



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 202346366 A

(43)公開日：中華民國 112 (2023) 年 12 月 01 日

(21)申請案號：112112642

(22)申請日：中華民國 112 (2023) 年 03 月 31 日

(51)Int. Cl.：

C07K16/46 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

C12N15/13 (2006.01)

C12N15/63 (2006.01)

C12N15/64 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2022/04/02

中國大陸

202210351186X

(71)申請人：大陸商和鉑醫藥(上海)有限責任公司(中國大陸) HARBOUR BIOMED (SHANGHAI) CO.,LTD (CN)

中國大陸

(72)發明人：羅海山 LUO, HAI SHAN (CN)；蒙姿宏 MENG, ZI HONG (CN)；榮俊 RONG, JUN (CN)；陳宏偉 CHEN, HONG WEI (US)；王遠東 WANG, YUAN DONG (CN)；楊云星 YANG, YUN XING (CN)；陳飛 CHEN, FEI (CN)；王友紅 WANG, YOU HONG (CN)；盧葭 LU, JIA (CN)；李淑桃 LI, SHU TAO (CN)；鄧剛 DENG, GANG (CN)；甘馨 GAN, XIN (CN)；戎一平 RONG, YI PING (CN)

(74)代理人：劉法正；尹重君

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：23 項 圖式數：35 共 223 頁

(54)名稱

標靶 PD-L1 和 CD40 的抗原結合蛋白及其製備和應用

(57)摘要

本發明揭示了標靶 PD-L1 和 CD40 的抗原結合蛋白及其製備和應用。所述標靶 PD-L1 和 CD40 的抗原結合蛋白透過阻斷 PD-1/PD-L1 抑制性訊息途徑，以及作用於活化性的 CD40 受體，同時活化抗原呈現細胞和淋巴細胞，獲得了顯著的協同的抗腫瘤效果；同時，所述標靶 PD-L1 和 CD40 的抗原結合蛋白對免疫細胞的活化只發生在腫瘤微環境部位，顯著的去除了系統性藥物毒性和副作用問題；使得所述標靶 PD-L1 和 CD40 的抗原結合蛋白在非常安全的前提條件下，發揮其優異的抗腫瘤藥效。

【發明摘要】

【中文發明名稱】標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白及其製備和應用

【中文】

本發明揭示了標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白及其製備和應用。所述標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白透過阻斷PD-1/PD-L1抑制性訊息途徑，以及作用於活化性的CD40受體，同時活化抗原呈現細胞和淋巴細胞，獲得了顯著的協同的抗腫瘤效果；同時，所述標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白對免疫細胞的活化只發生在腫瘤微環境部位，顯著的去除了系統性藥物毒性和副作用問題；使得所述標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白在非常安全的前提條件下，發揮其優異的抗腫瘤藥效。

【指定代表圖】 無

【發明說明書】

【中文發明名稱】標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白及其製備和應用

【技術領域】

【0001】 本發明主張申請日為2022/4/2的中國專利申請202210351186X的優先權。本發明引用上述中國專利申請的全文。

【0002】 本發明涉及生物製藥領域，尤其涉及標靶PD-L1和CD40的雙特異性抗原結合蛋白及其製備和應用。

【先前技術】

【0003】 CD40是一種醣基化的I型跨膜蛋白，屬於腫瘤壞死因子受體超家族(TNFRSF)成員，又稱為腫瘤壞死因子受體超家族成員5(TNFRSF5)。CD40表現在一系列抗原呈現細胞(APC)表面，包括單核細胞、樹突狀細胞(DC)、B細胞和巨噬細胞。其配體CD40L，主要表現在淋巴細胞表面，包括T細胞、B細胞、NK細胞，通常以三聚體以及多聚體形式存在。CD40和CD40L是一對共刺激分子，CD40下游訊息途徑的活化，需要三聚體以及多聚體形式的CD40L對CD40形成交聯。它們在細胞表面相互作用，引起CD40重新分佈到膜脂筏，並發生構象變化，CD40透過胞內端結構域在細胞質中募集TNFR相關因子(TRAF)促進細胞內訊息傳導，從而活化不同的訊

息途徑，例如經典和非經典核因子 κ B通路、p38絲裂原活化蛋白激酶、磷脂酰肌醇-3激酶(PI3K)和磷脂酶C γ 通路等，並透過這些訊息途徑標靶的基因，進一步調控細胞凋亡、細胞週期進程、細胞激素生產以及細胞表面免疫調節器的表現。由此，活化CD40可以增加抗原呈現、促進細胞激素分泌、活化淋巴細胞，同時刺活化化人先天性免疫系統和獲得性免疫系統，產生協同效應，抵抗癌症的發生和發展。

【0004】 CD40在腫瘤細胞中也有廣泛表現，其在幾乎所有的B細胞惡性腫瘤以及廣泛的固態腫瘤中表現，包括黑色素瘤、肺癌、乳腺癌、結腸癌、前列腺癌、胰腺癌、腎癌、卵巢癌和頭頸部癌等。表現在腫瘤細胞表面的CD40能媒介的腫瘤細胞死亡。在沒有免疫輔助細胞的情況下，透過CD40L交聯表現在多種腫瘤細胞表面的CD40將媒介直接的細胞毒殺作用。在體外，透過CD40L交聯CD40被證明能誘導腫瘤細胞凋亡，抑制固態腫瘤細胞和B惡性腫瘤細胞的生長。在體內，活化CD40也媒介腫瘤抑制作用。證據表明，在免疫缺陷型小鼠中，透過CD40L干預腫瘤細胞表面的CD40，即使沒有淋巴細胞活化，也會抑制乳腺癌細胞移植瘤或者B淋巴細胞移植瘤的生長。

【0005】 因此，CD40媒介的腫瘤細胞死亡的機制可以是雙重的，即刺激免疫系統對腫瘤細胞的殺傷和直接的腫瘤細胞毒殺作用，

可以協同抗腫瘤。促效型的抗CD40抗體，類似CD40L，可以交聯和活化免疫細胞及腫瘤細胞表面的CD40，起到顯著的抗腫瘤效果。這種抗腫瘤效果已經在臨床前動物模型和臨床腫瘤患者的試驗中得到證明，並且可以與化療藥物聯用，比如吉西他濱和紫杉醇，也可以與免疫調節類藥物聯用，比如PD-1抗體和CTLA-4抗體，產生協同的抗腫瘤效果。

【0006】 目前，在抗腫瘤方面，處於臨床試驗階段的CD40抗體藥物已接近20餘項，但最早產品僅處於臨床二期，尚未有任何上市產品。CD40抗體在臨床上面臨的最主要問題包括，偏低的客觀緩解率、顯著的毒副作用和較低的耐受劑量等。導致這些結果的可能原因是促效劑活性偏弱，比如Celldex公司的產品CDX-1140。在其一期臨床試驗中，單藥治療的42位患者中，沒有出現完全或者部分緩解；在聯合rhFLT3L的治療中，20位患者中，也僅1例患者出現部分緩解。該產品體外對DC細胞的活化較弱，且在交聯的情況下，促效劑活性得不到加強。原因還包括，CD40抗體沒有選擇性的活化，以致於產生系統性的毒副作用。比如，羅氏公司的CD40抗體Selicrelumab，臨床試驗中，用藥劑量超過0.2mg/kg的情況下，即在部分受試患者體內引起顯著的細胞激素釋放症候群和肝臟毒性等毒副作用；Apexigen公司的CD40抗體APX005M，臨床試驗中，用藥劑量超過0.3mg/kg的情況下，即在部分受試患者體內引起顯著的

嗜中性粒細胞減少症，以及進一步的敗血症和敗血性休克。綜上所
言，目前臨床上的CD40抗體面臨著有效性和安全性之間治療窗口過
小的問題和挑戰。因此，開發其它CD40抗體將為多種腫瘤的治療提
供可能，具有很高的科學和市場價值。

【0007】 PD-L1，即程序性死亡配體1，也稱CD274、B7H1，
是一種糖基化的I型跨膜蛋白，是PD-1即程序性死亡蛋白1的配體之
一。正常情況下，PD-L1廣泛的表現在抗原呈現細胞上，比如樹突
狀細胞、巨噬細胞和B細胞等，以及其它免疫細胞上。當PD-L1與表
現在T細胞表面的PD-1受體結合時，會抑制T細胞的活化和細胞激
素的分泌，起到誘導個體免疫收縮和維持免疫耐受的關鍵作用。另
一方面，PD-L1大量的表現在許多癌症細胞表面，包括腎細胞癌、
乳腺癌、結直腸癌、胃癌、非小細胞肺癌、甲狀腺乳頭狀癌和睪丸癌
等。腫瘤細胞上的PD-L1與腫瘤浸潤性T細胞(TILs)上的PD-1的結
合，活化Src同源性區域2結構域的磷酸酶(SHPs)，導致T細胞受體
(TCR)通路的抑制和T細胞活性的抑制。此外，腫瘤細胞透過利用
PD-L1/PD-1訊息途徑，中斷免疫監視，促進癌細胞存活。

【0008】 因此，透過抗體阻斷PD-L1/PD-1訊息軸可以重新活化
腫瘤微環境中被抑制和耗竭的T細胞等免疫細胞，並透過它們來消除
癌細胞，重新建立免疫平衡。基於上述發現，治療性的PD-L1抗體
(例如，atezolizumab、avelumab和durvalumab)和PD-1抗體(例

如，nivolumab、pembrolizumab和cemiplimab)已被開發上市，並在臨床上針對多種癌症，包括黑色素瘤、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、腎細胞癌、頭頸部鱗狀細胞癌、經典霍奇金淋巴瘤和默克爾細胞癌，獲得了10%-40%的臨床反應。

【0009】 但是，儘管抗PD-L1/PD-1治療在腫瘤治療，尤其是固態腫瘤治療中，顯示出令人印象深刻的效果，持久的應答卻只在一小部分患者中發生，一些最初對治療有反應的患者，最終產生了獲得性抗藥性。同時，仍有大部分的患者，對抗PD-L1/PD-1治療並不響應，即原發性抗藥性。因此，亟待研發療效更好的免疫療法能與抗PD-L1/PD-1治療產生協同抗腫瘤效應，以克服原發性抗藥性和獲得性抗藥性，該方向已成為現階段腫瘤免疫治療關注的焦點。

【0010】 目前尚未有已上市的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白，市場對他同時標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白具有較大的需求。

【發明內容】

【0011】 針對現有技術中標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白存在藥效有限、安全性差的技術缺陷，本發明提供了標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白及其製備和應用。所述標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白透過阻斷PD-1/PD-L1抑制性訊息途徑，以及作用於活化性的CD40受體，同時活化抗原呈現細胞和淋巴細胞，獲得了顯

著的協同的抗腫瘤效果；同時，所述標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白對免疫細胞的活化只發生在腫瘤微環境部位，顯著的去除了系統性藥物毒性和副作用問題；使得所述標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白在非常安全的前提條件下，發揮其優異的抗腫瘤藥效。

【0012】 為解決上述技術問題，本發明第一方面提供了一種標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白，其包括第一蛋白功能區和第二蛋白功能區，所述第一蛋白功能區包含標靶CD40的抗原結合蛋白，所述第二蛋白功能區包含標靶PD-L1的抗原結合蛋白；其中，

【0013】 所述標靶CD40的抗原結合蛋白包含輕鏈可變區(VL)和重鏈可變區(VH)，所述VL包含LCDR1、LCDR2和LCDR3，所述VH包含HCDR1、HCDR2和HCDR3；所述LCDR1包括如SEQ ID NO: 38所示的胺基酸序列或在SEQ ID NO: 38上具有3、2或1個胺基酸突變的變異體1，所述LCDR2包括如SEQ ID NO: 43所示的胺基酸序列或在SEQ ID NO: 43上具有3、2或1個胺基酸突變的變異體2，所述LCDR3包括如SEQ ID NO: 48所示的胺基酸序列或在SEQ ID NO: 48上具有3、2或1個胺基酸突變的變異體3；所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 8所示的胺基酸序列或在SEQ ID NO: 8上具有3、2或1個胺基酸突變的變異體4，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 18所示的胺基酸序列或在SEQ ID NO: 18上具有3、2或1個胺基酸突變的變異體5，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 27所示

的胺基酸序列或在SEQ ID NO: 27上具有3、2或1個胺基酸突變的變異體6。

【0014】 在本發明一些技術方案中，所述標靶CD40的抗原結合蛋白包含輕鏈可變區(VL)和重鏈可變區(VH)，所述VL包含LCDR1、LCDR2和LCDR3，所述VH包含HCDR1、HCDR2和HCDR3；所述LCDR1包括如SEQ ID NO: 38所示的胺基酸序列，所述LCDR2包括如SEQ ID NO: 43所示的胺基酸序列，所述LCDR3包括如SEQ ID NO: 48所示的胺基酸序列或在SEQ ID NO: 48上具有3、2或1個胺基酸突變的變異體3；所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 8所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 18所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 27所示的胺基酸序列。

【0015】 在本發明一些技術方案中，所述變異體3包括在SEQ ID NO: 48所示胺基酸序列上具有PTM位點突變的胺基酸序列，優選包括在SEQ ID NO: 48所示胺基酸序列的第4位和/或第5位上發生胺基酸突變的胺基酸序列，所述胺基酸突變優選為胺基酸替代，更優選為胺基酸的守恆替代。較佳地，所述變異體3為在SEQ ID NO: 48所示胺基酸序列上發生N4A/F/Y/V/N和/或S5N突變的胺基酸序列。更佳地，所述變異體3為如SEQ ID NO: 49-53任一項所示的胺基酸序列。

【0016】 在本發明一些技術方案中，所述標靶CD40的抗原結合蛋白中，所述LCDR1包括如SEQ ID NO: 38所示的胺基酸序列，所述LCDR2包括如SEQ ID NO: 43所示的胺基酸序列，所述LCDR3包括如SEQ ID NO: 48-53任一項所示的胺基酸序列3；所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 8所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 18所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 27所示的胺基酸序列，具體CDR組合見表1-1。

表1-1 標靶CD40的抗原結合蛋白的具體CDR組合

	SEQ ID NO:					
分子編號	LCDR1	LCDR2	LCDR3	HCDR1	HCDR2	HCDR3
PR003379	38	43	48	8	18	27
PR006495	38	43	49	8	18	27
PR006496	38	43	50	8	18	27
PR006497	38	43	51	8	18	27
PR006504	38	43	52	8	18	27
PR006511	38	43	53	8	18	27

【0017】 在本發明一些技術方案中，所述標靶CD40的抗原結合蛋白中，所述VL包括如SEQ ID NO: 68所示的胺基酸序列或與SEQ ID NO: 68有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同性的胺基酸序列，所述VH包括如SEQ ID NO: 60所示的胺基酸序列或與SEQ ID NO: 60有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同性的胺基酸序列。更佳地，所述VL包括如SEQ ID NO: 68-73任一項所示的胺

基酸序列，所述VH包括如SEQ ID NO: 60所示的胺基酸序列，具體VL和VH組合見表1-2。

表1-2 標靶CD40的抗原結合蛋白的具體VL和VH組合

	SEQ ID NO:	
分子編號	VL	VH
PR003379	68	60
PR006495	69	60
PR006496	70	60
PR006497	71	60
PR006504	72	60
PR006511	73	60

【0018】 在本發明一些技術方案中，所述標靶CD40的抗原結合蛋白為全長抗體，所述全長抗體包含輕鏈和重鏈；所述輕鏈包括輕鏈恆定區(CL)，所述輕鏈恆定區優選為人源抗體輕鏈恆定區，所述人源抗體輕鏈恆定區更優選為κ亞型的輕鏈恆定區；所述重鏈包括重鏈恆定區(CH)，所述重鏈恆定區優選為人源抗體重鏈恆定區，更優選為hIgG1、hIgG2、hIgG3或hIgG4亞型的重鏈恆定區，進一步優選為hIgG1亞型的重鏈恆定區。

【0019】 在本發明一些技術方案中，所述標靶CD40的抗原結合蛋白為全長抗體，所述全長抗體包含輕鏈和重鏈，所述輕鏈包括如SEQ ID NO: 87-92任一項所示的胺基酸序列，所述重鏈包括如SEQ ID NO: 78或84所示的胺基酸序列。較佳地，所述輕鏈包括如SEQ ID NO: 87所示的胺基酸序列，所述重鏈包括如SEQ ID NO:

78所示的胺基酸序列；或，所述輕鏈包括如SEQ ID NO: 88-92任一項所示的胺基酸序列，所述重鏈包括如SEQ ID NO: 84所示的胺基酸序列，具體輕鏈和重鏈組合見表1-3。

表1-3 標靶CD40的抗原結合蛋白的具體輕鏈和重鏈組合

分子編號	SEQ ID NO:	
	輕鏈	重鏈
PR003379	87	78
PR006495	88	84
PR006496	89	84
PR006497	90	84
PR006504	91	84
PR006511	92	84

【0020】 在本發明一些技術方案中，所述標靶PD-L1的抗原結合蛋白包含重鏈可變區(VH)，所述VH包含HCDR1、HCDR2和HCDR3，所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 5所示的胺基酸序列或在SEQ ID NO: 5上具有3、2或1個胺基酸突變的變異體7，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 16所示的胺基酸序列或在SEQ ID NO: 16上具有3、2或1個胺基酸突變的變異體8，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 25所示的胺基酸序列或在SEQ ID NO: 25上具有3、2或1個胺基酸突變的變異體9。

【0021】 在本發明一些技術方案中，所述變異體7為在SEQ ID NO: 5的第3位和/或第6位上發生胺基酸突變的胺基酸序列，所述變異體8為在SEQ ID NO: 16的第1位、第3位和/或第6位上發生胺基

酸突變的胺基酸序列，所述變異體9為在SEQ ID NO: 25的第4位、第8位和/或第11位上發生胺基酸突變的胺基酸序列，所述胺基酸突變優選為胺基酸替代，更優選為胺基酸的守恆替代。更佳地，所述變異體7為在SEQ ID NO: 5上發生N3T/D和/或N5S突變的胺基酸序列，所述變異體8為在SEQ ID NO: 16上發生W1R、D3T和/或K5E突變的胺基酸序列，所述變異體9為在SEQ ID NO: 25上發生I4L、V8I和/或A11D突變的胺基酸序列。較佳地，所述變異體7為如SEQ ID NO: 7或9所示的胺基酸序列，所述變異體8為如SEQ ID NO: 19所示的胺基酸序列，所述變異體9為如SEQ ID NO: 28、29或30所示的胺基酸序列。

【0022】 在本發明一些技術方案中，所述標靶PD-L1的抗原結合蛋白中，所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 5、7或9所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 16或19所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 25、28、29或30所示的胺基酸序列。

【0023】 在本發明一些技術方案中，所述標靶PD-L1的抗原結合蛋白中，所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 5所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 16所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 25所示的胺基酸序列；或，所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 7所示的胺基酸序列，所述HCDR2包

括如SEQ ID NO: 16所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 25所示的胺基酸序列；或，所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 7所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 19所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 28所示的胺基酸序列；或，所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 9所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 19所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 25所示的胺基酸序列；或，所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 9所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 19所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 29所示的胺基酸序列；或，所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 9所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 19所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 30所示的胺基酸序列；或，所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 9所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 19所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 28所示的胺基酸序列。

【0024】 在本發明一些技術方案中，所述標靶PD-L1的抗原結合蛋白中，所述VH包括如SEQ ID NO: 57所示的胺基酸序列或與SEQ ID NO: 57有至少85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同性的胺基酸序列。更佳地，所述VH包括如SEQ ID NO: 57-65任一項所示的胺基酸序列。

【0025】 在本發明一些技術方案中，所述第一蛋白功能區為包括所述標靶CD40的抗原結合蛋白的免疫球蛋白，所述第二蛋白功能區包括一個、兩個或多個所述標靶PD-L1的抗原結合蛋白的所述VH。

【0026】 在本發明一些技術方案中，所述標靶PD-L1的抗原結合蛋白的所述VH與所述免疫球蛋白直接相連；或，所述VH透過連接子與所述免疫球蛋白相連；或，當所述VH的數量大於1時，各所述VH可分別直接或透過連接子與所述免疫球蛋白相連。

【0027】 在本發明一些技術方案中，當所述VH透過連接子與所述免疫球蛋白相連時，所述連接子選自如GS、GGs和SEQ ID NO: 100-106所示的任一胺基酸序列。

【0028】 在本發明一些技術方案中，所述第二蛋白功能區包括兩個所述標靶PD-L1的抗原結合蛋白的所述VH。較佳地，所述第二蛋白功能區包括的兩個所述VH相同；和/或，兩個所述VH的C端分別透過如GGs或SEQ ID NO: 5所示的連接子連接在所述免疫球蛋白中兩個重鏈的N端。

【0029】 在本發明一些技術方案中，所述第一蛋白功能區包含包括如SEQ ID NO: 88-92任一所示胺基酸序列的兩條輕鏈和包括如SEQ ID NO: 84所示胺基酸序列的兩條重鏈，所述第二蛋白功能區包含包括如SEQ ID NO: 79-83任一所示胺基酸序列的兩個VH，

所述兩個VH透過的C端透過如GGS或SEQ ID NO: 5所示的連接子分別連接在所述第一蛋白功能區中兩條重鏈的N端。

【0030】 較佳地，所述標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白包含如下所示的第一多肽鏈和第二多肽鏈：

胺基酸序列如SEQ ID NO: 89所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 93所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 88所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 94所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 91所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 94所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 90所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 93所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 92所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 93所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 88所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 95所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 88所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 96所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 88所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 97所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 91所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 95所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 91所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 93所示的第一多肽鏈；或，胺

基酸序列如SEQ ID NO: 91所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 96所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 89所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 97所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 90所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 97所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 88所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 98所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 88所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 99所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 91所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 98所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 91所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 99所示的第一多肽鏈。

【0031】 為解決上述技術問題，本發明第二方面提供了一種標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白，其包括第一蛋白功能區和第二蛋白功能區，所述第一蛋白功能區包含標靶CD40的抗原結合蛋白，所述第二蛋白功能區包含標靶PD-L1的抗原結合蛋白；其中，

所述標靶PD-L1的抗原結合蛋白包含重鏈可變區(VH)，所述VH包含HCDR1、HCDR2和HCDR3，所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 5所示的胺基酸序列或在SEQ ID NO: 5上具有3、2或1個胺基酸突變的變異體7，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 16所示的胺基

酸序列或在SEQ ID NO: 16上具有3、2或1個胺基酸突變的變異體8，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 25所示的胺基酸序列或在SEQ ID NO: 25上具有3、2或1個胺基酸突變的變異體9。

【0032】 在本發明一些技術方案中，所述變異體7為在SEQ ID NO: 5的第3位和/或第6位上發生胺基酸突變的胺基酸序列，所述變異體8為在SEQ ID NO: 16的第1位、第3位和/或第6位上發生胺基酸突變的胺基酸序列，所述變異體9為在SEQ ID NO: 25的第4位、第8位和/或第11位上發生胺基酸突變的胺基酸序列，所述胺基酸突變優選為胺基酸替代，更優選為胺基酸的守恆替代。更佳地，所述變異體7為在SEQ ID NO: 5上發生N3T/D和/或N5S突變的胺基酸序列，所述變異體8為在SEQ ID NO: 16上發生W1R、D3T和/或K5E突變的胺基酸序列，所述變異體9為在SEQ ID NO: 25上發生I4L、V8I和/或A11D突變的胺基酸序列。較佳地，所述變異體7為如SEQ ID NO: 7或9所示的胺基酸序列，所述變異體8為如SEQ ID NO: 19所示的胺基酸序列，所述變異體9為如SEQ ID NO: 28、29或30所示的胺基酸序列。

【0033】 在本發明一些技術方案中，所述標靶PD-L1的抗原結合蛋白中，所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 5、7或9所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 16或19所示的胺基酸序列，

所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 25、28、29或30所示的胺基酸序列。

【0034】 在本發明一些技術方案中，所述標靶PD-L1的抗原結合蛋白中，所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 5所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 16所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 25所示的胺基酸序列；或，所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 7所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 16所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 25所示的胺基酸序列；或，所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 7所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 19所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 28所示的胺基酸序列；或，所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 9所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 19所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 25所示的胺基酸序列；或，所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 9所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 19所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 29所示的胺基酸序列；或，所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 9所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 19所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 30所示的胺基酸序列；或，所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 9所示的胺基酸序列，所述HCDR2包

括如SEQ ID NO: 19所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 28所示的胺基酸序列。

【0035】 在本發明一些技術方案中，所述標靶PD-L1的抗原結合蛋白中，所述VH包括如SEQ ID NO: 57所示的胺基酸序列或與SEQ ID NO: 57有至少85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同性的胺基酸序列。更佳地，所述VH包括如SEQ ID NO: 57-65任一項所示的胺基酸序列。

【0036】 在本發明一些技術方案中，所述標靶CD40的抗原結合蛋白包含輕鏈可變區(VL)和重鏈可變區(VH)，所述VL包含LCDR1、LCDR2和LCDR3，所述VH包含HCDR1、HCDR2和HCDR3；所述LCDR1包括如SEQ ID NO: 38所示的胺基酸序列或在SEQ ID NO: 38上具有3、2或1個胺基酸突變的變異體1，所述LCDR2包括如SEQ ID NO: 43所示的胺基酸序列或在SEQ ID NO: 43上具有3、2或1個胺基酸突變的變異體2，所述LCDR3包括如SEQ ID NO: 48所示的胺基酸序列或在SEQ ID NO: 48上具有3、2或1個胺基酸突變的變異體3；所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 8所示的胺基酸序列或在SEQ ID NO: 8上具有3、2或1個胺基酸突變的變異體4，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 18所示的胺基酸序列或在SEQ ID NO: 18上具有3、2或1個胺基酸突變的變異體5，所

述HCDR3包括如SEQ ID NO: 27所示的胺基酸序列或在SEQ ID NO: 27上具有3、2或1個胺基酸突變的變異體6。

【0037】 在本發明一些技術方案中，所述標靶CD40的抗原結合蛋白包含輕鏈可變區(VL)和重鏈可變區(VH)，所述VL包含LCDR1、LCDR2和LCDR3，所述VH包含HCDR1、HCDR2和HCDR3；所述LCDR1包括如SEQ ID NO: 38所示的胺基酸序列，所述LCDR2包括如SEQ ID NO: 43所示的胺基酸序列，所述LCDR3包括如SEQ ID NO: 48所示的胺基酸序列或在SEQ ID NO: 48上具有3、2或1個胺基酸突變的變異體3；所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 8所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 18所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 27所示的胺基酸序列。

【0038】 在本發明一些技術方案中，所述變異體3包括在SEQ ID NO: 48所示胺基酸序列上具有PTM位點突變的胺基酸序列，優選包括在SEQ ID NO: 48所示胺基酸序列的第4位和/或第5位上發生胺基酸突變的胺基酸序列，所述胺基酸突變優選為胺基酸替代，更優選為胺基酸的守恆替代。較佳地，所述變異體3為在SEQ ID NO: 48所示胺基酸序列上發生N4A/F/Y/V/N和/或S5N突變的胺基酸序列。更佳地，所述變異體3為如SEQ ID NO: 49-53任一項所示的胺基酸序列。

【0039】 在本發明一些技術方案中，所述標靶CD40的抗原結合蛋白中，所述LCDR1包括如SEQ ID NO: 38所示的胺基酸序列，所述LCDR2包括如SEQ ID NO: 43所示的胺基酸序列，所述LCDR3包括如SEQ ID NO: 48-53任一項所示的胺基酸序列3；所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 8所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 18所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 27所示的胺基酸序列，具體CDR組合見表1-1。

【0040】 在本發明一些技術方案中，所述標靶CD40的抗原結合蛋白中，所述VL包括如SEQ ID NO: 68所示的胺基酸序列或與SEQ ID NO: 68有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同性的胺基酸序列，所述VH包括如SEQ ID NO: 60所示的胺基酸序列或與SEQ ID NO: 60有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同性的胺基酸序列。更佳地，所述VL包括如SEQ ID NO: 68-73任一項所示的胺基酸序列，所述VH包括如SEQ ID NO: 60所示的胺基酸序列，具體VL和VH組合見表1-2。

【0041】 在本發明一些技術方案中，所述標靶CD40的抗原結合蛋白為全長抗體，所述全長抗體包含輕鏈和重鏈；所述輕鏈包括輕鏈恆定區(CL)，所述輕鏈恆定區優選為人源抗體輕鏈恆定區，所述人源抗體輕鏈恆定區更優選為κ亞型的輕鏈恆定區；所述重鏈包括重

鏈恆定區(CH)，所述重鏈恆定區優選為人源抗體重鏈恆定區，更優選為hIgG1、hIgG2、hIgG3或hIgG4亞型的重鏈恆定區，進一步優選為hIgG1亞型的重鏈恆定區。

【0042】 在本發明一些技術方案中，所述標靶CD40的抗原結合蛋白為全長抗體，所述全長抗體包含輕鏈和重鏈，所述輕鏈包括如SEQ ID NO: 87-92任一項所示的胺基酸序列，所述重鏈包括如SEQ ID NO: 78或84所示的胺基酸序列。較佳地，所述輕鏈包括如SEQ ID NO: 87所示的胺基酸序列，所述重鏈包括如SEQ ID NO: 78所示的胺基酸序列；或，所述輕鏈包括如SEQ ID NO: 88-92任一項所示的胺基酸序列，所述重鏈包括如SEQ ID NO: 84所示的胺基酸序列，具體輕鏈和重鏈組合見表1-3。

【0043】 在本發明一些技術方案中，所述第一蛋白功能區為包括所述標靶CD40的抗原結合蛋白的免疫球蛋白，所述第二蛋白功能區包括一個、兩個或多個所述標靶PD-L1的抗原結合蛋白的所述VH。

【0044】 在本發明一些技術方案中，所述標靶PD-L1的抗原結合蛋白的所述VH與所述免疫球蛋白直接相連；或，所述VH透過連接子與所述免疫球蛋白相連；或，當所述VH的數量大於1時，各所述VH可分別直接或透過連接子與所述免疫球蛋白相連。

【0045】 在本發明一些技術方案中，當所述VH透過連接子與所述免疫球蛋白相連時，所述連接子選自如GS、GGS和SEQ ID NO: 100-106所示的任一胺基酸序列。

【0046】 在本發明一些技術方案中，所述第二蛋白功能區包括兩個所述標靶PD-L1的抗原結合蛋白的所述VH。較佳地，所述第二蛋白功能區包括的兩個所述VH相同；和/或，兩個所述VH的C端分別透過如GGS或SEQ ID NO: 5所示的連接子連接在所述免疫球蛋白中兩個重鏈的N端。

【0047】 在本發明一些技術方案中，所述第一蛋白功能區包含包括如SEQ ID NO: 88-92任一所示胺基酸序列的兩條輕鏈和包括如SEQ ID NO: 84所示胺基酸序列的兩條重鏈，所述第二蛋白功能區包含包括如SEQ ID NO: 79-83任一所示胺基酸序列的兩個VH，所述兩個VH透過的C端透過如GGS或SEQ ID NO: 5所示的連接子分別連接在所述第一蛋白功能區中兩條重鏈的N端。

【0048】 較佳地，所述標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白包含如下所示的第一多肽鏈和第二多肽鏈：

胺基酸序列如SEQ ID NO: 89所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 93所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 88所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 94所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 91所示的第二多肽鏈，

胺基酸序列如SEQ ID NO: 94所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 90所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 93所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 92所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 93所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 88所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 95所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 88所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 96所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 88所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 97所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 91所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 95所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 91所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 93所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 91所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 96所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 89所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 97所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 90所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 97所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 88所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 98所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 88所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 99所示的第一多肽鏈；或，胺基酸

序列如SEQ ID NO: 91所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 98所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 91所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 99所示的第一多肽鏈。

【0049】 本發明中，所述變異體1、變異體2、變異體3、變異體4、變異體5、變異體6、變異體7、變異體8和變異體9僅用以區分不同變異體，所述第一蛋白功能區和第二蛋白功能區僅用以區分不同蛋白功能，所述第一多肽鏈和第二多肽鏈僅用以區分不同多肽鏈，數字和序號均不表示實際含義。

【0050】 本發明中CDR的胺基酸序列按照Chothia定義規則確定。

【0051】 為解決上述技術問題，本發明另一方面提供了一種嵌合抗原受體(CAR)，其包含如本發明所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白。

【0052】 為解決上述技術問題，本發明另一方面提供了一種分離的核酸，其編碼如本發明所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白。

【0053】 為解決上述技術問題，本發明另一方面提供了一種重組表現載體，其包含如本發明所述的分離的核酸。較佳地，所述重組表現載體包含真核細胞表現載體和/或原核細胞表現載體。

【0054】 為解決上述技術問題，本發明另一方面提供了一種轉形體，其包含如本發明所述的分離的核酸或如本發明所述的重組表現載體。較佳地，所述轉形體的宿主細胞為原核細胞和/或真核細胞，所述原核細胞優選為*E. coli*細胞如TG1、BL21，所述真核細胞優選HEK293細胞或CHO細胞。

【0055】 為解決上述技術問題，本發明另一方面提供了一種如本發明所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白的製備方法，其包括以下步驟：培養如本發明所述的轉形體，從培養物中獲得所述標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白。

【0056】 為解決上述技術問題，本發明另一方面提供了一種抗體藥物偶聯物(Antibody-drug conjugate, ADC)，其包含如本發明所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白，和細胞毒性劑或標幟。較佳地，所述細胞毒性劑為MMAF或MMAE，所述標幟為螢光劑。

【0057】 為解決上述技術問題，本發明另一方面提供了一種基因修飾的細胞，其表現如本發明所述的嵌合抗原受體。較佳地，所述基因修飾的細胞為真核細胞，優選分離的人細胞，更優選免疫細胞如T細胞，或NK細胞。

【0058】 為解決上述技術問題，本發明另一方面提供了一種藥物組成物，其包含如本發明所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋

白、如本發明所述的嵌合抗原受體、如本發明所述的分離的核酸、如本發明所述的重組表現載體，如本發明所述的基因修飾的細胞和如本發明所述的抗體藥物偶聯物中的一種或多種，和/或藥學上可接受的載劑。較佳地，所述藥物組成物還包括其他抗腫瘤藥物作為活性成分。所述抗腫瘤藥物包括但不限於：化療藥物、核苷酸藥物、小分子標靶藥物、單株抗體藥物、雙/多特異性抗體藥物、重組蛋白藥物、免疫調節藥物、細胞療法藥物和基因療法藥物。

【0059】 為解決上述技術問題，本發明另一方面提供了一種檢測試劑，其包含如本發明所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白和/或如本發明所述的抗體藥物偶聯物。較佳地，所述檢測試劑為液體劑型、氣體劑型、固體劑型和半固體劑型。更佳地，所述檢測試劑還包括二抗、CD40或其衍生物，所述二抗例如抗人IgG的抗體偶聯辣根過氧化物酶和抗人IgG的抗體偶聯生物素蛋白。

【0060】 為解決上述技術問題，本發明另一方面提供了一種套裝藥盒，其包含藥盒A，所述藥盒A含有如本發明所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白、如本發明所述的嵌合抗原受體、如本發明所述的藥物組成物、如本發明所述的檢測試劑、如本發明所述的基因修飾的細胞和如本發明所述的抗體藥物偶聯物中的一種或多種。

【0061】 較佳地，所述套裝藥盒還包括藥盒B，所述藥盒B含有其他抗腫瘤抗體或者包含所述其他抗腫瘤抗體的藥物組成物，和/或

由激素製劑、標靶小分子製劑、蛋白酶體抑制劑、成像劑、診斷劑、化療劑、溶瘤藥物、細胞毒性劑、細胞激素、共刺激分子的活化劑、抑制性分子的抑制劑以及疫苗組成的群組中的一種或多種。

【0062】 為解決上述技術問題，本發明另一方面提供了如本發明所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白、如本發明所述的嵌合抗原受體、如本發明所述的分離的核酸、如本發明所述的重組表現載體，如本發明所述的藥物組成物、如本發明所述的檢測試劑、如本發明所述的套裝藥盒、如本發明所述的基因修飾的細胞和如本發明所述的抗體藥物偶聯物中的一種或多種在製備診斷、預防和/或治療PD-L1和/或CD40相關疾病的藥物中的應用。較佳地，所述PD-L1和/或CD40相關疾病為PD-L1相關腫瘤、CD40相關腫瘤或PD-L1×CD40相關腫瘤。較佳地，所述CD40相關腫瘤包括固態腫瘤和血液瘤，所述PD-L1相關腫瘤包括固態腫瘤和血液瘤。更佳地，所述CD40相關腫瘤包括B系NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、多毛細胞白血病(HCL)、霍奇金病、多發性骨髓瘤、膀胱癌、腎癌、卵巢癌、子宮頸癌、乳腺癌、肺癌、鼻咽癌、惡性黑色素瘤、胰腺癌和結腸癌；所述PD-L1相關腫瘤包括鱗狀細胞癌、骨髓瘤、小細胞肺癌、非小細胞肺癌(NSCLC)、頭和頸鱗狀細胞癌(HNSCC)、神經膠質瘤、何傑金淋巴瘤、非何傑金淋巴瘤、瀰漫性大B-細胞淋巴瘤(DLBCL)、濾泡性淋巴瘤、急性成淋巴細胞性白血病(ALL)、急性

骨髓性白血病(AML)、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、原發性縱隔大B-細胞淋巴瘤、套細胞淋巴瘤(MCL)、小淋巴細胞性淋巴瘤(SLL)、富含T-細胞/組織細胞的大B-細胞淋巴瘤、多發性骨髓瘤、骨髓細胞白血病-1(Mcl-1)、骨髓異常增生症候群(MDS)、胃腸(道)癌、腎癌、卵巢癌、肝癌、成淋巴細胞性白血病、淋巴細胞白血病、結腸直腸癌、子宮內膜癌、腎癌、前列腺癌、甲狀腺癌、黑色素瘤、軟骨肉瘤、神經母細胞瘤、胰腺癌、多形性神經膠質母細胞瘤、胃癌、骨癌、尤因氏肉瘤、子宮頸癌、腦癌、胃癌、膀胱癌、肝細胞瘤、乳腺癌、結腸癌、肝細胞癌(HCC)、透明細胞腎細胞癌(RCC)、頭和頸癌、咽喉癌、肝膽癌(hepatobiliary cancer)、中樞神經系統癌、食管癌、惡性胸膜間皮瘤、全身性輕鏈澱粉樣變性、淋巴漿細胞性淋巴瘤(lymphoplasmacytic lymphoma)、骨髓異常增生症候群、骨髓增生性腫瘤、神經內分泌腫瘤、梅克爾細胞癌、睪丸癌和皮膚癌，優選為高表現PD-L1的結腸癌。

【0063】 為解決上述技術問題，本發明另一方面提供了一種檢測樣品中PD-L1和/或CD40的方法，其包括使用如本發明所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白、如本發明所述的檢測試劑和如本發明所述的抗體藥物偶聯物中的一種或多種與所述樣品接觸的步驟。所述樣品例如血液樣本(例如全血樣本和血清樣本)和包含PD-

L1和/或CD40的試劑。較佳地，所述方法為非治療/診斷目的的，例如科學研究中檢測PD-L1和/或CD40標準品的濃度、其他試劑是否被PD-L1和/或CD40污染等。

【0064】 為解決上述技術問題，本發明另一方面提供了一種診斷、治療和/或預防PD-L1和/或CD40相關疾病的方法，所述方法包括向有需要的患者施用治療有效量的如本發明所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白、如本發明所述的嵌合抗原受體、如本發明所述的分離的核酸、如本發明所述的重組表現載體，如本發明所述的藥物組成物、如本發明所述的檢測試劑、如本發明所述的基因修飾的細胞和如本發明所述的抗體藥物偶聯物中的一種或多種，或者使用如本發明所述的套裝藥盒診斷或治療有需要的患者。較佳地，所述PD-L1和/或CD40相關疾病為PD-L1相關腫瘤、CD40相關腫瘤或PD-L1×CD40相關腫瘤。較佳地，所述CD40相關腫瘤包括固態腫瘤和血液瘤，所述PD-L1相關腫瘤包括固態腫瘤和血液瘤。更佳地，所述CD40相關腫瘤包括B系NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、多毛細胞白血病(HCL)、霍奇金病、多發性骨髓瘤、膀胱癌、腎癌、卵巢癌、子宮頸癌、乳腺癌、肺癌、鼻咽癌、惡性黑色素瘤、胰腺癌和結腸癌；所述PD-L1相關腫瘤包括鱗狀細胞癌、骨髓瘤、小細胞肺癌、非小細胞肺癌(NSCLC)、頭和頸鱗狀細胞癌(HNSCC)、神經膠質瘤、何傑金淋巴瘤、非何傑金淋巴瘤、瀰漫性大B-細胞淋巴瘤

(DLBCL)、濾泡性淋巴瘤、急性成淋巴細胞性白血病(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、原發性縱隔大B-細胞淋巴瘤、套細胞淋巴瘤(MCL)、小淋巴細胞性淋巴瘤(SLL)、富含T-細胞/組織細胞的大B-細胞淋巴瘤、多發性骨髓瘤、骨髓細胞白血病-1蛋白(Mcl-1)、骨髓異常增生症候群(MDS)、胃腸(道)癌、腎癌、卵巢癌、肝癌、成淋巴細胞性白血病、淋巴細胞白血病、結腸直腸癌、子宮內膜癌、腎癌、前列腺癌、甲狀腺癌、黑色素瘤、軟骨肉瘤、神經母細胞瘤、胰腺癌、多形性神經膠質母細胞瘤、胃癌、骨癌、尤因氏肉瘤、子宮頸癌、腦癌、胃癌、膀胱癌、肝細胞瘤、乳腺癌、結腸癌、肝細胞癌(HCC)、透明細胞腎細胞癌(RCC)、頭和頸癌、咽喉癌、肝膽癌(hepatobiliary cancer)、中樞神經系統癌、食管癌、惡性胸膜間皮瘤、全身性輕鏈澱粉樣變性、淋巴漿細胞性淋巴瘤(lymphoplasmacytic lymphoma)、骨髓異常增生症候群、骨髓增生性腫瘤、神經內分泌腫瘤、梅克爾細胞癌、睪丸癌和皮膚癌，優選為高表現PD-L1的結腸癌。

【0065】 為解決上述技術問題，本發明另一方面提供了用於診斷、預防和/或治療PD-L1和/或CD40相關疾病的如本發明所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白、如本發明所述的嵌合抗原受體、如本發明所述的分離的核酸、如本發明所述的重組表現載體，如本

發明所述的藥物組成物、如本發明所述的檢測試劑、如本發明所述的套裝藥盒、如本發明所述的基因修飾的細胞和/或如本發明所述的抗體藥物偶聯物。較佳地，所述PD-L1和/或CD40相關疾病為PD-L1相關腫瘤、CD40相關腫瘤或PD-L1×CD40相關腫瘤。較佳地，所述CD40相關腫瘤包括固態腫瘤和血液瘤，所述PD-L1相關腫瘤包括固態腫瘤和血液瘤。更佳地，所述CD40相關腫瘤包括B系NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、多毛細胞白血病(HCL)、霍奇金病、多發性骨髓瘤、膀胱癌、腎癌、卵巢癌、子宮頸癌、乳腺癌、肺癌、鼻咽癌、惡性黑色素瘤、胰腺癌和結腸癌；所述PD-L1相關腫瘤包括鱗狀細胞癌、骨髓瘤、小細胞肺癌、非小細胞肺癌(NSCLC)、頭和頸鱗狀細胞癌(HNSCC)、神經膠質瘤、何傑金淋巴瘤、非何傑金淋巴瘤、瀰漫性大B-細胞淋巴瘤(DLBCL)、濾泡性淋巴瘤、急性成淋巴細胞性白血病(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、原發性縱隔大B-細胞淋巴瘤、套細胞淋巴瘤(MCL)、小淋巴細胞性淋巴瘤(SLL)、富含T-細胞/組織細胞的大B-細胞淋巴瘤、多發性骨髓瘤、骨髓細胞白血病-1蛋白(Mcl-1)、骨髓異常增生症候群(MDS)、胃腸(道)癌、腎癌、卵巢癌、肝癌、成淋巴細胞性白血病、淋巴細胞白血病、結腸直腸癌、子宮內膜癌、腎癌、前列腺癌、甲狀腺癌、黑色素瘤、軟骨肉瘤、神經母細胞瘤、胰腺癌、多形性神經膠質母細胞瘤、胃癌、骨癌、尤因

氏肉瘤、子宮頸癌、腦癌、胃癌、膀胱癌、肝細胞瘤、乳腺癌、結腸癌、肝細胞癌(HCC)、透明細胞腎細胞癌(RCC)、頭和頸癌、咽喉癌、肝膽癌(hepatobiliary cancer)、中樞神經系統癌、食管癌、惡性胸膜間皮瘤、全身性輕鏈澱粉樣變性、淋巴漿細胞性淋巴瘤(lymphoplasmacytic lymphoma)、骨髓異常增生症候群、骨髓增生性腫瘤、神經內分泌腫瘤、梅克爾細胞癌、睪丸癌和皮膚癌，優選為高表現PD-L1的結腸癌。

【0066】 本發明中，“具有3、2或1個胺基酸突變”是指包括在原胺基酸序列的基礎上發生胺基酸的插入、缺失或替換。示例性的解釋是對CDR的突變可以包含3個、2個或1個胺基酸的突變，這些CDR之間可以任選地選擇相同或不同數目的胺基酸殘基進行突變，例如可以是對CDR1進行1個胺基酸的突變，對CDR2和CDR3不進行胺基酸突變。

【0067】 本發明中，“PTM位點突變”是指相較於原胺基酸序列而言，變異體的序列存在PTM位點上胺基酸的突變。根據抗體序列和PTM序列模式的不同，有不同的突變設計方法。一種方法是將“熱點”胺基酸(如NS模式中的N或S)替換成物理化學性質相似的胺基酸(如把N突變為Q)。如果PTM序列模式來源於體細胞高頻突變，而並不存在於生殖系基因序列中，那麼另一種方法可以是把該序列模式替換成對應的生殖系基因序列。

【0068】 本發明中，所述的VH、VL或所述的全長抗體均可包含在所限定的序列的基礎上進行突變的情形。所述突變為所限定的胺基酸序列上發生了一個或多個胺基酸殘基的缺失、取代或添加，且所述突變的胺基酸序列與所限定的胺基酸序列具有至少80%序列相同性，並保持或改善了包含該突變的胺基酸序列的抗原結合蛋白的結合活性；所述至少80%序列相同性優選為至少85%序列相同性、90%序列相同性；更優選為至少95%序列相同性；最優選為至少99%序列相同性。

【0069】 本發明中，“包括”、“包含”和“為”在某些具體的實施例中表示一樣的意思。

【0070】 在符合本領域常識的基礎上，上述各優選條件，可任意組合，即得本發明各較佳實例。

【0071】 本發明所用試劑和原料均市售可得。

【0072】 本發明的積極進步效果在於：

本發明所述的標靶CD40的抗原結合蛋白具有與CD40的高親和力和對訊息途徑的促效活性強的特性，尤其是交聯後促效活性增強，使得本發明所述的標靶CD40的抗原結合蛋白具有更大的治療窗口，為在臨床試驗中，在安全耐受的劑量條件下，顯著提高患者響應率提供良好基礎；本發明所述的標靶PD-L1的抗原結合蛋白具有與PD-L1的高親和力的，能夠有效抑制PD-L1的生物活性。在此基

礎上，本發明所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白具備優異的抗腫瘤藥效、良好的安全性、出色的成藥性。本發明所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白透過阻斷PD-1/PD-L1抑制性訊息途徑，以及作用於活化性的CD40受體，同時活化抗原呈現細胞和淋巴細胞，加強抗原呈現細胞向淋巴細胞呈現腫瘤抗原，並促進淋巴細胞的響應，獲得了顯著的協同的抗腫瘤效果；同時，所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白對免疫細胞的活化，只發生在腫瘤微環境部位，顯著的去除了系統性藥物毒性和副作用問題；使得該抗原結合蛋白在非常安全的前提條件下，發揮其優異的抗腫瘤藥效；目前國內外還沒有該標的組合的抗體新藥上市，該發明有望為多種腫瘤的治療帶來新的機遇。

【圖式簡單說明】

【0073】 圖1A-圖1D部分分別展示本發明的部分CD40抗體結合高表現人CD40的Raji細胞的位準。

【0074】 圖2A展示PR003379在有或者沒有表現人CD32B的細胞媒介交聯的條件下對HEK293-hCD40-NFκB螢光報導基因細胞的活化作用，圖2B展示對照Selicrelumab在有或者沒有CD32B的細胞媒介交聯的條件下對HEK293-hCD40-NFκB螢光報導基因細胞的活化作用，圖2C展示其餘CD40抗體在有CD32B細胞媒介交聯的條件下對HEK293-hCD40-NFκB螢光報導基因細胞的活化作

用，圖2D展示其餘CD40抗體在沒有表現人CD32B的細胞媒介交聯的條件下對HEK293-hCD40-NFκB螢光報導基因細胞的活化作用。

【0075】 圖3A和圖3B分別展示本發明的部分PD-L1抗體結合高表現人PD-L1的CHO-K1細胞CHO-K1/hPD-L1的位準。

【0076】 圖4A和圖4B分別展示本發明的部分PD-L1抗體在報導基因細胞實驗中對PD-1訊息途徑的抑制作用。

【0077】 圖5顯示了PD-L1×CD40雙特異結合蛋白的分子結構示意圖。

【0078】 圖6A和圖6B分別展示本發明的部分PD-L1×CD40雙特異結合蛋白結合人PD-L1細胞CHO-K1/hPD-L1的位準。

【0079】 圖7A和圖7B分別展示本發明的部分PD-L1×CD40雙特異結合蛋白結合食蟹猴PD-L1細胞CHO-K1/cyPD-L的位準。

【0080】 圖8A和圖8B分別展示本發明的部分PD-L1×CD40雙特異結合蛋白結合人CD40細胞CHO-K1/hCD40的位準。

【0081】 圖9A和圖9B分別展示本發明的部分PD-L1×CD40雙特異結合蛋白結合食蟹猴CD40細胞CHO-K1/cyCD40的位準。

【0082】 圖10A和圖10B分別展示本發明的部分PD-L1×CD40雙特異結合蛋白不結合CHO-K1細胞。

【0083】 圖11A和圖11B分別展示本發明的部分PD-L1×CD40雙特異結合蛋白結合高表現人PD-L1的NCI-H226細胞的位準。

【0084】 圖12A和圖12B分別展示本發明的部分PD-L1×CD40雙特異結合蛋白結合高表現人CD40的Raji細胞的位準。

【0085】 圖13A和圖13B分別展示本發明的部分PD-L1×CD40雙特異結合蛋白結合表現人PD-L1及人CD40的MDA-MB-231細胞的位準。

【0086】 圖14A和圖14B為PD-L1×CD40雙特異結合蛋白在報導基因細胞實驗中對PD-1訊息途徑的抑制作用的第一批次實驗，圖14C和圖14D為PD-L1×CD40雙特異結合蛋白在報導基因細胞實驗中對PD-1訊息途徑的抑制作用的第二批次實驗。

【0087】 圖15A-圖15C為PD-L1×CD40雙特異結合蛋白在報導基因細胞實驗中對CD40訊息途徑的活化作用的第一批次實驗，圖15D和圖15E為PD-L1×CD40雙特異結合蛋白在報導基因細胞實驗中對CD40訊息途徑的活化作用的第二批次實驗，圖15F-圖15K為PD-L1×CD40雙特異結合蛋白在報導基因細胞實驗中對CD40訊息途徑的活化作用的第三批次實驗。

【0088】 圖16A和圖16B分別展示本發明的部分PD-L1×CD40雙特異結合蛋白活化人DC細胞(供體#1)促進分泌IL12p40的位準。

【0089】 圖17A和圖17B分別展示本發明的部分PD-L1×CD40雙特異結合蛋白活化人DC細胞(供體#2)促進分泌IL12p40的位準。

【0090】 圖18A和圖18B分別展示本發明的部分PD-L1×CD40雙特異結合蛋白活化人DC細胞(供體#3)促進分泌IL12p40的位準。

【0091】 圖19A-圖19B為PD-L1×CD40雙特異結合蛋白活化人DC細胞(供體#4)促進iDC細胞分泌IL12p40的位準，圖19C-圖19D為PD-L1×CD40雙特異結合蛋白活化人DC細胞(供體#4)促進mDC細胞分泌IL12p40的位準。

【0092】 圖20顯示了PD-L1×CD40雙特異結合蛋白促進人B細胞(供體#1)增殖的位準。

【0093】 圖21顯示了PD-L1×CD40雙特異結合蛋白促進人B細胞(供體#2)增殖的位準。

【0094】 圖22A和圖22B分別展示本發明的部分PD-L1×CD40雙特異結合蛋白促進人B細胞(供體#3)增殖的位準。

【0095】 圖23A和圖23B分別展示本發明的部分PD-L1×CD40雙特異結合蛋白促進人B細胞(供體#4)增殖的位準。

【0096】 圖24A和圖24B分別展示本發明的部分PD-L1×CD40雙特異結合蛋白促進人B細胞(供體#5)增殖的位準。

【0097】 圖25A為PD-L1×CD40雙特異結合蛋白在小鼠體內抗腫瘤藥效(小鼠藥效實驗#1)中的腫瘤體積變化，圖25B為PD-L1×CD40雙特異結合蛋白在小鼠體內抗腫瘤藥效(小鼠藥效實驗#1)中的小鼠體重變化。

【0098】 圖26A為PD-L1×CD40雙特異結合蛋白在小鼠體內抗腫瘤藥效(小鼠藥效實驗#2)中的腫瘤體積變化，圖26B為PD-L1×CD40雙特異結合蛋白在小鼠體內抗腫瘤藥效(小鼠藥效實驗#2)中的小鼠體重變化。

【0099】 圖27A為PD-L1×CD40雙特異結合蛋白在小鼠體內抗腫瘤藥效(小鼠藥效實驗#3)中的腫瘤體積變化，圖27B為PD-L1×CD40雙特異結合蛋白在小鼠體內抗腫瘤藥效(小鼠藥效實驗#3)中的小鼠體重變化。

【0100】 圖28顯示了小鼠藥效實驗#3中PD-L1×CD40雙特異結合蛋白和Selicrelumab對小鼠肝臟功能指標ALT和AST的影響。

【0101】 圖29顯示了小鼠藥效實驗#3中小鼠肝臟組織切片染色分析結果。

【0102】 圖30A為PD-L1×CD40雙特異結合蛋白和Selicrelumab在小鼠體內抗腫瘤藥效(小鼠藥效實驗#4)中的腫瘤體積變化，圖30B為PD-L1×CD40雙特異結合蛋白和Selicrelumab在小鼠體內抗腫瘤藥效(小鼠藥效實驗#4)中的小鼠體重變化。

【0103】 圖31顯示了小鼠藥效實驗#4中PD-L1×CD40雙特異結合蛋白和Selicrelumab對小鼠肝臟功能指標ALT和AST的影響。

【0104】 圖32顯示了小鼠藥效實驗#4中小鼠周邊血液細胞激素位準(IL-6，IFN- γ)。

【0105】 圖33顯示了小鼠藥效實驗#4中小鼠周邊血液細胞激素位準(TNF- α ，IL12p40)。

【0106】 圖34顯示了小鼠藥效實驗#4中小鼠肝臟組織切片染色分析結果。

【0107】 圖35A為PR007619PD-L1 $\times$ CD40雙特異結合蛋白在小鼠體內的藥代動力學，圖35B為PR007556PD-L1 $\times$ CD40雙特異結合蛋白在小鼠體內的藥代動力學，圖35C為PR007281PD-L1 $\times$ CD40雙特異結合蛋白在小鼠體內的藥代動力學，圖35D為PR007276PD-L1 $\times$ CD40雙特異結合蛋白在小鼠體內的藥代動力學；圖中Total指Fc端檢測，Free指PD-L1端檢測。

【實施方式】

具體實施方式

【0108】 以下由特定的具體實施例說明本發明的實施方式，熟悉此技術的人士可由本說明書所揭示的內容容易地瞭解本發明的其他優點及效果。

【0109】 在本發明中，術語“結合蛋白”或者“抗原結合蛋白”通常是指包含結合抗原的部分的蛋白質，以及任選地允許結合抗原的部分採用促進抗原結合蛋白與抗原結合的構象的支架或骨架部分。可典型地包含抗體輕鏈可變區(VL)、抗體重鏈可變區(VH)或上述兩者。VH和VL區可進一步被區分為稱為互補決定區(CDR)的高度變

異區，它們散佈在稱為框架區(FR)的更守恆的區域中。每個VH和VL可由三個CDR和四個FR區構成，它們從胺基端至羧基端可按以下順序排列：FR-1、CDR1、FR-2、CDR2、FR-3、CDR3和FR-4。重鏈和輕鏈的可變區含有與抗原相互作用的結合結構域。VH的三個CDR分別表示為HCDR1、HCDR2和HCDR3，也可表示為VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3；VL的三個CDR分別表示為LCDR1、LCDR2和LCDR3，也可表示為VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3。抗原結合蛋白的實例包括但不限於抗體、抗原結合片段(Fab，Fab'，F(ab)₂，Fv片段，F(ab')₂，scFv，di-scFv和/或dAb)、免疫綴合物、多特異性抗體(例如雙特異性抗體)、抗體片段、抗體衍生物、抗體類似物或融合蛋白等，只要它們顯示出所需的抗原結合活性即可。

【0110】 在本發明中，所述CDR的胺基酸序列均是按照Chothia定義規則所示出的。但是，本領域人員公知，在本領域中可以透過多種方法來定義抗體的CDR，例如基於序列可變性的Kabat定義規則(參見，Kabat等人，免疫學的蛋白質序列，第五版，美國國立衛生研究院，貝塞斯達，馬裡蘭州(1991))和基於結構環區域位置的Chothia定義規則(參見JMol Biol 273:927-48,1997)。在本發明的技術方案中，還可以使用包含了Kabat定義和Chothia定義的Combined定義規則來確定可變結構域序列中的胺基酸殘基。其中

Combined定義規則即是將Kabat定義和Chothia定義的範圍相結合，基於此取了一個更大的範圍，詳見下表 2。本領域技術人員應當理解的是，除非另有規定，否則術語給定抗體或其區(例如可變區)的“CDR”及“互補決定區”應瞭解為涵蓋如透過本發明描述的上述已知方案中的任何一種界定的互補決定區。雖然本發明中請求保護的範圍是基於Chothia定義規則所示出的序列，但是根據其他CDR的定義規則所對應的胺基酸序列也應當落在本發明的保護範圍中。

表 2 本發明抗體CDR定義方法

	Kabat	Chothia	Combined
LCDR1	L24--L34	L24--L34	L24-L34
LCDR2	L50--L56	L50--L56	L50-L56
LCDR3	L89--L97	L89--L97	L89-L97
HCDR1	H31--H35	H26--H32	H26-H35
HCDR2	H50--H65	H52--H56	H50-H65
HCDR3	H95--H102	H95--H102	H95-H102

【0111】 其中，Laa-Lbb可以指從抗體輕鏈的N端開始，第aa位(Chothia編碼規則)至第bb位(Chothia編碼規則)的胺基酸序列；Haa-Hbb可以指從抗體重鏈的N端開始，第aa位(Chothia編碼規則)至第bb位(Chothia編碼規則)的胺基酸序列。例如，L24-L34可以指從抗體輕鏈N端開始，按照Chothia編碼規則的從第24位至第34位的胺基酸序列；H26-H32可以指從抗體重鏈N端開始，按照Chothia編碼規則的從第26位至第32位的胺基酸序列。本領域技術人員應當

知曉的是，在用Chothia編碼CDR時，有些位置會有插入位點的情況(可參見<http://bioinf.org.uk/abs/>)。

【0112】 在本發明中，術語“單株抗體”通常是指從一群基本上同質的抗體獲得的抗體，即集群中的個別抗體是相同的，除了可能存在的少量的自然突變。單株抗體通常針對單個抗原位點具有高度特異性。而且，與常規多株抗體製劑(通常具有針對不同決定位的不同抗體)不同，各單株抗體是針對抗原上的單個決定位。除了它們的特異性之外，單株抗體的優點在於它們可以透過融合瘤培養合成，不受其他免疫球蛋白污染。修飾語“單株”表示從基本上同質的抗體群體獲得的抗體的特徵，並且不被解釋為需要透過任何特定方法產生抗體。例如，根據本發明使用的單株抗體可以在融合瘤細胞中製備，或者可以透過重組DNA方法製備。

【0113】 在本發明中，術語“全人源抗體”通常是指將人類編碼抗體的基因全部轉移至基因工程改造的抗體基因缺失動物中，使動物表現的抗體。抗體所有部分(包括抗體的可變區和恆定區)均由人類來源的基因所編碼。全人源抗體可以大大減少異源抗體對人體造成的免疫副反應。本領域獲得全人源抗體的方法可以有噬菌體展示技術、基因轉殖小鼠技術等。

【0114】 在本發明中，術語“特異性結合”通常是指抗體透過其抗原結合域與表位結合，並且該結合需要抗原結合域和表位之間的

一些互補性。根據該定義，當抗體相比於其將結合隨機的，不相關的表位而言更容易透過其抗原結合域與表位結合時，抗體被稱為“特異性結合”該抗原。“表位”是指抗原上與抗原結合蛋白(如抗體)結合的特定的原子基團(例如，醣側鏈、磷醯基、磺醯基)或胺基酸。

【0115】 在本發明中，術語“Fab”通常指常規抗體(例如IgG)中與抗原結合的部分，包括抗體的重鏈可變區VH、輕鏈可變區VL和重鏈恆定區結構域CH1以及輕鏈恆定區CL。在常規抗體中，VH的C端與CH1的N端聯結形成重鏈Fd片段，VL的C端與CL的N端聯結形成輕鏈，CH1的C端又進一步與重鏈的樞紐區和其他恆定區結構域聯結形成重鏈。在一些實施例中，“Fab”也指Fab的變異體結構。例如，在某些實施例中，VH的C端與CL的N端聯結形成一個多肽鏈，VL的C端與CH1的N端聯結形成另一個多肽鏈，形成Fab(cross VH/VL)的結構；在某些實施例中，Fab的CH1不與樞紐區聯結，而是CL的C端與重鏈的樞紐區聯結，形成Fab(cross Fd/LC)的結構。

【0116】 在本發明中，術語“VH”通常指抗體的重鏈可變區VH結構域，即可以是人或者其他動物的常規抗體(H2L2結構)的重鏈可變區VH，也可以是駱駝科等動物的重鏈抗體(HCAb結構)的重鏈可變區VHH，還可以是利用Harbour HCAb基因轉殖小鼠產生的全人源重鏈抗體(HCAb結構)的重鏈可變區VH。

【0117】 本發明中，術語“抗原結合片段”通常指任何可以與抗原特異結合的蛋白功能區域，既可以是“Fab”，也可以是“VH”，還可以是其他抗原結合形式(例如脂質運載蛋白(lipocalins)、神經細胞粘附分子(NCAM)、纖維結合蛋白(fibronectin)、錨蛋白重複片段蛋白(DAR Pins)等衍生蛋白結構)。

【0118】 在本發明中，術語“腫瘤抗原”(tumor antigen)即可以是腫瘤特異性抗原(tumor specific antigen, TSA)還可以是腫瘤相關抗原(tumor associated antigen, TAA)。腫瘤特異性抗原是指腫瘤細胞所特有的、不存在於正常細胞或組織上的抗原。腫瘤相關抗原並非腫瘤細胞所特有，也存在於正常細胞或組織，但是腫瘤細胞增殖時高度表現。

【0119】 在本發明中，術語“標的細胞”是指需要被清除掉的細胞，主要是腫瘤細胞，也可以是免疫抑制性細胞等。

【0120】 在本發明中，術語“免疫效應細胞”一般指在免疫應答中參與清除異物抗原和行使效應功能的免疫細胞。如漿細胞、細胞毒性T細胞、NK細胞等等。

【0121】 在本發明中，術語“共刺激分子”、“共刺激分子抗原”或“刺激性抗原”是指為免疫細胞如T或B細胞完全活化提供共刺激訊息的細胞表面分子及其配體，對免疫細胞活化起到正調節作用。例如CD28、4-1BB、ICOS、OX40、CD40等等。

【0122】 在本發明中，術語“共抑制分子”或“共抑制分子抗原”是一類對免疫細胞的功能起到負調節作用的細胞表面分子及其配體。例如CTLA-4、PD-L1、PD-1等等。

【0123】 在本發明中，術語“PD-L1”通常是指程序性死亡配體1蛋白、其功能變異體和/或其功能片段。PD-L1也稱為分化簇274(CD274)或B7同源物1(B7-H1)，並且是由(人類中)CD274基因編碼的蛋白。PD-L1序列是本領域已知的。例如，示例性的全長人PD-L1蛋白的胺基酸序列可在NCBI登錄號NP_054862或UniProt登錄號Q9NZQ7下找到；示例性的全長食蟹猴PD-L1蛋白序列可在NCBI登錄號XP_005581836或Uniprot登錄號G7PSE7下找到。

【0124】 在本發明中，術語“CD40”通常是指腫瘤壞死因子受體超家族成員5蛋白、其功能變異體和/或其功能片段，也稱為TNFRSF5。CD40序列是本領域已知的。例如，示例性的人CD40蛋白的胺基酸序列可在UniProt登錄號P25942下找到；示例性的食蟹猴CD40蛋白序列可在Uniprot登錄號G7PG38下找到；示例性的小鼠CD40蛋白序列可在Uniprot登錄號P27512下找到。CD40L是CD40的天然三聚體配體分子。

實施例

【0125】 下面透過實施例的方式進一步說明本發明，但並不因此將本發明限制在所述的實施例範圍之中。實施例不包括對傳統方

法的詳細描述，如那些用於建構載體和質體的方法，將編碼蛋白的基因插入到這樣的載體和質體的方法或將質體引入宿主細胞的方法。這樣的方法對於本領域中具有普通技術的人員是眾所周知的，並且在許多出版物中都有所描述。下列實施例中未註明具體條件的實驗方法，按照常規方法和條件，或按照商品說明書選擇。

實施例1 重組抗體的表現純化和理化性質表徵分析

實施例1.1 抗體的表現和純化

【0126】 本實施例介紹了利用哺乳動物宿主細胞(例如，人胚腎細胞HEK293或中國倉鼠卵巢細胞CHO及其衍生細胞)、暫態轉染表現和親和捕獲分離等技術來製備抗體的一般方法。本方法適用於含有Fc區的目標抗體；目標抗體可以由一條或多條蛋白質多肽鏈組成；可以來源於一個或多個表現質體。

【0127】 將抗體多肽鏈的胺基酸序列透過密碼子優化方法轉換成核苷酸序列；合成編碼的核苷酸序列並選殖到與宿主細胞兼容的表現載體上。將編碼抗體多肽鏈的質體按照特定比例同時轉染哺乳動物宿主細胞，利用常規的重組蛋白表現和純化技術，可以得到具有正確折疊和多肽鏈組裝的重組抗體。具體地，將FreeStyle™ 293-F細胞(Thermo, #R79007)在FreeStyle™ F17 Expression Medium培養基(Thermo, #A1383504)中擴培。暫態轉染開始之前，調節細胞濃度至 $6-8 \times 10^5$ 細胞/mL，於37 °C 8% CO₂震盪培養

箱中培養24小時，細胞濃度在 1.2×10^6 細胞/mL。準備30 mL培養的細胞。將編碼抗體多肽鏈的質體(pTT5, NRC)按照一定比例混合共計30 μ g質體(質體與細胞的比例為1 μ g:1 mL)溶解於1.5 mL Opti-MEM減血清培養基(Thermo, #31985088)，並用0.22 μ m濾膜過濾除菌。再取1.5 mL Opti-MEM溶入1 mg/mL PEI(Polysciences, #23966-2)120 μ L，靜置5分鐘。把PEI緩慢加入質體中，室溫培育10分鐘，邊搖晃培養瓶邊緩慢滴入質體PEI混合溶液，於37°C 8% CO₂震盪培養箱中培養5天。5天後觀測細胞存活率。收集培養物，以3300g轉速離心10分鐘後取上清液；然後將上清液高速離心去除雜質。用PBS pH7.4緩衝液平衡含有MabSelect™(GE Healthcare, #71-5020-91)的重力管柱(Bio-Rad, #7311550)，2-5倍管柱體積沖洗。將上清液樣品通過管柱；用5-10倍管柱體積的PBS緩衝液沖洗管柱，再用pH3.5的0.1 M甘氨酸洗提目標蛋白，隨後用pH 8.0的Tris-HCl調節至中性，最後用超濾管(Millipore, #UFC901024)濃縮換液至PBS緩衝液或者含有其他成分的緩衝液，得到純化的重組抗體溶液。最後用NanoDrop(Thermo, NanoDrop™ One)測定濃度，分裝、存儲備用。

實施例1.2 利用SEC-HPLC分析蛋白純度和聚體

【0128】 本實施例使用分析型分子粒徑篩析層析法(SEC)來分析蛋白樣品的純度和聚體形式。將分析型層析管柱TSKgel

G3000SWxl(Tosoh Bioscience, #08541, 5 μm , 7.8 mm $\times$ 30 cm)連接到高壓液相層析儀HPLC(Agilent Technologies, Agilent 1260 Infinity II), 用PBS緩衝液(pH 7.4)室溫下平衡至少1小時。適量蛋白樣品(至少10 μg)用0.22 μm 濾膜過濾後注射入系統, 並設定HPLC程序: 用PBS緩衝液(pH 7.4)將樣品以1.0 mL/分鐘的流速流過層析管柱, 最長時間為25分鐘。HPLC將生成分析報告, 報告出樣品內不同分子尺寸組份的滯留時間。

實施例1.3 利用DSF測定蛋白分子的熱穩定性

【0129】 差示掃描螢光法(Differential Scanning Fluorimetry, DSF)是一種常用的高通量的測定蛋白質熱穩定性的方法。它使用實時螢光定量PCR儀器透過監測與去折疊的蛋白分子結合的染料的螢光強度的變化, 來反應蛋白質的變性的過程, 從而反應出蛋白分子的熱穩定性。本實施例利用DSF方法來測定蛋白分子熱變性溫度(T_m)。10 μg 蛋白加入96-孔PCR盤(Thermo, #AB-0700/W), 接著加入2 μL 100 $\times$ 稀釋的染料SYPRO™(Invitrogen, #2008138), 然後加入緩衝液使得終體積為40 μL 每孔。將PCR盤密封, 放置於實時螢光定量PCR儀器(Bio-Rad CFX96 PCR System), 先於25 $^{\circ}\text{C}$ 培育5分鐘, 然後以0.2 $^{\circ}\text{C}$ /0.2分鐘的梯度逐漸從25 $^{\circ}\text{C}$ 升溫至95 $^{\circ}\text{C}$, 在測試結束時將溫度降至

25 °C。使用FRET掃描模式並使用Bio-Rad CFX Maestro軟體進行數據分析並計算出樣品的T_m。

實施例2 CD40抗體的製備

【0130】 可以利用CD40抗原對實驗動物進行免疫以獲得針對CD40特異性結合的抗體分子，該實驗動物可以是小鼠、大鼠、兔、羊、駱駝等。通常，其得到的抗體分子是非人源的。在獲得非人源抗體後，需要對這些分子利用抗體工程技術進行人源化改造，以降低免疫原性並提高成藥性。然而，抗體的人源化過程有其技術複雜性，經過人源化改造的分子往往會降低對抗原的親和力。另一方面，基因轉殖技術的進步使得可以培育出基因工程化小鼠，其攜帶人免疫球蛋白免疫庫並使其內源的鼠的免疫庫缺失。這種基因轉殖小鼠產生的抗體具有全人源的序列，因而無需再進一步做人源化改造，大大提高了治療性抗體開發的效率。Harbour H2L2小鼠(Harbour Antibodies BV)是一種攜帶人免疫球蛋白免疫庫的基因轉殖小鼠，其產生的抗體具有完整的人的抗體可變結構域和大鼠恆定結構域。

免疫小鼠

【0131】 用可溶的重組人CD40胞外段融合蛋白(Acrobiosystems, #CD0-H5253)對Harbour H2L2小鼠進行多輪免疫。抗原蛋白與免疫佐劑混合成免疫原試劑，然後透過皮下經腹股溝注射或透過腹腔注射。在每一輪免疫中，每隻小鼠接受的總注

射劑量是100 μ L。在首輪免疫中，每隻小鼠接受用50 μ g 抗原蛋白與完全弗氏佐劑(Sigma, #F5881)以體積比1:1混合配製的免疫原試劑的免疫。在隨後的每輪增強免疫中，每隻小鼠接受用25 μ g 抗原蛋白與Sigma Adjuvant System佐劑(Sigma, #S6322)混合配製的免疫原試劑的免疫。每輪增強免疫的間隔時間至少為兩周，通常不超過五輪增強免疫。免疫時間為第0、14、28、42、56、70天；並且在第49、77天，檢測小鼠血清抗體效價。在進行細胞融合前3天，以每隻小鼠25 μ g 抗原蛋白的劑量進行最後一次增強免疫。

融合瘤篩選

【0132】 當檢測小鼠血清中CD40特異的抗體效價達到一定的位準後，將小鼠的脾細胞取出並與骨髓瘤細胞株融合得到融合瘤細胞；對融合瘤細胞經過多輪篩選和選殖之後，分離出至表現CD40單株抗體分子的融合瘤。分離的融合瘤表現具有完整的人可變結構域和大鼠恆定結構域的重鏈和輕鏈的抗體分子。對上述單株抗體進行進一步的鑒定，根據其對人CD40的結合能力、食蟹猴CD40的結合能力、活化CD40下游訊息途徑的能力等參數，選出若干個融合瘤選殖進行定序。在篩選過程中，使用了Selicrelumab(在本發明申請中也編號為PR001028)作為陽性對照抗體。利用常規的融合瘤定序手段獲得編碼抗體分子可變結構域的核苷酸序列以及對應的胺基酸序列。在本實施例中，從免疫的Harbour H2L2小鼠得到的CD40單株

抗體分子可變結構域的序列是人源抗體序列。抗體可變結構域的 CDR 序列可以透過 Kabat 或者 Chothia 或者其他 CDR 定義規則 (表-I) 進行分析。

重組 IgG 抗體和序列分析與優化

【0133】 在得到編碼抗體分子的輕、重鏈可變結構域序列以後，可以採用常規的重組 DNA 技術，將輕、重鏈可變結構域序列和相應的人的抗體輕、重鏈恆定結構域序列進行融合表現，利用實施例 1 所述方法得到重組抗體分子。在本實施例中，抗體重鏈可變結構域序列 (VH) 透過基因合成並選殖到編碼人 **IgG1 或 IgG2 抗體** 重鏈恆定結構域序列的哺乳動物細胞表現質體載體中，以編碼產生 IgG 抗體的全長重鏈。抗體輕鏈可變結構域序列 (VL) 透過基因合成並選殖到編碼人抗體 Igκ 輕鏈恆定結構域序列的哺乳動物細胞表現質體載體中，以編碼產生抗體的全長輕鏈。在本實施例中，得到全人源的抗 CD40 重組 IgG 抗體。

【0134】 抗體的重鏈可變結構域序列來源於染色體上重鏈基因群的生殖系基因 V、D、J 基因片段的基因重排和體細胞高頻突變等事件；輕鏈可變結構域序列來源於輕鏈基因群的生殖系基因 V、J 基因片段的基因重排和體細胞高頻突變等事件。基因重排和體細胞高頻突變是增加抗體多樣性的主要因素。來源於相同生殖系 V 基因片段的抗體也可能產生不同的序列，但總體上相似性較高。利用一些

算法，例如 IMGT/DomainGapAlign
(<http://imgt.org/3Dstructure-DB/cgi/DomainGapAlign.cgi>)
或者 NCBI/IgBLAST(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/>)
可以從抗體的可變結構域序列推測出其發生基因重排時可能的生殖系基因片段。

【0135】 蛋白質或多肽胺基酸鏈在細胞中翻譯合成後有時會引入化學修飾，稱為翻譯後修飾(PTM)。對於抗體而言，一些PTM的位點是非常守恆的，例如，在人的IgG1抗體的恆定結構域的第297位(EU編號)的守恆的胺基酸天冬醯胺Asn通常會發生醣基化修飾形成醣鏈，而該醣鏈結構對於抗體結構和相關的效應物功能是至關重要的。但是，如果在抗體的可變結構域尤其是抗原結合區域(如CDR)中存在PTM，那麼這些PTM的存在有可能會對抗原的結合有較大的影響，也可能對抗體的物理化學性質帶來變化。例如，醣基化、脫醯胺、異構化、氧化等都可能增加抗體分子的不穩定性或異質性，從而增加抗體開發的難度和風險。因而避免一些潛在的PTM對於治療性抗體的開發是非常重要的。隨著經驗的積累，人們發現一些PTM是和胺基酸序列的組成尤其是相鄰胺基酸組成的“模式”是高度相關的，這樣使得可以從蛋白質的一級胺基酸序列預測出潛在的PTM。例如，N-x-S/T(第一位是天冬醯胺，第二位是非脯胺酸以外的任意胺基酸，第三位是絲胺酸或者蘇胺酸)的序列模式預測出N-連接醣基

化位點。引起PTM的胺基酸序列模式有可能來源於生殖系基因序列，例如人生殖系基因片段IGHV3-33天然地在FR3區域存在醣基化模式NST；也可能來源於體細胞高頻突變。具體說來，NGS或NLT可能是醣基化位點，NS可能是脫醯胺位點，DG可能引起天冬胺酸的異構化。可以透過胺基酸突變來破壞PTM的胺基酸序列模式，從而降低或者去除特定PTM的形成。根據抗體序列和PTM序列模式的不同，有不同的突變設計方法。一種方法是將“熱點”胺基酸(如NS模式中的N或S)替換成物理化學性質相似的胺基酸(如把N突變為Q)。另一種方法利用突變庫的方法對該PTM序列模式進行隨機突變。實際操作中，對同一個PTM序列模式可能採用多種突變設計方法。

【0136】 表3列出了本實施例得到的抗CD40的融合瘤選殖和重組抗體分子(PR003379)，以及分析的VH和VL的生殖系基因V基因片段和潛在的PTM位點。

【0137】 表4列出了對CD40抗體PR003379進行胺基酸突變得到的新的抗體分子。所有設計出來的突變體分子按照實施例1中描述的方法得到純化的重組抗體，並在後續的功能實驗中進一步驗證。表5中抗體的獲得方法為：將PR003379的重鏈可變區(VH)連接到含有L234A, L235A, G237A突變的IgG1亞型的抗體重鏈恆定結構域序列上，並選殖到哺乳動物細胞表現質體中，編碼產生IgG1(L234A, L235A, G237A)全長重鏈。帶有PTM突變位點的抗

體輕鏈可變結構域序列(VL)透過基因合成並選殖到編碼人抗體Igκ輕鏈恆定結構域序列的哺乳動物細胞表現質體載體中，以編碼產生抗體的全長輕鏈。將兩個質體共轉到哺乳動物細胞中，表現生產以及純化後，得到全人源的抗CD40重組IgG1(L234A, L235A, G237A)抗體。

【0138】 表 5列出了本發明申請中CD40抗體的序列和根據Chothia定義規則定義的CDR的胺基酸序列。這些CD40抗體包括陽性對照抗體、本發明的CD40抗體PR003379及其突變體分子。

表 3：CD40抗體的生殖系基因分析和PTM位點分析

選殖號	VH 生殖系 V 基因	VL 生殖系 V 基因	VH PTM	VL PTM	重組抗體	重組抗體亞型
18C4A12-1B1	IGHV1-2	IGKV1-9		NS (LCDR3)	PR003379	人 IgG2

表 4：CD40抗體PR003379的突變位點設計

變異體編號	可變區突變	重組抗體亞型	Fc 突變
PR006495	L:N92A	人 IgG1	L234A, L235A, G237A
PR006496	L:N92F	人 IgG1	L234A, L235A, G237A
PR006497	L:N92Y	人 IgG1	L234A, L235A, G237A
PR006504	L:N92V	人 IgG1	L234A, L235A, G237A
PR006511	L:S93N	人 IgG1	L234A, L235A, G237A

表 5：本發明申請中CD40抗體的序列和CDR序列(Chothia)的序列編號表

分子編號	輕鏈	重鏈	VL	VH	LCDR1	LCDR2	LCDR3	HCDR1	HCDR2	HCDR3
PR001028 (Selicrelumab)	86	76	67	58	37	42	47	6	17	26
PR003379	87	78	68	60	38	43	48	8	18	27
PR006495	88	84	69	60	38	43	49	8	18	27
PR006496	89	84	70	60	38	43	50	8	18	27
PR006497	90	84	71	60	38	43	51	8	18	27

PR006504	91	84	72	60	38	43	52	8	18	27
PR006511	92	84	73	60	38	43	53	8	18	27

實施例3 CD40抗原結合蛋白結合表現CD40的細胞

【0139】 本實施例利用流式細胞術FACS研究標靶CD40的抗體或抗原結合蛋白結合表現有CD40的細胞的結合活性。例如，高表現人CD40的CHO-K1細胞株 CHO-K1/hCD40(上海睿智化學)，高表現食蟹猴CD40的CHO-K1細胞株 CHO-K1/cyCD40(上海睿智化學)，高表現人CD40的淋巴瘤細胞Raji(ATCC,#CCL-86)。

【0140】 具體地，消化酶處理表現CD40的細胞並用完全培養基(CHO-K1細胞用F-12K；Raji細胞用RPMI-1640)重新懸浮；將細胞密度調整為 1×10^6 細胞/mL。以100 μ L細胞/孔接種於96孔V底盤(Corning,#3894)，隨後加入100 μ L/孔，2倍於終濃度的待測抗體，混合均勻。其中抗體最高終濃度為300 nM，共8個濃度，5倍濃度梯度稀釋，並以hIgG(Crownbio,#C0002)作為陰性對照，陽性對照分子為Selicrelumab，濃度設置均同後續受測試雙抗。將細胞放置於4℃，避光培育1小時。之後，加入100 μ L/孔預冷PBS洗滌細胞兩次，於500 g，4℃下離心5分鐘，棄上清液。再加入100 μ L/孔螢光二抗(山羊抗人IgG(H+L)第二抗體，Alexa Fluor® 488 conjugate, Invitrogen，#A11013,1:1000稀釋)，4℃，避光培育30分鐘。用200 μ L/孔預冷PBS洗滌細胞兩次，於500 g，4℃下離心5分鐘，棄上清液。最後，用200 μ L/孔預冷PBS重新懸浮細胞。

使用BD FACS CANTOII流式細胞儀或ACEA NovoCyte流式細胞儀讀取螢光發光訊號值，並用軟體FlowJo v10(FlowJo，LLC)處理和分析數據。

【0141】 應用軟體GraphPad Prism 8進行數據處理和作圖分析，透過四參數非線性擬合，得到抗體對標的細胞的結合曲線及EC₅₀值等參數。

【0142】 圖1A-圖1D以及表6顯示了CD40抗體PR003379及其變異體分子結合Raji細胞的活性。結果顯示PR003379及其變異體分子能夠很強地結合Raji細胞；而且，PR003379的結合活性比Selicrelumab更強。

表6：CD40抗體結合Raji細胞(對應圖1A-圖1D)

	抗體	EC ₅₀ (nM)	MFI 最大值		抗體	EC ₅₀ (nM)	MFI 最大值
(A)	PR003379	0.0699	3696	(B)	PR006495	0.3556	8872
	Selicrelumab	0.4837	2449		PR006496	0.2771	9297
					PR006497	0.2524	9203
	抗體	EC ₅₀ (nM)	MFI 最大值		抗體	EC ₅₀ (nM)	MFI 最大值
(C)	PR006504	0.3503	12152	(D)	PR006511	0.3859	11785

實施例4 CD40抗原結合蛋白在螢光報導基因實驗中的活性

【0143】 本實施例利用HEK293-hCD40-NFκB螢光報導基因細胞(BPS Bioscience，#60626)活化實驗研究標靶CD40的抗體或抗原結合蛋白在交聯以及不交聯情況下對CD40的活化作用。利用高

表現人CD32B的細胞對待測分子進行Fc媒介的交聯，研究交聯是否能進一步增強對CD40活化的能力。

【0144】 將表現人CD32B的CHO-K1細胞CHO-K1/hCD32B(GenScript,#M00600)以及CHO-K1細胞以 1×10^4 /孔，100 μ L/孔塗佈到96孔盤中(PerkinElmer,#6005181)，37°C在5% CO₂環境下培育過夜。去除上清液，將表現人CD40和NF κ B-螢光素酶報導基因的HEK293-hCD40-NF κ B報導基因細胞(BPS bioscience,#60626)收集後以 5×10^4 /孔，50 μ L/孔加入到96孔盤中。加入50 μ L/孔的待測抗體稀釋液，起始濃度為100 nM，5倍濃度稀釋，共8個濃度。37°C在5% CO₂環境下培養6小時。加入ONE-Glo™螢光素酶試劑(Promega,#E6110)，室溫培育5分鐘，酵素標示讀取儀檢測發光值。應用軟體GraphPad Prism 8進行數據處理和作圖分析，透過四參數非線性擬合，得到抗體濃度依賴的相對螢光訊號單位(RLU)的曲線及EC₅₀值等參數。CD40抗體與CHO-K1/hCD32B細胞培育的樣品稱為“交聯”(crosslinked)；CD40抗體與CHO-K1細胞培育的樣品沒有交聯。

【0145】 如圖2A-圖2B和表7所示，PR003379有比對照抗體Selicrelumab更明顯的“交聯增強”作用，即，在CD32B媒介抗體交聯的條件下，PR003379能夠顯著地放大螢光報導基因的訊號，說明顯著增強了對CD40分子的下游訊息分子的活化作用。

【0146】 如圖 2C-圖 2D 和表 8 顯示了 PR003379 的變異體分子在有或者沒有表現人 CD32B 的細胞媒介交聯的條件下對報導基因細胞的活化的螢光強度增強倍數。結果說明，PR003379 的變異體分子在交聯的情況下能顯著增強對 CD40 分子的活化作用，表現在其 EC₅₀ 值在交聯的情況下相比未交聯的情況下顯著下降 (體現為“倍數 (未交聯 EC₅₀/交聯 EC₅₀)”> 1)。

表 7：CD40 抗體活化 HEK293-hCD40-NFκB 報導基因細胞的活性

抗體	EC ₅₀ (nM)	RLU 最大值	倍數(未交聯 EC ₅₀ /交聯 EC ₅₀)
PR003379	0.3693	8252	2.07
PR003379 crosslinked(交聯)	0.1784	19664	
Selicrelumab	0.1628	13355	3.94
Selicrelumab crosslinked(交聯)	0.0413	17036	

表 8：PR003379 變異體在交聯和未交聯條件下活化報導基因細胞活性

	交聯		未交聯		
PR003379 變異體	EC ₅₀ (nM)	倍數最大值 (fold)	EC ₅₀ (nM)	倍數最大值 (fold)	倍數(未交聯 EC ₅₀ /交聯 EC ₅₀)
PR006495	0.1092	5.54	0.9047	4.92	8.28
PR006496	0.2172	5.03	0.4296	4.43	1.98
PR006497	0.1582	4.77	0.4786	4.61	3.03

實施例5 PD-L1重鏈抗體的製備

【0147】 Harbour HCAb 小鼠 (Harbour Antibodies BV，WO2010/109165A2) 是一種攜帶人免疫球蛋白免疫庫的基因轉殖小鼠，能夠產生僅有重鏈的抗體 (HCAb)，該抗體的大小只有傳統

IgG抗體的一半。其產生的抗體僅具有人的抗體重鏈可變結構域和小鼠Fc恆定結構域。由於不含輕鏈的這一特點，該抗體幾乎解決了輕鏈錯配和異源二聚化的問題，使得這一技術平臺能夠開發出傳統抗體平臺難以實現的產品。

免疫小鼠

【0148】 用可溶的重組人PD-L1-mFc融合蛋白(Novo Protein Inc., #CM06)對6~8周齡Harbour HCAb小鼠進行多輪免疫。每隻小鼠每次免疫時透過皮下經腹股溝注射或透過腹腔注射接受的總注射劑量是100 μ L。在首輪免疫中，每隻小鼠接受用50 μ g抗原蛋白與完全弗氏佐劑(Sigma, #F5881)以體積比1:1混合配製的免疫原試劑的免疫。在隨後的每輪增強免疫中，每隻小鼠接受用25 μ g抗原蛋白與Ribi佐劑(Sigma Adjuvant System, #S6322)混合配製的免疫原試劑的免疫。每輪增強免疫的間隔時間至少為兩周，通常不超過五輪增強免疫。免疫時間為第0天、第14天、第28天、第42天、第56天、第70天；並且在第49天、第77天，檢測小鼠血清抗體效價。在進行HCAb小鼠脾B細胞分離前5天，以每隻小鼠25 μ g抗原蛋白的劑量進行最後一次增強免疫。

建構HCAb庫和高通量暫態表現

【0149】 當檢測小鼠血清中PD-L1特異的抗體效價達到一定的位準後，將小鼠的脾細胞取出分離B細胞，用BD FACS AriaII Cell

Sorter分選CD138陽性的漿細胞和人PD-1抗原陽性的B細胞群。用常規的分子生物學手段從漿細胞和B細胞群中擴增人VH基因，並將擴增的人VH基因片段建構到編碼人IgG1抗體重鏈Fc區域序列的哺乳動物細胞表現質體pCAG載體中。質體轉染哺乳動物宿主細胞(如人胚腎細胞HEK293)進行表現，得到全人源HCAb抗體上清液。

Mirrorball高通量篩選

【0150】 利用 Mirrorball 高通量免洗抗體篩選平臺(SPT Labtech)對表現HCAb的上清液進行篩選，即檢測該上清液與過表現人PD-L1的CHO-K1/hPD-L1(GenScript，#M00543)穩定細胞株的結合，同時用陽性抗體PR000151(Atezolizumab類似物)作為陽性對照。

【0151】 具體地，用無血清的F12K培養基(Thermofisher，#21127022)洗滌CHO-K1/hPD-L1細胞，重新懸浮至 1×10^6 /mL。加入Draq5螢光探針(CTS，#4048L)(1 μ L Draq5至1mL CHO-K1/hPD-L1細胞中，1:1000稀釋)，在避光處培育30分鐘。離心細胞後用培養基洗滌細胞，調整細胞密度至 1.0×10^5 細胞/mL。再加入1:1000稀釋後的二抗(Alexa Fluor® 488 AffiniPure Goat Anti-Human IgG,Fc γ Fragment Specific, Jackson ImmunoResearch, #109-545-098)。取每孔30 μ L的該混合物加入

384孔盤(Greiner, #781091)。再在384孔盤中加入10 μ L陽性對照或者表現HCAb的上清液,培育2小時。在Mirrorball上讀取螢光值。

【0152】 對陽性的抗體上清液再進一步鑒定,用FACS檢測與CHO-K1/hPD-L1細胞的結合,以及用ELISA檢測與食蟹猴PD-L1蛋白(Acro biosystems, #PD1-C52H4)的交叉結合活性。利用常規的定序手段對篩選得到HCAb進行定序,獲得編碼相應的VH的核苷酸序列以及對應的胺基酸序列。將HCAb抗體的VH序列和人的IgG1重鏈Fc序列進行融合表現,得到全人源重組HCAb抗體分子。

序列分析與優化

【0153】 表 9列出了本實施例得到的優選的抗PD-L1的重組重鏈抗體分子PR000960,以及分析的VH生殖系基因V基因片段和潛在的翻譯後修飾PTM位點。PR000960在HCDR1中有一個N糖基化修飾位點,可能會影響後期開發的成藥性。為了去除該N糖基化修飾位點,對PR000960進行胺基酸突變得到的新的抗體分子PR002082(表 10)。

利用親和力成熟技術提高結合PD-L1的親和力

【0154】 為了進一步提高PR002082結合PD-L1的親和力,對PR002082分子進行體外親和力成熟改造。透過對CDR區域進行隨機突變的方法建立酵母展示抗體突變庫,借助於BD FACS AriaIII分選平臺對PR002082分子突變庫進行篩選。

【0155】 首先，對PR002082的三個CDR隨機引入突變，建立3個酵母展示突變庫(CDR1、CDR2、CDR3)；然後用MACS分選方法進行富集；隨後用流式FACS進行多輪分選，富集高親和力的突變分子。第一輪，用0.1 nM生物素化的PD-L1-his蛋白分選出結合力更高的酵母細胞；然後繼續培養誘導。第二輪，用0.01 nM生物素化的PD-L1-his蛋白進一步分選出結合力更高的酵母細胞；然後繼續培養誘導。第三輪，繼續降低分選時抗原的濃度，用0.003 nM生物素化的PD-L1-his蛋白進行最後一輪分選。

【0156】 接著，將前面三輪分選到的分子定序，找到突變位點進行隨機組合，建立組合突變庫。然後用FACS繼續以更低的抗原濃度分選出更高親和力突變分子。

【0157】 經親和力成熟得到的突變體分子的VH透過基因合成並選殖到編碼人的IgG1重鏈Fc序列的哺乳動物細胞表現質體載體中，產生重組HCAb抗體分子。表 11列出PR002082經過親和力成熟過程得到的變異體分子。

【0158】 所有突變體分子(表 10和表 11)按照實施例1中描述的方法得到純化的重組抗體，並在後續的功能實驗中進一步驗證。

【0159】 表 12列出了本發明申請中PD-L1抗體的序列和根據Chothia定義規則定義的CDR的胺基酸序列。這些PD-L1抗體包括

陽性對照抗體、本發明的PD-L1抗體PR000960及其衍生的突變體分子。

表 9：PD-L1重鏈抗體的生殖系基因分析和PTM位點分析

重組抗體	分子結構	IgG 亞型	VH 生殖系 V 基因	VH PTM
PR000960	HCAb	人 IgG1	IGHV3-33	NxS/T (HCDR1); DG (HCDR2)

表 10：PD-L1重鏈抗體PR000960翻譯後修飾(PTM)變異體

初始抗體	變異體分子	可變區突變	VH PTM
PR000960	PR002082	N28T, N31S	DG (HCDR2)

表 11：PR002082的親和力成熟過程得到的變異體分子

初始抗體	變異體分子	可變區突變
PR002082	PR005878	I50S, W52R, D54T, K57E, I102L, V106I, A109D
PR002082	PR006245	T28D, I50S, W52R, D54T, K57E,
PR002082	PR006246	T28D, I50S, W52R, D54T, K57E, V106I, A109D
PR002082	PR006247	T28D, I50S, W52R, D54T, K57E, I102L, V106I
PR002082	PR006248	T28D, I50S, W52R, D54T, K57E, I102L, V106I, A109D

表 12：本發明申請中PD-L1抗體的序列和CDR序列(Chothia)的
序列編號表

分子編號	輕鏈	重鏈	VL	VH	LCDR1	LCDR2	LCDR3	HCDR1	HCDR2	HCDR3
PR000151 (Atezolizumab)	85	74	66	56	36	41	46	4	15	24
PR000960		75		57				5	16	25
PR002082		77		59				7	16	25
PR005878		79		61				7	19	28
PR006245		80		62				9	19	25
PR006246		81		63				9	19	29
PR006247		82		64				9	19	30
PR006248		83		65				9	19	28

實施例6 PD-L1抗原結合蛋白結合表現PD-L1的細胞

【0160】 本實施例利用流式細胞術FACS研究標靶PD-L1的抗體或抗原結合蛋白結合表現有PD-L1的細胞的結合活性。例如，高

表現人PD-L1的CHO-K1細胞株CHO-K1/hPD-L1(上海睿智化學)，高表現食蟹猴PD-L1的CHO-K1細胞株 CHO-K1/cyPD-L1(上海睿智化學)，高表現人PD-L1的肺癌細胞NCI-H226(ATCC, #CRL-5826)，高表現人PD-L1的乳腺癌細胞MDA-MB-231(ATCC, #CRM-HTB-26)。

【0161】 具體地，消化酶處理表現PD-L1的細胞並用含2% BSA的PBS緩衝液重新懸浮。將細胞密度分別調整為 1×10^6 細胞/mL。以100 μ L細胞/孔接種於96孔V底盤(Corning, #3894)，隨後加入100 μ L/孔，2倍於終濃度的4倍濃度梯度稀釋的待測抗體。將細胞放置於4°C，避光培育2小時。之後，加入100 μ L/孔預冷含2% BSA的PBS洗滌細胞兩次，於500 g、4°C下離心5分鐘，棄上清液。再加入100 μ L/孔螢光二抗(Alexa Fluor 488-conjugated AffiniPure Goat Anti-Human IgG, Fc γ Fragment Specific, Jackson, #109-545-098, 1:500稀釋)，4°C，避光培育1小時。用100 μ L/孔預冷含2% BSA的PBS洗滌細胞兩次，於500 g、4°C下離心5分鐘，棄上清液。最後，200 μ L/孔預冷含2% BSA的PBS緩衝液重新懸浮細胞。使用BD FACS CANTOII流式細胞儀或ACEA NovoCyte流式細胞儀讀取螢光發光訊號值，並用軟體FlowJo v10(FlowJo, LLC)處理和分析數據。

【0162】 應用軟體GraphPad Prism 8進行數據處理和作圖分析，透過四參數非線性擬合，得到抗體對標的細胞的結合曲線及EC₅₀值等參數。

【0163】 圖3A和圖3B顯示了PD-L1重鏈抗體PR000960、PR002082及其變異體分子結合CHO-K1/hPD-L1細胞的結合曲線，表13列出了相應曲線的EC₅₀值和MFI訊號最大值。結果表明，PR000960和PR002082與人PD-L1的結合能力與對照抗體Atezolizumab相當；PR002082的親和力成熟變異體分子的結合能力略優於PR002082。

表 13：PD-L1抗體結合CHO-K1/hPD-L1細胞(對應圖3A-圖3B)

	抗體	EC ₅₀ (nM)	MFI 最大值		抗體	EC ₅₀ (nM)	MFI 最大值
(A)	PR000960	0.79	23730	(B)	PR002082	1.313	430130
	PR002082	0.86	24529		PR005878	1.081	418658
	Atezolizumab	0.7	22303		PR006245	0.964	404629
	hIgG1		86		PR006246	0.764	396497
					PR006247	1.012	409736
					PR006248	0.606	404274

實施例7 PD-L1抗原結合蛋白在螢光報導基因實驗中的活性

【0164】 本實施例利用Jurkat-NFAT-hPD1螢光報導基因細胞(和鉑醫藥)活化實驗研究標靶PD-L1的抗體或抗原結合蛋白對PD-1訊息途徑的抑制作用。PD-L1抗體或抗原結合蛋白透過阻斷PD-L1和PD-1的相互作用，解除PD-1對T細胞的抑制作用。

【0165】 將過表現PD-L1和OS8(CD3單鏈抗體跨膜蛋白)的293T細胞293T-OS8-hPDL1(北京康源博創，#KC-1148)或者共表現PD-1和NFAT-螢光素酶報導基因的Jurkat報告細胞Jurkat-NFAT-hPD1(和鉑醫藥)進行培養並收集；調整Jurkat-NFAT-hPD1的密度為 1×10^6 細胞/mL，293T-OS8-hPDL1的密度為 5×10^5 細胞/mL。隨後取相同體積細胞懸浮液進行混合，以100 μ L/孔，加入96孔U底盤，其中效應細胞Jurkat-NFAT-hPD1與標的細胞293T-OS8-hPDL1的比例為2:1。加入50 μ L/孔的預先梯度稀釋的待測抗原結合蛋白。將96孔盤放置於細胞培養箱在37°C 5% CO₂環境下培育六個小時。加入50 μ L/孔ONE-Glo™螢光素酶溶液(Promega，#E6120)，輕輕拍打盤子混勻，在室溫避光下反應十分鐘，隨後轉移100 μ L液體到96孔平底盤(PerkinElmer，#6005225)，最後在Envision™讀板儀(PerkinElmer)上讀取螢光值。

【0166】 應用軟體GraphPad Prism 8進行數據處理和作圖分析，透過四參數非線性擬合，得到抗體對標的細胞的結合曲線及EC₅₀值等參數。

【0167】 圖4A和圖4B和表14顯示了PD-L1重鏈抗體PR000960、PR002082及其變異體分子在螢光報導基因實驗中抑制了PD-1訊息途徑的作用，進而恢復了Jurkat的NFAT訊號。結果表

明，PR000960 和對照抗體 Atezolizumab 有相當的抑制活性；PR002082 的親和力成熟變異體分子的抑制作用略優於 PR002082。

表 14：PD-L1 抗體抑制 Jurkat-NFAT-hPD1 的 PD-1 訊息途徑 (對應圖 4A 和圖 4B)

	抗體	EC ₅₀ (nM)	RLU 最大值		抗體	EC ₅₀ (nM)	RLU 最大值
(A)	PR000960	0.31	18445	(B)	PR002082	0.217	12066
	Atezolizumab	0.22	18473		PR005878	0.166	13424
	hIgG1		2369		PR006245	0.151	13840
					PR006246	0.132	13745
					PR006247	0.15	13432
					PR006248	0.121	14134

實施例8 建構PD-L1×CD40雙特異抗原結合蛋白

【0168】 本實施例利用來自 0 的 CD40 抗體和來自 0 的 PD-L1 重鏈抗體來建構如圖 5 所示結構的 PD-L1×CD40 雙特異抗原結合蛋白。

【0169】 如圖 5 所示，Fab 端來源於常規抗體 A，VH_A 和 VL_A 分別為抗體 A 的重鏈可變區和輕鏈可變區。VH 端來源於重鏈抗體 B，VH_B 為重鏈抗體 B 的重鏈可變區。CL 是輕鏈恆定區結構域。CH1、CH2 和 CH3 分別是重鏈恆定區的第一、第二和第三結構域。h 是 IgG 抗體的樞紐區或衍生序列，L 是連接肽。所示結構的結合蛋白包含兩種不同的多肽鏈：輕鏈，從胺基末端到羧基末端，其包含 VL_A-CL；重鏈，從胺基末端到羧基末端，其包含 VH_B-L-VH_A-CH1-h-CH2-CH3。在某些實施方案中，重鏈的 VH_B 與 VH_A 直接融合聯

結，即L的長度為0；在另一些實施方案中，重鏈的VH_B經由連接肽L聯結到VH_A；L可以是表 15中的序列。

表 15：連接肽序列

連接肽名字	長度	序列	SEQ ID NO
GS_2	2	GS	
GS_3	3	GGG	
GS_4	4	GGGS	100
GS_5	5	GGGGS	101
GS_7	7	GGGGSGS	102
GS_15	15	GGGGSGGGGSGGGGS	103
H1_15	15	EPKSSDKTHTPPPPP	104
LH1	10	DKTHTCPPCP	105
G5-LH	15	GGGGGDKTHTCPPCP	106

【0170】 在本實施例中，圖5中的VH_A和VL_A來源於結合CD40的H2L2(IgG)抗體PR006495、PR006496、PR006497、PR006504、PR006511的抗原結合片段Fab；VH_B來源於結合PD-L1的重鏈抗體PR005878、PR006245、PR006246、PR006247、PR006248的抗原結合片段VH。基於這些PD-L1和/或CD40的抗原結合片段建構了數個如圖5所示結構的PD-L1×CD40雙特異抗原結合蛋白(列於表 16)。這些分子都有相似的結構，並採用人IgG1恆定區序列；為了消除Fc媒介的效應功能如ADCC，在Fc區域引入了三個胺基酸突變L234A/L235A/G237A(Eu編碼)。表 18列出了PD-L1×CD40的多肽鏈胺基酸序列的序列編號。對這些PD-L1×CD40分子按照實施例1中所述方法製備相應蛋白樣品並進行分析，總結於

表 17。本實施例所建構的PD-L1×CD40分子都有較高的產量和純度(PD-L1×CD40分子的表現和純度檢測方法見實施例1)，絕大多數蛋白樣品的純度都超過了95%。

表 16：本發明申請的PD-L1×CD40雙特異抗原結合蛋白

雙抗分子	CD40 抗體	VH 源自的 PD-L1 抗體	Fc 類型（突變）	連接肽
PR006919	PR006496	PR006246	人 IgG1(L234A/L235A/G237A)	GS_5
PR007070	PR006495	PR005878		GS_5
PR007151	PR006504	PR005878		GS_5
PR007268	PR006497	PR006246		GS_5
PR007269	PR006511	PR006246		GS_5
PR007273	PR006495	PR006245		GS_5
PR007275	PR006495	PR006247		GS_5
PR007276	PR006495	PR006248		GS_5
PR007280	PR006504	PR006245		GS_5
PR007281	PR006504	PR006246		GS_5
PR007282	PR006504	PR006247		GS_5
PR007556	PR006496	PR006248		GS_5
PR007616	PR006497	PR006248		GS_5
PR007617	PR006495	PR006246		GS_3
PR007618	PR006495	PR006248		GS_3
PR007619	PR006504	PR006246		GS_3
PR007620	PR006504	PR006248		GS_3

表 17：PD-L1×CD40雙抗分子的暫態表現

雙抗分子	表現宿主 細胞	表現體積 (mL)	樣品編號	樣品濃度 (mg/mL)	SEC-HPLC 純 度(%)	產量(mg/L)
PR006919	CHO	500	20210314A011	2.85	100	42.5
PR007070	CHO	1000	20210406A001	6.36	98.60	46.5
PR007151	CHO	1000	20210405A003	6.34	96.86	59.4
PR007268	HEK293	100	20210502A006	1.35	99.59	32.2
PR007269	HEK293	100	20210502A007	0.91	99.65	22.2
PR007273	HEK293	100	20210502A011	1.52	99.62	32.5
PR007275	HEK293	100	20210502A012	1.26	99.57	26.9

PR007276	HEK293	100	20210502A013	1.52	99.45	34.0
PR007280	HEK293	100	20210502A017	0.72	99.77	18.0
PR007281	HEK293	100	20210501A003	1.9	99.23	37.1
PR007282	HEK293	100	20210502A018	1.1	99.60	36.6
PR007556	CHO	1000	20210619A006	10.25	92.33	251.2
PR007616	CHO	1000	20210623A004	8.31	99.84	250.2
PR007617	CHO	1000	20210627A001	5.31	97.09	163.6
PR007618	CHO	1000	20210627A002	5.45	96.58	160.3
PR007619	CHO	1000	20210627A003	4.64	95.24	136.4
PR007620	CHO	1000	20210627A004	5.34	93.02	144.2

表18：本發明申請的PD-L1×CD40雙抗分子的多肽鏈的序列編號表

分子編號	重鏈	輕鏈
PR006919	93	89
PR007070	94	88
PR007151	94	91
PR007268	93	90
PR007269	93	92
PR007273	95	88
PR007275	96	88
PR007276	97	88
PR007280	95	91
PR007281	93	91
PR007282	96	91
PR007556	97	89
PR007616	97	90
PR007617	98	88
PR007618	99	88
PR007619	98	91
PR007620	99	91

實施例9 PD-L1×CD40結合表現PD-L1或CD40細胞

【0171】 本實施例利用實施例3和實施例6中所述方法測試PD-L1×CD40雙特異結合蛋白與多種表現PD-L1或者CD40的細胞的結合能力。這些細胞包括：不表現PD-L1或者CD40的CHO-K1細

胞，高表現人PD-L1的CHO-K1細胞株CHO-K1/hPD-L1(上海睿智化學)，高表現食蟹猴PD-L1的CHO-K1細胞株CHO-K1/cyPD-L1(上海睿智化學)，高表現人CD40的CHO-K1細胞株CHO-K1/hCD40(上海睿智化學)，高表現食蟹猴CD40的CHO-K1細胞株CHO-K1/cyCD40(上海睿智化學)，高表現人CD40的淋巴瘤細胞Raji(ATCC,#CCL-86)，高表現人PD-L1的肺癌細胞NCI-H226(ATCC,#CRL-5826)，高表現人PD-L1和CD40的乳腺癌細胞MDA-MB-231(ATCC,#CRM-HTB-26)。

【0172】 表 19總結了PD-L1×CD40雙特異結合蛋白與對照分子結合各種細胞的相應的結果，對應圖例顯示了抗原結合蛋白結合標的細胞的結合曲線，對應表格列出了相應曲線擬合出的結合力參數(EC₅₀值和MFI訊號最大值)。圖10 A和圖10 B顯示了PD-L1×CD40不結合CHO-K1細胞。圖6 A和圖6 B和表20顯示了PD-L1×CD40結合CHO-K1/hPD-L1細胞。圖7 A和圖7 B和表 21顯示了PD-L1×CD40結合食蟹猴PD-L1細胞。圖8 A和圖8 B和表 22顯示了PD-L1×CD40結合CHO-K1/hCD40細胞。圖9 A和圖9 B和表 23顯示了PD-L1×CD40結合食蟹猴CD40細胞。圖11 A和圖11 B和表 24顯示了PD-L1×CD40結合NCI-H226細胞。圖12 A和圖12 B和表 25顯示了PD-L1×CD40結合Raji細胞。圖13 A和圖13 B和表 26顯示了PD-L1×CD40結合MDA-MB-231細胞。

【0173】 結果表明，所有PD-L1×CD40雙抗均能高效地結合PD-L1表現細胞株，例如，CHO-K1/hPD-L1(EC_{50} 約1nM)、CHO-K1/cy PD-L1(EC_{50} 小於1 nM)和NCI-226(EC_{50} 小於1 nM)，其結合活性與陽性參照Atezolizumab相當；PD-L1×CD40雙抗不結合未表現標的的CHO-K1細胞；PD-L1×CD40雙抗也高效地結合MDA-MB-231細胞(EC_{50} 小於1 nM)，其結合作用顯著強於陽性參照Atezolizumab(更高的MFI訊號)。

【0174】 而且，所有PD-L1×CD40雙抗均能高效地結合CD40表現細胞株，例如，CHO-K1/hCD40(EC_{50} 約為1-2nM)、CHO-K1/cyCD40(EC_{50} 約為1-4 nM)和Raji(EC_{50} 約為1-2 nM)，其結合活性相較陽性參照Selicrelumab更強或者相當；PD-L1×CD40雙抗也高效地結合MDA-MB-231細胞，其結合作用顯著強於陽性參照Selicrelumab。

表19：本實施例所使用細胞株和對應的FACS結合測試數據的附圖

細胞株	PD-L1 陽性	CD40 陽性	附圖	結合力參數
CHO-K1	否	否	圖 10A-圖 10B	
CHO-K1/hPD-L1	人 PD-L1	否	圖 6A-圖 6B	表 20
CHO-K1/cyPD-L1	食蟹猴 PD-L1	否	圖 7A-圖 7B	表 21
CHO-K1/hCD40	否	人 CD40	圖 8A-圖 8B	表 22
CHO-K1/cyCD40	否	食蟹猴 CD40	圖 9 A-圖 9B	表 23
NCI-H226	人 PD-L1	否	圖 11A-圖 11B	表 24
Raji	否	人 CD40	圖 12A-圖 12B	表 25
MDA-MB-231	人 PD-L1	人 CD40	圖 13A-圖 13B	表 26

表 20：PD-L1×CD40結合CHO-K1/hPD-L1細胞(對應圖6A和圖13B)

	抗體	EC ₅₀ (nM)	MFI 最大值		抗體	EC ₅₀ (nM)	MFI 最大值
(A)	PR006919	0.9602	19603	(B)	PR007616	1.074	20292
	PR007268	1.084	19580		PR007617	1.006	20174
	PR007269	1.123	19691		PR007618	1.037	20103
	PR007273	1.387	19836		PR007619	1.019	20141
	PR007275	1.293	20036		PR007620	1.146	20323
	PR007276	1.178	19692		PR007070	1.149	20509
	PR007280	1.584	20168		PR007151	1.136	20719
	PR007281	1.128	19888		Selicrelumab		127
	PR007282	1.456	20425		Atezolizumab	1.007	20497
	PR007556	1.027	20058		Isotype		170

表 21：PD-L1×CD40結合CHO-K1/cyPD-L1細胞(對應圖7A和圖7B)

	抗體	EC ₅₀ (nM)	MFI 最大值		抗體	EC ₅₀ (nM)	MFI 最大值
(A)	PR006919	0.6221	4540	(B)	PR007616	0.6867	4754
	PR007268	0.6797	4553		PR007617	0.6351	4832
	PR007269	0.7138	4672		PR007618	0.6904	4868
	PR007273	0.8901	4621		PR007619	0.6292	4815
	PR007275	0.8068	4617		PR007620	0.7572	4837
	PR007276	0.656	4567		PR007070	0.7794	4873
	PR007280	1.021	4827		PR007151	0.7538	4926
	PR007281	0.6324	4611		Selicrelumab		94
	PR007282	0.8344	4624		Atezolizumab	0.6486	4567
	PR007556	0.6831	4716		Isotype		50

表 22：PD-L1×CD40結合CHO-K1/hCD40細胞(對應圖8A和圖8B)

	抗體	EC ₅₀ (nM)	MFI 最大值		抗體	EC ₅₀ (nM)	MFI 最大值
(A)	PR006919	2.527	18896	(B)	PR007616	1.987	19156
	PR007268	1.648	16269		PR007617	1.962	16759
	PR007269	2.401	16366		PR007618	2.223	16779
	PR007273	2.046	14276		PR007619	2.498	17653
	PR007275	2.57	14195		PR007620	2.202	15328
	PR007276	2.345	14269		PR007070	2.672	15443
	PR007280	3.829	14965		PR007151	2.362	15996

	PR007281	2.131	14187		Selicrelumab	2.579	13925
	PR007282	1.884	13455		Atezolizumab		34
	PR007556	1.686	14593		Isotype		23

表 23：PD-L1×CD40 結合 CHO-K1/cyCD40 細胞 (對應圖 9 A 和圖 9 B)

	抗體	EC ₅₀ (nM)	MFI 最大值		抗體	EC ₅₀ (nM)	MFI 最大值
(A)	PR006919	3.372	76218	(B)	PR007616	2.221	64689
	PR007268	2.798	65674		PR007617	2.452	58657
	PR007269	2.566	52983		PR007618	3.069	67893
	PR007273	4.201	71338		PR007619	1.768	51274
	PR007275	4.119	65963		PR007620	2.483	68025
	PR007276	2.623	56976		PR007070	15.61	93201
	PR007280	2.649	50086		PR007151	3.759	75424
	PR007281	3.628	64981		Selicrelumab	4.737	53385
	PR007282	2.434	50135		Atezolizumab		1054
	PR007556	2.584	55548		Isotype		59

表 24：PD-L1×CD40 結合 NCI-H226 細胞 (對應圖 11 A 和圖 11 B)

	抗體	EC ₅₀ (nM)	MFI 最大值		抗體	EC ₅₀ (nM)	MFI 最大值
(A)	PR006919	0.3887	870	(B)	PR007616	0.3033	800
	PR007268	0.4204	869		PR007617	0.337	831
	PR007269	0.5208	869		PR007618	0.3218	902
	PR007273	0.7726	914		PR007619	0.3657	914
	PR007275	0.7638	959		PR007620	0.2812	1034
	PR007276	0.5693	927		PR007070	0.3131	862
	PR007280	1.019	1020		PR007151	0.2151	928
	PR007281	0.5027	921		Selicrelumab		48
	PR007282	0.6104	983		Atezolizumab	0.2411	842
	PR007556	0.4522	861		Isotype		55

表 25：PD-L1×CD40 結合 Raji 細胞 (對應圖 12 A 和圖 12 B)

	抗體	EC ₅₀ (nM)	MFI 最大值		抗體	EC ₅₀ (nM)	MFI 最大值
(A)	PR006919	1.237	7359	(B)	PR007616	1.24	6677
	PR007268	1.379	7431		PR007617	1.275	6846
	PR007269	1.46	7571		PR007618	1.228	6695
	PR007273	1.431	7582		PR007619	1.261	6794
	PR007275	1.576	7647		PR007620	1.319	6709

	PR007276	1.449	7573		PR007070	1.356	6668
	PR007280	1.647	7695		PR007151	1.296	6614
	PR007281	1.462	7600		Selicrelumab	3.019	5174
	PR007282	1.446	7516		Atezolizumab		221
	PR007556	1.284	6564		Isotype		78

表 26：PD-L1×CD40 結合MDA-MB-231細胞(對應圖13A和圖13B)

	抗體	EC ₅₀ (nM)	MFI 最大值		抗體	EC ₅₀ (nM)	MFI 最大值
(A)	PR006919	0.3256	924	(B)	PR007616	0.292	1005
	PR007268	0.34	907		PR007617	0.3012	1014
	PR007269	0.369	960		PR007618	0.3177	1023
	PR007273	0.4338	983		PR007619	0.2828	1010
	PR007275	0.3886	917		PR007620	0.3262	1016
	PR007276	0.3343	908		PR007070	0.314	1006
	PR007280	0.4724	1014		PR007151	0.3143	1016
	PR007281	0.3465	923		Selicrelumab	0.9358	563
	PR007282	0.4043	952		Atezolizumab	0.1392	554
	PR007556	0.2996	991		Isotype		58

實施例10 PD-L1×CD40 在螢光報導基因實驗中的抑制PD-1訊息途徑

【0175】 本實施例利用實施例7中所述方法測試PD-L1×CD40 雙特異結合蛋白對PD-1訊息途徑的抑制作用。結果如圖14A-圖14D 和表 27所示，所有PD-L1×CD40雙抗均能有效地阻斷PD-1/PD-L1 相互作用並活化 TCR 和 NFAT 訊號，活性與陽性參照抗體 Atezolizumab相當(EC₅₀約為0.1 - 0.3 nM)。

表 27：PD-L1×CD40抑制Jurkat-NFAT-hPD1的PD-1訊息途徑 (對應圖14A-圖14D)

	抗體	EC ₅₀ (nM)	最大值(RLU)		抗體	EC ₅₀ (nM)	最大值(RLU)
--	----	-----------------------	----------	--	----	-----------------------	----------

(A)	PR007619	0.1222	2481	(B)	PR007280	0.2952	2559
	PR007070	0.1753	2828		PR007282	0.1884	2480
	PR007268	0.1815	2813		PR007616	0.2037	2586
	PR007269	0.1621	2912		PR007617	0.1569	2192
	PR007273	0.1092	2520		PR007618	0.1204	2473
	PR007275	0.2342	2840		PR007619	0.1222	2481
	Atezolizumab	0.1594	2761		Atezolizumab	0.1594	2761
	Isotype		560		Isotype		560
	抗體	EC ₅₀ (nM)	最大值 (RLU)		抗體	EC ₅₀ (nM)	最大值 (RLU)
(C)	PR006919	0.3586	4916	(D)	PR007556	0.2251	4078
	PR007151	0.3498	4636		PR007619	0.309	4394
	PR007276	0.2732	4062		PR007620	0.3193	3735
	PR007281	0.19	3837		Atezolizumab	0.2379	4981
	Atezolizumab	0.2379	4981		Isotype		403
	Isotype		403				

實施例11 PD-L1×CD40 在螢光報導基因實驗中的活化CD40訊息途徑

【0176】 本實施例利用實施例4中所述方法測試PD-L1×CD40雙特異結合蛋白在PD-L1媒介的交聯以及不交聯情況下對CD40的活化作用。利用高表現PD-L1的細胞CHO-K1/hPD-L1對待測分子進行交聯，研究交聯是否能進一步增強對CD40活化的能力。在本實驗中，高表現PD-L1的CHO-K1/hPD-L1細胞可以利用PD-L1交聯PD-L1×CD40雙抗分子，而不表現PD-L1或者CD40的CHO-K1細胞則無法結合待測分子。分別測試待測分子與CHO-K1/hPD-L1細胞培育或者與CHO-K1細胞培育後對HEK293-hCD40-NFκB報導基因系統的活化。

【0177】 結果如圖 15A- 圖 15K 和表 28 表明，CD40 抗體 Selicrelumab 可以活化CD40的下游訊息途徑，且這種活化不依賴於外源交聯的存在，EC₅₀約為0.2 nM。而PD-L1×CD40雙抗，比如 PR007151和PR007619，在有PD-L1交聯的條件下(EC₅₀約為0.03 nM)，對CD40的下游訊息途徑的活化作用顯著強於沒有PD-L1交聯的條件(EC₅₀約為0.3-0.4 nM)。其餘的實驗，如對PR006919和PR007070 的測試，對 PR007268、PR007269、PR007273、PR007275和PR007276的測試，結果均類似，即PD-L1×CD40雙抗依靠PD-L1對CD40的交聯可以更好的活化CD40下游訊息途徑。

表 28：PD-L1×CD40在交聯和未交聯條件下活化HEK293-hCD40-NFκB的CD40訊息途徑(對應圖 15A-圖 15K)

	抗體	EC ₅₀ (nM)	最大值 (RLU)
(A)	Selicrelumab + CHO-K1/hPD-L1	0.2047	5010
	Selicrelumab + CHO-K1	0.2409	5318
(B)	PR007151 + CHO-K1/hPD-L1	0.0362	4897
	PR007151 + CHO-K1	0.4249	3995
(C)	PR007619 + CHO-K1/hPD-L1	0.03122	4776
	PR007619 + CHO-K1	0.3342	3883
(D)	PR006919 + CHO-K1/hPD-L1	0.0106	31360
	PR006919 + CHO-K1	0.1442	24537
(E)	PR007070 + CHO-K1/hPD-L1	0.0138	31678
	PR007070 + CHO-K1	0.1356	26870
(F)	Selicrelumab + CHO-K1/hPD-L1	0.1555	200391
	Selicrelumab + CHO-K1	0.1828	199114
(G)	PR007268 + CHO-K1/hPD-L1	0.05714	286353
	PR007268 + CHO-K1	0.2658	156013
(H)	PR007269 + CHO-K1/hPD-L1	0.06915	270981

	PR007269 + CHO-K1	0.2345	188712
(I)	PR007273 + CHO-K1/hPD-L1	0.05979	333115
	PR007273 + CHO-K1	0.2383	199499
(J)	PR007275 + CHO-K1/hPD-L1	0.05575	370815
	PR007275 + CHO-K1	0.2133	231364
(K)	PR007276 + CHO-K1/hPD-L1	0.08001	378878
	PR007276 + CHO-K1	0.2202	239239

實施例12 PD-L1×CD40對DC細胞的活化作用

【0178】 本實施例研究了PD-L1×CD40雙特異結合蛋白在PD-L1媒介的交聯以及不交聯情況下對樹突狀細胞(DC)的活化作用。

【0179】 本實施例採用PBMC來源的單核細胞誘導成DC後進行活化實驗。首先使用人CD14分選套組(Miltenyi,#130-050-201)從PBMC中分選出單核細胞，用RPMI1640完全培養基培養，並加入50ng/mL IL-4(R&D Systems,#204-IL) 和 100ng/mL GM-CSF(R&D Systems,#215-GM)細胞激素誘導六天後成為未成熟樹突狀細胞iDC(immature dendritic cell)。其中一半iDC加入1μg/mL LPS(Sigma,#L2880-10MG)誘導24小時後成為成熟樹突狀細胞mDC(mature dendritic cell)。供體#1和#2的mDC在LPS誘導24小時後直接使用；供體#4的mDC將LPS洗掉並重新加入RPMI1640完全培養基及50 ng/mL IL-4和100 ng/mL GM-CSF細胞激素靜置24小時後即可使用。

【0180】 在mDC誘導完成的前一天將CHO-K1和CHO-K1/hPD-L1細胞種在96孔平底盤(Corning,#3599)。首先收集

CHO-K1 和 CHO-K1/hPD-L1 細胞，加入 $50\mu\text{g/mL}$ 絲裂黴素 C (Selleckchem, #S8146) 後放置在 37°C 反應 1 小時從而抑制細胞增殖，清洗後用 F-12K 完全培養基將細胞密度調整為 1×10^5 細胞/mL，以 $100\mu\text{L}$ /孔，加入 96 孔平底盤，最後放置在細胞培養箱過夜。第二天將待測抗體用 RPMI1640 完全培養基稀釋到 2 倍終濃度，再進行 10 倍或者 3 倍梯度稀釋。以 Selicrelumab 和 hIgG1 分別作為陽性和陰性對照。棄掉 CHO-K1 和 CHO-K1/hPD-L1 細胞的培養基後加入 $100\mu\text{L}$ /孔抗體。隨後收集 iDC 和 mDC，將細胞密度調整為 5×10^5 細胞/mL，以 $100\mu\text{L}$ /孔，再加入 96 孔盤與前述待測抗體混合，最後放置在細胞培養箱培養。三天後收集細胞上清液，用人 IL-12/-23(p40)ELISA 套組 (MABTECH, #3450-1H-20) 檢測 IL12p40 的分泌位準。應用軟體 GraphPad Prism 8 進行數據處理和作圖分析，展示抗體濃度相關的 IL12p40 分泌量。

【0181】 本實施例利用多個供體來源的不同種 DC 細胞對 PD-L1 $\times$ CD40 雙抗進行了多次測試，結果如圖 16A 和圖 16B、圖 17A 和圖 17B、圖 18A 和圖 18B 和圖 19A-圖 19D 所示。表 29 總結了各附對應的實驗的重要參數，例如 DC 來源，交聯用標的細胞，和所測試的分子。

【0182】 結果表明，陽性參照抗體 Selicrelumab 對 iDC 細胞以及 mDC 細胞均能有效活化，這種活化作用不受腫瘤抗原 PD-L1 的影響。

響。而 PD-L1×CD40 雙抗，例如 PR006919、PR007070 和 PR007151 等，均是條件性地活化 iDC 以及 mDC 細胞；即，在有 PD-L1 交聯的情況下，可以高效地活化 DC；而在沒有 PD-L1 交聯的情況下，不活化或者較低地活化 DC。PD-L1×CD40 雙抗的這種選擇性活化作用的特性，是 Selicrelumab 所不具備的，也為雙抗分子可以高效和安全地發揮藥效提供了基礎。另外，在有些供體 DC 的實驗中，PD-L1×CD40 雙抗的活化作用顯著強於 Selicrelumab，如圖 17A-圖 17B 所示。

表 29：本實施例的不同批次的 DC 活化實驗所對應的附圖

附圖	DC 來源	標的細胞	測試分子
圖 16A	供體 #1, iDC	CHO-K1/hPD-L1	PR006919, PR007070, PR007151
		CHO-K1	
圖 16B	供體 #1, mDC	CHO-K1/hPD-L1	
		CHO-K1	
圖 17A	供體 #2, iDC	CHO-K1/hPD-L1	PR006919, PR007619, Selicrelumab
		CHO-K1	
圖 17B	供體 #2, mDC	CHO-K1/hPD-L1	
		CHO-K1	
圖 18A	供體 #3, iDC	CHO-K1/hPD-L1	Selicrelumab, PR006919, PR007070, PR007151, PR007268, PR007269, PR007273, PR007275, PR007276, PR007280, PR007281, PR007282, PR007556, PR007616, PR007617, PR007618, PR007619, PR007620
圖 18B	供體 #3, iDC	CHO-K1	
圖 19A	供體 #4, iDC	CHO-K1/hPD-L1	Selicrelumab, PR007619, PR007276, PR007281, PR007556, PR006919, PR007070, PR007151, PR007616, PR007617, PR007618, PR007620
圖 19B	供體 #4, iDC	CHO-K1	
圖 19C	供體 #4, mDC	CHO-K1/hPD-L1	
圖 19D	供體 #4, mDC	CHO-K1	

實施例13 PD-L1×CD40對B細胞的活化作用

【0183】 本實施例研究了PD-L1×CD40雙特異結合蛋白在PD-L1媒介的交聯以及不交聯情況下對B細胞增殖的作用。

【0184】 提前一天將CHO-K1和CHO-K1/hPD-L1細胞接種在96孔平底盤(Corning,#3599)。首先收集CHO-K1和CHO-K1/hPD-L1細胞，加入50 µg/mL絲裂黴素C(Selleckchem,#S8146)後放置在37°C反應1小時從而抑制細胞增殖，清洗後用F-12K完全培養基將細胞密度調整為 1×10^5 細胞/mL，以100 µL/孔，加入96孔平底盤，放置在細胞培養箱過夜。第二天將待測抗體用RPMI1640完全培養基稀釋到2倍終濃度，再進行10倍梯度稀釋；以Selicrelumab和hIgG1作為陽性和陰性對照；待測抗體工作濃度為100 nM、10 nM和1 nM。棄掉CHO-K1和CHO-K1/hPD-L1細胞的培養基後按100 µL/孔加入抗體。隨後使用人CD19分選套組(Miltenyi,#130-050-301)從供體PBMC中分選出B細胞；加入1 µM CFSE(Invitrogen,#34554)於37°C標記20分鐘；洗滌兩遍後將細胞密度調整為 1×10^6 細胞/mL，以100 µL/孔，再加入96孔盤與前述待測抗體混合，最後放置在細胞培養箱培養。六天後將細胞轉移到96孔U底盤(Corning,#3799)，於500g，4°C下離心4分鐘，棄上清液，按100 µL/孔，加入死細胞染料(Invitrogen,#L34976A,1:1000稀釋)，4°C避光培育15分鐘。用200 µL/孔PBS洗滌細胞兩次，加入100 µL Fc Block抗體

(BD, #564220, 1:50 稀釋)重新懸浮細胞，4℃避光培育15分鐘。隨後每孔加入2 μL 抗人CD19抗體(Biolegend, #302234)，4℃避光培育30分鐘，用200 μL/孔2% FBS PBS洗滌細胞兩次，最後加入100 μL 2% FBS PBS重新懸浮細胞，使用BD FACS CANTOII流式細胞儀讀取螢光發光訊號值。應用軟體GraphPad Prism 8進行數據處理和作圖分析。

【0185】 本實施例利用多個供體來源的B細胞對PD-L1×CD40雙抗進行了多次測試，結果如圖20A和圖20 B、圖21A和圖21 B、圖22A和圖22 B、圖23A和圖23 B和圖24A和24 B所示。表 30總結了各個附圖對應的實驗的重要參數，例如B細胞來源，交聯用標的細胞，和所測試的分子。

【0186】 結果表明，陽性參照抗體Selicrelumab能有效地促進B細胞增殖，但這種促進作用不受腫瘤抗原PD-L1的影響。而PD-L1×CD40雙抗，例如PR006919、PR007070和 PR007151等，均是條件性地促進B細胞增殖；即，在有PD-L1交聯的情況下，可以高效地促進B細胞增殖；而在沒有PD-L1交聯的情況下，幾乎沒有作用或者僅很弱的作用。PD-L1×CD40雙抗的這種選擇性活化作用的特性，是Selicrelumab所不具備的，也為雙抗分子可以高效和安全地發揮藥效提供了基礎。另外，在有些供體B細胞增殖實驗中，PD-

L1×CD40雙抗的增殖促進作用顯著強於Selicrelumab，如圖24A和圖24 B部分所示。

表 30：本實施例的不同批次的B細胞增殖實驗所對應的附圖

附圖	B細胞來源	標的細胞	測試分子
圖 20	供體 #1	CHO-K1/hPD-L1	Selicrelumab, PR006919, PR007619
		CHO-K1	
圖 21	供體 #2	CHO-K1/hPD-L1	PR006919, PR007070, PR007151
		CHO-K1	
圖 22A	供體 #3	CHO-K1/hPD-L1	Selicrelumab, PR007619, PR007275, PR007276, PR007280, PR007281, PR007556
圖 22B	供體 #3	CHO-K1	
圖 23A	供體 #4	CHO-K1/hPD-L1	Selicrelumab, PR007556, PR007282, PR007616, PR007617, PR007618, PR007620, PR007281
圖 23B	供體 #4	CHO-K1	
圖 24A	供體 #5	CHO-K1/hPD-L1	Selicrelumab, PR007619, PR006919, PR007070, PR007151, PR007268, PR007269, PR007273
圖 24B	供體 #5	CHO-K1	

實施例14 PD-L1×CD40的抗腫瘤藥效活性和安全性研究

【0187】 本實施例研究了PD-L1×CD40雙特異結合蛋白在hPD1×hCD40-C57BL/6J小鼠MC38-hPDL1腫瘤模型中的抗腫瘤藥效。MC38-hPDL1細胞是過表現了人PD-L1的MC38小鼠結腸癌細胞。hPD1×hCD40-C57BL/6J小鼠是將人PD-1和人CD40基因敲入C57BL/6J小鼠得到的PD1/CD40人源化基因轉殖小鼠(由上海南方模式生物技術公司提供)。

【0188】 將MC38-hPDL1細胞培養在37度，5% CO₂的培養箱中，培養基為含10%滅活胎牛血清的DMEM培養基，細胞每隔3至4天長滿即分皿繼代。取對數生長期MC38-hPDL1，重新懸浮於PBS

中，進行細胞計數，調整細胞濃度到 $1.0\times 10^7/\text{mL}$ ；用1 mL注射器將細胞懸浮液接種於hPD1×hCD40-C57BL/6J小鼠的右側脅肋部皮下， $100\mu\text{L}/\text{隻}$ ，每隻接種約 1.0×10^6 個腫瘤細胞。當平均腫瘤體積達到一定體積時，挑選腫瘤體積適中的小鼠，按腫瘤體積隨機分配到各實驗組中，每組N隻，分組當天開始給藥，一周兩次(BIW)，一共7次給藥，給藥途徑為腹腔注射給藥。給藥當天測量腫瘤體積，並記錄小鼠體重。

實施例14.1 小鼠藥效實驗#1

【0189】 在第一次實驗中，當平均腫瘤體積達到 110 mm^3 時，挑選個體腫瘤體積適中的小鼠按照表 31的方案進行分組和給藥。

表 31：實驗方案設計和各用藥組的腫瘤抑制率

組別	小鼠數 N	用藥劑量	用藥頻次	腫瘤抑制率(%)
Group 1	10	Isotype, 3 mg/kg	BIW, 7 次	
Group 2	10	Selicrelumab, 3 mg/kg	BIW, 7 次	93.89
Group 3	10	Atezolizumab, 3 mg/kg	BIW, 7 次	30.81
Group 4	10	[Selicrelumab, 3 mg/kg] + [Atezolizumab, 3 mg/kg]	BIW, 7 次	102.78
Group 5	10	PR007070, 3.6 mg/kg	BIW, 7 次	74.41
Group 6	10	PR007151, 3.6 mg/kg	BIW, 7 次	81.10

【0190】 結果如圖25 A和圖25 B所示，給藥開始後第21天，對照組Group 1(Isotype)平均腫瘤體積為 $2210.35\pm 487.58\text{ mm}^3$ 。用藥組 Group 2(Selicrelumab)、Group 4(Selicrelumab+Atezolizumab)、Group 5(PR007070)和Group

6(PR007151)腫瘤體積分別為 $239.07 \pm 73.25 \text{ mm}^3$ 、 $52.33 \pm 18.99 \text{ mm}^3$ 、 $647.92 \pm 176.36 \text{ mm}^3$ 和 $507.58 \pm 116.91 \text{ mm}^3$ ，相應的腫瘤抑制率分別為93.89%、102.78%、74.41%和81.10%，與Group 1(Isotype)比較存在顯著統計學差異($P < 0.01$)。Group 3(Atezolizumab)腫瘤體積分別為 $1563.33 \pm 325.77 \text{ mm}^3$ ，腫瘤抑制率為30.81%。

【0191】 給藥開始後第3天，Group 2(Selicrelumab)和Group 4(Selicrelumab + Atezolizumab)小鼠體重出現顯著下降(接近10%)，而Group 3(Atezolizumab)小鼠體重正常。這提示Selicrelumab具有顯著引起小鼠體重下降的副作用和毒性。而PD-L1×CD40雙抗組Group 5(PR007070)和Group 6(PR007151)的小鼠體重均正常，提示良好的安全性。

【0192】 以上結果表明，PD-L1×CD40雙抗PR007070和PR007151具有顯著的抗腫瘤活性，且顯著優於Atezolizumab。另一方面，從小鼠體重變化來看，PD-L1×CD40雙抗PR007070和PR007151的安全性顯著優於Selicrelumab以及Selicrelumab和Atezolizumab聯合用藥。

實施例14.2 小鼠藥效實驗#2

【0193】 在第二次實驗中，當平均腫瘤體積達到 89 mm^3 時，挑選個體腫瘤體積適中的小鼠按照表 32的方案進行分組和給藥。

表 32：實驗方案設計和各用藥組的腫瘤抑制率

組別	小鼠數 N	用藥劑量	用藥頻次	腫瘤抑制率 (%)
Group 1	7	hIgG1, 10 mg/kg	BIW, 6 次	
Group 2	7	PR007619, 12 mg/kg	BIW, 6 次	82.73
Group 3	7	PR007619, 6 mg/kg	BIW, 6 次	72.05
Group 4	7	PR007281, 12 mg/kg	BIW, 6 次	68.75
Group 5	7	PR007281, 6 mg/kg	BIW, 6 次	96.44
Group 6	7	PR007556, 12 mg/kg	BIW, 6 次	81.97
Group 7	7	PR007556, 6 mg/kg	BIW, 6 次	86.59
Group 8	7	PR007276, 12 mg/kg	BIW, 6 次	88.57
Group 9	7	PR007276, 6 mg/kg	BIW, 6 次	96.67

【0194】 結果如圖 26 A 和圖 26 B 所示，給藥開始後第 18 天，對照組 Group 1(hIgG1, 10 mg/kg) 平均腫瘤體積為 $1927.77 \pm 200.44 \text{ mm}^3$ 。Group 2(PR007619, 12 mg/kg) 和 Group 3(PR007619, 6 mg/kg) 的腫瘤體積分別為 $333.00 \pm 103.06 \text{ mm}^3$ 、 $538.85 \pm 224.35 \text{ mm}^3$ ，對應的腫瘤抑制率分別為 82.73%、72.05%。Group 4(PR007281, 12 mg/kg) 和 Group 5(PR007281, 6 mg/kg) 的腫瘤體積分別為 $602.40 \pm 278.52 \text{ mm}^3$ 、 $68.66 \pm 11.68 \text{ mm}^3$ ，對應的腫瘤抑制率分別為 68.75%、96.44%。Group 6(PR007556, 12 mg/kg) 和 Group 7(PR007556, 6 mg/kg) 的腫瘤體積分別為 $347.56 \pm 167.80 \text{ mm}^3$ 、 $258.51 \pm 102.12 \text{ mm}^3$ ，對應的腫瘤抑制率分別為 81.97%、86.59%。Group 8(PR007276, 12 mg/kg) 和 Group 9(PR007276, 6 mg/kg) 的腫瘤體積分別為 $200.34 \pm 59.12 \text{ mm}^3$ 、 $58.33 \pm 42.67 \text{ mm}^3$ ，對應的腫瘤抑制率分別

為88.57%、96.97%。整個實驗過程中，給藥組小鼠的體重狀態正常，藥物對小鼠狀態無明顯影響。

【0195】 以上結果表明，PD-L1×CD40 雙抗 PR007619, PR007281, PR007556, PR007276都體現出優異的抗腫瘤活性和安全性。

實施例14.3 小鼠藥效實驗 #3 以及小鼠肝臟毒性研究

【0196】 在第三次實驗中，當平均腫瘤體積達到85 mm³時，挑選個體腫瘤體積適中的小鼠按照表 33的方案進行分組和給藥。

【0197】 最後一次給藥24小時後，收集各組小鼠血清(共36份樣本)用於血生化指標測試，檢測小鼠血清中ALT和AST(丙胺酸胺基轉移酶和天冬胺酸胺基轉移酶)含量高低。同時收集36隻小鼠的肝臟組織，進行石蠟包埋，在每個肝臟組織連續6張切片後，進行H&E染色，最後挑選三張染色後的切片進行掃描和鏡檢分析。

表 33：實驗方案設計和各用藥組的腫瘤抑制率

組別	小鼠數 N	用藥劑量	用藥頻次	腫瘤抑制率(%)
Group 1	6	hIgG1, 3.6 mg/kg	BIW, 6 次	
Group 2	6	PR007619, 1.8 mg/kg	BIW, 6 次	36.86
Group 3	6	PR007619, 3.6 mg/kg	BIW, 6 次	55.55
Group 4	6	PR007619, 6.0 mg/kg	BIW, 6 次	62.00
Group 5	6	PR007619, 10.8 mg/kg	BIW, 6 次	70.94
Group 6	6	Selicrelumab, 5 mg/kg	BIW, 6 次	81.79

【0198】 抗腫瘤藥效結果如圖27A和圖27 B所示，給藥開始後第22天，對照組 Group 1(hIgG1, 3.6 mg/kg)的腫瘤體積為

第 87 頁，共 97 頁(發明說明書)

1865.24±125.47 mm³。Group 2(PR007619, 1.8 mg/kg)、Group 3(PR007619, 3.6 mg/kg)、Group 4(PR007619, 6 mg/kg)、Group 5(PR007619, 10.8 mg/kg)的腫瘤體積分別為1177.74±198.47 mm³、829.01±164.87 mm³、708.84±208.76 mm³、541.99±41.2 mm³；對應的腫瘤抑制率分別為36.86%、55.55%、62%、70.94%。Group 6(Selicrelumab, 5 mg/kg)的腫瘤體積為339.68±72.9 mm³，對應的腫瘤抑制率為81.79%。整個實驗過程中，hIgG1對照組和PR007619給藥組小鼠的體重狀態正常，藥物對小鼠狀態無明顯影響。但是Selicrelumab給藥組小鼠出現一定程度的小鼠體重下降的現象，提示Selicrelumab具有一定的副作用和毒性。

【0199】 以上結果表明，PD-L1×CD40雙抗PR007619具有劑量依賴性的腫瘤抑制活性，且抑制作用顯著。而且，PR007619具有比對照分子Selicrelumab更好的安全性。

【0200】 血生化指標測試結果如圖28所示，Group 1 – Group 6各組對應的ALT平均數值分別為34±8.83 U/L、46±24.64 U/L、34.5±7.04 U/L、32.5±9.38 U/L、31.5±1.64 U/L和128.7±76.2 U/L。其中Group 6(Selicrelumab, 5 mg/kg)與Group 1(對照組)相比有顯著上升(P=0.0128)；而Group 2 – Group 5 (不同劑量的PR007619給藥組)與Group 1(對照組)相比均無顯著差異。類似地，

Group 1 – Group 6 各組對應的AST平均數值分別為 180 ± 40.3 U/L、 197.5 ± 95.9 U/L、 120.5 ± 41.2 U/L、 120 ± 61.3 U/L、 123.5 ± 16.69 U/L 和 326.17 ± 153.6 U/L。其中 Group 6(Selicrelumab, 5 mg/kg)與Group 1(對照組)相比有顯著上升($P=0.0478$)；而Group 2 – Group 5(不同劑量的PR007619給藥組)與Group 1(對照組)相比均無顯著差異。

【0201】 組織切片結果如圖29所示，Group 6(Selicrelumab, 5 mg/kg)的小鼠的肝臟組織出現明顯損傷，具體表現為：中等程度的門靜脈多病灶的單核細胞和淋巴細胞浸潤；中等程度的血竇多病灶的Kupffer細胞增生；顯著的血竇單核細胞增多和彌散；顯著的多病灶的肝細胞變性和壞死。而Group 1(對照組)和Group 2 – Group 5(不同劑量的PR007619給藥組)的小鼠，肝臟組織均未見明顯病理變化。

【0202】 以上血生化指標和組織切片結果都表明，CD40單抗Selicrelumab在hPD1×hCD40-C57BL/6J基因轉殖小鼠體內引起顯著的急性肝毒性反應；而PD-L1×CD40雙抗PR007619則表現出優異的安全性。

實施例14.4 小鼠藥效實驗 #4 以及小鼠肝臟毒性研究

【0203】 第四次實驗旨在研究PD-L1×CD40雙抗對小鼠的影響，包括腫瘤生長的抑制、小鼠體重的改變、血清中細胞激素位準的變化和肝毒性血生化指標的改變。

【0204】 在第四次實驗中，當平均腫瘤體積達到82 mm³時，挑選個體腫瘤體積適中的小鼠按照表 34的方案進行分組和給藥。每組10隻(5隻雌鼠，5隻雄鼠)，分組當天開始給藥，一周兩次(BIW)，一共4次給藥(第0、3、7、10天)，給藥途徑為腹腔注射給藥。期間測量腫瘤體積(第0、2、5、9、11天)。第一次給藥後24小時，取血清用於細胞激素位準(IL-6，TNF- α ，IFN- γ 及IL12p40)的測試。在最後一次給藥後24小時，取血清用於肝毒性指標血生化檢測(ALT和AST)。最後收集小鼠肝臟組織(共50份)，進行石蠟包埋，在每個肝臟組織連續6張切片後，進行H&E染色，最後挑選三張染色後的切片進行掃描和鏡檢分析。除肝臟外，同時收集小鼠的心臟、脾臟、肺臟、腎臟進行石蠟包埋和切片染色分析。

表 34：實驗方案設計和各用藥組的腫瘤抑制率

組別	小鼠數 N	用藥劑量	用藥頻次	腫瘤抑制率(%)
Group 1	10 (5F, 5M)	hIgG1, 10 mg/kg	BIW, 4 次	
Group 2	10 (5F, 5M)	PR007619, 12 mg/kg	BIW, 4 次	66.56
Group 3	10 (5F, 5M)	Selicrelumab, 1 mg/kg	BIW, 4 次	67.21
Group 4	10 (5F, 5M)	Selicrelumab, 2.5 mg/kg	BIW, 4 次	78.80
Group 5	10 (5F, 5M)	Selicrelumab, 5 mg/kg	BIW, 4 次	83.51

【0205】 抗腫瘤藥效結果如圖30 A和圖30 B所示，給藥開始後第11天，對照組 Group1(hIgG1,10mg/kg)的平均腫瘤體積為 $1653.68\pm153.10\text{mm}^3$ ； Group2(PR007619,12mg/kg)、 Group 3(Selicrelumab,1 mg/kg)、 Group 4(Selicrelumab,2.5 mg/kg) 和 Group 5(Selicrelumab,5 mg/kg) 的 腫 瘤 體 積 分 別 為 $552.96\pm123.59\text{mm}^3$ 、 $542.23\pm79.83\text{mm}^3$ 、 $350.60\pm61.35\text{mm}^3$ 和 $272.65\pm45.48\text{mm}^3$ ，對應的腫瘤抑制率分別為 66.56%、67.21%、78.80%和83.51%。各個給藥組均與Group1比較存在統計學差異($P>0.05$)。另一方面，體重結果顯示，Group 2(PR007619, 12 mg/kg)對小鼠體重無明顯影響；Selicrelumab的各劑量組(Group3-5)在給藥後均導致小鼠體重下降，下降程度接近或超過10%，且劑量越大，體重越難恢復。特別是，Selicrelumab的中高劑量組給藥後，體重始終未能恢復。

【0206】 以上結果表明，PD-L1×CD40雙抗具有顯著的抗腫瘤藥效和安全性，而Selicrelumab引起小鼠體重下降，呈現出顯著的毒副作用。

表 35：血生化指標ALT和AST位準

	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4	Group 5
ALT (U/L)	168.3±79.8	107.6±54.2	105.1±44.8	310±189.3	507.6±150.0
AST (U/L)	51.6±69.1	19.7±7.26	31±19.1/L	96.5±86.1	147.7±73.1

【0207】 血生化指標測試結果如圖31和表 35所示，Group 1 – Group 5各組對應的ALT值分別為 168.3 ± 79.8 U/L、 107.6 ± 54.2 U/L、 105.1 ± 44.8 U/L、 310 ± 189.3 U/L和 507.6 ± 150.0 U/L；Group 1 – Group 5各組對應的AST值分別為 51.6 ± 69.1 U/L、 19.7 ± 7.26 U/L、 $31\pm19.1/L$ 、 96.5 ± 86.1 U/L和 147.7 ± 73.1 U/L。其中Group 5(Selicrelumab, 5 mg/kg)與Group 1對照組相比，ALT和AST極顯著提升($P<0.001$)；Group 4(Selicrelumab, 2.5 mg/kg)與Group 1對照組相比，在ALT方面也有顯著差異($P=0.037$)。然而，Group 2(PR007619, 12 mg/kg)與Group 1對照組相比，在ALT和AST方面，均無顯著差異。由此表明，Selicrelumab引起顯著的肝毒性血生化指標ALT和AST的上升，而PD-L1×CD40雙抗不會引起小鼠血清中ALT和AST位準的上升。

表 36：周邊血液細胞激素位準

	IL-6 (pg/mL)	IFN- γ (pg/mL)	TNF- α (pg/mL)	IL12p40 (pg/mL)
Group 1	16.3±8.74	0.54±0.19	14.1±3.79	1157.1±125.8
Group 2	24.8±11.7	1.48±0.98	17.3±8.08	1786.8±369.5
Group 3	1343.8±529.5	159.0±90.9	1186.1±255.7	92119.7±30959.2
Group 4	1428.2±569.5	138.9±91.7	1274.7±392.3	99263.0±24254.9
Group 5	2038.0±747.2	147.4±79.44	1311.5±179.9	110786.1±21607.5

【0208】 周邊血液細胞激素測試結果如圖32和圖33以及表 36所示，Group 1 – Group 5各組對應細胞激素IL-6值分別為 16.3 ± 8.74 pg/mL、 24.8 ± 11.7 pg/mL、 1343.8 ± 529.5 pg/mL、

1428.2±569.5 pg/mL和2038.0±747.2 pg/mL；Group 1 – Group 5 各組對應的細胞激素IFN- γ 值分別為0.54±0.19 pg/mL、1.48±0.98 pg/mL、159.0±90.9 pg/mL、138.9±91.7 pg/mL和147.4±79.44 pg/mL；Group 1 – Group 5各組對應的細胞激素TNF- α 值分別為14.1±3.79 pg/mL、17.3±8.08 pg/mL、1186.1±255.7 pg/mL、1274.7±392.3 pg/mL和1311.5±179.9 pg/mL；Group 1 – Group 5各組對應細胞激素IL12p40值分別為1157.1±125.8 pg/mL、1786.8±369.5 pg/mL、92119.7±30959.2 pg/mL、99263.0±24254.9 pg/mL和110786.1±21607.5 pg/mL。

【0209】 由此可見，在細胞激素IL-6、TNF- α 和IFN- γ 位準方面，Selicrelumab各劑量組(Group 3 – 5)均能引起顯著的細胞激素位準的上升，與Group 1對照組相比較，顯示出極顯著差異($P < 0.0001$)；而PD-L1×CD40雙抗(Group 2)組未引起細胞激素位準的上升，與Group 1對照組相比，沒有顯著差異($P > 0.05$)。另外，在細胞激素IL12p40位準方面，Selicrelumab各劑量組 (Group 3 – 5)均能引起顯著的IL12p40位準的上升，與Group 1對照組相比較，顯示出極顯著差異($P < 0.0001$)；而PD-L1×CD40雙抗(Group 2)僅引起少量IL12p40的上升($P=0.0004$)。綜合結果表明，Selicrelumab引起顯著的小鼠周邊血液細胞激素釋放症候群，而PD-L1×CD40雙抗則不會。

【0210】 肝臟組織切片結果如圖34所示，在Group 1，所有10隻動物的肝臟均在正常範圍內。在Group 2，只有一隻動物B5784有少量的多灶性血管周圍淋巴細胞浸潤，其它9隻動物的肝臟均在正常範圍內。在Group 3中，所有10隻動物的肝臟都有最小、輕度或最輕度的多灶性血管周圍淋巴細胞浸潤。在Group 4中，動物A5757的肝臟有中度的多灶性血管周圍淋巴細胞浸潤，其它動物肝臟在血管周圍或靜脈竇有中度的多灶性肉芽腫發炎(單核細胞浸潤伴纖維化，大部分淋巴細胞和巨噬細胞)。在Group 5中，所有動物的肝臟在血管周圍或靜脈竇處有中度及顯著的多灶性肉芽腫發炎(單核細胞浸潤纖維化，大多數淋巴細胞和巨噬細胞)。

【0211】 在這項研究中，與對照組(Group 1)相比，PD-L1×CD40雙抗(Group 2)的肝臟、腎臟、肺和脾臟的變化為最小或輕微，最小的淋巴細胞浸潤是可預測的藥效學反應。與對照組(Group 1)相比，Selicrelumab各劑量組(Group 3、Group 4和Group 5)在這些組織中有更多的不良變化。這些組織中的腎小管退化、有更多的淋巴細胞浸潤和/或發炎。放大了可預測的藥效學反應，可能對動物有害。因此，與Selicrelumab相比，PD-L1×CD40雙抗引起的病變程度和發生率更小。

【0212】 綜上所述，Selicrelumab在小鼠體內引起嚴重的細胞激素釋放症候群，肝毒性血清指標上升，肝臟以及其它臟器組織損

傷；而PD-L1×CD40雙抗在具備強力的抗腫瘤藥效的同時還具有優異的安全性，不引起細胞激素釋放症候群，不引起肝毒性血清指標上升，不引起肝臟以及其它臟器組織損傷。

實施例15 PD-L1×CD40的藥代動力學評估

【0213】 本實施例研究了四個具有相似序列並且結構相同的雙特異性結合蛋白分子在小鼠體內的藥代動力學性能。

【0214】 給藥和採血：對於每一個測試結合蛋白分子，選取體重18~22克的雌性C57BL/6J小鼠6隻，按6 mg/kg的劑量透過靜脈注射給予測試結合蛋白分子。一組3隻於給藥後5分鐘、24小時(1天)、第4天、和第10天採集全血，另一組3隻於給藥前以及給藥後5小時、第2天、第7天、和第14天採集全血。將全血靜置使其凝固，隨後離心並將分離的血清樣品在-80℃下凍存直至分析。

【0215】 分析方法：採用兩種ELISA方法來定量測定小鼠血清中的藥物濃度。ELISA方法一，即Fc端檢測方法，透過塗覆於96孔盤的山羊抗人Fc多株抗體(ROCKLAND,#609-101-017)來捕獲小鼠血清中的含有人Fc的抗體，然後加入HRP標記的山羊抗人Fc第二抗體(Jackson,#109-035-098)來檢測。ELISA方法二，即功能結構域檢測方法，透過塗覆於96孔盤的PD-L1抗原蛋白(Novoprotein,#C315)來捕獲小鼠血清中的特異辨識抗原的抗體，然後加入HRP標記的山羊抗人Fc第二抗體(Jackson,#109-035-

098)來檢測。使用Phoenix WinNonlin軟體8.2版，選用非房室模型(NCA)分析藥代動力學參數。

【0216】 表 37中所示，雙抗分子PR007556有與常規IgG抗體相似的血清半衰期 $t_{1/2}$ 值，PD-L1端檢測方法顯示其 $t_{1/2}$ 值為10.3天。雙抗分子PR007619，PR007281和PR007276有與常規IgG抗體相似的藥代動力學：在Fc端檢測方法下，PR007619，PR007281和PR007276在小鼠體內的血清半衰期 $t_{1/2}$ 值分別約為13.6天，15.1天和15.7天；在PD-L1端檢測方法下，PR007619，PR007281和PR007276在小鼠體內的血清半衰期 $t_{1/2}$ 值分別約為13.5天，18.1天和13.7天。

表 37：PD-L1×CD40在小鼠體內的藥代動力學參數

雙抗分子	PR007619		PR007556		PR007281		PR007276	
動物 (數量)	C57BL/6J 小鼠 (n=6)		C57BL/6J 小鼠 (n=6)		C57BL/6J 小鼠 (n=6)		C57BL/6J 小鼠 (n=6)	
抗體劑量	6 mg/kg, I.V.		6 mg/kg, I.V.		6 mg/kg, I.V.		6 mg/kg, I.V.	
PK 參數	Fc 端檢測	PD-L1 端檢測	Fc 端檢測	PD-L1 端檢測	Fc 端檢測	PD-L1 端檢測	Fc 端檢測	PD-L1 端檢測
$T_{1/2}$ (day)	13.6	13.5	20.3	10.3	15.1	18.1	15.7	13.7
V_d (mL/kg)	125	137	100	93.6	113	119	108	105
AUC($\mu\text{g}\cdot\text{hour/mL}$)	11600	10500	15800	13700	12900	12700	13700	13600
Cl (mL/hour/kg)	0.269	0.298	0.143	0.258	0.213	0.186	0.197	0.223
C_0 ($\mu\text{g/mL}$)	99.9	97.5	130	143	138	132	140	140

【0217】 結果如表 37 和圖 35A- 圖 35D 所示，這些PD-L1×CD40雙抗分子有與常規IgG抗體相似的血清半衰期 $t_{1/2}$ 值，根據檢測方法的不同，其 $T_{1/2}$ 值為10天到20天。

【0218】 雖然以上描述了本發明的具體實施方式，但是本領域的技術人員應當理解，這些僅是舉例說明，在不背離本發明的原理和實質的前提下，可以對這些實施方式做出多種變更或修改。因此，本發明的保護範圍由所附申請專利範圍限定。

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing originalFreeTextLanguageCode="zh" dtdVersion="V1_3"
fileName="NP-1603-M-序列表.xml" softwareName="WIPO Sequence"
softwareVersion="2.3.0" productionDate="2023-05-16">
  <ApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>TW</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>112112642</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2023-03-31</FilingDate>
  </ApplicationIdentification>
  <ApplicantFileReference>P23430701T</ApplicantFileReference>
  <EarliestPriorityApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>CN</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>202210351186X</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2022-04-02</FilingDate>
  </EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <ApplicantName languageCode="zh">大陸商和鉤醫藥(上海)有限責任公司
</ApplicantName>
  <ApplicantNameLatin>HARBOUR BIOMED (SHANGHAI) CO., LTD</ApplicantNameLatin>
  <InventionTitle languageCode="zh">標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白及其製備和應用
</InventionTitle>
  <SequenceTotalQuantity>106</SequenceTotalQuantity>
  <SequenceData sequenceIDNumber="1">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>
          <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier>
              <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="q2">
              <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```



```

    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 2" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q4">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGVVQPGMSLRLSCAAS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 3" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
```

```
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q6">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="4">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q8">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GFTFSDS</INSDSeq_sequence>
```

```
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="5">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q10">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GFNFSNY</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="6">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```

    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="ql2">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GYTFTGY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="7">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql4">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GFTFSSY</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="8">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>

```

```
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="ql6">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GYTFAGY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="9">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql8">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
```

```

    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GFDFSSY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="10">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>19</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q20">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>WIHWVRQAPGKGLEWVAWI</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="11">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>19</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>

```

```
<INSDQualifier>
  <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q22">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GMYWVRQAPGKGQEWVAII</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="12">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>19</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q24">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>YMHWVRQAPGQGLEWMGWI</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="13">
```

```
<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>19</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>
          <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q26">
          <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>YMYWVRQAPGGGLEWMGWI</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="14">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>19</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q28">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```



```

    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GMYWVRQAPGKGQEWVASI</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="15">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q30">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>SPYGGG</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="16">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
```

```
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q32">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>WYDGTK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="17">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q34">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>NPDSGG</INSDSeq_sequence>
```

```
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="18">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q36">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>NPDSGA</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="19">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q38">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>RYTGTE</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="20">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>41</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..41</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q40">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>TYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="21">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>41</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..41</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q42">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>KHYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLEMNSLRVEDTAVYYCAK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="22">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>41</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..41</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q44">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```

    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>TNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCAR</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 23" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>41</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..41</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q46">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>PTYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAR</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 24" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
```

```
<INSDQualifier>
  <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q48">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>RHWPGGFDY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="25">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q50">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>NRAIFGVVPDASDI</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="26">
```

```
<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>
          <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q52">
          <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>DQPLGYCTNGVCSYFDY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="27">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>16</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q54">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```



```

        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EKIYYGSGNYYPSPFDY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="28">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>
                <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
                <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>
                        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q56">
                        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>
        <INSDSeq_sequence>NRALFGVIPDDSDI</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="29">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

```

```
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q58">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>NRAIFGVIPDDSDI</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="30">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q60">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>NRALFGVIPDASDI</INSDSeq_sequence>
```

```
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 31">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q62">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>WGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 32">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```

    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q64">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>RGQGTMTVSS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="33">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q66">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="34">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>

```

```
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q68">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITC</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="35">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q70">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```

    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITC</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 36" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q72">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>RASQDVSTAVA</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 37" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>

```

```
<INSDQualifier>
  <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q74">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>RASQGIYSWLA</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="38">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q76">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>RASQGISSYLA</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="39">
```

```
<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>
          <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q78">
          <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>WYQQKPGKAPKLLIY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="40">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q80">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```



```

    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>WYQQKPGKAPNLLIY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 41">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q82">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>SASFLYS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 42">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
```

```
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q84">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>TASTLQS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="43">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q86">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>AASTLQS</INSDSeq_sequence>
```

```
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 44" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>32</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..32</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q88">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 45" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>32</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..32</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q90">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYC</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="46">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q92">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QQYLYHPAT</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="47">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q94">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QQANIFPLT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="48">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q96">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
```

```

    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>QQLNSYPWT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 49" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q98">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QQLASYPWT</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 50" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>

```

```
<INSDQualifier>
  <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q100">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QLFSYPWT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="51">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q102">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QLYSYPWT</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="52">
```

```
<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>
          <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q104">
          <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>QQLVSYPT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="53">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q106">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```



```

        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QQLNNYPWT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="54">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>
                <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
                <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>
                        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q108">
                        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>
        <INSDSeq_sequence>FGQGTKVEIK</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="55">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>

```

```
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="ql10">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>FGGGTKVEIK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="56">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>118</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql12">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYAD
SVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGGQGLTVTVSS</INSDSeq_sequence>
```

```
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 57">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>123</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..123</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql14">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGVVQPGMSLRSLCAASGFNFSNYGMYWVRQAPGKGQEWVAIIWYDGTKKHAD
    SVKGRFTISRDN SKNTLYLEMNSLRVEDTAVYYCAKNRAIFGVVPDASDIRGQGTMTVTSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 58">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>126</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..126</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="ql16">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQ
KFQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGGTLVTVSS</INSDSeq_sequen
ce>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="59">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>123</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..123</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql18">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGVVQPMSLRLSCAASGFTFSSYGMVWVRQAPGKGQEWVAIIWYDGTKKHAD
SVKGRFTISRDN SKNTLYEMNSLRVEDTAVYYCAKNRAIFGVVPDASDIRGQGTMTVTSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber=" 60">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>125</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..125</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql20">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFAGYYMYWVRQAPGQGLEWMGWINPDSGAPTYAQ
    KFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLSDDTAVYYCAREKIYYGSGNYYPSPFDYWGGTLVTVSS</INSDSeq_sequenc
    e>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 61">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>123</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..123</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q122">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGVVQPGMSLRSLCAASGFTFSSYGMWVRQAPGKGQEWVASIRYTGTEKHYAD
SVKGRFTISRDN SKNTLYLEMNSLRVEDTAVYYCAKNRALFGVIPDDSDIRGQGTMTVTVSS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 62">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>123</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..123</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q124">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGVVQPGMSLRSLCAASGFD FSSYGMWVRQAPGKGQEWVASIRYTGTEKHYAD
SVKGRFTISRDN SKNTLYLEMNSLRVEDTAVYYCAKNRAIFGVVPDASDIRGQGTMTVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 63">
  <INSDSeq>
```

```
<INSDSeq_length>123</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..123</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="ql26">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGVVQPGMSLR LSCAASGFD FSSYGMYWVRQAPGKGQEWVASIRYTGTEKHYAD
SVKGRFTISRDN SKNTLYLEMSLRVEDTAVYYCAKNRAIFGVIPDDSDIRGQGTMTVTSS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 64">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>123</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..123</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql28">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGVVQPGMSLRSLCAASGFDSSYGMWVRQAPGKGQEWVASIRYTGTEKHYAD
SVKGRFTISRDN SKNTLYLEMNSLRVEDTAVYYCAKNRALFGVIPDASDIRGQGTMTVTSS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 65">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>123</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..123</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q130">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGVVQPGMSLRSLCAASGFDSSYGMWVRQAPGKGQEWVASIRYTGTEKHYAD
SVKGRFTISRDN SKNTLYLEMNSLRVEDTAVYYCAKNRALFGVIPDDSDIRGQGTMTVTSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 66">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```



```
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="ql32">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="67">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql34">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```

    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGIYSWLAWYQQKPGKAPNLLIYTASTLQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANIFPLTFGGGTKVEIK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 68" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql36">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRF
SGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQLNSYPWTFGGGTKVEIK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 69" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="ql38">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRF
SGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLASYPWTFGGGTKVEIK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="70">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql40">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRF
SGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLFSYPWTFGGGTKVEIK</INSDSeq_sequence>
```

```
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="71">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql42">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRF
    SGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLYSYPWTFGGGTKVEIK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="72">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="ql44">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRF
SGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLVSYPTWTFGGGTKVEIK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="73">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql46">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRF
SGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNNYPWTWTFGGGTKVEIK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="74">
```

```
<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>448</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..448</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>
          <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="ql48">
          <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYAD
SVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFQDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
LGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequ
ence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="75">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>355</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..355</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
```

```
<INSDQualifier>
  <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q150">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGVVQPGMSLRSLCAASGFNFSNYGMYWVRQAPGKGQEWVAIIWYDGTKKHYAD
SVKGRFTISRDN SKNTLYLEMNSLRVEDTAVYYCAKNRAIFGVVPDASDIRGQGTMTVVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="76">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>452</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..452</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q152">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWRQAPGQGLEWMGWINPDSGGTNYAQ
KFQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGGQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSR
STSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDK
TVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN
STFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_
sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="77">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>355</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..355</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q154">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGVVQPGMSLRSLCAASGFTFSSYGMWVRQAPGKGQEWVAIIWYDGTKKKHYAD
SVKGRFTISRDN SKNTLYLEMSLRVEDTAVYYCAKNRAIFGVVPDASDIRGQGTMTVVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="78">
  <INSDSeq>
```



```
<INSDSeq_length>451</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..451</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="ql56">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFAGYYMYWVRQAPGQGLEWMGWINPD SGAPTYAQ
KFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSR LRSDDTAVYYCAREKIYYGSGNYYP SFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS
TSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKT
VERKCCVECP PCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS
TFRVVS VLT VVH QDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
VEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_s
equence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="79">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>355</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..355</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
```

```

    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q158">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGVVQPMSLRRLSCAASGFTFSSYGMYWVRQAPGKGQEWVASIRYTGTEKHYAD
SVKGRFTISRDN SKNTLYLEMNSLRVEDTAVYYCAKNRALFGVIPDDSDIRGQGTMTVTSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYCKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="80">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>355</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..355</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q160">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGVVQPMSLRRLSCAASGFD FSSYGMYWVRQAPGKGQEWVASIRYTGTEKHYAD
SVKGRFTISRDN SKNTLYLEMNSLRVEDTAVYYCAKNRAIFGVVPDASDIRGQGTMTVTSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
```

```
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="81">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>355</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..355</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql62">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGVVQPGLSLRLSCAASGFDSSSYGMYWVRQAPGKGQEWVASIRYTGTEKHYAD
SVKGRFTISRDN SKNTLYLEMSLRVEDTAVYYCAKNRAIFGVIPDDSDIRGQGTMTVTSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="82">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>355</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..355</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="ql64">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGVVQPGMSLRLSCAASGFDSSYGMWVRQAPGKGQEWVASIRYTGTEKHYAD
SVKGRFTISRDN SKNTLYLEMNSLRVEDTAVYYCAKNRALFGVIPDASDIRGQGMVTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="83">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>355</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..355</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql66">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```

    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGVVQPMSLRLSCAASGFDSSYGMWVRQAPGKGQEWVASIRYTGTEKHYAD
SVKGRFTISRDNKNTLYLEMSLRVEDTAVYYCAKNRALFGVIPDDSDIRGQGTMTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="84">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>455</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..455</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql68">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFAGYYMYWVRQAPGQGLEWMGWINPDSGAPTYAQ
KFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSRLSDDTAVYYCAREKIYYGSGNYPSFDYWGGQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS
TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK
VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDS
eq_sequence>

```

```
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 85">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>214</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..214</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql70">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRF
    SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR
    EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSe
    q_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 86">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>214</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..214</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
```

```
<INSDQualifier>
  <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="ql72">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGIYSWLAWYQQKPGKAPNLLIYTASTLQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANIFPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR
EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSe
q_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="87">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>214</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..214</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql74">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRF
SGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQLNSYPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR
```

```
EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSeq
q_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 88">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>214</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..214</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql76">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRF
SGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLASYPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR
EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSeq
q_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 89">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>214</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```



```
<INSDFeature_location>1..214</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="ql78">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRF
SGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLFSYPWTFGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR
EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSe
q_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="90">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>214</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..214</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql80">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
```

```

    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRF
SGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLYSYPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR
EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSe
q_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="91">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>214</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..214</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql82">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRF
SGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLVSYPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR
EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSe
q_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="92">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>214</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>

```

```
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..214</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="ql84">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRF
SGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNNYPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR
EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSe
q_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="93">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>583</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..583</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql86">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```

    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGVVQPGMSLRSLCAASGDFSSYGMYWVRQAPGKGQEWVASIRYTGTEKHYAD
SVKGRFTISRDN SKNTLYLEMNSLRVEDTAVYYCAKNRAIFGVIPDDSDIRGQGTMTVTSSGGGGSQVQLVQSGAEVKKP
GASVKV SCKASGYTFAGYYMYWVRQAPGQGLEWMGWINPD SGAPTYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVY
YCAREKIYYGSGNYPSFDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="94">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>583</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..583</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q188">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGVVQPGMSLRSLCAASGFTFSSYGMYWVRQAPGKGQEWVASIRYTGTEKHYAD
SVKGRFTISRDN SKNTLYLEMNSLRVEDTAVYYCAKNRALFGVIPDDSDIRGQGTMTVTSSGGGGSQVQLVQSGAEVKKP
GASVKV SCKASGYTFAGYYMYWVRQAPGQGLEWMGWINPD SGAPTYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVY
YCAREKIYYGSGNYPSFDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPK
```

```
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 95" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>583</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..583</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q190">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGVVQPGLSLRLSCAASGFDSSSYGMYWVRQAPGKGQEWVASIRYTGTEKHYAD
SVKGRFTISRDN SKNTLYLEMSLRVEDTAVYYCAKNRAIFGVVPDASDIRGQGTMTVTSSGGGGSQVQLVQSGAEVKKP
GASVKVSCKASGYTFAGYYMYWVRQAPGQGLEWMGWINPD SGAPTYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVY
YCAREKIYYGSGNYPSFDYWGGQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 96" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>583</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..583</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="ql92">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGVVQPGMSLRSLCAASGFDSSYGMWVRQAPGKGQEWVASIRYTGTEKHYAD
SVKGRFTISRDN SKNTLYLEMNSLRVEDTAVYYCAKNRALFGVIPDASDIRGQGTMTVTSSGGGGSQVQLVQSGAEVKKP
GASVKVSKASGYTFAGYYMYWVRQAPGGGLEWMGWINPDSGAPTYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVY
YCAREKIYYGSGNYPSFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSG SFFL
YSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="97">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>583</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..583</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
```

```

    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q194">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGVVQPMSLRSLCAASGFDSSYGMWVRQAPGKGQEWVASIRYTGTEKHYAD
SVKGRFTISRDN SKNTLYLEMNSLRVEDTAVYYCAKNRALFGVIPDDSDIRGQGTMTVTVSSGGGGSQVQLVQSGAEVKKP
GASVKV SCKASGYTFAGYYMYWVRQAPGGGLEWMGWINPD SGAPTYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMEL SRLRSDDTAVY
YCAREKIYYGSGNYPSFDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSG SFFL
YSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="98">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>581</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..581</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q196">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGVVQPMSLRLSCAASGFDSSYGMYWVRQAPGKGQEWVASIRYTGTEKHYAD
SVKGRFTISRDN SKNTLYLEMNSLRVEDTAVYYCAKNRAIFGVIPDDSDIRGQGTMTVTSSGGSQVQLVQSGAEVKKPGA
SVKVSCKASGYTFAGYYMYWVRQAPGQGLEWMGWINPD SGAPTYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYC
AREKIYYGSGNYYP SFDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPK
DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL
PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="99">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>581</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..581</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q198">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGVVQPMSLRLSCAASGFDSSYGMYWVRQAPGKGQEWVASIRYTGTEKHYAD
SVKGRFTISRDN SKNTLYLEMNSLRVEDTAVYYCAKNRALFGVIPDDSDIRGQGTMTVTSSGGSQVQLVQSGAEVKKPGA
SVKVSCKASGYTFAGYYMYWVRQAPGQGLEWMGWINPD SGAPTYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYC
AREKIYYGSGNYYP SFDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPK
DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL
PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS
```



```
KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="100">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q200">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GSGS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="101">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q202">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GGGGS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="102">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q204">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GGGGSGS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="103">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q206">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GGGSGGGSGGGGS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="104">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q208">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```

    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EPKSSDKTHTPPPPP</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="105">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q210">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>DKTHTCPPCP</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="106">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>

```

```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q212">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GGGGGDKTHTCPPCP</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白，其包括第一蛋白功能區和第二蛋白功能區，其特徵在於，所述第一蛋白功能區包含標靶CD40的抗原結合蛋白，所述第二蛋白功能區包含標靶PD-L1的抗原結合蛋白；其中，

所述標靶CD40的抗原結合蛋白包含輕鏈可變區(VL)和重鏈可變區(VH)，所述VL包含LCDR1、LCDR2和LCDR3，所述VH包含HCDR1、HCDR2和HCDR3；所述LCDR1包括如SEQ ID NO: 38所示的胺基酸序列，所述LCDR2包括如SEQ ID NO: 43所示的胺基酸序列，所述LCDR3包括如SEQ ID NO: 48所示的胺基酸序列或在SEQ ID NO: 48上具有3、2或1個胺基酸突變的變異體3；所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 8所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 18所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 27所示的胺基酸序列。

【請求項2】 如請求項1所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白，其特徵在於，所述變異體3包括在SEQ ID NO: 48所示胺基酸序列上具有PTM位點突變的胺基酸序列，優選包括在SEQ ID NO: 48所示胺基酸序列的第4位和/或第5位上發生胺基酸突變的胺基酸序列，所述胺基酸突變優選為胺基酸替代，更優選為胺基酸的守恆替代；較佳地，所述變異體3為在SEQ ID NO: 48所示胺基酸序列上發生N4A/F/Y/V/N和/或S5N突變的胺基

第1頁，共13頁(發明申請專利範圍)

酸序列；更佳地，所述變異體3為如SEQ ID NO: 49-53任一項所示的胺基酸序列；進一步更佳地，所述標靶CD40的抗原結合蛋白中，所述LCDR1包括如SEQ ID NO: 38所示的胺基酸序列，所述LCDR2包括如SEQ ID NO: 43所示的胺基酸序列，所述LCDR3包括如SEQ ID NO: 48-53任一項所示的胺基酸序列；所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 8所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 18所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 27所示的胺基酸序列。

【請求項3】 如請求項1或2所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白，其特徵在於，所述標靶CD40的抗原結合蛋白中，所述VL包括如SEQ ID NO: 68所示的胺基酸序列或與SEQ ID NO: 68有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同性的胺基酸序列，所述VH包括如SEQ ID NO: 60所示的胺基酸序列或與SEQ ID NO: 60有至少80%、85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同性的胺基酸序列；較佳地，所述VL包括如SEQ ID NO: 68-73任一項所示的胺基酸序列，所述VH包括如SEQ ID NO: 60所示的胺基酸序列。

【請求項4】 如請求項1-3任一項所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白，其特徵在於，所述標靶CD40的抗原結合蛋白為全長抗體，所述全長抗體包含輕鏈和重鏈；所述輕

鏈包括輕鏈恆定區(CL)，所述輕鏈恆定區優選為人源抗體輕鏈恆定區，所述人源抗體輕鏈恆定區更優選為κ亞型的輕鏈恆定區；所述重鏈包括重鏈恆定區(CH)，所述重鏈恆定區優選為人源抗體重鏈恆定區，更優選為hIgG1、hIgG2、hIgG3或hIgG4亞型的重鏈恆定區，進一步優選為hIgG1亞型的重鏈恆定區；

較佳地，所述標靶CD40的抗原結合蛋白為全長抗體，所述全長抗體包含輕鏈和重鏈，所述輕鏈包括如SEQ ID NO: 87-92任一項所示的胺基酸序列，所述重鏈包括如SEQ ID NO: 78或84所示的胺基酸序列；更佳地，所述輕鏈包括如SEQ ID NO: 87所示的胺基酸序列，所述重鏈包括如SEQ ID NO: 78所示的胺基酸序列；或，所述輕鏈包括如SEQ ID NO: 88-92任一項所示的胺基酸序列，所述重鏈包括如SEQ ID NO: 84所示的胺基酸序列。

【請求項5】 如請求項1-4任一項所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白，其特徵在於，所述標靶PD-L1的抗原結合蛋白包含重鏈可變區(VH)，所述VH包含HCDR1、HCDR2和HCDR3，所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 5所示的胺基酸序列或在SEQ ID NO: 5上具有3、2或1個胺基酸突變的變異體7，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 16所示的胺基酸序列或在SEQ ID NO: 16上具有3、2或1個胺基酸突變的變異體8，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 25所示的胺基酸序列或在SEQ ID

NO: 25上具有3、2或1個胺基酸突變的變異體9；較佳地，所述變異體7為在SEQ ID NO: 5的第3位和/或第6位上發生胺基酸突變的胺基酸序列，所述變異體8為在SEQ ID NO: 16的第1位、第3位和/或第6位上發生胺基酸突變的胺基酸序列，所述變異體9為在SEQ ID NO: 25的第4位、第8位和/或第11位上發生胺基酸突變的胺基酸序列，所述胺基酸突變優選為胺基酸替代，更優選為胺基酸的守恆替代；更佳地，所述變異體7為在SEQ ID NO: 5上發生N3T/D和/或N5S突變的胺基酸序列，所述變異體8為在SEQ ID NO: 16上發生W1R、D3T和/或K5E突變的胺基酸序列，所述變異體9為在SEQ ID NO: 25上發生I4L、V8I和/或A11D突變的胺基酸序列；進一步更佳地，所述變異體7為如SEQ ID NO: 7或9所示的胺基酸序列，所述變異體8為如SEQ ID NO: 19所示的胺基酸序列，所述變異體9為如SEQ ID NO: 28、29或30所示的胺基酸序列。

【請求項6】 如請求項5所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白，其特徵在於，所述標靶PD-L1的抗原結合蛋白中，所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 5、7或9所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 16或19所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 25、28、29或30所示的胺基酸序列；較佳地，所述標靶PD-L1的抗原結合蛋白中，所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 5所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID

第4頁，共13頁(發明申請專利範圍)

NO: 16所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 25所示的胺基酸序列；或，所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 7所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 16所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 25所示的胺基酸序列；或，所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 7所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 19所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 28所示的胺基酸序列；或，所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 9所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 19所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 25所示的胺基酸序列；或，所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 9所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 19所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 29所示的胺基酸序列；或，所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 9所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 19所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 30所示的胺基酸序列；或，所述HCDR1包括如SEQ ID NO: 9所示的胺基酸序列，所述HCDR2包括如SEQ ID NO: 19所示的胺基酸序列，所述HCDR3包括如SEQ ID NO: 28所示的胺基酸序列。

【請求項7】 如請求項5或6所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白，其特徵在於，所述標靶PD-L1的抗原結合蛋白中，

第5頁，共13頁(發明申請專利範圍)

所述VH包括如SEQ ID NO: 57所示的胺基酸序列或與SEQ ID NO: 57有至少85%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同性的胺基酸序列；較佳地，所述VH包括如SEQ ID NO: 57-65任一項所示的胺基酸序列。

【請求項8】 如請求項1-7任一項所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白，其特徵在於，所述第一蛋白功能區為包括所述標靶CD40的抗原結合蛋白的免疫球蛋白，所述第二蛋白功能區包括一個、兩個或多個所述標靶PD-L1的抗原結合蛋白的所述VH；

較佳地，所述標靶PD-L1的抗原結合蛋白的所述VH與所述免疫球蛋白直接相連；或，所述VH透過連接子與所述免疫球蛋白相連；或，當所述VH的數量大於1時，各所述VH可分別直接或透過連接子與所述免疫球蛋白相連；

更佳地，當所述VH透過連接子與所述免疫球蛋白相連時，所述連接子選自如GS、GGs和SEQ ID NO: 100-106所示的任一胺基酸序列。

【請求項9】 如請求項8所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白，其特徵在於，所述第二蛋白功能區包括兩個所述標靶PD-L1的抗原結合蛋白的所述VH；較佳地，所述第二蛋白功能區包括的兩個所述VH相同；和/或，兩個所述VH的C端分別透過如GGs或SEQ ID NO: 5所示的連接子連接在所述免疫球蛋白中兩個重鏈的N端。

【請求項10】 如請求項1-9任一項所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白，其特徵在於，所述第一蛋白功能區包含包括如SEQ ID NO: 88-92任一所示胺基酸序列的兩條輕鏈和包括如SEQ ID NO: 84所示胺基酸序列的兩條重鏈，所述第二蛋白功能區包含包括如SEQ ID NO: 79-83任一所示胺基酸序列的兩個VH，所述兩個VH透過的C端透過如GGS或SEQ ID NO: 5所示的连接子分別連接在所述第一蛋白功能區中兩條重鏈的N端；

較佳地，所述標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白包含如下所示的第一多肽鏈和第二多肽鏈：

胺基酸序列如SEQ ID NO: 89所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 93所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 88所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 94所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 91所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 94所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 90所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 93所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 92所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 93所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 88所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 95所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 88所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 96所示的第一多肽鏈；或，

第7頁，共13頁(發明申請專利範圍)

胺基酸序列如SEQ ID NO: 88所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 97所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 91所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 95所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 91所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 93所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 91所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 96所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 89所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 97所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 90所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 97所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 88所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 98所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 88所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 99所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 91所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 98所示的第一多肽鏈；或，胺基酸序列如SEQ ID NO: 91所示的第二多肽鏈，胺基酸序列如SEQ ID NO: 99所示的第一多肽鏈。

【請求項11】 一種嵌合抗原受體，其特徵在於，其包含如請求項1-10任一項所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白。

- 【請求項12】 一種分離的核酸，其特徵在於，所述分離的核酸編碼如請求項1-10任一項所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白。
- 【請求項13】 一種重組表現載體，其特徵在於，所述重組表現載體包含如請求項12所述的分離的核酸；較佳地，所述重組表現載體包含真核細胞表現載體和/或原核細胞表現載體。
- 【請求項14】 一種轉形體，其特徵在於，所述轉形體包含如請求項12所述的分離的核酸或如請求項13所述的重組表現載體；較佳地，所述轉形體的宿主細胞為原核細胞和/或真核細胞，所述原核細胞優選為*E. coli* 細胞如TG1、BL21，所述真核細胞優選HEK293細胞或CHO細胞。
- 【請求項15】 一種如請求項1-10任一項所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白的製備方法，其特徵在於，所述製備方法包括以下步驟：培養如請求項14所述的轉形體，從培養物中獲得所述標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白。
- 【請求項16】 一種抗體藥物偶聯物，其特徵在於，所述抗體藥物偶聯物包含如請求項1-10任一項所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白，和細胞毒性劑或標幟；較佳地，所述細胞毒性劑為MMAF或MMAE，所述標幟為螢光劑。
- 【請求項17】 一種基因修飾的細胞，其特徵在於，所述基因修飾的細胞表現如請求項11所述的嵌合抗原受體；較佳地，所述

基因修飾的細胞為真核細胞，優選分離的人細胞，更優選免疫細胞如T細胞，或NK細胞。

【請求項18】 一種藥物組成物，其特徵在於，所述藥物組成物包含如請求項1-10任一項所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白、如請求項11所述的嵌合抗原受體、如請求項12所述的分離的核酸、如請求項13所述的重組表現載體、如請求項17所述的基因修飾的細胞和如請求項16所述的抗體藥物偶聯物中的一種或多種，和/或藥學上可接受的載劑；較佳地，所述藥物組成物還包括其他抗腫瘤藥物作為活性成分，所述抗腫瘤藥物包括但不限於：化療藥物、核苷酸藥物、小分子標靶藥物、單株抗體藥物、雙/多特異性抗體藥物、重組蛋白藥物、免疫調節藥物、細胞療法藥物和基因療法藥物。

【請求項19】 一種檢測試劑，其特徵在於，所述檢測試劑包含如請求項1-10任一項所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白和/或如請求項16所述的抗體藥物偶聯物；較佳地，所述檢測試劑為液體劑型、氣體劑型、固體劑型和半固體劑型；更佳地，所述檢測試劑還包括二抗、CD40或其衍生物，所述二抗例如抗人IgG的抗體偶聯辣根過氧化物酶和抗人IgG的抗體偶聯生物素蛋白。

【請求項20】 一種套裝藥盒，其特徵在於，所述套裝藥盒包含藥盒A，所述藥盒A含有如請求項1-10任一項所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白、如請求項11所述的嵌合抗原受體、如請求項18所述的藥物組成物、如請求項19所

述的檢測試劑、如請求項17所述的基因修飾的細胞和如請求項16所述的抗體藥物偶聯物中的一種或多種；

較佳地，所述套裝藥盒還包括藥盒B，所述藥盒B含有其他抗腫瘤抗體或者包含所述其他抗腫瘤抗體的藥物組成物，和/或由激素製劑、標靶小分子製劑、蛋白酶抑制劑、成像劑、診斷劑、化療劑、溶瘤藥物、細胞毒性劑、細胞激素、共刺激分子的活化劑、抑制性分子的抑制劑以及疫苗組成的群組中的一種或多種。

【請求項21】 如請求項1-10任一項所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白、如請求項11所述的嵌合抗原受體、如請求項12所述的分離的核酸、如請求項13所述的重組表現載體、如請求項18所述的藥物組成物、如請求項19所述的檢測試劑、如請求項20所述的套裝藥盒、如請求項17所述的基因修飾的細胞和如請求項16所述的抗體藥物偶聯物中的一種或多種在製備診斷、預防和/或治療PD-L1和/或CD40相關疾病的藥物中的應用；較佳地，所述PD-L1和/或CD40相關疾病為PD-L1相關腫瘤、CD40相關腫瘤或PD-L1×CD40相關腫瘤，所述CD40相關腫瘤包括固態腫瘤和血液瘤，所述PD-L1相關腫瘤包括固態腫瘤和血液瘤；更佳地，所述CD40相關腫瘤包括B系NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、多毛細胞白血病(HCL)、霍奇金病、多發性骨髓瘤、膀胱癌、腎癌、卵巢癌、子宮頸癌、乳腺癌、肺癌、鼻咽癌、惡性黑色素瘤、胰腺癌和結腸癌，所述PD-L1相關腫瘤包

第 11 頁，共 13 頁(發明申請專利範圍)

括鱗狀細胞癌、骨髓瘤、小細胞肺癌、非小細胞肺癌(NSCLC)、頭和頸鱗狀細胞癌(HNSCC)、神經膠質瘤、何傑金淋巴瘤、非何傑金淋巴瘤、瀰漫性大B-細胞淋巴瘤(DLBCL)、濾泡性淋巴瘤、急性成淋巴細胞性白血病(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、原發性縱隔大B-細胞淋巴瘤、套細胞淋巴瘤(MCL)、小淋巴細胞性淋巴瘤(SLL)、富含T-細胞/組織細胞的大B-細胞淋巴瘤、多發性骨髓瘤、骨髓細胞白血病-1蛋白(Mcl-1)、骨髓異常增生症候群(MDS)、胃腸(道)癌、腎癌、卵巢癌、肝癌、成淋巴細胞性白血病、淋巴細胞白血病、結腸直腸癌、子宮內膜癌、腎癌、前列腺癌、甲狀腺癌、黑色素瘤、軟骨肉瘤、神經母細胞瘤、胰腺癌、多形性神經膠質母細胞瘤、胃癌、骨癌、尤因氏肉瘤、子宮頸癌、腦癌、胃癌、膀胱癌、肝細胞瘤、乳腺癌、結腸癌、肝細胞癌(HCC)、透明細胞腎細胞癌(RCC)、頭和頸癌、咽喉癌、肝膽癌(hepatobiliary cancer)、中樞神經系統癌、食管癌、惡性胸膜間皮瘤、全身性輕鏈澱粉樣變性、淋巴漿細胞性淋巴瘤(lymphoplasmacytic lymphoma)、骨髓異常增生症候群、骨髓增生性腫瘤、神經內分泌腫瘤、梅克爾細胞癌、睪丸癌和皮膚癌，優選為高表現PD-L1的結腸癌。

【請求項22】 一種檢測樣品中PD-L1和/或CD40的方法，其特徵在於，所述方法包括使用如請求項1-10任一項所述的標

靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白、如請求項19所述的檢測試劑和如請求項16所述的抗體藥物偶聯物中的一種或多種與所述樣品接觸的步驟；所述樣品例如血液樣本（例如全血樣本和血清樣本）和包含PD-L1和/或CD40的試劑；較佳地，所述方法為非治療/診斷目的的。

【請求項23】 一種診斷、治療和/或預防PD-L1和/或CD40相關疾病的方法，所述方法包括向有需要的患者施用治療有效量的如請求項1-10任一項所述的標靶PD-L1和CD40的抗原結合蛋白、如請求項11所述的嵌合抗原受體、如請求項12所述的分離的核酸、如請求項13所述的重組表現載體、如請求項18所述的藥物組成物、如請求項19所述的檢測試劑、如請求項20所述的套裝藥盒、如請求項17所述的基因修飾的細胞和如請求項16所述的抗體藥物偶聯物中的一種或多種；較佳地，所述PD-L1和/或CD40相關疾病為PD-L1相關腫瘤、CD40相關腫瘤或PD-L1×CD40相關腫瘤。

|(發明圖式)|

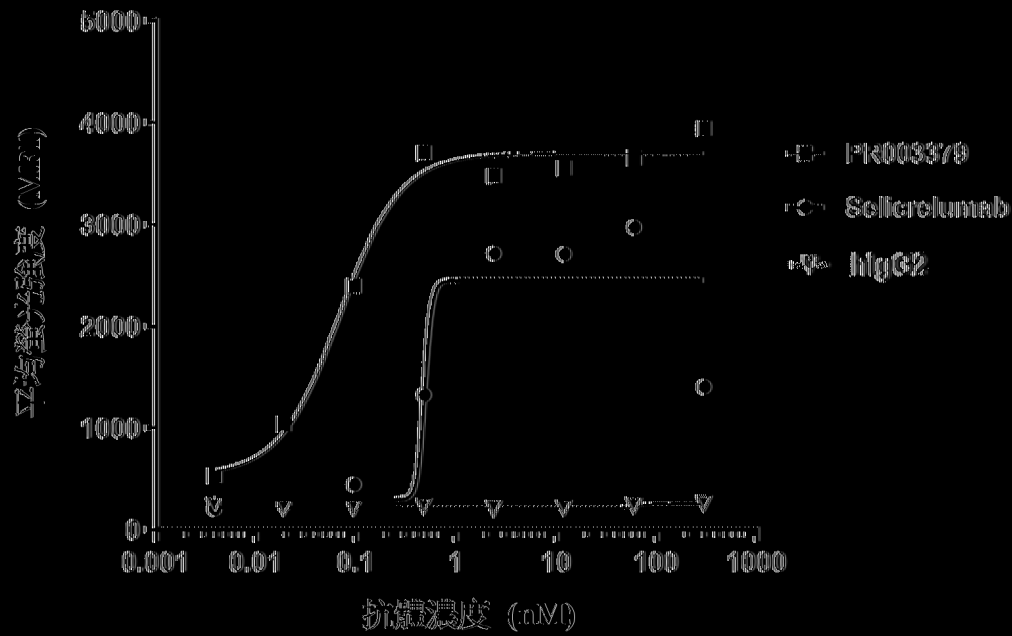


圖 1A



圖 1B

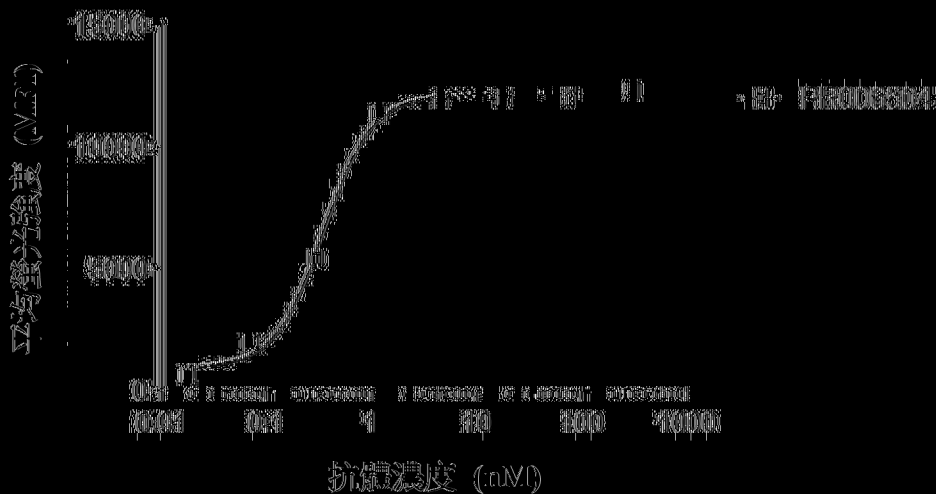


圖 1C

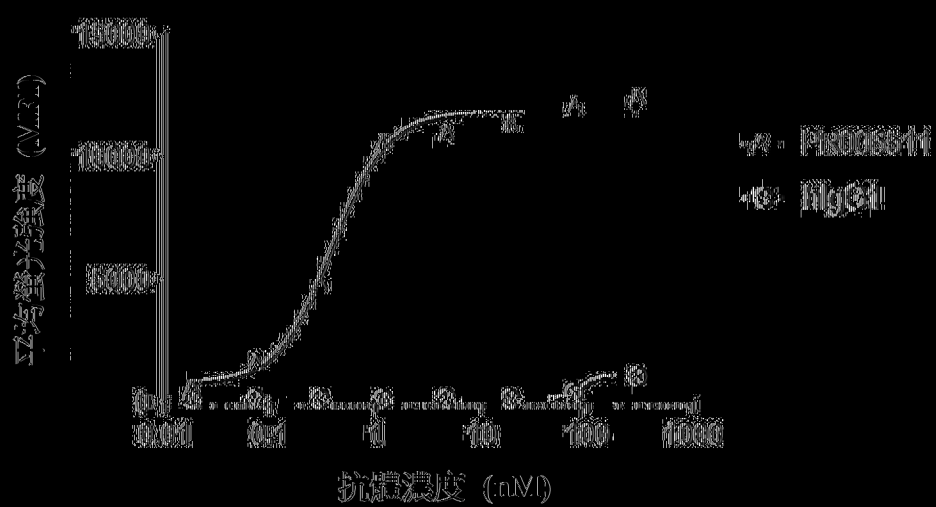


圖 1D

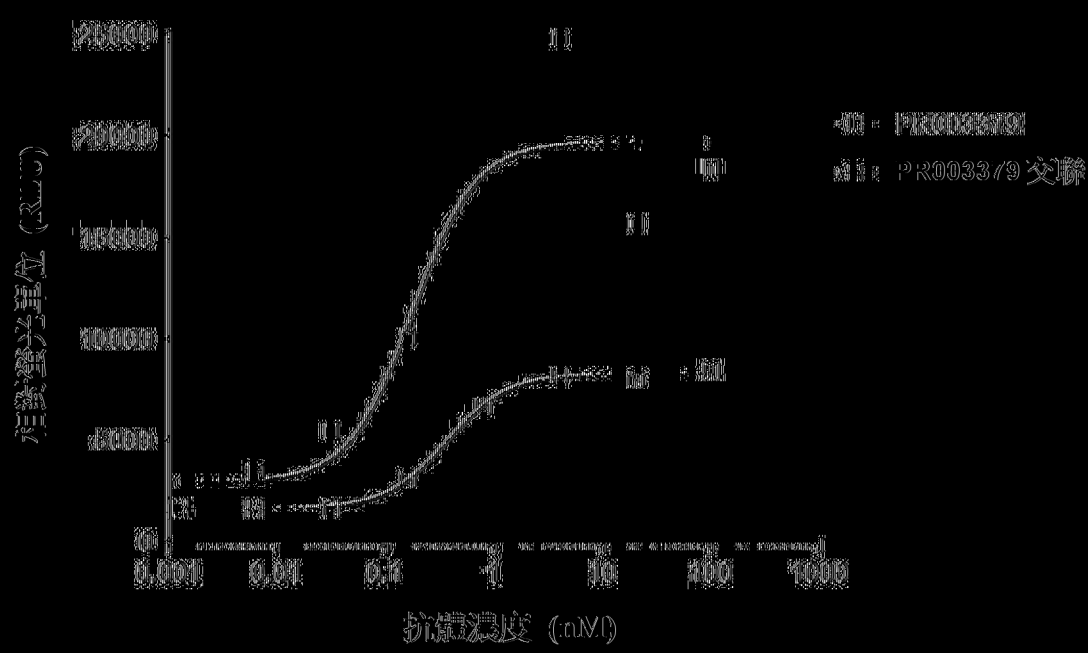


圖 2A

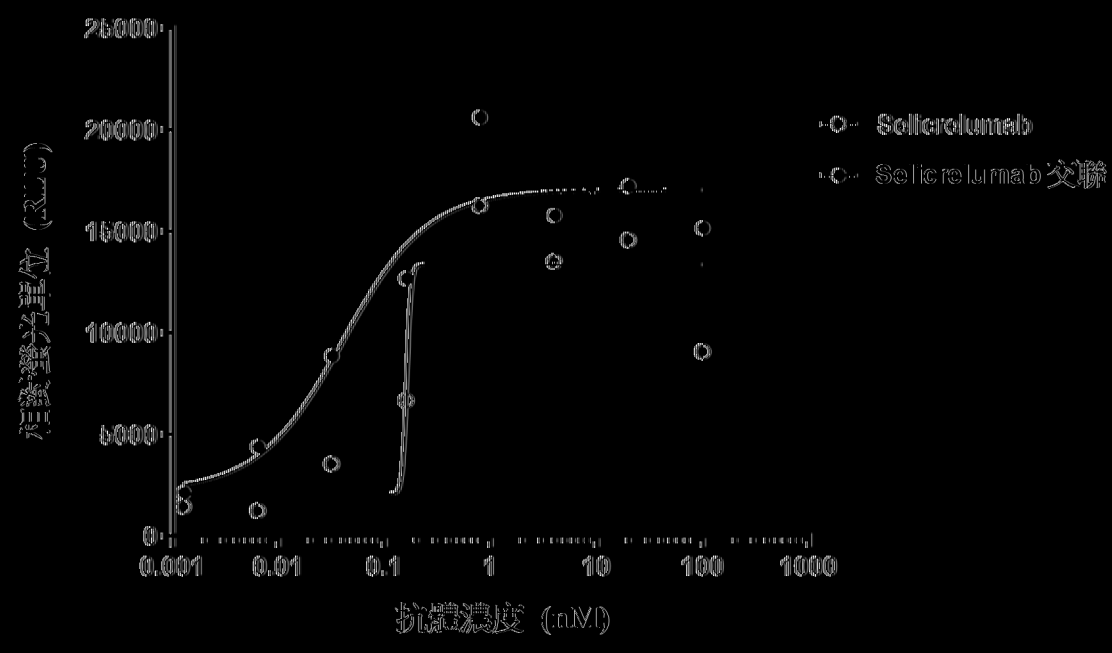


圖 2B

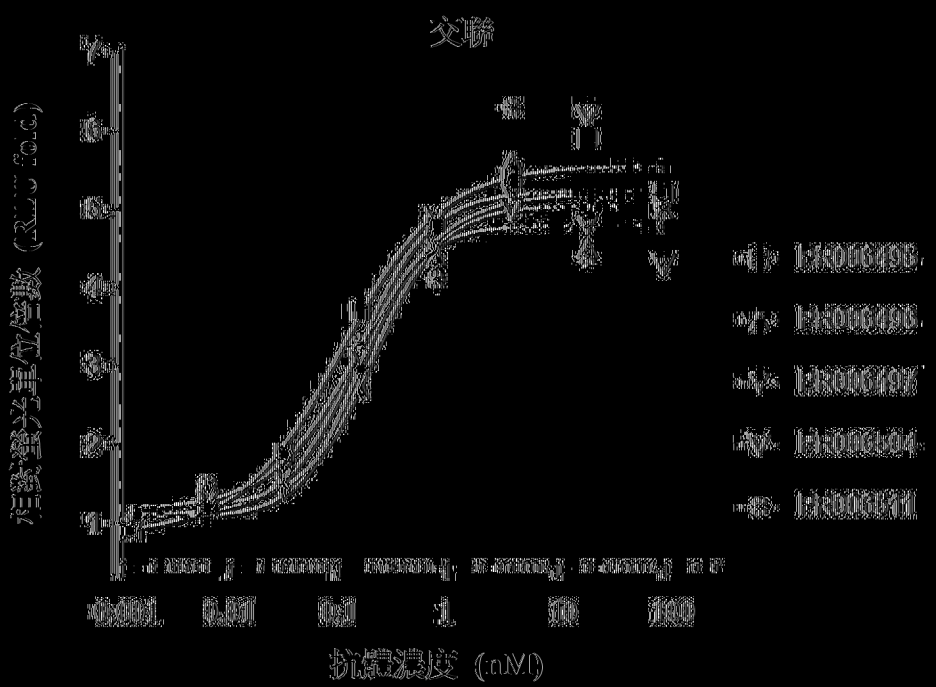


圖 2C

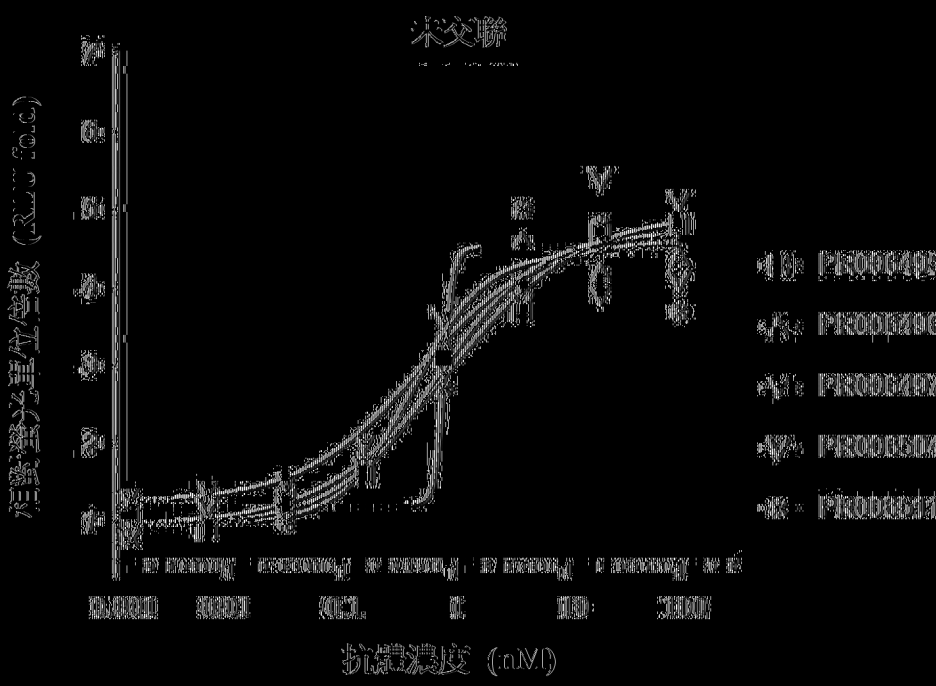


圖 2D

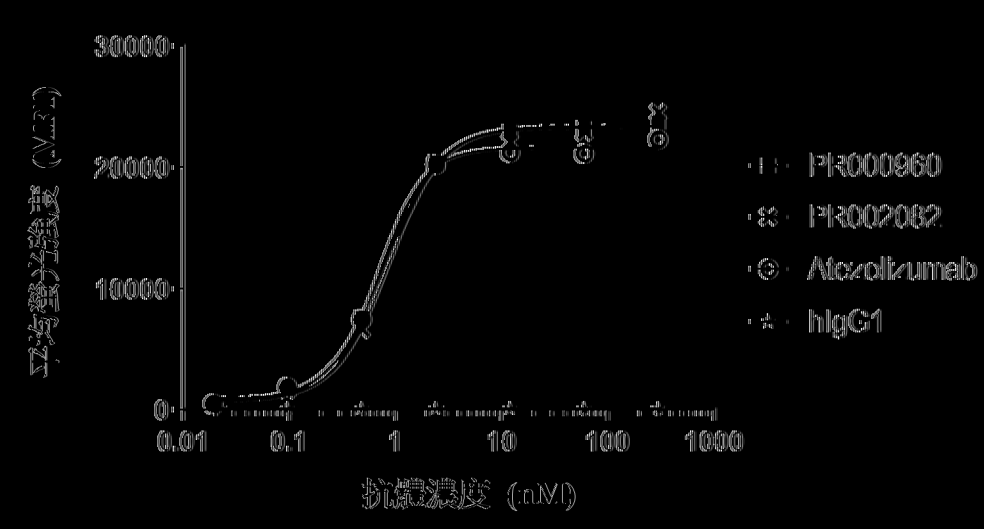


圖 3A

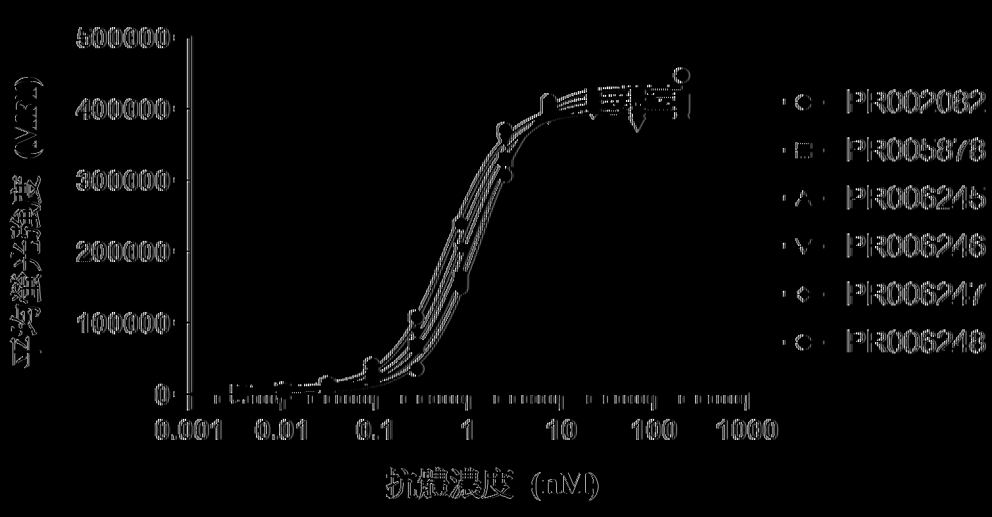


圖 3B

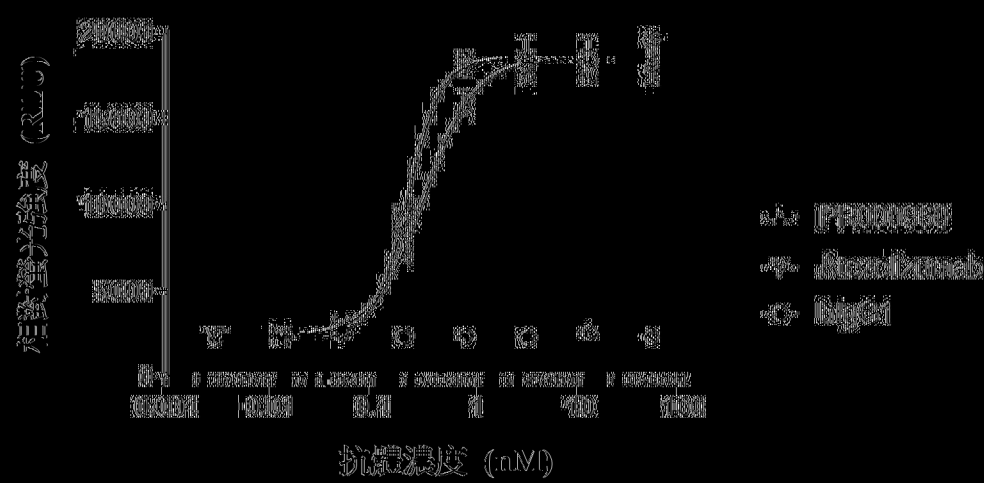


圖 4A

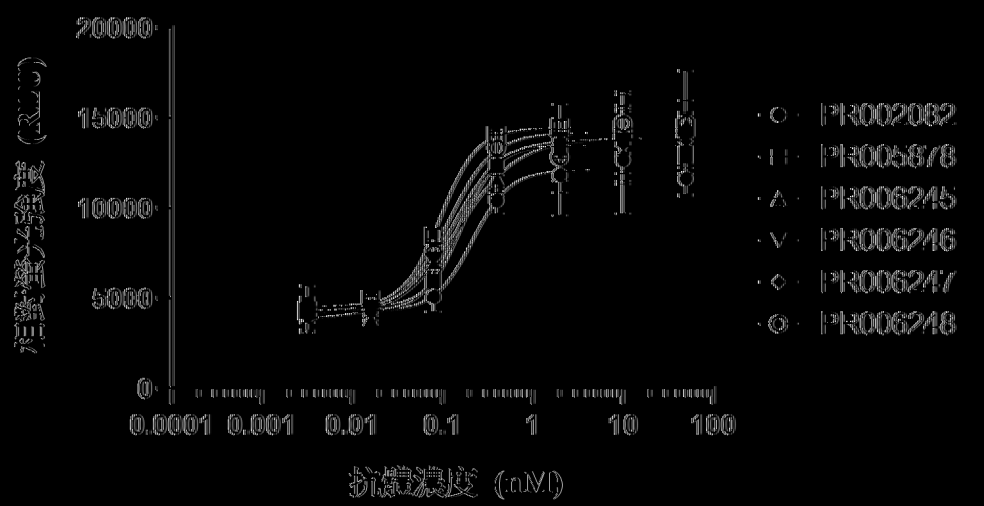


圖 4B

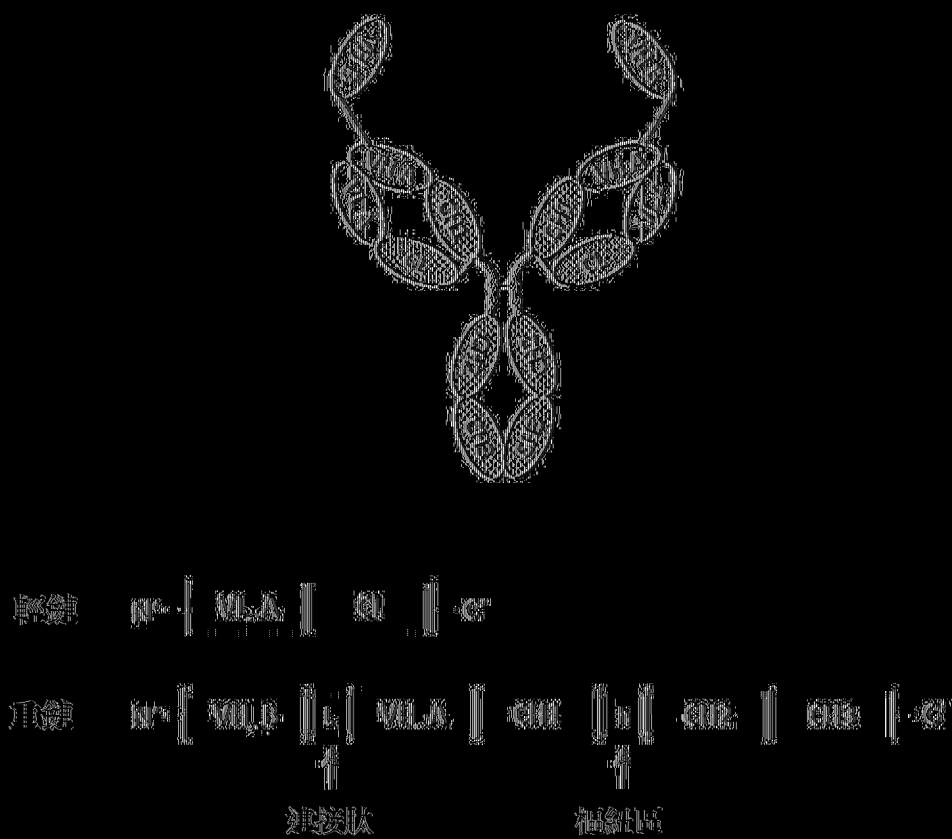


图 5

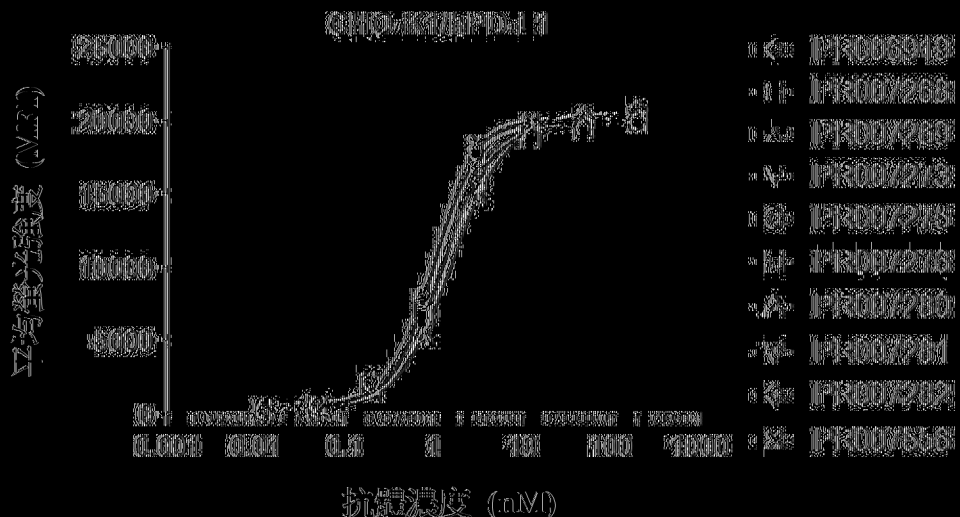


圖 6A

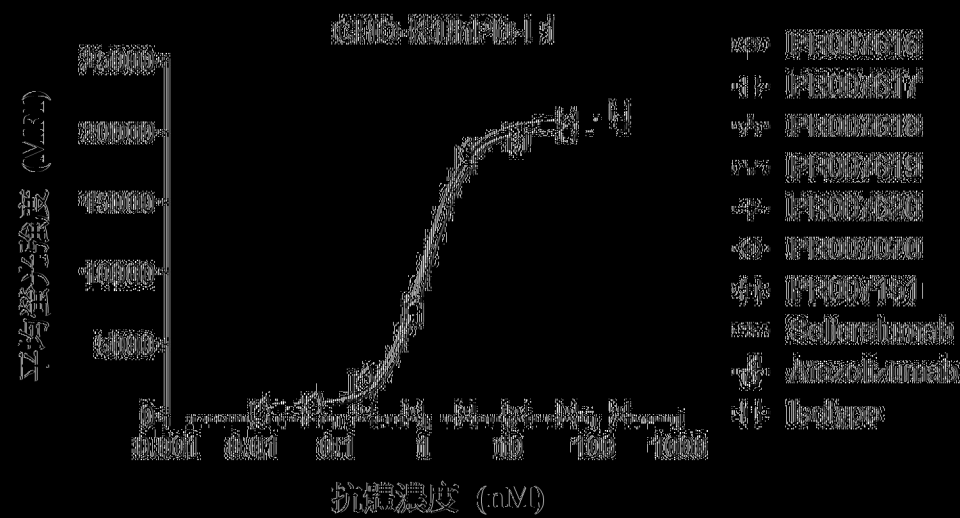


圖 6B

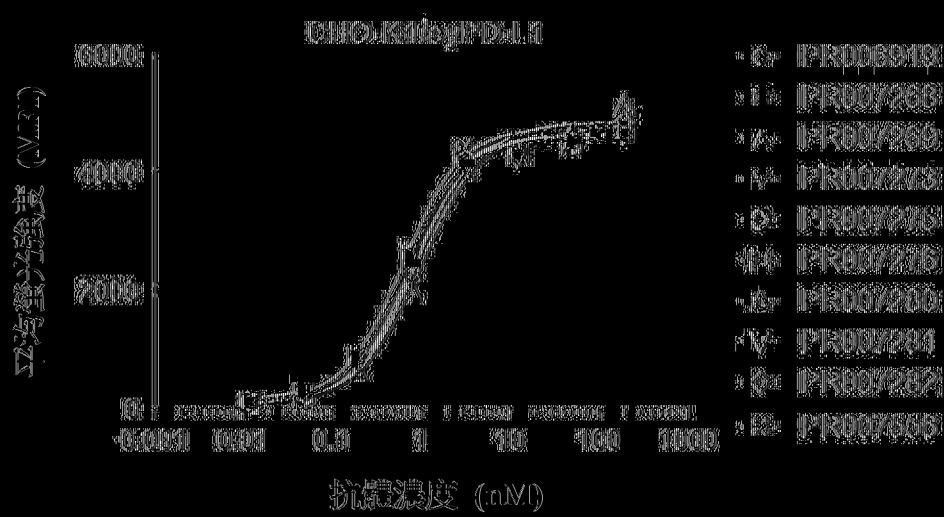


圖 7A

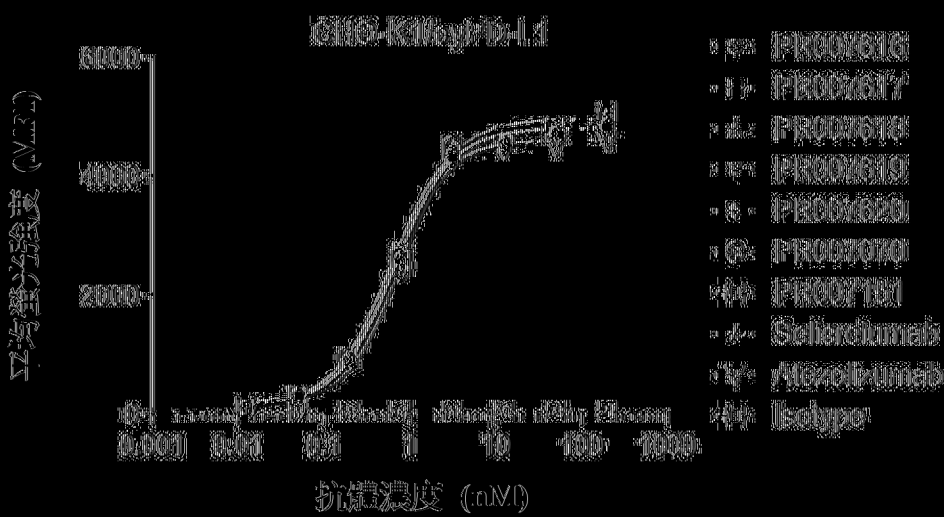
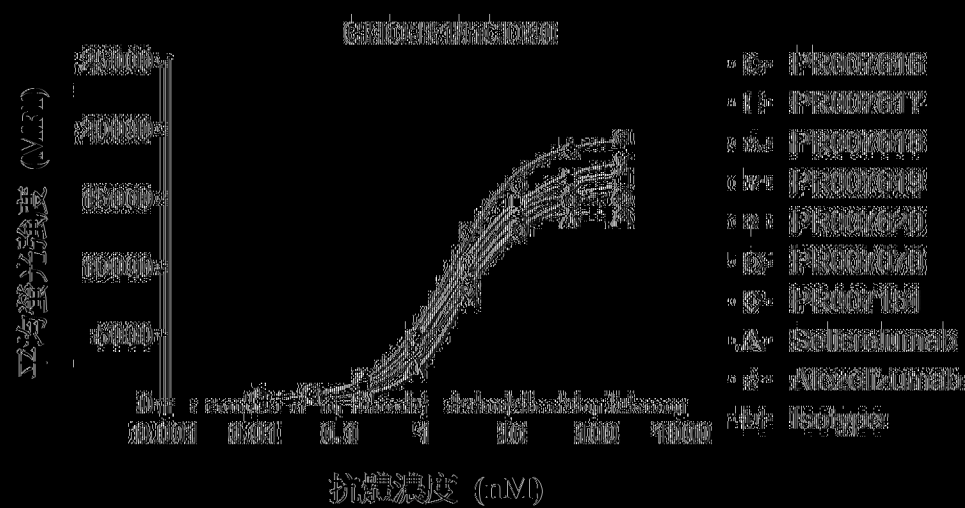


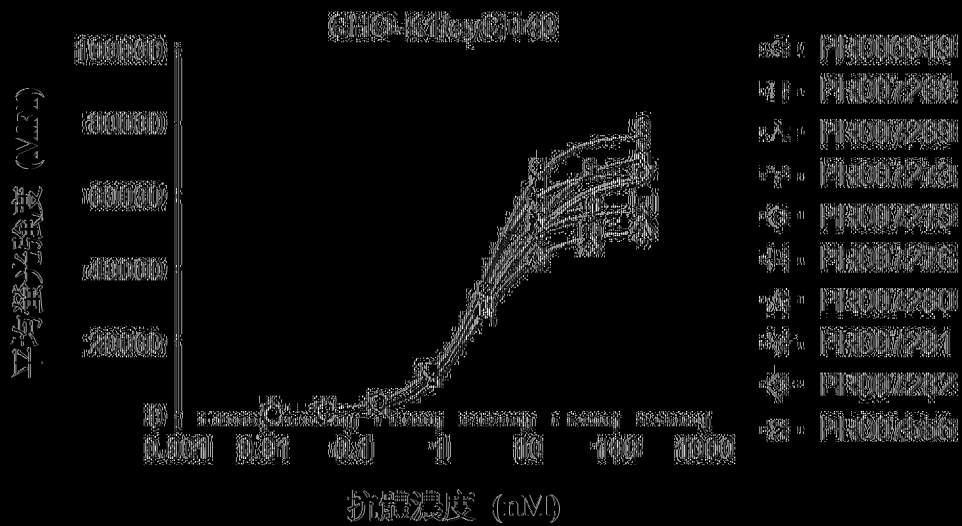
圖 7B



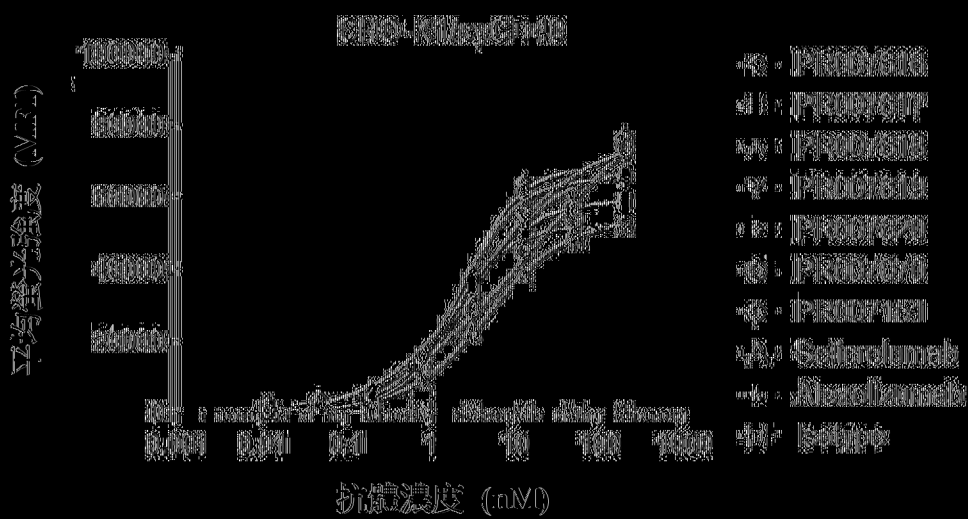
8A



[14] 83



9A



913



圖 10A

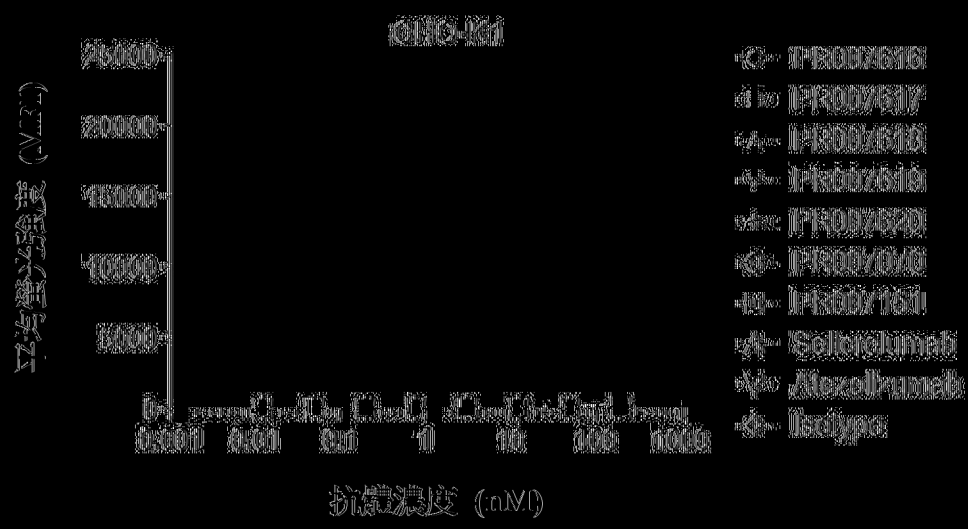


圖 10B

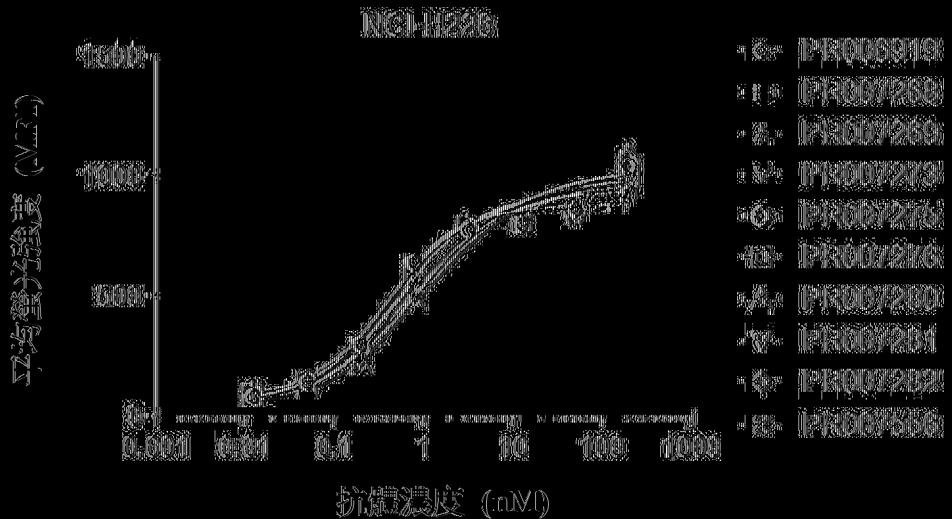


圖 11A

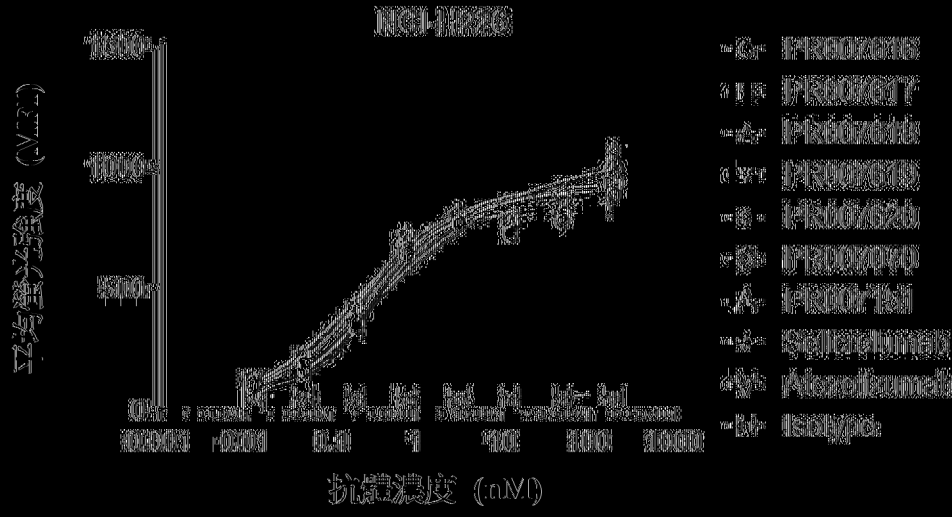


圖 11B

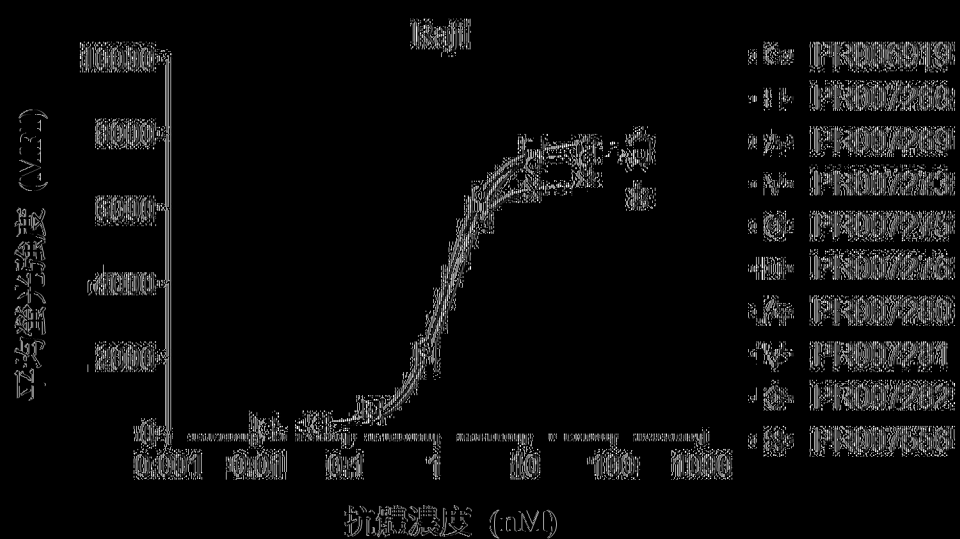


圖 12A

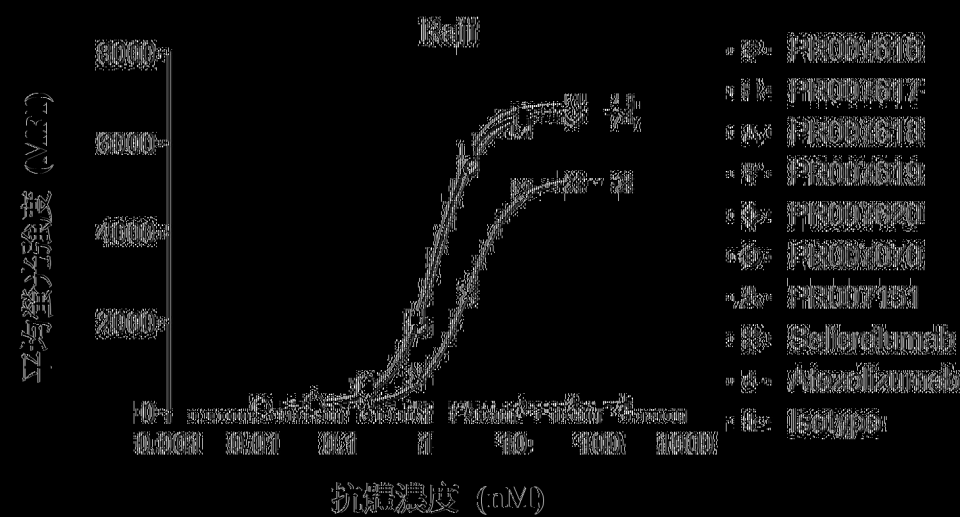


圖 12B

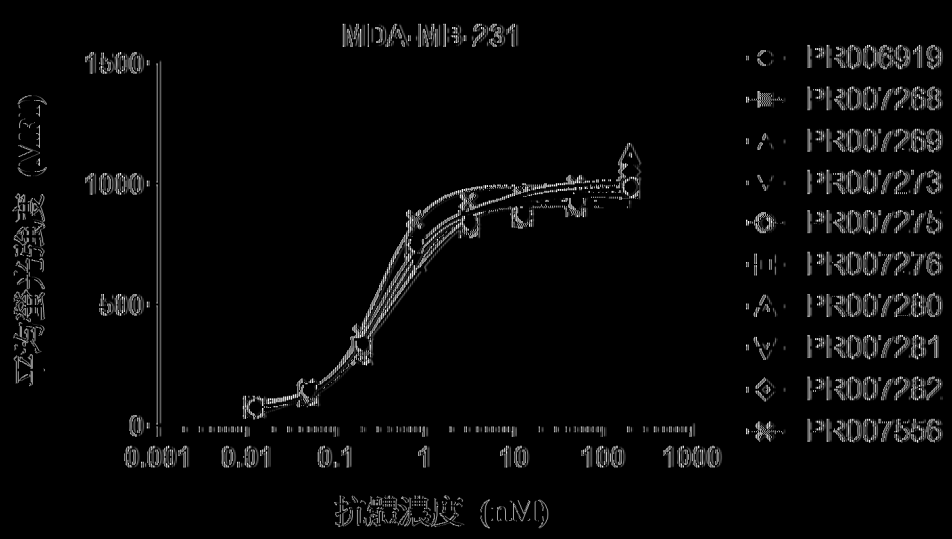


圖 13A

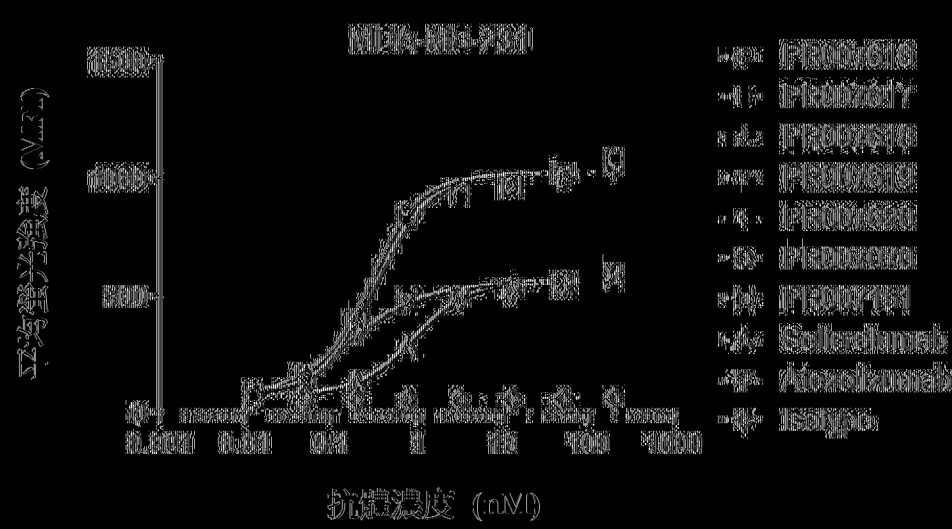


圖 13B

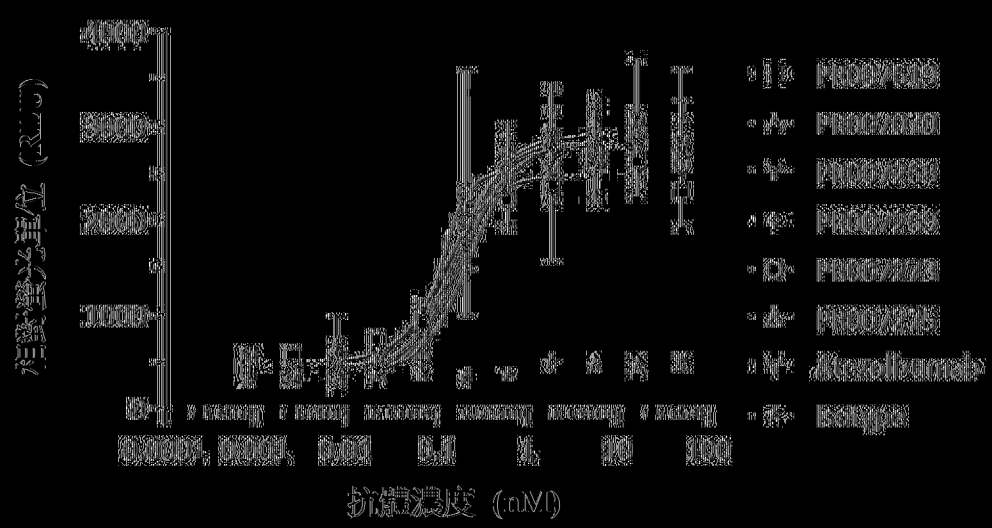


圖 14A

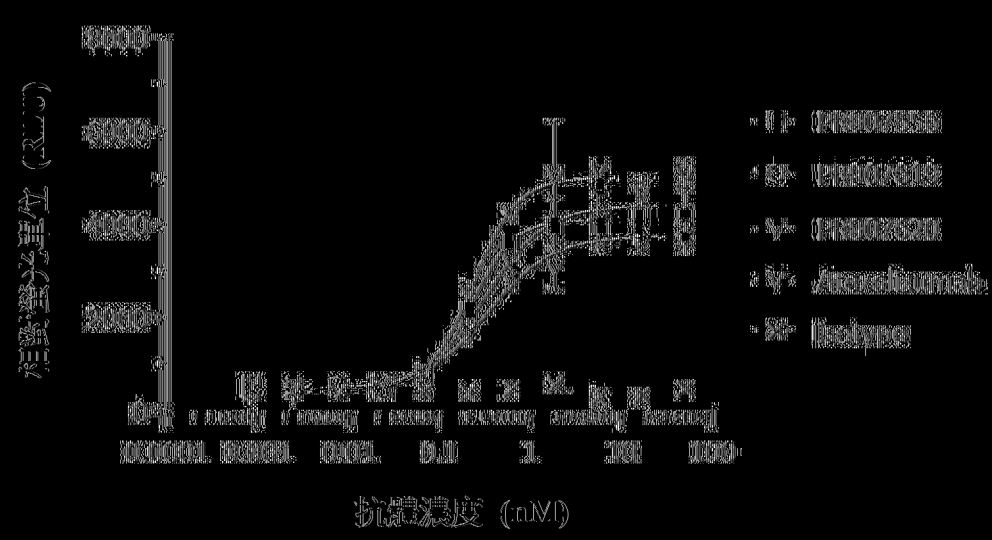


圖 14B

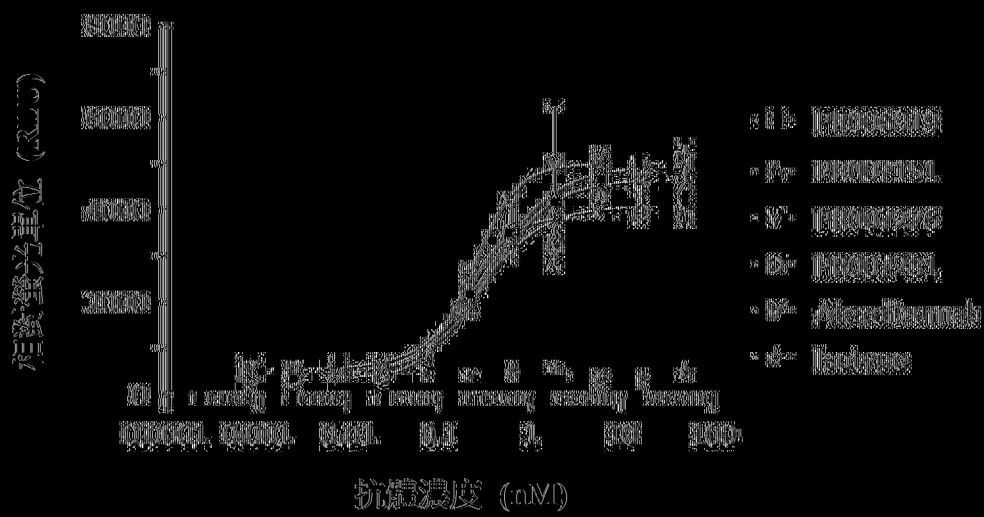


圖 14C

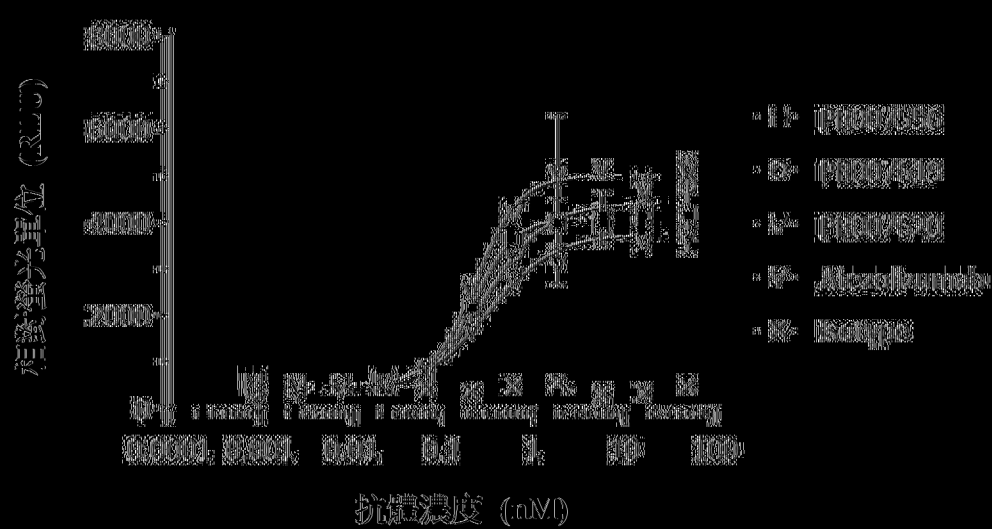


圖 14D

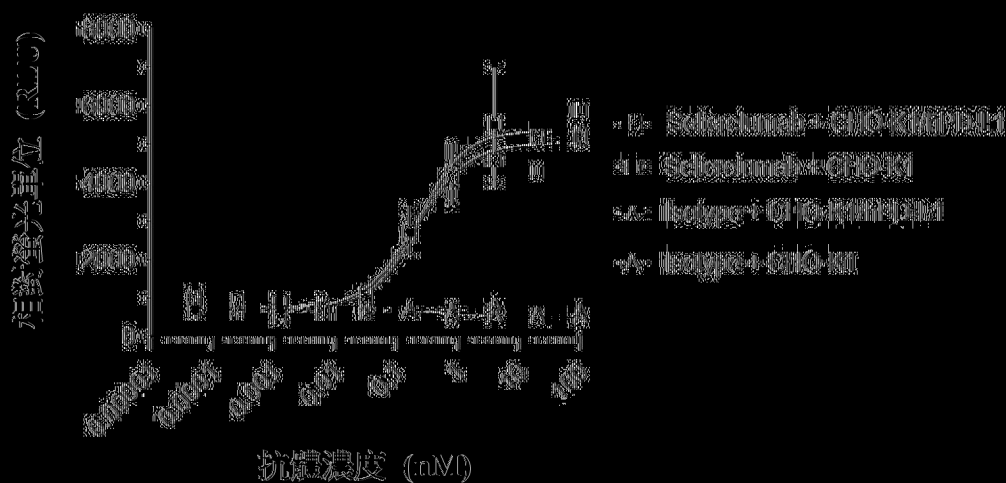


圖 15A

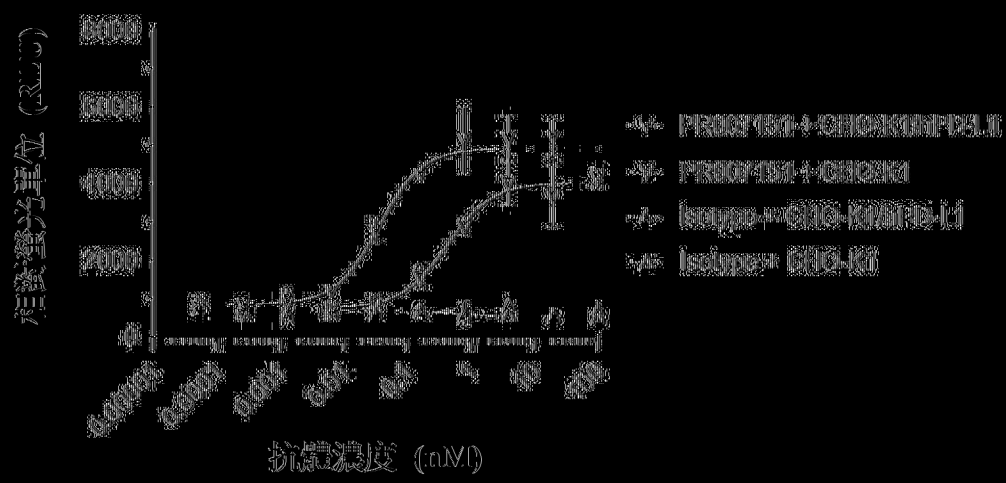


圖 15B



圖 15C

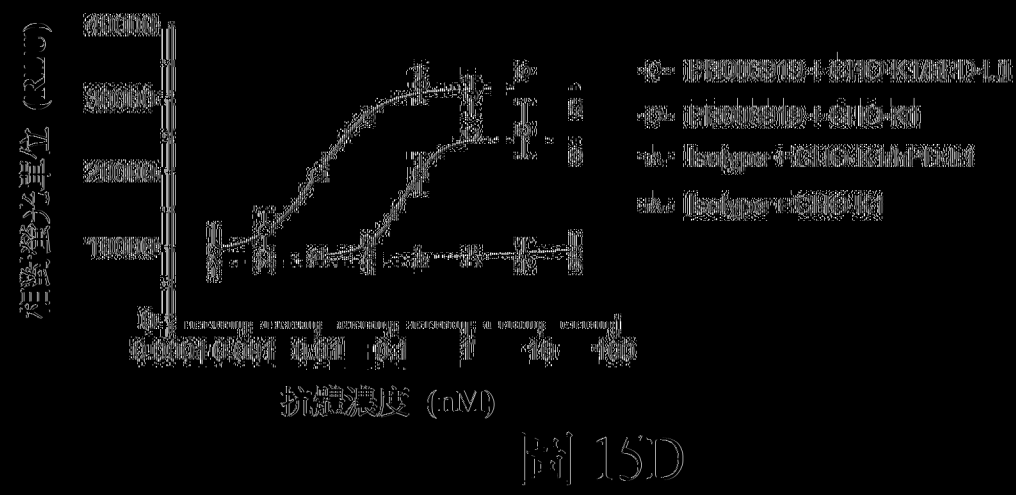


圖 15D



圖 15E

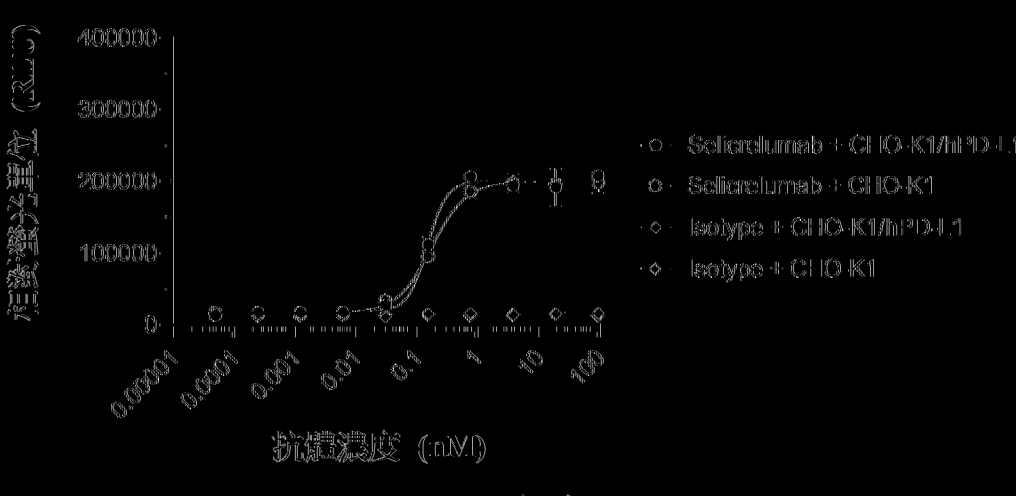


圖 15F

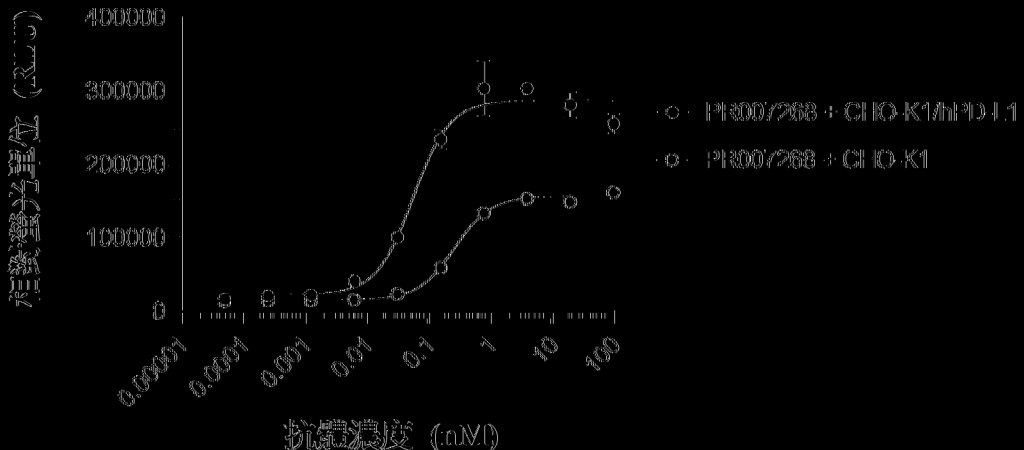


圖 15G

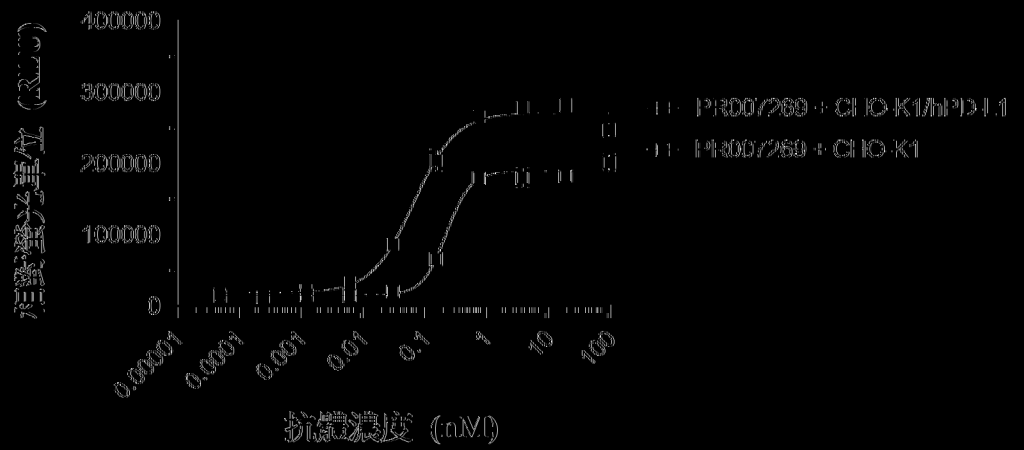


圖 15H

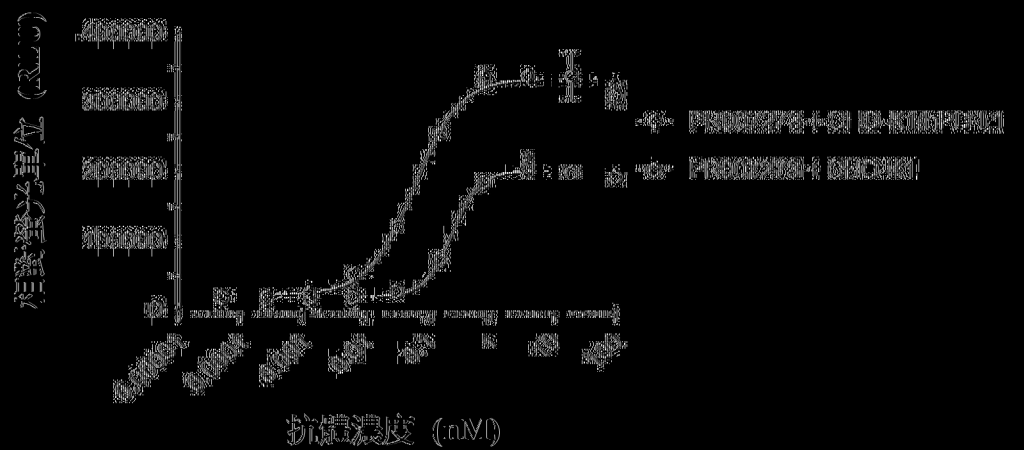


圖 15I

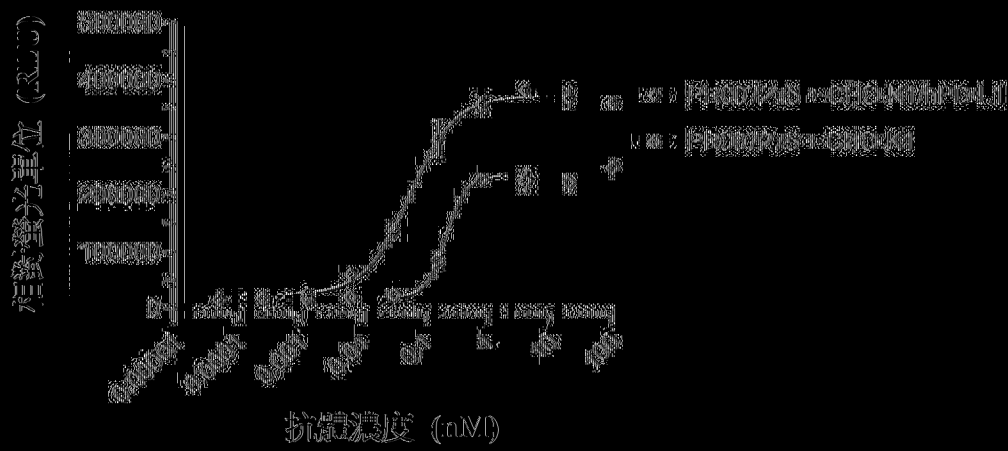


圖 15J

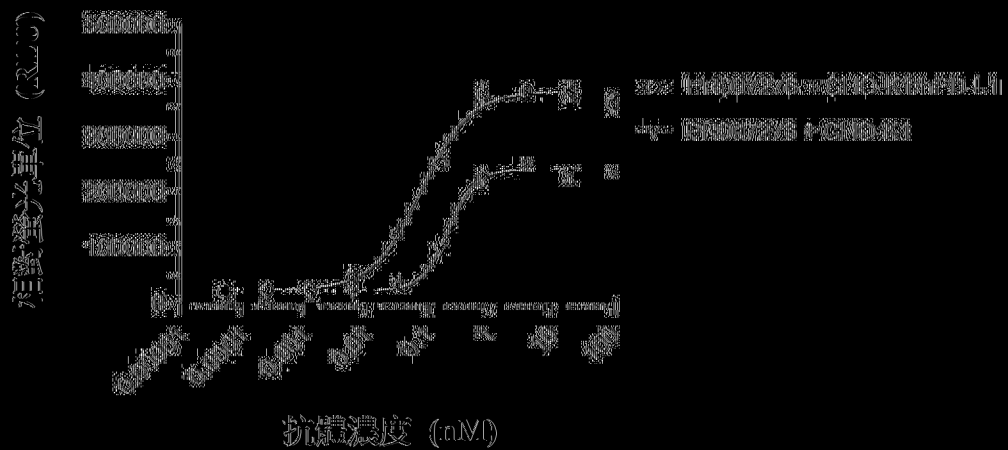


圖 15K

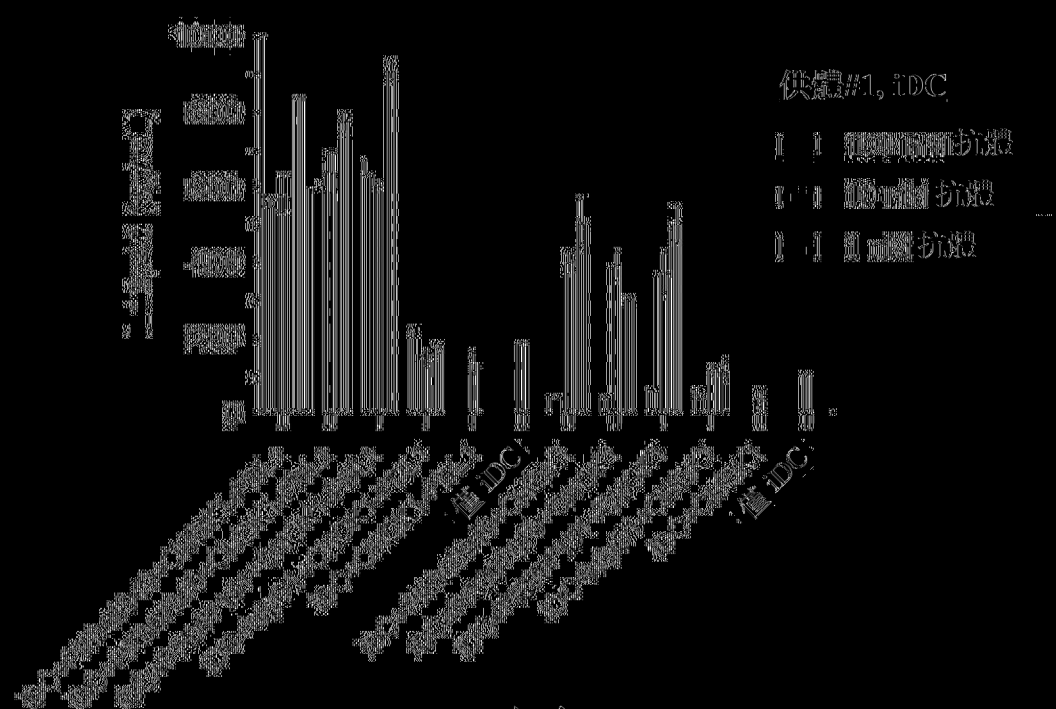


圖 16A

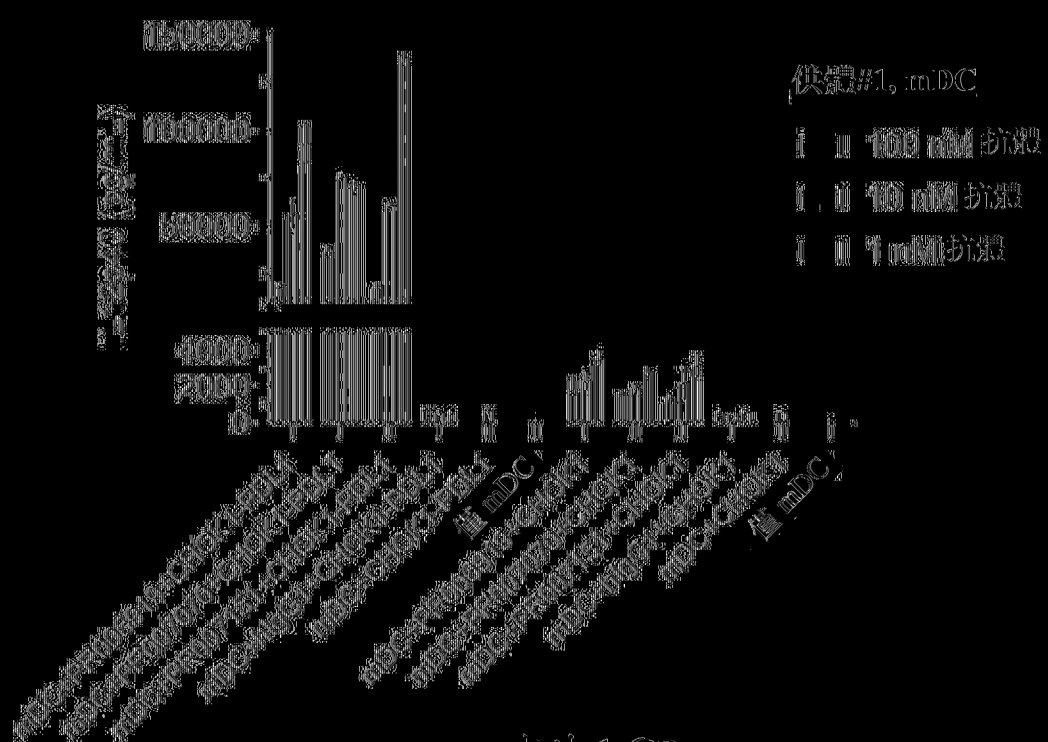


圖 16B

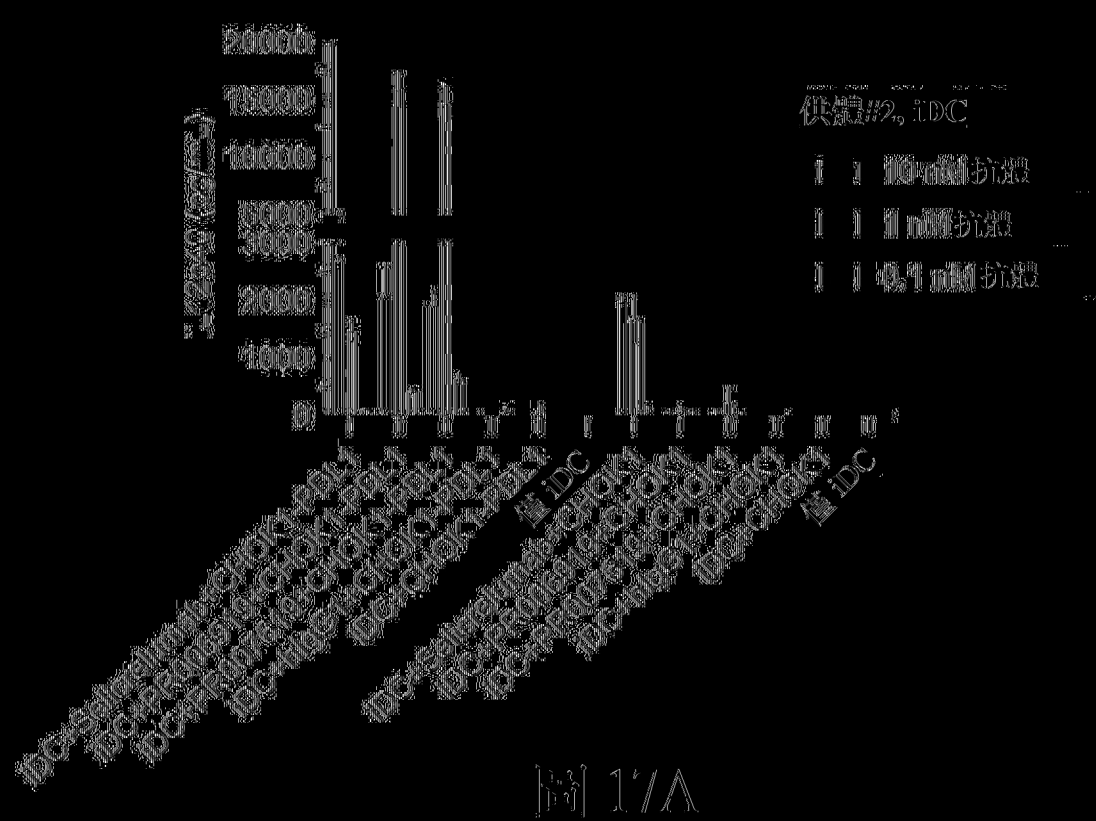


圖 1A

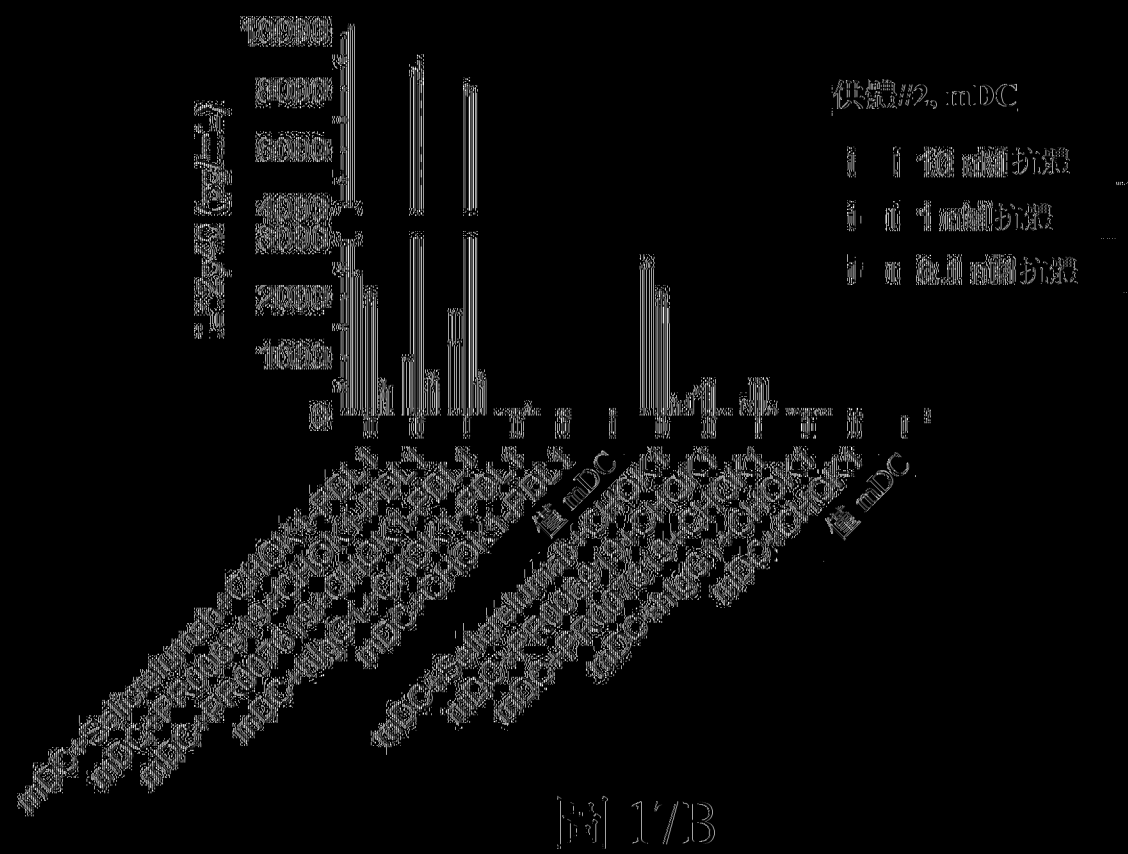
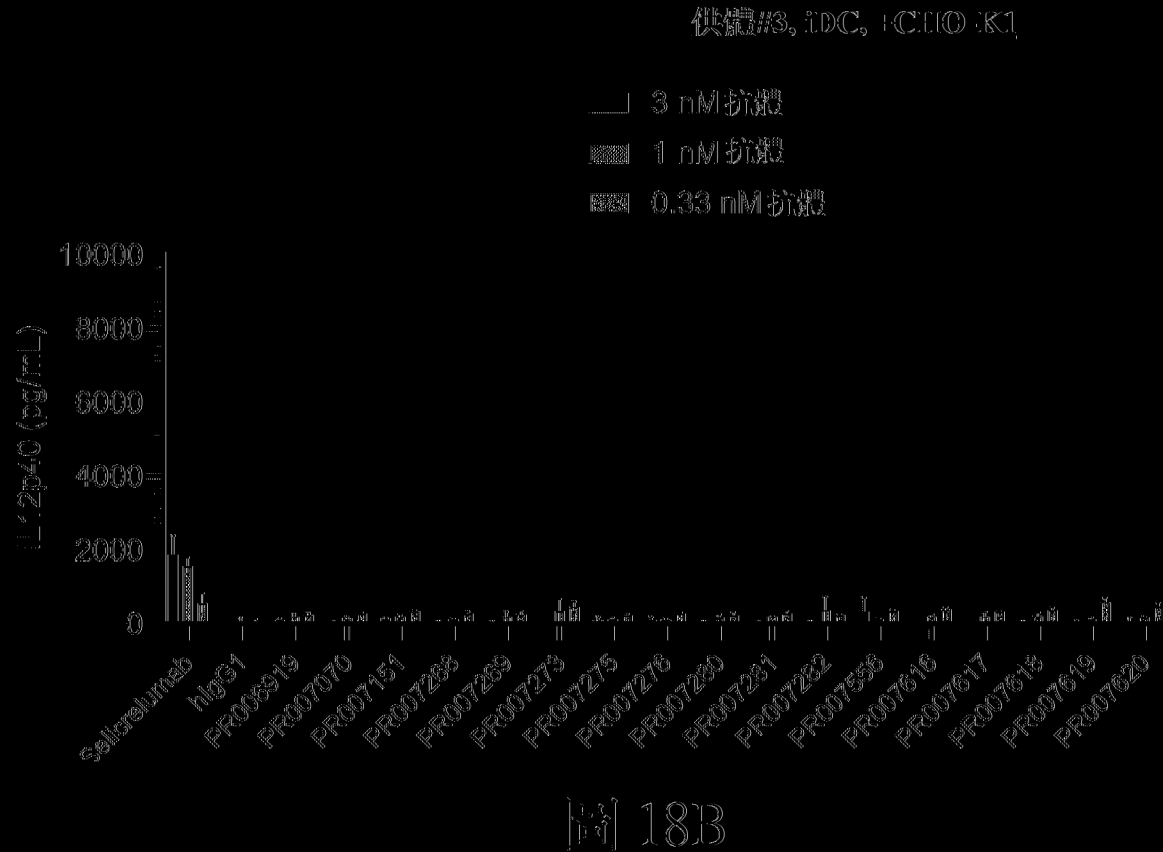
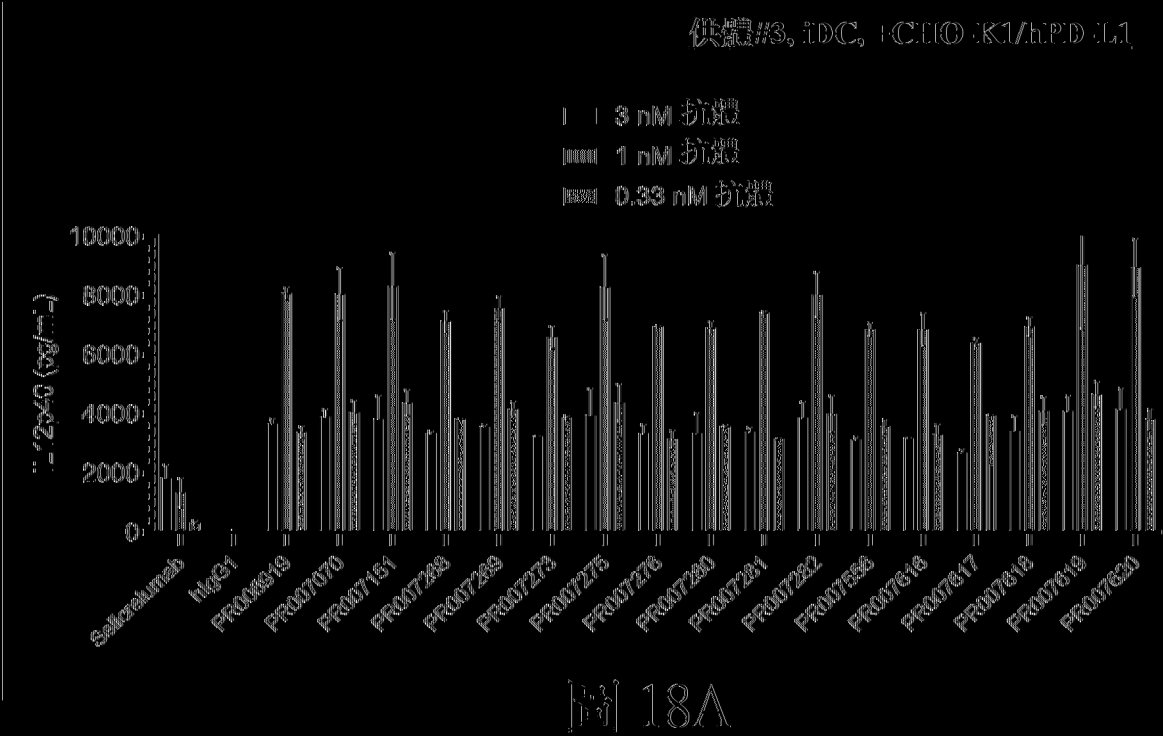


圖 1B



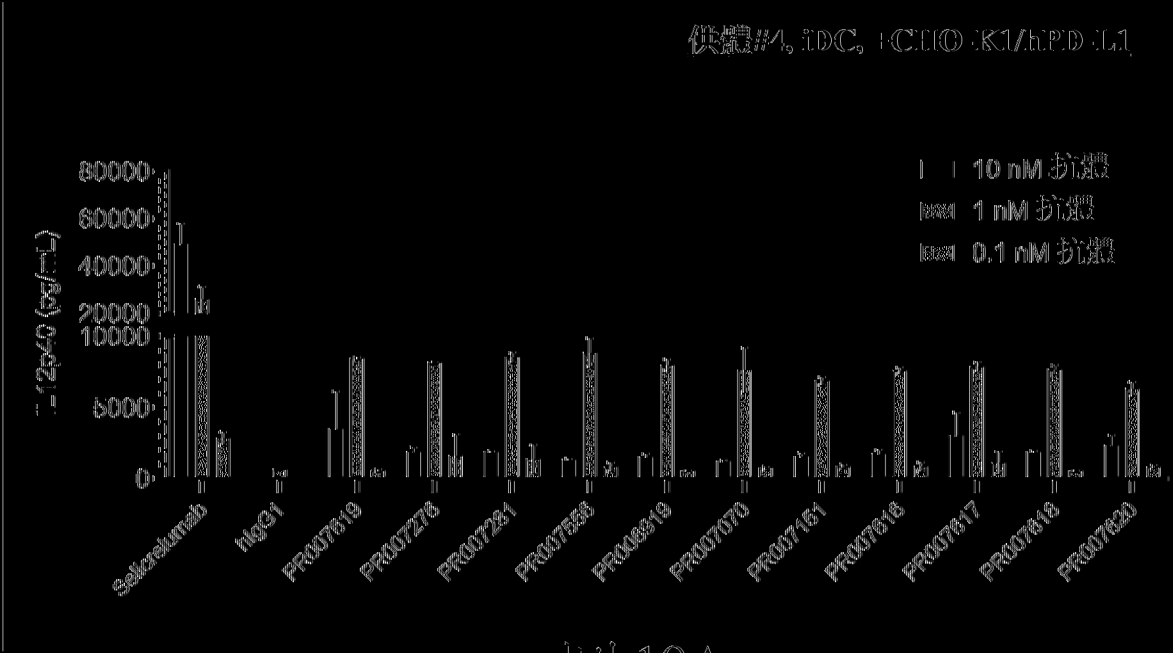


圖 19A

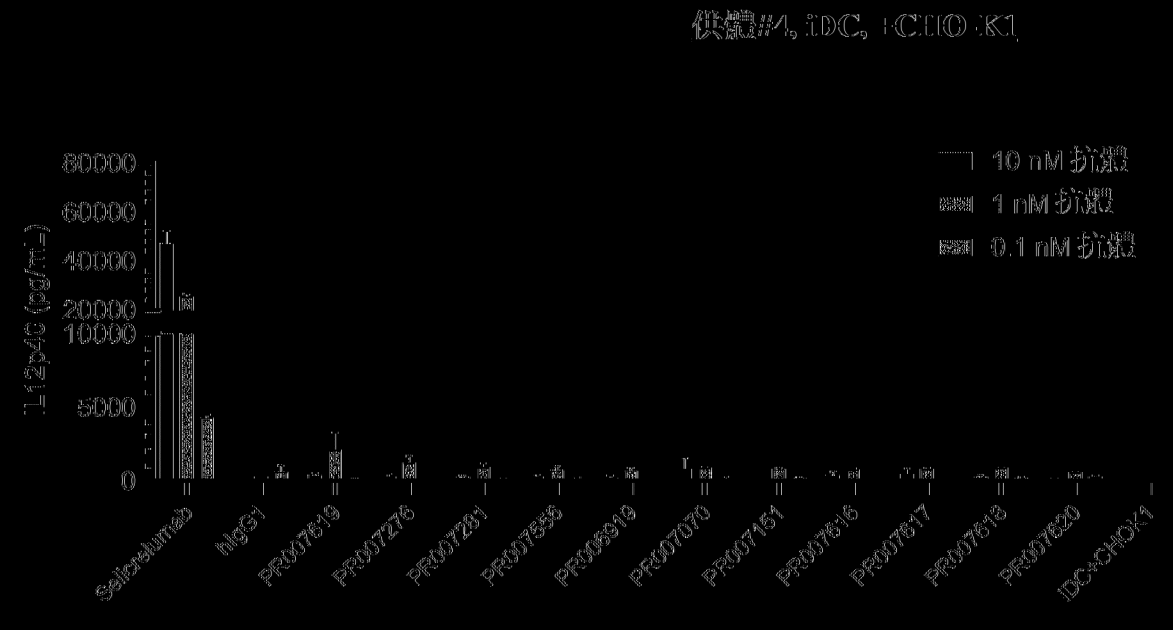


圖 19B

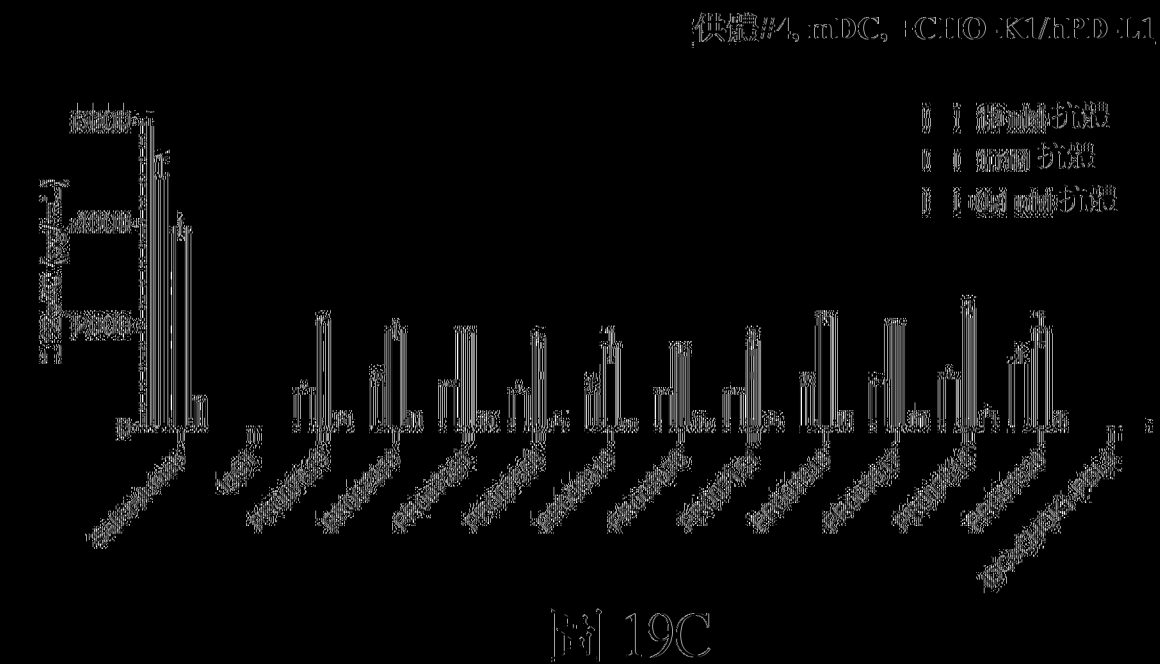


圖 19C

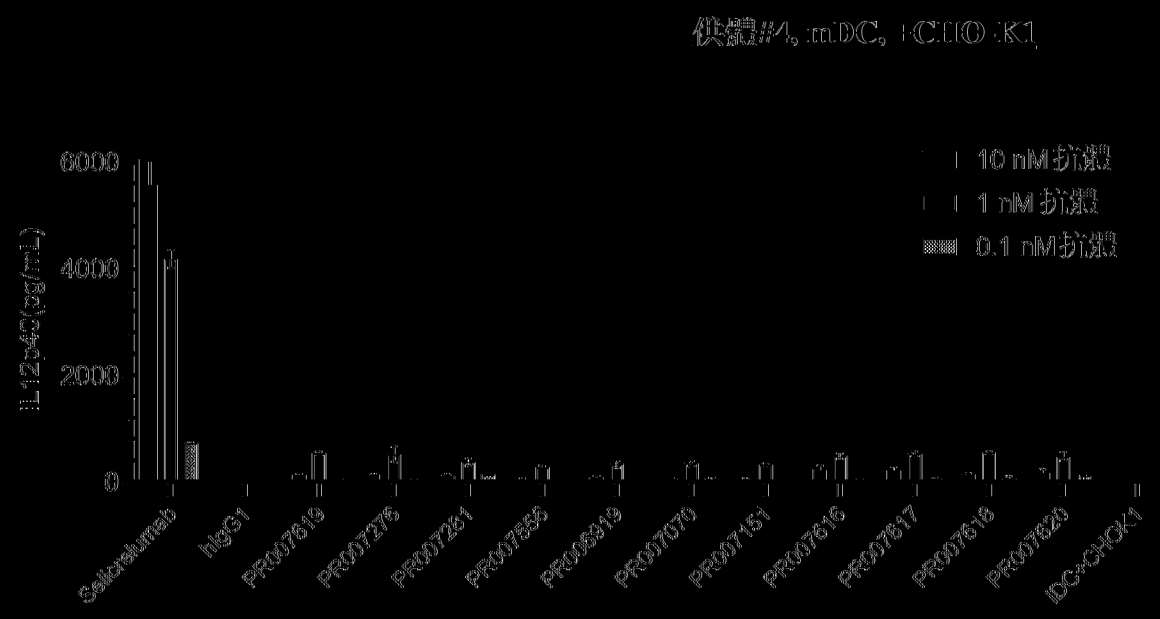


圖 19D

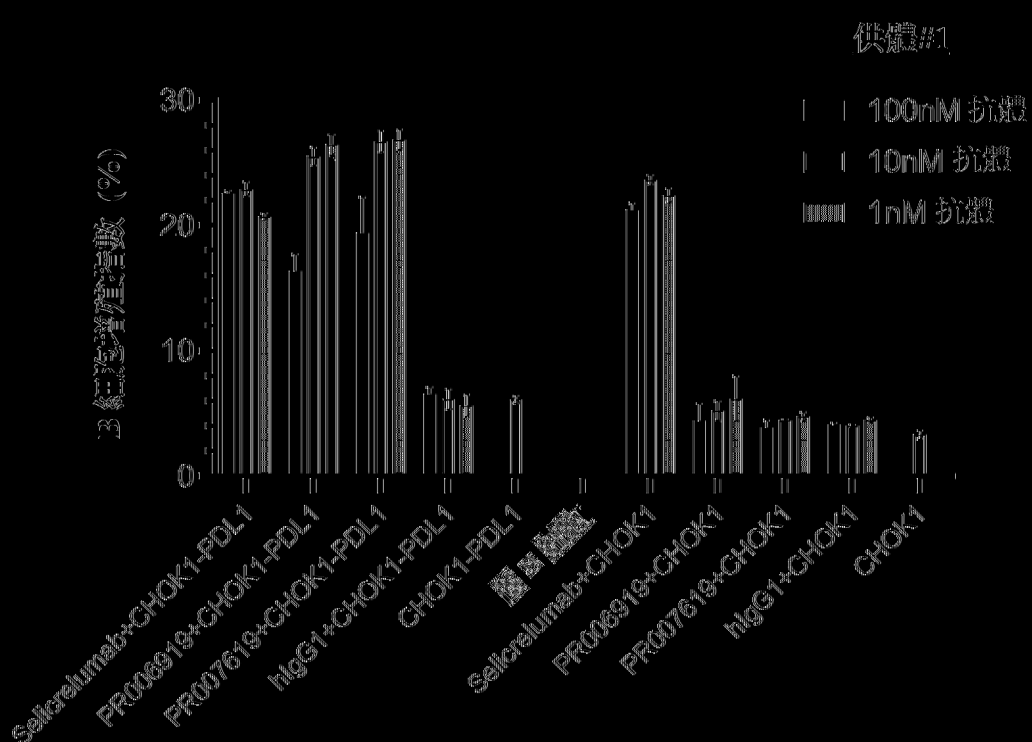


圖 20

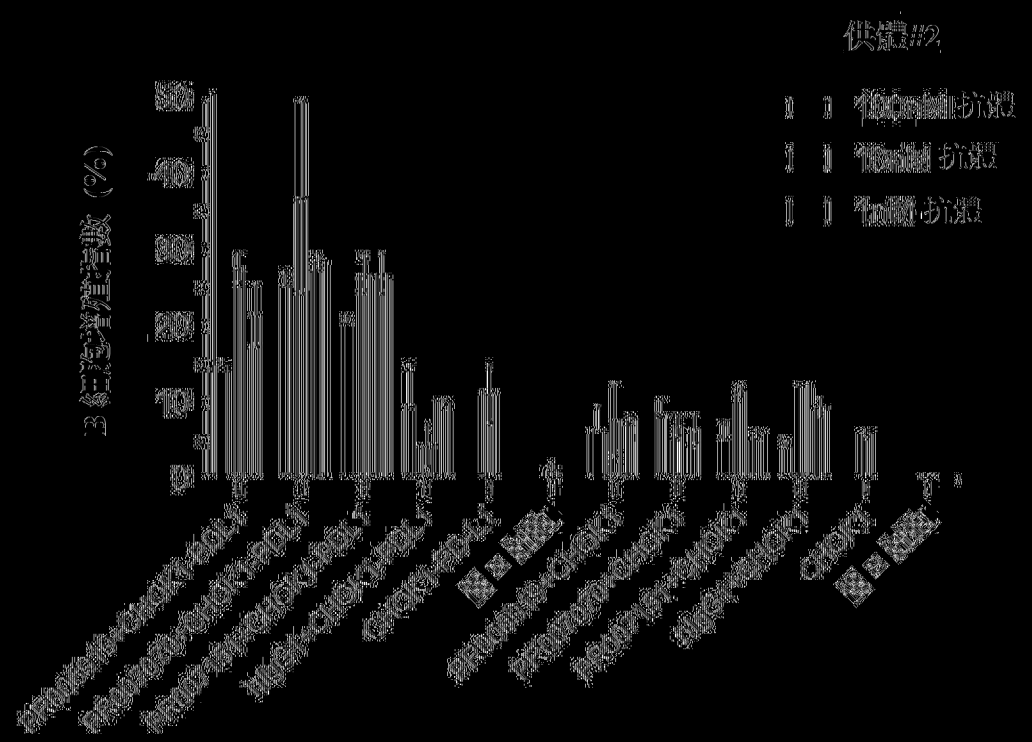


圖 21

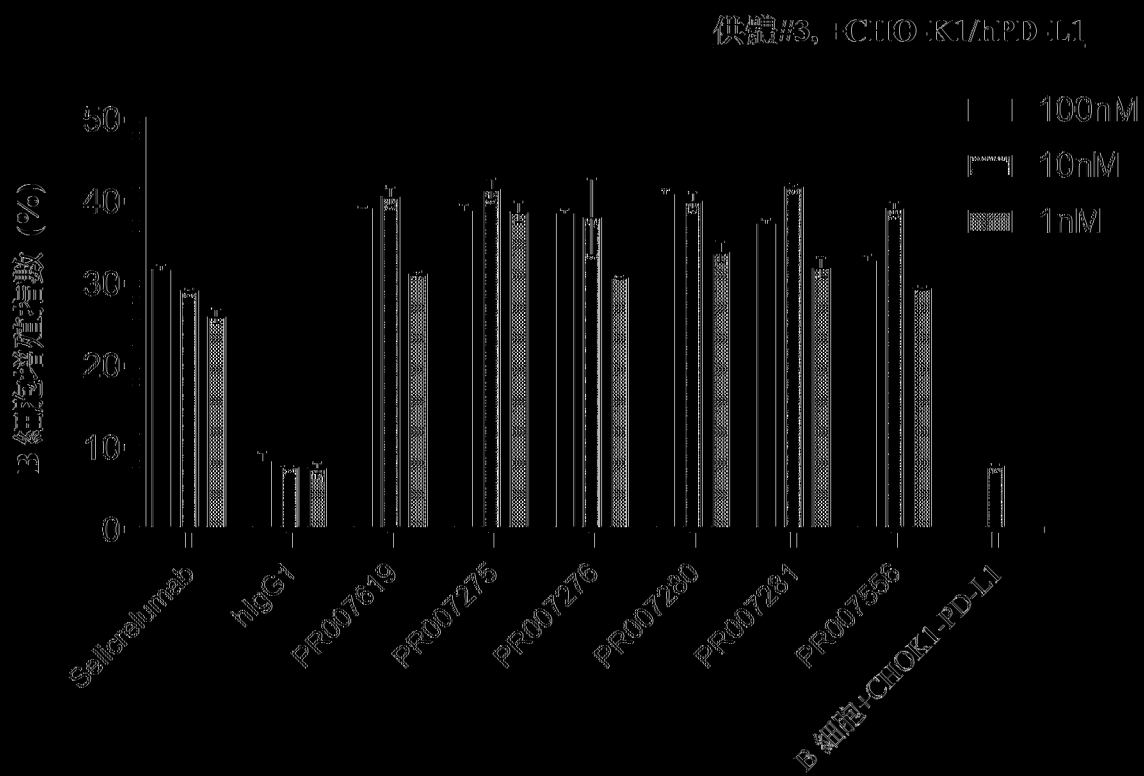


圖 22A

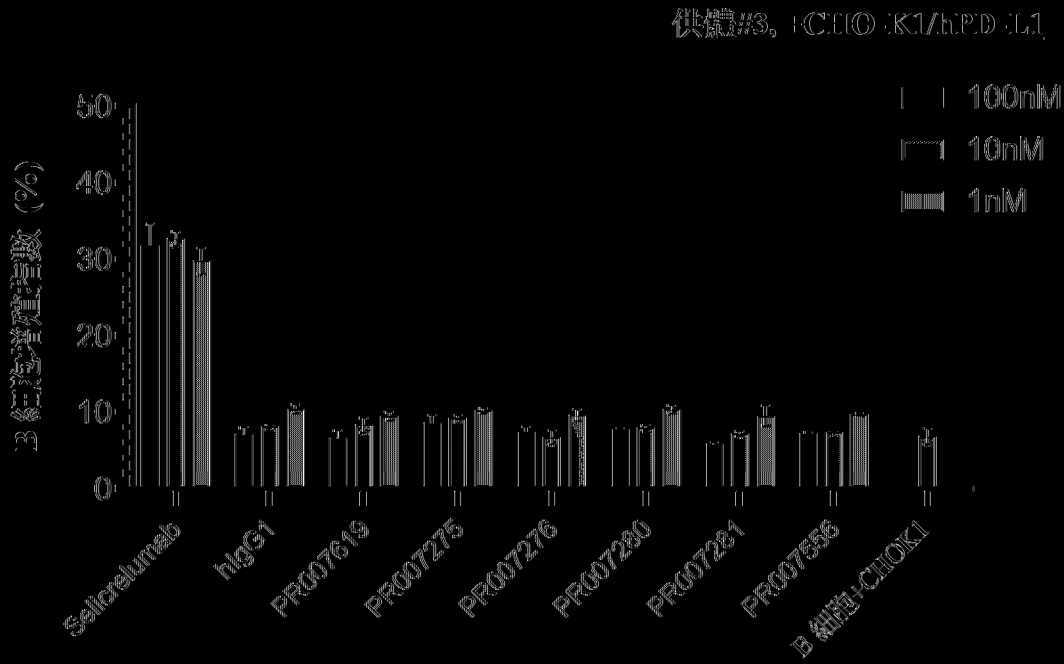


圖 22B

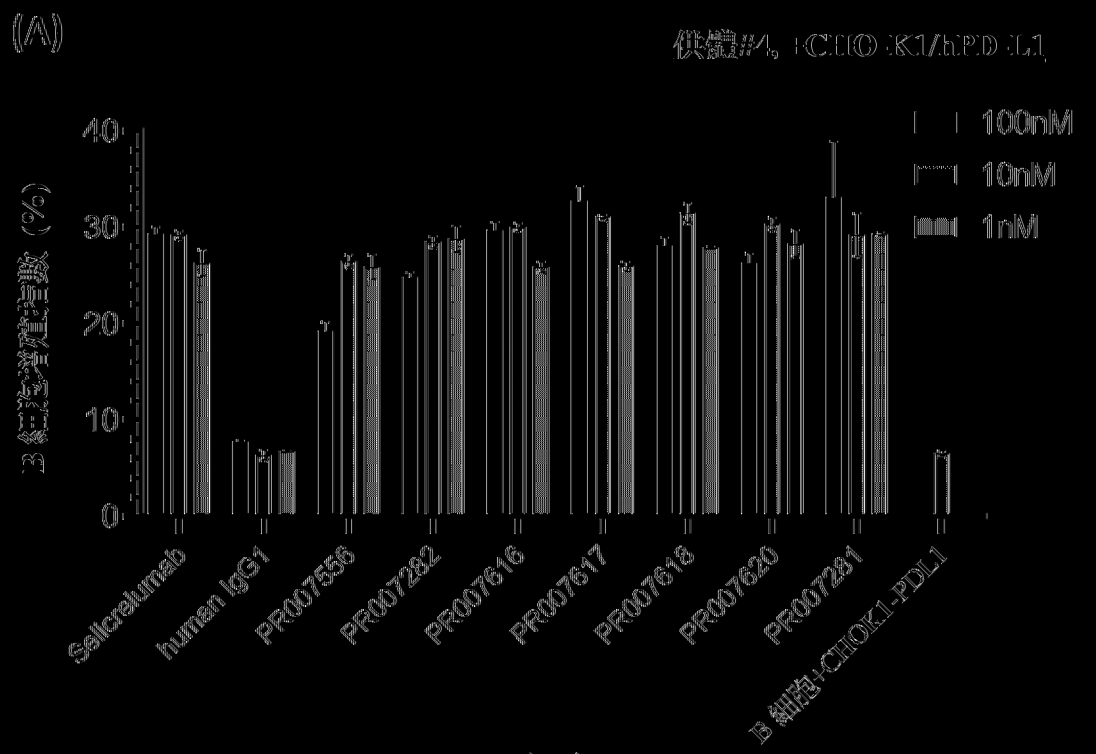


圖 23A

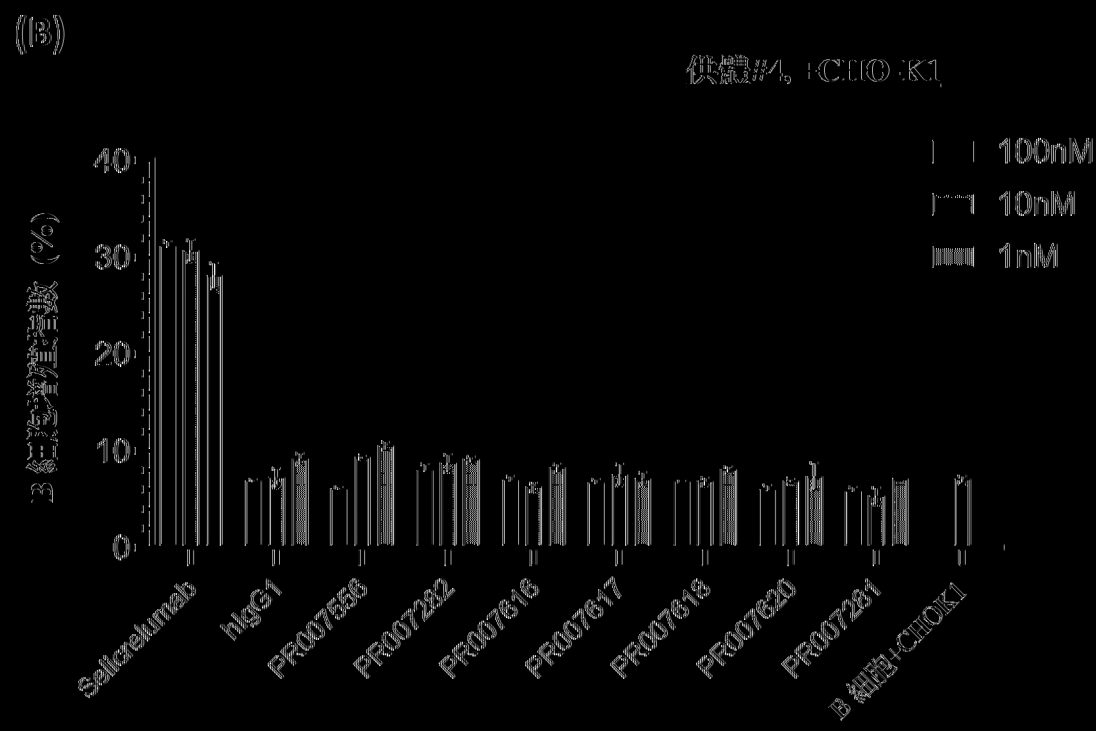


圖 23B

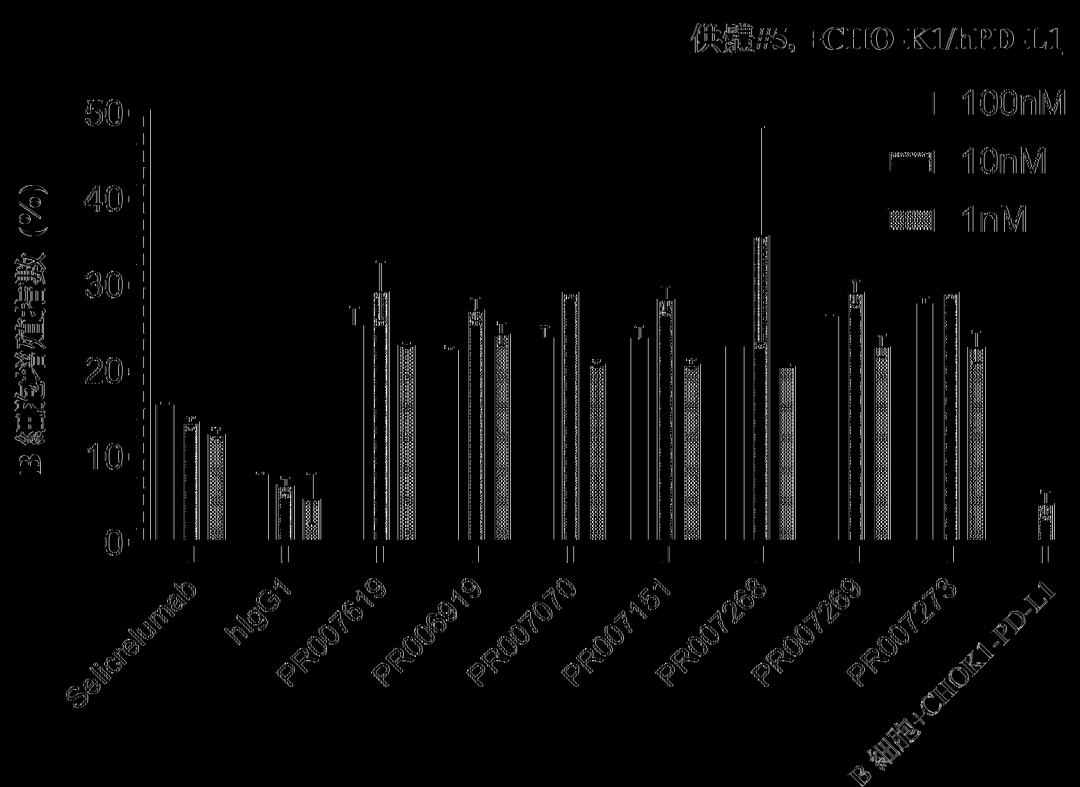


圖 24A

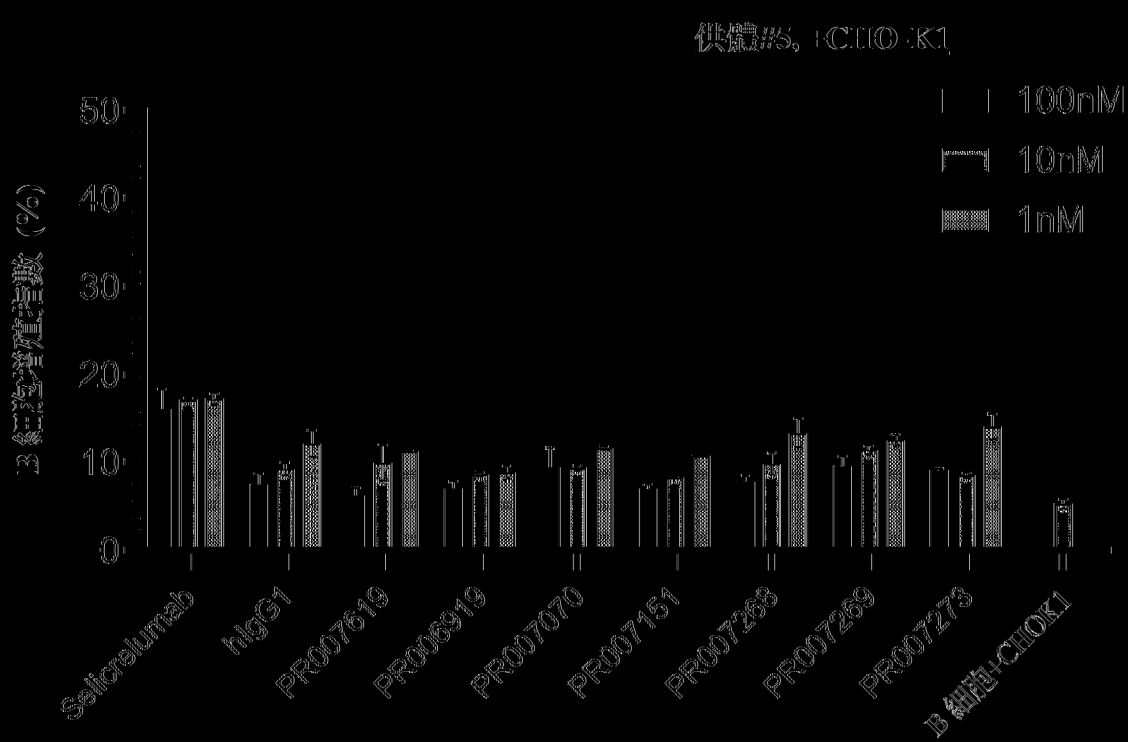


圖 24B

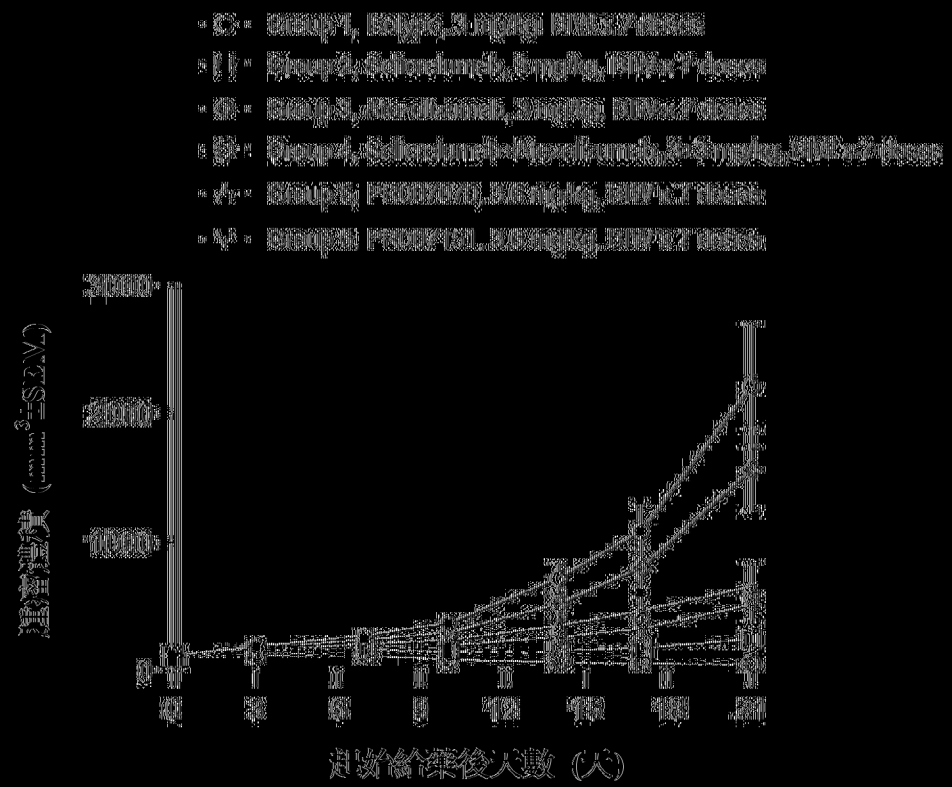


図 25A

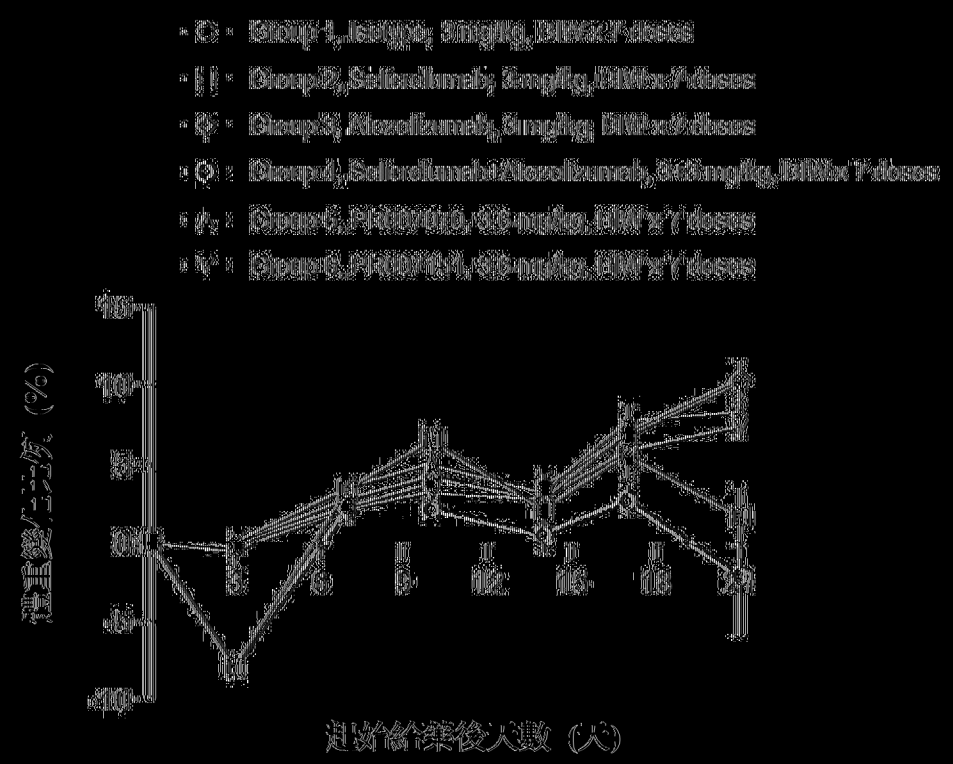


図 25B

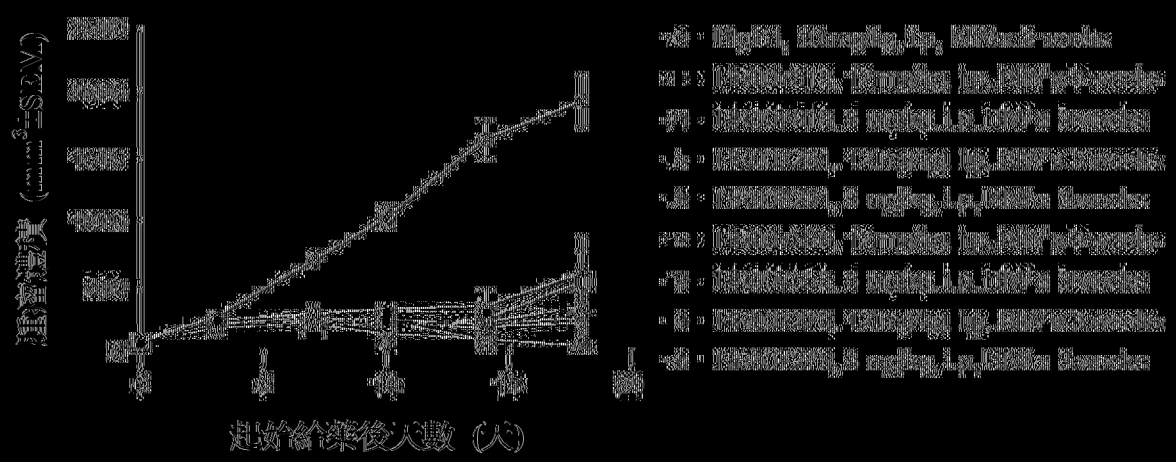


圖 26A

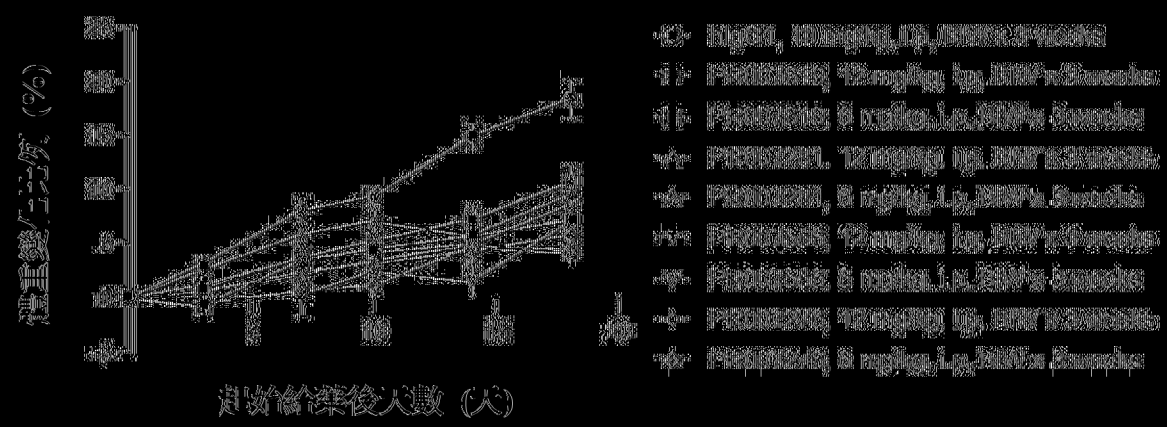


圖 26B

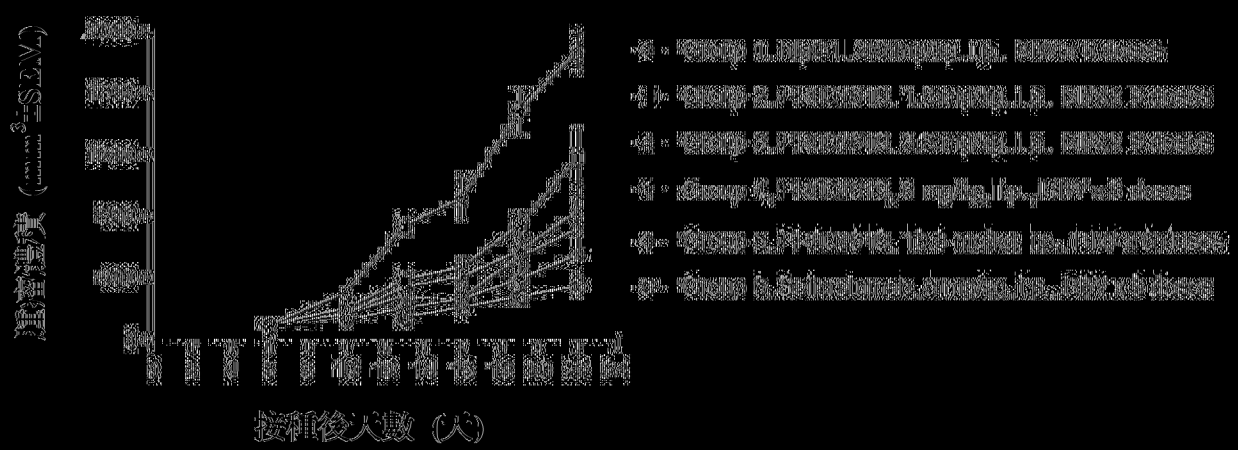
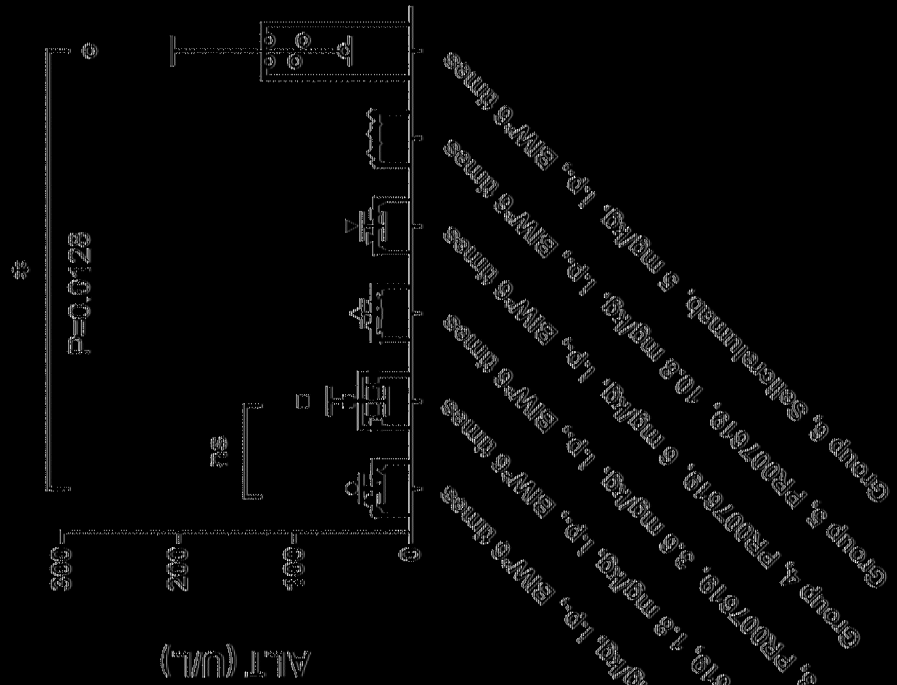
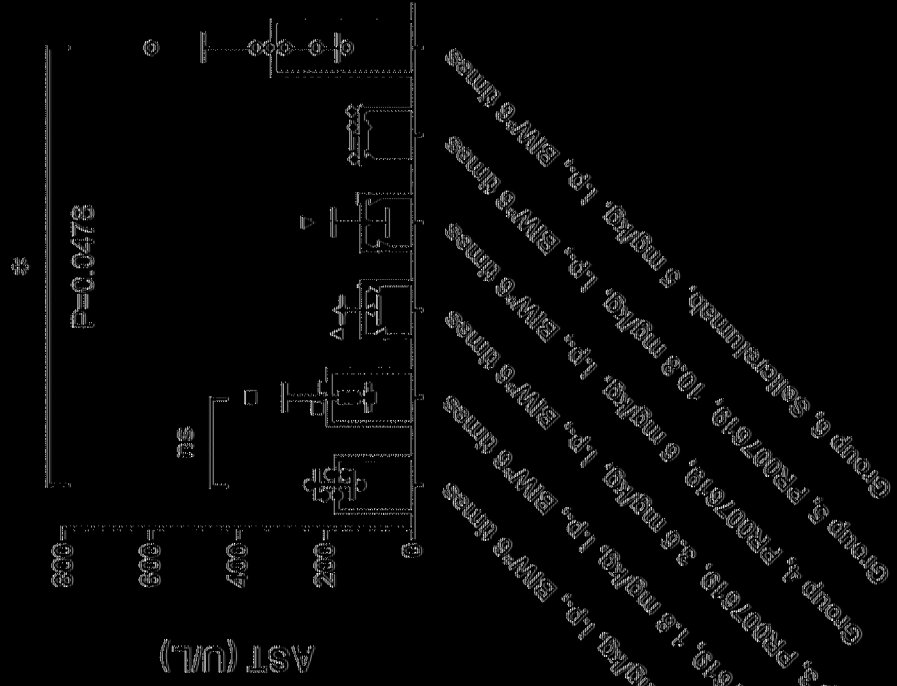


図 2/A



図 2/B



28

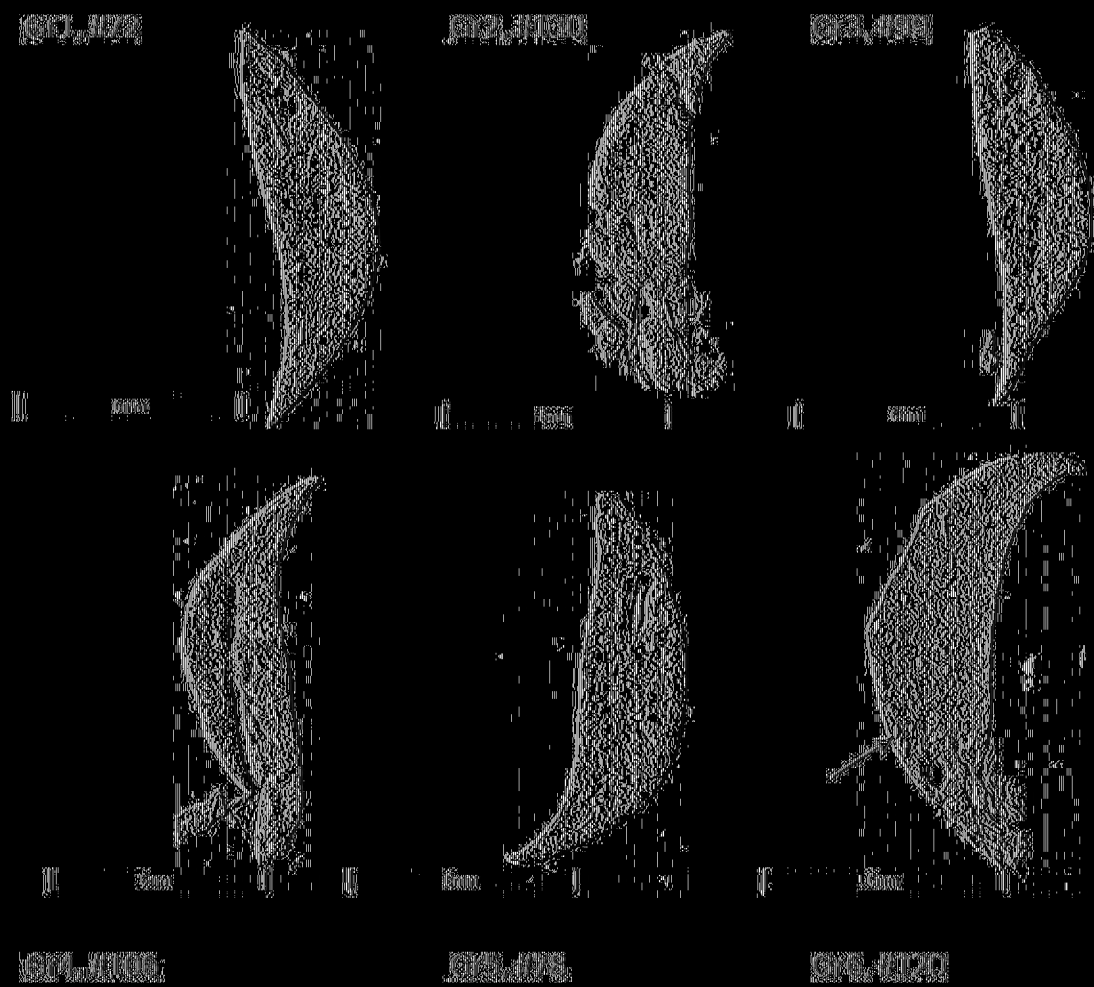


圖 29

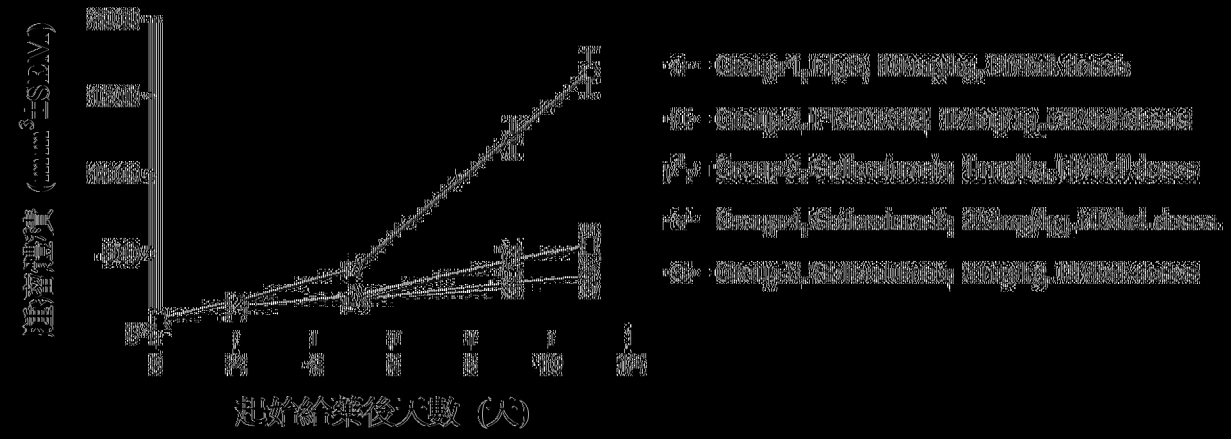
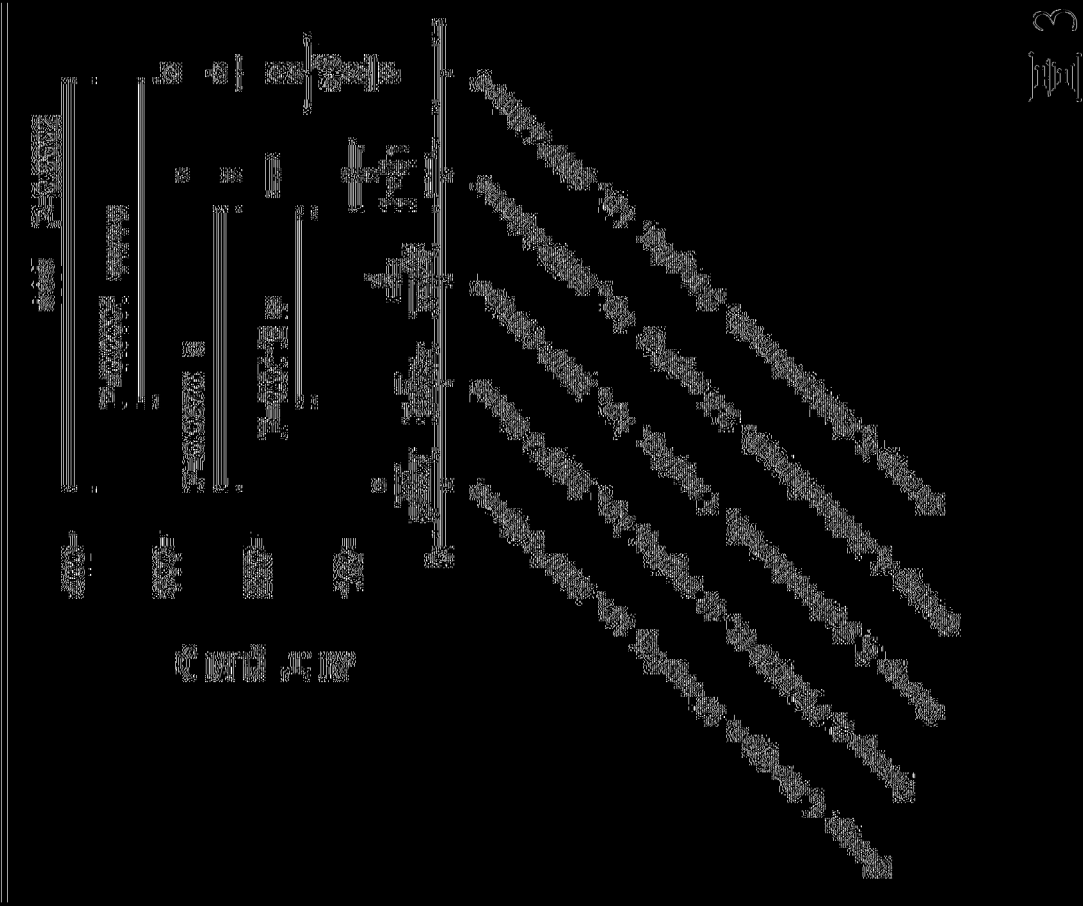
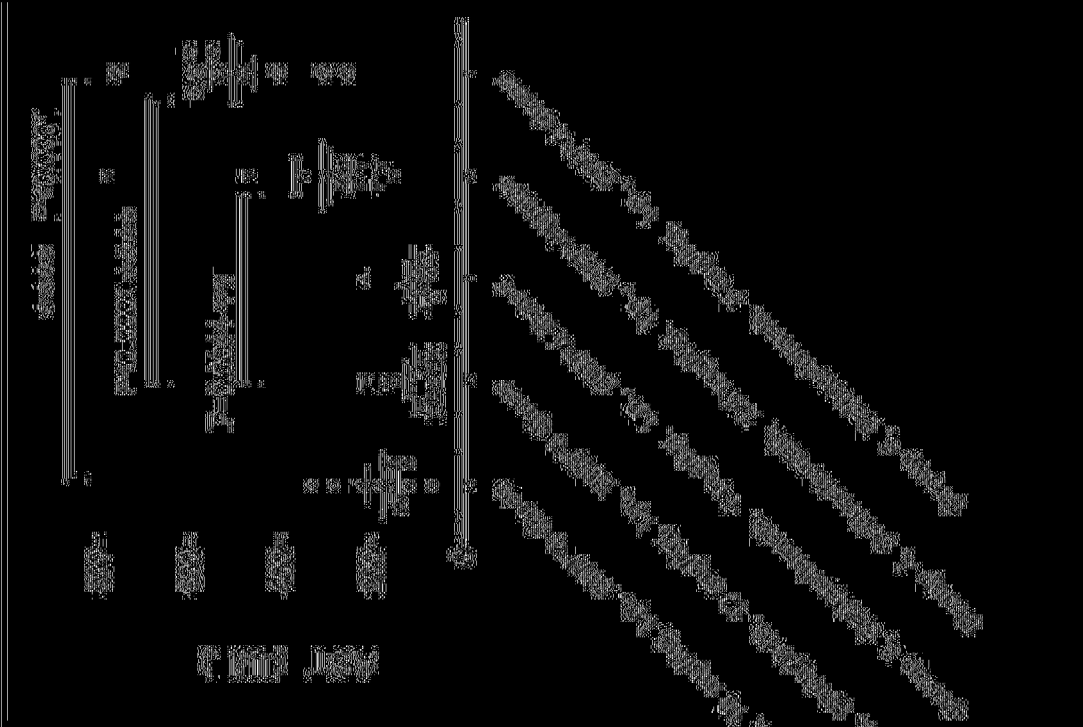


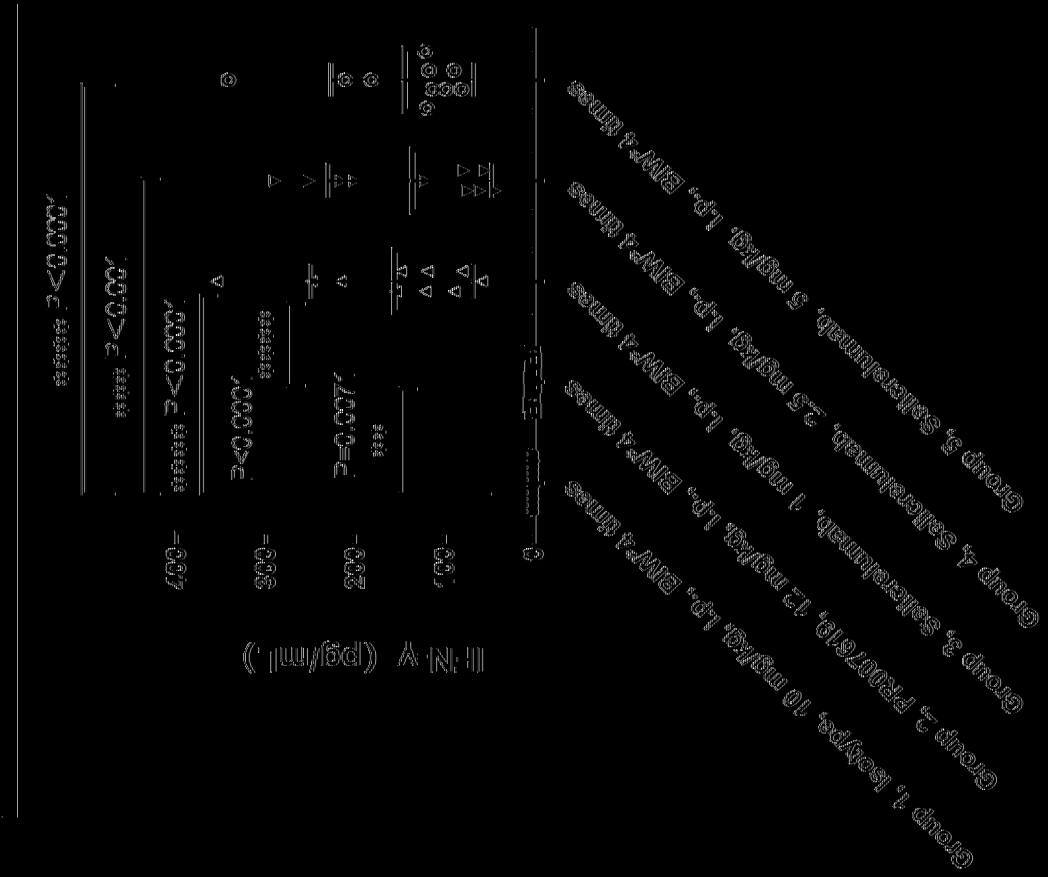
圖 30A



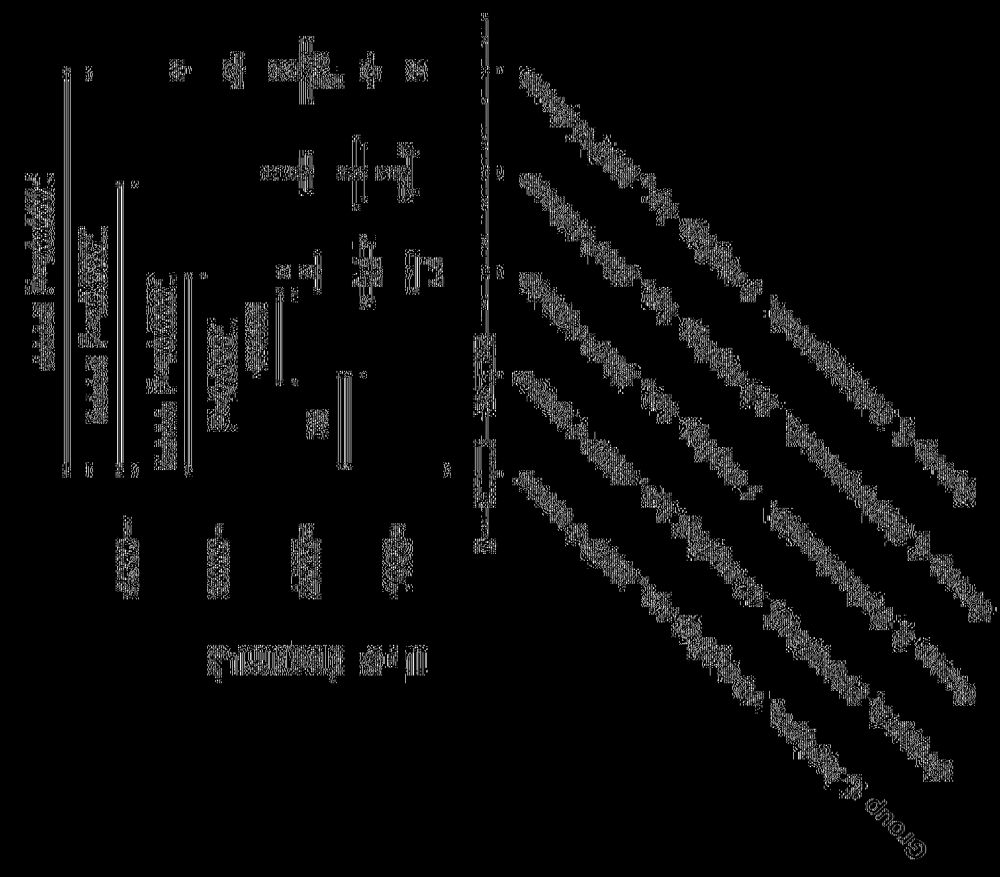
圖 30B

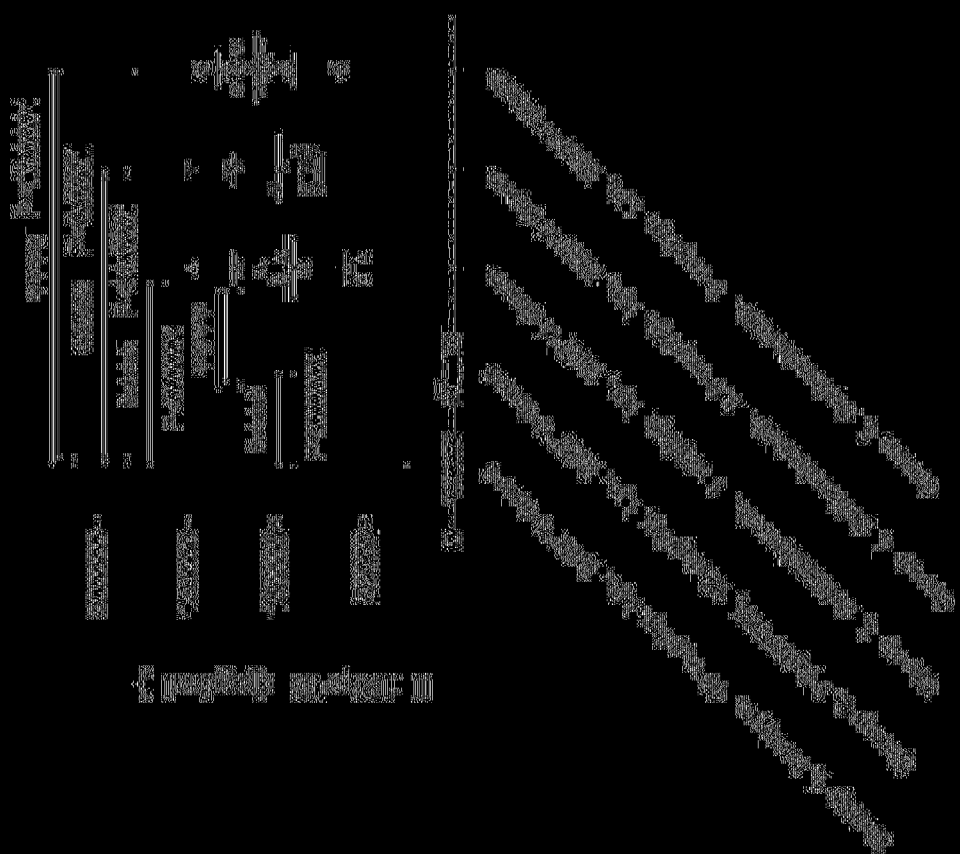


4
圖 3



32





39



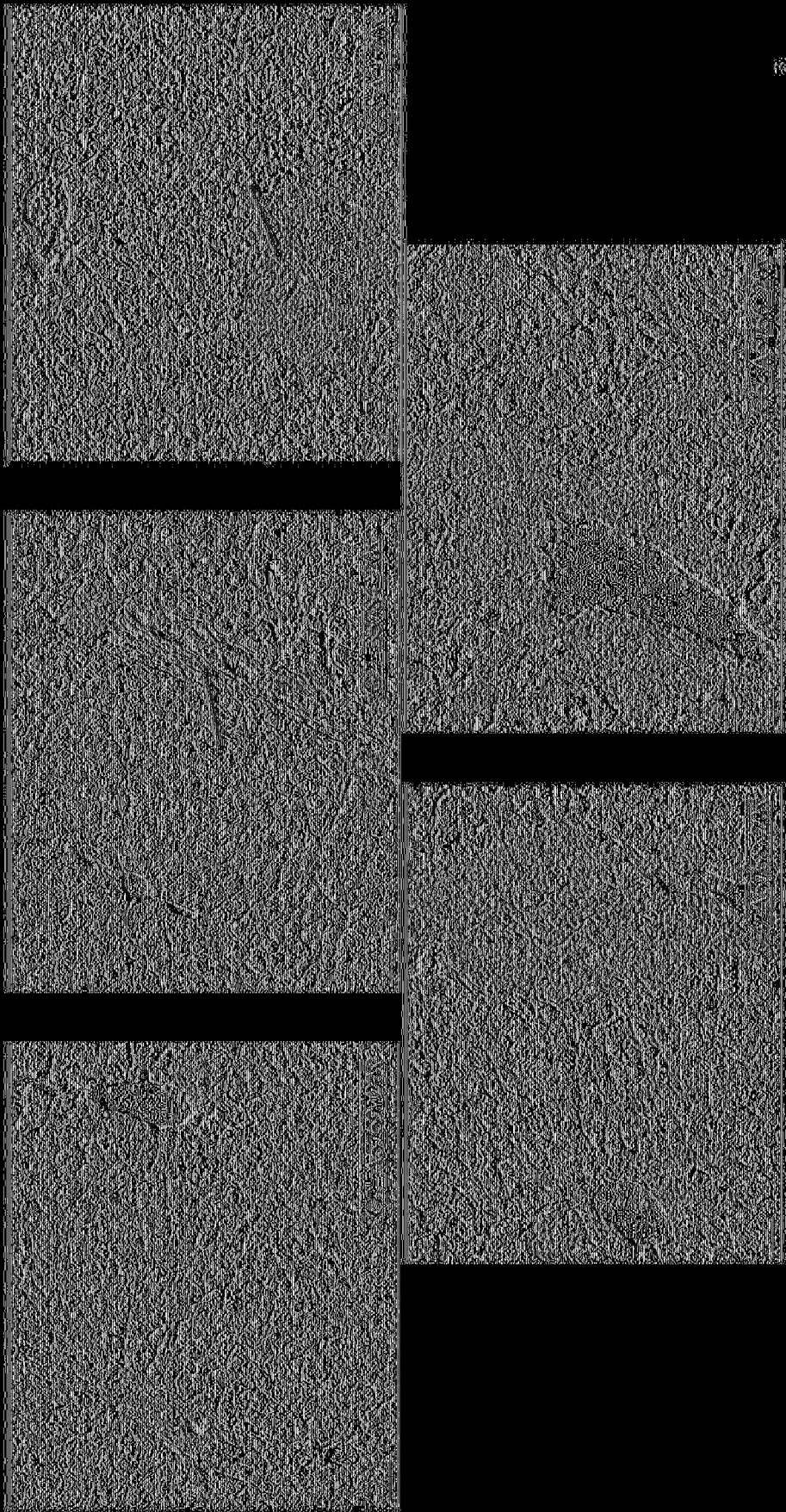


圖 34

group 1, molecular probe

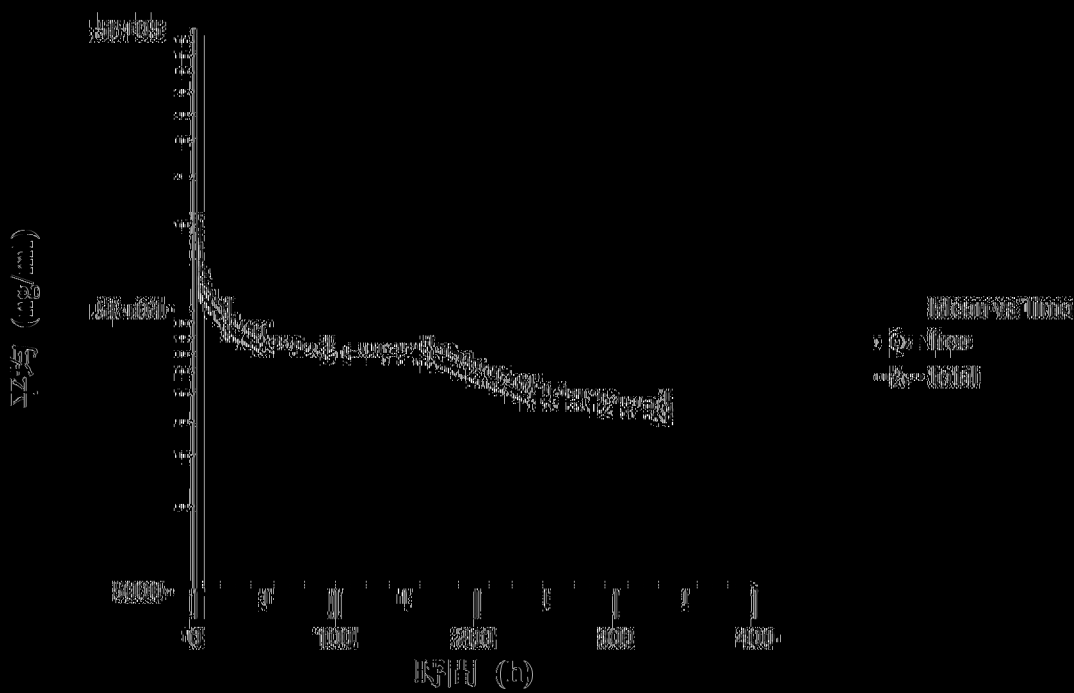


圖 35A

group 2, Molecular probe

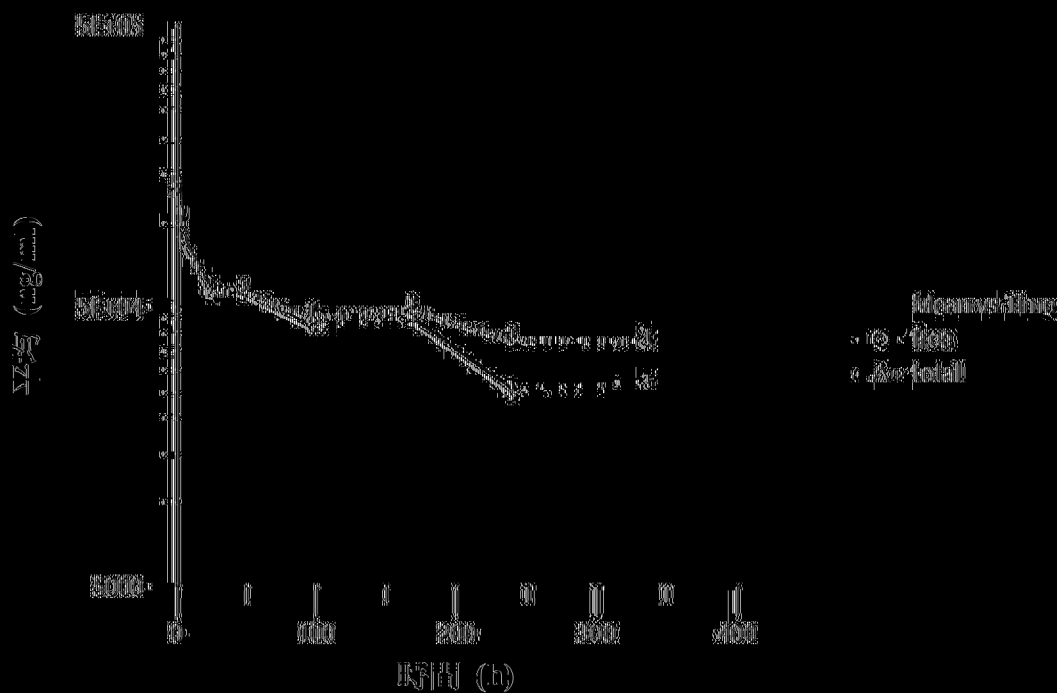


圖 35B

