc01 scDb-i/37-20-B03sc01 scDb-o/23-13-A01-sc03 scFv)		
SEQ ID NO: 221	scDb-scFv	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS QSIGTYLAWYQQKPGKAPKLLIYRA FILASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCQSNFYSDSTTIGPNAFG TGTKVTVLGGGGGSQVQLQESGPG LVKPSETLSLTCKVSGFSFSNSYWIC WIRQPPGKGLEWIGCTFVGSSDSTYY

[0612]

		ANWAKGRVTISVDSSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCARHPSDAVYGYAN NLWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVG DRVITTCQASQSINNVLAWYQQKPG KAPKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCQSSYGN YGDFGTGTKVTVLGGGGGSQVQLQ ESGPGLVKPSETLSLTCKVSGFSFNSD YWIYWIRQPPGKGLEWIGSIYGGSSG NTQYASWAQGRVTISVDSSKNQFSL KLSSVTAADTAVYYCARGYVDYGG ATDLWGQGTLVTVSSGGGGSGGGG SVVMTQSPSSLSASVGDRVITTCQAS QIISRSAWYQQKPGQPPKLLIYQAS KLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQ PEDFATYYCQCTYIDSNFGAFGGGTK LTVLGGGGGSGGGGSGGGGSGGG GSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFSFSSSYWICWVRQAPGKGLEW VGCVFTGDGTTYASWAKGRFTISR DNSKNTVYLQMNSLRAEDTATYFCA RPVSVYYYGMDLWGQGTLVTVSS
PRO1430 (38-02-A04 sc13 scDb-i/37-20-B03 sc01 scDb-o/19-01-H04 sc03 scFv)		
SEQ ID NO: 222	scDb-scFv	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQAS QSIGTYLAWYQQKPGKAPKLLIYRA FILASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQ PEDFATYYCQSNFYSDSTTIGPNAFG

[0613]

		TGTKVTVLGGGGGSEVQLVESGGG LVQPGGSLRLSCAASGFSFSNSYWIC WVRQAPGKCLEWIGCTFVGSSDSTY YANWAKGRFTISRDN SKNTVYLQM NSLRAEDTAVYYCARHPSDAVYGYA NNLWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSIQMTQSPSSLSASVG DRVITTCQASQSINNVLAWYQQKPG KAPKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCQSSYGN YGDFGCGTKVTVLGGGGGSQVQLQ ESGPGLVKPSSETLSLTCKVSGFSFNSD YWIYWIRQPPGKGLEWIGSIYGGSSG NTQYASWAQGRVTISVDSSKNQFSL KLSSVTAADTAVYYCARGYVDYGG ATDLWGQGTLVTVSSGGGGSGGGG SIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQSS SVYSNNQLSWYQQKPGQPPKLLIYD ASDLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS LQPEDFATYYCAGGFSSSSDTAFGGG TKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSG GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFSLSNAMGWVRQAPGKGL EYIGIISVGGFTYYASWAKGRFTISR DN SKNTVYLQMNSLRAEDTATYFCAR DRHGGDSSGAFYLVWGQGTLVTVSS
PRO1479 (38-02-A04 sc13 scDb-i/37-20-B03 sc09.1 scDb-o/19-01-H04 sc03 scFv)		
SEQ ID NO: 223	scDb-scFv	DIQMTQSPASLSASVGDRVITTCQAS

[0614]

	QSIGTYLAWYQQKPGKPPKLLIYRAF ILASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYYCQSNFYSDSTTIGPNAFGT GTKVTVLGGGGGSEVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFSFSNSYWIC WVRQAPGKCLEWIGCTFVGSSDSTY YANWAKGRFTISRDN SKNTVYLQM NSLRAEDTAVYYCARHPSDAVYGYA NNLWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSIQMTQSPSSLSASVG DRVITTCQASQSINNVLAWYQQKPG KAPKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCQSSYGN YGDFGCGTKVTVLGGGGGSEVQLV ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFNS DYWIYWVRQAPGKGLEWIASIYGG SGNTQYASWAQGRFTISRDN SKNTV YLQMNSLRAEDTAVYFCARGYVDY GGATDLWGQGTLVTVSSGGGGSGG GGSIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQ SSESVYSNNQLSWYQQKPGQP KLLI YDASDLASGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISLQPEDFATYYCAGGFSSSDTAFG GGTKLTVLGGGGGSGGGGSGGGG SGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASGFSLSNAMGWVRQAPGK GLEYGIIISVGGFTYYASWAKGRFTIS RDNSKNTVYLQMNSLRAEDTATYFC

[0615]

		ARDRHGGDSSGAFYLVWGQGLTVTV SS
PRO1482 (37-20-B03 sc09.1 scDb-i/38-02-A04 sc13 scDb-o//19-01-H04 sc03 scFv)		
SEQ ID NO: 224	scDb-scFv	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS QSINNVLAWYQQKPGKAPKLLIYRA STLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQSSYGNYGDFGCGTK VTVLGGGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFSFNSDYWIYWVR QAPGKGLEWIASIYGGSSGNTQYAS WAQGRFTISRDNSKNTVYLMNSLR AEDTAVYFCARGYVDYGGATDLWG QGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGS IQMTQSPASLSASVGDRVTIT CQASQSIGTYLAWYQQKPGKPPKLLI YRAFILASGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQSNFYSDSTTIGPN AFGTGTVTVLGGGGGSEVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSNSY WICWVRQAPGKCLEWIGCTFVGSSD STYYANWAKGRFTISRDNSKNTVYL QMNSLRAEDTAVYYCARHPSDAVY GYANNLWGQGLTVTVSSGGGGSGG GGS IQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQ SSESVYSNNQLSWYQQKPGQPPKLLI YDASDLASGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCAGGFSSSSDTAFG

[0616]

		GGTKLTVLGGGGGSGGGGSGGGG SGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASGFSLSNAMGWVRQAPGK GLEYGIIISVGGFTYYASWAKGRFTIS RDNSKNTVYLMNSLRAEDTATYFC ARDRHGGDSSGAFYLVWGQGLTVTV SS
PRO1431 (38-02-A04 sc13 scDb-i/33-03-G02 sc18 scDb-o/19-01-H04 sc03 scFv)		
SEQ ID NO: 225	scDb-scFv	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQAS QSINDYLAWYQQKPGKAPKLLIYKA STLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGYIITDIDNVFGTG TKVTVLGGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGFSFSNSYWICW VRQAPGKCLEWIGCTFVGSSDSTYY ANWAKGRFTISRDNSKNTVYLMNS LRAEDTAVYYCARHPSDAVYGYANN LVWGQGLTVTVSSGGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSIQMTQSPSSLSASVGDRT ITCQASQSINNVLAWYQQKPGKA PKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQSSYGY GDFGCGTKVTVLGGGGGSQVQLQE SGPGLVKPSETLSLTCKASGFSFSSGY DMCWVRQPPGKGLEWVACVVGSV DITYYASWAKGRVTISKDSSKNQVSL KLSSVTAADTAVYYCARKDAYSDAF NLWGQGLTVTVSSGGGGGSGGGGSI

[0617]

		QMTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSS VYSNNQLSWYQQKPGQPPKLLIYDA SDLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCAGGFSSSSDTAFGGGT KLTVLGGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFSLSNAMGWVRQAPGKGLE YIGIISVGGFTYYASWAKGRFTISRDN SKNTVYLMNSLRAEDTATYFCARD RHGGDSSGAFYLGWGQGTLLTVSS
PRO1473 (38-02-A04 sc13 scDb-i/33-03-G02 sc03 scDb-o/19-01-H04 sc03 scFv)		
SEQ ID NO: 226	scDb-scFv	DFQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS QSINDYLAWYQQKPGKSPKLLIYKA STLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGYIITDIDNVFGTG TKVTVLGGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGFSFSNSYWICW VRQAPGKCLEWIGCTFVGSSDSTYY ANWAKGRFTISRDN SKNTVYLMNS LRAEDTAVYYCARHPSDAVYGYANN LWGQGTLLTVSSGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCQASQSINNVLAWYQQKPGKA PKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQSSYGY GDFGCGTKVTVLGGGGGSQSQLQE SGPGLVKPSETLSLTCKASGFSFSSGY DMCWVRQPPGKGLEWVACVAGSV

[0618]

		DITYYASWAKGRVTISKDSSKNQVSL KLSSVTAADTAVYFCARKDAYSDAF NLWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGGSI QMTQSPSSLSASVGDRVITITCQSSS VYSNNQLSWYQQKPGQPPKLLIYDA SDLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCAGGFSSSSDTAFGGGT KLTVLGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFSLSNAMGWVRQAPGKGLE YIGIISVGGFTYYASWAKGRFTISRDN SKNTVYLMNSLRAEDTATYFCARD RHGGDSSGAFYLVWGQGTTLVTVSS
PRO1476 (33-03-G02 sc03 scDb-i/38-02-A04 sc13 scDb-o/19-01-H04 sc03 scFv)		
SEQ ID NO: 227	scDb-scFv	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCQAS QSINNVLAWYQQKPGKAPKLLIYRA STLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQSSYGNYGDFGCGTK VTVLGGGGGSQSQLQESGPGLVKPS ETLSLTCKASGFSFSSGYDMCWVRQ PPGKGLEWVACVAGSVDITYYASW AKGRVTISKDSSKNQVSLKLSSVTAA DTAVYFCARKDAYSDAFNLWGQGT LTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGG GSFQLTQSPSSLSASVGDRVITITCQAS QSINDYLAWYQQKPGKSPKLLIYKA STLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGYIITDIDNVFGTG

[0619]

		TKVTVLGGGGGSEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGFSFSNSYWICW VRQAPGKCLEWIGCTFVGSSDSTYY ANWAKGRFTISRDN SKNTVYLQMNS LRAEDTAVYYCARHPSDAVYGYANN LWGQGT LVT VSSGGGGSGGGGSIQ MTQSPSSLSASVGDRV TITCQSSSV YSNNQLSWYQQKPGQPPKLLIYDAS DLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQ PEDFATYYCAGGFSSSDTAFGGGTK LTVLGGGGGSGGGGSGGGGSGGG GSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFSLSNAMGWVRQAPGKGLEYI GIISVGGFTYYASWAKGRFTISRDN KNTVYLQMNSLRAEDTATYFCARDR HGGDSSGAFYLVWGQGT LVT VSS
PRO1432 (33-03-G02 sc18 scDb-i/38-02-A04 sc13 scDb-o/19-01-H04 sc03 scFv)		
SEQ ID NO: 228	scDb-scFv	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCQAS QSINNVLAWYQQKPGKAPKLLIYRA STLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQSSYGNYGDFGCGTK VTVLGGGGGSQVQLQESGPGLVKPS ETLSLTCKASGFSFSSGYDMCWVRQ PPGKGLEWVACVAGSVDITYYASW AKGRVTISKDSSKNQVSLKLSSVTAA DTAVYYCARKDAYSDAFNLWGQGT LVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCQ

[0620]

		ASQSINDYLAWYQQKPGKAPKLLIY KASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQGYIITDIDNVFG TGTKVTVLGGGGGSEVQLVESGGG LVQPGGSLRLSCAASGFSFSNSYWIC WVRQAPGKCLEWIGCTFVGSSDSTY YANWAKGRFTISRDN SKNTVYLQM NSLRAEDTAVYYCARHPSDAVYGYA >NNLWGQGT LVT VSSGGGGSGGGGS IQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSS VYSNNQLSWYQQKPGQPPKLLIYDA SDLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCAGGFSSSDTAFGGGT KLTVLGGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFSLSNAMGWVRQAPGKGLE YIGIISVGGFTYYASWAKGRFTISRDN SKNTVYLQMNSLRAEDTATYFCARD RHGGDSSGAFYLVWGQGT LVT VSS
PRO1480 (38-27-A11 sc02 scDb-i/37-20-B03 sc09.1 scDb-o/19-01-H04 sc03 scFv)		
SEQ ID NO: 229	scDb-scFv	DIQMTQSPASLSASVGDRVTITCQAS QSIGTYLAWYQQKPGKPPKLLIYRAF ILASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQ EDFATYYCQSNFYSDSTTIGPNAFGT GTKVTVLGGGGGSEVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFSFSANYYP C WVRQAPGKGLEWIGCIYGGSSDITY DANWTKGRFTISRDN SKNTVYLQM

[0621]

		NSLRAEDTAVYYCARSAWYSGWGG DLWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCQASQSISNRLAWYQQKPGK APKLLIYSASTLASGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQSTYYGN DGNAFGTGKVTVLGGGGGSEVQL VESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFN SDYWIYWVRQAPGKGLEWIASIYGG SSGNTQYASWAQGRFTISRDN SKNT VYLQMNSLRAEDTAVYFCARGYVD YGGATDLWGQGTTLVTVSSGGGGSG GGGSIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC QSSESVYSNNQLSWYQQKPGQPPL LIYDASDLASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISLQPEDFATYYCAGGFSSSSDTA FGGGTKLTVLGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFSLSNAMGWVRQAP GKGLEIYIGIISVGGFTYYASWAKGRF TISRDN SKNTVYLQMNSLRAEDTAT YFCARDRHGGDSSGAFYLVWGQGT LTVSS
PRO1481 (38-27-A11 sc03 scDb-i/37-20-B03 sc09.1 scDb-o/19-01-H04 sc03 scFv)		
SEQ ID NO: 230	scDb-scFv	DIQMTQSPASLSASVGDRVTITCQAS QSIGTYLAWYQQKPGKPPKLLIYRAF ILASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQ PEDFATYYCQSNFYSDSTTIGPNAFGT

[0622]

GTKVTVLGGGGSESQLVESGGGLV
QPGGSLRLSCAASGFSFSANYYP
VRQAPGKGLEWIGCIYGGSSDITYD
ANWTKGRFTISRDNKNTVYLQMNS
LRAEDTAVYFCARSAWYSGWGGDL
WPGTLVTVSSGGGGSGGGGSGG
GGGGGGSFQLTQSPSSLSASVGDR
VTITCQASQSSISNRLAWYQQKPGKPP
KLLIYSASTLASGVPSRFSGSGSGTDF
TLTISSLQPEDFATYYCQSTYYGNDG
NAFGTGTKVTVLGGGGSEVQLVE
SGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFNSD
YWIYWVRQAPGKGLEWIASIYGGSS
GNTQYASWAQGRFTISRDNKNTVY
LQMNSLRAEDTAVYFCARGYVDYG
GATDLWGQGTLVTVSSGGGGSGGG
GSIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQSS
ESVYSNNQLSWYQQKPGQPPLLIY
DASDLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS
SLQPEDFATYYCAGGFSSSSDTAFGG
GTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGS
GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRL
SCAASGFSLSNAMGWVRQAPGKG
LEYIGIISVGGFTYYASWAKGRFTISR
DNKNTVYLQMNSLRAEDTATYFCA
RDRHGGDSSGAFYLVWGQGTLVTVSS

PRO1480diS (38-27-A11 sc07 scDb-i/37-20-B03 sc09.1 scDb-o/19-01-H04 sc03
scFv)

[0623]

SEQ ID NO: 231	scDb-scFv	DIQMTQSPASLSASVGDRVTITCQAS QSIGTYLAWYQQKPGKPPKLLIYRAF ILASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYCQSNFYSDSTTIGPNAFGT GTKVTVLGGGGGSEVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFSFSANYYP WVRQAPGKCLEWIGCIYGGSSDITY DANWTKGRFTISRDNKNTVYLQM NSLRAEDTAVYYCARSAWYSGWGG DLWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSGGGG SIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCQASQSSISNRLAWYQQKPGK APKLLIYSASTLASGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQSTYYGN DGNAFGCGTKVTVLGGGGGSEVQL VESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFN SDYWIYWVRQAPGKGLEWIASIYGG SSGNTQYASWAQGRFTISRDNKNT VYLQMNSLRAEDTAVYFCARGYVD YGGATDLWGQGTLVTVSSGGGGSG GGG SIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC QSSESVYSNNQLSWYQQKPGQPPKL LIYDASDLASGVPSRFSGSGSGTDF LTISSLQPEDFATYYCAGGFSSSDTA FGGGTKLTVLGGGGSGGGGSGG GGSGGGG SEVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFSLSNAMGWVRQAP GKLEYIGIISVGGFTYYASWAKGRF

[0624]

		TISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAT YFCARDRHGGDSSGAFYLGQGT LVTSS
PRO1059 (33-03-G02 IgG1 LC, 具有 38-02-A04 sc01 scFV, PDL1/CD137(scFv) 沉默 Morrison)		
SEQ ID NO: 232	Morrison-L 轻 链	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS QSINDYLAWYQQKPGKAPKLLIYKA STLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQGYITDIDNVFGTG TKVTVLGTVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSS TLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGECGGGGSGGGGSIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSI NNVLAWYQQKPGKAPKLLIYRASTL ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE DFATYYCQSSYGNYGDFGTGKVTV LGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLQESGPGLVKPSETLSLTCKVSGF SFSNSYWICWIRQPPGKGLEWIGCTF VGSSDSTYYANWAKGRVTISVDSSK NQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHPS DAVYGYANNLWGQGTLLVTVSS
SEQ ID NO: 233	Morrison-L 重 链	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCKVSG FSFSSGYDMCWIRQPPGKGLEWIGC VVAGSVDITYYASWAKGRVTISVDSS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARKD

[0625]

		AYSDAFNLWGQGLTVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
PRO1060 (33-03-G02 IgG1 HC, 具有 38-02-A04 sc01 scFV, PDL1/CD137(scFv) 沉默 Morrison)		
SEQ ID NO: 234	Morrison-H 轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS QSINDYLAWYQQKPGKAPKLLIYKA STLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQGYIITDIDNVFGTG TKVTVLGTVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVVCLLNNFYPPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSS TLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 235	Morrison-H 重链	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCKVSG FSFSSGYDMCWIRQPPGKGLEWIGC VVAGSVDITYYASWAKGRVTISVDSS

[0626]

KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARKD
 AYSDAFNLWGQGLTVTVSSASTKGP
 SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
 FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
 SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV
 NHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP
 PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI
 SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
 VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
 VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
 ALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
 PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
 VEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS
 FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM
 HEALHNHYTQKSLSLSPGK**GGGGS**
GGGGSIQMTQSPSSLSASVGDRVIT
 CQASQSINNVLAWYQQKPGKAPKLL
 IYRASTLASGVPSRFSGSGSGTDFLT
 ISSLPEDFATYYCQSSYGNYGDFGT
 GTKVTVL**GGGGSGGGSGGGGS**
GGGGSQVQLQESGPGLVKPSSETLSL
 TCKVSGFSFSNSYWICWIRQPPGKGL
 EWIGCTFVGSSDSTYYANWAKGRVT
 ISVDSSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY
 CARHPSDAVYGYANNLWGQGLVT
 VSS

PRO1061 (33-03-G02 sc01 IgG1 LC, 具有 38-27-C05 sc01 scFv,
 PDL1/CD137(scFv) 沉默 Morrison)

[0627]

SEQ ID NO: 236	Morrison-L 轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQAS QSINDYLAWYQQKPGKAPKLLIYKA STLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQGYIITDIDNVFGTG TKVTVLGTVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSS TLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGECGGGGSGGGGSIQ MTQSPSSLSASVGDRVITTCQASQSI NNVLAWYQQKPGKAPKLLIYRASTL ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE DFATYYCQSSYGNYGDFGTGKVTV LGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLQESGPGLVKPSETLSLTCKVSGF SFSNSYWICWIRQPPGKGLEWIGCTF VGSSDSTYYANWAKGRVTISVDSSK NQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHPS DAVYGYANNLWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 237	Morrison-L 重链	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCKVSG FSFSSGYDMCWIRQPPGKGLEWIGC VVAGSVDITYYASWAKGRVTISVDSS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARKD AYSDAFNLWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP

[0628]

		PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
PRO1062 (33-03-G02 sc01 IgG1 HC, 具有 38-27-C05 sc01 scFv, PDL1/CD137(scFv) 沉默 Morrison)		
SEQ ID NO: 238	Morrison-H 轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQAS QSINDYLAWYQQKPGKAPKLLIYKA STLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQGYIITDIDNVFGTG TKVTVLGTVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSS TLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 239	Morrison-H 重链	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCKVSG FSFSSGYDMCWIRQPPGKGLEWIGC VVAGSVDITYYASWAKGRVTISVDSS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARKD AYSDAFNLWGQGLTVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV

[0629]

		NHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK GGGGS GGGGS IQMTQSPSSLSASVGDRVITIT CQASQSINNVLAWYQQKPGKAPKLL IYRASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLPEDFATYYCQSSYGNYGDFGT GTKVTVLGGGGGSGGGGSGGGGS GGGGS QVQLQESGPGLVKPSETLSL TCKVSGFSFSNSYWICWIRQPPGKGL EWIGCTFVGSSDSTYYANWAKGRVT ISVDSSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY CARHPSDAVYGYANNLWGQGTLVTVSS
PRO1137 (33-03-G02-sc01 IgG1)		
SEQ ID NO: 240	轻链 IgG	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCQAS QSINDYLAWYQQKPGKAPKLLIYKA STLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQGYITDIDNVFGTG TKVTVLGTVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD

[0630]

		NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSS TLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 241	重链 IgG	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCKVSG FSFSSGYDMCWIRQPPGKGLEWIGC VVAGSVDITYYASWAKGRVTISVDSS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARKD AYSDAFNLWGQGLTVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFVSMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
PRO1196 (37-20-B03 sc01 IgG1)		
SEQ ID NO: 242	轻链 IgG	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS QSIGTYLAWYQQKPGKAPKLLIYRA FILASGVPSRFSGSGGTDFLTISLQ PEDFATYYCQSNFYSDSTTIGPNAFG TGTKVTVLGTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK

[0631]

		VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 243	重链 IgG	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCKVSG FSFNSDYWIYWIRQPPGKGLEWIGSI YGGSSGNTQYASWAQGRVTISVDSS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGY VDYGGATDLWGQGTLLTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
PRO1138 (38-02-A04 sc01 IgG4)		
SEQ ID NO: 244	轻链 IgG	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS QSINNVLAWYQQKPGKAPKLLIYRA STLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQSSYGNYGDFGTGTK VTVLGTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA

[0632]

		LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSTL TLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 245	重链 IgG	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCKVSG FSFSNSYWICWIRQPPGKGLEWIGCT FVGSSDSTYYANWAKGRVTISVDSS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHP SDAVYGYANNLWGQGTLLTVSSAST KGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKY TCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPC PPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL LPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLGLK

[0633] 在本申请的全文中,如果说明书的文本(例如,表1至表5)与序列表之间存在差异,则以说明书的文本为准。

[0634] 应当理解,为清楚起见在单独的实施方案的背景下描述的本发明的某些特征也可以在单个实施方式中组合提供。相反,为简洁起见在单个实施方案的背景下描述的本发明的各种特征也可以单独地或以任何合适的子组合的形式提供。与本发明有关的实施方案的所有组合都被本发明特别地涵盖,并且在本文中公开,就好像每个组合都被单独地明确地公开了一样。另外,各种实施方案及其元素的所有子组合也被本发明特别地涵盖,并且在本文中公开,就好像每个这样的子组合都在本文中被单独地明确地公开了一样。

[0635] 本发明不限于本文所述的具体实施方案的范围。实际上,除了本文描述的那些之外,根据前面的描述,本发明的各种修改对于本领域技术人员将变得显而易见。这样的修改旨在落入所附权利要求的范围内。

[0636] 在各自的专利法允许的范围内,本文引用的所有专利、申请、出版物、测试方法、文献和其他材料均通过引用并入本文。

[0637] 下列实施例举例说明了上述发明,但并不意图以任何方式限制本发明的范围。相关领域技术人员已知的其他测试模型也可以确定所要求保护的发明的有益效果。

[0638] 实施例

[0639] 实施例1:对PDL1、CD137、HSA和MSA的亲合力。

[0640] 方法:

[0641] 使用Biacore T200设备(GE Healthcare)通过SPR测量确定了对不同物种的PDL1的亲合力。通过胺偶联将对人IgG的Fc区具有特异性的抗体固定在传感器芯片(CM5传感器芯片,GE Healthcare)上。对于所有形式,除了含有Fc的Morrison形式之外,固定抗体均捕获了不同物种的PDL1-Fc嵌合蛋白。在该实验中,使用GE Healthcare的Human Antibody Capture试剂盒(货号BR-1008-39)捕获了Fc标记的人CD137(R&D Systems,货号838-4B-100)和Fc标记的PDL1(Sino Biological,货号10084-H02H)。

[0642] 将对PDL1具有特异性的分子的三倍系列稀释液(0.12-90nM)注入流动池中三分钟,并监测解离10分钟。每个注射循环后,用一次注射3M $MgCl_2$ 溶液使表面再生。使用一对一的Langmuir结合模型计算表观解离常数(kd)和缔合速率常数(ka)以及表观解离平衡常数(KD)。使用与PDL1相同的设置确定对不同物种的CD137的亲合力,不同的是固定抗体捕获了不同物种的CD137-Fc嵌合蛋白。

[0643] 含Fc的形式被对人IgG的Fc区具有特异性的抗体直接捕获。测试了PDL1细胞外结构域或CD137细胞外结构域(范围从90到0.35nM)的两倍系列稀释液与生物传感器芯片上捕获的IgG的结合。每个注射循环后,用一次注射3M $MgCl_2$ 溶液使表面再生。

[0644] 使用Biacore T200设备(GE Healthcare)通过SPR测量确定了分子与不同物种的血清白蛋白(SA)的亲合力。使用胺偶联化学试剂将SA直接偶联至CM5传感器芯片(GE Healthcare)。在执行再生搜寻和表面性能测试以找到最佳测定条件后,测量剂量响应,并将获得的结合曲线进行双参考(空参考通道和零分析物进样)并使用1:1Langmuir模型拟合以获取动力学参数。该测定在pH 5.5的1X PBS-Tween缓冲液中进行。

[0645] 结果:

[0646] 表6提供了scDb-scFv对人PDL1的亲合力。对于所有scDb-scFv,均证实了与人PDL1的结合。人源化构建体的结合动力学测量结果显示对PDL1的结合亲合力有所不同,当比较克隆33-03-G02的CDR和结构(STR)移植物时,STR移植物的亲合力比相同克隆的CDR移植物提高了20倍(表6中的PR0885与PR01126)。与克隆33-03-G02的STR移植物相比,源自克隆37-20-B03(PR0997)的CDR移植物显示出大约两倍的亲合力。当33-03-G02的CDR移植物结合成不同的多特异性形式时,其结合亲合力与亲本scFv的结合亲合力相似(比较PR0830与PR0885、PR0951、PR01123、PR01124、PR0963、PR0966、PR01057、PR01058、PR01059和PR01060,表6)。源自两个克隆的scFv对人和食蟹猴PDL1的亲合力几乎相同(参见表6中的PR0977和PR0830)。当与相应的scFv进行比较时,发现包含抗PDL1部分33-03-G02 sc18、37-20-B03 sc01和37-20-B03 sc09.1的多特异性抗体的亲合力相似(分别为PR01392,33-03-G02 sc18的scFv:KD=9.94E-12M;PR0908,37-20-B03 sc01的scFv:KD=5.94E-12M;和PR01347,37-20-sc09.1的scFv:KD=9.00E-12M)。相反,与相应的scFv PR01183(33-03-G02 sc03的scFv:KD<2.09E-12M)相比,所有携带抗PDL1部分3303-G02 sc03的scDb-scFv对人PDL1的亲合力均下降。这些构建体的亲合力损失主要是由于解离速率加速导致解离常数增加。发现具有

抗PDL1结合部分37-20-B03 sc90.1的PR01430对PDL1的亲合力最高。

[0647] 如表6所示,对于所有scDb-scFv,均证实了与人CD137的结合。对衍生自克隆38-02-A04和38-27-C05的两个CD137特异性人源化构建体的CDR移植物的结合动力学的测量显示出了几乎相同的亲合力(比较表6中的PR0885和PR0951)。对于克隆38-02-04,移植到框架区中的所述结构残基导致亲合力提高超过200倍(比较表6中的PR0885和PR01124)。另外,对于衍生自克隆38-02-04的构建体,观察到与小鼠CD137的结合,但是亲合力大大降低。有趣的是,虽然与其相应scFv的亲合力相比(分别为PR01352,38-02-A04 sc13的scFv, $KD=1.47E-09M$ 和PR01360,38-27-A11 sc03的scFv, $KD=2.34E-10M$),含有抗CD137结合部分38-02-A04 sc13和38-27-A11 sc03的多特异性分子对人CD137的亲合力相似,但是在scDb发夹的内侧部分带有抗CD137部分38-27-A11 sc02(scDb-i结构域)的scDb-scFv分子(即PR01480)的亲合力明显优于相应scFv的亲合力(PR01359, $KD=3.24E-09M$;PR01359, $KD=3.07E-09M$)。相反,当将抗CD137部分38-27-A11 sc02置于scDb发夹的外部时,亲合力与scFv PR01359的亲合力相当。可以推测,这种亲和力的增加可能是由于当位于scDb发夹的内部时,结构域的稳定性提高引起的。结果,在scDb发夹内部包含抗CD137部分38-27-A11 sc02的多特异性抗体对人CD137的亲合力与含有抗CD137部分38-27-A11 sc03的scDb-scFv的亲合力几乎相同(比较PR01480和PR01481),这代表一个意外发现。

[0648] 通过SPR确认了scDb-scFv与血清白蛋白(SA)的结合。含有衍生自克隆19-01-H04的SA结合结构域的scDb-scFv显示出对人血清白蛋白的高亲合力结合,而未观察到对啮齿动物SA的结合。对于含有克隆23-13-A01的scDb-scFv,观察到了对人SA的结合,此外,这些分子与啮齿动物SA结合的亲合力降低(参见表6)。发现在pH 5.5下PR01430、PR014379和PR01480与HSA的结合具有很高的亲合力(低纳摩尔浓度的KD值),并且在测试分子之间相当,这体现了预期的发现,因为测试分子具有相同的抗SA结构域(IgG克隆19-01-H04)。此外,将pH值增加至7.4基本上不影响分子对HSA的亲合力(数据未显示)。

[0649] 实施例2:使用CHO细胞和Jurkat细胞在基于细胞的报告基因分析中测定的PDL1/PD-1相互作用的阻断,其中CHO细胞表达PDL1和TCR激活分子,Jurkat细胞表达PD-1并含有处于NFAT应答元件下的荧光素酶基因。

[0650] 方法:在生物发光报告基因分析中,稳定表达NFAT(活化T细胞的核因子)-荧光素酶报告基因和人PD-1的Jurkat T细胞充当效应T细胞。稳定表达人PDL1和T细胞受体(TCR)激活剂的细胞充当抗原呈递细胞。共培养两种细胞系通过TCR激活剂/TCR复合物的交联诱导Jurkat NFAT途径的激活。在PDL1表达细胞的参与后,PD-1效应T细胞中的PD-1信号传导抑制T细胞功能,并导致NFAT途径抑制。PD-1和PDL1受体相互作用的阻断导致NFAT途径的重新激活。将100 μ l细胞培养基(DMEM/F12,10%FCS)中的35,000个CHO/PDL1/TCR激活(BPS Bioscience)细胞添加到白细胞培养板的内孔中,并在37 $^{\circ}$ C和5%CO₂下孵育16-20小时。第二天,从每个孔中取出95 μ l细胞培养基,并加入50 μ l的各个待测分子(包括参考阿维鲁单抗)的2倍浓缩系列稀释液(3,000至0.46ng/ml)。然后,向每个孔中加入50 μ l以400,000个细胞/ml稀释在测定缓冲液(含10%FCS的RPMI1640)中的表达PD-1的效应Jurkat细胞(BPS Bioscience),然后将板在37 $^{\circ}$ C和5%CO₂下孵育6小时。最后,每孔加入50 μ l根据制造商方案制备的荧光素酶底物(BPS Bioscience),并将板在黑暗中孵育30分钟,使用Topcount测量发光。。

[0651]

表 6. 不同形式对不同物种的 PDL1、CD137 和血清白蛋白的亲合力。

PROID	克隆ID _{PD-1}	克隆ID _{CD137}	克隆ID _{SA}	形式	对人PD-1的亲合力				对食蟹猴PD-1的亲合力				对人CD137的亲合力				对小鼠SA的亲合力				对小鼠SA的亲合力							
					K _d (M ⁻¹ s ⁻¹)	K _d (s ⁻¹)	KD (M)	K _d (s ⁻¹)	K _d (M ⁻¹ s ⁻¹)	K _d (s ⁻¹)	KD (M)	K _d (s ⁻¹)	K _d (M ⁻¹ s ⁻¹)	K _d (s ⁻¹)	KD (M)	K _d (s ⁻¹)	K _d (M ⁻¹ s ⁻¹)	K _d (s ⁻¹)	KD (M)	K _d (s ⁻¹)	K _d (M ⁻¹ s ⁻¹)	K _d (s ⁻¹)	KD (M)	K _d (s ⁻¹)	K _d (M ⁻¹ s ⁻¹)	K _d (s ⁻¹)	KD (M)	K _d (s ⁻¹)
PRO085	38-02-G02 CDR	38-02-A04 CDR	NA	scD8	2.1E+05	1.4E-04	9.5E-11	NO	NO	NO	NO	2.4E+05	7.6E-04	3.2E-09	3.4E+05	7.0E-04	2.1E-09	2.9E+05	1.8E-01	5.8E-07	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
PRO081	38-02-G02 CDR	38-27-C03 CDR	NA	scD8	2.2E+05	1.5E-04	6.3E-11	NO	NO	NO	NO	1.5E+05	6.3E-04	4.7E-09	1.5E+05	1.0E-02	6.3E-09	NO	NO	NO	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
PRO1123	38-02-G02 CDR	38-02-A04 F	NA	scD8	2.8E+05	1.7E-04	7.5E-11	NO	NO	NO	NO	3.1E+05	2.7E-04	8.8E-10	3.1E+05	3.8E-04	1.1E-09	8.5E-04	2.7E-02	4.1E-07	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
PRO1134	38-02-G02 CDR	38-02-A04 STR	NA	scD8	3.1E+05	2.0E-04	6.7E-11	NO	NO	NO	NO	3.6E+05	<1.0E-05	1.5E-11	5.6E+05	3.8E-04	5.9E-10	2.0E+05	2.2E-03	1.1E-08	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
PRO1125	38-02-G02 F	38-02-A04 CDR	NA	scD8	1.3E+05	1.1E-04	6.7E-11	NO	NO	NO	NO	2.0E+05	7.5E-04	3.7E-09	NO	NO	NO	NO	5.4E+05	2.7E-01	5.1E-07	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
PRO1126	38-02-G02 STR	38-02-A04 CDR	NA	scD8	2.8E+05	<1.0E-05	3.5E-12	NO	NO	NO	NO	2.1E+05	7.5E-04	3.7E-09	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
PRO1134	38-02-G02 STR, V93	38-02-A04 CDR	NA	scD8	2.8E+05	7.6E-05	2.8E-11	NO	NO	NO	NO	2.5E+05	8.6E-04	3.4E-09	NO	NO	NO	NO	4.3E+05	1.9E-01	4.2E-07	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
PRO093	38-02-G02 CDR	38-02-A04 CDR	38-02-A04 STR	scD8-scFv	2.8E+05	1.3E-04	6.4E-11	NO	NO	NO	NO	2.0E+05	6.2E-04	3.6E-09	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
PRO098	38-02-G02 CDR	38-27-C03 CDR	38-02-A04 STR	scD8-scFv	1.6E+05	1.4E-04	8.3E-11	NO	NO	NO	NO	1.0E+05	2.7E-04	2.3E-09	NO	NO	NO	NO	5.1E+03	1.0E-03	2.0E-07	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
PRO1057	38-02-G02 CDR	38-02-A04 CDR	38-27-A11 STR	scD8-scFv	1.5E+05	1.7E-04	1.1E-10	NO	NO	NO	NO	1.4E+05	7.0E-04	5.1E-09	1.1E+05	7.9E-04	4.8E-09	0.9E+04	9.5E-02	1.2E-06	2.4E+05	6.7E-04	2.8E-09	1.1E+05	8.2E-03	6.3E-08	8.6E-08	
PRO1058	38-02-G02 CDR	38-27-C03 CDR	38-27-A04 STR	scD8-scFv	1.3E+05	1.3E-04	1.0E-10	NO	NO	NO	NO	1.7E+05	2.1E-03	1.3E-09	NO	NO	NO	NO	1.1E+06	7.9E-04	7.9E-10	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
PRO1059	38-02-G02 CDR	38-02-A04 CDR	NA	MorRion-L	1.3E+05	6.5E-05	5.6E-11	NO	NO	NO	NO	1.8E+05	4.2E-04	2.3E-09	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
PRO1060	38-02-G02 CDR	38-02-A04 CDR	NA	MorRion-H	1.3E+05	4.6E-05	3.6E-11	NO	NO	NO	NO	3.0E+05	3.8E-04	1.3E-09	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
PRO1061	38-02-G02 CDR	38-27-C03 CDR	NA	MorRion-L	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
PRO1062	38-02-G02 CDR	38-27-C03 CDR	NA	MorRion-H	1.3E+05	5.6E-05	3.8E-11	NO	NO	NO	NO	2.8E+05	3.7E-04	1.3E-09	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
PRO097	37-20-B03 CDR	NA	NA	scFv	5.9E+05	<1.0E-05	1.7E-12	6.0E+06	<1.0E-05	<1.0E-12	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
PRO1013	37-20-B03 CDR, V91	NA	NA	scFv	6.0E+05	2.7E-04	4.5E-11	5.9E+06	3.7E-04	5.3E-11	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
PRO098	37-03-G02 CDR	NA	NA	scFv	2.1E+05	1.6E-04	7.6E-11	2.3E+06	2.0E-04	9.4E-11	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
PRO1186	37-20-B03 scD1	38-02-A04 scD1	38-02-A04 scD1	scD8-scFv	6.3E+05	2.3E-05	3.7E-12	NO	NO	NO	NO	1.9E+05	5.6E-04	2.4E-09	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
PRO1390	37-20-B03 scD1	38-02-A04 scD1	38-02-A04 scD1	scD8-scFv	5.3E+05	2.4E-05	4.5E-12	NO	NO	NO	NO	4.6E+05	7.1E-04	1.5E-09	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
PRO1479	37-20-B03 scD1	38-02-A04 scD1	38-02-A04 scD1	scD8-scFv	4.3E+05	3.9E-05	9.3E-12	NO	NO	NO	NO	3.3E+05	5.4E-04	1.7E-09	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
PRO1482	37-20-B03 scD1	38-02-A04 scD1	38-02-A04 scD1	scD8-scFv	3.4E+05	3.3E-05	9.8E-12	NO	NO	NO	NO	3.2E+05	3.6E-04	1.1E-09	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
PRO1431	38-02-G02 scD1	38-02-A04 scD1	38-02-A04 scD1	scD8-scFv	3.3E+05	4.5E-05	1.4E-11	NO	NO	NO	NO	4.5E+05	7.5E-04	1.7E-09	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
PRO1473	38-02-G02 scD1	38-02-A04 scD1	38-02-A04 scD1	scD8-scFv	3.6E+05	2.9E-05	8.2E-12	NO	NO	NO	NO	3.1E+05	6.0E-04	2.6E-09	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
PRO1476	38-02-G02 scD1	38-02-A04 scD1	38-02-A04 scD1	scD8-scFv	3.4E+05	3.1E-05	9.0E-12	NO	NO	NO	NO	3.5E+05	3.7E-04	1.1E-09	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
PRO1432	38-02-G02 scD1	38-02-A04 scD1	38-02-A04 scD1	scD8-scFv	4.2E+05	4.4E-05	1.1E-11	NO	NO	NO	NO	6.0E+05	4.3E-04	7.5E-10	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
PRO1480	37-20-B03 scD1	38-27-A11 scD2	38-02-H04 scD1	scD8-scFv	3.3E+05	5.1E-05	1.5E-11	4.0E+06	3.4E-05	8.5E-12	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
PRO1481	37-20-B03 scD1	38-27-A11 scD3	38-02-H04 scD1	scD8-scFv	4.7E+05	4.3E-05	9.2E-12	NO	NO	NO	NO	6.3E+05	2.0E-04	3.3E-10	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO

NA: 不适用
TBD: 待确定
NB: 无显著结合
ND: 未确定

[0652] 结果:

[0653] 将每个板上的单个IC₅₀值用在每个板上一起采集的参考分子阿维鲁单抗的IC₅₀进

行校准(相对 IC_{50} : IC_{50} ,阿维鲁单抗/ IC_{50} ,测试scFv)。在表7中总结了效力,其显示所有测试分子的 IC_{50} 是阿维鲁单抗的 IC_{50} 的0.1倍至3.73倍。

[0654] 表7.在NF-AT报告基因测定中PDL1 PD-1相互作用的中和。

PRO ID	克隆ID PD-L1	克隆ID CD137	克隆ID SA	形式	NF-AT效力测定中 PD-L1的中和		
					IC_{50} (ng/ml)	相对 IC_{50} *	HSA
PRO885	33-03-G02 CDR	38-02-A04 CDR	NA	scDb	137.20	0.28	否
PRO951	33-03-G02 CDR	38-27-C05 CDR	NA	scDb	88.50	0.47	否
PRO963	33-03-G02 CDR	38-02-A04 CDR	19-01-H04 STR	scDb-scFv	274.80	0.25	是
PRO1057	33-03-G02 CDR	38-02-A04 CDR	23-13-A01 STR	scDb-scFv	665.10	0.10	是
PRO1059	33-03-G02 CDR	38-02-A04 CDR	NA	Morrison-L	93.76	0.52	否
PRO1060	33-03-G02 CDR	38-02-A04 CDR	NA	Morrison-H	132.70	0.44	否
PRO1062	33-03-G02 CDR	38-27-C05 CDR	NA	Morrison-H	96.55	0.68	否
[0655]	PRO997	37-20-B03 CDR	NA	scFv	11.12	3.07	否
	PRO1013	37-20-B03 CDR, VH1	NA	scFv	21.29	1.60	否
	PRO830	33-03-G02 CDR	NA	scFv	42.88	0.73	否
	PRO1186	37-20-B03 sc01	38-02-A04 sc01	23-13-A01 sc03	10.17	2.31	是
	PRO1430	37-20-B03 sc01	38-02-A04 sc013	19-01-H04 sc03	16.19	1.45	是
	PRO1479	37-20-B03 sc09.1	38-02-A04 sc013	19-01-H04 sc03	50.36	1.04	是
	PRO1482	37-20-B03 sc09.1	38-02-A04 sc013	19-01-H04 sc03	54.79	0.68	是
	PRO1431	33-03-G02 sc18	38-02-A04 sc013	19-01-H04 sc03	9.83	3.73	是
	PRO1473	33-03-G02 sc03	38-02-A04 sc013	19-01-H04 sc03	35.17	1.11	是
	PRO1476	33-03-G02 sc03	38-02-A04 sc013	19-01-H04 sc03	53.53	0.66	是
	PRO1432	33-03-G02 sc18	38-02-A04 sc013	19-01-H04 sc03	18.51	1.98	是
	PRO1480	37-20-B03 sc09.1	38-27-A11 sc02	19-01-H04-sc03	84.84	0.61	是
	PRO1481	37-20-B03 sc09.1	38-27-A11 sc03	19-01-H04-sc03	40.58	0.92	是

[0656] 为了评估CDR集和框架选择对中和PDL1与PD-1的结合的效力的影响,在基于NFAT报告基因细胞的分析中测试了三种抗PDL1 scFv。PRO830包含移植到VH4框架上的克隆33-03-G02的CDR集,PRO997和PRO1013分别包含移植到VH4或VH1框架上的克隆37-20-B03的CDR组。PRO830在三种测试的scFv中具有最低的效力, IC_{50} 值为42.88ng/ml,并具有与阿维鲁单抗相似的效力,阿维鲁单抗的 IC_{50} 值为34.09ng/ml。PRO997是最有效的分子。当移植到VH4框架上时,同一个CDR集的效力要比移植到VH1框架上高约2倍。 IC_{50} 值分别为11.12ng/ml和21.29ng/ml。(图3和表7)

[0657] 对于具有33-03-G02 PDL1结构域的双特异性分子,在结构域优化前(CDR移植)和后(结构移植),测定了PDL1与PD-1结合的中和力。将CDR移植(PRO885)与结构移植(PRO1126)进行了比较。结构域优化将中和效力提高了三倍,PRO885的 IC_{50} 值为137.2ng/ml,PRO1126的 IC_{50} 值为48.15ng/ml。(图4和表7)。

[0658] 还评估了几种三特异性分子中和PDL1/PD-1相互作用的效力,这几种三特异性分子具有衍生自克隆38-02-A04或38-27-A11的抗CD137结构域、衍生自克隆33-03-G02或克隆37-20-B03的抗PDL1结构域和两种不同的人血清白蛋白结合结构域(用于延长半衰期)(图5和表7)。

[0659] 衍生自克隆23-12-A01-sc03的HSA结构域也与小鼠血清白蛋白结合。实验在25mg/ml HAS的存在下进行。PRO1057(IC_{50} =665.1ng/ml)的中和效力低于阿维鲁单抗(图5和表

7)。在基于细胞的效力报告基因测定中对可延长血清半衰期的另一种形式(所谓的Morrison形式)进行了测试。在这种形式下,IgG部分携带一种特异性(双价),并且对第二靶标具有特异性的两个scFv通过柔性肽接头与IgG的重链(HC)或轻链(LC)连接。所有测试的Morrison分子在两个IgG臂上均携带克隆33-03-G02的CDR移植物的抗PDL1结构域。两种构建体PR01059和PR01060的区别在于将两个抗CD137 scFv与重链(HC)还是与轻链(LC)融合。PR01062具有与PR01060相同的体系结构,但具有不同的CD137结构域。所有分子的中和效力相似(图6和表7)。

[0660] 实施例3:使用竞争ELISA阻断PDL1与PD-1和B7.1的相互作用。

[0661] 进行这些测定以评估PDL1抑制剂阻断PDL1与PD-1或PDL1与B.71之间相互作用的能力。在竞争ELISA中分析了不同的形式,包括scFv、scDb、scDb-scFv和Morrison,并与参考IgG阿维鲁单抗进行了比较。

[0662] PDL1/PD-1竞争ELISA

[0663] 方法

[0664] 将用4 μ g/ml人PD-1在4 $^{\circ}$ C包被过夜的ELISA微孔板每孔用450 μ l洗涤缓冲液洗涤3次。通过在每个孔中加入300 μ l含1%BSA和0.2%吐温的PBS(稀释缓冲液),在室温下阻断板1小时。在含有1ng/ml生物素化人PDL1的稀释缓冲液中,将抑制剂以3倍步进连续稀释至300至0.005ng/ml的终浓度。将混合物在旋转搅拌器(21rpm)上缓慢搅拌下于室温下预孵育1小时,并在每孔用450 μ l洗涤缓冲液洗涤3个循环后,添加到微孔板中。将板在室温下在缓慢搅拌下孵育1.5小时,然后在每孔用450 μ l洗涤缓冲液洗涤3次后,向每个微孔板的孔中加入10ng/ml链霉亲和素-polyHRP40。在室温孵育1小时后,将板用450 μ l洗涤缓冲液洗涤3次,并加入TMB底物溶液。6分钟后,通过添加1M HCl终止酶促反应,并使用690nm作为参考波长在450nm处测量吸光度。为了计算IC₅₀值,使用参考减去值在Graph Pad Prism中进行四参数逻辑(4PL)曲线拟合。

[0665] 结果

[0666] 将每个板上的单个IC₅₀值用在每个板上一起采集的参考分子阿维鲁单抗的IC₅₀进行校准(相对IC₅₀:IC₅₀,阿维鲁单抗/IC₅₀,测试scFv)。效力总结于表8中。如图7和表8所示,当在竞争ELISA中测试时,所有PDL1抑制剂均阻断PD-1与PDL1的相互作用。scFv PR0830以与阿维鲁单抗相似的效力阻断了相互作用,而PR0997和PR01013的IC₅₀值显著低于阿维鲁单抗,因此是更有效的抑制剂。当组合成多特异性形式即scDb或Morrison时,所有分子均保留了其抑制特性。PR0885的效力不如阿维鲁单抗,而对于包含改良的抗PDL1结构域的PR01126,IC₅₀值较低。与阿维鲁单抗相比,Morrison形式的效力略低。在人血清白蛋白存在下也显示出了PR01057的中和作用,其中IC₅₀值大约高两倍。

[0667] 表8.使用竞争性ELISA阻断PDL1与PD-1和B7.1的相互作用。

[0668]

PRO ID	克隆ID PD-L1	克隆ID CD137	克隆ID SA	形式	PD-L1/PD-1 相互作用的阻断		PD-L1/B7.1 相互作用的阻断	
					IC ₅₀ (ng/ml) 相对 IC ₅₀ [*]		IC ₅₀ (ng/ml) 相对 IC ₅₀ [*]	
PRO885	33-03-G02 CDR	38-02-A04 CDR	NA	scDb	8.35	0.17	12.2	0.59
PRO951	33-03-G02 CDR	38-27-C05 CDR	NA	scDb	9.50	0.15	9.30	0.78
PRO1126	33-03-G02 STR	38-02-A04 CDR	NA	scDb	1.28	1.59	TBD	TBD
PRO1057	33-03-G02 CDR	38-02-A04 CDR	23-13-A01 STR	scDb-scFv	8.61	0.20	16.29	0.53
PRO1059	33-03-G02 CDR	38-02-A04 CDR	NA	Morrison-L	4.54	0.37	28.98	0.30
PRO1060	33-03-G02 CDR	38-02-A04 CDR	NA	Morrison-H	5.67	0.30	17.42	0.49
PRO1062	33-03-G02 CDR	38-27-C05 CDR	NA	Morrison-H	11.33	0.32	19.53	0.51
PRO997	37-20-B03 CDR	NA	NA	scFv	0.50	4.16	6.359	2.34
PRO1013	37-20-B03 CDR, VH1	NA	NA	scFv	0.57	3.67	4.05	3.68
PRO830	33-03-G02 CDR	NA	NA	scFv	3.40	0.61	12.87	1.16
PRO1186	37-20-B03 sc01	38-02-A04 sc01	23-13-A01 sc03	scDb-scFv	1.74	1.26	7.81	1.58
PRO1430	37-20-B03 sc01	38-02-A04 sc013	19-01-H04 sc03	scDb-scFv	1.92	0.73	2.42	1.15
PRO1479	37-20-B03 sc09.1	38-02-A04 sc013	19-01-H04 sc03	scDb-scFv	2.65	0.86	10.71	1.38
PRO1482	37-20-B03 sc09.1	38-02-A04 sc013	19-01-H04 sc03	scDb-scFv	1.78	1.24	8.18	1.51
PRO1431	33-03-G02 sc18	38-02-A04 sc013	19-01-H04 sc03	scDb-scFv	2.75	0.51	3.31	0.84
PRO1473	33-03-G02 sc03	38-02-A04 sc013	19-01-H04 sc03	scDb-scFv	4.14	0.56	8.89	1.49
PRO1476	33-03-G02 sc03	38-02-A04 sc013	19-01-H04 sc03	scDb-scFv	2.84	0.80	9.49	1.10
PRO1432	33-03-G02 sc18	38-02-A04 sc013	19-01-H04 sc03	scDb-scFv	3.26	0.43	2.83	0.99
PRO1480	37-20-B03 sc09.1	38-27-A11 sc02	19-01-H04-sc03	scDb-scFv	2.27	1	11.19	1.32
PRO1481	37-20-B03 sc09.1	38-27-A11 sc03	19-01-H04-sc03	scDb-scFv	2.69	0.84	10.15	1.45

[0669] NA:不适用

[0670] *: IC_{50, Avelumab} (ng/ml) / IC_{50, 测试分子} (ng/ml)

[0671] PDL1/B7.1竞争ELISA

[0672] 方法

[0673] 将用4μg/ml人B7.1在4℃包被过夜的ELISA微孔板每孔用450μl洗涤缓冲液洗涤3次。通过在每个孔中加入300μl含1%BSA和0.2%吐温的PBS(稀释缓冲液),在室温下阻断板1小时。在含有40ng/ml生物素化PDL1的稀释缓冲液中,将抑制剂以3倍步进连续稀释至900至0.015ng/ml的终浓度。将混合物在旋转搅拌器(21rpm)上缓慢搅拌下于室温下预孵育1小时,并在每孔用450μl洗涤缓冲液洗涤3个循环后,添加到微孔板中。将板在室温下在缓慢搅拌下孵育1.5小时,然后在每孔用450μl洗涤缓冲液洗涤3次后,向每个微孔板的孔中加入10ng/ml链霉亲和素-polyHRP40。在室温孵育1小时后,将板用450μl洗涤缓冲液洗涤3次,并加入TMB底物溶液。6分钟后,通过添加1M HCl终止酶促反应,并使用690nm作为参考波长在450nm处测量吸光度。为了计算IC₅₀值,使用参考减去值在Graph Pad Prism中进行四参数逻辑(4PL)曲线拟合。

[0674] 结果

[0675] 将每个板上的单个IC₅₀值用在每个板上一起采集的参考分子阿维鲁单抗的IC₅₀进行校准(相对IC₅₀: IC₅₀,阿维鲁单抗/IC₅₀,测试scFv)。效力总结于表8中。除PRO1126外,还测试了所有PDL1抑制剂阻断PD-1与B7.1相互作用的能力。PRO830显示出与阿维鲁单抗相似的效力而PRO997和PRO1013的IC₅₀值较低。所有scDb和Morrison也都抑制了PDL1和B.7-1之间的相互作用。scDb PRO885具有与阿维鲁单抗相似的效力而Morrison的IC₅₀值则降低了约2-3.4倍。数据示于图8和表8。

[0676] 实施例4:人源化抗CD137结构域对CD137和CD137中和作用没有抑制。

[0677] 方法:

[0678] 为了证明PR0885不会干扰CD137配体(CD137L)与CD137的结合,采用了竞争性ELISA。使用商业抑制性多克隆抗CD137山羊抗体(Antibodies online,货号ABIN636609)作为参考。简而言之,将CD137在ELISA板上包被过夜,并向ELISA板添加PR0885的系列稀释液。之后,添加生物素化的CD137L,并通过添加链霉亲和素-HRP检测结合的配体。最后,添加了HRP底物TMB。显影5分钟后,用1M HCl溶液终止反应。在450nm和690nm处测量吸光度作为参考。

[0679] 结果:

[0680] 在图9A中表示了含有来自克隆38-02-A04的CD137结构域的PR0885所获得的滴定曲线,在图9B中表示了含有来自克隆38-27-C05的CD137结构域的PR0951所获得的结合曲线。

[0681] 图9C中表示了含有衍生自克隆38-27-A11的CD137结构域的PR01359和PR01360的滴定曲线。尽管参考抗体完全阻止了CD137L与CD137的结合,但是CD137、PR0885、PR0951、PR01359和PR01360并未显著抑制CD137L与CD137的结合,因此被定义为非中和性的。

[0682] 实施例5:38-02-A04和38-27-C05针对urelumab和utomilumab的表位鉴定。

[0683] 方法:

[0684] 使用MASS-1设备(Sierra Sensors),在SPR表位鉴定测定中比较了蛋白质PR0885(包含38-02-A04 CDR移植物的scDb)、PR0951(包含38-27-C05 CDR移植物的scDb)、衍生自克隆38-27-A11的兔IgG和竞争分子urelumab(BMS)和utomilumab(Pfizer)在CD137上的结合表位。选择了一种三明治设置,以检查这些分子是否阻断彼此与CD137的结合。因此,PR0885、PR0951、衍生自克隆38-27-A11的IgG、urelumab和utomilumab被固定在高容量胺传感器芯片(HCA, Sierra Sensors)上。然后,注射90nM的抗原CD137(PeproTech, 货号310-15),使其捕获在scDb、兔IgG 38-27-A11、urelumab或utomilumab上,然后立即注射22.5的第二种抗体(PR0885、PR0951、兔IgG 38-27-A11、urelumab或utomilumab)。确定每种蛋白质上的CD137捕获水平和第二种结合物应答水平(应答单位, RU)。通过计算理论最大应答(Rmax)(这取决于所涉及的蛋白质的分子量和捕获水平),确定了捕获的抗原上的蛋白质的相对结合水平(%)。如果分子结合CD137上的相同、重叠(例如,在结构上相似或在空间上接近)或相似表位,则不应观察到注射到捕获的CD137上的抗体的结合。因此,当观察到抗体结合时,两个抗体对结合非重叠的表位。确定每个抗体对的相对结合水平(%)。根据定义,结合水平低于10%表示在CD137上具有相同或重叠(例如,结构上相似或在空间上接近)表位,而高于30%则指非重叠的表位。

[0685] 结果:

[0686] 当将PR0885固定在传感器芯片上时,所有3种抗体PR0951、urelumab和utomilumab均显示出与PR0885捕获的CD137的结合。如所预期的,未观察到与用作对照的PR0885的结合(图10和图11)。当将PR0951固定在传感器芯片上时,urelumab和PR0885显示出结合,而用作对照的utomilumab和PR0951没有显示出任何显著结合(图10和图12)。这些结果表明,源自克隆38-02-A04的PR0885结合的CD137上的表位与urelumab、utomilumab和源自38-27-C05的PR0951不同。相反,PR0951结合的表位与utomilumab重叠,但不与urelumab和PR0885重叠。

[0687] IgG 38-27-A11不与utomilumab竞争对CD137的结合,表明不重叠的表位,而与urelumab竞争对CD137的结合,表明相同或重叠的表位(图10)。

[0688] 实施例6:通过使用表达CD137的转基因NFkB Jurkat报告细胞系的基于细胞的测定对抗PDL1xCD137分子的CD137激动作用的评估。

[0689] 介绍

[0690] 在该测定中,评估了Jurkat细胞中CD137信号传导的激活。通过测量Jurkat报告细胞系中,由CD137诱导的NF-kB活化所驱动的荧光素酶表达来报告CD137信号传导的活性。荧光素酶的表达与CD137的活性直接相关。而且,随后在Jurkat细胞和表达PDL1的细胞系之间形成免疫突触会促进激活信号传导途径所需的CD137的聚集。因此,报告细胞系上CD137的聚集和激活需要PDL1表达。

[0691] 方法

[0692] 将表达PDL1的CHO (克隆A2) 和HCC827细胞(这些细胞未受刺激,或用10ng/ml IFN γ 刺激24小时以增加PDL1表达) 接种于96孔培养板上,每孔25,000个细胞。作为阴性对照,将没有PDL1表达的CHO WT细胞以相同的细胞密度接种。然后,制备抗PDL1xCD137分子以及竞争剂urelumab的系列稀释液,并将其添加到细胞。接下来,在含有或不含25mg/ml HSA的测定培养基中制备Jurkat报告细胞,并以每孔40,000个细胞的细胞密度添加。添加Jurkat细胞后6或24小时,通过添加荧光素酶试剂来检测荧光素酶的表达,并由发光读取器读取。通过将测试样品的相对发光单位(RLU) 相对于urelumab(图13至18,图19A) 或PR0885(图19B) 测得的RLU进行标准化来分析数据,从而得到CD137信号传导的相对激活值。

[0693] 将表达PDL1的HCC827细胞用10ng/ml IFN γ 刺激24小时以增加PDL1的表达,在96孔培养板上每孔将25,000个细胞接种在50 μ l细胞培养基(RPMI, 10%FCS) 中。作为阴性对照,将没有PDL1表达的CHO-K1 WT细胞以相同的细胞密度接种。然后,添加25 μ l的各个待测分子和参考PR01186和PR0885的4倍浓缩5倍系列稀释液(40,000至0.02ng/ml)。然后,向每个孔中添加25 μ l的表达CD137的效应Jurkat细胞(其以1.6E+06个细胞/ml稀释在测定缓冲液(RPMI1640,具有10%FCS和100mg/ml HSA) 中),导致HSA的终浓度为25mg/ml。然后将板在37 $^{\circ}$ C和5%CO $_2$ 下孵育6小时和24小时。最后,每孔加入50 μ l根据制造商方案制备的荧光素酶底物(BPS Bioscience),并将板在黑暗中孵育15分钟,使用Flexstation 111测量发光。将每个板上的单个EC $_{50}$ 、IC10/EC90和AUC值针对在每个板上一起采集的参考分子PR01186的相应值进行校准(表16C)。通过使用相对发光单位(RLU) 增加的点的四参数对数拟合获得剂量响应曲线的EC $_{50}$ 和EC90值,另一方面,通过使用底部受限的四参数对数拟合来拟合RLU降低的点,以计算IC10值。使用PR0885标准化数据计算所有样品的曲线下面积(AUC)。使用GraphPad prism软件获取所有参数。

[0694] 结果

[0695] I. 使用CHO-PDL1细胞测试PR0885和PR0951:

[0696] 如图13所示,在存在表达PDL1的CHO细胞的情况下,PR0885和PR0951比urelumab更有效地激活CD137信号传导。PR0885表现出最好的效力和最高的激活信号(PR0885,EC $_{50}$ =11.72ng/ml,PR0951:EC $_{50}$ =33.68ng/ml;urelumab:EC $_{50}$ =79.11ng/ml,表9)。在不存在PDL1的情况下,PR0885和PR0951均不能在报告细胞中激活CD137,而urelumab则显示出与PDL1无关的CD137信号传导的激活。

[0697] 表9.使用CHO-PDL1细胞测定抗PDL1xCD137分子的EC $_{50}$ 值。

[0698]

	urelumab	PRO885	PRO951
低	-0.4628	-8.1	-4.066
高	101.5	491.2	411.4
EC50			
(ng/ml)	79.11	11.72	33.68
R 平方	0.995	0.9922	0.9899

[0699] II. 使用CHO-PDL1细胞测试STR移植的scDb:

[0700] 如图14和表10所示,抗PDL1xCD137 scDb分子比urelumab更有效地刺激CD137信号传导。与urelumab相反,仅当存在表达PDL1的靶细胞时,才发现了scDb的刺激作用。在高水平表达的PDL1的CHO细胞的存在下,所有scDb均具有相同的刺激Nf-kB报告基因激活的能力。接下来,在表达较少量的PDL1的细胞的存在下,测试了相同的分子。

[0701] III. 在没有IFN γ 的情况下使用HCC827细胞测试STR移植的scDb:

[0702] 如图15和表11所示,抗PDL1xCD137 scDb分子比urelumab更有效地刺激CD137信号传导。与CDR移植的CD137结构域相比,具有亲和力改善的CD137结构域的scDb (38-02-A04、PRO1120和PRO1124的STR移植物) 在CD137激活方面显示出更高的效力 (例如,PRO885,EC₅₀=13.02ng/ml,PRO1124:EC₅₀=5.62ng/ml,表11)。值得注意的是,与亲本分子PRO885相比,对PDL1的亲和力增加也会导致效力增加,如PDL1结构域的STR移植物 (Pro1126) 所发现的 (PRO885,EC₅₀=13.02ng/ml,PRO1126:EC₅₀=6.97ng/ml,表11)。在高浓度下,STR移植的scDb显示出降低激活信号的趋势。这对于具有STR移植的CD137结构域分子 (PRO1120和PRO1126) 更为明显。有趣的是,当将PDL1结构域的STR移植物与CD137的CDR移植物结合时,未观察到高浓度下的信号下降 (比较图15中的PRO885和PRO1124)。因此,随着对CD137和PDL1亲和力的增强,效力略有增加。随着对CD137亲和力的增加,高浓度下的信号降低 (钟形曲线) 更加明显,而对PDL1的亲和力的增加却对此效果无影响。因此,对于延长最大活性的浓度窗口而言,对CD137和PDL1的亲和力之比似乎至关重要,而不是每个结构域的绝对亲和力。

[0703] III

[0704]

PRO编号	蛋白质描述	对人CD137的亲和力: SPR数据				对小鼠CD137的亲和力: SPR数据				对人PD-L1的亲和力: SPR数据			
		k_a [M ⁻¹ s ⁻¹]	k_d [s ⁻¹]	K_D [M]	标准化 为理论R _{max} 的 结合水平 (%)	k_a [M ⁻¹ s ⁻¹]	k_d [s ⁻¹]	K_D [M]	标准化 为理论R _{max} 的 结合水平 (%)	k_a [M ⁻¹ s ⁻¹]	k_d [s ⁻¹]	K_D [M]	标准化 为理论R _{max} 的 结合水平 (%)
PRO1118	38-02-A04 sc01 scDb-4/33_02_G02 sc01 scDb-o	2.75E+05	7.23E-04	2.63E-09	79.8	8.29E+04	2.27E-04	2.73E-09	11.5	1.34E+06	< 1.00E-05	< 7.46E-12	79.2
PRO1119	38-02-A04 sc05 IF scDb-4/33_02_G02 sc01 scDb-o	3.81E+05	2.76E-04	7.24E-10	79.1	1.40E+05	2.48E-02	1.77E-07	81.0	1.50E+06	< 1.00E-05	< 6.67E-12	77.5
PRO1120	38-02-A04 sc06 Full scDb-4/33_02_G02 sc01 scDb-o	5.78E+05	< 1.00E-05	< 1.73E-11	74.7	2.12E+05	3.25E-03	1.54E-08	87.5	1.27E+06	< 1.00E-05	< 7.87E-12	76.8

[0705] IV. 在具有IFN γ 的情况下使用HCC827细胞测试STR移植的scDb:

[0706] 用IFN γ 刺激HCC827会导致激活信号增加,而不改变scDb分子的效力。值得注意的是,在这种情况下,高浓度下测试scDb的信号下降不太明显,表明与PDL1表达相关(图16和表12)。

[0707] V. 使用CHO-PDL1细胞测试长半衰期分子:

[0708] 如图17和图12、表13和14所示,测试的长半衰期抗PDL1xCD137分子刺激CD137信号传导的程度与urelumab相同。将Morrison形式 (PR01060、PR01062) 与scDb-scFv形式 (PR01057、PR01058) 进行比较时,存在差异。尽管Morrison形式显示出更高的效力,但在测试scDb-scFv时,最大激活信号却大大增加了。值得注意的是,孵育24小时后,PR01057显示出明显的高激活信号。所有测试的长半衰期分子仅在表达PDL1的细胞的存在下才激活CD137信号传导。有趣的是,尽管对两个靶标的亲和力相似,但PR01057的最大信号却比PR01058高得多。而且,单价scDb-scFv PR01057显示出比相应的二价Morrison形式PR01060更强的激活作用。

[0709] VI. 在没有和具有IFN γ 的情况下,使用HCC827细胞测试长半衰期分子:

[0710] 如图19A和表15所示,在表达较低量的PDL1的细胞的存在下,测试的长半衰期抗PDL1xCD137分子刺激CD137信号传导的程度与urelumab相同。当目标细胞受到IFN γ 刺激时,测试分子的最大激活进一步增加,表明CD137激活与靶细胞上的PDL1表达水平直接相关。如上所述,与Morrison形式 (PR01060) 相比,PR01057显示出更高水平的报告基因激活。

[0711] 图19B表示在IFN γ (10ng/ml) 刺激6小时和24小时的HCC827存在下在CD137活性测定中三特异性scDb-scFv分子PR01430、PR01431、PR01432、PR01473、PR01476、PR01479、PR01480、PR01481和PR01482的测试结果。

[0712] PDL1 x CD137多特异性构建体激活NF-kB报告基因的数据总结于表16A、16B和16C。

[0713] 为了比较候选分子的活性曲线的形状,计算了曲线下的面积(AUC,代表信号幅度和钟形曲线的宽度、效应量的组合量度)和平台的宽度(EC90/IC10比,提供治疗窗口的指示)(参见表16C)。PR01430、PR01479、PR01480和PR01481具有最佳相对AUC值(在标准化为PR01186时至少一个时间点大于1)。值得注意的是,测试样品的高EC90/IC10比表示钟形剂量响应曲线宽,因此,建议全活性浓度范围更大。因此,头号候选物在数百倍的浓度范围内显示出全活性。

[0714] 基于这些参数,在NF-kB报告基因检测中表现最佳的scDb-scFv为PR01430、PR01479和PR01480。

[0715]

表10. 使用CHO-PDL1细胞测定抗PDL1xCD137分子的EC₅₀值。

	Urelumab	PRO885	PRO1118	PRO1119		Urelumab	PRO885	PRO1120	PRO1123		Urelumab	PRO885	PRO1124	PRO1126
最差 头号	-0.5169	-6.408	-2.387	2.039		-0.6273	0.5392	6.497	-1.816		-0.499	-11.51	2.552	-2.922
EC50 (ng/ml)	99.99	249.1	245.3	238.9		100	222.1	201.1	219.2		100	253.8	228.6	242.1
R平方	79.47	5.135	4.596	4.22		104.2	4.856	4.689	5.753		86.51	6.299	3.681	5.997
	0.9637	0.9708	0.9761	0.9726		0.9677	0.9769	0.963	0.9568		0.979	0.9714	0.9561	0.9467

表11. 在没有IFN γ 的情况下，使用HCC827细胞测定抗PDL1xCD137分子的EC₅₀值。

	Urelumab	PRO885	PRO1118	PRO1119		Urelumab	PRO885	PRO1120	PRO1123		Urelumab	PRO885	PRO1124	PRO1126
最差 头号	-2.035	-0.5477	-0.3666	0.1789		-1.966	-0.2298	0.0807	-0.8367		-1.384	-0.3237	-1.084	-8.28
EC50 (ng/ml)	100	96.45	81.98	74.91		99.96	111.1	126.5	123.2		99.98	118.7	113.2	135.1
R平方	212.5	11.5	8.559	5.045		109.9	13.06	6.685	16.12		111.7	13.02	5.616	6.966
	0.9815	0.9852	0.995	0.9725		0.9895	0.9759	0.9609	0.96		0.9941	0.9816	0.9875	0.9577

表12. 使用IFN γ 刺激的HCC827细胞STR移植的scDb的EC₅₀值。

	Urelumab	PRO885	PRO1118	PRO1119		Urelumab	PRO885	PRO1120	PRO1123		Urelumab	PRO885	PRO1124	PRO1126
最差 头号	-1.208	-1.446	-1.564	0.1399		-1.009	-2.023	0.1813	-3.584		-1.28	-0.7258	1.572	-1.561
EC50 (ng/ml)	100	167.4	146.5	139.9		99.98	134.2	117.3	154.4		100	165.8	188.5	207.7
R平方	114.2	9.266	7.965	4.855		144.8	8.883	5.15	11.87		108.2	9.229	4.833	5.48
	0.9939	0.9803	0.996	0.9767		0.9811	0.9795	0.9554	0.9883		0.9976	0.9764	0.9906	0.9825

表13. 使用表达PDL1的CHO细胞（6小时）测定长半衰期分子的EC₅₀值。

	Urelumab	PRO885	PRO1060	PRO1062		Urelumab + HSA	PRO885 + HSA	PRO1057 + HSA	PRO1058 + HSA
最差 头号	-0.09762	6.019	-5.304	-1.947		-0.8837	6.69	-7.721	-0.5282
EC50 (ng/ml)	99.96	337.5	220.4	199.1		106.3	492.8	462.9	40.06
R平方	56.45	7.843	56.42	52.16		77.72	7.916	111.5	70.93
	0.9948	0.9474	0.9874	0.993		0.9957	0.9457	0.9943	0.6132

表14. 使用表达PDL1的CHO细胞（24小时）测定长半衰期分子的EC₅₀值。

	Urelumab	PRO885	PRO1060	PRO1062		Urelumab + HSA	PRO885 + HSA	PRO1057 + HSA	PRO1058 + HSA
最差 头号	0.2207	-11.83	-5.151	-3.914		-0.3454	-5.805	-7.71	-0.4289
EC50 (ng/ml)	88.59	196.1	141.1	130.5		90.45	258.5	744.9	20.53
R平方	46.63	13.75	80.85	86.87		78.17	14.85	792.4	121.4
	0.9739	0.9869	0.991	0.9737		0.9893	0.9812	0.9955	0.6294

[0716]

表15. 使用IFN γ 刺激的HCC827细胞测定长半衰期分子的EC₅₀ 值。

	不具有IFN γ 刺激的HCC827				具有IFN γ 刺激的HCC827			
	Urelumab	PRO885	PRO1057 (+HSA)	PRO1060	Urelumab	PRO885	PRO1057 (+HSA)	PRO1060
最差 头号	-0.7119	-5.806	0.08644	-0.6993	-2.649	-3.386	-3.323	-1.177
EC50 (ng/ml)	85.16	136.6	63.18	43.56	91.62	140.2	136.6	83.61
R平方	47.49	9.518	76.61	13.57	52.77	7.515	115	17.51
	0.975	0.9838	0.9478	0.9255	0.9743	0.9901	0.9911	0.972

表16A. PDL1 x CD137多特异性构建体激活NF-kB报告基因。

PRO ID	NF-kB报告基因的激活 CHO-PD-L1				NF-kB报告基因的激活 HCC827 +IFN γ				NF-kB报告基因的激活 HCC827 +IFN γ			
	克隆ID PD-L1	克隆ID CD137	克隆ID SA	形式	IC ₅₀ (ng/ml)相对IC ₅₀ ^Δ	HSA	最大激活 (%)	IC ₅₀ (ng/ml)相对IC ₅₀ ^Δ	HSA	最大激活 (%)	IC ₅₀ (ng/ml)相对IC ₅₀ ^Δ	HSA
PRO885	33-03-G02 CDR	38-02-A04 CDR	NA	scDb	11.72	否	499.42	13.06	否	111.10	8.88	否
PRO951	33-03-G02 CDR	38-27-C05 CDR	NA	scDb	33.68	否	431.70	ND	否	ND	ND	ND
PRO1123	33-03-G02 CDR	38-02-A04 IF	NA	scDb	5.75	否	219.20	16.12	否	123.20	11.87	否
PRO1124	33-03-G02 CDR	38-02-A04 STR	NA	scDb	3.68	否	228.60	5.62	否	113.20	4.83	否
PRO1126	33-03-G02 STR	38-02-A04 CDR	NA	scDb	6.00	否	242.10	6.97	否	135.10	5.48	否
PRO963	33-03-G02 CDR	38-02-A04 CDR	19-01-H04 STR	scDb-scFv	ND	是, 24h	368.67	ND	是, 24h	ND	ND	ND
PRO1057	33-03-G02 CDR	38-02-A04 CDR	23-13-A01 STR	scDb-scFv	792.40	是, 24h	662.79	76.61	是, 24h	68.99	115.00	是, 24h
PRO1058	33-03-G02 CDR	38-27-C05 CDR	23-13-A01 STR	scDb-scFv	121.40	是, 24h	36.23	ND	是, 24h	ND	ND	ND
PRO1059	33-03-G02 CDR	38-02-A04 CDR	NA	Morrison-L	289.10	是, 24h	189.09	ND	是, 24h	ND	ND	ND
PRO1060	33-03-G02 CDR	38-02-A04 CDR	NA	Morrison-H	80.85	是, 24h	144.13	13.57	是, 24h	54.94	17.51	是, 24h
PRO1061	33-03-G02 CDR	38-27-C05 CDR	NA	Morrison-L	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PRO1062	33-03-G02 CDR	38-27-C05 CDR	NA	Morrison-H	86.87	否, 24h	133.52	ND	否, 24h	ND	ND	ND
PRO1186	37-20-B03 sc01	38-02-A04 sc01	23-13-A01 sc03	scDb-scFv	50.96	是, 24h	152.06	ND	是, 24h	ND	16.68	是, 24h

NA: 不适用
ND: 未确定

^Δ: IC₅₀ Urelumab (ng/ml)/IC₅₀ 测试分子 (ng/ml)

[0717]

表16B. PDL1 x CD137多特异性构建体激活NF-kB报告基因。

NF-kB报告基因的激活									
HCC827									
+IFNg									
PRO ID	克隆ID PD-L1	克隆ID CD137	克隆ID SA	形式	时间点 (h)	IC ₅₀ (ng/ml)	相对 IC ₅₀ ^{&}	最大激活 (%)	HSA
PRO1430	37-20-B03 sc01	38-02-A04 sc013	19-01-H04 sc03	scDb-scFv	6	9.80	1.31	110.1	是
					24	4.42	1.51	98.6	是
PRO1479	37-20-B03 sc09.1	38-02-A04 sc013	19-01-H04 sc03	scDb-scFv	6	7.38	1.74	108.2	是
					24	7.61	0.87	118.6	是
PRO1482	37-20-B03 sc09.1	38-02-A04 sc013	19-01-H04 sc03	scDb-scFv	6	20.05	0.55	108.6	是
					24	7.24	1.23	92.7	是
PRO1431	33-03-G02 sc18	38-02-A04 sc013	19-01-H04 sc03	scDb-scFv	6	21.02	0.68	55.3	是
					24	18.39	1.02	68.6	是
PRO1473	33-03-G02 sc03	38-02-A04 sc013	19-01-H04 sc03	scDb-scFv	6	2.40	2.30	36.2	是
					24	0.91	3.55	67.4	是
PRO1476	33-03-G02 sc03	38-02-A04 sc013	19-01-H04 sc03	scDb-scFv	6	5.97	2.02	36.4	是
					24	3.90	1.83	76.1	是
PRO1432	33-03-G02 sc18	38-02-A04 sc013	19-01-H04 sc03	scDb-scFv	6	19.36	0.67	63.4	是
					24	21.89	0.75	83.8	是
PRO1480	37-20-B03 sc09.1	38-27-A11 sc02	19-01-H04 sc03	scDb-scFv	6	6.44	1.93	114.3	是
					24	4.67	1.00	120.9	是
PRO1481	37-20-B03 sc09.1	38-27-A11 sc03	19-01-H04 sc03	scDb-scFv	6	7.22	1.04	147.3	是
					24	5.51	0.58	116.8	是

NA: 不适用
ND: 未确定

[&]: IC₅₀, PRO1186 (ng/ml)/IC₅₀, 测试分子 (ng/ml)

[0718]

表 16C. scDb-scFv 在 NF-κB 报告基因检测中激活 CD137 活性的能力
抗 CD137 结构域衍生自 IgG 克隆 38-02-A04 和 38-27-A11; 抗 PDL1 结构域衍生自 IgG 克隆 37-20-B03 和 33-03-G02; 抗 SA 结构域衍生自 IgG 克隆 19-01-H04。

PRO ID	scDb-i 结构域	scDb-o 结构域	scFv 结构域	时间 点 [h]	EC ₅₀ [ng/ml]	相对 EC ₅₀ (EC ₅₀ , PRO1186/ EC ₅₀ 样品)	最大 NF-κB 活化 (相对于 PRO1186) [%]	IC ₁₀ / EC ₅₀ ratio	IC ₁₀ / EC ₅₀ 比例 / PRO1186 的 比例)	曲线下面积 (使 用 PRO885 标准 化数据计算)	相对曲线下面积 (使 用 PRO885 标准 化数据计算) AUC _{PRO1186} / AUC _{PRO1186}
PRO1430	38-02-A04-sc13	37-20-B03-sc01	19-01-H04-sc03	6	9.80	1.31	110.08	72.42	0.22	196.40	1.03
				24	4.42	1.51	98.57	1240.89	3.94	179.90	0.87
PRO1431	38-02-A04-sc13	33-03-G02-sc18	19-01-H04-sc03	6	21.02	0.68	55.29	5.03	0.30	83.15	0.40
				24	18.39	1.02	68.62	16.07	1.74	118.70	0.54
PRO1432	33-03-G02-sc18	38-02-A04-sc13	19-01-H04-sc03	6	19.36	0.67	63.36	26.84	0.36	111.40	0.59
				24	21.89	0.75	83.76	3.57	0.16	149.60	0.81
PRO1473	38-02-A04-sc13	33-03-G02-sc03	19-01-H04-sc03	6	2.40	2.30	36.19	53.87	1.01	52.34	0.31
				24	0.91	3.55	67.40	15.73	0.12	187.90	0.73
PRO1476	33-03-G02-sc03	38-02-A04-sc13	19-01-H04-sc03	6	5.97	2.02	36.35	34.24	2.66	93.49	0.39
				24	3.90	1.83	76.14	35.73	1.63	134.60	0.59
PRO1479	38-02-A04-sc13	37-20-B03-sc09.1	19-01-H04-sc03	6	7.38	1.74	108.25	81.94	0.25	191.10	1.11
				24	7.61	0.87	118.64	522.81	1.66	206.60	1.37
PRO1480	38-27-A11-sc02	37-20-B03-sc09.1	19-01-H04-sc03	6	6.44	1.93	114.29	42.99	0.54	232.10	1.20
				24	4.67	1.00	120.91	359.55	1.86	261.20	1.29
PRO1481	38-27-A11-sc03	37-20-B03-sc09.1	19-01-H04-sc03	6	7.22	1.04	147.28	23.74	1.71	291.90	1.37
				24	5.51	0.58	116.81	40.98	5.72	253.80	1.00

[0719] 表17. 用PR0885处理后,T细胞诱导IL-2分泌。

[0720]	抗 CD3 抗体的 ug/ml	2			1		
	CHO-A1 个细胞/孔	50,000	100,000	200,000	50,000	100,000	200,000
	EC50 (ng/ml)	52.01	41.85	30.05	12.85	86.22	80.62

[0721] 实施例7:使用人PBMC和表达PDL1的转基因CHO细胞在基于细胞的测定中对同时发生的PDL1阻断和CD137刺激的T细胞刺激作用的评估。

[0722] 方法

[0723] 将表达PDL1的CHO-A2细胞以三种不同的密度(每孔50,000至200,000个细胞)接种到用抗人CD3抗体预先包被的96孔培养板上。将板在37℃、5%CO₂下孵育过夜。第二天,通过密度梯度离心从新鲜的人全血中分离出外周血单核细胞(PBMC)。向96孔板中每孔添加100,000个PBMC,然后以500、50和5ng/ml的浓度添加抗PDL1xCD137 scDb PR0885。孵育76小时后,收获细胞上清液。根据试剂盒说明书,使用Biolegend的IL-2人ELISA MAX测定法对培养上清液中的人白细胞介素2(IL-2)水平进行定量。从IL-2标准曲线内插IL-2浓度,反算并针对PR0885浓度作图以计算EC₅₀值。

[0724] 结果

[0725] 如图20所示,在通过加入双特异性分子PR0885而同时阻断PD-1/PDL1相互作用和刺激CD137之后,T细胞分泌IL-2。分泌的IL-2水平随着抗CD3抗体和CHO-A2细胞密度的增加以及PR0885浓度的增加而增加。在不存在抗CD3抗体的情况下,IL-2水平与基础IL-2分泌相当。PR0885仅激活被抗CD3抗体共同刺激的T细胞。在没有抗CD3刺激的情况下,没有IL-2的剂量依赖性产生,证实了抗原特异性T细胞的选择性激活。该发现证明,PR0885仅刺激活化的T细胞,并表明,体内PR0885会特异性地刺激肿瘤特异性T细胞。

[0726] 实施例8:使用超抗原SEA刺激的人PBMC在基于细胞的测定中对同时发生的PDL1阻断和CD137刺激的刺激作用的评估。

[0727] 在该实验中,评估了PD-1/PDL1抑制和CD137激动的协同作用。该测定法使用了的外周血单核细胞(PBMC),该外周血单核细胞(PBMC)经超抗原葡萄球菌肠毒素A(Staphylococcal Enterotoxin A,SEA)刺激,以分别诱导PDL1在抗原呈递细胞(APC)和T细胞上的表达以及CD137在T细胞上的表达。通过应用抗PDL1xCD137分子,同时靶向两个T细胞调节信号传导途径:通过双特异性抗PDL1xCD137分子PR0885或通过三特异性抗PDL1xCD137xHSA分子PR01175、PR01430、PR01479或PR01480介导的免疫突触的形成来抑制抑制性PD-1/PDL1途径以及激活CD137途径。评估了双特异性抗PDL1xCD137分子PR0885(SEQ ID NO:209)或三特异性抗PDL1xCD137xHSA分子PR01175(SEQ ID NO:220)、PR01430(SEQ ID NO:222)、PR01479(SEQ ID NO:223)或PR01480(SEQ ID NO:229)对T细胞的激活。通过白细胞介素2(IL-2)的分泌评估T细胞的活化,并与基准参考抗体阿维鲁单抗介导的PDL1抑制介导的效应进行比较。此外,在相同的实验设置中测试了抗PDL1 scFv PR0997,并将其与阿维鲁单抗进行了比较。此外,将双特异性抗PDL1xCD137分子PR0885(SEQ ID NO:209)或三特异性抗

PDL1xCD137xHSA分子PRO1175 (SEQ ID NO:220)、PRO1430 (SEQ ID NO:222)、PRO1479 (SEQ ID NO:223)或PRO1480 (SEQ ID NO:229)对T细胞的激活作用与参考抗体阿维鲁单抗或urelumab或其组合的作用进行了比较。

[0728] 方法

[0729] 通过密度梯度离心从新鲜的人全血中分离出外周血单核细胞(PBMC)。然后,使用抗CD56抗体和MACS细胞分离试剂盒(Miltenyi Biotec)去除PBMC中的NK细胞。接下来,向96孔板中每孔添加100,000个PBMC,然后添加PRO885、PRO997、PRO1175、PRO1430、PRO1479或PRO1480、阿维鲁单抗、urelumab以及阿维鲁单抗和urelumab的组合在测定缓冲液(含有浓度为10ng/ml的SEA)中的系列稀释液。在37℃和5%CO₂下孵育96小时后,收集细胞上清液,并根据试剂盒说明,使用BioLegend的IL-2人ELISA MAX测定法定量培养上清液中的人白细胞介素2(IL-2)水平。从IL-2标准曲线内插IL-2浓度,反算并针对阿维鲁单抗、阿维鲁单抗和urelumab的组合以及PRO885浓度进行绘图,以计算EC₅₀值(图21和表18),或者针对阿维鲁单抗、urelumab、阿维鲁单抗和urelumab的组合、PRO885和PRO1175或PRO1186浓度进行绘图,以计算EC₅₀值(图23和表19)。

[0730] 结果

[0731] 表18.使用SEA刺激在PBMC分析中测定的PRO885和PRO997的EC₅₀值。

	Avelumab	PRO885		Avelumab	PRO997
最差	2479	7463	最差	2117	3226
头号	8687	20663	头号	8588	9480
EC ₅₀ (ng/ml)	69.89	39.92	EC ₅₀ (ng/ml)	90.18	40.86
R平方	0.8589	0.9052	R平方	0.8783	0.867

[0733] 如图21所示,在通过加入双特异性分子PRO885而同时阻断PD-1/PDL1相互作用和刺激CD137之后,T细胞分泌IL-2。与阿维鲁单抗相比,PRO885显示出更高的T细胞活化和更好的效力(PRO885,EC₅₀=39.92ng/ml;阿维鲁单抗,EC₅₀=69.89ng/ml,表18)。该发现表明,与仅用阿维鲁单抗阻断PDL1相比,双特异性抗PDL1xCD137 scDb PRO885能够诱导更强的T细胞刺激。此外,发现高亲和力的抗PDL1 scFv PRO997在刺激T细胞方面比阿维鲁单抗更有效(PRO997,EC₅₀=40.86ng/ml;阿维鲁单抗,EC₅₀=90.18ng/ml,表18)。此外,已证明双特异性抗PDL1xCD137 scDb PRO885:(i)能够比urelumab诱导更强的T细胞刺激(图23),并且(ii)比urelumab(PRO885)更有效地刺激T细胞(PRO885,EC₅₀=55.21ng/ml,urelumab,EC₅₀=278.3ng/ml,表19)。

[0734] 表19.在使用SEA刺激的PBMC分析中,阿维鲁单抗、urelumab、阿维鲁单抗和urelumab的组合、PRO885和PRO1175的EC₅₀值。

	板1		板2		板3	
	Avelumab + Urelumab	Avelumab	Urelumab	PRO885	Avelumab + Urelumab	PRO1175
最差	5974	-747.6	5005	4453	3912	5300
头号	53127	N.A.	21739	77855	53626	87743
EC ₅₀	174.1	N.A.	278.3	55.21	318.6	31.11
R平方	0.9594	0.9315	0.8602	0.9875	0.976	0.9832

[0736] 此外,虽然阿维鲁单抗和urelumab的组合能够比单独的阿维鲁单抗诱导更强的T细胞刺激(图23),但scDb-scFv PRO1175、PRO1186、PRO1430、PRO1479和PRO1480触发了更强的IL-2产生(图21和23),这可能是由于其超聚集(hypercluster)CD137的能力。scDb-scFv PRO1175(i)能够比阿维鲁单抗和urelumab的组合诱导明显更强的T细胞刺激(图23),并且

(ii) 比阿维鲁单抗和urelumab的组合更有效地刺激T细胞 (PR01175, $EC_{50}=31.11\text{ng/ml}$, 阿维鲁单抗+urelumab, $EC_{50}=318.6\text{ng/ml}$, 表19)。此外, 与其他scDb-scFv分子相比, PR01430、PR01479、PR01482和PR01480在PMBC中刺激IL-2产生的效力更高(图21和23)。与测试的其他scDb-scFv分子相比, scDb-scFv PR01480表现出最高的刺激IL-2在PMBC中产生的效力(图21)。

[0737] 实施例9: Costim信号传导仅与TCR刺激结合发生, 并且与PDL1 IgG1和CD137 IgG4的组合结合相比, 与PDL1xCD137 scDb-scFv结合更明显。

[0738] 在该实验中, 评估了PD-1/PDL1抑制和CD137激动的协同作用。该测定法在表达PDL1的CHO细胞和抗CD3抗体存在下使用外周血单核细胞(PBMC), 以诱导CD137在T细胞上的表达。通过应用抗PDL1xCD137分子, 同时靶向两个T细胞调节信号传导途径: 通过三特异性抗PDL1xCD137xHSA分子 (PR01186) 介导的免疫突触的形成来抑制抑制性PD-1/PDL1途径以及激活CD137途径。通过白介素2 (IL-2) 或IFN γ 的分泌评估了三特异性抗PDL1xCD137xHSA分子PR01186对T细胞的激活作用, 并将其与基准参考抗体阿维鲁单抗介导的PDL1抑制作用介导的作用, 由urelumab或其组合介导的CD137交联进行了比较。

[0739] 方法

[0740] 通过密度梯度离心从新鲜的人全血中分离出外周血单核细胞(PBMC)。接下来, 向含有浓度为2mcg/ml的抗CD3抗体 (BD Pharmingen, 货号No. 551916) 的96孔板中每孔加入100,000个PBMC和10,000个表达人PDL1的CHO细胞, 然后加入PR01186、阿维鲁单抗、urelumab以及阿维鲁单抗和urelumab的组合在测定缓冲液中的系列稀释液。在37°C和5% CO₂下孵育72小时后, 收集细胞上清液, 并对培养上清液中的人白介素-2 (IL-2) 和IFN γ 水平进行定量。根据试剂盒说明书使用BioLegend的IL-2人ELISA MAX测定法对人白细胞介素2 (IL-2) 水平进行定量。从IL-2标准曲线内插IL-2浓度(图23E)。根据ELISA试剂盒说明, 使用R&D Systems的Human IFN- γ DuoSet ELISA测定法对人IFN γ 水平进行定量(图23F)。

[0741] 结果

[0742] 如图23(E)和(F)所示, 在通过加入三特异性分子PR01186而同时阻断PD-1/PDL1相互作用和刺激CD137之后, T细胞分泌IL-2和IFN γ 。这一发现表明, 三特异性抗PDL1xCD137xHSA scDb-scFv PR01186能够比仅用阿维鲁单抗阻断PDL1或用urelumab阻断CD137或其组合诱导更强的T细胞刺激。与阿维鲁单抗或urelumab或两者的组合相比, PR01186更有效地诱导IL-2(图23E)和IFN γ (图23F)产生。在没有抗CD3抗体的情况下, 在所有测试浓度下, IL-2和IFN γ 的水平均与基础细胞因子分泌相当, 这表明需要TCR信号或CD3参与来产生有效的CD137信号传导。

[0743] 实施例10: 在人细胞系来源的肺癌异种移植模型HCC827中对PDL1阻断和同时发生的CD137局部刺激的抗肿瘤功效的评估。

[0744] 使用来自Taconic的免疫缺陷NOG小鼠品系和同种异体人外周血单核细胞, 将本发明的多特异性抗体在人HCC827 NSCLC异种移植植物中的抗肿瘤活性与抗PDL1和抗CD137疗法进行了比较。植入的人T淋巴细胞对外来的主要组织相容性(MHC) I和II类以及来自小鼠细胞的其他抗原显示出外来反应性(xeno-reactivity)。结果, T淋巴细胞在不同器官中引起炎症浸润, 几周后导致动物死亡, 这一过程被称为异种移植植物抗宿主病(xGVHD)。已证明用抗PDL1和抗CD137等免疫调节抗体治疗会加剧xGVHD (Sanmamed MF等人Nivolumab and

urelumab enhance antitumor activity of human T lymphocytes engrafted in Rag2-/-IL2Rnull immunodeficient mice.Cancer Res 2015;75 (17) :3466-3478)。将PRO1057 (scDb-scFv;SEQ ID NO:218)和PRO1060 (IgG-scFv,其中CD137 scFv与IgG的重链的C-末端融合;SEQ ID No:234和235)对肿瘤体积的影响,与用含有与本发明的多特异性抗体相同的PDL1特异性可变结构域的IgG1 (例如PRO1137)和具有相同的CD137特异性可变结构域的IgG4 (PRO1138) 进行的治疗进行了比较。为了提供局部抗肿瘤免疫反应的进一步证据,通过流式细胞术分析了肿瘤浸润淋巴细胞 (例如CD8+,CD4+和调节性T细胞) 的出现率。为了探索抗CD137/抗PDL1治疗后全身免疫系统的调节,通过流式细胞术分析了肝脏和脾脏中CD4+和CD8+T细胞的出现率。此外,使用定量ELISA方法分析了全身性IFN γ 水平。

[0745] 研究设置和治疗方案

[0746] 雌性NOG小鼠接受单侧注射5x10⁶个HCC827细胞。细胞以50%的PBS中的细胞悬浮液和50%的matrigel的混合物注射,总注射量为100 μ l。将肿瘤细胞注射到NOG小鼠中并成功植入肿瘤后 (中位肿瘤体积为80-100mm³),通过静脉注射用5x10⁶个人PBMC替代小鼠。随机分组当天,将每组四只小鼠用供体A的PBMC重建,另四只小鼠用供体B的PBMC重建。在注射PBMC后1-2小时开始治疗,并按如下方式:

组ID	化合物	每日总量 [mg]	相对单位 (r.U)	给药日期	途径	小鼠数量
1	溶媒	na	na	0,3,7,10	ip	8
2	PRO1057 低剂量	0.08 mg	0.04 r.U	0,3,7,10	ip	8
3	PRO1057 中剂量	0.4 mg	0.2 r.U	0,3,7,10	ip	8
4	PRO1057 高剂量	2 mg	1 r.U	0,3,7,10	ip	8
5	PRO1137	0.2 mg	1 r.U	0,3,7,10	ip	8
6	PRO1138	0.2 mg		0,3,7,10	ip	8
7	PRO1060	0.2 mg	1 r.U	0,3,7,10	ip	8

[0748] 根据NF-AT报告基因中抗体阻断PD-1/PDL1相互作用的体外活性,设定了PRO1057的高剂量 (HD) 并为PRO1060和PRO1137设定了0.2mg剂量以达到0.1mg剂量的阿维鲁单抗 (每只小鼠) 所模拟的相同相对活性。因此,相对于0.1mg剂量的阿维鲁单抗,2mg的PRO1057,或0.2mg的PRO1060,或0.2mg的PRO1137剂量可以表示为一个相对单位 (1r.U)。

[0749] 每周两次通过卡尺测量体重和肿瘤体积。根据研究结果,在规定的时间点处死动物。除3只动物外,所有动物均在“相同”时间点 (在第17天和第18天) 处死。由于异种移植瘤抗宿主病 (xGVHD) 的发作,已经在第14天对3只动物实施了安乐死。由于生产能力原因,在第一天进行每组的前一半的样品收集和处理,在第二天进行每组的后一半的样品收集和处理。用来自两个不同供体的PBMC重建的动物在两个采样组中均具有相同的代表。在研究结束时收集所有动物的肿瘤、脾脏和肝脏,并进行流式细胞术分析以下人类标记物:活/死、CD4、CD8、CD25、FOXP3、TIM3、PD-1和颗粒酶B。根据制造商的说明,使用R&D Systems的DuoSet[®]ELISA Development System通过ELISA分析血清样品的IFN γ 水平。

[0750] 结果

[0751] 使用免疫缺陷性NOG小鼠品系和同种异体人外周血单核细胞(hPBMC),通过测量肿瘤体积评估了多特异性抗体PR01057(scDb-scFv抗PDL1xCD137xHSA)和PR01060(Morrison形式抗PDL1xCD137)、抗PDL1(PR01137)和抗CD137(PR01138或urelumab)在人HCC827 NSCLC异种移植物中的抗肿瘤活性(图24)。每周两次测量肿瘤体积,直到在第17天或第18天处死小鼠。将肿瘤体积相对于治疗开始时的肿瘤体积标准化(相对肿瘤体积)。如图24所示,用抗CD137(PR01138或urelumab)或抗PDL1(PR01137)单克隆抗体治疗的HCC827荷瘤小鼠显示出与溶媒对照组相似的肿瘤生长。相反,用抗PDL1xCD137双特异性抗体例如scDb-scFv(PR01057)和IgG-scFv(PR01060)治疗可明显稳定肿瘤生长。此外,在用来自供体B的PBMC重建的小鼠中用双特异性抗PDL1xCD137分子治疗导致肿瘤消退(图24B和24D)。值得注意的是,用双特异性分子进行治疗并未导致中位体重降低,这暗示了这些分子在所测试的剂量水平下被良好地耐受,而使用urelumab进行治疗导致治疗开始后17天中位体重降低(图25)。

[0752] 另外,在治疗的第17天或第18天在肿瘤中分析了T淋巴细胞,即人调节性T细胞(CD4⁺,FoxP3⁺;图26A)和人CD8⁺T细胞的出现率(图26)。通过流式细胞术研究了肿瘤浸润淋巴细胞,并且确定了肿瘤微环境(TME)中人CD8⁺T细胞的出现率与人调节性T细胞(Treg)的出现率之比(图26B)。

[0753] 单独使用Urelumab治疗导致肿瘤微环境中调节性T细胞的出现率降低,而抗PDL1(PR01137)治疗导致调节性T细胞增加(图26A)。有趣的是,在PR01057和PR01060治疗组中PD1/PDL1的阻断和CD137的同时触发(可能在同一细胞上)阻止了在抗PDL1治疗组中观察到的调节性T细胞增加(图26A)。

[0754] 此外,与采用单一疗法的治疗组或与溶媒对照组相比,用双特异性抗PDL1xCD137抗体(PR01057和PR01060)治疗的肿瘤内人CD8⁺T细胞/人Treg(CD4⁺FoxP3⁺)比例提高了两倍以上(图26B)。在用PR01057和PR01060治疗的组中观察到的CD8⁺/Treg比例增加表明,双特异性抗PDL1xCD137抗体在肿瘤微环境中引发了有效的抗肿瘤应答。用双特异性抗PDL1xCD137抗体治疗后,调节性T细胞的出现率降低,并且肿瘤内人CD8⁺T细胞/人Treg(CD4⁺FoxP3⁺)比例增加,表明成功引发了抗肿瘤效应子/记忆T细胞应答。

[0755] 此外,确定了PD1阳性的CD4⁺和CD8⁺细胞的出现率,以评估肿瘤微环境中活化的T细胞的百分比(图27)。对于PR01057,观察到了PD1阳性CD8⁺和CD4⁺T细胞呈剂量依赖性增加,在高剂量时达到的PD1阳性T细胞水平与用PR01060和PR01037治疗相似,证实了这三种化合物在PDL1阻断活性方面的剂量相等(图27A和B)。两种抗CD137抗体PR01038和urelumab似乎对PD1阳性CD4⁺或CD8⁺T细胞的百分比没有影响。

[0756] 实施例11:PDL1阻断和同时发生的CD137局部刺激在NOG小鼠中抗肿瘤功效的评估,其中该NOG小鼠植入了人脐带血来源的CD34⁺造血干细胞(UCB HSC)

[0757] 使用植入了人脐带血来源的CD34⁺造血干细胞(UCB HSC)的NOG小鼠品系,在人HCC827 NSCLC异种移植物中,将本发明的多特异性抗体的抗肿瘤活性与抗PDL1和抗CD137单抗和联合治疗进行了比较。将PR01186(scDb-scFv;SEQ ID NO:221)对肿瘤体积的影响,与用含有与本发明的多特异性抗体相同的PDL1特异性可变结构域的IgG1(例如PR01196,SEQ ID NO:242和243)、阿维鲁单抗、urelumab进行治疗进行了比较。此外,将PR01186

(scDb-scFv;SEQ ID NO:221)对肿瘤体积的影响,与含有与本发明的多特异性抗体相同的PDL1特异性可变结构域的IgG1(PRO1196,SEQ ID NO:242和243)和具有相同CD137特异性可变结构域的IgG4(PRO1138,SEQ ID No:244和245)的组合治疗进行了比较。为了提供局部抗肿瘤免疫反应的进一步证据,通过流式细胞术分析了肿瘤浸润淋巴细胞(例如CD8+,CD4+和调节性T细胞)的出现率。为了探索抗CD137/抗PDL1治疗后全身免疫系统的调节,通过流式细胞术分析了肝脏和脾脏中CD4+和CD8+T细胞的出现率。此外,使用定量ELISA方法分析了全身性IFN γ 水平。

[0758] 研究设置和治疗方案

[0759] 移植有人脐带血来源的CD34+造血干细胞(UCB HSC)的雌性NOG小鼠皮下注射HCC827 NSCLC细胞。小鼠接受单侧注射 5×10^6 个HCC827细胞。细胞注射以50%的PBS中的细胞悬浮液和50%的基底胶(matrigel)的混合物注射,总注射量为100 μ l。将肿瘤细胞注射到NOG小鼠中并成功植入肿瘤后(中位肿瘤体积为80-100mm³),将小鼠(n=10)随机分为治疗组:

[0760]

组 ID	化合物	每日总量 [mg]	给药日	途径	小鼠数量
1	溶媒 (Palivizumab)	0.1 mg	0,5,10,15,20	ip	10
2	抗 PDL1 IgG1 (PRO1196)	0.1 mg	0,5,10,15,20	ip	10
3	阿维鲁单抗	0.1 mg	0,5,10,15,20	ip	10
4	urelumab	0.1 mg	0,5,10,15,20	ip	10
5	PRO1186 低剂量	0.02 mg	0,5,10,15,20	ip	10
6	PRO1186 中剂量	0.1 mg	0,5,10,15,20	ip	10
7	PRO1186 高剂量	0.5 mg	0,5,10,15,20	ip	10
8	组合抗 PDL1 IgG1 (PRO1196)和抗CD137 IgG4 (PRO1138)	各 0.1 mg	0,5,10,15,20	ip	10

[0761] 每周两次通过卡尺测量体重和肿瘤体积。在研究结束时收获肿瘤,并通过流式细胞术评估人T细胞的浸润。在研究结束时收集所有动物的肿瘤、脾脏和肝脏,并进行流式细胞术分析以下人类标记物:活/死、CD4、CD8、CD25、FOXP3、TIM3、PD-1和颗粒酶B。根据制造商的说明,使用R&D Systems的DuoSet®ELISA Development System通过ELISA分析血清样品的IFN γ 水平。

[0762] 结果

[0763] 使用移植了人脐带血来源的CD34+造血干细胞(UCB HSC)的免疫缺陷型NOG小鼠,在人HCC827 NSCLC异种移植物中,通过测量肿瘤体积评估了多特异性抗体PRO1186(scDb-scFv抗PDL1xCD137xHSA)、抗PDL1(PRO1196或阿维鲁单抗)和抗CD137(urelumab)的抗肿瘤活性(图28和29)。每周两次测量肿瘤体积,直到在第25、29或30天处死小鼠。将肿瘤体积相对于治疗开始时的肿瘤体积标准化(相对肿瘤体积)。如图28和29所示,用抗PDL1xCD137xHSA三特异性抗体,例如scDb-scFv(PRO1186),以及抗PDL1(PRO1196)和抗CD137(urelumab)的组合进行治疗可明显稳定肿瘤的生长。值得注意的是,使用三特异性分子(PRO1186)的治疗不会导致体重中位数的降低,这暗示在测试的剂量水平上该分子被良好地耐受,而在开始治疗后的24天,使用抗PDL1(PRO1196)和抗CD137(urelumab)导致体重减轻的动物数量增加,分别超过10%或15%(图30)。与使用抗PDL1 IgG(urelumab)的治疗相比,抗PDL1xCD137xHSA(PRO1186)治疗导致更强的肿瘤生长减少。与抗PDL1和抗CD137的联合治疗相比,抗PDL1xCD137xHSA(PRO1186)治疗导致更高的响应率(30%比20%),并且耐受性更好。这与肿瘤中细胞毒性T细胞(CD8+和CD8+,GrB+)的出现率更高以及CD8+/CD4+和CD8+,GrB+/Treg比例增加相关(图31和32)。在治疗的第24天、第29天和第30天,在肿瘤中分析了T淋巴细胞,即细胞毒性T细胞(CD8+,GrB+)CD4+T细胞和Tregs细胞的出现率(图31和32)。

[0764] 此外,使用人CD34+干细胞取代的NOG小鼠在HCC827异种移植研究中进行了药代动力学分析以定量动物血清样品中的抗PDL1xCD137xHSA(PRO1186)(图33,表20)。ELISA板用CD137包被过夜,并加入抗PDL1xCD137xHSA(PRO1186)的系列稀释液以得到校正曲线。先用生物素化的人PDL1,然后用链霉亲和素poly-HRP检测结合的抗PDL1xCD137xHSA(PRO1186)。从校准曲线内插稀释的血清样品中的PRO1186浓度。通过使用非隔室方法的PK求解器软件插件估算药代动力学参数。通过分析PRO1186-HD(0.5mg)、PRO1186-MD(0.1mg)和PRO1186-LD(0.02mg)组给药后的第一个消除阶段,确定了半衰期分别为41.7小时、36.8小时和38.4小时。

[0765] 表20. 在HCC827异种移植研究中,使用人CD34+干细胞取代的NOG小鼠对动物血清样品中的抗PDL1xCD137xHSA(PRO1186)进行药代动力学分析。

[0766]	分子	剂量/小鼠/ 次[mg]	途径	T _{1/2} [h]	AUC _{0-∞} [mg/ml*h]	AUC 比例 较高/较低 剂量
	PRO1186	0.5	i.p.	41.6	16'978'964	
		0.1	i.p.	36.8	2'475'621	6.9
		0.02	i.p.	38.4	331'269	7.5

[0767] 实施例12:在同系MC38结肠癌模型中对PDL1阻断和同时发生的CD137的局部刺激的抗肿瘤功效的评估。

[0768] 另外,将在具有完整免疫系统的同系C57BL/6小鼠的MC38结肠癌模型中测试本发

明的多特异性抗体的抗肿瘤活性。其他人已经使用过该模型,通过用CD137激动剂和PD-1/PDL1拮抗剂进行联合治疗,显示出增强的抗肿瘤活性(Chen S等人Combination of 4-1BB agonist and PD-1 antagonist promotes antitumor effector/memory CD8 T cells in a poorly immunogenic tumor model.Cancer Immunol Res 2014;3(2):149-160和Rodriguez-Ruiz ME等人Abscopal effects of radiotherapy are enhanced by combined immunostimulatory mAbs and are dependent on CD8 T cells and crosspriming.Cancer Res 2016;76(20):5994-6005)。

[0769] 由于本发明的多特异性抗体的抗CD137结构域和抗PDL1结构域均与小鼠PDL1不交叉反应,因此将使用CrownBio建立的工程化人CD137敲入模型。在该模型中,使用CRISPR/Cas9系统在C57BL/6小鼠背景中,将小鼠CD137的胞外和跨膜结构域替换为人CD137的相应序列。另外,将使用修饰的MC38肿瘤细胞系,其表达处于CMV启动子控制之下的人PDL1而非小鼠PDL1。将本发明的多特异性抗体对肿瘤体积的作用与用人源化IgG1和入源化IgG4进行的联合治疗进行比较,所述入源化IgG1含有与ND021相同的PDL1特异性可变结构域,所述入源化IgG4具有相同的CD137特异性可变结构域。为了提供局部抗肿瘤免疫反应的进一步证据,将通过流式细胞术分析肿瘤浸润淋巴细胞(例如CD8⁺,CD4⁺和调节性T细胞)的出现率。为了探索抗CD137/抗PDL1治疗后全身免疫系统的调节,将通过流式细胞术和可能的免疫组织化学方法分析肝脏和脾脏中CD4⁺和CD8⁺T细胞的出现率。此外,可以使用定量ELISA方法分析全身性IFN γ 水平。为了进一步表征抗CD137/抗PDL1联合治疗的安全性,可以评估主要与肝脏毒性相关的临床化学病理学参数(在临床上针对抗CD137治疗观察到的),例如丙氨酸转氨酶、谷氨酸脱氢酶和天冬氨酸转氨酶的升高水平。

[0770] 实施例13:本发明的示例性多特异性抗体。

[0771] 概述scDb

[0772] 单链双抗体(scDb)是由一条链组成的小的二价抗体片段,包含来自两个不同抗体的两个VH和两个VL结构域(Holliger等人PNAS,1993Jul15;90(14):6444-8)。在Numab scDb形式中,可变结构域通过GS接头以VLA-VHB-VLB-VHA结构域方向连接。这些单链双抗体(scDb)中的接头可强制结构域的正确组装并提高稳定性,而不会改变抗原结合活性。连接VLA和VHB以及VLB和VHA的短G₄S接头明显短于允许相邻结构域的组装并使结构域保持开放构型从而允许相应结构域的正确配对所需的接头。VLA-VHB和VLB-VHA双抗体臂通过VHB和VLB域之间的长(G₄S)₄接头连接,从而允许从头到尾的方向进行二聚化,从而形成一个分子量约为50kDa的紧凑的双特异性分子。scDb可以在大肠杆菌或CHO-S宿主细胞中重组表达。参见图22A。

[0773] PR0885

[0774] PR0885是一种scDb分子,包含一个外部(VLA/VHA)PDL1结合结构域(33-03-G02 sc01)和一个内部(VHB/VLB)CD137特异性结构域(38-02-A04 sc01),它们通过两个短的侧翼G₄S接头和一个长的中央(G₄S)₄接头连接。两个结构域均由移植到VH4样人类受体框架(VH4-like human acceptor framework)上的兔CDR组成。

[0775] PR0951

[0776] PR0951是一种scDb分子,包含一个外部(VLA/VHA)PDL1结合结构域(33-03-G02 sc01)和一个内部(VHB/VLB)CD137特异性结构域(38-27-C05 sc02),它们通过两个短的侧

翼 G_4S 接头和一个长的中央 $(G_4S)_4$ 接头连接。两个结构域均由移植到人类受体框架上的兔CDR组成。PDL1特异性CDR移植到VH4共识序列样人类受体框架上,而CD137特异性CDR移植到VH3共识序列样人类受体框架上。

[0777] PR01123

[0778] PR01123是一种scDb分子,包含一个外部(VLA/VHA)PDL1结合结构域(33-03-G02 sc01)和一个内部(VHB/VLB)CD137特异性结构域(38-02-A04 sc05),它们通过两个短的侧翼 G_4S 接头和一个长的中央 $(G_4S)_4$ 接头连接。两个结构域均由移植到VH4共有序列样人类受体框架(VH4 consensus-like human acceptor framework)上的兔CDR组成。另外,CD137结构域含有少量参与VL-VH界面形成的兔残基。

[0779] PR01124

[0780] PR01124是一种scDb分子,包含一个外部(VLA/VHA)PDL1结合结构域(33-03-G02 sc01)和一个内部(VHB/VLB)CD137特异性结构域(38-02-A04 sc06),它们通过两个短的侧翼 G_4S 接头和一个长的中央 $(G_4S)_4$ 接头连接。两个结构域均由移植到VH4共有序列样人类受体框架上的兔CDR组成。另外,CD137结构域含有少量兔残基,这些兔残基参与VL-VH界面的形成并可能与抗原相互作用。

[0781] PR01125

[0782] PR01125是一种scDb分子,包含一个外部(VLA/VHA)PDL1结合结构域(33-03-G02 sc02)和一个内部(VHB/VLB)CD137特异性结构域(38-02-A04 sc01),它们通过两个短的侧翼 G_4S 接头和一个长的中央 $(G_4S)_4$ 接头连接。两个结构域均由移植到VH4共有序列样人类受体框架上的兔CDR组成。另外,PDL1结构域含有少量参与VL-VH界面形成的兔残基。

[0783] PR01126

[0784] PR01126是一种scDb分子,包含一个外部(VLA/VHA)PDL1结合结构域(33-03-G02 sc03)和一个内部(VHB/VLB)CD137特异性结构域(38-02-A04 sc01),它们通过两个短的侧翼 G_4S 接头和一个长的中央 $(G_4S)_4$ 接头连接。两个结构域均由移植到VH4共有序列样人类受体框架上的兔CDR组成。另外,PDL1结构域含有反突变兔残基,该反突变兔残基参与VL-VH界面的形成并可能与抗原相互作用。

[0785] PR01134

[0786] PR01134是一种scDb分子,包含一个外部(VLA/VHA)PDL1结合结构域(33-03-G02 sc07)和一个内部(VHB/VLB)CD137特异性结构域(38-02-A04 sc01),它们通过两个短的侧翼 G_4S 接头和一个长的中央 $(G_4S)_4$ 接头连接。两个结构域均由移植到VH4共有序列样人类受体框架上的兔CDR组成。另外,PDL1结构域含有兔种系残基,该兔种系残基参与VL-VH界面的形成并可能与抗原相互作用。

[0787] 概述scDb-scFv

[0788] scDb-scFv是在Numab上开发的一种形式,它通过 $(G_4S)_4$ 接头将第三条单链可变结构域对(VLC/VHC)添加至如上所述的高度稳定的单链双抗体(scDb)形式(VLA-VHB-VLB-VHA结构域方向,具有短 G_4S 核心接头和长 $(G_4S)_4$ 中央接头)。因此,scDb-scFv形式由单个蛋白链上串联排列的scDb与scFv实体组成,分子量约为80kDa。scDb-scFv抗体片段可以在哺乳动物细胞中重组表达。参见图22B。

[0789] PR0963

[0790] PR0963是一种scDb-scFv分子,由以下组成:抗PDL1 (33-03-G02 sc01,VLA/VHA) 和抗CD137 (38-02-A04 sc01,VHB/VLB) scDb核心,所述scDb核心在C-末端与抗HSA scFv实体 (19-01-H04-sc03,VLC/VHC) 融合。PDL1和CD137特异性结构域是带有移植的兔CDR的人VH4共识序列样受体框架,而HSA结构域由移植到基于人VH3的受体框架上的兔CDR组成,并且包含支持亲本兔IgG结合特征的保留的其他兔残基。

[0791] PR0966 (PR01052)

[0792] PR0966是一种scDb-scFv分子,由以下组成:抗PDL1 (33-03-G02 sc01,VLA/VHA) 和抗CD137 (38-27-C05 sc01,VHB/VLB) scDb核心,所述scDb核心在C-末端与抗HSA scFv实体 (19-01-H04-sc03,VLC/VHC) 融合。PDL1和CD137特异性结构域是带有移植的兔CDR的人VH4共识序列样受体框架,而HSA结构域由移植到基于人VH3的受体框架上的兔CDR组成,并且包含支持亲本兔IgG结合特征的保留的其他兔残基。

[0793] PR01057

[0794] PR01057是一种scDb-scFv分子,由以下组成:抗PDL1 (33-03-G02 sc01,VLA/VHA) 和抗CD137 (38-02-A04 sc01,VHB/VLB) scDb核心,所述scDb核心在C-末端与抗HSA scFv实体 (23-13-A01-sc03,VLC/VHC) 融合。PDL1和CD137特异性结构域是带有移植的兔CDR的人VH4共识序列样受体框架,而HSA结构域由移植到基于人VH3的受体框架上的兔CDR组成,并且包含支持亲本兔IgG结合特征 (包括与鼠血清白蛋白的交叉反应性) 的保留的其他兔残基。

[0795] PR01058

[0796] PR01058是一种scDb-scFv分子,由以下组成:抗PDL1 (33-03-G02 sc01,VLA/VHA) 和抗CD137 (38-27-C05 sc01,VHB/VLB) scDb核心,所述scDb核心在C-末端与抗HSA scFv实体 (23-13-A01-sc03,VLC/VHC) 融合。PDL1和CD137特异性结构域是带有移植的兔CDR的人VH4共识序列样受体框架,而HSA结构域由移植到基于人VH3的受体框架上的兔CDR组成,并且包含支持亲本兔IgG结合特征 (包括与鼠血清白蛋白的交叉反应性) 的保留的其他兔残基。

[0797] PR01186

[0798] PR01086是一种scDb-scFv分子,由以下组成:抗PDL1 (37-20-B03 sc01,VLA/VHA) 和抗CD137 (38-02-A04 sc01,VHB/VLB) scDb核心,所述scDb核心在C-末端与抗HSA scFv实体 (23-13-A01-sc03,VLC/VHC) 融合。PDL1和CD137特异性结构域是带有移植的兔CDR的人VH4共识序列样受体框架,而HSA结构域由移植到基于人VH3的受体框架上的兔CDR组成,并且包含支持亲本兔IgG结合特征 (包括与鼠血清白蛋白的交叉反应性) 的保留的其他兔残基。

[0799] PR01430

[0800] PR01430是一种scDb-scFv分子,由以下组成:抗PDL1 (37-20-B03 sc01,VLA/VHA) 和抗CD137 (38-02-A04 sc13,VHB/VLB) scDb核心,所述scDb核心在C-末端与抗HSA scFv实体 (19-01-H04-sc03,VLC/VHC) 融合。PDL1特异性结构域是带有移植的兔CDR的人类VH4共有序列样受体框架,而CD137和HSA结构域是由移植到基于人VH3的受体框架上的兔CDR组成。HSA结构域包含其他兔框架残基,这些残基支持亲本兔IgG结合特征的保留,而CD137特异性结构域包含稳定性VL/VH结构域间二硫键。

[0801] PR01479

[0802] PR01479是一种scDb-scFv分子,由以下组成:抗PDL1 (37-20-B03 sc09.1,VLA/VHA) 和抗CD137 (38-02-A04 sc13,VHB/VLB) scDb核心,所述scDb核心在C-末端与抗HSA scFv实体 (19-01-H04-sc03,VLC/VHC) 融合。所有结构域都是带有移植的兔CDR的人类VH3共识序列样受体框架。PDL1和HSA特异性结构域包含其他兔框架残基,这些残基支持亲本兔IgG结合特征的保留,而CD137特异性结构域包含稳定性VL/VH结构域间二硫键。

[0803] PR01482

[0804] PR01482是一种scDb-scFv分子,由以下组成:抗CD137 (38-02-A04-sc13,VLA/VHA) 和抗PDL1 (37-20-B03 sc03,VHB/VLB) scDb核心,所述scDb核心在C-末端与抗HSA scFv实体 (19-01-H04-sc03,VLC/VHC) 融合。PDL1特异性结构域是带有移植的兔CDR的人类VH4共有序列样受体框架,而CD137和HSA特异性结构域是由移植到基于人VH3的受体框架上的兔CDR组成。所有结构域都包含其他兔框架残基,这些残基支持亲本兔IgG结合特征的保留。

[0805] PR01431

[0806] PR01431是一种scDb-scFv分子,由以下组成:抗PDL1 (33-03-G02 sc18,VLA/VHA) 和抗CD137 (38-02-A04 sc13,VHB/VLB) scDb核心,所述scDb核心在C-末端与抗HSA scFv实体 (19-01-H04-sc03,VLC/VHC) 融合。PDL1特异性结构域是带有移植的兔CDR的人类VH4共有序列样受体框架,而CD137和HSA特异性结构域是由移植到基于人VH3的受体框架上的兔CDR组成。HSA结构域包含其他兔框架残基,这些残基支持亲本兔IgG结合特征的保留,而CD137特异性结构域包含稳定性VL/VH结构域间二硫键。

[0807] PR01473

[0808] PR01473是一种scDb-scFv分子,由以下组成:抗PDL1 (33-03-G02 sc03,VLA/VHA) 和抗CD137 (38-02-A04 sc13,VHB/VLB) scDb核心,所述scDb核心在C-末端与抗HSA scFv实体 (19-01-H04-sc03,VLC/VHC) 融合。PDL1特异性结构域是带有移植的兔CDR的人类VH4共有序列样受体框架,而CD137和HSA特异性结构域是由移植到基于人VH3的受体框架上的兔CDR组成。HSA和PDL1特异性结构域包含其他兔框架残基,这些残基支持亲本兔IgG结合特征的保留,而CD137结构域包含稳定性VL/VH结构域间二硫键。

[0809] PR01476

[0810] PR01476是一种scDb-scFv分子,由以下组成:抗CD137 (38-02-A04 sc13,VLA/VHA) 和抗PDL1 (33-03-G02 sc03,VHB/VLB) scDb核心,所述scDb核心在C-末端与抗HSA scFv实体 (19-01-H04-sc03,VLC/VHC) 融合。PDL1特异性结构域是带有移植的兔CDR的人类VH4共有序列样受体框架,而CD137和HSA特异性结构域是由移植到基于人VH3的受体框架上的兔CDR组成。HSA和PDL1特异性结构域包含其他兔框架残基,这些残基支持亲本兔IgG结合特征的保留,而CD137特异性结构域包含稳定性VL/VH结构域间二硫键。

[0811] PR01432

[0812] PR01432是一种scDb-scFv分子,由以下组成:抗CD137 (38-02-A04 sc13,VLA/VHA) 和抗PDL1 (33-03-G02 sc18,VHB/VLB) scDb核心,所述scDb核心在C-末端与抗HSA scFv实体 (19-01-H04-sc03,VLC/VHC) 融合。PDL1特异性结构域是带有移植的兔CDR的人类VH4共有序列样受体框架,而CD137和HSA特异性结构域是由移植到基于人VH3的受体框架上的兔CDR组成。HSA和PDL1特异性结构域包含其他兔框架残基,这些残基支持亲本兔IgG结合特征的保

留,而CD137特异性结构域包含稳定性VL/VH结构域间二硫键。

[0813] PR01480

[0814] PR01480是一种scDb-scFv分子,由以下组成:抗PDL1 (37-20-B03 sc09.1,VLA/VHA)和抗CD137 (38-27-A11sc02,VHB/VLB) scDb核心,所述scDb核心在C-末端与抗HSA scFv实体 (19-01-H04-sc03,VLC/VHC)融合。所有结构域都是带有移植的兔CDR的人类VH3共识序列样受体框架。PDL1和HSA特异性结构域都包含其他兔框架残基,这些残基支持亲本兔IgG结合特征的保留。

[0815] PR01481

[0816] PR01481是一种scDb-scFv分子,由以下组成:抗PDL1 (37-20-B03 sc09.1,VLA/VHA)和抗CD137 (38-27-A11sc03,VHB/VLB) scDb核心,所述scDb核心在C-末端与抗HSA scFv实体 (19-01-H04-sc03,VLC/VHC)融合。所有结构域都是带有移植的兔CDR的人类VH3共识序列样受体框架。PDL1、CD137和HSA特异性结构域都包含其他兔框架残基,这些残基支持亲本兔IgG结合特征的保留。

[0817] 具有DiS的PR01480

[0818] 具有DiS的PR01480是一种scDb-scFv分子,由以下组成:抗PDL1 (37-20-B03 sc09.1,VLA/VHA)和抗CD137 (38-27-A11sc07,VHB/VLB) scDb核心,所述scDb核心在C-末端与抗HSA scFv实体 (19-01-H04-sc03,VLC/VHC)融合。所有结构域都是带有移植的兔CDR的人类VH3共识序列样受体框架。PDL1和HSA特异性结构域包含其他兔框架残基,这些残基支持亲本兔IgG结合特征的保留,而CD137特异性结构域包含稳定性VL/VH结构域间二硫键。

[0819] 概述IgG-scFv

[0820] IgG-scFv分子是双特异性抗体,由与单特异性IgG融合的scFv部分组成(Coloma M.J.,Morrison S.L.Nat.Biotechnol.1997;15:159-163.)。每个轻链或重链的氨基或羧基末端都可以附加甚至具有不同特异性的scFv结构域,这会导致IgG-scFv双特异性抗体类型的多样化。在Numab上生产的分子是IgG(H)-scFv或IgG(L)-scFv类型,具有相同特异性的两个scFv与全长IgG重链(HC)或轻链(LC)的C-末端连接,含有沉默的Fc部分和 $(G_4S)_2$ 接头,将IgG部分与scFv部分连接。两种类型的总分子量约为200kDa,并且这些分子可以在哺乳动物细胞中重组表达。参见图22C和22D。

[0821] PR01059 (IgG(L)-scFv)

[0822] 沉默的抗PDL1 (33-03-G02-sc01) hIgG1,其具有与LC的C-末端融合的抗CD137 scFv结构域 (38-02-A04 sc01)。 $(G_4S)_4$ 接头将IgG部分与scFv部分相连,scFv部分本身由通过 $(G_4S)_4$ 接头与相应VH结构域相连的VL结构域组成。

[0823] PR01060 (IgG(H)-scFv)

[0824] 沉默的抗PDL1 (33-03-G02-sc01) hIgG1,其具有与HC的C-末端融合的抗CD137 (38-02-A04 sc01) scFv结构域。 $(G_4S)_4$ 接头将IgG部分与scFv部分相连,scFv部分本身由通过 $(G_4S)_4$ 接头与相应VH结构域相连的VL结构域组成。

[0825] PR01061 (IgG(L)-scFv)

[0826] 沉默的抗PDL1 (33-03-G02-sc01) hIgG1,其具有与LC的C-末端融合的抗CD137 scFv结构域 (38-27-C05 sc01)。 $(G_4S)_4$ 接头将IgG部分与scFv部分相连,scFv部分本身由通过 $(G_4S)_4$ 接头与相应VH结构域相连的VL结构域组成。

[0827] PR01062 (IgG (H) -scFv)

[0828] 沉默的抗PDL1 (33-03-G02-sc01) hIgG1, 其具有与HC的C-末端融合的抗CD137 (38-27-C05 sc01) scFv结构域。(G₄S)₄接头将IgG部分与scFv部分相连, scFv部分本身由通过(G₄S)₄接头与相应VH结构域相连的VL结构域组成。

[0829] 实施例14:生物物理表征

[0830] 选择的结构域的生物物理表征

[0831] 以更大规模生产所选择的结构域 (0.2L-1.2L表达体积), 纯化后使用离心浓缩管浓缩至>10mg/mL (表21)。

[0832] 对scFv进行稳定性研究, 例如为期四周的稳定性研究, 其中将scFv以10mg/ml配制在水性缓冲液 (含有150mM NaCl的50mM柠檬酸磷酸盐缓冲液, pH6.4) 中, 并在<-80℃、4℃和40℃储存四周。至少在每次研究的一周、两周和结束后, 通过SE-HPLC峰面积的积分来评估制剂中单体和低聚物的比例。对于一些分子, 记录了另外的时间点。表22比较了研究的第7天和第28天得出的终点测量值。

[0833] 此外, 还针对冷冻-融化 (F/T) 循环评估了scFv分子的相容性 (胶体稳定性)。为了进行F/T稳定性评估, 采用与存储稳定性研究 (SE-HPLC, SDS-PAGE) 相同的分析方法和参数 (单体含量%和单体损失%) 来监测分子随着五个F/T循环的质量。表23示出了随着五个重复F/T循环的单体含量损失 (%)。重复F/T循环后, 没有一个分子的单体含量损失>4%。

[0834] 通过使用荧光染料SYPRO orange评估了分子的热解折叠。制备了相关赋形剂条件下的样品, 并在qPCR仪中进行了测定。使用该软件的自定义染料校准程序检测了荧光发射。将包含测试样品的PCR板以1℃的递增量进行从25℃到96℃的温度变化。通过GraphPad Prism软件使用数学二阶导数方法计算曲线的拐点来计算解折叠转变的中点 (T_m)。报告的T_m是三个测量值的平均值。表24显示了在通用缓冲液 (pH 6.4的柠檬酸磷酸盐缓冲液, 150mM NaCl) 中配制的分子的解链温度。

[0835] 挑选出的最高分子进行短期pH应力稳定性研究, 其中将scFv分子以1mg/ml配制在一组pH值在3.5和7.5之间的水性 (柠檬酸) 缓冲体系中。在各自的缓冲系统中于40℃储存2周后, 分析了单体含量 (%) 和单体损失% (数据未显示)。表25示出了研究过程中单体含量、单体损失、浓度和浓度损失的列表总结。

[0836] 多特异性抗体的生物物理表征

[0837] 对所选择的多特异性分析进行稳定性研究, 例如为期四周的稳定性研究, 其中将多特异性分析以10mg/ml配制在以下缓冲液中: 含有150mM NaCl、1M蔗糖的25mM柠檬酸磷酸盐缓冲液, pH5.5, 并在<-20℃、4℃、20℃和40℃储存四周。至少, 使用SE-HPLC在1天、4天、1周后和每周直到12周, 评估制剂中的单体和低聚物比例。表汇总了发现结果 (表26)。

[0838]

表 21. 制备结构域用于稳定性研究

克隆ID	蛋白质ID	移植策略	表达体积 [mL]	表达系统	蛋白质L 后的蛋白 质量[mg]	蛋白质L 后的产 量 [mg/L]	SEC Y/N?	最终 产量 [mg]	每L表达 的产量 [mg/L]	纯度 SE-HPLC [%单体]	在10 mg/mL下 的单体含 量[%]	浓缩至10 mg/mL后 的单体损 失
38-02-A04-sc05	PRO1181	IF	1200	BL21	9.3	7.8	Y	4.7	3.9	88	77.8	10.2
38-02-A04-sc06	PRO1182	FULL	1200	BL21	19.8	16.5	Y	5.6	4.7	95	72.9	22.1
38-02-A04-sc07	PRO134	CDR	200	CHO	16.6	83.1	N	8	39.8	97	94.3	2.7
38-02-A04-sc08	PRO135	具有ID diS的 CDR	200	CHO	12.2	61	Y	3.9	19.3	99.1	99.0	0.1
38-27-A11-sc02	PRO135	CDR	200	CHO	13.7	68.5	Y	6.8	34.2	99	99.0	0.0
38-27-A11-sc03	PRO136	FULL	200	CHO	12.9	64.7	Y	6.2	30.8	99.1	98.7	0.4

表 22A. 抗 CD137 scFv 结构域的 4 周稳定性研究。

克隆ID	蛋白质ID	温度 [°C]	初始单体含 量[%]	单体含量[%]			单体含量损失 [%]			蛋白质浓度 [mg/mL]			蛋白质含量损失 [%]		
				d0	d7	d28	d0	d7	d28	d0	d7	d28	d0	d7	d28
38-02-A04-sc05	PRO1181	-80	77.8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		4		NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		40		77.8	78.2	77.8	-0.5	0.1	0.1	10.4	10.4	9.6	0.2	0.2	7.7
38-02-A04-sc06	PRO1182	-80	72.9	72.9	72.8	72.9	0.1	0.0	0.0	20.6	21.0	24.8	-2.0	-0.7	-20.5
		4		72.9	72.8	73.5	0.1	-0.8	-0.8	20.6	20.7	19.9	-0.7	3.3	3.3
		40		72.9	72.8	72.1	0.1	1.1	1.1	20.6	20.5	20.7	0.3	0.3	-0.6
38-02-A04-sc09	PRO1348	-80	94.3	94.3	93.2	91.2	1.1	3.3	3.3	10.0	11.0	11.2	-10.3	-11.8	-11.8
		4		94.3	84.6	83.4	10.3	11.5	11.5	10.0	11.2	11.3	-12.1	-13.2	-13.2
		40		94.3	85.7	84.5	9.1	10.4	10.4	10.0	11.5	12.0	-15.2	-20.5	-20.5
38-02-A04-sc13	PRO1352	-80	99.0	99.0	99.1	99.1	0.0	-0.1	-0.1	11.4	11.8	11.7	-3.6	-2.7	-2.7
		4		99.0	99.1	99.1	-0.1	-0.1	-0.1	11.4	11.9	11.8	-4.3	-3.7	-3.7
		40		99.0	99.1	99.0	-0.1	0.0	0.0	11.4	12.5	12.9	-9.3	-13.2	-13.2
38-27-A11-sc02	PRO1359	-80	99.0	99.0	98.8	98.8	0.2	0.2	0.2	10.5	11.2	11.6	-7.0	-11.0	-11.0
		4		99.0	98.8	97.9	0.2	1.2	1.2	10.5	11.2	11.1	-6.6	-5.5	-5.5

[0839]

38-27-A11 sc03	40	99.0	80.1	79.1	19.1	20.1	10.5	10.8	11.1	-3.2	-6.3
	-80	98.7	98.6	97.4	0.1	1.3	10.9	9.7	10.3	11.1	5.6
	4	98.7	97.7	93.1	1.0	5.7	10.9	10.6	9.3	2.8	14.6
	40	98.7	79.0	77.4	20.0	21.6	10.9	12.0	11.2	-9.9	-2.7

表 22B. 抗 PDL1 scFv 结构域的 4 周稳定性研究。

克隆 ID	蛋白质 ID	温度 [°C]	单体含量[%]			单体含量损失[%]			蛋白质浓度[mg/mL]			蛋白质含量损失[%]		
			d0	d7	d28	d7	d28	d0	d7	d28	d7	d28	d7	d28
33-03-G02-sc01	PRO830	-80	98.3	98.5	98.4	-0.2	-0.1	10.5	12.0	11.4	-14.2	-9.2		
		4	98.3	97.9	96.8	0.4	1.6	10.5	12.4	12.0	-18.6	-14.5		
		40	98.3	93.3	84.9	5.0	13.6	10.5	10.4	11.6	0.6	-10.6		
33-03-G02-sc03	PRO1183	-80	99.7	NA	99.4	NA	0.3	20.6	20.8	21.1	NA	-2.6		
		4	99.7	NA	87.9	NA	11.8	20.6	20.8	21.0	NA	-1.9		
		40	99.7	NA	71.0	NA	28.8	20.6	21.0	22.0	NA	-7.1		
33-03-G02-sc18	PRO1392	-80	97.4	97.4	97.2	0.0	0.2	10.6	9.4	11.0	11.7	-3.9		
		4	97.4	97.1	96.9	0.2	0.5	10.6	10.7	10.7	-0.9	-1.3		
		40	97.4	94.2	84.7	3.2	13.0	10.6	10.7	11.2	-0.8	-5.9		
37-20-B03-sc09	PRO1347	-80	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA		
		4	98.5	97.1	94.6	1.4	4.0	10.6	11.4	11.5	-7.6	-8.0		
		40	98.5	83.1	75.6	15.6	23.3	10.6	11.9	11.7	-12.1	-10.0		
37-20-B03-sc01	PRO908	-80	75.4	74.4	73.5	1.4	2.5	10.4	10.3	9.9	1.1	4.8		
		4	75.4	74.1	73.8	1.7	2.1	10.4	9.9	9.9	4.9	4.7		
		40	75.4	75.4	73.2	0.0	3.0	10.4	11.5	11.4	-11.0	-9.6		

[0840] 表23. 在28天的时间内对F/T稳定性的评估。

	克隆 ID	PRO ID	F/T-1*	F/T-2*	F/T-3*	F/T-4*	F/T-5*
[0841]	38-02-A04-sc13	PRO1352	0.0	0.1	NA	NA	NA
	38-27-A11 sc02	PRO1359	0.0	-0.2	-0.1	-0.1	-0.2
	38-27-A11 sc03	PRO1360	-0.1	-0.1	-0.3	-0.2	-1.3

[0842] *F/T后的单体损失 %

	克隆 ID	移植策略	框架	PRO ID	F/T-1*	F/T-2*	F/T-3*	F/T-4*	F/T-5*
[0843]	37-20-B03-sc01	CDR	VH4	PRO908	-0.8	-1.0	-1.1	-0.4	-1.9
	33-03-G02-sc03	FULL	VH4	PRO1183	-0.1	-0.4	-0.3	-0.4	-0.3
	33-03-G02-sc18	PRO1183	VH4	PRO1392	-0.1	0.0	0.0	-0.2	-0.2
	33-03-G02-sc01	opt. CDR	VH4	PRO830	0.2	0.1	0.1	NA	NA
	33-02-G02-sc09	FULL	VH3	PRO1400	0.0	0.0	-0.1	NA	NA

[0844] *F/T后的单体损失 % 循环X

[0845] NA: 未评估

[0846] 表24. scFv结构域的差示扫描荧光法。

	克隆 ID	蛋白质 ID	移植策略	Tm [°C]	Tonset [°C]
[0847]	38-02-A04-sc09	PRO1348	CDR (*)	61.1	56.7
	38-02-A04-sc13	PRO1352	具有 ID diS 的 CDR (*)	55.2	50.0
	38-02-A04-sc13	PRO1352	具有 ID diS 的 CDR (**)	62.6	58.0
	38-27-A11 sc02	PRO1359	CDR (*)	64.4	61.0
	38-27-A11 sc02	PRO1359	CDR (**)	68.3	64.3

[0848] (*) 使用标准蛋白质浓度100μg/ml的实验结果。(**) 使用蛋白质浓度50μg/ml的实验结果 (由于在标准浓度下, 溶解曲线的形状不理想, 因此重复进行实验)。

	克隆 ID	蛋白质 ID	Tm [°C]	Tonset [°C]
[0849]	33-03-G02-sc18	PRO1392	72.40	67.00
	37-20-B03-sc01	PRO997	64.39	59.00
	37-20-B03-sc09	PRO1347	74.85	67.33

[0850] 表25. pH稳定性评估的表格总结

[0851]

克隆 ID	蛋白质 ID	温度	最终 缓冲 液	单体含量[%]			单体损失 [%]		蛋白质浓度 [mg/mL]			含量损失 [%]	
				d0	d7	d14	d7	d14	d0	d7	d14	d7	d14
38-02-A04 sc13	PRO1352	4°C	pH 3.5	98.2	98.4	98.2	0.2	-0.2	1.1	1.0	1.1	-3.3	3.0
			pH 4.5	98.2	98.4	98.3	0.2	-0.2	0.9	1.0	1.0	10.1	-0.5
			pH 5.5	98.1	98.4	98.2	0.4	-0.2	1.0	1.0	1.1	-0.6	9.5
			pH 6.5	NA	98.0	98.1	NA	0.1	1.0	0.8	1.0	-14.1	26.5
			pH 7.5	NA	98.0	98.2	NA	0.2	1.0	1.0	1.0	1.1	6.7
		40°C	pH 3.5	98.2	98.0	98.2	-0.2	0.2	1.1	1.1	1.1	6.5	-6.6
			pH 4.5	98.2	98.0	98.1	1.1	0.1	0.9	1.1	1.0	18.4	-4.1
			pH 5.5	98.1	98.0	98.1	1.3	0.1	1.0	1.0	1.1	3.6	3.3
			pH 6.5	NA	98.0	98.2	1.4	0.2	1.0	1.0	1.1	6.7	2.8
			pH 7.5	NA	98.0	98.1	1.4	0.1	1.0	1.0	1.1	4.1	6.3
38-27-A11 sc02	PRO1359	4°C	pH 3.5	NA	96.9	96.8	NA	-0.1	1.0	1.0	1.0	-8.6	0.8
			pH 4.5	96.9	97.0	97.0	0.1	0.0	1.0	1.0	1.0	-7.3	3.8
			pH 5.5	96.7	97.0	96.8	0.3	-0.2	1.0	0.9	1.0	-6.7	7.7
			pH 6.5	96.7	97.0	96.9	0.3	-0.1	1.0	1.0	1.0	4.0	-3.2
			pH 7.5	96.6	97.0	96.7	0.4	-0.3	1.0	1.0	1.0	4.0	-2.4
		40°C	pH 3.5	NA	97.2	97.3	NA	0.1	1.0	1.0	1.0	-5.8	4.1
			pH 4.5	96.9	97.0	97.3	0.1	0.3	1.0	0.9	1.0	-9.0	8.9
			pH 5.5	96.7	97.0	97.4	0.3	0.4	1.0	0.9	1.0	-7.9	10.8
			pH 6.5	96.7	97.5	97.5	0.9	0.0	1.0	0.9	1.0	-4.6	7.0
			pH 7.5	96.6	98.0	97.6	1.4	-0.4	1.0	1.0	1.0	-0.2	4.5
38-27-A11 sc03	PRO1360	4°C	pH 3.5	94.1	94.0	93.9	-0.1	-0.1	1.1	1.0	1.2	-11.1	21.1
			pH 4.5	93.8	94.0	93.7	0.3	-0.3	1.0	1.0	1.1	2.5	7.7
			pH 5.5	93.7	94.0	93.7	0.4	-0.3	0.9	1.0	1.1	10.5	4.8
			pH 6.5	NA	94.0	93.7	NA	-0.3	1.0	1.0	1.0	5.8	2.8
			pH 7.5	NA	94.0	93.9	NA	-0.1	1.0	1.0	1.1	3.1	4.2
		40°C	pH 3.5	94.1	97.0	97.3	3.1	0.3	1.1	1.0	1.0	-8.7	1.6
			pH 4.5	93.8	97.0	96.9	3.5	-0.1	1.0	1.0	1.1	-0.5	6.6
			pH 5.5	93.7	97.0	96.9	3.6	-0.1	0.9	1.0	1.1	8.1	9.4
			pH 6.5	NA	97.0	96.9	NA	-0.1	1.0	1.0	1.1	2.1	8.1
			pH 7.5	NA	NA	97.0	NA	NA	1.0	NA	1.1	NA	NA

[0852] 表26:单体含量。

	Monomeric content by SE-HPLC [%]														
	time [day]														
4°C	0	1	3	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84
PRO1430	98.96	98.8	98.6	98.56	98.4	98.47	98.35	98.17	98.11	98.11	98.25	97.942	0	98.28	0
PRO1431	98.88	97.94	98.13	97.95	98.23	98.29	98.25	98.59	97.69	98.08	97.87	98.08	97.71	0	0
PRO1432	98.62	97.82	97.96	97.7	97.82	97.86	97.9	96.95	97.37	97.66	97.58	97.81	97.35	0	0
PRO1473	99.55	99.51	99.47	99.17	99.2	99.14	98.9	98.99	99.22	99.18	99.09	98.86	98.28	0	98.82
PRO1476	99.33	99.28	99.31	99.07	98.99	98.99	98.82	98.98	98.98	98.74	98.9	98.71	0	0	97.78
PRO1479	99.28	99.25	99.2	98.83	98.77	98.87	98.82	98.84	98.8	98.77	98.84	98.65	98.07	98.511	97.75
PRO1480	99.56	99.12	99.09	99.13	98.86	98.69	98.63	98.74	98.75	98.57	98.21	98.28	98.232	97.75	97.93
PRO1481	99.42	98.86	98.83	98.82	98.47	98.23	98.47	98.43	98.55	98.26	97.87	97.92	97.906	97.61	97.57
PRO1482	98.76	98.7	98.55	98.19	98.14	98.23	98.02	98.16	98.01	98.02	97.86	97.88	0	97.799	97

	Monomeric content by SE-HPLC [%]														
	time [day]														
20°C	0	1	3	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84
PRO1430	98.96	98.74	98.53	98.48	97.53	98.01	97.35	97.53	97.18	97.04	96.992	96.197	0	96.64	0
PRO1431	98.88	97.96	98.03	98.07	97.59	97.25	97.21	96.26	96.01	96.24	95.61	95.77	95.49	95.66	0
PRO1432	98.62	97.81	97.76	97.46	97.28	96.98	96.86	96.18	95.98	96.09	95.74	95.79	95.42	95.35	0
PRO1473	99.55	99.48	99.38	98.99	98.88	98.75	97.84	97.56	97.58	97.41	96.96	96.6	0	0	95.66
PRO1476	99.33	99.23	98.99	98.73	98.56	98.52	98.19	97.72	97.66	97.59	97.3	96.93	0	0	95.7
PRO1479	99.28	99.21	99.12	98.63	98.33	98.26	97.95	97.59	97.1	97.3	97.03	96.56	0	96.162	95.67
PRO1480	99.56	99.03	98.9	98.59	97.88	97.15	96.84	95.93	96.26	95.7	95.17	95.27	94.179	93.86	94.15
PRO1481	99.42	98.71	98.6	98.16	97.23	96.57	96.42	96.47	95.67	95.07	94.47	94.37	93.562	93.05	93.4
PRO1482	98.76	98.63	98.31	97.9	97.63	97.42	97.14	96.71	96.26	96.31	96.07	95.67	0	95.063	94.46

[0853]

	Monomeric content by SE-HPLC [%]														
	time [day]														
40°C	0	1	3	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84
PRO1430	98.96	98.11	96.72	94.32	93.19	93.23	92.47	92.33	91.77	91.43	89.837	89.533	0	88.3	0
PRO1431	98.88	97.04	95.43	94.05	93.36	92.66	92.35	91.16	90.38	89.86	88.02	87.54	87.35	87.15	0
PRO1432	98.62	96.79	95.24	93.81	93.28	92.6	92.41	91.15	90.81	90.63	89.27	88.82	87.98	0	0
PRO1473	99.55	98.4	96.92	95.61	94.71	94.29	93.069	92.52	91.88	91.4	90.69	89.92	0	82.415	87.16
PRO1476	99.33	98.26	96.99	95.49	94.4	93.94	93.29	92.93	92.36	91.99	91.45	90.9	0	89.808	88.78
PRO1479	99.28	98.41	96.98	95.28	94.46	93.94	93.35	93.02	92.23	92.07	91.44	90.87	0	89.586	89.08
PRO1480	99.56	97.46	96.12	94.48	93.49	92.87	92.34	91.46	91.06	89.89	89.12	88.49	87.102	86.12	85.71
PRO1481	99.42	96.75	95.29	94.01	93	92.53	92.02	91.15	90.71	89.5	88.78	88.02	86.489	85.67	85.08
PRO1482	98.76	97.45	96.02	94.41	93.41	93.03	92.61	92.29	91.56	91.59	91.06	90.56	0	89.586	88.85

Monomeric content by SE-HPLC [%]				
time [day]				
-20°C	0	28	56	84
PRO1430	98.96	98.42	98.385	0
PRO1431	98.88	98.37	98.2	98.935
PRO1432	98.62	98.2	97.95	98.579
PRO1473	99.55	98.67	99.32	98.99
PRO1476	99.33	98.96	99.16	98.97
PRO1479	99.28	98.88	99.15	98.18
PRO1480	99.56	99.18	99	99.38
PRO1481	99.42	98.98	98.86	99.16
PRO1482	98.76	98.15	98.34	97.44

[0001]	序列表															
[0002]	<110>	努玛治疗有限公司														
[0003]	<120>	多特异性抗体														
[0004]	<130>	115273P877PC														
[0005]	<140>	PCT/EP2018/077509														
[0006]	<141>	2018-10-09														
[0007]	<150>	EP17195779.8														
[0008]	<151>	2017-10-10														
[0009]	<150>	EP18150465.5														
[0010]	<151>	2018-01-05														
[0011]	<150>	EP18167093.6														
[0012]	<151>	2018-04-12														
[0013]	<150>	EP18180814.8														
[0014]	<151>	2018-06-29														
[0015]	<160>	245														
[0016]	<170>	PatentIn 3.5														
[0017]	<210>	1														
[0018]	<211>	11														
[0019]	<212>	PRT														
[0020]	<213>	人工序列														
[0021]	<220>															
[0022]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列														
[0023]	<400>	1														
[0024]	Gly	Phe	Ser	Phe	Ser	Asn	Ser	Tyr	Trp	Ile	Cys					
[0025]	1				5				10							
[0026]	<210>	2														
[0027]	<211>	18														
[0028]	<212>	PRT														
[0029]	<213>	人工序列														
[0030]	<220>															
[0031]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列														
[0032]	<400>	2														
[0033]	Cys	Thr	Phe	Val	Gly	Ser	Ser	Asp	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asn	Trp	Ala
[0034]	1				5				10					15		
[0035]	Lys	Gly														
[0036]	<210>	3														
[0037]	<211>	14														
[0038]	<212>	PRT														

[0039]	<213>	人工序列
[0040]	<220>	
[0041]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0042]	<400>	3
[0043]	Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala Asn Asn Leu	
[0044]	1	5 10
[0045]	<210>	4
[0046]	<211>	11
[0047]	<212>	PRT
[0048]	<213>	人工序列
[0049]	<220>	
[0050]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0051]	<400>	4
[0052]	Val Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asn Ser Tyr Trp	
[0053]	1	5 10
[0054]	<210>	5
[0055]	<211>	11
[0056]	<212>	PRT
[0057]	<213>	人工序列
[0058]	<220>	
[0059]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0060]	<400>	5
[0061]	Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asn Ser Tyr Trp	
[0062]	1	5 10
[0063]	<210>	6
[0064]	<211>	18
[0065]	<212>	PRT
[0066]	<213>	人工序列
[0067]	<220>	
[0068]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0069]	<400>	6
[0070]	Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys	
[0071]	1	5 10 15
[0072]	Gly Arg	
[0073]	<210>	7
[0074]	<211>	12
[0075]	<212>	PRT
[0076]	<213>	人工序列
[0077]	<220>	

[0078]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0079]	<400>	7
[0080]		His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala Asn Asn
[0081]	1	5 10
[0082]	<210>	8
[0083]	<211>	6
[0084]	<212>	PRT
[0085]	<213>	人工序列
[0086]	<220>	
[0087]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0088]	<400>	8
[0089]		Asn Ser Tyr Trp Ile Cys
[0090]	1	5
[0091]	<210>	9
[0092]	<211>	18
[0093]	<212>	PRT
[0094]	<213>	人工序列
[0095]	<220>	
[0096]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0097]	<400>	9
[0098]		Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala
[0099]	1	5 10 15
[0100]		Lys Gly
[0101]	<210>	10
[0102]	<211>	13
[0103]	<212>	PRT
[0104]	<213>	人工序列
[0105]	<220>	
[0106]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0107]	<400>	10
[0108]		His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala Asn Asn Leu
[0109]	1	5 10
[0110]	<210>	11
[0111]	<211>	8
[0112]	<212>	PRT
[0113]	<213>	人工序列
[0114]	<220>	
[0115]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0116]	<400>	11

[0117]	Gly Phe Ser Phe Ser Asn Ser Tyr
[0118]	1 5
[0119]	<210> 12
[0120]	<211> 5
[0121]	<212> PRT
[0122]	<213> 人工序列
[0123]	<220>
[0124]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[0125]	<400> 12
[0126]	Val Gly Ser Ser Asp
[0127]	1 5
[0128]	<210> 13
[0129]	<211> 11
[0130]	<212> PRT
[0131]	<213> 人工序列
[0132]	<220>
[0133]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[0134]	<400> 13
[0135]	Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala Asn Asn
[0136]	1 5 10
[0137]	<210> 14
[0138]	<211> 124
[0139]	<212> PRT
[0140]	<213> 人工序列
[0141]	<220>
[0142]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[0143]	<400> 14
[0144]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
[0145]	1 5 10 15
[0146]	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asn Ser
[0147]	20 25 30
[0148]	Tyr Trp Ile Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
[0149]	35 40 45
[0150]	Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asn
[0151]	50 55 60
[0152]	Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln
[0153]	65 70 75 80
[0154]	Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
[0155]	85 90 95

[0156]	Tyr Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala Asn Asn
[0157]	100 105 110
[0158]	Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[0159]	115 120
[0160]	<210> 15
[0161]	<211> 124
[0162]	<212> PRT
[0163]	<213> 人工序列
[0164]	<220>
[0165]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[0166]	<400> 15
[0167]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
[0168]	1 5 10 15
[0169]	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asn Ser
[0170]	20 25 30
[0171]	Tyr Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
[0172]	35 40 45
[0173]	Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asn
[0174]	50 55 60
[0175]	Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln
[0176]	65 70 75 80
[0177]	Val Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
[0178]	85 90 95
[0179]	Phe Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala Asn Asn
[0180]	100 105 110
[0181]	Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[0182]	115 120
[0183]	<210> 16
[0184]	<211> 124
[0185]	<212> PRT
[0186]	<213> 人工序列
[0187]	<220>
[0188]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[0189]	<400> 16
[0190]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
[0191]	1 5 10 15
[0192]	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asn Ser
[0193]	20 25 30
[0194]	Tyr Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

[0195]	35	40	45
[0196]	Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asn		
[0197]	50	55	60
[0198]	Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Ser Ser Lys Asn Gln		
[0199]	65	70	75
[0200]	Val Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr		
[0201]	85	90	95
[0202]	Phe Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala Asn Asn		
[0203]	100	105	110
[0204]	Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[0205]	115	120	
[0206]	<210> 17		
[0207]	<211> 124		
[0208]	<212> PRT		
[0209]	<213> 人工序列		
[0210]	<220>		
[0211]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列		
[0212]	<400> 17		
[0213]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
[0214]	1	5	10
[0215]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asn Ser		15
[0216]	20	25	30
[0217]	Tyr Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp		
[0218]	35	40	45
[0219]	Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asn		
[0220]	50	55	60
[0221]	Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr		
[0222]	65	70	75
[0223]	Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr		
[0224]	85	90	95
[0225]	Tyr Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala Asn Asn		
[0226]	100	105	110
[0227]	Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[0228]	115	120	
[0229]	<210> 18		
[0230]	<211> 11		
[0231]	<212> PRT		
[0232]	<213> 人工序列		
[0233]	<220>		

[0234]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0235]	<400>	18
[0236]	Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Val Leu Ala	
[0237]	1	5 10
[0238]	<210>	19
[0239]	<211>	7
[0240]	<212>	PRT
[0241]	<213>	人工序列
[0242]	<220>	
[0243]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0244]	<400>	19
[0245]	Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser	
[0246]	1	5
[0247]	<210>	20
[0248]	<211>	9
[0249]	<212>	PRT
[0250]	<213>	人工序列
[0251]	<220>	
[0252]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0253]	<400>	20
[0254]	Gln Ser Ser Tyr Gly Asn Tyr Gly Asp	
[0255]	1	5
[0256]	<210>	21
[0257]	<211>	8
[0258]	<212>	PRT
[0259]	<213>	人工序列
[0260]	<220>	
[0261]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0262]	<400>	21
[0263]	Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Val	
[0264]	1	5
[0265]	<210>	22
[0266]	<211>	12
[0267]	<212>	PRT
[0268]	<213>	人工序列
[0269]	<220>	
[0270]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0271]	<400>	22
[0272]	Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg	

[0273]	1	5	10
[0274]	<210>	23	
[0275]	<211>	6	
[0276]	<212>	PRT	
[0277]	<213>	人工序列	
[0278]	<220>		
[0279]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列	
[0280]	<400>	23	
[0281]	Ser Tyr Gly Asn Tyr Gly		
[0282]	1	5	
[0283]	<210>	24	
[0284]	<211>	7	
[0285]	<212>	PRT	
[0286]	<213>	人工序列	
[0287]	<220>		
[0288]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列	
[0289]	<400>	24	
[0290]	Ser Gln Ser Ile Asn Asn Val		
[0291]	1	5	
[0292]	<210>	25	
[0293]	<211>	3	
[0294]	<212>	PRT	
[0295]	<213>	人工序列	
[0296]	<220>		
[0297]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列	
[0298]	<400>	25	
[0299]	Arg Ala Ser		
[0300]	1		
[0301]	<210>	26	
[0302]	<211>	6	
[0303]	<212>	PRT	
[0304]	<213>	人工序列	
[0305]	<220>		
[0306]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列	
[0307]	<400>	26	
[0308]	Ser Tyr Gly Asn Tyr Gly		
[0309]	1	5	
[0310]	<210>	27	
[0311]	<211>	108	

[0312]	<212>	PRT
[0313]	<213>	人工序列
[0314]	<220>	
[0315]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0316]	<400>	27
[0317]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[0318]	1 5 10 15	
[0319]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Val	
[0320]	20 25 30	
[0321]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	
[0322]	35 40 45	
[0323]	Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
[0324]	50 55 60	
[0325]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
[0326]	65 70 75 80	
[0327]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Gly Asn Tyr Gly	
[0328]	85 90 95	
[0329]	Asp Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly	
[0330]	100 105	
[0331]	<210>	28
[0332]	<211>	108
[0333]	<212>	PRT
[0334]	<213>	人工序列
[0335]	<220>	
[0336]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0337]	<400>	28
[0338]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[0339]	1 5 10 15	
[0340]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Val	
[0341]	20 25 30	
[0342]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile	
[0343]	35 40 45	
[0344]	Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
[0345]	50 55 60	
[0346]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
[0347]	65 70 75 80	
[0348]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Gly Asn Tyr Gly	
[0349]	85 90 95	
[0350]	Asp Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly	

[0351]		100		105													
[0352]	<210>	29															
[0353]	<211>	108															
[0354]	<212>	PRT															
[0355]	<213>	人工序列															
[0356]	<220>																
[0357]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列															
[0358]	<400>	29															
[0359]	Asp	Leu	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	
[0360]	1				5					10					15		
[0361]	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Asn	Asn	Val	
[0362]				20					25					30			
[0363]	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	
[0364]			35					40					45				
[0365]	Tyr	Arg	Ala	Ser	Thr	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	
[0366]		50					55					60					
[0367]	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	
[0368]	65				70					75					80		
[0369]	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser	Ser	Tyr	Gly	Asn	Tyr	Gly	
[0370]					85					90				95			
[0371]	Asp	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly					
[0372]				100						105							
[0373]	<210>	30															
[0374]	<211>	108															
[0375]	<212>	PRT															
[0376]	<213>	人工序列															
[0377]	<220>																
[0378]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列															
[0379]	<400>	30															
[0380]	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	
[0381]	1				5					10					15		
[0382]	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Asn	Asn	Val	
[0383]				20					25					30			
[0384]	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	
[0385]			35					40					45				
[0386]	Tyr	Arg	Ala	Ser	Thr	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	
[0387]		50					55					60					
[0388]	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	
[0389]	65				70					75					80		

[0390]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Gly Asn Tyr Gly
[0391]	85 90 95
[0392]	Asp Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
[0393]	100 105
[0394]	<210> 31
[0395]	<211> 252
[0396]	<212> PRT
[0397]	<213> 人工序列
[0398]	<220>
[0399]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[0400]	<400> 31
[0401]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[0402]	1 5 10 15
[0403]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Val
[0404]	20 25 30
[0405]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[0406]	35 40 45
[0407]	Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[0408]	50 55 60
[0409]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[0410]	65 70 75 80
[0411]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Gly Asn Tyr Gly
[0412]	85 90 95
[0413]	Asp Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Gly
[0414]	100 105 110
[0415]	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[0416]	115 120 125
[0417]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
[0418]	130 135 140
[0419]	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asn Ser
[0420]	145 150 155 160
[0421]	Tyr Trp Ile Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
[0422]	165 170 175
[0423]	Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asn
[0424]	180 185 190
[0425]	Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln
[0426]	195 200 205
[0427]	Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
[0428]	210 215 220

[0429]	Tyr Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala Asn Asn
[0430]	225 230 235 240
[0431]	Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[0432]	245 250
[0433]	<210> 32
[0434]	<211> 252
[0435]	<212> PRT
[0436]	<213> 人工序列
[0437]	<220>
[0438]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[0439]	<400> 32
[0440]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[0441]	1 5 10 15
[0442]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Val
[0443]	20 25 30
[0444]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile
[0445]	35 40 45
[0446]	Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[0447]	50 55 60
[0448]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[0449]	65 70 75 80
[0450]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Gly Asn Tyr Gly
[0451]	85 90 95
[0452]	Asp Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Gly
[0453]	100 105 110
[0454]	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[0455]	115 120 125
[0456]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
[0457]	130 135 140
[0458]	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asn Ser
[0459]	145 150 155 160
[0460]	Tyr Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
[0461]	165 170 175
[0462]	Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asn
[0463]	180 185 190
[0464]	Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln
[0465]	195 200 205
[0466]	Val Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
[0467]	210 215 220

[0468]	Phe Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala Asn Asn
[0469]	225 230 235 240
[0470]	Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[0471]	245 250
[0472]	<210> 33
[0473]	<211> 252
[0474]	<212> PRT
[0475]	<213> 人工序列
[0476]	<220>
[0477]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[0478]	<400> 33
[0479]	Asp Leu Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[0480]	1 5 10 15
[0481]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Val
[0482]	20 25 30
[0483]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile
[0484]	35 40 45
[0485]	Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[0486]	50 55 60
[0487]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[0488]	65 70 75 80
[0489]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Gly Asn Tyr Gly
[0490]	85 90 95
[0491]	Asp Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Gly
[0492]	100 105 110
[0493]	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[0494]	115 120 125
[0495]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
[0496]	130 135 140
[0497]	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asn Ser
[0498]	145 150 155 160
[0499]	Tyr Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
[0500]	165 170 175
[0501]	Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asn
[0502]	180 185 190
[0503]	Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Ser Ser Lys Asn Gln
[0504]	195 200 205
[0505]	Val Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
[0506]	210 215 220

[0507]	Phe Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala Asn Asn
[0508]	225 230 235 240
[0509]	Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[0510]	245 250
[0511]	<210> 34
[0512]	<211> 252
[0513]	<212> PRT
[0514]	<213> 人工序列
[0515]	<220>
[0516]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[0517]	<400> 34
[0518]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[0519]	1 5 10 15
[0520]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Val
[0521]	20 25 30
[0522]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[0523]	35 40 45
[0524]	Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[0525]	50 55 60
[0526]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[0527]	65 70 75 80
[0528]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Gly Asn Tyr Gly
[0529]	85 90 95
[0530]	Asp Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Gly
[0531]	100 105 110
[0532]	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[0533]	115 120 125
[0534]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[0535]	130 135 140
[0536]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asn Ser
[0537]	145 150 155 160
[0538]	Tyr Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp
[0539]	165 170 175
[0540]	Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asn
[0541]	180 185 190
[0542]	Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
[0543]	195 200 205
[0544]	Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
[0545]	210 215 220

[0546]	Tyr Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala Asn Asn
[0547]	225 230 235 240
[0548]	Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[0549]	245 250
[0550]	<210> 35
[0551]	<211> 11
[0552]	<212> PRT
[0553]	<213> 人工序列
[0554]	<220>
[0555]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[0556]	<400> 35
[0557]	Gly Phe Ser Phe Asn Asn Asp Tyr Asp Met Cys
[0558]	1 5 10
[0559]	<210> 36
[0560]	<211> 17
[0561]	<212> PRT
[0562]	<213> 人工序列
[0563]	<220>
[0564]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[0565]	<400> 36
[0566]	Cys Ile Asp Thr Gly Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
[0567]	1 5 10 15
[0568]	Gly
[0569]	<210> 37
[0570]	<211> 16
[0571]	<212> PRT
[0572]	<213> 人工序列
[0573]	<220>
[0574]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[0575]	<400> 37
[0576]	Arg Glu Ala Ala Ser Ser Ser Gly Tyr Gly Met Gly Tyr Phe Asp Leu
[0577]	1 5 10 15
[0578]	<210> 38
[0579]	<211> 11
[0580]	<212> PRT
[0581]	<213> 人工序列
[0582]	<220>
[0583]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[0584]	<400> 38

[0585]	Val Ser Gly Phe Ser Phe Asn Asn Asp Tyr Asp
[0586]	1 5 10
[0587]	<210> 39
[0588]	<211> 17
[0589]	<212> PRT
[0590]	<213> 人工序列
[0591]	<220>
[0592]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[0593]	<400> 39
[0594]	Ile Asp Thr Gly Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
[0595]	1 5 10 15
[0596]	Arg
[0597]	<210> 40
[0598]	<211> 14
[0599]	<212> PRT
[0600]	<213> 人工序列
[0601]	<220>
[0602]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[0603]	<400> 40
[0604]	Glu Ala Ala Ser Ser Ser Gly Tyr Gly Met Gly Tyr Phe Asp
[0605]	1 5 10
[0606]	<210> 41
[0607]	<211> 6
[0608]	<212> PRT
[0609]	<213> 人工序列
[0610]	<220>
[0611]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[0612]	<400> 41
[0613]	Asn Asp Tyr Asp Met Cys
[0614]	1 5
[0615]	<210> 42
[0616]	<211> 17
[0617]	<212> PRT
[0618]	<213> 人工序列
[0619]	<220>
[0620]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[0621]	<400> 42
[0622]	Cys Ile Asp Thr Gly Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
[0623]	1 5 10 15

[0663]	<212>	PRT
[0664]	<213>	人工序列
[0665]	<220>	
[0666]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0667]	<400>	47
[0668]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu	
[0669]	1 5 10 15	
[0670]	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Asn Asn Asp	
[0671]	20 25 30	
[0672]	Tyr Asp Met Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp	
[0673]	35 40 45	
[0674]	Ile Gly Cys Ile Asp Thr Gly Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp	
[0675]	50 55 60	
[0676]	Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln Phe	
[0677]	65 70 75 80	
[0678]	Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr	
[0679]	85 90 95	
[0680]	Cys Ala Arg Glu Ala Ala Ser Ser Ser Gly Tyr Gly Met Gly Tyr Phe	
[0681]	100 105 110	
[0682]	Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	
[0683]	115 120 125	
[0684]	<210>	48
[0685]	<211>	13
[0686]	<212>	PRT
[0687]	<213>	人工序列
[0688]	<220>	
[0689]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0690]	<400>	48
[0691]	Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asp Asn Asn Trp Leu Ala	
[0692]	1 5 10	
[0693]	<210>	49
[0694]	<211>	7
[0695]	<212>	PRT
[0696]	<213>	人工序列
[0697]	<220>	
[0698]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0699]	<400>	49
[0700]	Arg Ala Ser Asn Leu Ala Ser	
[0701]	1 5	

[0702]	<210>	50
[0703]	<211>	12
[0704]	<212>	PRT
[0705]	<213>	人工序列
[0706]	<220>	
[0707]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0708]	<400>	50
[0709]	Gln Gly Thr Tyr Leu Ser Ser Asn Trp Tyr Trp Ala	
[0710]	1	5 10
[0711]	<210>	51
[0712]	<211>	10
[0713]	<212>	PRT
[0714]	<213>	人工序列
[0715]	<220>	
[0716]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0717]	<400>	51
[0718]	Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asp Asn Asn Trp	
[0719]	1	5 10
[0720]	<210>	52
[0721]	<211>	12
[0722]	<212>	PRT
[0723]	<213>	人工序列
[0724]	<220>	
[0725]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0726]	<400>	52
[0727]	Arg Ala Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg	
[0728]	1	5 10
[0729]	<210>	53
[0730]	<211>	9
[0731]	<212>	PRT
[0732]	<213>	人工序列
[0733]	<220>	
[0734]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0735]	<400>	53
[0736]	Thr Tyr Leu Ser Ser Asn Trp Tyr Trp	
[0737]	1	5
[0738]	<210>	54
[0739]	<211>	9
[0740]	<212>	PRT

[0741]	<213>	人工序列
[0742]	<220>	
[0743]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0744]	<400>	54
[0745]	Ser Gln Ser Val Tyr Asp Asn Asn Trp	
[0746]	1	5
[0747]	<210>	55
[0748]	<211>	3
[0749]	<212>	PRT
[0750]	<213>	人工序列
[0751]	<220>	
[0752]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0753]	<400>	55
[0754]	Arg Ala Ser	
[0755]	1	
[0756]	<210>	56
[0757]	<211>	9
[0758]	<212>	PRT
[0759]	<213>	人工序列
[0760]	<220>	
[0761]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0762]	<400>	56
[0763]	Thr Tyr Leu Ser Ser Asn Trp Tyr Trp	
[0764]	1	5
[0765]	<210>	57
[0766]	<211>	113
[0767]	<212>	PRT
[0768]	<213>	人工序列
[0769]	<220>	
[0770]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0771]	<400>	57
[0772]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[0773]	1	5 10 15
[0774]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asp Asn	
[0775]	20	25 30
[0776]	Asn Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu	
[0777]	35	40 45
[0778]	Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe	
[0779]	50	55 60

[0780]	Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
[0781]	65 70 75 80
[0782]	Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Thr Tyr Leu Ser
[0783]	85 90 95
[0784]	Ser Asn Trp Tyr Trp Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
[0785]	100 105 110
[0786]	Gly
[0787]	<210> 58
[0788]	<211> 258
[0789]	<212> PRT
[0790]	<213> 人工序列
[0791]	<220>
[0792]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[0793]	<400> 58
[0794]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[0795]	1 5 10 15
[0796]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asp Asn
[0797]	20 25 30
[0798]	Asn Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
[0799]	35 40 45
[0800]	Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe
[0801]	50 55 60
[0802]	Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
[0803]	65 70 75 80
[0804]	Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Thr Tyr Leu Ser
[0805]	85 90 95
[0806]	Ser Asn Trp Tyr Trp Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
[0807]	100 105 110
[0808]	Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[0809]	115 120 125
[0810]	Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu
[0811]	130 135 140
[0812]	Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe
[0813]	145 150 155 160
[0814]	Ser Phe Asn Asn Asp Tyr Asp Met Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly
[0815]	165 170 175
[0816]	Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Ile Asp Thr Gly Asp Gly Ser Thr
[0817]	180 185 190
[0818]	Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser

[0819]	195	200	205
[0820]	Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp		
[0821]	210	215	220
[0822]	Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Ala Ala Ser Ser Ser Gly Tyr		
[0823]	225	230	235
[0824]	Gly Met Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val		
[0825]	245	250	255
[0826]	Ser Ser		
[0827]	<210> 59		
[0828]	<211> 11		
[0829]	<212> PRT		
[0830]	<213> 人工序列		
[0831]	<220>		
[0832]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列		
[0833]	<400> 59		
[0834]	Gly Phe Ser Phe Ser Ala Asn Tyr Tyr Pro Cys		
[0835]	1	5	10
[0836]	<210> 60		
[0837]	<211> 17		
[0838]	<212> PRT		
[0839]	<213> 人工序列		
[0840]	<220>		
[0841]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列		
[0842]	<400> 60		
[0843]	Cys Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Asp Ile Thr Tyr Asp Ala Asn Trp Thr		
[0844]	1	5	10
[0845]	Lys		
[0846]	<210> 61		
[0847]	<211> 12		
[0848]	<212> PRT		
[0849]	<213> 人工序列		
[0850]	<220>		
[0851]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列		
[0852]	<400> 61		
[0853]	Arg Ser Ala Trp Tyr Ser Gly Trp Gly Gly Asp Leu		
[0854]	1	5	10
[0855]	<210> 62		
[0856]	<211> 11		
[0857]	<212> PRT		

[0858]	<213>	人工序列
[0859]	<220>	
[0860]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0861]	<400>	62
[0862]	Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ala Asn Tyr Tyr	
[0863]	1	5 10
[0864]	<210>	63
[0865]	<211>	17
[0866]	<212>	PRT
[0867]	<213>	人工序列
[0868]	<220>	
[0869]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0870]	<400>	63
[0871]	Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Asp Ile Thr Tyr Asp Ala Asn Trp Thr Lys	
[0872]	1	5 10 15
[0873]	Gly	
[0874]	<210>	64
[0875]	<211>	10
[0876]	<212>	PRT
[0877]	<213>	人工序列
[0878]	<220>	
[0879]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0880]	<400>	64
[0881]	Ser Ala Trp Tyr Ser Gly Trp Gly Gly Asp	
[0882]	1	5 10
[0883]	<210>	65
[0884]	<211>	6
[0885]	<212>	PRT
[0886]	<213>	人工序列
[0887]	<220>	
[0888]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0889]	<400>	65
[0890]	Ala Asn Tyr Tyr Pro Cys	
[0891]	1	5
[0892]	<210>	66
[0893]	<211>	17
[0894]	<212>	PRT
[0895]	<213>	人工序列
[0896]	<220>	

[0897]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0898]	<400>	66
[0899]	Cys Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Asp Ile Thr Tyr Asp Ala Asn Trp Thr	
[0900]	1	5 10 15
[0901]	Lys	
[0902]	<210>	67
[0903]	<211>	11
[0904]	<212>	PRT
[0905]	<213>	人工序列
[0906]	<220>	
[0907]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0908]	<400>	67
[0909]	Ser Ala Trp Tyr Ser Gly Trp Gly Gly Asp Leu	
[0910]	1	5 10
[0911]	<210>	68
[0912]	<211>	8
[0913]	<212>	PRT
[0914]	<213>	人工序列
[0915]	<220>	
[0916]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0917]	<400>	68
[0918]	Gly Phe Ser Phe Ser Ala Asn Tyr	
[0919]	1	5
[0920]	<210>	69
[0921]	<211>	4
[0922]	<212>	PRT
[0923]	<213>	人工序列
[0924]	<220>	
[0925]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0926]	<400>	69
[0927]	Gly Gly Ser Ser	
[0928]	1	
[0929]	<210>	70
[0930]	<211>	9
[0931]	<212>	PRT
[0932]	<213>	人工序列
[0933]	<220>	
[0934]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[0935]	<400>	70

[0936]	Ala Trp Tyr Ser Gly Trp Gly Gly Asp
[0937]	1 5
[0938]	<210> 71
[0939]	<211> 122
[0940]	<212> PRT
[0941]	<213> 人工序列
[0942]	<220>
[0943]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[0944]	<400> 71
[0945]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[0946]	1 5 10 15
[0947]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ala Asn
[0948]	20 25 30
[0949]	Tyr Tyr Pro Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
[0950]	35 40 45
[0951]	Ile Gly Cys Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Asp Ile Thr Tyr Asp Ala Asn
[0952]	50 55 60
[0953]	Trp Thr Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
[0954]	65 70 75 80
[0955]	Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
[0956]	85 90 95
[0957]	Tyr Cys Ala Arg Ser Ala Trp Tyr Ser Gly Trp Gly Gly Asp Leu Trp
[0958]	100 105 110
[0959]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[0960]	115 120
[0961]	<210> 72
[0962]	<211> 122
[0963]	<212> PRT
[0964]	<213> 人工序列
[0965]	<220>
[0966]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[0967]	<400> 72
[0968]	Glu Ser Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[0969]	1 5 10 15
[0970]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ala Asn
[0971]	20 25 30
[0972]	Tyr Tyr Pro Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
[0973]	35 40 45
[0974]	Ile Gly Cys Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Asp Ile Thr Tyr Asp Ala Asn

[0975]	50	55	60
[0976]	Trp Thr Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr		
[0977]	65	70	75
[0978]	Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr		
[0979]	85	90	95
[0980]	Phe Cys Ala Arg Ser Ala Trp Tyr Ser Gly Trp Gly Gly Asp Leu Trp		
[0981]	100	105	110
[0982]	Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[0983]	115	120	
[0984]	<210> 73		
[0985]	<211> 122		
[0986]	<212> PRT		
[0987]	<213> 人工序列		
[0988]	<220>		
[0989]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列		
[0990]	<400> 73		
[0991]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
[0992]	1	5	10
[0993]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ala Asn		
[0994]	20	25	30
[0995]	Tyr Tyr Pro Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp		
[0996]	35	40	45
[0997]	Ile Gly Cys Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Asp Ile Thr Tyr Asp Ala Asn		
[0998]	50	55	60
[0999]	Trp Thr Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr		
[1000]	65	70	75
[1001]	Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr		
[1002]	85	90	95
[1003]	Tyr Cys Ala Arg Ser Ala Trp Tyr Ser Gly Trp Gly Gly Asp Leu Trp		
[1004]	100	105	110
[1005]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[1006]	115	120	
[1007]	<210> 74		
[1008]	<211> 11		
[1009]	<212> PRT		
[1010]	<213> 人工序列		
[1011]	<220>		
[1012]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列		
[1013]	<400> 74		

[1014]	Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Arg Leu Ala
[1015]	1 5 10
[1016]	<210> 75
[1017]	<211> 7
[1018]	<212> PRT
[1019]	<213> 人工序列
[1020]	<220>
[1021]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[1022]	<400> 75
[1023]	Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser
[1024]	1 5
[1025]	<210> 76
[1026]	<211> 11
[1027]	<212> PRT
[1028]	<213> 人工序列
[1029]	<220>
[1030]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[1031]	<400> 76
[1032]	Gln Ser Thr Tyr Tyr Gly Asn Asp Gly Asn Ala
[1033]	1 5 10
[1034]	<210> 77
[1035]	<211> 8
[1036]	<212> PRT
[1037]	<213> 人工序列
[1038]	<220>
[1039]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[1040]	<400> 77
[1041]	Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Arg
[1042]	1 5
[1043]	<210> 78
[1044]	<211> 12
[1045]	<212> PRT
[1046]	<213> 人工序列
[1047]	<220>
[1048]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[1049]	<400> 78
[1050]	Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg
[1051]	1 5 10
[1052]	<210> 79

[1053]	<211>	8
[1054]	<212>	PRT
[1055]	<213>	人工序列
[1056]	<220>	
[1057]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1058]	<400>	79
[1059]	Thr Tyr Tyr Gly Asn Asp Gly Asn	
[1060]	1	5
[1061]	<210>	80
[1062]	<211>	7
[1063]	<212>	PRT
[1064]	<213>	人工序列
[1065]	<220>	
[1066]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1067]	<400>	80
[1068]	Ser Gln Ser Ile Ser Asn Arg	
[1069]	1	5
[1070]	<210>	81
[1071]	<211>	3
[1072]	<212>	PRT
[1073]	<213>	人工序列
[1074]	<220>	
[1075]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1076]	<400>	81
[1077]	Ser Ala Ser	
[1078]	1	
[1079]	<210>	82
[1080]	<211>	8
[1081]	<212>	PRT
[1082]	<213>	人工序列
[1083]	<220>	
[1084]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1085]	<400>	82
[1086]	Thr Tyr Tyr Gly Asn Asp Gly Asn	
[1087]	1	5
[1088]	<210>	83
[1089]	<211>	110
[1090]	<212>	PRT
[1091]	<213>	人工序列

[1092]	<220>	
[1093]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1094]	<400>	83
[1095]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[1096]	1 5 10 15	
[1097]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Arg	
[1098]	20 25 30	
[1099]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	
[1100]	35 40 45	
[1101]	Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
[1102]	50 55 60	
[1103]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
[1104]	65 70 75 80	
[1105]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Thr Tyr Tyr Gly Asn Asp	
[1106]	85 90 95	
[1107]	Gly Asn Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly	
[1108]	100 105 110	
[1109]	<210>	84
[1110]	<211>	110
[1111]	<212>	PRT
[1112]	<213>	人工序列
[1113]	<220>	
[1114]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1115]	<400>	84
[1116]	Asp Phe Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[1117]	1 5 10 15	
[1118]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Arg	
[1119]	20 25 30	
[1120]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile	
[1121]	35 40 45	
[1122]	Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
[1123]	50 55 60	
[1124]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
[1125]	65 70 75 80	
[1126]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Thr Tyr Tyr Gly Asn Asp	
[1127]	85 90 95	
[1128]	Gly Asn Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly	
[1129]	100 105 110	
[1130]	<210>	85

[1131]	<211>	110
[1132]	<212>	PRT
[1133]	<213>	人工序列
[1134]	<220>	
[1135]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1136]	<400>	85
[1137]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[1138]	1 5 10 15	
[1139]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Arg	
[1140]	20 25 30	
[1141]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	
[1142]	35 40 45	
[1143]	Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
[1144]	50 55 60	
[1145]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
[1146]	65 70 75 80	
[1147]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Thr Tyr Tyr Gly Asn Asp	
[1148]	85 90 95	
[1149]	Gly Asn Ala Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly	
[1150]	100 105 110	
[1151]	<210>	86
[1152]	<211>	252
[1153]	<212>	PRT
[1154]	<213>	人工序列
[1155]	<220>	
[1156]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1157]	<400>	86
[1158]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[1159]	1 5 10 15	
[1160]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Arg	
[1161]	20 25 30	
[1162]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	
[1163]	35 40 45	
[1164]	Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
[1165]	50 55 60	
[1166]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
[1167]	65 70 75 80	
[1168]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Thr Tyr Tyr Gly Asn Asp	
[1169]	85 90 95	

[1170]	Gly Asn Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly Gly
[1171]	100 105 110
[1172]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[1173]	115 120 125
[1174]	Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
[1175]	130 135 140
[1176]	Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser
[1177]	145 150 155 160
[1178]	Ala Asn Tyr Tyr Pro Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
[1179]	165 170 175
[1180]	Glu Trp Ile Gly Cys Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Asp Ile Thr Tyr Asp
[1181]	180 185 190
[1182]	Ala Asn Trp Thr Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
[1183]	195 200 205
[1184]	Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
[1185]	210 215 220
[1186]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Ala Trp Tyr Ser Gly Trp Gly Gly Asp
[1187]	225 230 235 240
[1188]	Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[1189]	245 250
[1190]	<210> 87
[1191]	<211> 252
[1192]	<212> PRT
[1193]	<213> 人工序列
[1194]	<220>
[1195]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[1196]	<400> 87
[1197]	Asp Phe Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[1198]	1 5 10 15
[1199]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Arg
[1200]	20 25 30
[1201]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile
[1202]	35 40 45
[1203]	Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[1204]	50 55 60
[1205]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[1206]	65 70 75 80
[1207]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Thr Tyr Tyr Gly Asn Asp
[1208]	85 90 95

[1209]	Gly Asn Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly Gly
[1210]	100 105 110
[1211]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[1212]	115 120 125
[1213]	Gly Ser Glu Ser Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
[1214]	130 135 140
[1215]	Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser
[1216]	145 150 155 160
[1217]	Ala Asn Tyr Tyr Pro Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
[1218]	165 170 175
[1219]	Glu Trp Ile Gly Cys Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Asp Ile Thr Tyr Asp
[1220]	180 185 190
[1221]	Ala Asn Trp Thr Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
[1222]	195 200 205
[1223]	Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
[1224]	210 215 220
[1225]	Val Tyr Phe Cys Ala Arg Ser Ala Trp Tyr Ser Gly Trp Gly Gly Asp
[1226]	225 230 235 240
[1227]	Leu Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[1228]	245 250
[1229]	<210> 88
[1230]	<211> 252
[1231]	<212> PRT
[1232]	<213> 人工序列
[1233]	<220>
[1234]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[1235]	<400> 88
[1236]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[1237]	1 5 10 15
[1238]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Arg
[1239]	20 25 30
[1240]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[1241]	35 40 45
[1242]	Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[1243]	50 55 60
[1244]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[1245]	65 70 75 80
[1246]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Thr Tyr Tyr Gly Asn Asp
[1247]	85 90 95

[1248]	Gly Asn Ala Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly Gly		
[1249]	100	105	110
[1250]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly		
[1251]	115	120	125
[1252]	Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro		
[1253]	130	135	140
[1254]	Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser		
[1255]	145	150	155 160
[1256]	Ala Asn Tyr Tyr Pro Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu		
[1257]	165	170	175
[1258]	Glu Trp Ile Gly Cys Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Asp Ile Thr Tyr Asp		
[1259]	180	185	190
[1260]	Ala Asn Trp Thr Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys		
[1261]	195	200	205
[1262]	Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala		
[1263]	210	215	220
[1264]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Ala Trp Tyr Ser Gly Trp Gly Gly Asp		
[1265]	225	230	235 240
[1266]	Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[1267]	245	250	
[1268]	<210>	89	
[1269]	<211>	11	
[1270]	<212>	PRT	
[1271]	<213>	人工序列	
[1272]	<220>		
[1273]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列	
[1274]	<400>	89	
[1275]	Gly Phe Ser Phe Asn Ser Asp Tyr Trp Ile Tyr		
[1276]	1	5	10
[1277]	<210>	90	
[1278]	<211>	18	
[1279]	<212>	PRT	
[1280]	<213>	人工序列	
[1281]	<220>		
[1282]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列	
[1283]	<400>	90	
[1284]	Ser Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Gly Asn Thr Gln Tyr Ala Ser Trp Ala		
[1285]	1	5	10 15
[1286]	Gln Gly		

[1287]	<210>	91
[1288]	<211>	12
[1289]	<212>	PRT
[1290]	<213>	人工序列
[1291]	<220>	
[1292]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1293]	<400>	91
[1294]		Arg Gly Tyr Val Asp Tyr Gly Gly Ala Thr Asp Leu
[1295]	1	5 10
[1296]	<210>	92
[1297]	<211>	11
[1298]	<212>	PRT
[1299]	<213>	人工序列
[1300]	<220>	
[1301]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1302]	<400>	92
[1303]		Val Ser Gly Phe Ser Phe Asn Ser Asp Tyr Trp
[1304]	1	5 10
[1305]	<210>	93
[1306]	<211>	11
[1307]	<212>	PRT
[1308]	<213>	人工序列
[1309]	<220>	
[1310]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1311]	<400>	93
[1312]		Ala Ser Gly Phe Ser Phe Asn Ser Asp Tyr Trp
[1313]	1	5 10
[1314]	<210>	94
[1315]	<211>	18
[1316]	<212>	PRT
[1317]	<213>	人工序列
[1318]	<220>	
[1319]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1320]	<400>	94
[1321]		Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Gly Asn Thr Gln Tyr Ala Ser Trp Ala Gln
[1322]	1	5 10 15
[1323]		Gly Arg
[1324]	<210>	95
[1325]	<211>	10

[1326]	<212>	PRT
[1327]	<213>	人工序列
[1328]	<220>	
[1329]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1330]	<400>	95
[1331]	Gly Tyr Val Asp Tyr Gly Gly Ala Thr Asp	
[1332]	1	5 10
[1333]	<210>	96
[1334]	<211>	6
[1335]	<212>	PRT
[1336]	<213>	人工序列
[1337]	<220>	
[1338]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1339]	<400>	96
[1340]	Ser Asp Tyr Trp Ile Tyr	
[1341]	1	5
[1342]	<210>	97
[1343]	<211>	18
[1344]	<212>	PRT
[1345]	<213>	人工序列
[1346]	<220>	
[1347]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1348]	<400>	97
[1349]	Ser Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Gly Asn Thr Gln Tyr Ala Ser Trp Ala	
[1350]	1	5 10 15
[1351]	Gln Gly	
[1352]	<210>	98
[1353]	<211>	11
[1354]	<212>	PRT
[1355]	<213>	人工序列
[1356]	<220>	
[1357]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1358]	<400>	98
[1359]	Gly Tyr Val Asp Tyr Gly Gly Ala Thr Asp Leu	
[1360]	1	5 10
[1361]	<210>	99
[1362]	<211>	8
[1363]	<212>	PRT
[1364]	<213>	人工序列

[1365]	<220>	
[1366]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1367]	<400>	99
[1368]	Gly Phe Ser Phe Asn Ser Asp Tyr	
[1369]	1	5
[1370]	<210>	100
[1371]	<211>	5
[1372]	<212>	PRT
[1373]	<213>	人工序列
[1374]	<220>	
[1375]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1376]	<400>	100
[1377]	Gly Gly Ser Ser Gly	
[1378]	1	5
[1379]	<210>	101
[1380]	<211>	9
[1381]	<212>	PRT
[1382]	<213>	人工序列
[1383]	<220>	
[1384]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1385]	<400>	101
[1386]	Tyr Val Asp Tyr Gly Gly Ala Thr Asp	
[1387]	1	5
[1388]	<210>	102
[1389]	<211>	122
[1390]	<212>	PRT
[1391]	<213>	人工序列
[1392]	<220>	
[1393]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1394]	<400>	102
[1395]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu	
[1396]	1	5 10 15
[1397]	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Asn Ser Asp	
[1398]	20 25 30	
[1399]	Tyr Trp Ile Tyr Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp	
[1400]	35 40 45	
[1401]	Ile Gly Ser Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Gly Asn Thr Gln Tyr Ala Ser	
[1402]	50 55 60	
[1403]	Trp Ala Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln	

[1404]	65	70	75	80
[1405]	Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr			
[1406]		85	90	95
[1407]	Tyr Cys Ala Arg Gly Tyr Val Asp Tyr Gly Gly Ala Thr Asp Leu Trp			
[1408]		100	105	110
[1409]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
[1410]		115	120	
[1411]	<210>	103		
[1412]	<211>	122		
[1413]	<212>	PRT		
[1414]	<213>	人工序列		
[1415]	<220>			
[1416]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列		
[1417]	<400>	103		
[1418]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala			
[1419]	1	5	10	15
[1420]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser Phe Asn Ser Asp			
[1421]		20	25	30
[1422]	Tyr Trp Ile Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp			
[1423]		35	40	45
[1424]	Met Gly Ser Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Gly Asn Thr Gln Tyr Ala Ser			
[1425]		50	55	60
[1426]	Trp Ala Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr			
[1427]	65	70	75	80
[1428]	Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr			
[1429]		85	90	95
[1430]	Tyr Cys Ala Arg Gly Tyr Val Asp Tyr Gly Gly Ala Thr Asp Leu Trp			
[1431]		100	105	110
[1432]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
[1433]		115	120	
[1434]	<210>	104		
[1435]	<211>	122		
[1436]	<212>	PRT		
[1437]	<213>	人工序列		
[1438]	<220>			
[1439]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列		
[1440]	<400>	104		
[1441]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
[1442]	1	5	10	15

[1443]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Asn Ser Asp
[1444]	20 25 30
[1445]	Tyr Trp Ile Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
[1446]	35 40 45
[1447]	Ile Ala Ser Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Gly Asn Thr Gln Tyr Ala Ser
[1448]	50 55 60
[1449]	Trp Ala Gln Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
[1450]	65 70 75 80
[1451]	Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
[1452]	85 90 95
[1453]	Phe Cys Ala Arg Gly Tyr Val Asp Tyr Gly Gly Ala Thr Asp Leu Trp
[1454]	100 105 110
[1455]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[1456]	115 120
[1457]	<210> 105
[1458]	<211> 11
[1459]	<212> PRT
[1460]	<213> 人工序列
[1461]	<220>
[1462]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[1463]	<400> 105
[1464]	Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Tyr Leu Ala
[1465]	1 5 10
[1466]	<210> 106
[1467]	<211> 7
[1468]	<212> PRT
[1469]	<213> 人工序列
[1470]	<220>
[1471]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[1472]	<400> 106
[1473]	Arg Ala Phe Ile Leu Ala Ser
[1474]	1 5
[1475]	<210> 107
[1476]	<211> 15
[1477]	<212> PRT
[1478]	<213> 人工序列
[1479]	<220>
[1480]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[1481]	<400> 107

[1482]	Gln Ser Asn Phe Tyr Ser Asp Ser Thr Thr Ile Gly Pro Asn Ala
[1483]	1 5 10 15
[1484]	<210> 108
[1485]	<211> 8
[1486]	<212> PRT
[1487]	<213> 人工序列
[1488]	<220>
[1489]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[1490]	<400> 108
[1491]	Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Tyr
[1492]	1 5
[1493]	<210> 109
[1494]	<211> 12
[1495]	<212> PRT
[1496]	<213> 人工序列
[1497]	<220>
[1498]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[1499]	<400> 109
[1500]	Arg Ala Phe Ile Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg
[1501]	1 5 10
[1502]	<210> 110
[1503]	<211> 12
[1504]	<212> PRT
[1505]	<213> 人工序列
[1506]	<220>
[1507]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[1508]	<400> 110
[1509]	Asn Phe Tyr Ser Asp Ser Thr Thr Ile Gly Pro Asn
[1510]	1 5 10
[1511]	<210> 111
[1512]	<211> 7
[1513]	<212> PRT
[1514]	<213> 人工序列
[1515]	<220>
[1516]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[1517]	<400> 111
[1518]	Ser Gln Ser Ile Gly Thr Tyr
[1519]	1 5
[1520]	<210> 112

[1521]	<211>	3
[1522]	<212>	PRT
[1523]	<213>	人工序列
[1524]	<220>	
[1525]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1526]	<400>	112
[1527]		Arg Ala Phe
[1528]		1
[1529]	<210>	113
[1530]	<211>	12
[1531]	<212>	PRT
[1532]	<213>	人工序列
[1533]	<220>	
[1534]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1535]	<400>	113
[1536]		Asn Phe Tyr Ser Asp Ser Thr Thr Ile Gly Pro Asn
[1537]		1 5 10
[1538]	<210>	114
[1539]	<211>	114
[1540]	<212>	PRT
[1541]	<213>	人工序列
[1542]	<220>	
[1543]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1544]	<400>	114
[1545]		Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[1546]		1 5 10 15
[1547]		Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Tyr
[1548]		20 25 30
[1549]		Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[1550]		35 40 45
[1551]		Tyr Arg Ala Phe Ile Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[1552]		50 55 60
[1553]		Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[1554]		65 70 75 80
[1555]		Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Asn Phe Tyr Ser Asp Ser
[1556]		85 90 95
[1557]		Thr Thr Ile Gly Pro Asn Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val
[1558]		100 105 110
[1559]		Leu Gly

[1560]	<210>	115
[1561]	<211>	114
[1562]	<212>	PRT
[1563]	<213>	人工序列
[1564]	<220>	
[1565]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1566]	<400>	115
[1567]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[1568]	1 5 10 15	
[1569]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Tyr	
[1570]	20 25 30	
[1571]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile	
[1572]	35 40 45	
[1573]	Tyr Arg Ala Phe Ile Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
[1574]	50 55 60	
[1575]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
[1576]	65 70 75 80	
[1577]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Asn Phe Tyr Ser Asp Ser	
[1578]	85 90 95	
[1579]	Thr Thr Ile Gly Pro Asn Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val	
[1580]	100 105 110	
[1581]	Leu Gly	
[1582]	<210>	116
[1583]	<211>	256
[1584]	<212>	PRT
[1585]	<213>	人工序列
[1586]	<220>	
[1587]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1588]	<400>	116
[1589]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[1590]	1 5 10 15	
[1591]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Tyr	
[1592]	20 25 30	
[1593]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	
[1594]	35 40 45	
[1595]	Tyr Arg Ala Phe Ile Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
[1596]	50 55 60	
[1597]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
[1598]	65 70 75 80	

[1599]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Asn Phe Tyr Ser Asp Ser
[1600]	85 90 95
[1601]	Thr Thr Ile Gly Pro Asn Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val
[1602]	100 105 110
[1603]	Leu Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
[1604]	115 120 125
[1605]	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly
[1606]	130 135 140
[1607]	Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly
[1608]	145 150 155 160
[1609]	Phe Ser Phe Asn Ser Asp Tyr Trp Ile Tyr Trp Ile Arg Gln Pro Pro
[1610]	165 170 175
[1611]	Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Gly
[1612]	180 185 190
[1613]	Asn Thr Gln Tyr Ala Ser Trp Ala Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Val
[1614]	195 200 205
[1615]	Asp Ser Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala
[1616]	210 215 220
[1617]	Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Tyr Val Asp Tyr Gly
[1618]	225 230 235 240
[1619]	Gly Ala Thr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[1620]	245 250 255
[1621]	<210> 117
[1622]	<211> 256
[1623]	<212> PRT
[1624]	<213> 人工序列
[1625]	<220>
[1626]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[1627]	<400> 117
[1628]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[1629]	1 5 10 15
[1630]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Tyr
[1631]	20 25 30
[1632]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[1633]	35 40 45
[1634]	Tyr Arg Ala Phe Ile Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[1635]	50 55 60
[1636]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[1637]	65 70 75 80

[1638]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Asn Phe Tyr Ser Asp Ser
[1639]	85 90 95
[1640]	Thr Thr Ile Gly Pro Asn Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val
[1641]	100 105 110
[1642]	Leu Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
[1643]	115 120 125
[1644]	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
[1645]	130 135 140
[1646]	Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
[1647]	145 150 155 160
[1648]	Phe Ser Phe Asn Ser Asp Tyr Trp Ile Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro
[1649]	165 170 175
[1650]	Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Ser Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Gly
[1651]	180 185 190
[1652]	Asn Thr Gln Tyr Ala Ser Trp Ala Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg
[1653]	195 200 205
[1654]	Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser
[1655]	210 215 220
[1656]	Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Tyr Val Asp Tyr Gly
[1657]	225 230 235 240
[1658]	Gly Ala Thr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[1659]	245 250 255
[1660]	<210> 118
[1661]	<211> 256
[1662]	<212> PRT
[1663]	<213> 人工序列
[1664]	<220>
[1665]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[1666]	<400> 118
[1667]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[1668]	1 5 10 15
[1669]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Tyr
[1670]	20 25 30
[1671]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile
[1672]	35 40 45
[1673]	Tyr Arg Ala Phe Ile Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[1674]	50 55 60
[1675]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[1676]	65 70 75 80

[1677]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Asn Phe Tyr Ser Asp Ser
[1678]	85 90 95
[1679]	Thr Thr Ile Gly Pro Asn Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val
[1680]	100 105 110
[1681]	Leu Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
[1682]	115 120 125
[1683]	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
[1684]	130 135 140
[1685]	Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
[1686]	145 150 155 160
[1687]	Phe Ser Phe Asn Ser Asp Tyr Trp Ile Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro
[1688]	165 170 175
[1689]	Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Ala Ser Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Gly
[1690]	180 185 190
[1691]	Asn Thr Gln Tyr Ala Ser Trp Ala Gln Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
[1692]	195 200 205
[1693]	Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala
[1694]	210 215 220
[1695]	Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Tyr Val Asp Tyr Gly
[1696]	225 230 235 240
[1697]	Gly Ala Thr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[1698]	245 250 255
[1699]	<210> 119
[1700]	<211> 11
[1701]	<212> PRT
[1702]	<213> 人工序列
[1703]	<220>
[1704]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[1705]	<400> 119
[1706]	Gly Phe Ser Phe Ser Ser Gly Tyr Asp Met Cys
[1707]	1 5 10
[1708]	<210> 120
[1709]	<211> 18
[1710]	<212> PRT
[1711]	<213> 人工序列
[1712]	<220>
[1713]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[1714]	<400> 120
[1715]	Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala

[1716]	1	5	10	15
[1717]	Lys Gly			
[1718]	<210>	121		
[1719]	<211>	11		
[1720]	<212>	PRT		
[1721]	<213>	人工序列		
[1722]	<220>			
[1723]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列		
[1724]	<400>	121		
[1725]	Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn Leu			
[1726]	1	5	10	
[1727]	<210>	122		
[1728]	<211>	11		
[1729]	<212>	PRT		
[1730]	<213>	人工序列		
[1731]	<220>			
[1732]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列		
[1733]	<400>	122		
[1734]	Val Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Gly Tyr Asp			
[1735]	1	5	10	
[1736]	<210>	123		
[1737]	<211>	11		
[1738]	<212>	PRT		
[1739]	<213>	人工序列		
[1740]	<220>			
[1741]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列		
[1742]	<400>	123		
[1743]	Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Gly Tyr Asp			
[1744]	1	5	10	
[1745]	<210>	124		
[1746]	<211>	18		
[1747]	<212>	PRT		
[1748]	<213>	人工序列		
[1749]	<220>			
[1750]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列		
[1751]	<400>	124		
[1752]	Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys			
[1753]	1	5	10	15
[1754]	Gly Arg			

[1755]	<210>	125
[1756]	<211>	9
[1757]	<212>	PRT
[1758]	<213>	人工序列
[1759]	<220>	
[1760]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1761]	<400>	125
[1762]		Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn
[1763]	1	5
[1764]	<210>	126
[1765]	<211>	6
[1766]	<212>	PRT
[1767]	<213>	人工序列
[1768]	<220>	
[1769]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1770]	<400>	126
[1771]		Ser Gly Tyr Asp Met Cys
[1772]	1	5
[1773]	<210>	127
[1774]	<211>	18
[1775]	<212>	PRT
[1776]	<213>	人工序列
[1777]	<220>	
[1778]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1779]	<400>	127
[1780]		Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala
[1781]	1	5 10 15
[1782]		Lys Gly
[1783]	<210>	128
[1784]	<211>	10
[1785]	<212>	PRT
[1786]	<213>	人工序列
[1787]	<220>	
[1788]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1789]	<400>	128
[1790]		Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn Leu
[1791]	1	5 10
[1792]	<210>	129
[1793]	<211>	8

[1794]	<212>	PRT
[1795]	<213>	人工序列
[1796]	<220>	
[1797]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1798]	<400>	129
[1799]		Gly Phe Ser Phe Ser Ser Gly Tyr
[1800]	1	5
[1801]	<210>	130
[1802]	<211>	5
[1803]	<212>	PRT
[1804]	<213>	人工序列
[1805]	<220>	
[1806]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1807]	<400>	130
[1808]		Ala Gly Ser Val Asp
[1809]	1	5
[1810]	<210>	131
[1811]	<211>	8
[1812]	<212>	PRT
[1813]	<213>	人工序列
[1814]	<220>	
[1815]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1816]	<400>	131
[1817]		Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn
[1818]	1	5
[1819]	<210>	132
[1820]	<211>	121
[1821]	<212>	PRT
[1822]	<213>	人工序列
[1823]	<220>	
[1824]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1825]	<400>	132
[1826]		Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
[1827]	1	5 10 15
[1828]		Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Gly
[1829]		20 25 30
[1830]		Tyr Asp Met Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
[1831]		35 40 45
[1832]		Ile Gly Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser

[1833]	50	55	60
[1834]	Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln		
[1835]	65	70	75
[1836]	Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr		
[1837]	85	90	95
[1838]	Tyr Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn Leu Trp Gly		
[1839]	100	105	110
[1840]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[1841]	115	120	
[1842]	<210> 133		
[1843]	<211> 121		
[1844]	<212> PRT		
[1845]	<213> 人工序列		
[1846]	<220>		
[1847]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列		
[1848]	<400> 133		
[1849]	Gln Ser Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu		
[1850]	1	5	10
[1851]	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Gly		
[1852]	20	25	30
[1853]	Tyr Asp Met Cys Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp		
[1854]	35	40	45
[1855]	Ile Ala Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser		
[1856]	50	55	60
[1857]	Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Ser Ser Lys Asn Gln		
[1858]	65	70	75
[1859]	Val Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr		
[1860]	85	90	95
[1861]	Phe Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn Leu Trp Gly		
[1862]	100	105	110
[1863]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[1864]	115	120	
[1865]	<210> 134		
[1866]	<211> 121		
[1867]	<212> PRT		
[1868]	<213> 人工序列		
[1869]	<220>		
[1870]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列		
[1871]	<400> 134		

[1872]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
[1873]	1 5 10 15
[1874]	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Gly
[1875]	20 25 30
[1876]	Tyr Asp Met Cys Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
[1877]	35 40 45
[1878]	Ile Ala Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser
[1879]	50 55 60
[1880]	Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Ser Ser Lys Asn Gln
[1881]	65 70 75 80
[1882]	Val Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
[1883]	85 90 95
[1884]	Tyr Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn Leu Trp Gly
[1885]	100 105 110
[1886]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[1887]	115 120
[1888]	<210> 135
[1889]	<211> 11
[1890]	<212> PRT
[1891]	<213> 人工序列
[1892]	<220>
[1893]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[1894]	<400> 135
[1895]	Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr Leu Ala
[1896]	1 5 10
[1897]	<210> 136
[1898]	<211> 7
[1899]	<212> PRT
[1900]	<213> 人工序列
[1901]	<220>
[1902]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[1903]	<400> 136
[1904]	Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser
[1905]	1 5
[1906]	<210> 137
[1907]	<211> 12
[1908]	<212> PRT
[1909]	<213> 人工序列
[1910]	<220>

[1911]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1912]	<400>	137
[1913]	Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp Ile Asp Asn Val	
[1914]	1	5 10
[1915]	<210>	138
[1916]	<211>	8
[1917]	<212>	PRT
[1918]	<213>	人工序列
[1919]	<220>	
[1920]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1921]	<400>	138
[1922]	Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr	
[1923]	1	5
[1924]	<210>	139
[1925]	<211>	12
[1926]	<212>	PRT
[1927]	<213>	人工序列
[1928]	<220>	
[1929]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1930]	<400>	139
[1931]	Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg	
[1932]	1	5 10
[1933]	<210>	140
[1934]	<211>	9
[1935]	<212>	PRT
[1936]	<213>	人工序列
[1937]	<220>	
[1938]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1939]	<400>	140
[1940]	Gly Tyr Ile Ile Thr Asp Ile Asp Asn	
[1941]	1	5
[1942]	<210>	141
[1943]	<211>	7
[1944]	<212>	PRT
[1945]	<213>	人工序列
[1946]	<220>	
[1947]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[1948]	<400>	141
[1949]	Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr	

[1950]	1	5	
[1951]	<210>	142	
[1952]	<211>	3	
[1953]	<212>	PRT	
[1954]	<213>	人工序列	
[1955]	<220>		
[1956]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列	
[1957]	<400>	142	
[1958]	Lys Ala Ser		
[1959]	1		
[1960]	<210>	143	
[1961]	<211>	9	
[1962]	<212>	PRT	
[1963]	<213>	人工序列	
[1964]	<220>		
[1965]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列	
[1966]	<400>	143	
[1967]	Gly Tyr Ile Ile Thr Asp Ile Asp Asn		
[1968]	1	5	
[1969]	<210>	144	
[1970]	<211>	111	
[1971]	<212>	PRT	
[1972]	<213>	人工序列	
[1973]	<220>		
[1974]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列	
[1975]	<400>	144	
[1976]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
[1977]	1	5	10 15
[1978]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr		
[1979]		20	25 30
[1980]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
[1981]		35	40 45
[1982]	Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
[1983]		50	55 60
[1984]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
[1985]		65	70 75 80
[1986]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp		
[1987]		85	90 95
[1988]	Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly		

[1989]		100		105		110
[1990]	<210>	145				
[1991]	<211>	111				
[1992]	<212>	PRT				
[1993]	<213>	人工序列				
[1994]	<220>					
[1995]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列				
[1996]	<400>	145				
[1997]	Asp Phe Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly					
[1998]	1	5		10		15
[1999]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr					
[2000]		20		25		30
[2001]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile					
[2002]		35		40		45
[2003]	Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly					
[2004]	50		55		60	
[2005]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro					
[2006]	65		70		75	80
[2007]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp					
[2008]		85		90		95
[2009]	Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly					
[2010]		100		105		110
[2011]	<210>	146				
[2012]	<211>	252				
[2013]	<212>	PRT				
[2014]	<213>	人工序列				
[2015]	<220>					
[2016]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列				
[2017]	<400>	146				
[2018]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly					
[2019]	1	5		10		15
[2020]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr					
[2021]		20		25		30
[2022]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile					
[2023]		35		40		45
[2024]	Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly					
[2025]	50		55		60	
[2026]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro					
[2027]	65		70		75	80

[2028]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp
[2029]	85 90 95
[2030]	Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly
[2031]	100 105 110
[2032]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
[2033]	115 120 125
[2034]	Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
[2035]	130 135 140
[2036]	Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe
[2037]	145 150 155 160
[2038]	Ser Ser Gly Tyr Asp Met Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly
[2039]	165 170 175
[2040]	Leu Glu Trp Ile Gly Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr Tyr
[2041]	180 185 190
[2042]	Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser
[2043]	195 200 205
[2044]	Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr
[2045]	210 215 220
[2046]	Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn
[2047]	225 230 235 240
[2048]	Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[2049]	245 250
[2050]	<210> 147
[2051]	<211> 252
[2052]	<212> PRT
[2053]	<213> 人工序列
[2054]	<220>
[2055]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[2056]	<400> 147
[2057]	Asp Phe Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[2058]	1 5 10 15
[2059]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr
[2060]	20 25 30
[2061]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile
[2062]	35 40 45
[2063]	Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[2064]	50 55 60
[2065]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[2066]	65 70 75 80

[2067]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp
[2068]	85 90 95
[2069]	Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly
[2070]	100 105 110
[2071]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
[2072]	115 120 125
[2073]	Gly Gly Ser Gln Ser Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
[2074]	130 135 140
[2075]	Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser Phe
[2076]	145 150 155 160
[2077]	Ser Ser Gly Tyr Asp Met Cys Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly
[2078]	165 170 175
[2079]	Leu Glu Trp Ile Ala Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr Tyr
[2080]	180 185 190
[2081]	Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Ser Ser
[2082]	195 200 205
[2083]	Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr
[2084]	210 215 220
[2085]	Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn
[2086]	225 230 235 240
[2087]	Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[2088]	245 250
[2089]	<210> 148
[2090]	<211> 252
[2091]	<212> PRT
[2092]	<213> 人工序列
[2093]	<220>
[2094]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[2095]	<400> 148
[2096]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[2097]	1 5 10 15
[2098]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr
[2099]	20 25 30
[2100]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[2101]	35 40 45
[2102]	Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[2103]	50 55 60
[2104]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[2105]	65 70 75 80

[2106]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp
[2107]	85 90 95
[2108]	Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly
[2109]	100 105 110
[2110]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
[2111]	115 120 125
[2112]	Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
[2113]	130 135 140
[2114]	Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser Phe
[2115]	145 150 155 160
[2116]	Ser Ser Gly Tyr Asp Met Cys Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly
[2117]	165 170 175
[2118]	Leu Glu Trp Ile Ala Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr Tyr
[2119]	180 185 190
[2120]	Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Ser Ser
[2121]	195 200 205
[2122]	Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr
[2123]	210 215 220
[2124]	Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn
[2125]	225 230 235 240
[2126]	Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[2127]	245 250
[2128]	<210> 149
[2129]	<211> 10
[2130]	<212> PRT
[2131]	<213> 人工序列
[2132]	<220>
[2133]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[2134]	<400> 149
[2135]	Gly Phe Ser Leu Ser Ser Asn Ala Met Gly
[2136]	1 5 10
[2137]	<210> 150
[2138]	<211> 16
[2139]	<212> PRT
[2140]	<213> 人工序列
[2141]	<220>
[2142]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[2143]	<400> 150
[2144]	Ile Ile Ser Val Gly Gly Phe Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

[2145]	1	5	10	15
[2146]	<210>	151		
[2147]	<211>	14		
[2148]	<212>	PRT		
[2149]	<213>	人工序列		
[2150]	<220>			
[2151]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列		
[2152]	<400>	151		
[2153]	Arg Asp Arg His Gly Gly Asp Ser Ser Gly Ala Phe Tyr Leu			
[2154]	1	5	10	
[2155]	<210>	152		
[2156]	<211>	10		
[2157]	<212>	PRT		
[2158]	<213>	人工序列		
[2159]	<220>			
[2160]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列		
[2161]	<400>	152		
[2162]	Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Asn Ala			
[2163]	1	5	10	
[2164]	<210>	153		
[2165]	<211>	16		
[2166]	<212>	PRT		
[2167]	<213>	人工序列		
[2168]	<220>			
[2169]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列		
[2170]	<400>	153		
[2171]	Ile Ser Val Gly Gly Phe Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg			
[2172]	1	5	10	15
[2173]	<210>	154		
[2174]	<211>	12		
[2175]	<212>	PRT		
[2176]	<213>	人工序列		
[2177]	<220>			
[2178]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列		
[2179]	<400>	154		
[2180]	Asp Arg His Gly Gly Asp Ser Ser Gly Ala Phe Tyr			
[2181]	1	5	10	
[2182]	<210>	155		
[2183]	<211>	5		

[2184]	<212>	PRT
[2185]	<213>	人工序列
[2186]	<220>	
[2187]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2188]	<400>	155
[2189]		Ser Asn Ala Met Gly
[2190]	1	5
[2191]	<210>	156
[2192]	<211>	16
[2193]	<212>	PRT
[2194]	<213>	人工序列
[2195]	<220>	
[2196]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2197]	<400>	156
[2198]		Ile Ile Ser Val Gly Gly Phe Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
[2199]	1	5 10 15
[2200]	<210>	157
[2201]	<211>	13
[2202]	<212>	PRT
[2203]	<213>	人工序列
[2204]	<220>	
[2205]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2206]	<400>	157
[2207]		Asp Arg His Gly Gly Asp Ser Ser Gly Ala Phe Tyr Leu
[2208]	1	5 10
[2209]	<210>	158
[2210]	<211>	7
[2211]	<212>	PRT
[2212]	<213>	人工序列
[2213]	<220>	
[2214]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2215]	<400>	158
[2216]		Gly Phe Ser Leu Ser Ser Asn
[2217]	1	5
[2218]	<210>	159
[2219]	<211>	3
[2220]	<212>	PRT
[2221]	<213>	人工序列
[2222]	<220>	

[2223]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2224]	<400>	159
[2225]	Val Gly Gly	
[2226]	1	
[2227]	<210>	160
[2228]	<211>	13
[2229]	<212>	PRT
[2230]	<213>	人工序列
[2231]	<220>	
[2232]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2233]	<400>	160
[2234]	Arg Asp Arg His Gly Gly Asp Ser Ser Gly Ala Phe Tyr	
[2235]	1	5 10
[2236]	<210>	161
[2237]	<211>	121
[2238]	<212>	PRT
[2239]	<213>	人工序列
[2240]	<220>	
[2241]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2242]	<400>	161
[2243]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
[2244]	1	5 10 15
[2245]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Asn	
[2246]	20	25 30
[2247]	Ala Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile	
[2248]	35	40 45
[2249]	Gly Ile Ile Ser Val Gly Gly Phe Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys	
[2250]	50	55 60
[2251]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu	
[2252]	65	70 75 80
[2253]	Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala	
[2254]	85	90 95
[2255]	Arg Asp Arg His Gly Gly Asp Ser Ser Gly Ala Phe Tyr Leu Trp Gly	
[2256]	100	105 110
[2257]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	
[2258]	115	120
[2259]	<210>	162
[2260]	<211>	13
[2261]	<212>	PRT

[2262]	<213>	人工序列
[2263]	<220>	
[2264]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2265]	<400>	162
[2266]	Gln Ser Ser Glu Ser Val Tyr Ser Asn Asn Gln Leu Ser	
[2267]	1	5 10
[2268]	<210>	163
[2269]	<211>	7
[2270]	<212>	PRT
[2271]	<213>	人工序列
[2272]	<220>	
[2273]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2274]	<400>	163
[2275]	Asp Ala Ser Asp Leu Ala Ser	
[2276]	1	5
[2277]	<210>	164
[2278]	<211>	11
[2279]	<212>	PRT
[2280]	<213>	人工序列
[2281]	<220>	
[2282]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2283]	<400>	164
[2284]	Ala Gly Gly Phe Ser Ser Ser Ser Asp Thr Ala	
[2285]	1	5 10
[2286]	<210>	165
[2287]	<211>	10
[2288]	<212>	PRT
[2289]	<213>	人工序列
[2290]	<220>	
[2291]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2292]	<400>	165
[2293]	Ser Ser Glu Ser Val Tyr Ser Asn Asn Gln	
[2294]	1	5 10
[2295]	<210>	166
[2296]	<211>	12
[2297]	<212>	PRT
[2298]	<213>	人工序列
[2299]	<220>	
[2300]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列

[2301]	<400>	166
[2302]	Asp Ala Ser Asp Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg	
[2303]	1	5 10
[2304]	<210>	167
[2305]	<211>	8
[2306]	<212>	PRT
[2307]	<213>	人工序列
[2308]	<220>	
[2309]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2310]	<400>	167
[2311]	Gly Phe Ser Ser Ser Ser Asp Thr	
[2312]	1	5
[2313]	<210>	168
[2314]	<211>	9
[2315]	<212>	PRT
[2316]	<213>	人工序列
[2317]	<220>	
[2318]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2319]	<400>	168
[2320]	Ser Glu Ser Val Tyr Ser Asn Asn Gln	
[2321]	1	5
[2322]	<210>	169
[2323]	<211>	3
[2324]	<212>	PRT
[2325]	<213>	人工序列
[2326]	<220>	
[2327]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2328]	<400>	169
[2329]	Asp Ala Ser	
[2330]	1	
[2331]	<210>	170
[2332]	<211>	8
[2333]	<212>	PRT
[2334]	<213>	人工序列
[2335]	<220>	
[2336]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2337]	<400>	170
[2338]	Gly Phe Ser Ser Ser Ser Asp Thr	
[2339]	1	5

[2340]	<210>	171
[2341]	<211>	112
[2342]	<212>	PRT
[2343]	<213>	人工序列
[2344]	<220>	
[2345]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2346]	<400>	171
[2347]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[2348]	1 5 10 15	
[2349]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Glu Ser Val Tyr Ser Asn	
[2350]	20 25 30	
[2351]	Asn Gln Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu	
[2352]	35 40 45	
[2353]	Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asp Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe	
[2354]	50 55 60	
[2355]	Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu	
[2356]	65 70 75 80	
[2357]	Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Phe Ser Ser	
[2358]	85 90 95	
[2359]	Ser Ser Asp Thr Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly	
[2360]	100 105 110	
[2361]	<210>	172
[2362]	<211>	253
[2363]	<212>	PRT
[2364]	<213>	人工序列
[2365]	<220>	
[2366]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2367]	<400>	172
[2368]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[2369]	1 5 10 15	
[2370]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Glu Ser Val Tyr Ser Asn	
[2371]	20 25 30	
[2372]	Asn Gln Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu	
[2373]	35 40 45	
[2374]	Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asp Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe	
[2375]	50 55 60	
[2376]	Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu	
[2377]	65 70 75 80	
[2378]	Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Phe Ser Ser	

[2379]		85		90		95
[2380]	Ser Ser Asp Thr Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly					
[2381]		100		105		110
[2382]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly					
[2383]		115		120		125
[2384]	Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val					
[2385]		130		135		140
[2386]	Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser					
[2387]	145		150		155	160
[2388]	Leu Ser Ser Asn Ala Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly					
[2389]		165		170		175
[2390]	Leu Glu Tyr Ile Gly Ile Ile Ser Val Gly Gly Phe Thr Tyr Tyr Ala					
[2391]		180		185		190
[2392]	Ser Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn					
[2393]		195		200		205
[2394]	Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr					
[2395]		210		215		220
[2396]	Tyr Phe Cys Ala Arg Asp Arg His Gly Gly Asp Ser Ser Gly Ala Phe					
[2397]	225		230		235	240
[2398]	Tyr Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser					
[2399]		245		250		
[2400]	<210>	173				
[2401]	<211>	11				
[2402]	<212>	PRT				
[2403]	<213>	人工序列				
[2404]	<220>					
[2405]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列				
[2406]	<400>	173				
[2407]	Gly Phe Ser Phe Ser Ser Ser Tyr Trp Ile Cys					
[2408]	1	5		10		
[2409]	<210>	174				
[2410]	<211>	17				
[2411]	<212>	PRT				
[2412]	<213>	人工序列				
[2413]	<220>					
[2414]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列				
[2415]	<400>	174				
[2416]	Cys Val Phe Thr Gly Asp Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys					
[2417]	1	5		10		15

[2418]	Gly		
[2419]	<210>	175	
[2420]	<211>	12	
[2421]	<212>	PRT	
[2422]	<213>	人工序列	
[2423]	<220>		
[2424]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列	
[2425]	<400>	175	
[2426]	Arg Pro Val Ser Val Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Leu		
[2427]	1	5	10
[2428]	<210>	176	
[2429]	<211>	11	
[2430]	<212>	PRT	
[2431]	<213>	人工序列	
[2432]	<220>		
[2433]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列	
[2434]	<400>	176	
[2435]	Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Ser Tyr Trp		
[2436]	1	5	10
[2437]	<210>	177	
[2438]	<211>	17	
[2439]	<212>	PRT	
[2440]	<213>	人工序列	
[2441]	<220>		
[2442]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列	
[2443]	<400>	177	
[2444]	Val Phe Thr Gly Asp Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly		
[2445]	1	5	10 15
[2446]	Arg		
[2447]	<210>	178	
[2448]	<211>	10	
[2449]	<212>	PRT	
[2450]	<213>	人工序列	
[2451]	<220>		
[2452]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列	
[2453]	<400>	178	
[2454]	Pro Val Ser Val Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp		
[2455]	1	5	10
[2456]	<210>	179	

[2457]	<211>	6
[2458]	<212>	PRT
[2459]	<213>	人工序列
[2460]	<220>	
[2461]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2462]	<400>	179
[2463]	Ser Ser Tyr Trp Ile Cys	
[2464]	1	5
[2465]	<210>	180
[2466]	<211>	17
[2467]	<212>	PRT
[2468]	<213>	人工序列
[2469]	<220>	
[2470]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2471]	<400>	180
[2472]	Cys Val Phe Thr Gly Asp Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys	
[2473]	1	5 10 15
[2474]	Gly	
[2475]	<210>	181
[2476]	<211>	11
[2477]	<212>	PRT
[2478]	<213>	人工序列
[2479]	<220>	
[2480]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2481]	<400>	181
[2482]	Pro Val Ser Val Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Leu	
[2483]	1	5 10
[2484]	<210>	182
[2485]	<211>	9
[2486]	<212>	PRT
[2487]	<213>	人工序列
[2488]	<220>	
[2489]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2490]	<400>	182
[2491]	Gly Phe Ser Phe Ser Ser Ser Tyr Trp	
[2492]	1	5
[2493]	<210>	183
[2494]	<211>	4
[2495]	<212>	PRT

[2496]	<213>	人工序列
[2497]	<220>	
[2498]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2499]	<400>	183
[2500]	Thr Gly Asp Gly	
[2501]	1	
[2502]	<210>	184
[2503]	<211>	9
[2504]	<212>	PRT
[2505]	<213>	人工序列
[2506]	<220>	
[2507]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2508]	<400>	184
[2509]	Val Ser Val Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp	
[2510]	1	5
[2511]	<210>	185
[2512]	<211>	121
[2513]	<212>	PRT
[2514]	<213>	人工序列
[2515]	<220>	
[2516]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2517]	<400>	185
[2518]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
[2519]	1	5 10 15
[2520]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Ser	
[2521]		20 25 30
[2522]	Tyr Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp	
[2523]		35 40 45
[2524]	Val Gly Cys Val Phe Thr Gly Asp Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp	
[2525]		50 55 60
[2526]	Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val	
[2527]		65 70 75 80
[2528]	Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe	
[2529]		85 90 95
[2530]	Cys Ala Arg Pro Val Ser Val Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Leu Trp Gly	
[2531]		100 105 110
[2532]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	
[2533]		115 120
[2534]	<210>	186

[2535]	<211>	11
[2536]	<212>	PRT
[2537]	<213>	人工序列
[2538]	<220>	
[2539]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2540]	<400>	186
[2541]	Gln Ala Ser Gln Ile Ile Ser Ser Arg Ser Ala	
[2542]	1	5 10
[2543]	<210>	187
[2544]	<211>	7
[2545]	<212>	PRT
[2546]	<213>	人工序列
[2547]	<220>	
[2548]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2549]	<400>	187
[2550]	Gln Ala Ser Lys Leu Ala Ser	
[2551]	1	5
[2552]	<210>	188
[2553]	<211>	11
[2554]	<212>	PRT
[2555]	<213>	人工序列
[2556]	<220>	
[2557]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2558]	<400>	188
[2559]	Gln Cys Thr Tyr Ile Asp Ser Asn Phe Gly Ala	
[2560]	1	5 10
[2561]	<210>	189
[2562]	<211>	8
[2563]	<212>	PRT
[2564]	<213>	人工序列
[2565]	<220>	
[2566]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2567]	<400>	189
[2568]	Ala Ser Gln Ile Ile Ser Ser Arg	
[2569]	1	5
[2570]	<210>	190
[2571]	<211>	12
[2572]	<212>	PRT
[2573]	<213>	人工序列

[2574]	<220>
[2575]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[2576]	<400> 190
[2577]	Gln Ala Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg
[2578]	1 5 10
[2579]	<210> 191
[2580]	<211> 8
[2581]	<212> PRT
[2582]	<213> 人工序列
[2583]	<220>
[2584]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[2585]	<400> 191
[2586]	Thr Tyr Ile Asp Ser Asn Phe Gly
[2587]	1 5
[2588]	<210> 192
[2589]	<211> 7
[2590]	<212> PRT
[2591]	<213> 人工序列
[2592]	<220>
[2593]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[2594]	<400> 192
[2595]	Ser Gln Ile Ile Ser Ser Arg
[2596]	1 5
[2597]	<210> 193
[2598]	<211> 3
[2599]	<212> PRT
[2600]	<213> 人工序列
[2601]	<220>
[2602]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[2603]	<400> 193
[2604]	Gln Ala Ser
[2605]	1
[2606]	<210> 194
[2607]	<211> 8
[2608]	<212> PRT
[2609]	<213> 人工序列
[2610]	<220>
[2611]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[2612]	<400> 194

[2613]	Thr Tyr Ile Asp Ser Asn Phe Gly
[2614]	1 5
[2615]	<210> 195
[2616]	<211> 110
[2617]	<212> PRT
[2618]	<213> 人工序列
[2619]	<220>
[2620]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[2621]	<400> 195
[2622]	Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[2623]	1 5 10 15
[2624]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ile Ile Ser Ser Arg
[2625]	20 25 30
[2626]	Ser Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
[2627]	35 40 45
[2628]	Tyr Gln Ala Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[2629]	50 55 60
[2630]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[2631]	65 70 75 80
[2632]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Cys Thr Tyr Ile Asp Ser Asn
[2633]	85 90 95
[2634]	Phe Gly Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
[2635]	100 105 110
[2636]	<210> 196
[2637]	<211> 251
[2638]	<212> PRT
[2639]	<213> 人工序列
[2640]	<220>
[2641]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[2642]	<400> 196
[2643]	Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[2644]	1 5 10 15
[2645]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ile Ile Ser Ser Arg
[2646]	20 25 30
[2647]	Ser Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
[2648]	35 40 45
[2649]	Tyr Gln Ala Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[2650]	50 55 60
[2651]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

[2652]	65	70	75	80
[2653]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Cys Thr Tyr Ile Asp Ser Asn			
[2654]		85	90	95
[2655]	Phe Gly Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly			
[2656]		100	105	110
[2657]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly			
[2658]		115	120	125
[2659]	Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro			
[2660]		130	135	140
[2661]	Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser			
[2662]	145	150	155	160
[2663]	Ser Ser Tyr Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu			
[2664]		165	170	175
[2665]	Glu Trp Val Gly Cys Val Phe Thr Gly Asp Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala			
[2666]		180	185	190
[2667]	Ser Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn			
[2668]		195	200	205
[2669]	Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr			
[2670]		210	215	220
[2671]	Tyr Phe Cys Ala Arg Pro Val Ser Val Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Leu			
[2672]	225	230	235	240
[2673]	Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
[2674]		245	250	
[2675]	<210>	197		
[2676]	<211>	255		
[2677]	<212>	PRT		
[2678]	<213>	智人		
[2679]	<400>	197		
[2680]	Met Gly Asn Ser Cys Tyr Asn Ile Val Ala Thr Leu Leu Leu Val Leu			
[2681]	1	5	10	15
[2682]	Asn Phe Glu Arg Thr Arg Ser Leu Gln Asp Pro Cys Ser Asn Cys Pro			
[2683]		20	25	30
[2684]	Ala Gly Thr Phe Cys Asp Asn Asn Arg Asn Gln Ile Cys Ser Pro Cys			
[2685]		35	40	45
[2686]	Pro Pro Asn Ser Phe Ser Ser Ala Gly Gly Gln Arg Thr Cys Asp Ile			
[2687]		50	55	60
[2688]	Cys Arg Gln Cys Lys Gly Val Phe Arg Thr Arg Lys Glu Cys Ser Ser			
[2689]	65	70	75	80
[2690]	Thr Ser Asn Ala Glu Cys Asp Cys Thr Pro Gly Phe His Cys Leu Gly			

[2691]					85					90						95
[2692]	Ala	Gly	Cys	Ser	Met	Cys	Glu	Gln	Asp	Cys	Lys	Gln	Gly	Gln	Glu	Leu
[2693]					100					105						110
[2694]	Thr	Lys	Lys	Gly	Cys	Lys	Asp	Cys	Cys	Phe	Gly	Thr	Phe	Asn	Asp	Gln
[2695]					115					120						125
[2696]	Lys	Arg	Gly	Ile	Cys	Arg	Pro	Trp	Thr	Asn	Cys	Ser	Leu	Asp	Gly	Lys
[2697]					130					135						140
[2698]	Ser	Val	Leu	Val	Asn	Gly	Thr	Lys	Glu	Arg	Asp	Val	Val	Cys	Gly	Pro
[2699]	145					150					155					160
[2700]	Ser	Pro	Ala	Asp	Leu	Ser	Pro	Gly	Ala	Ser	Ser	Val	Thr	Pro	Pro	Ala
[2701]					165					170						175
[2702]	Pro	Ala	Arg	Glu	Pro	Gly	His	Ser	Pro	Gln	Ile	Ile	Ser	Phe	Phe	Leu
[2703]					180					185						190
[2704]	Ala	Leu	Thr	Ser	Thr	Ala	Leu	Leu	Phe	Leu	Leu	Phe	Phe	Leu	Thr	Leu
[2705]					195					200						205
[2706]	Arg	Phe	Ser	Val	Val	Lys	Arg	Gly	Arg	Lys	Lys	Leu	Leu	Tyr	Ile	Phe
[2707]					210					215						220
[2708]	Lys	Gln	Pro	Phe	Met	Arg	Pro	Val	Gln	Thr	Thr	Gln	Glu	Glu	Asp	Gly
[2709]	225					230					235					240
[2710]	Cys	Ser	Cys	Arg	Phe	Pro	Glu	Glu	Glu	Glu	Gly	Gly	Cys	Glu	Leu	
[2711]					245					250						255
[2712]	<210>	198														
[2713]	<211>	290														
[2714]	<212>	PRT														
[2715]	<213>	智人														
[2716]	<400>	198														
[2717]	Met	Arg	Ile	Phe	Ala	Val	Phe	Ile	Phe	Met	Thr	Tyr	Trp	His	Leu	Leu
[2718]	1				5					10					15	
[2719]	Asn	Ala	Phe	Thr	Val	Thr	Val	Pro	Lys	Asp	Leu	Tyr	Val	Val	Glu	Tyr
[2720]					20					25					30	
[2721]	Gly	Ser	Asn	Met	Thr	Ile	Glu	Cys	Lys	Phe	Pro	Val	Glu	Lys	Gln	Leu
[2722]					35					40					45	
[2723]	Asp	Leu	Ala	Ala	Leu	Ile	Val	Tyr	Trp	Glu	Met	Glu	Asp	Lys	Asn	Ile
[2724]					50					55					60	
[2725]	Ile	Gln	Phe	Val	His	Gly	Glu	Glu	Asp	Leu	Lys	Val	Gln	His	Ser	Ser
[2726]	65					70					75					80
[2727]	Tyr	Arg	Gln	Arg	Ala	Arg	Leu	Leu	Lys	Asp	Gln	Leu	Ser	Leu	Gly	Asn
[2728]					85					90						95
[2729]	Ala	Ala	Leu	Gln	Ile	Thr	Asp	Val	Lys	Leu	Gln	Asp	Ala	Gly	Val	Tyr

[2730]	100	105	110
[2731]	Arg Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val		
[2732]	115	120	125
[2733]	Lys Val Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val		
[2734]	130	135	140
[2735]	Asp Pro Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr		
[2736]	145	150	155
[2737]	Pro Lys Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser		
[2738]	165	170	175
[2739]	Gly Lys Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn		
[2740]	180	185	190
[2741]	Val Thr Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr		
[2742]	195	200	205
[2743]	Cys Thr Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu		
[2744]	210	215	220
[2745]	Val Ile Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr His		
[2746]	225	230	235
[2747]	Leu Val Ile Leu Gly Ala Ile Leu Leu Cys Leu Gly Val Ala Leu Thr		
[2748]	245	250	255
[2749]	Phe Ile Phe Arg Leu Arg Lys Gly Arg Met Met Asp Val Lys Lys Cys		
[2750]	260	265	270
[2751]	Gly Ile Gln Asp Thr Asn Ser Lys Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu		
[2752]	275	280	285
[2753]	Glu Thr		
[2754]	290		
[2755]	<210> 199		
[2756]	<211> 11		
[2757]	<212> PRT		
[2758]	<213> 智人		
[2759]	<400> 199		
[2760]	Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly		
[2761]	1	5	10
[2762]	<210> 200		
[2763]	<211> 11		
[2764]	<212> PRT		
[2765]	<213> 智人		
[2766]	<400> 200		
[2767]	Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly		
[2768]	1	5	10

[2769]	<210>	201
[2770]	<211>	11
[2771]	<212>	PRT
[2772]	<213>	智人
[2773]	<400>	201
[2774]	Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Ile Ile Leu Gly	
[2775]	1	5 10
[2776]	<210>	202
[2777]	<211>	11
[2778]	<212>	PRT
[2779]	<213>	智人
[2780]	<400>	202
[2781]	Phe Gly Glu Gly Thr Glu Leu Thr Val Leu Gly	
[2782]	1	5 10
[2783]	<210>	203
[2784]	<211>	11
[2785]	<212>	PRT
[2786]	<213>	智人
[2787]	<400>	203
[2788]	Phe Gly Ser Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly	
[2789]	1	5 10
[2790]	<210>	204
[2791]	<211>	11
[2792]	<212>	PRT
[2793]	<213>	智人
[2794]	<400>	204
[2795]	Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu Gly	
[2796]	1	5 10
[2797]	<210>	205
[2798]	<211>	11
[2799]	<212>	PRT
[2800]	<213>	智人
[2801]	<400>	205
[2802]	Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Ala Leu Gly	
[2803]	1	5 10
[2804]	<210>	206
[2805]	<211>	20
[2806]	<212>	PRT
[2807]	<213>	人工序列

[2808]	<220>	
[2809]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2810]	<400>	206
[2811]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly	
[2812]	1	5 10 15
[2813]	Gly Gly Gly Ser	
[2814]	20	
[2815]	<210>	207
[2816]	<211>	5
[2817]	<212>	PRT
[2818]	<213>	人工序列
[2819]	<220>	
[2820]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2821]	<400>	207
[2822]	Gly Gly Gly Gly Ser	
[2823]	1	5
[2824]	<210>	208
[2825]	<211>	10
[2826]	<212>	PRT
[2827]	<213>	人工序列
[2828]	<220>	
[2829]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2830]	<400>	208
[2831]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser	
[2832]	1	5 10
[2833]	<210>	209
[2834]	<211>	493
[2835]	<212>	PRT
[2836]	<213>	人工序列
[2837]	<220>	
[2838]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[2839]	<400>	209
[2840]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[2841]	1	5 10 15
[2842]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr	
[2843]	20	25 30
[2844]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	
[2845]	35	40 45
[2846]	Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	

[2847]	50	55	60
[2848]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
[2849]	65	70	75
[2850]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp		80
[2851]	85	90	95
[2852]	Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly		
[2853]	100	105	110
[2854]	Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val		
[2855]	115	120	125
[2856]	Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser		
[2857]	130	135	140
[2858]	Phe Ser Asn Ser Tyr Trp Ile Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys		
[2859]	145	150	155
[2860]	Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr		
[2861]	165	170	175
[2862]	Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser		
[2863]	180	185	190
[2864]	Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp		
[2865]	195	200	205
[2866]	Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly		
[2867]	210	215	220
[2868]	Tyr Ala Asn Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[2869]	225	230	235
[2870]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly		
[2871]	245	250	255
[2872]	Gly Gly Gly Ser Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala		
[2873]	260	265	270
[2874]	Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile		
[2875]	275	280	285
[2876]	Asn Asn Val Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys		
[2877]	290	295	300
[2878]	Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg		
[2879]	305	310	315
[2880]	Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser		
[2881]	325	330	335
[2882]	Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Gly		
[2883]	340	345	350
[2884]	Asn Tyr Gly Asp Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly		
[2885]	355	360	365

[2886]	Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val
[2887]	370 375 380
[2888]	Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser
[2889]	385 390 395 400
[2890]	Phe Ser Ser Gly Tyr Asp Met Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys
[2891]	405 410 415
[2892]	Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr
[2893]	420 425 430
[2894]	Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser
[2895]	435 440 445
[2896]	Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp
[2897]	450 455 460
[2898]	Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe
[2899]	465 470 475 480
[2900]	Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[2901]	485 490
[2902]	<210> 210
[2903]	<211> 499
[2904]	<212> PRT
[2905]	<213> 人工序列
[2906]	<220>
[2907]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[2908]	<400> 210
[2909]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[2910]	1 5 10 15
[2911]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr
[2912]	20 25 30
[2913]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[2914]	35 40 45
[2915]	Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[2916]	50 55 60
[2917]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[2918]	65 70 75 80
[2919]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp
[2920]	85 90 95
[2921]	Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly
[2922]	100 105 110
[2923]	Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
[2924]	115 120 125

[2925]	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ser
[2926]	130				135				140							
[2927]	Phe	Asn	Asn	Asp	Tyr	Asp	Met	Cys	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys
[2928]	145				150				155				160			
[2929]	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Cys	Ile	Asp	Thr	Gly	Asp	Gly	Ser	Thr	Tyr
[2930]	165				170				175							
[2931]	Tyr	Ala	Ser	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser
[2932]	180				185				190							
[2933]	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr
[2934]	195				200				205							
[2935]	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Glu	Ala	Ala	Ser	Ser	Ser	Gly	Tyr	Gly
[2936]	210				215				220							
[2937]	Met	Gly	Tyr	Phe	Asp	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser
[2938]	225				230				235				240			
[2939]	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
[2940]	245				250				255							
[2941]	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser
[2942]	260				265				270							
[2943]	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ser	Ser	Gln	Ser
[2944]	275				280				285							
[2945]	Val	Tyr	Asp	Asn	Asn	Trp	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys
[2946]	290				295				300							
[2947]	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Arg	Ala	Ser	Asn	Leu	Ala	Ser	Gly	Val
[2948]	305				310				315				320			
[2949]	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr
[2950]	325				330				335							
[2951]	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gly
[2952]	340				345				350							
[2953]	Thr	Tyr	Leu	Ser	Ser	Asn	Trp	Tyr	Trp	Ala	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys
[2954]	355				360				365							
[2955]	Val	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu
[2956]	370				375				380							
[2957]	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Glu	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys
[2958]	385				390				395				400			
[2959]	Lys	Val	Ser	Gly	Phe	Ser	Phe	Ser	Ser	Gly	Tyr	Asp	Met	Cys	Trp	Ile
[2960]	405				410				415							
[2961]	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Cys	Val	Val	Ala
[2962]	420				425				430							
[2963]	Gly	Ser	Val	Asp	Ile	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg	Val

[2964]	435	440	445
[2965]	Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser		
[2966]	450	455	460
[2967]	Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Lys Asp		
[2968]	465	470	475
[2969]	Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr		
[2970]	485	490	495
[2971]	Val Ser Ser		
[2972]	<210> 211		
[2973]	<211> 493		
[2974]	<212> PRT		
[2975]	<213> 人工序列		
[2976]	<220>		
[2977]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列		
[2978]	<400> 211		
[2979]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
[2980]	1	5	10
[2981]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr		
[2982]	20	25	30
[2983]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
[2984]	35	40	45
[2985]	Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
[2986]	50	55	60
[2987]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
[2988]	65	70	75
[2989]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp		
[2990]	85	90	95
[2991]	Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly		
[2992]	100	105	110
[2993]	Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val		
[2994]	115	120	125
[2995]	Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser		
[2996]	130	135	140
[2997]	Phe Ser Asn Ser Tyr Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys		
[2998]	145	150	155
[2999]	Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr		
[3000]	165	170	175
[3001]	Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser		
[3002]	180	185	190

[3003]	Ser	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp
[3004]			195					200					205			
[3005]	Thr	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys	Ala	Arg	His	Pro	Ser	Asp	Ala	Val	Tyr	Gly
[3006]			210					215				220				
[3007]	Tyr	Ala	Asn	Asn	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser
[3008]	225						230				235					240
[3009]	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly
[3010]					245					250					255	
[3011]	Gly	Gly	Gly	Ser	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala
[3012]				260					265					270		
[3013]	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile
[3014]			275					280					285			
[3015]	Asn	Asn	Val	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Pro	Pro	Lys
[3016]		290					295				300					
[3017]	Leu	Leu	Ile	Tyr	Arg	Ala	Ser	Thr	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg
[3018]	305					310				315						320
[3019]	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser
[3020]				325					330						335	
[3021]	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser	Ser	Tyr	Gly
[3022]			340						345				350			
[3023]	Asn	Tyr	Gly	Asp	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly	Gly
[3024]		355						360				365				
[3025]	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val
[3026]		370					375				380					
[3027]	Lys	Pro	Ser	Glu	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Lys	Val	Ser	Gly	Phe	Ser
[3028]	385					390				395						400
[3029]	Phe	Ser	Ser	Gly	Tyr	Asp	Met	Cys	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys
[3030]				405					410						415	
[3031]	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Cys	Val	Val	Ala	Gly	Ser	Val	Asp	Ile	Thr
[3032]			420						425				430			
[3033]	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Ser
[3034]		435						440				445				
[3035]	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp
[3036]		450						455				460				
[3037]	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Lys	Asp	Ala	Tyr	Ser	Asp	Ala	Phe
[3038]	465					470				475						480
[3039]	Asn	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser			
[3040]				485					490							
[3041]	<210>	212														

[3042]	<211>	493
[3043]	<212>	PRT
[3044]	<213>	人工序列
[3045]	<220>	
[3046]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[3047]	<400>	212
[3048]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[3049]	1 5 10 15	
[3050]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr	
[3051]	20 25 30	
[3052]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	
[3053]	35 40 45	
[3054]	Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
[3055]	50 55 60	
[3056]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
[3057]	65 70 75 80	
[3058]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp	
[3059]	85 90 95	
[3060]	Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly	
[3061]	100 105 110	
[3062]	Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val	
[3063]	115 120 125	
[3064]	Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser	
[3065]	130 135 140	
[3066]	Phe Ser Asn Ser Tyr Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys	
[3067]	145 150 155 160	
[3068]	Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr	
[3069]	165 170 175	
[3070]	Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Ser	
[3071]	180 185 190	
[3072]	Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp	
[3073]	195 200 205	
[3074]	Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly	
[3075]	210 215 220	
[3076]	Tyr Ala Asn Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	
[3077]	225 230 235 240	
[3078]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly	
[3079]	245 250 255	
[3080]	Gly Gly Gly Ser Leu Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala	

[3081]	260	265	270
[3082]	Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile		
[3083]	275	280	285
[3084]	Asn Asn Val Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys		
[3085]	290	295	300
[3086]	Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg		
[3087]	305	310	315
[3088]	Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser		
[3089]	325	330	335
[3090]	Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Gly		
[3091]	340	345	350
[3092]	Asn Tyr Gly Asp Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly		
[3093]	355	360	365
[3094]	Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val		
[3095]	370	375	380
[3096]	Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser		
[3097]	385	390	395
[3098]	Phe Ser Ser Gly Tyr Asp Met Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys		
[3099]	405	410	415
[3100]	Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr		
[3101]	420	425	430
[3102]	Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser		
[3103]	435	440	445
[3104]	Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp		
[3105]	450	455	460
[3106]	Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe		
[3107]	465	470	475
[3108]	Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[3109]	485	490	
[3110]	<210> 213		
[3111]	<211> 493		
[3112]	<212> PRT		
[3113]	<213> 人工序列		
[3114]	<220>		
[3115]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列		
[3116]	<400> 213		
[3117]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
[3118]	1	5	10
[3119]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr		

[3120]		20		25		30											
[3121]	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	
[3122]		35						40					45				
[3123]	Tyr	Lys	Ala	Ser	Thr	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	
[3124]		50					55						60				
[3125]	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	
[3126]	65					70					75					80	
[3127]	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Gly	Tyr	Ile	Ile	Thr	Asp	
[3128]					85					90					95		
[3129]	Ile	Asp	Asn	Val	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	
[3130]				100					105					110			
[3131]	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	
[3132]				115					120					125			
[3133]	Lys	Pro	Ser	Glu	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Lys	Val	Ser	Gly	Phe	Ser	
[3134]		130						135						140			
[3135]	Phe	Ser	Asn	Ser	Tyr	Trp	Ile	Cys	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	
[3136]	145					150					155					160	
[3137]	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Cys	Thr	Phe	Val	Gly	Ser	Ser	Asp	Ser	Thr	
[3138]					165					170					175		
[3139]	Tyr	Tyr	Ala	Asn	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Ser	
[3140]				180					185						190		
[3141]	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	
[3142]			195						200					205			
[3143]	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	His	Pro	Ser	Asp	Ala	Val	Tyr	Gly	
[3144]		210						215						220			
[3145]	Tyr	Ala	Asn	Asn	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	
[3146]	225					230					235					240	
[3147]	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	
[3148]				245						250					255		
[3149]	Gly	Gly	Gly	Ser	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	
[3150]				260					265						270		
[3151]	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	
[3152]			275						280					285			
[3153]	Asn	Asn	Val	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	
[3154]		290						295						300			
[3155]	Leu	Leu	Ile	Tyr	Arg	Ala	Ser	Thr	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	
[3156]	305					310					315					320	
[3157]	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	
[3158]				325						330					335		

[3159]	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser	Ser	Tyr	Gly
[3160]				340					345					350		
[3161]	Asn	Tyr	Gly	Asp	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly	Gly
[3162]				355					360					365		
[3163]	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val
[3164]				370					375					380		
[3165]	Lys	Pro	Ser	Glu	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Lys	Val	Ser	Gly	Phe	Ser
[3166]				385					390					395		400
[3167]	Phe	Ser	Ser	Gly	Tyr	Asp	Met	Cys	Trp	Val	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys
[3168]					405					410					415	
[3169]	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Ala	Cys	Val	Val	Ala	Gly	Ser	Val	Asp	Ile	Thr
[3170]					420					425					430	
[3171]	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Ser
[3172]					435					440					445	
[3173]	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp
[3174]					450					455					460	
[3175]	Thr	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys	Ala	Arg	Lys	Asp	Ala	Tyr	Ser	Asp	Ala	Phe
[3176]						465				470					475	480
[3177]	Asn	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser			
[3178]					485										490	
[3179]	<210>	214														
[3180]	<211>	493														
[3181]	<212>	PRT														
[3182]	<213>	人工序列														
[3183]	<220>															
[3184]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列														
[3185]	<400>	214														
[3186]	Asp	Phe	Gln	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
[3187]	1				5					10					15	
[3188]	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Asn	Asp	Tyr
[3189]					20					25					30	
[3190]	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
[3191]					35					40					45	
[3192]	Tyr	Lys	Ala	Ser	Thr	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
[3193]					50					55					60	
[3194]	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
[3195]						65					70				75	80
[3196]	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Gly	Tyr	Ile	Ile	Thr	Asp
[3197]															85	90
																95

[3198]	Ile	Asp	Asn	Val	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly	Gly
[3199]				100						105				110		
[3200]	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val
[3201]				115						120				125		
[3202]	Lys	Pro	Ser	Glu	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Lys	Val	Ser	Gly	Phe	Ser
[3203]				130						135				140		
[3204]	Phe	Ser	Asn	Ser	Tyr	Trp	Ile	Cys	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys
[3205]	145											155				160
[3206]	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Cys	Thr	Phe	Val	Gly	Ser	Ser	Asp	Ser	Thr
[3207]																
[3208]	Tyr	Tyr	Ala	Asn	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Ser
[3209]				180											190	
[3210]	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp
[3211]				195											205	
[3212]	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	His	Pro	Ser	Asp	Ala	Val	Tyr	Gly
[3213]				210											220	
[3214]	Tyr	Ala	Asn	Asn	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser
[3215]	225														240	
[3216]	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly
[3217]																
[3218]	Gly	Gly	Gly	Ser	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala
[3219]				260											270	
[3220]	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile
[3221]				275											285	
[3222]	Asn	Asn	Val	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys
[3223]				290											300	
[3224]	Leu	Leu	Ile	Tyr	Arg	Ala	Ser	Thr	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg
[3225]	305														320	
[3226]	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser
[3227]																
[3228]	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser	Ser	Tyr	Gly
[3229]				340											350	
[3230]	Asn	Tyr	Gly	Asp	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly	Gly
[3231]				355											365	
[3232]	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Ser	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val
[3233]				370											380	
[3234]	Lys	Pro	Ser	Glu	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Phe	Ser
[3235]	385														400	
[3236]	Phe	Ser	Ser	Gly	Tyr	Asp	Met	Cys	Trp	Val	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys

[3237]	405																410				415							
[3238]	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Ala	Cys	Val	Val	Ala	Gly	Ser	Val	Asp	Ile	Thr												
[3239]	420																425				430							
[3240]	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Lys	Asp	Ser												
[3241]	435																440				445							
[3242]	Ser	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp												
[3243]	450																455				460							
[3244]	Thr	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys	Ala	Arg	Lys	Asp	Ala	Tyr	Ser	Asp	Ala	Phe												
[3245]	465																470				475				480			
[3246]	Asn	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser															
[3247]	485																490											
[3248]	<210>	215																										
[3249]	<211>	493																										
[3250]	<212>	PRT																										
[3251]	<213>	人工序列																										
[3252]	<220>																											
[3253]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列																										
[3254]	<400>	215																										
[3255]	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly												
[3256]	1	5																10				15						
[3257]	Asp	Ala	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Asn	Asp	Tyr												
[3258]	20																25				30							
[3259]	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile												
[3260]	35																40				45							
[3261]	Tyr	Lys	Ala	Ser	Thr	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly												
[3262]	50																55				60							
[3263]	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro												
[3264]	65																70				75				80			
[3265]	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Gly	Tyr	Ile	Ile	Thr	Asp												
[3266]	85																90				95							
[3267]	Ile	Asp	Asn	Val	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly	Gly												
[3268]	100																105				110							
[3269]	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val												
[3270]	115																120				125							
[3271]	Lys	Pro	Ser	Glu	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Lys	Val	Ser	Gly	Phe	Ser												
[3272]	130																135				140							
[3273]	Phe	Ser	Asn	Ser	Tyr	Trp	Ile	Cys	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys												
[3274]	145																150				155				160			
[3275]	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Cys	Thr	Phe	Val	Gly	Ser	Ser	Asp	Ser	Thr												

[3276]					165					170						175
[3277]	Tyr	Tyr	Ala	Asn	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Ser
[3278]					180					185						190
[3279]	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp
[3280]					195					200						205
[3281]	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	His	Pro	Ser	Asp	Ala	Val	Tyr	Gly
[3282]					210					215						220
[3283]	Tyr	Ala	Asn	Asn	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser
[3284]	225									230						240
[3285]	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly
[3286]										245						255
[3287]	Gly	Gly	Gly	Ser	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala
[3288]										260						270
[3289]	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile
[3290]										275						285
[3291]	Asn	Asn	Val	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys
[3292]										290						300
[3293]	Leu	Leu	Ile	Tyr	Arg	Ala	Ser	Thr	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg
[3294]	305									310						320
[3295]	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser
[3296]										325						335
[3297]	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser	Ser	Tyr	Gly
[3298]										340						350
[3299]	Asn	Tyr	Gly	Asp	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly	Gly
[3300]										355						365
[3301]	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val
[3302]										370						380
[3303]	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ser
[3304]	385									390						400
[3305]	Phe	Ser	Ser	Gly	Tyr	Asp	Met	Cys	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys
[3306]										405						415
[3307]	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Gly	Cys	Val	Val	Ala	Gly	Ser	Val	Asp	Ile	Thr
[3308]										420						430
[3309]	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn
[3310]										435						445
[3311]	Ser	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp
[3312]										450						460
[3313]	Thr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Lys	Asp	Ala	Tyr	Ser	Asp	Ala	Phe
[3314]	465									470						480

[3315]	Asn Leu Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[3316]		485	490
[3317]	<210>	216	
[3318]	<211>	755	
[3319]	<212>	PRT	
[3320]	<213>	人工序列	
[3321]	<220>		
[3322]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列	
[3323]	<400>	216	
[3324]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
[3325]	1	5	10 15
[3326]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr		
[3327]		20	25 30
[3328]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
[3329]		35	40 45
[3330]	Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
[3331]		50	55 60
[3332]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
[3333]	65	70	75 80
[3334]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp		
[3335]		85	90 95
[3336]	Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly		
[3337]		100	105 110
[3338]	Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val		
[3339]		115	120 125
[3340]	Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser		
[3341]		130	135 140
[3342]	Phe Ser Asn Ser Tyr Trp Ile Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys		
[3343]	145	150	155 160
[3344]	Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr		
[3345]		165	170 175
[3346]	Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser		
[3347]		180	185 190
[3348]	Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp		
[3349]		195	200 205
[3350]	Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly		
[3351]		210	215 220
[3352]	Tyr Ala Asn Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[3353]	225	230	235 240

[3354]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly		
[3355]		245	250
[3356]	Gly Gly Gly Ser Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala		
[3357]		260	265
[3358]	Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile		
[3359]		275	280
[3360]	Asn Asn Val Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys		
[3361]		290	295
[3362]	Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg		
[3363]	305	310	315
[3364]	Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser		
[3365]		325	330
[3366]	Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Gly		
[3367]		340	345
[3368]	Asn Tyr Gly Asp Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly		
[3369]		355	360
[3370]	Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val		
[3371]		370	375
[3372]	Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser		
[3373]	385	390	395
[3374]	Phe Ser Ser Gly Tyr Asp Met Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys		
[3375]		405	410
[3376]	Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr		
[3377]		420	425
[3378]	Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser		
[3379]		435	440
[3380]	Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp		
[3381]		450	455
[3382]	Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe		
[3383]	465	470	475
[3384]	Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly		
[3385]		485	490
[3386]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser		
[3387]		500	505
[3388]	Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser		
[3389]		515	520
[3390]	Glu Ser Val Tyr Ser Asn Asn Gln Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro		
[3391]		530	535
[3392]	Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asp Leu Ala Ser		

[3393]	545	550	555	560
[3394]	Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr			
[3395]		565	570	575
[3396]	Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys			
[3397]		580	585	590
[3398]	Ala Gly Gly Phe Ser Ser Ser Ser Asp Thr Ala Phe Gly Gly Gly Thr			
[3399]		595	600	605
[3400]	Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser			
[3401]		610	615	620
[3402]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu			
[3403]	625	630	635	640
[3404]	Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys			
[3405]		645	650	655
[3406]	Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Asn Ala Met Gly Trp Val Arg			
[3407]		660	665	670
[3408]	Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile Gly Ile Ile Ser Val Gly			
[3409]		675	680	685
[3410]	Gly Phe Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser			
[3411]		690	695	700
[3412]	Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg			
[3413]	705	710	715	720
[3414]	Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Asp Arg His Gly Gly			
[3415]		725	730	735
[3416]	Asp Ser Ser Gly Ala Phe Tyr Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr			
[3417]		740	745	750
[3418]	Val Ser Ser			
[3419]		755		
[3420]	<210>	217		
[3421]	<211>	761		
[3422]	<212>	PRT		
[3423]	<213>	人工序列		
[3424]	<220>			
[3425]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列		
[3426]	<400>	217		
[3427]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly			
[3428]	1	5	10	15
[3429]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr			
[3430]		20	25	30
[3431]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile			

[3432]	35	40	45
[3433]	Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
[3434]	50	55	60
[3435]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
[3436]	65	70	75
[3437]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp		
[3438]	85	90	95
[3439]	Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly		
[3440]	100	105	110
[3441]	Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val		
[3442]	115	120	125
[3443]	Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser		
[3444]	130	135	140
[3445]	Phe Asn Asn Asp Tyr Asp Met Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys		
[3446]	145	150	155
[3447]	Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Ile Asp Thr Gly Asp Gly Ser Thr Tyr		
[3448]	165	170	175
[3449]	Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser		
[3450]	180	185	190
[3451]	Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr		
[3452]	195	200	205
[3453]	Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Ala Ala Ser Ser Ser Gly Tyr Gly		
[3454]	210	215	220
[3455]	Met Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser		
[3456]	225	230	235
[3457]	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
[3458]	245	250	255
[3459]	Gly Gly Gly Gly Ser Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser		
[3460]	260	265	270
[3461]	Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Gln Ser		
[3462]	275	280	285
[3463]	Val Tyr Asp Asn Asn Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys		
[3464]	290	295	300
[3465]	Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val		
[3466]	305	310	315
[3467]	Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr		
[3468]	325	330	335
[3469]	Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly		
[3470]	340	345	350

[3471]	Thr	Tyr	Leu	Ser	Ser	Asn	Trp	Tyr	Trp	Ala	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys
[3472]			355					360					365			
[3473]	Val	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu
[3474]		370					375					380				
[3475]	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Glu	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys
[3476]	385					390				395						400
[3477]	Lys	Val	Ser	Gly	Phe	Ser	Phe	Ser	Ser	Gly	Tyr	Asp	Met	Cys	Trp	Ile
[3478]				405						410					415	
[3479]	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Cys	Val	Val	Ala
[3480]				420					425					430		
[3481]	Gly	Ser	Val	Asp	Ile	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg	Val
[3482]			435						440					445		
[3483]	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Ser	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser
[3484]		450						455					460			
[3485]	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Lys	Asp
[3486]	465					470					475					480
[3487]	Ala	Tyr	Ser	Asp	Ala	Phe	Asn	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr
[3488]				485						490					495	
[3489]	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ile	Gln	Met
[3490]				500					505					510		
[3491]	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr
[3492]			515						520					525		
[3493]	Ile	Thr	Cys	Gln	Ser	Ser	Glu	Ser	Val	Tyr	Ser	Asn	Asn	Gln	Leu	Ser
[3494]		530						535						540		
[3495]	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Asp
[3496]	545					550					555					560
[3497]	Ala	Ser	Asp	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly
[3498]				565						570					575	
[3499]	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp
[3500]				580					585					590		
[3501]	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Gly	Gly	Phe	Ser	Ser	Ser	Ser	Asp	Thr
[3502]			595						600					605		
[3503]	Ala	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly
[3504]		610						615					620			
[3505]	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
[3506]	625					630					635					640
[3507]	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
[3508]				645						650					655	
[3509]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn

[3510]	660	665	670
[3511]	Ala Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile		
[3512]	675	680	685
[3513]	Gly Ile Ile Ser Val Gly Gly Phe Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys		
[3514]	690	695	700
[3515]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu		
[3516]	705	710	715
[3517]	Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala		
[3518]	725	730	735
[3519]	Arg Asp Arg His Gly Gly Asp Ser Ser Gly Ala Phe Tyr Leu Trp Gly		
[3520]	740	745	750
[3521]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[3522]	755	760	
[3523]	<210> 218		
[3524]	<211> 753		
[3525]	<212> PRT		
[3526]	<213> 人工序列		
[3527]	<220>		
[3528]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列		
[3529]	<400> 218		
[3530]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
[3531]	1 5 10 15		
[3532]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr		
[3533]	20 25 30		
[3534]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
[3535]	35 40 45		
[3536]	Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
[3537]	50 55 60		
[3538]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
[3539]	65 70 75 80		
[3540]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp		
[3541]	85 90 95		
[3542]	Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly		
[3543]	100 105 110		
[3544]	Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val		
[3545]	115 120 125		
[3546]	Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser		
[3547]	130 135 140		
[3548]	Phe Ser Asn Ser Tyr Trp Ile Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys		

[3549]	145	150	155	160
[3550]	Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr			
[3551]		165	170	175
[3552]	Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser			
[3553]		180	185	190
[3554]	Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp			
[3555]		195	200	205
[3556]	Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly			
[3557]		210	215	220
[3558]	Tyr Ala Asn Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
[3559]	225	230	235	240
[3560]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly			
[3561]		245	250	255
[3562]	Gly Gly Gly Ser Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala			
[3563]		260	265	270
[3564]	Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile			
[3565]		275	280	285
[3566]	Asn Asn Val Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys			
[3567]		290	295	300
[3568]	Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg			
[3569]	305	310	315	320
[3570]	Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser			
[3571]		325	330	335
[3572]	Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Gly			
[3573]		340	345	350
[3574]	Asn Tyr Gly Asp Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly			
[3575]		355	360	365
[3576]	Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val			
[3577]		370	375	380
[3578]	Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser			
[3579]	385	390	395	400
[3580]	Phe Ser Ser Gly Tyr Asp Met Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys			
[3581]		405	410	415
[3582]	Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr			
[3583]		420	425	430
[3584]	Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser			
[3585]		435	440	445
[3586]	Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp			
[3587]		450	455	460

[3588]	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Lys	Asp	Ala	Tyr	Ser	Asp	Ala	Phe
[3589]	465						470				475					480
[3590]	Asn	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly
[3591]						485					490					495
[3592]	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Val	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser
[3593]						500				505					510	
[3594]	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser
[3595]						515				520					525	
[3596]	Gln	Ile	Ile	Ser	Ser	Arg	Ser	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln
[3597]																
[3598]	Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Gln	Ala	Ser	Lys	Leu	Ala	Ser	Gly	Val
[3599]	545															
[3600]	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr
[3601]																
[3602]	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Cys
[3603]																
[3604]	Thr	Tyr	Ile	Asp	Ser	Asn	Phe	Gly	Ala	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu
[3605]																
[3606]	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly
[3607]																
[3608]	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly
[3609]	625															
[3610]	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala
[3611]																
[3612]	Ser	Gly	Phe	Ser	Phe	Ser	Ser	Ser	Tyr	Trp	Ile	Cys	Trp	Val	Arg	Gln
[3613]																
[3614]	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Gly	Cys	Val	Phe	Thr	Gly	Asp
[3615]																
[3616]	Gly	Thr	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser
[3617]																
[3618]	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg
[3619]	705															
[3620]	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Phe	Cys	Ala	Arg	Pro	Val	Ser	Val	Tyr
[3621]																
[3622]	Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser
[3623]																
[3624]	Ser															
[3625]	<210>	219														
[3626]	<211>	759														

[3627]	<212>	PRT
[3628]	<213>	人工序列
[3629]	<220>	
[3630]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[3631]	<400>	219
[3632]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[3633]	1 5 10 15	
[3634]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr	
[3635]	20 25 30	
[3636]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	
[3637]	35 40 45	
[3638]	Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
[3639]	50 55 60	
[3640]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
[3641]	65 70 75 80	
[3642]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp	
[3643]	85 90 95	
[3644]	Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly	
[3645]	100 105 110	
[3646]	Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val	
[3647]	115 120 125	
[3648]	Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser	
[3649]	130 135 140	
[3650]	Phe Asn Asn Asp Tyr Asp Met Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys	
[3651]	145 150 155 160	
[3652]	Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Ile Asp Thr Gly Asp Gly Ser Thr Tyr	
[3653]	165 170 175	
[3654]	Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser	
[3655]	180 185 190	
[3656]	Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr	
[3657]	195 200 205	
[3658]	Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Ala Ala Ser Ser Ser Gly Tyr Gly	
[3659]	210 215 220	
[3660]	Met Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser	
[3661]	225 230 235 240	
[3662]	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser	
[3663]	245 250 255	
[3664]	Gly Gly Gly Gly Ser Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser	
[3665]	260 265 270	

[3666]	Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Gln Ser
[3667]	275 280 285
[3668]	Val Tyr Asp Asn Asn Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
[3669]	290 295 300
[3670]	Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val
[3671]	305 310 315 320
[3672]	Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
[3673]	325 330 335
[3674]	Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly
[3675]	340 345 350
[3676]	Thr Tyr Leu Ser Ser Asn Trp Tyr Trp Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys
[3677]	355 360 365
[3678]	Val Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu
[3679]	370 375 380
[3680]	Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys
[3681]	385 390 395 400
[3682]	Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Gly Tyr Asp Met Cys Trp Ile
[3683]	405 410 415
[3684]	Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Val Val Ala
[3685]	420 425 430
[3686]	Gly Ser Val Asp Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Val
[3687]	435 440 445
[3688]	Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser
[3689]	450 455 460
[3690]	Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Lys Asp
[3691]	465 470 475 480
[3692]	Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
[3693]	485 490 495
[3694]	Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Val Val Met
[3695]	500 505 510
[3696]	Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
[3697]	515 520 525
[3698]	Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ile Ile Ser Ser Arg Ser Ala Trp Tyr
[3699]	530 535 540
[3700]	Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gln Ala Ser
[3701]	545 550 555 560
[3702]	Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
[3703]	565 570 575
[3704]	Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala

[3705]		580		585		590											
[3706]	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Cys	Thr	Tyr	Ile	Asp	Ser	Asn	Phe	Gly	Ala	Phe	
[3707]				595					600					605			
[3708]	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	
[3709]				610					615					620			
[3710]	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	
[3711]				625					630					635			640
[3712]	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	
[3713]						645					650					655	
[3714]	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ser	Phe	Ser	Ser	Ser	Ser	Tyr	Trp
[3715]						660					665					670	
[3716]	Ile	Cys	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Gly	
[3717]						675					680					685	
[3718]	Cys	Val	Phe	Thr	Gly	Asp	Gly	Thr	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Trp	Ala	Lys	
[3719]						690								695		700	
[3720]	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu	
[3721]						705								710		715	720
[3722]	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Phe	Cys	Ala	
[3723]														725		730	735
[3724]	Arg	Pro	Val	Ser	Val	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	
[3725]						740								745		750	
[3726]	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser										
[3727]																755	
[3728]	<210>	220															
[3729]	<211>	759															
[3730]	<212>	PRT															
[3731]	<213>	人工序列															
[3732]	<220>																
[3733]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列															
[3734]	<400>	220															
[3735]	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	
[3736]	1				5					10					15		
[3737]	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Gly	Thr	Tyr	
[3738]					20					25					30		
[3739]	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	
[3740]					35					40					45		
[3741]	Tyr	Arg	Ala	Phe	Ile	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	
[3742]					50					55					60		
[3743]	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	

[3744]	65					70						75				80
[3745]	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser	Asn	Phe	Tyr	Ser	Asp	Ser
[3746]						85						90				95
[3747]	Thr	Thr	Ile	Gly	Pro	Asn	Ala	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val
[3748]						100						105				110
[3749]	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro
[3750]						115						120				125
[3751]	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Glu	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Lys	Val	Ser
[3752]						130						135				140
[3753]	Gly	Phe	Ser	Phe	Ser	Asn	Ser	Tyr	Trp	Ile	Cys	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro
[3754]	145											155				160
[3755]	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Cys	Thr	Phe	Val	Gly	Ser	Ser
[3756]						165						170				175
[3757]	Asp	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asn	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Ser
[3758]						180						185				190
[3759]	Val	Asp	Ser	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr
[3760]						195						200				205
[3761]	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	His	Pro	Ser	Asp	Ala
[3762]						210						220				
[3763]	Val	Tyr	Gly	Tyr	Ala	Asn	Asn	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr
[3764]	225											235				240
[3765]	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly
[3766]						245						250				255
[3767]	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser
[3768]						260						265				270
[3769]	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser
[3770]						275						280				285
[3771]	Gln	Ser	Ile	Asn	Asn	Val	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys
[3772]						290						295				300
[3773]	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Arg	Ala	Ser	Thr	Leu	Ala	Ser	Gly	Val
[3774]	305											315				320
[3775]	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr
[3776]						325						330				335
[3777]	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser
[3778]						340						345				350
[3779]	Ser	Tyr	Gly	Asn	Tyr	Gly	Asp	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val
[3780]						355						360				365
[3781]	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro
[3782]						370						375				380

[3783]	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Glu	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Lys	Val	Ser
[3784]	385					390					395					400
[3785]	Gly	Phe	Ser	Phe	Asn	Ser	Asp	Tyr	Trp	Ile	Tyr	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro
[3786]					405					410						415
[3787]	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Ser	Ile	Tyr	Gly	Gly	Ser	Ser
[3788]					420					425					430	
[3789]	Gly	Asn	Thr	Gln	Tyr	Ala	Ser	Trp	Ala	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Ser
[3790]					435					440					445	
[3791]	Val	Asp	Ser	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr
[3792]					450					455					460	
[3793]	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Gly	Tyr	Val	Asp	Tyr
[3794]	465						470					475				480
[3795]	Gly	Gly	Ala	Thr	Asp	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser
[3796]					485					490						495
[3797]	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ile	Gln	Met	Thr	Gln
[3798]					500					505					510	
[3799]	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr
[3800]					515					520					525	
[3801]	Cys	Gln	Ser	Ser	Glu	Ser	Val	Tyr	Ser	Asn	Asn	Gln	Leu	Ser	Trp	Tyr
[3802]					530					535					540	
[3803]	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Asp	Ala	Ser
[3804]	545						550					555				560
[3805]	Asp	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly
[3806]					565					570						575
[3807]	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala
[3808]					580					585					590	
[3809]	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Gly	Gly	Phe	Ser	Ser	Ser	Ser	Asp	Thr	Ala	Phe
[3810]					595					600					605	
[3811]	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly
[3812]					610					615					620	
[3813]	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val
[3814]	625						630					635				640
[3815]	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu
[3816]					645					650						655
[3817]	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Ala	Met
[3818]					660					665					670	
[3819]	Gly	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Tyr	Ile	Gly	Ile
[3820]					675					680					685	
[3821]	Ile	Ser	Val	Gly	Gly	Phe	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg

[3822]	690	695	700
[3823]	Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met		
[3824]	705	710	715
[3825]	Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Asp		
[3826]	725	730	735
[3827]	Arg His Gly Gly Asp Ser Ser Gly Ala Phe Tyr Leu Trp Gly Gln Gly		
[3828]	740	745	750
[3829]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[3830]	755		
[3831]	<210> 221		
[3832]	<211> 758		
[3833]	<212> PRT		
[3834]	<213> 人工序列		
[3835]	<220>		
[3836]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列		
[3837]	<400> 221		
[3838]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
[3839]	1	5	10
[3840]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Tyr		
[3841]	20	25	30
[3842]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
[3843]	35	40	45
[3844]	Tyr Arg Ala Phe Ile Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
[3845]	50	55	60
[3846]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
[3847]	65	70	75
[3848]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Asn Phe Tyr Ser Asp Ser		
[3849]	85	90	95
[3850]	Thr Thr Ile Gly Pro Asn Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val		
[3851]	100	105	110
[3852]	Leu Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro		
[3853]	115	120	125
[3854]	Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser		
[3855]	130	135	140
[3856]	Gly Phe Ser Phe Ser Asn Ser Tyr Trp Ile Cys Trp Ile Arg Gln Pro		
[3857]	145	150	155
[3858]	Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser		
[3859]	165	170	175
[3860]	Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser		

[3861]	180							185							190						
[3862]	Val	Asp	Ser	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr					
[3863]	195							200							205						
[3864]	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	His	Pro	Ser	Asp	Ala					
[3865]	210							215							220						
[3866]	Val	Tyr	Gly	Tyr	Ala	Asn	Asn	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr					
[3867]	225							230							235						
[3868]	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly					
[3869]	245							250							255						
[3870]	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser					
[3871]	260							265							270						
[3872]	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala					
[3873]	275							280							285						
[3874]	Ser	Gln	Ser	Ile	Asn	Asn	Val	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly					
[3875]	290							295							300						
[3876]	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Arg	Ala	Ser	Thr	Leu	Ala	Ser	Gly					
[3877]	305							310							315						
[3878]	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu					
[3879]	325							330							335						
[3880]	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln					
[3881]	340							345							350						
[3882]	Ser	Ser	Tyr	Gly	Asn	Tyr	Gly	Asp	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr					
[3883]	355							360							365						
[3884]	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly					
[3885]	370							375							380						
[3886]	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Glu	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Lys	Val					
[3887]	385							390							395						
[3888]	Ser	Gly	Phe	Ser	Phe	Asn	Ser	Asp	Tyr	Trp	Ile	Tyr	Trp	Ile	Arg	Gln					
[3889]	405							410							415						
[3890]	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Ser	Ile	Tyr	Gly	Gly	Ser					
[3891]	420							425							430						
[3892]	Ser	Gly	Asn	Thr	Gln	Tyr	Ala	Ser	Trp	Ala	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile					
[3893]	435							440							445						
[3894]	Ser	Val	Asp	Ser	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val					
[3895]	450							455							460						
[3896]	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Gly	Tyr	Val	Asp					
[3897]	465							470							475						
[3898]	Tyr	Gly	Gly	Ala	Thr	Asp	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val					
[3899]	485							490							495						

[3900]	Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Val Val Met Thr
[3901]	500 505 510
[3902]	Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
[3903]	515 520 525
[3904]	Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ile Ile Ser Ser Arg Ser Ala Trp Tyr Gln
[3905]	530 535 540
[3906]	Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gln Ala Ser Lys
[3907]	545 550 555 560
[3908]	Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
[3909]	565 570 575
[3910]	Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
[3911]	580 585 590
[3912]	Tyr Tyr Cys Gln Cys Thr Tyr Ile Asp Ser Asn Phe Gly Ala Phe Gly
[3913]	595 600 605
[3914]	Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
[3915]	610 615 620
[3916]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
[3917]	625 630 635 640
[3918]	Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
[3919]	645 650 655
[3920]	Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Ser Tyr Trp Ile
[3921]	660 665 670
[3922]	Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Cys
[3923]	675 680 685
[3924]	Val Phe Thr Gly Asp Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
[3925]	690 695 700
[3926]	Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln
[3927]	705 710 715 720
[3928]	Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg
[3929]	725 730 735
[3930]	Pro Val Ser Val Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr
[3931]	740 745 750
[3932]	Leu Val Thr Val Ser Ser
[3933]	755
[3934]	<210> 222
[3935]	<211> 759
[3936]	<212> PRT
[3937]	<213> 人工序列
[3938]	<220>

[3939]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列															
[3940]	<400>	222															
[3941]	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	
[3942]	1				5					10					15		
[3943]	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Gly	Thr	Tyr	
[3944]				20					25					30			
[3945]	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	
[3946]				35					40					45			
[3947]	Tyr	Arg	Ala	Phe	Ile	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	
[3948]		50					55					60					
[3949]	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	
[3950]	65					70					75				80		
[3951]	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser	Asn	Phe	Tyr	Ser	Asp	Ser	
[3952]					85					90					95		
[3953]	Thr	Thr	Ile	Gly	Pro	Asn	Ala	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	
[3954]				100					105					110			
[3955]	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	
[3956]				115					120					125			
[3957]	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	
[3958]		130					135						140				
[3959]	Gly	Phe	Ser	Phe	Ser	Asn	Ser	Tyr	Trp	Ile	Cys	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	
[3960]	145					150					155				160		
[3961]	Pro	Gly	Lys	Cys	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Cys	Thr	Phe	Val	Gly	Ser	Ser	
[3962]				165						170					175		
[3963]	Asp	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asn	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	
[3964]				180						185					190		
[3965]	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	
[3966]				195						200				205			
[3967]	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	His	Pro	Ser	Asp	Ala	
[3968]		210					215					220					
[3969]	Val	Tyr	Gly	Tyr	Ala	Asn	Asn	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	
[3970]	225					230					235				240		
[3971]	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	
[3972]				245						250					255		
[3973]	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	
[3974]				260						265					270		
[3975]	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser	
[3976]				275						280				285			
[3977]	Gln	Ser	Ile	Asn	Asn	Val	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	

[3978]	290	295	300
[3979]	Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val		
[3980]	305	310	315
[3981]	Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr		
[3982]	325	330	335
[3983]	Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser		
[3984]	340	345	350
[3985]	Ser Tyr Gly Asn Tyr Gly Asp Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Thr Val		
[3986]	355	360	365
[3987]	Leu Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro		
[3988]	370	375	380
[3989]	Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser		
[3990]	385	390	395
[3991]	Gly Phe Ser Phe Asn Ser Asp Tyr Trp Ile Tyr Trp Ile Arg Gln Pro		
[3992]	405	410	415
[3993]	Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Gly Gly Ser Ser		
[3994]	420	425	430
[3995]	Gly Asn Thr Gln Tyr Ala Ser Trp Ala Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser		
[3996]	435	440	445
[3997]	Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr		
[3998]	450	455	460
[3999]	Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Tyr Val Asp Tyr		
[4000]	465	470	475
[4001]	Gly Gly Ala Thr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser		
[4002]	485	490	495
[4003]	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Gln Met Thr Gln		
[4004]	500	505	510
[4005]	Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr		
[4006]	515	520	525
[4007]	Cys Gln Ser Ser Glu Ser Val Tyr Ser Asn Asn Gln Leu Ser Trp Tyr		
[4008]	530	535	540
[4009]	Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser		
[4010]	545	550	555
[4011]	Asp Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly		
[4012]	565	570	575
[4013]	Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala		
[4014]	580	585	590
[4015]	Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Phe Ser Ser Ser Ser Asp Thr Ala Phe		
[4016]	595	600	605

[4017]	Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly
[4018]	610 615 620
[4019]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val
[4020]	625 630 635 640
[4021]	Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu
[4022]	645 650 655
[4023]	Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Asn Ala Met
[4024]	660 665 670
[4025]	Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile Gly Ile
[4026]	675 680 685
[4027]	Ile Ser Val Gly Gly Phe Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg
[4028]	690 695 700
[4029]	Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
[4030]	705 710 715 720
[4031]	Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Asp
[4032]	725 730 735
[4033]	Arg His Gly Gly Asp Ser Ser Gly Ala Phe Tyr Leu Trp Gly Gln Gly
[4034]	740 745 750
[4035]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[4036]	755
[4037]	<210> 223
[4038]	<211> 759
[4039]	<212> PRT
[4040]	<213> 人工序列
[4041]	<220>
[4042]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[4043]	<400> 223
[4044]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[4045]	1 5 10 15
[4046]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Tyr
[4047]	20 25 30
[4048]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile
[4049]	35 40 45
[4050]	Tyr Arg Ala Phe Ile Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[4051]	50 55 60
[4052]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[4053]	65 70 75 80
[4054]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Asn Phe Tyr Ser Asp Ser
[4055]	85 90 95

[4056]	Thr	Thr	Ile	Gly	Pro	Asn	Ala	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val
[4057]				100					105					110		
[4058]	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly
[4059]				115					120					125		
[4060]	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser
[4061]				130					135					140		
[4062]	Gly	Phe	Ser	Phe	Ser	Asn	Ser	Tyr	Trp	Ile	Cys	Trp	Val	Arg	Gln	Ala
[4063]	145								150				155			160
[4064]	Pro	Gly	Lys	Cys	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Cys	Thr	Phe	Val	Gly	Ser	Ser
[4065]														165		175
[4066]	Asp	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asn	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser
[4067]														180		190
[4068]	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg
[4069]														195		205
[4070]	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	His	Pro	Ser	Asp	Ala
[4071]														210		220
[4072]	Val	Tyr	Gly	Tyr	Ala	Asn	Asn	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr
[4073]	225													230		240
[4074]	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly
[4075]														245		255
[4076]	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser
[4077]														260		270
[4078]	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser
[4079]														275		285
[4080]	Gln	Ser	Ile	Asn	Asn	Val	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys
[4081]														290		300
[4082]	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Arg	Ala	Ser	Thr	Leu	Ala	Ser	Gly	Val
[4083]	305													310		320
[4084]	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr
[4085]														325		335
[4086]	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser
[4087]														340		350
[4088]	Ser	Tyr	Gly	Asn	Tyr	Gly	Asp	Phe	Gly	Cys	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val
[4089]														355		365
[4090]	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly
[4091]														370		380
[4092]	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser
[4093]	385													390		400
[4094]	Gly	Phe	Ser	Phe	Asn	Ser	Asp	Tyr	Trp	Ile	Tyr	Trp	Val	Arg	Gln	Ala

[4095]					405					410						415
[4096]	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Ala	Ser	Ile	Tyr	Gly	Gly	Ser	Ser
[4097]					420					425						430
[4098]	Gly	Asn	Thr	Gln	Tyr	Ala	Ser	Trp	Ala	Gln	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser
[4099]					435					440						445
[4100]	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg
[4101]					450					455						460
[4102]	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys	Ala	Arg	Gly	Tyr	Val	Asp	Tyr
[4103]	465									470						480
[4104]	Gly	Gly	Ala	Thr	Asp	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser
[4105]					485					490						495
[4106]	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ile	Gln	Met	Thr	Gln
[4107]					500					505						510
[4108]	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr
[4109]					515					520						525
[4110]	Cys	Gln	Ser	Ser	Glu	Ser	Val	Tyr	Ser	Asn	Asn	Gln	Leu	Ser	Trp	Tyr
[4111]					530					535						540
[4112]	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Asp	Ala	Ser
[4113]	545									550						560
[4114]	Asp	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly
[4115]					565					570						575
[4116]	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala
[4117]					580					585						590
[4118]	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Gly	Gly	Phe	Ser	Ser	Ser	Ser	Asp	Thr	Ala	Phe
[4119]					595					600						605
[4120]	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly
[4121]					610					615						620
[4122]	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val
[4123]	625									630						640
[4124]	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu
[4125]					645					650						655
[4126]	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Ala	Met
[4127]					660					665						670
[4128]	Gly	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Tyr	Ile	Gly	Ile
[4129]					675					680						685
[4130]	Ile	Ser	Val	Gly	Gly	Phe	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg
[4131]					690					695						700
[4132]	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu	Gln	Met
[4133]	705									710						720

[4134]	Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Asp
[4135]	725 730 735
[4136]	Arg His Gly Gly Asp Ser Ser Gly Ala Phe Tyr Leu Trp Gly Gln Gly
[4137]	740 745 750
[4138]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[4139]	755
[4140]	<210> 224
[4141]	<211> 759
[4142]	<212> PRT
[4143]	<213> 人工序列
[4144]	<220>
[4145]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[4146]	<400> 224
[4147]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[4148]	1 5 10 15
[4149]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Val
[4150]	20 25 30
[4151]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[4152]	35 40 45
[4153]	Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[4154]	50 55 60
[4155]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[4156]	65 70 75 80
[4157]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Gly Asn Tyr Gly
[4158]	85 90 95
[4159]	Asp Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Gly
[4160]	100 105 110
[4161]	Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
[4162]	115 120 125
[4163]	Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Asn Ser
[4164]	130 135 140
[4165]	Asp Tyr Trp Ile Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
[4166]	145 150 155 160
[4167]	Trp Ile Ala Ser Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Gly Asn Thr Gln Tyr Ala
[4168]	165 170 175
[4169]	Ser Trp Ala Gln Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
[4170]	180 185 190
[4171]	Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
[4172]	195 200 205

[4173]	Tyr	Phe	Cys	Ala	Arg	Gly	Tyr	Val	Asp	Tyr	Gly	Gly	Ala	Thr	Asp	Leu
[4174]	210						215					220				
[4175]	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
[4176]	225					230					235					240
[4177]	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ile
[4178]					245					250					255	
[4179]	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg
[4180]				260					265					270		
[4181]	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Gly	Thr	Tyr	Leu	Ala
[4182]			275					280					285			
[4183]	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Arg
[4184]	290						295					300				
[4185]	Ala	Phe	Ile	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly
[4186]	305					310					315					320
[4187]	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp
[4188]				325						330					335	
[4189]	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser	Asn	Phe	Tyr	Ser	Asp	Ser	Thr	Thr
[4190]			340						345					350		
[4191]	Ile	Gly	Pro	Asn	Ala	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly
[4192]			355					360					365			
[4193]	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu
[4194]	370						375					380				
[4195]	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe
[4196]	385					390					395					400
[4197]	Ser	Phe	Ser	Asn	Ser	Tyr	Trp	Ile	Cys	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly
[4198]				405						410					415	
[4199]	Lys	Cys	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Cys	Thr	Phe	Val	Gly	Ser	Ser	Asp	Ser
[4200]			420						425					430		
[4201]	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asn	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp
[4202]			435					440					445			
[4203]	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu
[4204]		450					455					460				
[4205]	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	His	Pro	Ser	Asp	Ala	Val	Tyr
[4206]	465					470					475					480
[4207]	Gly	Tyr	Ala	Asn	Asn	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser
[4208]				485						490					495	
[4209]	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ile	Gln	Met	Thr	Gln
[4210]				500					505					510		
[4211]	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr

[4212]	515	520	525
[4213]	Cys Gln Ser Ser Glu Ser Val Tyr Ser Asn Asn Gln Leu Ser Trp Tyr		
[4214]	530	535	540
[4215]	Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser		
[4216]	545	550	555
[4217]	Asp Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly		
[4218]	565	570	575
[4219]	Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala		
[4220]	580	585	590
[4221]	Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Phe Ser Ser Ser Ser Asp Thr Ala Phe		
[4222]	595	600	605
[4223]	Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly		
[4224]	610	615	620
[4225]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val		
[4226]	625	630	635
[4227]	Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu		
[4228]	645	650	655
[4229]	Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Asn Ala Met		
[4230]	660	665	670
[4231]	Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile Gly Ile		
[4232]	675	680	685
[4233]	Ile Ser Val Gly Gly Phe Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg		
[4234]	690	695	700
[4235]	Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met		
[4236]	705	710	715
[4237]	Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Asp		
[4238]	725	730	735
[4239]	Arg His Gly Gly Asp Ser Ser Gly Ala Phe Tyr Leu Trp Gly Gln Gly		
[4240]	740	745	750
[4241]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[4242]	755		
[4243]	<210> 225		
[4244]	<211> 755		
[4245]	<212> PRT		
[4246]	<213> 人工序列		
[4247]	<220>		
[4248]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列		
[4249]	<400> 225		
[4250]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		

[4251]	1	5	10	15
[4252]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr			
[4253]	20	25	30	
[4254]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile			
[4255]	35	40	45	
[4256]	Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
[4257]	50	55	60	
[4258]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
[4259]	65	70	75	80
[4260]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp			
[4261]	85	90	95	
[4262]	Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly			
[4263]	100	105	110	
[4264]	Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val			
[4265]	115	120	125	
[4266]	Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser			
[4267]	130	135	140	
[4268]	Phe Ser Asn Ser Tyr Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys			
[4269]	145	150	155	160
[4270]	Cys Leu Glu Trp Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr			
[4271]	165	170	175	
[4272]	Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn			
[4273]	180	185	190	
[4274]	Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp			
[4275]	195	200	205	
[4276]	Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly			
[4277]	210	215	220	
[4278]	Tyr Ala Asn Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
[4279]	225	230	235	240
[4280]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly			
[4281]	245	250	255	
[4282]	Gly Gly Gly Ser Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala			
[4283]	260	265	270	
[4284]	Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile			
[4285]	275	280	285	
[4286]	Asn Asn Val Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys			
[4287]	290	295	300	
[4288]	Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg			
[4289]	305	310	315	320

[4290]	Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser
[4291]	325 330 335
[4292]	Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Gly
[4293]	340 345 350
[4294]	Asn Tyr Gly Asp Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly
[4295]	355 360 365
[4296]	Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val
[4297]	370 375 380
[4298]	Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser
[4299]	385 390 395 400
[4300]	Phe Ser Ser Gly Tyr Asp Met Cys Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys
[4301]	405 410 415
[4302]	Gly Leu Glu Trp Ile Ala Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr
[4303]	420 425 430
[4304]	Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Ser
[4305]	435 440 445
[4306]	Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp
[4307]	450 455 460
[4308]	Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe
[4309]	465 470 475 480
[4310]	Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
[4311]	485 490 495
[4312]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
[4313]	500 505 510
[4314]	Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser
[4315]	515 520 525
[4316]	Glu Ser Val Tyr Ser Asn Asn Gln Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
[4317]	530 535 540
[4318]	Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asp Leu Ala Ser
[4319]	545 550 555 560
[4320]	Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
[4321]	565 570 575
[4322]	Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
[4323]	580 585 590
[4324]	Ala Gly Gly Phe Ser Ser Ser Ser Asp Thr Ala Phe Gly Gly Gly Thr
[4325]	595 600 605
[4326]	Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[4327]	610 615 620
[4328]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu

[4329]	625	630	635	640
[4330]	Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys			
[4331]	645	650	655	
[4332]	Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Asn Ala Met Gly Trp Val Arg			
[4333]	660	665	670	
[4334]	Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile Gly Ile Ile Ser Val Gly			
[4335]	675	680	685	
[4336]	Gly Phe Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser			
[4337]	690	695	700	
[4338]	Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg			
[4339]	705	710	715	720
[4340]	Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Asp Arg His Gly Gly			
[4341]	725	730	735	
[4342]	Asp Ser Ser Gly Ala Phe Tyr Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr			
[4343]	740	745	750	
[4344]	Val Ser Ser			
[4345]	755			
[4346]	<210> 226			
[4347]	<211> 755			
[4348]	<212> PRT			
[4349]	<213> 人工序列			
[4350]	<220>			
[4351]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列			
[4352]	<400> 226			
[4353]	Asp Phe Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly			
[4354]	1 5 10 15			
[4355]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr			
[4356]	20 25 30			
[4357]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile			
[4358]	35 40 45			
[4359]	Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
[4360]	50 55 60			
[4361]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
[4362]	65 70 75 80			
[4363]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp			
[4364]	85 90 95			
[4365]	Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly			
[4366]	100 105 110			
[4367]	Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val			

[4368]	115	120	125
[4369]	Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser		
[4370]	130	135	140
[4371]	Phe Ser Asn Ser Tyr Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys		
[4372]	145	150	155
[4373]	Cys Leu Glu Trp Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr		
[4374]	165	170	175
[4375]	Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn		
[4376]	180	185	190
[4377]	Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp		
[4378]	195	200	205
[4379]	Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly		
[4380]	210	215	220
[4381]	Tyr Ala Asn Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[4382]	225	230	235
[4383]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly		
[4384]	245	250	255
[4385]	Gly Gly Gly Ser Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala		
[4386]	260	265	270
[4387]	Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile		
[4388]	275	280	285
[4389]	Asn Asn Val Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys		
[4390]	290	295	300
[4391]	Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg		
[4392]	305	310	315
[4393]	Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser		
[4394]	325	330	335
[4395]	Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Gly		
[4396]	340	345	350
[4397]	Asn Tyr Gly Asp Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly		
[4398]	355	360	365
[4399]	Gly Gly Gly Ser Gln Ser Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val		
[4400]	370	375	380
[4401]	Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser		
[4402]	385	390	395
[4403]	Phe Ser Ser Gly Tyr Asp Met Cys Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys		
[4404]	405	410	415
[4405]	Gly Leu Glu Trp Ile Ala Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr		
[4406]	420	425	430

[4407]	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Lys	Asp	Ser
[4408]			435					440					445			
[4409]	Ser	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp
[4410]			450					455					460			
[4411]	Thr	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys	Ala	Arg	Lys	Asp	Ala	Tyr	Ser	Asp	Ala	Phe
[4412]	465					470					475					480
[4413]	Asn	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly
[4414]					485					490					495	
[4415]	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser
[4416]				500					505					510		
[4417]	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ser	Ser
[4418]			515					520					525			
[4419]	Glu	Ser	Val	Tyr	Ser	Asn	Asn	Gln	Leu	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro
[4420]		530						535					540			
[4421]	Gly	Gln	Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Asp	Ala	Ser	Asp	Leu	Ala	Ser
[4422]	545					550					555					560
[4423]	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr
[4424]					565					570					575	
[4425]	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys
[4426]				580						585				590		
[4427]	Ala	Gly	Gly	Phe	Ser	Ser	Ser	Ser	Asp	Thr	Ala	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr
[4428]			595					600					605			
[4429]	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
[4430]		610					615						620			
[4431]	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu
[4432]	625					630					635					640
[4433]	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys
[4434]				645						650					655	
[4435]	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Ala	Met	Gly	Trp	Val	Arg
[4436]			660							665				670		
[4437]	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Tyr	Ile	Gly	Ile	Ile	Ser	Val	Gly
[4438]			675							680				685		
[4439]	Gly	Phe	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser
[4440]		690						695					700			
[4441]	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg
[4442]	705					710					715					720
[4443]	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Phe	Cys	Ala	Arg	Asp	Arg	His	Gly	Gly
[4444]					725					730				735		
[4445]	Asp	Ser	Ser	Gly	Ala	Phe	Tyr	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr

[4446]	740	745	750
[4447]	Val Ser Ser		
[4448]	755		
[4449]	<210> 227		
[4450]	<211> 755		
[4451]	<212> PRT		
[4452]	<213> 人工序列		
[4453]	<220>		
[4454]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列		
[4455]	<400> 227		
[4456]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
[4457]	1 5 10 15		
[4458]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Val		
[4459]	20 25 30		
[4460]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
[4461]	35 40 45		
[4462]	Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
[4463]	50 55 60		
[4464]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
[4465]	65 70 75 80		
[4466]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Gly Asn Tyr Gly		
[4467]	85 90 95		
[4468]	Asp Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Gly		
[4469]	100 105 110		
[4470]	Ser Gln Ser Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser		
[4471]	115 120 125		
[4472]	Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser		
[4473]	130 135 140		
[4474]	Gly Tyr Asp Met Cys Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu		
[4475]	145 150 155 160		
[4476]	Trp Ile Ala Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr Tyr Tyr Ala		
[4477]	165 170 175		
[4478]	Ser Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Ser Ser Lys Asn		
[4479]	180 185 190		
[4480]	Gln Val Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val		
[4481]	195 200 205		
[4482]	Tyr Phe Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn Leu Trp		
[4483]	210 215 220		
[4484]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly		

[4485]	225	230	235	240
[4486]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Phe Gln			
[4487]		245	250	255
[4488]	Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val			
[4489]		260	265	270
[4490]	Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr Leu Ala Trp			
[4491]		275	280	285
[4492]	Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Ala			
[4493]		290	295	300
[4494]	Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser			
[4495]	305	310	315	320
[4496]	Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe			
[4497]		325	330	335
[4498]	Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp Ile Asp Asn			
[4499]		340	345	350
[4500]	Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Gly			
[4501]		355	360	365
[4502]	Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly			
[4503]		370	375	380
[4504]	Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asn			
[4505]	385	390	395	400
[4506]	Ser Tyr Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu			
[4507]		405	410	415
[4508]	Trp Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala			
[4509]		420	425	430
[4510]	Asn Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn			
[4511]		435	440	445
[4512]	Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val			
[4513]		450	455	460
[4514]	Tyr Tyr Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala Asn			
[4515]	465	470	475	480
[4516]	Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly			
[4517]		485	490	495
[4518]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser			
[4519]		500	505	510
[4520]	Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser			
[4521]		515	520	525
[4522]	Glu Ser Val Tyr Ser Asn Asn Gln Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro			
[4523]		530	535	540

[4524]	Gly	Gln	Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Asp	Ala	Ser	Asp	Leu	Ala	Ser
[4525]	545					550					555					560
[4526]	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr
[4527]					565					570						575
[4528]	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys
[4529]				580						585					590	
[4530]	Ala	Gly	Gly	Phe	Ser	Ser	Ser	Ser	Asp	Thr	Ala	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr
[4531]			595					600					605			
[4532]	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
[4533]		610					615					620				
[4534]	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu
[4535]	625					630					635					640
[4536]	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys
[4537]				645						650						655
[4538]	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Ala	Met	Gly	Trp	Val	Arg
[4539]			660							665					670	
[4540]	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Tyr	Ile	Gly	Ile	Ile	Ser	Val	Gly
[4541]			675							680					685	
[4542]	Gly	Phe	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser
[4543]		690						695				700				
[4544]	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg
[4545]	705					710					715					720
[4546]	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Phe	Cys	Ala	Arg	Asp	Arg	His	Gly	Gly
[4547]				725						730					735	
[4548]	Asp	Ser	Ser	Gly	Ala	Phe	Tyr	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr
[4549]				740						745					750	
[4550]	Val	Ser	Ser													
[4551]			755													
[4552]	<210>	228														
[4553]	<211>	755														
[4554]	<212>	PRT														
[4555]	<213>	人工序列														
[4556]	<220>															
[4557]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列														
[4558]	<400>	228														
[4559]	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
[4560]	1			5						10				15		
[4561]	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Asn	Asn	Val
[4562]				20						25				30		

[4563]	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
[4564]			35					40						45		
[4565]	Tyr	Arg	Ala	Ser	Thr	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
[4566]			50					55					60			
[4567]	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
[4568]	65					70					75					80
[4569]	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser	Ser	Tyr	Gly	Asn	Tyr	Gly
[4570]					85					90					95	
[4571]	Asp	Phe	Gly	Cys	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly
[4572]				100					105					110		
[4573]	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser
[4574]				115					120					125		
[4575]	Glu	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Phe	Ser	Phe	Ser	Ser
[4576]			130					135				140				
[4577]	Gly	Tyr	Asp	Met	Cys	Trp	Val	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu
[4578]	145					150					155					160
[4579]	Trp	Ile	Ala	Cys	Val	Val	Ala	Gly	Ser	Val	Asp	Ile	Thr	Tyr	Tyr	Ala
[4580]					165					170					175	
[4581]	Ser	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Lys	Asp	Ser	Ser	Lys	Asn
[4582]				180					185					190		
[4583]	Gln	Val	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val
[4584]			195						200					205		
[4585]	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Lys	Asp	Ala	Tyr	Ser	Asp	Ala	Phe	Asn	Leu	Trp
[4586]			210					215				220				
[4587]	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly
[4588]	225					230					235					240
[4589]	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ile	Gln
[4590]					245					250					255	
[4591]	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val
[4592]				260						265				270		
[4593]	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Asn	Asp	Tyr	Leu	Ala	Trp
[4594]				275					280				285			
[4595]	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Lys	Ala
[4596]			290					295					300			
[4597]	Ser	Thr	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser
[4598]	305					310					315					320
[4599]	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe
[4600]					325					330				335		
[4601]	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Gly	Tyr	Ile	Ile	Thr	Asp	Ile	Asp	Asn

[4602]	340							345							350								
[4603]	Val	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly						
[4604]	355							360							365								
[4605]	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly						
[4606]	370							375							380								
[4607]	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ser	Phe	Ser	Asn							
[4608]	385							390							395							400	
[4609]	Ser	Tyr	Trp	Ile	Cys	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Cys	Leu	Glu							
[4610]	405							410							415								
[4611]	Trp	Ile	Gly	Cys	Thr	Phe	Val	Gly	Ser	Ser	Asp	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala							
[4612]	420							425							430								
[4613]	Asn	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn							
[4614]	435							440							445								
[4615]	Thr	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val							
[4616]	450							455							460								
[4617]	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	His	Pro	Ser	Asp	Ala	Val	Tyr	Gly	Tyr	Ala	Asn							
[4618]	465							470							475							480	
[4619]	Asn	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly							
[4620]	485							490							495								
[4621]	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser							
[4622]	500							505							510								
[4623]	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ser	Ser							
[4624]	515							520							525								
[4625]	Glu	Ser	Val	Tyr	Ser	Asn	Asn	Gln	Leu	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro							
[4626]	530							535							540								
[4627]	Gly	Gln	Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Asp	Ala	Ser	Asp	Leu	Ala	Ser							
[4628]	545							550							555							560	
[4629]	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr							
[4630]	565							570							575								
[4631]	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys							
[4632]	580							585							590								
[4633]	Ala	Gly	Gly	Phe	Ser	Ser	Ser	Ser	Asp	Thr	Ala	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr							
[4634]	595							600							605								
[4635]	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser							
[4636]	610							615							620								
[4637]	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu							
[4638]	625							630							635							640	
[4639]	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys							
[4640]	645							650							655								

[4641]	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Ala	Met	Gly	Trp	Val	Arg
[4642]				660				665					670			
[4643]	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Tyr	Ile	Gly	Ile	Ile	Ser	Val	Gly
[4644]				675				680					685			
[4645]	Gly	Phe	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser
[4646]			690					695				700				
[4647]	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg
[4648]	705					710				715					720	
[4649]	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Phe	Cys	Ala	Arg	Asp	Arg	His	Gly	Gly
[4650]					725					730					735	
[4651]	Asp	Ser	Ser	Gly	Ala	Phe	Tyr	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr
[4652]				740						745				750		
[4653]	Val	Ser	Ser													
[4654]				755												
[4655]	<210>	229														
[4656]	<211>	759														
[4657]	<212>	PRT														
[4658]	<213>	人工序列														
[4659]	<220>															
[4660]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列														
[4661]	<400>	229														
[4662]	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
[4663]	1			5					10					15		
[4664]	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Gly	Thr	Tyr
[4665]				20					25					30		
[4666]	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
[4667]				35					40					45		
[4668]	Tyr	Arg	Ala	Phe	Ile	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
[4669]		50					55					60				
[4670]	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
[4671]	65					70					75				80	
[4672]	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser	Asn	Phe	Tyr	Ser	Asp	Ser
[4673]					85					90					95	
[4674]	Thr	Thr	Ile	Gly	Pro	Asn	Ala	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val
[4675]				100					105					110		
[4676]	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly
[4677]				115					120					125		
[4678]	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser
[4679]				130					135					140		

[4680]	Gly	Phe	Ser	Phe	Ser	Ala	Asn	Tyr	Tyr	Pro	Cys	Trp	Val	Arg	Gln	Ala
[4681]	145					150					155					160
[4682]	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Cys	Ile	Tyr	Gly	Gly	Ser	Ser
[4683]					165					170					175	
[4684]	Asp	Ile	Thr	Tyr	Asp	Ala	Asn	Trp	Thr	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser
[4685]				180					185					190		
[4686]	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg
[4687]		195					200					205				
[4688]	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Ser	Ala	Trp	Tyr	Ser
[4689]		210					215					220				
[4690]	Gly	Trp	Gly	Gly	Asp	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser
[4691]	225					230					235					240
[4692]	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
[4693]				245						250						255
[4694]	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser
[4695]				260						265					270	
[4696]	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser	Gln	Ser
[4697]			275					280					285			
[4698]	Ile	Ser	Asn	Arg	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro
[4699]		290					295					300				
[4700]	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Ser	Ala	Ser	Thr	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser
[4701]	305					310					315					320
[4702]	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser
[4703]				325						330					335	
[4704]	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser	Thr	Tyr
[4705]			340						345				350			
[4706]	Tyr	Gly	Asn	Asp	Gly	Asn	Ala	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val
[4707]			355					360					365			
[4708]	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly
[4709]		370					375					380				
[4710]	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser
[4711]	385					390					395					400
[4712]	Gly	Phe	Ser	Phe	Asn	Ser	Asp	Tyr	Trp	Ile	Tyr	Trp	Val	Arg	Gln	Ala
[4713]				405						410					415	
[4714]	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Ala	Ser	Ile	Tyr	Gly	Gly	Ser	Ser
[4715]				420					425				430			
[4716]	Gly	Asn	Thr	Gln	Tyr	Ala	Ser	Trp	Ala	Gln	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser
[4717]			435					440					445			
[4718]	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg

[4719]	450	455	460
[4720]	Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Tyr Val Asp Tyr		
[4721]	465	470	475 480
[4722]	Gly Gly Ala Thr Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser		
[4723]	485	490	495
[4724]	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Gln Met Thr Gln		
[4725]	500	505	510
[4726]	Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr		
[4727]	515	520	525
[4728]	Cys Gln Ser Ser Glu Ser Val Tyr Ser Asn Asn Gln Leu Ser Trp Tyr		
[4729]	530	535	540
[4730]	Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser		
[4731]	545	550	555 560
[4732]	Asp Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly		
[4733]	565	570	575
[4734]	Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala		
[4735]	580	585	590
[4736]	Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Phe Ser Ser Ser Ser Asp Thr Ala Phe		
[4737]	595	600	605
[4738]	Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly		
[4739]	610	615	620
[4740]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val		
[4741]	625	630	635 640
[4742]	Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu		
[4743]	645	650	655
[4744]	Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Asn Ala Met		
[4745]	660	665	670
[4746]	Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile Gly Ile		
[4747]	675	680	685
[4748]	Ile Ser Val Gly Gly Phe Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg		
[4749]	690	695	700
[4750]	Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met		
[4751]	705	710	715 720
[4752]	Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Asp		
[4753]	725	730	735
[4754]	Arg His Gly Gly Asp Ser Ser Gly Ala Phe Tyr Leu Trp Gly Gln Gly		
[4755]	740	745	750
[4756]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[4757]	755		

[4797]	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Phe	Gln	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser
[4798]				260					265						270	
[4799]	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser	Gln	Ser
[4800]				275					280						285	
[4801]	Ile	Ser	Asn	Arg	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Pro	Pro
[4802]				290					295						300	
[4803]	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Ser	Ala	Ser	Thr	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser
[4804]				305					310						315	
[4805]	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser
[4806]									325						330	
[4807]	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser	Thr	Tyr
[4808]									340						345	
[4809]	Tyr	Gly	Asn	Asp	Gly	Asn	Ala	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val
[4810]									355						360	
[4811]	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly
[4812]									370						375	
[4813]	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser
[4814]									385						390	
[4815]	Gly	Phe	Ser	Phe	Asn	Ser	Asp	Tyr	Trp	Ile	Tyr	Trp	Val	Arg	Gln	Ala
[4816]									405						410	
[4817]	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Ala	Ser	Ile	Tyr	Gly	Gly	Ser	Ser
[4818]									420						425	
[4819]	Gly	Asn	Thr	Gln	Tyr	Ala	Ser	Trp	Ala	Gln	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser
[4820]									435						440	
[4821]	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg
[4822]									450						455	
[4823]	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys	Ala	Arg	Gly	Tyr	Val	Asp	Tyr
[4824]									465						470	
[4825]	Gly	Gly	Ala	Thr	Asp	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser
[4826]									485						490	
[4827]	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ile	Gln	Met	Thr	Gln
[4828]									500						505	
[4829]	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr
[4830]									515						520	
[4831]	Cys	Gln	Ser	Ser	Glu	Ser	Val	Tyr	Ser	Asn	Asn	Gln	Leu	Ser	Trp	Tyr
[4832]									530						535	
[4833]	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Asp	Ala	Ser
[4834]									545						550	
[4835]	Asp	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly

[4836]		565		570		575
[4837]	Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala					
[4838]		580		585		590
[4839]	Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Phe Ser Ser Ser Ser Asp Thr Ala Phe					
[4840]		595		600		605
[4841]	Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly					
[4842]		610		615		620
[4843]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val					
[4844]	625		630		635	640
[4845]	Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu					
[4846]		645		650		655
[4847]	Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Asn Ala Met					
[4848]		660		665		670
[4849]	Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile Gly Ile					
[4850]		675		680		685
[4851]	Ile Ser Val Gly Gly Phe Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg					
[4852]		690		695		700
[4853]	Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met					
[4854]	705		710		715	720
[4855]	Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Asp					
[4856]		725		730		735
[4857]	Arg His Gly Gly Asp Ser Ser Gly Ala Phe Tyr Leu Trp Gly Gln Gly					
[4858]		740		745		750
[4859]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser					
[4860]		755				
[4861]	<210>	231				
[4862]	<211>	759				
[4863]	<212>	PRT				
[4864]	<213>	人工序列				
[4865]	<220>					
[4866]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列				
[4867]	<400>	231				
[4868]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly					
[4869]	1	5		10		15
[4870]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Tyr					
[4871]		20		25		30
[4872]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile					
[4873]		35		40		45
[4874]	Tyr Arg Ala Phe Ile Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly					

[4875]	50	55	60
[4876]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
[4877]	65	70	75
[4878]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Asn Phe Tyr Ser Asp Ser		
[4879]	85	90	95
[4880]	Thr Thr Ile Gly Pro Asn Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val		
[4881]	100	105	110
[4882]	Leu Gly Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly		
[4883]	115	120	125
[4884]	Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser		
[4885]	130	135	140
[4886]	Gly Phe Ser Phe Ser Ala Asn Tyr Tyr Pro Cys Trp Val Arg Gln Ala		
[4887]	145	150	155
[4888]	Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Ile Gly Cys Ile Tyr Gly Gly Ser Ser		
[4889]	165	170	175
[4890]	Asp Ile Thr Tyr Asp Ala Asn Trp Thr Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser		
[4891]	180	185	190
[4892]	Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg		
[4893]	195	200	205
[4894]	Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Ala Trp Tyr Ser		
[4895]	210	215	220
[4896]	Gly Trp Gly Gly Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser		
[4897]	225	230	235
[4898]	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
[4899]	245	250	255
[4900]	Gly Gly Gly Gly Ser Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser		
[4901]	260	265	270
[4902]	Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser		
[4903]	275	280	285
[4904]	Ile Ser Asn Arg Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro		
[4905]	290	295	300
[4906]	Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser		
[4907]	305	310	315
[4908]	Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser		
[4909]	325	330	335
[4910]	Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Thr Tyr		
[4911]	340	345	350
[4912]	Tyr Gly Asn Asp Gly Asn Ala Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Thr Val		
[4913]	355	360	365

[4914]	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly
[4915]	370						375				380					
[4916]	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser
[4917]	385					390				395						400
[4918]	Gly	Phe	Ser	Phe	Asn	Ser	Asp	Tyr	Trp	Ile	Tyr	Trp	Val	Arg	Gln	Ala
[4919]					405					410					415	
[4920]	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Ala	Ser	Ile	Tyr	Gly	Gly	Ser	Ser
[4921]				420					425					430		
[4922]	Gly	Asn	Thr	Gln	Tyr	Ala	Ser	Trp	Ala	Gln	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser
[4923]			435					440					445			
[4924]	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg
[4925]	450						455					460				
[4926]	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys	Ala	Arg	Gly	Tyr	Val	Asp	Tyr
[4927]	465					470					475					480
[4928]	Gly	Gly	Ala	Thr	Asp	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser
[4929]					485					490						495
[4930]	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ile	Gln	Met	Thr	Gln
[4931]				500					505					510		
[4932]	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr
[4933]			515						520					525		
[4934]	Cys	Gln	Ser	Ser	Glu	Ser	Val	Tyr	Ser	Asn	Asn	Gln	Leu	Ser	Trp	Tyr
[4935]	530						535					540				
[4936]	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Asp	Ala	Ser
[4937]	545					550					555					560
[4938]	Asp	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly
[4939]					565					570					575	
[4940]	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala
[4941]				580					585					590		
[4942]	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Gly	Gly	Phe	Ser	Ser	Ser	Ser	Asp	Thr	Ala	Phe
[4943]			595					600					605			
[4944]	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly
[4945]	610						615					620				
[4946]	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val
[4947]	625					630					635					640
[4948]	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu
[4949]					645					650					655	
[4950]	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Ala	Met
[4951]				660					665					670		
[4952]	Gly	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Tyr	Ile	Gly	Ile

[4953]	675	680	685
[4954]	Ile Ser Val Gly Gly Phe Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg		
[4955]	690	695	700
[4956]	Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met		
[4957]	705	710	715
[4958]	Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Asp		
[4959]	725	730	735
[4960]	Arg His Gly Gly Asp Ser Ser Gly Ala Phe Tyr Leu Trp Gly Gln Gly		
[4961]	740	745	750
[4962]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[4963]	755		
[4964]	<210> 232		
[4965]	<211> 478		
[4966]	<212> PRT		
[4967]	<213> 人工序列		
[4968]	<220>		
[4969]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列		
[4970]	<400> 232		
[4971]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
[4972]	1	5	10
[4973]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr		
[4974]	20	25	30
[4975]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
[4976]	35	40	45
[4977]	Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
[4978]	50	55	60
[4979]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
[4980]	65	70	75
[4981]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp		
[4982]	85	90	95
[4983]	Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Thr		
[4984]	100	105	110
[4985]	Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu		
[4986]	115	120	125
[4987]	Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro		
[4988]	130	135	140
[4989]	Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly		
[4990]	145	150	155
[4991]	Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr		

[4992]					165					170						175
[4993]	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His
[4994]					180					185						190
[4995]	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val
[4996]					195					200						205
[4997]	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly
[4998]					210					215						220
[4999]	Gly	Gly	Ser	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser
[5000]					225					230						240
[5001]	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Asn
[5002]					245					250						255
[5003]	Asn	Val	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu
[5004]					260					265						270
[5005]	Leu	Ile	Tyr	Arg	Ala	Ser	Thr	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe
[5006]					275					280						285
[5007]	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu
[5008]					290					295						300
[5009]	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser	Ser	Tyr	Gly	Asn
[5010]					305					310						320
[5011]	Tyr	Gly	Asp	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly
[5012]					325					330						335
[5013]	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly
[5014]					340					345						350
[5015]	Gly	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro
[5016]					355					360						365
[5017]	Ser	Glu	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Lys	Val	Ser	Gly	Phe	Ser	Phe	Ser
[5018]					370					375						380
[5019]	Asn	Ser	Tyr	Trp	Ile	Cys	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu
[5020]					385					390						400
[5021]	Glu	Trp	Ile	Gly	Cys	Thr	Phe	Val	Gly	Ser	Ser	Asp	Ser	Thr	Tyr	Tyr
[5022]					405					410						415
[5023]	Ala	Asn	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Ser	Ser	Lys
[5024]					420					425						430
[5025]	Asn	Gln	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala
[5026]					435					440						445
[5027]	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	His	Pro	Ser	Asp	Ala	Val	Tyr	Gly	Tyr	Ala
[5028]					450					455						460
[5029]	Asn	Asn	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser		
[5030]					465					470						475

[5031]	<210>	233														
[5032]	<211>	451														
[5033]	<212>	PRT														
[5034]	<213>	人工序列														
[5035]	<220>															
[5036]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列														
[5037]	<400>	233														
[5038]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu															
[5039]	1	5	10	15												
[5040]	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Gly															
[5041]		20	25	30												
[5042]	Tyr Asp Met Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp															
[5043]		35	40	45												
[5044]	Ile Gly Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser															
[5045]		50	55	60												
[5046]	Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln															
[5047]	65	70	75	80												
[5048]	Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr															
[5049]		85	90	95												
[5050]	Tyr Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn Leu Trp Gly															
[5051]		100	105	110												
[5052]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser															
[5053]		115	120	125												
[5054]	Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala															
[5055]		130	135	140												
[5056]	Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val															
[5057]	145	150	155	160												
[5058]	Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala															
[5059]		165	170	175												
[5060]	Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val															
[5061]		180	185	190												
[5062]	Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His															
[5063]		195	200	205												
[5064]	Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys															
[5065]		210	215	220												
[5066]	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly															
[5067]	225	230	235	240												
[5068]	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met															
[5069]		245	250	255												

[5070]	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[5071]	260 265 270
[5072]	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[5073]	275 280 285
[5074]	His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[5075]	290 295 300
[5076]	Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[5077]	305 310 315 320
[5078]	Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
[5079]	325 330 335
[5080]	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[5081]	340 345 350
[5082]	Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
[5083]	355 360 365
[5084]	Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[5085]	370 375 380
[5086]	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[5087]	385 390 395 400
[5088]	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[5089]	405 410 415
[5090]	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[5091]	420 425 430
[5092]	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[5093]	435 440 445
[5094]	Pro Gly Lys
[5095]	450
[5096]	<210> 234
[5097]	<211> 217
[5098]	<212> PRT
[5099]	<213> 人工序列
[5100]	<220>
[5101]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[5102]	<400> 234
[5103]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[5104]	1 5 10 15
[5105]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr
[5106]	20 25 30
[5107]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[5108]	35 40 45

[5109]	Tyr	Lys	Ala	Ser	Thr	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
[5110]	50						55				60					
[5111]	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
[5112]	65					70				75					80	
[5113]	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Gly	Tyr	Ile	Ile	Thr	Asp
[5114]					85					90					95	
[5115]	Ile	Asp	Asn	Val	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly	Thr
[5116]				100					105					110		
[5117]	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu
[5118]				115					120				125			
[5119]	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro
[5120]		130					135					140				
[5121]	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly
[5122]	145					150				155					160	
[5123]	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr
[5124]					165					170					175	
[5125]	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His
[5126]				180						185				190		
[5127]	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val
[5128]			195						200					205		
[5129]	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys							
[5130]		210					215									
[5131]	<210>	235														
[5132]	<211>	712														
[5133]	<212>	PRT														
[5134]	<213>	人工序列														
[5135]	<220>															
[5136]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列														
[5137]	<400>	235														
[5138]	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Glu
[5139]	1			5					10					15		
[5140]	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Lys	Val	Ser	Gly	Phe	Ser	Phe	Ser	Ser	Gly
[5141]				20					25					30		
[5142]	Tyr	Asp	Met	Cys	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp
[5143]			35					40					45			
[5144]	Ile	Gly	Cys	Val	Val	Ala	Gly	Ser	Val	Asp	Ile	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Ser
[5145]		50					55				60					
[5146]	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Ser	Ser	Lys	Asn	Gln
[5147]	65					70					75				80	

[5148]	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr
[5149]					85					90					95	
[5150]	Tyr	Cys	Ala	Arg	Lys	Asp	Ala	Tyr	Ser	Asp	Ala	Phe	Asn	Leu	Trp	Gly
[5151]					100					105					110	
[5152]	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser
[5153]					115					120					125	
[5154]	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala
[5155]					130					135					140	
[5156]	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val
[5157]																
[5158]	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala
[5159]					165					170						175
[5160]	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val
[5161]					180					185						190
[5162]	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His
[5163]					195					200						205
[5164]	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys
[5165]					210					215						220
[5166]	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly
[5167]																
[5168]	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
[5169]					245					250						255
[5170]	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His
[5171]					260					265						270
[5172]	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
[5173]					275					280						285
[5174]	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
[5175]					290					295						300
[5176]	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
[5177]																
[5178]	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile
[5179]					325					330						335
[5180]	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
[5181]					340					345						350
[5182]	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
[5183]					355					360						365
[5184]	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
[5185]					370					375						380
[5186]	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro

[5187]	385	390	395	400
[5188]	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val			
[5189]	405	410	415	
[5190]	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met			
[5191]	420	425	430	
[5192]	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser			
[5193]	435	440	445	
[5194]	Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Gln Met			
[5195]	450	455	460	
[5196]	Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr			
[5197]	465	470	475	480
[5198]	Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Val Leu Ala Trp Tyr			
[5199]	485	490	495	
[5200]	Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser			
[5201]	500	505	510	
[5202]	Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly			
[5203]	515	520	525	
[5204]	Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala			
[5205]	530	535	540	
[5206]	Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Gly Asn Tyr Gly Asp Phe Gly Thr			
[5207]	545	550	555	560
[5208]	Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly			
[5209]	565	570	575	
[5210]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu			
[5211]	580	585	590	
[5212]	Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu			
[5213]	595	600	605	
[5214]	Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asn Ser Tyr Trp Ile Cys			
[5215]	610	615	620	
[5216]	Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Thr			
[5217]	625	630	635	640
[5218]	Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly			
[5219]	645	650	655	
[5220]	Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys			
[5221]	660	665	670	
[5222]	Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg			
[5223]	675	680	685	
[5224]	His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala Asn Asn Leu Trp Gly Gln			
[5225]	690	695	700	

[5226]	Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[5227]	705	710	
[5228]	<210>	236	
[5229]	<211>	478	
[5230]	<212>	PRT	
[5231]	<213>	人工序列	
[5232]	<220>		
[5233]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列	
[5234]	<400>	236	
[5235]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
[5236]	1	5	10 15
[5237]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr		
[5238]		20	25 30
[5239]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
[5240]		35	40 45
[5241]	Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
[5242]		50	55 60
[5243]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
[5244]		65	70 75 80
[5245]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp		
[5246]		85	90 95
[5247]	Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Thr		
[5248]		100	105 110
[5249]	Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu		
[5250]		115	120 125
[5251]	Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro		
[5252]		130	135 140
[5253]	Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly		
[5254]		145	150 155 160
[5255]	Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr		
[5256]		165	170 175
[5257]	Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His		
[5258]		180	185 190
[5259]	Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val		
[5260]		195	200 205
[5261]	Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly		
[5262]		210	215 220
[5263]	Gly Gly Ser Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser		
[5264]		225	230 235 240

[5265]	Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn		
[5266]		245	250
[5267]	Asn Val Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu		
[5268]		260	265
[5269]	Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe		
[5270]		275	280
[5271]	Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu		
[5272]		290	295
[5273]	Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Gly Asn		
[5274]	305	310	315
[5275]	Tyr Gly Asp Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly Gly		
[5276]		325	330
[5277]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly		
[5278]		340	345
[5279]	Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro		
[5280]		355	360
[5281]	Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Ser		
[5282]		370	375
[5283]	Asn Ser Tyr Trp Ile Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu		
[5284]	385	390	395
[5285]	Glu Trp Ile Gly Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr Tyr Tyr		
[5286]		405	410
[5287]	Ala Asn Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys		
[5288]		420	425
[5289]	Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala		
[5290]		435	440
[5291]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala		
[5292]		450	455
[5293]	Asn Asn Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[5294]	465	470	475
[5295]	<210>	237	
[5296]	<211>	451	
[5297]	<212>	PRT	
[5298]	<213>	人工序列	
[5299]	<220>		
[5300]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列	
[5301]	<400>	237	
[5302]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu		
[5303]	1	5	10

[5304]	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Lys	Val	Ser	Gly	Phe	Ser	Phe	Ser	Ser	Gly
[5305]				20					25					30		
[5306]	Tyr	Asp	Met	Cys	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp
[5307]			35					40					45			
[5308]	Ile	Gly	Cys	Val	Val	Ala	Gly	Ser	Val	Asp	Ile	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Ser
[5309]		50					55					60				
[5310]	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Ser	Ser	Lys	Asn	Gln
[5311]	65					70					75					80
[5312]	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr
[5313]					85					90					95	
[5314]	Tyr	Cys	Ala	Arg	Lys	Asp	Ala	Tyr	Ser	Asp	Ala	Phe	Asn	Leu	Trp	Gly
[5315]			100						105					110		
[5316]	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser
[5317]			115					120					125			
[5318]	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala
[5319]		130					135					140				
[5320]	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val
[5321]	145					150					155					160
[5322]	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala
[5323]				165						170					175	
[5324]	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val
[5325]			180						185					190		
[5326]	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His
[5327]		195						200					205			
[5328]	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys
[5329]		210					215					220				
[5330]	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly
[5331]	225					230					235					240
[5332]	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
[5333]				245						250					255	
[5334]	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His
[5335]			260						265					270		
[5336]	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
[5337]		275						280					285			
[5338]	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
[5339]		290						295					300			
[5340]	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
[5341]	305					310					315					320
[5342]	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile

[5343]		325		330		335
[5344]	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val					
[5345]		340		345		350
[5346]	Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser					
[5347]		355		360		365
[5348]	Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu					
[5349]		370		375		380
[5350]	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro					
[5351]		385		390		395
[5352]	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val					
[5353]		405		410		415
[5354]	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met					
[5355]		420		425		430
[5356]	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser					
[5357]		435		440		445
[5358]	Pro Gly Lys					
[5359]		450				
[5360]	<210>	238				
[5361]	<211>	217				
[5362]	<212>	PRT				
[5363]	<213>	人工序列				
[5364]	<220>					
[5365]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列				
[5366]	<400>	238				
[5367]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly					
[5368]	1	5		10		15
[5369]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr					
[5370]		20		25		30
[5371]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile					
[5372]		35		40		45
[5373]	Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly					
[5374]		50		55		60
[5375]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro					
[5376]		65		70		75
[5377]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ile Ile Thr Asp					
[5378]		85		90		95
[5379]	Ile Asp Asn Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Thr					
[5380]		100		105		110
[5381]	Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu					

[5382]	115	120	125
[5383]	Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro		
[5384]	130	135	140
[5385]	Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly		
[5386]	145	150	155
[5387]	Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr		
[5388]	165	170	175
[5389]	Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His		
[5390]	180	185	190
[5391]	Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val		
[5392]	195	200	205
[5393]	Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
[5394]	210	215	
[5395]	<210>	239	
[5396]	<211>	712	
[5397]	<212>	PRT	
[5398]	<213>	人工序列	
[5399]	<220>		
[5400]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列	
[5401]	<400>	239	
[5402]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu		
[5403]	1	5	10
[5404]	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Gly		
[5405]	20	25	30
[5406]	Tyr Asp Met Cys Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp		
[5407]	35	40	45
[5408]	Ile Gly Cys Val Val Ala Gly Ser Val Asp Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser		
[5409]	50	55	60
[5410]	Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln		
[5411]	65	70	75
[5412]	Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr		
[5413]	85	90	95
[5414]	Tyr Cys Ala Arg Lys Asp Ala Tyr Ser Asp Ala Phe Asn Leu Trp Gly		
[5415]	100	105	110
[5416]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser		
[5417]	115	120	125
[5418]	Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala		
[5419]	130	135	140
[5420]	Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val		

[5421]	145					150					155					160
[5422]	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala
[5423]						165					170					175
[5424]	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val
[5425]						180					185					190
[5426]	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His
[5427]						195					200				205	
[5428]	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys
[5429]						210						220				
[5430]	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly
[5431]	225						230					235				240
[5432]	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
[5433]						245					250					255
[5434]	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His
[5435]						260					265				270	
[5436]	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
[5437]						275					280				285	
[5438]	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
[5439]						290					295				300	
[5440]	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
[5441]	305						310					315				320
[5442]	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile
[5443]						325					330				335	
[5444]	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
[5445]						340					345				350	
[5446]	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
[5447]						355					360				365	
[5448]	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
[5449]						370					375				380	
[5450]	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
[5451]	385						390					395				400
[5452]	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
[5453]						405					410					415
[5454]	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
[5455]						420					425				430	
[5456]	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
[5457]						435					440				445	
[5458]	Pro	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ile	Gln	Met
[5459]						450						460				

[5460]	Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
[5461]	465 470 475 480
[5462]	Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Val Leu Ala Trp Tyr
[5463]	485 490 495
[5464]	Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser
[5465]	500 505 510
[5466]	Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
[5467]	515 520 525
[5468]	Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
[5469]	530 535 540
[5470]	Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Gly Asn Tyr Gly Asp Phe Gly Thr
[5471]	545 550 555 560
[5472]	Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[5473]	565 570 575
[5474]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu
[5475]	580 585 590
[5476]	Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu
[5477]	595 600 605
[5478]	Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asn Ser Tyr Trp Ile Cys
[5479]	610 615 620
[5480]	Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Thr
[5481]	625 630 635 640
[5482]	Phe Val Gly Ser Ser Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly
[5483]	645 650 655
[5484]	Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys
[5485]	660 665 670
[5486]	Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
[5487]	675 680 685
[5488]	His Pro Ser Asp Ala Val Tyr Gly Tyr Ala Asn Asn Leu Trp Gly Gln
[5489]	690 695 700
[5490]	Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[5491]	705 710
[5492]	<210> 240
[5493]	<211> 217
[5494]	<212> PRT
[5495]	<213> 人工序列
[5496]	<220>
[5497]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列
[5498]	<400> 240

[5499]	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
[5500]	1				5					10					15	
[5501]	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Asn	Asp	Tyr
[5502]				20					25					30		
[5503]	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
[5504]			35					40					45			
[5505]	Tyr	Lys	Ala	Ser	Thr	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
[5506]		50					55					60				
[5507]	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
[5508]	65					70					75				80	
[5509]	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Gly	Tyr	Ile	Ile	Thr	Asp
[5510]					85					90					95	
[5511]	Ile	Asp	Asn	Val	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Gly	Thr
[5512]				100					105					110		
[5513]	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu
[5514]			115					120					125			
[5515]	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro
[5516]		130					135					140				
[5517]	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly
[5518]	145					150				155					160	
[5519]	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr
[5520]				165					170					175		
[5521]	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His
[5522]				180					185					190		
[5523]	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val
[5524]			195					200					205			
[5525]	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys							
[5526]		210					215									
[5527]	<210>	241														
[5528]	<211>	451														
[5529]	<212>	PRT														
[5530]	<213>	人工序列														
[5531]	<220>															
[5532]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列														
[5533]	<400>	241														
[5534]	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Glu
[5535]	1				5					10				15		
[5536]	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Lys	Val	Ser	Gly	Phe	Ser	Phe	Ser	Ser	Gly
[5537]				20					25				30			

[5538]	Tyr	Asp	Met	Cys	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp
[5539]			35					40					45			
[5540]	Ile	Gly	Cys	Val	Val	Ala	Gly	Ser	Val	Asp	Ile	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Ser
[5541]		50					55					60				
[5542]	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Ser	Ser	Lys	Asn	Gln
[5543]	65					70					75				80	
[5544]	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr
[5545]				85						90					95	
[5546]	Tyr	Cys	Ala	Arg	Lys	Asp	Ala	Tyr	Ser	Asp	Ala	Phe	Asn	Leu	Trp	Gly
[5547]			100						105					110		
[5548]	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser
[5549]			115						120				125			
[5550]	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala
[5551]		130						135					140			
[5552]	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val
[5553]	145					150					155				160	
[5554]	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala
[5555]				165						170					175	
[5556]	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val
[5557]			180							185					190	
[5558]	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His
[5559]			195						200				205			
[5560]	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys
[5561]		210					215					220				
[5562]	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly
[5563]	225					230					235				240	
[5564]	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
[5565]				245						250					255	
[5566]	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His
[5567]			260						265					270		
[5568]	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
[5569]			275						280				285			
[5570]	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
[5571]		290						295				300				
[5572]	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
[5573]	305					310					315				320	
[5574]	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile
[5575]				325						330				335		
[5576]	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val

[5577]		340		345		350											
[5578]	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	
[5579]			355					360					365				
[5580]	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	
[5581]		370					375					380					
[5582]	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	
[5583]	385					390					395					400	
[5584]	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	
[5585]				405					410					415			
[5586]	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	
[5587]				420				425					430				
[5588]	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	
[5589]			435					440					445				
[5590]	Pro	Gly	Lys														
[5591]		450															
[5592]	<210>	242															
[5593]	<211>	220															
[5594]	<212>	PRT															
[5595]	<213>	人工序列															
[5596]	<220>																
[5597]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列															
[5598]	<400>	242															
[5599]	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	
[5600]	1			5					10					15			
[5601]	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Gly	Thr	Tyr	
[5602]			20					25					30				
[5603]	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	
[5604]		35					40						45				
[5605]	Tyr	Arg	Ala	Phe	Ile	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	
[5606]		50					55					60					
[5607]	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	
[5608]	65					70					75					80	
[5609]	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser	Asn	Phe	Tyr	Ser	Asp	Ser	
[5610]				85					90					95			
[5611]	Thr	Thr	Ile	Gly	Pro	Asn	Ala	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val	Thr	Val	
[5612]			100						105				110				
[5613]	Leu	Gly	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	
[5614]			115					120					125				
[5615]	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	

[5616]	130	135	140
[5617]	Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu		
[5618]	145	150	155
[5619]	Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp		
[5620]	165	170	175
[5621]	Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr		
[5622]	180	185	190
[5623]	Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser		
[5624]	195	200	205
[5625]	Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
[5626]	210	215	220
[5627]	<210> 243		
[5628]	<211> 452		
[5629]	<212> PRT		
[5630]	<213> 人工序列		
[5631]	<220>		
[5632]	<223> 重组抗体或其功能部分的序列		
[5633]	<400> 243		
[5634]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu		
[5635]	1	5	10
[5636]	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Lys Val Ser Gly Phe Ser Phe Asn Ser Asp		
[5637]	20	25	30
[5638]	Tyr Trp Ile Tyr Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp		
[5639]	35	40	45
[5640]	Ile Gly Ser Ile Tyr Gly Gly Ser Ser Gly Asn Thr Gln Tyr Ala Ser		
[5641]	50	55	60
[5642]	Trp Ala Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln		
[5643]	65	70	75
[5644]	Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr		
[5645]	85	90	95
[5646]	Tyr Cys Ala Arg Gly Tyr Val Asp Tyr Gly Gly Ala Thr Asp Leu Trp		
[5647]	100	105	110
[5648]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro		
[5649]	115	120	125
[5650]	Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr		
[5651]	130	135	140
[5652]	Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr		
[5653]	145	150	155
[5654]	Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro		

[5655]		165		170		175
[5656]	Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr					
[5657]		180		185		190
[5658]	Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn					
[5659]		195		200		205
[5660]	His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser					
[5661]		210		215		220
[5662]	Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu					
[5663]	225		230		235	240
[5664]	Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu					
[5665]		245		250		255
[5666]	Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser					
[5667]		260		265		270
[5668]	His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu					
[5669]		275		280		285
[5670]	Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr					
[5671]		290		295		300
[5672]	Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn					
[5673]	305		310		315	320
[5674]	Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro					
[5675]		325		330		335
[5676]	Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln					
[5677]		340		345		350
[5678]	Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val					
[5679]		355		360		365
[5680]	Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val					
[5681]		370		375		380
[5682]	Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro					
[5683]	385		390		395	400
[5684]	Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr					
[5685]		405		410		415
[5686]	Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val					
[5687]		420		425		430
[5688]	Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu					
[5689]		435		440		445
[5690]	Ser Pro Gly Lys					
[5691]		450				
[5692]	<210>	244				
[5693]	<211>	214				

[5694]	<212>	PRT
[5695]	<213>	人工序列
[5696]	<220>	
[5697]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列
[5698]	<400>	244
[5699]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
[5700]	1 5 10 15	
[5701]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Val	
[5702]	20 25 30	
[5703]	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	
[5704]	35 40 45	
[5705]	Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
[5706]	50 55 60	
[5707]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
[5708]	65 70 75 80	
[5709]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ser Tyr Gly Asn Tyr Gly	
[5710]	85 90 95	
[5711]	Asp Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Thr Val Ala Ala	
[5712]	100 105 110	
[5713]	Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly	
[5714]	115 120 125	
[5715]	Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala	
[5716]	130 135 140	
[5717]	Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln	
[5718]	145 150 155 160	
[5719]	Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser	
[5720]	165 170 175	
[5721]	Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr	
[5722]	180 185 190	
[5723]	Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser	
[5724]	195 200 205	
[5725]	Phe Asn Arg Gly Glu Cys	
[5726]	210	
[5727]	<210>	245
[5728]	<211>	451
[5729]	<212>	PRT
[5730]	<213>	人工序列
[5731]	<220>	
[5732]	<223>	重组抗体或其功能部分的序列

[5733]	<400>	245																	
[5734]	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Glu			
[5735]	1				5					10					15				
[5736]	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Lys	Val	Ser	Gly	Phe	Ser	Phe	Ser	Asn	Ser			
[5737]				20					25					30					
[5738]	Tyr	Trp	Ile	Cys	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp			
[5739]				35				40					45						
[5740]	Ile	Gly	Cys	Thr	Phe	Val	Gly	Ser	Ser	Asp	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asn			
[5741]		50						55				60							
[5742]	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Ser	Ser	Lys	Asn	Gln			
[5743]	65					70					75					80			
[5744]	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr			
[5745]					85				90						95				
[5746]	Tyr	Cys	Ala	Arg	His	Pro	Ser	Asp	Ala	Val	Tyr	Gly	Tyr	Ala	Asn	Asn			
[5747]				100					105					110					
[5748]	Leu	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys			
[5749]				115					120					125					
[5750]	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu			
[5751]		130						135					140						
[5752]	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro			
[5753]	145					150					155				160				
[5754]	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr			
[5755]					165					170					175				
[5756]	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val			
[5757]				180					185					190					
[5758]	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn			
[5759]				195					200					205					
[5760]	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser			
[5761]		210						215					220						
[5762]	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly			
[5763]	225					230					235					240			
[5764]	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met			
[5765]					245					250					255				
[5766]	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln			
[5767]				260					265					270					
[5768]	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val			
[5769]				275					280					285					
[5770]	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr			
[5771]		290						295					300						

[5772]	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
[5773]	305					310					315					320
[5774]	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile
[5775]					325					330						335
[5776]	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
[5777]				340					345					350		
[5778]	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
[5779]			355				360					365				
[5780]	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
[5781]		370					375					380				
[5782]	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
[5783]	385					390					395					400
[5784]	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val
[5785]					405					410						415
[5786]	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
[5787]				420					425					430		
[5788]	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
[5789]			435					440					445			
[5790]	Leu	Gly	Lys													
[5791]		450														

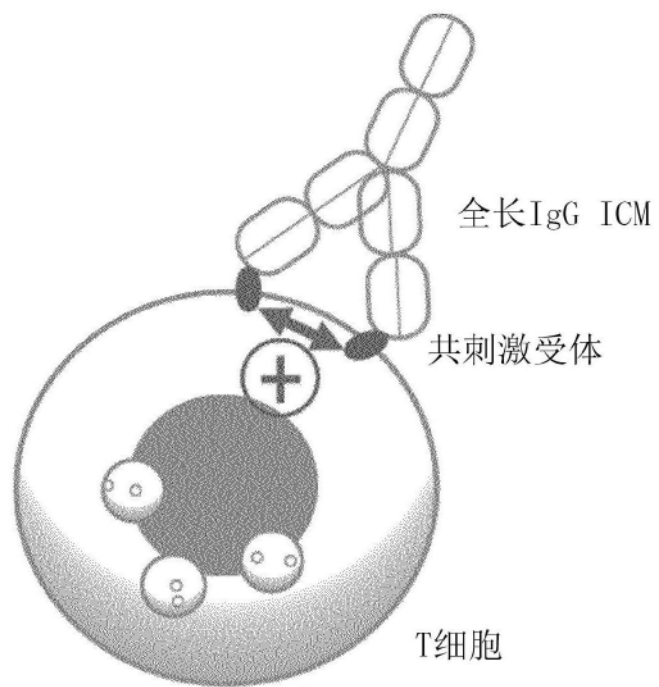
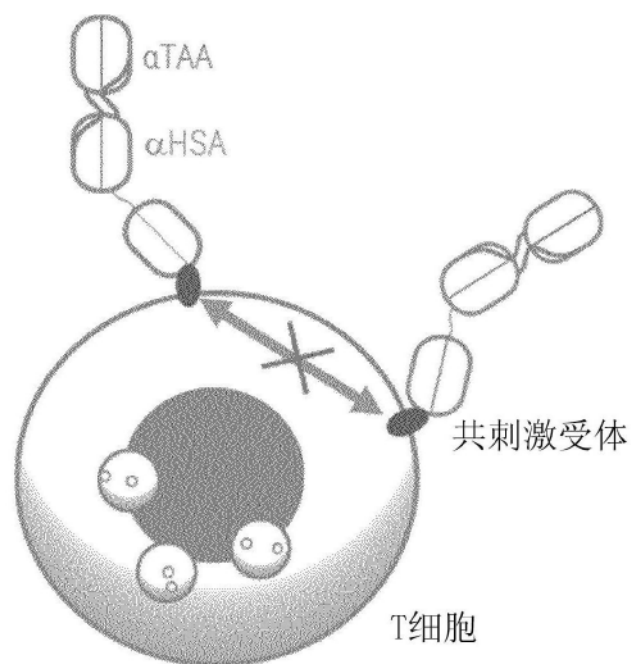
(A)**(B)**

图1

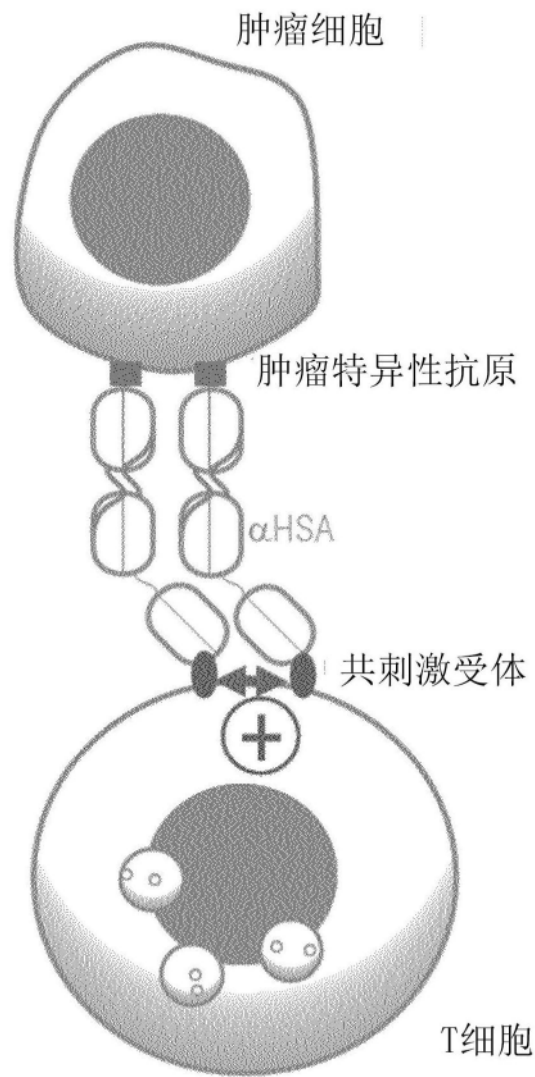


图1C

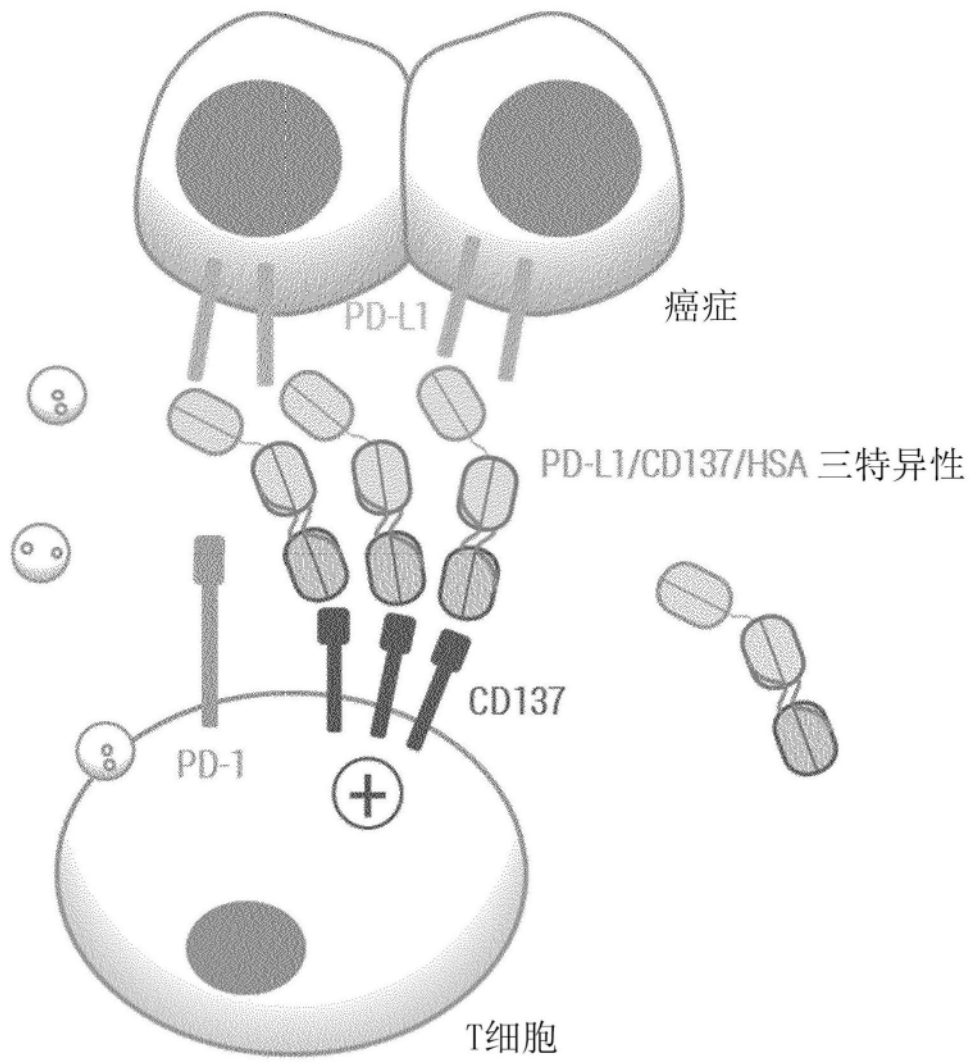


图2

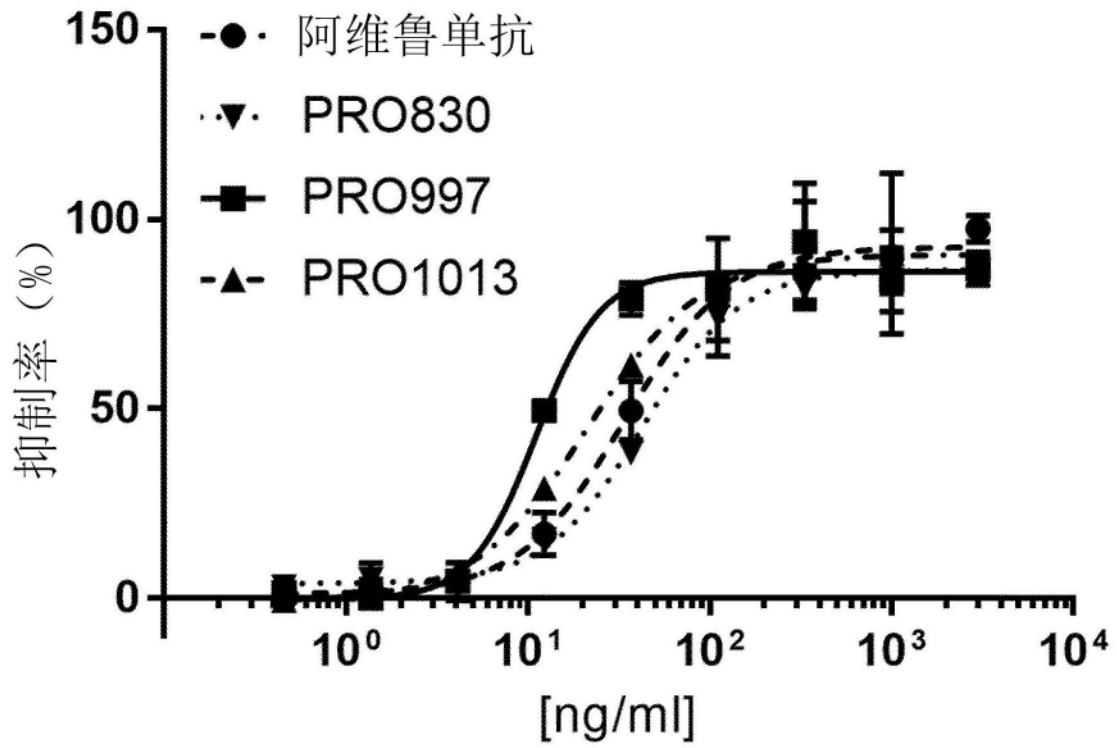


图3

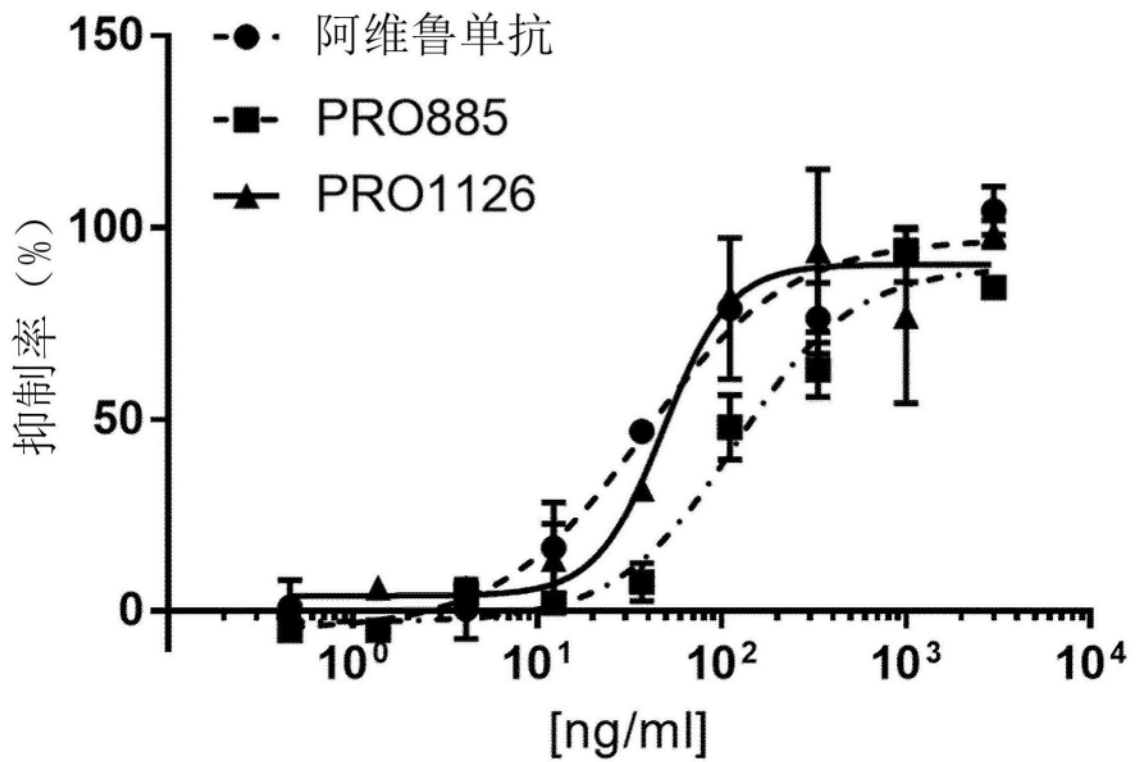


图4

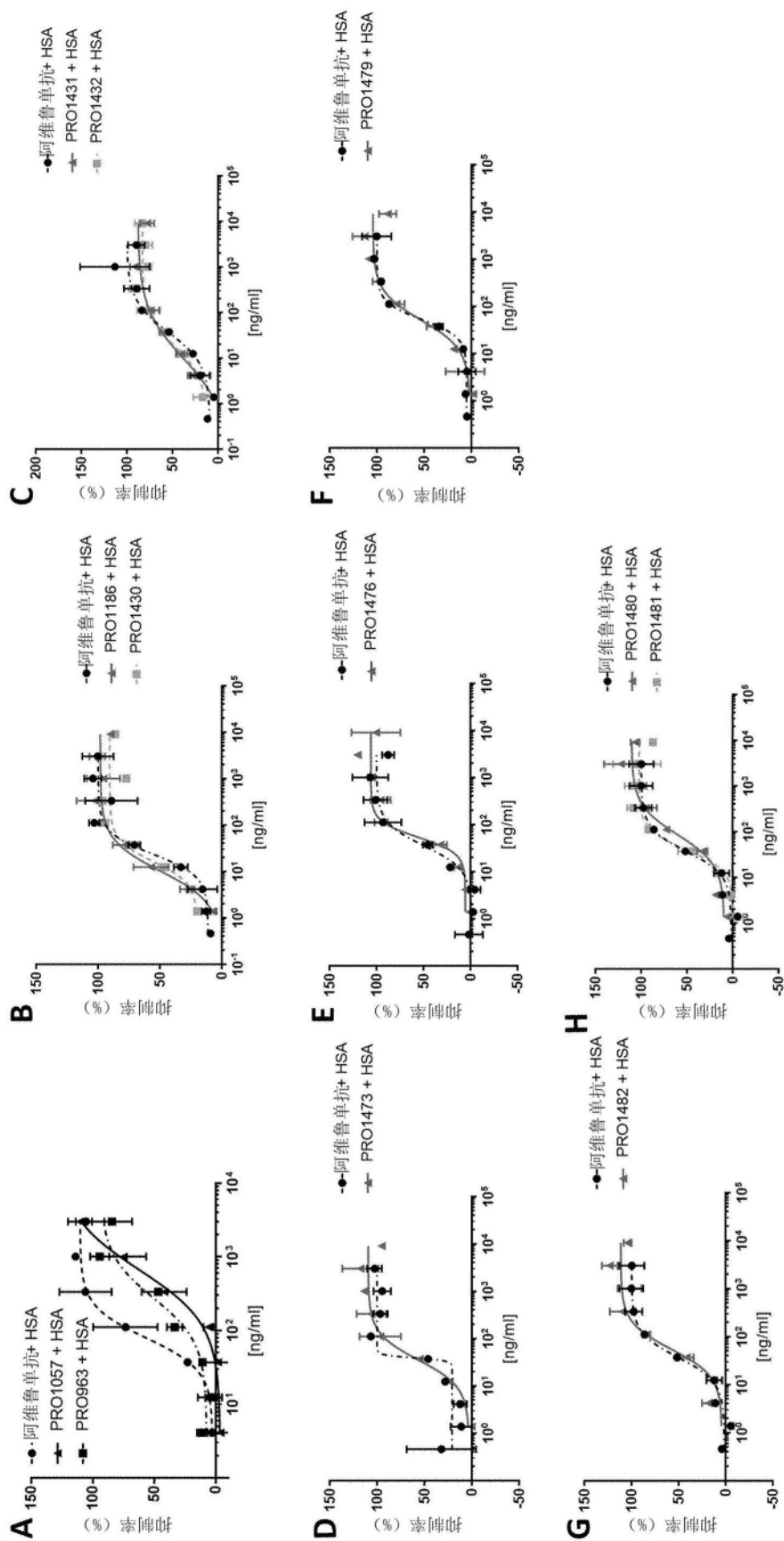


图5

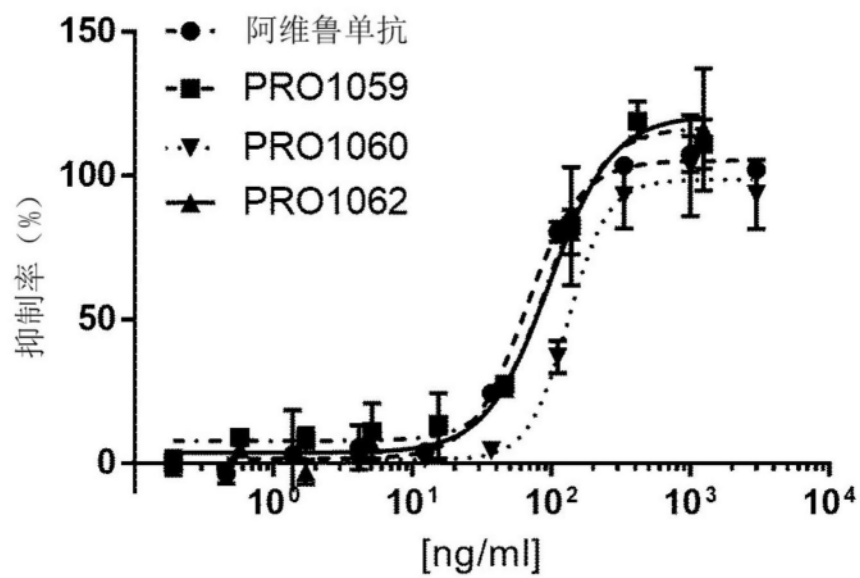


图6

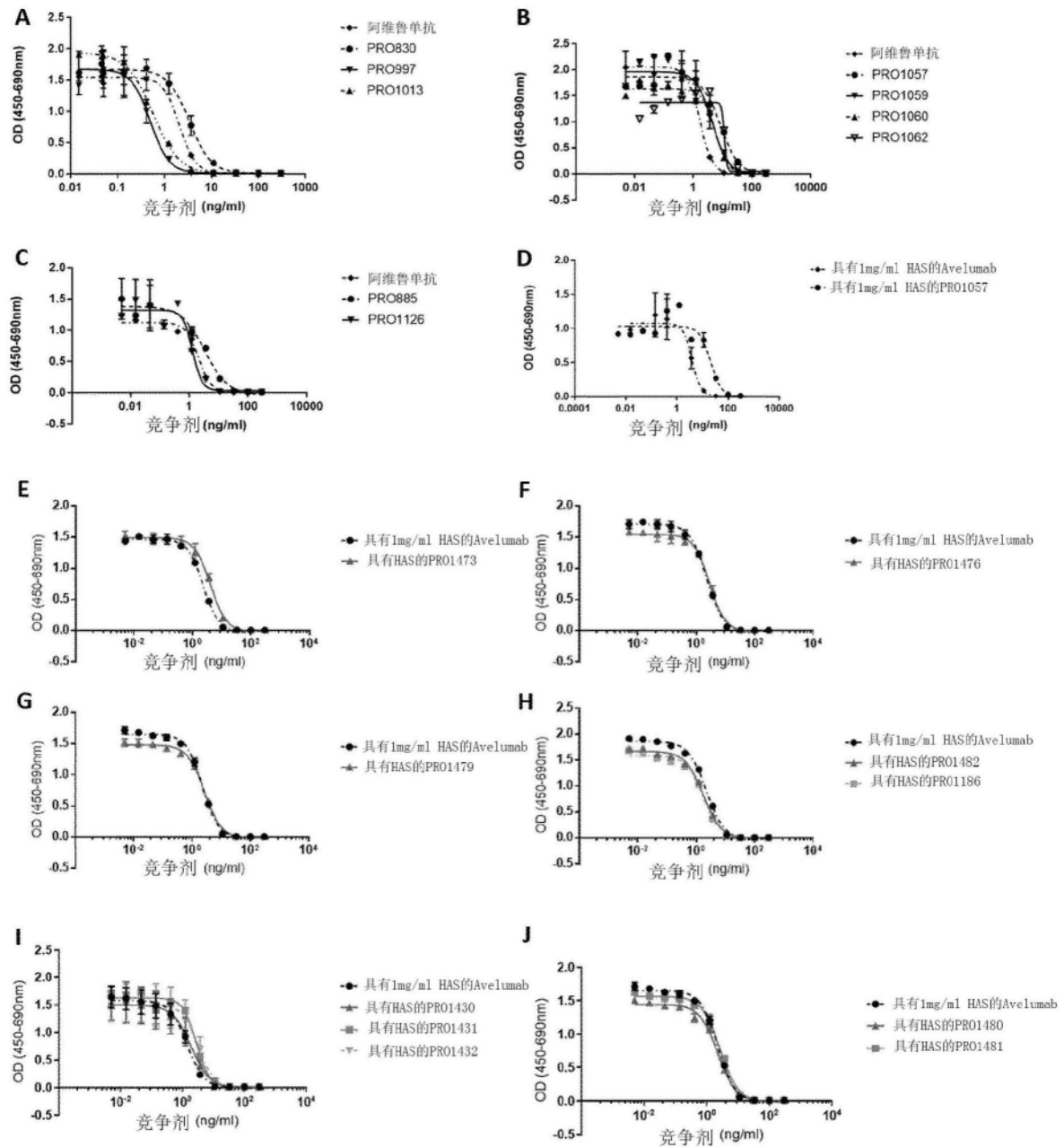


图7

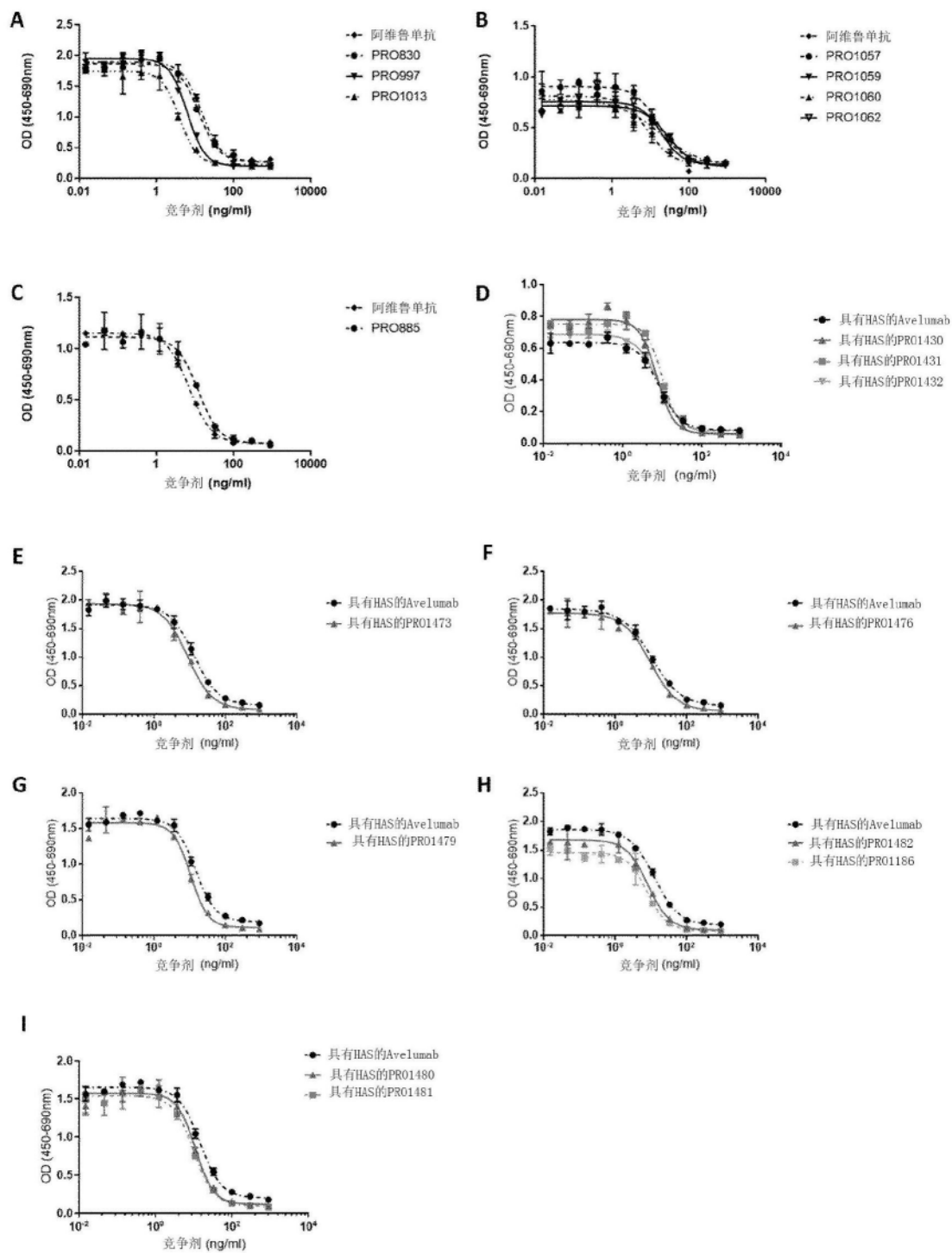


图8

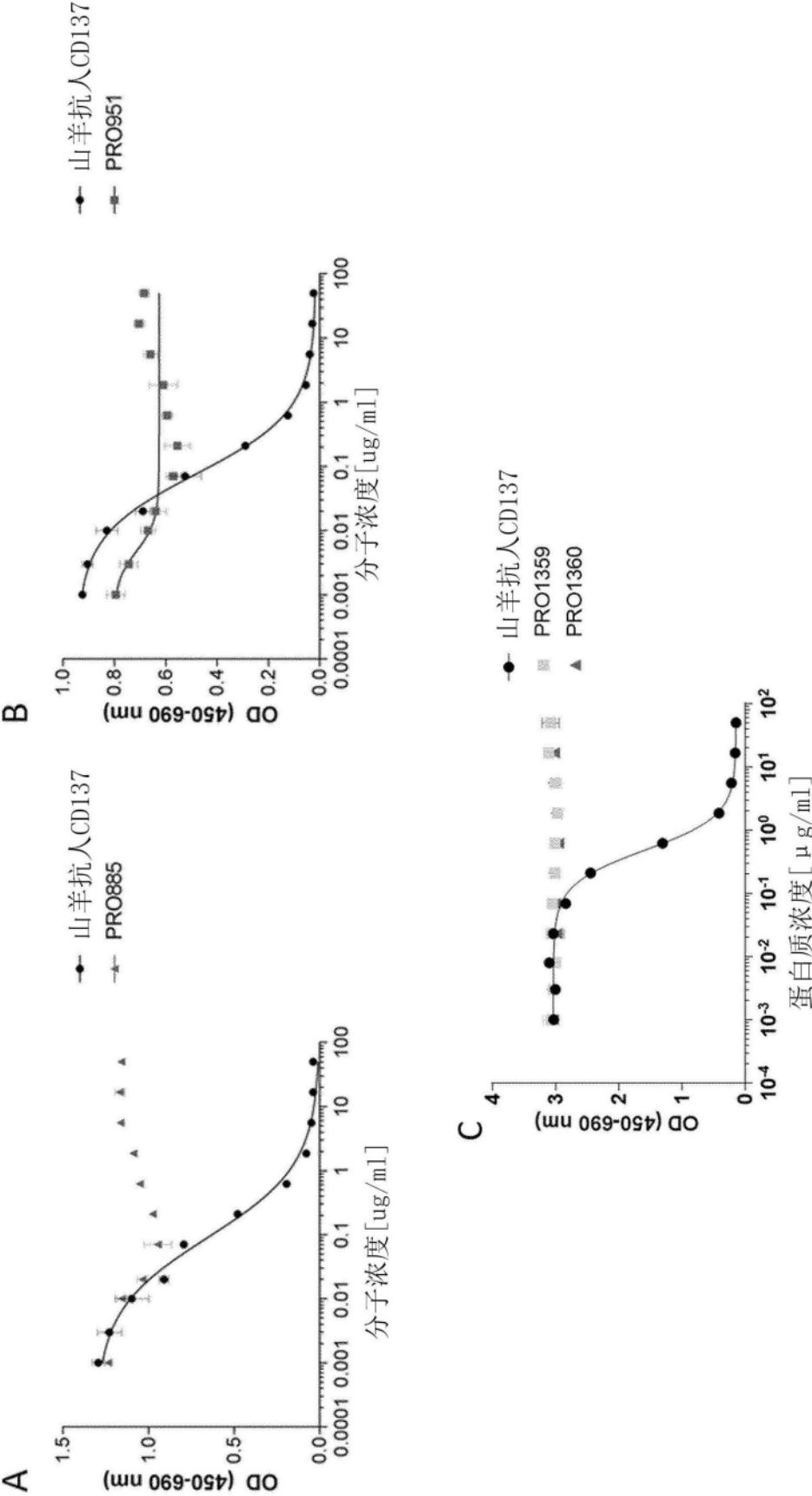
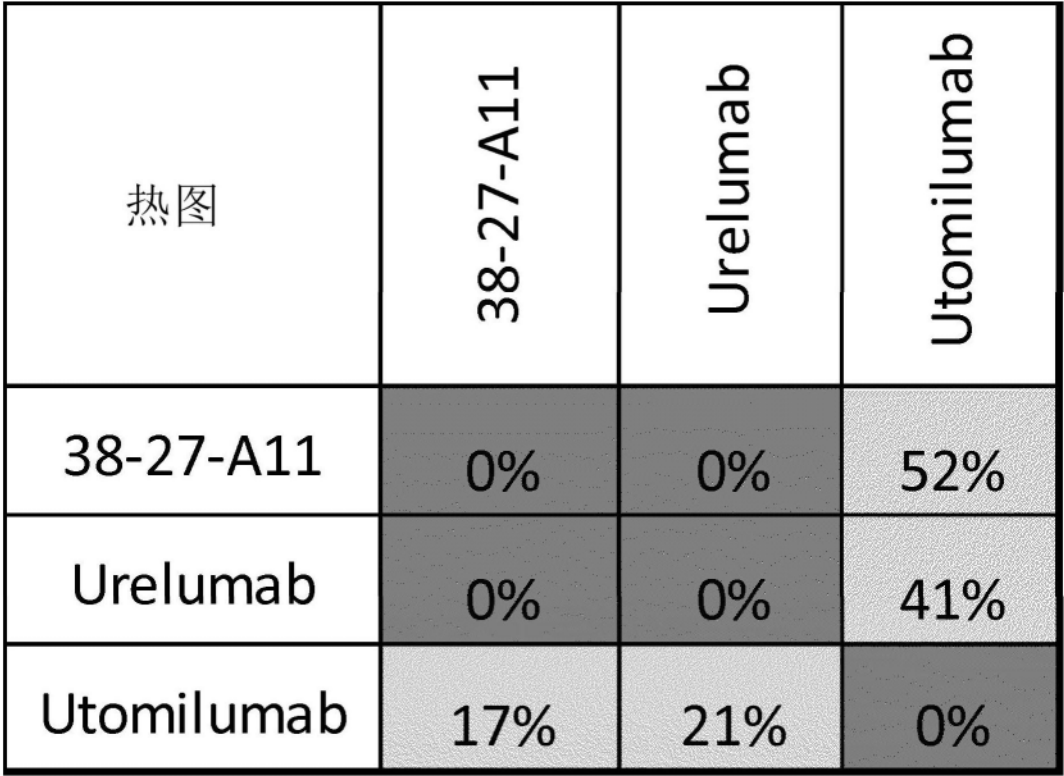
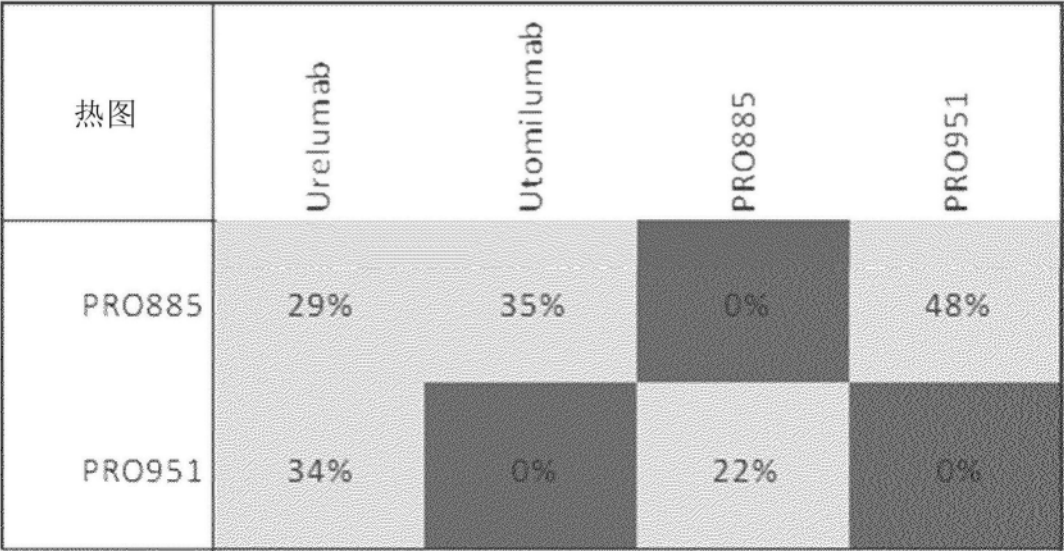


图9



标准化为理论 R_{max} 的结合水平[%]

图10

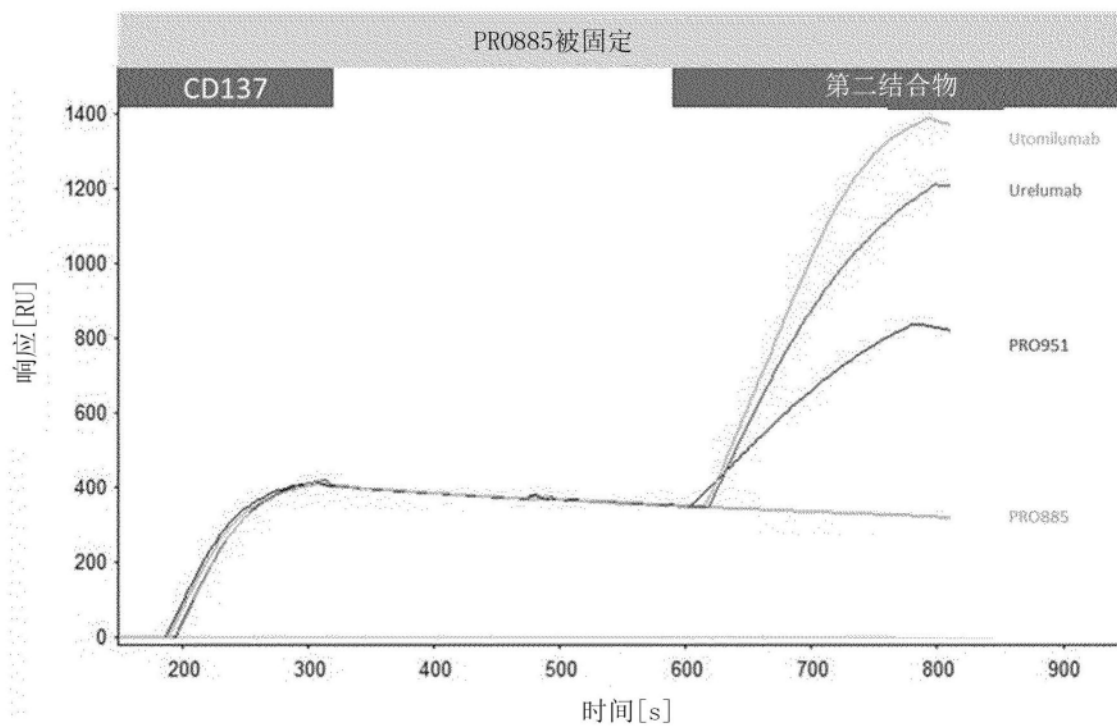


图11

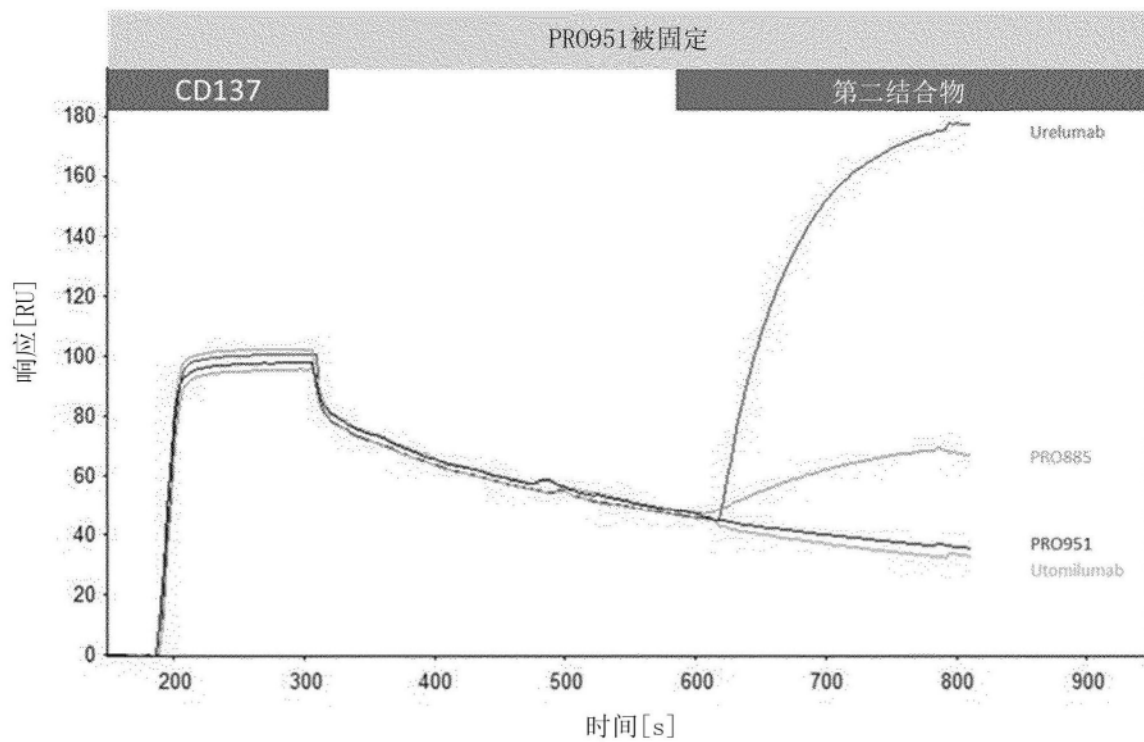


图12

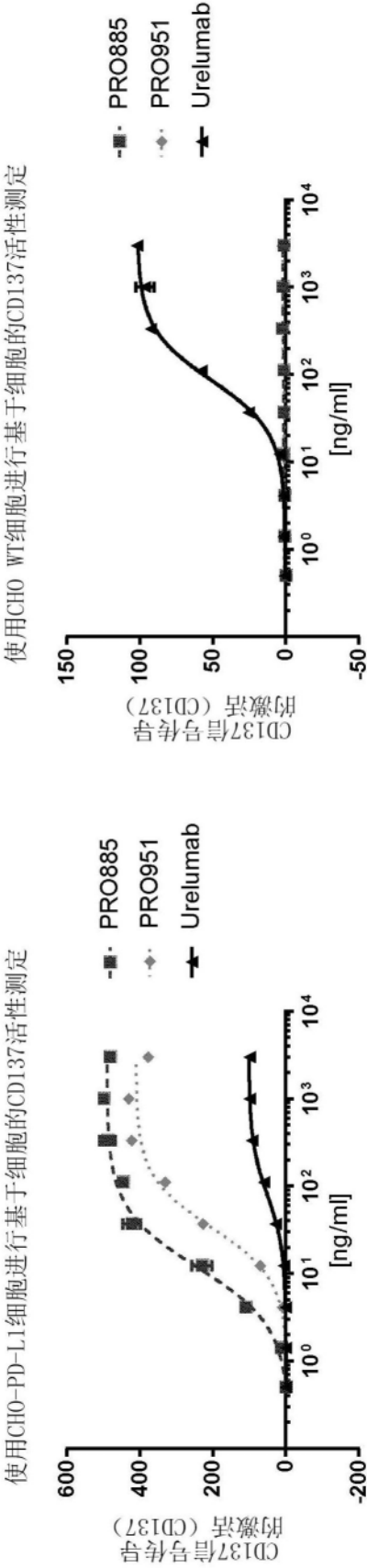


图13

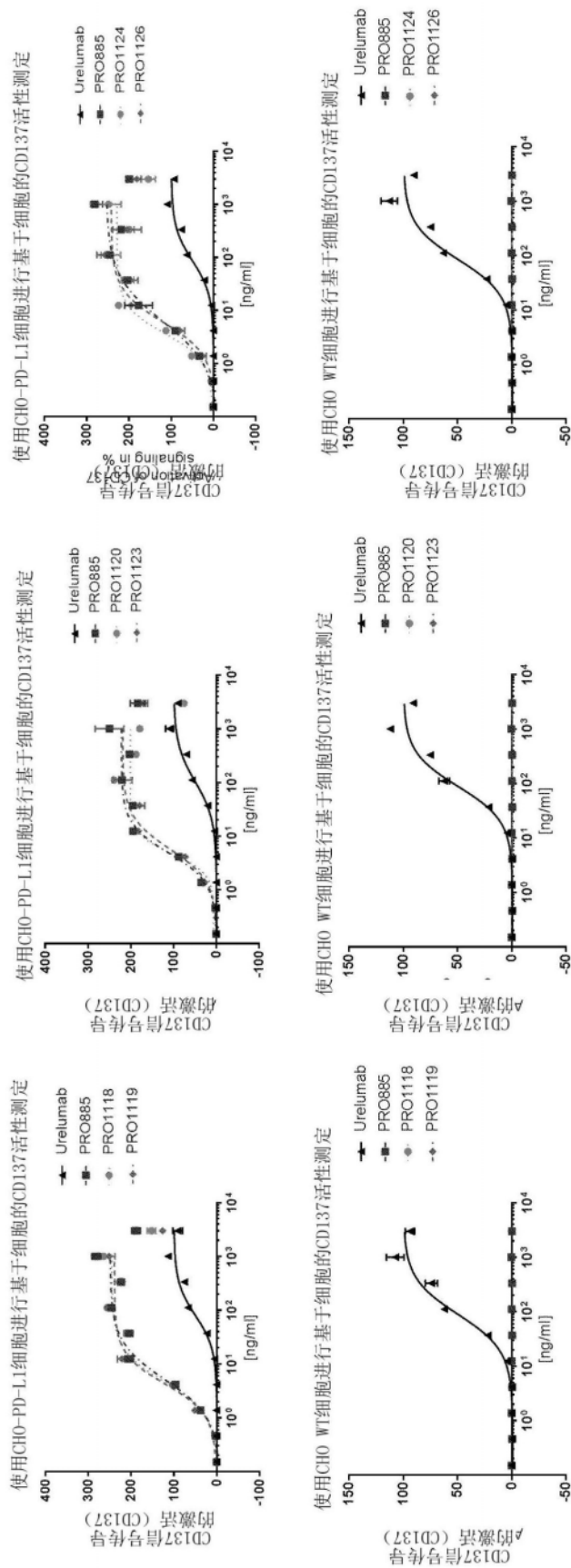


图14

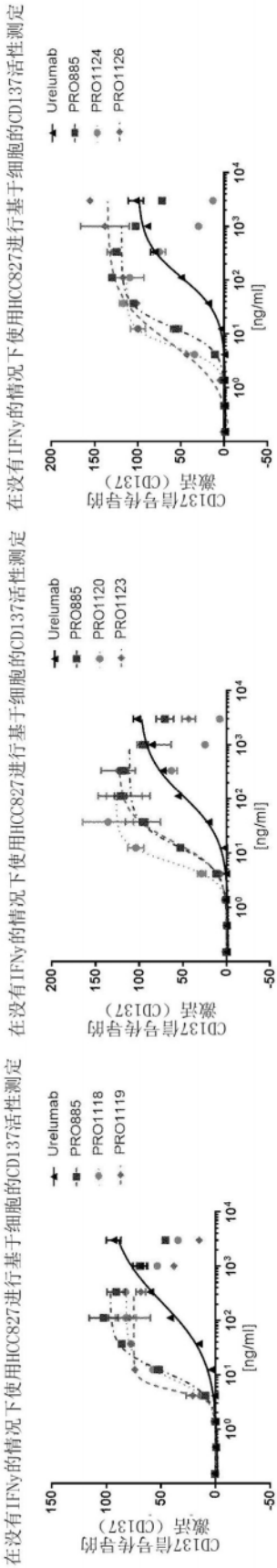


图15

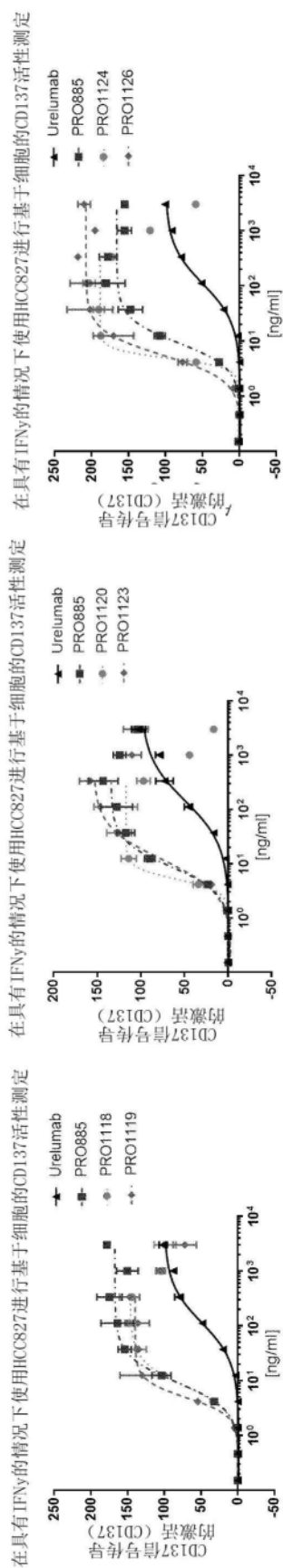


图16

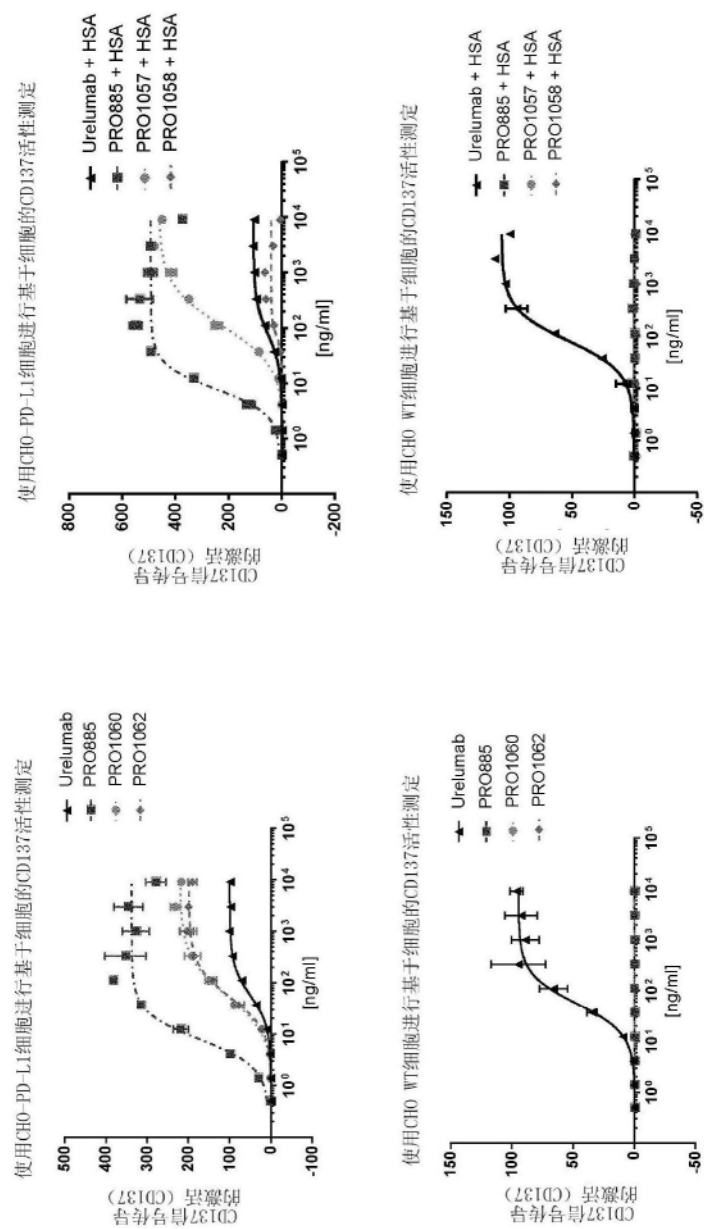


图17

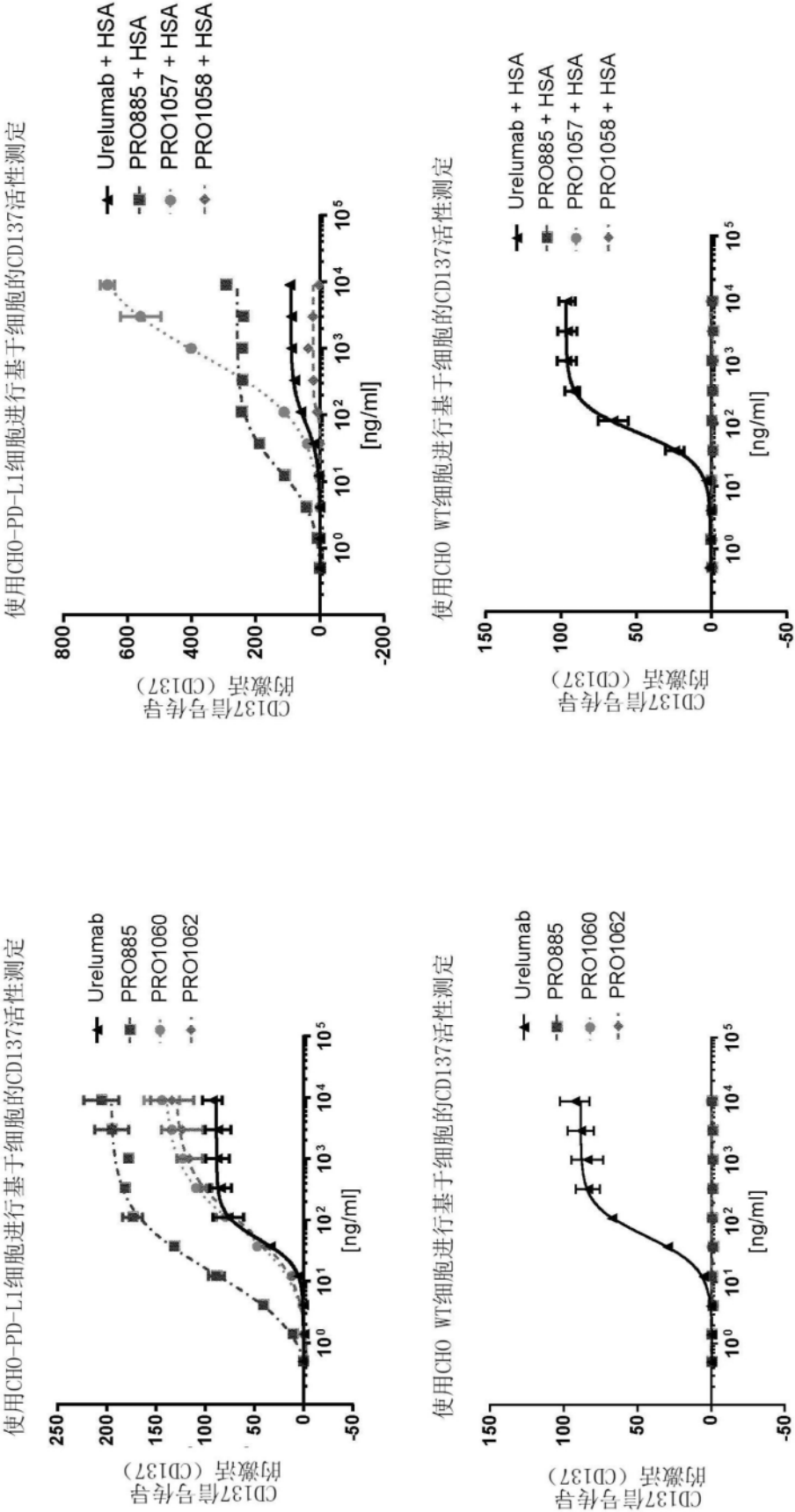
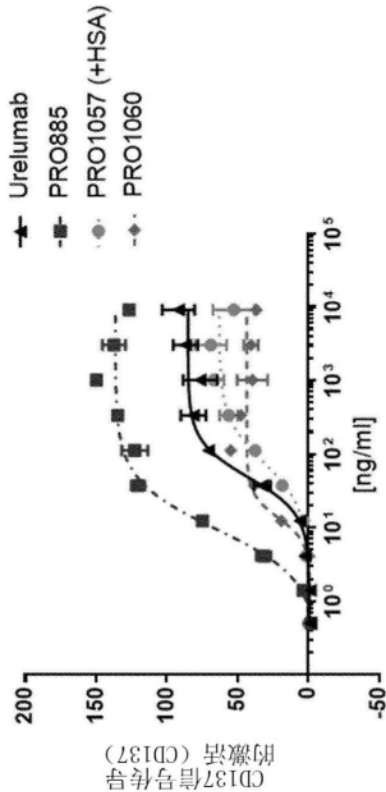


图18

A

在没有IFN γ 的情况下使用HCC827细胞进行基于细胞的CD137活性测定



在具有IFN γ 的情况下使用HCC827细胞进行基于细胞的CD137活性测定

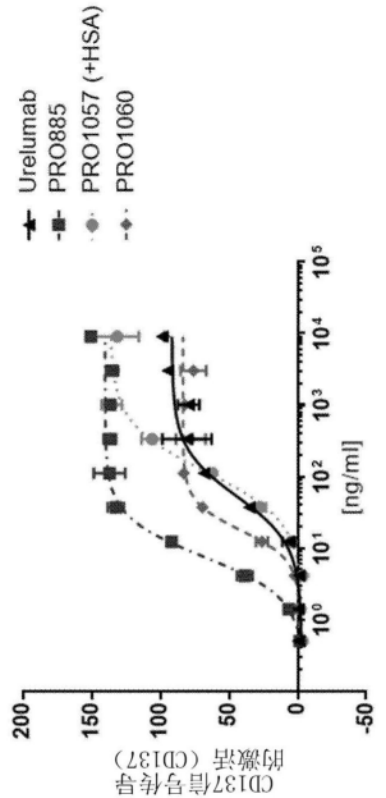


图19A

与HCC827共培养的Jurkat报告细胞中的CD137激活



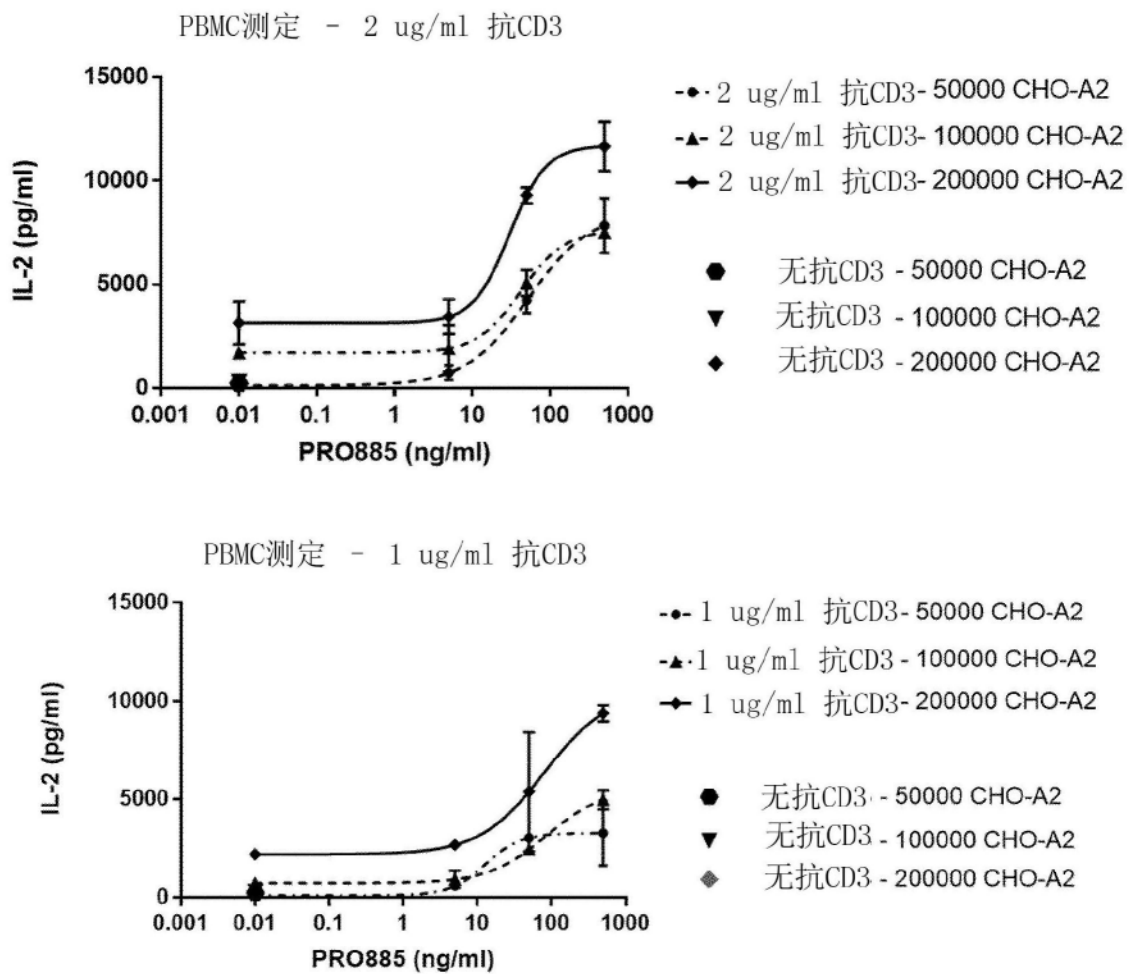


图20

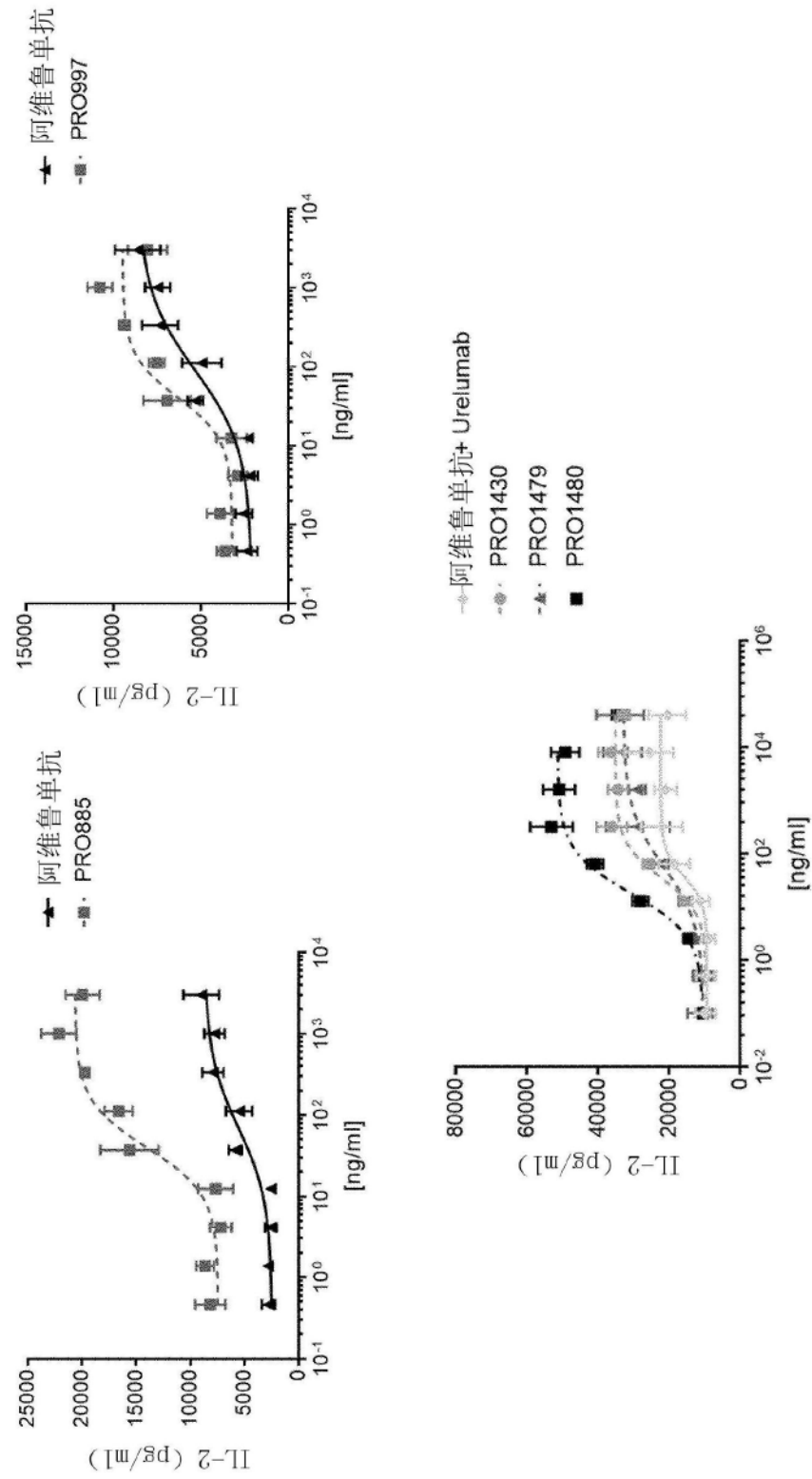


图21

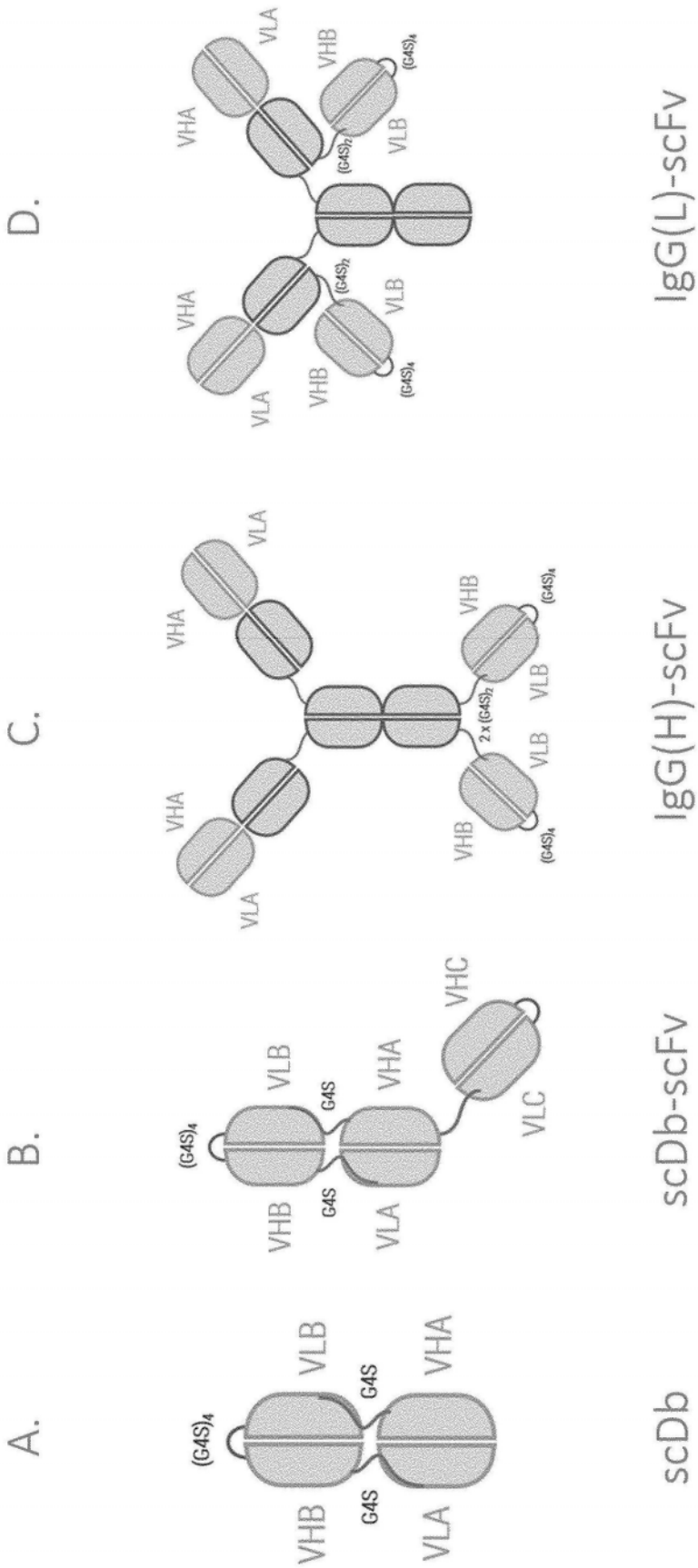


图22

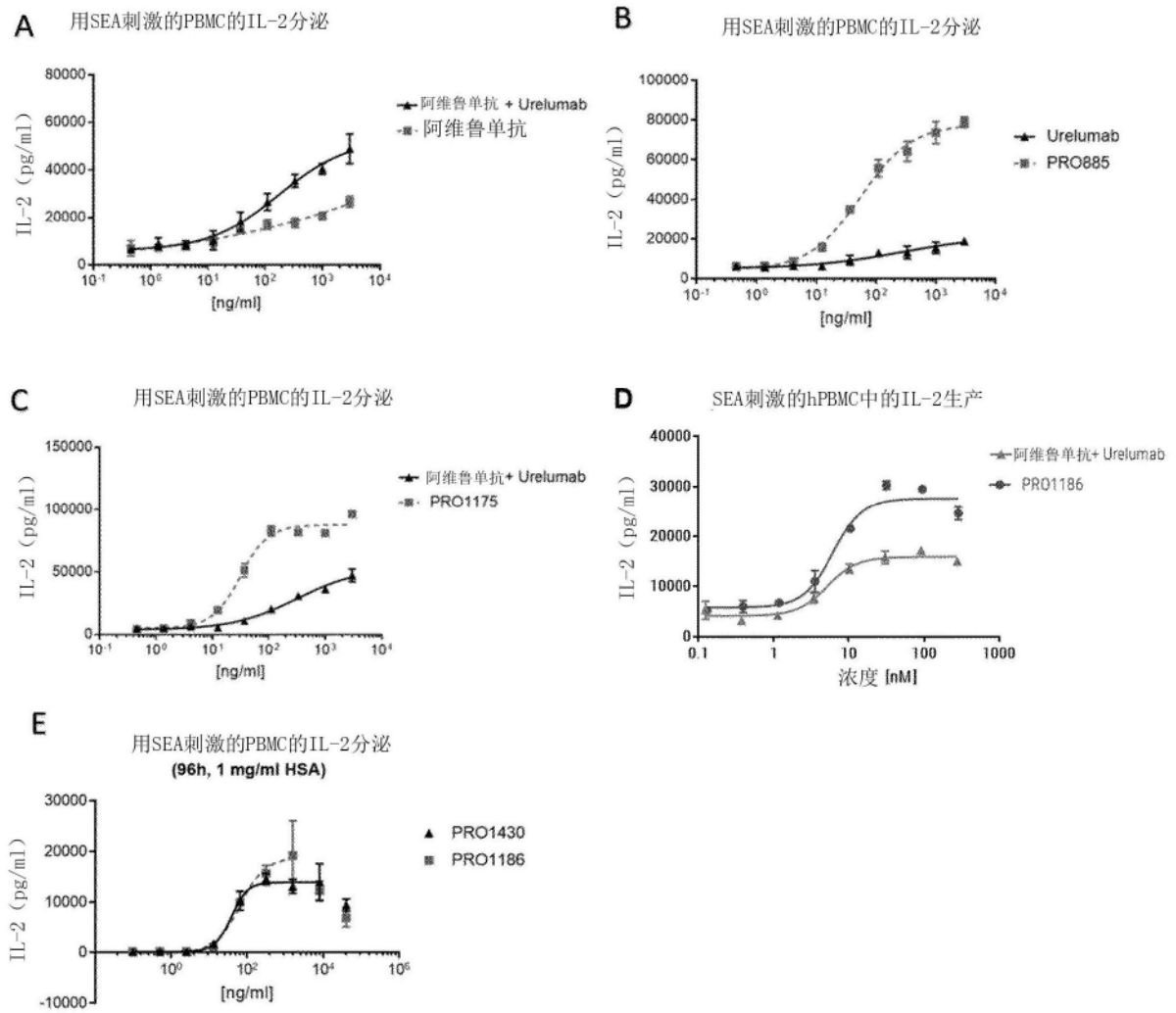


图23 (A-E)

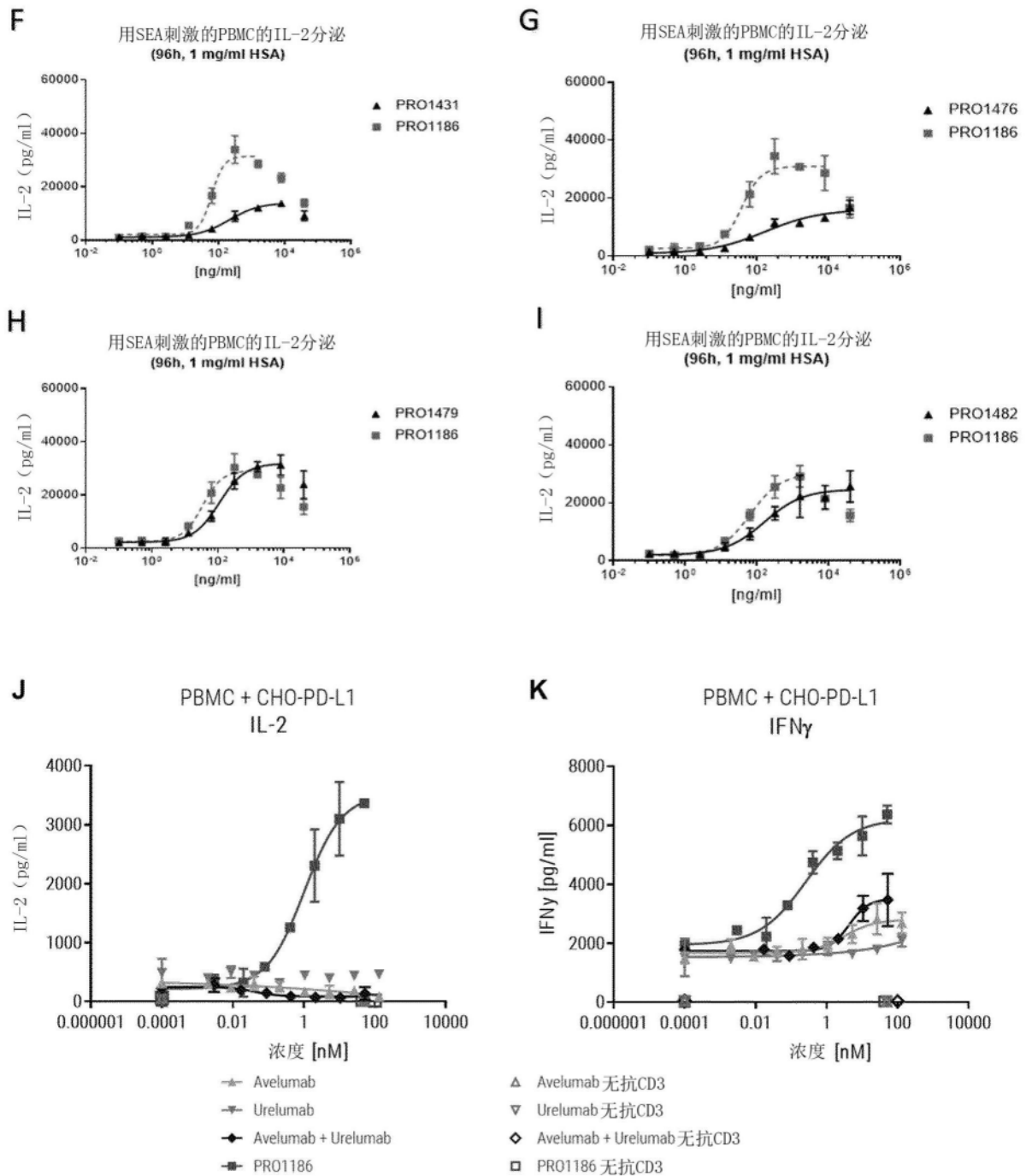


图23(F-K)

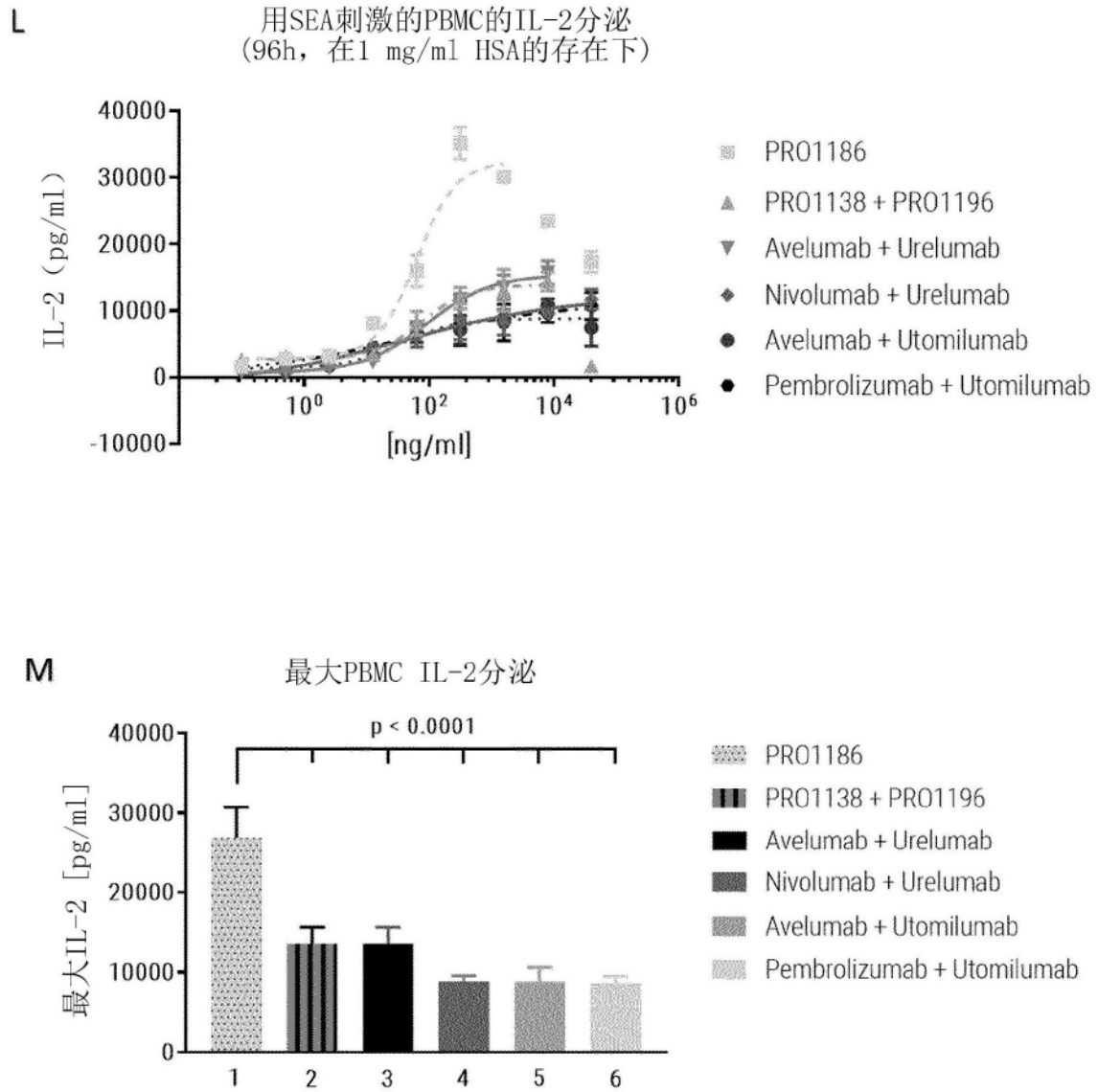


图23 (L-M)

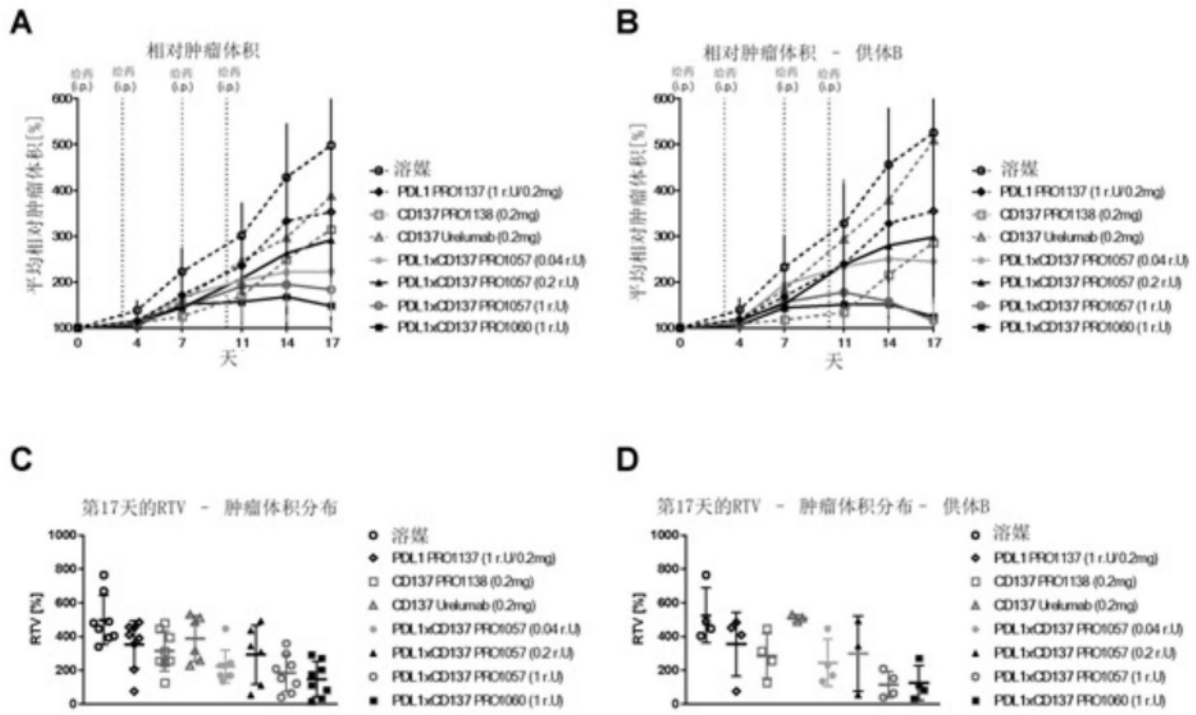


图24

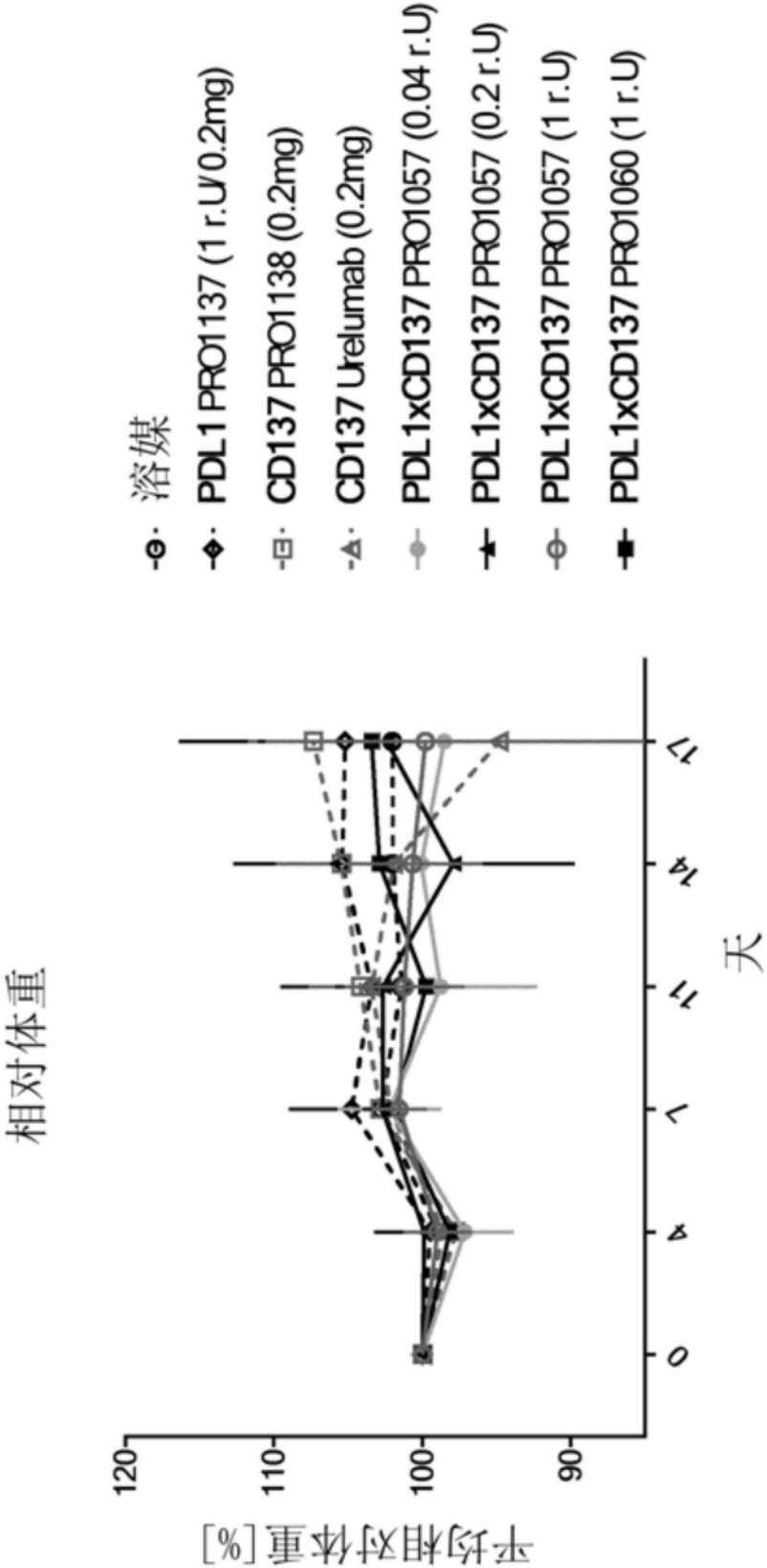


图25

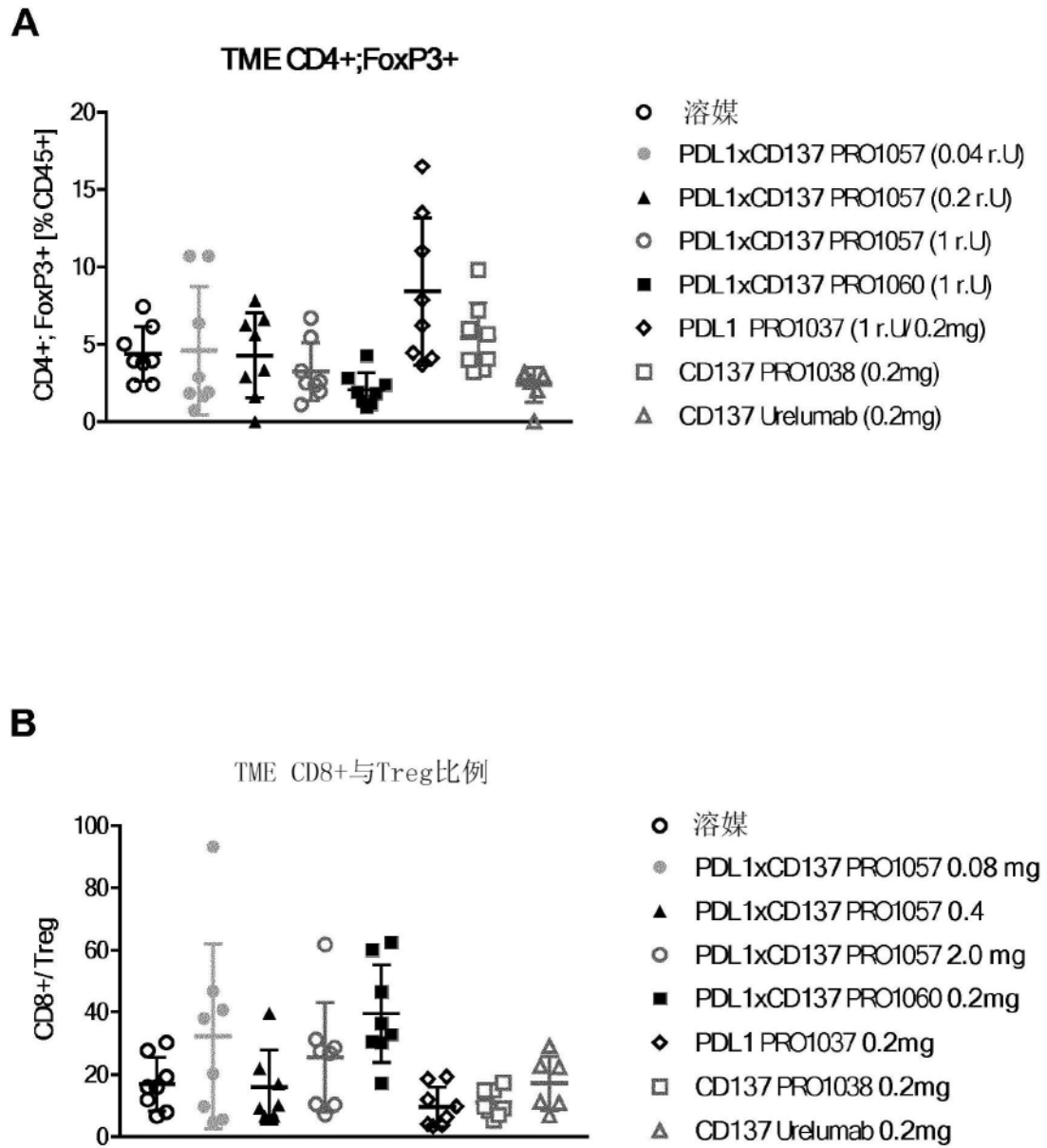


图26

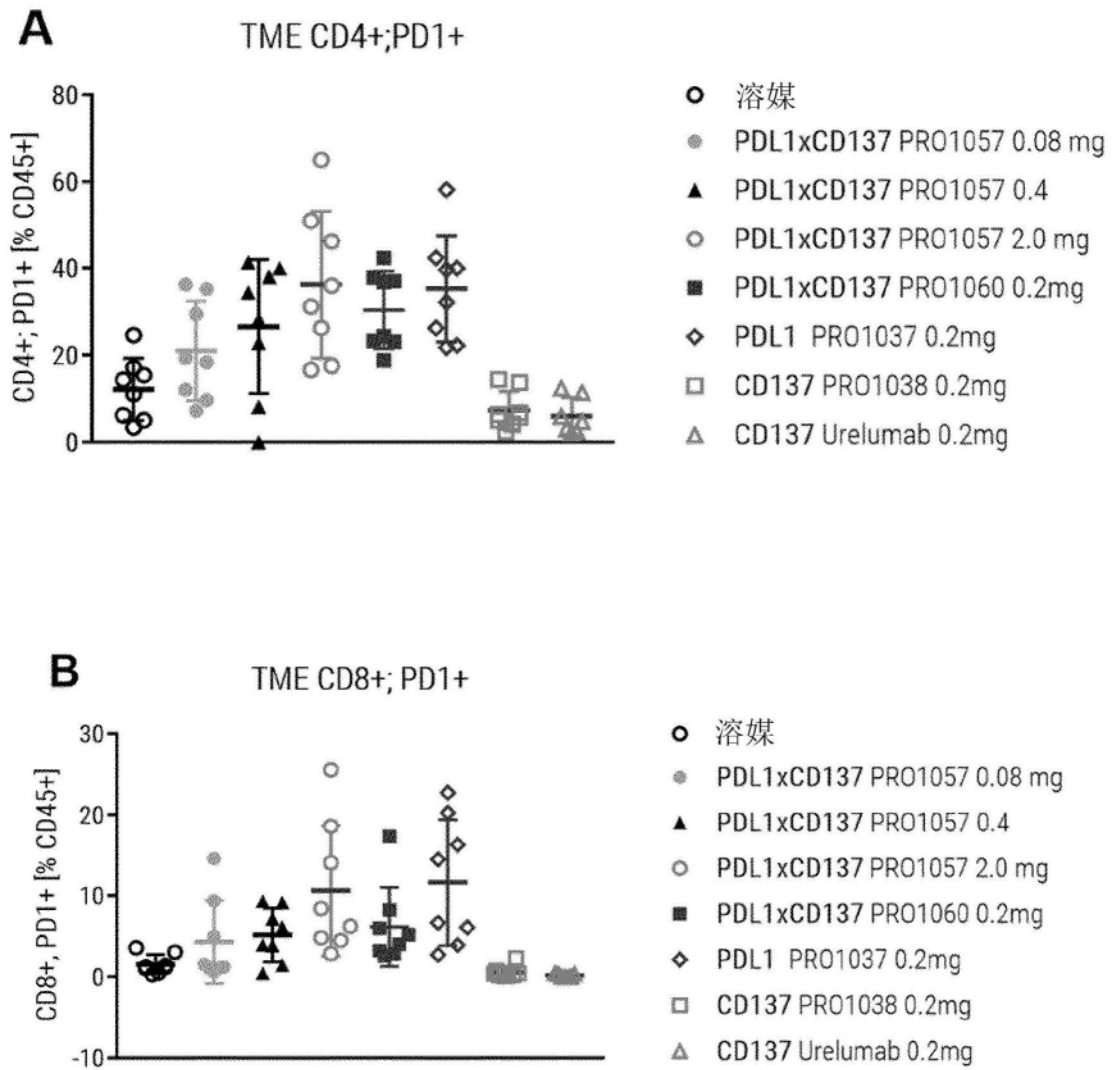


图27

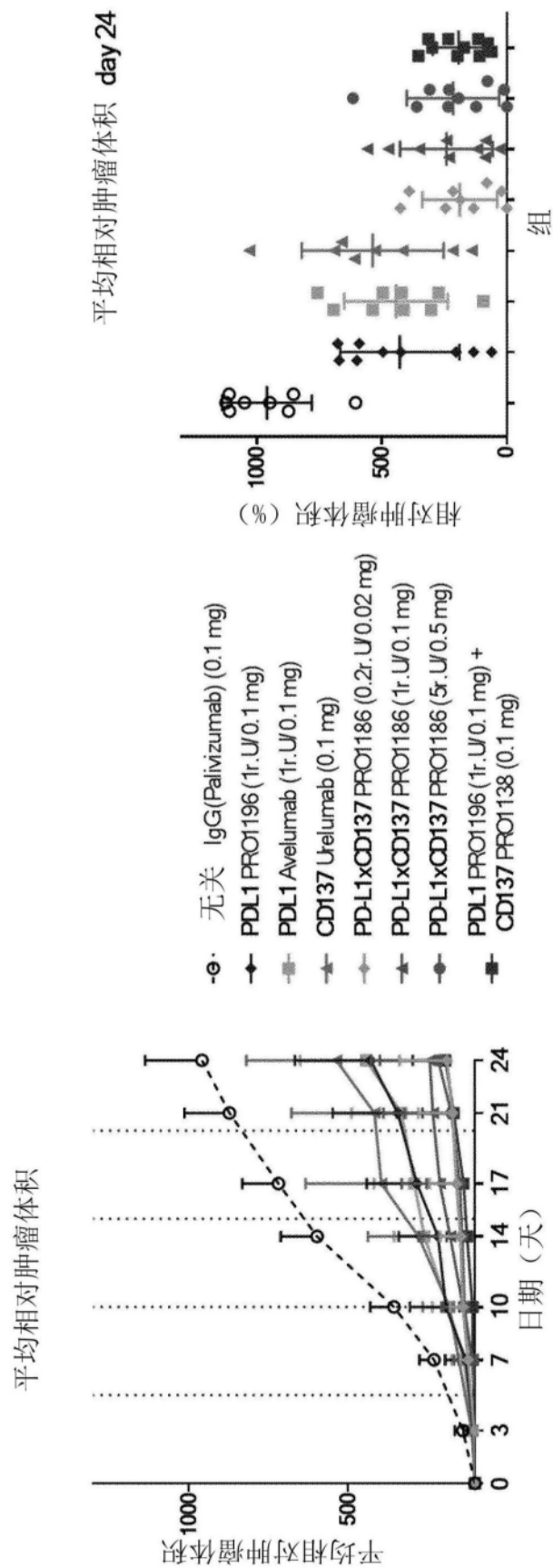


图28

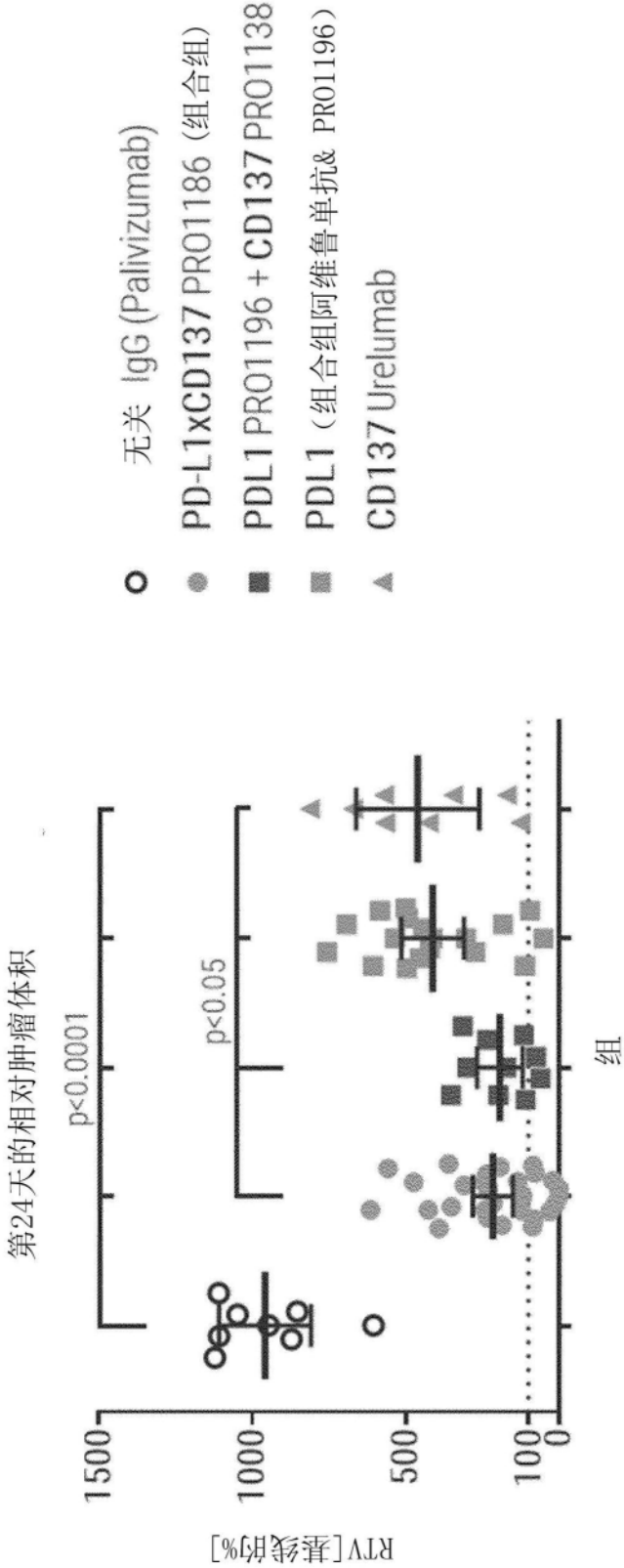


图29

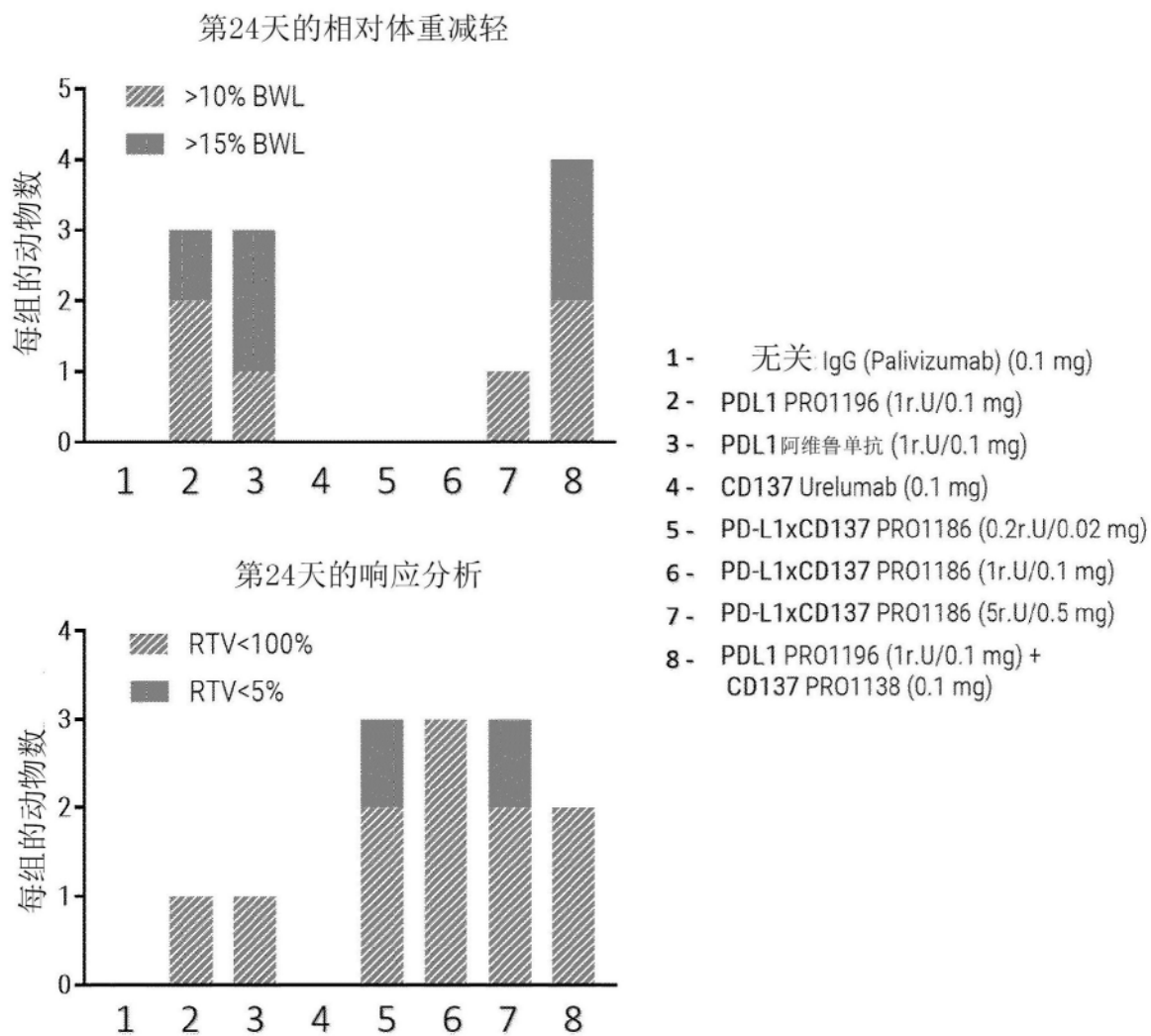


图30

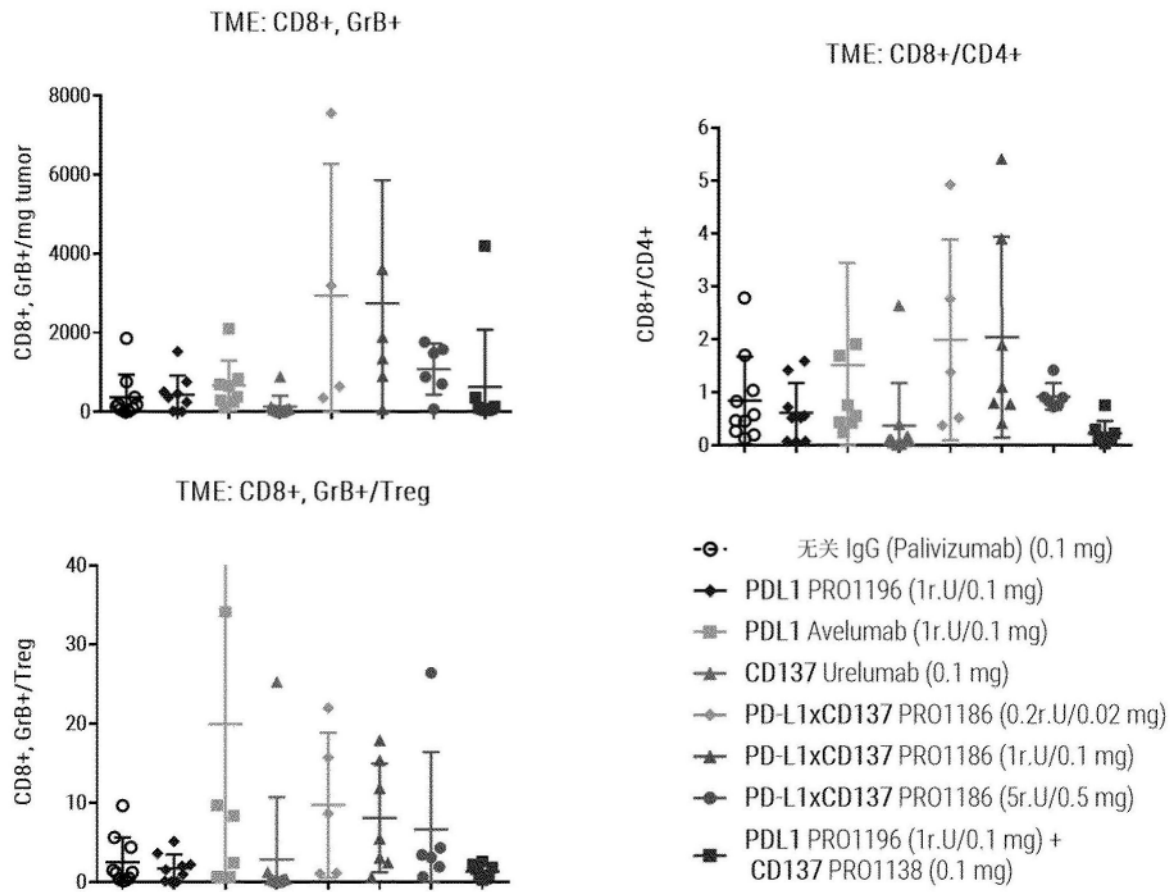


图31

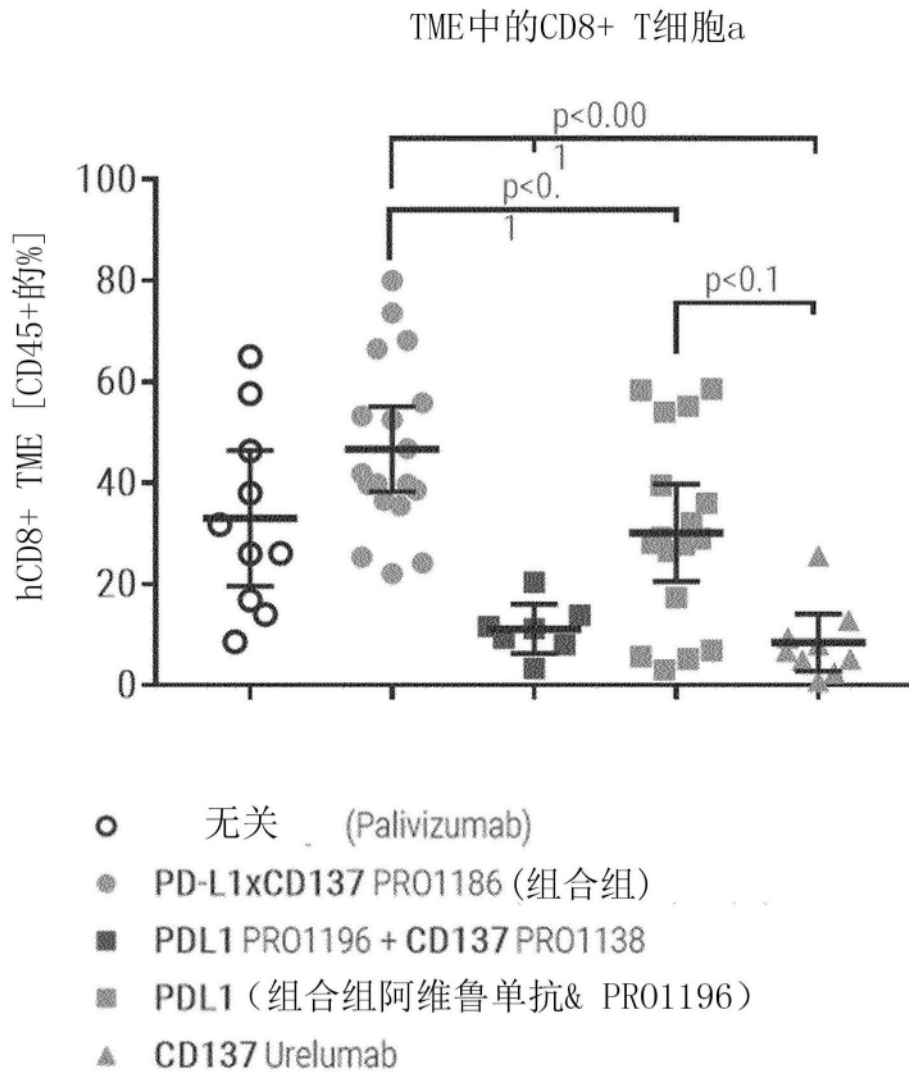


图32

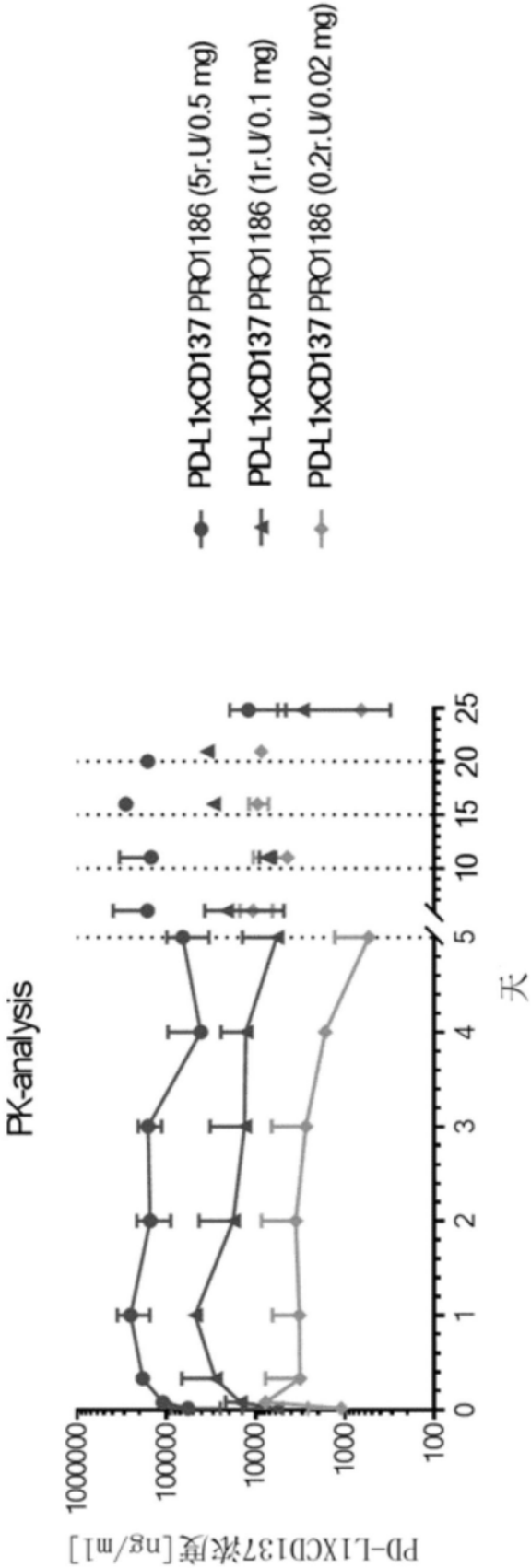


图33