



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111683961 A

(43)申请公布日 2020.09.18

(21)申请号 201980011952.4

(22)申请日 2019.03.11

(30)优先权数据

18161435.5 2018.03.13 EP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2020.08.05

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2019/055946 2019.03.11

(87)PCT国际申请的公布数据

W02019/175071 EN 2019.09.19

(71)申请人 豪夫迈·罗氏有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72)发明人 C·费拉拉·科勒 C·克雷恩

J·山姆 P·乌玛纳 W·徐

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

代理人 岑晓东

(51)Int.Cl.

C07K 14/705(2006.01)

C07K 16/28(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

权利要求书4页 说明书90页

序列表133页 附图12页

(54)发明名称

4-1BB激动剂与抗CD20抗体的治疗剂组合

(57)摘要

本发明涉及采用与结合人CD20的特定抗体组合的包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原的抗原结合域的4-1BB激动剂的组合疗法和这些组合疗法用于治疗癌症的用途。

1. 供用于治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB (CD137) 激动剂, 其中该4-1BB激动剂与抗CD20抗体组合使用且其中该4-1BB激动剂包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原的抗原结合域。

2. 权利要求1的供方法中使用的4-1BB激动剂, 其中该4-1BB激动剂和该抗CD20抗体伴随施用。

3. 权利要求1或2的供方法中使用的4-1BB激动剂, 其中该4-1BB激动剂和该抗CD20抗体在单一组合物中一起施用或在两种或更多种不同组合物中分开施用。

4. 权利要求1至3任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂, 其中该4-1BB激动剂包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域。

5. 权利要求1至4任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂, 其中该4-1BB激动剂包含三个4-1BBL外域或其片段。

6. 权利要求1至5任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂, 其中该4-1BB激动剂包含三个4-1BBL外域或其片段且其中该4-1BBL外域包含选自由SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8组成的组的氨基酸序列, 特别是SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:5的氨基酸序列。

7. 权利要求1至6任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂, 其中该4-1BB激动剂是包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域和三个4-1BBL外域或其片段的抗原结合分子, 其中该能够特异性结合CD19的抗原结合域包含

(a) 重链可变区 (V_HCD19) 和轻链可变区 (V_LCD19), 该重链可变区 (V_HCD19) 包含 (i) 包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的CDR-H1, (ii) 包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的CDR-H2, 和 (iii) 包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的CDR-H3, 该轻链可变区 (V_LCD19) 包含 (iv) 包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR-L1, (v) 包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR-L2, 和 (vi) 包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR-L3, 或

(b) 重链可变区 (V_HCD19) 和轻链可变区 (V_LCD19), 该重链可变区 (V_HCD19) 包含 (i) 包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR-H1, (ii) 包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR-H2, 和 (iii) 包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR-H3, 该轻链可变区 (V_LCD19) 包含 (iv) 包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR-L1, (v) 包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR-L2, 和 (vi) 包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR-L3。

8. 权利要求1至7任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂, 其中该4-1BB激动剂是包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域和三个4-1BBL外域或其片段的抗原结合分子, 其中该能够特异性结合CD19的抗原结合域包含包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的重链可变区 (V_HCD19) 和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的轻链可变区 (V_LCD19) 或其中该能够特异性结合CD19的抗原结合域包含包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的重链可变区 (V_HCD19) 和包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的轻链可变区 (V_LCD19)。

9. 权利要求1至8任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂, 其中该4-1BB激动剂是包含IgG Fc域, 具体是IgG1 Fc域或IgG4 Fc域的抗原结合分子。

10. 权利要求1至9任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂, 其中该4-1BB激动剂是包含包含一处或多处降低或消除对Fc受体的结合和/或效应器功能的氨基酸替代的Fc域的抗原结合分子。

11. 权利要求1至10任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

- (a) 至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域,
- (b) 通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,

其中该第一多肽包含通过肽接头彼此连接的两个4-1BBL外域或其片段且该第二多肽包含一个4-1BBL外域或其片段。

12. 权利要求1至11任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

(a) 至少一个能够特异性结合CD19的Fab域,该能够特异性结合CD19的Fab域包含包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19)和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19)或包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19)和包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19),和

- (b) 通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,

其中该抗原结合分子特征在于该第一多肽包含选自由SEQ ID NO:25,SEQ ID NO:26,SEQ ID NO:27,SEQ ID NO:28,SEQ ID NO:29,SEQ ID NO:30,SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32组成的组的氨基酸序列且在于该第二多肽包含选自由SEQ ID NO:1,SEQ ID NO:2,SEQ ID NO:3,SEQ ID NO:4,SEQ ID NO:5,SEQ ID NO:6,SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8组成的组的氨基酸序列。

13. 权利要求1至12任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是选自由下述各项组成的组的抗原结合分子:

a) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的第二轻链;

b) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的第二轻链;

c) 一种分子,其包含两条包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的轻链,包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的第二重链;

d) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的第二轻链;

e) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的第二轻链;

f) 一种分子,其包含两条包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的轻链,包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的第二重链;

g) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的第二轻链;

h) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的第二轻链;

i) 一种分子,其包含两条包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链,包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列的第二重链;

j) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的第二轻链;

k) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的第二轻链;和

l) 一种分子,其包含两条包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链,包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的第二重链。

14. 权利要求1至13任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是包含一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的抗原结合分子。

15. 权利要求1至4任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是抗CD19/抗4-1BB双特异性抗体。

16. 权利要求1至15任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该抗CD20抗体是I型抗CD20抗体。

17. 权利要求1至16任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该抗CD20抗体是利妥昔单抗。

18. 权利要求1至15任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该抗CD20抗体是II型抗CD20抗体。

19. 权利要求1至18任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该抗CD20抗体是无岩藻糖基化抗CD20抗体。

20. 权利要求1至15或18或19任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该抗CD20抗体是奥滨尤妥珠单抗。

21. 权利要求1至15任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该抗CD20抗体是利妥昔单抗或奥滨尤妥珠单抗。

22. 权利要求1至21任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂与抗CD20抗体组合使用且其中该组合以约一周至三周的间隔施用。

23. 权利要求1至22任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中在该组合治疗前实施用II型抗CD20抗体,优选奥滨尤妥珠单抗的预治疗,其中该预治疗和该组合治疗之间的时间段足以响应该II型抗CD20抗体,优选奥滨尤妥珠单抗减少该个体中的B细胞。

24. 一种药学产品,其包含(A)包含作为活性组分的包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原的抗原结合域的4-1BB激动剂和药学可接受赋形剂的第一组合物;和(B)包含作为活性组分的抗CD20抗体和药学可接受赋形剂的第二组合物,供组合或同时治疗疾病,特别是癌症中使用。

25. 一种包含包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原的抗原结合域的4-1BB激动

剂和药学可接受赋形剂的药学组合物,和包含抗CD20抗体的第二药物。

26. 权利要求25的药学组合物,供作为药物使用。

27. 权利要求25或26的药学组合物,供治疗B细胞增殖性病症,特别是选自由非霍奇金淋巴瘤(NHL),急性淋巴细胞性白血病(ALL),慢性淋巴细胞性白血病(CLL),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),滤泡性淋巴瘤(FL),套细胞淋巴瘤(MCL),边缘区淋巴瘤(MZL),多发性骨髓瘤(MM)和霍奇金淋巴瘤(HL)组成的组的疾病中使用。

28. 包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原的抗原结合域的4-1BB激动剂和抗CD20抗体的组合在制造用于治疗增殖性疾病,特别是癌症或延迟增殖性疾病,特别是癌症进展的药物中的用途。

29. 一种用于在受试者中治疗癌症或延迟癌症进展的方法,其包含对该受试者施用有效量的包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原的抗原结合域的4-1BB激动剂和有效量的抗CD20抗体。

30. 权利要求29的方法,其中该包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原的抗原结合域的4-1BB激动剂与该抗CD20抗体伴随施用。

4-1BB激动剂与抗CD20抗体的治疗剂组合

发明领域

[0001] 本发明涉及采用包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原的抗原结合域的4-1BB (CD137) 激动剂,特别是CD19靶向性4-1BBL抗原结合分子,和结合人CD20的特定抗体的组合疗法,这些组合疗法用于治疗癌症的用途和使用该组合疗法的方法。

[0002] 发明背景

[0003] B细胞增殖性病征描述一组异类的恶性,包括白血病和淋巴瘤二者。淋巴瘤自淋巴细胞发生且包括两大类:霍奇金 (Hodgkin) 淋巴瘤 (HL) 和非霍奇金淋巴瘤 (NHL)。在美国, B细胞起源的淋巴瘤构成所有非霍奇金淋巴瘤病例的大约80-85%,而且基于起源B细胞中的基因型和表型表达样式, B细胞子集内有可观的异质性。例如, B细胞淋巴瘤子集包括缓慢生长的无痛且不能治愈的疾病, 诸如滤泡性淋巴瘤 (FL) 或慢性淋巴细胞性白血病 (CLL), 以及更具攻击性的亚型, 套细胞淋巴瘤 (MCL) 和弥漫性大B细胞淋巴瘤 (DLBCL)。尽管多种用于治疗B细胞增殖性病征的药剂可得, 然而当前需要开发安全且有效的疗法在患者中延长消退和改善治愈率。

[0004] 当前正在调查的一种策略是针对恶性B细胞的T细胞的啮合。为了有效啮合针对恶性B细胞的T细胞, 最近开发了两种办法。这两种办法是: 1) 施用离体改造成识别肿瘤细胞的T细胞 (也称作嵌合抗原受体修饰的T细胞疗法或CAR-T细胞) (Maude et al., N Engl J Med (2014) 371, 1507-1517); 和2) 施用活化内源T细胞的药剂, 诸如双特异性抗体 (Oak and Bartlett, Expert Opin Investig Drugs (2015) 24, 715-724)。Maude等人的研究中报告了第一种办法的一个例子, 其中用经CD19定向嵌合抗原受体慢病毒载体转导的自体T细胞 (CTL019 CAR-T细胞) 治疗30名成人和儿童患者。结果是持续的消退, 其基于67%的6个月无事件存活率和78%的总体存活率。然而, 所有患者具有细胞因子释放综合征 (CRS) (与肿瘤负荷相关), 27%的患者具有重度CRS。还注意到高频率的原因未知的中枢神经系统毒性。涉及活化内源T细胞来识别肿瘤靶的第二种办法规避了这种可扩展性 (scalability) 障碍, 而且还能提供竞争性功效, 安全性数据和潜在的长期应答持续时间。在不同CD20⁺血液学恶性中, 这种办法的最好的例子是博纳吐单抗 (Blinatumomab), 一种CD19 CD3靶向性T细胞双特异性分子 (Bargou et al., Science (2008) 321, 974-977), 它最近批准用于具有最低限度残余疾病阳性急性淋巴细胞性白血病 (ALL) 的患者。由两个单链Fv片段构成 (所谓的BiTE[®]格式) 的这种化合物引导溶胞性T细胞裂解CD19⁺细胞。博纳吐单抗的主要约束是它的半衰期短 (大约2小时), 这使得在4-8周里经由泵连续输注成为必要。而且, 还频繁观察到严重的CRS和CNS毒性 (Klinger et al., Blood (2012) 119 (26), 6226-6233)。在所有临床试验中接受博纳吐单抗的患者中, 在大约50%的患者中发生神经学毒性, 而且观察到的毒性的类型在包装插页中有完善定义。

[0005] TNF受体超家族的一个成员, 4-1BB (CD137) 最初被鉴定为由通过T细胞活化表达的可诱导分子 (Kwon and Weissman, Proc Natl Acad Sci U S A (1989) 86, 1963-1967)。后续研究证明许多其它免疫细胞也表达4-1BB, 包括NK细胞, B细胞, NKT细胞, 单核细胞, 嗜中性细胞, 肥大细胞, 树突细胞 (DC) 和非造血起源的细胞诸如内皮和平滑肌细胞 (Vinay and

Kwon, *Cell Mol Immunol.* (2011) 8, 281-284)。4-1BB在不同细胞类型中的表达大多通过各种刺激性信号,诸如T细胞受体(TCR)或B细胞受体触发,以及经由共刺激性分子或促炎性细胞因子的受体诱导的信号传导而可诱导和驱动(Diehl et al., *J Immunol* (2002) 168, 3755-3762; Zhang et al., *J Immunol* (2010) 184, 787-795)。

[0006] 4-1BB配体(4-1BBL或CD137L)在1993年鉴定(Goodwin et al., *Eur J Immunol.* (1993) 23, 2631-2641)。已经显示4-1BBL的表达在专职抗原呈递细胞(APC)诸如B细胞,DC和巨噬细胞上受到限制。4-1BBL的可诱导表达对于包括 $\alpha\beta$ 和 $\gamma\delta$ T细胞子集二者在内的T细胞,和内皮细胞是特征性的(Shao and Schwarz, *J Leukoc Biol* (2011) 89, 21-29)。

[0007] 经由4-1BB受体(例如通过4-1BBL接合)的共刺激活化T细胞(CD4⁺和CD8⁺子集二者)内的多种信号传导级联,强力提升T细胞活化(Bartkowiak and Curran, *Front Oncol* (2015) 5, 117)。与TCR触发组合,激动性4-1BB特异性抗体增强T细胞增殖,刺激淋巴因子分泌并降低T淋巴细胞对活化诱导的细胞死亡的敏感性(Snell et al., *Immunol Rev* (2011) 244, 197-217)。这种机制作为癌症免疫疗法中的第一个概念证据得到进一步发展。在一种临床前模型中针对4-1BB的激动性抗体在荷瘤小鼠中的施用导致有力的抗肿瘤效果(Melero et al., *Nature Med* (1997) 3, 682-685)。后来,越来越多的证据指示4-1BB通常只在与其它免疫调控性化合物,化疗试剂,肿瘤特异性疫苗接种或放疗组合施用时展现它作为抗肿瘤药剂的效力(Bartkowiak and Curran, *Front Oncol* (2015) 5, 117)。

[0008] TNFR超家族的信号传导需要三聚化配体的交联来与受体啮合,因此需要野生型Fc结合的4-1BB激动性抗体也如此(Li and Ravetch, *Science* (2011) 333, 1030-1034)。然而,在小鼠中,具有功能性活性Fc域的4-1BB特异性激动性抗体的系统施用导致与肝毒性相关的CD8⁺T细胞流入(Dubrot et al., *Cancer Immunol Immunother* (2010) 59, 1223-1233),这在功能性Fc受体缺失下减弱或显著减轻。在临床中,一种Fc胜任的4-1BB激动性抗体(BMS-663513) (NCT00612664)引起4级肝炎,导致试验终止(Simeone and Ascierto, *J Immunotoxicol* (2012) 9, 241-247)。因此,需要有效且更安全的4-1BB激动剂。

[0009] 已经生成了由4-1BB配体的一个细胞外结构域和单链抗体片段(Hornig et al., *J Immunother* (2012) 35, 418-429; Müller et al., *J Immunother.* (2008) 31, 714-722)或与重链的C端融合的单个4-1BB配体(Zhang et al., *Clin Cancer Res* (2007) 13, 2758-2767)构成的融合蛋白。WO 2010/010051公开了由彼此连接且与抗体部分融合的三个TNF配体外域组成的融合蛋白的生成。在本发明中,由三聚且因而生物学活性的4-1BB配体和对肿瘤抗原CD19特异性的抗原结合域和缺乏Fc γ R结合的Fc区构成的抗原结合分子显示为特别稳定且强健(在本文中称作CD19-4-1BBL)。这些构建物在WO 2016/075278中公开且通过CD19靶向性B细胞特异性交联替换对Fc介导的毒性负有责任的非特异性Fc γ R介导的交联。

[0010] CD19是B细胞恶性的免疫疗法的理想靶,因为它在B细胞的表面上表达且几乎是对这些细胞特异性的。CD19在B细胞发育期间在B细胞上比CD20更加广泛表达,所以典型地是CD20阳性细胞也会表达CD19。在B细胞朝向浆细胞(抗体分泌性细胞)的分化期间,B细胞下调CD20表达。有时,B细胞淋巴瘤也下调CD20表达,但是保留对CD19呈阳性。因此,靶向CD19和CD20二者会广泛覆盖淋巴瘤中的患病B细胞,这可能还使选择压力自CD20偏转至CD19和CD20二者。虽然不知道CD19是否对B细胞癌发生有直接贡献,但是它的表达在大多数B细胞肿瘤上高度保守,诸如急性成淋巴细胞性白血病(ALL),慢性淋巴细胞性白血病(CLL)和B细

胞淋巴瘤。在急性白血病中,CD19在几乎所有亚型上稳定且连续表达而仅仅少数白血病表达CD20。

[0011] 因而仍然需要有可能对具有B细胞增殖性病症,诸如NHL和CLL的患者的治疗做出显著贡献的新的化合物和组合。已经发现在将CD19靶向性4-1BBL抗原结合分子与结合人CD20的特定抗体组合时实现优异的抗肿瘤效果。如此,我们在本文中描述用于有B细胞恶性的癌症的一种新颖组合疗法。

[0012] 发明概述

[0013] 本发明涉及包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原的抗原结合域的4-1BB (CD137) 激动剂,特别是包含三个4-1BBL外域的抗原结合分子,和它在一种用于治疗癌症或延迟癌症进展,更加特别是用于治疗B细胞增殖性病症或延迟B细胞增殖性病症进展的方法中与结合人CD20的抗体,特别是利妥昔单抗或奥滨尤妥珠单抗组合的用途。已经发现本文中描述的组合物在抑制肿瘤生长和消除肿瘤细胞方面比单独用抗CD20抗体的治疗更加有效。

[0014] 在一个方面,本发明提供供用于治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB (CD137) 激动剂,其中该4-1BB激动剂与抗CD20抗体组合使用且其中该4-1BB激动剂包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原的抗原结合域,特别是该4-1BB激动剂包含三个4-1BBL外域或其片段和至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原的抗原结合域。

[0015] 特别地,该4-1BB激动剂是包含一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的抗原结合分子。在一个方面,该4-1BB激动剂是包含Fc域的抗原结合分子。在一个特定方面,该4-1BB激动剂是包含有降低或优选消除Fc γ 受体结合和/或效应器功能的修饰的Fc域的抗原结合分子。

[0016] 在一个方面,该4-1BB激动剂和该抗CD20抗体伴随或同时施用。在又一个方面,提供的是供用于治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB激动剂,其中该包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的4-1BB激动剂和该抗CD20抗体在单一组合物中一起施用或在两种或更多种不同组合物中分开施用。

[0017] 在一个方面,本发明提供供用于与抗CD20抗体组合治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原的抗原结合域的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂包含三个4-1BBL外域或其片段。在又一个方面,提供的是供用于治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是包含三个4-1BBL外域或其片段的分子且其中该4-1BBL外域包含选自SEQ ID NO:1,SEQ ID NO:2,SEQ ID NO:3,SEQ ID NO:4,SEQ ID NO:5,SEQ ID NO:6,SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8组成的组的氨基酸序列,特别是SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:5的氨基酸序列。更加特别地,该4-1BBL外域包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列。

[0018] 在一个方面,本发明提供供用于治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB (CD137) 激动剂,其中该4-1BB激动剂与抗CD20抗体组合使用且其中该4-1BB激动剂包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域。

[0019] 在一个方面,该包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域和三个4-1BBL外域或其片段的抗原结合分子不会受CD19表达性B细胞内在化。在另一个方面,提供的是供用于与抗CD20抗体组合治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB

激动剂是包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域和三个4-1BBL外域或其片段的抗原结合分子,其中该能够特异性结合CD19的抗原结合域包含(a)重链可变区(V_HCD19)和轻链可变区(V_LCD19),该重链可变区(V_HCD19)包含(i)包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的CDR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的CDR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的CDR-H3,该轻链可变区(V_LCD19)包含(iv)包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR-L1,(v)包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR-L3,或(b)重链可变区(V_HCD19)和轻链可变区(V_LCD19),该重链可变区(V_HCD19)包含(i)包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR-H3,该轻链可变区(V_LCD19)包含(iv)包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR-L1,(v)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR-L3。

[0020] 在一个特定方面,提供的是供用于与抗CD20抗体组合治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域和三个4-1BBL外域或其片段的抗原结合分子,其中该能够特异性结合CD19的抗原结合域包含包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19)和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19)或其中该能够特异性结合CD19的抗原结合域包含包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19)和包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19)。在一个特定方面,该能够特异性结合CD19的抗原结合域包含包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19)和包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19)。

[0021] 在一个方面,提供的是供用于与抗CD20抗体组合治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB激动剂,其中该包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的4-1BB激动剂是进一步包含由能够稳定联合的第一和第二亚基构成的Fc域的抗原结合分子。特别地,该4-1BB激动剂是包含IgG Fc域,具体是IgG1 Fc域或IgG4 Fc域的抗原结合分子。更加特别地,该4-1BB激动剂是包含包含一处或多处降低对Fc受体的结合和/或效应器功能的氨基酸替代的Fc域的抗原结合分子。在一个特定方面,该4-1BB激动剂包含包含氨基酸替代L234A,L235A和P329G的IgG1 Fc域。

[0022] 在本发明的另一个方面,提供的是供用于与抗CD20抗体组合治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0023] (a) 至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域,

[0024] (b) 通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,

[0025] 其中该第一多肽包含通过肽接头彼此连接的两个4-1BBL外域或其片段且其中该第二多肽包含一个4-1BBL外域或其片段。

[0026] 在另一个方面,本发明提供供用于与抗CD20抗体组合治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0027] (a) 至少一个能够特异性结合CD19的Fab域,和

[0028] (b) 通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,

[0029] 其中该抗原结合分子特征在于

[0030] (i) 分别地,该第一多肽含有CH1或CL域且该第二多肽含有CL或CH1域,其中该第二

多肽与该第一多肽通过该CH1和CL域之间的二硫键连接,且其中该第一多肽包含通过肽接头彼此且与该CH1或CL域连接的两个4-1BBL外域或其片段且其中该第二多肽包含经由肽接头与所述多肽的该CL或CH1域连接的一个4-1BBL外域或其片段,或

[0031] (ii) 分别地,该第一多肽含有CH3域且该第二多肽含有CH3域,且其中该第一多肽包含通过肽接头彼此且与该CH3域的C端连接的两个4-1BBL外域或其片段且其中该第二多肽包含经由肽接头与所述多肽的该CH3域的C端连接的一个4-1BBL外域或其片段,或

[0032] (iii) 分别地,该第一多肽含有VH-CL或VL-CH1域且该第二多肽含有VL-CH1域或VH-CL域,其中该第二多肽与该第一多肽通过该CH1和CL域之间的二硫键连接,且其中该第一多肽包含通过肽接头彼此且与VH或VL连接的两个4-1BBL外域或其片段且其中该第二多肽包含经由肽接头与所述多肽的VL或VH连接的一个4-1BBL外域或其片段。

[0033] 在一个方面,提供的是供用于与抗CD20抗体组合治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0034] (a) 至少一个能够特异性结合CD19的Fab域,该能够特异性结合CD19的Fab域包含包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19)和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19)或包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19)和包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19),和

[0035] (b) 通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,

[0036] 其中该抗原结合分子特征在于该第一多肽包含选自由SEQ ID NO:25,SEQ ID NO:26,SEQ ID NO:27,SEQ ID NO:28,SEQ ID NO:29,SEQ ID NO:30,SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32组成的组的氨基酸序列且在于该第二多肽包含选自由SEQ ID NO:1,SEQ ID NO:2,SEQ ID NO:3,SEQ ID NO:4,SEQ ID NO:5,SEQ ID NO:6,SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8组成的组的氨基酸序列。

[0037] 在一个特定方面,提供的是供用于与抗CD20抗体组合治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是选自由下述各项组成的组的抗原结合分子:

[0038] a) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的第二轻链;

[0039] b) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的第二轻链;

[0040] c) 一种分子,其包含两条包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的轻链,包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的第二重链;

[0041] d) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的第二轻链;

[0042] e) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的第二轻链;

[0043] f) 一种分子,其包含两条包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的轻链,包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的第二重链;

[0044] g) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的第二轻链;

[0045] h) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的第二轻链;

[0046] i) 一种分子,其包含两条包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链,包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列的第二重链;

[0047] j) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的第二轻链;

[0048] k) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的第二轻链;和

[0049] l) 一种分子,其包含两条包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链,包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的第二重链。

[0050] 在另一个方面,本发明提供供用于与抗CD20抗体组合治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0051] (a) 至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域,

[0052] (b) 包含通过肽接头彼此连接的三个4-1BBL外域或其片段的多肽。

[0053] 在一个特定方面,提供的是供用于与抗CD20抗体组合治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是选自由下述各项组成的组的抗原结合分子:

[0054] (a) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19),包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19),和包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列的融合蛋白,

[0055] (b) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19),包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19)和包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列的融合蛋白;

[0056] (c) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19),包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19),和包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列的融合蛋白,和

[0057] (d) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19),包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19),和包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的融合蛋白。

[0058] 在另一个方面,本发明提供供用于与抗CD20抗体组合治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是抗CD19/抗4-1BB双特异性抗体。

[0059] 在又一个方面,本发明提供供用于治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB (CD137) 激动剂,其中该4-1BB激动剂与抗CD20抗体组合使用且其中该4-1BB激动剂包含至少一个能够特异性结合FAP的抗原结合域。

[0060] 在一个方面,提供的是供用于与抗CD20抗体组合治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是包含至少一个能够特异性结合FAP的抗原结合域和三个4-1BBL外域或其片段的抗原结合分子,其中该能够特异性结合FAP的抗原结合域包含

[0061] (a) 重链可变区 (V_HFAP) 和轻链可变区 (V_LFAP),该重链可变区 (V_HFAP) 包含 (i) 包含 SEQ ID NO:96的氨基酸序列的CDR-H1, (ii) 包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列的CDR-H2, 和 (iii) 包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列的CDR-H3,该轻链可变区 (V_LFAP) 包含 (iv) 包含SEQ ID NO:99的氨基酸序列的CDR-L1, (v) 包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列的CDR-L2, 和 (vi) 包含SEQ ID NO:101的氨基酸序列的CDR-L3,或

[0062] (b) 重链可变区 (V_HFAP) 和轻链可变区 (V_LFAP),该重链可变区 (V_HFAP) 包含 (i) 包含 SEQ ID NO:102的氨基酸序列的CDR-H1, (ii) 包含SEQ ID NO:103的氨基酸序列的CDR-H2, 和 (iii) 包含SEQ ID NO:104的氨基酸序列的CDR-H3,该轻链可变区 (V_LFAP) 包含 (iv) 包含 SEQ ID NO:105的氨基酸序列的CDR-L1, (v) 包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列的CDR-L2, 和 (vi) 包含SEQ ID NO:107的氨基酸序列的CDR-L3。

[0063] 在一个特定方面,提供的是供用于与抗CD20抗体组合治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是包含至少一个能够特异性结合FAP的抗原结合域和三个4-1BBL外域或其片段的抗原结合分子,其中该能够特异性结合FAP的抗原结合域包含包含SEQ ID NO:108的氨基酸序列的重链可变区 (V_HFAP) 和包含SEQ ID NO:109的氨基酸序列的轻链可变区 (V_LFAP) 或其中该能够特异性结合FAP的抗原结合域包含包含SEQ ID NO:110的氨基酸序列的重链可变区 (V_HFAP) 和包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列的轻链可变区 (V_LFAP)。在一个特定方面,该能够特异性结合FAP的抗原结合域包含包含SEQ ID NO:110的氨基酸序列的重链可变区 (V_HFAP) 和包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列的轻链可变区 (V_LFAP)。

[0064] 在一个方面,提供的是供用于与抗CD20抗体组合治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB激动剂,其中该包含至少一个能够特异性结合FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂是进一步包含由能够稳定联合的第一和第二亚基构成的Fc域的抗原结合分子。特别地,该4-1BB激动剂是包含IgG Fc域,具体是IgG1 Fc域或IgG4 Fc域的抗原结合分子。更加特别地,该4-1BB激动剂是包含包含一处或多处降低对Fc受体的结合和/或效应器功能的氨基酸替代的Fc域的抗原结合分子。在一个特定方面,该4-1BB激动剂包含包含氨基酸替代L234A,L235A和P329G的IgG1 Fc域。

[0065] 在本发明的另一个方面,提供的是供用于与抗CD20抗体组合治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0066] (a) 至少一个能够特异性结合FAP的抗原结合域,

[0067] (b) 通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,

[0068] 其中该第一多肽包含通过肽接头彼此连接的两个4-1BBL外域或其片段且其中该第二多肽包含一个4-1BBL外域或其片段。

[0069] 在另一个方面,本发明提供供用于与抗CD20抗体组合治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0070] (a) 至少一个能够特异性结合FAP的Fab域,和

[0071] (b) 通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,

[0072] 其中该抗原结合分子特征在于

[0073] (i) 分别地,该第一多肽含有CH1或CL域且该第二多肽含有CL或CH1域,其中该第二多肽与该第一多肽通过该CH1和CL域之间的二硫键连接,且其中该第一多肽包含通过肽接头彼此且与该CH1或CL域连接的两个4-1BBL外域或其片段且其中该第二多肽包含经由肽接头与所述多肽的该CL或CH1域连接的一个4-1BBL外域或其片段,或

[0074] (ii) 分别地,该第一多肽含有CH3域且该第二多肽含有CH3域,且其中该第一多肽包含通过肽接头彼此且与该CH3域的C端连接的两个4-1BBL外域或其片段且其中该第二多肽包含经由肽接头与所述多肽的该CH3域的C端连接的一个4-1BBL外域或其片段,或

[0075] (iii) 分别地,该第一多肽含有VH-CL或VL-CH1域且该第二多肽含有VL-CH1域或VH-CL域,其中该第二多肽与该第一多肽通过该CH1和CL域之间的二硫键连接,且其中该第一多肽包含通过肽接头彼此且与VH或VL连接的两个4-1BBL外域或其片段且其中该第二多肽包含经由肽接头与所述多肽的VL或VH连接的一个4-1BBL外域或其片段。

[0076] 在一个方面,提供的是供用于与抗CD20抗体组合治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0077] (a) 至少一个能够特异性结合FAP的Fab域,该能够特异性结合FAP的Fab域包含包含SEQ ID NO:108的氨基酸序列的重链可变区(V_HFAP)和包含SEQ ID NO:109的氨基酸序列的轻链可变区(V_LFAP)或包含SEQ ID NO:110的氨基酸序列的重链可变区(V_HFAP)和包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列的轻链可变区(V_LFAP),和

[0078] (b) 通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,

[0079] 其中该抗原结合分子特征在于该第一多肽包含选自由SEQ ID NO:25,SEQ ID NO:26,SEQ ID NO:27,SEQ ID NO:28,SEQ ID NO:29,SEQ ID NO:30,SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32组成的组的氨基酸序列且在于该第二多肽包含选自由SEQ ID NO:1,SEQ ID NO:2,SEQ ID NO:3,SEQ ID NO:4,SEQ ID NO:5,SEQ ID NO:6,SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8组成的组的氨基酸序列。

[0080] 在一个特定方面,提供的是供用于与抗CD20抗体组合治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是选自由下述各项组成的组的抗原结合分子:

[0081] a) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的第二轻链;

[0082] b) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的第二轻链;

[0083] c) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ

ID NO:42的氨基酸序列的第二轻链；

[0084] d) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的第二轻链；

[0085] e) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的第二轻链；

[0086] f) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的第二轻链；

[0087] g) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的第二轻链；

[0088] h) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的第二轻链；

[0089] f) 一种分子,其包含两条包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的轻链,包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的第二重链；

[0090] g) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的第二轻链；

[0091] h) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的第二轻链；

[0092] i) 一种分子,其包含两条包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列的轻链,包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:117的氨基酸序列的第二重链；和

[0093] j) 一种分子,其包含两条包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列的轻链,包含SEQ ID NO:118的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列的第二重链。

[0094] 在另一个方面,本发明提供供用于与抗CD20抗体组合治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0095] (a) 至少一个能够特异性结合FAP的抗原结合域,

[0096] (b) 包含通过肽接头彼此连接的三个4-1BBL外域或其片段的多肽。

[0097] 在另一个方面,本发明提供供用于与抗CD20抗体组合治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是抗FAP/抗4-1BB双特异性抗体。

[0098] 在所有这些方面,本发明进一步提供供用于与抗CD20抗体组合治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB激动剂,其中该抗CD20抗体包含是I型抗CD20抗体。特别是,该抗CD20抗体是利妥昔单抗。在另一个方面,本发明进一步提供供用于与抗CD20抗体组合治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB激动剂,其中该抗CD20抗体是II型抗CD20抗体。特别是,该抗CD20抗体是奥滨尤妥珠单抗。在一个方面,该抗CD20抗体是无岩藻糖基化

抗CD20抗体。在又一个方面,该抗CD20抗体是利妥昔单抗或奥滨尤妥珠单抗。

[0099] 在另一个方面,提供的是如本文中之前定义的供用于与抗CD20抗体组合治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂,且其中该组合以约一周至三周的间隔施用。

[0100] 在另一个方面,提供的是供用于与抗CD20抗体组合治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂,且其中在该组合治疗前实施用II型抗CD20抗体,优选奥滨尤妥珠单抗的预处理,其中该预处理和该组合治疗之间的时间段足以响应该II型抗CD20抗体,优选奥滨尤妥珠单抗减少该个体中的B细胞。

[0101] 在又一个方面,本发明提供一种药学产品,其包含(A)包含作为活性组分的包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂和药学可接受赋形剂的第一组合物;和(B)包含作为活性组分的抗CD20抗体和药学可接受赋形剂的第二组合物,供组合或同时治疗疾病,特别是治疗癌症中使用。

[0102] 在另一个方面,提供的是一种药学组合物,其包含包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂,和药学可接受赋形剂,和包含抗CD20抗体的第二药物。在一个方面,该药学组合物供作为药物使用。特别地,该药学组合物供治疗B细胞增殖性疾病,特别是选自由非霍奇金淋巴瘤(NHL),急性淋巴细胞性白血病(ALL),慢性淋巴细胞性白血病(CLL),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),滤泡性淋巴瘤(FL),套细胞淋巴瘤(MCL),边缘区淋巴瘤(MZL),多发性骨髓瘤(MM)和霍奇金淋巴瘤(HL)组成的组的疾病中使用。

[0103] 在一个另外的方面,本发明提供一种用于在受试者中治疗癌症或延迟癌症进展的试剂盒,其包含包装,包含(A)包含作为活性组分的包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂和药学可接受赋形剂的第一组合物;(B)包含作为活性组分的抗CD20抗体和药学可接受赋形剂的第二组合物;和(C)关于在组合疗法中使用该组合物的用法说明书。

[0104] 在又一个方面,本发明涉及包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂和抗CD20抗体的组合在制造用于治疗增殖性疾病,特别是癌症或延迟增殖性疾病,特别是癌症进展的药物中的用途。

[0105] 特别地,提供的是包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂和抗CD20抗体的组合在制造用于治疗选自由非霍奇金淋巴瘤(NHL),急性淋巴细胞性白血病(ALL),慢性淋巴细胞性白血病(CLL),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),滤泡性淋巴瘤(FL),套细胞淋巴瘤(MCL),边缘区淋巴瘤(MZL),多发性骨髓瘤(MM)和霍奇金淋巴瘤(HL)组成的组的疾病的药物中的用途。

[0106] 在另一个方面,本发明提供一种用于在受试者中治疗癌症或延迟癌症进展的方法,其包含对该受试者施用有效量的包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂和有效量的抗CD20抗体。特别地,本发明涉及一种用于在受试者中治疗癌症或延迟癌症进展的方法,其中该4-1BB激动剂是包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的抗原结合分子。在一个方

面,该4-1BB激动剂是包含Fc域的抗原结合分子。在一个特定方面,该4-1BB激动剂是包含有降低Fc γ 受体结合和/或效应器功能的修饰的Fc域的抗原结合分子。在一个特定方面,该包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂是包含三个4-1BBL外域或其片段的抗原结合分子。更加特别地,该4-1BB激动剂是包含三个4-1BBL外域或其片段和能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的抗原结合分子。

[0107] 在又一个方面,本发明提供一种用于在受试者中治疗癌症或延迟癌症进展的方法,其包含对该受试者施用有效量的包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂和有效量的抗CD20抗体,其中该包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂和该抗CD20抗体在单一组合中一起施用或在两种或更多种不同组合中分开施用。特别地,该包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂和该抗CD20抗体静脉内或皮下施用。在又一个方面,该包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂与该抗CD20抗体伴随施用。

[0108] 附图简述

[0109] 图1显示实施例中使用的具体CD19-4-1BBL抗原结合分子。分别在实施例1和2中更加详细地描述这些分子。深黑色点代表节-入-穴修饰。图1A显示在邻近4-1BBL二聚体和4-1BBL单体的CH1和CL域中有氨基酸修饰的单价CD19含有4-1BBL三聚体的抗原结合分子。因为它包含CD19结合物8B8-018,所以它在本文中命名为mono CD19(018)-4-1BBL。图1B中显示的构建物与1A的不同在于它包含CD19结合物8B8-2B11且因而称作mono CD19(2B11)-4-1BBL。图1D显示有结合物CD19(018)的二价构建物,称作bi CD19(018)-4-1BBL。图1C和1E显示非靶向性对照分子(CD19结合物已经用非结合性DP47 Fab替换)。图1F显示包含鼠4-1BBL二聚体和鼠4-1BBL单体的单价CD19含有4-1BBL-三聚体的抗原结合分子,在本文中称作杂合CD19-4-1BBL或CD19- μ 4-1BBL。

[0110] 图2A图示测量CD19靶向性三聚体分拆4-1BBL对鼠4-1BB和人CD19的同时结合的测定法的设置(实施例2)。图2B中的图显示杂合替代物CD19- μ 4-1BBL(分析物1)对固定化的鼠4-1BB和人CD19(分析物2)的同时结合。

[0111] 在图3A至3C中显示的是在啮合NHL细胞系,即WSU-DLCL2(CD19⁺CD20^高) (图3A),SU-DHL-8(CD19⁺CD20^低) (图3B),或Nam1-6(CD19⁺CD20^低) (图3C)时CD19-4-1BBL能加强由利妥昔单抗或奥滨尤妥珠单抗(Gazyva)活化的NK细胞(IFN γ 释放)的活化。

[0112] 图4A至4C显示在啮合NHL细胞系,即WSU-DLCL2(CD19⁺CD20^高) (图4A),SU-DHL-8(CD19⁺CD20^低) (图4B),或Nam1-6(CD19⁺CD20^低) (图4C)时通过组合CD19-4-1BBL与利妥昔单抗或奥滨尤妥珠单抗(Gazyva),NK细胞的活化(CD25上调)得到加强。

[0113] 在图5A至5C中显示的是在啮合NHL细胞系WSU-DLCL2(图5A),SU-DHL-8(图5B),或Nam1-6(图5C)时CD19-4-1BBL和奥滨尤妥珠单抗(Gazyva)的组合加强NK细胞的活化(CD25上调),而乌瑞鲁单抗与奥滨尤妥珠单抗的组合并不。

[0114] 图6显示在huCD16Tg Scid小鼠中与利妥昔单抗组合的单价杂合CD19-4-1BBL分子(mono CD19- μ 4-1BBL)的体内功效研究的方案。在下面的表中定义接受不同组合和剂量的小鼠亚组。在实施例4中描述实验且在图7A和7B中显示结果。mono CD19- μ 4-1BBL与利妥昔

单抗的组合确实在测试的所有剂量中诱导与利妥昔单抗的单药疗法或mono CD19-mu4-1BBL的单药疗法相比更强且更快的肿瘤生长抑制。如图7B中显示的,研究终止时的肿瘤重量确认了这些发现。

[0115] 图8显示在携带WSU-DLCL2的完全人源化NSG小鼠中与奥滨尤妥珠单抗(Gazyva)组合的单价CD19(2B11)-4-1BBL构建物的体内功效研究的方案。在下面的表中定义接受不同组合和剂量的小鼠亚组。在实施例5中描述实验且在图9中显示结果。mono CD19(2B11)-4-1BBL与Gazyva的组合诱导与Gazyva的单药疗法相比强得多的肿瘤生长抑制。

[0116] 发明详述

[0117] 定义

[0118] 除非另有定义,本文中使用的技术和科学术语具有与此发明所属领域中一般使用的相同的含义。出于解释此说明书的目的,会应用下述定义,而且在适宜时,以单数使用的术语还会包括复数,反之亦然。

[0119] 如本文中使用的,术语“抗原结合分子”以其最广义指特异性结合抗原性决定簇的分子。抗原结合分子的例子是抗体,抗体片段和支架抗原结合蛋白。

[0120] 术语“抗体”在本文中以最广义使用且涵盖各种抗体结构,包括但不限于单克隆抗体,多克隆抗体,单特异性和多特异性抗体(例如双特异性抗体),和抗体片段,只要它们展现期望的抗原结合活性。

[0121] 如本文中使用的术语“单克隆抗体”指自实质性同质的抗体群体获得的抗体,即构成该群体的抗体个体是同一的和/或结合相同表位,除了可能的抗体变体,例如,含有天然发生的突变的或在单克隆抗体制备物的生成期间产生的,此类变体一般以微量存在。与典型地包括针对不同决定簇(表位)的不同抗体的多克隆抗体制备物形成对比,单克隆抗体制备物中的每个单克隆抗体针对抗原上的单一决定簇。

[0122] 如本文中使用的术语“单特异性”抗体表示具有一个或多个结合位点的抗体,每个该位点结合相同抗原的相同表位。术语“双特异性”意味着抗原结合分子能够特异性结合至少两种截然不同的抗原性决定簇。典型地,双特异性抗原结合分子包含两个抗原结合位点,其每个是对不同抗原性决定簇特异性的。在某些实施方案中,双特异性抗原结合分子能够同时结合两种抗原性决定簇,特别是在两种截然不同的细胞上表达的两种抗原性决定簇。

[0123] 如本申请内使用的术语“价”表示抗原结合分子中规定数目的结合位点的存在。照此,术语“二价”,“四价”,和“六价”分别表示抗原结合分子中两个结合位点,四个结合位点,和六个结合位点的存在。“单价”表示抗原结合分子中仅仅一个针对特定靶物的结合域的存在。

[0124] 术语“全长抗体”,“完整抗体”,和“全抗体”在本文中可互换使用,指具有与天然抗体结构实质性相似的结构抗体。“天然抗体”指具有不同结构的天然发生的免疫球蛋白分子。例如,天然IgG类抗体是约150,000道尔顿的异四聚体糖蛋白,由成二硫键的两条轻链和两条重链构成。自N端至C端,每条重链具有一个可变区(VH),也称作可变重域或重链可变域,接着是三个恒定域(CH1,CH2,和CH3),也称作重链恒定区。类似地,自N端至C端,每条轻链具有一个可变区(VL),也称作可变轻域或轻链可变域,接着是一个轻链恒定域(CL),也称作轻链恒定区。抗体的重链可指派至五种型之一,称作 α (IgA), δ (IgD), ϵ (IgE), γ (IgG),或 μ (IgM),其中一些可进一步分成亚型,例如 γ 1(IgG1), γ 2(IgG2), γ 3(IgG3), γ 4(IgG4), α

1 (IgA1) 和 α 2 (IgA2)。基于其恒定域的氨基酸序列,抗体的轻链可指派至两种型之一,称作卡帕(κ)和拉姆达(λ)。

[0125] “抗体片段”指与完整抗体不同的分子,其包含完整抗体中与完整抗体所结合的抗原结合的部分。抗体片段的例子包括但不限于Fv,Fab,Fab',Fab'-SH,F(ab')₂;双抗体,三抗体,四抗体,交叉Fab片段;线性抗体;单链抗体分子(例如scFv);和单域抗体。关于某些抗体片段的综述,参见Hudson et al.,*Nat Med* 9,129-134(2003)。关于scFv片段的综述,参见例如Plückthun,in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*,vol.113,Rosenburg and Moore eds.,Springer-Verlag,New York,pp.269-315(1994);还参见W0 93/16185;和美国专利No.5,571,894和5,587,458。关于包含挽救受体结合表位残基且具有延长的体内半衰期的Fab和F(ab')₂片段的讨论,参见美国专利No.5,869,046。双抗体是具有两个抗原结合位点的抗体片段,其可以是二价或双特异性的,参见例如EP 404,097;W0 1993/01161;Hudson et al.,*Nat Med* 9,129-134(2003);和Hollinger et al.,*Proc Natl Acad Sci USA* 90,6444-6448(1993)。Hudson et al.,*Nat Med* 9,129-134(2003)中还描述了三抗体和四抗体。单域抗体是包含抗体的重链可变域的全部或一部分或轻链可变域的全部或一部分的抗体片段。在某些实施方案中,单域抗体是人单域抗体(Domantis,Inc.,Waltham,MA;参见例如美国专利No.6,248,516 B1)。可以通过各种技术来生成抗体片段,包括但不限于完整抗体的蛋白水解消化以及通过重组宿主细胞(例如大肠杆菌或噬菌体)的生成,如本文中描述的。

[0126] 完整抗体的木瓜蛋白酶消化生成两个同一的抗原结合片段,称作“Fab”片段,每个含有重和轻链可变域,还有轻链的恒定域和重链的第一恒定域(CH1)。如此,如本文中使用的,术语“Fab片段”指包含包含轻链的VL域和恒定域(CL)的轻链片段,和重链的VH域和第一恒定域(CH1)的抗体片段。Fab'片段因在重链CH1域的羧基末端增加少数残基而与Fab片段不同,包括来自抗体铰链区的一个或多个半胱氨酸。Fab'-SH是其中恒定域的半胱氨酸残基携带游离硫醇基团的Fab'片段。胃蛋白酶处理产生具有两个抗原结合位点(两个Fab片段)和Fc区的一部分的F(ab')₂片段。

[0127] 术语“交叉Fab片段”或“xFab片段”或“交换Fab片段”指其中重和轻链的可变区或恒定区任一交换的Fab片段。交换Fab分子的两种不同链组成是可能的且包含在本发明的双特异性抗体中:一方面,Fab重和轻链的可变区交换,即交换Fab分子包含由轻链可变区(VL)和重链恒定区(CH1)构成的肽链,和由重链可变区(VH)和轻链恒定区(CL)构成的肽链。这种交换Fab分子也称作CrossFab_(VLVH)。另一方面,当Fab重和轻链的恒定区交换时,交换Fab分子包含由重链可变区(VH)和轻链恒定区(CL)构成的肽链,和由轻链可变区(VL)和重链恒定区(CH1)构成的肽链。这种交换Fab分子也称作CrossFab_(CLCH1)。

[0128] “单链Fab片段”或“scFab”是由抗体重链可变域(VH),抗体恒定域1(CH1),抗体轻链可变域(VL),抗体轻链恒定域(CL)和接头组成的多肽,其中所述抗体域和所述接头以N端至C端方向具有下述次序之一:a) VH-CH1-接头-VL-CL,b) VL-CL-接头-VH-CH1,c) VH-CL-接头-VL-CH1或d) VL-CH1-接头-VH-CL;且其中所述接头是至少30个氨基酸,优选32至50个氨基酸的多肽。所述单链Fab片段经由CL域和CH1域之间的天然二硫键而稳定化。另外,这些单链Fab分子可通过经由半胱氨酸残基的插入(例如依照Kabat编号方式的可变重链中的位置44和可变轻链中的位置100)生成链间二硫键而进一步稳定化。

[0129] “交换单链Fab片段”或“x-scFab”是由抗体重链可变域(VH),抗体恒定域1(CH1),抗体轻链可变域(VL),抗体轻链恒定域(CL)和接头组成的多肽,其中所述抗体域和所述接头以N端至C端方向具有下述次序之一:a) VH-CL-接头-VL-CH1和b) VL-CH1-接头-VH-CL;其中VH和VL一起形成特异性结合抗原的抗原结合位点,且其中所述接头是至少30个氨基酸的多肽。另外,这些x-scFab分子可通过经由半胱氨酸残基的插入(例如依照Kabat编号方式的可变重链中的位置44和可变轻链中的位置100)生成链间二硫键而进一步稳定化。

[0130] “单链可变片段(scFv)”是以10至约25个氨基酸的短接头肽连接的抗体的重(V_H)和轻(V_L)链可变区的融合蛋白。接头经常富含出于柔性的甘氨酸,以及出于溶解性的丝氨酸或苏氨酸,而且可将V_H的N端与V_L的C端连接,或反之亦然。尽管去除恒定区并引入接头,此蛋白质保留原始抗体的特异性。scFv抗体描述于例如Houston, J.S., *Methods in Enzymol.* 203 (1991) 46-96。另外,抗体片段包含具有VH域的特征(即能够与VL域一起装配)或VL域的特征(即能够与VH域一起装配)的单链多肽,VH域与VL域一起装配成功能性抗原结合位点并由此提供全长抗体的抗原结合特性。

[0131] “支架抗原结合蛋白”在本领域中是已知的,例如,纤连蛋白和设计的锚蛋白重复蛋白(DARPin)已经用作抗原结合域的备选支架,参见例如Gebauer and Skerra, *Engineered protein scaffolds as next-generation antibody therapeutics. Curr Opin Chem Biol* 13:245-255 (2009) 和 Stump et al., *Darpins: A new generation of protein therapeutics. Drug Discovery Today* 13:695-701 (2008)。在本发明的一个方面,支架抗原结合蛋白选自CTLA-4 (Evibody), 脂质运载蛋白(Anticalin), 蛋白A衍生的分子, 诸如蛋白A的Z域(Affibody), A域(Avimer/Maxibody), 血清转铁蛋白(trans-body); 设计的锚蛋白重复蛋白(DARPin), 抗体轻链或重链的可变域(单域抗体, sdAb), 抗体重链的可变域(纳米抗体, aVH), V_{NAR}片段, 纤连蛋白(AdNectin), C型凝集素域(Tetranectin); 新的抗原受体β-内酰胺酶的可变域(V_{NAR}片段), 人γ-晶体蛋白或泛素(Affilin分子); 人蛋白酶抑制剂的kunitz型域, 微体, 诸如来自knottin家族的蛋白质, 肽适体和纤连蛋白(adnectin)组成的组。

[0132] 脂质运载蛋白是一个细胞外蛋白质家族,其转运小的疏水性分子,诸如类固醇,胆红素,类视黄醇和脂质。它们具有刚性β-片层二级结构,在锥形结构的开口端具有一些环,能改造成结合不同靶抗原。Anticalin的尺寸介于160-180个氨基酸之间,而且衍生自脂质运载蛋白。进一步的详情参见Biochim Biophys Acta 1482:337-350 (2000), US7250297B1 和US20070224633。

[0133] 设计的锚蛋白重复蛋白(DARPin)衍生自锚蛋白,锚蛋白是介导整合膜蛋白附着至细胞骨架的一个蛋白质家族。单个锚蛋白重复是一个33个残基的基序,由两个α-螺旋和一个β-转角组成。通过随机化每个重复的第一个α-螺旋和β-转角中的残基,它们能改造成结合不同靶抗原。通过增加模块的数目(亲和力成熟的一种方法)能增加它们的结合界面。进一步的详情参见J.Mol.Biol. 332, 489-503 (2003), PNAS 100 (4), 1700-1705 (2003) 和 J.Mol.Biol. 369, 1015-1028 (2007) 和US20040132028A1。

[0134] 单域抗体是由单个单体可变抗体域组成的抗体片段。第一种单域是自来自骆驼科动物(camelids)的抗体重链的可变域衍生的(纳米抗体或V_HH片段)。而且,术语单域抗体包括自主的(autonomous)人重链可变域(aVH)或自鲨鱼衍生的V_{NAR}片段。

[0135] 与参照分子“结合相同表位的抗原结合分子”指如下的抗原结合分子,抗原结合分子在竞争测定法中将参照分子对其抗原的结合阻断50%或更多,相反,参照分子在竞争测定法中将抗原结合分子对其抗原的结合阻断50%或更多。

[0136] 术语“抗原结合域”指抗原结合分子中包含与抗原的部分或全部特异性结合且互补的区域的部分。在抗原较大的情况中,抗原结合分子可仅仅结合抗原的特定部分,该部分称作表位。抗原结合域可以由例如一个或多个可变域(也称作可变区)提供。优选地,抗原结合域包含抗体轻链可变区(VL)和抗体重链可变区(VH)。

[0137] 如本文中使用的,术语“抗原性决定簇”与“抗原”和“表位”同义,而且指多肽大分子上的如下位点(例如氨基酸的连续区段或由不连续氨基酸的不同区域构成的构象构造),抗原结合模块与该位点结合,形成抗原结合模块-抗原复合物。有用的抗原性决定簇可以例如在肿瘤细胞的表面上,在病毒感染的细胞的表面上,在其它患病细胞的表面上,在免疫细胞的表面上,游离在血清中,和/或在细胞外基质(ECM)中找到。作为本文中的抗原有用的蛋白质可以是来自任何脊椎动物来源的蛋白质的任何天然形式,包括哺乳动物,诸如灵长类(例如人)和啮齿类(例如小鼠和大鼠),除非另外指明。在一个特定实施方案中,抗原是人蛋白质。在提及本文中的特定蛋白质的情况中,该术语涵盖“全长”未加工的蛋白质以及源自细胞中的加工的任何形式的蛋白质。该术语还涵盖蛋白质的天然发生变体,例如剪接变体或等位变体。

[0138] “特异性结合”意味着结合对于抗原是选择性的且可以与不想要的或非特异性的相互作用区分开。抗原结合分子结合特定抗原的能力可经由酶联免疫吸附测定法(ELISA)或本领域技术人员熟悉的其它技术来测量,例如表面等离子共振(SPR)技术(在BIAcore仪器上分析)(Liljeblad et al., Glyco J 17, 323-329 (2000)),和传统的结合测定法(Heeley, Endocr Res 28, 217-229 (2002))。在一个实施方案中,抗原结合分子对无关蛋白质的结合的程度小于抗原结合分子对抗原的结合的约10%,如通过例如SPR测量的。在某些实施方案中,结合抗原的分子具有 $\leq 1\mu\text{M}$, $\leq 100\text{nM}$, $\leq 10\text{nM}$, $\leq 1\text{nM}$, $\leq 0.1\text{nM}$, $\leq 0.01\text{nM}$, 或 $\leq 0.001\text{nM}$ (例如 10^{-8}M 或更小,例如 10^{-8}M 至 10^{-13}M ,例如 10^{-9}M 至 10^{-13}M)的解离常数(Kd)。

[0139] “亲和力”或“结合亲和力”指分子(例如抗体)的单一结合位点和其结合配偶(例如抗原)之间的非共价相互作用的总和的强度。除非另外指明,如本文中使用的,“结合亲和力”指反映结合对(例如抗体和抗原)的成员之间的1:1相互作用的内在结合亲和力。分子X对其配偶Y的亲和力一般可以用解离常数(Kd)来代表,它是解离和结合速率常数(分别是 k_{off} 和 k_{on})的比。如此,等同的亲和力可包含不同的速率常数,只要速率常数的比保持相同。可以通过本领域已知的常用方法来测量亲和力,包括本文中描述的那些。用于测量亲和力的一种特定方法是表面等离子共振(SPR)。

[0140] 如本文中使用的“B细胞抗原”指在B淋巴细胞,特别是恶性B淋巴细胞(在该情况中,抗原也称作“恶性B细胞抗原”)的表面上呈现的抗原性决定簇。

[0141] 术语“肿瘤相关抗原”意指任何由肿瘤细胞或在肿瘤基质中高度表达的抗原。特定的肿瘤相关抗原是CD19或FAP。

[0142] 术语“CD19”指B淋巴细胞抗原CD19,也称作B淋巴细胞表面抗原B4或T细胞表面抗原Leu-12,而且包括任何脊椎动物来源的任何天然CD19,包括哺乳动物,诸如灵长类动物(例如人),非人灵长类动物(例如食蟹猴)和啮齿类动物(例如小鼠和大鼠),除非另外指明。

人CD19的氨基酸序列在Uniprot登录号P15391 (版本160, SEQ ID NO:62) 中显示。该术语涵盖“全长的”, 未加工的人CD19以及源自细胞中加工的任何形式的人CD19, 只要本文中报告的抗体与其之结合。CD19是在人B细胞的表面上表达的结构上独特的细胞表面受体, 所述B细胞包括但不限于前B细胞, 处于早期发育中的B细胞 (即未成熟B细胞), 通过终末分化成浆细胞的成熟B细胞, 和恶性B细胞。CD19由大多数前B急性成淋巴细胞性白血病 (ALL), 非霍奇金氏淋巴瘤, B细胞慢性淋巴细胞性白血病 (CLL), 原淋巴细胞性白血病, 毛细胞白血病, 常见急性淋巴细胞性白血病, 和一些Nu11-急性成淋巴细胞性白血病表达。CD19在浆细胞上的表达进一步提示它可能在已分化的B细胞肿瘤诸如多发性骨髓瘤上表达。因此, CD19抗原是治疗非霍奇金氏淋巴瘤, 慢性淋巴细胞性白血病和/或急性成淋巴细胞性白血病的免疫疗法的靶标。

[0143] 术语“CD20”指B淋巴细胞抗原CD20, 也称作B淋巴细胞表面抗原B1或白细胞表面抗原Leu-16, 而且包括来自任何脊椎动物来源的任何天然CD20, 包括哺乳动物, 诸如灵长类动物 (例如人), 非人灵长类动物 (例如食蟹猴) 和啮齿类动物 (例如小鼠和大鼠), 除非另外指明。人CD20的氨基酸序列在Uniprot登录号P11836 (版本149, SEQ ID NO:63) 中显示。CD20是一种疏水性跨膜蛋白, 具有大约35kD的分子量, 在前B和成熟B淋巴细胞上表达。对应的人基因是跨膜4域, 亚家族A, 成员1, 也称作MS4A1。这种基因编码跨膜4A基因家族的一个成员。这个新生蛋白质家族的成员特征在于共同的结构特征和相似的内含子/外显子剪接边界且在造血细胞和非淋巴样组织间展示独特的表达样式。这种基因编码一种在B细胞发育和分化成浆细胞中发挥作用的B淋巴细胞表面分子。这个家族成员在一簇家族成员间定位于11q12。这种基因的可变剪接产生编码相同蛋白的两种转录物变体。术语“CD20”涵盖“全长的”, 未加工的CD20以及源自细胞中加工的任何形式的CD20。该术语还涵盖CD20的天然发生变体, 例如剪接变体或等位变体。

[0144] 术语“抗CD20抗体”和“结合CD20的抗体”指能够以足够的亲和力结合CD20, 使得抗体可用作靶向CD20中的诊断和/或治疗剂的抗体。在一个实施方案中, 抗CD20抗体对无关的、非CD20蛋白的结合程度小于抗体对CD20的结合的约10%, 如例如通过放射性免疫测定法 (RIA) 测量的。在某些实施方案中, 结合CD20的抗体具有 $\leq 1\mu\text{M}$ 、 $\leq 100\text{nM}$ 、 $\leq 10\text{nM}$ 、 $\leq 1\text{nM}$ 、 $\leq 0.1\text{nM}$ 、 $\leq 0.01\text{nM}$ 、或 $\leq 0.001\text{nM}$ (例如 10^{-8}M 或更少, 例如 10^{-8}M 至 10^{-13}M , 例如 10^{-9}M 至 10^{-13}M) 的解离常数 (Kd)。在某些实施方案中, 抗CD20抗体结合在来自不同物种的CD20间保守的CD20表位。

[0145] “II型抗CD20抗体”意指具有Cragg et al., Blood 103 (2004) 2738-2743; Cragg et al., Blood 101 (2003) 1045-1052; Klein et al., mAbs 5 (2013), 22-33中描述的, 及下文表1中汇总的II型抗CD20抗体的结合特性和生物学活性的抗CD20抗体。

[0146] 表A: I型和II型抗CD20抗体的特性

I型抗CD20抗体	II型抗CD20抗体
结合I类CD20表位	结合II类CD20表位
将CD20定位于脂筏	不将CD20定位于脂筏
高CDC*	低CDC*
ADCC活性*	ADCC活性*
完全结合B细胞的能力	大约一半结合B细胞的能力

弱同型聚集	同型聚集
低细胞死亡诱导	强细胞死亡诱导

[0148] *若为IgG1同种型的话

[0149] II型抗CD20抗体的例子包括例如奥滨尤妥珠单抗(obinutuzumab) (GA101), 托西莫单抗(tositumumab) (B1), 人源化的B-Ly1抗体IgG1(一种嵌合的人源化IgG1抗体, 如披露于W0 2005/044859), 11B8 IgG1(如披露于W02004/035607)和AT80 IgG1。

[0150] 在一个方面, 该II型抗CD20抗体包含包含SEQ ID NO:73的HCDR1, SEQ ID NO:74的HCDR2, 和SEQ ID NO:75的HCDR3的重链可变区序列(V_HCD20)和包含SEQ ID NO:76的LCDR1, SEQ ID NO:77的LCDR2, 和SEQ ID NO:78的LCDR3的轻链可变区序列(V_LCD20)。在另一个方面, 该II型抗CD20抗体改造成具有Fc区中与未改造的抗体相比比例升高的非岩藻糖基化的寡糖。在一个方面, 该II型抗CD20抗体的Fc区中至少约40%的N连接的寡糖是非岩藻糖基化的。

[0151] 在一个特定方面, 该II型抗CD20抗体是奥滨尤妥珠单抗(obinutuzumab) (推荐的INN, WHO药物信息, Vol.26, No.4, 2012, p.453)。如本文中使用的, 奥滨尤妥珠单抗与GA101同义。商品名称是**GAZYVA®**或**GAZYVARO®**。这替换所有先前的型式(例如Vol.25, No.1, 2011, p.75-76), 而且以前称作afutuzumab(推荐的INN, WHO药物信息, Vol.23, No.2, 2009, p.176; Vol.22, No.2, 2008, p.124)。在一个实施方案中, 该II型抗CD20抗体包含SEQ ID NO:79的重链可变区序列和SEQ ID NO:80的轻链可变区序列。在一个方面, 该II型抗CD20抗体是托西莫单抗(tositumomab)。

[0152] “I型抗CD20抗体”意味着选自由利妥昔单抗(rituximab), 奥法木单抗(ofatumumab), 维妥珠单抗(veltuzumab), ocaratuzumab, 奥瑞珠单抗(ocrelizumab), PR0131921, ublituximab, HI47 IgG3 (ECACC, 杂交瘤), 2C6IgG1(如披露于W0 2005/103081), 2F2 IgG1(如披露于W0 2004/035607和W0 2005/103081)和2H7 IgG1(如披露于W0 2004/056312)组成的组的抗CD20抗体。一种特定的I型抗CD20抗体是利妥昔单抗。

[0153] “利妥昔单抗”是一种针对人CD20抗原的遗传工程的嵌合的含有人伽马1鼠恒定域的单克隆抗体。这种嵌合抗体含有人伽马1恒定域且在转让给IDEC Pharmaceuticals Corporation的1998年4月17日公告的US 5,736,137 (Andersen等人)中以名称“C2B8”鉴别。利妥昔单抗批准用于治疗具有复发性或不应性低级或滤泡性, CD20阳性, B细胞非霍奇金氏淋巴瘤的患者。体外作用机制研究显示利妥昔单抗展现人补体介导的细胞毒性(CDC) (Reff, M.E.et.al., Blood 83(1994)435-445)。另外, 它在测量抗体依赖性细胞的细胞毒性(ADCC)的测定法中展现显著的活性。利妥昔单抗不是无岩藻糖基化的。

[0154] 术语“人源化B-Ly1抗体”指如W0 2005/044859和W0 2007/031875中所披露的人源化B-Ly1抗体, 其通过用来自IgG1的人恒定域嵌合化及接着的人源化自鼠单克隆抗CD20抗体B-Ly1(鼠重链可变区(V_H):SEQ ID NO:64;鼠轻链可变区(V_L):SEQ ID NO:65(参见Poppema, S.and Visser, L., Biotest Bulletin 3(1987)131-139)获得(参见W0 2005/044859和W0 2007/031875)。这些“人源化B-Ly1抗体”详细披露于W0 2005/044859和W0 2007/031875。

[0155] 术语“成纤维细胞活化蛋白(FAP)”, 也称作脯氨酰内肽酶FAP或分离酶(Seprase) (EC 3.4.21), 指来自任何脊椎动物来源的任何天然FAP, 包括哺乳动物, 诸如灵长类(例如

人),非人灵长类(例如食蟹猴)和啮齿类(例如小鼠和大鼠),除非另外指明。该术语包括“全长”未加工的FAP以及源自细胞中的加工的任何形式的FAP。该术语还涵盖FAP的天然发生变体,例如剪接变体或等位变体。在一个实施方案中,本发明的抗原结合分子能够特异性结合人,小鼠和/或食蟹猴FAP。人FAP的氨基酸序列在UniProt(www.uniprot.org)登录号Q12884(版本149,SEQ ID NO:120),或NCBI(www.ncbi.nlm.nih.gov/)RefSeq NP_004451.2中显示。人FAP的细胞外结构域(ECD)自氨基酸位置26延伸至760。带His标签的人FAP ECD的氨基酸序列在SEQ ID NO:121中显示。小鼠FAP的氨基酸序列在UniProt登录号P97321(版本126,SEQ ID NO:122),或NCBI RefSeq NP_032012.1中显示。小鼠FAP的细胞外结构域(ECD)自氨基酸位置26延伸至761。SEQ ID NO:123显示带His标签的小鼠FAP ECD的氨基酸序列。SEQ ID NO:124显示带His标签的食蟹猴FAP ECD的氨基酸序列。优选地,本发明的抗FAP结合分子结合FAP的细胞外结构域。例示性抗FAP结合分子在国际专利申请No.WO 2012/020006 A2中描述。

[0156] 术语“降低”(及其语法变型,诸如“缩小”或“减轻”),例如B细胞的数目或细胞因子释放降低,指通过本领域已知的适宜方法测量的相应数量的降低。为了清楚起见,该术语还包括降低至零(或低于分析方法的检测限),即完全消除或消除。相反,“升高”指相应数量的升高。

[0157] 如本文中使用的“T细胞抗原”指在T淋巴细胞,特别是细胞毒性T淋巴细胞的表面上呈现的抗原性决定簇。

[0158] 如本文中使用的“T细胞活化性治疗剂”指能够在受试者中诱导T细胞活化的治疗剂,特别是为在受试者中诱导T细胞活化而设计的治疗剂。T细胞活化性治疗剂的例子包括特异性结合活化性T细胞抗原,诸如CD3,和靶细胞抗原,诸如CD20或CD19的双特异性抗体。别的例子包括包含T细胞活化性域和特异性结合靶细胞抗原,诸如CD20或CD19的抗原结合模块的嵌合抗原受体(CAR)。

[0159] 如本文中使用的“活化性T细胞抗原”指由T淋巴细胞,特别是细胞毒性T淋巴细胞表达的抗原性决定簇,其在与抗原结合分子相互作用后能诱导或增强T细胞活化。特别地,抗原结合分子与活化性T细胞抗原的相互作用可诱导T细胞活化,其通过触发T细胞受体复合物的信号传导级联进行。一种例示性活化性T细胞抗原是CD3。

[0160] 术语“可变区”或“可变域”指抗体重或轻链中牵涉抗原结合分子结合抗原的域。天然抗体的重链和轻链的可变域(分别是VH和VL)一般具有相似的结构,每个域包含四个保守的框架区(FR)和三个高变区(HVR)。参见例如Kindt et al.,Kuby Immunology,6th ed.,W.H.Freeman and Co.,p.91(2007)。单个VH或VL域可足以赋予抗原结合特异性。

[0161] 如本文中使用的,术语“高变区”或“HVR”指抗体可变域中在序列上高变和/或形成结构上限定的环(“高变环”)的每个区域。一般地,天然四链抗体包含六个HVR:三个在VH中(H1,H2,H3),三个在VL中(L1,L2,L3)。HVR一般包含来自高变环和/或来自“互补决定区”(CDR)的氨基酸残基,后者具有最高的序列变异性和/或牵涉抗原识别。例示性高变环发生于氨基酸残基26-32(L1),50-52(L2),91-96(L3),26-32(H1),53-55(H2),和96-101(H3)(Chothia and Lesk,J.Mol.Biol.196:901-917(1987))。例示性CDR(CDR-L1,CDR-L2,CDR-L3,CDR-H1,CDR-H2,和CDR-H3)发生于氨基酸残基24-34(L1),50-56(L2),89-97(L3),31-35B(H1),50-65(H2),和95-102(H3)(Kabat et al.,Sequences of Proteins of

Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991))。

[0162] 高变区 (HVR) 也称作互补决定区 (CDR), 而且在提到可变区中形成抗原结合区的部分时, 这些术语在本文中可互换使用。这个特定区域已经由 Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of Proteins of Immunological Interest" (1983) 和由 Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987) 描述, 其中定义包括在针对彼此比较时的氨基酸残基的交叠或子集。无论如何, 应用任一定义来提及抗体的 CDR 或其变体意图在如本文中定义和使用的术语的范围内。涵盖如由上文引用的每一篇参考文献定义的 CDR 的适宜氨基酸残基在下文表 B 中作为比较列出。涵盖特定 CDR 的确切残基编号会取决于 CDR 的序列和大小而变化。基于抗体的可变区氨基酸序列, 本领域技术人员能例行确定哪些残基构成特定 CDR。

[0163] 表 B: CDR 定义¹

	CDR	Kabat	Chothia	AbM²
	V _H CDR1	31-35	26-32	26-35
[0164]	V _H CDR2	50-65	52-58	50-58
	V _H CDR3	95-102	95-102	95-102
	V _L CDR1	24-34	26-32	24-34
	V _L CDR2	50-56	50-52	50-56
[0165]	V _L CDR3	89-97	91-96	89-97

[0166] ¹表 A 中的所有 CDR 定义的编号方式依照 Kabat 等人 (见下文) 列出的编号规则。

[0167] ²如表 A 中使用的具有小写 "b" 的 "AbM" 指如由 Oxford Molecular 的 "AbM" 抗体建模软件定义的 CDR。

[0168] Kabat 等人还定义了可应用于任何抗体的可变区序列的编号系统。本领域普通技术人员能明确地将 "Kabat 编号方式" 的这种系统指派给任何可变区序列, 不依赖于超出序列本身的任何实验数据。如本文中使用的, "Kabat 编号方式" 是指由 Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequence of Proteins of Immunological Interest" (1983) 中列出的编号系统。除非另有规定, 抗体可变区中具体氨基酸残基位置的编号的提及依照 Kabat 编号系统。

[0169] 除了 V_H 中的 CDR1 之外, CDR 一般包含形成高变环的氨基酸残基。CDR 还包含 "特异性决定残基" 或 "SDR", 它们是接触抗原的残基。SDR 包含在称作缩短 CDR 或 a-CDR 的 CDR 区域中。例示性 a-CDR (a-CDR-L1, a-CDR-L2, a-CDR-L3, a-CDR-H1, a-CDR-H2, 和 a-CDR-H3) 发生于氨基酸残基 31-34 (L1), 50-55 (L2), 89-96 (L3), 31-35B (H1), 50-58 (H2), 和 95-102 (H3) (参见 Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008))。除非另外指明, HVR 残基和可变域中的其它残基 (例如 FR 残基) 在本文中依照 Kabat 等人, 见上文编号。

[0170] 如本文中使用的, 在抗原结合分子 (例如抗体) 的语境中术语 "亲和力成熟的" 指如下的抗原结合分子, 其例如通过突变而自参照抗原结合分子衍生, 与参照抗体结合相同抗原, 优选结合相同表位; 且对抗原具有比参照抗原结合分子要高的亲和力。亲和力成熟一般

牵涉修饰抗原结合分子的一个或多个CDR中的一个或多个氨基酸残基。典型地,亲和力成熟的抗原结合分子与初始参照抗原结合分子结合相同表位。

[0171] “框架”或“FR”指除了高变区(HVR)残基之外的可变域残基。可变域的FR一般由四个FR域组成:FR1,FR2,FR3,和FR4。因而,HVR和FR序列一般在VH(或VL)中以下述顺序出现:FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

[0172] 出于本文中的目的,“受体人框架”是包含自如下文定义的人免疫球蛋白框架或人共有框架衍生的轻链可变域(VL)框架或重链可变域(VH)框架的氨基酸序列的框架。“自”人免疫球蛋白框架或人共有框架“衍生”的受体人框架可包含其相同的氨基酸序列,或者它可含有氨基酸序列变化。在一些实施方案中,氨基酸变化的数目是10或更少,9或更少,8或更少,7或更少,6或更少,5或更少,4或更少,3或更少,或2或更少。在一些实施方案中,VL受体人框架在序列上与VL人免疫球蛋白框架序列或人共有框架序列同一。

[0173] 术语“嵌合”抗体指如下的抗体,其中重和/或轻链的一部分自特定来源或物种衍生,而重和/或轻链的剩余部分自不同来源或物种衍生。

[0174] 抗体的“类”指其重链拥有的恒定域或恒定区的类型。有五大类抗体:IgA,IgD,IgE,IgG,和IgM,而且其中若干可进一步分为亚类(同种型),例如IgG₁,IgG₂,IgG₃,IgG₄,IgA₁,和IgA₂。与不同类的免疫球蛋白对应的重链恒定域分别称作 α , δ , ϵ , γ ,和 μ 。

[0175] “人源化”抗体指包含来自非人HVR的氨基酸残基和来自人FR的氨基酸残基的嵌合抗体。在某些实施方案中,人源化抗体会包含至少一个,通常两个实质性整个如下的可变域,其中整个或实质性整个HVR(例如CDR)对应于非人抗体的那些,而且整个或实质性整个FR对应于人抗体的那些。人源化抗体任选可包含自人抗体衍生的抗体恒定区的至少一部分。抗体,例如非人抗体的“人源化形式”指经历人源化的抗体。本发明涵盖的其它形式的“人源化抗体”是其中恒定区已经自原始抗体的恒定区另外修饰或变化以生成依照本发明的特性,尤其是关于C1q结合和/或Fc受体(FcR)结合的那些。

[0176] “人”抗体是拥有与由人或人细胞生成的或自利用人抗体全集或其它人抗体编码序列的非人来源衍生的抗体的氨基酸序列对应的氨基酸序列的抗体。人抗体的这种定义专门排除包含非人抗原结合残基的人源化抗体。

[0177] 本文中的术语“Fc域”或“Fc区”用于定义含有恒定区的至少一部分的抗体重链的C端区。该术语包括天然序列Fc区和变体Fc区。IgG Fc区包含IgG CH2和IgG CH3域。人IgG Fc区的“CH2域”通常自约位置231处的氨基酸残基延伸至约位置340处的氨基酸残基。在一个实施方案中,碳水化合物链附着于CH2域。本文中的CH2域可以是天然序列CH2域或变体CH2域。“CH3域”包含Fc区中在CH2域C端的那段残基(即自IgG的约位置341处的氨基酸残基至约位置447处的氨基酸残基)。本文中的CH3区可以是天然序列CH3域或变体CH3域(例如具有在其一条链中引入的“隆起”(“节”)和在其另一条链中相应引入的“空腔”(“穴”)的CH3域;参见美国专利No.5,821,333,通过援引明确收入本文)。如本文中描述的,此类变体CH3域可用于促进两条不相同抗体重链的异二聚化。在一个实施方案中,人IgG重链Fc区自Cys226或自Pro230延伸至重链的羧基末端。然而,Fc区的C末端赖氨酸(Lys447)可以存在或不存在。除非本文中另有规定,Fc区或恒定区中的氨基酸残基的编号依照EU编号系统,也称作EU索引,如Kabat et al.,Sequences of Proteins of Immunological Interest,5th Ed.Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD,1991中描述的。

[0178] “节-入-穴”技术在例如US 5,731,168;US 7,695,936;Ridgway et al.,Prot Eng 9,617-621 (1996)和Carter,J Immunol Meth 248,7-15 (2001)中描述。一般地,该方法牵涉在第一多肽的界面处引入隆起(“节”)并在第二多肽的界面中引入相应的空腔(“穴”),使得该隆起可放置在该空腔中,从而促进异二聚体形成并阻碍同二聚体形成。通过将来自第一多肽的界面的小氨基酸侧链用较大侧链(例如酪氨酸或色氨酸)替换来构建隆起。通过将大氨基酸侧链用较小侧链(例如丙氨酸或苏氨酸)替换而在第二多肽的界面中创建与隆起相同或相似大小的补偿性空腔。可通过改变编码多肽的核酸,例如通过位点特异性诱变,或通过肽合成来生成隆起和空腔。在一个具体实施方案中,节修饰包含Fc域的两个亚基之一中的氨基酸替代T366W,而穴修饰包含Fc域的两个亚基之另一中的氨基酸替代T366S,L368A和Y407V。在又一个具体实施方案中,Fc域中包含节修饰的亚基另外包含氨基酸替代S354C,而Fc域中包含穴修饰的亚基另外包含氨基酸替代Y349C。引入这两个半胱氨酸残基导致在Fc区的两个亚基之间形成二硫桥,如此进一步稳定化二聚体(Carter,J Immunol Methods 248,7-15 (2001))。

[0179] “与免疫球蛋白的Fc区等同的区域”意图包括免疫球蛋白的Fc区的天然发生等位变体以及具有生成替代,添加,或删除的改变但并不实质性降低免疫球蛋白介导效应器功能(诸如抗体依赖性细胞的细胞毒性)的能力的变体。例如,可以自免疫球蛋白的Fc区的N端或C端删除一个或多个氨基酸,生物学功能没有实质性损失。可以依照本领域已知的一般规则来选择此类变体,从而对活性具有最小限度影响(参见例如Bowie,J.U.et al., Science247:1306-10 (1990))。

[0180] 术语“效应器功能”指那些可归于抗体的Fc区的生物学活性,其随抗体同种型而变化。抗体效应器功能的例子包括:C1q结合和补体依赖性细胞毒性(CDC),Fc受体结合,抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC),抗体依赖性细胞吞噬(ADCP),细胞因子分泌,免疫复合物介导的抗原呈递细胞对抗原的摄取,细胞表面受体(例如B细胞受体)的下调,和B细胞活化。

[0181] “活化性Fc受体”是在受到抗体的Fc区啮合后引发刺激携带该受体的细胞实施效应器功能的信号传导事件的Fc受体。活化性Fc受体包括Fc γ RIIIa (CD16a),Fc γ RI (CD64),Fc γ RIIa (CD32),和Fc α RI (CD89)。一种特定活化性Fc受体是人Fc γ RIIIa(参见UniProt登录号P08637,版本141)。

[0182] 如本文中使用的,术语“效应细胞”指如下的一群淋巴细胞,它们在它们的表面上展示效应器模块受体(例如细胞因子受体)和/或Fc受体,它们经由所述受体结合效应器模块(例如细胞因子)和/或抗体的Fc区并促成对靶细胞(例如肿瘤细胞)的破坏。例如,效应细胞可介导细胞毒性或吞噬效应。效应细胞包括但不限于效应T细胞诸如CD8⁺细胞毒性T细胞,CD4⁺辅助T细胞, γ δ T细胞,NK细胞,淋巴因子活化的杀伤(LAK)细胞和巨噬细胞/单核细胞。

[0183] “外域”是膜蛋白中延伸入细胞外空间(即靶细胞以外的空间)的结构域。外域通常是蛋白质中启动与表面接触的部分,这导致信号转导。如此,如本文中定义的4-1BBL的外域指4-1BBL中延伸入细胞外空间的部分(细胞外结构域),但还包括负责三聚化和结合相应的受体4-1BB的更短部分或其片段。如此,术语“4-1BBL的外域或其片段”指4-1BBL中形成细胞外结构域的细胞外结构域或其仍然能够结合受体的部分(受体结合域)。

[0184] “4-1BBL”或“4-1BB配体”或“CD137L”是能够共刺激T细胞的增殖和细胞因子生成的共刺激性TNF配体家族成员。共刺激性TNF家族配体能在与其相应的TNF受体相互作用时共刺激TCR信号,而且与其受体的相互作用导致TNFR相关因子(TRAF)的募集,这启动导致T细胞活化的信号传导级联。4-1BBL是一种II型跨膜蛋白。已经描述了具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的完整或全长4-1BBL在细胞的表面上形成三聚体。通过4-1BBL的外域的特定基序而实现三聚体的形成。所述基序在本文中命名为“三聚化区”。人4-1BBL序列的氨基酸50-254(SEQ ID NO:67)形成4-1BBL的细胞外结构域,但是甚至其片段也能够形成三聚体。在本发明的具体实施方案中,术语“4-1BBL的外域或其片段”指具有选自SEQ ID NO:4(人4-1BBL的氨基酸52-254),SEQ ID NO:1(人4-1BBL的氨基酸71-254),SEQ ID NO:3(人4-1BBL的氨基酸80-254),SEQ ID NO:2(人4-1BBL的氨基酸85-254),SEQ ID NO:5(人4-1BBL的氨基酸71-248),SEQ ID NO:6(人4-1BBL的氨基酸85-248),SEQ ID NO:7(人4-1BBL的氨基酸80-248)和SEQ ID NO:8(人4-1BBL的氨基酸52-248)的氨基酸序列的多肽,但是能够三聚化的外域的其他片段也包括在本文中。

[0185] 如本文中使用的,术语“4-1BB”或“CD137”指来自任何脊椎动物来源的任何天然4-1BB,包括哺乳动物,诸如灵长类动物(例如人)和啮齿类动物(例如小鼠和大鼠),除非另外指明。该术语涵盖“全长的”,未加工的4-1BB以及源自细胞中加工的任何形式的4-1BB。该术语还涵盖4-1BB的天然发生变体,例如剪接变体或等位变体。一种例示性人4-1BB的氨基酸序列在SEQ ID NO:68(Uniprot登录号Q07011)中显示,一种例示性鼠4-1BB的氨基酸序列在SEQ ID NO:69(Uniprot登录号P20334)中显示且一种例示性食蟹猴4-1BB(来自猕猴(*Macaca mulatta*))的氨基酸序列在SEQ ID NO:70(Uniprot登录号F6W5G6)中显示。

[0186] 术语“抗4-1BB抗体”,“抗4-1BB”,“4-1BB抗体”和“特异性结合4-1BB的抗体”指能够以足够的亲和力结合4-1BB,使得抗体可用作靶向4-1BB中的诊断和/或治疗剂的抗体。在一个实施方案中,抗4-1BB抗体对无关的、非4-1BB蛋白的结合程度小于抗体对4-1BB的结合的约10%,如例如通过放射性免疫测定法(RIA)或流式细胞术(FACS)测量的。在某些实施方案中,结合4-1BB的抗体具有 $\leq 1\mu\text{M}$ 、 $\leq 100\text{nM}$ 、 $\leq 10\text{nM}$ 、 $\leq 1\text{nM}$ 、 $\leq 0.1\text{nM}$ 、 $\leq 0.01\text{nM}$ 、或 $\leq 0.001\text{nM}$ (例如 10^{-6}M 或更少,例如 10^{-68}M 至 10^{-13}M ,例如 10^{-8}M 至 10^{-10}M)的解离常数(K_D)。例如,乌瑞鲁单抗是自抗体20H4.9衍生的抗4-1BB抗体和

[0187] 术语“肽接头”指包含一个或多个氨基酸,典型地约2-20个氨基酸的肽。肽接头在本领域中是已知的或在本文中描述。合适的非免疫原性接头肽是例如 $(G_4S)_n$, $(SG_4)_n$ 或 $G_4(SG_4)_n$ 肽接头,其中“n”一般是介于1和10之间,典型地介于2和4之间的数目,特别是2,即肽选自自由GGGGS(SEQ ID NO:81),GGGSGGGGS(SEQ ID NO:82),SGGGSGGGG(SEQ ID NO:83),和GGGSGGGGSGGGG(SEQ ID NO:84)组成的组,但是还包括序列GSPGSSSSGS(SEQ ID NO:85), $(G_4S)_3$ (SEQ ID NO:86), $(G_4S)_4$ (SEQ ID NO:87),GSGSGSGS(SEQ ID NO:88),GSGSGNGS(SEQ ID NO:89),GGSGSGSG(SEQ ID NO:90),GGSGSG(SEQ ID NO:91),GGSG(SEQ ID NO:92),GGSGNGSG(SEQ ID NO:93),GGNGSGSG(SEQ ID NO:94)和GGNGSG(SEQ ID NO:95)。特别感兴趣的肽接头是 (G_4S) (SEQ ID NO:81)和 $(G_4S)_2$ (SEQ ID NO:82)。

[0188] 如此申请内使用的术语“氨基酸”表示天然发生羧基 α -氨基酸的组,包含丙氨酸(三字母代码:ala,单字母代码:A),精氨酸(arg,R),天冬酰胺(asn,N),天冬氨酸(asp,D),半胱氨酸(cys,C),谷氨酰胺(gln,Q),谷氨酸(glu,E),甘氨酸(gly,G),组氨酸(his,H),异

亮氨酸(ile,I),亮氨酸(leu,L),赖氨酸(lys,K),甲硫氨酸(met,M),苯丙氨酸(phe,F),脯氨酸(pro,P),丝氨酸(ser,S),苏氨酸(thr,T),色氨酸(trp,W),酪氨酸(tyr,Y),和缬氨酸(val,V)。

[0189] “融合”或“连接”意味着各构件(例如多肽和4-1BBL的外域)通过肽键,或是直接地或是经由一个或多个肽接头连接。

[0190] 关于参照多肽(蛋白质)序列的“百分比(%)氨基酸序列同一性”定义为在比对序列和在必要时引入缺口以实现最大百分比序列同一性之后,而且不考虑任何保守替代作为序列同一性的一部分,候选序列中与参照多肽序列中的氨基酸残基同一的氨基酸残基的百分比。出于确定百分比氨基酸序列同一性目的的比对可以以本领域的技能内的多种方式实现,例如使用公众可得的计算机软件,诸如BLAST,BLAST-2,ALIGN.SAWI或Megalign(DNASTAR)软件。本领域技术人员能确定用于比对序列的适宜参数,包括在所比较的序列的全长上实现最大比对需要的任何算法。然而,出于本文中的目的,使用序列比较计算机程序ALIGN-2生成%氨基酸序列同一性值。ALIGN-2序列比较计算机程序由Genentech公司编写,而且源代码已经与用户文档一起提交美国版权局(Washington D.C.,20559),以美国版权注册号TXU510087注册。公众自Genentech公司(South San Francisco,California)可得到ALIGN-2程序,或者可以自源代码编译。ALIGN-2程序应当编译成在UNIX操作系统,包括数码UNIX V4.0D上使用。所有序列比较参数由ALIGN-2程序设置且不变。在采用ALIGN-2进行氨基酸序列比较的情况中,给定氨基酸序列A相对于(to),与(with),或针对(against)给定氨基酸序列B的%氨基酸序列同一性(或者可表述为给定氨基酸序列A具有或包含相对于,与,或针对给定氨基酸序列B的某一%氨基酸序列同一性)如下计算:

[0191] $100 \times \text{分数} X/Y$

[0192] 其中X是由序列比对程序ALIGN-2在该程序的A和B的比对中打分为同一匹配的氨基酸残基的数目,且其中Y是B中的氨基酸残基的总数。会领会的是,在氨基酸序列A的长度不等于氨基酸序列B的长度的情况中,A相对于B的%氨基酸序列同一性会不等于B相对于A的%氨基酸序列同一性。除非另有具体说明,本文中使用的所有%氨基酸序列同一性值是如上一段中所述使用ALIGN-2计算机程序获得的。

[0193] 在某些实施方案中,涵盖本文中提供的抗原结合分子的氨基酸序列变体。例如,可能想要改善抗原结合分子的结合亲和力和/或其它生物学特性。抗原结合分子的氨基酸序列变体可通过将适宜修饰引入编码该分子的核苷酸序列,或通过肽合成来制备。此类修饰包括例如抗体的氨基酸序列内的残基的删除,和/或插入和/或替代。可进行删除,插入,和替代的任何组合来得到最终的构建物,前提是最终的构建物拥有想要的特征,例如抗原结合。替代诱变感兴趣的位点包括HVR和框架(FR)。保守替代在表C中在标题“优选替代”下提供且在下文中提及氨基酸侧链类别(1)至(6)进一步描述。可将氨基酸替代引入感兴趣的分子并对产物筛选想要的活性,例如保留/改善的抗原结合,降低的免疫原性,或改善的ADCC或CDC。

[0194] 表C

	原始残基	例示性替代	优选替代
	Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
	Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
	Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
	Asp (D)	Glu; Asn	Glu
	Cys (C)	Ser; Ala	Ser
	Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
	Glu (E)	Asp; Gln	Asp
	Gly (G)	Ala	Ala
[0195]	His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
	Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 正亮氨酸	Leu
	Leu (L)	正亮氨酸; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
	Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
	Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
	Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
	Pro (P)	Ala	Ala
	Ser (S)	Thr	Thr
	Thr (T)	Val; Ser	Ser
	Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
[0196]	Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
	Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 正亮氨酸	Leu

[0197] 氨基酸可以依照共同的侧链特性来分组:

[0198] (1) 疏水性的: 正亮氨酸, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

[0199] (2) 中性亲水性的: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

[0200] (3) 酸性的: Asp, Glu;

[0201] (4) 碱性的: His, Lys, Arg;

[0202] (5) 影响链取向的残基: Gly, Pro;

[0203] (6) 芳香族的: Trp, Tyr, Phe。

[0204] 非保守替代会需要用这些类别之一的成员替换另一类别。

[0205] 术语“氨基酸序列变体”包括其中在亲本抗原结合分子(例如人源化或人抗体)的一个或多个高变区残基中有氨基酸替代的实质性变体。一般地,为进一步研究选择的所得变体相对于亲本抗原结合分子会具有某些生物学特性的改变(例如改善)(例如升高的亲和力,降低的免疫原性)和/或会实质性保留亲本抗原结合分子的某些生物学特性。例示性的替代变体是亲和力成熟的抗体,其可以例如使用基于噬菌体展示的亲合力成熟技术诸如本

文中所描述的那些技术来方便地生成。简言之,将一个或多个CDR残基突变并将变体抗原结合分子在噬菌体上展示并对其筛选特定的生物学活性(例如结合亲和力)。在某些实施方案中,可以在一个或多个CDR内发生替代,插入,或删除,只要此类变化不实质性降低抗原结合分子结合抗原的能力。例如,可以在CDR中进行不实质性降低结合亲和力的保守改变(例如如本文中提供的保守替代)。一种对于鉴定抗体中可以作为诱变靶位的残基或区域有用的方法称作“丙氨酸扫描诱变”,如由Cunningham and Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085描述的。在此方法中,鉴定残基或靶残基的组(例如带电荷的残基,诸如Arg, Asp, His, Lys, 和Glu)并用中性或带负电荷的氨基酸(例如丙氨酸或多丙氨酸)替换以测定抗体与抗原的相互作用是否受到影响。可以在对初始替代表明功能敏感性的氨基酸位置引入进一步的替代。或者/另外,利用抗原-抗原结合分子复合物的晶体结构来鉴定抗体和抗原之间的接触点。作为替代的候选,可以靶向或消除此类接触残基和邻近残基。可以筛选变体以确定它们是否含有想要的特性。

[0206] 氨基酸序列插入包括长度范围为1个残基至含有100或更多个残基的多肽的氨基和/或羧基端融合,以及单个或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的例子包括具有N端甲硫氨酰基残基的抗原结合分子。分子的其它插入变体包括与延长抗原结合分子的血清半衰期的多肽的N或C端的融合。

[0207] 在某些实施方案中,改变本文中提供的抗原结合分子以提高或降低抗体糖基化的程度。可以通过改变氨基酸序列,使得创建或删除一个或多个糖基化位点来方便地获得分子的糖基化变体。在抗原结合分子包含Fc区的情况中,可改变附着于其的碳水化合物。由哺乳动物细胞生成的天然抗体典型地包含分支的双触角寡糖,其一般通过N连接附着至Fc区的CH2域的Asn297。参见例如Wright et al., *TIBTECH* 15:26-32 (1997)。寡糖可包括各种碳水化合物,例如甘露糖, N-乙酰葡萄糖胺 (GlcNAc), 半乳糖, 和唾液酸, 以及附着于双触角寡糖结构的“主干”中的GlcNAc的岩藻糖。在一些实施方案中,可进行抗原结合分子中的寡糖的修饰以创建具有某些改良特性的变体。在一个方面,提供具有缺乏(直接或间接)附着于Fc区的岩藻糖的碳水化合物结构的抗原结合分子的变体。此类岩藻糖基化变体可具有改善的ADCC功能,参见例如美国专利公开号US 2003/0157108 (Presta, L.) 或US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)。本发明的抗原结合分子的别的变体包括那些具有两分寡糖的,例如,其中附着于Fc区的双触角寡糖通过GlcNAc两分。此类变体可具有降低的岩藻糖基化和/或改善的ADCC功能,参见例如WO 2003/011878 (Jean-Mairet等人);美国专利No. 6,602,684 (Umana等人);和US2005/0123546 (Umana等人)。还提供附着于Fc区的寡糖中具有至少一个半乳糖残基的变体。此类抗体变体可具有改善的CDC功能且在例如WO1997/30087 (Patel等人);WO 1998/58964 (Raju, S.);和WO 1999/22764 (Raju, S.) 中描述。

[0208] “工程化”,特别是具有前缀“糖”时,以及术语“糖基化工程化”包括细胞的糖基化装置的代谢工程化,包括对寡糖合成途径的遗传操作以实现细胞中表达的糖蛋白的改变的糖基化。此外,糖基化工程化包括突变和细胞环境对糖基化的影响。在一个实施方案中,糖基化工程化是糖基转移酶活性的改变。在一个具体的实施方案中,工程化导致改变的葡萄糖胺基转移酶活性和/或岩藻糖基转移酶活性。糖基化工程化可用于获得“具有增加的GnTIII活性的宿主细胞”(例如经过操作而表达升高水平的一种或多种具有 $\beta(1,4)$ -N-乙酰葡萄糖胺基转移酶III (GnTIII) 活性的多肽的宿主细胞),“具有增加的ManII活性的宿主细胞”(例如

经过操作而表达升高水平的一种或多种具有 α -甘露糖苷酶II (ManII) 活性的多肽的宿主细胞) 或“具有降低的 α (1,6) 岩藻糖基转移酶活性的宿主细胞” (例如经过操作而表达降低水平的 α (1,6) 岩藻糖基转移酶的宿主细胞)。

[0209] 如本文中使用的, 术语“具有GnTIII活性的多肽”指能够催化将N-乙酰葡萄糖胺 (GlcNAc) 残基以 β -1,4连接添加到N-连接的寡糖的三甘露糖基核心的 β -连接的甘露糖苷的多肽。这包括根据特定的生物学测定法的测量在有或无剂量依赖性的情况中展现出的酶活性类似于但不一定等同于 β (1,4)-N-乙酰葡萄糖胺基转移酶III的活性的融合多肽, 依照国际生物化学与分子生物学联盟命名委员会 (NC-IUBMB), β (1,4)-N-乙酰葡萄糖胺基转移酶III也称为 β -1,4-甘露糖基-糖蛋白4- β -N-乙酰葡萄糖胺基转移酶 (EC 2.4.1.144)。在确实存在剂量依赖性的情况中, 其不需要等于GnTIII的, 而是相比于GnTIII, 基本类似于在给定活性的剂量依赖性 (即, 相对于GnTIII, 候选多肽将展现出更大的活性或小不超过约25倍, 而且优选地小不超过约10倍的活性, 且最优选地, 小不超过约3倍的活性)。

[0210] 抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC) 是一种导致通过免疫效应细胞对抗体包裹的靶细胞裂解的免疫机制。靶细胞是包含Fc区的抗体或其片段一般经由Fc区的N端的蛋白质部分特异性结合的细胞。如本文中使用的, 术语“升高/降低的ADCC”定义为通过上文定义的ADCC机制, 以靶细胞周围介质中给定浓度的抗体, 在给定的时间内裂解的靶细胞数目的增加/减少, 和/或通过ADCC机制, 实现给定时间内给定数目的靶细胞裂解需要的靶细胞周围介质中抗体浓度的降低/升高。ADCC的升高/降低相对于使用相同的标准生产, 纯化, 配制和贮存方法 (其是本领域技术人员已知的), 由同一类型的宿主细胞生成但尚未工程化改造的相同抗体介导的ADCC。例如, 由通过本文中描述的方法工程化改造为具有改变的糖基化模式 (例如表达糖基转移酶, GnTIII或其它糖基转移酶) 的宿主细胞生成的抗体介导的ADCC的升高, 是相对于由同一类型的未工程化宿主细胞生成的相同抗体介导的ADCC而言。

[0211] 在某些方面, 本发明涵盖拥有一些但不是所有效应器功能的抗体变体, 所述效应器功能使其成为如下应用的期望候选物, 其中抗体的体内半衰期是重要的, 而某些效应器功能 (诸如补体依赖性细胞毒性 (CDC) 和抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC)) 是不必要的或有利的。可以进行体外和/或体内细胞毒性测定法以确认CDC和/或ADCC活性的降低/消减。例如, 可以进行Fc受体 (FcR) 结合测定法以确保抗体缺乏Fc γ R结合 (因此有可能缺乏ADCC活性), 但是保留FcRn结合能力。介导ADCC的主要细胞NK细胞仅表达Fc γ RIII, 而单核细胞表达Fc γ RI, Fc γ RII和Fc γ RIII。在Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991) 的第464页上的表3中汇总了造血细胞上的FcR表达。评估感兴趣分子的ADCC活性的体外测定法的非限制性例子记载于美国专利No. 5,500,362 (参见例如Hellstrom, I. et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986); Hellstrom, I. et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985); 5,821,337; Bruggemann, M. et al., *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987))。或者, 可以采用非放射性测定方法 (参见例如用于流式细胞术的ACTI™非放射性细胞毒性测定法 (Cell Technology, Inc., Mountain View, CA; 和CytoTox 96®非放射性细胞毒性测定法 (Promega, Madison, WI))。对于此类测定法有用的效应细胞包括外周血单个核细胞 (PBMC) 和天然杀伤 (NK) 细胞。或者/另外, 可以在体内评估感兴趣分子的ADCC活性, 例如在动物模型中, 诸如披露于Clynes et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998) 的。也可以实施C1q结合测定法以确认抗体不能结合C1q, 并且因此缺乏CDC

活性。参见例如WO 2006/029879和WO 2005/100402中的C1q和C3c结合ELISA。为了评估补体活化,可以实施CDC测定法(参见例如Gazzano-Santoro et al.,*J.Immunol.Methods* 202:163 (1996);Cragg,M.S.et al.,*Blood* 101:1045-1052 (2003);和Cragg,M.S.and M.J.Glennie,*Blood*103:2738-2743 (2004))。也可以使用本领域中已知的方法来实施FcRn结合和体内清除/半衰期测定(参见例如Petkova,S.B.et al.,*Int'l.Immunol.*18 (12):1759-1769 (2006);WO 2013/120929A1)。

[0212] 具有降低的效应器功能的抗体包括那些具有Fc区残基238,265,269,270,297,327和329中的一个或多个的替代的(美国专利No.6,737,056)。此类Fc突变体包括在氨基酸位置265,269,270,297和327中的两处或更多处具有替代的Fc突变体,包括残基265和297替代成丙氨酸的所谓的“DANA”Fc突变体(美国专利No.7,332,581)。描述了具有改善的或降低的对FcR的结合的某些抗体变体(参见例如美国专利No.6,737,056;WO 2004/056312;和Shields et al.,*J.Biol.Chem.*9 (2):6591-6604 (2001))。在某些实施方案中,抗体变体包含具有改善ADCC的一处或多处氨基酸替代(例如Fc区位置298,333,和/或334 (EU残基编号方式)处的替代)的Fc区。

[0213] 在某些方面,抗体变体包含具有一处或多处削弱Fc γ R结合的氨基酸替代(例如Fc区的位置234和235 (EU残基编号方式)处的替代)的Fc区。在一个方面,该替代是L234A和L235A (LALA)。在某些方面,该抗体变体进一步包含自人IgG1 Fc区衍生的Fc区中的D265A和/或P329G。在一个方面,该替代是自人IgG1 Fc区衍生的Fc区中的L234A,L235A和P329G (LALA-PG) (参见例如WO 2012/130831)。在另一个方面,该替代是自人IgG1 Fc区衍生的Fc区中的L234A,L235A和D265A (LALA-DA)。

[0214] 在一些实施方案中,在Fc区中做出改变,其导致改变的(即改善的或降低的)C1q结合和/或补体依赖性细胞毒性(CDC),例如,如记载于美国专利No.6,194,551;WO 99/51642;和Idusogie et al.,*J.Immunol.*164:4178-4184 (2000)的。

[0215] 具有延长的半衰期和改善的对新生儿Fc受体(FcRn)的结合的抗体记载于US 2005/0014934 (Hinton等),新生儿Fc受体(FcRn)负责将母体IgG转移至胎儿(Guyer et al.,*J.Immunol.*117:587 (1976)和Kim et al.,*J.Immunol.*24:249 (1994))。那些抗体包含具有改善Fc区对FcRn的结合的一处或多处替代的Fc区。此类Fc变体包括那些在Fc区残基238,252,254,256,265,272,286,303,305,307,311,312,317,340,356,360,362,376,378,380,382,413,424或434中的一处或多处具有替代(例如Fc区残基434的替代)的(参见例如美国专利No.7,371,826;Dall'Acqua,W.F.et al.*J.Biol.Chem.*281 (2006) 23514-23524)。

[0216] 在某些方面,抗体变体包含具有一处或多处降低FcRn结合的氨基酸替代(例如Fc区的位置253,和/或310,和/或435 (EU残基编号方式)处的替代)的Fc区。在某些方面,该抗体变体包含具有位置253,310和435处的氨基酸替代的Fc区。在一个方面,该替代是自人IgG1 Fc区衍生的Fc区中的I253A,H310A和H435A。参见例如Grevys,A.et al.,*J.Immunol.*194 (2015) 5497-5508。

[0217] 在另一个方面,抗体变体包含具有一处或多处降低FcRn结合的氨基酸替代(例如Fc区的位置310,和/或433,和/或436 (EU残基编号方式)处的替代)的Fc区。在某些方面,该抗体变体包含具有位置310,433和436处的氨基酸替代的Fc区。在一个方面,该替代是自人IgG1 Fc区衍生的Fc区中的H310A,H433A和Y436A(参见例如WO 2014/177460A1)。

[0218] 在某些方面,抗体变体包含具有一处或多处提高FcRn结合的氨基酸替代(例如Fc区的位置252,和/或254,和/或256(EU残基编号方式)处的替代)的Fc区。在某些实施方案中,该抗体变体包含具有位置252,254,和256处的氨基酸替代的Fc区。在一个实施方案中,该替代是自人IgG1 Fc区衍生的Fc区中的M252Y,S254T和T256E。还可参见Duncan and Winter,Nature 322:738-40(1988);美国专利No.5,648,260;美国专利No.5,624,821;和WO 94/29351,其关注Fc区变体的其它例子。

[0219] 在某些实施方案中,可能想要创建本发明的抗原结合分子的半胱氨酸工程化改造的变体,例如“thioMAB”,其中分子的一个或多个残基用半胱氨酸残基替代。在特定实施方案中,替代的残基出现于分子的可及位点。通过用半胱氨酸替代那些残基,由此反应性硫醇基团放置在抗体的可及位点且可用于将抗体与其它模块诸如药物模块或接头-药物模块缀合以创建免疫缀合物。在某些实施方案中,可以用半胱氨酸替代任一个或多个下述残基:轻链的V205(Kabat编号方式);重链的A118(EU编号方式);和重链Fc区的S400(EU编号方式)。可以如例如美国专利No.7,521,541中所述生成半胱氨酸工程化改造的抗原结合分子。

[0220] 在某些方面,可进一步修饰本文中提供的抗原结合分子以含有本领域已知且容易获得的另外的非蛋白质性质模块。适合于抗体衍生化的模块包括但不限于水溶性聚合物。水溶性聚合物的非限制性例子包括但不限于聚乙二醇(PEG),乙二醇/丙二醇共聚物,羧甲基纤维素,右旋糖苷,聚乙烯醇,聚乙烯吡咯烷酮,聚-1,3-二氧戊环,聚-1,3,6-三噁烷,乙烯/马来酸酐共聚物,聚氨基酸(或是均聚物或是随机共聚物),和右旋糖苷或聚(n-乙烯吡咯烷酮)聚乙二醇,丙二醇均聚物,环氧丙烷/环氧乙烷共聚物,聚氧乙烯化多元醇(例如甘油),聚乙烯醇,及其混合物。由于其在水中的稳定性,聚乙二醇丙醛在制造中可能具有优势。聚合物可以是任何分子量,而且可以是分支的或不分支的。附着于抗体的聚合物的数目可以变化,而且如果附着了超过一个聚合物,那么它们可以是相同或不同的分子。一般而言,可基于下述考虑来确定用于衍生化的聚合物的数目和/或类型,包括但不限于抗体要改进的特定特性或功能,双特异性抗体衍生物是否会用于限定条件下的疗法,等。在另一个方面,提供抗体和可以通过暴露于辐射选择性加热的非蛋白质性质模块的缀合物。在一个实施方案中,非蛋白质性质模块是碳纳米管(Kam,N.W.et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 102(2005)11600-11605)。辐射可以是任何波长的,而且包括但不限于对普通细胞没有损害,但是将非蛋白质性质模块加热至抗体-非蛋白质性质模块附近的细胞被杀死的温度的波长。

[0221] 在另一个方面,可获得本文中提供的含有4-1BBL的抗原结合分子的免疫缀合物。“免疫缀合物”是与包括但不限于细胞毒剂在内的一个或多个异源分子缀合的抗体。

[0222] 术语“多核苷酸”指分离的核酸分子或构建物,例如信使RNA(mRNA),病毒衍生的RNA,或质粒DNA(pDNA)。多核苷酸可包含常规的磷酸二酯键或非规键(例如酰胺键,诸如在肽核酸(PNA)中找到的)。术语“核酸分子”指多核苷酸中存在的任一个或多个核酸区段,例如DNA或RNA片段。

[0223] “分离的”核酸分子或多核苷酸意指已经自其天然环境移出的核酸分子,DNA或RNA。例如,出于本发明的目的,认为载体中包含的编码多肽的重组多核苷酸是分离的。分离的多核苷酸的别的例子包括在异源宿主细胞中维持的重组多核苷酸或溶液中(部分或实质性)纯化的多核苷酸。分离的多核苷酸包括通常含有该多核苷酸分子的细胞中含有的多核苷酸分子,但是该多核苷酸分子存在于染色体外或与其天然染色体位置不同的染色体位

置。分离的RNA分子包括本发明的体内或体外RNA转录物,以及正和负链形式,和双链形式。依照本发明的分离的多核苷酸或核酸进一步包括合成生成的此类分子。另外,多核苷酸或核酸可以是或可以包括调节元件,诸如启动子,核糖体结合位点,或转录终止子。

[0224] 具有与本发明的参照核苷酸序列至少例如95%“同一”的核苷酸序列的核酸或多核苷酸意指除了该多核苷酸序列可包括至多该参照核苷酸序列的每100个核苷酸的5个点突变之外,该多核苷酸的核苷酸序列与参照序列同一。换言之,为了获得具有与参照核苷酸序列至少95%同一的核苷酸序列的多核苷酸,参照序列中至多5%的核苷酸可以删除或用另一种核苷酸替代,或者,在参照序列中,总核苷酸的至多5%的数目的多个核苷酸可插入参照序列。参照序列的这些改变可发生于参照核苷酸序列的5'或3'端位置或那些末端位置之间的任何地方,或是在参照序列中的残基间个别散布或是以一个或多个连续组在参照序列内散布。实际上,使用已知的计算机程序,诸如上文关于多肽讨论的(例如ALIGN-2),可常规确定任何特定多核苷酸序列是否与本发明的核苷酸序列至少80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%或99%同一。

[0225] 术语“表达盒”指重组或合成生成的多核苷酸,具有允许特定核酸在靶细胞中转录的一系列规定核酸元件。重组表达盒可并入质粒,染色体,线粒体DNA,质体DNA,病毒,或核酸片段。典型地,在其它序列以外,表达载体的重组表达盒部分包括要转录的核酸序列和启动子。在某些实施方案中,本发明的表达盒包含编码本发明的双特异性抗原结合分子或其片段的多核苷酸序列。

[0226] 术语“载体”或“表达载体”与“表达构建物”同义且指用于将与其可操作联合的特定基因导入靶细胞并指导表达的DNA分子。该术语包括作为自身复制性核酸结构的载体以及并入其已经导入的宿主细胞的基因组的载体。本发明的表达载体包含表达盒。表达载体容许大量稳定mRNA的转录。一旦表达载体在靶细胞内,则由细胞转录和/或翻译机制生成由该基因编码的核糖核酸分子或蛋白质。在一个实施方案中,本发明的表达载体包含包含编码本发明的双特异性抗原结合分子或其片段的多核苷酸序列的表达盒。

[0227] 术语“宿主细胞”,“宿主细胞系”,和“宿主细胞培养物”可互换使用且指其中已经导入外源核酸的细胞,包括此类细胞的后代。宿主细胞包括“转化体/转化子”和“转化细胞”,其包括原代转化细胞和自其衍生的后代,不管传代的次数。后代在核酸内容方面与亲本细胞可以不是完全同一,但是可含有突变。具有与在原始转化细胞中筛选或选择相同的功能或生物学活性的突变体后代包括在本文中。宿主细胞是可用于生成本发明的双特异性抗原结合分子的任何类型的细胞系统。宿主细胞包括培养的细胞,例如培养的哺乳动物细胞,诸如CHO细胞,BHK细胞,NS0细胞,SP2/0细胞,Y0骨髓瘤细胞,P3X63小鼠骨髓瘤细胞,PER细胞,PER.C6细胞或杂交瘤细胞,酵母细胞,昆虫细胞,和植物细胞,仅列举少数,但是还有转基因动物,转基因植物或培养的植物或动物组织内包含的细胞。

[0228] 药剂的“有效量”指在接受其施用的细胞或组织中导致生理变化必需的量。

[0229] 药剂(例如药学组合物)的“治疗有效量”指在剂量和时间段方面有效实现想要的治疗或预防结果必需的量。例如,治疗有效量的药剂消除,减轻/减少,延迟,最小化或预防疾病的不利影响。

[0230] “个体”或“受试者”是哺乳动物。哺乳动物包括但不限于驯养的动物(例如牛,绵羊,猫,犬,和马),灵长类(例如人和非人灵长类,诸如猴),家兔,和啮齿类(例如小鼠和大

鼠)。特定地,个体或受试者是人。

[0231] 术语“药学组合物”指其为此类形式的制剂,所述形式允许其中含有的活性组分的生物学活性是有效的,而且所述制剂不含另外的对会接受该配制剂施用的受试者具有不可接受的毒性的成分。

[0232] “药学可接受赋形剂”指药学组合物中除了活性组分以外,对受试者无毒的组分。药学可接受赋形剂包括但不限于缓冲剂,稳定剂,或防腐剂。

[0233] 术语“包装插页”用于指通常包括在治疗性产品的商业包装中的说明书,其含有关于关注此类治疗性产品的使用的适应症,用法,剂量,施用,组合疗法,禁忌症和/或警告的信息。

[0234] 如本文中使用的,“治疗/处理”指试图改变所治疗个体的自然进程的临床干预,而且可以或是为了预防或是在临床病理学的过程中实施的。治疗的期望效果包括但不限于预防疾病的发生或复发,缓解症状,削弱疾病的任何直接或间接病理学后果,预防转移,减缓疾病进展的速率,改善或减轻疾病状态,和消退或改善的预后。在一些实施方案中,使用本发明的分子来延迟疾病的发生或减缓疾病的进展。

[0235] 如本文中使用的术语“癌症”指增殖性疾病,诸如淋巴瘤或淋巴细胞性白血病,或黑素瘤。

[0236] “B细胞增殖性病”意指如下的疾病,其中患者中B细胞的数目与健康受试者中B细胞的数目相比增多,特别是其中B细胞的数目的增多是疾病的起因或标志。“CD20阳性B细胞增殖性病”是如下的B细胞增殖性病,其中B细胞,特别是恶性B细胞(在正常B细胞以外),表达CD20。例示性的B细胞增殖病包括非霍奇金淋巴瘤(NHL),急性淋巴细胞性白血病(ALL),慢性淋巴细胞性白血病(CLL),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),滤泡性淋巴瘤(FL),套细胞淋巴瘤(MCL),边缘区淋巴瘤(MZL),以及一些类型的多发性骨髓瘤(MM)和霍奇金淋巴瘤(HL)。

[0237] 例示性的供本发明中使用的4-1BB激动剂

[0238] 特别地,与抗CD20抗体组合使用的包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的4-1BB激动剂是包含4-1BBL的分子。特别地,在本发明中使用的4-1BB激动剂包含三个4-1BBL外域或其片段。

[0239] 在一个特定方面,4-1BB激动剂是包含三个4-1BBL外域或其片段的分子且其中4-1BBL外域包含选自由SEQ ID NO:1,SEQ ID NO:2,SEQ ID NO:3,SEQ ID NO:4,SEQ ID NO:5,SEQ ID NO:6,SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8组成的组的氨基酸序列,特别是SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:5的氨基酸序列。

[0240] 本文中已经显示,如果它包含对肿瘤靶物,特别是B细胞上的靶物特异性的抗原结合域的话,4-1BB激动剂尤其有用。如此,在另一个方面,4-1BB激动剂是包含三个4-1BBL外域或其片段和至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的抗原结合分子。

[0241] 本文中已经进一步显示,包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的4-1BB激动剂并不通过CD19内在化入B细胞且如此并不丧失它与肿瘤微环境相互作用的能力。在又一个方面,提供的是不会在B细胞中内在化,由此维持它的活性的4-1BB激动剂。

[0242] 在另一个方面,4-1BB激动剂是包含三个4-1BBL外域或其片段和至少一个能够特异性结合CD19的模块的抗原结合分子,其中能够特异性结合CD19的抗原结合域是食蟹猴交

又反应性的,即能够特异性结合CD19的抗原结合域特异性结合人和食蟹猴CD19。

[0243] 在又一个方面,4-1BB激动剂是包含三个4-1BBL外域或其片段和至少一个能够特异性结合CD19的模块的抗原结合分子,其中能够特异性结合CD19的抗原结合域包含(a)重链可变区(V_HCD19),其包含(i)包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的CDR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的CDR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的CDR-H3,和轻链可变区(V_LCD19),其包含(iv)包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR-L1,(v)包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR-L3,或(b)VH域,其包含(i)包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR-H3,和VL域,其包含(iv)包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR-L1,(v)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR-L3。

[0244] 在一个特定方面,能够特异性结合CD19的抗原结合域包含VH域,其包含(i)包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR-H3,和VL域,其包含(iv)包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR-L1,(v)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR-L3。

[0245] 在又一个方面,4-1BB激动剂是包含三个4-1BBL外域或其片段和至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的抗原结合分子,其中能够特异性结合CD19的抗原结合域包含包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19)和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19)或其中能够特异性结合CD19的抗原结合域包含包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19)和包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19)。更加特别地,能够特异性结合CD19的抗原结合域包含包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19)和包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19)。

[0246] 在另一个方面,4-1BB激动剂是进一步包含由能够稳定联合的第一和第二亚基构成的Fc域的抗原结合分子。在一个方面,4-1BB激动剂是包含IgG Fc域,具体是IgG1 Fc域或IgG4 Fc域的抗原结合分子。特别地,4-1BB激动剂是包含包含一处或多处降低对Fc受体的结合和/或效应器功能的氨基酸替代的Fc域的抗原结合分子。在一个特定方面,4-1BB激动剂是包含包含氨基酸替代L234A,L235A和P329G的IgG1 Fc域的抗原结合分子。

[0247] 在一个方面,4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0248] (a) 至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域,

[0249] (b) 通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,

[0250] 其中第一多肽包含通过肽接头彼此连接的两个4-1BBL外域或其片段且第二多肽包含一个4-1BBL外域或其片段。

[0251] 在一个特定方面,4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0252] (a) 至少一个能够特异性结合CD19的Fab域,和

[0253] (b) 通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,

[0254] 其中抗原结合分子特征在于

[0255] (i) 分别地,第一多肽含有CH1或CL域且第二多肽含有CL或CH1域,其中第二多肽与第一多肽通过CH1和CL域之间的二硫键连接,且其中第一多肽包含通过肽接头彼此且与CH1

或CL域连接的两个4-1BBL外域或其片段且其中第二多肽包含经由肽接头与所述多肽的CL或CH1域连接的一个4-1BBL外域或其片段,或

[0256] (ii) 分别地,第一多肽含有CH3域且第二多肽含有CH3域,且其中第一多肽包含通过肽接头彼此且与CH3域的C端连接的两个4-1BBL外域或其片段且其中第二多肽包含经由肽接头与所述多肽的CH3域的C端连接的一个4-1BBL外域或其片段,或

[0257] (iii) 分别地,第一多肽含有VH-CL或VL-CH1域且第二多肽含有VL-CH1域或VH-CL域,其中第二多肽与第一多肽通过CH1和CL域之间的二硫键连接,且其中第一多肽包含通过肽接头彼此且与VH或VL连接的两个4-1BBL外域或其片段且其中第二多肽包含经由肽接头与所述多肽的VL或VH连接的一个4-1BBL外域或其片段。

[0258] 在另一个方面,4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0259] (a) 至少一个能够特异性结合CD19的Fab域,其包含包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19)和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19)或包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19)和包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19),和

[0260] (b) 通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,

[0261] 其中抗原结合分子特征在于第一多肽包含选自SEQ ID NO:25,SEQ ID NO:26,SEQ ID NO:27,SEQ ID NO:28,SEQ ID NO:29,SEQ ID NO:30,SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32组成的组的氨基酸序列且在于第二多肽包含选自SEQ ID NO:1,SEQ ID NO:2,SEQ ID NO:3,SEQ ID NO:4,SEQ ID NO:5,SEQ ID NO:6,SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8组成的组的氨基酸序列。

[0262] 在一个特定方面,4-1BB激动剂是选自由下述各项组成的组的抗原结合分子:

[0263] a) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的第二轻链;

[0264] b) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的第二轻链;

[0265] c) 一种分子,其包含两条包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的轻链,包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的第二重链;

[0266] d) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的第二轻链;

[0267] e) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的第二轻链;

[0268] f) 一种分子,其包含两条包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的轻链,包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的第二重链;

[0269] g) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ

ID NO:36的氨基酸序列的第二轻链;

[0270] h) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的第二轻链;

[0271] i) 一种分子,其包含两条包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链,包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列的第二重链;

[0272] j) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的第二轻链;

[0273] k) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的第二轻链;和

[0274] l) 一种分子,其包含两条包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链,包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的第二重链。

[0275] 在另一个方面,4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0276] (a) 至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域,

[0277] (b) 包含通过肽接头彼此连接的三个4-1BBL外域或其片段的多肽。

[0278] 在一个方面,4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0279] (a) 至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域,

[0280] (b) 包含通过肽接头彼此连接的三个4-1BBL外域或其片段的多肽,和

[0281] (c) 由能够稳定联合的第一和第二亚基构成的Fc域,其中包含通过肽接头彼此连接的三个4-1BBL外域或其片段的多肽与Fc域的两个亚基之一的N或C端氨基酸融合,任选经由肽接头。

[0282] 在一个特定方面,4-1BB激动剂是选自由下述各项组成的组的抗原结合分子:

[0283] (a) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19),包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19),和包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列的融合蛋白,

[0284] (b) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19),包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19)和包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列的融合蛋白;

[0285] (c) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19),包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19),和包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列的融合蛋白,和

[0286] (d) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19),包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19),和包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的融合蛋白。

[0287] 在又一个方面,4-1BB激动剂是抗CD19/抗4-1BB双特异性抗体。

[0288] 在又一个方面,4-1BB激动剂是包含三个4-1BBL外域或其片段和至少一个能够特异性结合FAP的抗原结合域的抗原结合分子,其中能够特异性结合FAP的抗原结合域包含

(a) 重链可变区 (V_HFAP) 和轻链可变区 (V_LFAP), 重链可变区 (V_HFAP) 包含 (i) 包含 SEQ ID NO: 96 的氨基酸序列的 CDR-H1, (ii) 包含 SEQ ID NO: 97 的氨基酸序列的 CDR-H2, 和 (iii) 包含 SEQ ID NO: 98 的氨基酸序列的 CDR-H3, 轻链可变区 (V_LFAP) 包含 (iv) 包含 SEQ ID NO: 99 的氨基酸序列的 CDR-L1, (v) 包含 SEQ ID NO: 100 的氨基酸序列的 CDR-L2, 和 (vi) 包含 SEQ ID NO: 101 的氨基酸序列的 CDR-L3, 或 (b) 重链可变区 (V_HFAP) 和轻链可变区 (V_LFAP), 重链可变区 (V_HFAP) 包含 (i) 包含 SEQ ID NO: 102 的氨基酸序列的 CDR-H1, (ii) 包含 SEQ ID NO: 103 的氨基酸序列的 CDR-H2, 和 (iii) 包含 SEQ ID NO: 104 的氨基酸序列的 CDR-H3, 轻链可变区 (V_LFAP) 包含 (iv) 包含 SEQ ID NO: 105 的氨基酸序列的 CDR-L1, (v) 包含 SEQ ID NO: 106 的氨基酸序列的 CDR-L2, 和 (vi) 包含 SEQ ID NO: 107 的氨基酸序列的 CDR-L3。

[0289] 在一个特定方面, 能够特异性结合 FAP 的抗原结合域包含重链可变区 (V_HFAP) 和轻链可变区 (V_LFAP), 重链可变区 (V_HFAP) 包含 (i) 包含 SEQ ID NO: 102 的氨基酸序列的 CDR-H1, (ii) 包含 SEQ ID NO: 103 的氨基酸序列的 CDR-H2, 和 (iii) 包含 SEQ ID NO: 104 的氨基酸序列的 CDR-H3, 轻链可变区 (V_LFAP) 包含 (iv) 包含 SEQ ID NO: 105 的氨基酸序列的 CDR-L1, (v) 包含 SEQ ID NO: 106 的氨基酸序列的 CDR-L2, 和 (vi) 包含 SEQ ID NO: 107 的氨基酸序列的 CDR-L3。

[0290] 在又一个方面, 4-1BB 激动剂是包含三个 4-1BBL 外域或其片段和至少一个能够特异性结合 FAP 的抗原结合域的抗原结合分子, 其中能够特异性结合 FAP 的抗原结合域包含包含 SEQ ID NO: 108 的氨基酸序列的重链可变区 (V_HFAP) 和包含 SEQ ID NO: 109 的氨基酸序列的轻链可变区 (V_LFAP) 或其中能够特异性结合 FAP 的抗原结合域包含包含 SEQ ID NO: 110 的氨基酸序列的重链可变区 (V_HFAP) 和包含 SEQ ID NO: 111 的氨基酸序列的轻链可变区 (V_LFAP)。更加特别地, 能够特异性结合 FAP 的抗原结合域包含包含 SEQ ID NO: 110 的氨基酸序列的重链可变区 (V_HFAP) 和包含 SEQ ID NO: 111 的氨基酸序列的轻链可变区 (V_LFAP)。

[0291] 在另一个方面, 4-1BB 激动剂是进一步包含由能够稳定联合的第一和第二亚基构成的 Fc 域的抗原结合分子。在一个方面, 4-1BB 激动剂是包含 IgG Fc 域, 具体是 IgG1 Fc 域或 IgG4 Fc 域的抗原结合分子。特别地, 4-1BB 激动剂是包含包含一处或多处降低对 Fc 受体的结合和/或效应器功能的氨基酸替代的 Fc 域的抗原结合分子。在一个特定方面, 4-1BB 激动剂是包含包含氨基酸替代 L234A, L235A 和 P329G 的 IgG1 Fc 域的抗原结合分子。

[0292] 在一个方面, 4-1BB 激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0293] (a) 至少一个能够特异性结合 FAP 的抗原结合域,

[0294] (b) 通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,

[0295] 其中第一多肽包含通过肽接头彼此连接的两个 4-1BBL 外域或其片段且第二多肽包含一个 4-1BBL 外域或其片段。

[0296] 在一个特定方面, 4-1BB 激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0297] (a) 至少一个能够特异性结合 FAP 的 Fab 域, 和

[0298] (b) 通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,

[0299] 其中抗原结合分子特征在于

[0300] (i) 分别地, 第一多肽含有 CH1 或 CL 域且第二多肽含有 CL 或 CH1 域, 其中第二多肽与第一多肽通过 CH1 和 CL 域之间的二硫键连接, 且其中第一多肽包含通过肽接头彼此且与 CH1 或 CL 域连接的两个 4-1BBL 外域或其片段且其中第二多肽包含经由肽接头与所述多肽的 CL

或CH1域连接的一个4-1BBL外域或其片段,或

[0301] (ii) 分别地,第一多肽含有CH3域且第二多肽含有CH3域,且其中第一多肽包含通过肽接头彼此且与CH3域的C端连接的两个4-1BBL外域或其片段且其中第二多肽包含经由肽接头与所述多肽的CH3域的C端连接的一个4-1BBL外域或其片段,或

[0302] (iii) 分别地,第一多肽含有VH-CL或VL-CH1域且第二多肽含有VL-CH1域或VH-CL域,其中第二多肽与第一多肽通过CH1和CL域之间的二硫键连接,且其中第一多肽包含通过肽接头彼此且与VH或VL连接的两个4-1BBL外域或其片段且其中第二多肽包含经由肽接头与所述多肽的VL或VH连接的一个4-1BBL外域或其片段。

[0303] 在一个特定方面,4-1BB激动剂是选自由下述各项组成的组的抗原结合分子:

[0304] 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的第二轻链。

[0305] 在另一个方面,4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0306] (a) 至少一个能够特异性结合FAP的抗原结合域,

[0307] (b) 包含通过肽接头彼此连接的两个4-1BBL外域或其片段的多肽。

[0308] 特定的双特异性抗体描述于PCT公开号WO 2016/075278 A1或PCT公开号WO 2016/156291A1。

[0309] 在又一个方面,4-1BB激动剂是抗FAP/抗4-1BB双特异性抗体。

[0310] 供本发明中使用的抗原结合分子的制备

[0311] 在某些方面,组合中使用的治疗剂包含多特异性抗体,例如双特异性抗体。多特异性抗体是对至少两个不同位点具有结合特异性的单克隆抗体。在某些方面,结合特异性针对不同抗原。在某些方面,结合特异性针对同一抗原上的不同表位。双特异性抗体可以以全长抗体或抗体片段制备。

[0312] 用于生成多特异性抗体的技术包括但不限于具有不同特异性的两对免疫球蛋白重链-轻链对的重组共表达(见Milstein and Cuello,Nature 305:537(1983)),WO 93/08829,和Traunecker et al.,EMBO J.10:3655(1991),和“节-入-穴”工程化(见例如美国专利No.5,731,168)。也可以通过用于生成抗体Fc-异二聚体分子的工程化静电操纵效应(WO 2009/089004A1);交联两个或更多个抗体或片段(见例如美国专利No.4,676,980,和Brennan et al.,Science,229:81(1985));使用亮氨酸拉链来生成双特异性抗体(见例如Kostelny et al.,J.Immunol.,148(5):1547-1553(1992));使用用于生成双特异性抗体片段的“双抗体”技术(见例如Hollinger et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,90:6444-6448(1993));和使用单链Fv(sFv)二聚体(见例如Gruber et al.,J.Immunol.,152:5368(1994));和如例如Tutt et al.,J.Immunol.147:60(1991)中所描述的,制备三特异性抗体来生成多特异性抗体。

[0313] 本文中还包括具有三个或更多个功能性抗原结合位点的工程化改造抗体,包括“章鱼抗体”(见例如US 2006/0025576A1)。

[0314] 本文中的抗体或片段还包括包含结合两种不同抗原的抗原结合位点的“双重作用Fab”或“DAF”(见例如US 2008/0069820)。本文中还包括“Crossmab”抗体(参见例如WO2009/080251,WO2009/080252,WO2009/080253,WO2009/080254)。

[0315] 用于生成双特异性抗体片段的另一种技术是“双特异性T细胞衔接器”(engager)或BiTE®办法(参见例如W02004/106381, W02005/061547, W02007/042261, 和W02008/119567)。这种办法利用在单一多肽上排列的两种抗体可变域。例如,单一多肽链包括两个单链Fv(scFv)片段,每个具有由多肽接头分开的一个可变重链(V_H)域和一个可变轻链(V_L)域,多肽接头的长度足以容许两个域之间的分子内联合。此单一多肽进一步包括两个scFv片段之间的多肽间隔物序列。每个scFv识别不同的表位,而且这些表位可以是不同细胞类型特异性的,使得当每种scFv啮合其关联表位时两种不同细胞类型的细胞变成紧密接近或系留。这种办法的一个具体实施方案包括识别由免疫细胞表达的细胞表面抗原(例如T细胞上的CD3多肽)的scFv连接识别由靶细胞(诸如恶性或肿瘤细胞)表达的细胞表面抗原的另一scFv。

[0316] 因为它是单一多肽,所以双特异性T细胞衔接器可以使用本领域已知的任何原核或真核细胞表达系统(例如CHO细胞系)来表达。然而,特定纯化技术(参见例如EP1691833)对于分开单体双特异性T细胞衔接器与其它多聚体种类(其可能具有与单体的预定活性不同的生物学活性)可能是必需的。在一种例示性纯化方案中,首先对含有分泌多肽的溶液进行金属亲和层析,并用咪唑浓度的梯度洗脱多肽。使用阴离子交换层析进一步纯化此洗出液,并使用氯化钠浓度的梯度洗脱多肽。最后,对此洗出液进行大小排阻层析以分开单体与多聚体种类。在一个方面,在本发明中使用的双特异性双特异性抗体由包含通过肽接头的彼此融合的两个单链Fv片段(scFV)的单一多肽链构成。

[0317] 降低Fc受体结合和/或效应器功能的Fc域修饰

[0318] 本发明的抗原结合分子的Fc域由包含免疫球蛋白分子的重链域的一对多肽链组成。例如,免疫球蛋白G(IgG)分子的Fc域是二聚体,其每个亚基包含CH2和CH3 IgG重链恒定域。Fc域的两个亚基能够彼此稳定联合。

[0319] Fc域对本发明的抗原结合分子赋予有利的药动学特性,包括有助于较好的在靶组织中的积累的长血清半衰期和有利的组织-血液分配比。然而,与此同时,这可能导致不想要的本发明的双特异性抗体对表达Fc受体的细胞而非优选的携带抗原的细胞的靶向。因而,在特定方面,与天然IgG1 Fc域相比,本发明的抗原结合分子的Fc域展现降低的对Fc受体的结合亲和力和/或降低的效应器功能。在一个方面,Fc并不实质性结合Fc受体和/或并不诱导效应器功能。在一个特定方面,Fc受体是Fc γ 受体。在一个方面,Fc受体是人Fc受体。在一个具体方面,Fc受体是活化性人Fc γ 受体,更具体地是人Fc γ RIIIa, Fc γ RI或Fc γ RIIa,最具体地是人Fc γ RIIIa。在一个方面,Fc域并不诱导效应器功能。降低的效应器功能可包括但不限于下述一种或多种:降低的补体依赖性细胞毒性(CDC),降低的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC),降低的抗体依赖性细胞吞噬(ADCP),降低的细胞因子分泌,降低的免疫复合物介导的抗原呈递细胞对抗原的摄取,降低的对NK细胞的结合,降低的对巨噬细胞的结合,降低的对单核细胞的结合,降低的对多形核细胞的结合,降低的诱导凋亡的直接信号传导,降低的树突细胞成熟,或降低的T细胞引发。

[0320] 在某些方面,可以将一处或多处氨基酸修饰引入本文中提供的抗体的Fc区,由此生成Fc区变体。Fc区变体可包含包含一个或多个氨基酸位置处的氨基酸修饰(例如替代)的人Fc区序列(例如人IgG1, IgG2, IgG3或IgG4 Fc区)。

[0321] 在一个特定方面,本发明提供一种抗体,其中Fc域包含一处或多处降低对Fc受体,

特别是对Fc γ 受体的结合的氨基酸替代。

[0322] 在一个方面,本发明的抗体的Fc域包含一处或多处降低Fc域对Fc受体的结合亲和力和/或效应器功能的氨基酸突变。典型地,在Fc域的两个亚基的每一个中存在相同的一处或多处氨基酸突变。特别是,Fc域包含位置E233,L234,L235,N297,P331和P329(EU编号方式)处的氨基酸替代。特别是,Fc域包含IgG重链的位置234和235(EU编号方式)和/或329(EU编号方式)处的氨基酸替代。更特别地,提供的是依照本发明的抗体,其包含具有IgG重链中的氨基酸替代L234A,L235A和P329G(“P329G LALA”,EU编号方式)的Fc域。氨基酸替代L234A和L235A指所谓的LALA突变。“P329G LALA”氨基酸替代组合几乎完全消除人IgG1 Fc域的Fc γ 受体结合且在国际专利申请公开号WO 2012/130831 A1中描述,其还描述了制备此类突变体Fc域的方法及用于测定其特性诸如Fc受体结合或效应器功能的方法。

[0323] 具有降低的Fc受体结合和/或效应器功能的Fc域还包括那些具有一个或多个Fc域残基238,265,269,270,297,327和329的替代的(美国专利No.6,737,056)。此类Fc突变体包括具有两个或更多个氨基酸位置265,269,270,297和327处的替代的Fc突变体,包括具有残基265和297替代变成丙氨酸的替代的所谓的“DANA”Fc突变体(美国专利No.7,332,581)。

[0324] 在另一个方面,Fc域是IgG4 Fc域。与IgG1抗体相比,IgG4抗体展现降低的对Fc受体的结合亲和力和降低的效应器功能。在一个更具体方面,Fc域是包含位置S228(Kabat编号方式)处的氨基酸替代,特别是氨基酸替代S228P的IgG4 Fc域。在一个更具体方面,Fc域是包含氨基酸替代L235E和S228P和P329G(EU编号方式)的IgG4 Fc域。此类IgG4 Fc域突变体和其Fc γ 受体结合特性也在WO 2012/130831中描述。

[0325] 突变体Fc域可使用本领域公知的遗传或化学方法通过氨基酸删除,替代,插入或修饰来制备。遗传方法可包括编码DNA序列的位点特异性诱变,PCR,基因合成,等等。正确的核苷酸变化可例如通过测序来验证。

[0326] 对Fc受体的结合可例如通过ELISA或通过使用标准仪器诸如BIAcore仪(GE Healthcare)的表面等离子共振(SPR),和Fc受体(诸如可通过重组表达获得的)容易地测定。或者,Fc域或包含Fc域的细胞活化性抗体对Fc受体的结合亲和力可使用已知表达特定Fc受体的细胞系,诸如表达Fc γ IIIa受体的人NK细胞来评估。

[0327] Fc域或包含Fc域的本发明的抗体的效应器功能可通过本领域已知方法来测量。一种合适的用于测量ADCC的测定法在本文中描述。评估感兴趣分子的ADCC活性的体外测定法的其它例子在美国专利No.5,500,362;Hellstrom et al.,Proc Natl Acad Sci USA 83,7059-7063(1986)和Hellstrom et al.,Proc Natl Acad Sci USA 82,1499-1502(1985);美国专利No.5,821,337;Bruggemann et al.,J Exp Med 166,1351-1361(1987)中描述。或者,可采用非放射性测定法方法(参见例如ACTI™ non-radioactive cytotoxicity assay for flow cytometry(CellTechnology,Inc.,Mountain View,CA);和CytoTox 96® non-radioactive cytotoxicity assay(Promega,Madison,WI))。对于此类测定法有用的效应细胞包括外周血单个核细胞(PBMC)和天然杀伤(NK)细胞。或者/另外,可以在体内,例如在动物模型中评估感兴趣分子的ADCC活性,诸如Clynes et al.,Proc Natl Acad Sci USA 95,652-656(1998)中公开的。

[0328] 在一些方面,Fc域对补体成分,具体是C1q的结合降低。因而,在其中将Fc域工程化改造成具有降低的效应器功能的一些实施方案中,所述降低的效应器功能包括降低的CDC。

可以进行C1q结合测定来确定本发明的双特异性抗原结合分子是否能够结合C1q并因此具有CDC活性(参见例如WO 2006/029879和WO 2005/100402中的C1q和C3c结合ELISA)。为了评估补体活化,可实施CDC测定法(参见例如Gazzano-Santoro et al., J Immunol Methods 202,163 (1996); Cragg et al., Blood 101,1045-1052 (2003); 和Cragg and Glennie, Blood 103,2738-2743 (2004))。

[0329] 促进异二聚化的Fc域修饰

[0330] 本发明的双特异性抗原结合分子包含与Fc域的两个亚基之一或另一融合的不同抗原结合位点,如此Fc域的两个亚基可以包含在两条非相同的多肽链中。这些多肽的重组共表达和后续的二聚化导致两条多肽的数种可能组合。为了改善重组生成中本发明的双特异性抗体的产率和纯度,在本发明的双特异性抗原结合分子的Fc域中引入促进想要的多肽的联合的修饰如此会是有利的。

[0331] 因而,在特定方面,本发明涉及如下的双特异性抗原结合分子,其包含

[0332] (a) 至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的模块,

[0333] (b) 通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,

[0334] 其中抗原结合分子特征在于第一多肽包含通过肽接头彼此连接的TNF配体家族成员的两个外域或两个其片段且在于第二多肽包含所述TNF配体家族成员的仅仅一个外域或其片段,和(c) 由能够稳定联合的第一和第二亚基构成的Fc域,其中Fc域包含促进Fc域的第一和第二亚基联合的修饰。人IgG Fc域的两个亚基之间最广泛蛋白质-蛋白质相互作用的位点在Fc域的CH3域中。如此,在一个方面,所述修饰在Fc域的CH3域中。

[0335] 在一个具体方面,所述修饰是所谓的“节-入-穴”修饰,包含Fc域的两个亚基之一中的“节”修饰和Fc域的两个亚基之另一中的“穴”修饰。如此,本发明涉及一种抗原结合分子,其包含(a) 至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的模块,(b) 通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,其中抗原结合分子特征在于第一多肽包含通过肽接头彼此连接的两个4-1BBL外域或两个其片段且在于第二多肽包含仅仅一个所述4-1BBL外域或其片段,和(c) 由能够稳定联合的第一和第二亚基构成的Fc域,其中依照节入穴方法,Fc域的第一亚基包含节且Fc域的第二亚基包含穴。在一个特定方面,Fc域的第一亚基包含氨基酸替代S354C和T366W(EU编号方式)且Fc域的第二亚基包含氨基酸替代Y349C,T366S和Y407V(编号方式依照Kabat EU索引)。

[0336] “节-入-穴”技术在例如US 5,731,168;US 7,695,936;Ridgway et al., Prot Eng 9,617-621 (1996) 和Carter, J Immunol Meth 248,7-15 (2001) 中描述。一般地,方法牵涉在第一多肽的界面处引入隆起(“节”)并在第二多肽的界面中引入相应的空腔(“穴”),使得隆起可放置在空腔中,从而促进异二聚体形成并阻碍同二聚体形成。通过将来自第一多肽的界面的小氨基酸侧链用较大侧链(例如酪氨酸或色氨酸)替换来构建隆起。通过将大氨基酸侧链用较小侧链(例如丙氨酸或苏氨酸)替换而在第二多肽的界面中创建与隆起相同或相似大小的补偿性空腔。

[0337] 因而,在一个方面,在本发明的双特异性抗原结合分子的Fc域的第一亚基的CH3域中将氨基酸残基用具有较大侧链体积的氨基酸残基替换,由此在第一亚基的CH3域内生成隆起,其可放置在第二亚基的CH3域内的空腔中,并且在Fc域的第二亚基的CH3域中将氨基酸残基用具有较小侧链体积的氨基酸酸残基替换,由此在第二亚基的CH3域内生成空腔,其

内可放置第一亚基的CH3域内的隆起。可通过改变编码多肽的核酸,例如通过位点特异性诱变,或通过肽合成来生成隆起和空腔。在一个具体方面,在Fc域的第一亚基的CH3域中将位置366处的苏氨酸残基用色氨酸残基替换(T366W),并且在Fc域的第二亚基的CH3域中将位置407处的酪氨酸残基用缬氨酸残基替换(Y407V)。在一个方面,在Fc域的第二亚基中另外将位置366处的苏氨酸残基用丝氨酸残基替换(T366S)并将位置368处的亮氨酸残基用丙氨酸残基替换(L368A)。

[0338] 在还有又一个方面,在Fc域的第一亚基中另外将位置354处的丝氨酸残基用半胱氨酸残基替换(S354C),并且在Fc域的第二亚基中另外将位置349处的酪氨酸残基用半胱氨酸残基替换(Y349C)。引入这两个半胱氨酸残基导致在Fc域的两个亚基之间形成进一步稳定化二聚体的二硫桥(Carter, *J Immunol Methods* 248, 7-15 (2001))。在一个特定方面, Fc域的第一亚基包含氨基酸替代S354C和T366W (EU编号方式)且Fc域的第二亚基包含氨基酸替代Y349C, T366S和Y407V (编号方式依照Kabat EU索引)。

[0339] 在一个备选方面,促进Fc域的第一和第二亚基联合的修饰包括介导静电操纵效应的修饰,例如如PCT公开文本WO 2009/089004中描述的。一般地,这种方法牵涉将两个Fc域亚基的界面处的一个或多个氨基酸残基用带电荷氨基酸残基替换,使得同二聚体形成变成在静电方面不利但异二聚化在静电方面有利。

[0340] 本文中报告的双特异性抗体的重链的C末端可以是以氨基酸残基PGK结束的完整C末端。重链的C末端可以是缩短的C末端,其中已经去除一个或两个C末端氨基酸残基。在一个优选的方面,重链的C末端是以PG结束的缩短的C末端。在本文中报告的所有方面的一个方面,本文中规定的包含包括C末端CH3域的重链的双特异性抗体包含C末端甘氨酸-赖氨酸二肽(G446和K447,编号方式依照Kabat EU索引)。在本文中报告的所有方面的一个方面,本文中规定的包含包括C末端CH3域的重链的双特异性抗体包含C末端甘氨酸残基(G446,编号方式依照Kabat EU索引)。

[0341] Fab域中的修饰

[0342] 在一个方面,本发明涉及一种含有4-1BBL的抗原结合分子,其包含(a)能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的Fab片段,(b)通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,其中抗原结合分子特征在于第一多肽包含通过肽接头彼此连接的两个4-1BBL外域或两个其片段且在于第二多肽包含仅仅一个4-1BBL外域或其片段,和(c)由能够稳定联合的第一和第二亚基构成的Fc域,其中在Fab片段之一中可变域VH和VL或恒定域CH1和CL任一是交换的。双特异性抗体依照Crossmab技术来制备。

[0343] 具有一个结合臂中的域替换/交换的多特异性抗体(CrossMabVH-VL或CrossMabCH-CL)详细记载于W02009/080252和Schaefer, W. et al., *PNAS*, 108 (2011) 11187-1191。它们清楚地减少由针对第一抗原的轻链与错误的针对第二抗原的重链错配引起的副产物(与没有此类域交换的办法相比)。

[0344] 在一个方面,本发明涉及一种双特异性抗原结合分子,其包含(a)能够特异性结合CD19的第一Fab片段,(b)通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,其中抗原结合分子特征在于第一多肽包含通过肽接头彼此连接的两个4-1BBL外域或两个其片段且在于第二多肽包含仅仅一个4-1BBL外域或其片段,且其中它们中每一个与CH1或CL域连接,和(c)由能够稳定联合的第一和第二亚基构成的Fc域,其中邻近4-1BBL的恒定域CL和CH1彼此替换使得

CH1域是轻链的一部分且CL域是重链的一部分。

[0345] 在另一个方面,本发明涉及一种双特异性抗原结合分子,其包含(a)包含两个能够特异性结合共刺激性TNF受体家族成员的Fab片段和Fc域的抗体的两条轻链和两条重链,和(b)两个能够特异性结合靶细胞抗原的另外的Fab片段,其中所述另外的Fab片段每一个经由肽接头与(a)的重链的C端连接。在一个特定方面,另外的Fab片段是Fab片段,其中可变域VL和VH彼此替换使得VH域是轻链的一部分且VL域是重链的一部分。

[0346] 在另一个方面,及为了进一步改善正确配对,包含(a)能够特异性结合CD19的第一Fab片段,(b)通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,其中抗原结合分子特征在于第一多肽包含通过肽接头彼此连接的两个4-1BBL外域或两个其片段且在于第二多肽包含仅仅一个4-1BBL外域或其片段,且其中它们中每一个与CH1或CL域连接,和(c)由能够稳定联合的第一和第二亚基构成的Fc域的双特异性抗原结合分子可含有带不同电荷的氨基酸替代(所谓的“带电荷的残基”)。在交叉或非交叉CH1和CL域中引入这些修饰。在一个特定的方面,本发明涉及一种双特异性抗原结合分子,其中在CL域之一中位置123(EU编号方式)处的氨基酸被精氨酸(R)替换且位置124(EU编号方式)处的氨基酸被赖氨酸(K)替代且其中在CH1域之一中位置147(EU编号方式)处的和位置213(EU编号方式)处的氨基酸被谷氨酸(E)替代。

[0347] 更加特别地,本发明涉及一种双特异性抗原结合分子,其包含Fab,其中在与TNF配体家族成员邻近的CL域中位置123(EU编号方式)处的氨基酸被精氨酸(R)替换且位置124(EU编号方式)处的氨基酸被赖氨酸(K)替代,且其中在与TNF配体家族成员邻近的CH1域中位置147(EU编号方式)处的和位置213(EU编号方式)处的氨基酸被谷氨酸(E)替代。

[0348] 多核苷酸

[0349] 本发明进一步提供分离的多核苷酸,其编码如本文中描述的双特异性抗体或其片段。

[0350] 分离的编码本发明的抗体的多核苷酸可以作为编码整个抗原结合分子的单一多核苷酸或作为共表达的多种(例如两种或更多种)多核苷酸表达。由共表达的多核苷酸编码的多肽可经由例如二硫键或其它手段联合以形成功能性抗原结合分子。例如,免疫球蛋白的轻链部分与免疫球蛋白的重链部分可以由分开的多核苷酸编码。当共表达时,重链多肽会与轻链多肽联合以形成免疫球蛋白。

[0351] 在一些方面,分离的多核苷酸编码整个依照如本文中描述的发明的抗体。在其它实施方案中,分离的多核苷酸编码依照如本文中描述的发明的抗体中包含的多肽。

[0352] 在某些实施方案中,多核苷酸或核酸是DNA。在其它实施方案中,本发明的多核苷酸是RNA,例如以信使RNA(mRNA)的形式。本发明的RNA可以是单链的或双链的。

[0353] 重组方法

[0354] 如本发明中使用的双特异性抗体可通过例如固态肽合成(例如Merrifield固相合成)或重组生成来获得。对于重组生成,分离编码例如如上文描述的抗体或其多肽片段的一种或多种多核苷酸并插入一个或多个载体供进一步克隆和/或宿主细胞中的表达。此类多核苷酸可使用常规规程容易地分离和测序。在本发明的一个方面,提供包含本发明的一种或多种多核苷酸的载体,优选表达载体。可使用本领域技术人员公知的方法来构建含有抗体(片段)的编码序列连同适宜的转录/翻译控制信号的表达载体。这些方法包括体外重组DNA技术,合成技术和体内重组/遗传重组。参见例如Maniatis et al., MOLECULAR

CLONING: A LABORATORY MANUAL, Cold Spring Harbor Laboratory, N.Y. (1989); 和 Ausubel et al., CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, Greene Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y. (1989) 中描述的技术。表达载体可以是病毒, 质粒的部分, 或者可以是核酸片段。表达载体包括其中与启动子和/或其它转录或翻译控制元件可操作联合地克隆编码抗体或其多肽片段的多核苷酸(即编码区)的表达盒。如本文中使用的, “编码区”是核酸中由翻译成氨基酸的密码子组成的部分。虽然“终止密码子”(TAG, TGA, 或TAA)不翻译成氨基酸, 但是如果存在的话, 它可考虑作为编码区的一部分, 但是任何侧翼序列, 例如启动子, 核糖体结合位点, 转录终止子, 内含子, 5' 和3' 非翻译区, 等等不是编码区的部分。两个或更多个编码区可存在于单个多核苷酸构建物中, 例如在单个载体上, 或在分开多核苷酸构建物中, 例如在分开的(不同的)载体上。而且, 任何载体可含有单个编码区, 或者可包含两个或更多个编码区, 例如, 本发明的载体可编码一种或多种多肽, 其经由蛋白水解切割在翻译后或共翻译地分开成最终的蛋白质。另外, 本发明的载体, 多核苷酸, 或核酸可编码异源编码区, 或是与编码本发明的抗体或其多肽片段, 或其变体或衍生物的多核苷酸融合或是不融合。异源编码区包括但不限于专门的元件或基序, 诸如分泌信号肽或异源功能域。可操作联合是这样一种方式, 当基因产物, 例如多肽的编码区与一种或多种调节序列这样联合时, 将基因产物的表达置于调节序列的影响或控制下。如果启动子功能的诱导导致编码想要的基因产物的mRNA转录的话且如果两个DNA片段之间的连接的性质不干扰表达调节序列指导基因产物表达的能力或不干扰DNA模板被转录的能力的话, 两个DNA片段(诸如多肽编码区和与其联合的启动子)是“可操作联合的”。如此, 如果启动子能够影响编码多肽的核酸的转录的话, 启动子区与核酸会是可操作联合的。启动子可以是仅仅在预定细胞中指导DNA实质性转录的细胞特异性启动子。在启动子以外, 其它转录控制元件, 例如增强子, 操纵基因, 阻抑物, 和转录终止信号可与多核苷酸可操作联合以指导细胞特异性转录。

[0355] 本文中公开了合适的启动子和其它转录控制区。多种转录控制区是本领域技术人员知道的。这些包括但不限于在脊椎动物细胞中发挥功能的转录控制区, 诸如但不限于来自巨细胞病毒(例如立即早期启动子, 连同内含子A), 猿病毒40(例如早期启动子), 和逆转录病毒(诸如例如劳斯(Rous)肉瘤病毒)的启动子和增强子区段。其它转录控制区包括那些自脊椎动物基因诸如肌动蛋白, 热休克蛋白, 牛生长激素和兔 α 珠蛋白衍生的, 以及能够控制真核细胞中的基因表达的其它序列。另外的合适的转录控制区包括组织特异性启动子和增强子以及诱导型启动子(例如四环素诱导型启动子)。类似地, 多种翻译控制元件是本领域普通技术人员知道的。这些包括但不限于核糖体结合位点, 翻译起始和终止密码子, 和自病毒系统衍生的元件(特别是内部核糖体进入位点或IRES, 也称作CITE序列)。表达盒还可包括其它特征, 诸如复制起点, 和/或染色体整合元件, 诸如逆转录病毒长末端重复(LTR), 或腺伴随病毒(AAV)反向末端重复(ITR)。

[0356] 本发明的多核苷酸和核酸编码区可以与另外的编码分泌或信号肽(其指导由本发明的多核苷酸编码的多肽的分泌)的编码区联合。例如, 如果想要分泌抗体或其多肽片段的话, 可以将编码信号序列的DNA放置在编码本发明的抗体或其多肽片段的核酸的上游。依照信号假说, 由哺乳动物细胞分泌的蛋白质具有信号肽或分泌前导序列, 其在一旦启动生长中的蛋白质链输出穿过粗面内质网时自成熟蛋白质切割下来。本领域普通技术人员知道脊

椎动物细胞分泌的多肽一般具有与多肽的N端融合的信号肽,其自翻译的多肽切割下来以生成分泌或“成熟”形式的多肽。在某些实施方案中,使用天然信号肽,例如免疫球蛋白重链或轻链信号肽,或序列保留指导与其可操作联合的多肽分泌的能力的功能性衍生物。或者,可使用异源哺乳动物信号肽或其功能性衍生物。例如,野生型前导序列可以用人组织纤溶酶原活化物(TPA)或小鼠 β -葡糖醛酸糖苷酶的前导序列替代。

[0357] 编码可用于推动稍后纯化(例如组氨酸标签)或辅助标记融合蛋白的短蛋白质序列的DNA可以包括在编码本发明的抗体或其多肽片段的多核苷酸的内部或末端。

[0358] 在本发明的又一个方面,提供包含本发明的一种或多种多核苷酸的宿主细胞。在某些实施方案中,提供包含本发明的一种或多种载体的宿主细胞。多核苷酸和载体分别可单一地或组合地并入本文中关于多核苷酸和载体描述的任何特征。在一个方面,宿主细胞包含(例如已经转化或转染)包含编码本发明的抗体(的一部分)的多核苷酸的载体。如本文中使用的,术语“宿主细胞”指可以工程化改造以生成本发明的融合蛋白或其片段的任何种类的细胞系统。适合于复制和支持抗原结合分子表达的宿主细胞是本领域公知的。可以用特定的表达载体适当地转染或转导此类细胞,并且可以培养大量的含有载体的细胞供接种大规模发酵罐以获得足够数量的抗原结合分子供临床应用。合适的宿主细胞包括原核微生物,诸如大肠杆菌,或各种真核细胞,诸如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,昆虫细胞,等等。例如,特别是在不需要糖基化时,可以在细菌中生成多肽。表达后,多肽可以在可溶性级分中自细菌细胞糊分离且可以进一步纯化。在原核生物以外,真核微生物诸如丝状真菌或酵母对于编码多肽的载体是合适的克隆或表达宿主,包括其糖基化途径已经“人源化”,导致生成具有部分或完全人糖基化样式的多肽的真菌和酵母株。参见Gerngross, Nat Biotech 22, 1409-1414 (2004), 和Li et al., Nat Biotech 24, 210-215 (2006)。

[0359] 对于表达(糖基化)多肽合适的宿主细胞也源自多细胞生物体(无脊椎动物和脊椎动物)。无脊椎动物细胞的例子包括植物和昆虫细胞。已经鉴定了可以与昆虫细胞联合使用,特别是用于转染草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)细胞的众多杆状病毒株。植物细胞培养物也可用作宿主。参见例如美国专利No. 5,959,177, 6,040,498, 6,420,548, 7,125,978, 和6,417,429(描述用于在转基因植物中生成抗体的PLANTIBODIES™技术)。脊椎动物细胞也可用作宿主。例如,适应在悬浮液中生长的哺乳动物细胞系可能是有用的。有用的哺乳动物宿主细胞系的其它例子是经SV40转化的猴肾CV1系(COS-7),人胚肾细胞系(例如Graham et al., J Gen Virol 36, 59 (1977)中描述的293或293T细胞),幼仓鼠肾细胞(BHK),小鼠塞托利(Sertoli)细胞(如例如Mather, Biol Reprod 23, 243-251 (1980)中描述的TM4细胞),猴肾细胞(CV1),非洲绿猴肾细胞(VERO-76),人宫颈癌细胞(HELA),犬肾细胞(MDCK),牛鼠(buffalo rat)肝细胞(BRL 3A),人肺细胞(W138),人肝细胞(Hep G2),小鼠乳房肿瘤细胞(MMT 060562),TRI细胞(如例如Mather et al., Annals N.Y. Acad Sci 383, 44-68 (1982)中描述的),MRC 5细胞,和FS4细胞。其它有用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,包括dhfr-CHO细胞(Urlaub et al., Proc Natl Acad Sci USA 77, 4216 (1980));和骨髓瘤细胞系诸如YO, NS0, P3X63和Sp2/0。关于适合于蛋白质生成的某些哺乳动物宿主细胞系的综述,参见例如Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003)。宿主细胞包括培养的细胞,例如培养的哺乳动物细胞,酵母细胞,昆虫细胞,细菌细胞和植物细胞,在此仅列

举少数,但是还有转基因动物,转基因植物或培养的植物或动物组织内包含的细胞。在一个实施方案中,宿主细胞是真核细胞,优选哺乳动物细胞,诸如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,人胚肾(HEK)细胞或淋巴样细胞(例如Y0,NS0,Sp20细胞)。在这些系统中表达外来基因的标准技术是本领域已知的。可以工程化改造表达包含免疫球蛋白重链或轻链任一的多肽的细胞,从而还表达另一条免疫球蛋白链,使得所表达的产物是具有重和轻链二者的免疫球蛋白。

[0360] 在一个方面,提供一种生成本发明的抗体或其多肽片段的方法,其中方法包含在适于本发明的抗体或其多肽片段表达的条件下培养如本文中提供的包含编码本发明的抗体或其多肽片段的多核苷酸的宿主细胞,和自宿主细胞(或宿主细胞培养液)回收本发明的抗体或其多肽片段。

[0361] 在某些实施方案中,形成抗原结合分子的一部分的能够特异性结合靶细胞抗原的模块(例如Fab片段)至少包含能够结合抗原的免疫球蛋白可变区。可变区可形成天然或非天然发生的抗体和其片段的一部分且自其衍生。生成多克隆抗体和单克隆抗体的方法是本领域公知的(参见例如Harlow and Lane,"Antibodies,a laboratory manual",Cold Spring Harbor Laboratory,1988)。非天然发生抗体可以使用固相肽合成来构建,可以重组生成(例如如美国专利No.4,186,567中描述的)或可以通过例如筛选包含可变重链和可变轻链的组合文库来获得(参见例如授予McCafferty的美国专利No.5,969,108)。

[0362] 任何动物物种的免疫球蛋白均可在本发明中使用。在本发明中有用的非限制性免疫球蛋白可以是鼠,灵长类,或人起源的。如果融合蛋白旨在供人使用的话,可使用嵌合形式的免疫球蛋白,其中免疫球蛋白的恒定区来自人。还可依照本领域公知的方法制备人源化或完全人形式的免疫球蛋白(参见例如授予Winter的美国专利No.5,565,332)。人源化可通过多种方法来实现,包括但不限于(a)将非人(例如供体抗体)CDR嫁接到人(例如受体抗体)框架和恒定区上,有或没有保留关键框架残基(例如那些对于保留优秀的抗原结合亲和力或抗体功能重要的残基),(b)仅将非人特异性决定区(SDR或a-CDR;对于抗体-抗原相互作用关键的残基)嫁接到人框架和恒定区上,或(c)移植整个非人可变域,但通过替换表面残基用人样区段“遮盖”它们。人源化抗体和生成它们的方法在例如Almagro and Fransson,Front Biosci 13,1619-1633(2008)中综述,而且在例如Riechmann et al.,Nature 332,323-329(1988);Queen et al.,Proc Natl Acad Sci USA 86,10029-10033(1989);美国专利No.5,821,337,7,527,791,6,982,321,和7,087,409;Jones et al.,Nature 321,522-525(1986);Morrison et al.,Proc Natl Acad Sci 81,6851-6855(1984);Morrison and Oi,Adv Immunol 44,65-92(1988);Verhoeyen et al.,Science 239,1534-1536(1988);Padlan,Molec Immun 31(3),169-217(1994);Kashmiri et al.,Methods36,25-34(2005)(描述SDR(a-CDR)嫁接);Padlan,Mol Immunol 28,489-498(1991)(描述“表面重塑”);Dall'Acqua et al.,Methods 36,43-60(2005)(描述“FR改组”);和Osbourn et al.,Methods 36,61-68(2005)和Klimka et al.,Br J Cancer 83,252-260(2000)(描述用于FR改组的“导向选择”办法)中进一步描述。依照本发明的特定免疫球蛋白是人免疫球蛋白。人抗体和人可变区可使用本领域已知的多种技术来生成。人抗体在van Dijk and van de Winkel,Curr Opin Pharmacol 5,368-74(2001)和Lonberg,Curr Opin Immunol 20,450-459(2008)中一般性描述。人可变区能形成通过杂交瘤方法生成的人单克隆抗体的一部分且自其衍生(参见例如Monoclonal Antibody Production Techniques

and Applications, pp.51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987))。人抗体和人可变区还可以通过将免疫原施用于已经修饰以响应抗原性攻击而生成完整人抗体或具有人可变区的完整抗体的转基因动物来制备(参见例如Lonberg, *Nat Biotech* 23, 1117-1125 (2005))。人抗体和人可变区还可以通过分离自人衍生噬菌体展示文库选择的Fv克隆可变区序列来生成(参见例如Hoogenboom et al., in *Methods in Molecular Biology* 178, 1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001); 和McCafferty et al., *Nature* 348, 552-554; Clackson et al., *Nature* 352, 624-628 (1991))。噬菌体典型地或是以单链Fv(scFv)片段或是作为Fab片段展示抗体片段。

[0363] 在某些方面,依照例如PCT公开文本WO 2012/020006(参见关于亲和力成熟的实施例)或美国专利申请公开文本No.2004/0132066中公开的方法工程化改造抗体以具有增强的结合亲和力。本发明抗原结合分子结合特定抗原性决定簇的能力可经由酶联免疫吸附测定法(ELISA)或本领域技术人员熟悉的其它技术来测量,例如表面等离子共振技术(Liljeblad et al., *Glyco J* 17, 323-329 (2000)),和传统的结合测定法(Heeley, *Endocr Res* 28, 217-229 (2002))。可使用竞争测定法来鉴定与参照抗体竞争结合特定抗原的抗原结合分子。在某些实施方案中,此类竞争性抗原结合分子结合的表位(例如线性或构象表位)与参照抗原结合分子结合的相同。用于抗原结合分子结合的表位的作图的详细的例示性方法在Morris(1996)“Epitope Mapping Protocols”, in *Methods in Molecular Biology* vol.66 (Humana Press, Totowa, NJ)中提供。在一种例示性竞争测定法中,在包含结合抗原的第一经标记抗原结合分子和第二未标记抗原结合分子(测试其与第一抗原结合分子竞争结合抗原的能力)的溶液中温育固定化抗原。第二抗原结合分子可以存在于杂交瘤上清液中。作为对照,在包含第一经标记抗原结合分子但不包含第二未标记抗原结合分子的溶液中温育固定化抗原。在允许第一抗体与抗原结合的条件下温育后,去除过量的未结合的抗体,并测量与固定化抗原联合的标记物的量。如果在测试样品中与固定化抗原联合的标记物的量相对于对照样品实质性降低,那么这指示第二抗原结合分子与第一抗原结合分子竞争结合抗原。参见Harlow and Lane(1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)。

[0364] 如本文中所述制备的本发明的抗体可通过本领域已知的技术来纯化,诸如高效液体层析术,离子交换层析术,凝胶电泳,亲和层析术,大小排阻层析术,等等。用于纯化特定蛋白质的实际条件会部分取决于诸如净电荷,疏水性,亲水性等因素,而且对于本领域技术人员会是显而易见的。对于亲和层析术纯化,可使用结合抗原结合分子的抗体,配体,受体或抗原。例如,对于本发明的融合蛋白的亲和层析术纯化,可使用具有蛋白A或蛋白G的基质。可以本质上如实施例所述使用顺序蛋白A或G亲和层析术和大小排阻层析术来分离抗原结合分子。抗原结合分子或其片段的纯度可通过多种公知的分析方法任一来测定,包括凝胶电泳,高压液体层析术,等等。例如,如实施例所述表达的含有4-1BBL的抗原结合分子显示是完整的且正确装配的,如通过还原性和非还原性SDS-PAGE证明的。

[0365] 测定法

[0366] 本文中提供的抗原结合分子可通过本领域已知的多种测定法来鉴定,筛选,或表征其物理/化学特性和/或生物学活性。

[0367] 1. 亲和力测定法

[0368] 本文中提供的双特异性抗原结合分子对相应的受体的亲和力可依照实施例中提出的方法通过表面等离子共振 (SPR), 使用标准仪器诸如BIAcore仪器 (GE Healthcare), 和受体或靶蛋白 (诸如可通过重组表达获得的) 来测定。双特异性抗原结合分子对靶细胞抗原的亲和力也可以通过表面等离子共振 (SPR), 使用标准仪器诸如BIAcore仪器 (GE Healthcare), 和受体或靶蛋白 (诸如可通过重组表达获得的) 来测定。对于CD19-4-1BBL抗原结合分子, 已经在国际专利申请公开号W0 2016/075278 A1中更加详细地描述方法。依照一个方面, 于25℃使用BIAcore® T100机器 (GE Healthcare) 通过表面等离子共振测量 K_D 。

[0369] 2. 结合测定法和其它测定法

[0370] 在一个方面, 对本文中报告的CD19-4-1BBL抗原结合分子测试它的抗原结合活性, 如实施例2中更加详细描述。

[0371] 3. 活性测定法

[0372] 在一个方面, 提供用于鉴定CD19-4-1BBL抗原结合分子的生物学活性的测定法。生物学活性可包括例如B细胞增殖的抑制或B细胞的杀伤。还提供在体内和/或在体外具有此类生物学活性的抗体。对于CD19-4-1BBL抗原结合分子, 某些方法更为详细地描述于国际专利申请公开号W0 2016/075278A1。

[0373] 在某些实施方案中, 对本文中报告的抗体测试此类生物学活性。

[0374] 药学组合物, 配制剂和施用路径

[0375] 在又一个方面, 本发明提供药学组合物, 其包含本文中提供的包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原, 特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂和抗CD20抗体, 例如供任何下述治疗方法中使用。在一个方面, 药学组合物包含本文中提供的包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原, 特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂和至少一种药学可接受赋形剂, 和包含抗CD20抗体的第二药物。在另一个实施方案中, 药学组合物包含本文中提供的包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原, 特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂和至少一种药学可接受赋形剂, 第二药物包含抗CD20抗体和至少一种例如如下文描述的另外的治疗剂。

[0376] 本发明的药学组合物包含溶解或分散在药学可接受赋形剂中的治疗有效量的一种或多种本文中描述的抗原结合分子。短语“药学或药学可接受”指在采用的剂量和浓度一般对接受者无毒, 即在适当施用于动物, 诸如例如人时不产生不利的, 变应性的或其它不想要的反应的分子实体和组合物。含有至少一种抗体和任选地另外的活性组分的药学组合物的制备会是本领域技术人员根据本公开内容知道的, 如由Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990例示的, 通过援引收入本文。特别地, 组合物是冻干配制剂或水溶液。如本文中使用的, “药学可接受赋形剂”包括任何和所有溶剂, 缓冲剂, 分散介质, 包衣, 表面活性剂, 抗氧化剂, 防腐剂 (例如抗细菌剂, 抗真菌剂), 等张剂, 盐, 稳定剂和其组合, 正如本领域普通技术人员会知道的。

[0377] 胃肠外组合物包括那些为通过注射, 例如皮下, 皮内, 损害内, 静脉内, 动脉内, 肌肉内, 鞘内或腹膜内注射的施用而设计的。对于注射, 可以在水溶液中, 优选在生理学相容缓冲液诸如汉克斯 (Hanks) 氏溶液, 林格 (Ringer) 氏溶液, 或生理盐水缓冲液中配制本发明的抗原结合分子。溶液可含有配制用剂, 诸如悬浮, 稳定和/或分散剂。或者, 融合蛋白可处

于粉末形式,供在使用前用合适的媒介,例如无菌无热原水建构。根据需要,通过与下文列举的多种其它组分一起以要求的量在适宜的溶剂中掺入本发明的融合蛋白来制备无菌可注射溶液。无菌性可例如通过穿过无菌滤膜过滤而容易地实现。一般地,通过将多种经过灭菌的活性组分掺入含有基础分散介质和/或其它组分的无菌媒介中来制备分散体。在用于制备无菌可注射溶液,悬浮液或乳状液的无菌粉末的情况中,优选的制备方法是真空干燥或冷冻干燥技术,其自其先前无菌过滤的液体介质产生活性组分加任何另外的想要的组分的粉末。液体介质在必要时应当适当缓冲且在注射前首先用足够的盐水或葡萄糖使得液体稀释剂变成等张。组合物在制造和贮存条件下必须是稳定的,而且针对微生物,诸如细菌和真菌的污染作用防腐。会领会的是,内毒素污染应当最低限度保持在安全水平,例如小于0.5ng/mg蛋白质。合适的药学可接受赋形剂包括但不限于:缓冲剂,诸如磷酸盐,柠檬酸盐,和其它有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(诸如氯化十八烷基二甲基苄基铵;氯化六甲双铵;苯扎氯铵;苄索氯铵;酚,丁或苄醇;对羟基苯甲酸烷基酯,诸如对羟基苯甲酸甲或丙酯;儿茶酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;和间甲酚);低分子量(小于约10个残基)多肽;蛋白质,诸如血清清蛋白,明胶,或免疫球蛋白;亲水性聚合物,诸如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,诸如甘氨酸,谷氨酰胺,天冬酰胺,组氨酸,精氨酸,或赖氨酸;单糖,二糖,和其它碳水化合物,包括葡萄糖,甘露糖,或糊精;螯合剂,诸如EDTA;糖,诸如蔗糖,甘露醇,海藻糖或山梨醇;成盐反荷离子,诸如钠;金属复合物(例如Zn-蛋白质复合物);和/或非离子型表面活性剂,诸如聚乙二醇(PEG)。水性注射悬浮液可含有提高悬浮液的粘度的化合物,诸如羧甲基纤维素钠,山梨醇,右旋糖酐,等等。任选地,悬浮液还可含有合适的稳定剂或提高化合物的溶解度以容许制备高度浓缩溶液的药剂。另外,活性化合物的悬浮液可制备为适宜的油性注射悬浮液。合适的亲脂性溶剂或媒介包括脂肪油诸如芝麻油,或合成脂肪酸酯,诸如油酸乙酯或甘油三酯,或脂质体。

[0378] 可以将活性组分包埋在例如通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊中(例如分别是羟甲基纤维素或明胶微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊),在胶体药物投递系统(例如脂质体,清蛋白微球体,微乳液,纳米颗粒和纳米胶囊)中或在粗乳液中。此类技术在Remington's Pharmaceutical Sciences(18th Ed.Mack Printing Company,1990)中公开。可以制备持续释放制剂。持续释放制剂的合适例子包括含有多肽的固体疏水性聚合物的半透性基质,所述基质处于成形物品的形式,例如薄膜,或微胶囊。在特定实施方案中,通过在组合物中使用延迟吸收的药剂,诸如例如单硬脂酸铝,明胶或其组合,可带来延长的可注射组合物的吸收。

[0379] 本文中的例示性药学可接受赋形剂进一步包括间质药物分散剂,诸如可溶性中性活性透明质酸酶糖蛋白(sHASEGP),例如人可溶性PH-20透明质酸酶糖蛋白,诸如rHuPH20(HYLENEX®,Baxter International,Inc.)。某些例示性sHASEGP和使用方法(包括rHuPH20)在美国专利公开文本No.2005/0260186和2006/0104968中描述。在一个方面,将sHASEGP与一种或多种另外的糖胺聚糖酶诸如软骨素酶组合。

[0380] 例示性冻干抗体配制剂在美国专利No.6,267,958中描述。水性抗体配制剂包括美国专利No.6,171,586和WO 2006/044908中描述的那些,后者的配制剂包括组氨酸-乙酸盐缓冲剂。

[0381] 在先前描述的组合物以外,抗体还可配制成贮库制剂。此类长效配制剂可通过植

入(例如皮下或肌肉内)或通过肌肉内注射来施用。如此,例如,融合蛋白可以用合适的聚合或疏水性材料(例如作为可接受油中的乳液)或离子交换树脂,或作为微溶衍生物,例如作为微溶盐配制。

[0382] 包含本发明的抗原结合分子的药学组合物可依靠常规混合,溶解,乳化,封装,包埋或冻干工艺来制造。可以使用推动将蛋白质加工成药学上可使用的制剂的一种或多种生理学可接受载剂,稀释剂,赋形剂或助剂以常规方式配制药学组合物。适当的配制剂取决于所选择的施用路径。

[0383] 可以以游离酸或碱,中性或盐形式将本文中提供的包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的4-1BB激动剂配制成组合物。药学可接受盐是实质性保留游离酸或碱的生物学活性的盐。这些包括酸加成盐,例如那些与蛋白质性质组合物的游离氨基形成的或那些与无机酸诸如例如盐酸或磷酸,或有机酸诸如乙酸,草酸,酒石酸或扁桃酸形成的。与游离羧基形成的盐也可以衍生自无机碱,诸如例如氢氧化钠,钾,铵,钙或铁;或有机碱,诸如异丙胺,三甲胺,组氨酸或普鲁卡因。与相应的游离碱形式相比,药学盐趋于在水性和其它质子溶剂中溶解度更高。

[0384] 在所治疗的特定适应症需要时,本文中的组合物还可含有超过一种活性组分,优选那些具有彼此没有不利影响的互补活性的。此类活性组分以对于预定目的有效的量适当地组合存在。

[0385] 在一个方面,提供了一种药学组合物,其包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的4-1BB激动剂和药学可接受赋形剂,和第二药物,其包含抗CD20抗体,如本文中描述的。在一个特定方面,药学组合物供治疗B细胞增殖性病症,特别是选自非霍奇金淋巴瘤(NHL),急性淋巴细胞性白血病(ALL),慢性淋巴细胞性白血病(CLL),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),滤泡性淋巴瘤(FL),套细胞淋巴瘤(MCL),边缘区淋巴瘤(MZL),多发性骨髓瘤(MM)和霍奇金淋巴瘤(HL)组成的组的疾病中使用。

[0386] 要用于体内施用的配制剂一般是无菌的。无菌性可例如通过穿过无菌滤膜过滤而容易地实现。

[0387] 本文中提供的包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的4-1BB激动剂和抗CD20抗体的施用

[0388] 可以通过任何合适的手段(包括胃肠外,肺内,和鼻内,及若期望用于局部治疗的话,损伤内施用)来施用包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的4-1BB激动剂和抗CD20抗体二者(均称作本文中的物质)。然而,关于通过胃肠外(特别是静脉内)输注施用的治疗剂,本发明的方法是特别有用的。

[0389] 胃肠外输注包括肌肉内,静脉内,动脉内,腹膜内,或皮下施用。部分取决于施用是短暂的还是长期的,剂量给药可以通过任何合适的路径(例如通过注射,诸如静脉内或皮下注射)来进行。本文中涵盖各种剂量给药日程表,包括但不限于单次施用或在多个时间点上的多次施用,推注施用,和脉冲输注。在一个实施方案中,胃肠外(特别是静脉内)施用治疗剂。在一个特定实施方案中,通过静脉内输注施用物质。在另一个方面,皮下施用物质。

[0390] 包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂和抗CD20抗体二者会以符合优秀医学实践的方式配制,定剂量,和施用。在此背景中考虑的因素包括所治疗的特定病症,所治疗的特定哺乳动物,患者个体的临床状况,

病症的起因,药剂投递部位,施用方法,施用日程表,和医学从业人员知道的其它因素。包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂和抗CD20抗体二者无需但任选与一种或多种目前用于预防或治疗所讨论病症的药剂一起配制。此类其它药剂的有效量取决于配制剂中存在的治疗剂的量,病症或治疗的类型,和上文讨论的其它因素。这些一般以与本文所述相同的剂量和施用路径使用,或以本文所述剂量的约1-99%使用,或以凭经验/临床上确定为适宜的任何剂量和任何路径使用。

[0391] 对于预防或治疗疾病,本文中提供的包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂和抗CD20抗体(当以其组合或与一种或多种其它另外的治疗剂一起使用时)的适宜剂量会取决于要治疗的疾病的类型,4-1BB药剂的类型,疾病的严重性和过程,施用这两种药剂是为了预防还是治疗目的,先前的疗法,患者的临床史和对治疗剂的响应,和主治医师的斟酌。每种物质以一次或一系列治疗恰当地施用于患者。取决于疾病的类型和严重性,约 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 至 $15\text{mg}/\text{kg}$ (例如 $0.1\text{mg}/\text{kg}$ - $10\text{mg}/\text{kg}$)的物质可以是对受试者施用的初始候选剂量,例如无论是通过一次或多次分开的施用,还是通过连续输注。取决于上文提到的因素,一个典型的日剂量的范围可以是约 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 至 $100\text{mg}/\text{kg}$ 或更多。对于数天或更长时间的重复施用,取决于状况,治疗一般会持续直至发生期望的疾病症状遏制。每种物质的一个例示性剂量会在约 $0.05\text{mg}/\text{kg}$ 至约 $10\text{mg}/\text{kg}$ 的范围内。如此,可以对受试者施用约 $0.5\text{mg}/\text{kg}$, $2.0\text{mg}/\text{kg}$, $4.0\text{mg}/\text{kg}$ 或 $10\text{mg}/\text{kg}$ (或其任意组合)的一个或多个剂量。此类剂量可以间歇施用,例如每周,每两周,或每三周(例如,使得受试者接受约2个至约20个,或例如约6个剂量的治疗剂)。可以施用较高的初始加载剂量,接着是一个或多个较低的剂量,或者较低的初始剂量,接着是一个或多个较高的剂量。一种例示性剂量给药方案包含施用约 10mg 的初始剂量,接着是约 20mg 治疗剂的两周一次剂量。然而,其它剂量方案可能是有用的。这种疗法的进展容易通过常规技术和测定法来监测。

[0392] 在一个方面,包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂和抗CD20抗体二者的施用是单次施用。在某些方面,物质的施用是两次或更多次施用。在一个此类方面,每周,每两周,或每三周,特别是每两周施用物质。在一个方面,以治疗有效量施用物质。在一个方面,以约 $50\mu\text{g}/\text{kg}$,约 $100\mu\text{g}/\text{kg}$,约 $200\mu\text{g}/\text{kg}$,约 $300\mu\text{g}/\text{kg}$,约 $400\mu\text{g}/\text{kg}$,约 $500\mu\text{g}/\text{kg}$,约 $600\mu\text{g}/\text{kg}$,约 $700\mu\text{g}/\text{kg}$,约 $800\mu\text{g}/\text{kg}$,约 $900\mu\text{g}/\text{kg}$ 或约 $1000\mu\text{g}/\text{kg}$ 的剂量施用物质。在一个实施方案中,以比包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂在不施用抗CD20抗体的相应治疗方案中的剂量要高的剂量施用包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂。在一个方面,本文中提供的包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂的施用包含第一剂量的抗CD20抗体的初始施用,和第二剂量的抗CD20抗体的一次或多次后续施用,其中第二剂量比第一剂量要高。在一个方面,包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂的施用包含第一剂量的抗CD20抗体的初始施用,和第二剂量的抗CD20抗体的一次或多次后续施用,其中第一剂量不比第二剂量要低。

[0393] 在一个方面,包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂在依照本发明的治疗方案中的施用是包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的4-1BB激动剂对受试者的首次施用(至少在相同治疗过程内)。在一

个方面,在施用包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂前没有对受试者进行抗CD20抗体的施用。在另一个方面,在施用包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂前施用抗CD20抗体。

[0394] 在另一个方面,包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂供与抗CD20抗体组合使用,其中在组合治疗前实施用II型抗CD20抗体,优选奥滨尤妥珠单抗的预处理,其中预处理和组合治疗之间的时间段足以响应II型抗CD20抗体,优选奥滨尤妥珠单抗减少个体中的B细胞。

[0395] T细胞的活化可导致严重的细胞因子释放综合征(CRS)。在由TeGenero进行的一项1期研究(Suntharalingam et al., N Engl J Med (2006) 355, 1018-1028)中,所有6名健康志愿者均在输注不当剂量的T细胞刺激性超激动性抗CD28单克隆抗体后迅速经历接近致命的,严重的细胞因子释放综合征(CRS)。与对受试者施用T细胞活化性治疗剂,诸如包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂有关的细胞因子释放可以通过用II型抗CD20抗体,诸如奥滨尤妥珠单抗预处理所述受试者来显著降低。**GAZYVA®**预处理(Gpt)的使用应当有助于快速消减外周血和次级淋巴样器官二者中的B细胞,使得来自T细胞活化性治疗剂所致强烈系统性T细胞活化的高度有关不利事件(AE)的风险(例如CRS)降低,同时支持自剂量给药开始起高得足以介导肿瘤细胞消除的暴露水平的T细胞活化性治疗剂。至今,已经在正在进行的奥滨尤妥珠单抗临床试验中在数以百计的患者中评估和管理奥滨尤妥珠单抗的安全性概况(包括细胞因子释放)。最后,在支持本文中提供的包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂的安全性概况以外,Gpt还应当有助于阻止针对这些独特分子的抗药物抗体(ADA)形成。

[0396] 在本发明中,包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂和抗CD20抗体的组合可以在疗法中与一种或多种别的药剂组合使用。例如,可以共施用至少一种另外的治疗剂。在某些方面,另外的治疗剂是免疫治疗剂。

[0397] 上文记录的此类组合疗法涵盖组合施用(其中两种或更多种治疗剂包括在同一配制剂或分开的配制剂中),和分开施用(在该情况中,治疗剂的施用可以在一种或多种另外的治疗剂的施用之前,同时,和/或之后发生)。在一个实施方案中,治疗剂的施用和另外的治疗剂的施用彼此在约1个月内,或在约1,2或3周内,或在约1,2,3,4,5,或6天内发生。

[0398] 治疗方法和组合物

[0399] CD20和CD19在除了干细胞和浆细胞以外的大多数B细胞上表达(泛B细胞标志物),而且在除了多发性骨髓瘤以外的大多数人B细胞恶性,诸如淋巴瘤和白血病上频繁表达(肿瘤相关抗原),例如在非霍奇金淋巴瘤和急性成淋巴细胞性白血病中。

[0400] 识别不同细胞群体上的两种细胞表面蛋白的双特异性分子持有将细胞毒性免疫细胞重定向来破坏致病性靶细胞的希望。

[0401] 在一个方面,提供了一种用于在受试者中治疗癌症或延迟癌症进展的方法,方法包括对受试者施用有效量的包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的4-1BB激动剂和抗CD20抗体。

[0402] 在一个此类方面,方法进一步包括对受试者施用有效量的至少一种另外的治疗

剂。在又一些方面,本文中提供了一种用于消滅B细胞的方法,方法包括对受试者施用有效量的本文中提供的包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的4-1BB激动剂和抗CD20抗体。依照任何上述方面的“个体”或“受试者”优选是人。

[0403] 在又一些方面,提供了一种包含本文中提供的包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的4-1BB激动剂和抗CD20抗体的组合物,其用于癌症免疫疗法。在某些方面,提供了一种包含本文中提供的包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的4-1BB激动剂和抗CD20抗体的组合物,其用于癌症免疫疗法的方法。

[0404] 在又一个方面,本文中提供了包含本文中提供的包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的4-1BB激动剂和抗CD20抗体的组合物在制造或制备药物中的用途。在一个实施方案中,药物用于治疗B细胞增殖性病症。在又一个实施方案中,药物用于治疗B细胞增殖性病症的方法,方法包括对具有B细胞增殖性病症的个体施用有效量的药物。在一个此类实施方案中,方法进一步包括对个体施用有效量的至少一种另外的治疗剂。在又一个实施方案中,药物用于消滅B细胞。B细胞增殖性病症选自非霍奇金淋巴瘤(NHL),急性淋巴细胞性白血病(ALL),慢性淋巴细胞性白血病(CLL),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),滤泡性淋巴瘤(FL),套细胞淋巴瘤(MCL),边缘区淋巴瘤(MZL),多发性骨髓瘤(MM)和霍奇金淋巴瘤(HL)组成的组。在一个特定方面,B细胞癌症是非霍奇金淋巴瘤或急性成淋巴细胞性白血病。

[0405] 在又一个方面,本文中提供了一种用于治疗B细胞癌症的方法。在一个实施方案中,方法包括对具有此类B细胞癌症的个体施用有效量的抗人CD20抗体。在一个此类实施方案中,方法进一步包括对个体施用有效量的至少一种另外的治疗剂,如下文描述的。依照任何上述实施方案的“个体”可以是人。在一个实施方案中,B细胞癌症是B细胞淋巴瘤或B细胞白血病。在一个实施方案中,B细胞癌症是非霍奇金淋巴瘤或急性成淋巴细胞性白血病。

[0406] 上文记录的组合疗法涵盖组合施用(其中两种或更多种治疗剂包括在同一配制剂或分开的配制剂中),和分开施用,在情况中,本文中报告的抗体的施用可以在一种或多种另外的治疗剂的施用之前,同时,和/或之后发生。在一个实施方案中,抗人CD20抗体的施用和另外的治疗剂的施用彼此在约1个月内,或在约1,2或3周内,或在约1,2,3,4,5,或6天内发生。

[0407] 可以通过任何合适的手段(包括胃肠外,肺内,和鼻内,及若期望用于局部治疗的话,损伤内施用)来施用本文中报告的包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的4-1BB激动剂和抗CD20抗体二者(和任何另外的治疗剂)。胃肠外输注包括肌肉内,静脉内,动脉内,腹膜内,或皮下施用。部分取决于施用是短暂的还是长期的,剂量给药可以通过任何合适的路径(例如通过注射,诸如静脉内或皮下注射)来进行。本文中涵盖各种剂量给药日程表,包括但不限于单次施用或在多个时间点上的多次施用,推注施用,和脉冲输注。

[0408] 本文中报告的包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的4-1BB激动剂和抗CD20抗体二者会以符合优秀医学实践的方式配制,定剂量,和施用。在此背景中考虑的因素包括所治疗的特定病症,所治疗的特定哺乳动物,患者个体的临床状况,病症的起因,药剂投递部位,施用方法,施用日程表,和医学从业人员知道的其它因素。抗体无需但任选与一种或多种目前用于预防或治疗所讨论病症的药剂一起配制。此类其它药剂的有效量取决于配制剂中存在的抗体的量,病症或治疗的类型,和上文讨论的其它因素。这些一般以与本

文所述相同的剂量和施用路径使用,或以本文所述剂量的约1-99%使用,或以凭经验/临床上确定为适宜的任何剂量和任何路径使用。

[0409] 其它药剂和治疗

[0410] 本发明的抗原结合分子可以在疗法中与一种或多种其它药剂组合施用。例如,本发明的融合蛋白可以与至少一种另外的治疗剂共施用。术语“治疗剂”涵盖可以为了在需要此类治疗的个体中治疗症状或疾病而施用的任何药剂。此类另外的治疗剂可包含任何适合于所治疗的特定适应症的活性组分,优选那些具有彼此没有不利影响的互补活性的。在某些实施方案中,另外的治疗剂是另一种抗癌剂。

[0411] 此类其它药剂以对于预定目的有效的量适当地组合存在。此类其它药剂的有效量取决于所使用的融合蛋白的量,病症或治疗的类型,和上文讨论的其它因素。抗原结合分子一般以与本文中所述相同的剂量和施用路径,或本文中描述的剂量的约1至99%,或以凭经验/在临床上确定为适宜的任何剂量和任何路径使用。

[0412] 上文提到的此类组合疗法涵盖组合施用(其中两种或更多种治疗剂包括在同一组合物或分开的组合物中)和分开施用,在情况中,本发明的抗原结合分子的施用可以在另外的治疗剂和/或佐剂的施用之前,同时,和/或之后发生。

[0413] 制品(试剂盒)

[0414] 在本发明的另一个方面,提供一种试剂盒,其含有对于治疗,预防和/或诊断上文描述的病症有用的材料。试剂盒包含至少一个容器和在容器上或与容器联合的标签或包装插页。合适的容器包括例如瓶,管形瓶,注射器,IV溶液袋,等。容器可以自多种材料诸如玻璃或塑料形成。容器装有本身或与另一种组合物组合有效治疗,预防和/或诊断状况的组合物且可具有无菌存取口(例如,容器可以是具有皮下注射针可刺穿的塞子的管形瓶或静脉内溶液袋)。试剂盒中的至少两种活性剂是本发明的抗CD20抗体和包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂。

[0415] 在一个特定方面,提供的是一种用于在受试者中治疗癌症或延迟癌症进展的试剂盒,其包含包装,包含(A)包含作为活性组分的包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂和药学可接受赋形剂的第一组合物; (B)包含作为活性组分的抗CD20抗体和药学可接受赋形剂的第二组合物;和(C)关于在组合疗法中使用组合物的用法说明书。

[0416] 标签或包装插页指示组合物如何用于治疗选择的状况及提供关于在组合疗法中使用组合物的用法说明书。此外,试剂盒可包含(a)其中装有组合物的第一容器,其中组合物包含本发明的包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂;和(b)其中装有组合物的第二容器,其中组合物包含抗CD20抗体。另外,试剂盒可包含一个或多个其中装有能组合使用的别的活性组分的别的容器。本发明的这个实施方案中的制品可进一步包含指示组合物可用于治疗特定状况的包装插页。

[0417] 或者/另外,试剂盒可进一步包含第二(或第三)容器,其包含药学可接受缓冲剂,诸如抑菌性注射用水(BWFI),磷酸盐缓冲盐水,林格(Ringer)氏溶液和右旋糖溶液。它可进一步包括从商业和用户立场看想要的其它材料,包括其它缓冲剂,稀释剂,滤器,针,和注射器。

[0418] 表D(序列)

[0419]

SEQ ID NO:	名称	序列
1	人(hu) 4-1BBL (71-254)	REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSW YSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQL ELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLP PASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHA WQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSRSE
2	hu 4-1BBL (85-254)	DLDRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTG GLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGS VSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGF QGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGL FRVTPEIPAGLPSRSE
3	hu 4-1BBL (80-254)	DPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAG VSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAG EGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARN SAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGA TVLGLFRVTPEIPAGLPSRSE
4	hu 4-1BBL (52-254)	PWAVSGARASPGSAASPRREGPELSPDDPAGLLDLRQG MFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKE DTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALH LQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLH LSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEI PAGLPSRSE
5	人(hu) 4-1BBL (71-248)	REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSW YSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQL ELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLP PASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHA WQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGL
6	hu 4-1BBL (85-248)	DLDRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTG GLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGS VSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGF QGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGL FRVTPEIPAGL
7	hu 4-1BBL (80-248)	DPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAG VSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAG EGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARN SAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGA TVLGLFRVTPEIPAGL
8	hu 4-1BBL (52-248)	PWAVSGARASPGSAASPRREGPELSPDDPAGLLDLRQG MFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKE DTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALH LQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLH LSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEI PAGL
9	CD19 (8B8-018) CDR-H1	DYIMH
10	CD19 (8B8-018) CDR-H2	YINPYNDGSKYTEKFQG
11	CD19 (8B8-018) CDR-H3	GTYYYGSALFDY
12	CD19 (8B8-018) CDR-L1	KSSQSLENPNGNTYLN
13	CD19 (8B8-018) CDR-L2	RVSKRFS
14	CD19 (8B8-018) CDR-L3	LQLTHVPYT
15	CD19 (8B8-2B11) CDR-H1	DYIMH

[0420]

16	CD19 (8B8-2B11) CDR-H2	YINPYNDGSKYTEKFQG
17	CD19 (8B8-2B11) CDR-H3	GTYYYGQPLFDY
18	CD19 (8B8-2B11) CDR-L1	KSSQSLETSTGTTYLN
19	CD19 (8B8-2B11) CDR-L2	RVSKRFS
20	CD19 (8B8-2B11) CDR-L3	LQLEDPYT
21	CD19 (8B8-018) VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYIMHWVR QAPGQGLEWMGYINPYNDGSKYTEKFQGRVTMTSDTSIS TAYMELSRRLSDDTAVYYCARGTYYYYGSALFDYWGQG TTVTVSS
22	CD19 (8B8-018) VL	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLENPNGNTYLNW YLQKPGQSPQLLIYRVSKRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGVYYCLQLTHVPYTFGQGTKLEIK
23	CD19 (8B8-2B11) VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYIMHWVR QAPGQGLEWMGYINPYNDGSKYTEKFQGRVTMTSDTSIS TAYMELSRRLSDDTAVYYCARGTYYYYGQPLFDYWGQG TTVTVSS
24	CD19 (8B8-2B11) VL	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLETSTGTTYLNW YLQKPGQSPQLLIYRVSKRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGVYYCLQLEDPYTFGQGTKLEIK
25	通过(G4S) ₂ 接头连接的二聚体hu 4-1BBL (71-254)	REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSW YSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQL ELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLP PASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHA WQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSRSEGGGGSGGGGS REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSW YSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQL ELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLP PASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHA WQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSRSE
26	通过(G4S) ₂ 接头连接的二聚体hu 4-1BBL (85-254)	DLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTG GLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGS VSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGF QGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGL FRVTPEIPAGLPSRSEGGGGSGGGGSLDLRQGMFAQLV AQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVV AKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAA GAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLG VHLHTEARARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSR SE
27	通过(G4S) ₂ 接头连接的二聚体hu 4-1BBL (80-254)	DPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAG VSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAG EGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARN SAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGA TVLGLFRVTPEIPAGLPSRSEGGGGSGGGSDPAGLLDL RQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLS YKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSL ALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGR LLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGLFRV TPEIPAGLPSRSE
28	通过(G4S) ₂ 接头连接的二聚体hu 4-1BBL (52-254)	PWAVSGARASPGSAASPRLREGPELSPDDPAGLLDLRQ MFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKE DKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALH LQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLH LSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEI PAGLPSRSEGGGGSGGGGSPWAVSGARASPGSAASPRL REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSW YSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQL ELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLP PASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHA WQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSRSE

[0421]

29	通过(G4S)2接头连接的二聚体hu 4-1BBL (71-248)	REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSW YSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQL ELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDL PASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHA WQLTQGATVGLFRVTPEIPAGLGGGGSGGGGREGPEL SPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGL AGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVV AGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSE ARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQ GATVGLFRVTPEIPAGL
30	通过(G4S)2接头连接的二聚体hu 4-1BBL (85-248)	LDRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTG GLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGS VSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGF QGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVGL FRVTPEIPAGLGGGGSGGGGSLDRQGMFAQLVAQNVLL IDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGV YYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAAL ALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHT EARARHAWQLTQGATVGLFRVTPEIPAGL
31	通过(G4S)2接头连接的二聚体hu 4-1BBL (80-248)	DPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAG VSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAG EGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARN SAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGA TVLGLFRVTPEIPAGLGGGGSGGGGSDPAGLLDLRQGMF AQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTK ELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAG QRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVGLFRVTPEIPAGL
32	通过(G4S)2接头连接的二聚体hu 4-1BBL (52-248)	PWA VSGARASPGSAASPRLREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVGLFRVTPEIPAGLGGGGSGGGGSPWAVSGARASPGSAASPRLREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVGLFRVTPEIPAGL
33	抗CD19(8B8-018) Fc穴链	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYIMHWVR QAPGQGLEWMGYINPYNDGSKYTEKFQGRVTMTSDTSIS TAYMELSRLLSDDTAVYYCARGTYYGSA LFDYWGQG TTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREP QVCTLPPSRDELTKNQVSLTSCAVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSPGK
34	抗CD19(8B8-018)轻链	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLENPNGNTYLNW YLQKPGQSPQLLIYRVSKRFSGVPRDFSGSGGTDFTLKIS RVEAEDVGVYYCLQLTHVPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
35	二聚体 hu 4-1BBL (71-254)-CL* Fc节链	REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSW YSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQL ELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDL

[0422]

		PASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHA WQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSRSEGGGGSGGGGS REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSW YSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYYVFFQL ELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLP PASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHA WQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSRSEGGGGSGGGGS RTVAAPSVFIFPPSDRKLKSGTASVVCLLNNFYBREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECDKTHTCPPCPA PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
36	单体 hu 4-1BBL (71-254)-CH1*	REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSW YSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYYVFFQL ELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLP PASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHA WQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSRSEGGGGSGGGGS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKVEPKSC
37	二聚体 hu 4-1BBL (71-254)-CL Fc节链	REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSW YSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYYVFFQL ELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLP PASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHA WQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSRSEGGGGSGGGGS REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSW YSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYYVFFQL ELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLP PASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHA WQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSRSEGGGGSGGGGS RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYBREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECDKTHTCPPCPA PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
38	单体 hu 4-1BBL (71-254)-CH1	REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSW YSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYYVFFQL ELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLP PASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHA WQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSRSEGGGGSGGGGS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKVEPKSC
39	抗CD19(8B8-018) Fc穴二聚 体配体链	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVR QAPGQGLEWMGYINPYNDGSKYTEKFQGRVTMTSDTSIS TAYMELSRLRSDDTAVYYCARGTYYYGSALFDYWGQG TTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPC PAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL VHLDWLNGLKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREP

[0423]

		<p>QVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSREGPELS PDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGL AGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVV AGEKSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEA RNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQ GATVGLGLFRVTPEIPAGLPSRSEGGGGSGGGGSREGPEL SPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGL AGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVV AGEKSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEA RNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQ GATVGLGLFRVTPEIPAGLPSRSE</p>
40	抗CD19(8B8-018) Fc节单体配体	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVR QAPGGLEWMGYINPYNDGSKYTEKFQGRVTMTSDTSS TAYMELSRLRSDDTAVYYCARGTYYYGSALFDYWGQG TTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPC PAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSREGPELS PDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGL AGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVV AGEKSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEA RNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQ GATVGLGLFRVTPEIPAGLPSRSE</p>
41	二聚体 hu 4-1BBL (71-248)-CL* Fc节链	<p>REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSW YSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQL ELRRVVAGEKSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLP PASSEARNNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHA WQLTQGATVGLGLFRVTPEIPAGLGGGGSGGGGSREGPEL SPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGL AGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVV AGEKSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEA RNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQ GATVGLGLFRVTPEIPAGLGGGGSGGGGSRTVAAPSVFIFP PSDRKLKSGTASVCLLNFPYFVPEAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSPVTKSFNRGECDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTK NQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLD DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
42	单体 hu 4-1BBL (71-248)-CH1*	<p>REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSW YSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQL ELRRVVAGEKSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLP PASSEARNNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHA WQLTQGATVGLGLFRVTPEIPAGLGGGGSGGGGSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSC</p>
43	二聚体 hu 4-1BBL (71-248) - CL Fc节链	<p>REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSW YSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQL ELRRVVAGEKSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLP</p>

		PASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHA WQLTQGATVGLFRVTPEIPAGLGGGGSGGGGSREGPEL SPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGL AGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVV AGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEA RNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQ GATVGLFRVTPEIPAGLGGGGSGGGGSRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGECDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDEL TKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHEALHNHY TQKLSLSLSPGK
44	单体 hu 4-1BBL (71-248) - CH1	REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSW YSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQL ELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLP PASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHA WQLTQGATVGLFRVTPEIPAGLGGGGSGGGGSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NPKPSNTKVDKKEPKSC
45	抗CD19(8B8-018) Fc 穴二聚 体配体(71-248)链	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVR QAPGQGLEWMGYINPYNDGSKYTEKFGQGRVTMTSDT SIS TAYMELSRLRSDDTAVYYCARGTYYYGSALFDYWGQ G TTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPS SSLGTQTYICNVNPKPSNTKVDKKEPKSCDKTHT CPPC PAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLVSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVD KSRWQQGNVFSQSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGGGG SGGGGSREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNV LLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVA KAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLR SAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLS AGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVGLFRVTPE IPAGLGGGGSGGGGSREGPELSPDDPAGLLDLRQGM FAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSY KEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGS VSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSA FGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQ GATVGLFRVTPEIPAGLGGGGSGGGGSREGPELSP DDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDP GLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLE LRRVV
46	抗CD19(8B8-018) Fc 节单体 (71-248)配体	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVR QAPGQGLEWMGYINPYNDGSKYTEKFGQGRVTMTSDT SIS TAYMELSRLRSDDTAVYYCARGTYYYGSALFDYWGQ G TTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPS SSLGTQTYICNVNPKPSNTKVDKKEPKSCDKTHT CPPC PAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSQSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGGGG SGGGGSREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNV LLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVA KAGVYYVFFQLELRRVV

[0424]

		AGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVGLGLFRVTPEIPAGL
47	抗CD19(8B8-2B11) Fc 穴链	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDGSKYTEKFQGRVTMTSDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGTYYYGPQLFDYWGGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSDHEPVEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
48	CD19 (8B8-2B11)轻链	DIVMTQTPLSLVTPGQPASISCKSSQSLETSTGTTYLNWYLQKPGQSPQLLIYRVSKRFSGVPRDFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCLQLLEDPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
49	抗 CD19(8B8-2B11) Fc 穴二聚体配体(71-254)链	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDGSKYTEKFQGRVTMTSDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGTYYYGPQLFDYWGGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSDHEPVEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVGLGLFRVTPEIPAGLPSRSEGGGGSGGGGSREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVGLGLFRVTPEIPAGLPSRSE
50	抗 CD19(8B8-2B11) Fc 节单体(71-254)配体	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDGSKYTEKFQGRVTMTSDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGTYYYGPQLFDYWGGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSDHEPVEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVGLGLFRVTPEIPAGLPSRSE

[0425]

[0426]

51	抗 CD19(8B8-2B11) Fc 穴二聚体配体(71-248)链	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVR QAPGQGLEWMGYINPYNDGSKYTEKFQGRVTMTSDTSIS TAYMELSRLRSDDTAVYYCARGTYYYGPQLFDYWGQG TTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPC PAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREP QVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSREGPELS PDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGL AGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYYVFFQLELRRVV AGEKSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSE ARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQ GATVGLFRVTPEIPAGLGGGGGSGGGGSREGPELSPDDP AGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSL TGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYYVFFQLELRRVVAGEGS GSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARN SAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQ GATVGLFRVTPEIPAGL</p>
52	抗 CD19(8B8-2B11) Fc 节单体(71-248)配体	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVR QAPGQGLEWMGYINPYNDGSKYTEKFQGRVTMTSDTSIS TAYMELSRLRSDDTAVYYCARGTYYYGPQLFDYWGQG TTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPC PAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSREGPELS PDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGL AGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYYVFFQLELRRVV AGEKSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSE ARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQ GATVGLFRVTPEIPAGL</p>
53	三聚体 hu 4-1BBL (71-254) Fc 节链	<p>REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSW YSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYYVFFQ ELRRVVAGEKSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDL PASSESARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARAR HAWQLTQGATVGLFRVTPEIPAGLPSRSEGGGGSGGGGS REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSW YSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYYVFFQ ELRRVVAGEKSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDL PASSESARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARAR HAWQLTQGATVGLFRVTPEIPAGLPSRSEGGGGSGGGGS REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSW YSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYYVFFQ ELRRVVAGEKSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDL PASSESARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARAR HAWQLTQGATVGLFRVTPEIPAGLPSRSEGGSPGSSSSGSD KTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQGNVFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>

[0427]

<p>54</p>	<p>与三聚体hu 4-1BBL (71-254) 融合的抗CD19(8B8-018) Fc 节链</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTDYIMHWVR QAPGQGLEWMGYINPYNDGSKYTEKFAQGRVTMTSDTSIS TAYMELSRLRSDDTAVYYCARGTYYYGSALFDYWGQG TTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPC PAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSREGPELS PDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGL AGVSLTGGLSYKEDTKELVAKAGVYVFFQLELRRVV AGEKSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSE RNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQ GATVGLGFRVTPEIPAGLPSRSEGGGGSGGGGSREGPEL SPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGL AGVSLTGGLSYKEDTKELVAKAGVYVFFQLELRRVV AGEKSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSE RNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQ GATVGLGFRVTPEIPAGLPSRSEGGGGSGGGGSREGPEL SPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGL AGVSLTGGLSYKEDTKELVAKAGVYVFFQLELRRVV AGEKSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSE RNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQ GATVGLGFRVTPEIPAGLPSRSE</p>
<p>55</p>	<p>与三聚体hu 4-1BBL (71-254) 融合的抗 CD19(8B8-2B11) Fc节链</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTDYIMHWVR QAPGQGLEWMGYINPYNDGSKYTEKFAQGRVTMTSDTSIS TAYMELSRLRSDDTAVYYCARGTYYYGPQLFDYWGQG TTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPC PAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSREGPELS PDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGL AGVSLTGGLSYKEDTKELVAKAGVYVFFQLELRRVV AGEKSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSE RNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQ GATVGLGFRVTPEIPAGLPSRSEGGGGSGGGGSREGPEL SPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGL AGVSLTGGLSYKEDTKELVAKAGVYVFFQLELRRVV AGEKSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSE RNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQ GATVGLGFRVTPEIPAGLPSRSEGGGGSGGGGSREGPEL SPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGL AGVSLTGGLSYKEDTKELVAKAGVYVFFQLELRRVV AGEKSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSE RNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQ GATVGLGFRVTPEIPAGLPSRSE</p>
<p>56</p>	<p>DP47 Fc穴链</p>	<p>EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQ APGKGLEWVSAISGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLR AEDTAVYYCAKGSDFDYWGQGLTVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAG</p>

[0428]

		GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLP SRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
57	DP47轻链	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQYQGSPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
58	与二聚体hu 4-1BBL (71-254) 融合的DP47 Fc穴链	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQ APGKGLEWVSAIIGSGASTYYADSVKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGLTVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTL PPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN YKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSREGPELSPDDPA GLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSL TGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGS GSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAF GFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVL GLFRVTPEIPAGLPSRSEGGGGGGSGGGGSREGPELSPDDP AGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVS LTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEG SGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAF GFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVL GLFRVTPEIPAGLPSRSE
59	与单体hu 4-1BBL (71-254)融 合的DP47 Fc节链	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQ APGKGLEWVSAIIGSGASTYYADSVKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGLTVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN YKTTTPVLDSDGSFFLYKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSREGPELSPDDPA GLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSL TGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGS GSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAF GFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVL GLFRVTPEIPAGLPSRSE
60	di-mu4-1BBL-CL Fc节链	见表5
61	mono-mu4-1BBL-CH1链	见表5
62	CD19	UniProt登录号P15391
63	CD20	UniProt登录号P11836
64	鼠抗CD20 B-Ly1 VH	GPELVKPGASVKISKASGYAFSYSWMNWVKLKRPQGL EWIGRIFPGDGDYNGKFKGKATLTADKSSNTAYMQL TSLTSVDSAVYLCARNVFDGYWLVYWGQGLTVTVSA
65	鼠抗CD20 B-Ly1 VL	NPVTLGTSASISCRSSKSLLSHNSGITYLYWYLQKPGQSPQ

[0429]

		LLIQMSNLVSGVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGV YYCAQNLELPYTFGGGKLEIKR
66	全长4-1BBL	UniProt登录号P41273
67	4-1BBL (50-254)	ACPWAVSGARASPGSAASPRLREGPELSPDDPAGLLDLR QGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSY KEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLA LHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGR LHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVGLFRVT PEIPAGLPSRSE
68	人4-1BB	UniProt登录号Q07011
69	鼠4-1BB	UniProt登录号P20334
70	食蟹猴4-1BB	Uniprot登录号F6W5G6
71	4-1BB (20H4.9) VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVYGGSFSGYYWSWIR QSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRTISVDTSKNQF SLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPNGYDWFYDLWGRGT LTVSS
72	4-1BB (20H4.9) VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQKQP GQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPE DFAVYYCQQRSNWPPALTFGGGKVEIK
73	CD20-HCDR1	YSWIN
74	CD20-HCDR2	RIFPGDGD TDYNGKFK
75	CD20-HCDR3	NVFDGYWL VY
76	CD20-LCDR1	RSSKSLLSHNGITYLY
77	CD20-LCDR2	QMSNLVS
78	CD20-LCDR3	AQNLELPYT
79	CD20 VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYAFSYSWINWVR QAPGQGLEWMGRIFPGDGD TDYNGKFKGRVTITADKST STAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWL VYWGQGT LTVSS
80	CD20 VL	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLSHNGITYLYWY LQKPGQSPQLLIYQMSNLVSGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGVYYCAQNLELPYTFGGGKVEIKRTV
81	G4S肽接头	GGGGS
82	(G4S) ₂	GGGSGGGGS
83	(SG4) ₂	SGGGSGGGG
84	肽接头	GGGSGGGSGGGG
85	肽接头	GSPGSSSSGS
86	(G4S) ₃ 肽接头	GGGSGGGSGGGGS ₃
87	(G4S) ₄ 肽接头	GGGSGGGSGGGSGGGGS
88	肽接头	GSGSGSGS
89	肽接头	GSGSGNGS
90	肽接头	GGSGSGSG
91	肽接头	GGSGSG
92	肽接头	GGSG
93	肽接头	GGSGNGSG
94	肽接头	GGNGSGSG
95	肽接头	GGNGSG
96	FAP (28H1) CDR-H1	SHAMS
97	FAP (28H1) CDR-H2	AIWASGEQYYADSVKG
98	FAP (28H1) CDR-H3	GWLGNFYD
99	FAP (28H1) CDR-L1	RASQSVRSYLA
100	FAP (28H1) CDR-L2	GASTRAT
101	FAP (28H1) CDR-L3	QQGQVIPPT
102	FAP(4B9) CDR-H1	SYAMS
103	FAP(4B9) CDR-H2	AIIGSGASTYYADSVKG
104	FAP(4B9) CDR-H3	GWFGGFNY

[0430]

105	FAP(4B9) CDR-L1	RASQSVTSSYLA
106	FAP(4B9) CDR-L2	VGSRRAT
107	FAP(4B9) CDR-L3	QQGIMLPPT
108	FAP(28H1) VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSHAMSWVRQ APGKGLEWVSAIWASGEQYYADSVKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCAKGWLGWLNFDYWGQGLTVTVS S
109	FAP(28H1) VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVRSYLAWYQQK PGQAPRLLIIGASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQGQVIPPTFGQGTKVEIK
110	FAP(4B9) VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQ APGKGLEWVSAIIGSGASTYYADSVKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGLTVTVS S
111	FAP(4B9) VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVTSSYLAWYQQK PGQAPRLINVGSRRTGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQGIMLPPTFGQGTKVEIK
112	抗FAP (4B9) Fc穴链 (构建物2.4)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQ APGKGLEWVSAIIGSGASTYYADSVKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGLTVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKKEYCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTL PPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
113	抗FAP (4B9)轻链 (构建物2.4)	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVTSSYLAWYQQK PGQAPRLINVGSRRTGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQGIMLPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
114	抗FAP(28H1) Fc穴链	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSHAMSWVRQ APGKGLEWVSAIWASGEQYYADSVKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCAKGWLGWLNFDYWGQGLTVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKKEYCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTL PPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
115	抗FAP (28H1)轻链	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVRSYLAWYQQK PGQAPRLLIIGASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQGQVIPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
116	与二聚体hu 4-1BBL (71-254) 融合的抗FAP (4B9) Fc穴链	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQ APGKGLEWVSAIIGSGASTYYADSVKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGLTVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF

[0431]

		NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTL PPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSREGPELSPDDPA GLLDRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSL TGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGS GSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAF GFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVL GLFRVTPEIPAGLPSRSEGGGGSGGGGSREGPELSPDDP AGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVS LTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEG SGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAF GFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVL GLFRVTPEIPAGLPSRSE
117	与单体hu 4-1BBL (71-254)融合的抗FAP (4B9) Fc节链	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQ APGKGLEWVSAIIGSGASTYYADSVKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCAKGFYPSDIAVEWESNGQPENN SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSREGPELSPDDPA GLLDRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSL TGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGS GSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAF GFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVL GLFRVTPEIPAGLPSRSE
118	与二聚体hu 4-1BBL (71-254)融合的抗FAP (28H1) Fc节链	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSHAMSWVRQ APGKGLEWVSAIWASGEQYYADSVKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCAKGLGNFDYWGQGLTVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTL PPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSREGPELSPDDPA GLLDRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSL TGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGS GSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAF GFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVL GLFRVTPEIPAGLPSRSEGGGGSGGGGSREGPELSPDDP AGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVS LTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEG SGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAF GFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVL GLFRVTPEIPAGLPSRSE
119	与单体hu 4-1BBL (71-254)融合的抗FAP (28H1) Fc节链	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSHAMSWVRQ APGKGLEWVSAIWASGEQYYADSVKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCAKGLGNFDYWGQGLTVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA

[0432]

		GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSREGPELSPDDPA GLLDRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSL TGGLSYKEDTKELVVAKAGVYVFFQLELRVAVAGEGS GSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAF GFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVL GLFRVTPEIPAGLPSRSE
120	人(hu) FAP	UniProt登录号Q12884
121	人 FAP 外域 +poly-lys 标签 +his ₆ 标签	RPSRVHNSEENTMRALTLKDILNGTFSYKTFPPNWISGQE YLHQSadNNIVLYNIETGQSYTILSNRTMKSvNASNYGLS PDRQFVYLEDYskLWRYSYtATYYIYDLNgeFVRGNE LPRPIQYLCWSPVgSKLAYVYQNNIYLKQRPGDPPFQITF NGRENKIFNGIPDWVYEEEMLatKYALWwSPNGKFLAY AEFNDDIPVIAYSYyGDEQYPRtINIPYPKAGAKNPVVRi FIIDTTYPAyVGPQEVpPAMIASSDyYfSWLTWvTDER VCLQWLKRvQNVsvLSICDFREDWQTwDCPKTQEHIEES RTGWAGGFFVSTPvFSYDAISyYKIFSDKdGYKHIHYIKD TVENAIQITSGKWEAINIFrVTQDSLfySSNEFEYpGRRN IYRISIGSYPPSKKCVtChLRKERCQYYtASfSDYAKYyA LVCYGPgPISTLHDGRtDQEIqILEENKELENALkNIQLP KEEIKKLEvDEITLWYkMILPPQfDRSKKYPLLIQVYGGP CSQSVRSVFAvNWISYlASKEGMVIALVDGRGTAFQGD KLLYAVYRKLgVYEVEDQITAVRkFIEMGFIDEKRIAIWg WSYGGYvSSLALASGTGLfKCGIaVAPvSSWEYyASvY TERFMGLPTKDDNLEHYkNSTVMARAEYFRNVdYLLIH GTADDNVHFQNSAQIAKALVNAQVDFQAMWYSDQNHG LSGLSTNHLYTHMTHfLKQCFSLSDGKkkkkkkGHHHHH H
122	小鼠FAP	UniProt登录号P97321
123	鼠 FAP 外域 +poly-lys 标签 +his ₆ 标签	RPSRVYKPEGNTKRALTLKDILNGTFSYKTYFPNWISEQE YLHQSEDDNIVFYNIETRESYIILSNSTMKSvNATDyGLSP DRQFVYLEDYskLWRYSYtATYYIYDLQngeFVRGYE LPRPIQYLCWSPVgSKLAYVYQNNIYLKQRPGDPPFQITy TGRENRIFNgIPDWVYEEEMLatKYALWwSPDGKFLAY VEFNDSIPiIAYSyYGDGQYPRtINIPYPKAGAKNPVVR VFIVDTTYPHHvGPMEvPPEMIASSDyYfSWLTWvSSE RVCLQWLKRvQNVsvLSICDFREDWHAWECpKNQEHVE ESRTGWAGGFFVSTPAfSQDATSYyKIFSDKdGYKHIHYI KDTVENAIQITSGKWEAIYIFrVTQDSLfySSNEFEYpGR RNiYRISIGNSPSKKCVtChLRKERCQYYtASfSYKAKY YALVCYGPgLPISLHDGRtDQEIqVLEENKELENSLRNI QLPKVEIKKLKDGGLTFWYkMILPPQfDRSKKYPLLIQV YGGPCSQSVKSVFAvNWITyLASKEGIVIALVDGRGTAF QGDKFLHAVYRKLgVYEVEDQLTAVRkFIEMGFIDEERI AIWGWsyGGYvSSLALASGTGLfKCGIaVAPvSSWEYy ASIYSERFMGLPTKDDNLEHYkNSTVMARAEYFRNVdY LLIHGTADDNVHFQNSAQIAKALVNAQVDFQAMWYSDQ NHGILSGRSQNHLYTHMTHfLKQCFSLSDGKkkkkkkGH HHHHH
124	食蟹猴FAP外域+poly-lys标 签+his ₆ 标签	RPPRVHNSEENTMRALTLKDILNGTFSYKTFPPNWISGQE YLHQSadNNIVLYNIETGQSYTILSNRTMKSvNASNYGLS PDRQFVYLEDYskLWRYSYtATYYIYDLNgeFVRGNE LPRPIQYLCWSPVgSKLAYVYQNNIYLKQRPGDPPFQITF NGRENKIFNGIPDWVYEEEMLatKYALWwSPNGKFLAY AEFNDDIPVIAYSYyGDEQYPRtINIPYPKAGAKNPVVRi FIIDTTYPAyVGPQEVpPAMIASSDyYfSWLTWvTDER

[0433]	VCLQWLKRVQNVSVLSICDFREDWQTWDCPKTQEHIEES RTGWAGGFFVSTPVFSYDAISYYKIFSDKDGYKHIHYIKD TVENAIQITSGKWEAINIFRVTDQSLFYSSNEFEDYPGRRN IYRISIGSYPPSKKCVTCHLRKERCQYYTASFSDYAKYYA LVCYGPPISTLHDGRDQEIKILEENKELENALKNIQLP KEEIKKLEVDEITLWYKMILPPQFDRSKKYPLLIQVYGGP CSQSVRSVFAVNWISYLASKEGMVIALVDGRGTAFAQGD KLLYAVYRKLGVYEVEDQITAVRKFIEMGFIDEKRIAIWG WSYGGYVSSLALASGTGLFKCGIAVAPVSSWEYASVY TERFMGLPTKDDNLEHYKNSTVMARAEYFRNVYLLIH GTADDNVHFQNSAQIAKALVNAQVDFQAMWYSDQNHG LSGLSTNHLYTHMTHFLKQCFLSDGKKKKKKGGHHHHH H
--------	---

[0434] 关于人免疫球蛋白轻和重链的核苷酸序列的一般信息在Kabat, E.A. et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991) 中给出。抗体链的氨基酸依照如上文定义的依照Kabat的编号系统 (Kabat, E.A. et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)) 进行编号和提及。

[0435] 本发明的各方面

[0436] 在下面, 列出本发明的一些方面。

[0437] 1. 供用于治疗癌症或延迟癌症进展的方法中使用的4-1BB (CD137) 激动剂, 其中该4-1BB激动剂与抗CD20抗体组合使用且其中该4-1BB激动剂包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原, 特别是CD19或FAP的抗原结合域。

[0438] 2. 方面1的供方法中使用的4-1BB激动剂, 其中该4-1BB激动剂和该抗CD20抗体伴随施用。

[0439] 3. 方面1或2的供方法中使用的4-1BB激动剂, 其中该4-1BB激动剂和该抗CD20抗体在单一组合物中一起施用或在两种或更多种不同组合物中分开施用。

[0440] 4. 前述方面的供方法中使用的4-1BB激动剂, 其中该4-1BB激动剂与该抗CD20抗体并行, 在该抗CD20抗体前, 或在抗CD20抗体后施用。

[0441] 5. 前述方面任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂, 其中该4-1BB激动剂包含三个4-1BBL外域或其片段。

[0442] 6. 前述方面任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂, 其中该4-1BB激动剂是包含三个4-1BBL外域或其片段的分子且其中该4-1BBL外域包含选自由SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8组成的组的氨基酸序列, 特别是SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:5的氨基酸序列。

[0443] 7. 前述方面任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂, 其中该4-1BB激动剂是包含三个4-1BBL外域或其片段和一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的抗原结合分子。

[0444] 8. 前述方面任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂, 其中该包含三个4-1BBL外域或其片段和至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的抗原结合分子不会受CD19表达性B细胞内在化。

[0445] 9. 前述方面任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂, 其中该4-1BB激动剂是包含三个4-1BBL外域或其片段和至少一个能够特异性结合CD19的模块的抗原结合分子, 其中该能够特异性结合CD19的抗原结合域包含 (a) 重链可变区 (V_HCD19), 其包含 (i) 包含SEQ ID NO:

9的氨基酸序列的CDR-H1, (ii) 包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的CDR-H2, 和(iii) 包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的CDR-H3, 和轻链可变区(V_LCD19), 其包含(iv) 包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR-L1, (v) 包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR-L2, 和(vi) 包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR-L3, 或(b) VH域, 其包含(i) 包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR-H1, (ii) 包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR-H2, 和(iii) 包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR-H3, 和VL域, 其包含(iv) 包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR-L1, (v) 包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR-L2, 和(vi) 包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR-L3。

[0446] 10. 前述方面任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂, 其中该4-1BB激动剂是包含三个4-1BBL外域或其片段和至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的抗原结合分子, 其中该能够特异性结合CD19的抗原结合域包含包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19) 和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19) 或其中该能够特异性结合CD19的抗原结合域包含包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19) 和包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19)。

[0447] 11. 前述方面任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂, 其中该4-1BB激动剂是进一步包含由能够稳定联合的第一和第二亚基构成的Fc域的抗原结合分子。

[0448] 12. 前述方面任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂, 其中该4-1BB激动剂是包含IgG Fc域, 具体是IgG1 Fc域或IgG4 Fc域的抗原结合分子。

[0449] 13. 前述方面任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂, 其中该4-1BB激动剂是包含包含一处或多处降低或消除对Fc受体的结合和/或效应器功能的氨基酸替代的Fc域的抗原结合分子。

[0450] 14. 前述方面任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂, 其中该4-1BB激动剂是包含包含氨基酸替代L234A, L235A和P329G的IgG1 Fc域的抗原结合分子。

[0451] 15. 前述方面任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂, 其中该4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0452] (a) 至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域,

[0453] (b) 通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,

[0454] 其中该第一多肽包含通过肽接头彼此连接的两个4-1BBL外域或其片段且该第二多肽包含一个4-1BBL外域或其片段。

[0455] 16. 前述方面任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂, 其中该4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0456] (a) 至少一个能够特异性结合CD19的Fab域, 和

[0457] (b) 通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,

[0458] 其中该抗原结合分子特征在于

[0459] (i) 分别地, 该第一多肽含有CH1或CL域且该第二多肽含有CL或CH1域, 其中该第二多肽与该第一多肽通过该CH1和CL域之间的二硫键连接, 且其中该第一多肽包含通过肽接头彼此且与该CH1或CL域连接的两个4-1BBL外域或其片段且其中该第二多肽包含经由肽接头与所述多肽的该CL或CH1域连接的一个4-1BBL外域或其片段, 或

[0460] (ii) 分别地, 该第一多肽含有CH3域且该第二多肽含有CH3域, 且其中该第一多肽包含通过肽接头彼此且与该CH3域的C端连接的两个4-1BBL外域或其片段且其中该第二多

肽包含经由肽接头与所述多肽的该CH3域的C端连接的一个4-1BBL外域或其片段,或

[0461] (iii) 分别地,该第一多肽含有VH-CL或VL-CH1域且该第二多肽含有VL-CH1域或VH-CL域,其中该第二多肽与该第一多肽通过该CH1和CL域之间的二硫键连接,且其中该第一多肽包含通过肽接头彼此且与VH或VL连接的两个4-1BBL外域或其片段且其中该第二多肽包含经由肽接头与所述多肽的VL或VH连接的一个4-1BBL外域或其片段。

[0462] 17. 前述方面任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0463] (a) 至少一个能够特异性结合CD19的Fab域,其包含包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19)和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19)或包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19)和包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19),和

[0464] (b) 通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,

[0465] 其中该抗原结合分子特征在于该第一多肽包含选自由SEQ ID NO:25,SEQ ID NO:26,SEQ ID NO:27,SEQ ID NO:28,SEQ ID NO:29,SEQ ID NO:30,SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32组成的组的氨基酸序列且在于该第二多肽包含选自由SEQ ID NO:1,SEQ ID NO:2,SEQ ID NO:3,SEQ ID NO:4,SEQ ID NO:5,SEQ ID NO:6,SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8组成的组的氨基酸序列。

[0466] 18. 前述方面任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是选自由下述各项组成的组的抗原结合分子:

[0467] a) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的第二轻链;

[0468] b) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的第二轻链;

[0469] c) 一种分子,其包含两条包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的轻链,包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的第二重链;

[0470] d) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的第二轻链;

[0471] e) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的第二轻链;

[0472] f) 一种分子,其包含两条包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的轻链,包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的第二重链;

[0473] g) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的第二轻链;

[0474] h) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID

NO:48的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的第二轻链;

[0475] i) 一种分子,其包含两条包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链,包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列的第二重链;

[0476] j) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的第二轻链;

[0477] k) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的第二轻链;和

[0478] l) 一种分子,其包含两条包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链,包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的第二重链。

[0479] 19. 前述方面任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0480] (a) 至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域,

[0481] (b) 包含通过肽接头彼此连接的三个4-1BBL外域或其片段的多肽。

[0482] 20. 前述方面任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0483] (a) 至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域,

[0484] (b) 包含通过肽接头彼此连接的三个4-1BBL外域或其片段的多肽,和

[0485] (c) 由能够稳定联合的第一和第二亚基构成的Fc域,其中该包含通过肽接头彼此连接的三个4-1BBL外域或其片段的多肽与该Fc域的两个亚基之一的N或C端氨基酸融合,任选经由肽接头。

[0486] 21. 前述方面任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是选自由下述各项组成的组的抗原结合分子:

[0487] (a) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19),包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19),和包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列的融合蛋白,

[0488] (b) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19),包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19)和包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列的融合蛋白;

[0489] (c) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19),包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19),和包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列的融合蛋白,和

[0490] (d) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19),包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19),和包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的融合蛋白。

[0491] 22. 前述方面1至3任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂是抗CD19/抗4-1BB双特异性抗体。

- [0492] 23. 前述方面1至14任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该抗CD20抗体是I型抗CD20抗体。
- [0493] 24. 前述方面任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该抗CD20抗体是利妥昔单抗。
- [0494] 25. 前述方面任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该抗CD20抗体是II型抗CD20抗体。
- [0495] 26. 前述方面任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该抗CD20抗体是无岩藻糖基化抗CD20抗体。
- [0496] 27. 前述方面1至14或17或18任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该抗CD20抗体是奥滨尤妥珠单抗。
- [0497] 28. 前述方面1至14任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该抗CD20抗体是利妥昔单抗或奥滨尤妥珠单抗。
- [0498] 29. 前述方面任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该抗CD20抗体包含包含SEQ ID NO:73的CDR-H1序列,SEQ ID NO:74的CDR-H2序列,和SEQ ID NO:75的CDR-H3序列的重链可变区(V_HCD20),和/或包含SEQ ID NO:76的CDR-L1序列,SEQ ID NO:77的CDR-L2序列,和SEQ ID NO:78的CDR-L3序列的轻链可变区(V_LCD20)。
- [0499] 30. 前述方面任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该第二抗原结合域包含包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD20)和/或包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD20)。
- [0500] 31. 前述方面任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂包含包含一处或多处降低对Fc受体的结合和/或效应器功能的氨基酸替代的Fc域。
- [0501] 32. 前述方面任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂包含包含氨基酸替代L234A,L235A和P329G的IgG1 Fc域。
- [0502] 33. 前述方面任一项的供方法中使用的4-1BB激动剂,其中该4-1BB激动剂与抗CD20抗体组合使用且其中该组合以约一周至三周的间隔施用。
- [0503] 34. 一种药学产品,其包含(A)包含作为活性组分的包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂和药学可接受赋形剂的第一组合物;和(B)包含作为活性组分的抗CD20抗体和药学可接受赋形剂的第二组合物,供组合,顺序或同时,治疗疾病,特别是癌症中使用。
- [0504] 35. 方面34的药学产品,供治疗B细胞增殖性病症,特别是选自由非霍奇金淋巴瘤(NHL),急性淋巴细胞性白血病(ALL),慢性淋巴细胞性白血病(CLL),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),滤泡性淋巴瘤(FL),套细胞淋巴瘤(MCL),边缘区淋巴瘤(MZL),多发性骨髓瘤(MM)和霍奇金淋巴瘤(HL)组成的组的疾病中使用。
- [0505] 36. 一种药学组合物,其包含包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂和抗CD20抗体。
- [0506] 37. 方面36的药学组合物,其中该包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂和该抗CD20抗体在单一组合物中一起施用或在两种或更多种不同组合物中分开施用。
- [0507] 38. 方面36或37的药学组合物,其中该包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗

原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂与该抗CD20抗体并行,在该抗CD20抗体前,或在抗CD20抗体后施用。

[0508] 39.方面36至38任一项的药学组合物,其中该4-1BB激动剂包含三个4-1BBL外域或其片段。

[0509] 40.方面36至39任一项的药学组合物,其中该4-1BB激动剂是包含三个4-1BBL外域或其片段的分子且其中该4-1BBL外域包含选自SEQ ID NO:1,SEQ ID NO:2,SEQ ID NO:3,SEQ ID NO:4,SEQ ID NO:5,SEQ ID NO:6,SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8组成的组的氨基酸序列,特别是SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:5的氨基酸序列。

[0510] 41.方面36至40任一项的药学组合物,其中该4-1BB激动剂是包含三个4-1BBL外域或其片段和至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19的抗原结合域的抗原结合分子。

[0511] 42.方面36至41任一项的药学组合物,其中该4-1BB激动剂不会受B细胞内在化。

[0512] 43.方面36至42任一项的药学组合物,其中该4-1BB激动剂是包含三个4-1BBL外域或其片段和至少一个能够特异性结合CD19的模块的抗原结合分子,其中该能够特异性结合CD19的抗原结合域包含(a)重链可变区(V_HCD19),其包含(i)包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的CDR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的CDR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的CDR-H3,和轻链可变区(V_LCD19),其包含(iv)包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR-L1,(v)包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR-L3,或(b)VH域,其包含(i)包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR-H3,和VL域,其包含(iv)包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR-L1,(v)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR-L3。

[0513] 44.方面36至43任一项的药学组合物,其中该4-1BB激动剂是包含三个4-1BBL外域或其片段和至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的抗原结合分子,其中该能够特异性结合CD19的抗原结合域包含包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19)和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19)或其中该能够特异性结合CD19的抗原结合域包含包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19)和包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19)。

[0514] 45.方面36至44任一项的药学组合物,其中该4-1BB激动剂是进一步包含由能够稳定联合的第一和第二亚基构成的Fc域的抗原结合分子。

[0515] 46.方面36至44任一项的药学组合物,其中该4-1BB激动剂是包含IgG Fc域,具体是IgG1 Fc域或IgG4 Fc域的抗原结合分子。

[0516] 47.方面36至46任一项的药学组合物,其中该4-1BB激动剂是包含包含一处或多处降低对Fc受体的结合和/或效应器功能的氨基酸替代的Fc域的抗原结合分子。

[0517] 48.方面36至47任一项的药学组合物,其中该4-1BB激动剂是包含包含氨基酸替代L234A,L235A和P329G的IgG1 Fc域的抗原结合分子。

[0518] 49.方面36至48任一项的药学组合物,其中该4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0519] (a)至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域,

[0520] (b) 通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,

[0521] 其中该第一多肽包含通过肽接头彼此连接的两个4-1BBL外域或其片段且该第二多肽包含一个4-1BBL外域或其片段。

[0522] 50. 方面36至49任一项的药学组合物, 其中该4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0523] (a) 至少一个能够特异性结合CD19的Fab域, 和

[0524] (b) 通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,

[0525] 其中该抗原结合分子特征在于

[0526] (i) 分别地, 该第一多肽含有CH1或CL域且该第二多肽含有CL或CH1域, 其中该第二多肽与该第一多肽通过该CH1和CL域之间的二硫键连接, 且其中该第一多肽包含通过肽接头彼此且与该CH1或CL域连接的两个4-1BBL外域或其片段且其中该第二多肽包含经由肽接头与所述多肽的该CL或CH1域连接的一个4-1BBL外域或其片段, 或

[0527] (ii) 分别地, 该第一多肽含有CH3域且该第二多肽含有CH3域, 且其中该第一多肽包含通过肽接头彼此且与该CH3域的C端连接的两个4-1BBL外域或其片段且其中该第二多肽包含经由肽接头与所述多肽的该CH3域的C端连接的一个4-1BBL外域或其片段, 或

[0528] (iii) 分别地, 该第一多肽含有VH-CL或VL-CH1域且该第二多肽含有VL-CH1域或VH-CL域, 其中该第二多肽与该第一多肽通过该CH1和CL域之间的二硫键连接, 且其中该第一多肽包含通过肽接头彼此且与VH或VL连接的两个4-1BBL外域或其片段且其中该第二多肽包含经由肽接头与所述多肽的VL或VH连接的一个4-1BBL外域或其片段。

[0529] 51. 方面36至50任一项的药学组合物, 其中该4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0530] (a) 至少一个能够特异性结合CD19的Fab域, 其包含包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的重链可变区 (V_HCD19) 和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的轻链可变区 (V_LCD19) 或包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的重链可变区 (V_HCD19) 和包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的轻链可变区 (V_LCD19), 和

[0531] (b) 通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,

[0532] 其中该抗原结合分子特征在于该第一多肽包含选自由SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32组成的组的氨基酸序列且在于该第二多肽包含选自由SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8组成的组的氨基酸序列。

[0533] 52. 方面36至51任一项的药学组合物, 其中该4-1BB激动剂是选自由下述各项组成的组的抗原结合分子:

[0534] a) 一种分子, 其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链, 包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链, 包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的第二轻链;

[0535] b) 一种分子, 其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链, 包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链, 包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的第二轻链;

[0536] c) 一种分子,其包含两条包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的轻链,包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的第二重链;

[0537] d) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的第二轻链;

[0538] e) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的第二轻链;

[0539] f) 一种分子,其包含两条包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的轻链,包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的第二重链;

[0540] g) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的第二轻链;

[0541] h) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的第二轻链;

[0542] i) 一种分子,其包含两条包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链,包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列的第二重链;

[0543] j) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的第二轻链;

[0544] k) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的第二轻链;和

[0545] l) 一种分子,其包含两条包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链,包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的第二重链。

[0546] 53. 方面36至48任一项的药学组合物,其中该4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0547] (a) 至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域,

[0548] (b) 包含通过肽接头彼此连接的4-1BBL外域或其片段的多肽。

[0549] 54. 方面36至48或53任一项的药学组合物,其中该4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0550] (a) 至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域,

[0551] (b) 包含通过肽接头彼此连接的三个4-1BBL外域或其片段的多肽,和

[0552] (c) 由能够稳定联合的第一和第二亚基构成的Fc域,其中该包含通过肽接头彼此连接的三个4-1BBL外域或其片段的多肽与该Fc域的两个亚基之一的N或C端氨基酸融合,任选经由肽接头。

[0553] 55. 方面36至48或53或54任一项的药学组合物,其中该4-1BB激动剂是选自由下述各项组成的组的抗原结合分子:

[0554] (a) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19),包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19),和包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列的融合蛋白,

[0555] (b) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19),包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19)和包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列的融合蛋白;

[0556] (c) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19),包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19),和包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列的融合蛋白,和

[0557] (d) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19),包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19),和包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的融合蛋白。

[0558] 56. 方面36至38任一项的药学组合物,其中该4-1BB激动剂是抗CD19/抗4-1BB双特异性抗体。

[0559] 57. 方面36至56任一项的药学组合物,其中该抗CD20抗体包含包含SEQ ID NO:73的CDR-H1序列,SEQ ID NO:74的CDR-H2序列,和SEQ ID NO:75的CDR-H3序列的重链可变区(V_HCD20),和/或包含SEQ ID NO:76的CDR-L1序列,SEQ ID NO:77的CDR-L2序列,和SEQ ID NO:78的CDR-L3序列的轻链可变区(V_LCD20)。

[0560] 58. 方面36至57任一项的药学组合物,其中该抗CD20抗体包含包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD20)和/或包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD20)。

[0561] 59. 方面36至58任一项的药学组合物,其中该包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的4-1BB激动剂与抗CD20抗体组合使用且其中该组合以约一周至三周的间隔施用。

[0562] 60. 方面36至59任一项的药学组合物,供治疗增殖性疾病,特别是癌症或延迟增殖性疾病,特别是癌症进展中使用。

[0563] 61. 方面36至60任一项的药学组合物,供治疗B细胞增殖性疾病,特别是选自由非霍奇金淋巴瘤(NHL),急性淋巴细胞性白血病(ALL),慢性淋巴细胞性白血病(CLL),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),滤泡性淋巴瘤(FL),套细胞淋巴瘤(MCL),边缘区淋巴瘤(MZL),多发性骨髓瘤(MM)和霍奇金淋巴瘤(HL)组成的组的疾病中使用。

[0564] 62. 一种用于在受试者中治疗癌症或延迟癌症进展的试剂盒,其包含包装,包含(A)包含作为活性组分的包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的4-1BB激动剂和药学可接受赋形剂的第一组合物;(B)包含作为活性组分的抗CD20抗体和药学可接受赋形剂的第二组合物;和(C)关于在组合疗法中使用该组合物的用法说明书。

[0565] 63. 包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的4-1BB激动剂和抗CD20抗体的组合在制造用于治疗增殖性疾病,特别是癌症或延迟增殖性疾病,特别是癌症进展的药物中的用途。

[0566] 64. 包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的4-1BB激动剂和抗CD20抗体的组合在制造药物中的用途,其中该药物用于治疗B细胞增殖性疾病,特别是选自由非霍

奇金淋巴瘤 (NHL), 急性淋巴细胞性白血病 (ALL), 慢性淋巴细胞性白血病 (CLL), 弥漫性大B细胞淋巴瘤 (DLBCL), 滤泡性淋巴瘤 (FL), 套细胞淋巴瘤 (MCL), 边缘区淋巴瘤 (MZL), 多发性骨髓瘤 (MM) 和霍奇金淋巴瘤 (HL) 组成的组的疾病。

[0567] 65. 一种用于在受试者中治疗癌症或延迟癌症进展的方法, 其包含对该受试者施用有效量的包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原, 特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂和抗CD20抗体。

[0568] 66. 一种用于在受试者中治疗癌症或延迟癌症进展的方法, 其包含对该受试者施用有效量的包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的4-1BB激动剂和抗CD20抗体, 其中该4-1BB激动剂是抗原结合分子。

[0569] 67. 方面65或66的方法, 其中该4-1BB激动剂是包含Fc域的抗原结合分子。

[0570] 68. 方面65至67任一项的方法, 其中该4-1BB激动剂是包含有降低Fc γ 受体结合和/或效应器功能的修饰的Fc域的抗原结合分子。

[0571] 69. 方面65至68任一项的方法, 其中该4-1BB激动剂是包含三个4-1BBL外域或其片段的抗原结合分子。

[0572] 70. 方面65至69任一项的方法, 其中该4-1BB激动剂是包含三个4-1BBL外域或其片段和能够特异性结合CD19的抗原结合域的抗原结合分子。

[0573] 71. 方面65至70任一项的方法, 其中该4-1BB激动剂是包含三个4-1BBL外域或其片段的分子且其中该4-1BBL外域包含选自由SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8组成的组的氨基酸序列, 特别是SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:5的氨基酸序列。

[0574] 72. 方面65至71任一项的方法, 其中该4-1BB激动剂不会在B细胞中内在化。

[0575] 73. 方面65至72任一项的方法, 其中该4-1BB激动剂是包含三个4-1BBL外域或其片段和至少一个能够特异性结合CD19的模块的抗原结合分子, 其中该能够特异性结合CD19的抗原结合域包含 (a) 重链可变区 (V_HCD19), 其包含 (i) 包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的CDR-H1, (ii) 包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的CDR-H2, 和 (iii) 包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的CDR-H3, 和轻链可变区 (V_LCD19), 其包含 (iv) 包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR-L1, (v) 包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR-L2, 和 (vi) 包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR-L3, 或 (b) VH域, 其包含 (i) 包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR-H1, (ii) 包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR-H2, 和 (iii) 包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR-H3, 和VL域, 其包含 (iv) 包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR-L1, (v) 包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR-L2, 和 (vi) 包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR-L3。

[0576] 74. 方面65至73任一项的方法, 其中该4-1BB激动剂是包含三个4-1BBL外域或其片段和至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的抗原结合分子, 其中该能够特异性结合CD19的抗原结合域包含包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的重链可变区 (V_HCD19) 和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的轻链可变区 (V_LCD19) 或其中该能够特异性结合CD19的抗原结合域包含包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的重链可变区 (V_HCD19) 和包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的轻链可变区 (V_LCD19)。

[0577] 75. 方面65至74任一项的方法, 其中该4-1BB激动剂是进一步包含由能够稳定联合的第一和第二亚基构成的Fc域的抗原结合分子。

[0578] 76. 方面65至75任一项的方法,其中该4-1BB激动剂是包含IgG Fc域,具体是IgG1 Fc域或IgG4 Fc域的抗原结合分子。

[0579] 77. 方面65至76任一项的方法,其中该4-1BB激动剂是包含包含一处或多处降低对Fc受体的结合和/或效应器功能的氨基酸替代的Fc域的抗原结合分子。

[0580] 78. 方面65至77任一项的方法,其中该4-1BB激动剂是包含包含氨基酸替代L234A, L235A和P329G的IgG1 Fc域的抗原结合分子。

[0581] 79. 方面65至78任一项的方法,其中该4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0582] (a) 至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域,

[0583] (b) 通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,

[0584] 其中该第一多肽包含通过肽接头彼此连接的两个4-1BBL外域或其片段且该第二多肽包含一个4-1BBL外域或其片段。

[0585] 80. 方面65至79任一项的方法,其中该4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0586] (a) 至少一个能够特异性结合CD19的Fab域,和

[0587] (b) 通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,

[0588] 其中该抗原结合分子特征在于

[0589] (i) 分别地,该第一多肽含有CH1或CL域且该第二多肽含有CL或CH1域,其中该第二多肽与该第一多肽通过该CH1和CL域之间的二硫键连接,且其中该第一多肽包含通过肽接头彼此且与该CH1或CL域连接的两个4-1BBL外域或其片段且其中该第二多肽包含经由肽接头与所述多肽的该CL或CH1域连接的一个4-1BBL外域或其片段,或

[0590] (ii) 分别地,该第一多肽含有CH3域且该第二多肽含有CH3域,且其中该第一多肽包含通过肽接头彼此且与该CH3域的C端连接的两个4-1BBL外域或其片段且其中该第二多肽包含经由肽接头与所述多肽的该CH3域的C端连接的一个4-1BBL外域或其片段,或

[0591] (iii) 分别地,该第一多肽含有VH-CL或VL-CH1域且该第二多肽含有VL-CH1域或VH-CL域,其中该第二多肽与该第一多肽通过该CH1和CL域之间的二硫键连接,且其中该第一多肽包含通过肽接头彼此且与VH或VL连接的两个4-1BBL外域或其片段且其中该第二多肽包含经由肽接头与所述多肽的VL或VH连接的一个4-1BBL外域或其片段。

[0592] 81. 方面65至80任一项的方法,其中该4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0593] (a) 至少一个能够特异性结合CD19的Fab域,其包含包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19)和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19)或包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19)和包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19),和

[0594] (b) 通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,

[0595] 其中该抗原结合分子特征在于该第一多肽包含选自由SEQ ID NO:25,SEQ ID NO:26,SEQ ID NO:27,SEQ ID NO:28,SEQ ID NO:29,SEQ ID NO:30,SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32组成的组的氨基酸序列且在于该第二多肽包含选自由SEQ ID NO:1,SEQ ID NO:2,SEQ ID NO:3,SEQ ID NO:4,SEQ ID NO:5,SEQ ID NO:6,SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8组成

的组的氨基酸序列。

[0596] 82. 方面65至81任一项的方法, 其中该4-1BB激动剂是选自由下述各项组成的组的抗原结合分子:

[0597] a) 一种分子, 其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链, 包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链, 包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的第二轻链;

[0598] b) 一种分子, 其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链, 包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链, 包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的第二轻链;

[0599] c) 一种分子, 其包含两条包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的轻链, 包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的第二重链;

[0600] d) 一种分子, 其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链, 包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链, 包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的第二轻链;

[0601] e) 一种分子, 其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链, 包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链, 包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的第二轻链;

[0602] f) 一种分子, 其包含两条包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的轻链, 包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的第二重链;

[0603] g) 一种分子, 其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链, 包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链, 包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的第二轻链;

[0604] h) 一种分子, 其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链, 包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链, 包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的第二轻链;

[0605] i) 一种分子, 其包含两条包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链, 包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列的第二重链;

[0606] j) 一种分子, 其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链, 包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链, 包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的第二轻链;

[0607] k) 一种分子, 其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链, 包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链, 包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的第二轻链; 和

[0608] l) 一种分子, 其包含两条包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链, 包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的第二重链。

[0609] 83. 方面65至82任一项的方法, 其中该4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0610] (a) 至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域,

[0611] (b) 包含通过肽接头彼此连接的三个4-1BBL外域或其片段的多肽。

[0612] 84. 方面65至83任一项的方法,其中该4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0613] (a) 至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域,

[0614] (b) 包含通过肽接头彼此连接的三个4-1BBL外域或其片段的多肽,和

[0615] (c) 由能够稳定联合的第一和第二亚基构成的Fc域,其中该包含通过肽接头彼此连接的三个4-1BBL外域或其片段的多肽与该Fc域的两个亚基之一的N或C端氨基酸融合,任选经由肽接头。

[0616] 85. 方面65至84任一项的方法,其中该4-1BB激动剂是选自由下述各项组成的组的抗原结合分子:

[0617] (a) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19),包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19),和包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列的融合蛋白,

[0618] (b) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19),包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19)和包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列的融合蛋白;

[0619] (c) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19),包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19),和包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列的融合蛋白,和

[0620] (d) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19),包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19),和包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的融合蛋白。

[0621] 86. 方面65至68任一项的方法,其中该4-1BB激动剂是抗CD19/抗4-1BB双特异性抗体。

[0622] 87. 方面65至86任一项的方法,其中该抗CD20抗体包含包含SEQ ID NO:73的CDR-H1序列,SEQ ID NO:74的CDR-H2序列,和SEQ ID NO:75的CDR-H3序列的重链可变区(V_HCD20),和/或包含SEQ ID NO:76的CDR-L1序列,SEQ ID NO:77的CDR-L2序列,和SEQ ID NO:78的CDR-L3序列的轻链可变区(V_LCD20)。

[0623] 88. 方面65至87任一项的方法,其中该抗CD20抗体包含包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD20)和/或包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD20)。

[0624] 89. 方面65至86任一项的方法,其中该抗CD20抗体包含利妥昔单抗。

[0625] 90. 方面65至89任一项的方法,其中该包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的4-1BB激动剂与抗CD20抗体组合使用且其中该组合以约一周至三周的间隔施用。

[0626] 91. 方面65至90任一项的方法,其中该包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原,特别是CD19或FAP的抗原结合域的4-1BB激动剂和该抗CD20抗体在单一组合物中一起施用或在两种或更多种不同组合物中分开施用。

[0627] 92. 方面65至91任一项的方法,其中该包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的4-1BB激动剂和该抗CD20抗体静脉内或皮下施用。

[0628] 93. 方面65至92任一项的方法,其中该包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原

结合域的4-1BB激动剂与该抗CD20抗体并行,在该抗CD20抗体前,或在该抗CD20抗体后施用。

[0629] 94.一种包含4-1BB (CD137) 激动剂和抗CD20抗体的组合,其中该4-1BB激动剂是包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原的抗原结合域的抗原结合分子。

[0630] 95.方面94的组合,其中该4-1BB激动剂和该抗CD20抗体伴随施用。

[0631] 96.方面94或95的组合,其中该4-1BB激动剂和该抗CD20抗体在单一组合物中一起施用或在两种或更多种不同组合物中分开施用。

[0632] 97.方面94至96任一项的组合,其中该4-1BB激动剂包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域。

[0633] 98.方面94至97任一项的组合,其中该4-1BB激动剂包含三个4-1BBL外域或其片段。

[0634] 99.方面94至98任一项的组合,其中该4-1BB激动剂包含三个4-1BBL外域或其片段且其中该4-1BBL外域包含选自SEQ ID NO:1,SEQ ID NO:2,SEQ ID NO:3,SEQ ID NO:4,SEQ ID NO:5,SEQ ID NO:6,SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8组成的组的氨基酸序列,特别是SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:5的氨基酸序列。

[0635] 100.方面94至99任一项的组合,其中该4-1BB激动剂是包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域和三个4-1BBL外域或其片段的抗原结合分子,其中该能够特异性结合CD19的抗原结合域包含(a)重链可变区(V_H CD19)和轻链可变区(V_L CD19),该重链可变区(V_H CD19)包含(i)包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的CDR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的CDR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的CDR-H3,该轻链可变区(V_L CD19)包含(iv)包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR-L1,(v)包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR-L3,或(b)重链可变区(V_H CD19)和轻链可变区(V_L CD19),该重链可变区(V_H CD19)包含(i)包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR-H1,(ii)包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR-H2,和(iii)包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR-H3,该轻链可变区(V_L CD19)包含(iv)包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR-L1,(v)包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR-L2,和(vi)包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR-L3。

[0636] 101.方面94至100任一项的组合,其中该4-1BB激动剂是包含至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域和三个4-1BBL外域或其片段的抗原结合分子,其中该能够特异性结合CD19的抗原结合域包含包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的重链可变区(V_H CD19)和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的轻链可变区(V_L CD19)或其中该能够特异性结合CD19的抗原结合域包含包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的重链可变区(V_H CD19)和包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的轻链可变区(V_L CD19)。

[0637] 102.方面94至101任一项的组合,其中该4-1BB激动剂是包含IgG Fc域,具体是IgG1 Fc域或IgG4 Fc域的抗原结合分子。

[0638] 103.方面94至102任一项的组合,其中该4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0639] (a)至少一个能够特异性结合CD19的抗原结合域,

[0640] (b)通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,

[0641] 其中该第一多肽包含通过肽接头彼此连接的两个4-1BBL外域或其片段且该第二多肽包含一个4-1BBL外域或其片段。

[0642] 104.方面94至103任一项的组合,其中该4-1BB激动剂是包含下述各项的抗原结合分子:

[0643] (a) 至少一个能够特异性结合CD19的Fab域,该能够特异性结合CD19的Fab域包含包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19)和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19)或包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的重链可变区(V_HCD19)和包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的轻链可变区(V_LCD19),和

[0644] (b) 通过二硫键彼此连接的第一和第二多肽,

[0645] 其中该抗原结合分子特征在于该第一多肽包含选自由SEQ ID NO:25,SEQ ID NO:26,SEQ ID NO:27,SEQ ID NO:28,SEQ ID NO:29,SEQ ID NO:30,SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32组成的组的氨基酸序列且在于该第二多肽包含选自由SEQ ID NO:1,SEQ ID NO:2,SEQ ID NO:3,SEQ ID NO:4,SEQ ID NO:5,SEQ ID NO:6,SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8组成的组的氨基酸序列。

[0646] 105.方面94至104任一项的组合,其中该4-1BB激动剂是选自由下述各项组成的组的抗原结合分子:

[0647] a) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的第二轻链;

[0648] b) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的第二轻链;

[0649] c) 一种分子,其包含两条包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的轻链,包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的第二重链;

[0650] d) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的第二轻链;

[0651] e) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的第二轻链;

[0652] f) 一种分子,其包含两条包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的轻链,包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的第二重链;

[0653] g) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的第二轻链;

[0654] h) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的第二轻链;

[0655] i) 一种分子,其包含两条包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链,包含SEQ ID

NO:49的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列的第二重链；

[0656] j) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的第二轻链；

[0657] k) 一种分子,其包含包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的第一重链,包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的第一轻链,包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的第二重链和包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的第二轻链；和

[0658] l) 一种分子,其包含两条包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链,包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的第一重链和包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的第二重链。

[0659] 106.方面94至105任一项的组合,其中该4-1BB激动剂是包含一个能够特异性结合CD19的抗原结合域的抗原结合分子。

[0660] 107.方面94至97任一项的组合,其中该4-1BB激动剂是抗CD19/抗4-1BB双特异性抗体。

[0661] 108.方面94至107任一项的组合,其中该抗CD20抗体是I型抗CD20抗体。

[0662] 109.方面94至108任一项的组合,其中该抗CD20抗体是利妥昔单抗。

[0663] 110.方面94至107任一项的组合,其中该抗CD20抗体是II型抗CD20抗体。

[0664] 111.方面94至107或110任一项的组合,其中该抗CD20抗体是无岩藻糖基化抗CD20抗体。

[0665] 112.方面94至107或111或112任一项的组合,其中该抗CD20抗体是奥滨尤妥珠单抗。

[0666] 113.方面94至107任一项的组合,其中该抗CD20抗体是利妥昔单抗或奥滨尤妥珠单抗。

[0667] 114.方面94至113任一项的组合,其供作为药物使用。

[0668] 115.方面94至114任一项的组合,其中该4-1BB激动剂和该抗CD20抗体在单一组合物中一起施用或在两种或更多种不同组合物中分开施用。

[0669] 116.方面94至115任一项的组合,其中该4-1BB激动剂和该抗CD20抗体供同时施用或供顺序施用。

[0670] 117.方面94至116任一项的组合,供治疗B细胞增殖性病症中使用,特别是选自由非霍奇金淋巴瘤(NHL),急性淋巴细胞性白血病(ALL),慢性淋巴细胞性白血病(CLL),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),滤泡性淋巴瘤(FL),套细胞淋巴瘤(MCL),边缘区淋巴瘤(MZL),多发性骨髓瘤(MM)和霍奇金淋巴瘤(HL)组成的组的疾病。

实施例

[0671] 下面是本发明的方法和组合物的实施例。理解的是,鉴于上文提供的一般性描述,可以实践各种其它实施方案。

[0672] 重组DNA技术

[0673] 使用标准方法来操作DNA,如Sambrook et al.,Molecular cloning:A laboratory manual;Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,New York,1989中描述的。依照制造商的说明书使用分子生物学试剂。关于人免疫球蛋白轻和重

链的核苷酸序列的一般信息在Kabat, E.A. et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Ed., NIH Publication No91-3242中给出。

[0674] DNA测序

[0675] 通过双链测序测定DNA序列。

[0676] 基因合成

[0677] 想要的基因区段或是使用适宜的模板通过PCR来生成或是由Genart AG (Regensburg, Germany) 自合成的寡核苷酸和PCR产物通过自动化基因合成来合成。在确切的基因序列不可得的情况下, 基于来自最近同源物的序列设计寡核苷酸引物, 并通过RT-PCR自源自适宜组织的RNA分离基因。将侧翼为单一限制性内切核酸酶切割位点的基因区段克隆入标准克隆/测序载体。自转化细菌纯化质粒DNA并通过UV光谱术测定浓度。通过DNA测序确认亚克隆的基因片段的DNA序列。基因区段设计成具有合适的限制性位点以容许亚克隆入相应的表达载体。所有构建物均设计成具有编码在真核细胞中将蛋白质靶向分泌的前导肽的5'端DNA序列。

[0678] 细胞培养技术

[0679] 使用标准细胞培养技术, 如Current Protocols in Cell Biology (2000), Bonifacino, J.S., Dasso, M., Harford, J.B., Lippincott-Schwartz, J. and Yamada, K.M. (eds.), John Wiley & Sons, Inc. 中描述的。

[0680] 蛋白质纯化

[0681] 参考标准方案, 自经过过滤的细胞培养物上清液纯化蛋白质。简言之, 将抗体应用于蛋白A Sepharose柱 (GE Healthcare) 并用PBS清洗。于pH 2.8实现抗体的洗脱, 继以立即中和样品。在PBS中或在20mM组氨酸, 150mM NaCl pH 6.0中通过大小排阻层析术 (Superdex 200, GE Healthcare) 将聚集的蛋白质与单体抗体分开。合并单体抗体级分, 使用例如MILLIPORE Amicon Ultra (30MWC0) 离心浓缩机浓缩 (在需要时), 冷冻并贮存于-20°C或-80°C。提供部分样品用于后续蛋白质分析和分析性表征, 例如通过SDS-PAGE, 大小排阻层析术 (SEC) 或质谱术。

[0682] SDS-PAGE

[0683] 依照制造商的说明书使用NuPAGE® 预制凝胶系统 (Invitrogen)。特别地, 使用10%或4-12% NuPAGE® Novex® Bis-TRIS预制凝胶 (pH 6.4) 和NuPAGE® MES (还原凝胶, 具有NuPAGE® 抗氧化剂运行缓冲液添加剂) 或MOPS (非还原凝胶) 运行缓冲液。

[0684] 分析性大小排阻层析术

[0685] 通过HPLC层析术实施大小排阻层析术 (SEC), 用于测定抗体的聚集和寡聚状态。简言之, 将经过蛋白A纯化的抗体应用于Agilent HPLC 1100系统上的300mM NaCl, 50mM KH₂PO₄/K₂HPO₄, pH 7.5中的Tosoh TSKgel G3000SW柱或Dionex HPLC系统上的2x PBS中的Superdex 200柱 (GE Healthcare)。通过UV吸光度和峰面积积分量化洗脱的蛋白质。BioRad凝胶过滤标准品151-1901充当标准品。

[0686] 使用表面等离子共振 (SPR) (BIACORE) 测定多特异性抗体对相应抗原的结合和结合亲和力

[0687] 使用BIACORE仪器 (GE Healthcare Biosciences AB, Uppsala, Sweden) 通过表面等离子共振调查所生成的抗体对相应抗原的结合。简言之, 为了亲和力测量, 将山羊抗人

IgG, JIR 109-005-098抗体经由胺偶联固定化在CM5芯片上,用于呈现针对相应抗原的抗体。于25°C (或替代地于37°C) 在HBS缓冲液 (HBS-P (10mM HEPES, 150mM NaCl, 0.005%吐温20, pH 7.4)) 中测量结合。以溶液中的多种浓度添加抗原 (R&D Systems或内部纯化的)。通过80秒至3分钟的抗原注射来测量结合;通过用HBS缓冲液清洗芯片表面3-10分钟来测量解离,并使用1:1朗格缪尔 (Langmuir) 结合模型来估算KD值。自样品曲线减去阴性对照数据 (例如缓冲液曲线),用于修正系统内在基线漂移和噪声信号降低。使用相应的Biacore评估软件进行传感图的分析 and 亲和力数据的计算。

[0688] 实施例1

[0689] 包含至少一个能够特异性结合肿瘤相关抗原的抗原结合域的4-1BBL抗原结合分子的制备,纯化和表征

[0690] 如国际专利申请公开号WO 2016/075278 A1中所述制备CD19靶向性含有4-1BB配体三聚体的Fc融合抗原结合分子。

[0691] 特别地,生成下面的分子:

[0692] a) 单价CD19靶向性和非靶向性含有4-1BB配体三聚体的Fc融合抗原结合分子

[0693] 与节上的人IgG1重链CH2和CH3域同框亚克隆编码与人CL域融合的二聚体4-1BB配体的DNA序列 (Merchant, Zhu et al. 1998)。将含有一个4-1BB配体外域的多肽与人IgG1-CH1域融合。在构建物3.4中,为了改进正确配对,在交叉的CH-CL (带电荷的变体) 中另外引入下面的突变。在与CL融合的二聚体4-1BB配体中, E123R和Q124K, 在与CH1融合的单体4-1BB配体中, K147E和K213E。

[0694] 与穴的恒定重链或人IgG1的恒定轻链任一同框亚克隆编码对CD19特异性的结合物 (克隆8B8-018或克隆8B8-2B11) 的重和轻链可变区的DNA序列。已经依照WO 2012/130831中描述的方法在节和穴重链的恒定区中引入Pro329Gly, Leu234Ala和Leu235Ala突变以消除对Fc伽马受体的结合。二聚体配体-含有S354C/T366W突变的Fc节链, 单体CH1融合物, 靶向性抗CD19-含有Y349C/T366S/L368A/Y407V突变的Fc穴链和抗CD19轻链的组合容许生成异二聚体, 其包括装配的三聚体4-1BB配体和CD19结合性Fab (图1A和1B)。已经相应地通过用种系DP47替换CD19结合物制备一种非靶向性型式 (图1C)。

[0695] 表1: 实验中使用的单价CD19-4-1BBL构建物

	WO 2016/075278 中的实施例	构成
[0696] mono CD19(018)-4-1BBL (带电荷的变体)	实施例7.1.6 (构建物3.4)	SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34 SEQ ID NO:41和SEQ ID NO:42
mono CD19(2B11)-4-1BBL (带电荷的变体)	实施例7.2.6 (构建物4.4)	SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:48 SEQ ID NO:41和SEQ ID NO:42

[0697]	mono CD19(2B11)-4-1BBL	实施例7.2.7 (构建物4.5)	SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:48 SEQ ID NO:43和SEQ ID NO:44
	mono非靶向性 DP47-4-1BBL	实施例7.3.12 (对照D)	SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57 SEQ ID NO:43和SEQ ID NO:44

[0698] b) 二价CD19靶向性和非靶向性含有4-1BB配体三聚体的Fc融合抗原结合分子

[0699] 与穴, 节的恒定重链或人IgG1的恒定轻链任一同框亚克隆编码对CD19特异性的结合物(克隆8B8-018或克隆8B8-2B11)的重和轻链的重和轻链可变区的DNA序列。依照WO 2012/130831中描述的方法在节和穴重链的恒定区中引入Pro329Gly, Leu234Ala和Leu235Ala突变以消除Fc伽马受体的结合。而且, 将包含两个4-1BB配体外域的多肽与人IgG1 Fc穴链的C端融合并将包含一个4-1BB配体外域的多肽与人IgG1 Fc节链的C端融合。抗CD19 huIgG1穴二聚体配体含有Y349C/T366S/L368A/Y407V突变的重链, 抗CD19 huIgG1节单体配体含有S354C/T366W突变的重链和抗CD19轻链的组合容许生成异二聚体, 其包括组装的三聚体4-1BB配体和两个CD19结合性Fab(图1D)。已经相应地通过用种系DP47替换CD19结合物制备一种非靶向性型式(图1E)。

[0700] 表2: 实验中使用的二价CD19-4-1BBL构建物

	WO 2016/075278 中的实施例	构成
[0701] bi CD19(018)-4-1BBL	实施例7.1.8 (构建物3.6)	2 x SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:45和SEQ ID NO:46
bi CD19(2B11)-4-1BBL	实施例7.2.8 (构建物4.6)	2 x SEQ ID NO:48 SEQ ID NO:51和SEQ ID NO:52
bi非靶向性DP47-4-1BBL	实施例7.3.12 (对照C)	2 x SEQ ID NO:57 SEQ ID NO:58和SEQ ID NO:59

[0702] CD19靶向性和非靶向性含有4-1BB配体三聚体的Fc融合抗原结合分子的生成和表征分别在WO 2016/075278, 实施例7.4和实施例8至11中有详细描述。

[0703] 还如国际专利申请公开号WO 2016/075278 A1中所述制备FAP靶向性含有4-1BB配体三聚体的Fc融合抗原结合分子。

[0704] 特别地, 生成下面的分子:

[0705] c) 单价FAP靶向性含有4-1BB配体三聚体的Fc融合抗原结合分子

[0706] 与穴的恒定重链或人IgG1的恒定轻链任一同框亚克隆编码对FAP特异性的结合物(克隆28H1或克隆4B9)的重和轻链可变区的DNA序列。已经依照WO 2012/130831中描述的方法在节和穴重链的恒定区中引入Pro329Gly, Leu234Ala和Leu235Ala突变以消除对Fc伽马受体的结合。二聚体配体-含有S354C/T366W突变的Fc节链, 单体CH1融合物, 靶向性抗FAP-含有Y349C/T366S/L368A/Y407V突变的Fc穴链和抗FAP轻链的组合容许生成异二聚体, 其包括装配的三聚体4-1BB配体和FAP结合性Fab(与图1A类似)。

[0707] 表3: 单价FAP-4-1BBL构建物

	WO 2016/075278 中的实施例	构成
[0708]	mono FAP(4B9)-4-1BBL (带电荷的变体)	实施例2.1.4 (构建物2.4)
	mono FAP(28H1)-4-1BBL	实施例1.1 (构建物1.2)
		SEQ ID NO:112, SEQ ID NO:113 SEQ ID NO:41和SEQ ID NO:42
		SEQ ID NO:114, SEQ ID NO:115 SEQ ID NO:43和SEQ ID NO:44

[0709] d) 二价FAP靶向性含有4-1BB配体三聚体的Fc融合抗原结合分子

[0710] 与穴, 节的恒定重链或人IgG1的恒定轻链任一同框亚克隆编码对FAP特异性的结合物(克隆28H1或克隆4B9)的重和轻链的重和轻链可变区的DNA序列。依照WO 2012/130831中描述的方法在节和穴重链的恒定区中引入Pro329Gly, Leu234Ala和Leu235Ala突变以消除Fc伽马受体的结合。而且, 将包含两个4-1BB配体外域的多肽与人IgG1 Fc穴链的C端融合并将包含一个4-1BB配体外域的多肽与人IgG1 Fc节链的C端融合。抗FAP huIgG1穴二聚体配体-含有Y349C/T366S/L368A/Y407V突变的重链, 抗FAP huIgG1节单体配体-含有S354C/T366W突变的重链和抗FAP轻链的组合容许生成异二聚体, 其包括组装的三聚体4-1BB配体和两个FAP结合性Fab(图1D)。

[0711] 表4: 二价FAP-4-1BBL构建物

	WO 2016/075278 中的实施例	构成
[0712]	bi FAP(4B9)-4-1BBL	实施例2.1.3 (构建物2.3)
	bi FAP(28H1)-4-1BBL	实施例1.1 (构建物1.5)
[0713]		2 x SEQ ID NO:113, SEQ ID NO:116 和 SEQ ID NO:117
		2 x SEQ ID NO:115 SEQ ID NO:118 和 SEQ ID NO:119

[0714] FAP靶向性含有4-1BB配体三聚体的Fc融合抗原结合分子的生成和表征分别在WO 2016/075278, 实施例1至6中有详细描述。

[0715] 实施例2

[0716] 单价CD19- μ 4-1BBL抗原结合分子(杂合替代物)的制备, 纯化和表征

[0717] 如国际专利申请公开号WO 2016/075278 A1中所述制备CD19靶向性含有鼠4-1BB配体三聚体的Fc融合抗原结合分子。依照Uniprot数据库的Q3U1Z9-1序列合成编码小鼠4-1BB配体的部分外域(氨基酸104-309, 包括C160S突变)的DNA序列。

[0718] 与节上的人IgG1重链CH2和CH3域同框亚克隆编码与人CL域融合的二聚体鼠4-1BB配体的DNA序列(Merchant, Zhu et al. 1998)。将含有一个鼠4-1BB配体外域的多肽与人IgG1-CH1域融合。与穴的恒定重链或人IgG1的恒定轻链任一同框亚克隆编码对CD19特异性的结合物(克隆8B8-018)的重和轻链可变区的DNA序列。已经依照WO 2012/130831中描述的

方法在节和穴重链的恒定区中引入Pro329Gly,Leu234Ala和Leu235Ala突变以消除对Fc伽马受体的结合。二聚体配体-含有S354C/T366W突变的Fc节链,单体CH1融合物,靶向性抗CD19-含有Y349C/T366S/L368A/Y407V突变的Fc穴链和抗CD19轻链的组合容许生成异二聚体,其包括装配的三聚体鼠4-1BB配体和CD19结合性Fab(图1F)。

[0719] 杂合替代物CD19-mu4-1BBL的氨基酸序列可以见表5。

[0720] 表5:成熟杂合替代物CD19-mu4-1BBL的氨基酸序列

SEQ ID NO:	名称	序列
[0721] 60	di-mu4-1BBL-CL Fc节链	RTEPRPALTITTSPTNLGTRENNADQVTPVSHIGCPNTTQQ GSPVFAKLLAKNQASLSNTTLNWSQDGAGSSYLSQGLR YEEDKKELVVDSPLGYVYVFLLELKLSPFTNTGHKVQGW VSLVLQAKPQVDDFDNLALTVELFPCSMENKLVDRSWS QLLLLKAGHRLSVGLRAYLHGAQDAYRDWELSYPNNTS FGLFLVKPDNPWEGGGGGSGGGSRTEPRPALTITTSPTNLG TRENNADQVTPVSHIGCPNTTQQGSPVFAKLLAKNQASL SNTTLNWSQDGAGSSYLSQGLRYEEDKKELVVDSPLG YVYVFLLELKLSPFTNTGHKVQGWVSLVLQAKPQVDDFD NLALTVELFPCSMENKLVDRSWSQLLLLKAGHRLSVGLR AYLHGAQDAYRDWELSYPNNTSFGLFLVKPDNPWEGGG GSGGGGSRTVAAPSVFIFPPSDRKLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTL
		TLSKADYEHKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECDKT HTCPPCPAPEAAGGSPVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTKISKA KGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSLKLTVDKSRW QQGNVFSQSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
[0722] 61	mono-mu4-1BBL-CH1链	RTEPRPALTITTSPTNLGTRENNADQVTPVSHIGCPNTTQQ GSPVFAKLLAKNQASLSNTTLNWSQDGAGSSYLSQGLR YEEDKKELVVDSPLGYVYVFLLELKLSPFTNTGHKVQGW VSLVLQAKPQVDDFDNLALTVELFPCSMENKLVDRSWS QLLLLKAGHRLSVGLRAYLHGAQDAYRDWELSYPNNTS FGLFLVKPDNPWEGGGGGSGGGASATKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTVPSLGLTQTYICNVNHKPSNTKVD EKVEPKSC
[0722] 33	抗CD19(8B8-018) Fc穴链	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVR QAPGGLEWMGYINPYNDGSKYTEKFGQGRVTMTSDTSIS TAYMELSRRLSDDTAVYYCARGTYYYGSALFDYWGQG TTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPC PAPEAAGGSPVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTKISKAGQPREP QVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSLKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
[0722] 34	抗CD19(8B8-018)轻链	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLENPNGNTYLNW YLQKPGQSPQLLIYRVSKRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGVYYCLQLTHVPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEHKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0723] 通过使用eviFect (Evitria AG) 用哺乳动物表达载体共转染悬浮生长的CHO-K1细

胞来生成杂合替代物CD19- μ 4-1BBL。以1:1:1:1比(“载体Fc-穴重链”：“载体CD19轻链”：“载体4-1BBL Fc-节重链”：“载体 μ 4-1BBL轻链”)用相应的表达载体转染细胞。为了转染,在eviMake (Evitria AG) 培养培养基中无血清悬浮培养CHO-K1细胞。于37°C在具有5%CO₂气氛的温箱中7天后,收集培养上清液,用于通过离心来纯化并将溶液无菌过滤(0.22mm滤器)并保存于4°C。通过使用蛋白A的亲层析,继以大小排阻层析自细胞培养物上清液纯化分泌的蛋白质。为了亲和层析,在用20mM磷酸钠,20mM柠檬酸钠,pH 7.5平衡的蛋白A MabSelectSure柱(GE Healthcare)上加载上清液。通过用含有20mM磷酸钠,20mM柠檬酸钠的缓冲液(pH 7.5)清洗来去除未结合的蛋白质。使用20mM柠檬酸钠,100mM NaCl,100mM甘氨酸,0.01%Tween20,pH 3.0的氯化钠的线性pH梯度洗脱结合的蛋白质。然后用20mM柠檬酸钠,100mM NaCl,100mM甘氨酸,0.01%Tween20,pH 3.0清洗柱。通过添加1/40(v/v)的2M Tris,pH 8.0来调节收集的级分的pH。浓缩并过滤蛋白质,之后在用20mM组氨酸,140mM NaCl,0.01%Tween20,pH 6.0平衡的HiLoad Superdex柱(GE Healthcare)上加载。

[0724] 使用基于氨基酸序列计算的摩尔消光系数,通过测量280nm处的OD来测定纯化的双特异性构建物的蛋白质浓度。使用LabChipGXII (Caliper) 在还原剂(Invitrogen,USA)存在和缺失下通过CE-SDS分析双特异性构建物的纯度和分子量。于25°C使用在25mM K₂HPO₄,125mM NaCl,200mM L-精氨酸单氢氯化物,0.02%(w/v)NaN₃,pH 6.7运行缓冲液中平衡的TSKgel G3000 SW XL分析性大小排阻柱(Tosoh)分析双特异性构建物的聚集体含量。

[0725] 表6:杂合替代物CD19- μ 4-1BBL的生化分析

分子	单体[%]	产量[mg/l]	CE-SDS(非还原)
CD19- μ 4-1BBL	99	3.5	92

[0727] 杂合替代物CD19- μ 4-1BBL通过表面等离子共振的功能表征

[0728] 通过表面等离子共振(SPR)评估同时结合鼠4-1BB Fc(kih)和人CD19的能力。于25°C在Biacore T200上实施所有SPR实验,以HBS-EP作为运行缓冲液(0.01M HEPES pH 7.4,0.15M NaCl,3mM EDTA,0.005%表面活性剂P20,Biacore,Freiburg/Germany)。将生物素化鼠4-1BB Fc(kih)直接偶联至链霉亲和素(SA)传感器芯片的流动室。使用高至600个响应单位(RU)的固定化水平。以200nM的浓度范围以30 μ l/min的流在90秒里使CD19靶向性 μ 4-1BBL构建物通行穿过流动室并将解离设定至零秒。以500nM的浓度以30 μ l/min的流在90秒里作为第二分析物注射单体人CD19-Fc(hih)穿过流动室(图2A)。监测解离达120秒。通过减去在不固定化蛋白质的参照流动室中获得的响应来修正本体(bulk)折射率差异。如在图2B的图中可见,杂合替代物CD19- μ 4-1BBL能同时结合鼠4-1BB和人CD19。

[0729] 实施例3

[0730] 在体外CD19-4-1BBL和利妥昔单抗或奥滨尤妥珠单抗的组合法

[0731] NK细胞的活化

[0732] 当它能在CD19表达性NHL细胞上交联时,CD19-4-1BBL是有活性的。诸如利妥昔单抗或奥滨尤妥珠单抗(Gazyva)等抗体结合NHL细胞上的CD20且由此能活化NK细胞以介导ADCC。活化的NK细胞表达4-1BB。我们的假说是CD19-4-1BBL能与抗CD20 ADCC介导性抗体协同进行NK细胞活化。为了测试这一点,我们使用3种不同NHL细胞系,例如WSU-DLCL2(CD19⁺CD20^高),SU-DHL-8(CD19⁺CD20^低),和Nam1-6(CD19⁺CD20^低)。为了测量活化的NK细胞的生物学活性,我们将各自NHL细胞与来自新鲜健康血液的纯化的PBMC以1:25的比率一起在IMDM培

培养基(Gibco,目录号31980-048)+10%FBS(Gibco,目录号16140-071)和1%青霉素-链霉素(Gibco,目录号15070-063)中温育24小时,在单独的剂量滴定的利妥昔单抗或奥滨尤妥珠单抗存在下,或在利妥昔单抗或奥滨尤妥珠单抗的EC₅₀浓度之上添加剂量滴定的CD19-4-1BBL。收集上清液用于通过ELISA(DuoSet人IFN- γ ELISA试剂盒,R&D Systems,目录号DY285)测量IFN- γ 。图3显示在测试的所有三种NHL细胞系中,CD19-4-1BBL能加强由利妥昔单抗或奥滨尤妥珠单抗(Gazyva)活化的NK细胞对于IFN- γ 生成而言的效应器功能。在CD20^低细胞,诸如SU-DHL-8和Nalm-6上,与奥滨尤妥珠单抗的组合诱导比与利妥昔单抗的组合更高的IFN- γ 生成。

[0733] 为了确认CD19-4-1BBL仅仅能够在添加ADCC介导性抗体之后活化NK细胞,我们测量NK细胞(在CD3⁻CD56^{dim}上门控)上的活化标志物,诸如CD25。与IFN- γ 生成一致,CD19-4-1BBL仅仅能通过上调早就由利妥昔单抗或奥滨尤妥珠单抗活化的CD25加强NK细胞的活化(图4)。与之对比,此共培养物中的T细胞(CD4和CD8二者)不显示就CD25或CD69而言的活化(数据未显示)。

[0734] 我们还研究靶向性CD19-4-1BBL是否在与奥滨尤妥珠单抗协同增效NK细胞的ADCC功能方面优于4-1BB激动性抗体乌瑞鲁单抗。在与我们上文所做相似的一项实验中,我们观察到只有CD19-4-1BBL与奥滨尤妥珠单抗的组合加强NK细胞活化(CD25上调),但是乌瑞鲁单抗与奥滨尤妥珠单抗的组合并不(图5)。

[0735] 实施例4

[0736] 在体内杂合CD19-4-1BBL和利妥昔单抗的组合法

[0737] 在荷瘤huCD16tgScid小鼠中进行杂合CD19-4-1BBL(单价CD19- μ 4-1BBL)和利妥昔单抗的组合的第一项概念证明。

[0738] WSU-DLCL2细胞(人弥漫性大B细胞淋巴瘤)最初自ECACC(欧洲细胞培养物保藏中心)获得并在扩充后保藏于Roche Glycart AG的内部细胞库。在含有10%FCS和1x Glutamax的RPMI中培养细胞。在5%CO₂的水饱和气氛中于37°C培养细胞。以>95.0%的存活力在RPMI细胞培养培养基(Gibco)和GFR Matrigel(1:1,100 μ l总体积)中将1.5x 10⁶个细胞每只动物皮下注射入动物的右体侧。

[0739] 依照承诺的准则(GV-Solas;Felasa;TierschG)以12小时明亮/12小时黑暗的日周期在无特定病原体条件下维持实验开始时8-10周龄的人Fc γ RIIIa(CD16)转基因SCID小鼠(其表达鼠Fc γ RIV阳性巨噬细胞和人Fc γ RIIIa阳性转基因鼠NK细胞二者作为效应器)(在Charles River,France培育)。实验性研究方案得到当地政府审查和批准。到达后,将动物维持一周以习惯新环境和进行观察。定期进行连续健康监测。

[0740] 依照方案(图6),如上文所述对雌性huCD16TgScid小鼠皮下注射肿瘤细胞并当肿瘤尺寸达到大约200mm³时(第13天)一周一次用化合物或PBS(媒介)处理。对所有小鼠一周一次静脉内注射200 μ l适宜溶液。为了获得每200 μ l恰当量的化合物,在必要时用PBS稀释储备溶液(表5)。对于有利妥昔单抗和杂合CD19-4-1BBL构建物的组合法(组D,图6),以一天的间隙注射疗法。一周两次使用测径器测量肿瘤生长并如下计算肿瘤体积:

[0741] $T_v: (W^2/2) \times L$ (W:宽度,L:长度)

[0742] 在八次注射化合物后(肿瘤细胞注射后第64天)终止研究并处死所有小鼠并将肿瘤外植和称重。图7A和7B显示所有处理组中的肿瘤生长动力学(中值+/-SEM)以及研究终止

时的肿瘤重量。杂合CD19-4-1BBL的单药疗法并不揭示任何肿瘤生长抑制。利妥昔单抗诱导的单药疗法与媒介相比减缓肿瘤生长。然而,利妥昔单抗和杂合CD19-4-1BBL的组合诱导与所有其它处理组相比统计学显著的肿瘤生长抑制并揭示显著更低的研究终止时的肿瘤重量。

[0743] 表7:体内实验中使用的组合物

	化合物	配制缓冲液	浓度(mg/mL)
[0744]	杂合CD19-4-1BBL	20 mM 组氨酸, 140 mM NaCl, pH 6.0	4.11 (=储备溶液)
	利妥昔单抗	20 mM 组氨酸, 140 mM NaCl, pH 6.0	10 (=储备溶液)

[0745] 实施例5

[0746] 在体内单价CD19 (2B11) -4-1BBL和奥滨尤妥珠单抗 (Gazyva) 的组合疗法

[0747] 在完全人源化NSG小鼠中进行mono CD19 (2B11) -4-1BBL和GAZYVA的组的概念证明。

[0748] WSU-DLCL2细胞(人弥漫性大B细胞淋巴瘤)最初自ECACC(欧洲细胞培养物保藏中心)获得并在扩充后保藏于Roche Glycart内部细胞库。在含有10%FCS和1x Glutamax的RPMI中培养细胞。在5%CO₂的水饱和气氛中于37°C培养细胞。以>95.0%的存活力在RPMI细胞培养培养基(Gibco)和GFR Matrigel (1:1,100μl总体积)中将1.5x 10⁶个细胞(体外18代)每只动物皮下注射入动物的右体侧。

[0749] 依照承诺的准则(GV-Solas;Felasa;TierschG)以12小时明亮/12小时黑暗的日周期在无特定病原体条件下维持实验开始时4-5周龄的雌性NOD/Shi-scid/IL-2R γ null (NSG)小鼠(在Taconic,Denmark培育)。实验性研究方案得到当地政府审查和批准(ZH193/2014)。到达后,将动物维持一周以习惯新环境和进行观察。定期进行连续健康监测。

[0750] 依照方案(图8),对雌性NSG小鼠腹膜内注射15mg/kg白消安,继以一天后静脉内注射1x 10⁵个自脐带血分离的人造血干细胞。在干细胞注射后第14-16周时,对小鼠舌下采血并通过流式细胞术对血液分析成功人源化。将有效植入的小鼠依照它们的人T细胞频率随机化入不同处理组(图8,n=10/组)。在那时,如上文所述对小鼠皮下注射肿瘤细胞并当肿瘤尺寸达到大约450mm³时(第11天)一周一次用化合物或PBS(媒介)处理。对所有小鼠静脉内注射200μl适宜溶液。为了获得每200μl恰当量的化合物,在必要时用PBS稀释储备溶液(表6)。对于有GAZYVA的组合疗法(组D,图8),伴随注射CD19-4-1BBL构建物。一周两次使用测径器测量肿瘤生长并如下计算肿瘤体积:

[0751] $T_v: (W^2/2) \times L$ (W:宽度,L:长度)

[0752] 图9显示所有处理组中的肿瘤生长动力学(中值+/-SEM)。检测不到CD19-4-1BBL的单药治疗效果。奥滨尤妥珠单抗作为单一药剂诱导很少的肿瘤生长抑制,然而,与CD19-4-1BBL的组合在所有动物中诱导完全肿瘤消退(图9)。

[0753] 表8:这项实验中使用的组合物

	化合物	配制缓冲液	浓度(mg/mL)
[0754]	mono CD19 (2B11)-4-1BBL	20 mM 组氨酸, 140 mM NaCl, pH 6.0	5.16 (=储备溶液)
[0755]	奥滨尤妥珠单抗(Gazyva)	20 mM 组氨酸, 140 mM NaCl, pH 6.0	25 (=储备溶液)

序列表

<110> 豪夫迈·罗氏有限公司(F. Hoffmann-La Roche AG)

<120> 4-1BB激动剂与抗CD20抗体的治疗剂组合

<130> P34718-W0

<150> EP18161435.5

<151> 2018-03-13

<160> 124

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 184

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 1

```

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

```

<210> 2

<211> 170

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 2

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

<210> 3

<211> 175

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 3

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

Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln
 165 170 175
 Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu
 180 185 190
 Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
 195 200

<210> 5

<211> 178

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 5

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

Gly Leu

<210> 6

<211> 164

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 6

	100		105		110
Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser					
	115		120		125
Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg					
	130		135		140
His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg					
145		150		155	160
Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu					
	165				
<210> 8					
<211> 197					
<212> PRT					
<213> 人(Homo sapiens)					
<400> 8					
Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly Ser Ala Ala Ser					
1	5		10		15
Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly					
	20		25		30
Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn					
	35		40		45
Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu					
	50		55		60
Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys					
65		70		75	80
Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu					
	85		90		95
Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu					
	100		105		110
Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu					
	115		120		125
Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser					
	130		135		140
Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg					
145		150		155	160
Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln					
	165		170		175
Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu					
	180		185		190
Ile Pro Ala Gly Leu					

195

<210> 9

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CD19 (8B8-018) CDR-H1

<400> 9

Asp Tyr Ile Met His

1 5

<210> 10

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CD19 (8B8-018) CDR-H2

<400> 10

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 11

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CD19 (8B8-018) CDR-H3

<400> 11

Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ala Leu Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 12

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CD19 (8B8-018) CDR-L1

<400> 12

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Pro Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asn

1 5 10 15

<210> 13

<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CD19 (8B8-018) CDR-L2
<400> 13
Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser
1 5
<210> 14
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CD19 (8B8-018) CDR-L3
<400> 14
Leu Gln Leu Thr His Val Pro Tyr Thr
1 5
<210> 15
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CD19 (8B8-2B11) CDR-H1
<400> 15
Asp Tyr Ile Met His
1 5
<210> 16
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CD19 (8B8-2B11) CDR-H2
<400> 16
Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly
<210> 17
<211> 12
<212> PRT

<400> 21

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

<210> 22

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CD19 (8B8-018) VL

<400> 22

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

<210> 23

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Leu
 85 90 95
 Leu Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 25
 <211> 378
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 通过 (G4S) 2接头连接的二聚体hu 4-1BBL (71-254)
 <400> 25
 Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp
 1 5 10 15
 Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu
 20 25 30
 Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val
 35 40 45
 Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val
 50 55 60
 Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg
 65 70 75 80
 Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His
 85 90 95
 Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr
 100 105 110
 Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly
 115 120 125
 Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val
 130 135 140
 His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln
 145 150 155 160
 Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala
 165 170 175
 Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 180 185 190
 Gly Ser Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu
 195 200 205
 Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val
 210 215 220

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

<210> 27

<211> 360

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 通过 (G4S) 2接头连接的二聚体hu 4-1BBL (80-254)

<400> 27

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

305		310		315		320
His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln						
		325		330		335
Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala						
		340		345		350
Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu						
		355		360		
<210> 28						
<211> 416						
<212> PRT						
<213> 人工序列						
<220>						
<223> 通过 (G4S) 2接头连接的二聚体hu 4-1BBL (52-254)						
<400> 28						
Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly Ser Ala Ala Ser						
1		5		10		15
Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly						
		20		25		30
Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn						
		35		40		45
Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu						
		50		55		60
Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys						
65		70		75		80
Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu						
		85		90		95
Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu						
		100		105		110
Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu						
		115		120		125
Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser						
		130		135		140
Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg						
145		150		155		160
Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln						
		165		170		175
Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu						
		180		185		190
Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu Gly Gly Gly Gly Ser						

195	200	205
Gly Gly Gly Gly Ser Pro Trp	Ala Val Ser Gly	Ala Arg Ala Ser Pro
210	215	220
Gly Ser Ala Ala Ser Pro Arg	Leu Arg Glu Gly	Pro Glu Leu Ser Pro
225	230	235
240	245	250
Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu	Asp Leu Arg Gln Gly	Met Phe Ala Gln
255	260	265
Leu Val Ala Gln Asn Val Leu	Leu Ile Asp Gly	Pro Leu Ser Trp Tyr
270	275	280
Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly	Val Ser Leu Thr Gly	Gly Leu Ser Tyr
285	290	295
Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu	Val Val Ala Lys	Ala Gly Val Tyr Tyr
300	305	310
Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu	Arg Arg Val Val	Ala Gly Glu Gly Ser
315	320	325
Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu	His Leu Gln Pro	Leu Arg Ser Ala Ala
330	335	340
Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu	Thr Val Asp Leu	Pro Pro Ala Ser Ser
345	350	355
Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe	Gly Phe Gln Gly	Arg Leu Leu His Leu
360	365	370
Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly	Val His Leu His	Thr Glu Ala Arg Ala
375	380	385
Arg His Ala Trp Gln Leu Thr	Gln Gly Ala Thr	Val Leu Gly Leu Phe
390	395	400
Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro	Ala Gly Leu Pro	Ser Pro Arg Ser Glu
405	410	415
<210> 29		
<211> 366		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 通过 (G4S) 2接头连接的二聚体hu 4-1BBL (71-248)		
<400> 29		
Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser	Pro Asp Asp Pro	Ala Gly Leu Leu Asp
1	5	10
15	20	25
Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala	Gln Leu Val Ala	Gln Asn Val Leu Leu
30	35	40
Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp	Tyr Ser Asp Pro	Gly Leu Ala Gly Val

35	40	45
Ser Leu Thr Gly Gly Leu	Ser Tyr Lys Glu Asp Thr	Lys Glu Leu Val
50	55	60
Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg		
65	70	75
Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His		
85	90	95
Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr		
100	105	110
Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly		
115	120	125
Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val		
130	135	140
His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln		
145	150	155
Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala		
165	170	175
Gly Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Gly Pro		
180	185	190
Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly		
195	200	205
Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro		
210	215	220
Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly		
225	230	235
Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala		
245	250	255
Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala		
260	265	270
Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu		
275	280	285
Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro		
290	295	300
Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg		
305	310	315
Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr		
325	330	335
Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val		
340	345	350

Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu
 355 360 365
 <210> 30
 <211> 338
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 通过 (G4S) 2接头连接的二聚体hu 4-1BBL (85-248)
 <400> 30
 Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val
 1 5 10 15
 Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala
 20 25 30
 Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu
 35 40 45
 Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu
 50 55 60
 Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala
 65 70 75 80
 Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala
 85 90 95
 Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala
 100 105 110
 Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu
 115 120 125
 Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu
 130 135 140
 Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile
 145 150 155 160
 Pro Ala Gly Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Asp
 165 170 175
 Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu
 180 185 190
 Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val
 195 200 205
 Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val
 210 215 220
 Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg
 225 230 235 240

Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His
 245 250 255
 Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr
 260 265 270
 Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly
 275 280 285
 Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val
 290 295 300
 His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln
 305 310 315 320
 Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala
 325 330 335
 Gly Leu
 <210> 31
 <211> 348
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 通过 (G4S) 2接头连接的二聚体hu 4-1BBL (80-248)
 <400> 31
 Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu
 1 5 10 15
 Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser
 20 25 30
 Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys
 35 40 45
 Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val
 50 55 60
 Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly
 65 70 75 80
 Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly
 85 90 95
 Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu
 100 105 110
 Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser
 115 120 125
 Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg
 130 135 140
 His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg

145	150	155	160
Val Thr Pro Glu Ile	Pro Ala Gly Leu	Gly Gly Gly Gly	Ser Gly Gly
	165	170	175
Gly Gly Ser Asp	Pro Ala Gly Leu	Leu Asp Leu Arg	Gln Gly Met Phe
	180	185	190
Ala Gln Leu Val	Ala Gln Asn Val	Leu Leu Ile Asp	Gly Pro Leu Ser
	195	200	205
Trp Tyr Ser Asp	Pro Gly Leu Ala	Gly Val Ser Leu	Thr Gly Gly Leu
	210	215	220
Ser Tyr Lys Glu	Asp Thr Lys Glu	Leu Val Val Ala	Lys Ala Gly Val
225	230	235	240
Tyr Tyr Val Phe	Phe Gln Leu Glu	Leu Arg Arg Val	Val Ala Gly Glu
	245	250	255
Gly Ser Gly Ser	Val Ser Leu Ala	Leu His Leu Gln	Pro Leu Arg Ser
	260	265	270
Ala Ala Gly Ala	Ala Ala Leu Ala	Leu Thr Val Asp	Leu Pro Pro Ala
	275	280	285
Ser Ser Glu Ala	Arg Asn Ser Ala	Phe Gly Phe Gln	Gly Arg Leu Leu
	290	295	300
His Leu Ser Ala	Gly Gln Arg Leu	Gly Val His Leu	His Thr Glu Ala
305	310	315	320
Arg Ala Arg His	Ala Trp Gln Leu	Thr Gln Gly Ala	Thr Val Leu Gly
	325	330	335
Leu Phe Arg Val	Thr Pro Glu Ile	Pro Ala Gly Leu	
	340	345	

<210> 32

<211> 404

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 通过 (G4S) 2接头连接的二聚体hu 4-1BBL (52-248)

<400> 32

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

50	55	60
Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys		
65	70	75
Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu		
	85	90
Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu		
	100	105
Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu		
	115	120
Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser		
	130	140
Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg		
	145	155
Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln		
	165	170
Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu		
	180	185
Ile Pro Ala Gly Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Pro		
	195	200
Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly Ser Ala Ala Ser Pro		
	210	220
Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu		
	225	235
Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val		
	245	250
Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala		
	260	265
Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu		
	275	280
Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu		
	290	295
Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala		
	305	310
Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala		
	325	330
Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala		
	340	345
Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu		
	355	360
		365

Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu
 370 375 380
 Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile
 385 390 395 400
 Pro Ala Gly Leu
 <210> 33
 <211> 451
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 抗CD19 (8B8-018) Fc穴链
 <400> 33
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ala Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys

210	215	220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly		
225	230	235
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met		
	245	250
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His		
	260	265
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val		
	275	280
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr		
290	295	300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
305	310	315
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile		
	325	330
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
	340	345
Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser		
	355	360
Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
370	375	380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		
385	390	395
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val		
	405	410
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met		
	420	425
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser		
	435	440
		445
Pro Gly Lys		
450		
<210> 34		
<211> 219		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 抗CD19 (8B8-018) 轻链		
<400> 34		
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly		

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

<210> 35

<211> 722

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 二聚体hu 4-1BBL (71-254)-CL* Fc节链

<400> 35

Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp			
1	5	10	15
Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu			
	20	25	30
Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val			

35	40	45
Ser Leu Thr Gly Gly Leu	Ser Tyr Lys Glu Asp Thr	Lys Glu Leu Val
50	55	60
Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg		
65	70	75
Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His		
85	90	95
Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr		
100	105	110
Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly		
115	120	125
Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val		
130	135	140
His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln		
145	150	155
Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala		
165	170	175
Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly		
180	185	190
Gly Ser Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu		
195	200	205
Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val		
210	215	220
Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala		
225	230	235
Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu		
245	250	255
Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu		
260	265	270
Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala		
275	280	285
Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala		
290	295	300
Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala		
305	310	315
Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu		
325	330	335
Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu		
340	345	350

Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile
 355 360 365
 Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu Gly Gly Gly Ser Gly
 370 375 380
 Gly Gly Gly Ser Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
 385 390 395 400
 Pro Ser Asp Arg Lys Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
 405 410 415
 Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
 420 425 430
 Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
 435 440 445
 Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
 450 455 460
 Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
 465 470 475 480
 Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Asp
 485 490 495
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
 500 505 510
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 515 520 525
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 530 535 540
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 545 550 555 560
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 565 570 575
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 580 585 590
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu
 595 600 605
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 610 615 620
 Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 625 630 635 640
 Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 645 650 655
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

Gly Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
 195 200 205
 Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu
 210 215 220
 Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
 225 230 235 240
 Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
 245 250 255
 Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
 260 265 270
 Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
 275 280 285
 Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 290 295
 <210> 37
 <211> 722
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 二聚体hu 4-1BBL (71-254)-CL Fc节链
 <400> 37
 Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp
 1 5 10 15
 Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu
 20 25 30
 Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val
 35 40 45
 Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val
 50 55 60
 Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg
 65 70 75 80
 Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His
 85 90 95
 Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr
 100 105 110
 Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly
 115 120 125
 Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val
 130 135 140

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

450	455	460
Ala Asp Tyr Glu Lys His	Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln	
465	470	475
Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Asp		480
	485	490
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly		495
	500	505
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile		510
	515	520
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu		525
530	535	540
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His		545
	550	555
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg		560
	565	570
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys		575
	580	585
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu		590
595	600	605
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr		610
	615	620
Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu		625
625	630	635
Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp		640
	645	650
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val		645
	660	665
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp		670
675	680	685
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His		690
690	695	700
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro		705
705	710	715
		720
Gly Lys		
<210>	38	
<211>	297	
<212>	PRT	
<213>	人工序列	
<220>		

290 295

<210> 39

<211> 838

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗CD19 (8B8-018) Fc穴二聚体配体链

<400> 39

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

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

Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro
 565 570 575
 Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg
 580 585 590
 Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr
 595 600 605
 Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val
 610 615 620
 Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser
 625 630 635 640
 Pro Arg Ser Glu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu
 645 650 655
 Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg
 660 665 670
 Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp
 675 680 685
 Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu
 690 695 700
 Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala
 705 710 715 720
 Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val
 725 730 735
 Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln
 740 745 750
 Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp
 755 760 765
 Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln
 770 775 780
 Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu
 785 790 795 800
 His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala
 805 810 815
 Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu
 820 825 830
 Pro Ser Pro Arg Ser Glu
 835
 <210> 40
 <211> 644
 <212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗CD19 (8B8-018) Fc节单体配体

<400> 40

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

275	280	285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr		
290	295	300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
305	310	315
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile		
325	330	335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
340	345	350
Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser		
355	360	365
Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
370	375	380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		
385	390	395
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val		
405	410	415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met		
420	425	430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser		
435	440	445
Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Gly Pro		
450	455	460
Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly		
465	470	475
Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro		
485	490	495
Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly		
500	505	510
Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala		
515	520	525
Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala		
530	535	540
Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu		
545	550	555
Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro		
565	570	575
Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg		
580	585	590

Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr
 595 600 605
 Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val
 610 615 620
 Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser
 625 630 635 640
 Pro Arg Ser Glu
 <210> 41
 <211> 710
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 二聚体hu 4-1BBL (71-248)-CL* Fc节链
 <400> 41
 Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp
 1 5 10 15
 Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu
 20 25 30
 Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val
 35 40 45
 Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val
 50 55 60
 Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg
 65 70 75 80
 Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His
 85 90 95
 Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr
 100 105 110
 Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly
 115 120 125
 Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val
 130 135 140
 His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln
 145 150 155 160
 Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala
 165 170 175
 Gly Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Gly Pro
 180 185 190
 Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly

195	200	205
Met Phe Ala Gln Leu Val	Ala Gln Asn Val Leu Leu	Ile Asp Gly Pro
210	215	220
Leu Ser Trp Tyr Ser Asp	Pro Gly Leu Ala Gly Val	Ser Leu Thr Gly
225	230	235
Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp	Thr Lys Glu Leu Val Val	Ala Lys Ala
245	250	255
Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe	Gln Leu Glu Leu Arg Arg	Val Val Ala
260	265	270
Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val	Ser Leu Ala Leu His Leu	Gln Pro Leu
275	280	285
Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala	Ala Leu Ala Leu Thr Val	Asp Leu Pro
290	295	300
Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg	Asn Ser Ala Phe Gly Phe	Gln Gly Arg
305	310	315
Leu Leu His Leu Ser Ala Gly	Gln Arg Leu Gly Val His	Leu His Thr
325	330	335
Glu Ala Arg Ala Arg His Ala	Trp Gln Leu Thr Gln Gly	Ala Thr Val
340	345	350
Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr	Pro Glu Ile Pro Ala Gly	Leu Gly Gly
355	360	365
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly	Ser Arg Thr Val Ala Ala	Pro Ser Val
370	375	380
Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp	Arg Lys Leu Lys Ser Gly	Thr Ala Ser
385	390	395
Val Val Cys Leu Leu Asn Asn	Phe Tyr Pro Arg Glu Ala	Lys Val Gln
405	410	415
Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu	Gln Ser Gly Asn Ser Gln	Glu Ser Val
420	425	430
Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp	Ser Thr Tyr Ser Leu Ser	Ser Thr Leu
435	440	445
Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr	Glu Lys His Lys Val Tyr	Ala Cys Glu
450	455	460
Val Thr His Gln Gly Leu Ser	Ser Pro Val Thr Lys Ser	Phe Asn Arg
465	470	475
Gly Glu Cys Asp Lys Thr His	Thr Cys Pro Pro Cys Pro	Ala Pro Glu
485	490	495
Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val	Phe Leu Phe Pro Pro Lys	Pro Lys Asp
500	505	510

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 515 520 525
 Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 530 535 540
 Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
 545 550 555 560
 Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
 565 570 575
 Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly
 580 585 590
 Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 595 600 605
 Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
 610 615 620
 Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 625 630 635 640
 Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 645 650 655
 Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 660 665 670
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 675 680 685
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 690 695 700
 Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 705 710
 <210> 42
 <211> 291
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 单体hu 4-1BBL (71-248)-CH1*
 <400> 42
 Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp
 1 5 10 15
 Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu
 20 25 30
 Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val
 35 40 45

Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val
 50 55 60
 Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg
 65 70 75 80
 Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His
 85 90 95
 Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr
 100 105 110
 Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly
 115 120 125
 Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val
 130 135 140
 His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln
 145 150 155 160
 Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala
 165 170 175
 Gly Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ser Thr Lys
 180 185 190
 Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
 195 200 205
 Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
 210 215 220
 Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
 225 230 235 240
 Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
 245 250 255
 Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
 260 265 270
 Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro
 275 280 285
 Lys Ser Cys
 290
 <210> 43
 <211> 710
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 二聚体hu 4-1BBL (71-248) - CL Fc节链
 <400> 43

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

305	310	315	320
Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr			
	325	330	335
Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val			
	340	345	350
Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Gly Gly			
	355	360	365
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val			
	370	375	380
Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser			
385	390	395	400
Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln			
	405	410	415
Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val			
	420	425	430
Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu			
	435	440	445
Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu			
	450	455	460
Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg			
465	470	475	480
Gly Glu Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu			
	485	490	495
Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp			
	500	505	510
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp			
	515	520	525
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly			
	530	535	540
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn			
545	550	555	560
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp			
	565	570	575
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly			
	580	585	590
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu			
	595	600	605
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn			
	610	615	620

Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 625 630 635 640
 Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 645 650 655
 Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 660 665 670
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 675 680 685
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 690 695 700
 Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 705 710
 <210> 44
 <211> 291
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 单体hu 4-1BBL (71-248) - CH1
 <400> 44
 Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp
 1 5 10 15
 Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu
 20 25 30
 Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val
 35 40 45
 Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val
 50 55 60
 Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg
 65 70 75 80
 Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His
 85 90 95
 Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr
 100 105 110
 Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly
 115 120 125
 Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val
 130 135 140
 His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln
 145 150 155 160

Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala
 165 170 175
 Gly Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ala Ser Thr Lys
 180 185 190
 Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
 195 200 205
 Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
 210 215 220
 Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
 225 230 235 240
 Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
 245 250 255
 Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
 260 265 270
 Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
 275 280 285
 Lys Ser Cys
 290
 <210> 45
 <211> 826
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 抗CD19 (8B8-018) Fc穴二聚体配体 (71-248) 链
 <400> 45
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ala Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

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

420	425	430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser		
435	440	445
Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Gly Pro		
450	455	460
Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly		
465	470	475
Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro		
485	490	495
Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly		
500	505	510
Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala		
515	520	525
Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala		
530	535	540
Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu		
545	550	555
Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro		
565	570	575
Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg		
580	585	590
Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr		
595	600	605
Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val		
610	615	620
Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Gly Gly		
625	630	635
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro		
645	650	655
Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln		
660	665	670
Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr		
675	680	685
Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr		
690	695	700
Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr		
705	710	715
Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser		
725	730	735

Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala
 740 745 750
 Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser
 755 760 765
 Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu
 770 775 780
 Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala
 785 790 795 800
 Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe
 805 810 815
 Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu
 820 825
 <210> 46
 <211> 638
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 抗CD19 (8B8-018) Fc 节单体 (71-248) 配体
 <400> 46
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ala Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160

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

465		470		475		480
Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro						
		485		490		495
Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly						
		500		505		510
Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala						
		515		520		525
Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala						
		530		535		540
Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu						
545		550		555		560
Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro						
		565		570		575
Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg						
		580		585		590
Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr						
		595		600		605
Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val						
		610		615		620
Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu						
625		630		635		
<210> 47						
<211> 451						
<212> PRT						
<213> 人工序列						
<220>						
<223> 抗CD19 (8B8-2B11) Fc穴链						
<400> 47						
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala						
1		5		10		15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr						
		20		25		30
Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met						
		35		40		45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe						
		50		55		60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr						
65		70		75		80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys						

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

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445
 Pro Gly Lys
 450
 <210> 48
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> CD19 (8B8-2B11) 轻链
 <400> 48
 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Thr Ser
 20 25 30
 Thr Gly Thr Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Leu
 85 90 95
 Leu Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215
 <210> 49
 <211> 838
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 抗CD19 (8B8-2B11) Fc穴二聚体配体 (71-254) 链
 <400> 49
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Pro Gln Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
 225 230 235 240
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 245 250 255
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 260 265 270
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 290 295 300
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
 325 330 335
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350
 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365
 Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445
 Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Gly Pro
 450 455 460
 Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly
 465 470 475 480
 Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro
 485 490 495
 Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly
 500 505 510
 Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala
 515 520 525
 Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala

530	535	540
Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu		
545	550	555
Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro		
	565	570
Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg		
	580	585
Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr		
	595	600
Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val		
610	615	620
Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser		
625	630	635
Pro Arg Ser Glu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu		
	645	650
Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg		
	660	665
Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp		
675	680	685
Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu		
690	695	700
Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala		
705	710	715
Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val		
	725	730
Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln		
	740	745
Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp		
	755	760
Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln		
770	775	780
Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu		
785	790	795
His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala		
	805	810
Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu		
	820	825
Pro Ser Pro Arg Ser Glu		830
835		

<210> 50
 <211> 644
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 抗CD19 (8B8-2B11) Fc节单体 (71-254) 配体
 <400> 50
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Pro Gln Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
 225 230 235 240
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 245 250 255

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

	565	570	575
Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg			
	580	585	590
Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr			
	595	600	605
Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val			
	610	615	620
Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser			
625	630	635	640
Pro Arg Ser Glu			
<210> 51			
<211> 826			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 抗CD19 (8B8-2B11) Fc穴二聚体配体 (71-248) 链			
<400> 51			
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala			
1	5	10	15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr			
	20	25	30
Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met			
	35	40	45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe			
	50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr			
65	70	75	80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Pro Gln Leu Phe Asp Tyr Trp Gly			
	100	105	110
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser			
	115	120	125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala			
	130	135	140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val			
145	150	155	160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala			
	165	170	175

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

	485	490	495
Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly			
	500	505	510
Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala			
	515	520	525
Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala			
	530	535	540
Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu			
545	550	555	560
Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro			
	565	570	575
Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg			
	580	585	590
Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr			
	595	600	605
Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val			
	610	615	620
Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Gly Gly			
625	630	635	640
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro			
	645	650	655
Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln			
	660	665	670
Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr			
	675	680	685
Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr			
	690	695	700
Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr			
705	710	715	720
Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser			
	725	730	735
Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala			
	740	745	750
Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser			
	755	760	765
Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu			
	770	775	780
Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala			
785	790	795	800

Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe			
	805	810	815
Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu			
	820	825	
<210>	52		
<211>	638		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	抗CD19 (8B8-2B11) Fc节单体 (71-248) 配体		
<400>	52		
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala			
1	5	10	15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr			
	20	25	30
Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met			
	35	40	45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe			
	50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr			
65	70	75	80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Pro Gln Leu Phe Asp Tyr Trp Gly			
	100	105	110
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser			
	115	120	125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala			
	130	135	140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val			
145	150	155	160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala			
	165	170	175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val			
	180	185	190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His			
	195	200	205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys			
	210	215	220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
 225 230 235 240
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 245 250 255
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 260 265 270
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 290 295 300
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
 325 330 335
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350
 Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365
 Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445
 Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Gly Pro
 450 455 460
 Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly
 465 470 475 480
 Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro
 485 490 495
 Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly
 500 505 510
 Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala
 515 520 525
 Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala

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

Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser
 465 470 475 480
 Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala
 485 490 495
 Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn
 500 505 510
 Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln
 515 520 525
 Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp
 530 535 540
 Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro
 545 550 555 560
 Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu Gly Ser Pro Gly
 565 570 575
 Ser Ser Ser Ser Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 580 585 590
 Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 595 600 605
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 610 615 620
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 625 630 635 640
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 645 650 655
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 660 665 670
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 675 680 685
 Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 690 695 700
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu
 705 710 715 720
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 725 730 735
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 740 745 750
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 755 760 765
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

210	215	220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly		
225	230	235
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met		
	245	250
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His		
	260	265
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val		
	275	280
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr		
290	295	300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
305	310	315
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile		
	325	330
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
	340	345
Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser		
355	360	365
Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
370	375	380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		
385	390	395
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val		
	405	410
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met		
	420	425
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser		
	435	440
Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Gly Pro		
450	455	460
Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly		
465	470	475
Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro		
	485	490
Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly		
	500	505
Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala		
515	520	525

Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala
 530 535 540
 Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu
 545 550 555 560
 Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro
 565 570 575
 Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg
 580 585 590
 Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr
 595 600 605
 Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val
 610 615 620
 Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser
 625 630 635 640
 Pro Arg Ser Glu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu
 645 650 655
 Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg
 660 665 670
 Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp
 675 680 685
 Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu
 690 695 700
 Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala
 705 710 715 720
 Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val
 725 730 735
 Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln
 740 745 750
 Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp
 755 760 765
 Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln
 770 775 780
 Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu
 785 790 795 800
 His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala
 805 810 815
 Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu
 820 825 830
 Pro Ser Pro Arg Ser Glu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

835	840	845
Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser	Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp	
850	855	860
Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu		
865	870	875
Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val		
885	890	895
Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val		
900	905	910
Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg		
915	920	925
Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His		
930	935	940
Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr		
945	950	955
Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly		
965	970	975
Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val		
980	985	990
His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln		
995	1000	1005
Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro		
1010	1015	1020
Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu		
1025	1030	
<210> 55		
<211> 1032		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 与三聚体hu 4-1BBL (71-254) 融合的抗CD19 (8B8-2B11) Fc节链		
<400> 55		
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
1	5	10
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr		
20	25	30
Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
35	40	45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe		

50	55	60																	
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr																			
65	70	75	80																
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys																			
	85	90	95																
Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Pro Gln Leu Phe Asp Tyr Trp Gly																			
	100	105	110																
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser																			
	115	120	125																
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala																			
	130	135	140																
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val																			
	145	150	155	160															
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala																			
	165	170	175																
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val																			
	180	185	190																
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His																			
	195	200	205																
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys																			
	210	215	220																
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly																			
	225	230	235	240															
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met																			
	245	250	255																
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His																			
	260	265	270																
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val																			
	275	280	285																
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr																			
	290	295	300																
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly																			
	305	310	315	320															
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile																			
	325	330	335																
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val																			
	340	345	350																
Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser																			
	355	360	365																

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445
 Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Gly Pro
 450 455 460
 Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly
 465 470 475 480
 Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro
 485 490 495
 Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly
 500 505 510
 Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala
 515 520 525
 Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala
 530 535 540
 Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu
 545 550 555 560
 Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro
 565 570 575
 Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg
 580 585 590
 Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr
 595 600 605
 Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val
 610 615 620
 Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser
 625 630 635 640
 Pro Arg Ser Glu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu
 645 650 655
 Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg
 660 665 670
 Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp

675	680	685
Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu		
690	695	700
Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala		
705	710	715
Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val		
725	730	735
Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln		
740	745	750
Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp		
755	760	765
Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln		
770	775	780
Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu		
785	790	795
His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala		
805	810	815
Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu		
820	825	830
Pro Ser Pro Arg Ser Glu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
835	840	845
Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp		
850	855	860
Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu		
865	870	875
Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val		
885	890	895
Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val		
900	905	910
Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg		
915	920	925
Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His		
930	935	940
Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr		
945	950	955
Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly		
965	970	975
Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val		
980	985	990

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys			
210	215	220	
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu			
225	230	235	240
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu			
	245	250	255
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys			
	260	265	270
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys			
	275	280	285
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu			
	290	295	300
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys			
305	310	315	320
Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys			
	325	330	335
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser			
	340	345	350
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys			
	355	360	365
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln			
	370	375	380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly			
385	390	395	400
Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln			
	405	410	415
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn			
	420	425	430
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
	435	440	445
<210> 57			
<211> 215			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> DP47轻链			
<400> 57			
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly			
1	5	10	15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
 85 90 95
 Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
 100 105 110
 Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
 115 120 125
 Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
 130 135 140
 Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
 145 150 155 160
 Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
 165 170 175
 Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
 180 185 190
 Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 195 200 205
 Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215
 <210> 58
 <211> 834
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 与二聚体hu 4-1BBL (71-254)融合的DP47 Fc穴链
 <400> 58
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 210 215 220
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro
 340 345 350
 Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala

355	360	365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn		
370	375	380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser		
385	390	395
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg		
405	410	415
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu		
420	425	430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly		
435	440	445
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro		
450	455	460
Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln		
465	470	475
Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr		
485	490	495
Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr		
500	505	510
Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr		
515	520	525
Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser		
530	535	540
Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala		
545	550	555
Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser		
565	570	575
Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu		
580	585	590
Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala		
595	600	605
Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe		
610	615	620
Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu		
625	630	635
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Gly Pro Glu Leu		
645	650	655
Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe		
660	665	670

Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser
675 680 685

Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu
690 695 700

Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val
705 710 715 720

Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu
725 730 735

Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser
740 745 750

Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala
755 760 765

Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu
770 775 780

His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala
785 790 795 800

Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly
805 810 815

Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg
820 825 830

Ser Glu
<210> 59
<211> 640
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 与单体hu 4-1BBL (71-254)融合的DP47 Fc节链
<400> 59

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

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

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly
 435 440 445
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro
 450 455 460
 Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln
 465 470 475 480
 Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr
 485 490 495
 Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr
 500 505 510
 Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr
 515 520 525
 Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser
 530 535 540
 Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala
 545 550 555 560
 Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser
 565 570 575
 Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu
 580 585 590
 Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala
 595 600 605
 Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe
 610 615 620
 Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
 625 630 635 640
 <210> 60
 <211> 766
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> di- μ 4-1BBL-CL Fc节链
 <400> 60
 Arg Thr Glu Pro Arg Pro Ala Leu Thr Ile Thr Thr Ser Pro Asn Leu
 1 5 10 15

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

	325		330		335										
Val	Leu	Gln	Ala	Lys	Pro	Gln	Val	Asp	Asp	Phe	Asp	Asn	Leu	Ala	Leu
	340		345		350										
Thr	Val	Glu	Leu	Phe	Pro	Cys	Ser	Met	Glu	Asn	Lys	Leu	Val	Asp	Arg
	355		360		365										
Ser	Trp	Ser	Gln	Leu	Leu	Leu	Leu	Lys	Ala	Gly	His	Arg	Leu	Ser	Val
	370		375		380										
Gly	Leu	Arg	Ala	Tyr	Leu	His	Gly	Ala	Gln	Asp	Ala	Tyr	Arg	Asp	Trp
385			390		395		400								
Glu	Leu	Ser	Tyr	Pro	Asn	Thr	Thr	Ser	Phe	Gly	Leu	Phe	Leu	Val	Lys
	405		410		415										
Pro	Asp	Asn	Pro	Trp	Glu	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
	420		425		430										
Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Arg
	435		440		445										
Lys	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe
	450		455		460										
Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln
465			470		475		480								
Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser
	485		490		495										
Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu
	500		505		510										
Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser
	515		520		525										
Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr
	530		535		540										
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
545			550		555		560								
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
	565		570		575										
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
	580		585		590										
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
	595		600		605										
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
	610		615		620										
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
625			630		635		640								

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 645 650 655
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 660 665 670
 Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
 675 680 685
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 690 695 700
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 705 710 715 720
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 725 730 735
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 740 745 750
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 755 760 765
 <210> 61
 <211> 319
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> mono-mu4-1BBL-CH1链
 <400> 61
 Arg Thr Glu Pro Arg Pro Ala Leu Thr Ile Thr Thr Ser Pro Asn Leu
 1 5 10 15
 Gly Thr Arg Glu Asn Asn Ala Asp Gln Val Thr Pro Val Ser His Ile
 20 25 30
 Gly Cys Pro Asn Thr Thr Gln Gln Gly Ser Pro Val Phe Ala Lys Leu
 35 40 45
 Leu Ala Lys Asn Gln Ala Ser Leu Ser Asn Thr Thr Leu Asn Trp His
 50 55 60
 Ser Gln Asp Gly Ala Gly Ser Ser Tyr Leu Ser Gln Gly Leu Arg Tyr
 65 70 75 80
 Glu Glu Asp Lys Lys Glu Leu Val Val Asp Ser Pro Gly Leu Tyr Tyr
 85 90 95
 Val Phe Leu Glu Leu Lys Leu Ser Pro Thr Phe Thr Asn Thr Gly His
 100 105 110
 Lys Val Gln Gly Trp Val Ser Leu Val Leu Gln Ala Lys Pro Gln Val
 115 120 125

Asp Asp Phe Asp Asn Leu Ala Leu Thr Val Glu Leu Phe Pro Cys Ser
 130 135 140
 Met Glu Asn Lys Leu Val Asp Arg Ser Trp Ser Gln Leu Leu Leu Leu
 145 150 155 160
 Lys Ala Gly His Arg Leu Ser Val Gly Leu Arg Ala Tyr Leu His Gly
 165 170 175
 Ala Gln Asp Ala Tyr Arg Asp Trp Glu Leu Ser Tyr Pro Asn Thr Thr
 180 185 190
 Ser Phe Gly Leu Phe Leu Val Lys Pro Asp Asn Pro Trp Glu Gly Gly
 195 200 205
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 210 215 220
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 225 230 235 240
 Leu Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 245 250 255
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 260 265 270
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 275 280 285
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 290 295 300
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 305 310 315
 <210> 62
 <211> 556
 <212> PRT
 <213> 人(Homo sapiens)
 <400> 62
 Met Pro Pro Pro Arg Leu Leu Phe Phe Leu Leu Phe Leu Thr Pro Met
 1 5 10 15
 Glu Val Arg Pro Glu Glu Pro Leu Val Val Lys Val Glu Glu Gly Asp
 20 25 30
 Asn Ala Val Leu Gln Cys Leu Lys Gly Thr Ser Asp Gly Pro Thr Gln
 35 40 45
 Gln Leu Thr Trp Ser Arg Glu Ser Pro Leu Lys Pro Phe Leu Lys Leu
 50 55 60
 Ser Leu Gly Leu Pro Gly Leu Gly Ile His Met Arg Pro Leu Ala Ile
 65 70 75 80

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

	100		105		110														
Val	Lys	Gly	Lys	Met	Ile	Met	Asn	Ser	Leu	Ser	Leu	Phe	Ala	Ala	Ile				
	115						120					125							
Ser	Gly	Met	Ile	Leu	Ser	Ile	Met	Asp	Ile	Leu	Asn	Ile	Lys	Ile	Ser				
	130						135					140							
His	Phe	Leu	Lys	Met	Glu	Ser	Leu	Asn	Phe	Ile	Arg	Ala	His	Thr	Pro				
145							150					155			160				
Tyr	Ile	Asn	Ile	Tyr	Asn	Cys	Glu	Pro	Ala	Asn	Pro	Ser	Glu	Lys	Asn				
							165					170			175				
Ser	Pro	Ser	Thr	Gln	Tyr	Cys	Tyr	Ser	Ile	Gln	Ser	Leu	Phe	Leu	Gly				
							180					185			190				
Ile	Leu	Ser	Val	Met	Leu	Ile	Phe	Ala	Phe	Phe	Gln	Glu	Leu	Val	Ile				
							195					200			205				
Ala	Gly	Ile	Val	Glu	Asn	Glu	Trp	Lys	Arg	Thr	Cys	Ser	Arg	Pro	Lys				
							210					215			220				
Ser	Asn	Ile	Val	Leu	Leu	Ser	Ala	Glu	Glu	Lys	Lys	Glu	Gln	Thr	Ile				
225							230					235			240				
Glu	Ile	Lys	Glu	Glu	Val	Val	Gly	Leu	Thr	Glu	Thr	Ser	Ser	Gln	Pro				
							245					250			255				
Lys	Asn	Glu	Glu	Asp	Ile	Glu	Ile	Ile	Pro	Ile	Gln	Glu	Glu	Glu	Glu				
							260					265			270				
Glu	Glu	Thr	Glu	Thr	Asn	Phe	Pro	Glu	Pro	Pro	Gln	Asp	Gln	Glu	Ser				
							275					280			285				
Ser	Pro	Ile	Glu	Asn	Asp	Ser	Ser	Pro											
							290					295							
<210>	64																		
<211>	112																		
<212>	PRT																		
<213>	人工序列																		
<220>																			
<223>	鼠抗CD20 B-Ly1 VH																		
<400>	64																		
Gly	Pro	Glu	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys				
1				5					10					15					
Ala	Ser	Gly	Tyr	Ala	Phe	Ser	Tyr	Ser	Trp	Met	Asn	Trp	Val	Lys	Leu				
Arg	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Arg	Ile	Phe	Pro	Gly	Asp				
Gly	Asp	Thr	Asp	Tyr	Asn	Gly	Lys	Phe	Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr				

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

<210> 65

<211> 103

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 鼠抗CD20 B-Ly1 VL

<400> 65

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

<210> 66

<211> 254

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 66

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

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

<210> 67

<211> 205

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 67

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

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

<210> 68

<211> 163

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 68

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

Lys Glu Arg Asp Val Val Cys Gly Pro Ser Pro Ala Asp Leu Ser Pro
 130 135 140
 Gly Ala Ser Ser Val Thr Pro Pro Ala Pro Ala Arg Glu Pro Gly His
 145 150 155 160
 Ser Pro Gln
 <210> 69
 <211> 256
 <212> PRT
 <213> 小鼠 (Mus musculus)
 <400> 69
 Met Gly Asn Asn Cys Tyr Asn Val Val Val Ile Val Leu Leu Leu Val
 1 5 10 15
 Gly Cys Glu Lys Val Gly Ala Val Gln Asn Ser Cys Asp Asn Cys Gln
 20 25 30
 Pro Gly Thr Phe Cys Arg Lys Tyr Asn Pro Val Cys Lys Ser Cys Pro
 35 40 45
 Pro Ser Thr Phe Ser Ser Ile Gly Gly Gln Pro Asn Cys Asn Ile Cys
 50 55 60
 Arg Val Cys Ala Gly Tyr Phe Arg Phe Lys Lys Phe Cys Ser Ser Thr
 65 70 75 80
 His Asn Ala Glu Cys Glu Cys Ile Glu Gly Phe His Cys Leu Gly Pro
 85 90 95
 Gln Cys Thr Arg Cys Glu Lys Asp Cys Arg Pro Gly Gln Glu Leu Thr
 100 105 110
 Lys Gln Gly Cys Lys Thr Cys Ser Leu Gly Thr Phe Asn Asp Gln Asn
 115 120 125
 Gly Thr Gly Val Cys Arg Pro Trp Thr Asn Cys Ser Leu Asp Gly Arg
 130 135 140
 Ser Val Leu Lys Thr Gly Thr Thr Glu Lys Asp Val Val Cys Gly Pro
 145 150 155 160
 Pro Val Val Ser Phe Ser Pro Ser Thr Thr Ile Ser Val Thr Pro Glu
 165 170 175
 Gly Gly Pro Gly Gly His Ser Leu Gln Val Leu Thr Leu Phe Leu Ala
 180 185 190
 Leu Thr Ser Ala Leu Leu Leu Ala Leu Ile Phe Ile Thr Leu Leu Phe
 195 200 205
 Ser Val Leu Lys Trp Ile Arg Lys Lys Phe Pro His Ile Phe Lys Gln
 210 215 220
 Pro Phe Lys Lys Thr Thr Gly Ala Ala Gln Glu Glu Asp Ala Cys Ser

225		230		235		240
Cys Arg Cys Pro Gln Glu Glu Glu Gly Gly Gly Gly Tyr Glu Leu						
		245		250		255
<210> 70						
<211> 254						
<212> PRT						
<213> 食蟹猴(cynomolgus)						
<400> 70						
Met Gly Asn Ser Cys Tyr Asn Ile Val Ala Thr Leu Leu Leu Val Leu						
1		5		10		15
Asn Phe Glu Arg Thr Arg Ser Leu Gln Asp Leu Cys Ser Asn Cys Pro						
		20		25		30
Ala Gly Thr Phe Cys Asp Asn Asn Arg Ser Gln Ile Cys Ser Pro Cys						
		35		40		45
Pro Pro Asn Ser Phe Ser Ser Ala Gly Gly Gln Arg Thr Cys Asp Ile						
		50		55		60
Cys Arg Gln Cys Lys Gly Val Phe Lys Thr Arg Lys Glu Cys Ser Ser						
65		70		75		80
Thr Ser Asn Ala Glu Cys Asp Cys Ile Ser Gly Tyr His Cys Leu Gly						
		85		90		95
Ala Glu Cys Ser Met Cys Glu Gln Asp Cys Lys Gln Gly Gln Glu Leu						
		100		105		110
Thr Lys Lys Gly Cys Lys Asp Cys Cys Phe Gly Thr Phe Asn Asp Gln						
		115		120		125
Lys Arg Gly Ile Cys Arg Pro Trp Thr Asn Cys Ser Leu Asp Gly Lys						
		130		135		140
Ser Val Leu Val Asn Gly Thr Lys Glu Arg Asp Val Val Cys Gly Pro						
145		150		155		160
Ser Pro Ala Asp Leu Ser Pro Gly Ala Ser Ser Ala Thr Pro Pro Ala						
		165		170		175
Pro Ala Arg Glu Pro Gly His Ser Pro Gln Ile Ile Phe Phe Leu Ala						
		180		185		190
Leu Thr Ser Thr Val Val Leu Phe Leu Leu Phe Phe Leu Val Leu Arg						
		195		200		205
Phe Ser Val Val Lys Arg Ser Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys						
		210		215		220
Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys						
225		230		235		240
Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu						

	245	250
<210>	71	
<211>	121	
<212>	PRT	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	4-1BB (20H4.9) VH	
<400>	71	
Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu		
1	5	10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr		
	20	25 30
Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Ile		
	35	40 45
Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu		
	50	55 60
Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu		
65	70	75 80
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala		
	85	90 95
Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly		
	100	105 110
Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
	115	120
<210>	72	
<211>	109	
<212>	PRT	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	4-1BB (20H4.9) VL	
<400>	72	
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
1	5	10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr		
	20	25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile		
	35	40 45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly		
	50	55 60

<400> 76

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr
1 5 10 15

<210> 77

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CD20-LCDR2

<400> 77

Gln Met Ser Asn Leu Val Ser
1 5

<210> 78

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CD20-LCDR3

<400> 78

Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro Tyr Thr
1 5

<210> 79

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CD20 VH

<400> 79

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

	85		90		95
Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly					
	100		105		110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser					
	115				
<210> 80					
<211> 115					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> CD20 VL					
<400> 80					
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly					
1	5		10		15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser					
	20		25		30
Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser					
	35		40		45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Val Ser Gly Val Pro					
	50		55		60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile					
65		70		75	80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn					
	85		90		95
Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys					
	100		105		110
Arg Thr Val					
	115				
<210> 81					
<211> 5					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> G4S肽接头					
<400> 81					
Gly Gly Gly Gly Ser					
1	5				
<210> 82					
<211> 10					

<212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> (G4S) 2
 <400> 82
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10
 <210> 83
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> (SG4) 2
 <400> 83
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 1 5 10
 <210> 84
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 肽接头
 <400> 84
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 1 5 10
 <210> 85
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 肽接头
 <400> 85
 Gly Ser Pro Gly Ser Ser Ser Ser Gly Ser
 1 5 10
 <210> 86
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>

<223> 肽接头2

<400> 86

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 87

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 肽接头3

<400> 87

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser
 20

<210> 88

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 肽接头4

<400> 88

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser
1 5

<210> 89

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 肽接头5

<400> 89

Gly Ser Gly Ser Gly Asn Gly Ser
1 5

<210> 90

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 肽接头6

<400> 90
Gly Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly
1 5

<210> 91
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 肽接头7

<400> 91
Gly Gly Ser Gly Ser Gly
1 5

<210> 92
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 肽接头8

<400> 92
Gly Gly Ser Gly
1

<210> 93
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 肽接头9

<400> 93
Gly Gly Ser Gly Asn Gly Ser Gly
1 5

<210> 94
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 肽接头10

<400> 94
Gly Gly Asn Gly Ser Gly Ser Gly
1 5

<210> 95

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 肽接头11

<400> 95

Gly Gly Asn Gly Ser Gly

1 5

<210> 96

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> FAP (28H1) CDR-H1

<400> 96

Ser His Ala Met Ser

1 5

<210> 97

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> FAP (28H1) CDR-H2

<400> 97

Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 98

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> FAP (28H1) CDR-H3

<400> 98

Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr

1 5

<210> 99

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> FAP (28H1) CDR-L1
<400> 99
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser Tyr Leu Ala
1 5 10
<210> 100
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> FAP (28H1) CDR-L2
<400> 100
Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr
1 5
<210> 101
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> FAP (28H1) CDR-L3
<400> 101
Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro Pro Thr
1 5
<210> 102
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> FAP (4B9) CDR-H1
<400> 102
Ser Tyr Ala Met Ser
1 5
<210> 103
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> FAP (4B9) CDR-H2

<400> 103

Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 104

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> FAP (4B9) CDR-H3

<400> 104

Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr
1 5

<210> 105

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> FAP (4B9) CDR-L1

<400> 105

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 106

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> FAP (4B9) CDR-L2

<400> 106

Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr
1 5

<210> 107

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> FAP (4B9) CDR-L3

<400> 107

Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro Pro Thr

1 5
 <210> 108
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> FAP (28H1) VH
 <400> 108
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 109
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> FAP (28H1) VL
 <400> 109
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser
 20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Ile Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

	20		25		30														
Tyr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu				
	35						40					45							
Ile	Asn	Val	Gly	Ser	Arg	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser				
	50						55					60							
Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Arg	Leu	Glu				
65						70					75				80				
Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Gly	Ile	Met	Leu	Pro				
				85					90					95					
Pro	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys								
			100					105											
<210>	112																		
<211>	447																		
<212>	PRT																		
<213>	人工序列																		
<220>																			
<223>	抗FAP (4B9) Fc穴链(构建物2.4)																		
<400>	112																		
Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly				
1				5					10					15					
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr				
			20						25					30					
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val				
			35						40					45					
Ser	Ala	Ile	Ile	Gly	Ser	Gly	Ala	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val				
			50						55					60					
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr				
65						70					75				80				
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys				
				85					90					95					
Ala	Lys	Gly	Trp	Phe	Gly	Gly	Phe	Asn	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu				
			100						105					110					
Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu				
			115						120					125					
Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys				
			130						135					140					
Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser				
145						150					155				160				
Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser				

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

<210> 113

<211> 215

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗FAP (4B9) 轻链 (构建物2.4)

<400> 113

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

<210> 114

<211> 446

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗FAP (28H1) Fc穴链

<400> 114

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

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

Lys Val Ser Asn	Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325	330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro	
340	345 350
Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val	
355	360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly	
370	375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp	
385	390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp	
405	410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His	
420	425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys	
435	440 445
<210>	115
<211>	215
<212>	PRT
<213>	人工序列
<220>	
<223>	抗FAP (28H1)轻链
<400>	115
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly	
1	5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser	
20	25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu	
35	40 45
Ile Ile Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser	
50	55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu	
65	70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro	
85	90 95
Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala	
100	105 110
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser	
115	120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
 130 135 140
 Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
 145 150 155 160
 Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
 165 170 175
 Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
 180 185 190
 Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 195 200 205
 Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215
 <210> 116
 <211> 834
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 与二聚体hu 4-1BBL (71-254) 融合的抗FAP (4B9) Fc穴链
 <400> 116
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160

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

465	470	475	480
Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr			
	485	490	495
Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr			
	500	505	510
Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr			
	515	520	525
Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser			
	530	535	540
Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala			
545	550	555	560
Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser			
	565	570	575
Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu			
	580	585	590
Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala			
	595	600	605
Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe			
	610	615	620
Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu			
625	630	635	640
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Gly Pro Glu Leu			
	645	650	655
Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe			
	660	665	670
Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser			
	675	680	685
Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu			
	690	695	700
Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val			
705	710	715	720
Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu			
	725	730	735
Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser			
	740	745	750
Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala			
	755	760	765
Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu			
	770	775	780

195	200	205
Thr Lys Val Asp Lys Lys Val	Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His	
210	215	220
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro	Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val	
225	230	235
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp	Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr	
	245	250
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp	Val Ser His Glu Asp Pro Glu	
	260	265
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly	Val Glu Val His Asn Ala Lys	
	275	280
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn	Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser	
	290	295
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp	Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys	
	305	310
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly	Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile	
	315	320
	325	330
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu	Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro	
	335	340
Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn	Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu	
	345	350
	355	360
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile	Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn	
	365	370
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr	Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser	
	375	380
	385	390
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys	Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg	
	395	400
	405	410
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys	Ser Val Met His Glu Ala Leu	
	415	420
	420	425
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu	Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly	
	425	430
	435	440
	440	445
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg	Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro	
	445	450
	450	455
Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu	Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln	
	455	460
	465	470
Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile	Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr	
	470	475
	475	480
	485	490
Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser	Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr	
	485	490
	490	495
	500	505
	505	510

Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr
 515 520 525
 Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser
 530 535 540
 Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala
 545 550 555 560
 Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser
 565 570 575
 Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu
 580 585 590
 Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala
 595 600 605
 Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe
 610 615 620
 Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
 625 630 635 640
 <210> 118
 <211> 833
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 与二聚体hu 4-1BBL (71-254)融合的抗FAP (28H1) Fc穴链
 <400> 118
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
 115 120 125

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

435	440	445
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp		
450	455	460
Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu		
465	470	475
Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser		
485	490	495
Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys		
500	505	510
Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val		
515	520	525
Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly		
530	535	540
Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly		
545	550	555
Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu		
565	570	575
Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser		
580	585	590
Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg		
595	600	605
His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg		
610	615	620
Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu Gly		
625	630	635
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser		
645	650	655
Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala		
660	665	670
Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp		
675	680	685
Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser		
690	695	700
Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr		
705	710	715
Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly		
725	730	735
Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala		
740	745	750

Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser
755 760 765

Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His
770 775 780

Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg
785 790 795 800

Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu
805 810 815

Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser
820 825 830

Glu
<210> 119
<211> 639
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 与单体hu 4-1BBL (71-254)融合的抗FAP (28H1) Fc节链
<400> 119

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

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

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

Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser
 485 490 495
 Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys
 500 505 510
 Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val
 515 520 525
 Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly
 530 535 540
 Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly
 545 550 555 560
 Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu
 565 570 575
 Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser
 580 585 590
 Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg
 595 600 605
 His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg
 610 615 620
 Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
 625 630 635
 <210> 120
 <211> 760
 <212> PRT
 <213> 人(Homo sapiens)
 <400> 120
 Met Lys Thr Trp Val Lys Ile Val Phe Gly Val Ala Thr Ser Ala Val
 1 5 10 15
 Leu Ala Leu Leu Val Met Cys Ile Val Leu Arg Pro Ser Arg Val His
 20 25 30
 Asn Ser Glu Glu Asn Thr Met Arg Ala Leu Thr Leu Lys Asp Ile Leu
 35 40 45
 Asn Gly Thr Phe Ser Tyr Lys Thr Phe Phe Pro Asn Trp Ile Ser Gly
 50 55 60
 Gln Glu Tyr Leu His Gln Ser Ala Asp Asn Asn Ile Val Leu Tyr Asn
 65 70 75 80
 Ile Glu Thr Gly Gln Ser Tyr Thr Ile Leu Ser Asn Arg Thr Met Lys
 85 90 95
 Ser Val Asn Ala Ser Asn Tyr Gly Leu Ser Pro Asp Arg Gln Phe Val
 100 105 110

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

	420		425		430										
Pro	Pro	Ser	Lys	Lys	Cys	Val	Thr	Cys	His	Leu	Arg	Lys	Glu	Arg	Cys
	435		440		445										
Gln	Tyr	Tyr	Thr	Ala	Ser	Phe	Ser	Asp	Tyr	Ala	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Leu
	450		455		460										
Val	Cys	Tyr	Gly	Pro	Gly	Ile	Pro	Ile	Ser	Thr	Leu	His	Asp	Gly	Arg
465			470		475										
Thr	Asp	Gln	Glu	Ile	Lys	Ile	Leu	Glu	Glu	Asn	Lys	Glu	Leu	Glu	Asn
	485		490		495										
Ala	Leu	Lys	Asn	Ile	Gln	Leu	Pro	Lys	Glu	Glu	Ile	Lys	Lys	Leu	Glu
	500		505		510										
Val	Asp	Glu	Ile	Thr	Leu	Trp	Tyr	Lys	Met	Ile	Leu	Pro	Pro	Gln	Phe
	515		520		525										
Asp	Arg	Ser	Lys	Lys	Tyr	Pro	Leu	Leu	Ile	Gln	Val	Tyr	Gly	Gly	Pro
	530		535		540										
Cys	Ser	Gln	Ser	Val	Arg	Ser	Val	Phe	Ala	Val	Asn	Trp	Ile	Ser	Tyr
545			550		555										
Leu	Ala	Ser	Lys	Glu	Gly	Met	Val	Ile	Ala	Leu	Val	Asp	Gly	Arg	Gly
	565		570		575										
Thr	Ala	Phe	Gln	Gly	Asp	Lys	Leu	Leu	Tyr	Ala	Val	Tyr	Arg	Lys	Leu
	580		585		590										
Gly	Val	Tyr	Glu	Val	Glu	Asp	Gln	Ile	Thr	Ala	Val	Arg	Lys	Phe	Ile
	595		600		605										
Glu	Met	Gly	Phe	Ile	Asp	Glu	Lys	Arg	Ile	Ala	Ile	Trp	Gly	Trp	Ser
	610		615		620										
Tyr	Gly	Gly	Tyr	Val	Ser	Ser	Leu	Ala	Leu	Ala	Ser	Gly	Thr	Gly	Leu
625			630		635										
Phe	Lys	Cys	Gly	Ile	Ala	Val	Ala	Pro	Val	Ser	Ser	Trp	Glu	Tyr	Tyr
	645		650		655										
Ala	Ser	Val	Tyr	Thr	Glu	Arg	Phe	Met	Gly	Leu	Pro	Thr	Lys	Asp	Asp
	660		665		670										
Asn	Leu	Glu	His	Tyr	Lys	Asn	Ser	Thr	Val	Met	Ala	Arg	Ala	Glu	Tyr
	675		680		685										
Phe	Arg	Asn	Val	Asp	Tyr	Leu	Leu	Ile	His	Gly	Thr	Ala	Asp	Asp	Asn
	690		695		700										
Val	His	Phe	Gln	Asn	Ser	Ala	Gln	Ile	Ala	Lys	Ala	Leu	Val	Asn	Ala
705			710		715										
Gln	Val	Asp	Phe	Gln	Ala	Met	Trp	Tyr	Ser	Asp	Gln	Asn	His	Gly	Leu
	725		730		735										

Ser Gly Leu Ser Thr Asn His Leu Tyr Thr His Met Thr His Phe Leu
 740 745 750
 Lys Gln Cys Phe Ser Leu Ser Asp
 755 760
 <210> 121
 <211> 748
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人FAP外域+poly-lys标签+his6标签
 <400> 121
 Arg Pro Ser Arg Val His Asn Ser Glu Glu Asn Thr Met Arg Ala Leu
 1 5 10 15
 Thr Leu Lys Asp Ile Leu Asn Gly Thr Phe Ser Tyr Lys Thr Phe Phe
 20 25 30
 Pro Asn Trp Ile Ser Gly Gln Glu Tyr Leu His Gln Ser Ala Asp Asn
 35 40 45
 Asn Ile Val Leu Tyr Asn Ile Glu Thr Gly Gln Ser Tyr Thr Ile Leu
 50 55 60
 Ser Asn Arg Thr Met Lys Ser Val Asn Ala Ser Asn Tyr Gly Leu Ser
 65 70 75 80
 Pro Asp Arg Gln Phe Val Tyr Leu Glu Ser Asp Tyr Ser Lys Leu Trp
 85 90 95
 Arg Tyr Ser Tyr Thr Ala Thr Tyr Tyr Ile Tyr Asp Leu Ser Asn Gly
 100 105 110
 Glu Phe Val Arg Gly Asn Glu Leu Pro Arg Pro Ile Gln Tyr Leu Cys
 115 120 125
 Trp Ser Pro Val Gly Ser Lys Leu Ala Tyr Val Tyr Gln Asn Asn Ile
 130 135 140
 Tyr Leu Lys Gln Arg Pro Gly Asp Pro Pro Phe Gln Ile Thr Phe Asn
 145 150 155 160
 Gly Arg Glu Asn Lys Ile Phe Asn Gly Ile Pro Asp Trp Val Tyr Glu
 165 170 175
 Glu Glu Met Leu Ala Thr Lys Tyr Ala Leu Trp Trp Ser Pro Asn Gly
 180 185 190
 Lys Phe Leu Ala Tyr Ala Glu Phe Asn Asp Thr Asp Ile Pro Val Ile
 195 200 205
 Ala Tyr Ser Tyr Tyr Gly Asp Glu Gln Tyr Pro Arg Thr Ile Asn Ile
 210 215 220

Pro Tyr Pro Lys Ala Gly Ala Lys Asn Pro Val Val Arg Ile Phe Ile
 225 230 235 240
 Ile Asp Thr Thr Tyr Pro Ala Tyr Val Gly Pro Gln Glu Val Pro Val
 245 250 255
 Pro Ala Met Ile Ala Ser Ser Asp Tyr Tyr Phe Ser Trp Leu Thr Trp
 260 265 270
 Val Thr Asp Glu Arg Val Cys Leu Gln Trp Leu Lys Arg Val Gln Asn
 275 280 285
 Val Ser Val Leu Ser Ile Cys Asp Phe Arg Glu Asp Trp Gln Thr Trp
 290 295 300
 Asp Cys Pro Lys Thr Gln Glu His Ile Glu Glu Ser Arg Thr Gly Trp
 305 310 315 320
 Ala Gly Gly Phe Phe Val Ser Thr Pro Val Phe Ser Tyr Asp Ala Ile
 325 330 335
 Ser Tyr Tyr Lys Ile Phe Ser Asp Lys Asp Gly Tyr Lys His Ile His
 340 345 350
 Tyr Ile Lys Asp Thr Val Glu Asn Ala Ile Gln Ile Thr Ser Gly Lys
 355 360 365
 Trp Glu Ala Ile Asn Ile Phe Arg Val Thr Gln Asp Ser Leu Phe Tyr
 370 375 380
 Ser Ser Asn Glu Phe Glu Glu Tyr Pro Gly Arg Arg Asn Ile Tyr Arg
 385 390 395 400
 Ile Ser Ile Gly Ser Tyr Pro Pro Ser Lys Lys Cys Val Thr Cys His
 405 410 415
 Leu Arg Lys Glu Arg Cys Gln Tyr Tyr Thr Ala Ser Phe Ser Asp Tyr
 420 425 430
 Ala Lys Tyr Tyr Ala Leu Val Cys Tyr Gly Pro Gly Ile Pro Ile Ser
 435 440 445
 Thr Leu His Asp Gly Arg Thr Asp Gln Glu Ile Lys Ile Leu Glu Glu
 450 455 460
 Asn Lys Glu Leu Glu Asn Ala Leu Lys Asn Ile Gln Leu Pro Lys Glu
 465 470 475 480
 Glu Ile Lys Lys Leu Glu Val Asp Glu Ile Thr Leu Trp Tyr Lys Met
 485 490 495
 Ile Leu Pro Pro Gln Phe Asp Arg Ser Lys Lys Tyr Pro Leu Leu Ile
 500 505 510
 Gln Val Tyr Gly Gly Pro Cys Ser Gln Ser Val Arg Ser Val Phe Ala
 515 520 525
 Val Asn Trp Ile Ser Tyr Leu Ala Ser Lys Glu Gly Met Val Ile Ala

50	55	60
Gln Glu Tyr Leu His Gln Ser Glu Asp Asp Asn Ile Val Phe Tyr Asn		
65	70	75
Ile Glu Thr Arg Glu Ser Tyr Ile Ile Leu Ser Asn Ser Thr Met Lys		
	85	90
Ser Val Asn Ala Thr Asp Tyr Gly Leu Ser Pro Asp Arg Gln Phe Val		
	100	105
Tyr Leu Glu Ser Asp Tyr Ser Lys Leu Trp Arg Tyr Ser Tyr Thr Ala		
	115	120
Thr Tyr Tyr Ile Tyr Asp Leu Gln Asn Gly Glu Phe Val Arg Gly Tyr		
	130	140
Glu Leu Pro Arg Pro Ile Gln Tyr Leu Cys Trp Ser Pro Val Gly Ser		
145	150	155
Lys Leu Ala Tyr Val Tyr Gln Asn Asn Ile Tyr Leu Lys Gln Arg Pro		
	165	170
Gly Asp Pro Pro Phe Gln Ile Thr Tyr Thr Gly Arg Glu Asn Arg Ile		
	180	185
Phe Asn Gly Ile Pro Asp Trp Val Tyr Glu Glu Glu Met Leu Ala Thr		
	195	200
Lys Tyr Ala Leu Trp Trp Ser Pro Asp Gly Lys Phe Leu Ala Tyr Val		
	210	220
Glu Phe Asn Asp Ser Asp Ile Pro Ile Ile Ala Tyr Ser Tyr Tyr Gly		
225	230	235
Asp Gly Gln Tyr Pro Arg Thr Ile Asn Ile Pro Tyr Pro Lys Ala Gly		
	245	250
Ala Lys Asn Pro Val Val Arg Val Phe Ile Val Asp Thr Thr Tyr Pro		
	260	265
His His Val Gly Pro Met Glu Val Pro Val Pro Glu Met Ile Ala Ser		
	275	280
Ser Asp Tyr Tyr Phe Ser Trp Leu Thr Trp Val Ser Ser Glu Arg Val		
	290	295
Cys Leu Gln Trp Leu Lys Arg Val Gln Asn Val Ser Val Leu Ser Ile		
305	310	315
Cys Asp Phe Arg Glu Asp Trp His Ala Trp Glu Cys Pro Lys Asn Gln		
	325	330
Glu His Val Glu Glu Ser Arg Thr Gly Trp Ala Gly Gly Phe Phe Val		
	340	345
Ser Thr Pro Ala Phe Ser Gln Asp Ala Thr Ser Tyr Tyr Lys Ile Phe		
	355	360
		365

Ser Asp Lys Asp Gly Tyr Lys His Ile His Tyr Ile Lys Asp Thr Val
 370 375 380
 Glu Asn Ala Ile Gln Ile Thr Ser Gly Lys Trp Glu Ala Ile Tyr Ile
 385 390 395 400
 Phe Arg Val Thr Gln Asp Ser Leu Phe Tyr Ser Ser Asn Glu Phe Glu
 405 410 415
 Gly Tyr Pro Gly Arg Arg Asn Ile Tyr Arg Ile Ser Ile Gly Asn Ser
 420 425 430
 Pro Pro Ser Lys Lys Cys Val Thr Cys His Leu Arg Lys Glu Arg Cys
 435 440 445
 Gln Tyr Tyr Thr Ala Ser Phe Ser Tyr Lys Ala Lys Tyr Tyr Ala Leu
 450 455 460
 Val Cys Tyr Gly Pro Gly Leu Pro Ile Ser Thr Leu His Asp Gly Arg
 465 470 475 480
 Thr Asp Gln Glu Ile Gln Val Leu Glu Glu Asn Lys Glu Leu Glu Asn
 485 490 495
 Ser Leu Arg Asn Ile Gln Leu Pro Lys Val Glu Ile Lys Lys Leu Lys
 500 505 510
 Asp Gly Gly Leu Thr Phe Trp Tyr Lys Met Ile Leu Pro Pro Gln Phe
 515 520 525
 Asp Arg Ser Lys Lys Tyr Pro Leu Leu Ile Gln Val Tyr Gly Gly Pro
 530 535 540
 Cys Ser Gln Ser Val Lys Ser Val Phe Ala Val Asn Trp Ile Thr Tyr
 545 550 555 560
 Leu Ala Ser Lys Glu Gly Ile Val Ile Ala Leu Val Asp Gly Arg Gly
 565 570 575
 Thr Ala Phe Gln Gly Asp Lys Phe Leu His Ala Val Tyr Arg Lys Leu
 580 585 590
 Gly Val Tyr Glu Val Glu Asp Gln Leu Thr Ala Val Arg Lys Phe Ile
 595 600 605
 Glu Met Gly Phe Ile Asp Glu Glu Arg Ile Ala Ile Trp Gly Trp Ser
 610 615 620
 Tyr Gly Gly Tyr Val Ser Ser Leu Ala Leu Ala Ser Gly Thr Gly Leu
 625 630 635 640
 Phe Lys Cys Gly Ile Ala Val Ala Pro Val Ser Ser Trp Glu Tyr Tyr
 645 650 655
 Ala Ser Ile Tyr Ser Glu Arg Phe Met Gly Leu Pro Thr Lys Asp Asp
 660 665 670
 Asn Leu Glu His Tyr Lys Asn Ser Thr Val Met Ala Arg Ala Glu Tyr

675	680	685
Phe Arg Asn Val Asp Tyr Leu Leu Ile His Gly Thr Ala Asp Asp Asn		
690	695	700
Val His Phe Gln Asn Ser Ala Gln Ile Ala Lys Ala Leu Val Asn Ala		
705	710	715
Gln Val Asp Phe Gln Ala Met Trp Tyr Ser Asp Gln Asn His Gly Ile		
725	730	735
Ser Ser Gly Arg Ser Gln Asn His Leu Tyr Thr His Met Thr His Phe		
740	745	750
Leu Lys Gln Cys Phe Ser Leu Ser Asp		
755	760	
<210> 123		
<211> 749		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 鼠FAP外域+poly-lys标签+his6标签		
<400> 123		
Arg Pro Ser Arg Val Tyr Lys Pro Glu Gly Asn Thr Lys Arg Ala Leu		
1	5	10
Thr Leu Lys Asp Ile Leu Asn Gly Thr Phe Ser Tyr Lys Thr Tyr Phe		
20	25	30
Pro Asn Trp Ile Ser Glu Gln Glu Tyr Leu His Gln Ser Glu Asp Asp		
35	40	45
Asn Ile Val Phe Tyr Asn Ile Glu Thr Arg Glu Ser Tyr Ile Ile Leu		
50	55	60
Ser Asn Ser Thr Met Lys Ser Val Asn Ala Thr Asp Tyr Gly Leu Ser		
65	70	75
Pro Asp Arg Gln Phe Val Tyr Leu Glu Ser Asp Tyr Ser Lys Leu Trp		
85	90	95
Arg Tyr Ser Tyr Thr Ala Thr Tyr Tyr Ile Tyr Asp Leu Gln Asn Gly		
100	105	110
Glu Phe Val Arg Gly Tyr Glu Leu Pro Arg Pro Ile Gln Tyr Leu Cys		
115	120	125
Trp Ser Pro Val Gly Ser Lys Leu Ala Tyr Val Tyr Gln Asn Asn Ile		
130	135	140
Tyr Leu Lys Gln Arg Pro Gly Asp Pro Pro Phe Gln Ile Thr Tyr Thr		
145	150	155
Gly Arg Glu Asn Arg Ile Phe Asn Gly Ile Pro Asp Trp Val Tyr Glu		

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

Glu Ile Lys Lys Leu Lys Asp Gly Gly Leu Thr Phe Trp Tyr Lys Met
 485 490 495
 Ile Leu Pro Pro Gln Phe Asp Arg Ser Lys Lys Tyr Pro Leu Leu Ile
 500 505 510
 Gln Val Tyr Gly Gly Pro Cys Ser Gln Ser Val Lys Ser Val Phe Ala
 515 520 525
 Val Asn Trp Ile Thr Tyr Leu Ala Ser Lys Glu Gly Ile Val Ile Ala
 530 535 540
 Leu Val Asp Gly Arg Gly Thr Ala Phe Gln Gly Asp Lys Phe Leu His
 545 550 555 560
 Ala Val Tyr Arg Lys Leu Gly Val Tyr Glu Val Glu Asp Gln Leu Thr
 565 570 575
 Ala Val Arg Lys Phe Ile Glu Met Gly Phe Ile Asp Glu Glu Arg Ile
 580 585 590
 Ala Ile Trp Gly Trp Ser Tyr Gly Gly Tyr Val Ser Ser Leu Ala Leu
 595 600 605
 Ala Ser Gly Thr Gly Leu Phe Lys Cys Gly Ile Ala Val Ala Pro Val
 610 615 620
 Ser Ser Trp Glu Tyr Tyr Ala Ser Ile Tyr Ser Glu Arg Phe Met Gly
 625 630 635 640
 Leu Pro Thr Lys Asp Asp Asn Leu Glu His Tyr Lys Asn Ser Thr Val
 645 650 655
 Met Ala Arg Ala Glu Tyr Phe Arg Asn Val Asp Tyr Leu Leu Ile His
 660 665 670
 Gly Thr Ala Asp Asp Asn Val His Phe Gln Asn Ser Ala Gln Ile Ala
 675 680 685
 Lys Ala Leu Val Asn Ala Gln Val Asp Phe Gln Ala Met Trp Tyr Ser
 690 695 700
 Asp Gln Asn His Gly Ile Leu Ser Gly Arg Ser Gln Asn His Leu Tyr
 705 710 715 720
 Thr His Met Thr His Phe Leu Lys Gln Cys Phe Ser Leu Ser Asp Gly
 725 730 735
 Lys Lys Lys Lys Lys Lys Gly His His His His His His
 740 745

<210> 124

<211> 748

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 食蟹猴FAP外域+poly-lys标签+his6标签

<400> 124

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

290	295	300
Asp Cys Pro Lys Thr Gln Glu His Ile Glu Glu Ser Arg Thr Gly Trp		
305	310	315
Ala Gly Gly Phe Phe Val Ser Thr Pro Val Phe Ser Tyr Asp Ala Ile		
	325	330
Ser Tyr Tyr Lys Ile Phe Ser Asp Lys Asp Gly Tyr Lys His Ile His		
	340	345
Tyr Ile Lys Asp Thr Val Glu Asn Ala Ile Gln Ile Thr Ser Gly Lys		
	355	360
Trp Glu Ala Ile Asn Ile Phe Arg Val Thr Gln Asp Ser Leu Phe Tyr		
370	375	380
Ser Ser Asn Glu Phe Glu Asp Tyr Pro Gly Arg Arg Asn Ile Tyr Arg		
385	390	395
Ile Ser Ile Gly Ser Tyr Pro Pro Ser Lys Lys Cys Val Thr Cys His		
	405	410
Leu Arg Lys Glu Arg Cys Gln Tyr Tyr Thr Ala Ser Phe Ser Asp Tyr		
	420	425
Ala Lys Tyr Tyr Ala Leu Val Cys Tyr Gly Pro Gly Ile Pro Ile Ser		
435	440	445
Thr Leu His Asp Gly Arg Thr Asp Gln Glu Ile Lys Ile Leu Glu Glu		
450	455	460
Asn Lys Glu Leu Glu Asn Ala Leu Lys Asn Ile Gln Leu Pro Lys Glu		
465	470	475
Glu Ile Lys Lys Leu Glu Val Asp Glu Ile Thr Leu Trp Tyr Lys Met		
	485	490
Ile Leu Pro Pro Gln Phe Asp Arg Ser Lys Lys Tyr Pro Leu Leu Ile		
	500	505
Gln Val Tyr Gly Gly Pro Cys Ser Gln Ser Val Arg Ser Val Phe Ala		
515	520	525
Val Asn Trp Ile Ser Tyr Leu Ala Ser Lys Glu Gly Met Val Ile Ala		
530	535	540
Leu Val Asp Gly Arg Gly Thr Ala Phe Gln Gly Asp Lys Leu Leu Tyr		
545	550	555
Ala Val Tyr Arg Lys Leu Gly Val Tyr Glu Val Glu Asp Gln Ile Thr		
	565	570
Ala Val Arg Lys Phe Ile Glu Met Gly Phe Ile Asp Glu Lys Arg Ile		
	580	585
Ala Ile Trp Gly Trp Ser Tyr Gly Gly Tyr Val Ser Ser Leu Ala Leu		
595	600	605

Ala Ser Gly Thr Gly Leu Phe Lys Cys Gly Ile Ala Val Ala Pro Val		
610	615	620
Ser Ser Trp Glu Tyr Tyr Ala Ser Val Tyr Thr Glu Arg Phe Met Gly		
625	630	635 640
Leu Pro Thr Lys Asp Asp Asn Leu Glu His Tyr Lys Asn Ser Thr Val		
	645	650 655
Met Ala Arg Ala Glu Tyr Phe Arg Asn Val Asp Tyr Leu Leu Ile His		
	660	665 670
Gly Thr Ala Asp Asp Asn Val His Phe Gln Asn Ser Ala Gln Ile Ala		
	675	680 685
Lys Ala Leu Val Asn Ala Gln Val Asp Phe Gln Ala Met Trp Tyr Ser		
	690 695	700
Asp Gln Asn His Gly Leu Ser Gly Leu Ser Thr Asn His Leu Tyr Thr		
705	710	715 720
His Met Thr His Phe Leu Lys Gln Cys Phe Ser Leu Ser Asp Gly Lys		
	725	730 735
Lys Lys Lys Lys Lys Gly His His His His His His		
	740	745

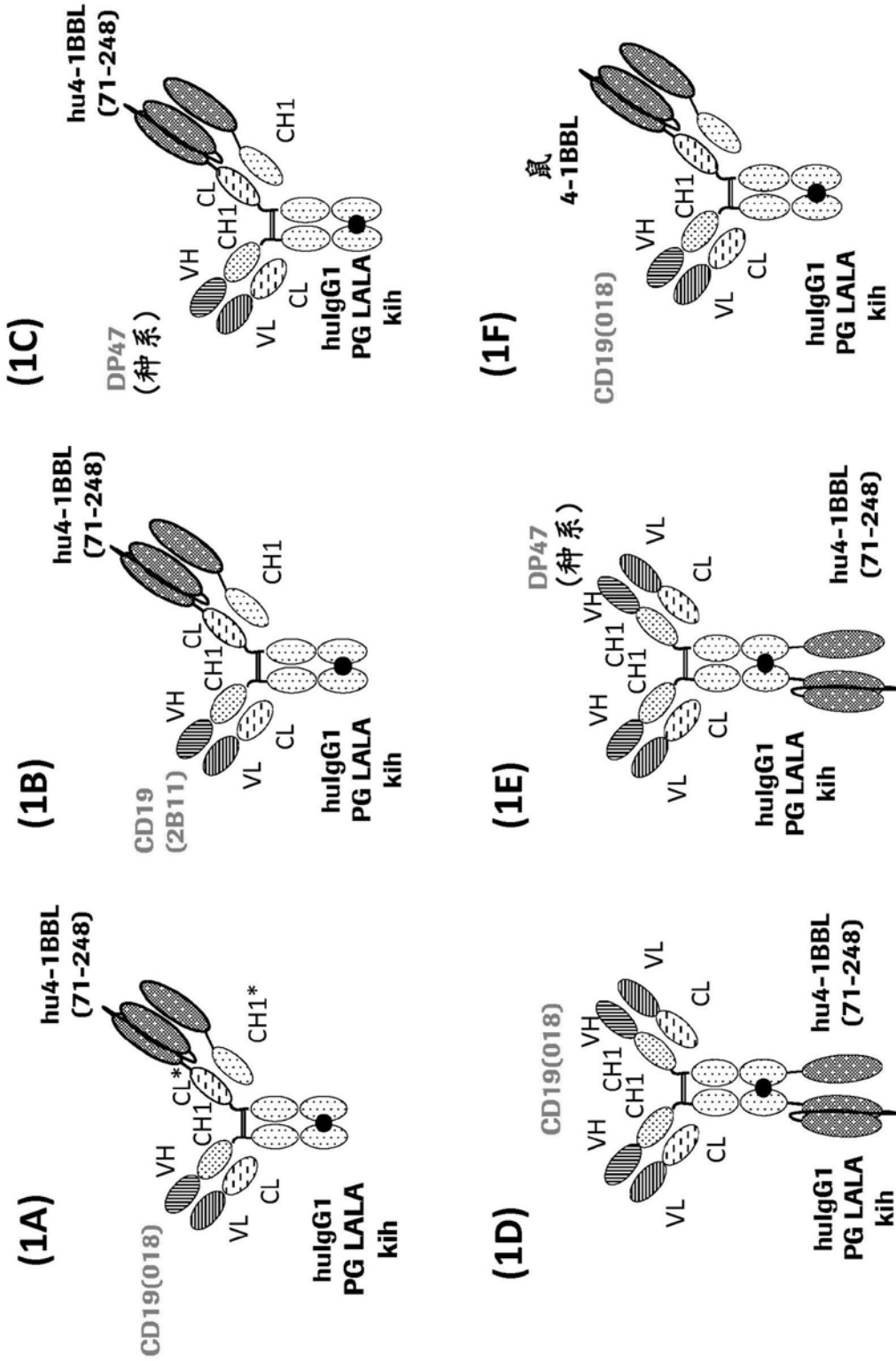


图1

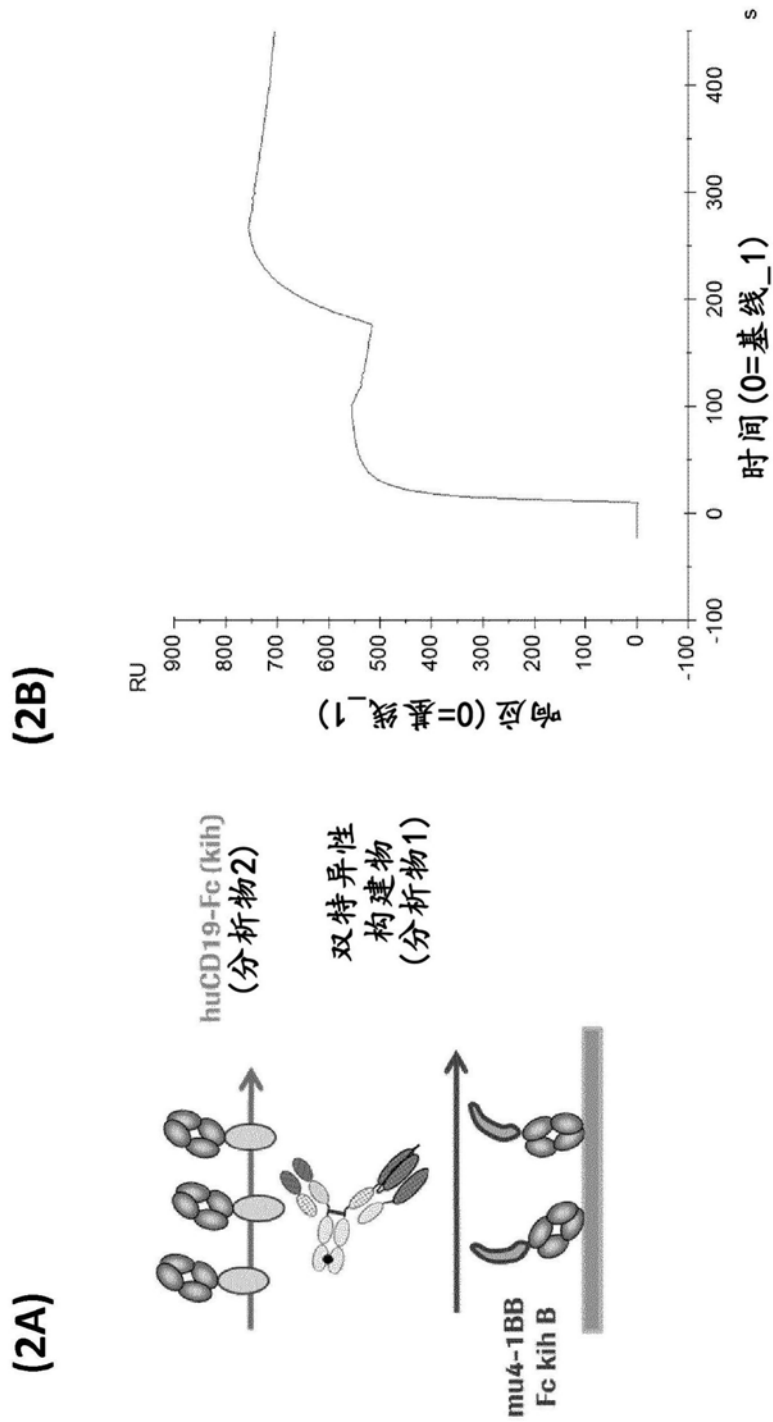


图2

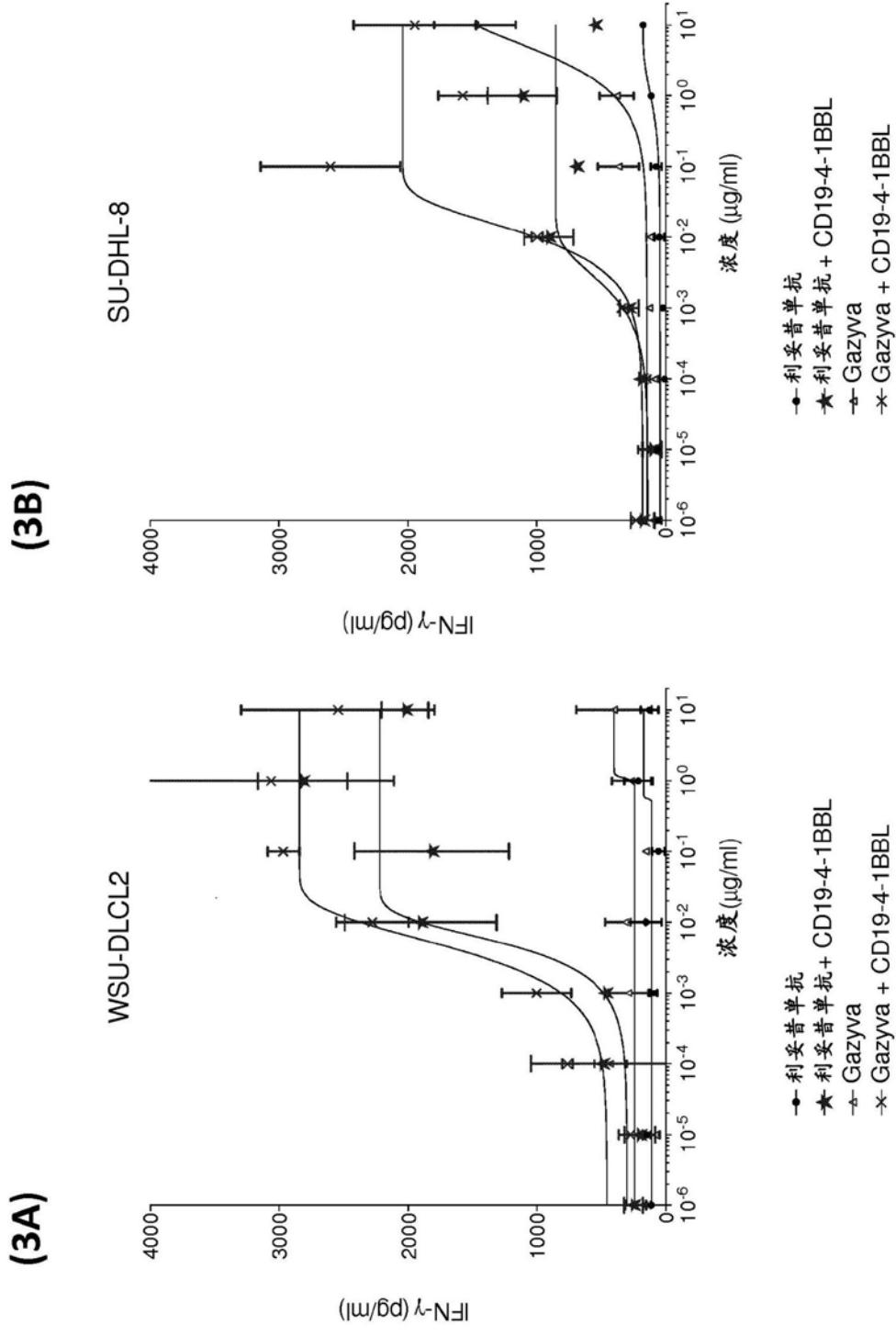


图3

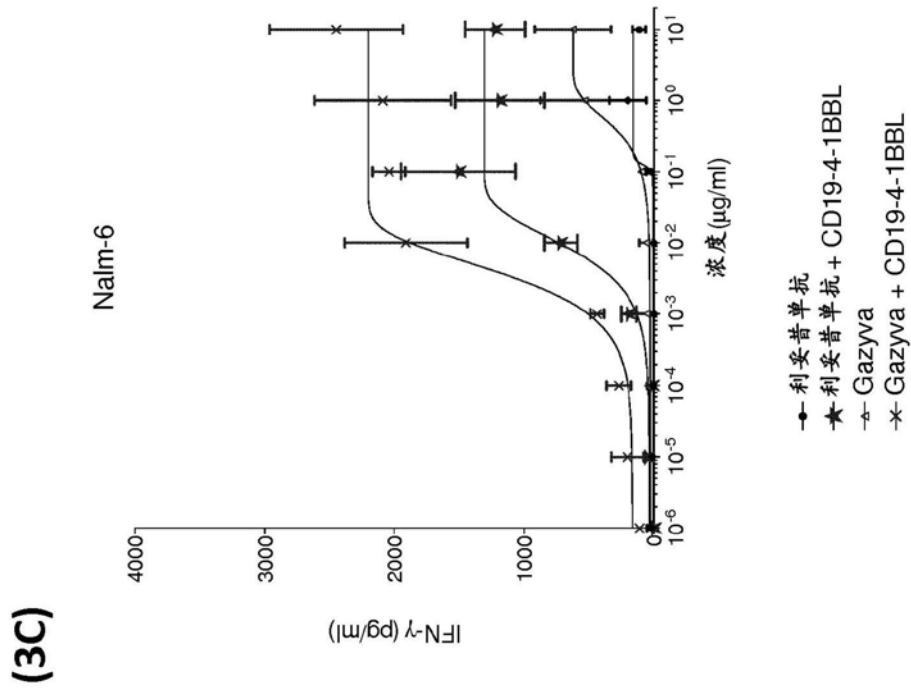


图3(续)

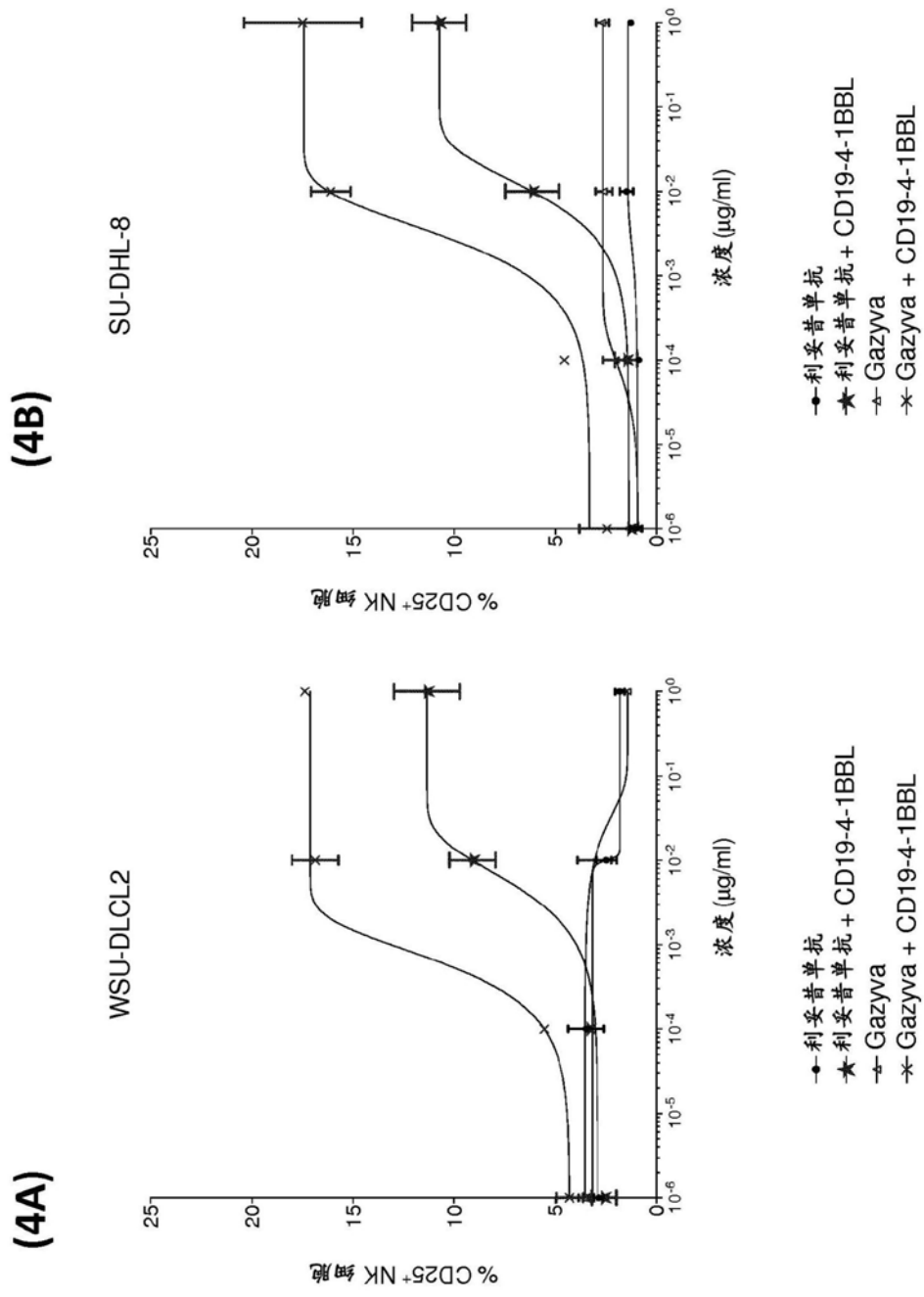


图4

(4C)

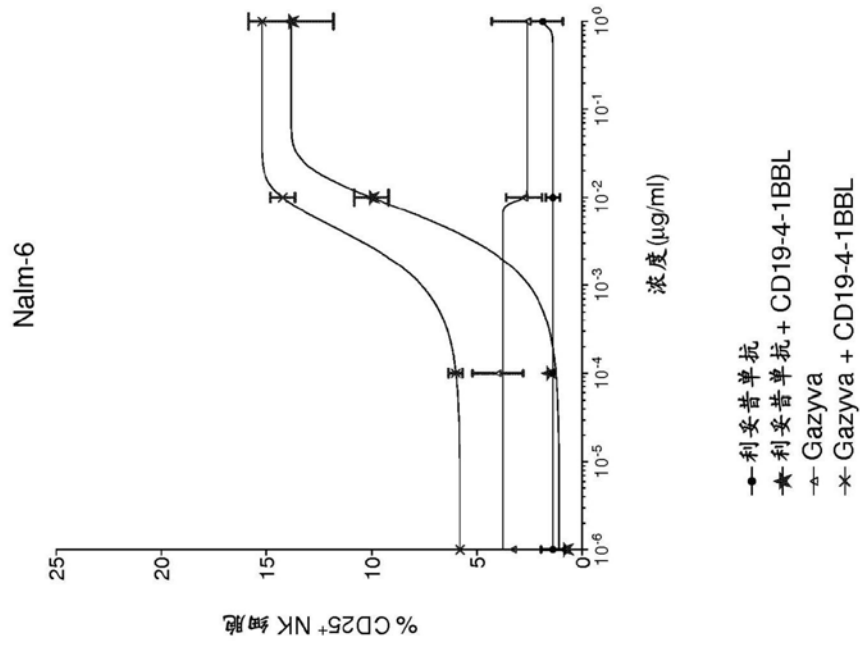


图4 (续)

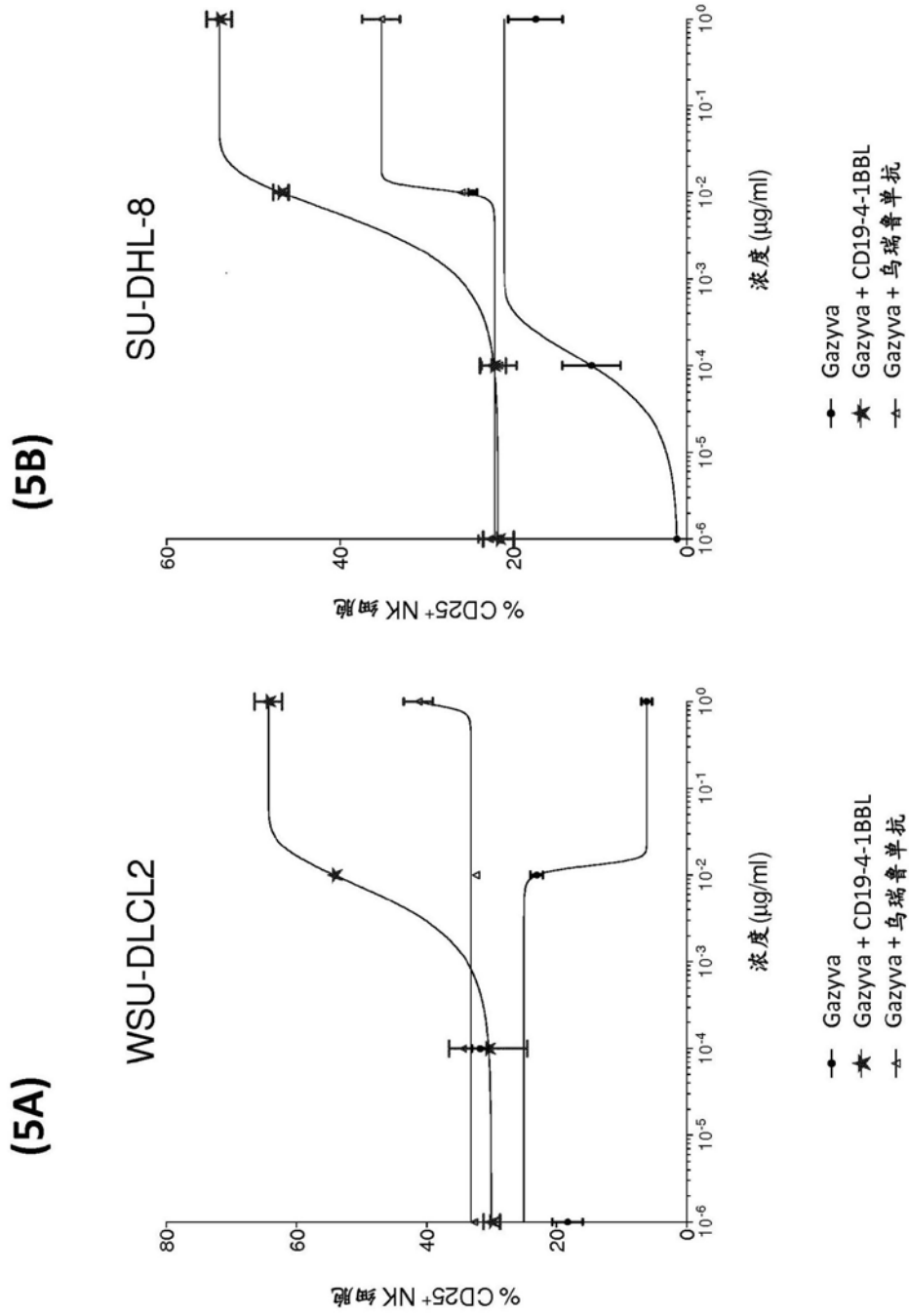


图5

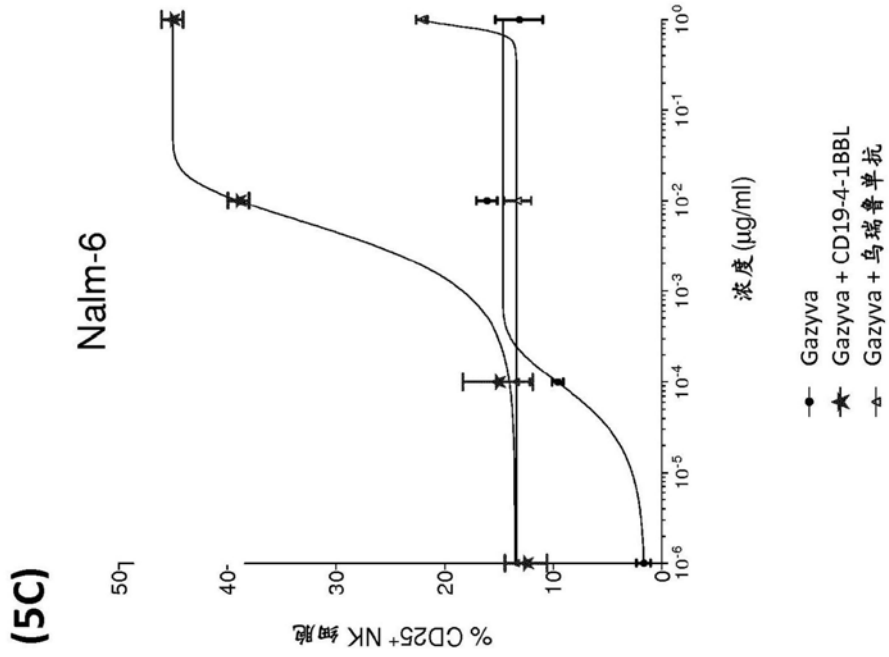
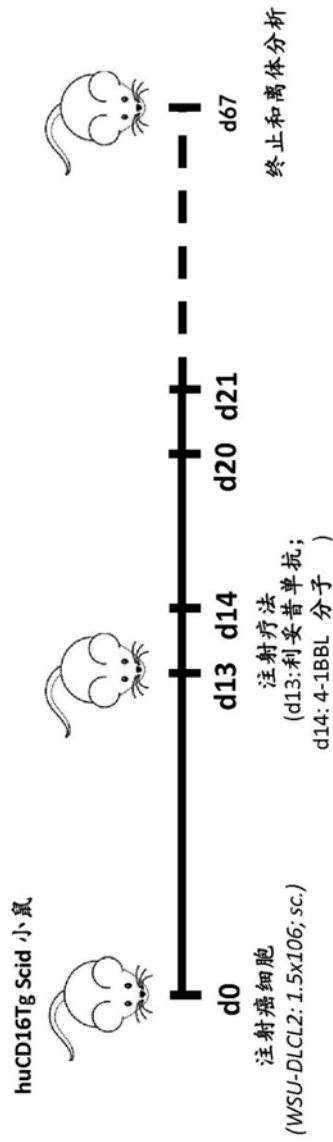


图5 (续)



组	动物数	化合物	剂量 (mg/kg)	施用途径 (疗法)	处理数
A	10	媒介	--	i.v.	8 (每周一次)
B	10	利妥昔单抗	10	i.v.	8 (每周一次)
C	10	杂合 mono CD19-mu4-1BBL	3	i.v.	8 (每周一次)
D	10	利妥昔单抗 + 杂合 mono CD19-mu4-1BBL	10 / 3	i.v.	8 (每周一次)

图6

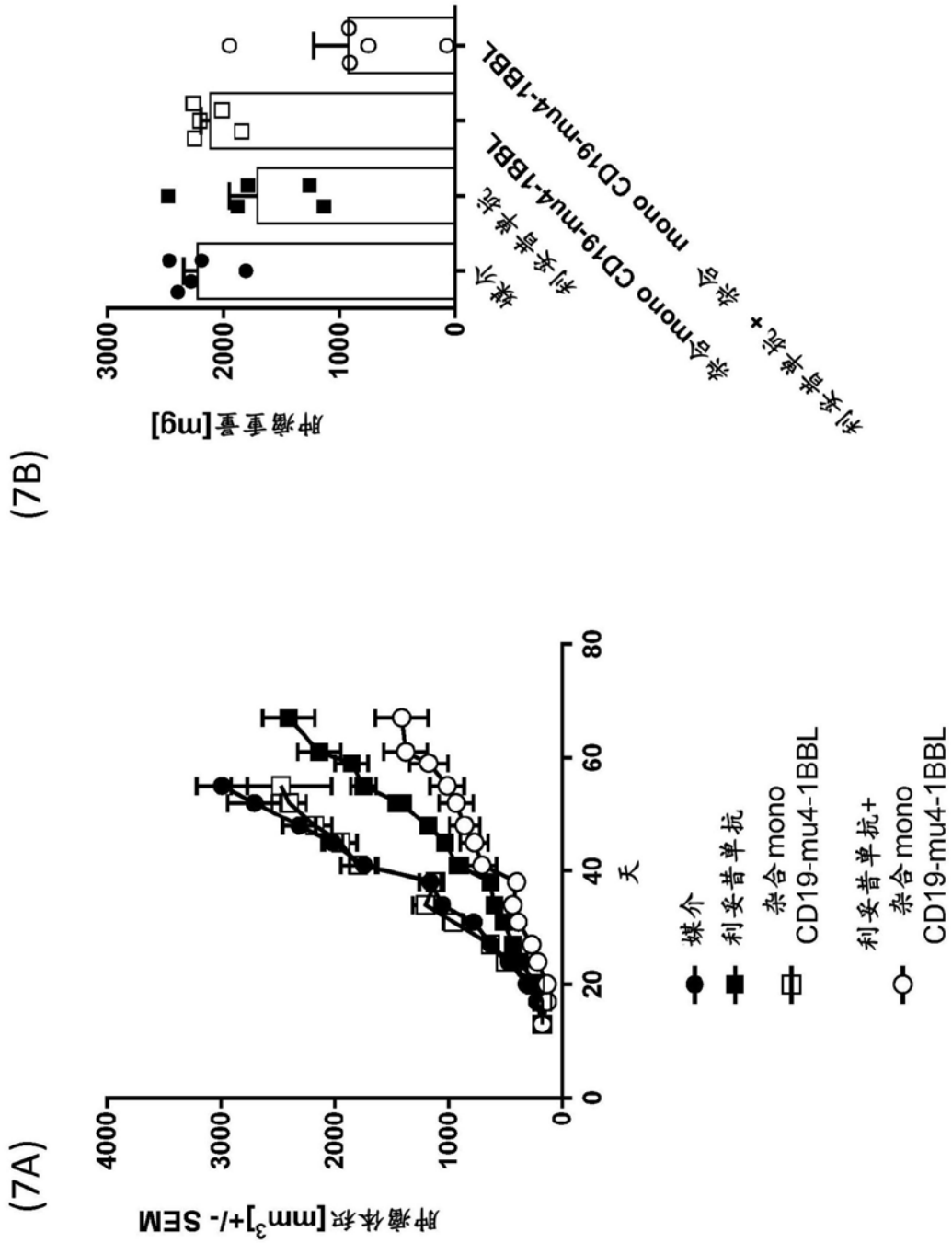
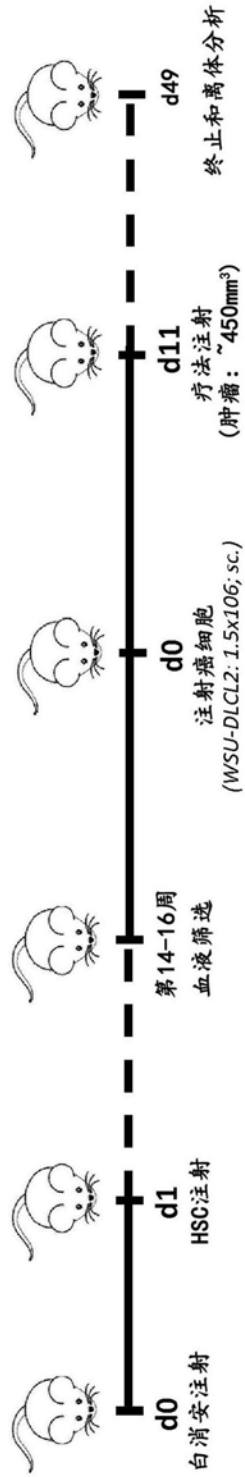


图7



组	动物数	化合物	剂量 (mg/kg)	施用路径 (疗法)	处理数
A	10	媒介	-	i.v.	6 (每周一次)
B	10	mono CD19 (2B11)-4-1BBL	3	i.v.	6 (每周一次)
C	10	GAZYVA	10	i.v.	6 (每周一次)
D	10	GAZYVA + mono CD19 (2B11)-4-1BBL	10 / 3	i.v.	6 (每周一次)

图8

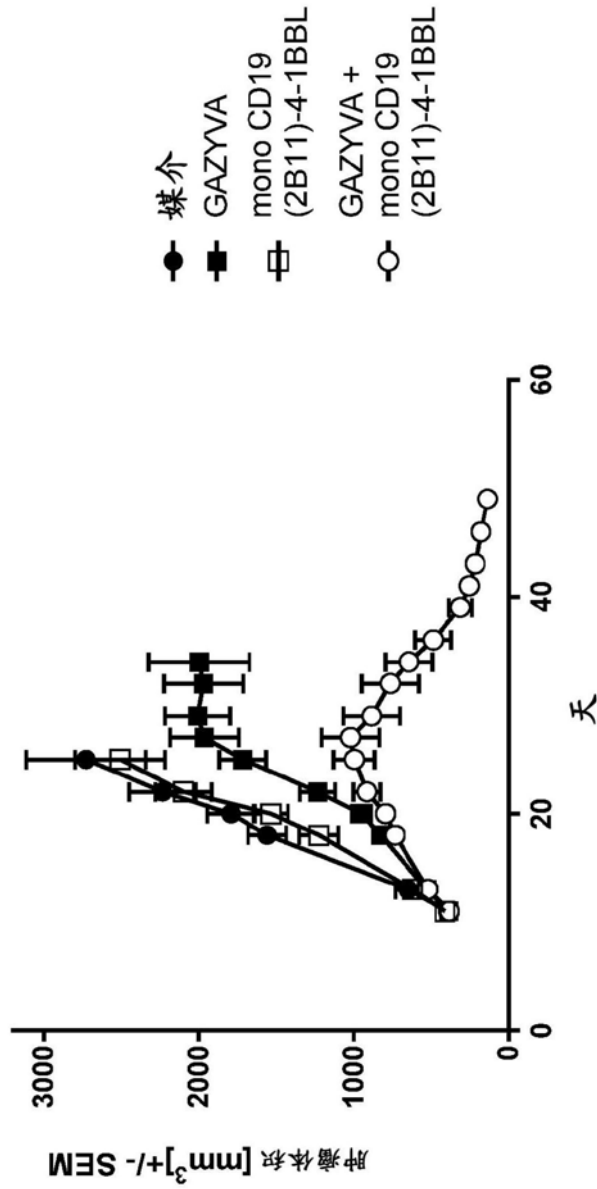


图9